

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BEDEN EĞİTİMİ VE SPOR YÜKSEK
OKULU

**AKTİF SPORCULARDA ANTRENMAN ÖNCESİ VE
ANTRENMAN SONRASI KSANTİN OKSİDAZ (XO) VE ÜRİK
ASİTİN (ÜA) ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Muhammed KIZILTUNÇ

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Kazım ŞENEL

Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM - 2008

YÜKSEK LİSANS TEZ SAVUNMA SINAVI TUTANAĞI

Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Spor Sağlık Bilimleri Anabilim Dalı Yüksek lisans öğrencilerinden **Muhammed KIZILTUNÇ**'un "Yüksek Lisans Tezini İncelemek ve Tez Savunma Sınavı"nı yapmak üzere; Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 17.09.2008 gün ve "2008.13.1/Ç" nolu kararıyla oluşturulan jürimiz, adı geçen öğrencinin Prof.Dr.Kazım ŞENEL'in yönetiminde hazırlamış olduğu "Aktif sporcularda antrenman öncesi ve antreman sonrası ksantin oksidaz (XO) ve ürik asitin (ÜA) antioksidan özelliklerinin araştırılması. konulu "Tez"ini incelemiş ve adayı

/ 23 / 09 / 2008 / 30 / günü saat 11.00-12.00 arasında "Tez Savunma Sınavı"na tabi tutmuştur.

Sınav sonunda adayın olduğu ve Tezinin oy birliği ile karar verilmiştir.

ÜYE
Prof.Dr.Kazım ŞENEL

ÜYE
Prof.Dr.Mahir UĞUR

ÜYE
Yrd.Doç.Dr.Murat KALDIRIMCI

ÜYE
Yrd.Doç.Dr.Dursun KATKAT

ÜYE
Yrd.Doç.Dr.İlhan ŞEN

İÇİNDEKİLER

KONU:

SAYFA NO:

İÇİNDEKİLER	1
TEŞEKKÜR.....	V
ONAY	VI
ÖZET.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1.Ürik Asit (ÜA).....	2
2.1.1 Biyokimya ve Fizyoloji	3
2.1.2. Klinik anlamlılık	4
2.1.3.Analitik Metodoloji	7
2.1.3.1. Fosfotungstik asit yöntemleri	7
2.1.3.2. Ürikaz yöntemleri	8
2.1.3.3. Yüksek-performanslı sıvı kromatografi yöntemleri	9
2.1.3.4. Kuru Kimya sistemleri	9
2.2. Ksantin oksidaz (XO).....	10
2.2.1. MDA Miktarının Ölçümü	11
2.2.2. Hemoglobin Tayini	13
2.3. Oksidatif Stres Ve Serbest Radikaller.....	14

2.3.1. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri.....	15
2.3.1.1. Süperoksid Radikali.....	16
2.3.1.2. Hidrojen Peroksit.....	17
2.3.1.3. Hidroksil Radikali.....	17
2.3.1.4. Singlet Oksijen.....	18
2.3.1.5. Nitrik Oksit.....	18
2.3.1.6. Diğer Serbest Radikaller.....	19
2.3.2. Serbest Radikallerin Kaynakları.....	19
2.3.2.1. Serbest Radikallerin Endojen Kaynakları.....	19
2.3.2.2. Serbest Radikallerin Eksojen Kaynakları.....	22
2.3.3. Serbest Radikallerin Etkileri.....	22
2.3.3.1. Membran Lipidlerine Etkileri (Lipid Peroksidasyonu).....	22
2.3.3.2. Proteinler Üzerine Etkileri.....	25
2.3.3.3. Nükleik Asitler Üzerine Etkileri.....	26
2.3.4. Serbest Radikal Hasarının Neden Olduğu Klinik Durumlar.....	26
2.3.5. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	26
2.3.5.1. Süperoksid Dismutaz.....	30
2.3.5.2. Glutatyon Peroksidaz (GPx).....	31
2.3.5.3. Katalaz.....	32
3. ANALİZ ÖNCESİ DEĞİŞKENLER.....	33
3.1. Kontrol Edilebilen Değişkenler.....	33
3.1.1. Fizyolojik Değişkenler.....	33
3.1.1.1. Duruş.....	33

3.1.1.2. Uzun Süreli Yatak İstirahatı	33
3.1.1.3. Egzersiz	33
3.1.1.4. Antrenman	35
3.1.2. Beslenme	35
3.1.3. Yaşam Tarzı	36
3.1.3.1. Sigara İçme	36
3.1.3.2. Alkol Alımı	37
3.1.4. İlaç alımı	38
3.2. Kontrol Edilemeyen Değişkenler.....	38
3.2.1. Biyolojik Etkiler	38
3.2.1.1. Yaş	39
3.2.1.2. Cinsiyet	42
3.2.1.3. Irk	43
3.2.2. Çevresel Etkenler	44
3.2.2.1. Yükseklik	44
3.2.2.2. Hava Sıcaklığı	44
3.2.2.3. İkamet Yeri	44
3.2.3. Uzun - Dönem Döngüsel Değişimler	45
3.2.3.1. Mevsimsel Etkiler	45
4. MATERYAL VE METOD	46
4.1. Kan Örneklerinin Alınması	46
4.2. Ksantin Oksidaz Aktivitesinin Ölçümü	47

4.3. İstatistiksel Analizler	47
5. BULGULAR	48
6. TARTIŞMA	52
7. SONUÇ.....	55
8. KAYNAKLAR	56

TEŞEKKÜR

Araştırmanın yapılmasında destek veren Tez Danışmanım FTR Anabilim Dalı başkanı ve Beden Eğitimi ve Spor Yüksek Okulu, Beden Eğitimi ve Spor Öğretmenliği Bölüm Başkanı Prof. Dr. Kazım ŞENEL hocama; yine bu araştırmanın tasarımı, başlangıç gelişme ve bitiş aşamalarının tümünde yanımda olan Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ 'a ve Beden Eğitimi ve Spor Yüksek Okulu öğretim üyelerine; ayrıca araştırmada büyük rolü olan Demir Spor Futbol Kulübü, DSİ Spor Basketbol takımı, Erzurum Gençlik Spor Kulübü Atletizm takımı ve Erzurum Büyükşehir Belediyesi Güreş takımı sporcularına ve sporculardan kan almada görev alan Hemşirelik Yüksek Okulu öğrencilerine ayrı ayrı teşekkür ederim.

ONAY

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurulunun 21.06.2007 tarihli toplantısında “Aktif Sporcularda Antrenman Öncesi Ve Antrenman Sonrası Ksantin Oksidaz (XO) ve Ürik Asitin (ÜA) Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması” isimli çalışmamız 21.06.2007 tarih ve 5 sayılı kararı ile etik değerlere uygun olduğu oy birliği ile kabul edilmiştir.

ÖZET

Bu çalışma, aktif olarak spor yapan sporcuların antrenman öncesi ve antrenman sonrasında Ksantin Oksidaz (XO) ve Ürik Asidin (ÜA) antioksidan özelliklerinin araştırılmasını içermektedir.

Yaş ortalaması 18-28 olan 18 futbolcu, 12 basketbolcu, 12 atlet ve 8 güreşçi toplam 50 sporcu dahil edildi. Kontrol grubu olarak yaş ortalaması 18-29 olan aktif olarak spor yapmayan 30 kişi alındı. Kontrol grubundan bir kez kan alındı ve serumları -80 °C'de depolandı. Sporculardan antrenman öncesi ve 1,5 saatlik antrenman sonrası kan alındı ve santrifüj edilerek çalışma yapılana kadar -80 °C'de bekletildi.

Sonuç olarak, aktif olarak spor yapanların antrenman öncesi ve antrenman sonrası ksantin oksidaz (XO) değerleri kontrollere göre anlamlı yüksekti ($p<0,05$), ($p<0,001$). Sporcuların antrenman sonrası ksantin oksidaz (XO) değerleri, antrenman öncesine göre de anlamlı yüksekti ($p<0,01$).

Aktif sporcuların Ürik Asit (ÜA) değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, antrenman öncesi ve antrenman sonrası kontrollere göre anlamlı yüksekti ($p<0,05$ ve $p<0,001$, sırasıyla). Antrenman sonrası Ürik Asit (ÜA) değerleri antrenman öncesine göre de yüksekti ($p<0,01$). Yapılan kolerasyon çalışmalarında ürik asitle, ksantin oksidazın birlikte arttığı görüldü. ($r = 0,879$, $p<0,001$).

Sonuç olarak, Ürik Asit (ÜA) ve ksantin oksidazın (XO) antrenman yapan sporcularda egzersizle birlikte arttığı gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ksantin Oksidaz (XO), Ürik Asit (ÜA), Antioksidan

ABSTRACT

This study includes the searching for the Xanthin Oxidase's (XO) and Uric Acid's (UA) antioxidant features before training and after training of a sportsmen who is actively making sport.

Totally fifty sportsmen between 18-29 average ages who are eighteen footballers, twelve athletes and eight wrestlers were included. Thirty men whose average ages are between 18-29 and who are not making sport actively were involved as the control group. The blood was taken from the control group only once and its' serums was stored at minus 80 °C. Before the training and after one and a half hour training and by centrifuging it was kept at minus 80 °C until the study was carried out.

As a result, the Xanthin Oxidase (XO) values of those who were making actively sport before and after training were significantly high according to contols ($p<0,05$), ($p<0,001$). The Xanthin Oxidase values of the sportsmen were high compared to before the training's as well ($p<0,01$).

When the Uric Acid (UA) values of the active sportsmen were compared with the one of the control group, it was significantly high according to the controls done before and after the trainings.(respectively $p<0,05$ and $p<0,001$ The Uric Acid (UA) values after training was high compared to the ones of before the training ($P<0,01$). According to correlation studies, uric acid were increased in paralleled with ksantin oksidaz ($r = 0,879$, $p<0,001$). In conclusion, it is observed that Uric Acid and Xanthine Oxidase (XO) were augmented with exercise in the training sportsmen.

Keywords: Xanthin Oxidase (XO), Uric Acid (UA), Antioxidant.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Spor, bilimsel bir bilim dalı olarak kabul edilmesi ve daha önce bu alandaki çalışmalar fiziksel etkinliğe yönelik çeşitli testlerle yapılması günümüzde her bilim dalında olduğu gibi spor alanında da bilimsel bir gelişimin olması araştırmacıları laboratuvar çalışmalarına yönlendirerek yeni bir açılım sağlamıştır.

Son yıllarda sporcu kanlarındaki değişik parametreler üzerinde yapılan çalışmalar popülaritesini artırmaktadır. Bu çalışmalara sporcuların maç esnasında veya müsabakalarda ani ölümlerin olması, sporcuların kalp ve dolaşım sistemi, solunum sistemi, endokrin sistem, kardiovasküler sistem ve kan değerleri üzerindeki çalışmalarda etkili olmuştur.

Ayrıca, sporun gelişmesi, olimpiyatlarla spor alanındaki rekabetin zirveye çıktığı sporsal alanda dünya çapında rekabet edilebilmesi ve dünya çapında başarının ancak bilimsel bir araştırma ve bilimsel verileri kullanarak sağlanacağı düşüncesi bu araştırmanın yapılmasında önemli bir etkiye sahiptir.

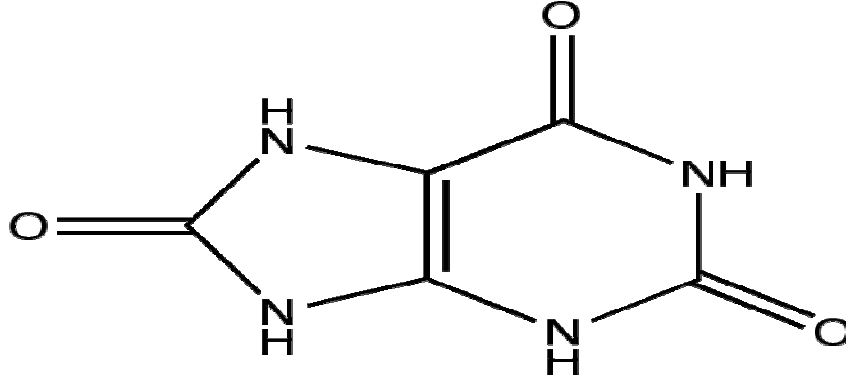
Bu amaçla, aktif sporcularda antrenman öncesi ve antrenman sonrası ksantin oksidaz (XO) ve ürik asidin (ÜA) antioksidan özelliğinin olup olmadığı konusunda bilgi edinmek üzere böyle bir araştırma planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Ürik Asit (ÜA)

ÜA, endojen veya diyetle gelen nükleik asitlerin katabolizması sonucu açığa çıkan adenozin ve guanozin bazlı pürinlerin metabolizmasının son ürünüdür.^{1,2} Vücuttaki ÜA, endojen (özellikle kas hücrelerinin nükleik asitlerinin dönüşümü ile oluşan) ve eksojen (gıdalar) kaynaklı olabilir.¹ Pürin nükleotidleri; nükleotidi oluşturan bileşenlerin sırayla ayrılması sonucu yıkılır. İnsan organizması ürikaz enzimi içermediğinden bu yıkımın son ürünü ÜA'dır. Primatlar dışındaki memelilerde ÜA allantoin, üre ve hatta amonyağa kadar parçalanır.¹ ÜA'nın insan vücudundan başlıca atılım yolu (2/3) idrarladır.^{1,2} Geriye kalan 1/3'ü gastrointestinal sistemden elimine edilir.¹ Plazmada %98'i sodyum-ürat şeklinde serbest olarak dolaşır ve glomeruler filtrasyona tabidir; %5'ten azı proteine bağlıdır.^{1,2}

Son zamanlarda ÜA'nın canlı dokuda oksidatif injurilere karşı kuvvetli bir radikal çöpçü ve antioksidan olarak görev yaptığı bildirilmektedir.¹⁻⁷ ÜA'nın plazma konsantrasyonu 150–500 µM arasındadır ve plazmadaki antioksidan kapasitenin yaklaşık 2/3'ünü oluşturur.⁶ Özellikle hidroksil, süperoksid ve peroksinitrit, singlet oksijen radikallerini bastırmada etkilidir ve lipid peroksidasyonunun önlenmesinde koruyucu bir fizyolojik rolü vardır.^{3,6,7} ÜA, hidroksil oluşumunu sınırlandırmak için demir ve bakır iyonlarını da bağlar. Ayrıca eritrositlerin membran bütünlüklerinin korunmasında etkilidir.³ Eritrosit membranlarının peroksidasyon sonucu lizisini önler. Yapılan birçok invitro çalışmada ÜA'nın ROS tarafından allantoin oksidize edildiği bildirilmektedir. ÜA'nın oksidasyonu oluşan allantoin miktarı da oksidatif stres durumlarında artar. Vitamin C oksidasyonunu engelleyici etkisi de vardır. Serumda, çeşitli organ ve damar yataklarında akut oksidatif stres ve iskemi sırasında lokal ÜA konsantrasyonu artar ve bu artmış konsantrasyonlar artmış serbest radikal aktivitesine karşı bir savunma mekanizması olabilir.^{4,6,7} Kurşuna maruz kalmak, aşırı alkol, obezite gibi durumlar da insanlarda ÜA seviyesinin artışına sebep olur.⁶ Çünkü bunların lipid peroksidasyonu ile alakalıdır. ÜA'nın Kimyasal yapısı aşağıdaki gibidir.



2.1.1. Biyokimya ve Fizyoloji

İnsanlarda, pürin nükleozidleri olan adenozin ve guanozin katabolizmasının temel ürünü ürik asittir.⁸ Besinsel nükleik asit katabolizmasından elde edilen pürinler direkt olarak ürik aside dönüşürler.⁹ Ancak, sonunda İdrarda ürik asit olarak ekskrete edilen pürinlerin ana kütlesi, endojen nükleik asitlerin yıkılımından kaynaklanır. Ürik asidin günlük sentez hızı yaklaşık 400 mg olup, diyetel kaynaklardan da 300 mg'lık bir katkı olmaktadır. Proteinden yoksun diyetlerle beslenen erkeklerde değiş tokuşıa uğrayabilen total vücut urat havuzu 1200 mg; kadınlarda ise bu değer 600 mg olarak belirlenmiştir. Aksine gut artriti olan ve dokularında urat depolanan hastaların urat havuzları 18 000-30 000 mg kadar büyük olabilir.

Pürin prekürsörlerinin artmış sentezleri, ürik asidin aşırı miktarda üretimi ile sonuçlanabilir. İnsanlar tarafından ekskrete olan ürik asidin %75'i idrar ile atılıma uğrar; kalanın büyük bir yüzdesi bakteriyel enzimler tarafından allantoin ve diğer bileşiklere yıkıldığı gastrointestinal kanala sekrete olur.¹⁰

Ürik asidin renal sonu kompleks olup 4 ardışık basamağı kapsar. (1) Glomerüler filtrasyon (2) proksimal tüplerde %98-100 oranında geri emilim (3) proksimal tüplerin distal bölümünden lümeneye sekresyon ve (4) distal tüplerde daha ileri reabsorpsiyon. Ürik asidin net üriner ekskresyonu filtre olan miktarın % 6-12'si kadardır.¹⁰

Ürik asidin dolaşım, dokular ve böbreklerdeki konsantrasyonlarını göz önüne alınırken, fizikokimyasal özellikleri önem taşımaktadır. Ürik asidin birinci pK_a 'sı 5.57 olup, pH değerinin 5.57' nin üzerinde olduğu durumlarda ürik asit, temel olarak daha çözünebilen bir form olan urat iyonu formunda bulunmaktadır.

