

T.C
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIGARA İÇEN VE İÇMEYEN HEMODİYALİZ HASTALARINDA
ERİTROSİTLERİN IN VITRO OKSIDASYONUNA DUYARLILIGI**

Hemsire Esmer KAYA
TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANISMAN
Prof. Dr. M. RAMAZAN SEKEROĞLU

VAN - 2006

T.C
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIGARA İÇEN VE İÇMEYEN HEMODİYALİZ HASTALARINDA
ERİTROSİTLERİN IN VITRO OKSİDASYONUNA DUYARLILIĞI**

Hemsire Esmer KAYA
TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Jüri Başkan
Prof. Dr. M. Ramazan SEKEROĞLU

Üye
Prof. Dr. Reha ERKOÇ

Üye
Doç. Dr. Haluk DÜLGER

TEZ KABUL TARİHİ
...../...../2006

TESEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında destek ve yardımlarını gördüğüm danışman hocam Prof. Dr. M. Ramazan SEKEROGLU'na, yardımlarından dolayı Prof. Dr. Reha ERKOÇ'a, Doç. Dr. Haluk DÜLGER'a, Yrd. Doç. Dr. Tevfik NOYAN'a, Aras. Gör. Ragıp BALAHOROGLU'na ve kan almada yardımlarını esirgemeyen tüm diyaliz ünitesi çalışanlarına ve laboratuvar çalışmalarımda yardımcı olan tüm biyokimya teknisyenleri ve çalışanlarına ayrıca tezimin hazırlanma aşamasında her türlü maddi ve manevi desteklerini gördüğüm dostlarıma gönülden teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....	II
Tesekkür	III
İçindekiler.....	IV
Simgeler ve kısaltmalar	VI
Sekiller	VII
Tablolar.....	VIII
1. GİRİS	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Böbrekler	2
2.2. Diyaliz	4
2.2.1. Hemodiyaliz.....	5
2.2.2. Diyaliz Tedavisi	5
2.2.3. Hemodiyaliz tedavisinin yapılisi	7
2.3. Serbest Radikaller.....	8
2.3.1. Serbest Radikal Türleri.....	10
2.3.2. Serbest Radikallerin Hücresel Yapılara Etkileri.....	13
2.4. Antioksidan Savunma Sistemleri	15
2.4.1. Enzimatik Antioksidanlar	16
2.4.2. Enzimatik Olmayan Savunma Sistemleri.....	19
2.4.3. Diğer Antioksidanlar	21
2.5. Sigara	21
2.6. Hemodiyaliz ve Oksidatif Stres	23
2.7. Oksidatif Stres ve Hemodiyaliz Komplikasyonları.....	24
2.8. Hemodiyalizde Antioksidan Tedavinin Yeri.....	25
3. MATERYAL ve METOD.....	26
3.1. Materyal.....	26
3.1.1. Vaka Seçimi.....	26
3.1.2. Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması	26
3.1.3. Eritrosit Paketi Hazırlanması.....	27
3.1.4. Kullanılan Cihazlar ve Reaktifler	27
3.2. Metot.....	29
3.2.1. Lipid Peroksidasyonu tayini	29

3.2.2. Eritrositlerin in vitro oksidasyona duyarlılıklarının tespiti .	29
3.2.3. Süperoksid Dismutaz Enzim Tayini	30
3.2.4. Glutasyon Peroksidaz Enzim Tayini.....	30
3.2.5. Biyokimyasal Parametreler	31
3.2.6. İstatistiksel Analizler	31
4. BULGULAR	32
5. TARTISMA VE SONUÇ.....	35
ÖZET.....	40
SUMMARY	41
KAYNAKLAR.....	42
ÖZGEÇMİS	50

SIMGELER VE KISALTMALAR

ABY= Akut Böbrek Yetmezligi
CO= Karbonmonoksit
DNA= Deoksiribo Nükleik Asit
GSH= Redükte Glutasyon
NADPH=Nikotinamid Adenin Dinükleotit fosfat
NAD=Nikotinamid Adenin Dinükleotid
 H_2O_2 = Hidrojen Peroksit
TCA= Trikarboksilik Asit
TBA= Tiobarbitürik Asit
SOD= Süperoksit Dismutaz
NOS= Nitrik Oksit Sentaz
HOCl= Hipokloröz Asit
PMNL=Polimorfonükleer Lenfositler
MPO= Myeloperoksidaz
NO= Nitrik Oksit
LDL=Low Densitiy Lipoprotein (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein)
LOOH= Lipithidroperoksit
RES=Retiküloendotelial Sistem
Zn= Çinko
Cu= Bakır
Mn=Manga nez
Se= Selenyum
PUFA=Poliansatüre Yag Asitleri
 1O_2 =Singlet Oksijen
HD= Hemodiyaliz
KBY=Kronik Böbrek Yetmezligi
ROS=Reaktif Oksijen Ürünleri
 O_2^- =Süperoksit Anyonu
SOR=Serbest Oksijen Radikali
SDBY=Son Dönem Böbrek Yetmezligi
GSH-Px= Glutasyon Peroksidaz

SEKILLER

Sekil-1. Hemodiyalizde membrandan solütlerin geçisi (difüzyon ve ultrafiltrasyon).....6

Sekil-2. Hemodiyaliz tedavisinin uygulama seklinin sematize edilisi.....7

TABLÖLAR

Tablo-1 Baslica reaktif oksijen türlerinin yarılanma ömrü.....	13
Tablo-2 Çalışmaya alınan şahısların özellikleri.....	25
Tablo-3 Kontrol ve sigara içmeyen hemodiyaliz grubuna ait bulgular.....	32
Tablo-4 Sigara içen hemodiyaliz hastaları ve kontrol grubuna ait bulgular	33
Tablo-5 Sigara içen ve içmeyen hemodiyaliz gruplarına ait bulgular	34

1. GIRIS

Çesitli sebeplerle kronik böbrek yetmezligi gelisen hastalarda, böbrek yeterince çalışmadığı için, kanda biriken çeşitli atıkların temizlenmesi ve kanın sağlıklı insanlardaki kompozisyonuna ulaşması amacıyla hemodiyaliz işlemi yapılmaktadır. Ancak, kronik böbrek yetmezligi olan bireylere uygulanan hemodiyaliz, yetersiz böbrek fonksiyonunu kompanse etmesinin yanı sıra lökositler ve eritrositler gibi kan elemanlarının oksidatif metabolizmasını da etkilemektedir. Özellikle bu bireylerde antioksidan sistemin etkilendiği bildirilmektedir (1). Ayrıca sigara dumanının doymamış yağ asitlerinde oksidasyona yol açtığı hücre ve doku yıkımının çoğunun başlatıcısı olan lipid peroksidasyonuna neden olduğu bilinmektedir (2). Yine gerek sigaranın gerekse hemodiyalizin eritrositlerde lipid peroksidasyonunda artışa neden olduğu gösterilmiştir (3,4). Görüldüğü gibi sadece hemodiyaliz işlemi ya da sigara içimi bile oksidatif stresi artırmaktadır. Acaba her iki risk faktörüne de sahip hastalarda eritrositlerin oksidasyona duyarlılığı ya da antioksidan kapasitelerindeki değişiklik ne ölçüde olmaktadır? Literatürde sigara içen hemodiyaliz hastalarında eritrositlerin lipid peroksidasyonu ve antioksidan kapasitesini birlikte inceleyen yeterli çalışma bulunmamaktadır. Biz bu çalışmada sigara içen ve içmeyen hemodiyaliz hastalarında eritrositlerin in vitro oksidasyona duyarlılığı ve antioksidan kapasitelerini araştırmayı ve sağlıklı kontrollerle karşılaştırmayı amaçladık.

2. GENEL BILGILER

2.1 Böbrekler

Insanda bir çift böbrek, omurganın her iki yanında yer alır ve yaklaşık alt kaburgaların hizasında bulunur. Her böbrek insan boyuna doğru orantılı ortalama 9-12 cm uzunluğunda, 4-6 cm eninde ve 3-5 cm kalınlığındadır. İki böbreğin toplam ağırlığı 300 gramdır. Böbreklerin hemen üzerinde böbrek üstü bezleri bulunur. Böbrek üstü bezleri, böbreklerden tamamen farklı bir fonksiyona sahiptir. Böbreklerin etrafı yumuşak fakat sağlam bir koruyucu zarla kaplanmıştır. Bu organ, insan vücudu için önemli işlevleri yerine getirmesinden dolayı sürekli iyi bir kan dolaşımına sahiptir (5).

Böbrek korteksinde glomerül adı verilen birçok küçük kılcal kan damarı yumuşak bulunur. Glomerülü oluşturan kılcal damar duvarı, kandaki çeşitli maddelerin geçişine olanak sağlar. Kırmızı (alyuvar) ve beyaz (akyuvar) kan hücreleri ile kanın plazması kılcal damardan süzülmediğinden dolayı sadece glikoz, üre, elektrolitler ve su damar cidarı tarafından emilirler ve süzülmüş sıvı tübülüse gider. Tübülüste toplanan sıvı ilk idrar olarak adlandırılır. Tübülüste dakikada 125 ml, günde yaklaşık 180 litre kadar sıvı süzülebilmektedir.

Tübülüsler böbrek orta kısmında korteks medulla sınırına kadar kıvrımlı bir şekilde seyreder. Bu şekilde süzülmüş sıvının birçok maddesi ve yaklaşık tüm sıvı tekrar geri emilir ve böylece vücutta kalır. Bu olay süzülmüş sıvının konsantre olmasını sağlar ve sonuç olarak esas idrar oluşur (5).

İnsan vücudu günde yaklaşık 1,4 litre sıvı idrar yoluyla atar. Bu şekilde vücut idrarda bulunan zararlı madde olarak adlandırılan çeşitli kimyasal maddeleri atması olur. Bu zararlı maddelerin vücuttan atılmasıyla böbrekler organizmadan zararlı, zehirli maddelerin atılması gibi hayati öneme sahip işlevini yerine getirir. Böbreklerin bu görevi yerine getirebilmesi için vücuttaki toplam kan miktarının daima böbreklerden geçmesi gerekir. İdrarın miktarı, sıvı alımına ve terlemeye bağlıdır. Bunun dışında böbrek kemik iliginde kan yapımını uyaran bir hormon salgılar. Erythropoetin isimli bu hormon ilikteki kan yapım merkezlerini uyurup, kırmızı kan hücrelerini üretmesini sağlar (5).

İdrar ile birlikte vücuttan elektrolitler de atılır. Böylece organizmanın asit-baz dengesinin düzenlenmesi sağlanır. Organizmadaki asiri konsantrenin önlenmesi için vücuttan atılan maddeler, idrarla atılan maddeler olarak adlandırılır. Böbrek fonksiyonlarının göstergesi olarak kandaki üre ve kreatinin seviyesi önemlidir (5).

Böbreklerin aşağıda belirtilen ana işlevleri şunlardır (5).

1. Vücuda alınan sıvının ve elektrolit miktarının düzenlenmesi
2. Kan basıncının düzenlenmesi
3. Asit-baz dengesinin düzenlenmesi
4. Vücudun zararlı maddelerden arındırılması
5. Kırmızı kan hücre oluşumunun düzenlenmesi
6. Kemikteki metabolizma doku değişiminin düzenlenmesi

Değişik nedenlere bağlı olarak böbreklerin müzmin bir şekilde hastalanması ve görevlerini yapamaz hale gelmesine kronik böbrek yetmezliği (KBY) denir (6).

Kronik böbrek yetmezliği yapan belli başlı hastalıklar şunlardır (6).

1. Kronik glomerulonefrit
2. Akut pyelonefrit
3. Hipertansif nefropati
4. Diabetes mellitusa bağlı nefropati
5. Kronik analjezik kullanımı sonucu analjezik nefropatisi
6. Kollajen vasküler hastalıklar
7. Herediter böbrek hastalıkları (polistik böbrek hast. Alport sendromu)
8. İnterisyel böbrek hastalıkları
9. Tekrarlayan böbrek taşları sonucu oluşan pyelonefritler.

2.2 Diyaliz

Diyaliz kelimesi Yunanca'dan gelir ve "      " anlamındadır. Doga bilimciler diyaliz kelimesinden yari geçirgen membranla ozmotik farklılık gösteren parçacıkların ayrılması sürecini anlamaktadır. Örneğin diyalizi proteinleri ve tuzları ayırmada kullanılmaktadırlar. Tip dünyasında ise diyaliz özellikle kan temizleme süreci olarak kullanılmaktadır (5).

Diyaliz; vücutta birikmis üre, kreatinin gibi zararlı maddelerin ve asiri suyun bir membran aracılığı ile vücuttan uzaklaştırılması işlemidir. İlerlemis böbrek yetmezliğinin tedavisinde kullanılır. Diyaliz, tedavisi bozulmuş böbrek islevlerinin bir kısmını düzenleyerek yaşamın devam etmesini sağlar (7).

Ge miste Son Dönem Böbrek Yetmezliği (SDBY) olan hastalar günler ya da en geç haftalar içinde kaybedilirdi. 1960'li yıllardan sonra diyaliz bu hastalarda yaşam s resinin uzamasını, daha sonra da yaşam kalitesinin artmasını sağlamıştır. KBY'nin medikal tedavisinde kullanılan yeni ilaçların bulunması ve geliştirilmesi ve vasküler girişim yolu oluşturmada sağlanan başarılar, bu hastalarda yaşam süresi ve kalitesinin artmasına ek katkıda bulunmuştur (6).

Baska bir ifadeyle diyaliz, yari geçirgen bir membran aracılığı ile hastanın kani ve uygun diyaliz solüsyonu arasında sivi-solüt değişimini temel alan bir tedavi seklidir. Sivi-solüt hareketi, genellikle hastanın kanından diyalizata doğrudur ve bu diyalazatin uzaklaştırılmasıyla, hastada mevcut olan sivi-solüt dengesizliği ortadan kaldırılmaya çalışılır (8).

Diyaliz tedavisi iki şekilde uygulanır.

- 1- Hemodiyaliz
- 2- Periton diyalizi

2.2.1. Hemodiyaliz

Hemodiyaliz, hastadan alınan kanın sıvı ve solüt içeriğinin bir membran aracılığı ve bir makine yardımı ile yeniden düzenlenmesi temizlenmesi ve hastaya geri verilmesi işlemidir (8).

