



T.C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AORT KAPAK SKLEROZLU HASTALARDA OKSİDAN/ANTIOKSİDAN
STATUS ve OKSİDATİF DNA HASARININ ARAŞTIRILMASI**

ARZU YÜCEL
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Seyithan TAYSI

GAZİANTEP

2020



T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AORT KAPAK SKLEROZLU HASTALARDA OKSİDAN/ANTIOKSİDAN
STATUS ve OKSİDATİF DNA HASARININ ARAŞTIRILMASI**

ARZU YÜCEL
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Seyithan TAYSI

GAZİANTEP
2020



Yayın Tarihi: Eylül 2020

Yayınlanma Yeri: İstanbul

Prof. Dr. Mehmet

Engin

Yayınlanma Yeri: İstanbul

BEYAN

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

17/06/2020

Arzu YÜCEL

TEŞEKKÜR

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda sürdürdüğüm Yüksek Lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca rehberliğini, desteğini ve ilgisini esirgemeyen, tecrübe ve deneyimlerinden yararlandığım tez danışmanım kıymetli hocam Prof. Dr.Seyithan TAYSI' ye, tez çalışmamda değerli katkılarından dolayı başta bölüm başkanımız Prof. Dr. Mehmet TARAĞÇIOĞLU'na ve bölüm hocalarımdan; Prof. Dr. Hülya ÇİÇEK, Prof. Dr. A. Binnur ÖZYURT, Prof. Dr. İclal GEYİKLİ ÇİMENCİ, Dr. Öğr. Üyesi Elif İŞBİLEN, Dr. Öğr. Üyesi Mustafa ÖRKMEZ'e teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarına destek veren Arş. Gör. Hasan ULUSAL'a ve diğer tüm laboratuvar çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteğini esirgemeyen kıymetli aileme ve yazım aşamasında manevi destekleriyle yanımda olan Şamile UTLU'ya minnet ve şükranlarımı sunuyorum.

Bu tez, Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Komisyonu Başkanlığı tarafından TF.YLT.20.11 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Arzu YÜCEL

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGE VE KISALTMALAR	iv
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ	vi
EKLER LİSTESİ.....	vii
ÖZET	1
ABSTRACT.....	2
1. GİRİŞ ve AMAÇ	3
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Kalbin Yapısı	5
2.2. Kalp Kapakçıkların Kısa Anatomisi	6
2.3. Aort Kapağın Yapısı	6
2.4. Aort Kapak Sklerozu'nun (AKS) Tanımı	6
2.5. Aort Kapak Sklerozunun Tarihçesi.....	6
2.6. Aort Kapak Sklerozunun Epidemiyolojisi	7
2.7. Serbest Radikaller	7
2.8. Reaktif Oksijen Türleri	8
2.8.1. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)	8
2.8.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2)	8
2.8.3. Hidroksil Radikali (OH^{\cdot})	9
2.8.4. Singlet oksijen (1O_2)	10
2.9. Reaktif Nitrojen Türleri	10
2.9.1. Nitrik Oksit (NO^{\cdot}).....	10
2.9.2. Peroksinitrit ($OONO^-$)	10
2.9.3. Nitrojen dioksit (NO_2^{\cdot}).....	11
2.10. Serbest Radikallerin Etkileri	11
2.10.1. Lipitler Üzerine Etkileri.....	11
2.10.2. Proteinlerdeki Etkisi	12
2.10.3. Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri.....	12
2.10.4. Karbonhidratlar Üzerindeki Etkisi.....	13

2.10.5. Enzimler Üzerine Etkisi.....	13
2.11. Antioksidanlar.....	13
2.11.1. Antioksidanların Savunma Mekanizmaları	13
2.11.2. Enzimatik Antioksidanlar	14
2.11.2.2. Katalaz (EC 1.11.1.6)	14
2.11.2.3. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px; EC.1.11.1.9).....	15
2.11.2.4. Glutatyon redüktaz (GSR; EC.1.6.4.2).....	15
2.11.3. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar.....	15
3. GEREÇ ve YÖNTEM	17
3.1. Numunelerin Toplanması	17
3.1.1. Total Oksidan ve Antioksidan Status Ölçümü (TOS/TAS).....	18
3.1.2. Oksidatif Stres İndeksin Hesaplanması (OSI)	18
3.1.3. Tiyoil Disülfüt Homeostazis Parametrelerin Ölçümü.....	18
3.1.4. 8-OHdG Ölçümü.....	18
3.2. İstatistiksel Analiz.....	18
4. BULGULAR.....	20
5. TARTIŞMA.....	22
6. KAYNAKLAR	25
7. EKLER	34
8. ÖZGEÇMİŞ	36

SİMGE VE KISALTMALAR

- 8-OHdG: 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin
- ELISA: Enzyme linked immunosorbent assay
- GSR: Glutasyon redüktaz
- GSH: Glutasyon
- GSH-Px: Glutasyon peroksidaz
- H₂O₂: Hidrojen Peroksit
- HCl: Hidroklorik Asit
- HOCl: Hipokloröz asit
- NaOH: Sodyum hidroksit
- NO•: Nitrik oksit
- NO₂⁻: Nitrit
- NO₃⁻: Nitrat
- NOS: Nitrik oksit sentetaz
- O₂^{•-}: Süperoksit anyon radikali
- OH•: Hidroksil radikali
- ONOO⁻: Peroksinitrit
- RNT: Reaktif nitrojen türleri
- ROT: Reaktif oksijen türleri
- SOD: Süperoksit dismutaz
- SH: Sülfhidril
- DTNB: Sodyum borohidritin ditiyonit-2 nitrobenzoik

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. İnsan Kalp Anatomisi	5
-------------------------------------	---



TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Grupların Natif tiyol, Total tiyol, Disülfit, Disülfit/Natif tiyol, Disülfit/Total tiyol, Natif tiyol/Total tiyol, TAS, TOS, OSI, 8-OHdG parametrelerin ortalama \pm SD değerleri	20
Tablo 2. Hasta grubunda korelasyon analizi	21
Tablo 3. Kontrol grubunda korelasyon analizi	21



EKLER LİSTESİ

Ek 1: Etik Kurul Onay Formu	34
-----------------------------------	----



ÖZET

AORT KAPAK SKLEROZLU HASTALARDA OKSİDAN/ANTIOKSİDAN STATUS ve OKSİDATİF DNA HASARININ ARAŞTIRILMASI

Arzu YÜCEL

Yüksek Lisans Tezi, Tıbbi Biyokimya AD

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Seyithan TAYSI

Haziran 2020, 47 sayfa

Aort kapak sklerozu (AKS), aort kapak hareketlerinde kısıtlanma olmamasına karşın aort kapağının kalınlaşması ve kalsifikasyonu olarak tanımlanmaktadır. Bu çalışmada, AKS'li hastaların serum tiyol/disülfid homeostazı, total antioksidan durumu (TAS), total oksidan durumu (TOS) ve 8-OH deoksiguanozin (8-OHdG) seviyelerini ölçmek ve hastalık şiddeti ile ilişkili olup olmadığı araştırmayı amaçladık. AKS'li 40 hasta ve 40 sağlıklı birey çalışmaya dahil edildi. AKS grubunda, TAS, TOS, OSI, Ntiyol, Ttiyol, disülfid, disülfid/Ntiyol, disülfid/Ttiyol ve 8-OHdG düzeyleri kontrol grubunun değerlerine göre anlamlı derecede düşük olduğu tespit edildi. Bununla birlikte, Ntitol/Ttiyol düzeyleri kontrol grubundan istatistiksel olarak daha yüksek bulundu. Sonuç olarak, elde ettiğimiz sonuçlar, artmış oksidan stresin aort kapak sklerozunun başlangıcında ve ilerlemesinde önemli bir nokta olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle, tedaviye antioksidanların eklenmesi, tiyol/disülfid dengesinin geri kazanılması, aort kapak stenozunun yavaşlatılması veya hatta durdurulması için yeni terapötik hedeflere ışık tutabilir.

Anahtar kelimeler: DNA hasarı, homeostaz, TAS, TOS, sülfidril bileşikleri, aort skleroz

ABSTRACT

INVESTIGATION OF OXIDAN / ANTIOXIDANT STATUS AND OXIDATIVE DNA DAMAGE IN PATIENTS WITH AORTAL VALVE SCLEROSIS

Arzu YÜCEL

Master of Science Thesis, Department of Medical Biochemistry

Supervisor: Prof. Dr. Seyithan TAYSI

June 2020, 47 pages

Aortic valve sclerosis (ACS) is defined as thickening and calcification of the aortic valve, although there is no restriction in aortic valve movements. In this study, we aimed to measure serum thiol/disulfide homeostasis, total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS) and 8-OH deoxyguanosine (8-OHdG) levels of patients with ACS and to investigate whether they are associated with disease severity. 40 patients with ACS and 40 healthy individuals were included in the study. In the ACS group, TAS, TOS, OSI, Nthiol, Thiol, disulfide, disulfide/Nthiol, disulfide/Thiol and 8-OHdG levels were found to be significantly lower than the control group. However, Nthiol/Thiol levels were found statistically higher than the control group. In conclusion, our results suggest that increased oxidant stress may be an important point in the onset and progression of aortic valve sclerosis. Therefore, adding antioxidants to treatment can shed light on new therapeutic targets for thiol/disulfide balance, slowing or even stopping aortic valve stenosis.