2.1.2. Klinik anlamlılık

Hiperürisemi genel olarak serum veya plazma ürik asit konsantrasyonlarının erkeklerde 7.0 mg/dL'den (0.42 mmol/L), kadınlarda ise 6.0 mg/dL'den (0.36 mmol/L) yüksek olduğu durum olarak tanımlanır. Hiperüriseminin majör nedenleri aşağıda özetlenmektedir. Asemptomatik hiperürisemi sıklıkla biyokimyasal tarama sonucu belirlenir; Asemptomatik hiperürisemik olguların sistemik olarak uzun dönemli izlemleri yürütülür çünkü bunların çoğu hiperürisemi ve hiperürikürinin sonucu olarak renal bir hastalığın gelişimi ile ilgili risk taşımaktadır; gut olarak bilinen klinik sendrom böyle hastaların ancak çok azında ortaya çıkabilir.

Hiperürisemi Nedenleri

Artmış oluşum

PRİMER

Artmış pürin sentezi
Kalıtılmış metabolik bozukluk dönüşümü

SEKONDER

DIYET İLE AŞIRI PÜRİN ALIMI
Artmış nükleik asit

Malignite
Psoriyazis
Sitotoksik ilaçlar

DEĞİŞİKLİĞE UĞRAMIŞ ATP METABOLİZMASI

Doku hipoksisi
Alkol

Azalmış atılım

PRİMER (idiyopatik)

SEKONDER

KRONİK RENAL YETMEZLİK
Renal reabsorpsiyon artışı
Azalmış salınma

Kurşun zehirlenmesi

Organik asitler (örneğin, laktat, asetoasetat)

Salisilat (düşük dozlar)

Tiyazitli diüretikler

Gut monosodyum üratın süpersatüre vücut sıvılarından çökmesi ile gelişir; ürat depozitleri klinik bulgu ve semptomlardan sorumludur. Gut artriti eklem sıvılarında mevcut ürat kristalleri yanı sıra eklemi çevreleyen dokulardaki kristal depolanmaları (tofüs) ile ilişkili olabilir. Yumuşak dokuda da depolanmalar olabilir ve nerede olursa olsun polimorf nüveli lökositler ve makrofajların aracı olduğu şiddetli bir inflamatuvar yanıtın açığa çıkmasına neden olurlar. Hiperürisemi ile ilgili renal hastalık değişik formların bir veya birkaçı şeklinde olabilir. (1) renal parankimde ürat depolanması ile birlikte olan gut nefropatisi (2) ürat kristallerinin akut intratübüler depolanmaları (3) ürat nefrofitiyazisi

Israrla süren asemptomatik hiperürisemide tıbbi tedavi ürat ile indüklenen renal hasarın önlenmesi açısından sürdürülür.

Primer gut, metabolik olarak aşın pürin üretimi veya ürik asit ekskresyon yetersizliğine bağlı olarak gelişen "essansiyel" hiperürisemi ile ilişkilidir. Sekonder gut tanımlanabilen çeşitli nedenlere bağlı hiperüriseminin sonucudur. Herhangi bir tipte akut ya da kronik renal hastalık veya bazı ilaçların kullanımı sonucu renal ürik asit retansiyonu olur; ilaçların özellikle diüretiklerin katkısı üzerinde durulmaktadır. Diyabetik ketoasidoz veya laktik asidozda, asetoasetik asit artışına bağlı olan organik asidemi üratın tübüler sekresyonu ile etkileşebilir. Tümör hücrelerinin süratli proliferasyonlarında veya bazı kemoterapötik ajanlarla tedavileri sırasında yaygın harabiyete bağlı olarak, nükleik asit dönüşümünde ve buna bağlı olarak da pürin katabolizmasında bir artış ile karşı karşıya kalınabilir.

Hiperürisemi, pürin metabolizması ile ilgili yollarda yer alan enzimatik kusurlara bağlı olarak da ortaya çıkabilir. Lesch-Nyhan sendromu hipoksantin pürin kurtarma yolunun majör enzimi olan⁸ guanin fosforibozil transferazın (HGPRT) komple yokluğu ile tanımlanan bir sendromdur. Bu, sekse bağlı genetik bozukluk, mental gerilik, anormal kas hareketleri ve davranış problemleri (kendi kendini sakatlama, patolojik

agresivite) ile kendini gösterir. Biyokimyasal olarak hiperürisemi, hiperasidüri, eritrositler, fibroblastlar ve diğer hücrelerde HGPRT düzeylerinin azalması ile karakterizedir. Fosforibozil pirofosfatın (PRPP) intrasellüler düzeyleri ve pürin sentez hızları artmıştır.⁸

Bu sendromun nörolojik semptomları, *de novo* protein sentezi için kısıtlı kapasiteye sahip olan, bundan ötürü de gereksinim duyduğu pürinlerin çoğunun sağlanması açısından, pürin kurtarma yollarına bağımlı olan, gelişim dönemindeki beynin, bu gereksinimini yeterli oranda sağlayamaması ile ilişkili olabilir. Daha hafif bir HGPRT yetmezliği ılımlıdan orta dereceye doğru değişen nörolojik kusurlar spektrumu gösterir. Etkilenmiş fetuslar, amniyosentez sonucu elde edilen fibroblast kültürlerinde, HGPRT saptanmasıyla tanımlanmışlardır; kusurlu geni taşıyan heterozigot kadınlar fibroblast kültürlerinde HGPRT mozayigi veya bireysel saç foliküllerinin incelenmesi sonucunda belirlenebilirler. İntrasellüler PRPP üretiminin artmış düzeyleri ve bunun sonucu olarak yükselmiş ürik asit düzeyleri, X'e bağımlı resesif kalıtılan PRPP sentetaz mutasyonlarına bağlı olarak da görülebilir. Glukoz 6- fosfataz yetmezliği de, ürik asidin aşırı üretimi veya yetersiz ekskresyonunun sonucu olarak hiperürisemiye yol açabilir.

Üriner ürik asit ekskresyonunun ölçülmesi, asemptomatik hiperürisemili olgularda uygun tedavinin uygulanmasında yardımcı olur. Günde 600 mg'dan daha az ürik asit ekskrete eden hiperürisemik hastalar probenesit veya sulfinpirazon gibi ürikozürük ilaçlar ile tedaviye adaydır. Ürikozürük ilaçlar, tübüler hücrelerde reabsorpsiyona aracı olan taşıyıcıları bloke ederek ürik asidin renal ekskresyonunu artırırlar. Günde 600 mg dan daha fazla ürik asit ekskrete eden kişiler, PRPPnin intrasellüler konsantrasyonları azaltan ve ksantin oksidaz aktivitesini inhibe ederek pürin sentezini ve hipoksantin ürik aside dönüşümünü engelleyen llopürinol ile tedaviye adaydır.

Klinik gutlu olgulardan 5 tanesinden birinde üriner traktüste ürik asit taşları vardır. Ürik asit taşlarının oluşumu kompleks bir olay olmakla beraber, ürik asit taşları olanların %50'sinde ya hiperürüküri, ya devamlı asit idrar ekskresyonu veya ikisi birden vardır. Dissosiye olmamış ürik asit ($pK_a 5.57$) nispeten çözünmez, urat ise

pH 7'de on daha çözünürdür. Bundan dolayı, üriner pH'ları ısrarla sürekli 6'nın altında olan bireylerde, ürik asidin ufak miktarları bile süpersatüre koşullara neden olabilir.

Hipoürisemi serum ürat konsantrasyonlarının 2 mg'nın (0.12 mmol /L) altında olduğu durumdur ve hiperürisemiye kıyasla daha az rastlanılır. Altta yatan çeşitli durumlardan her hangi biri nedeni ile ikincil olarak gelişmiş olabilir. Pürin sentezinin azalmış olduğu ağır karaciğer hastalığı nedenlerden biri olabilir; diğer bir olasılık ürik asidin renal tübüler geri emiliminin kusurlu olmasıdır. Kusurlu geri emilim Fankoni sendromunda görüldüğü gibi, genetik veya kazanılmış olabilir. Allopürinol veya ürikozürük ilaçlar ile hiperüriseminin aşın derecede tedavisi veya 6-merkaptopürin veya azotiyopirin (de novo pürin sentezi inhibitörleri) ile kanser kemoterapisi de hipöürisemiye yol açabilir. Ksantinüri ile birlikte olan hipöürisemi nadir rastlanan *bir* durumdur ve ksantin oksidaz yetmezliğine işaret etmektedir.

2.1.3. Analitik Metodoloji

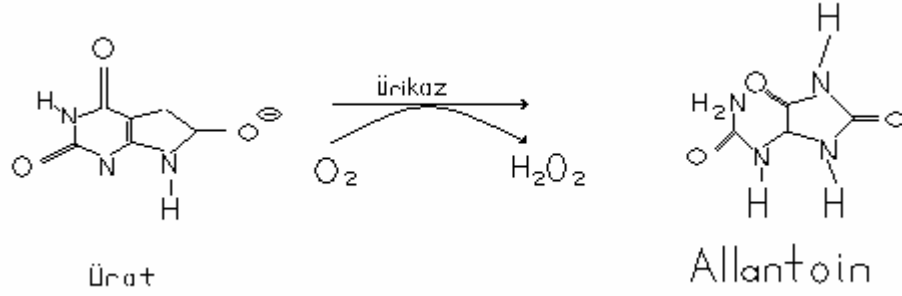
Ürik asidi ölçmek için fosfotungstik asit (PTA), ürikaz ve yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) yöntemleri tanımlanmıştır. Ürikazdan yararlanılan kuru kimya yöntemleri de geliştirilmiştir.

2.1.3.1. Fosfotungstik asit yöntemleri

PTA yöntemleri, üratın alkali ortamda PTA'yı redüklemesi ile mavi bir renk (tungsten mavisi) oluşumuna dayalıdır; oluşan renk 650-700 nm dalga boylarında okunur. Plazma ürik asidi ölçümü yöntemlerinde proteinin uzaklaştırılması zorunlu olup, triklorasetik asit, tungstik asit ve PTA dahil çeşitli çöktürücülerden yararlanılmaktadır. PTA'dan yararlanılan yöntemler glukoz, askorbat, glutatyon ve sistein (hemolizli eritrositlerden plazmaya sıçrayan) gibi endojen bileşiklerle; asetaminofen, asetilsalisilik asit ve kafein, teobromin, teofilin gibi pürinleri kapsayan ekzojen bileşiklerden kaynaklanan çeşitli girişimlere maruz kalırlar. Bu bileşiklerin tümü PTA'yı indirgeyerek pozitif bir hataya neden olurlar. (Girişimler ile ilgili daha ayrıntılı analiz için, Price ve James'in ayrıntılı derlemesine bkz.)

2.1.3.2. Ürikaz yöntemleri

Ürikaz yöntemleri PTA versiyonlarından daha spesifiktir çünkü bunlar aşağıda görüldüğü şekilde ürik asidi tek basamakta veya başlangıç basamağında okside etmek için ürikazdan [(ürat:oksijen) oksidoredüktaz; EC1.7.3.3] yararlanırlar.



Yüksek kalitedeki bakteriyel enzim düşük maliyetle elde edilebilmektedir, bu nedenle ürikaz yöntemleri uygulanılabilirlik ve popülerite kazanmışlardır. 282 nin yöntemi haricinde, bu yöntemlerde başlangıçta proteinlerin çöktürülmesi gerekmemektedir. Ürikaz yöntemlerinin çoğunda sadece guanin, ksantin ve az sayıda ürik asit analogu girişim gösterir; bu da biyolojik sıvalarda beklenen konsantrasyonlarda değildir. Güncel cihazların çoğunda, ürikaz yöntemleri PTA'nın yerini almıştır.

Reaksiyon, kinetik veya denge koşullarında ölçülür. Üratın dönüşümü ile, absorbansta meydana gelen azalma 282'den 296 nm'ye kadar değişen dalga boylarında ölçülür. Ürikaz ile birlikte, proteinden arınmış filtratın kullanıldığı bir referans yöntemi önerilmiştir. Burada 293 nm'de absorbanstaki azalma izlenir ve sonuç molar ekstinksiyon sabitinden hesaplanır.

Plazma ürik asidi ile ilgili güncel enzimatik ölçümler, bir kromojen oluşturmak üzere oksijen alıcılarından bir tanesi ile eşleşmiş peroksidaz sistemini kapsamaktadır. Örneğin, popüler bir yöntem, karaturp ("horseradish") peroksidazı ve bir oksijen akseptörü (4-aminofenazon veya substitüe fenol) aracılığı ile görünür spektrumda açığa çıkan bir kromojen sayesinde hidrojen peroksitin ölçülmesini sağlar. Substitüe fenollerin uygulanmasından elde edilen yarar, molar absorptivitedeki artıştır. Oksijen

akseptörleri ile ilgili diğer seçenekler 3-metil-benzotiyazolin hidrazon (MBTH), 2,2-azino-di-(3-etil-benzotiyazolin)-6-sülfonat (ABTS), ve *o*-dianizidindir.

Yüksek absorptivitede ürün oluşmasını sağlayan substitüe fenolün kullanılması, örnek hacmine gereksinimi azaltır, sonucunda girişimi azaltır. En aza indirilecek girişim oluşturan temel yapılar askorbik asit ve bilirubindir. Genelde, askorbik asit girişimini en aza indirmek için askorbat oksidaz uygulanır. Substitüe fenol ile birlikte aminofenazon kullanılması bilirubin girişimini en az indirir. Bunlara ek olarak, renal yetmezlikli olguların serumunda, fenolik bileşikler olduğu düşünülen bilinmeyen bazı metabolitler, fenol reaktifi ile yarışarak girişim oluşturmalar, ürünün yetersiz geri kazanımına yol açarlar. Substitüe fenol kullanılarak interferans sorunun üstesinden gelinmektedir.

2.1.3.3. Yüksek-performanslı sıvı kromatografi yöntemleri

Ürik asit ayırımı ve ölçümü için iyon değiştirici veya ters faz kolonlarından yararlanılan HPLC yöntemleri kullanılmaktadır. Özütlenen ürik asidi belirlemek için kolon süzüntüsü (kolonda akan sıvı) 293 nm'de izlenir. HPLC yöntemleri özgün ve süratli olup, mobil fazları basit, ürik asit için olan retansiyon zamanları da 6 dakikadan azdır. Plazma da ürik asit ölçümü için önerilen bir yöntem izotop-dilüsyon kütle spektrometriden yararlanmaktadır.

2.1.3.4. Kuru Kimya sistemleri

Ürik asit ölçümü için ürikazı kuru reaktif formatında kullanan cihazlar da açıklanmaktadır. Örneğin, renkli ürün oluşturmak üzere okside olan bir löko boyasından yarı geçirgen membran ile ayrılmış bir çoklütakalı film sistemi ürikaz ve peroksidazı kullanır. Bir sellüloz matriks yastık sistemi ürikaz, peroksidaz, ve MBTH dan oksijen akseptörü olarak yararlanır; sistem, girişimleri indirgemeye yardımcı olan seyreltik bir serum örneği kullanır. Üçüncü bir sistem plazmanın eritrositlerden ayrılmasını ve ürikaz, peroksidaz ve substitüe bir fenol ile ürik asit ölçümünü kapsar. Her 3 sistemde de renk değişiminin doğru ve kesin olarak kantitasyonunu kolaylaştırmak amacı ile bir reflektans metre sisteminden yararlanır. Ürik asit ölçümü için elektrokimyasal ve biyosensör sistemler de tanımlanmıştır.

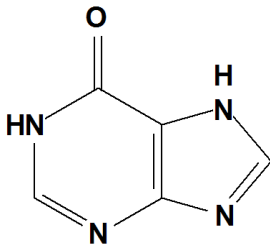
Referans aralıkları

Fosfotungstat yöntemi ile ölçülen referans aralığı erkeklerde 4,4-7,6 mg/dL (262-452 $\mu\text{mol/L}$), kadınlarda ise 2,3-6,6 mg/dL (137-393 $\mu\text{mol/L}$) olarak belirlenmiştir. Buna karşın referans aralıkları yönteme bağımlı olup, enzimatik yöntemlerde erkekler için değerler 3.5-7.2 mg/dL (208-428 $\mu\text{mol/L}$), kadınlar için 2.6-6.0 mg/dL (155-357 $\mu\text{mol/L}$) dir. 20-60 yaşlar arasında %10 kadar yükselen plazma ürik asit düzeyleri, yaş ile tedrici artışlar göstermektedir. Kadınlarda menopoz döneminin başlangıcı ile birlikte ürik asit düzeylerinde anlamlı bir artış ortaya çıkmakta, değerler erkeklerinkine benzer düzeylere ulaşmaktadır.

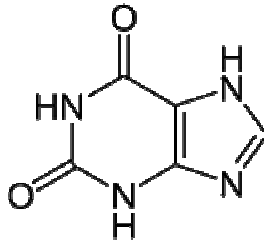
Plazma ürik asit değerlerinin yorumuna yönelik alternatif bir yaklaşım, hiperürisemi derecesini, gut oluşum riski ile ilişkilendirerek yorumlamaktır. Plazma ürik asit düzeyleri 9,0 mg/dL yi (540 $\mu\text{mol/L}$) aşan erkeklerde, buna gut artritinin eşlik etme olasılığı, ürik asit düzeyi 6,0 mg/dL' nin (360 $\mu\text{mol/L}$) altında olanlara kıyasla. 150 kat fazladır. Pürin içeren bir diyet ile beslenen bireylerde üriner ürik asit ekskresyonu 250-750 mg/gün'dür (1,5-4,5 mmol/Gün). Ekskresyon pürinden yoksun bir diyet ile %20-25 oranında azalır, günde 400 mg'nin altına düşebilir.