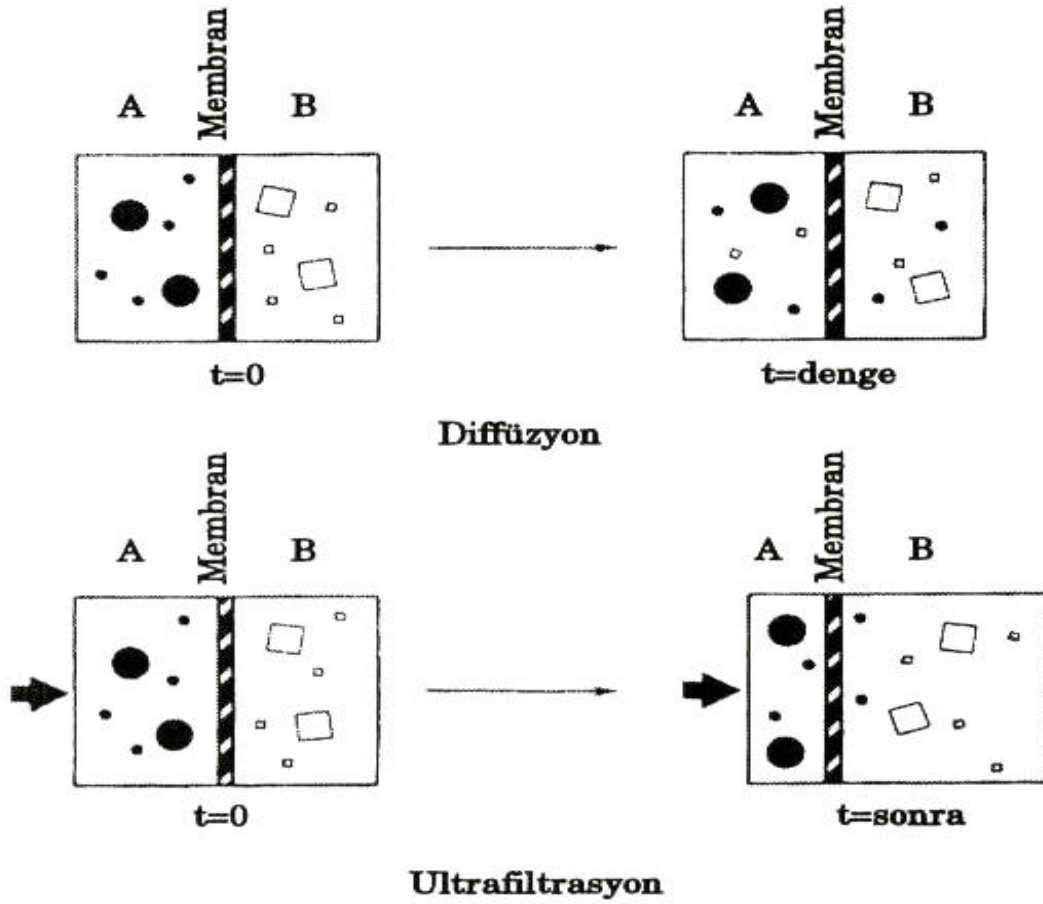
İlk kez 1944 yılında Hollandalı bir hekim olan Kolff tarafından yapılmıştır (7). Hemodiyaliz belirli bir suni kan temizleme yöntemidir. Bu işlem vücutta birikmiş zararlı maddelerin vücuttan uzaklaştırılmasına yarar. Vücuttaki kan suni membranlar yardımıyla zararlı maddelerden temizlenmektedir. Hemodiyalizde vücudun dışındaki membranlı (suni böbrek) makine kullanılır. Kanın temizlenmesi, hayati önem taşıır (5).

Hemodiyaliz tedavisi hastanın böbrek yetmezliğinin şiddetine, yaptığı idrar miktarına bağlı olmak üzere haftada 2-3 kez 4-6 saat süre ile uygulanabilir. Yetersiz hemodiyaliz tedavisi hastada hasara ve ölümlere yol açabilir. Hemodiyaliz tedavisi genellikle hastanede ve bir hemodiyaliz ünitesinde uygulanır (7).

2.2.2. Diyaliz Tedavisi:

Hemodiyaliz vücutta birikmiş zararlı maddelerin bir membran aracılığı ile vücuttan uzaklaştırılmasıdır. Bu membran bir filtre işlevine sahip olduğu için maddelerin sadece bir kısmını süzer. Membranın bir tarafındaki maddeler, diğer taraftaki maddelere oranla daha yoğun olması durumunda madde yoğunluğu dengelenene kadar bu maddeler çok yoğun olan taraftan, az yoğun olan tarafa membran aracılığıyla geçer (5).

Hemodiyaliz, bir A solüsyonunun solüt (çözünmüş madde) içeriğini, bu solüsyonu yarı geçirgen (semipermeabl) bir membran vasıtasıyla bir B solüsyonu ile karşılaştırılarak değiştiren bir işlemdir. Yarı geçirgen membran porları (delikleri) bir kagıda benzetilebilir. Her iki solüsyonda bulunan su molekülleri ile düşük molekül ağırlıklı solütler, yarı geçirgen membran porlarından geçerek birbirine karışırken, büyük solütler (proteinler gibi) membrandan geçemedikleri için membranın her iki yanında başlangıçtaki konsantrasyonlarında kalırlar. Membranın porlarından geçebilen solütler, iki farklı mekanizma ile taşıınırlar. Bunlar difüzyon ve ultrafiltrasyondur (8).



Sekil 1. Hemodiyalizde membrandan solütlerin geçisi (difüzyon ve ultrafiltrasyon)

Difüzyon: Diffüzyon ile solütlerin hareketi rastgele molekül hareketinin bir sonucudur. Sekil 1’de görüldüğü gibi A solüsyonundaki bir solüt molekülü, hareket ettikçe zaman zaman membrana çarpar. Eger bu solüt, molekül büyüklüğündeki bir membran poru ile karsilasirsa, membrandan B solüsyonuna geçebilir.

Ultrafiltrasyon: Yari geçirgen membrandan ikinci solüt transport mekanizması ultrafiltrasyondur (yani konvektif transport). Su molekülleri çok küçüktür ve tüm yari geçirgen membranlardan geçebilir. Su, hidrostatik yani ozmotik bir kuvvetle membranin içine dogru itildiginde, ultrafiltrasyon gerçekleşir (Sekil 1). Membranin porlarından kolayca geçebilen solütler su ile birlikte sürüklenirler .Buna “çözücü içinde sürüklenme” (solvent drag) denir. Bu sekilde çözücü (su) içinde sürüklenen solütler, membrandan itilen suya, kendi orijinal konsantrasyonlarına yakin bir konsantrasyonda eslik ederler. Diger taraftan büyük solütlerin, özellikle membran porlarından daha geniş olanların geçisi membran tarafından engellenmiş olur. Böyle büyük solütler için membran bir elek görevi görür (8).

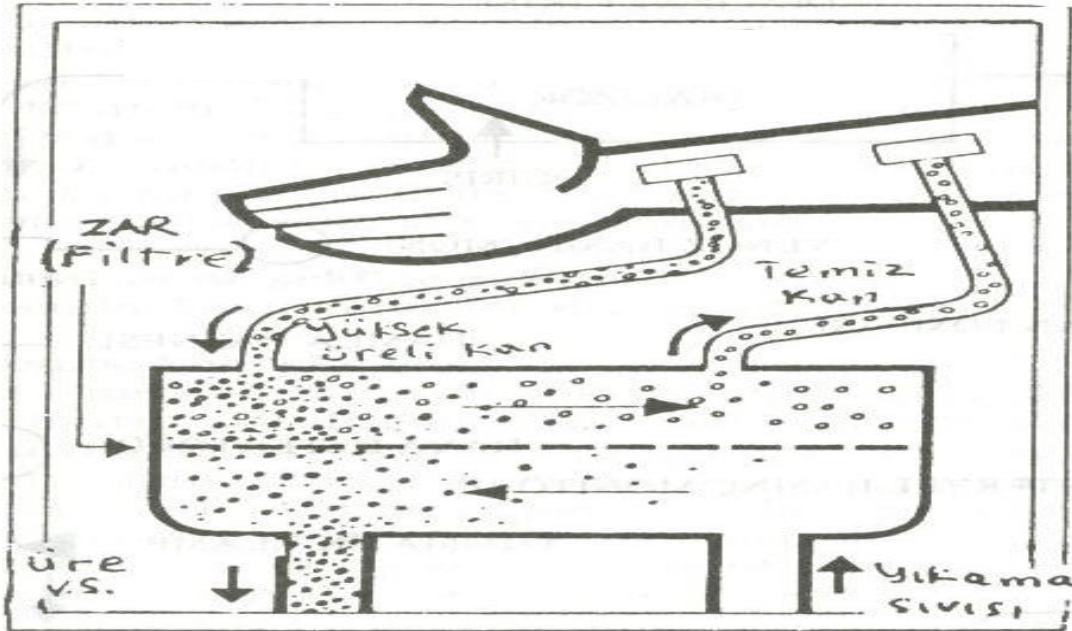
Hemodiyalizde diffüzyonun fiziksel prensibinden yararlanılır. Kan, diyaliz sıvısına karsın daha farklı metabolik atıklar yoğunluğuna ve kan tuzuna sahiptir. Bu nedenle bu maddeler kandan diyaliz makinesine geçer (5).

Buna karsın ilgili maddeler ile zenginleştirilmiş diyaliz solusyonu hastanın kanına pompalanır. Yani kandan zararlı maddeler uzaklaştırılır ve gerekli maddeler kana ilave edilir (5).

Hemodiyaliz tedavisi akut böbrek yetmezliğinde veya zehirlenmelerde birkaç gün uygulanır. İlerlemiş safhadaki kronik böbrek yetmezliğinde ise sürekli uygulanır.

2.2.1. Hemodiyaliz tedavisinin yapılışı:

Hemodiyaliz için yeterli kan akımının sağlanması için bir cerrah, hastanın atar ve toplardamarı arasında bir bağlantı (sant) oluşturur. Genelde kan, bu atardamara takılan bir hortum ile alınır. Kandan metabolik atıklar ve kandaki fazla miktardaki su arındırılır ve tuzu (elektrolit) dengelenir. Ardından sant bağlantısı yoluyla kan tekrar venden vücuda geri verilir (5).



Sekil 2. Hemodiyaliz tedavisinin uygulama şeklinin sematize edilmesi

Diyaliz tedavisi böbreğin işlevini tam olarak gerçekleştiremez. Kronik hemodiyaliz hastalarında yıllar sonra damar kireçlenmeleri, kalp hastalıkları, kemik ve eklemler hasarları gibi hastalıklar ortaya çıkar. Kusursuz bir hemodiyaliz tedavisi ve buna

ek olarak uygulanan yüksek kan basincinin, yag madde degisim bozuklugunu ve aneminin tedavisi yillar sonra dogacak hastaliklari belirgin bir sekilde indirger veya bunlari ortaya cikmasini geciktirir (5).

Hemodiyaliz tedavisinde su ana prensip geçerlidir. Hasta ne kadar süre (haftada baglandiklari saat) ile ve siklikla diyaliz makinesine baglanirsa, o kadar komplikasyonlardan korunur ve daha uzun yasar (5).

Ayrice bununla birlikte diyaliz tedavisi baslangicinda hastanin yasi, kooperasyonu ve sahip oldugu diger hastaliklar da hayatta kalma süresi için önemli etkenlerdir (5).

2.3. Serbest Radikaller

Serbest radikaller somatik hücrelere ve bagisiklik sistemine saldiran moleküllerdir. Insan vücudundaki her hücre günde ortalama 10 bin serbest radikalın saldirisina maruz kalmaktadır. Antioksidanlar bu serbest radikallerin etkilerini notralize eden, kanser, kalp hastaliklari ve erken yaslanmaya neden olabilecek zincir reaksiyonlarini engelleyen moleküllerdir (9).

Serbest radikal olusumuna sigara, herbisit ve pestisitler, çözücüler, petrokimya ürünleri, ilaçlar, güneş isinlari, x- isinlari, hatta yiyeceklerde bulunan bazı bileşikler neden olur. Bilim adamlari 1954'lerden beri serbest radikallerin yaslanma ve dejeneratif hastaliklara neden oldugunu bildirmektedirler (10).

Dis orbitallerinde eslenmemis elektron bulunan kısa ömürlü reaktif atom ve moleküller serbest radikal olarak tanimlanir (11).

Serbest radikallerin protein, nükleik asit ve diger hücresel unsurlara verdigi hasarin oldukça önemli bir yasam riski olusturdugu günümüzde bilinmektedir. Serbest radikallerin tahrip edici bu özelliklerinin ortaya koydugu genel tablo organizma için bir oksidatif stres olusturmaktadır. Oksidatif stresle mücadelede antioksidanların çok önemli rolü bulunmaktadır. Serbest radikaller yasam riski olustururken antioksidanlar yasam kaynagi olarak görülmüştür (10).

Enzimatik ve nonenzimatik yapılardan oluşan, radikalleri ve onların reaksiyonlarını önlemeye çalışan maddeler ise antioksidan olarak tanımlanmaktadır (11).

Vücuttaki fizyolojik aktivitenin doğal ürünü olan serbest radikaller, organizmanın doğuştan kazandığı çok hassas bir donanımla “oksidan-antioksidan denge” olarak tanımlanabilecek bir çizgide tutmaya çalışır. Eğer serbest radikaller nötralize edilmezlerse vücutta ciddi hasarlara neden olabilirler (10). Bunlar:

- Hücre membrani proteinlerini yıkarak hücreleri öldürmek,
- Membran lipid ve proteinlerini yok ederek hücre membranını sertleştirip hücre fonksiyonunu engellemek.
- Nükleer membrani yıkarak nükleustaki genetik materyale etki edip DNA’yi kırılma ve mutasyonlara açık hale getirmek,
- Bağışıklık sistemindeki hücreleri yok ederek bağışıklık sistemini zorlamak.

Bu etkiler oksidatif stres olarak bilinen DNA mutasyonları, hücre ölümleri ve hastalıkları gibi hasarlara neden olur.

2.3.1. Serbest Radikallerin Kaynakları

1. Biyolojik Kaynaklar:

1. Aktive olmuş fagositler (Respiratory Burst)
2. Antineoplastik ajanlar: Nitrofurantoin, bleamisin, doxorubine ve adriamisin
3. Radyasyon
4. Alışkanlık yapan maddeler: Alkol ve uyuşturucular
5. Çevresel ajanlar (hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, pestisitler, sigara dumanı, solventler, anestezikler, aromatik hidrokarbonlar).
6. Stres: strese katekolamin düzeyi artar. Katekolaminlerin oksidasyonu ise serbest radikal kaynağıdır. Bu olay stresin hastalıkların potansiyelindeki rolünün serbest radikal üretimiyle ilgili olabileceğini göstermesi bakımından önemlidir (11).

2. Intraselüler Kaynaklar:

1. Kaçak moleküllerin oksidasyonu: Tioller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler
2. Enzimler ve proteinler: Ksantin oksidaz, Triptofan dioksijenaz, Hemoglobin
3. Mitokondrial elektron transportu.
4. Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri (sitokrom P-450, sitokrom b₅)
- 5- Peroksizomlar: Desidazlar, flavoproteinler
6. Plazma membrani. Lipoksijenaz, prostaglandin sentetaz, fagositlerde NADPH oksidaz, lipid peroksidasyonu.
7. Oksidatif stres yapıcı durumlar: Iskemi, travma, intoksikasyon(11).

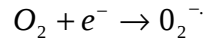
Iyonizan radyasyonun etkisi gibi nadir durumlar dışında, serbest radikaller genellikle hücrelerde elektron transport reaksiyonlarıyla meydana gelirler. Bu reaksiyonlar, ya enzimlerin etkisiyle ya da nonenzimatik geçiş metalleri iyonlarının redoks kimyası aracılığı ile cereyan ederler (11).

Hücrelerde serbest radikal üretimi, yabancı toksik maddeler tarafından da büyük oranda artırılabilir. Bu maddeler ya doğrudan serbest radikal üretirler veya antioksidan aktiviteyi düşürürler (11).