Key words: DNA damage, homeostasis, TAS, TOS, sulfhydryl compounds, aortic sclerosis

1. GİRİŞ ve AMAÇ

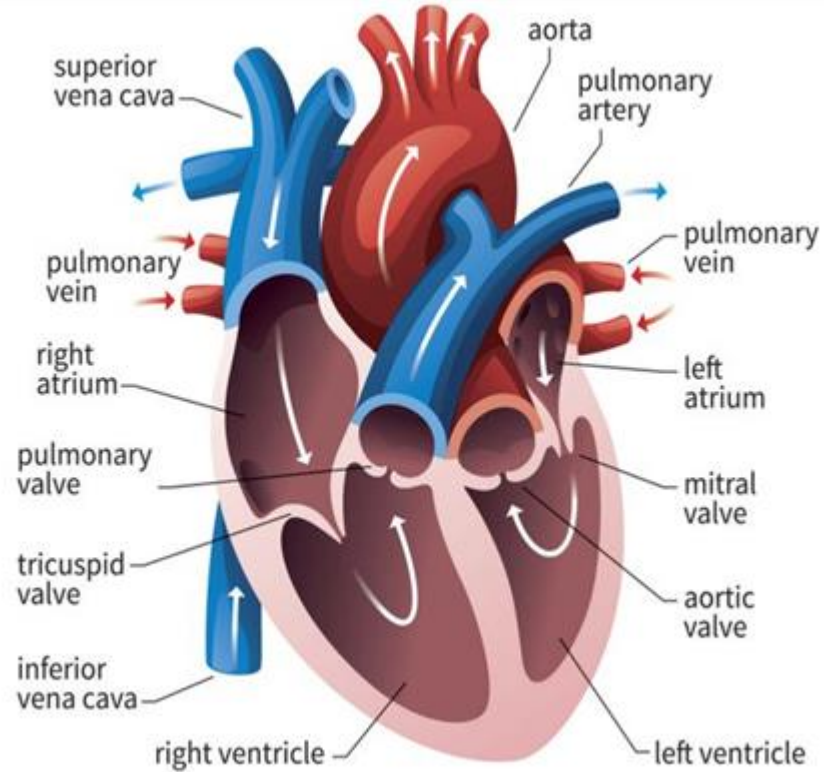
Aort kapak sklerozu (AKS), aort kapak hareketlerinde kısıtlanma olmamasına karşın aort kapağının kalınlaşması ve kalsifikasyonu olarak tanımlanmaktadır (1, 2). Aort kapak sklerozunun gelişimi için yaygın risk faktörleri arasında yüksek tansiyon, yüksek kan lipit ve kolesterol düzeyleri, obezite, diabetes mellitus, sigara ve kronik böbrek hastalığı bulunmaktadır (3). AKS gelişmiş ülkelerde en sık görülen kapak hastalığıdır ve batı ülkelerinde de yaygındır. 65 yaş grubundaki insanların yaklaşık % 25'inde bulunur ve 80'li yıllarda %50'ye kadar yükselmiştir. Son çalışmalar aort kapak hastalığının ABD erişkin popülasyonunda yaygın olduğunu ve yılda 28.000'den fazla ölüme ve 48.000 hastaneye yatışa neden olduğunu göstermektedir (4, 5). Çoğu çalışmada AKS'li hastaların kardiyovasküler olaylar ve mortalite insidansında artış olduğunu ifade edilmektedir (6, 7). AKS gelişimi yaklaşık 6 yıl alır. Aort kapak sklerozulu hastaların az bir kısmı 5 yıl içinde çeşitli derecelerde aort darlığına progrese olur. Aort sklerozunun kanıtlanmış herhangi bir tedavisi yoktur (8). Reaktif oksijen türleri (ROT), reaktif azot türleri (RNT) ve diğer karbon merkezli radikaller, normal fizyolojik koşullar ve patofizyolojik koşullar altında biyolojik sistemlerde üretilen kararsız kimyasallardır. ROT, süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$) ve hidroksil radikali (OH^{\cdot}) gibi serbest radikal ara maddelerinin yanı sıra hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hipokloröz asit ($HOCl$) gibi radikal olmayan molekülleri içerir. RNT esas olarak nitrik oksit (NO^{\cdot}), peroksinitrit ve diğer nitratlardan oluşur; karbon merkezli moleküller kimyasal yapıları karmaşıktır ve genellikle ksenobiyotik metabolizmasında üretilir (9, 10). Birçok çalışmada aşırı aktif ROT'leri oluşumunun hücre hasara ve ateroskleroze neden olduğu bildirilmiştir. ROT' ların zararlı etkilerine ek olarak, bunların gen ekspresyonu ve hücre proliferasyonu, hipertrofi, büyüme durması ve/veya apoptozun indüksiyonu dahil olmak üzere çeşitli hücre işlemlerinde rol aldıkları ifade edilmektedir (11-14). Bununla birlikte, araştırmalar ROT/RNT'nin DNA üzerinde bazı zararlı etkilere sahip olabileceğini ve aslında DNA iplik kopmalarını, kromozomal anormallikleri ve sonuç olarak endojen serbest radikal ataklarından kaynaklanan DNA hasarını tetikleyerek birçok hastalığa katkıda bulunabileceğini göstermiştir (13, 15-17). Bazı çalışmalarda oksidatif DNA hasarının aterosklerotik plakların da önemli bir özelliği olduğunu öne sürmektedir (13, 18).

En iyi bilgimize göre, AKS'li hastalarda tiyol-disülfid homeostazını araştıran hiçbir çalışma yoktur. Bu yüksek lisans tez çalışmasında bu hastalarda serum tiyol/disülfür durumu, total antioksidan durumu (TAS), total oksidan durumu (TOS) ve 8-OH deoksiguanozin (8-OHdG) seviyelerini değerlendirmeyi ve AKS patogenezindeki yollarda aktif stresin rolünü ve elde edilen sonuçların hastalık şiddeti ile ilişkili olup olmadığı araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kalbin Yapısı

Kalp, senkronize hareketi kan akışına neden olan atriyal ve ventriküler odalardan ve dört kapaktan oluşan biyolojik bir pompadır. Kalp, dört kalp odasından oluşur (19). Kan atriumdan ventriküllere aktarılır. Elektriksel stimülasyondan sonra, sağ ventrikül oksijensiz kanı vermek için kanı akciğerlere pompalar. Oksijen bakımından zengin kan daha sonra sol atriyumda toplanır. Kalbi sol ventrikülden bırakır ve bu kan oksijen ve besin sağlamak ve atık ürünlerini taşımak için tüm organlara gider (Şekil 1). Tek yönlü kan akışını sürdürmek için kalpte dört kalp kapağı (sağ atriyum ve ventriküle bağlı triküspit ve pulmoner kapaklar, sol atriyum ve ventriküle bağlı mitral ve aort kapakları) bulunur (20, 21).



Şekil 1. İnsan Kalp Anatomisi

2.2. Kalp Kapakçıklarının Kısa Anatomisi

Kalp kapakçıkları, kalpteki tek yönlü kan akışından sorumlu olan yumuşak dokulu karmaşık yapılardır. Kalbimizde kanın doğru bir şekilde akmasını sağlayan dört kapak bulunmaktadır. Kalp kapakları mitral kapak, triküspit kapak, pulmoner kapak ve aort kapağından meydana gelmektedir. Bu dört kapağın temel iki görevi vardır: İlki açık olma durumu, tek yönlü kan akışlarını kontrol eder; bir diğeri kapalı olma durumu, basınç farklarının kapalı bir sistemde var olmasına izin verir. Kalp kapak hastalığı yaşla beraber artan bir kardiyovasküler hastalıktır. Bu hastalık önemli bir kısmı doğuştan gelebilir (tüm canlı doğumların %1-2'si). Özellikle yetişkinlerde enfeksiyonlar ya da diğer kalp rahatsızlıkları gibi birçok durumdan ortaya çıkabilmektedir. Kalp kapakçığı rahatsızlığı dünya genelinde önemli bir sağlık sorunudur (20, 22, 23).

2.3. Aort Kapağın Yapısı

Aort kapağı (AV) sol, sağ ve koroner olmayan küspislerden oluşan trileaflet semilunar kapaktır (24). Kalpteki dört kapaktan biri olan bu kapak, aortu sol ventrikülden ayırır. Kalbin iki semilunar kapağında diğeri ise pulmoner kapaktır. Aort kapakta normalde üç yaprakçık (küspis) bulunur, ancak popülasyonun %1-2'sinde doğuştan iki yaprakçık bulunur (25).

2.4. Aort Kapak Sklerozu'nun (AKS) Tanımı

Aort kapak sklerozu/AKS başlangıçta lipokalsifikasyonun neden olduğu kapak kalınlaşması olarak ortaya çıkmıştır. Aort kapak sklerozu klinikte 65 yaş üstü bireylerin yaklaşık %20-30'nu etkileyen bir durumdur. Bu sıklık 85 yaş üstü hastaların %48'ine kadar çıkmaktadır. Aort stenozu ise 65 yaşın üstündeki hastaların %2-3'ünü ve 85 yaş üstündeki hastaların %8'ini etkilediği görülmektedir. Böylece insidansı yaşla birlikte katlanarak artar. Bu yüzden uzun zaman kalsiyum birikimi ile yaşa bağlı dejeneratif bir süreç olarak kabul edilir. Bununla beraber yapılan birçok çalışmada aort kapak hastalığının yüksek kolesterol, hipertansiyon, obezite, romatizmal ateş, diyabet, sigara içme, fiziksel aktivite yetersizliği, insülin direnci gibi risk faktörlerinin varlığı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (26).

2.5. Aort Kapak Sklerozunun Tarihçesi

AKS'u 17. yüzyılın başlarında kalsifik aort kapak hastalığı olarak tanımlanmıştır. Yirminci yüzyılın başlarında, romatizmal hastalık veya dejenerasyon nedeniyle kapak

kalsifikasyonu olarak düşünölmüş. Gelişmiş ölkelerde romatizmal etiyolojide kalsifik kapak hastalıklarının prevalansı oldukça nadirdir ve romatizmal ateşte azalma nedeniyle azalırken, dejeneratif etiyolojide aort kapak hastalığı uzun yaşama beklentisi nedeniyle artmıştır. Aort kapak kalsifikasyonu patojeninin orijinal tanımı 1904'te Monckeberg tarafından bu yana tartışmalıdır ve AKS başlangıçta endokardite atfedilmesine rağmen Monckeberg 1904'te AKS'nin ilk ayrıntılı açıklamasını yazmıştır (27, 28).

2.6. Aort Kapak Sklerozunun Epidemiyolojisi

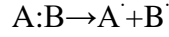
Aortik kapak sklerozu 65-74 yaş arası bireylerin %30'unda 84 yaşın üzerinde ise %50 oranında görölmektedir (29, 30). Avrupa ve ABD'de en çok görölen kapak hastalığı aort kapağı hastalığıdır. Yılda 28 binden fazla ölüme ve 48 binden fazla hastaneye yatmasına sebep olduğunu göstermektedir. Skleroz ve aort kapak kalsifikasyonu gelişmiş ölkelerde daha yaygın görölen bir kapak hastalığıdır. Aynı zamanda aort kapak replasmanını tek başına veya miyokard revaskularizasyonu ile birlikte değerlendirsek son 10 yılda gerçekleştirilen aort kapak prosedürlerinin sayısı artmaktadır; mitral kapak cerrahisi aynı dönemde sabit görünmektedir. Ayrıca, aort kapağının patolojik sürecinin etiyolojisi son yıllarda değişmektedir (5, 31).

