

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOKİMYA VE GENETİK (TIP) ANABİLİM DALI



**KRONİK BÖBREK HASTALARINDA DİNAMİK TİYOL-DİSÜLFİT
DENGESİ İLE TİYOREDOKSİN REDÜKTAZ ENZİM DÜZEYLERİ
VE HEMODİYALİZİN TİYOL DENGESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ

Hüseyin ERDAL

Danışman

Doç. Dr. Oğuzhan ÖZCAN

Prof. Dr. Özcan EREL

HATAY - 2019

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOKİMYA VE GENETİK (TIP) ANABİLİM DALI

**KRONİK BÖBREK HASTALARINDA DİNAMİK TİYOL-DİSÜLFİT
DENGESİ İLE TİYOREDOKSİN REDÜKTAZ ENZİM DÜZEYLERİ
VE HEMODİYALİZİN TİYOL DENGESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ
Hüseyin ERDAL

Danışman

Doç. Dr. Oğuzhan ÖZCAN

Prof. Dr. Özcan EREL

Bu tez, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Birimi tarafından
18.D.002 nolu proje olarak desteklenmiştir.

HATAY – 2019

Kabul ve Onay

T.C.

HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOKİMYA VE GENETİK (TIP) ANABİLİM DALI

KRONİK BÖBREK HASTALARINDA DİNAMİK TİYOL-DİSÜLFİT DENGESİ İLE TİYOREDOKSİN REDÜKTAZ ENZİM DÜZEYLERİ VE HEMODİYALİZİN TİYOL DENGESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Doktora Tezi

Hüseyin ERDAL

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 05/07/2019 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oy çokluğu/oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri başkanı: Prof. Dr. Abdullah ARPACI
Üye: Prof. Dr. Faruk Hilmi TURGUT
Üye: Prof. Dr. Tamer Cevat İNAL
Üye: Doç.Dr. Oğuzhan ÖZCAN
Üye: Doç. Dr. Özlem GÖRÜROĞLU ÖZTÜRK

Bu tez, Enstitümüz Moleküler Biyokimya ve Genetik (Tıp) Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

05.07.2019

Prof. Dr. İbrahim Halil ÇERÇİ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmam boyunca, tez danışmanlığımı üstlenen ve her daim bana yol gösteren, her türlü bilimsel ve manevi desteğini esirgemeyerek yetişmemde önemli katkı sağlayan değerli tez danışmanım Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Moleküler Biyokimya ve Genetik (Tıp) Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Oğuzhan ÖZCAN' a teşekkürü bir borç bilirim.

Deneysel çalışmalarımın gerçekleştirilmesinde değerli bilgi ve birikimini esirgmeden sunan ikinci danışmanım Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Özcan EREL'e şükranlarımı sunuyorum.

Tez çalışmam süresince her daim bilgi, birikim ve vaktini esirgmeden benimle paylaşan ve tez çalışmama önemli katkısı olan Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları (Nefroloji) A.D Öğretim Üyesi Prof. Dr. Faruk Hilmi TURGUT'a teşekkürlerimi arz ederim.

Tez çalışmam boyunca bilimsel desteğini esirgemeyen Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya A.D Başkanı Prof. Dr. Abdullah ARPACI 'ya şükranlarımı sunuyorum.

Tez çalışmam sırasında bilgi, birikim ve tecrübesini cömertçe paylaşan arkadaşım Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Dr. Menderes Yusuf Terzi'ye teşekkür ederim.

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP)'ne tezimin deneysel çalışmaları için gerekli olan malzemeleri temin edebilmem için sağlamış olduğu bütçeden dolayı teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca her daim desteğini eksik etmeyerek sabır ve sevgiyle bu süreçte her daim yanımda olan sevgili eşim Ramia ERDAL ve canım kızlarım Elif Ravza ERDAL ve Reyhan Ela ERDAL'a sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
ÇİZELGELER DİZİNİ	VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	IX
ÖZET	XII
ABSTRACT.....	XIII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Böbrek Anatomisi	3
2.2. Böbrek Fizyolojisi.....	6
2.3. Böbrek Hastalıkları	7
2.3.1. Akut Böbrek Hastalıkları	7
2.3.2. Kronik Böbrek Hastalıkları	7
2.4. Oksidatif Stres ve Kronik Böbrek Hastalığı.....	8
2.4.1. KBH Tanımı ve Sınıflaması	9
2.4.2. KBH Epidemiyolojisi.....	11
2.4.3. KBH Etiyolojisi ve Risk Faktörleri	12
2.4.4. KBH Patogenezi.....	13
2.4.5. KBH Tanısı ve Klinik Bulguları.....	14
2.4.6. KBH’da Tedavi Yaklaşımları	15
2.4.6.1. Periton Diyaliz	16
2.4.6.2. Hemodiyaliz	16
2.4.6.2.1. Hemodiyalizde Görülen Komplikasyonlar	17
2.5. Tioredoksin Sistemi	17
2.5.1. Tioredoksin Sisteminin Biyolojik Fonksiyonları	21
2.5.1.1. Trx’in Apoptosizdeki Rolü	22
2.5.1.2. Trx Sistemi ve Yaşlanma.....	22
2.5.1.3. Trx Sistem ve Kardiyovasküler Hastalık.....	23
2.5.1.4. Trx Sistem ve Kanser.....	23