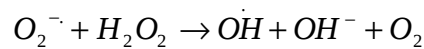
2.3.1. Serbest Radikal Türleri

Süperoksit Radikali (Serbest süperoksit radikal anyonu):

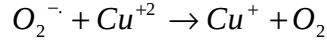
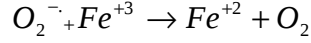
Oksijenin univale (bir elektron alıverisi olan) indirgenmesinde süperoksit anyon radikali ($O_2^{\cdot -}$) oluşur (9).



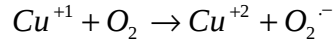
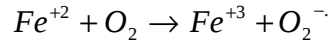
Eğer ortamda metal katalistler bulunmazsa, süperoksit radikali, hidrojen peroksit ile oldukça yavaş ilerleyen bir reaksiyona girerler.



.Süperoksit, hem hidrojen peroksit kaynagi hemde geçis metal iyonlarinin indirgeyicisi olduğu için demir (veya bakir) tarafından katalizlenen Haber-Weis reaksiyonu, süperoksit bağımlı olarak düşünölebilir. İndirgenmis demir ve bakir oksit sekillere göre hidrojen peroksit daha reaktifdirler (12).



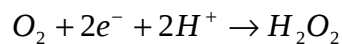
İndirgenmis geçis metallerinin otooksidasyonu da süperoksit üretebilir.



Bu nedenle geçis metal iyonlarinin oksijenle reaksiyonları, reverzibl redoks reaksiyonları olarak düşünölebilir (12).

Süperoksit radikali, hem yükseltgeyici, hem indirgeyici ve hem de nükleofiliktir ve serbest radikal olmakla beraber, belirgin şekilde zarar verici değildir. Önemi dismutasyon yoluyla hidrojen peroksit kaynagi ve geçis metal iyonlarını indirgemesi sebebiyledir (13). Bu yüzden önemli indirgenme reaksiyonlarına yol açarak baska radikallerin olusmasına ve sonuçta doku hasarına neden olur (14). Süperoksit radikali, hidroksil radikalinden daha az reaktiftir ve bu yüzden ortaya çıktığı hücre bölümünden daha uzak yerlere rahatlıkla difüze olabilir (15).

Hidrojen Peroksit: Bir serbest radikal değildir, fakat radikal olmayan oksijen derivelerini de içeren, reaktif oksijen türleri (ROS) kategorisi içine girer ve moleküler oksijenin iki proton alarak indirgenmesiyle olusur. (12)

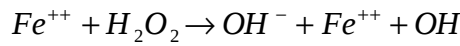


Süperoksit salınan tüm aköz sistemlerde bir dismutasyon reaksiyonu ile hidrojen peroksit (H_2O_2) olusur (9).

Süperoksid dismutaz (SOD) enzimi $2H^+ + O_2^- + O_2^- \rightarrow H_2O_2 + O_2$ reaksiyonunu katalizleyerek süperoksid radikalini ortamdaki uzaklaştırır (12,16-18).

Hidrojen peroksidin önemi, reaktif geçiş metal iyonlarının varlığına hidroksil radikallerinin kaynağı olmasından ileri gelir. Hidrojen peroksid uzun ömürlüdür, membranları geçebilir ve uzun mesafeler alarak zararlı olabilir (12).

Hidroksil Radikali: İskemi ve özellikle reperfüzyon sırasında, artan süperoksid radikali ve hidrojen peroksitten meydana gelen en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikalidir (2,18-20). Hidroksil radikalının reaktivitesi o derece yüksektir ki, yaptığı hücre bölünümünden daha uzaya difüzyonuna gerek kalmadan derhal reaksiyona girer (12).



Hidroksil radikali çok kararsızdır ve 6-10 saniye kadar kısa ömürlüdür.

Süperoksid radikali ve hidroksil radikalının çift olmayan birer elektronu vardır. Hidrojen peroksidin çift olmayan elektronu yoktur. Bu nedenle radikal değildir. Ancak, H_2O_2 biyolojik membranları geçebilir, intraselüler olarak Fenton reaksiyonu ile fosfolipidler, karbonhidratlar, proteinler ve DNA'yı hasara uğratabilir (21).

Hidrojen peroksid ve süperoksid radikalının sitotoksik etkilerinin, intraselüler hidroksil radikali oluşturma yeteneklerine bağlı olabileceği düşünülmektedir. In vitro çalışmalar, hidroksil radikalının doku hasarından primer sorumlu oksijen türevi olduğunu ve moleküler oksijenin ksantin oksidaz (XO) ve iskemik-reperfüze miyokard da biriken nötrofiller yoluyla indirgenmesi sonucunda oluştuğunu göstermiştir (18,22).

Singlet Oksijen (1O_2): Oksijenin uyarılmış durumda iki elektronu, aynı veya ayrı ayrı orbitalleri işgal edebilir. Ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen örneğidir. Serbest radikal reaksiyonları ile meydana gelebildiği, gibi serbest radikal reaksiyonlarını da başlatabilir (9).

Oksijen serbest radikallerinden başka lipid, nükleik asit, karbonhidrat ya da protein gibi biyolojik bir molekül (RH) üzerine oksidan bir radikalın etkisiyle de,

peroksit radikalleri (ROO), alkoksil radikalleri (RO) ve tiyol radikalleri (RS) gibi karbon merkezli radikaller ortaya çıkar (9).

Radikal türlerinin reaktivitesi, bu yapıların reaktif karakterinin bilinmesinde ve in vivo radikal ölçüm çalışmalarının önünün simdilik kapalı olmasında önemli bir etkidir. Radikalın yarılanma ömrü ne kadar kısa ise, reaktivitesi o oranda yüksektir. Bu da radikalın sabit konsantrasyonunu düşürür. Reaktif türlere ve atomlara göre farklılık gösteren yarılanma ömrü radikallerin toksisitesi ile doğru orantili olduğundan, radikalın potansiyel gücü açısından önemlidir (2).

Tablo 1. Baslica reaktif oksijen türlerinin yarılanma ömrü

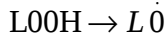
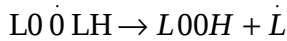
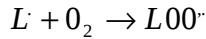
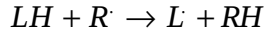
Radikal türleri	Sembol	Yarılanma ömrü (saniye)
Süperoksit radikal	$O_2^{\cdot -}$	1×10^{-6}
Hidroksil radikal	$\cdot OH$	1×10^{-9}
Alkoksil radikal	$RO\cdot$	1×10^{-6}
Peroksil radikal	$ROO\cdot$	1×10^{-2}
Singlet oksijen	1O_2	1×10^{-6}

2.3.2. Serbest Radikallerin Hücresel Yapılara Etkileri

Intraselüler ortamda oluşan serbest radikaller, intraselüler kompartmanlarda reaksiyona girebilmek için membrani geçmek zorundadırlar (17). Nükleik asitler ve hücre membranları, nörotransmitterler, genetik materyaldeki nükleik asitler ve hücre membranlarının majör komponenti olan yağ asitlerine etkilidirler (23,24).

Radikaller yoğun olarak üretildiklerinde, aerobik solunumu ve kapiller permeabiliteyi bozar, hücresel potasyum kaybını ve kapiller trombosit agregasyonunu hızlandırarak çeşitli reaksiyonlara yol açabilirler(25).. Bu reaksiyonların en önemlilerinden biri lipid peroksidasyonudur.

Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksid (COOH) lerini meydana getirmek için oksijen radikali ile, hücre membrani fosfolipidlerindeki poliansatüre yağ asitlerinin reaksiyona girdiği kompleks yağ asidinden bir hidrojen atomunun uyarılmasıyla başlar ve arttırıcı bir dizi kompleks reaksiyonlar oluştuktan sonra devam eder. Bu kompleks olaylar sonucunda poliansatüre yağ asitleri suda çözünebilen ürünlere dönüşür, membran bütünlüğü bozulur ve hücre penetrasyona müsait hale gelir (26,27). Bu radikaller, hem baslatıcı olarak hareket edip reaksiyona zincirleme mekanizmalar ile elektron transferi oluşturur (20). Lipid peroksidasyon zincir tepkimesinin uzunluğu ve peroksidasyonun şiddeti, lipidlerin doymamışlık derecesi ile orantili olarak artar (28). Santral sinir sistemi uzun zincirli doymamış yağ asitlerinden en zengin organ olduğu için lipid peroksidasyonunun en önemli etkileri beyinde görülür (29). Oluşan lipid radikalleri konjuge dienleri oluşturur. Sonra çift bağların yeniden düzenlenmesi ve moleküler oksijenin etkilenmesiyle bir lipid hidroperoksidi veya endoperoksit radikali oluşur. Yağ asidinde en az üç çift bağ varsa, son ürün olarak malondialdehid (MDA) meydana gelir (28). Ayrıca lipid peroksidasyonu ile oluşan ürünlerin tiobarbitürik asit ile reaksiyona girmesi sonucuyla da MDA ortaya çıkar (30,31). MDA proteinler ve fosfolipidlerle çapraz bağ oluşturabilir ve böylece özelliklerinin kaybolmasına sebep olur (32).



LH: Hedef poliansatüre yağ asidi, R: Baslatıcı okside edici ajan, $L^{\cdot}$: yağ asidi radikali, $LOO^{\cdot}$: lipid alkoksil radikali, $LOO^{\cdot}$: Lipid peroksil radikali, LOOH: lipid hidroperoksidi.

MDA'nın tespit edilen miktarları serbest radikal hasarı hakkında bilgi verir (20,33).

Poliansatüre yağ asidinin oksidasyonu, bir yağ asidi radikali meydana getirir. Bu yağ asidi peroksil radikali oluşturmak için hemen oksijene eklenir. Peroksil radikalleri,

zincir reaksiyonun taşıyıcılarıdır. Komsu poliansatüre yağ asidi moleküllerini okside edebilir ve yeni zincirler başlatabilir. Bu sırada lipid peroksidleri üretirler. Bunlar başka radikallere ve aldehitlere yıkılırlar (13,15,32).

Membran sistemlerinde, lipid peroksidasyonu başlangıç kimyasıyla ilgili bilinenler çok azdır. Demir iyonlarının, lipid peroksidasyonunda, başlangıç reaksiyonunu oluşturmaktan ziyade, zincir çoğaltan peroksil ve alkoksil radikallerinin peroksidasyonu stimüle ettiğini gösteren deliller vardır (34). Lipid peroksidler, lipid çift tabaka, biyomembran, organel düzeyi ve hücre metabolizmasında değişiklikler meydana getirirler.

Lipid peroksidasyon ürünü olan MDA miktarı, tiobarbitürik asit (TBA) testi ile ölçülmekte ve bu yöntem, lipid peroksid düzeylerinin tespitinde sıklıkla kullanılmaktadır (35,36). Ayrıca lipid peroksidasyonu sırasında oluşan ara bileşiklerden dien konjugatlarıyla lipid hidroperoksidlerinin ve son ürünlerden etan ve pentan gibi gazların ölçümü de son yıllarda, lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir (15,37,38).

Serbest radikallerin ayrıca proteinler, karbonhidratlar, DNA ve diğer moleküller üzerinde olumsuz etkileri bulunmaktadır.

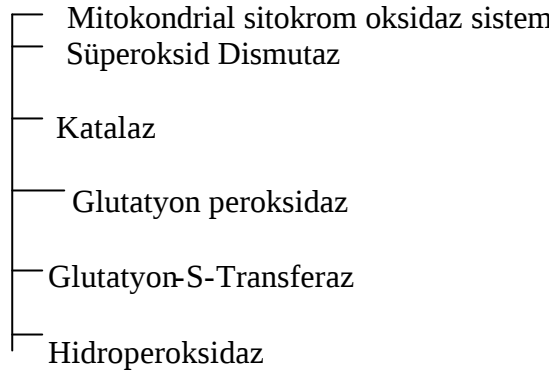
2.4. Antioksidan Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar “antioksidan savunma sistemleri” veya kısaca “antioksidanlar” olarak bilinirler. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler (39).

Antioksidanlar, doğal (endojen kaynaklı) ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere basitçe iki ana gruba ayrılabilir (39,40) gibi serbest radikalin meydana gelişini önleyenler ve mevcut olanları etkisiz hale getirenler şeklinde de ikiye ayrılabilirler. Ayrıca enzim olanlar ve olmayanlar şeklinde de sınıflandırılırlar. Hücrelerin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler.

A- Dogal (endojenler) antioksidanlar

1. Enzimler



2. Enzim olmayanlar

a) Lipid fazda bulunanlar $\begin{cases} a - \text{ tokoferol } (E - \text{ vitamin } i) \\ b - \text{ Karoten} \end{cases}$

b) Sivi fazda (hücre stozolünde veya kan plazmasında bulunanlar):

Askorbik asid, Melatonin, ürat, sistein, serüloplazmin, transferin, laktoferrin, miyoglobin, hemoglobin, ferritin, metiySonin, albumin, bilirubin, glutatyon.

B- Eksojen Antioksidanlar (ilaçlar)

C- Gıda antioksidanlar

Antioksidan Etki Tipleri

Antioksidanlar 4 ayrı şekilde etki ederler

1. Toplayıcı etki (scavenging etki)
2. Bastırıcı etki (quancher etki)
3. Onarıcı etki (repair etki)
4. Zincir kırıcı etki (chain breaking etki)

2.4.1. Enzimatik Antioksidanlar

1. Süperoksid Dismutaz (SOD): Süperoksid Dismutaz (EC 1.15.1.1). ilk olarak Mc Card ve Fridovich tarafından 1968 yılında tanımlanmış olup metalloenzim familyasına dahil bir enzimdir (41,42). Bu enzim, süper oksidin, hidrojen peroksid ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Hücresel bölmelerdeki süperoksid düzeylerini kontrol etmede önemli rol oynar(41,42).

Orgotein olarak da bilinen, aerobik hücrelerde yaygın şekilde bulunan SOD, fizyolojik PH'da süperoksid radikalının hidrojen perokside ve moleküler oksijene dönüşümünü spontan dismutasyondan 10.000 kez daha hızlı oranda katalizler. (9)

İnsanda SOD'in iki tipi bulunur. Bunlar sitozolde bulunan dimerik, Cu ve Zn ihtiva eden izomer (Cu-Zn-SOD) ile mitokondride bulunan tetramerik, Mn, ihtiva eden izomerdiler (Mn-SOD). Hücrede en bol bulunan izomer sitozolik Cu-Zn-SOD'dir. Her iki SOD'un katalizlediği reaksiyon aynıdır (43). Enzimin fizyolojik fonksiyonu; oksijeni, metabolize eden hücreleri süperoksid serbest radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktadır. Böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eder (44).SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku pO_2 artışı ile artar. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda üretilen süperoksid düzeyleri düşük tutulur. SOD'un ekstraselüler aktivitesi çok düşüktür (42). SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır. Doku oksijen basıncı artışı ile aktivitesi artarken, hipoksi esnasında azalır. Normal ve respiratuar distreslineonatlarda, eritrosit SOD'in bu özelliği, akciğere oksijen toksisitesini önler (40).

SOD'un fizyolojik fonksiyonu, aerobik organizmaları süperoksidin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Yine SOD'in singlet oksijeni bastırma yeteneğine de sahip olduğu kaydedilmiştir (17,40). SOD, sitotoksik süperoksid anyonunun hidrojen peroksid ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Aynı zamanda indirekt olarak sepiroksid anyonundan ve hidrojen peroksitten, hidroksil radikali ve hidroksil anyonu oluşumunu da baskılar (22).