2.2. Ksantin oksidaz (XO)

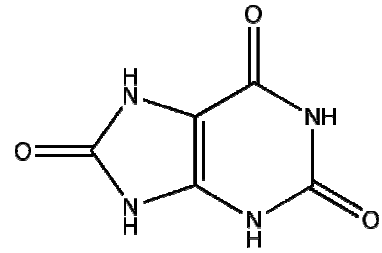
Ksantin oksidaz ya da XO (EC: 1.17.3.2) enzimi hipoksantini ksantine ve daha sonrada ksantini e yükseltir.



Hipoksantin



Ksantin



Ürik asit

Ksantin oksidaz, 270.000 g/mol molekül ağırlığına sahip büyük bir proteindir. Her enzim molekülünde 2 flavin(FAD), 2 molibden atomu ve 8 tane demir atomu bağlıdır. Enzimin aktif bölgesinde kofaktör olarak molibden atomlarını içerir. Demir

atomları ise [2Fe-2S] ferrodoksin demir-sülfür kümeleri ve elektron transfer reaksiyonlarına katılır.¹¹

İnsanlarda, ksantin oksidaz enzimi normalde karaciğerde bulunur kanda serbest halde bulunmaz. Ksantin oksidazın kanda tesbit edilmesi ciddi bir karaciğer zedelenmesi olduğunu gösterir. Bununla birlikte ksantin oksidaz ürik asit in metabolik bir yolla düzenlenmesini sağlar, gut hastalığının teda visinde bir ksantin oksidaz inhibitörü olan allopurinol kullanılır.

Ksantinüri nadir rastlanan genetik bir bozukluktur. Ksantin oksidaz eksikliğinin sebep olduğu kandaki ksantin miktarının fazlalığı böbrek rahatsızlıkları gibi sağlık problemlerine sebep olmaktadır. Bu rahatsızlığın doktorlar tarafından uygulanan özel bir tedavisi yoktur.¹²

2.2.1. MDA Miktarının Ölçümü

Prensip: Tiyobarbutirik asid ve MDA'nın 95 °C'de inkübasyonu esnasında oluşan pembe renkli kompleksin 532 nm'de verdiği absorbansın Spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır.¹³

Kullanılan Reaktifler:

- Fosfat Tamponu: pH 7.4
- Butylated hydroxytoluene (BHT): % 0.88
- TCA: % 30
- EDTA: 0.1 M
- Tiyobarbitürik asit (TBA): % 1
- NaOH: 0.05 N

Deneyin Yapılışı: -80 °C’de saklanan numuneler buradan alınarak çözündürüldü. Daha sonra Tablo 1’de gösterilen miktarlarda reaktifler eklenerek MDA tayini yapıldı.

Tablo 1: MDA Ölçüm Prosedürü

	Numune	Kör
Fosfat tamponu	0.8 ml	0.8 ml
Numune	0.2 ml	–
BHT	0.025 ml	0.025 ml
TCA	0.5 ml	0.5 ml
Tüpler iyice karıştırıldı. 4 °C’de 2 saat inkübe edildikten sonra 2000 g’de 15 dk santrifüj edildi ve kapaklı tüplere aşağıdaki pipetlemeler yapıldı.		
Süpernatant	1 ml	1 ml
EDTA	0.075 ml	0.075 ml
TBA	0.25 ml	0.25 ml
95 °C’de 15 dk inkübe edildi		

15 dakikalık inkübasyon sonrası tüpler oda ısısına gelecek şekilde soğutuldu. 532 nm ve 600 nm’de olmak üzere iki farklı dalga boyunda köre karşı numunelerin absorbensları okutuldu. 600 nm’de ölçülen absorbenslar 532 nm’deki absorbenslardan çıkarıldı ve sonuçlar hesaplandı.

Hesaplama:

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/L}) = \frac{\text{Absorbans} \times 10}{1.52 \times 10^5} \times \text{SK}$$

1.52×10^5 : Molar absorbtivite katsayısı

SK : Seyreltme katsayısı

10^6 : Molü mikromole çevirme katsayısı

2.2.2. Hemoglobin Tayini

Prensip: Hemoglobindeki Fe^{+2} ferrisiyanid tarafından methemoglobindeki Fe^{+3} e yükseltgenir. Daha sonra potasyum siyanür ile methemoglobin stabil siyanomethemoglobine dönüştürülür. Siyanomethemoglobinin 540 nm'deki absorbansının ortamdaki hemoglobin miktarı ile doğru orantılı olmasından faydalanılarak hemoglobin miktarları belirlenir.¹⁴

Kullanılan Reaktifler:

- Drabkin Rektifi. 1.2 mM $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, 1.6 mM KCN, 23.8 mM NaHCO_3
- Siyanomethemoglobin standardı: 80mg/dL

Deneyin Yapılışı:

0.2 ml eritrosit süspansiyonu alınarak buz soğukluğunda 1.8 ml distile su ile 1/10 oranında seyreltilerek hemoliz edildi. Daha sonra Tablo 2'de belirtilen şekilde hemoglobin tayini yapıldı.

Tablo 2: Hemoglobin Ölçüm Prosedürü

	Numune	Standart	Kör
Drabkin reaktifi	5 ml	5 ml	5 ml
Hemolizat	0.02 ml	–	–
Standart	–	0.02 ml	–
Oda sıcaklığında 5 dakika inkübasyon yapılır.			

İnkübasyon sonrası 540 nm dalga boyunda köre karşı absorbanslar okutuldu.

Hesaplama:

$$\text{Hemoglobin (gr/dL)} = \frac{\text{Numunelerin absorbansı}}{\text{Standartın absorbansı}} \times C \times SK \times 10^{-3}$$

C : 80 mg/dL

SK : Seyreltme katsayısı

10^{-3} : mg/dL'yi gr/dL'ye çevirme katsayısı

2.3. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

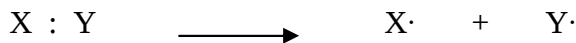
Oksidatif stres, oksidan ajanların üretimi ve organizmanın defans sistemleri arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir.¹⁵

Oksidanlar; reaktif oksijen türleri, reaktif nitrojen türleri, sülfür merkezli radikaller ve diğer çeşitli radikalleri kapsar. Bu reaktif türlerin hepsi radikal değildir fakat radikallere dönüşerek biyomoleküllerin oksidasyonuna ve hücre hasarına neden olabilirler.¹⁶

Serbest radikaller en dış orbitalinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron taşıyan kısa ömürlü bileşiklerdir. Bu nedenle kararsız bir yapıya sahip olduklarından organik ve inorganik moleküllerle kolaylıkla reaksiyona girebilirler.¹⁷

Serbest radikaller 3 yolla meydana gelirler.¹⁸

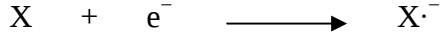
1. Kovalent olarak bağlı bir molekülün ayrılan her bir parçasında ortak elektronlarının birisi kalacak şekilde homolitik bölünmesi.



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı.



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi.



Aerobik canlılarda serbest radikallerin başlıca kaynağı moleküler oksijendir. Hayat için gerekli olan kimyasal enerji ve ısı enerjisini sağlamak üzere karbondan zengin substratlar okside edilir. Bu olayda oksijen molekülünün indirgenmesi esnasında serbest oksijen radikalleri oluşur.¹⁹

2.3.1. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri

Diradikal olarak isimlendirilen oksijen, iki tane eşleşmemiş elektrona sahiptir. Bundan dolayı diğer serbest radikallerle ve radikal olmayan maddelerle kolaylıkla reaksiyona girer. Oksijen moleküllerinin % 95-99'u oksidatif fosforilasyon sırasında mitokondrial sitokrom oksidazlar ile suya dönüştürülmekte ve sonuçta ATP elde edilmektedir. Bu reaksiyonlar esnasında kısmi redüksiyonla reaktif ürünler oluşur. Bunlar, süperoksid radikali, ($O_2^{\cdot-}$) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikalidir ($\cdot OH$). Bazen reaktif oksijen metabolitleri içerisinde singlet oksijen, hipoklorik asit, peroksinitrit ve hatta nikrik oksit de dahil edilir.^{20,21} Bundan dolayı bu reaktif türlerin hepsini reaktif oksijen türleri (ROT) olarak isimlendirmek daha doğru görülmektedir.

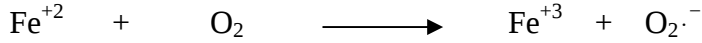
Tablo 3: Reaktif Oksijen Türleri

Radikaller	Gösterimi	Nonradikaller	Gösterimi
Hidroksil	$\cdot OH$	Peroksinitrit	$ONOO^{-}$
Alkoksil	$L(R)O\cdot$	Hipokrolit	$HOC1$
Hidroperoksil	$HOO\cdot$	Hidroperoksid	$L(R)OOH$

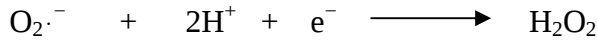
Peroksil	L(R)OO·	Singled Oksijen	ΔO_2
Nitrik oksid	NO·	Hidrojen Peroksit	H ₂ O ₂
Süperoksit	O ₂ · ⁻		

2.3.1.1.Süperoksit Radikali

Oksijen molekülünün bir elektron alıp indirgenmesi veya indirgenmiş geçiş metallerinin ootoksidasyonu ile süperoksit (O₂·⁻) radikali oluşur.²²



Süperoksit bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi direkt olarak fazla zarar vermez. Asıl önemi, hidrojen peroksit (H₂O₂) kaynağı ve geçiş metali iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır.¹⁸ spontan olarak veya enzimatik yolla dismutasyona uğrayabilir.¹⁷ pH 4,8'de spontan dismutasyon çok hızlı iken nötral ya da alkali pH'da enzimatik dismutasyon daha belirgindir.



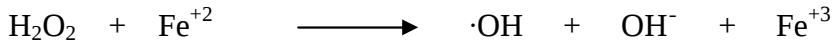
Süperoksit hem oksidan hemde redüktan özelliğe sahiptir.²³ sulu çözeltilerde, askorbik asit ve tiyol gibi molekülleri zayıf olarak okside ederken sitokrom c gibi demir komplekslerini kuvvetli bir biçimde redükte eder. O₂·⁻'nin protonlanmasıyla oluşan hidroperoksit radikali (HO₂·) O₂·⁻'den daha kuvvetli oksidan ve daha kuvvetli redüktandır. Ancak fizyolojik pH'da çok küçük miktarlarda oluşur.¹⁹

Süperoksidin fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksid ile birleşmesi sonucu reaktif bir oksijen türevi olan peroksinitrit meydana gelir. Peroksinitritlerin doğrudan proteinlere zararlı etkileri vardır ve azot dioksit ($\text{NO}_2\cdot$), hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$) ve nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi yoksik ürünlere dönüşürler.¹⁸

2.3.1.2. Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit; $\text{O}_2\cdot^-$ 'nin dismutasyonu ile veya oksijen molekülüne ürat oksidaz, glukoz oksidaz ve D-amino asit oksidaz gibi enzimler tarafından iki elektronun transferi ile direkt olarak oluşturulabilir. Zayıf oksidan, zayıf redüktan bir ajandır ve geçiş metali iyonlarının yokluğunda rölatif olarak stabildir. Yüksüz kovalent bir yapıya sahiptir.¹⁶ Mebranlardan kolaylıkla diffüze olarak açığa çıktığı bölgeden çok uzak bölgelere yayılabilir.²⁴ Eşleşmemiş elektronu olmadığı için aslında bir radikal değildir. Esas önemi, $\text{O}_2\cdot^-$ radikali veya Fe gibi geçiş metalleri ile reaksiyona girerek hidroksil ($\cdot\text{OH}$) radikalinin oluşturmasıdır. $\cdot\text{OH}$ radikalinin oluşturduğu bu reaksiyonlar; Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonudur.²⁵

Fenton reaksiyonu:



Haber –Weiss reaksiyonu:

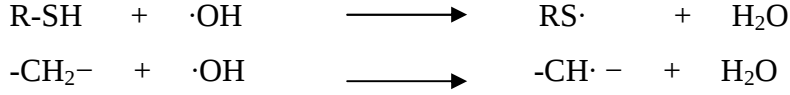


Hidrojen peroksit; katalaz, glutatyon peroksidaz ve diğer bazı peroksidazların etkileriyle hücrelerden uzaklaştırılır.¹⁹

2.3.1.3. Hidroksil Radikali

Hidroksil radikali; suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması veya geçiş metallerinin varlığında H_2O_2 'nin indirgenmesiyle meydana gelir.¹⁹ $\cdot\text{OH}$ bilinen en potent okside edici ajanlardan biridir. Lipid peroksidasyonunu başlatabilir,

DNA iplikçiklerini kırabilir ve hemen hemen tüm organik molekülleri okside edebilir.¹⁶ membran fosfolipidlerindeki poliansature yağ asitlerinin yan zincirleri ile reaksiyona girerek zincirdeki C atomundan H⁺'i ayırır. Böylece lipid peroksidasyonunu başlatarak membranların yapısını bozar.¹⁷ Tiyol ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikallerin oluşmasına neden olur.



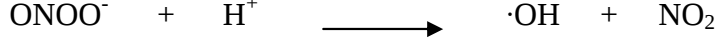
2.3.1.4. Singlet Oksijen

Singlet oksijen (ΔO_2); oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak bir orbitalden diğerine geçmesi veya farklı orbitallerde farklı yönde dönmesi ile oluşur. Eşleşmemiş elektronu bulunmadığı için bir serbest radikal değildir. Ancak serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olabileceğinden önem arz eder. ΔO_2 , uyarılmış elektronların daha düşük enerji seviyelerine inmesi ile ışık yayar. Kimyasal bir bileşikle etkileşimi sonucu kemiluminesans meydana gelir ve bunun ölçülmesi ile reaktif oksijen türlerinin direkt tayini yapılabilir.¹⁸

2.3.1.5. Nitrik Oksit

Nitrik oksit ($\text{NO}\cdot$) ve nitrojen dioksit ($\text{NO}_2\cdot$) eşleşmemiş elektrona sahip olduklarından serbest radikal olarak kabul edilirler. $\text{NO}_2\cdot$; yoğun, kahverengi, zehirli bir gaz ve kuvvetli okside edici bir ajandır. $\text{NO}\cdot$ ise renksiz bir gaz ve zayıf redükta ajandır. Zarlardan kolayca difüzyona uğrayabilir. Nörotransmisyon, kan pıhtılaşması ve kan basıncının kontrolü gibi çeşitli fizyolojik işlevlerde rol oynar. Günümüzde $\text{NO}\cdot$ 'nin vazodilatör bir faktör olan endotel kaynaklı gevşetici faktör olduğu anlaşılmıştır. Nitrik oksit sentaz tarafından NADPH bağımlı bir tepkimeyle L-arjininden sentezlenir. Sentezi nitrik oksit sentazın Ca^{+2} - kalmmodulinle etkileşmesiyle stimule edilir. $\text{NO}\cdot$ dayanıklı olmayan bir moleküldürve depolanmaz. $\text{O}_2\cdot^-$ ile reaksiyona girerek peroksinitrit

(ONOO⁻) serbest radikalini oluşturabilir. Güçlü bir oksidan olan peroksinitrit, asit pH'da metal katalizinden bağımsız olarak küçük miktarda ·OH radikali oluşturabilir.¹⁹



2.3.1.6. Diğer Serbest Radikaller

Serbest oksijen radikallerinin etkisi sonucu karbon merkezli radikaller (R·), peroksil radikalleri (ROO·), alkoksil radikalleri (RO·), tiol radikalleri (RS·) gibi serbest radikaller de meydana gelirler. Özellikle peroksil radikali poliansature yağ asitlerinden meydana gelen uzun yarılanma ömürlü önemli bir serbest radikaldir.¹³

2.3.2. Serbest Radikallerin Kaynakları

Serbest radikaller hücrelerin fonksiyonları esnasında endojen kaynaklı olarak oluşabildikleri gibi eksojen kaynaklı olarak da meydana gelebilirler.

2.3.2.1. Serbest Radikallerin Endojen Kaynakları

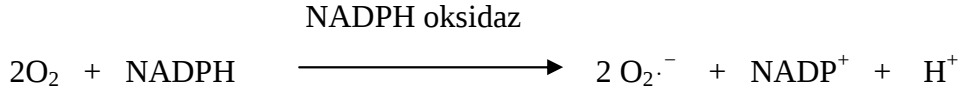
Hücrelerin normal fonksiyonları esnasında küçük miktarlarda serbest radikaller oluşur. Bunlar hücrelerde bulunan enzimlerin etkisi ile oluşabildikleri gibi nonenzimatik yollarla da oluşabilirler.

Endojen serbest radikallerin kaynaklarını şu başlıklar altında toplayabiliriz.

1. Mitokondrial elektron transportu: Serbest radikallerin en büyük kaynağı elektron transport zinciridir. Mitokondri, sitokrom oksidaz sistemi ile oksijeni suya indirgeyerek detoksifiye eder. Ancak elektron transport zincirindeki pek çok bileşik (NAD, FAD, KoenzimQ) oksijen ile tepkimeye girerek O₂·⁻ oluşumuna neden olabilir. Bu olay tek değerlikli oksijen kaçağı olarak isimlendirilir. Normal koşullarda bu kaçak

hücresinin savunma sistemi ile ortadan kaldırılırken oksidan streslerin varlığında savunma sistemi yetersiz kalır ve mitokondrial hasar oluşur.²⁵

2. Aktive olmuş fagositler: Nötrofil, monosit, makrofaj ve eozinofiller fagositoz sırasında büyük miktarlarda $O_2^{\cdot-}$ radikali üretirler.²⁶ Oksijenin redüksiyonuyla oluşan radikaller ($O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 ve $\cdot OH$) fagositik hücrelerin toksik özelliklerinden sorumludur. Ancak bunlar hücrelerin antioksidan kapasitelerini aştıkları zaman hücrelere zarar vererek çeşitli hastalıklara yol açarlar. Fagositik hücreler uyarıldıklarında lizozomal enzimlerin serbestleşmesi ve serbest radikallerin oluşumu ile birlikte mitokondri dışındaki oksijen tüketiminde bir patlama meydana gelir. Bu olayda NADPH oksidaz vasıtasıyla iki molekül $O_2^{\cdot-}$ oluşur.