2.5.1.5. Trx Sistem ve Nörodejeneratif Hastalıklar	24
2.5.1.6. Antioksidan Sistemlerde Trx'in Fonksiyonu	24
2.5.2. Tiyoredoksin Redüktaz	25
2.5.3. Tiyoredoksin Redüktazın Moleküler Yapısı ve Fonksiyonu	27
2.6. Glutaredoksin Sistem.....	27
2.6.1. Glutasyon	27
2.6.2. Glutaredoxin	29
2.6.3. Glutasyon Redüktaz	30
2.7. Serbest Radikaller	30
2.7.1. Serbest Radikallerin Tanımı ve Oluşum Şekilleri	30
2.7.2. Serbest Radikal Kaynakları	33
2.7.3. Reaktif Oksijen Türleri	33
2.7.3.1. Süperoksit Radikali (O_2^{\bullet}).....	35
2.7.3.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2).....	36
2.7.3.3. Hidroksil Radikali (OH^{\bullet})	36
2.7.3.4. Singlet Oksijen (1O_2).....	37
2.7.3.5. Nitrik Oksit Radikali (NO^{\bullet}).....	37
2.8. Oksidatif Stres	37
2.8.1. Oksidatif Stresin Makromoleküller Üzerine Etkisi	38
2.8.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkisi	39
2.8.3. Serbest Radikallerin Lipitler Üzerine Etkisi	39
2.8.4. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler Üzerine Etkisi	40
2.9. Antioksidan Tanımı ve Sınıflandırılması.....	41
2.9.1. Endojen Antioksidanlar	41
2.9.2. Ekzojen Antioksidanlar.....	42
2.10. Tiyoller	42
2.10.1. Dinamik Tiyol-Disülfid Dengesi	44
3. GEREÇ VE YÖNTEM	45
3.1. Çalışma Grubu.....	45
3.2. Etik Kurul Onayı.....	46
3.3. Örneklerin Toplanması.....	46
3.4. Kullanılan Cihaz ve Kimyasallar	47
3.5. Örneklerin Çalışılması.....	47

3.5.1. Rutin Biyokimyasal Parametrelerin Ölçülmesi	47
3.5.2. Serum PON1 Düzeylerinin Ölçülmesi	48
3.5.3. Oksidatif Stres Parametreleri	48
3.5.3.1. Total Antioksidan Seviye (TAS)	48
3.5.3.2. Total Oksidan Seviye (TOS)	48
3.5.3.3. Oksidatif Stress İndeksi (OSİ)	48
3.5.4. Dinamik Tiyol- Disülfit Parametrelerinin Ölçümü	49
3.5.4.1. Total ve Native Tiyol Ölçümü ve Disülfit Hesaplaması	49
3.5.5. İMA Düzeyinin Belirlenmesi	50
3.6. ELISA Yöntemi ile Ölçülen Parametreler	50
3.6.1. Serum TNF-Alfa Tayini	50
3.6.2. Serum Tiyoredoksin Redüktaz (TrxR) Tayini	50
3.7. İstatistiksel Analiz	51
4. BULGULAR	52
4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Demografik Özellikleri	52
4.2. Çalışma Gruplarında Ölçülen Analitler	52
4.3. Çalışma Gruplarında Tiyol-Disülfit Denge Parametrelerinin ve İMA Düzeylerinin Karşılaştırılması	53
4.4. Plazmada Ölçülen Dinamik Tiyol-Disülfit Parametreleri ile Serumda Ölçülen Böbrek Fonksiyon Testleri ve Oksidatif Stres Parametreleri Arasındaki Korelasyon	53
4.5. Hemodiyaliz Tedavisi Alan Hastalarda Tiyol-Disülfit Denge Parametrelerinin ve İMA Düzeylerinin Karşılaştırılması	54
4.6. Hemodiyaliz Tedavisi Alan Hastaların Tiyol-Disülfit Parametrelerinin Albümine Göre Düzeltilmesi	55
4.7. Çalışma Gruplarının Native Tiyol, Total Tiyol ve Disülfit Düzeylerini Gösteren Kutu-Nokta (Box-Plot) Grafikleri	56
4.8. Çalışma Gruplarında TAS, TOS, OSİ ve PON1 Değerlerinin Karşılaştırılması	58
4.9. Elisa Çalışma Bulguları	60
5. TARTIŞMA	61
6. SONUÇ	71
7. KAYNAKLAR	73
ÖZGEÇMİŞ	83