2.7. Serbest Radikaller

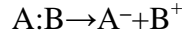
Atomik veya moleküler yörüngelerinde eşleştirilmemiş elektron bulunduran, genellikle yüksek oranda reaktif ve kararsız bir molekül olan serbest bir radikal olarak adlandırılır (32). Yüksek reaktiveleri sonucunda, radikallerin çoğu biyolojik sistemlerde 10^{-6} s' den daha kısa bir ömre sahip olabilir. Fakat bazı türler daha uzun süre aktivitelerini devam ettirebilirler (33). Serbest radikaller birçok metabolik yolların normal ürünleridir. Bunların bir kısmı kontrollü bir formda bulunurken, bir kısmı ise serbest formda bulunur. Serbest radikaller farklı doku ve organların bileşenleri ile tepkimeye girerek oksidant etkilerinden dolayı hasara neden olmaktadır (34). Onlar redoks sisteminin değiştirilmesinde, indüklenmiş DNA hasarında, prokarsinogenlerin aktivasyonunda ve bunların tüm kanser indüksiyon indikatörlerinde rol oynadığı yapılan araştırmalarda ifade edilmektedir (35). Serbest radikallerin çeşitli tipleri vardır. Azot merkezli, oksijen merkezli, kükürt merkezli ve karbon merkezli radikaller serbest radikallerin farklı türlerini oluştururlar (36).

Serbest radikal oluşumu için mekanizması 3 yolla oluşur: (37, 38).

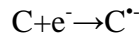
I. Kovalent bağı normal bir molekülün, homolitik bölünmede bağdaki iki elektronun ürünler arasında eşit olacak şekilde paylaşır.



II. Bir molekülden tek elektron kaybı veya heterolitik bağ bölünmesi sonucunda oluşurlar. Kovalent bağla bağlı iki atom arasında eşit olmayan bir şekilde atomları birinde kalır.



III. Bir moleküle tek elektron ilave edilmesi ile meydana gelir.



2.8. Reaktif Oksijen Türleri

2.8.1. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Oksijen varlığında yaşayan organizmalarda, oksijen karalı hale geçebilmek için tek elektronlu oksijen gazı indirgenir ve eşleştirilmemiş bir yapı olan $O_2^{\cdot-}$ radikali meydana gelir (39).



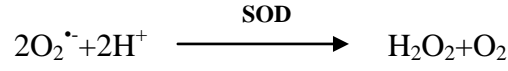
$O_2^{\cdot-}$ radikali zayıf bir oksidandır ve yarılanma ömrü sadece milisaniye aralığında olan güçlü bir indirgeyicidir (39, 40).

Oksijen varlığında $O_2^{\cdot-}$ üretmek için, flavin nükleotitler, adrenalin, tiyol bileşikler, glikoz vb. çeşitli moleküller oksitlenebilir. Fe veya Cu gibi metal iyonların varlığı reaksiyonların etkisini hızlandırır. Çoğunlukla mitokondriyal iç membrandaki elektron taşıma zinciri sırasında, oksijen suya indirgenerek serbest radikalleri üretir. Daha sonra $O_2^{\cdot-}$ üretmek için serbest elektronlarla reaksiyona girer ve $O_2^{\cdot-}$ anyonları oluştururlar (41-43).

2.8.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Oksijen molekülünün herhangi bir molekülden 2 elektron alması ya da $O_2^{\cdot-}$ bir elektron alması sonucunda H_2O_2 oluşur. H_2O_2 molekülü 2 hidrojen atomu ile birleşerek H_2O_2

meydana getirir. $O_2^{\cdot-}$ dismutasyonu sırasında veya doğrudan oksijenin indirgenmesiyle oluşur.



Oluştuktan sonra, H_2O_2 doğrudan oksidatif hasara neden olabilir veya $O_2^{\cdot-}$ gibi yüksek oranda reaktif serbest radikalleri üreten bir dizi başlatabilir. H_2O_2 yavaş tepki verme eğiliminde olmasına rağmen potansiyel olarak güçlü bir oksitleyici ajandır (38, 44, 45).

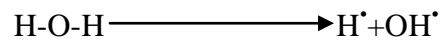
H_2O_2 serbest radikal olmamasına rağmen ROT'ler içine girebilir ve serbest radikallerin biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü $O_2^{\cdot-}$ ile reaksiyona girmesiyle, toksik ve oldukça reaktif etki veren OH^{\cdot} radikalini oluşturur. Bunu Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonu adı verilen iki mekanizmasıyla gerçekleştirir;

Fenton reaksiyonu, önce ferri demir (Fe^{+3}) $O_2^{\cdot-}$ tarafından ferro demire (Fe^{+2}) indirgenir. Daha sonra bu Fe^{+2} kullanılarak H_2O_2 'den OH^{\cdot} ve OH^- üretilir (38, 46). Haber-Weiss reaksiyonu, H_2O_2 'in $O_2^{\cdot-}$ ile reaksiyona girmesiyle OH^{\cdot} radikalini meydana gelir.

2.8.3. Hidroksil Radikali (OH^{\cdot})

Hidrojen peroksitin tek elektron indirgenmesiyle oluşur. OH^{\cdot} radikallerinin reaktivitesi oldukça yüksek ve toksiktir. Budan dolayı, üretim yerinin yakınındaki moleküllerle etkileşime girer. OH^{\cdot} radikali DNA, proteinler, lipidler, amino asitler, şekerler ve madenler gibi organik ve inorganik moleküllerle reaksiyona girerler. İn vivo olarak yarılanma ömrü kısadır (47, 48).

Canlılarda OH^{\cdot} radikalini üretmenin birkaç yolu vardır. Birinci yol olarak suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda oluşur. İkinci yol ise H_2O_2 'in metal iyonların varlığında indirgenmesini içerir (38).



DNA'ya yakın OH^{\cdot} üretimi, radikallerin DNA bazlarıyla veya DNA'nın deoksiribosil omurgasıyla reaksiyona girmesiyle hasarlı bazlar veya iplik kopmalarını meydana getirmektedir (48).

2.8.4. Singlet oksijen (1O_2)

Radikal olarak kabul edilmez. Fakat reaksiyonlar sonucu oluştuğu gibi reaksiyonların başlamasına da sebep olabilir. Oksijen den farklı olarak çok reaktiftir. 10^{-5} s'lik bir yarı ömre sahiptir ve memeli dokusu için toksik olmayıp kimyasal reaksiyonlar sırasında oluşabilir (38, 49).

Ultraviyole ışınımı ve ozon gibi çevresel ajanlar 1O_2 üretebilir; peroksil radikallerinin sonlandırılması, peroksidaz aracılı reaksiyonlar, perosinitrit reaksiyonları ve H_2O_2 reaksiyonları dahil olmak üzere diğer işlemler de 1O_2 üretir. Nükleik asitler, proteinler, lipitler ve steroller 1O_2 hasarının başlıca biyolojik hedeflerdir (49).

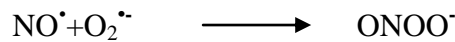
2.9. Reaktif Nitrojen Türleri

Nitrik asit (NO^*) ve nitrik dioksit (NO_2^*) ve peroksinitrit ($OONO^-$) gibi reaktif nitrojen türlerinden yan ürünler oluşturur. Yapılan çalışmalarda RNT'nin rolünün hücrel sinyalizasyon, vazodilatasyon ve bağışıklık yanıtında doğrudan bir rol oynadığı yapılan araştırmalarda ifade edilmektedir (50).

2.9.1. Nitrik Oksit (NO^*)

Nitrojen monoksit olarak bilinen NO^* , nitrik oksit sentaz (NOS) enzim tarafından katalize edilen l-arginin terminal guanido azot atomlarından birinin oksidasyonu ile üretilen bir radikaldir.

NO^* , $OONO^-$ oluşturmak için O_2^* ile daha fazla reaksiyona girebilir.



Protonlanmış peroksinitrit ($ONOOH$) formu, sülfhidril (SH) gruplarında güçlü bir oksitleyici ajan olarak işlev görür. Birçok molekülün ve proteinin oksidasyonuna neden olur ve hücrel hasara yol açar. Ayrıca proteinlerdeki aromatik amino asit kalıntılarının kırılması, protein oksidasyonu ve nitrasyonu gibi DNA hasarına neden olabilmektedir (51-53).

2.9.2. Peroksinitrit ($OONO^-$)

İnflamasyon bölgelerinde üretilen $OONO^-$, oksidatif doku hasarına sebep olan bir moleküldür. $OONO^-$, sitotoksik bir tür olup düşük yoğunluklu lipoproteini (LDL)

okside edebilir. Yapılan araştırmalarda $OONO^-$ oluşumu çeşitli hastalıklara sebep olduğu tespit edilmiştir (54). Ayrıca $OONO^-$, membran lipit peroksidasyonunu başlatıp glikoksidasyon ve lipoksidasyon reaksiyonlarını katalize edebilirler. Böylelikle karboksi etillizin gibi glikoksidasyon reaksiyonlarının ürünleri, indüklenen lipit peroksidasyon bölgelerinde oluşturulabilir (55).

2.9.3. Nitrojen dioksit (NO_2^*)

Nitrik dioksit (NO_2^*), peroksil radikali ve NO^* kirli hava ile reaksiyonundan oluşur. NO_2^* , lipit peroksidasyonunu ve serbest radikallerin üretimini başlatan çift bağlara sahiptir ve kararsız hidrojen atomlarına bağlanır. Ayrıca askorbik asidi okside edebilir (54).

2.10. Serbest Radikallerin Etkileri

Ekzojen ve endojen kaynaklarında sürekli olarak serbest radikaller oluşur. Oluşan radikaller oksidatif doku hasarına yol açıp birçok hücresel işlevi bozabilmektedir. Serbest radikaller hemen hemen tüm biyomolekül yapılara zarar verebilir. Hücrelerin önemli makromoleküllerine etki etmektedir (38, 56, 57)

2.10.1. Lipitler zerine Etkileri

Biyomoleküller içerisinde serbest radikallere karşı oldukça duyarlı olup ve reaktif etki veren lipitlerdir. Tüm hücresel membranlar, yüksek doymamış yağ asidi konsantrasyonu nedeniyle oksidasyona karşı savunmasız olup ve membran lipitlerinde oluşan hasarın onarılması mümkün değildir. Lipit peroksidasyonu, doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı olarak adlandırılmaktadır. Lipitlere verilen hasar 3 aşamada gerçekleşir. Başlangıç aşaması olarak, zayıf bir çift bağın varlığı nedeniyle membrandaki çoklu doymamış yağ asitlerinden metilen grubundan bir hidrojen atomunu uzaklaştırılmasıyla oksijen metabolitinin saldırısını içerir. Bu Şekilde, geri kalan yağ asitlerindeki karbon radikalinde eşleşmemiş bir elektron bırakır ve daha kararlı konjuge dienler oluşturmak üzere moleküler yapının yeniden düzenlenmesi ile birlikte stabilize olurlar. Çoğalma aşamasında, yağ asit radikali dioksijen ile tepkimeye girerek lipit peroksili (LOO) meydana getirir. LOO, komşu bir yağ asidi molekülünden başka bir hidrojen atomunu uzaklaştırma yeteneğine sahiptir, bu da yağ asidi radikallerinin artmasına neden olur. Bu reaksiyonlar tekrar tekrar meydana gelir ve zarda doymamış lipitin peroksidasyonuna yol açar. LOO, ayrıca bir aldehide ayrıştırılabilen veya siklik endoperoksit, izoprostanlar

ve hidrokarbonlar oluşturabilen bir lipit H_2O_2 haline dönüşürler. Son aşamada ise, bir LOO'nun başka bir radikal etkileşimiyle devam eder ya da antioksidan reaksiyonlarla sonlandırılır (58-60).