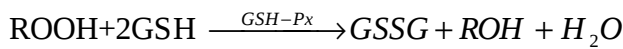
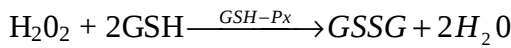
Son yıllarda sürdürülen çalışmalarda SOD'in akut hipertansiyonda gelişebilecek beyin hasarını önlemek amacıyla ilaç olarak kullanılabileceği yolunda veriler elde edilmiştir (45).

SOD, kollojeni süperoksid radikalının zararlı etkilerinden korur. Ekstraselüler sıvılar çok az miktarda SOD içerdiğinden, serbest radikallerin eser miktarları bile bu kompartmanda büyük hasarlara yol açabilirler (15).

2. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px): Glutasyon peroksidaz, hidroperoksidlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. GSH-Px (Glutasyon H₂O₂ oksidaredüktaz, EC 1,11,1,9), molekül ağırlığı 84.000 dalton kadar olup birçok dokuda bulunan tetramerik 4 Se atomu içeren sitozolik bir enzimdir (24). İlk kez Milis tarafından memeli eritrositlerinde gösterilmiştir (46). Enzimin prostetik grubu protohemdir. Peroksidaz tarafından katalizlenen reaksiyonlarda hidrojen peroksid askorbat, kinonlar ve sitokrom C gibi elektron akseptörleri olarak hareket eden birçok maddenin zararına olacak şekilde indirgenir. GSH-Px, tamamlayıcı bir komponenti olan selenyumla birlikte E vitamininden sonra ikinci bir savunma hattı olarak peroksidleri, membrana zarar vermeden yok eder (28).

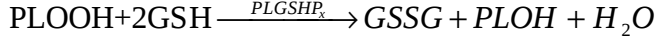
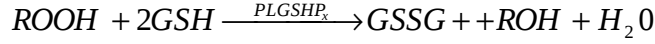
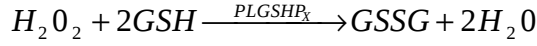
GSH-Px, çoğu hücrede sitozolde bulunur ve bir fosfolipaz tarafından membran fosfolipidlerinden ayrılan yağ asidi hidroperoksidleri ve hidrojen peroksidin her ikisi üzerine etkilidir (12).

GSH-Px'in katalizlediği reaksiyonlar(47).



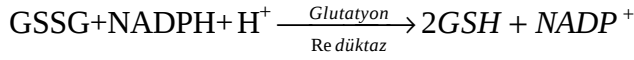
Fosfolipidlerin hidroperoksidlerinin GSH-Px'e etki etmeden önce, fosfolipaz A₂ ile hidrolize edilmiş olmaları gerektiği yolunda bulgular vardır. Kolesterol hidroperoksidlerin de GSH-Px'e dirençli olduğu bulunmuştur. Bu yüzden, fosfolipaz A₂'ye ihtiyaç duymadan membran fosfolipidlerini indirgeyebilen fosfolipid hidroperoksid Glutasyon Peroksidaz (PLGSH-Px) diye bilinen ikinci bir selenoenzimin etkileri araştırılmaya başlanmıştır (47).

Fosfolipid hidroperoksid glutasyon peroksidoz (PLGSH-Px) molekül ağırlığı 20.000 dalton olan, monomerik, selenyum atomu ihtiva eden sitozolik bir enzimdir. Membran fosfolipid hidroperoksidlerini alkollere indirger (47).



Membrana bagli antioksidan olan vitamin E sinirli oldugu zaman, PLGSH-Px membrani peroksidasyona karsi korunmasini saglar .

Hidroperoksidlerin redükte olması ile meydana gelen GSSG, glutatyon redüktazin katalizlediği reaksiyon ile tekrar GSH'a dönüşür.



GSH-Px, kemik iliği, timus, dalak, faringeal ve mezenterik lenf nodlarını içeren majör retikuloendotelial sistem (RES) dokularında ve ilaveten eritrosit, trombosit, eozinofil, monosit ve makrofajlarda bulunur (47).

Sağlıklı normal hücrelerde GSH/GSSG oranı 500/1 olacak şekilde korunmaktadır. GSH, hücredeki bütün GSH gruplarıyla dinamik bir denge halindedir.

Yaş ile bağıntılı GSH-Px aktivitesinin artışı, hidrojen peroksit oluşumunda bir artış olduğunu gösterir. İnsan eritrositlerinin yaşlanması süresinde hidrojen peroksidin anlık konsantrasyonları çok yüksek bulunabilir. Diabetes mellitusta eritrosit GSH-Px aktivitesinin düşük olduğu bulunmuştur (48).

3. Katalaz (oksidoredüktaz): Katalaz (H_2DH : H_2O_2 oksidoredüktaz, EC 1.11.1.6) 4 tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Molekül ağırlığı 225.000 Dalton olup mol başına 4 atom gram demir taşıdığı kabul edilir. Görevi, hidrojen peroksidi oksijen ve suya parçalamaktır. Peroksidaz aktivitesine sahip oluşuna ek olarak, bu enzim bir molekül hidrojen peroksidi elektron verici bir substrat olarak, diğerini de oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanabilir. Peroksisomlarda lokalizedir (28).

2.4.2. Enzimatik Olmayan Savunma Sistemleri

1. E Vitamini: Çoğunlukla hücre membranında bulunur ve eğer görevini yapamazsa serbest radikalleri membrani, DNA'yı ve diğer hücre komponentlerini

etkiler. E vitamini normal reproduksiyon, kas islevleri ve pek çok diger vücut fonksiyonu için gereklidir.

E vitamini tokoferol yapısında bir maddedir. Bitkisel yağların sabunlaşmayan kısımlarında; en çok da yer fıstığı, badem, pamuk yağı, ve keton tohumunda bulunur. (32). Yağlarda çözünmüş olarak bulunur, yağ sindirimi sırasında açığa çıkar ve emilir (39).

E vitamini, miyokardiyal, sitozolik ve mitokondriyal membranların belirgin konsantrasyonlarında tespit edilmiştir. In vitro çalışmalar E vitaminin serbest radikal toplayicisi ve miyokard membranlarının serbest radikallerce lipid peroksidasyonuna uğratılmasında koruyucu olduğu tespit edilmiştir (24). E vitamini alimiyla koroner kalp hastalığı riskinin azaldığını gösteren epidemiyolojik çalışmalar da vardır (49).

2. C Vitamini: C vitamini (askorbik asit), altı karbonlu bir yapıya sahip olup, içinde bir enediol grubu tasir. Kapalı formülü $C_6H_8O_6$ olan bir ketolaktondur. Suda eriyebilir. Vitaminlerden olan askorbik asit, özellikle yeşil renkli taze sebze, meyve ve turuncgillerde bol miktarda bulunur. Isitilmaya dayanıksız, dondurulmaya ise dayanıklıdır. Normal plazma düzeyi 0,5-1,5 mg/dl'dir (50).

İnsanlarda, vitamin C sentezini sağlayan L-glunolakton oksidaz enzimi olmadığı için, C vitaminin dışarıdan alınması gerekmektedir (50). vücuttaki normal C vitamin depoları hızla tüketilemez. Bu nedenle diyetle C vitamini eksikliğine bağlı olarak meydana gelen Skorbüt hastalığının ortaya çıkışı için en az 3-4 aylık bir süre gerekir (50,51).

Stres, travma esnasında, organizmanın C vitaminine ihtiyacının arttığı yolunda görüşler vardır (50). Düşük askorbik asit düzeyleri kronik inflamatuvar hastalıkların tüm tipleriyle ve lipid peroksidasyonunun artmış olduğu durumlarla ilişkilidir. Sigara içenlerde, koroner arter hastalığı olanlarda ve kanserli hastalarda plazma askorbat düzeyinin normalden daha düşük olduğu kaydedilmiştir (52).

C vitamininin vücuttaki en önemli görevi kollojen sentezidir. Aynı zamanda diş, kemik, derideki fiberlerin oluşumunu sağlar. Ayrıca immün sistemde de önemli

görevleri vardır. Eksikliği, ikincil enfeksiyonlar, deri kurumasi, dis dökülmesi, kanama, hiperkerotozis, kramplar, kas yorgunluğu gibi pek çok soruna neden olur.

2.4.3. Diğer Antioksidanlar

Karatonoidler: A vitamininin metabolik öncülü olan *b* -karoten, bitki pigmentlerinden olan karatonoid familyasının bir üyesidir. *b* -karotenin; singlet oksijeni bastırabildiği, süperoksid radikalini temizlediği ve peroksi radikalleri ile direkt olarak etkileserek antioksidan vazife gördüğü uzun zamandır bilinmektedir. Antioksidan etkisi, düşük oksijen basıncında en yüksek olup, prooksidan özelliklere sahip olması nedeniyle hipoksik şartlarda majör bir antioksidan olarak görev yapmaz (52).

Sivi fazda etkili diğer antioksidanlar (53)

Ürat: Normal plazma konsantrasyonunda hidroksil, süperoksid ve peroksi radikallerini ve singlet oksijeni temizlemektedir. Ayrıca C vitamininin oksidasyonunu engelleyici etkisi de bulunmaktadır. Fakat lipid radikalleri üzerine etkisi yoktur.

Sistein: Süperoksid ve hidroksil radikali topalayıcısıdır.

Albumin: LOOH ve HOCL tutucusudur.

Bilirubin: Süperoksid ve hidroksil radikali tutucusudur.

Seruloplazmin: Muhtemelen SOD'a benzer mekanizma ile etki gösterir.

Transferin ve Laktoferin: Dolasimdaki demiri bağlar.

Ferritin: Doku demirini bağlar.

2.5 Sigara

İnsanlık tarihinin en eski ve yaygın alışkanlığı olan sigara kullanımı, çağımızın en büyük toplumsal sorunlarını oluşturmaktadır. Tütün tutsaklığının her geçen gün yaygınlaşarak özellikle genç kısımları etkilemekte olduğu görülmektedir. Sigara, tütün bitkisinin kurutulmuş olan yapraklarından hazırlanır. Tütünün anayurdu Amerika'dır. Amerika'dan tütünü getiren Christopher Colomb (1492)'dur. Avrupa'ya getirilen tütün,

Fransızların Portekiz’de bulunan büyük elçisi Jean Nicot tarafından 1560 yılında Paris’e getirilmiştir. Tütünün içindeki en zehirli madde olan Nikotin, elçinin isminden gelmektedir (54).

1492’den önce Amerika kıtasının yerlileri tütünü tedavi ve dini amaçlar için kullanıyorlardı. Tütün ilk kez Osmanlı’ya 17. yy’da Venedikli ve Genovali denizciler tarafından İstanbul limanına getirilmiş ve Osmanlı’da kullanılmaya başlanmıştır (54).

Nikotin sigara dumanıyla vücuda alınan 4000 kimyasal maddeden biridir ve bu maddeler içinde beyne etkisi en belirgin olanıdır. Nikotin solunduktan 10 saniye sonra beyne ulaşır. Sigaranın içindeki nikotin bağımlılık yapar. Bağımlılık, bir maddenin kişinin sağlığını ve yaşamını olumsuz yönde etkilemesine rağmen kullanımının devamıdır (55).

Normal metabolizma sırasında açığa çıkan reaktif metabolitler büyük oranda antioksidan savunma komponentlerince ortadan kaldırılırlar (4). Sigara dumanı, inflamasyon, iski, yoğun egzersiz, iyonize edici radyasyon, fotokimyasal hava kirliliği, iskemi, travma, intoksikasyon gibi faktörlerin antioksidan kapasiteyi asabilecek kadar çok serbest radikal üretilmesine yol açtığı ileri sürülmektedir (39). Fotokimyasal hava kirliliği, kimyasallara maruz kalma ve sigara dumanı hücrelerde oksidatif strese yol açmaktadır (2).

Sigara içenlerin 1/3 her yıl bırakmayı dener. Bu insanların sadece 1/3 iki gün içmeden durabilirler. Sigarayı kendi başına bırakanların %7’si bir yıl içmemeyi başarabilirler. Sigara içen yetişkinlerin %87’sinde nikotin bağımlılığı vardır (55).

Nikotin bağımlılığı tıbbi açıdan, eroin, alkol ve kokain bağımlılığına benzerlik göstermektedir. Tiryaki olan bir insanın sigarayı bırakması, eroin bağımlısının eroini bırakması kadar zordur. Sigaradan ilk nefesin çekilmesi ile nikotin, birkaç saniyede beyne ulaşarak bazı merkezleri uyarmak suretiyle etkisini gösterir. Buna bağlı olarak ilk nefesten sonra bir rahatlama, endişe ve sıkıntının hafiflemesi ve zihnin daha hızlı çalışması gibi algıları olur. Ancak bu durum tahmin edilenin aksine sigaranın yarattığı bir rahatlama olmayıp çoğu kez yoksunluk hissinden kişinin vücudunun aradığı maddeye kavuşması ile duyduğu iyilik hissidir (56).

Saatte 200-250 km hızla ve 100 derecenin üzerinde sıcaklıkla dumanı ağız içine çarpan sigara, içerdigi 4000'den fazla zararlı madde ile insan sağlığında ciddi bozulmalara yol açar (57).

Boya sökücü aseton, akü yapımında kullanılan kadmilyum, roket yakiti metanol, çakmak gazı bütan, temizlik maddesi amonyak, fare zehiri arsenik, öldürücü zehir hidrojen, siyanür, naftalin bu 4000 maddeden sadece birkaç tanesidir. Nikotin ise sigarada bulunan bağımlılıktan sorumlu ana maddedir (57).

Yanmakta olan bir sigara dumanının 2/3'ü asla içen kişinin akciğerine ulaşmamakta, sigara içmeyenlerin de soluduğu havaya karışmaktadır. Pasif sigara içiciliğinde akciğer kanseri de dahil olmak üzere meme kanseri, rahim ağzı kanseri, kan kanseri gibi sigara içen kısıde görülen her türlü kanser çeşidi ve bronşit, amfizem, kalp krizi gibi her türlü hastalık artmış oranda görülmektedir. Emziren bir annenin sigara içmesi durumunda ise, bebekte kusma, dalginlik, çarpinti, mide, barsak sistemi bozuklukları ve bronşit, pnömoni gibi solunum yolu enfeksiyonları sık olarak görülmektedir. Sigara içenlerin yaşam süreleri içmeyenlere göre belirgin derecede kısalmaktadır (57).

2.6 Hemodiyaliz ve Oksidatif Stres

Reaktif karakterli atom ve moleküller, prooksidan elemanlar ve radikal reaksiyonların metaboliteleri ile bunlara karşı hücreler ve hücreler arasındaki ortamı korumaya çalışan antioksidan maddeler arasında balans, oksidan denge olarak tanımlanmakta ve hücresel ortamların karışık biyokimyasal ve fizyolojik işlevlerinde bu dengenin belirleyici bir rol oynadığı kabul edilmektedir (58,59).