Süperoksid fagositik hücreler tarafından bakterisidal olarak kullanılan H_2O_2 'ye dönüştürülür. H_2O_2 , miyeloperoksidaz enzimi florür dışındaki halidlerin (klorür, iyodür, bromür) oksidasyonunu katalizler ve böylece okside halidler meydana gelir. Hipokloröz asitler olan hipoklorit ($HOCl$), hipoyodit (HOI) ve hipobromit ($HOBr$) ile bunların tuzları güçlü oksidanlardır ve çeşitli hücre bileşenleri ile reaksiyona girerek bunları okside ederler. Fagositler oluşan bu oksidan ajanları çeşitli antioksidan sistemlerle ortamdan uzaklaştırırlar. Detoksifiye edilmeyen fagosit kaynaklı oksidanlar ototoksik, immünosupresif ve mutajenik etkiler gösterirler.^{18,23}

3. Endoplazmik retikulum ve çekirdek membranlarına bağlı sitokromların (sitokrom P_{450} ve b_5) oksidasyonundan serbest radikaller oluşur. Oluşan radikaller ansatüre yağ asitlerini ve ksenobiyotikleri okside edebilir.²⁷ sitokrom P_{450} alkol ve asetonla indüklendiği zaman aşırı miktarda $O_2^{\cdot-}$ üreten bir izo enzime dönüşür.¹⁸

4. Enzimatik reaksiyonlar: Birçok enzimin katalitik siklusları esnasında serbest radikaller açığa çıkar. Organizmada serbest radikal üreten en önemli enzimlerden biri ksantin oksidazdır (XO). XO enzimi (E.C.1.1.3.22) oksidoredüktazlar sınıfına giren bir flavoproteindir. Memeli hücrelerinde XO ve ksantin dehidrogenaz (XDH) enziminin ikisine birden ksantin oksidoredüktaz denir. Bu iki enzim aynı genin ürünüdür ve birbirine dönüşebilir. En fazla karaciğer ve bağırsaklarda olmak üzere böbrekler, beyin, plazma ve eritrositler gibi pek çok dokuda yaygın olarak bulunur. Sitozolik bir enzimdir. Pürin nükleotidlerinin katabolizmasında görev alır ve hipoksantin ve ksantine, ksantin ise ürik aside yükseltgenmesi reaksiyonunu katalizler.²⁸ Sağlıklı dokularda enzimin çoğu XDH şeklindedir. Ancak iskemi gibi patolojik durumlarda hücre zarının geçirgenliğinin bozulması ve hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artmasıyla kalsiyum bağımlı proteazların aktivasyonu neticesinde XDH, XO'ya dönüştürülür. XDH, hipoksantini ksantine ve ksantini ürik aside dönüştürürken elektron alıcısı olarak daha çok NAD'yi tercih eder. Ancak XO elektron alıcısı olarak oksijeni kullanır.²⁹ Böylece hipoksantin ksantine ve ksantin de ürik aside dönüşürken $O_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2 meydana gelir.²⁵ Her iki form da $O_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2 üretebilir ancak XDH elektron alıcısı olarak NAD'yi daha çok tercih ettiği için serbest radikal oluşumunda primer sorumlu olan XO'dur.²⁹

Aldehid oksidaz enzimi de $O_2^{\cdot-}$ oluşumuna neden olur. Ayrıca dihidrooat dehidrogenaz, flavoprotein dehidrogenaz, aminoasit oksidaz ve triptofan dehidrogenaz gibi enzimler de $O_2^{\cdot-}$ oluşumuna neden olabilirler.¹⁸

5. Peroksizomlar çok önemli hücre içi H_2O_2 kaynağıdır. Buradaki D-aminoasit oksidaz, urat oksidaz ve L-hidroksiasit oksidaz gibi oksidazlar H_2O_2 üretirler.³⁰

6. Küçük moleküllerin otooksidasyonu: Tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler ve tetrahidroproteinler gibi moleküller dioksijenin redüksiyonunu sağlarken primer olarak $O_2^{\cdot-}$ radikalinin oluşumuna neden olurlar.^{25, 30}

7. Plazma membranı: Membran fosfolipidlerinin fosfolipaz enzimiyle arşidonik aside dönüşmesi ve araşidonik asidinde lipooksijenaz ve siklooksijenaz gibi enzimlerle oksidasyonu ile serbest radikal ara ürünleri oluşur.³¹

8. Stres: Streste artan katekolaminlerin oksidasyonu da bir serbest radikal kaynağıdır.¹⁸

2.3.2.2. Serbest Radikallerin Eksojen Kaynakları

İyonize radyasyon, hava kirliliğine neden olan çeşitli kimyasal maddeler, sigara dumanı, antineoplastik ilaçlar (adriamisin, bleomisin, doksorobisin, donorobisin), pestisitler, anestezi ilaçları, organik çözücüler gibi pek çok eksojen ajan serbest radikal oluşumuna kaynaklık edebilir.³⁰

2.3.3. Serbest Radikallerin Etkileri

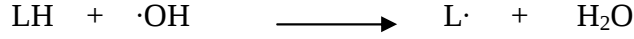
Oldukça reaktif moleküller olan serbest radikaller hücre bileşenleri ve hücre dışı makro moleküllerle etkileşerek organizmada yapısal ve fonksiyonel bozukluklara neden olurlar.³⁰ oksijen radikallerinin etkilediği hücre komponentlerinin başlıcaları; hücre membranlarının ana bileşenleri olan yağ asitleri, proteinler, nörotransmitterler ve nükleik asitlerdir.¹⁷

2.3.3.1. Membran Lipidlerine Etkileri (Lipid Peroksidasyonu)

Lipidler serbest radikal etkilerine en duyarlı hücre bileşenleridir. Biyolojik sistemlerde poliansatüre yağ asitlerinin (PUFA) serbest radikallerle oksidasyonu lipid peroksidasyonu olarak isimlendirilir. Lipid peroksidasyonu organizmada oluşan kuvvetli bir oksidan radikalın zar yapısındaki PUFA zincirinin α -metilen gruplarından bir hidrojen atomunu uzaklaştırması ile başlar. Biyolojik sistemlerde bir çok radikalın

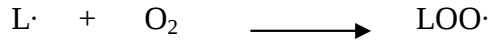
lipid peroksidasyonuna neden olduğu kabul edilmektedir. Bununla birlikte lipid peroksidasyonunu başlatan asıl ajan $\cdot\text{OH}$ radikalidir.^{17,19}

Hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile karbon üzerinde eşleşmemiş bir elektron bulunduran bir lipid radikali meydana gelmiş olur.

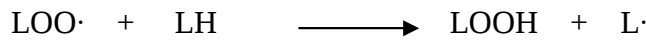


Yağ asidinde bir çift bağın varlığı çift bağın bitişiğindeki karbon atomundaki C-H bağını zayıflatır, böylece hidrojenin uzaklaştırmasını kolaylaştırır. Bundan dolayı membran lipidlerinin PUFA yan zincirleri peroksidasyona daha duyarlıdır.

Eşleşmemiş elektron bulunduran karbon merkezli lipid radikali yapısındaki çift bağların yer değiştirmesi ve moleküler yeniden düzenlenme ile konjuge dienleri oluşturur. Daha sonra bu yapının oksijenle birleşmesiyle peroksil radikali oluşur.

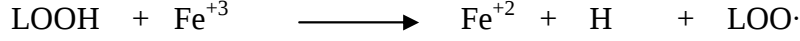


Bu radikal diğer yağ asitlerinden hidrojen asitleri koparabilir ve böylece bir zincir reaksiyonu başlatabilir. Peroksidasyon, eğer ortamda zincir reaksiyonunu sona erdirecek bir anti oksidan (E vitamini gibi) bulunmazsa substratlar bitinceye kadar devam eder. Diğer yağ asitlerinden hidrojen alan peroksiller lipid hidroperoksidlerine dönüşür.^{17,19,32}

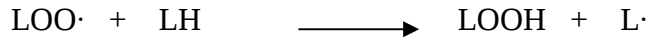
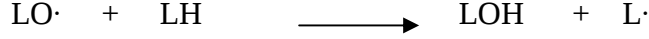


Lipid hidroperoksidleri fizyolojik sıcaklıklarda oldukça stabil moleküllerdir. Ancak geçiş metalleri ve metal kompleksleri varlığında lipid alkoksil ($\text{LO}\cdot$) ve peroksil ($\text{LOO}\cdot$) radikallerine dönüşürler.





Alkoksil ve peroksil radikalleri başka bir lipid substratından hidrojen çıkararak yeni zincir reaksiyonlarını uyarırlar.^{17,19}



Lipid hidroperoksidleri yıkıldığı zaman aldehidler oluşurlar. Bu bileşikler metabolize edilmezlerse diffüze olarak hücrenin diğer bölümlerinde de hasara neden olurlar. Aldehidler; sitotoksik, hepatotoksik, mutajenik ve genotoksik özelliklere sahiptir.^{17,30,32}

Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiobarbitirik asilde ölçülebilen malondialdehid (MDA) meydana gelir. MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Böylece iyon transportu, enzim aktivitesi gibi membran özelliklerini bozar. MDA ölçümü lipid peroksid seviyelerinin belirlenmesinde sıklıkla kullanılır.¹⁸

Biyolojik membranlardaki lipid peroksidasyonu iki şekilde meydana gelir. Arşidonik asit metabolizmasını sürdüren sikloksijenaz ve lipoksijenaz enzimlerinin etkisiyle oluşan tipine enzimatik lipid peroksidasyonu, diğer rasikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna ise non-enzimatik lipid peroksidasyonu adı verilir.¹⁸

Lipid peroksidasyonu son derece zararlı bir zincir reaksiyonudur. Membran akışkanlığında kayıp, membran potansiyelinde azalma, hidrojen ve diğer iyonların permeabilitesinde artma ve sonuç olarak membranın rüptürü ile hücre ve organel içeriklerinin ortama boşalmasına neden olur. Bazı peroksid parçalanmalarının sitotoksik özellikleri de vardır.¹⁹

Hücre membranı yanında mitokondri gibi organellerin membranları da fosfolipidlerinde fazla miktarda doymamış yağ asidi bulundurmaları nedeniyle lipid peroksidasyonuna karşı duyarlıdır. Lizozomal membranların tahribi hidrolitik enzimlerin salınması ve intraselüler sindirimle sonuçlanır.³⁰

2.3.3.2. Proteinler Üzerine Etkileri

Lipidlerden daha az olmakla birlikte proteinler de serbest radikallerden zarar görürler. Proteinlerin serbest radikal hasarına karşı duyarlılığı, yapılarını oluşturan aminoasidlerin bileşimlerine, protein aktivasyonundan veya fonksiyonlarının düzenlenmesinden sorumlu olan amino asidlerin yerleşimine ve hasar gören proteinin onarılabilme kapasitesine bağlıdır. Proteinler progresif olarak okside edildiklerinde çeşitli değişikliklere uğrarlar. Primer yapıyı oluşturan amino asidlerdeki değişiklikler proteinlerin izoelektrik noktasını, katlanmalarını ve hidrofobik özelliklerini değiştirir.³³

Yapılarında doymamış yağ ve sülfür bulunduran moleküllerin serbest radikallerle duyarlılığı daha yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin, sistein gibi amino asidlerden zengin proteinler serbest radikal hasarından çok daha fazla etkilenirler. Prolin ve lizin amino asidleri, $O_2^{\cdot-}$ radikali, H_2O_2 veya $\cdot OH$ radikali oluşturan reaksiyonlara maruz kaldıklarında nonenzimatik hidroksilasyona uğrayabilirler.¹⁸

Serbest radikal etkisiyle özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana gelirler. Yapılarında çok sayıda disülfid bağı bulunduran albumin ve Ig G gibi proteinler serbest radikal hasarına çok duyarlıdır. Serbest radikal reaksiyonlarına bağlı olarak yapıları bozulur ve normal fonksiyonlarını yerine getiremezler.³⁰ hem proteinleri de serbest radikal hasarına duyarlıdır. Oksihemoglobin $O_2^{\cdot-}$ veya H_2O_2 'ye maruz kaldığında methemoglobin oluşur.¹⁸

Enzimler protein yapısında olduklarından serbest radikallerden zarar görebilirler. Glutamin sentetaz, piruvat kinaz, kreatin kinaz, laktat dehidrogenaz gibi enzimlerin serbest radikal hasarına bağlı olarak fonksiyon kaybına uğrayabildikleri gösterilmiştir.^{32,34}

2.3.3.3. Nükleik Asidler Üzerine Etkileri

Serbest radikaller hücre çekirdeği ve DNA ile etkileşerek genotoksik ve mutajenik değişikliklere yol açarlar. Oksidatif hasar, DNA değişimi yapan mutajen faktörlerin muhtemelen en önemlisidir. Oksidan ajanlar, DNA'da deoksiriboz ve bazların oksitlenmesinden zincir kırılmasına kadar geniş bir yelpazede etki gösterebilir. ·OH radikali oluşumu pürin ve pirimidinlerin modifikasyonuna veya DNA ipliklerinin kırılmasına neden olur. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan H₂O₂, membranından kolayca geçebildiğinden dolayı DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta ölümüne neden olabilir. Serbest radikaller ayrıca DNA polimerazı da inhibe ederler.^{17,30}

2.3.4. Serbest Radikal Hasarının Neden Olduğu Klinik Durumlar

Oksidatif hasarın pek çok hastalık grubunda araştırılmıştır. İnflamatuar hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, kistik fibrozis, metabolik hastalıklar, iskemik hastalıklar, AIDS, gastrik ülser, hipertansiyon, diyabet, nörolojik hastalıklar, kanser gibi bir çok klinik durumda serbest radikal hasarı gösterilmiştir.^{21,35,36}

2.3.5. Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest radikal hasarını önlemek amacıyla vücutta antioksidanlar olarak isimlendirilen savunma sistemleri bulunmaktadır. Antioksidan; düşük konsantrasyonlarda substratının oksidasyonunu geciktiren veya önleyen tüm maddelerdir.¹⁹ Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonlarını engelleyerek lipid

peroksidasyonunu inhibe eden ve/veya reaktif oksijen radikallerini tutan maddeler olarak da tarif edilebilir.³⁷

Serbest oksijen radikalleri normal aerobik metabolizma esnasında sürekli olarak üretilir ve çeşitli biyolojik antioksidanlar tarafından ortamdan uzaklaştırılırlar. Ancak antioksidan koruma hiçbir zaman %100 etkinlikte değildir, bu nedenle hayatta kalma için tamir mekanizmalarının varlığı önemlidir. Prooksidanlarda artma veya antioksidanların başarısızlığı oksidatif stres durumunu oluşturur ve moleküler hasar ve doku zedelenmesiyle sonuçlanır.¹⁹

Hücre membranlarında meydana gelen serbest radikal hasarı antioksidanların etki mekanizmalarını anlamada örnek teşkil edebilir. Serbest radikallerin oluşturduğu lipid peroksidasyonunda antioksidanların kullandıkları mekanizmalar şu başlıklar altında toplanabilir.^{21,38}

1. Oksijeni uzaklaştırmak veya lokal oksijen konsantrasyonunu düşürmek
2. Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırmak
3. $O_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2 gibi anahtar reaktif oksijen türlerini uzaklaştırmak
4. Hidroksil, alkoksil ve peroksil türleri gibi serbest radikalleri toplamak
5. Zincir reaksiyonlarını kırmak
6. Singlet oksijeni toplamak

Antioksidan savunma sistemleri; enzimatik ne nonenzimatik veya selüler ve ekstraselüler antioksidanlar olarak farklı şekillerde sınıflandırılabilir.