2.10.2. Proteinlerdeki Etkisi

Lipitlere oranla proteinler, radikallerin etkisine karşı hassasiyetleri oldukça düşüktür ve etkilenme derecesi amino asitlerin dizilişine göre değişir. H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ radikali, -SH içeren gruplarında dahil olduğu moleküllerin serbest radikallerle reaksiyonu yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin, sistein gibi amino asitler kolayca okside olup ve radikallerden etkilenmektedir. Bu reaksiyonlar neticesinde bilhassa -SH grupları ve C merkezli radikaller meydana gelmektedir. IgG ve sayıca çok fazla disülfid bağına sahip olan albümin gibi proteinler zamanla üç boyutlu yapıları hasara uğrar ve proteinler işlevselliğini kaybeder (38, 61).

2.10.3. Nükleik Asitler ve DNA Üzerine Etkileri

İnsan DNA'daki genomik yapı birçok genetik farklılaşmalarla ortaya çıkabilir (62). DNA yapısındaki hasar, bir hücrenin yaşamı boyunca görülen bir olaydır. DNA kararlı, iyi korunan bir molekül olmasına rağmen, iyonize edici radyasyonla oluşan ekzojen ve endojen kaynaklı metabolik ürünler ve ROT etkisiyle sürekli olarak değişimlere maruz kalır. Bu değişimler DNA'nın komponentlerini etkileyerek hücrede mutasyon, kanser gibi organizmalarda hücre ölümü ve çok fazla hasara neden olmaktadır (63). OH^{\cdot} , deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer. OH^{\cdot} , C-8 pozisyonunda guanine saldırarak oksitleyici bir ürün olan 8-hidroksiyoanosin (8-OHdG) oluşturur. OH^{\cdot} , 8-hidroksiadenini oluşturmak üzere adenin gibi diğer bazlara da saldırabilir (38, 64, 65).

2.10.3.1. 8-OHdG Oluşumu

DNA'yı oluşturan bileşenler içerisinde oksidasyona en yatkın baz guanindir. 8-OHdG bazı, DNA'da guanin bazının C atomuna OH^{\cdot} radikalinin bağlanması sonucu meydana gelir. DNA'da ROT yaklaşık olarak 20'den fazla oksidatif baz hasar ürününü meydana getirmektedir (66). Ancak, bu bazlar arasında duyarlılığı ve mutajenik potansiyelinden dolayı üzerinde çok çalışılan oksidatif olarak modifiye edilmiş baz 8-OHdG'dir (67). Guaninin karbon atomları ile tepkimeye giren OH^{\cdot} radikali, DNA'da radikaller oluştur ve oksidatif DNA hasarına sebep olmaktadır. DNA replikasyonu esnasında baz çifti dönüşümü bozulmasıyla mutasyona sebep olurlar. Bundan dolayı 8-OHdG, DNA'da

oksidatif hasar varlığında ortaya çıkan ve yaygın olarak kullanılan önemli bir DNA hasar belirteçidir (65).

2.10.4. Karbonhidratlar Üzerindeki Etkisi

Serbet radikallerin karbonhidratlar üzerinde önemli etkiye sahiptir. Monosakkaritlerin radikallerle reaksiyonu sonucu okzoaldehitler ve H₂O₂ oluşturmak üzere oksidasyona uğrarlar. Okzoaldehitler nükleik asitler ve proteinlerle aralarında bağ oluşturabildikleri için diyabet, sigara, kanser ve yaşlanma gibi çeşitli hastalıkların patolojik süreçlerinde önemli rol oynarlar. Bağ dokusunda bulunan bir polisakkarit olan hyalüronik asit, ROT'leri tarafından parçalanarak inflamatuvar eklem hastalıklarına sebep olmaktadır (38, 68).

2.10.5. Enzimler Üzerine Etkisi

Serbest radikaller proteolitik ve katabolik enzimleri artırır. Proteaz, fosfolipaz, elastaz, siklooksijenaz, lipoksijenaz, ksantinoksidaz, triptofandioksijenaz ve galaktoz oksidaz gibi enzimleri aktif hale getirirler. α -1- antitripsin gibi savunma sistemlerini inaktive ederler (38, 51).

2.11. Antioksidanlar

Antioksidanlar, küçük konsantrasyonlarda bile oksidasyon sürecinin bir inhibitörüdür. Bu yüzden vücutta çeşitli fizyolojik önemli bir role sahiptir. Bitki materyalinin antioksidan bileşenleri radikal temizleyiciler olarak hareket ederler. Radikalleri daha az reaktif türlere dönüştürülmesine yardımcı olurlar. Yapılan çalışmalarda, meyveler, sebzeler, kepekli tahıllar, baklagiller ve omega-3 yağ asitleri açısından zengin bir diyetle beslenmenin insanları hastalıklara karşı korunmasında yardımcı olabileceği ortaya çıkarılmıştır (69, 70).

2.11.1. Antioksidanların Savunma Mekanizmaları

Antioksidan, vücut sisteminin en önemli savunma mekanizmasıdır. ROT'lerin oluşumu ve bunların hücrel ve moleküler düzeyde meydana getirdikleri hasarı önlemek veya daha az reaktif formlara dönüştürmek için hareket ederler. Bunlar "antioksidanlar" olarak adlandırılır. Antioksidanlar, bir zincir reaksiyonu oluşturmadan elektronları kaybetme yeteneğine sahiptir (38, 71).

Antioksidanlar 4 farklı mekanizma ile etki etmektedirler (38):

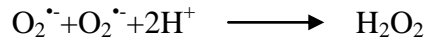
1. Repair Etki (Onarıcı Etki): Serbest oksijen radikallerin oluşturduğu hasarların onarılması onarıcı etki olarak adlandırılır.
2. Chain Breaking Etki (Zincir Koparma Etkisi): Seruloplazmin, hemoglobin, E vitamini ve C vitamini gibi antioksidanlar ROT'lerin oluşumunu engelleyerek zincir kırıcı olarak etki göstermektedir.
3. Quencher Etkisi (Bastırıcı etki): Radikallerin antioksidanlarla etkileşip onlara bir hidrojen atomu ekleyerek aktivilerini azaltması ve etkisiz hale getirilmesine verilen addır. Antosiyanoidler, flavanoidler, trimetazidin, vitaminler böyle bir etkiye sahiptir.
4. Scavenging (Temizleme) Etkisi: Oksidanları etkileyerek onları tutmaya ve yeni zayıf moleküllere dönüştürme işlemi olarak adlandırılır. Treakeobronşial mukus, küçük moleküller, antioksidan enzimler böyle bir etki göstermektedir.

Bu savunma mekanizması iki ana gruptan oluşmaktadır.

2.11.2. Enzimatik Antioksidanlar

2.11.2.1. Superoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1)

Hücredeki ilk detoksifikasyon enzimi olup güçlü bir antioksidandır. ROT'lere karşı savunma sağlayan sitoplazmik bir antioksidan enzimdir. SOD enzimi $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 'te metabolize eder (38, 72).



SOD bir metalo enzimdir. Aktivite olması için metal bir kofaktöre ihtiyaç duyar. Ökaryotlarda gerekli olan metal iyonun tipine göre 3 adet izoenzimi vardır (73).

2.11.2.2. Katalaz (EC 1.11.1.6)

Tüm ökaryotik organizmalarda meydana gelen antioksidan enzimdir. Demir veya manganez enzimin aktif bölgesine bağlanan bir kofaktördür.

KAT, her biri 500'den fazla amino aside sahip dört polipeptit zincirinin tetramerinden oluşan bir hemoproteindir. Dört porfirin hem grubu enzimin H_2O_2 ile reaksiyona girmesine izin vererek H_2O_2 suya ve oksijene dönüştürmesini sağlar. Karaciğer, böbrek ve eritrositlerde bol miktarda bulunmaktadır (47, 74-76).



2.11.2.3. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px; EC.1.11.1.9)

Peroksidaz aktivitesine sahip bir enzim ailesinin genel adıdır. Dört selenyum kofaktörü içeren H₂O₂ ve organik H₂O₂ indirgenmesinde sorumlu enzimdir. Serbest radikallerin peroksidasyonu sonucunda memeli hücrelerini oksidatif hasarına karşı korunma sağlar. GSH-Px biyokimyasal fonksiyonu, lipit H₂O₂ alkollere ya da serbest H₂O₂ suya katalizleyerek hücreleri oksidatif hasardan korur (77, 78).

2.11.2.4. Glutatyon redüktaz (GSR; EC.1.6.4.2)

Flavoproteine olan glutatyon redüktaz (GSR), NADPH'ı indirgeyici olarak kullanarak glutatyon disülfürden (GSSG) glutatyon (GSH) üretimini katalizler (79).



2.11.3. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

2.11.3.1. E vitamini (α – tokoferol)

Doğada en çok bulunan antioksidandır. E vitamini ailesi, kimyasal olarak sekiz farklı formda bulunan yağda çözünebilen bir bileşiktir. Her formun kendine özgü özelliklere sahiptir. Sekiz formunda biri olan α -tokoferol insan vücudunda antioksidan aktivitesi yüksek olmasından dolayı araştırılmıştır. α - tokoferol formu, lipit radikalleriyle tepkimeye girerek membran lipitlerindeki yağ asitlerin hasar görmesini engellemektedir. Serbest radikalleri ortadan kaldıran ve zincir reaksiyonun devam etmesini önleyen bir antioksidandır (80-82).

2.6.3.2. C vitamini (Askorbik asit)

Vitamin C bir katekolaktondur. Bitkiler ve hayvanlar askorbik asit sentezini yapabilen güçlü bir antioksidan aktiviteye sahiptir. Askorbik asit, antioksidan özelliklerin yanı sıra redoks tepkimelerinde, fotosentez ve hormon biyosentezini düzenlenmesinde görev almaktadır. Ayrıca, hücrelerin bölünmesi ve büyümesini düzenler ve sinyal iletiminde rol oynar. Askorbik asit, ROT için güçlü bir indirgeyici ajan olup, bazı enzimler için kofaktördür (83, 84).