Fizyolojik şartlarda insan vücudunda oluşan reaktif oksijen ürünleri (ROS) ile antioksidan defans bir denge halindedir. Yoğun ROS üretimi yada antioksidan defansın azalması biyomoleküllerde yapısal ve fonksiyonel modifikasyonlara yol açarak oksidatif strese neden olur. Kronik böbrek yetmezliği (KBY) sebep sonuç ilişkisi bilinmeyen oksidatif stres ile seyreden klinik tablolardan birisidir. Son dönem KBY hastalıklarının tedavilerinden birisi olan hemodiyaliz (HD) de oksidatif stresi artırıcı etki göstermektedir (60,61).

Hemodiyaliz hastalarında oksidan ajanların üretimi ve antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengesizliğin önemli bir morbidite kaynağı olduğu bildirilmektedir (62,63). Hemodiyaliz sırasında kullanılan biyolojik olarak uygunsuz membranların, lipopolisakkarit ve sitokin indükleyici maddeler ile inflamatuvar hücrelerin serbest radikal ve oksidan ürünlerin oluşmasına neden olabileceği belirtilmektedir (62). Bu olay, albümin gibi proteinlerin proteolitik degradasyonu ve protein çapraz bağlanması ile oksidasyonuna, LDL'nin oksidasyonuna ve eritrositlerin mikrohemolizle sonuçlanan hasrına neden olabilir. Hemodiyaliz hastalarındaki oksidatif stresin suda çözünen antioksidanlar olan ürik asit ve C vitamini kaybına da bağlı olabileceği üzerinde durulmaktadır (62).

HD tedavisi plazma SOD, katalaz, glutatyon redüktaz ve GSH-P_x gibi antioksidan enzim aktivitelerinde azalmaya yol açmaktadır (64,65).

Hepatit B, hepatit C gibi HD hastalarında sık rastlanan kronik inflamatuvar hastalıklar oksidatif strese etki göstermektedir (66). Üremik hastalarda HD'ye bağlı oksidatif stres kaynaklarının yanı sıra normal popülasyonda oksidatif strese yol açan diyabet, yaşlanma, hipertansiyon, dislipidemi ve sigara gibi etkenler, HD hastalarındaki oksidatif stres hasarını daha da artırabilmektedir.

2.7 Oksidatif Stres ve Hemodiyalizin Komplikasyonlari

Erken ateroskleroz olusumu son dönem böbrek yetmezligi olan hastalarin en önemli mortalite ve morbidite sebebidir. Oksidatif stres erken ateroskleroz olusumunun etyopatogenezinde önemli bir rol oynamaktadır (66).

HD'nin diger önemli komplikasyonlarından birisi de amiloidozdur (67). Anemi HD tedavisi alan hastalarda görülen bir diger önemli komplikasyondur. Aneminin patogenezinde oksidatif stresin rol oynadigi ileri sürülmektedir. Oksidatif stresin eritrosit yaşam süresini kisitladigi ve eritropoetin fonksiyonlarında bozukluga yol açtigi gösterilmiş ve bu yolla anemiye neden oldugu ileri sürülmüştür.

2.8 Hemodiyalizde Antioksidan Tedavinin Yeri

Oksidanlar lehine bozulan dengenin tekrar temininin saglanmasinin bir yolu da antioksidanlar ile tedavidir. HD hastalarında bu amaçla yapılan çalışmalarda antioksidan özelligi oldukça iyi bilinen E ve C vitaminleri, GSH ve N-asetil sistein gibi maddeler ile oksidan hasarin azaldigi gösterilmistir (68).

E vitamini verilen HD hastalarında eritrosit (68) ve trombosit (69) MDA düzeylerinin azaldigi, plazma GSH düzeyinin ise arttigi rapor edilmistir. (70). E vitamini eritrosit yaşam süresin arttirirken (71) plazma okside-LDL (72) ve AOPP (73) düzeylerinde de azalmaya neden olmaktadır (74).

HD hastalarında C vitamini kullanimi vücut antioksidan kapasiteyi arttirici etkisi nedeniyle oldukça önem tasimaktadır. (75) C vitamini kullanimi eritrosit GSH düzeyini ve plazma antioksidan kapasiteyi arttirirken, lipid peroksidasyonunun azalmasına yol açtigi gösterilmistir. (76) C vitamini verilen HD hastalarında kardiyovasküler mortalite ve morbiditenin de azaldigi gözlenmistir (77).

HD hastalarında mortalite ve morbidite oranlarinin azaltilmasinda oksidan ve antioksidanlar arasindaki dengenin korunmasinin önemi anlasilarak bir yandan oksidatif stres kaynaklari en aza indirgenmeye çalışilirken diger yandan da antioksidan kapasiteyi arttirmek için çalışmalar devam etmektedir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Vaka Seçimi

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Arastırma ve Uygulama Hastanesi hemodiyaliz ünitesi ve Van Yüksek İhtisas Hastanesi hemodiyaliz ünitesinde tedavi gören, en az 6 ay önce hemodiyalize giren, diabetes mellitusu, herhangi bir inflamatuvar hastalığı (kronik taşlı pyelonefrit, vaskülit vb) ve aktif enfeksiyonu olmayan hastalar çalışma grubu olarak alındı. Bu hastalar sigara içen ve içmeyen olarak iki gruba ayrıldı. Sigara içen grup 17, içmeyen grup ise 21 hastadan oluştu. Yine aynı cinsiyet ve yaş grubundan 16 sağlıklı birey kontrol grubu olarak alındı. Çalışmaya alınan şahısların özellikleri tablo 2’de sunulmuştur.

Tablo 2. Çalışmaya alınan şahısların özellikleri ($\bar{x} \pm SD$)

	Kontrol grubu (n=16)	Sigara içmeyen Diyaliz Grubu (n=21)	Sigara içen Diyaliz grubu (n=17)
Yaş	34,88±9,84	39,62±8,47	35,35±11.10
Cinsiyet	12 Erkek 4 Kadın	14 Erkek 7 Kadın	15 Erkek 2 Kadın

3.1.2. Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması

Çalışmaya alınan hastalardan diyaliz öncesi 15 ml venöz kan ve yine kontrol grubundan da 15 ml venöz kan alındı. Bu kanın 10 ml’si eritrosit paketi hazırlamak için EDTA’lı tüplere, 5 ml’side düz tüplere konularak sanrifüj edildi ve elde edilen serumda glikoz, üre, kreatinin, total bilirubin, direkt bilirubin, indirekt bilirubin, total protein, albumin, alkalen fosfataz, sodyum, potasyum, kalsiyum, klor ve fosfor bakıldı.

3.1.3. Eritrosit paketi hazirlanmasi

EDTA'li 10 ml kan ve 5 ml (% 50 oraninda) dekstran solüsyonu (mol agirligi 70.000) enjektöre alinarak karistirildi. Alt üst edildikten sonra enjektör, pistonunun üzerinde dik duracak sekilde 1 saat bekletildi. Bir saat sonra, enjektörün üst kismindeki sivi, enjektör ucundan egilerek, yavasça bosaltildi. Eritrositler ayni oranda soguk serum fizyolojik ilâvesiyle 2000 devir/dk'da bes dakika santrifüj edildi. Islem üç kez tekrarlanarak eritrosit paketi elde edildi. Elde edilen eritrosit paketinde hemoglobin ve lipid peroksidasyonu tayin edildi. Paketin kalan kis mindan SOD ve GSH-Px aktivitesi ölçümleri yapildi.

3.1. 4. Kullanilan Cihazlar ve Reaktifler

- 1- Sogutmali Santrifüj: Nüve N 1000 R Seri No: 01118
- 2- Otoanalizör: Roche Modüler Autoanalyser,Tokyo,Japon
- 3- Spektrofotometre: Pharmacia - Biotech Novaspec II Seri no: RS 232C
- 4- Vorteks: Type 16700 mixer. Sen No: 233244.
- 5- Hassas terazi: Sartorius Basic. Seri No: 40.240.953.
- 6- Derin dondurucu: Boch duotronic Seri No: 102.709.501.
- 7- Ayarlanabilir otomatik pipetler: Socorex Swiss.
- 8- pH metre: Orion pH Metre 420 A Seri No: 011076
- 9- Portatif CO ölçüm cihazı: Pico smokerlyzer, Bedfont Scientific LTD.

Kullanilan kimyasal madde ve reaktifler

1.Eritrosit paketi hazirlanmasinda:

Dekstran-70, Makrodex, % 6 NaCl solüsyonu, Eczacibasi

Serum fizyolojik, % 0,9'luk izotonik NaCl solüsyonu, Haver

2. Lipid peroksidasyonu için:

Fosfat tamponu hazirlanmasinda:

Butylated Hydroxytoluene, BHT (C₅H₂₄O): B 1378, Sigma

Ethilendiamintetraaceticacid, EDTA (CioHHNzNAzOglEkO) Sigma

Natrium hydroxide (NaOH): 535 C 549562, Merck

Primer sodyum fosfat (NaH₂PO₄): 401 K 3481045, Merck

Sekonder sodyum fosfat (Na₂HPO₄): 743 K 0066662876, Merck

Sodyum klorür (NaCl):508 K 49900, Merck

Thiobarbitüric acid, TBA (C₄H₄N₂O₂S): T 5500, Sigma

Trichloroacetic acid, TCA (CCl₃ - COOH): 409 K3779910, Merck

3.Süperoksid dismutaz (SOD) için:

Süperoksid Dismutaz enzim kiti, Randox – Ransod

4.Glutatyon peroksidaz (GSH - Px) için:

Glutaton peroksidaz enzim kiti, Randox – Ransel

Drabkin solüsyonu:

Potasyum siyanür (KCN): Merck

Potasyum ferri siyanür (K₃FeCN): Merck

Sodyum bikarbonat (NaHCC₃): MerckKK

Deneylerde kullanılan çözeltiler

1-Lipid peroksidasyonu için;

Fosfat tamponu: 8.1 gr NaCl, 2.302 gr Na₂HPO₄ ve 0.194 gr NaH₂PO₄ tartilip distile su ile bir litreye tamamlandı ve pH 7.4'e ayarlandı.

BHT çözeltisi: 88 mg BHT tartilip 10 mg absolü etanolda çözündürüldü.

EDTA çözeltisi: (0.1M): 37.224 gr EDTA - Na₂H₂O tartilip distile su ile 1 litreye tamamlandı.

TCA çözeltisi (% 30'luk): 30 gr TCA distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

TBA çözeltisi (% l'lik): 1 gr TBA 100 ml 0.05 N NaOH içerisinde çözündürüldü.

2-Azide buffer: 520 mg sodyum azid 20 ml distile suda çözündürüldü.Bunun 10 ml'si 1000 ml buffer saline eklendi

3-Hidrojen peroksit solüsyonu: % 35'lik hidrojen peroksit'in 7,73 ml'sine 2,27 ml distile su eklendi. Bunun 5,5 ml'si distile su ile 100 ml'ye tamamlandı. Daha sonra bundan 2 ml alınarak üzerine 98 ml buffer saline ilave edildi.

4-Drabkin solüsyonu (iki kat konsantre): 50 mg potasyum siyanür, 1 gr NaHCO_3 , 200 mg potasyum ferri siyanür, deiyonize su ile 500 ml'ye tamamlandı.

3.2. Metot

3.2.1. Lipid peroksidasyonu tayini

Serbest radikallerin, doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunu arttırması sonucu oluşan lipid peroksidasyon ürünlerinden MDA, TBARS yöntemi (35) ile ölçülerek lipid peroksidasyonu tayin edildi.

Metot, yağ asitlerinin peroksidasyonunda bir son ürün olan MDA (malondialdehit)'in TBA (tiobarbitürik asit) ile reaksiyona girerek 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümde maksimum absorbanı vermesi prensibine dayanmaktadır.

Deneyin yapılışı:

Hazırlanan eritrosit paketinden alınan 200 ml numune ve 800 ml fosfat tamponu, 25 ml BHT ve 500 ml % 30'luk TCA tüpte karıştırıldı. Tüpler buz içinde (2 saat) bekletildikten sonra, (2000 rpm + 4 °C, 15')da santrifüj edilip, oluşan süpernatandan 1 ml tüpe alındı. Üzerine 0.1 mol EDTA'dan 75 ml ve % 1'lik TBA'dan 250 ml eklendi ve 15' kaynar su banyosunda bekletildikten sonra spektrofotometrede 532 nm ve 600 nm dalga boyunda ayrı ayrı absorbanları okundu. 532 nm'deki absorbanı değerinden 600 nm değeri çıkarıldı ve hemoglobin faktörü elimine edildi. Çıkan sonuç ekstinsiyon katsayısı ile çarpıldı.

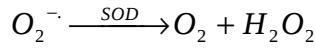
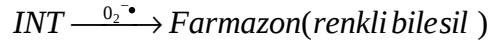
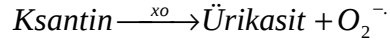
3.2.2. Eritrositlerin in vitro oksidasyona duyarlılıklarının tespiti

Eritrositlerin in vitro oksidasyona duyarlılıkları Stoks ve ark. (12)'nin metodları kullanılarak belirlendi. Bu amaçla azid buffer'le eritrosit süspansiyonu hazırlandı ve bunda tiobarbitürik asit (TBA) reaktifıyla spektrofotometrik olarak

MDA seviyesi belirlendi (0. saat). Daha sonra aynı eritrosit süspansiyonuna hidrojen peroksit ilave edilerek 37⁰ C’de 2 saat inkübe edildi. 2 saat sonunda yine TBA ile MDA seviyesi belirlendi (2. saat). Bu arada eritrosit süspansiyonunun hemoglobin konsantrasyonu ölçüldü ve MDA değerleri nmol/g Hb olarak ifade edildi.

3.2.3. Süperoksid Dismutaz enzim tayini

Ksantin oksidazın katalizlediği reaksiyonla ksantinden ürik asit ve süperoksid radikali oluşur. Süperoksid radikali INT ile muamele edildiğinde ise kırmızı renkli farmazon bileşiği oluşturur. SOD aktivitesi bu reaksiyonun inhibisyon derecesi ile ölçülür(31).



Deneyin yapılışı:

Kit prospektüsü uyarınca yapılan çalışmada, alınan sonuçlar aşağıdaki denkleme göre hesaplanarak değerlendirildi.

$$100 - \frac{\Delta A(numune) / dk \times 100}{\Delta A(kör) / dk} = \%inhibisyon$$

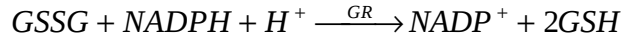
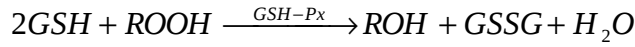
$$100 - \frac{\Delta A(s tan dart) / dk \times 100}{\Delta A(kör) / dk} = \%inhibisyon$$

ΔA = absorbans değişimi

3.2.4. Glutatyon Peroksidaz enzim tayini

GSH-Px tayini, Paglia ve Valentin metodlarına dayanan prensip ile kit prospektüsü doğrultusunda yapıldı. GSH-Px, kümen hidroperoksidin glutatyonu okside eden reaksiyonunu katalizler. Ortamda glutatyon redüktaz ve NADPH

varsa GSSG (okside glutatyon), NADPH'in NADP^+ a oksidasyonu ile GSH'a indirgenir.



Deneyin yapilisi:

Eritrosit paketi ile hazirlanan numuneden kit prospektüsü dogrultusunda gerçeklestirilen çalışmada, enzim aktivitesi, faktör ve dakika absorbans degisimi çarpimi ile bulundu.