Selüler antioksidanlar; intraselüler antioksidanlar ve membran antioksidanları olarak sınıflandırılabilir. İntraselüler antioksidanlar, enzimatik antioksidanlardır ve radikal oluşumunu önlemek, oluşan radikallerin etkilerini durdurmak, radikallerin oluşturduğu oksidatif hasarı tamir etmek, hasarlaştırmış moleküllerin eliminasyonunu artırmak gibi fonksiyonları yerine getirirler.¹⁹

Membranda yerleşim gösteren antioksidanlar E vitamini ve β -karoten gibi lipofilik moleküller olup serbest radikallerle reaksiyona girerek biyolojik membranları lipid peroksidasyonundan korurlar.³⁰

Ürik asit, bilirubin ve askorbik asit sitoplazmik yerleşim gösteren antioksidan etkili moleküllerden bazılarıdır.³⁰

Serüloplazmin, transferrin, haptoglobin ve albumin hücre dışı antioksidanlar olarak serbest radikal hasarına karşı hücrenin korunmasına katkıda bulunurlar. Serüloplazmin bakır iyonlarını bağlayarak metal katalizli reaksiyonları kısıtlar ve demirin transferine bağlanmasını kolaylaştırır. Transferin demiri bağlayarak, haptoglobin serbest hemoglobini bağlayarak ve albumin ise bakırı bağlayarak antioksidan etki gösterir.^{20,32}

Tablo 4: İntraselüler Antioksidanlar

Süperoksid dismutaz.....	$O_2^{\cdot-}$ 'i katalitik olarak uzaklaştırırlar
Katalaz.....	Yüksek konsantrasyonlardaki H_2O_2 'yi uzaklaştırır
Glutasyon peroksidaz.....	Düşük konsantrasyonlardaki H_2O_2 'yi ve organik hidroperoksidleri uzaklaştırır
Sitokrom oksidaz.....	Oksijenin H_2O 'ya indirgenmesi esnasında üretilen $O_2^{\cdot-}$, $\cdot OH$ ve H_2O_2 gibi aktif oksijen türlerinin oluşumunun önlenmesi

Tablo 5: Membran Antioksidanları

Vitamin E	Yağda çözünür
β -karoten	Yağda çözünür, radikal tutar ve singlet oksijeni giderir
Koenzim Q antioksidan	Enerji metabolizmasındaki major rolüne ek olarak antioksidan olarak etki gösterebilir

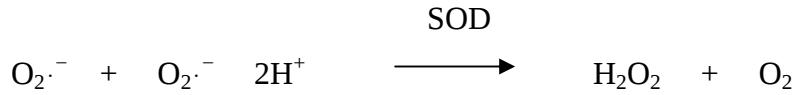
Tablo 6: Ekstraselüler Antioksidanlar

Transferin	Ferik iyonları bağlar
Laktoferrin	Düşük pH'daki ferik iyonları bağlar
Haptoglobin	Hemoglobini bağlar
Hemopeksin	Hemi bağlar
Albumin	Bakırı ve hemi bağlar
Serüloplazmin	Bakır iyonlarını bağlar ve $O_2^{\cdot-}$ 'yi toplar
Ekstraselüler SOD	$O_2^{\cdot-}$ ' katalitik olarak uzaklaştırır
Ekstraselüler GPx	H_2O_2 'yi ve organik hidroperoksidleri uzaklaştırır
Bilirübin	Peroksil radikallerini tutar

Mukus	·OH radikalini tutar
Ürik asit	Radikal tutucudur
Glukoz	·OH radikalini tutar
Askorbik asid	·OH radikalini tutar

2.3.5.1. Süperoksid Dismutaz

Süperoksid dismutaz enzimi ilk defa 1968’de McCord ve Fridrovich tarafından sığır eritrositlerinden izole edilmiştir. Bu enzim tüm aerobik hücrelerde yaygın olarak bulunur ve fizyolojik pH’da $O_2^{\cdot-}$ ’nin dismutasyonunu katalizleyerek lipid peroksidasyonuna karşı hücreleri korur. $O_2^{\cdot-}$ ’nin SOD katalizinde dismutasyonu spontan dismutasyonundan yaklaşık 10 000 kat daha hızlıdır.^{18,22,38}



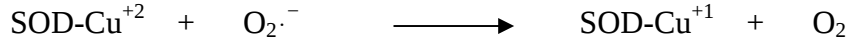
İnsan, bitki ve mikro organizma hücrelerinde enzimin birkaç izoformu tespit edilmiştir. Bu izoformlar yapılarının farklı olmasına ve aktif bölgelerinde farklı geçiş metal iyonu bulundurmalarına karşın aynı reaksiyonu katalize ederler.³⁹ İnsanlarda SOD enziminin üç ayrı tipi bulunur. Bunlar mitokondrial, sitozolik ve ekstraselüler formlardır. Sitozolik ve ekstraselüler form aktif bölgesinde Cu, Zn bulundururken mitokondrial form Mn bulundurur.^{40,41} E.coli’de aktif bölgesinde Fe bulunduran farklı bir form ortaya konmuştur.²¹

Sitozolik Cu/ZnSOD memeli hücrelerinde en fazla bulunan izomerdir. Enzimin aktivitesinden bakır, stabilitesinden ise çinko sorumludur.

Ekstraselüler SOD (EC-SOD) ilk defa Marklund tarafından saflaştırılmıştır. EC-SOD Cu ve Zn içermesine rağmen sitozolik SOD'dan farklıdır. Molekül ağırlığı daha büyük olup glikoprotein yapıdadır. EC-SOD'ların biyolojik rolleri tam olarak aydınlatılabilmiş değildir. Bazı EC-SOD'ların hücre yüzeyinde heparine bağlı olduğu gösterilmiş ve oksidanlara karşı yüzey koruyucu olabileceği düşünülmüştür.⁴⁰

Mn-SOD, mitokondrilerde bulunur ve her biri bir manganez atomu içeren dört alt ünitelerden oluşur.³³ bir çok insan kanserlerinde Mn-SOD'un azaldığı gösterilmiştir ve çoğu vakada aktivitedeki bu azalma dedektif gen ekspresyonunun sonucu olarak değerlendirilmiştir. Proteinlerin katalitik aktiviteleri ve stabiliteleri de Mn-SOD tarafından değiştirilebilir.²¹

Süperoksid dismutaz $O_2^{\cdot-}$ radikalini ortamdan uzaklaştırarak hücreleri oksidatif hasardan korur. $O_2^{\cdot-}$ anyonu, Cu^+ ve enzimin bir arjinin rezidüsünün guanido grubuna bağlanır. Bu bağlanma sonucunda $O_2^{\cdot-}$ 'den bir elektron Cu^{+2} 'ye transfer olurken Cu^{+1} ve moleküler oksijen meydana gelir. İkinci bir $O_2^{\cdot-}$ Cu^{+1} 'den bir elektron alır. Sonuçta iki $O_2^{\cdot-}$ radikali ortamdan uzaklaştırılırken H_2O_2 meydana gelir.¹⁸

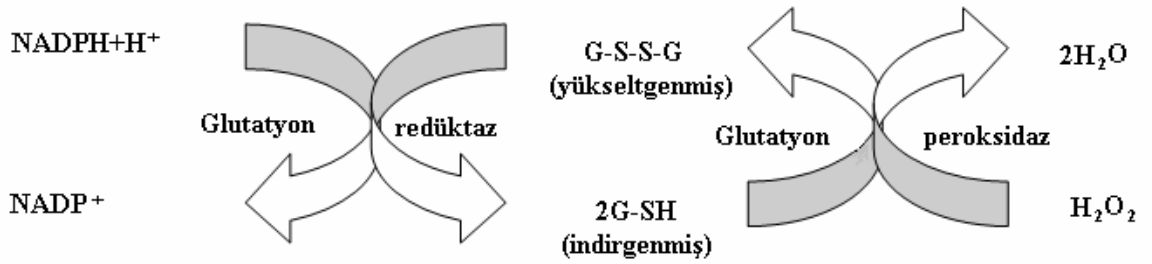


2.3.5.2. Glutasyon Peroksidaz (GPx)

Glutasyon peroksidaz, hidroperoksidleri indirgeyerek etki gösteren antioksidan bir enzimdir.²⁵ molekül ağırlığı yaklaşık 85.000 Da olan enzim dört selenyum atomu ihtiva eden tetramerik bir yapıdadır. Fosfolipid hidroperoksid glutasyon peroksidaz da (PLGSH-Px) selenyum atomu bulunduran monomerik sitozolik bir enzimdir. Membran fosfolipid hidroperoksidlerini alkollere indirger. Membran antioksidanlarının en

önemlilerinden biri olan E vitaminin yetersiz olduğu zaman PLGSH-Px membranı peroksidasyondan korunur.¹⁸

GPx, H_2O_2 ve diğer hidroperoksidleri indirgerken glutatyonun redikte formunu kullanır. Redükte glutatyon (GSH), glutatyon redüktaz aracılığıyla okside glutatyondan (GSSG) elde edilir. (Şekil 2.1) Normal hücrelerde glutatyon redüktaz enziminin aktivitesinden dolayı GSH/GSSG oranı oldukça yüksektir.¹⁸



Şekil 1: Redükte Glutatyonun Oluşumu

Hücrelerdeki H_2O_2 'in uzaklaştırılması hem GPx hem de katalaz enzimi aracılığıyla gerçekleştirilir. Ancak GPx düşük H_2O_2 konsantrasyonlarında etkili iken katalaz daha yüksek konsantrasyonlarda etki gösterir. Bu sebeple GPx hücrelerde oluşan H_2O_2 ve lipid peroksidlerini ortamdan uzaklaştırmada daha etkilidir. Bu şekilde lipid peroksidasyonunu önleyerek biyolojik membranlarında yapı ve fonksiyonlarının sürdürülmesinde önemli bir rol üstlenir.^{30,41,42}

2.3.5.3. Katalaz

Katalaz, başta karaciğer olmak üzere tüm organlarda bulunan antioksidan bir enzimdir. Plazma, serbest serebrospinal sıvı ve sinoviyal sıvı gibi ekstraselüler sıvılarda katalaz çok veya hiç yoktur. Özellikle peroksizomlarda, daha az oranda da sitozol ve mikrozomal bölümde bulunur. Katalaz dört alt birimden oluşur ve her alt birim aktif bölgesinde bir hem grubu taşır. H_2O_2 'yi, oksijen ve suya parçalayarak antioksidan etki gösterir.^{18, 23,40}

3.ANALİZ ÖNCESİ DEĞİŞKENLER

Laboratuvar testlerindeki değerleri etkileyen analiz öncesi değişkenler, kontrol edilebilen değişkenler ve kontrol edilemeyen değişkenler olarak iki başlık altında toplanmaktadır.

3.1. Kontrol Edilebilen Değişkenler

Kontrol edilebilen değişkenler; fizyolojik değişkenler, beslenme, yaşam tarzı, uyarıcılar ve ilaçlarla ilişkilidir.

3.1.1. Fizyolojik Değişkenler

Kontrol edilebilir bireysel değişkenler, duruş, uzun süreli yatak istirahati, egzersiz ve antrenman durumu değişkenlerdir.

3.1.1.1. Duruş

Bir yetişkinde yatar pozisyonundan dik pozisyona geçişte kan hacmi yaklaşık %10 azalır (yaklaşık 600-700mL) Kapillerden dokulara yalnızca proteinsiz sıvı geçtiğinden, duruştaki bu değişiklik kanın plazma hacminde bir düşüşe ve plazma protein konsantrasyonunda (yaklaşık %8-10) bir artışa neden olur.⁴³

3.1.1.2. Uzun Süreli Yatak İstirahatı

Uzun süreli yatak istirahatinde, sıvı tutulur ve serum proteini ve albumin konsantrasyonları sırasıyla ortalama 3-5 g/L azalabilir. Serum kalsiyum düzeyi dışında proteine bağlı maddelerin konsantrasyonları düşer. Serum kalsiyum düzeyinde düşme olmamasının nedeni, iyonize kalsiyum düzeyinin yükselmesi, bunun sonucunda proteine bağlı kalsiyumun düşüşünü karşılamasıdır. Uzun süreli yatak istirahati aynı zamanda üriner azot çıkışının artmasına neden olur.

3.1.1.3. Egzersiz

Egzersizin beden sıvılarının bileşimi üzerindeki etkisi, egzersizin süresi ve yoğunluğuyla ilişkilidir. Orta yoğunlukta yapılan egzersiz, kandaki glukoz konsantrasyonunda artışa neden olur, bu da insülin salımını uyarır. İskelet kasındaki

metabolik aktivitenin artmasıyla plazmada pirüvat ve laktat da artar. Düşük yoğunluktaki egzersiz de, plazmadaki laktatı iki katına çıkarabilir. Egzersiz, ateryel pH'yı ve P_{CO_2} 'yi azaltır. Egzersiz nedeniyle azalan renal kan akışı serum kreatinin konsantrasyonunda hafif bir artışa neden olur. Ürik asitle laktat ve artmış doku katabolizma ürünleri arasındaki renal atılımdaki yarışmaya bağlı olarak, plazma ürik asit konsantrasyonu artar. Egzersiz, hücrel adenozin trifosfatı azaltır ve bu azalma da hücrel geçirgenliği artırır. Artan hücrel geçirgenlik, aspartat aminotransferaz, laktat dehidrogenaz, kreatin kinaz ve adolaz gibi, iskelet kası kaynaklı enzimlerin serumdaki aktivitelerinde hafif artışa neden olur. Beş dakika kadar kısa süreli yürüyüş dahi bu enzimlerin plazmadaki aktivitelerini artırır. Orta yoğunluktaki egzersiz serum kolesterolünde ve trigliserit konsantrasyonlarında, etkisi birkaç gün sürebilecek, hafif azalmaya neden olur. Ağır egzersizin etkileri, genellikle orta yoğunluktaki egzersizin etkilerinin artmış şeklinde gözlenir. Bazı araştırmacıların 20 dakikalık egzersizden 15 dk. sonra saptadığı ağır egzersiz nedeniyle serum bileşenlerinin konsantrasyonları veya aktivitelerindeki değişimler tablo 7'de özetlenmektedir.

Tablo 7: Özel serum bileşenleri üzerine ağır egzersizin etkileri

Bileşen	% Artış	Bileşen	% Azalma
Asit Fosfataz	11	Albumin	4
Alanin aminotransferaz	41	Bilirubin	4
Alkalen Fosfataz	3	Demir	11
Aspartat aminotranferaz	31	Laktat dehidrogenaz	1
Kalsiyum	1	Potasyum	8
Klorür	1	Sodyum	1
Kolesterol	3	Total Lipit	12
Kreatinin	17		
Fosfat	12		
Total protein	3		
Üre azotu	3		
Ürik asit	4		

3.1.1.4. Antrenman

Genellikle, sporcuların dinlenme anındaki serum iskelet kası enzimlerinin aktiviteleri sporcu olmayanlara göre yüksektir. Ancak, bu enzimlerin egzersize yanıtları sporcularda, diğer bireylerde olduğundan daha azdır. Serum üre, ürik asit, kreatinin ve trioksin konsantrasyonları sporcularda antrenman yapmayanlardan daha fazladır, bu durum sporcularda kas kütlesinin artmış olmasına ve kas kütlesinin yapım döngüsünün iyi işlemesine bağlı olabilir.

Fiziksel egzersiz serum kolesterolünde %25'e kadar olmak üzere total serum lipit konsantrasyonunda azalmaya, yüksek dansiteli lipoprotein(HDL) kolesterol düzeylerinde ise artmaya neden olur. Azalma çoğunlukla düşük dansiteli lipoprotein (LDL) koesterol düzeylerinden kaynaklanmaktadır. Serum apolipoprotein A-1 konsantrasyonu fiziksel egzersiz ile yükselirken, apolipoprotein B konsantrasyonu düşer. Serum trigliserit konsantrasyonu 20 mg/dL' ye (0.23 mmol/L) kadar düşebilir, fakat serbest yağ asidi konsantrasyonu zinde bireylerde, diğerlerinde görülen düzeylerden daha yüksektir. Vücut yağı kaybı, lipit konsantrasyonlarının düzenlenmesiyle ilişkilidir. Genel olarak, aynı egzersiz, zinde bireylerde, diğer bireylere göre, daha az belirgin biyokimyasal yanıt verir.

3.1.2. Beslenme

Normal öğünlerden sonra, bazı plazma bileşenlerinin konsantrasyonları etkilenir. Serumda glukoz, demir, total lipidler ve alkalin fosfataz en fazla artış gösteren analitlerdir. Alkalin fosfatazdaki artış yağlı yemekten sonra daha fazlasıdır. Hem bireyin kan grubundan hem de enzim analizinde kullanılan substrattan etkilenir. Lipemi serum bileşenlerinin ölçümünde yararlanılan bazı analitik yöntemleri etkiler.

Öğün etkileri uzun süreli olabilir. Akşam protein bakımından zengin bir yemek yendiğinde, serum üre azotunda, fosfatta ve ürik asit konsantrasyonlarında, 12 saat sonra halen belirgin artışlar gözlenebilir. Ancak bu değişiklikler, bireyler arasındaki tipik değişkenlikten daha az olabilir. Öğle ve akşam proteinden zengin öğünden sonra en az 1 saat sürede serum kolesterol ve büyüme hormonu konsantrasyonları da artar. Karbonhidratlı öğünlerin kanın bileşimi üzerindeki etkisi, proteinli yemeklerin etkisine göre daha azdır. Kahvaltıdan sonra kortizol konsantrasyonda bir değişiklik olmaz, nedeni

sabahın erken saatlerinde kortizolün tüm kortizol bağlayan bölgelere tamamen bağlanması olabilir. Proteinli öğün glukagon ve insülin salgılarını ve karbonhidratlı besinle insülini uyarır.

3.1.3. Yaşam Tarzı

Sigara içme ve alkol alma gibi yaşam tarzını oluşturan etkenler yaygın ölçülen analit düzeylerini etkiler.

3.1.3.1. Sigara İçme

Sigara etkisini nikotin aracılığıyla gösterir. Nikotin bazı laboratuvar testlerini etkilemektedir. Bu etkinin boyutları, içilen sigara sayısına ve solunan sigara dumanının miktarına bağlıdır. Sigaranın serum bileşenleri üzerine rapor edilen etkileri tablo 9'da gösterilmektedir. Bunlara ek olarak, sigara içmek plazmadaki laktat, insülin, epinefrin, büyüme hormonu, 11-hidroksikortikosteroid ve kortizol konsantrasyonlarını, 5-hidroksiindol asetik asit, katekolaminler ve metabolitlerinin üriner atılımını artırır. Nikotin aynı zamanda gastrik sıvı sekresyonunun kuvvetli uyarıcısıdır. Birkaç sigara içildikten sonra bir saat içinde hem hacim hem de asit sekresyonu artar. Buna karşılık, bikarbonat konsantrasyonu ve pankreatik sıvı hacmi azalır.

Kandaki eritrosit sayısı sigara içenlerde daha fazladır. Ağır içicilerde karboksihemoglobin miktarı total hemoglobinin %10'unu aşabilir ve artan hücre sayısı bozulmuş eritrosit oksijen taşıma yeteneğini karşılar. Sigara tiryakisinin kan P_{O_2} 'si sigara içmeyenlerinkinden genellikle 5 mmHg (0,7 kPa) daha azken, P_{CO_2} etkilenmez. Kan lökosit konsantrasyonu, sigara içenlerde % 30 oranında artar, fakat lökosit askorbik asit konsantrasyonu büyük ölçüde azalır. Lenfosit sayısı toplam lökosit sayısına oranla artar.