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Böbreğin anatomik yapısı	3
Şekil 2.2. Nefronun temel bölümleri	5
Şekil 2.3. Afarent ve eferent arterioller	6
Şekil 2.4. Tiyoredoksin yapısı	18
Şekil 2.5. Elektron verici NADPH varlığında okside tiyoredoksinin indirgenmiş tiyoredoksine dönüşüm mekanizması	19
Şekil 2.6. TrxR'nin hücre içerisindeki reaksiyonları ve fonksiyonları	26
Şekil 2.7. Glutatyon yapısı.....	28
Şekil 2.8. Oksidatif denge	38
Şekil 2.9. Serbest radikaller sonucunda oluşan lipid peroksidasyon ürünleri	40
Şekil 2.10. Tiyol ve disülfit yapısı	43
Şekil 3.1. Çalışma gruplarının şematik gösterimi	46
Şekil 4.1. Çalışma gruplarının native tiyol düzeylerini gösteren kutu-nokta (box-plot) grafığı	56
Şekil 4.2. Çalışma gruplarının total tiyol düzeylerini gösteren kutu-nokta (box-plot) grafığı	57
Şekil 4.3. Çalışma gruplarının disülfit düzeylerini gösteren kutu-nokta (box-plot) grafığı	57
Şekil 4.4. Çalışma gruplarının TAS değerlerini gösteren kutu-nokta (box-plot) grafığı.....	58
Şekil 4.5. Çalışma gruplarının TOS değerlerini gösteren kutu-nokta (box-plot) grafığı.....	59
Şekil 4.6. Çalışma gruplarının OSİ değerlerini gösteren kutu-nokta (box-plot) grafığı.....	59
Şekil 4.7. Çalışma gruplarının PON1 düzeylerini gösteren kutu-nokta(box-plot) grafığı...60	

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Akut böbrek hastalıkları nedenleri	7
Çizelge 2.2. KBH progresyonuna neden olan faktörler	8
Çizelge 2.3. GFH'ya bağlı olarak KBH evreleri	10
Çizelge 2.4. Albüminüri düzeylerine göre KBH sınıflaması	11
Çizelge 2.5. KBH risk faktörleri	13
Çizelge 2.6. Diyabetik nefropati evreleri	14
Çizelge 2.7. KBH'nın klinik bulguları	15
Çizelge 2.8. Biyolojik sıvılarda artmış tiyoredoksin seviyelerinin oksidatif stres	
ile ilişkili patolojik hastalıklarda görülme durumu	21
Çizelge 2.9. GSH'nın organizmadaki fonksiyonları	29
Çizelge 2.10. Reaktif Oksijen Türleri (ROS)	32
Çizelge 2.11. Reaktif Nitrojen Türleri (RNT)	32
Çizelge 2.12. Önemli reaktif oksijen molekülleri ve onların metabolizmaları	34
Çizelge 2.13. Enzimatik antioksidanlar ve fonksiyonları	41
Çizelge 2.14. Enzimatik olmayan antioksidanlar ve fonksiyonları	42
Çizelge 2.15. Ekzojen antioksidanlar ve fonksiyonları	42
Çizelge 3.1. Rutin biyokimyasal ve hemogram parametrelerin ölçüm metotları	47
Çizelge 4.1. Kontrol ve hasta grupların demografik özellikleri	52
Çizelge 4.2. Kontrol ve hasta gruplarındaki biyokimyasal parametrelerin düzeyleri	52
Çizelge 4.3. Kontrol ve hasta grupların tiyol-disülfid ve İMA düzeylerinin	
karşılaştırılması	53
Çizelge 4.4. Çalışma gruplarında ölçülen ve hesaplanan parametreler arasındaki	
korelasyonlar	54
Çizelge 4.5. Hemodiyaliz hastalarında tiyol-disülfid denge parametrelerinin ve İMA	
düzeylerinin karşılaştırılması	55
Çizelge 4.6. Hemodiyaliz hastalarında tiyol-disülfid parametrelerinin albümine göre	
düzeltilmiş sonuçlarının karşılaştırılması	56
Çizelge 4.7. Çalışma gruplarının TAS, TOS, OSİ ve PON1 değerlerinin karşılaştırılması	
.....	58
Çizelge 4.8. Çalışma gruplarındaki ELISA çalışma bulguları	60