2.11.3.3. Karotenoidler

Karotenoidler, insanlar ve hayvanlar tarafından sentezlenmeyip, mikroorganizmalar ve bitkiler tarafından sentezlenmektedir. Sebze ve meyveler karotenoid bakımından zengin kaynaklardır. Özellikle sarı veya kırmızı renginden sorumlu olan doğal pigmentlerdir. Karotenoidlerin çoğu antioksidan aktiviteye sahiptir. Yapılan birçok çalışmada, karotenoidlerce zengin beslenme çeşitli hastalıkların riskinin azalmasında önemli bir rol oynadığı kabul edilmektedir. Karotenoidler, hücreler arasında iletişimi sağlayıp ve bağışıklık sistemini güçlendirir. Temel testlerde, karotenoidler güçlü bir antioksidan aktiviteye sahiptir ve serbest radikalleri inaktive ettiğini göstermektedir (85-89).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma için Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul'undan 07/11/2018 tarihli ve 2018/195 nolu karar ile onay alınarak, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı tarafından Gaziantep Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi laboratuvarında yapılmıştır. Çalışma protokolü Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak yürütüldü.

Çalışmada, Gaziantep Üniversitesi Hastanesi Kardiyoloji Bölümünde kardiyoloji hekimi tarafından hastalık teşhis edilerek aort kapak sklerozlu 40 hasta birey ile 40 sağlıklı birey kontrol grup olacak şekilde planlanmıştır.

Çalışmaya Dahil Olma Kriterleri

- ✓ 18-65 yaş arası kadın ve erkekler
- ✓ AKS tanısı alan hastalar
- ✓ 18-65 yaş arası sağlıklılar

Çalışmada Dışlanma Kriterleri

- ✓ 18-65 yaş aralığı dışındaki AKS hastaları ve sağlıklılar
- ✓ Hamile kadınlar
- ✓ Şiddetli aort kapak sklerozu olan hastalar

3.1. Numunelerin Toplanması

Kan alma işlemi Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi merkez laboratuvarında yapıldı. Alınan kan 30 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 4000 rpm de 10 dakika santrifüj edilerek ayrılan serum örnekleri -80 °C' de analizlere kadar saklandı. Serum örneklerinde TAS, TOS, OSI, (-SH + -S-S-), -S-S-, -SH spektrofotometrik yöntemle ve DNA hasar belirteci olan 8-OhdG seviyeleri ise ELISA yöntemiyle ölçülerek Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.1.1. Total Oksidan ve Antioksidan Status Ölçümü (TOS/TAS)

Total oksidan status ve TAS düzeyleri, Rel Assay (Gaziantep, Türkiye) kiti kullanılarak Beckman Coulter AU 480 otoanalizörü ile ölçüldü. Sonuçlar sırasıyla $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L ve $\mu\text{mol Trolox Eq/L}$ olarak ifade edildi (90, 91).

3.1.2. Oksidatif Stres İndeksin Hesaplanması (OSI)

Oksidatif stres indeksi (OSI) total oksidan statüsün (TOS) total antioksidan statüye (TAS) oranı olarak hesaplandı.

OSI (Oksidatif Stres İndeksi) = TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq/L)/TAS ($\mu\text{mol Trolox Eq/L}$) (92)

3.1.3. Tiyol Disülfüt Homeostazis Parametrelerin Ölçümü

Tiyol disülfüt homeostaz analizleri için alınan kan örnekleri Rel Assay kiti (Gaziantep, Türkiye) kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü. Bu yöntemle, numunelerdeki disülfüt bağları, sodyum borohidrit kullanılarak fonksiyonel tiyol gruplarına indirgenir. NaBH_4 formaldehit ile kullanılmayan sodyum borohidritin ditiyonit-2 nitrobenzoik (DTNB) ortamdan uzaklaştırılır. Böylelikle DTNB'nin çok fazla azalmasını önleyerek tepkimeden sonra disülfüt bağının azalması önlenmiş olur. DTNB'nin ile reaksiyondan sonra natif tiyol ve toplam tiyol seviyeleri belirlenip ölçüldü. Natif tiyol miktarının toplam tiyol içeriğinden çıkarılmasıyla elde edilen sonucun farkının yarısı disülfüt seviyesini gösterdi. Tiyol-disülfüt homeostazının yansıması için en iyi belirteç olan disülfüt/natif tiyol oranı da hesaplandı (93).

3.1.4. 8-OHdG Ölçümü

Serum örneklerinde 8-OHdG değerlerin ölçülmesi için, örnekler çözdürülmeye bırakıldı. Çözünmüş serum örnekleri oda sıcaklığında ($20\text{-}25^\circ\text{C}$) oda ısısına gelene kadar bekletildi. 8-OHdG düzeyleri ELISA yöntemiyle ölçüldü (Northwest, NWLSS 8-OHdG, Vancouver, Canada). Sonuçlar ng/mL olarak ifade edildi (94).

3.2. İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin analizi, SPSS paket programıyla (SPSS, sürüm 11.5, Chicago, IL) ile istatistiksel analiz kullanılarak yapıldı. Sürekli değişkenlerin normal olarak dağıtılıp dağıtılmadığını belirlemek için Shapiro-Wilk testini kullandık. Sonuçlar ortalama \pm SD olarak ifade edildi. Normal dağılım gösteren değişkenlerdeki gruplar arasındaki farklar bağımsız Örnek T testi kullanılarak analiz edildi. Normal olmayan dağılım verileri

arasındaki farkları analiz etmek için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Korelasyon analizinde normal değişkenler için Pearson korelasyon analizi ve normal olmayan dağılım için Spearman korelasyon analizi kullanıldı. $P < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

Gaziantep Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde, klinik olarak tanısı doğrulanmış Aort kapak sklerozlu 40 hasta birey ile 40 sağlıklı birey kontrol grup olacak şekilde planlanmıştır. Çalışmada TAS, TOS, OSI, Ntiyol, Ttiyol, Disülfid ve 8-OH deoksiguanozin parametreleriyle DNA hasarının araştırılması yapılmıştır. Elde edilen bulgular kontrol grubu ile istatistiksel olarak karşılaştırılmış olup aşağıda tablolar halinde sunulacaktır:

Tablo 1. Grupların Natif tiyol, Total tiyol, Disülfid, Disülfid/Natif tiyol, Disülfid/Total tiyol, Natif tiyol/Total tiyol, TAS, TOS, OSI, 8-OHdG parametrelerin ortalama \pm SD değerleri

Parametreler	Kontrol Grup(n:40) (ortalama \pm SD)	Hasta Grup (n:40) (ortalama \pm SD)	P değerleri
Natif tiyol ($\mu\text{mol/L}$)	300.19 \pm 18.12	289.72 \pm 21.64	0.022
Total tiyol ($\mu\text{mol/L}$)	323.79 \pm 18.27	309.96 \pm 24.87	0.006
Disülfid($\mu\text{mol/L}$)	11.80 \pm 1.86	10.12 \pm 3.54	0.01
Disülfid/Natif tiyol (%)	3.94 \pm 0.68	3.48 \pm 1.17	0.034
Disülfid/Total tiyol (%)	3.65 \pm 0.58	3.23 \pm 1.01	0.028
Natif tiyol/Total tiyol (%)	92.69 \pm 1.16	93.52 \pm 2.03	0.028
TAS (mmol Trolox Eq/L)	1,58 \pm 0.2	1.49 \pm 0.17	0.046
TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq/L)	4.35 \pm 0.59	4.77 \pm 0.56	0.006
OSI (Arbitrary Unit)	0.29 \pm 0.05	0.31 \pm 0.12	0.459
8-OHdG (ng/mL)	5.97 \pm 2.58	7.44 \pm 2.20	0.008

Örnekler iki kez çalışıldı. toplam antioksidan durum (TAS), toplam oksidan durum (TOS), oksidatif stres indeksi (OSI), Ntiyol, Ttiyol, disülfid, disülfid/Ntiyol, disülfid/Ttiyol, Ntiyol/Ttiyol ve oksidatif DNA hasarının göstergeleri olan 8-OHdG, AKS ve kontrol grubunun serumlarında düzeyler ölçüldü (Tablo 1). AKS grubunda, TAS, TOS, OSI, Ntiyol, Ttiyol, disülfid, disülfid/Ntiyol, disülfid/Ttiyol ve 8-OHdG

düzeyleri kontrol grubunun değerlerine göre anlamlı derecede düşük olduğu tespit edildi. Bununla birlikte, Ntiyol/Ttiyol düzeyleri kontrol grubundan istatistiksel olarak daha yüksek bulundu.

Tablo 2. Hasta grubunda korelasyon analizi

Hasta	TAS	TOS	OSI	Ntiyol	Ttiyol	Disülfıt	8-OHdG
TAS			-0.512** p<0.001				
TOS			0.745** p<0.000				
Ntiyol					0.963** p<0.000	0.326* p<0.05	
Ttiyol						0.569* p<0.000	

*: p<0.05

** : p<0.01

Korelasyon analizinde hasta ve kontrol grubunda TAS ile OSI arasında anlamlı negatif korelasyon, TOS ile OSI arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon ve Ntiyol ile Ttiyol ile Disülfıt ve Ttiyol parametreleri arasında pozitif korelasyon vardı.

Tablo 3. Kontrol grubunda korelasyon analizi

Kontrol	TAS	TOS	OSI	Ntiyol	Ttiyol	Disülfıt	8-OHdG
TAS			-0.623** p<0.000				
TOS			0.805** p<0.000				
Ntiyol					0.979** p <0.000		

*: p<0.05

** : p<0.01

Kontrol grubunda; TAS ile OSI arasında (p<0.000 ve r: -0.623) anlamlı düzeyde negatif bir korelasyon vardır.

Ayrıca; TOS ile OSI arasında (p< 0.000 ve r: 0.805), Ntiyol ile Ttiyol arasında (p<0.000 ve r: 0.979) ise anlamlı düzeyde pozitif bir korelasyon vardır (Tablo 3).