3.2.5. Biyokimyasal Parametreler

Serum glikoz, üre, kreatin, BUN, total bilirubin, direkt bilirubin, indirekt bilirubin, total protein, albumin, alkalin fosfat, sodyum, potasyum, kalsiyum, klor ve fosfor seviyeleri, rutin yöntemlerle ticari kitler kullanılarak tayin edildi.

3.2.6. İstatiksel Analizler

İstatistiksel analizler Windows XP pro işletim sistemli PC'de SPSS 11,5 paket programi kullanılarak yapıldi. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak ifade edildi. Veriler One-sample Kolmogorov Smirnov testi uygulanarak dagilim yönünden analiz edildi. Tüm gruplar normal dagilim gösterdigi için ($p>0,05$) gruplar arasi istatistiksel karsilastirmada parametrik bir test olan tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulandi. Post-hoc Tukey HSD testi kullanılarak, istatistiksel anlamlilik test edildi. Ayrica Pearson korelasyon testiyle parametreler arasinda korelasyon olup olmadigina bakildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızı oluşturan kontrol ve sigara içmeyen diyaliz grubuna ait bulgular tablo 3'te sunulmuştur.

Tablo 3. Kontrol ve Sigara İçmeyen Hemodiyaliz Grubuna Ait Bulgular

Parametreler	Birim	Kontrol grubu (n=16)	Sigara içmeyen hemodiyaliz grubu (n=21)
Eritrosit SOD	U/gHb	1932,96±523,09	1144,45±834,26**
Eritrosit GSH-Px	U/gHb	46,55±6,71	42,06±6,84
Üre	mg/dl	33,50±6,51	159,28±43,61-***
Kreatinin	mg/dl	0,74±0,10	10,38±2,92***
Total bilirubin	mg/dl	0,71±0,35	0,56±0,21
D. Bilimbin	mg/dl	0,18±0,18	0,13±0,81
I. Bilirubin	mg/dl	0,57±0,28	0,45±0,21
Sodyum	mmol/l	139,44±3,85	135,53±16,44
Potasyum	mmol/l	4,04±0,31	5,16±0,95***
Klor	mmol/l	102,69±3,66	100,30±11,60
Kalsiyum	mg/dl	9,35±0,52	8,03±2,13*
Fosfor	mg/dl	3,93±0,64	6,24±1,53***
Protein	g/dl	7,34±0,60	6,71±1,56
Albumin	g/dl	4,33±0,39	3,59±0,80**
Eritrosit MDA (0. saat)	nmol/gHb	112,28±38,08	207,08±100,09**
Eritrosit MDA (2. saat)	nmol/gHb	208,44±53,57	355,90±122,78**
ALP	U/L	173,81±26,74	466,95±496,63*

* p<0,05, ** p<0,01, ***p<0,001

Tablo 3'te görüldüğü gibi kontrol grubuna göre sigara içmeyen hemodiyaliz grubunda üre, kreatinin, potasyum, fosfor, diyaliz öncesi eritrosit MDA ve in vitro oksidasyon sonrası eritrosit MDA seviyeleri anlamlı olarak yükselmiş bulunurken (p<0.01), eritrosit SOD, kalsiyum ve albumin düzeyleri anlamlı olarak azalmış bulundu (p<0,05). Diğer parametreler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark yoktu (p>0,05).

Kontrol ve sigara içen hemodiyaliz gruplarına ait bulgular tablo 4'te gösterilmektedir.

Tablo 4. Sigara İçen Hemodiyaliz hastaları ve kontrol grubuna ait bulgular

Parametre±ler	Birim	Kontrol grubu (n=16)	Sigara içen hemodiyaliz grubu (n=17)
Eritrosit SOD	U/gHb	1932,96±523,09	884,33±733,22***
Eritrosit GSH-Px	U/gHb	46,55±6,71	37,45±11,56**
Üre	mg/dl	33,50±6,51	166,0±36,96***
Kreatinin	mg/dl	0,74±0,11	10,74±3,78***
Total bilirubin	mg/dl	0,71±0,35	0,53±0,17
D. Bilimbin	mg/dl	0,15±0,18	0,10±0,04
I. Bilirubin	mg/dl	0,57±0,28	0,43±0,16
Sodyum	mmol/l	139,44±3,85	138,24±12,39
Potasyum	mmol/l	4,04±0,31	5,13±0,6***
Klor	mmol/l	101±,69±3,66	101,82±9,42
Kalsiyum	mg/dl	9,35±0,52	8,29±1,40
Fosfor	mg/dl	3,93±0,64	7,26±2,31***
Protein	g/dl	7,34±0,60	6,77±1,11
Albumin	g/dl	4,33±0,39	3,79±0,56*
Eritrosit MDA (0. saat)	nmol/gHb	112,28±38,08	248,57±106,60***
Eritrosit MDA (2. saat)	nmol/gHb	208,44±53,57	451,46±153,34***
ALP	U/L	173,81±26,74	348,00±198,64

*p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001

Tablo 4'e bakıldığında kontrol grubuna göre sigara içen hemodiyaliz grubunda üre, kreatinin, potasyum, fosfor, predializ öncesi eritrosit MDA ve invitro oksidasyonu sonrası eritrosit MDA seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı artış gösterirken (p<0,001), eritrosit SOD, eritrosit GSH-Px, kalsiyum ve albumin seviyeleri düşüş gösterdi (p<0,05). Diğer parametreler açısından anlamlı bir fark bulunamadı (p>0,05).

Sigara içen ve içmeyen hemodiyaliz gruplarına ait bulgular tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5. Sigara İçen ve İçmeyen Hemodiyaliz Gruplarına Ait Bulgular

Parametreler	Birim	Sigara içen hemodiyaliz grubu (n=17)	Sigara içmeyen hemodiyaliz grubu (n=21)
Eritrosit SOD	U/gHb	884,33±733,22	1144,45±834,20
Eritrosit GSH-Px	U/gHb	37,45±11,56	42,06±6,84
Üre	mg/dl	166,0±36,96	159,29±43,61
Kreatinin	mg/dl	10,74±3,48	10,38±2,92
Total bilirubin	mg/dl	0,53±0,17	0,56±0,21
D. Bilimbin	mg/dl	0,10±0,04	0,13±0,08
I. Bilirubin	mg/dl	0,43±0,16	0,45±0,21
Sodyum	mmol/l	138,21±12,39	135,53±16,44
Potasyum	mmol/l	5,13±0,55	5,16±0,95
Klor	mmol/l	101,82±9,42	100,30±11,60
Kalsiyum	mg/dl	8,29±1,40	8,03±2,13
Fosfor	mg/dl	7,26±2,31	6,24±1,53
Protein	g/dl	6,77±1,11	0,71±1,56
Albumin	g/dl	3,79±0,56	3,59±0,80
Eritrosit MDA (0. saat)	nmol/gHb	248,57±106,60	207,08±100,09
Eritrosit MDA (2. saat)	nmol/gHb	451,46±153,34*	353,90±122,78
ALP	U/L	348,00±198,64	466,95±496,63

* p<0,05

Tablo 5’te görüldüğü gibi, sadece sigara içen hemodiyaliz grubunun in vitro oksidasyon sonrası eritrosit MDA seviyesi, sigara içmeyen hemodiyaliz grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı bir artış gösterirken (p<0,05), diğer parametreler açısından iki grup arasında anlamlı bir fark tespit edilemedi (p>0,05).

Ayrıca sigara içen grupta karbonmonoksit seviyesi ile eritrosit GSH-Px, SOD ve MDA seviyeleri arasında ve yine her üç grupta da eritrosit GSH-Px SOD ve MDA seviyeleri arasında herhangi bir korelasyon tespit edilemedi. Sigara içen grubun CO değeri 11.11 ± 8.47 ($\bar{X} \pm SD$) idi.

5. TARTISMA VE SONUÇ

Fizyolojik sartlarda insan vücudunda belirli miktarda serbest oksijen radikalleri oluşur. Ancak oluşan bu serbest radikallerin etkileri yine vücuttaki antioksidan mekanizmalar tarafından ortadan kaldırılır. Yani organizmadaki oksidan ve antioksidan olaylar, sağlıklı bir vücutta denge halindedir. Ancak zaman zaman antioksidan kapasitenin azalması ya da organizmada bu kapasitenin üzerinde bir oksidatif stresin oluşması bu dengeyi bozabilir. Bu durumda yoğunluğu artan serbest oksijen radikalleri, lipid peroksidasyonuna ve dolayısıyla da hücresel yapı ve moleküllere zarar veren reaktif ürünlerin oluşmasına yol açabilirler (11). Artık günümüzde, yaşlanma, ateroskleroz, diyabet, çeşitli inflamatuvar hastalıklar ve kanser gibi pek çok hastalığın patogenezinde serbest radikallerin rol oynayabileceği bilinmektedir. (78-81).

Kronik böbrek yetmezliği olan hemodiyaliz hastalarında da sebep-sonuç ilişkisi çok iyi anlaşılmamasına rağmen oksidatif stresin arttığı bilinmektedir (66). Serbest oksijen radikallerinin artışıyla karakterize oksidatif stresin gösterilmesinde en çok kullanılan parametre, lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA) tayinidir (11). Hemodiyaliz hastalarında plazma malondialdehit seviyesinin arttığını gösteren pek çok çalışma bulunmaktadır (82-84). Ayrıca hemodiyaliz hastalarının eritrosit membran lipid peroksidasyonunda da artış olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (3,85). Hemodiyaliz hastalarında artan serbest radikal üretiminin en önemli kaynağının kullanılan diyaliz membranlar ve diyalizat sıvılarının aktive ettiği polimorf nükleer lenfositler (PMNL) olduğu bildirilmektedir (86,87). PMNL'in aktive olması sonucu ortaya çıkan solunum patlamasından dolayı basta süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot -}$) olmak üzere, hidrojen peroksit (H_2O_2), nitrik oksit (NO) ve hipoklorik asit (HOCl) gibi reaktif ürünler ortaya çıkmaktadır. Açığa çıkan bu oksidanların yanı sıra, diyaliz membrani ve diyalizat sıvıları alternatif kompleman yolunu aktive ederek de hücre hasarına yol açmaktadır (88,89). Diyaliz membrani ve sıvısı sitokinlerin salınımına yol açabilmekte (90,91), bu sitokinlerin uyarışı ile aktive olan PMNL'den kaynaklanan serbest oksijen radikalleri de sitokinlerin transkripsiyon faktörlerini aktive ederek, sitokinler ve serbest oksijen radikalleri arasında kısır döngüye neden olmaktadır (92). Böylece hemodiyaliz hastalarının gerek plazma ve gerekse eritrosit membranlarında oksidatif hasar artmaktadır. Lucchi ve ark (93) farklı hemodiyaliz

membranlari kullanarak yaptıkları çalışmalarında, eritrositlerdeki oksidatif stresin kullanılan membrana göre değistigini göstermislerdir. Bu araştirmacılar özellikle biyolojik uyumlu olmayan diyaliz membrani kullanımında, hemodiyaliz hastalarının eritrositlerinde oksidatif stresin arttığını ve bu hücrelerin yaşam sürelerinin kıaldığını bildirmislerdir. Ayrıca hemodiyaliz hastalarında eritrositlerde artan oksidatif stresin bir diğer nedeni, bu hücrelerin membranındaki çoklu doymamıs yağ asitlerinin lipid peroksidasyonuna yatkın hale gelmesine bağlanmaktadır. Nitekim eritrosit membrani çoklu doymamıs yağ asitlerinden fosfatidilserin ve fosfatidiletanolamini fazlaca içermektedir (3). Binomini ve ark. (94) üremik eritrositlerin makrofajlar tarafından tanınmasının ve fagosit edilmesinin sağlıklı kontrollerin eritrositlerden daha fazla olduğunu göstermislerdir. Araştirmacılar buna sebep olarak da üremik eritrositlerin membran yüzeylerinde artan fosfatidilserin miktarını göstermislerdir.

Hemodiyaliz hastalarında oksidatif hasarın artısının başka bir nedeni de bu hastaların, antioksidan kapasitelerinin azalmıs olmasıdır. Nitekim, yapılan çeşitli çalışmalarda özellikle antioksidan vitaminlerin diyaliz sıvısıyla organizmadan uzaklaştırıldığı ve böylece antioksidan kapasitelerin azaldığı gösterilmiştir (95,96). Ayrıca böbrek yetmezliği olan hastalarda eritrosit antioksidan kapasitesinin düştüğü de bildirilmektedir (96,97).

Bizim bu çalışmamızda hem sigara içen, hem de sigara içmeyen hemodiyaliz hastalarında eritrosit MDA düzeyi kontrol grubuna oranla önemli derecede yüksek bulunmuştur ($P<0,01$). Ancak sigara içen hemodiyaliz hastalarının eritrosit MDA seviyeleri, sigara içmeyen gruba oranla yüksek bulunmasına rağmen anlamlı bir fark gözlenmedi. Kontrollere oranla her iki grup hemodiyaliz hastalarının da eritrosit MDA seviyelerinin yüksek olması, bu hastaların eritrositlerinde oksidatif stresin arttığını göstermektedir. Bu çalışmanın amaçlarından birisi hemodiyaliz hastalarında hemodiyaliz işlemine ilaveten sigara içiminin oksidatif strese etkisini araştırmaktır. Bu şekilde yapılan sinirli sayıda araştırma mevcuttur. Wang ve ark. (83), sigara içen hemodiyaliz hastalarında plazma MDA seviyesinin, içmeyenlerden daha yüksek olduğunu göstermislerdir. Yine Lim ve ark (84) yapmıs oldukları bir çalışmada benzer şekilde plazma MDA seviyesinin sigara içen hemodiyaliz hastalarında, sigara içmeyenlerden daha fazla olduğunu bildirmislerdir. Görüldüğü gibi her iki grup

arastirmaci da sigara içiminin MDA seviyelerine etkisini plazmada çalışmışlardır. Oysa bizim çalışmamızda sigaranin eritrosit MDA seviyelerine etkisi çalışılmıştır. Dolayısıyla çalışmamız diğer çalışmalardan bu yönüyle farklılık göstermektedir. Ayrıca çalışmamızın en önemli bir diğer farklı yönü hemodiyaliz hastalarında (sigara içen ve içmeyen) eritrositlerin in vitro oksidasyona duyarlılığın araştırılmasıdır. Yaptığımız literatür araştırmasında bu konuda yapılmış bir çalışmaya rastlayamadık. Sadece Srouf ve ark (85) yaptıkları çalışmalarında insüline bağımlı olmayan diyabetik hastalar, hemodiyaliz hastaları, sigara içen sağlıklı kişiler ve kontrol grubunun eritrositlerinde in vitro oksidasyona duyarlılığı çalışmışlar ve kontrollere göre diğer grupların eritrositlerinin oksidasyona daha duyarlı olduğunu göstermişlerdir. Yani Hemodiyaliz hastalarının eritrositlerinin in vitro oksidasyona daha duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda hemodiyaliz hastalarının (sigara içen ve içmeyen grup) eritrositlerin in vitro oksidasyona duyarlılığı kontrollere göre önemli oranda artmıştır ($p < 0.01$). Ayrıca sigara içen grubun eritrositlerinin in vitro oksidasyona duyarlılığı sigara içmeyen gruptan daha fazlaydı ($p < 0.05$). Bu durumda, sonuçlarımız hemodiyaliz hastalarında eritrositlerin in vitro oksidasyona daha duyarlı olduklarını, ayrıca sigara içiminin bu duyarlılığı daha da arttırdığını göstermektedir. Her iki hemodiyaliz hasta grubunda da gerek önceden mevcut olan artmış oksidatif stres, gerekse in vitro oksidasyona karşı artmış olan duyarlılığın nedeni yukarıda belirtilen mekanizmalarla açıklanabilir. Yani bu hastalarda kullanılan diyaliz membranları ve diyalizat sıvılarının neden olduğu fagositik hücrelerdeki artış, eritrosit membran yüzeyindeki fosfolipit içeriğindeki değişiklikler ya da antioksidan kapasitedeki azalmaların tümü ya da bir kısmı eritrositlerdeki oksidatif stresin nedeni olabilir.