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ASK 1	Apoptoz sinyalinini-düzenleyici kinaz 1
ALB	Albümin
ABSU	Absorbans ünitesi
Ca	Kalsiyum
Cl	Klor
CAT	Katalaz
CRP	C-Reaktif Protein
Cys	Sistein
DNA	Deoksiribonükleikasit
DN	Diyabetik Nefropati
DM	Diyabetes Mellitus
DTNB	5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoikasit
DTT	Ditiotreitol
eNOS	Endotelyal nitrik oksit sentaz
ETZ	Elektron transport zinciri
EDTA	Etilendiamin tetra asetikasit
FAD	Flavin Adenin Nükleotit
GSH	Glutatyon
GFH	Glomerüler Filtrasyon Hızı
Grx	Glutaredoksin
GR	Glutatyon Redüktaz
GP	Glutatyon Peroksidaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HD	Hemodiyaliz
HPLC	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
HNE	4- Hidroksinonenal
IMA	İskemi Modifiye Albumin
KBY	Kronik Böbrek Yetmezliği
KBH	Kronik Böbrek Hastalığı
KVH	Kardiyovasküler

K	Potasyum
NADPH	Nikotinamit Adenin Dinükleotit Fosfat
NO	Nitrik Oksit
Na	Sodyum
NaBH ₄	Sodyumborhidrat
NOSs	Nitrik Oksit Sentaz
OSİ	Oksidatif Stres İndeksi
O ₂ ^{•-}	Süperoksit Radikali
OH [•]	Hidroksil Radikali
OD	Optik Dansite
PD	Periton Diyaliz
PUFA	Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
PON1	Paraoksonaz
Prx	Tiyoredoksin peroksidaz
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RRT	Renal Replasman Tedavisi
RSOH	Sülfenik asit
RSO ₂ H	Sülfinik asit
RSO ₃ H	Sülfonik asit
SOD	Süperoksit Dismutaz
SH	Native Tiyol
SS	Disülfit
SH+SS	Total Tiyol
SDBH	Son Dönem Böbrek Hastalığı
SDBY	Son Dönem Böbrek Yetmezliği
TAS	Total Antioksidan Seviye
TOS	Total Oksidan Seviye
Trx	Tiyoredoksin
TrxR	Tiyoredoksin Redüktaz
TGR	Tiyoredoksin Glutasyon Redüktaz
TNF- α	Tümör Nekrosiz Faktör- α

Trx1	Sitozolik tiyoredoksin-1
Trx2	Mitokondriyal tiyoredoksin-2
TNB	5-tiyo-2-nitrobenzoik asit
L•	Lipit radikali
LOO•	Lipit peroksil radikali
LOOH	Lipit hidroperoksil
VKİ	Vücut kitle indeksi
4PL	Four parametrik logistik



ÖZET

Kronik Böbrek Hastalarında Dinamik Tiyol-Disülfid Dengesi ile Tiyoredoksin Redüktaz Enzim Düzeyleri ve Hemodiyaliz Tiyol Dengesi Üzerine Etkisi

Bu çalışmada kronik böbrek hastalığında (KBH) dinamik tiyol-disülfid dengesi ve tiyoredoksin redüktaz enzim (TrxR) düzeylerinin ölçülmesi ve sistemik oksidatif stres ve inflamasyon parametreleri ile karşılaştırarak hastalık patogenezindeki rolünün incelenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca hemodiyaliz işleminin dinamik tiyol-disülfid dengesi üzerine olası etkileri incelenmiştir.