5. TARTIŞMA

Yapılan çalışmalar, birçok hastalıkta yüksek seviyelerde oksidatif DNA hasarı bildirmiştir, ancak bunların varlığı patojenik değil epifenomenon olabileceği ifade edilmektedir. Kademeli oksidatif stres DNA hasarı hastalıklarının deneysel ateroskleroz modelinde doğrudan rolüne dair artan kanıtlarla, kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde oksidatif DNA hasarının rolünü tanımlamak için doğrudan bir mekanizma önerilmiştir (13, 95). Artık aort kapak darlığının, mikroskopik erken değişikliklerden aort sklerozuna ve daha sonra bir hasta alt kümesinde şiddetli biyomineralizasyona ilerleyen bir hastalığın son aşaması olduğu bilinmektedir (95, 96). Sklerozdan stenoza geçişin ilerlemesini etkilemek için, hastalığın en erken aşamalarını anlamak gerekir, böylece kapak hastalarında hedefli tedavinin mikroskopik süreçler üzerindeki etkileri ölçülebilir (95, 97). En iyi çabalara rağmen, kalsifik aort kapak hastalığının (KAKH) anlaşılması, teşhisi ve tedavisinde ilerleme, kapakçıklarda erken kalsifik değişikliklerle ilişkili dinamik moleküler olayların in vivo ölçümünü engellemiştir (95, 98). Aort sklerozunun yüksek prevalansına rağmen, gelişim aşamaları ve patogenetik mekanizmaları hakkında çok az şey bilinmektedir. Bu yüksek lisans tez çalışması aort kapak sklerozun (AKS) patogenezi ve ilerlemesi hakkında bazı yeni fikir sunmaktadır (95). Serbest radikaller normal metabolizmanın bir sonucu olarak sürekli olarak üretilir. Canlı organizmalarda, aşırı ROT/RNT üretimi ve oluşan serbest radikalleri nötralize eden enzimatik ve non-enzimatik antioksidan savunma sisteminin yetersiz ve/veya bozulması sırasıyla oksidatif ve nitrosatif strese neden olur. Oksidatif stres birçok hastalığın patogenezinde rol oynadığı için, (99-101) bunu anlamak ve bu alanda gelişmelere nasıl ihtiyaç duyulduğunu netleştirmek önemlidir.

Buna karşılık, ROT/RNT'nin (örneğin $O_2^{\bullet-}$, NO^{\bullet}) düşük veya orta derecede konsantrasyonları yaptıkları oksidatif ve/veya nitrosatif stres canlı organizmalar üzerinde faydalı etkilere vardır. Bunlar, örneğin bir dizi hücrel sinyal yolunun fonksiyonunda, mitojenik yanıtın indüklenmesinde ve enfeksiyona sebep olan ajanlara karşı savunmada olduğu gibi, hasarlara karşı hücrel yanıtlarda fizyolojik rolleri içerirler (102). ROT / RNT aşırı üretimi durumunda ise, lipitler, membranlar, proteinler

ve DNA dahil olmak üzere hücre yapılarında bulunan makro moleküllere önemli hasar meydana getirirler. Gerçekten de, çalışmalar ROT/RNT'nin geniş oksidatif DNA hasarını, DNA zincir kopmalarını ve kromozomal anormallikleri tetikleyebileceğini ve endojen serbest radikal ataklardan DNA'ya verilen önemli hasarın kanser patolojisine ve çeşitli nörodejeneratif hastalıklara katkıda bulunduğunu yapılan çalışmalarda ifade edilmektedir (13). Çalışmamızda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında AKS'li hastaların serumunda oksidatif DNA hasarında artış tespit edildi. Bu bulgu, oksidatif doku hasarının stnoz oluşumu sırasında, muhtemelen oksidatif/nitrosatif stres varlığında alevlendiği varsayımını desteklemektedir. 8-OHdG, memeli DNA'sında oksidatif/nitrosatif stres varlığında ortaya çıkan önemli bir DNA hasar belirteçidir.

Fonksiyonel sülfhidril gruplarından oluşan tiyoller, redoks homeostazisinde önemli rol oynayan oksidasyon ve antioksidan sistem bileşenleridir. Tiyol-disülfid değişimiyle sonuçlanan reaksiyonların biyolojide önemli rolleri vardır. Bu reaksiyonların sadece protein stabilize edici bir yapısal amaca sahip olduğu uzun zamandır düşünülmektedir, ancak şimdi birçok enzimin çeşitli dinamik fonksiyonel özelliklerden de sorumlu olduğu yapılan araştırmalarda ortaya belirtilmektedir. Tiyol olarak indirgenmiş durum ve disülfid grupları olarak oksitlenmiş durum, normal metabolizmanın bir sonucunda düzenli olarak birbirlerine dönüşür ve tiyol ile disülfid grupları arasında stabilite korunur. Dinamik tiyol/disülfid dengesi yeni bir OS belirteci olarak tanımlanmış ve antioksidan koruma, detoksifikasyon ve apoptoza katıldığı çalışmalarda gösterilmiştir (103-105). Bu çalışmada, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında AKS'li hastalarda tiyol/disülfid homeostazının tiyol konsantrasyonlarına göre değiştiğini gösterdik. Ayrıca, genel dengeleme mekanizmasını açıkça değerlendirmek için disülfid/Ntiyol, disülfid/Ttiyol ve Ntiyol/Ttiyol gibi üç oransal değeri de hesapladık. Hasta grubunda Ntiyol/Ttiyol oranı dışında Ntiyol, Ttiyol, disülfid düzeyleri ve disülfid/Ntiyol ve disülfid/Ttiyol oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma vardı. Bu antioksidan savunma sisteminde önemli bir azalmaya ve oksidan strese ise önemli bir artışa neden olmaktadır.

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hasta grubunda artmış TOS ve OSI, azalmış TAS değerleri oksidatif stresin varlığının önemli bir kanıtıdır. Ayrıca, TAS ve OSI arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon ve TOS ve OSI arasında pozitif korelasyonun varlığı hipotezimizi desteklemektedir. TAS, sülfhidril grupları

(çoğunlukla albümin), fenol bileşikleri, A, C ve E vitaminleri ve proteinlerden oluşan hücre dışı antioksidan sistemin serbest radikallerinin temizleme kapasitesini ölçer. TAS, ROT/RNT temizlendikten sonra kalan antioksidan kapasitenin önemli bir yansımasıdır. DNA hasarı oksidatif stres ile ilişkilidir (106). Bu nedenle, bu DNA hasarının AKS hastalarında hastalığın patogeneze katkıda bulunan yetersiz antioksidan kapasite ve aşırı ROT/RNT oluşumundan kaynaklandığını düşündürmektedir. Bu nedenle, elde edilen verilerde de görüldüğü gibi, hastalık sürecindeki oksidatif stres tutulumu hipotezini desteklemektedir.

Organizmada oksidan stresin oluşturduğu serbest radikaller, makromoleküllerden biri olan DNA yapısında kırıklara yol açar. DNA kırıkları poli (ADP-riboz) sentetazın (PARS) aktivitesini indükler. Poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP) veya poli (ADP-riboz) transferaz olarak da bilinen bu enzim, hücre çekirdeğinde bol miktarda bulunan ve adenosin difosfat riboz birimlerinin homopolimerizasyonunu sağlayan bir enzimdir. PARS, bir substrat olarak hücre içi NAD^{+} 'yi kullandığından, glikoliz ve elektron transfer zincirinin elektron taşınmasının yavaşlamasına neden olur, böylece ATP oluşumunu azaltır. Bu olaylar zincirinin neden olduğu enerji açığı nedeniyle, aşırı oksidan stres koşullarının hücre fonksiyon bozukluğu ve ölümle sonuçlanmasına yol açmaktadır (10).

Sonuç olarak, bu tez çalışmasında AKS hastalarında bozulmuş tiyol/disülfid homeostazını saptayan ilk araştırmadır. Bu hastalarda ayrıca artmış oksidatif stres ile oksidatif DNA hasarı ve azalmış antioksidan durumu ayrıca tespit ettik. Bulgularımız, artmış oksidan stresin aort kapak sklerozunun başlangıcında ve ilerlemesinde önemli bir nokta olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle, tedaviye antioksidanların eklenmesi, tiyol/disülfid dengesinin geri kazanılması, aort kapak stenozunun yavaşlatılması veya hatta durdurulması için yeni terapötik hedeflere ışık tutabilir.

6. KAYNAKLAR

1. Sverdlov AL, Ngo DT, Chan WP, Chirkov YY, Gersh BJ, McNeil JJ and Horowitz JD. Determinants of aortic sclerosis progression: implications regarding impairment of nitric oxide signalling and potential therapeutics. *Eur Heart J.* 2012;33(19):2419-25.
2. Beckmann E, Grau JB, Sainger R, Poggio P and Ferrari G. Insights into the use of biomarkers in calcific aortic valve disease. *J Heart Valve Dis.* 2010;19(4):441-52.
3. Reustle A and Torzewski M. Role of p38 MAPK in Atherosclerosis and Aortic Valve Sclerosis. *Int J Mol Sci.* 2018;19(12).
4. Marechaux S, Corseaux D, Vincentelli A, Richardson M, Ung A, Susen S, Zawadzki C, Beregi JP, Ezekowitz MD, Jude B and Le Tourneau T. Identification of tissue factor in experimental aortic valve sclerosis. *Cardiovasc Pathol.* 2009;18(2):67-76.
5. Leopold JA. Cellular mechanisms of aortic valve calcification. *Circ Cardiovasc Interv.* 2012;5(4):605-14.
6. Ngo DT, Sverdlov AL, Willoughby SR, Nightingale AK, Chirkov YY, McNeil JJ and Horowitz JD. Determinants of occurrence of aortic sclerosis in an aging population. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2009;2(8):919-27.
7. Volzke H, Haring R, Lorbeer R, Wallaschofski H, Reffelmann T, Empen K, Rettig R, John U, Felix SB and Dorr M. Heart valve sclerosis predicts all-cause and cardiovascular mortality. *Atherosclerosis.* 2010;209(2):606-10.
8. Milin AC, Vorobiof G, Aksoy O and Ardehali R. Insights into aortic sclerosis and its relationship with coronary artery disease. *J Am Heart Assoc.* 2014;3(5):e001111.
9. Cikman O, Soylemez O, Ozkan OF, Kiraz HA, Sayar I, Ademoglu S, Taysi S and Karaayvaz M. Antioxidant Activity of Syringic Acid Prevents Oxidative Stress in L-arginine-Induced Acute Pancreatitis: An Experimental Study on Rats. *Int Surg.* 2015;100(5):891-96.
10. Taysi S, Tascan AS, Ugur MG and Demir M. Radicals, Oxidative/Nitrosative Stress and Preeclampsia. *Mini Rev Med Chem.* 2019;19(3):178-93.
11. Kunsch C and Medford RM. Oxidative stress as a regulator of gene expression in the vasculature. *Circ Res.* 1999;85(8):753-66.