Sigara içen hemodiyaliz hastalarının eritrositlerinin in vitro oksidasyona duyarlılığının sigara içmeyenlere oranla daha fazla olmasını ise sigaranın da ilave oksidan etkisine bağlayabiliriz. Kimyasal ve organik maddelerin yansımaları ile açığa çıkan özel maddelerin serbest radikallerin olası kaynakları olduğu ileri sürülmektedir (98). Sigara dumanı, akciğerlere alınmış basitçe yanmış maddedir. Sigara dumanının doymamış yağ asitlerinde oksidasyona yol açtığı, hücre ve doku yıkımının çoğunun başlatıcısı olan bu reaksiyon ile lipitlerin peroksidasyonu ve proteinlerin parçalanmasına neden olduğu bilinmektedir (2). Sigara dumanı çok sayıda oksidan içerir, plazma ve eritrositte lipit peroksidasyonunu tetikler (99). Ayrıca in vitro çalışmalarla sigara

dumaninin gaz fazına maruz kalan plazmada lipid peroksidlerin arttığı gösterilmiştir. (100). Yine sigaranın spesifik bir prooksidan mekanizmaya sahip olabileceği, eritrosit ve plazma MDA seviyelerini yükselttiği bildirilmiştir(4).

Çalışmamızda enzimatik antioksidan mekanizmalardan eritrosit SOD'un hem sigara içen, hem de içmeyen hemodiyaliz hastalarında kontrollerden daha düşük olduğu bulundu ($P < 0.01$). Eritrosit GSHP_x aktivitesi ise sigara içmeyen grupta kontrollerden istatistiksel olarak farklı değilken ($P > 0.05$), sigara içen hemodiyaliz hastalarında anlamlı oranda düşüktü ($P < 0.01$). Eritrosit SOD ve GSH - P_x aktiviteleri açısından sigara içen ve içmeyen gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($p > 0.05$) Hemodiyaliz hastalarında gerek plazma gerekse eritrositlerde antioksidan kapasitenin azaldığını gösteren pek çok çalışma bulunmaktadır (3, 83-85,). Ayrıca sigara içen hemodiyaliz hastalarında, içmeyenlere göre plazmadaki antioksidan kapasitenin daha da düştüğü gösterilmiştir (83,84). SOD ve GSH-P_x birincil enzimatik antioksidan savunma sistemini oluştururlar (101). Hemodiyaliz hastalarında eritrositlerdeki antioksidan kapasitenin düşmesine çeşitli faktörler etkili olabilir. Bunlardan en önemlisi eritrositlerde artan oksidan ajanların bu antioksidanların tüketimini arttırması olabilir (3). Ayrıca böbrek bozukluğu olan hastalarda çeşitli metabolitlerin ve serbest radikallerin birikmesi antioksidan enzimlerin inhibisyonuna neden olabilir (102). Yine bu hastalarda sigara içimi de bu olumsuz durumu arttırıcı bir rol oynayabilir.

Yawata ve Jacob (103) hemodiyaliz hastalarında pentoz-fosfat yolunun bozulduğunu göstererek; NADPH üretiminin azalması, NADP'nin arttığını (NADP/NADPH oranının artması) bildirmişlerdir. Bu hastalarda eritrosit NADPH oranının azalması redükte glutatyonun oluşumunun azalmasına ve sonuçta buna bağlı olan GSH-P_x aktivitesinin azalmasına yol açacaktır. Çünkü GSH-P_x, hidrojen peroksit ve organik peroksidlerin indirgenmesini katalizleyen bir enzimdir ve bu görevini de glutatyonu indirgeyici bir ajan gibi kullanarak yapar. Böylece hücre membranını lipid peroksidasyonuna karşı korur (104). Nitekim yapılan çalışmalarda hemodiyaliz hastalarında eritrosit içi redükte glutatyonun azaldığı gösterilmiştir (85,103,105). Yine sigara içenlerin eritrositlerinde de redükte glutatyon seviyesinin azaldığı bildirilmiştir (85,106). Eritrositlerde redükte glutatyonun oluşumu için gerekli NADPH'in tek kaynağı pentoz-fosfat yoludur. Diğer hücrelerde bu yola ilaveten alternatif malik enzim

yolu ile de NADPH üretimi sağlanır (107). Ancak eritrositlerde bu yolun olmaması ve pentoz fosfat yolunun da bozulması durumunda hemodiyaliz hastalarında redükte glutatyon seviyesi ve neticede GSH-Px aktivitesi azalacaktır. Ayrıca hemodiyaliz hastalarında iz elementlerin seviyesinin değiştiği, örneğin plazma Se ve Zn seviyesi ile eritrosit Se'unun azaldığı unutulmamalıdır (108). Selenyum GSH-PX'in prostetik grubu olarak görev yapar(109). Dolayısıyla Se eksikliği GSH Px aktivitesinde azalmaya yol açabilir.

Sonuç olarak, bu çalışmada gerek sigara içen gerekse içmeyen hemodiyaliz hastalarının eritrositlerinde lipid peroksidasyonunun arttığı, antioksidan kapasitenin azaldığı ve in vitro oksidasyona duyarlılıklarının da arttığı gösterilmiştir. Ayrıca sigara içiminin eritrositlerdeki bu oksidatif stres daha fazla arttırabileceği, en azından eritrositlerin in vitro oksidasyona karşı duyarlılığını daha da arttırdığı söylenebilir. Bu sonuçlara bakarak hemodiyaliz hastalarının sigara içiminin kısıtlanması ve bu hastalara antioksidan takviyesinin gerektiği düşünülebilir.

ÖZET

Kaya E, Sigara içen ve içmeyen hemodiyaliz hastalarında eritrositlerin in vitro oksidasyonuna duyarlılığı, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Van, 2006. Kronik böbrek yetmezlikli bireylere uygulanan hemodiyaliz, yetersiz böbrek fonksiyonunu kompanse etmesinin yanı sıra, lökosit ve eritrosit gibi kan hücrelerinin de oksidatif metabolizmasını etkileyebilmektedir. Ayrıca sigara dumanı da hücre doku hasarına yol açan oksidatif stresi arttırmaktadır. Bu çalışmada sigara içen ve içmeyen hemodiyaliz hastalarında eritrositlerdeki oksidatif stresi ve in vitro oksidasyona duyarlılıklarını araştırmayı amaçladık. Bu amaçla denekler kontrol, sigara içen ve içmeyen hemodiyaliz hastası olmak üzere üç gruba ayrıldı. Üç grupta da eritrosit lipid peroksidasyonu, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) seviyeleri ölçüldü. Ayrıca eritrositlerin in vitro oksidasyona duyarlılıkları tespit edildi. Sigara içen ve içmeyen grupların eritrosit malondialdehit (MDA) seviyeleri kontrollerden yüksek bulundu ($P<0,01$). Her iki grubun eritrosit SOD aktivitesi kontrollere göre azalmışken ($P<0,01$), sadece sigara içen hemodiyaliz grubunun GSH-Px aktivitesi kontrollere göre düşüktü ($P<0,01$). Yine her iki grubun eritrositlerinin in vitro oksidasyona duyarlılığı kontrollerden daha fazlaydı ($P<0,001$). Sigara içen ve içmeyen hemodiyaliz grubunun eritrosit SOD, GSH-Px ve MDA seviyeleri arasında anlamlı bir fark bulunmazken ($P>0,05$), sigara içen grubunun eritrositlerinin in vitro oksidasyona duyarlılığı içmeyenlerinkinden daha fazlaydı ($P<0,05$). Sonuçlarımız gerek sigara içen, gerekse içmeyen hemodiyaliz hastalarında eritrositlerde oksidatif stresin arttığını, sigara kullanımının bu etkiyi daha da artırabileceğini gösterdi.

Anahtar sözcükler: Hemodiyaliz, oksidatif stres, sigara, antioksidan.

SUMMARY

Kaya E, The susceptibility to in vitro oxidation of erythrocytes in smoking and non-smoking haemodialysis patients. University of Yüzüncü Yıl Medical Faculty Department of Biochemistry Van, 2006. Besides compensation of kidney failure haemodialysis for patients with chronic kidney diseases could affect oxidative metabolism of blood cells like leucocytes and erythrocytes. Cigarette smoking also increases oxidative stress that may cause tissue damage. The aim of this study was to investigate the oxidative stress of erythrocytes and in vitro susceptibility of erythrocytes to oxidation in smoking and non-smoking haemodialysis patients. The volunteers were divided into 3 groups according to smoking habits, non-smoking controls, smoking haemodialysis patients and non-smoking haemodialysis patients. In all groups, erythrocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase (SOD) and glutathion peroxidase (GSH-Px) levels were measured. In smokers and non smokers, erythrocyte malondialdehyde (MDA) levels were higher than controls ($P<0,01$). Also for both hemodialysis groups while SOD activity was lower ($P<0,01$) than controls, GSH-Px was only lower for smokers when compared to controls ($P<0,01$). In vitro susceptibility of erythrocytes to oxidative stress in both haemodialysis groups was higher than controls ($P<0,001$). There was no significant difference between smokers and non-smokers in terms of SOD, GSH-Px and MDA levels ($P>0, 05$). However in vitro susceptibility of erythrocytes to oxidative stress was higher in smokers when compared to non smokers. ($P<0,05$). In conclusion, the results showed that erythrocyte oxidative stress increased in both smoking and non-smoking haemodialysis patients and smoking could increase this effect.

Key words: Haemodialysis, oxidative stress, smoking, antioxidant.

KAYNAKLAR

1. Jackson P, Laughery CM, Lighybody JH (1995). Effect of hemodialysis on total antioxidant capacity and serum antioxidant in paients with chronic renal failure, *Clin Chem*, 41, 1135-38.
2. Thomas MS (1995). The role of free radicals and antiatxidants: Haw do we know That they are working? *Critical rewievs in food science and nutrition*, 35, 21- 29.
3. Giordini O, Taccone-Galluci M, Lubrano R, Riccardi-Tenore G, Bandino D, Silvi I, Ruberto U, Casciani CU (1984). Evidence of red blood cell membrane lipid peroxidadion in haemodialysis patients, *Nephron* 36, 235-7.
4. Sekeroglu MR, Aslan R, Tarakçioglu M, Özbay B, Köylü H, Algün E (1997). Sigara, Ferritin, oksidatif stres. *Klinik Laboratuar Arastirma Dergisi*,1, 55-57.
5. Böbrekler, Diyaliz ve Anemi. Internet WEB Sitesi: Böbrekler, Diyaliz, Real Anemi hakkında önemli bilgiler|_dosyalar...
6. Akoglu E, Menten SÇ, Tuğlular S, Kantarci G, Koç M (Editor, Akoglu E) (2000). Hemodiyaliz hemsireligi el kitabı, *Tedavi Hizmetleri Genel Müdürlüğü*, Ankara.
7. Diyaliz. Internet WEB Sitesi: file://A/Diyaliz.htm.
8. Daugirdas JT, BlakePG, Ing TS (Çeviri Ed. Bozfakioğlu S)(2003).Diyaliz el kitabı, *Günes Kitabevi*, Ankara.
9. Bekerecioğlu M, Uğras S, Dilek ON, (1998). Serbest Radikaller, *Sendrom*,10, ,85-94.
10. SerbestRadikaller.InternetWEBSitesi:http://www.genetikbilimi.com/gen/serbest_radikaller.htm
11. Akkus I (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik etkileri, *Mimazo yayınları*, Konya.
12. Cheeseman KH and Slater TF (1993). An introduction to free Radical, *Biochemistry. Br med bul*, 49,479-493.
13. Imlay JA (1988). DNA Damage and Oxygen Radical Toxicity, *Science*, 240,1302- 13099.
14. Mc Cord JM (1983). The Süperoxide Free Rodical; Its *Biochemistry and Pathophysiology*, 94,412.

15. Erden M. (1992). Serbest Radikaller, *T klin Tip Bilileri Dergisi*, 12,201-207.
16. Parks DA And Granger DN (1983). Ischemia – Induced Vascular Changes: Role Of Xanthine Oxidase and Hydroxyl Radicals, *Am. J Physiol*, 245-285.
17. Pol Yu B (1994). Cellular defenses against damage from reactive species physiological, *Reviews* , 741, 139- 162.
18. Korthus RJ, Granger DN (1993). Reactive oxygen metabolites, neutrophils, and the pathogenesis of ischemic- tissue reperfusion, *Clin. Cardiol*, 16,19-26.
19. Hatemi H (1986). Diabetes mellitus tanı klinik tedavi, yüce *gazetecilik ve matbaacılık*, İstanbul.
20. Reilly PM, Schiller HJ and Bulkley GB (1991). Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites, *Am. J, Surg*, 161, 488.
21. Lelli JL, Prodhan S and Cobb LM (1993). Prevention of ischemic injury in immature intestine by deferoxamine, *J. Surg, Res*, 54, 34.
22. Bulkley GB (1994). Reactive oxygen metabolites and reperfusion injury: aberrant triggering of endothelial function, *Lancet*, 344, 934.
23. Buron KP, McCord J and Geetha G (1984).Myocardial alterations due to free radical generation,*Am. J. Physio*, 246, 776-783.
24. Wernes SW, Shea M J and Lucchesi BR (1986).Free radicals and myocardial injury: pharmacologic implications, *Circulation*, 74, 1-5.
25. Halliwell B and Gutteridge JM (1984).Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage and antioxidant therapy, *The Lancet*, 23, 1396-1398.
26. Holley AE and Cheeseman KH (1993). Measuring free radical reactions in vivo, *British Medical Bulletin*, 49, 503-505.
27. Das DK, Engelman RM and Rousou JA (1986). Pathophysiology of superoxide radical as potential mediator of reperfusion injury in pig hearts, *Basic Res. In. Cardiol*,81,155-166.
28. Mayes PA (1993). Lipids of physiologic significance, in Harper's Biochemistry (Ed. Murray RK,Granger DK,Mayes AA, Radwell VW),*Lange Medical Publication*,London,23,588-598.
29. Tanakol R (1998) Oksidatif hasar ve antioksidanlar, *Galenos aylık tip dergisi*, Haziran, 16, 32- 36.