Bu amaçla çalışmaya 30 hemodiyaliz ve 30 KBH (evre 3-5) hastası ile yaş ve cinsiyet olarak eşitlenmiş 30 sağlıklı kontrol çalışmaya dahil edildi. Tüm bireylerden sabah açlık kanları serum ve plazma tüplerine alındı. Örnekler daha sonra 1500 x g'de 10 dk santrifüj edildikten sonra serum ve plazmaları porsiyonlandı ve -80°C saklandı. Plazma örneklerindeki total ve native tiyol testleri Erel ve ark. tarafından geliştirilen kolorimetrik yöntemle çalışıldı. Disülfid düzeyleri hesaplandı. Serum örneklerinde, BUN, kreatinin, albümin, total antioksidan seviye (TAS) ve total oksidan seviye (TOS) ile paraksonaz (PON1) aktivite düzeyleri spektrofotometrik yöntemle otoanalizörde ölçüldü. C-reaktif protein (CRP) düzeyleri nefelometrik yöntemle çalışıldı. İskemi modifiye albümin düzeyi (İMA) kobalt bağlama yöntemi ile spektrofotometrik olarak, Tümör nekrozu faktörü (TNF- α) ve tiyoredoksin redüktaz (TrxR) enzim düzeyleri ise ELİSA yöntemi ile çalışıldı. Elde edilen veriler istatistiksel olarak analiz edildi ve tartışıldı.

Çalışma sonucunda KBH (evre 3-5) ve hemodiyaliz hasta gruplarında native ve total tiyol düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu (her ikisi için $p=0.001$). Buna karşın hesaplanan disülfid düzeyleri hemodiyaliz grubunda anlamlı derecede yüksek iken ($p=0.001$) kontrol ve KBH (evre 3-5) arasında anlamlı fark yoktu ($p=0.547$). Native tiyol ve total tiyol düzeyleri ile İMA ($r=-0.628$; -0.631), BUN ($r=-0.747$; -0.747) ve Kreatinin ($r=-0.732$; -0.721) arasında anlamlı ve negatif yönde yüksek bir korelasyon saptandı. GFH ile ise anlamlı ve pozitif yönde yüksek bir korelasyon saptandı ($r=0.835$; 0.824). Hasta gruplarında serum TrxR düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.001$). TNF- α ve CRP düzeyleri hasta gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.001$). Ayrıca hemodiyaliz işlemi öncesi ve sonrası örneklerde tiyol grupları karşılaştırıldı. Diyaliz giriş örneklerinde albümin ile düzeltme yapılmadan bakıldığında total ve native tiyol düzeyleri çıkış örneklerine göre anlamlı derecede düşük iken ($p=0.001$, $p=0.002$), ancak albümin ile düzeltildikten sonra iki grup arasındaki fark anlamlı değildi. Disülfid düzeyleri ise albümin ile düzeltikten sonra çıkış grubunda anlamlı olarak daha düşüktü ($p=0.152$).

Sonuç olarak dinamik tiyol düzeylerinin kolorimetrik ölçümü rutin klinik biyokimya laboratuvarlarında kolayca uygulanabilir olması ve KBH hastalarında hastalık şiddeti ile ilişkisi nedeniyle bir belirteç olarak hastalığın tanısına ve takibine katkı sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Dinamik tiyol –disülfid dengesi, Tiyoredoksin redüktaz, Kronik böbrek hastalığı, Hemodiyaliz

ABSTRACT

Dynamic Thiol-Disulphide Balance and Thioredoxin Reductase Enzyme Levels in Patients with Chronic Kidney Disease and The Effect of Hemodialysis on Thiol Balance

In this study, it was aimed to measure the dynamic thiol-disulfide balance and thioredoxin reductase (TrxR) enzyme levels in patients with chronic kidney disease (CKD) and to investigate their roles in disease pathogenesis by comparing with systemic oxidative stress and inflammation parameters. In addition, the possible effects of hemodialysis on dynamic thiol-disulfide balance were investigated.

For this purpose, 30 hemodialysis, 30 CKD patients (stage 3-5) with age and sex matched 30 healthy controls were included in the study. Fasting blood samples of the patients and healthy controls were taken into serum and plasma tubes. After centrifugation at 1500 g for 10 min, serum and plasma samples were portioned and stored at -80°C . Total and native thiol tests in plasma samples were determined by the colorimetric method developed by Erel et al. Disulfide levels were calculated. Serum samples, blood urea nitrogen (BUN), creatinine, albumin, total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS) and activity levels of paraxonase (PON1) were measured spectrophotometrically in the autoanalyser. C-reactive protein (CRP) levels were studied by nephelometric method. Ischemia modified albumin (IMA) level was measured spectrophotometrically by cobalt binding method, Tumor necrosis factor (TNF- α) and TrxR enzyme levels were determined by ELISA method. The obtained data were analyzed and discussed statistically.