Sigara içmek bağışıklık yanıtı etkiler. İmmünglobulinden; IgA, IgG ve IgM' nin serum konsantrasyonları genelde sigara tiryakilerinde, sigara içmeyenlerden daha düşüktür, fakat IgE konsantrasyonu daha yüksektir. Sigara içmeyenlere oranla sigara içenlerde antinükleer antikor gözlenebilir ve karsinoembriyonik antijen testleri zayıf pozitif sonuçlar verebilir. Erkek tiryakilerde, sigara içmeyenlere göre, sperm sayısı daha azdır, çünkü ilk grupta anormal formların sayısı daha fazla ve sperm hareketliliği azdır.

Bunlara ek olarak, sigara tiryakilerinde serum B₁₂ vitamini konsantrasyonu genellikle belirgin biçimde düşüktür ve bu düşüş tiyosiyanatın serum konsantrasyonu ile ters orantılıdır. Sigara içenlerde rapor edilen serum bileşenlerindeki değişiklikler tablo 8’ de sunulmuştur.

Tablo 8: Sigara içenlerde, rapor edilen serum bileşenlerindeki değişiklikler

Bileşen	(%) Değişiklik
Albumin	3
Fosfolipit	5
Glukoz	10
Kolesterol	4
Trigliseritler	20
Üre azotu	10

3.1.3.2. Alkol Alımı

Orta derecede tek ölçü alkol almak laboratuvar testlerini çok az etkilemektedir. Orta derecede sarhoşluğa neden olacak kadar alkol almak, kandaki glukoz konsantrasyonu %20-%50 artırabilir. Bu artış diyabet hastası olanlarda daha belirgindir. Daha yaygın olarak, glukoneogenez engellenir ve hipoglisemi ve ketonemi olarak kendini gösterir. Laktat birikir ve böbreklerde ekskresyonunda ürik asitle yarışır, böylece plazma ürik asit konsantrasyonu yükselir. Alkol alımından sonra, aynı zamanda, belirgin hipergliseridemi oluşur ve alkol, yağdan zengin yemekle beraber alındığında, serum trigliserit konsantrasyonu 20 mg/dL2den (0.23 mmol/L) daha fazla artar.

Alkol intoksikasyonunda kortizol salımını uyarılır, ancak bu etki alkol ile değil, intoksikasyon ile ilişkilidir. Akut alkol alımı sempatik medular aktiviteyi artırır, ama bu etki plazma epinefrin konsantrasyonunda gözlenmezken, norepinefrini hafif etkiler. İntoksike bireylerde plazma katekolaminlerinde belirgin bir artış olur. Akut alkol alımı

erkeklerde plazma testosteronunda hızlı bir azalmaya ve plazma luteinize edici hormon konsantrasyonunda bir artışa yol açar.

Kronik alkol alımı, izositrat dehidrogenaz, ornitin karbamoil transferaz ve özellikle de gamma glutamil transferaz (GGT) da dahil bir çok serum enzim aktivitesini etkiler. Artmış GGt aktivitesi, pratikte genellikle, sürekli içki içmenin göstergesi olarak kabul edilir. Kronik alkolizm, anormal hipofizer, adrenokortikol ve medular işlev de dahil çok sayıda karakteristik biyokimyasal anormalliklerle ilişkilidir. Alkol alımı, serum HDL kolesterol ve total kolesterol konsantrasyonunu da dikkate değer derece etkilemektedir.

3.1.4. İlaç alımı

İlaçlar laboratuvar testlerini hem in vivo hem de in vitro etkilemektedir. İn vivo etkiler, ilaçların terapötik hedeflerinden, yan etkilerinden ve hastaya özgü özelliklerden kaynaklanır. Bir ilaç yüksek dozlarda uzun süreli kullanıldığı zaman, vücut sıvılarına etkisi, ilacın izole koşullarda tek doz kullanımında göstereceği etkiden daha belirgindir. Young ilaçları laboratuvar testleri üzerine etkilerini kapsamlı olarak yayımlamıştır.^{44,45}

3.2. Kontrol Edilemeyen Değişkenler

Kontrol edilemeyen analiz öncesi değişkenler; biyolojik, çevresel ve uzun süreli döngüsel etkilerle ilişkili ve tıbbi durumlardan kaynaklanan değişkenlerdir.

3.2.1. Biyolojik Etkiler

Hastanın ve cinsiyeti laboratuvar testlerinin sonuçlarını etkiler.^{46,47}

Tablo 9: Örnek Toplama ve Analiz Öncesi Değişkenler

Yaşın Erkeklerde Serum Bileşenlerinin Ortalama Konsantrasyonuna Etkisi

Ölçülen değer	29 yaşın üzerindeki yaş aralıklarına göre değişim				
Bileşen	<29 y	30 -39 y	40 -49 y	50-59 y	60- 69 y

Albümin (g/dL)	4.6		-0.3	-0.4	-0.6
Alkalen fosfataz (U/L)	51	-1	-0.1	1	4
Aspartat aminotransferaz (U/L)	41.3	3	1	1	
Bilirubin (mg/dL)	0.4	0.1	0	0	0
Fosfat (mg/dL)	4.0	-0.1	-0.3	-0.2	-0.2
Glukoz (mg/dL)	108	1	6	2	9
Kalsiyum (mg/dL)	9.8	-0.1	-0.2	-0.2	-0.3
Kolesterol (mg/dL)	211	29	43	48	36
Kreatinin (mg/dL)	1.1	0	0.1	0.1	0
Total protein (g/dL)	7.6	-0.1	-0.2	-0.2	-0.2
Üre azotu (mg/dL)	15	1	1	2	3
Ürik asit (mg/dL)	5.9	0	0.2	-	-0.2

3.2.1.1. Yaş

Yaşla birlikte serum bileşiminde meydana gelen tipik değişiklikler Tablo 9'da listelenmektedir. Bireyler, yaş açısından, genelde dört grupta değerlendirilir. Yenidoğan, çocukluk ergenlik arası, yetişkin ve yaşlı bireyler.

Yenidoğan: Matür bebeklerde, hemoglobinin çoğu yetişkin hemoglobini hemoglobin A iken, matür olmayanlarda fetal hemoglobin formunda, hemoglobin F'dir. Hem matür hem de matür olmayan bebeklerde arteriyel kan oksijen saturasyonu / doymuşluğu başlangıçta azdır. Özellikle laktik asit olmak üzere organik asitlerin birikmesi sonucunda yenidoğanlarda metabolik asidoz gelişir. Asit-baz durumu, ancak, 24 saat içinde normale döner.

Bilirubin konsantrasyonu doğumdan sonra artar ve yaşamın 3.-5. gününde en üst düzeye ulaşır. Yenidoğanda gözlenen fizyolojik sarılıkta serum bilirubin değerleri nadiren 5 mg/dL'nin (85 µmol/L) üzerinde gözlenmektedir. Doğal olarak ortaya çıkan bu olguyu -yenidoğan hiperbilirubinemi- oluşturan diğer nedenlerden ayırmak zor olabilir; hiperbilirubineminin kronolojik seyri önemlidir.

Yenidoğanda başka farklılıklar da görülebilir. Yenidoğanların glikojen rezervleri az olduğundan, kan glukoz konsantrasyonu düşüktür, fakat düşük glukozun nedeni adrenal immatüritesi de olabilir. Kan lipid konsantrasyonları azdır, ancak 2 hafta sonra yetişkinlerdekine %80'ine erişir. Doğumdan sonra bebek yeni protein sentezlerken,

plazma üre azot konsantrasyonu düşer ve doku katabolizması belirgin oluncaya kadar yükselmeye başlamaz. Gebe kadınlarda gebe olmayan kadınlardakinden yüksek olduğu gibi, sağlıklı yenidoğanda da serum tiroksin konsantrasyonu önemli ölçüde yüksektir. Doğumdan sonra bebekte tiroid-uyancı hormon salgılanır ve bu, serum tiroksin konsantrasyonunu daha da yükseltir. Yaşamın ilk yılında gözlenen fizyolojik hipertiroidizm derece derece azalır.

Çocukluk ergenlik arası: Bebeklikle ergenlik arasında vücut sıvılarının bileşiminde çok çeşitli değişiklikler olur. Söz konusu değişikliklerin çoğu derece derecedir; yetişkin konsantrasyonlarında ani değişiklikler nadiren görülür. Plazma protein konsantrasyonları bebeklikten sonra yükselir ve yetişkin konsantrasyon değerlerine 10. yaştan sonra ulaşılır. Serum IgG düzeyleri α_2 -globulin konsantrasyonundaki artıştaki orana bağlı olmayan bir şekilde yükselir.

Birçok enzimin serum aktivitesi çocukluk döneminde düşerek pubertede veya daha erken dönemde yetişkin değerlerine ulaşır. Yalnız, alanin aminotransferaz aktivitesi, özellikle erkeklerde orta yaşa kadar olmak üzere artmaya devam edebilmektedir. Serum alkalin fosfataz aktivitesi bebeklikte yüksektir, ancak çocukluk sırasında düşer ve puberteden önce büyümeyle birlikte yeniden yükselir. Bu enzimin aktivitesi, kronolojik yaştan çok, iskeletin büyümesi ve cinsel olgunlukla daha çok ilişkilidir, kemik büyümesi sırasında maksimum osteoblastik aktivite nedeniyle en yüksek değer gözlenir. Aktivite, özellikle kadınlarda olmak üzere, puberteden sonra hızla azalır. Bunların yanında, serum kreatinin konsantrasyonu da, iskelet kasının gelişimine paralel olarak, bebeklikten ergenliğe düzenli olarak artar; ergenliğe kadar kadınla erkek arasındaki konsantrasyon farkı çok azdır. Plazma ürik asit konsantrasyonu doğumdan sonra, doğumda en yüksek olduğu değerden düşüş gösterir; bu düşüş 7-10 yaşlara kadar sürer, 7-10 yaşlarından sonra yükselmeye başlar, artış Özellikle erkek çocuklarda 16 yaşına kadar olmak üzere artmaya devam eder.

Yetişkin: Test edilen bileşenlerin çoğu genellikle, kadınlarda ergenlikle menopoza, erkeklerde ergenlikle orta yaş arasında, sabit düzeydedir. Orta yaşta serum total protein ve albumin konsantrasyonlarında hafif düşüş gözlenir. Her iki cinsiyette

serum kalsiyum konsantrasyonunda hafif azalma gerçekleşebilir. Erkeklerde serum fosfat düzeyleri 20 yaşından sonra belirgin şekilde azalır; kadınlarda ise fosfat düzeyleri menopoza kadar düşer, menapozda ise fosfat düzeylerinde belirgin artış gözlenir. Serum alkalen fosfataz kadınlarda menapozda artmaya başlar, bu nedenle yaşlı kadınlarda alkalen fosfataz aktivitesi erkeklerdekinden daha yüksek bulunabilir.

Plazma ürik asit konsantrasyonları erkeklerde 20li yaşlarda, kadınlarda da orta yaşlarda tepe noktasına ulaşır. Orta yaşlarda, üre konsantrasyonları her iki cinsiyette de yükselir. Erkeklerde yaş, serum kreatinin konsantrasyonunu etkilemezken, kadınlarda yükseltir. Serum total kolesterol ve trigliserit konsantrasyonları hem erkeklerde hem de kadınlarda yılda ~2 mg/dL (0.02 mmol/L) oranında artarak, 50-60 yaşlarında en üst düzeye ulaşır. Serum enzimlerinin çoğunun aktivitesi yetişkinlikte, ergenlikte olduğundan daha azdır. Enzim aktivitesindeki bu artış, ergenlerin fiziksel etkinliklerinin daha fazla olmasından kaynaklanabilir. Glukoz yüklenmesinden bir saat sonra plazmadaki glukoz konsantrasyonu her on yılda ~8 mg/dL (0.44 mmol/L) artış göstermektedir.

Yaşlı yetişkinler: Menopozun başlamasından sonra kadınlarda plazma bileşenlerinin çoğunun konsantrasyonlarında anlamlı artışlar olur. Örneğin, kadınlarda östrojen salgısı menopozdan önce düşmeye başlar ve menopozdan sonra daha hızlı düşmeye devam eder, fakat gonadotropinler geri-denetim "feedback" mekanizmasına bağlı olarak karşılıklı artış gösterir. Östrojenlerin serum konsantrasyonları %70 oranında veya daha fazla azalır ve üriner östrojen atılımı da bu oranda azalır. Kadınlarda 60 yaşına kadar serum kolesterolünde gözlenen artıştan östrojen sekresyonundaki azalma sorumlu olabilir. Erkeklerdeki östrojen salgısı da, her zaman kadınlardakinden daha az olmakla birlikte, yaş ile daha da azalır.

Triiyodotironin, paratiroid hormon, aldosteron ve kortizol salınımları da yaşlı insanlarda daha azdır. Kortizol sekresyonundaki azalma üriner 17-hidroksikortikosteroidlerin atılımında ~%50'lik bir düşüşe yol açar. Bazal insülin konsantrasyonu yaştan etkilenmez, ama glukozu yanıtı azalır. Erkeklerde testosteron salınım oranı ve konsantrasyonu 50 yaşından sonra düşer. Kadınlarda hipofizer gonadotropinlerin - özellikle de FSH'in- kanda ve idrardaki konsantrasyonu yükselir.

Yaşlı yetişkinlerde renal konsantrasyon yeteneği zayıflar ve 30-90 yaşlan arasında, kreatinin klirens %50 oranında azalabilir. Glukoz için tübüler maksimum kapasitesi azalır. Ancak, plazma üre konsantrasyonu ve üriner protein atılımı da yaşla birlikte artar.

3.2.1.2. Cinsiyet

Ergenlik çağına kadar kızlarla erkekler arasında laboratuvar verileri arasında bir kaç farklılık vardır. Ergenlikten sonra, alkalen fosfataz, aminotransferaz, kreatin kinaz ve aldolazın serum aktiviteleri, erkeklerde kadınlardakinden daha yüksektir. Erkeklerde iskelet kası kaynaklı enzim aktivitelerinin daha yüksek gözlenmesi, kas kütlesinin daha fazla olmasına bağlıdır. Menopoz sonrasında kadınlarda alkalen fosfataz aktivitesi artarak, erkeklerden daha yüksek değere ulaşır. Total laktat dehidrogenaz (LD) aktivitesi erkeklerde ve kadınlarda benzer olmakla birlikte, erkeklere oranla genç kadınlarda, LD-1 ve LD-3 aktiviteleri daha fazla LD-2 aktivitesi ise daha azdır. Menopozdan sonra bu farklar ortadan kalkar.

Albumin, kalsiyum ve magnezyum konsantrasyonları erkeklerde, kadınlardakinden daha fazladır, ama γ -globulin konsantrasyonu daha düşüktür. Kan hemoglobin konsantrasyonları, kadınlarda daha düşüktür; buna bağlı olarak, serum bilirubin konsantrasyonları da hafif şekilde daha düşüktür. Kadınlarda fertil yıllarda serum demiri düşüktür ve plazma ferritin düzeyleri de erkeklerin değerlerinin üçte biri kadar olabilir. Kadınlardaki düşük demir konsantrasyonu menstürasyona bağlı kan kaybından ileri gelebilir. Kolesterol konsantrasyonu erkeklerde kadınlardan yüksek, α -lipoprotein konsantrasyonu ise düşüktür. Plazma amino asit konsantrasyonlarıyla kreatinin, üre ve ürik asit konsantrasyonları, erkeklerde kadın düzeylerinden daha yüksektir. Kadınlarda ve erkeklerde yaşın serum bileşenleri konsantrasyonlarına etkileri Tablo 10'da gösterilmektedir.

Tablo10: Örnek Toplama ve Analiz Öncesi Değişkenler

Yaşın erkeklerde serum bileşenlerinin ortalama konsantrasyonuna etkisi					
Cinsiyete bağlı farklılık*					
parametre	29 y	30-39 y	40-49 y	50-59 y	60-69 y
Albumin (g/dL)	0.1	0.1	0	0	-0.1

Alkalen fosfataz (U/L)	14	12	-8	2	-1
Aspartat aminotransferaz (U/L)	5	8	8	1	-1
Bilirubin (mg/dL)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Fosfat {mg/dL}	0.1	0.1	0	-0,1	-0.2
Glukoz {mg/dL}	5	3	6	0	6
Kalsiyum (mg/dL)	0.1	0.1	0.1	-0.1	-0.2
Kolesterol (mg/dL)	-14	2	6	-16	-34
Kreatinin (mg/dL)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1
Total protein (g/dL)	-0.1	-0.1	-0.1	-0.1	-0.2
Üre azotu (mg/dL)	3	3	3	2	0
Ürik asit (mg/dL)	1.5	1.7	1.7	1.0	0.5

* (-) işaret ile gösterilenler hariç erkek değerleri kadın değerlerinden daha yüksektir.

3.2.1.3. Irk

Total serum protein konsantrasyonunun, siyah ırkta beyaz ırka göre, daha yüksek olduğu bilinir, α_1 - ve β -globulinlerin konsantrasyonları daha yüksek bulunmasına karşın, bu farklılığın siyah ırkta γ -globulinin çok daha yüksek olmasından ileri geldiği düşünülmektedir, fakat serum albumini siyah ırkta beyazlara oranla tipik olarak daha azdır. Beyaz erkeklere kıyasla, siyah erkeklerde serum IgG sıklıkla %40, serum IgA ise %20 daha fazladır.