30. Powel SR and Tortoloni AS (1992). Recent advances in the role of reactive oxygen intermediates in ischemic injury. Evidence demonstrating presence of reactive oxygen intermediates. Role of metals in sitespecific formation of radicals, *J.Surg. Res*, 53-417.
31. Flohe L and Ötting F (1984). Superoxide dismutase assays, *Methods Enzymol*, 105, 93-104.
32. Tip S ve Top S (1993). E – vitamini kanser ve kardiovasküler hastalıklarla ilişkisi , *T. Klin. Tip Bilimleri Dergisi* ,13, 288-289.
33. Kiliç K (1986). Kanserde oksijen radikalleri ve süperoksit dismuta., *Biyokima Dergisi*, 11,59.
34. AruomaOL, Halli Well B and Laughton MJ (1989). The mechanism of initiation of lipid peroxidation, evidence against a requirement for an iron (II)- iron(III) complex, *Biochem J* , 258, 617-620.
35. Jain SK, Mcevie R, Duett J and Herbst JJ (1989). Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes,38,1539-1543.
36. Fu Liang – Xinog, Kirkeboen KA and Liang QM (1993). Free radical and scavenging enzymes and G protein mediated receptor signalling systems in ischaemically preconditioned porcine myocardium, *Cardiovascular* 27, 612-616.
37. Clarksan PM (1995). Antioxidants and physical performance critical reviews in food, *Science and Nutrition*, 35, 131- 141.
38. Seven A ve Candan G (1995). Serbest radikaller ve lipid peroksidasyonu, *Klinik Gelism*, 8, 3906.
39. Freeman BA and Candan G (1995). Serbest radicals and tissue injury, *Lab. Invest*, 47, 412-426.
40. Aliakber S, Brown PR and Bidwell D, (1993). Human erythrocyte superoxide dismutase in adults, neonates, and normal hypoxaemic, anaemic and chromosomally abnormal fetuses, *Clin Biochem*, 26, 109-113.
41. Beckman G, Lundgen E and Tarnvik A (1973). Superoxide dismutase isozymes in different human tissues, their genetic control and intracellular localization, *Human Heredity*, 23, 338-345.
42. Stryer L (1988). Biosynthesis of amino acids and heme in biochemistry, New York, W. H. Freeman and Company, 3,575-600.
43. Salin ML, McCord JM (1974). Superoxide dismutase in polymorphonuclear leukocytes, *J. Clin Invest*, 54, 1005-1009.

44. Niwa Y, Ishimoto K And Kanoh J (1990). Induction of superoxide dismutase in leukocytes by paraquat correlation with age and possible predictor of longevity, *Blood*, 76,835-881.
45. Zhang, Xiu-Mei and Ellis EF (1990). Superoxide dismutase reduces permeability and induced by hypertension in rats, *Am. D. Pysiol*, 259, 479-503.
46. Hopkins J and Tudhope GR (1973). Glutathione peroxidase in human red cell in healt and disease, *British I of Heamatology*,25, 563-566.
47. Spalholz JE (1990), Selenium and Glutathione peroxidase: essential nutrient and antioxidant companent of the immune system, In "Atnioxidant Nutrients and Immune Functions", *Plenuw Pres*, New York, 262,145-158.
48. Ceballos, Picot J, Trivier, Jean- Marc and Nicole A (1992). Age correlated modifications of copperzing supperoxide dismutase and glutathione related enzyme activities in human erythrocytes *Clin, Chem.* 38, 66-70.
49. Stompfer MJ, Hennekens CH and Manson JE (1993). Vitamin E consumption and the risk of coronary disease in women, *The New England Journal of Medicine* 228, 1444-1449.
50. Özdenir H. ve Çelik C (1993). Vitamin C'nin metabolik ve klinik önemi, *Yeni Yaklasimler, T. Klin. Tip Bilimleri Dergisi*, 13,200-209.
51. Lunce J and Blake D (1990). Oxigen free radicals, their felevance to diseaaase processes, in "the metabolic and molecular basis of acquired disease" (Ed. Cohen RD, Lewis B, Albatr KG), *Balliere Tindoll*, London. 187-212.
52. Jialal J, and Fuller C (1993). Oxidized LDL and antioxidants, *Clin Cardiol*, 16,69.
53. Rangan U and Bukley GB (1993). Prespects for treatment of free radical mediated tissue injury. *British Medical Bulletin*, 49, 700-718.
54. Sigara, Internet web sitesi: file: A:/Turkish pubsigara htm.
55. Bagimlilik internet web sitesi: www.sagliklikadin.com
56. Halliwell B (1991). Reactive oxygen species in living systems: source, Biochemistry and Role in Human Disease ,*AM, J. Med*, 9 14-21.
57. Sigara ile ilgili gerçekler, interner web sitesi: file: //A:/Sigara web sitesi- Forsnet.htm.
58. Sies (1991). Oxidative stres: from basic reseacrh to clinical appllication, *The AM. J. Med*, 3 ,31.

59. Pol Yu B (1994) Cellular defanses againest damage from reactive species, *Physiological Reviews*, 74,139.
60. Lougrey CM, Young IS, Lightbody JH (1994). Oxidative stres in haemodialysis, *QJ, Med*, 87, 679-683.
61. Caraud B, Cristol JP, Morena M, (1999). Imbalance of oxidants and antioxidants in haemodialysis patients, *Blood Purif* ,17,99-106.
62. Wratten ML, Tetta C, Ursini F, Sevanian A (2000). Oxidant stres in hemodialysis: Prevention and treatment strategies, *Kidney Int*, 58,126-132.
63. Dursun E, Ozben T, Suleymanlar G, Dursun B, Yakuboglu G (2002). Effect of hemodialysiz on the oxidative stres and antioxidants. *Clin chem, Lab. Med.* 40,1009-1013.
64. Nguyen-Khoa T, Massy ZA, Dc Bandt JP (2001). Oxidative stres and hemodialysis: role of inflamation and duration of dialysis treatment, *Nephrol Dial Transplant* 16,335-340.
65. Paul JL, Sall ND. Soni T (1993). Lipid peroxidation abnarmalities in hemodialysis patients, *Nephron* ,64,106.
66. Köken T, Kahraman A, Setreser M, Gökçe Ç (2004). Hemodiyaliz ve oksidatif stres, *Kocatepe Tip Dergisi*, 5, 9-12.
67. Koch KM (1992). Dialysis-related amyloidosis, *Kidney int*, 41, 1429-1516.
68. Usberti M, Gerardi G, Bufano G (2002). Effect of erythropoetin and vitamin E-modified membrane on plasma oxidative stres markers and anemia of hemodialysized patients. *AM. J. Kidney Di.*, 40, 590-599.
69. Girardini Q, Taccne- Galeeuci M, Lubrano R (1984) Effect of alphatocopherol administration in hemodialysis patients, *Clin Nephrol*, 21, 174-177.
70. Taccone – Galluci M, Lubrano R, Del Principe D (1989). Platelet lipit peroxidation in hemodialysis patients: effec of vitamin E supplementation, *Nephrol Dial Transplant*, 4, 975- 978.
71. Hassan MQ, Hussain SA, Zaki MA (1995). Protective effect of antioxidants againts uramia- induced lipit peroxidation and glutathione depletion in humans, *Pharmacd Toxicol*, 77, 407-411.
72. Usberti M, Gerardi G, Micheli A (2002). Effect of a vitamin E – bonded membrane of glutathione on anemia and erythropoetin requirements in hemodialysis patients, *J Nephrol*, 15, 558-564.

73. Takenake T, Takahashi K, Kobayashi T (2002). Oxidized low density lipoprotein (Ox- LDL) as a marker of atherosclerosis in hemodialysis patients, *Clin Nephrol*, 58, 33- 37.
74. Wratten ML, Navino C, Tetta C (1999). Haemolipidolysis, *Blood Purif*, 17,127-133.
75. Descombes E, Boulat O ,Perrier F (2000). Water-soluble vitamin levels in patients undergoing high- flux hemodialysis and receiving long- term oral postdialysis vitamin supplementation, *Artif Organs* 24, 773-778.
76. Chao JC, Yuan MD, Chen PY (2002). Vitamin C and E supplements improve the impaired antioxidant status and decrease plasma lipid peroxides in hemodialysis patients, *J Nutr Biochem* ,1, 653- 663.
77. Ono K (1989) . The effect of vitamin C supplementation and withdrawal on the mortality and morbidity of regular hemodialysis patients, *Clin Nephrol* ,31, 31- 34.
78. Sekeroglu MR, Sahin H. Dülger H. and Algün E (2000). The effect of dietary treatment on erythrocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and serum lipid peroxidation in patients with type 2 diabetes mellitus, *Clin Biochem*, 8, 669-674.
79. Niwa Y, Kasama T, Miyachi Y, Kanoh TC (1989). Neutrophil chemotaxis, phagocytosis and parameters of reactive oxygen species in human aging. *Life Sci*, 44, 1655-1664.
80. Yagi K (1984). Increased lipid peroxides initiate atherogenesis, *Bio Essays*, 1, 58-60.
81. Nishigaki I, Hagihara M, Hiramatsu M, Izawa Y, Yagi K (1980). Effect of thermal injury on lipid peroxide levels of rat. *Biochem med*, 24, 185-189.
82. Kargin F, Fidanci UR (2000). Böbrek hastalıklı köpeklerde antioksidatif metabolizma, *Türk J. Vet. Anim*, 25, 607-613.
83. Wang PN, Lim PS, Chen TT, Thien LM, Wang TH, Hsu WM (2002). Smoking is associated with alterations of blood thiol group related antioxidants in patients on hemodialysis, *Nephron*, 92, 772-779.
84. Lim PS, Wang NP, Lu TC, Wang TH, Hsu WM, Chan EC, Hung WR, Yang CC, Kuo IF, Wei YH (2001). Evidence for alterations in circulating low-molecular-weight antioxidant and increased lipid peroxidation in smokers on hemodialysis, *Nephron*, 88, 127-133.
85. Srour MA, Bilto YY and Juma M (2000). Susceptibility of erythrocytes from non-insulin-dependent diabetes mellitus and hemodialysis patients, cigarette smokers and normal subjects to in vitro oxidative stress and loss of deformability, *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 22, 173-180.

86. Ward R, Mcleish K (1994). Polymorphonuclear leukocyte oxidative burst is enhanced in patients with chronic renal infucieny, *J Am Soc Nephrol*, 5, 1967-1702.
87. Chen MF, Chang Cl, Liou SY (1998). Increase in resting levels of superoxide anion in the whole blood of uremic patients on chronic haemodialysis, *Blood Purif*, 16, 290-300.
88. Stroncek DF, Keshaviah P, Craddock PR (1984). Effect of dialyzer reuse on complement activation and neutropenia in helmodialysis, *J Lab. Clin. Med.* 104,304-311.
89. Craddock PR, Hammerschmidt DE (1984). Complementmediated granulocyte activation and down regulation during hemodialysis, *ASAIO J*, 7,50-56.
90. Harbelin A, Nguyen AT, Zingreff J (1990). Influence of uremia and heamodialysis on circulation interleukin-1 and tumor ne crosis factor, *Kidney Int*, 37, 116-125.
91. Luger A, Kovarik J, Stummvoll HK (1987). Blood, membran interaction in hemodialysis leads to increased cytokin production, *Kidney Int*, 32, 84-88.
92. Lander H (1997). And essentiol role for free radicals and derived species in signal transduction, *FASEB, J*, 11, 118-124.
93. Lucchi L, Bergamini S, Botti B, Rapana R, Ciuffreda A, Ruggiero P, Ballestri M, Tomasi A and Albertazzi A (2000). Influence of different hemodialysis membranes on Red blood cell susceptibility to oxidative stres, *Artif Organs*, Vol, 24, 1-6.
94. Binomini M, Sirolli V, Reale M and Arduini A (2001). Involvement of phosfhatidylserine exposure in the recognition and phagocytosis of uremic erythrocytes, *American journal of kidney diseases*, 37 , 807-814.
95. Yilmaz FM, Çelebi M, Duranay M, Yilmaz H, Kozan N, Yücel D (2003). Bir grup kronik böbrek yetmezligi hastasinda hemodiyaliz C,E ve A vitamini düzeyleri üzerine olan etkisi, *Türk J Biochem*, 28 , 35-39.
96. Seth RK, Saini AS, Aggarwal SK (1985). Glutathione peroxidase activity and reduced glutathione content in erythrocytes of patienst with chronic renal failure, *Scand J Haematol*, Aug; 35 , 201-204.
97. Durak I, Akyol O, Basesme E, Canbolat O and Kavutçu M. (1994). Reduced erythrocyte defense mechanisms against free radical toxicity in patiens with chroic renal failure, *Nephron*, 66, 76-80.
98. Churc Df and Pryor WA (1985). Free Radical chemistry of cigarette and its toxicological implications, *Environ Healt Perspect*, 64,111-117.

99. Codandabany U (2000). Erythrociyte lipid peroxidation and antioxidants in cigarette smokers, *Cell Biochem Funct*, 18, 99-102.
100. Frie B (1991). Ascorbic acid protects lipids in human plasma and low-density lipoprotein against oxidative damage, *AM. J Clin Nutr*, 54, 1113-1118.
101. Amstad P, Moret R, Cerruti P (1994). Glutathione peroxidase compensates for the hypersensitivity of Cu, Zn-superoxide dismutase overproducers to oxidant stress, *J Biol Chem*, 269, 1606-1609.
102. Vanella A, Geremia E, Pinturo R, Ririolo P, Luizzo G, Triolo C, Cwtorella A, Condorelli G and Giglio A (1983). Superoxide dismutase activity and reduced glutathione content in erythrocytes of uremic on chronic dialysis, *Acta Haemat.*, 70, 312-315.
103. Yawata Y, Jacob H (1975). Abnormal red cell metabolism in patients with chronic uremia: nature of the defect and its persistence despite adequate hemodialysis, *Blood*, 45, 231-239.
104. Tuncel P (1997). Heksoz Monofosfat Yolu. In: Byikoimya (Çeviri ed: Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E), *Nobel Tip Kitabevleri*, Istanbul.
105. Ong-amyotth L, Ong-ajooth S, Triensong K and Nilwarangkur S (1997). Reduced free radical scavengers and chronic renal failure, *J. Med. Assoc. Thai*, 80, 101-108.
106. Lane JD, Opara EC, Rose JE and Behm F (1996). Quitting smoking raises whole blood glutathione, *Physiol, Behav*, 60, 1379-1381.
107. Mayes PA (1993). The pentose phosphate pathway and other pathways of hexose metabolism In: Murray RK, Granger DK, Mayes PA, Rodwell VW, Eds. Harper's biochemistry, *London Appleton and Lange*, 201-211.
108. Lin TH, Chen JG, Liaw JM and Juang JG (1996). Trace elements and lipid peroxidation in uremic patients on hemodialysis, *Humana Press Inc*, 51, 277-283.
109. Gözükar EM (1994). Biyokimya, *Evin Matbaasi*, Malatya.

ÖZGEÇMİS

1981 yılında Agri’da doğdu. İlk ve ortaokul öğrenimini Agri’da Lise öğrenimini Mus Anadolu Öğretmen Lisesi’de tamamladı. 1997 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Yüksekokulunu kazandı. Dört yıl lisans eğitiminden sonra 2001 yılında hemşirelik ünvanını alarak buradan mezun oldu. 2001-2002 yılları arasında Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Hastanesi Göğüs ve Kalp-Damar Cerrahisi ünitesinde çalıştı. 2002-2004 yılları arasında YYÜ Tıp Fakültesi Hemodiyaliz ünitesinde çalıştı. Halen Ercis Devlet Hastanesi Diyaliz ünitesinde sorumlu hemşire olarak görev yapmaktadır.