12. Irani K. Oxidant signaling in vascular cell growth, death, and survival : a review of the roles of reactive oxygen species in smooth muscle and endothelial cell mitogenic and apoptotic signaling. *Circ Res.* 2000;87(3):179-83.
13. Martinet W, Knaapen MW, De Meyer GR, Herman AG and Kockx MM. Elevated levels of oxidative DNA damage and DNA repair enzymes in human atherosclerotic plaques. *Circulation.* 2002;106(8):927-32.
14. Memet C, Gerege DM, Ozenci M, Akbulut IM, Acibuca A, Kilickap M and Erol C. Evaluation of the Role of Oxidative Stress in Degenerative Aortic Stenosis. *J Heart Valve Dis.* 2015;24(4):445-50.
15. Beckman KB and Ames BN. Oxidative decay of DNA. *J Biol Chem.* 1997;272(32):19633-6.
16. Akinci S, Ozcan HC, Balat O, Ugur MG, Ozturk E, Taysi S and Sucu S. Assessment of beta-hydroxydeoxyguanosine levels in patients with preeclampsia: a prospective study. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2017;44(2):226-29.
17. Geyik S, Altunisik E, Neyal AM and Taysi S. Oxidative stress and DNA damage in patients with migraine. *J Headache Pain.* 2016;17:10.
18. Ballinger SW, Patterson C, Yan CN, Doan R, Burow DL, Young CG, Yakes FM, Van Houten B, Ballinger CA, Freeman BA and Runge MS. Hydrogen peroxide- and peroxynitrite-induced mitochondrial DNA damage and dysfunction in vascular endothelial and smooth muscle cells. *Circ Res.* 2000;86(9):960-6.
19. Ilyas A and Shah MH. Statistical evaluation of essential/toxic metal levels in the blood of valvular heart disease patients in comparison with controls. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.* 2017;52(6):571-79.
20. Wallby L. Signs of inflammation in different types of heart valve disease. The VOCIN study (Doctoral dissertation, Institutionen för medicin och hälsa). Sweden: Linköping; 2008: p.5-7.
21. Khurana I. and Khurana A. Textbook of medical physiology. 2nd ed. Elsevier: Saunders; 2015: p.707-709.
22. Lerman DA, Prasad S and Alotti N. Calcific Aortic Valve Disease: Molecular Mechanisms and Therapeutic Approaches. *Eur Cardiol.* 2015;10(2):108-12.
23. Nishimura RA, Otto CM, Bonow RO, Carabello BA, Erwin JP, Guyton RA, Sundt TM. 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of Patients with Valvular Heart Disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association

- Task Force on Practice Guidelines. American Heart Association. 2014;129(23):2440-92.
24. Frank H, Alpendurada F. Cardiovascular Magnetic Resonance. 2nd Ed. Elsevier; 2010: p.532-547.
 25. Mordi I and Tzemos N. Bicuspid aortic valve disease: a comprehensive review. *Cardiol Res Pract.* 2012;2012:196037.
 26. Izquierdo-Gomez MM, Hernandez-Betancor I, Garcia-Niebla J, Mari-Lopez B, Laynez-Cerdena I and Lacalzada-Almeida J. Valve Calcification in Aortic Stenosis: Etiology and Diagnostic Imaging Techniques. *Biomed Res Int.* 2017;2017.
 27. Prasad Y and Bhalodkar NC. Aortic sclerosis--a marker of coronary atherosclerosis. *Clin Cardiol.* 2004;27(12):671-3.
 28. Sathyamurthya I, Alexb S. Calcific aortic valve disease: Is it another face of atherosclerosis? *Indian Heart J.* 2015.
 29. Stewart BF, Siscovick D, Lind BK, Gardin JM, Gottdiener JS, Smith VE, Kitzman DW and Otto CM. Clinical factors associated with calcific aortic valve disease. Cardiovascular Health Study. *J Am Coll Cardiol.* 1997;29(3):630-4.
 30. Otto CM, Lind BK, Kitzman DW, Gersh BJ and Siscovick DS. Association of aortic-valve sclerosis with cardiovascular mortality and morbidity in the elderly. *N Engl J Med.* 1999;341(3):142-7.
 31. Nightingale AK, Horowitz JD. Aortic sclerosis: not an innocent murmur but a marker of increased cardiovascular risk. *Heart.* 2005;91(11):1389-93.
 32. Dillard CJ, Litov RE and Tappel AL. Effects of dietary vitamin E, selenium, and polyunsaturated fats on in vivo lipid peroxidation in the rat as measured by pentane production. *Lipids.* 1978;13(6):396-402.
 33. Young IS and Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol.* 2001;54(3):176-86.
 34. Kehrer JP and Klotz LO. Free radicals and related reactive species as mediators of tissue injury and disease: implications for Health. *Crit Rev Toxicol.* 2015;45(9):765-98.
 35. Sun Y. Free radicals, antioxidant enzymes, and carcinogenesis. *Free Radic Biol Med.* 1990;8(6):583-99.

36. Ozcan A and Ogun M, Biochemistry of Reactive Oxygen and Nitrogen Species In: Basic Principles and Clinical Significance of Oxidative Stress (Gowder SJT, ed). InTech. 2015: p.37-58.
37. Halliwell B and Gutteridge JM. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol.* 1990;186:1-85.
38. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Konya: Mimoza Basım, 1995
39. Brunori M and Rotilio G. Biochemistry of oxygen radical species. *Methods Enzymol.* 1984;105:22-35.
40. Hess ML and Manson NH. Molecular oxygen: friend and foe. The role of the oxygen free radical system in the calcium paradox, the oxygen paradox and ischemia/reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol.* 1984;16(11):969-85.
41. Turrens JF, Beconi M, Barilla J, Chavez UB and McCord JM. Mitochondrial generation of oxygen radicals during reoxygenation of ischemic tissues. *Free Radic Res Commun.* 1991;12-13 Pt 2:681-9.
42. Vanden Hoek TL, Shao Z, Li C, Schumacker PT and Becker LB. Mitochondrial electron transport can become a significant source of oxidative injury in cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol.* 1997;29(9):2441-50.
43. Harman D. Aging: overview. *Ann N Y Acad Sci.* 2001;928:1-21.
44. Brent JA and Rumack BH. Role of free radicals in toxic hepatic injury. I. Free radical biochemistry. *J Toxicol Clin Toxicol.* 1993;31(1):139-71.
45. Freese EB, Gerson J, Taber H, Rhaese HJ and Freese E. Inactivating DNA alterations induced by peroxides and peroxide-producing agents. *Mutat Res.* 1967;4(5):517-31.
46. Nappi AJ and Vass E. Hydroxyl radical formation via iron-mediated Fenton Chemistry is inhibited by methylated catechols. *Biochim Biophys Acta* 1998;1425(1):159-67.
47. Chauhan R, Kumara BH, Kumari B, Rana MK. Significance of antioxidants in human health. *Scholars Journal of Applied Medical Sciences* 2016; 4(4C):1265-77.
48. Balasubramanian B, Pogozelski WK and Tullius TD. DNA strand breaking by the hydroxyl radical is governed by the accessible surface areas of the hydrogen atoms of the DNA backbone. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95(17):9738-43.

49. Battin EE and Brumaghim JL. Antioxidant activity of sulfur and selenium: a review of reactive oxygen species scavenging, glutathione peroxidase, and metal-binding antioxidant mechanisms. *Cell Biochem Biophys*. 2009;55(1):1-23.
50. Drew B and Leeuwenburgh C. Aging and the role of reactive nitrogen species. *Ann N Y Acad Sci*. 2002;959:66-81.
51. Phaniendra A, Jestadi DB and Periyasamy L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J Clin Biochem*. 2015;30(1):11-26.
52. Beckman JS and Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am J Physiol*. 1996;271(5 Pt 1):C1424-37.
53. Murphy MP, Packer MA, Scarlett JL and Martin SW. Peroxynitrite: a biologically significant oxidant. *Gen Pharmacol*. 1998;31(2):179-86.
54. Lee J, Koo N, Min DB. Reactive Oxygen Species, Aging, and Antioxidative Nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2004;3.
55. Wilhelm J, Vytášek R, Uhlík J, Vajner L. Oxidative Stress in the Developing Rat Brain due to Production of Reactive Oxygen and Nitrogen Species. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016.
56. Comporti M. Three models of free radical-induced cell injury. *Chem Biol Interact*. 1989;72(1-2):1-56.
57. Halliwell BaG, J.M.C. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd Edition ed: Oxford University Press, 1999.
58. Meral A, Tuncel P, Surmen-Gur E, Ozbek R, Ozturk E and Gunay U. Lipid peroxidation and antioxidant status in beta-thalassemia. *Pediatr Hematol Oncol*. 2000;17(8):687-93.
59. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*. 1995;41(12 Pt 2):1819-28.
60. Buettner GR. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol, and ascorbate. *Arch Biochem Biophys*. 1993;300(2):535-43.
61. Davies KJ. Protein damage and degradation by oxygen radicals. I. general aspects. *J Biol Chem*. 1987;262(20):9895-901.
62. Kulaksız G, Sancar A. Nükleotid eksizyon onarımı ve kanser. *Turkish Journal of Biochemistry* 2007;32(3):104-11.

63. Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Unsal-Kacmaz K and Linn S. Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. *Annu Rev Biochem.* 2004;73:39-85.
64. Dizdaroglu M, Jaruga P, Birincioglu M and Rodriguez H. Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free Radic Biol Med.* 2002;32(11):1102-15.
65. Helbock HJ, Beckman KB and Ames BN. 8-Hydroxydeoxyguanosine and 8-hydroxyguanine as biomarkers of oxidative DNA damage. *Methods Enzymol.* 1999;300:156-66.
66. De Martinis BS, De Lourdes Pires Bianchi M. Methodology for urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine analysis by hplc with electrochemical detection. 2002;46(2):129-31.
67. Atmaca E, Aksoy A. Oksidatif DNA hasarı kromatografik yöntemlerle tesbiti. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi.* 2009;20(2):79-83.
68. Bardakçı Ö. Bazı Sentetik Antioksidanların 2, 2-Difenil-1-Pikrilhirazil (DPPH) Radikal Süpürme Kapasitesi Yöntemi ile Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması. 2017, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimler Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 58 sayfa , Aydın, (Doç. Dr. Murat BOYACIOĞLU).
69. Mandal S, Yadav S, Yadav S, Nema, RK. Antioxidants: a review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research.* 2009;1(1): 102–04.
70. Poljsak B, Suput D and Milisav I. Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxid Med Cell Longev.* 2013;2013:1-3
71. Engwa GA. Free radicals and the role of plant phytochemicals as antioxidants against oxidative stress-related diseases. *Phytochemicals: Source of Antioxidants and Role in Disease Prevention.* BoD–Books on Demand. 2018: p.49-74.
72. McCord JM and Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem.* 1969;244(22):6049-55.
73. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine.* 2018;54(4).