Kreatin kinaz ve laktat dehidrogenaz aktivitesi, siyah ırkta kadın ve erkekte beyazlara oranla çok yüksektir. Bu farkın, siyah ırkta kas kütesinin beyazlara göre daha fazla olmasından kaynaklandığı varsayılmaktadır, iskelet gelişimi daha hızlı olduğu için, pubertede, serum alkalen fosfataz düzeyleri, çoğunlukla, siyah çocuklarda beyaz çocukların düzeylerine göre daha yüksek gözlenir.

Karbonhidrat ve lipid metabolizmasında da ırka bağlı farklılıklar vardır. Örneğin, glukoz toleransı siyah ırkta, Polinezlerde, Kızılderililerde ve Eskimolarda, aynı yaş ve cinsiyette olan beyazlardakine oranla daha azdır. 40 yaşından sonra, beyazların serum kolesterol ve trigliserit konsantrasyonları zencilerin düzeylerinden tutarlı daha yükseklik gösterir. Bu farklılıklar ırktan çok beslenmeyle ilişkili olabilir, çünkü plazma lipidlerinin aynı ırk grubunda, dünyanın farklı yerlerinde, farklı düzeylerde olduğu gösterilmektedir. Kan hemoglobin konsantrasyonu, beyazlarda, siyahlardakinden 1 g/dL daha yüksektir. Pasifik Bölgesindeki bazı yerli gruplarda (Örneğin, Yeni Zelanda Maorileri), ortalama

plazma ürik asit konsantrasyonları beyaz topluluklardakinden anlamlı ölçüde daha yüksektir.

3.2.2. Çevresel Etkenler

Laboratuvar sonuçlarını etkileyen çevresel etkenler, yükseklik, hava sıcaklığı ve yerleşim yeridir.

3.2.2.1. Yükseklik

Yüksek yerlerde yaşayan bireylerin kan hemoglobinleri, atmosferdeki P_{O_2} 'nin düşük olması nedeniyle, belirgin derecede yüksektir. Eritrosit 2,3-difosfoglisarat da artar ve oksijen ayrılma/disosiasyon eğrisi sağa kayar. Yüksek eritrosit konsantrasyonu daha hızlı nükleoprotein dönüşümüne ve ürik asit atılımına yol açar. Yüksek yerlerde yaşayan bireylerde büyüme hormonunun, açlık durumundaki, bazal konsantrasyonu daha yüksektir.

3.2.2.2. Hava Sıcaklığı

Çevre sıcaklığı vücut sıvılarının bileşimlerini etkilemektedir. Ani sıcaklık karşısında, interstisiyel sıvının intravasküler boşluğa hızla hücum etmesi ve glomerüler filtrasyonun azalması sonucunda, plazma hacmi artar. Plazma protein konsantrasyonunda %10'a varan düşüşler olabilir. Terlemeyle su ve tuz kaybedilebilir, fakat genellikle, plazma sodyum ve klorür konsantrasyonlarında bir değişim olmaz. Potasyumun hücreler tarafından alınmasıyla, plazma potasyum konsantrasyonu %10 azalabilir. Terleme fazla olursa, hemodilüsyon yerine hemokonsantrasyon ortaya çıkar.

3.2.2.3. İkamet Yeri

Bireyin yaşadığı coğrafi bölge, vücut sıvılarının bileşimini etkileyebilir. Örneğin, suyu sert olan bölgelerde yaşayan bireylerde, serumdaki kolesterol, trigliserit ve magnezyum konsantrasyonlarında bir artış gözlenmektedir. Eser elementlerin konsantrasyonları da yaşanan yerden etkilenir; örneğin, maden cevherlerinin ergitildiği yerlerde yaşayanlarda, eser elementlerin serum konsantrasyonları yükselebilir. Araba trafiği daha yoğun olan bölgelerde de, kırsal bölgelere oranla, daha yüksek karboksihemoglobin konsantrasyonları görülür (1970'lerde Birleşik Devletler'de kan kurşununda olduğu gibi).

3.2.3. Uzun - Dönem Döngüsel Değişimler

Uzun süreli döngüsel değişimler de laboratuvar sonuçlarını etkiler. Mevsimsel etkiler bu değişimlere örnektir.

3.2.3.1. Mevsimsel Etkiler

Mevsimlerin vücut sıvılarının bileşimi üzerine etkileri azdır ve büyük olasılıkla, mevsimle birlikte beslenmenin değişmesine ve fiziksel aktivitedeki değişikliklerle ilişkilidir. Mevsimsel değişime ilişkin değerlendirmeler yapmak zordur, çünkü bunlar mevsimin tanımlanmasına ve mevsimlere göre sıcaklıkta gözlenen değişimin büyüklüğüne bağlıdır. Vücut sıvılarının bileşiminde ortaya çıkan günlük değişimler, yaz aylarında, kışa oranla daha fazladır.⁴³

4. MATERYAL VE METOD

4.1. Kan Örneklerinin Alınması

Aktif sporcularda antrenman öncesi ve antrenman sonrası ksantin oksidaz (XO) ve ürik asidin (ÜA) antioksidan özelliklerinin araştırılması konulu araştırmada toplam 50 sporcudan antrenman öncesinde ve antrenman sonrasında alınan kan örneklerinde çalışılmıştır. Bu sporcular 18-29 yaş aralığında olup yetişkinler kategorisinde yer almaktadır. 50 sporcu farklı branşlardan oluşmaktadır. Sporcuların 18 tanesi Demir Spor Futbol Kulübü'nden, 12 tanesi DSİ Spor Basketbol takımından, 12 tanesi Erzurum Gençlik Spor Kulübü Atletizm takımından ve 8 tanesi Erzurum Büyükşehir Belediyesi Güreş takımından oluşmaktadır.

Sporcuların 40 tanesi erkek ve 10 tanesi kadın olup yaş ortalamaları 23 ± 5 idi. Sporcuların aktif spor yaşantıları 2-10 yıl aralığında olup halen aktif olarak spor yapmaktadırlar. Kontrol grubu spor yapmayan 24 tanesi erkek ve 6 tanesi kadın toplam 30 sağlıklı bireylerden oluşturuldu. Yaş ortalamaları 23 ± 6 idi.

Sporcuların tamamından antrenman öncesinde 10 ml venöz kan örneği alındı. Daha sonra sporcular antrenmana alındı. 1,5 saatlik antrenman sonunda 10 ml venöz kan örneği alınarak K₃EDTA'lı ve antikoagülansız vacutainer tüplere aktarıldı. Alınan kan örnekleri önce 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek plazmaları ve serumları ayrıldı. Ksantin Oksidaz (XO) enzim aktiviteleri hemolizatta belirlendi. Ayrılan serum örneklerinde ürik asit (ÜA) çalışılması için -80 °C'de donduruldu. Plazmaları ayrıldıktan sonra tüplerde kalan eritrositler 3 kez izotonik NaCl solusyonuyla yıkanarak eritrosit paketi elde edildi. Bundan 0,2 ml alındı ve üzerine 1,8 ml distile su eklenerek antioksidan enzimleri çalışmak üzere hemolizat oluşturuldu ve -80 °C'de çalışma zamanına kadar saklandı. Ürik asit (ÜA) konsantrasyonu hazır ticari kit kullanılarak olympus 2600 otoanalizöründe çalışıldı.

4.2. Ksantin Oksidaz Aktivitesinin Ölçümü

Prensip: Substrat olarak ortama eklenen ksantin numune içinde bulunan XO enzimi ile ürik aside dönüştürülmesi ve spektrofotometrik olarak absorbandsının 293 nm’de ölçülmesi esasına göre XO aktivitesi tayin edildi.⁴⁸

Kullanılana Reaktifler:

- Ksantin: 4 mM
- Ürik asit standardı: 10 mM50µ
- Fosfat Tamponu: 50 mM, pH 7,5
- TCA: %100

Deneyin Yapılışı: Numuneler -80 °C’den alınarak çözündürüldü. Tablo 11’de belirtilen miktarlarda reaktifler tüplere aktarılarak deney gerçekleştirildi.

Tablo 11: Ksantin Oksidaz Ölçüm Prosedürü

	Numune körü	Numune	Standart Körü	Standart
Fosfat Tamponu	2.80 ml	2.80 ml	2.85 ml	2.80 ml
Ksantin	50µ	50µ	50µ	50µ
Numune	-	50µ	-	-
Standart	-	-	-	50µ
37 °C’ de 30 dakika inkübe edilir				
Numune	50µ	-	-	-
TCA	0.10 ml	0.10 ml	0.10 ml	0.10 ml

TCA ilavesinden sonra tüpler iyice karıştırılarak 4500 rpm’de 15-20 dakika santrifüjleme yapıldı. Berrak süpernatanın 1 ml’si alınarak yavaşça küvete aktarıldı ve 293 nm’de absorbandsları okutuldu.

Hesaplama: kullandığımız ürik asit standardının konsantrasyonu ve absorbands değerinden faydalanılarak hesaplama yapıldı.

4.3. İstatistiksel Analizler

Araştırma sonuçları ortalama değer $\pm$ standart sapma ($\bar{x} \pm SD$) olarak ifade edildi. Gruplar arasındaki farkın önemlilik derecesi Independent T Testi ile belirlendi. İstatistik hesaplamalar için SPSS 11,5 istatistik paket programı kullanıldı ve $p < 0.05$ değeri anlamlılık sınırı olarak kabul edildi.

5. BULGULAR

Çalışmamıza çeşitli spor dallarında aktif olarak spor yapan 50 sporcu ve kontrol grubu olarak herhangi bir hastalığı bulunmayan 30 sağlıklı gönüllü dahil edildi. Sporculardan antrenman öncesinde ve 1,5 saatlik antrenman sonrasında kan örnekleri alındı. K₃EDTA'lı tüplere alınan tam kandan elde edilen plazma ÜA ve eritrosit hemolizatlarında XO aktiviteleri ölçüldü. Elde ettiğimiz sonuçlar Tablo 12 a. b.c'de özetlendi.

Tablo 12: Sporcu ve Kontrol Numunelerinde Ölçülen Parametrelere ait Ortalama, Standart Sapma ve İstatistiksel olarak Anlamlılık Değeri.

(a): Antrenman Öncesi ve Kontrol Grubu Arasında

Parametreler	Kontrol Grubu n=30, x±SD	Deney Grubu n =50, x±SD
		Antrenman Öncesi
XO (U/grHb)	2,86 ± 0,45 ^a	3,01 ± 0,39
ÜA (mg/dL)	4,85 ± 0,43 ^b	5,33 ± 0,69

a) p<0,05 : Kontroller ve Antrenman Öncesi XO değerleri arasında

b) p<0,05 : Kontroller ve Antrenman Öncesi ÜA değerleri arasında

(b): Antrenman Sonrası ve Kontrol Grubu Arasında

Parametreler	Kontrol Grubu n=30, x±SD	Deney Grubu n =50, x±SD
		Antrenman Sonrası
XO (U/grHb)	2,86 ± 0,45 ^a	4,38 ± 0,77
ÜA (mg/dL)	4,85 ± 0,43 ^b	8,39 ± 0,33

a) p<0,001: Kontroller ve Antrenman Sonrası XO değerleri arasında

b) p<0,001: Kontroller ve Antrenman Sonrası ÜA değerleri arasında

(c): Antrenman Öncesi ve Antrenman Sonrası Arasında

Parametreler	Deney Grubu n =50, x±SD	
	Antrenman Öncesi	Antrenman Sonrası
XO (U/grHb)	3,01 ± 0,39 ^a	4,38 ± 0,77
ÜA (mg/dL)	5,33 ± 0,69 ^b	8,39 ± 0,33

a) p<0,01 : Antrenman Öncesi ve Antrenman Sonrası XO değerleri arasında

b) p<0,01 : Antrenman Öncesi ve Antrenman Sonrası ÜA değerleri arasında

Sporcuların antrenman öncesi, antrenman sonrası ve kontrol numunelerinde hemolizat ksantin oksidaz (XO) sonuçları ile plazma ürik asid (ÜA) sonuçları tablo 13 ve tablo 14’de gösterilmiştir.

Tablo 13: Sporcu ve Kontrol Numunelerinde Hemolizat Ksantin Oksidaz (XO) Sonuçları

Hemolizat Ksantin Oksidaz (XO) Sonuçları			
Sıra	Kontrol Grubu	Deney Grubu	
		Antrenman Öncesi	Antrenman Sonrası
	U/grHb	U/grHb	U/grHb
1	2,8	3,18	4,41
2	2,92	2,77	4,14
3	2,6	3,2	5,02
4	2,55	3,02	5,15
5	2,63	3,05	5,1
6	2,99	3,04	4,12
7	2,98	3,19	4,21
8	2,45	2,91	3,61
9	2,63	3,22	3,83
10	3,22	3,21	4,21
11	2,85	2,65	4,05
12	3,2	2,66	5,01
13	2,87	3,01	3,94
14	3	3,03	4,65
15	2,99	3,11	4,21
16	2,83	3,05	4,77
17	2,45	2,77	5,03
18	2,41	2,79	3,88
19	2,65	2,89	4,02
20	3,15	3,03	4,23
21	2,98	3,09	4,12
22	3,2	2,83	4,36
23	2,86	2,79	4,26
24	2,84	3,4	4,35
25	2,69	3,16	4,45
26	2,84	3,06	4,61
27	2,89	3,12	4,59
28	2,84	3,05	5,05
29	3,2	2,88	3,97
30	3,29	3,14	4,01
31		2,62	4,41
32		3,31	4,34
33		3,11	4,51
34		2,99	4,58
35		3,11	4,25

Hemolizat Ksantin Oksidaz (XO) Sonuçları			
Sıra	Kontrol Grubu	Deney Grubu	
		Antrenman Öncesi	Antrenman Sonrası
	<u>U/grHb</u>	<u>U/grHb</u>	<u>U/grHb</u>
36		2,91	4,28
37		3,02	4,59
38		3,21	4,21
39		3,15	4,31
40		2,81	4,43
41		2,87	4,55
42		3,26	4,19
43		3,31	4,39
44		2,71	4,57
45		2,96	4,18
46		2,94	4,17
47		2,93	4,21
48		3,03	4,49
49		3,04	4,51
50		2,91	4,47
Ort.	2.86 U/grHb	3,01 U/grHb	4,38 U/grHb
	(± 0,45)	(± 0,39)	(± 0,77)

Tablo 14: Sporcu ve Kontrol Numunelerinde Plazma Ürik Asid (ÜA) Sonuçları

Plazma Ürik Asid (ÜA) Sonuçları			
Sıra	Kontrol Grubu	Deney Grubu	
		Antrenman Öncesi	Antrenman Sonrası
	mg/dL	mg/dL	mg/dL
1	4,66	5,15	8,41
2	4,91	5,41	8,61
3	4,86	5,39	8,56
4	4,53	5,23	8,45
5	4,43	5,11	8,33
6	5,02	5,33	8,47
7	5,01	5,51	8,59
8	4,78	5,85	8,69
9	5,23	6,02	8,72
10	4,98	5,91	8,7
11	4,59	5,12	8,24
12	4,82	4,84	8,12
13	4,83	4,66	8,09
14	4,77	4,64	8,06
15	5,15	5,45	8,51
16	5,12	5,36	8,41
17	5,01	5,65	8,45

Plazma Ürik Asid (ÜA) Sonuçları			
Sıra	Kontrol Grubu	Deney Grubu	
		Antrenman Öncesi	Antrenman Sonrası
	mg/dL	mg/dL	mg/dL
18	4,59	5,18	8,28
19	5,18	5,55	8,34
20	4,56	5,23	8,23
21	4,85	5,12	8,16
22	4,95	5,49	8,25
23	4,65	4,95	8,14
24	4,88	5,59	8,63
25	4,81	4,78	8,19
26	4,71	5,48	8,47
27	5,08	4,89	8,31
28	4,81	5,64	8,59
29	5,02	4,85	8,16
30	4,71	5,81	8,67
31		4,64	8,19
32		5,63	8,65
33		5,86	8,69
34		5,75	8,59
35		5,49	8,42
36		5,32	8,29
37		5,33	8,35
38		5,66	8,51
39		5,35	8,47
40		4,84	8,13
41		4,99	8,21
42		5,63	8,52
43		5,61	8,46
44		4,83	8,38
45		5,41	8,22
46		5,67	8,57
47		5,43	8,42
48		5,29	8,19
49		5,19	8,17
50		5,39	8,24
Ort.	4,85 mg/dL	5,33 mg/dL	8,39 mg/dL
	(± 0,43)	(± 0,69)	(± 0,33)

6. TARTIŞMA

Egzersizde enerji tüketimi ve oksijen ihtiyacı vardır. Serbest radikaller normal metabolizmanın yan ürünleri olarak ortaya çıkmakta ve egzersiz yapan kasın daha fazla oksijen tüketmesinin sonucunda ROS üretimi artacağı öne sürülmektedir.⁴⁹ Enerji tüketiminin temel ilkesi oksidasyondur. Oksidasyon sırasında hidrojen peroksit gibi oksijen ve türevlerinin oldukça aktif şekilleri üretilmektedir. Radikaller membrandaki PUFA peroksidasyonuna neden olmakta, membran geçirgenliğini bozmakta ve hücre hasarı ortaya çıkmaktadır. Özellikle akut ve ağır egzersiz oksidatif hasarı etikleyebilmektedir.⁵⁰ Yüzücülerde yapılan bir çalışma ağır egzersiz sonrası oksidan hasarın arttığını göstermiştir.⁵¹ Bu sebepten dolayı egzersizin türü ve süresinin hasar yerine yararlı olacak şekilde düzenlenmesi gerekmektedir. Yıkıcı olmayacak egzersizin oksidan sistem üzerine baskılayıcı olduğu, böylece yararlı olabileceği artık bilinmektedir.⁵² Egzersiz sırasında açığa çıkacak oksidan ve antioksidanları oranı egzersiz şiddetiyle değişim gösterir. Ağır ve şiddetli egzersizlerde hasar yapıcı oksidan sistem daha fazla aktive olurken, düzenli ve kısa süreli maksimal olmayan spor faaliyetleri antioksidan sistemleri daha fazla aktive edecektir.^{53,54} Kısa süren ve oksidan sistem yerine antioksidan sistemi aktive eden ya da oluşmuş olan oksidan ürünleri süpüren bir sistem gibi egzersiz bir antioksidan mekanizma olarak çalışabilir. Değişik antioksidan enzimlerde egzersiz sonucu olan artışlar bir çok çalışmada gösterilmiştir.^{52,55}

Plazma ürik asit seviyeleri yapım ve vücuttan atılım arasındaki dengeye bağlıdır. Artmış yapım yüksek purin içerikli diyet ya da alkol alımı, artmış hücre dönüşümü (örneğin polisitemi) ya da enzimatik bir eksiklik (hipoksantin-guanin ribozil transferaz) sonucunda oluşabilir.⁵⁶

Lokal ve dolaşımdaki ürik asit seviyeleri ayrıca doku oksijenasyonu ve hemodinamik faktörlerden de etkilenir. Dokuda iskemi oluştuğunda adenosin trifosfat yıkımı başlar ve bunun sonucunda ürik asit seviyeleri artar.⁵⁶

Ürik asit oluşumundaki enzimatik reaksiyonlardan ikisi ksantin oksidaz tarafından katalize edilir. Bu işlem sonunda her basamakta yan ürün olarak süperoksit molekülü ortaya çıkar.⁵⁷ Ürik asit seviyelerindeki artış ksantin oksidaz enzim

aktivitelerindeki artışın bir sonucu olarak ortaya çıkar ve sonuçta süperoksit üretimi ve oksidatif stres ile sonuçlanır.⁵⁸

Doku düzeyinde yapılan çalışmalarda da ksantin oksidaz enzim aktivitesinin arttığı gösterilmiştir.⁵⁹ Yapılan çalışmalardaki kanıtlar ksantin oksidaz enzim aktivitesinin artan ürik asit üretimi ile belirgin bir ilişkisinin olduğunu göstermiştir.⁵⁹

Bu çalışmada plazma ürik asit seviyeleri ile egzersiz arasında yakın ilişki olduğu gözlenmiştir. Ürik asit seviyesi spor yapmayanlarda ortalama 4,85 mg/dl iken antrenman öncesi sporcularda ortalama 5,33 mg/dl, antrenman sonrası ise ortalama değer daha belirgin bir şekilde artarak 8,39 mg/dl olduğu görülmüştür. Aynı şekilde hemolizat ksantin oksidaz seviyeleri ile egzersiz arasında da yakın bir ilişki olduğu gözlenmiştir. Ksantin oksidaz seviyesi spor yapmayanlarda ortalama 2,86 U/grHb iken antrenman öncesi sporcularda ortalama 3,01 U/grHb, antrenman sonrası ise ortalama değer daha belirgin bir şekilde artarak 4,38 U/grHb olduğu görülmüştür. Bu çalışmadaki bulgularla plazma ürik asit ve ksantin oksidaz seviyelerinin egzersiz kapasitesi ve antrenman durumuyla yakın bir ilişki olduğu görülmüştür.

Bazı araştırmacılar sportif yüklenmelere bağlı oksidatif stresi belirlemekte zorluk yaşayabilirler. Bu birkaç sebebe bağlı olabilir. Öncelikle farklı çalışmalarda farklı test denekleri kullanılmaktadır ki; antrenman durumu, yaş, cinsiyet, vücut yapısı, fiziksel aktivite geçmişleri, beslenmeleri vb birçok faktör oksidatif strese etki etmektedir. İkinci olarak çok çeşitli sportif yüklenme protokolleri kullanılmaktadır. Yapılan sportif yüklenmenin türü, süresi, şiddeti en büyük farklılık yaratan etkenlerdendir. Sadece çok yüksek yoğunlukta veya çok uzun süreyle yapılan sportif yüklenmelerde serbest radikal üretimi antioksidan savunma sistemini aşmaktadır. Lovlin ve arkadaşları, bitkinliğe kadar yapılan koşu bandı egzersizinde Malondialdehit (MDA) seviyelerinde artış saptarken, VO₂max'nin %70 civarında yapılan yüklenmede bu etkiyi oluşturamamış hatta %40 ile yapılan düşük yüklenme şiddetindeki koşu sonrasında bu oksidatif stres belirtecini azaldığını saptamıştır.⁶⁰

Miyazaki ve arkadaşları⁶¹ 9 antrenmansız erkek deneğe 12 hafta boyunca haftanın 5 günü maksimal kalp atım hızının %80'i şiddetinde günde 60 dakikalık koşu antrenmanı yaptırmışlardır. Antrenman programından önce ve sonra denekler bitkinliğe varan bisiklet ergometresine tabi tutulmuşlardır. Bu sportif aktivitenin öncesinde ve

sonrasında kan örnekleri incelendiğinde TBARS seviyelerinin antrenman programı öncesi ve sonrasında bitkinliğe varan yüklenmelere tepki olarak arttığını tespit etmişlerdir. Fakat bununla birlikte dayanıklılık antrenmanlarının egzersize bağlı lipid peroksidasyonunu anlamlı olarak azalttığını bildirmişlerdir.

Miyazaki ve arkadaşları⁶¹ yoğun dayanıklılık antrenmanının aerobik kapasiteyle beraber eritrositlerde antioksidan enzim aktivitesini de yükseltebileceğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte dayanıklılık antrenmanları; bitkinliğe varan sportif aktiviteyi takiben nötrofillerin O₂• - üretim yeteneğini azaltır. Böylece, bu antioksidan sisteminin ileri regülasyonu; eritrosit membranında sportif aktivitelere bağlı lipid peroksidasyonunun azalmasıyla sonuçlanır. Bu nedenle 12 haftalık koşu antrenman programının eritrositlerde antioksidan savunma sistemini ileri regüle etmede etkili bir strateji olduğu bildirilmiştir.

Düzenli antrenman yapan sporcularda ksantin oksidaz ve ürik asit değerleri sportif yüklenmeden sonra yüksek bulunmuştur. Buna sporcuların daha önce yaptıkları sportif yüklenmelerin sonucunda vücutlarında oluşmuş olan bir birikim neden olmuş olabilir. Bu sonuçlar ışığında gelecekte yapılacak olan çalışmalarda farklı sportif yüklenme türlerinin aynı gruplarda çalışılması daha detaylı bilgilere ulaşılmasını sağlayabilir. Ayrıca yapılan sportif yüklenmeler sonrasında oksidatif stresin vücutta bir birikim oluşturmadığı ya da kas hasarının daha uzun sürede ortaya çıkabilmesi göz önüne alınarak yüklenmeler sonrasına daha uzun süreli takipler yapılması faydalı olacaktır.

Ürik asit ve ksantin oksidaz ölçümleri şu an için klinik kullanımda olmasa da ürik asit ve ksantin oksidaz enziminin antioksidan özelliği bakımından önemli bir yeri olduğu yapılan çalışmalarla ispatlanmıştır. Bu konuda ileride yapılacak daha büyük ölçekli çalışmalarda hemolizat ksantin oksidaz ve plazma ürik asit düzeylerinin ölçümünün sporcuların aktif spor yaşantılarını planlamadaki potansiyel yeri daha net ortaya çıkacaktır.

7. SONUÇ

Yapılan araştırmada, sporculardan alınan kan örneklerinde egzersizle birlikte ksantin oksidaz (XO) ve ürik asidin (ÜA) antioksidan özelliğinde bir artış olduğu sonucuna varılmıştır.

Bu sonuca varabilmemizi sağlayan en önemli bulgu, 1,5 saatlik antrenmandan sonra alınan kan örneklerinde ksantin oksidaz değęrlerinin ve ürik asit değęrlerinin yüksek çıkmasıdır. Hücrelerde hasarı önleyen, yok eden veya kısmen azaltan çeşitli antioksidan savunma mekanizmaları vardır. Antioksidan enzimler oksidan ajanları tutarak daha zayıf bir moleküle dönüştürür ve vücuttan atarlar. Vitaminler ve flavanoidler gibi bileşikler, oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirebilmektedirler. Oksidanların oluşturduğu hasarı onaran antioksidanlar da bulunmaktadır. Ürik asit ve ksantin oksidaz değęrlerinin yüksek çıkması performansın artması ve antrenman veya müsabaka sonrasında toparlanma sürecini hızlı bir şekilde tamamlaması açısından iki farklı önem arz etmektedir.

8. KAYNAKLAR

1. Uğur-Chousein EG. Tüberküloz hastalarında ürik asit seviyelerinin değerlendirilmesi. Uzmanlık tezi, İstanbul, 2005.
2. Waring WS, Webb DJ, Maxwell SRJ. Uric acid as a risk faktor for cardiovascular disease. Q J Med 2000; 93: 707–713.
3. Davies KJA, Sevanian A, Muakkassah-Kelly S, Hochstein P. Uric acid-iron ion complexes. Biochem J 1986; 235: 747–754.
4. Waring WS, Convery A, Mishra V, Shenkin A, Webb DJ, Maxwell SRJ. Uric acid reduces exercise-induced oxidative stres in healthy adults. Clinical Science 2003; 105: 425–430.
5. Waring WS, Webb DJ, Maxwell SR. Systemic uric acid administration increases serum antioxidant capacity in healthy volunteers. J Cardiovascular Pharmacol 2001; 38: 365–371.
6. Waring WS. Uric acid: an important antioxidant in acute ischaemic stroke. Q J Med 2002; 95: 691–693.
7. Ames BN, Catchart R, Schwiers E, Hochstein P. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant and radical caused aging and cancer: A hypothesis. Proc Natl Acad Sci USA 1981; 78: 6858–6862.
8. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz basic prencipes in clical chemistry. Çev. Ed. Aslan D. Tietz klinik kimyada temel ilkeler. Türkiye, Palme yayıncılık 2005; 423.
9. Becker MA, Roessler BJ. Hyperuricemia and gout in Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS et al (eds): The Meta-bolic and Molecular Bases of Inherited Disease, 7th edition, New York, McGraw-Hill, 1995; pp 1655–1677.
10. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz basic prencipes in clical chemistry. Çev. Ed. Aslan D. Tietz klinik kimyada temel ilkeler. Türkiye, Palme yayıncılık 2005; 422.
11. Hille R. "Molybdenum-containing hydroxylases". Arch. Biochem. Biophys. 2005; 433: 107–116.
12. Harrison R. "Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now?". Free Radic. Biol. Med. 2002; 33: 774–797.

13. Jain SK, McVie R, Duett J, et al: Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes. *Diabetes* 1989; 38: 1539–43.
14. Fairbanks V, Klee G. Measurement of hemoglobin concentration in whole blood, in Tietz N (ed). *Textbook of Clinical Chemistry*, WB Saunders Co, 1986; pp 1532–1534.
15. Halliwell B, Gutteridge, JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine* (ed 3), Oxford Science publications, 1999.
16. Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stres, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin Chim Acta* 2001; 306: 1–17.
17. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemisry, and role in human disease. *Am J Med* 1991; 91: 14–22.
18. Akkuş İ. *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri* (ed 1). Konya, Mimoza Yayınları, 1995.
19. Gutteridge JM: Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819–1828.
20. Dormandy TL: An approach to free radicals. *Lancet* 1983; 2: 101–104.
21. McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stres. *Am J Med* 2000; 108: 652–659.
22. Smith C, Marks DA, Lieberman M Marks' *Basic Medical Biochemistry A Clinical Approach* (ed 2), Lippicott Williams & wilkins, 2005.
23. Murray R, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW *Happer's Biochemistry* (ed 26), McGraw-Hill Companies, 2003.
24. Turrens JF, Boveris A Generation of superoxide anion by the NADH dehydrogenase of bovine heart mitochondria. *Biochem J* 1980; 191:421–427.
25. Southorn PA, Powis G Free Padicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin Proc* 1988; 63: 381–389.
26. Halliwell B Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet* 1994; 344: 721–724.
27. Konukoğlu D. Serbest Radikaller ve Önemleri. *Aile Hek derg.* 1997; 1: 197–200.
28. Borges F, Fernandes E, Roleira F. Progres towards the discovery of xanthine oxidase inhibitors. *Curr Med Chem* 2002; 9: 195–217.

29. Martin HM, Hancock JT, Salisbury V, et al. Role of xanthine oxidoreductase as an antimicrobial agent. *Infect Immun* 2004; 72: 4933.
30. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412–426.
31. Halliwell B. Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radic Res* 1996; 25: 57–74.
32. Halliwell B, Chirico S. Lipid Peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr* 1993; 57: 715–725.
33. Davies KJ, Goldberg AL. Proteins damaged by oxygen radicals are rapidly degraded in extracts of red blood cells. *J Biol Chem* 1987; 262: 8227–8234.
34. Park JR, Tappel AL. Protein damage and lipid peroxidation: effects of diethyl maleate, bromotrachloromethane and vitamin E on ammonia, urea and enzymes involved in ammonia metabolism. *Toxicol Lett* 1991; 58: 29–36.
35. Das D, Bandyopadhyay D, Bhattacharjee M, et al. Hydroxyl radical is the major causative factor in stress – induced gastric ulceration. *Free Radic Biol Med* 1995; 23: 8–18.
36. Nakazaki M, Kakei M, Koriyama N, et al. Involvement of ATP-sensitive K⁺ channels in free radical-mediated inhibition of insulin secretion in rat pancreatic beta-cells. *Diabetes* 1995; 44: 878–883.
37. Halliwell B, Gutteridge JM. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. *Lancet* 1984; 1: 1396–1397.
38. Fridovich I. Biological effects of the superoxide radical. *Arch Biochem Biophys* 1986; 247: 1–11.
39. Fridovich I. Superoxide dismutases: Regularities and irregularities. *Harvey Lect* 1983; 79: 51–75.
40. Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys* 1990; 280: 1–8.
41. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* 2001; 54: 176–186.

42. Brigelius-Flohe R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radic Biol Med* 1999; 27: 951–965.
43. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz basic principles in clinical chemistry. Çev. Ed. Aslan D. Tietz klinik kimyada temel ilkeler. Türkiye, Palme yayıncılık 2005; 43–54.
44. Young DS. The effects of frequently prescribed drugs on common laboratory procedures. In Spittell JA Jr (ed). *Practice of Medicine*, Philadelphia, JB Lippincott, 1984; pp 1–21.
45. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 5th edition, Washington, DC, AACCC Pres, 1999.
46. Pelsers MM, Chapelle JP, Knapen M et al. Influence of age and sex and day-to-day and within-day biological variation on plasma concentrations of fatty acid-binding protein and myoglobin in healthy subjects. *Clin Chem* 1999; 45: 441–443.
47. Sebastian-Gambaro MA, Liron-Hernandez FJ, Fuentes-Anderiu X. Intra- and inter-individual biological variability data bank. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1997;35: 845–852.
48. Hashimoto S. A new spectrophotometric assay method of xanthine oxidase in crude tissue homogenate. *Anal Biochem* 1974; 48: 137–145.
49. Sjondin B, Westing YM, Apple FS. Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. *Sport Med* 1990; 7: 20–23.
50. Dinçer C, Kayserilioğlu A. Egzersizde oluşan lipid peroksidasyonu ve E vitaminin koruyucu etkisi. *Spor ve Tıp* 1995; 7: 20–23.
51. Akyüz F, İnal M, Turgut A. Yüzücülerde aerobik ve anaerobik metabolizmanın serbest radikaller üzerine etkisi. *Klinik Gelişim* 1998; 11: 409–411.
52. Duthie GG, Robertson JD, Maughan RJ, Morrice PC. Blood antioxidant status and erythrocyte lipid peroxidation following distance running. *Arch Biochem Biophys* 1990; 282: 78–83.
53. Duncan K, Harris S, Ardies CM. Running cancer by inducing activity of antioxidant and phase II enzymes. *Cancer Lett* 1997; 116: 151–158.
54. White A, Estrada M, Walker K, Wisnia P, Figueira G et al. Role of exercise and ascorbate on plasma antioxidant capacity in thoroughbred race horse. *Comp Biochem Physiol A* 2001; 128: 99–104.

55. Marzatico F, Pansarasa O, Bertorelli L, Somenzini L, Valle GD: Blood free radical antioxidant enzymes and lipid peroxides following long-distance and lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes. *J Sports Med Phys Fitness* 1997; 37: 235–239.
56. Kanellis J, Daniel IF, Johnson R. Does asymptomatic hyperuricaemia contribute to the development of renal and cardiovascular disease? An old controversy renewed. *Nephrology* 2004; 9: 394–399.
57. Saugstad OD. Role of xanthine oxidase and its inhibitor in hypoxia: reoxygenation injury. *Pediatrics*. 1996; 98: 103–107.
58. Mc Cord JM. Oxygen-derived free radicals in post ischemic tissue injury. *N Eng J Med*. 1985; 312: 159–163.
59. Cappola TP, Kass DA, Nelson GS ve ark. Allopurinol improves myocardial efficiency in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Circulation* 2001; 104: 2407–2411.
60. Cooper CE, Volvaard NBJ, Choueiri T, Wilson MT. Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem Soc Trans* 2002; 30: 280–285.
61. Miyazaki H, Oh-ishi S, Ookawara T, Kizaki T, Ha S, Haga S, Ji LL. Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. *Eur J Appl Physiol* 2001; 84: 1-6.