74. Guemori L AY, Herbeth B, Jeandel C, Cunny G, Siest G. Biological variability of süperoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood. *Clin Chem.* 1991;37:1932-37.
75. Chelikani P, Fita I, Loewen PC. Diversity of structures and properties among catalases. *Cell Mol Life Sci.* 2004;61(2):192-208.
76. Boon EM, Downs A, Marcey D. "Catalase: H₂O₂: H₂O₂ Oxidoreductase". Catalase Structural Tutorial Text. Retrieved. 2007;02:11-11.
77. Muller FL, Song W, Liu Y, Chaudhuri A, Pieke-Dahl S, Strong R, Huang TT, Epstein CJ, Roberts LJ, Csete M, Faulkner JA, Van Remmen H. Absence of CuZn superoxide dismutase leads to elevated oxidative stress and acceleration of age-dependent skeletal muscle atrophy. *Free Radic Biol Med.* 2006;40(11):1993–2004.
78. Xiao BH, Shi M, Chen H, Cui S, Wu Y, Gao XH and Chen HD. Glutathione peroxidase level in patients with vitiligo: a meta-analysis. *BioMed research international.* 2016.
79. Gibson DG, Hawrylko J, McCay PB. GSH-dependent inhibition of lipid peroxidation: properties of a potent cytosolic system which protects cell membranes. *Lipids* 1985;20(10):704-10.
80. Sen CK, Khanna S and Roy S. Tocotrienols in health and disease: the other half of the natural vitamin E family. *Mol Aspects Med.* 2007;28(5-6):692-728.
81. Traber MG and Atkinson J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med.* 2007;43(1):4-15.
82. Herrera E and Barbas C. Vitamin E: action, metabolism and perspectives. *J Physiol Biochem.* 2001;57(2):43-56.
83. Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee JH, Chen S, Corpe C, Dutta A, Dutta SK and Levine M. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J Am Coll Nutr.* 2003;22(1):18-35.
84. Gallie DR. L-ascorbic acid: a multifunctional molecule supporting plant growth and development. *Scientifica*, 2013.
85. Olson JA. Carotenoids and human health. *Arch Latinoam Nutr.* 1999;49 Suppl:7-11
86. Andrei S, Bunea A, Dumitraş DA, Pintea A. Comparative Study of the Antioxidants Compounds in Fresh and Thermally Processed Tomatoes Juice *Bulletin UASVM Food Science and Technology.* 2019;76(1)

87. van het Hof KH, Brouwer IA, West CE, Haddeman E, Steegers-Theunissen RP, van Dusseldorp M, Weststrate JA, Eskes TK and Hautvast JG. Bioavailability of lutein from vegetables is 5 times higher than that of beta-carotene. *Am J Clin Nutr.* 1999;70(2):261-8.
88. Celik E, Taysi S, Sucu S, Ulusal H, Sevincler E and Celik A. Urotensin 2 and Oxidative Stress Levels in Maternal Serum in Pregnancies Complicated by Intrauterine Growth Restriction. *Medicina (Kaunas).* 2019;55(7).
89. Demir E, Taysi S, Ulusal H, Kaplan DS, Cinar K and Tarakcioglu M. Nigella sativa oil and thymoquinone reduce oxidative stress in the brain tissue of rats exposed to total head irradiation. *Int J Radiat Biol.* 2020;96(2):228-35.
90. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005;38(12):1103-11.
91. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem.* 2004;37(4):277-85.
92. Motor S, Ozturk S, Ozcan O, Gurpinar AB, Can Y, Yuksel R, Yenin JZ, Seraslan G and Ozturk OH. Evaluation of total antioxidant status, total oxidant status and oxidative stress index in patients with alopecia areata. *Int J Clin Exp Med.* 2014;7(4):1089-93.
93. Erel O and Neselioglu S. A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. *Clin Biochem.* 2014;47(18):326-32.
94. Yanar M. Yatak Başı Ultrasound Eşliğinde Kalıcı Tüneli Port Kateteri Takılan Hastalarda Nitrozatif Stres ve DNA Hasarının Araştırılması. 2019, Gaziantep Üniversitesi, Sağlık Bilimler Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 70 sayfa , Gaziantep, (Prof. Dr. Seyithan TAYSI).
95. Branchetti E, Sainger R, Poggio P, Grau JB, Patterson-Fortin J, Bavaria JE, Chorny M, Lai E, Gorman RC, Levy RJ and Ferrari G. Antioxidant enzymes reduce DNA damage and early activation of valvular interstitial cells in aortic valve sclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013;33(2):e66-74.
96. Aikawa E and Otto CM. Look more closely at the valve: imaging calcific aortic valve disease. *Circulation.* 2012;125(1):9-11.
97. Baumgartner H and Otto CM. Aortic stenosis severity: do we need a new concept? *J Am Coll Cardiol.* 2009;54(11):1012-3.

98. Otto CM. Calcific aortic valve disease: new concepts. *Semin Thorac Cardiovasc Surg.* 2010;22(4):276-84.
99. Akyuz M, Taysi S, Baysal E, Demir E, Alkis H, Akan M, Binici H and Karatas ZA. Radioprotective effect of thymoquinone on salivary gland of rats exposed to total cranial irradiation. *Head Neck.* 2017;39(10):2027-35.
100. Baysal E, Gulsen S, Aytac I, Celenk F, Ensari N, Taysi S, Binici H, Durucu C, Mumbuc S and Kanlikama M. Oxidative stress in otosclerosis. *Redox Rep.* 2017;22(5):235-39.
101. Beckers T and Mahboobi S. Natural, semisynthetic and synthetic microtubule inhibitors for cancer therapy. *Drugs Future* 2003;28:767–85.
102. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M and Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(1):44-84.
103. Cetin O, Karaman E, Boza B, Cim N, Alisik M, Erel O, Kolusari A and Sahin HG. The maternal serum thiol/disulfide homeostasis is impaired in pregnancies complicated by idiopathic intrauterine growth restriction. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018;31(5):607-13.
104. Nagy P. Kinetics and mechanisms of thiol-disulfide exchange covering direct substitution and thiol oxidation-mediated pathways. *Antioxid Redox Signal.* 2013;18(13):1623-41.
105. Biswas S, Chida AS and Rahman I. Redox modifications of protein-thiols: emerging roles in cell signaling. *Biochem Pharmacol.* 2006;71(5):551-64.
106. Singh AK, Pandey P, Tewari M, Pandey HP, Gambhir IS and Shukla HS. Free radicals hasten head and neck cancer risk: A study of total oxidant, total antioxidant, DNA damage, and histological grade. *J Postgrad Med.* 2016;62(2):96-101.

7. EKLER

Ek 1: Etik Kurul Onay Formu

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU						
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Aort Kapak Sklerozlu hastalarda oksidan/antioksidan status ve oksidatif DNA hasarının araştırılması					
ARSA ARAŞTIRMANIN ROTOKOL KODU	195					
KARAR BİLGİLERİ	ILAN	<input type="checkbox"/>				
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>				
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>				
	GUVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>				
	DİĞER:	<input type="checkbox"/>				
	Karar No:2018/195	Tarih: 07.11.2018				
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.					
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU						
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu					
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Aysun BARANSEL ISIR					
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişkisi	Katılım *	İmza
Prof. Dr. Aysun BARANSEL ISIR	ADLI TIP	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Yasemin ZER	MİKROBİYOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Özlem ALTINDAĞ	FİZİK TEDAVİ ve REHABİLİTASYON	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Birgül ÖZÇİRPİCİ	HALK SAĞLIĞI	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Muradiye NACAĞ	FARMAKOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. İlker SEÇKİNER	ÜRÖLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Mehmet KESKİN	ÇOCUK ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HASTALIKLARI	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Sinan AKBAYRAM	ÇOCUK HEMATOLOJİ ve ONKOLOJİ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ramazan BAL	FİZYOLOG	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Umur ELBOĞA	NÜKLEER TIP	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Serkan GÜRGÜL	BIYOFİZİK	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Eda Didem YALÇIN	AĞIZ DIŞ ve ÇENE RADYOLOJİSİ	Gaziantep Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Günay KOZAN	KULAK, BURUN, BOĞAZ HASTALIKLARI	Gaziantep İl Sağlık Müdürlüğü	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Emine Aybuken YILDIRIM	AVUKAT (Hukukçu)	Gaziantep Barosu	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Recep TÜRK	BANKACI (Kamu Yönetimi)	Ziraat Bankası Gaziantep Bölge Yöneticisi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
*:Toplantıda Bulunma						
Etik Kurul Başkanı Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Aysun BARANSEL ISIR			Elden imzalarını aldım. N. J. Arzu YILGEL.			
Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.						

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Aort Kapak Sklerozlu hastalarda oksidan/antioksidan status ve oksidatif DNA hasarının araştırılması'
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	195

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Araştırma Merkezi Binası (GAÜNDAM) Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 27310 Şehitkamil/Gaziantep
	TELEFON	
	FAKS	
	E-POSTA	etikkurul@gantep.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr.Seyithan TAYŞI			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma	<input checked="" type="checkbox"/>				
DİĞER İSE BELİRTİNİZ :					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLAR ARASI <input type="checkbox"/>	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama				
	SIGORTA	<input type="checkbox"/>				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>				
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>				

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Aysun BARANSEL İSİR

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

8. ÖZGEÇMİŞ

1988 Adıyaman doğumluyum.

İlk, orta ve lise öğrenimimi Çelikhan'da tamamladım.

2012 yılında Gaziantep Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldum.

2012-2013 yılları arasında Şahinbey Belediyesi Etüt Merkezinde öğretmenlik yaptım.

2017 yılında Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Bölümünde yüksek lisansa başladım.

2019 yılından itibaren Türkiye Gençlik ve Eğitime Hizmet Vakfı'na bağlı yurtdışı Müdür Yardımcısı olarak çalışıyorum.

T.C
YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
ULUSAL TEZ MERKEZİ

TEZ VERİ GİRİŞ FORMU

Referans No	10242926
Yazar Adı / Soyadı	ARZU YÜCEL
T.C.Kimlik No	14416335748
Telefon	5428451045
E-Posta	arzuyucel777@gmail.com
Tezin Dili	Türkçe
Tezin Özgün Adı	Aort kapak sklerozlu hastalarda oksidan/antioksidan status ve oksidatif DNA hasarının araştırılması
Tezin Tercümesi	The investigation of oxidant / antioxidant status and oxidative DNA damage in patients with aortic valve sclerosis
Konu	Biyokimya = Biochemistry
Üniversite	Gaziantep Üniversitesi
Enstitü / Hastane	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Bilim Dalı	
Tez Türü	Yüksek Lisans
Yılı	2020
Sayfa	47
Tez Danışmanları	PROF. DR. SEYİTHAN TAYSI
Dizin Terimleri	DNA hasarı=DNA damage
Önerilen Dizin Terimleri	DNA hasarı = DNA damage, Homeostaz=Homeostasis, Sülfidril bileşikler=sulfhydryl compounds, Aort Skleroz=Aortic Sclerosis

24.06.2020

İmza:.....