At the end of the study, native and total thiol levels of CKD (stage 3-5) and hemodialysis patients were significantly lower than that of the control group ($p = 0.001$ for both). However, the calculated disulfide levels were significantly high the hemodialysis group ($p = 0.001$), but there was no considerable difference between control and CKD groups (stage 3-5) ($p = 0.547$). A notable and negatively high correlation was found between the native thiol and total thiol levels and IMA ($r = -0.628$; -0.631), BUN ($r = -0.747$; -0.747) and creatinine ($r = -0.732$; -0.721).

There was a significant and positive correlation between glomerular filtration rate (GFR) and the native and total thiol levels ($r = 0.835$; 0.824). Serum TrxR levels were significantly higher in the patient groups compared to the control group ($p = 0.001$). TNF- α and CRP levels of the patient groups were significantly higher compared to the control group ($p = 0.001$). Thiol groups of the samples were also compared before and after hemodialysis. The total and native thiol levels were significantly lower in the samples before dialysis treatment compared to the samples after dialysis ($p = 0.001$, $p = 0.002$), but the difference between the two groups after albumin correction was not significant. Disulfide levels were significantly lower the group after dialysis correction with albumin ($p = 0.152$).

In conclusion, colorimetric measurement of dynamic thiol levels may contribute to the diagnosis and the disease follow up as a marker because it is easily applicable in routine clinical biochemistry laboratories and is associated with disease severity in CKD patients.

Keywords: Dynamic thiol-disulfide balance, Thioredoxin reductase, Chronic kidney disease, Hemodialysis

1. GİRİŞ

Son Dönem Böbrek Hastalığı (SDBH), farklı hastalıklara bağlı olarak nefronların ilerleyen ve geri dönüşümsüz kaybı sonucunda böbreğin sıvı-solüt dengesini ayarlama ve metabolik endokrin fonksiyonlarındaki kronik azalma ile karakterize bir sendromdur (İliçin G. Biberoglu K 1996, Boger 2003). Hemodiyaliz hastalarında mortalite riski genel popülasyon ile karşılaştırıldığında 10-20 kat daha yüksektir (Sugimoto ve Yamaoka 2011). Bu hastalarda birçok molekül (üremik toksinler) vücutta birikerek üremik semptomlara ve artmış mortaliteye katkıda bulunmaktadır. Artan üremik toksinler birçok dokuda oksidatif stres artışına yol açmaktadır. Oksidatif stres artışı lipit, protein ve nükleik asitler gibi makro moleküller üzerinde olumsuz etkilere sebep olmaktadır.

Hemodiyaliz hastalarında serbest radikallerin aşırı üretimi ve antioksidan sistemdeki yetersizlik nedeniyle oksidatif dengenin bozulduğu iyi bilinmekte olup diyaliz hastalarındaki oksidatif stres düzeyini ortaya koyan birçok çalışma mevcuttur (Putri ve Thaha 2014, Modaresi ve ark 2015, Liakopoulos ve ark 2017). Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı enzimatik ve non-enzimatik savunma mekanizmaları vardır. Bu antioksidan mekanizmalardan biri de tiyol içeren bileşiklerin varlığıdır. Tiyoller, sülfidril grubu içeren (-SH) bileşikler olup merkaptan olarak da adlandırılmaktadırlar (Sen ve Packer 2000). Organizmada bulunan başlıca tiyoller; sistein, sisteinglisin, glutatyon, homosistein ve γ -glutamilsisteindir. Sülfidril grubu içeren bu bileşiklerin hücrelerde oksidatif stresin önlenmesinde önemli rol oynadıkları bilinmektedir.

Serbest radikallerin primer hedefi proteinler içerisinde bulunan ve sülfür içeren aminoasitlerdeki tiyol gruplarıdır. Bu tiyol grupları serbest radikaller ile etkileşime girerek geri dönüşümlü (reversible) disülfid bağlarını oluştururlar. Oluşan bu disülfid bağları daha sonra bir dizi antioksidan tarafından tekrar tiyol gruplarına indirgenir. Böylece dinamik tiyol- disülfid dengesi sağlanmış olur (Ates ve ark 2016). Literatürde dinamik tiyol-disülfid dengesinin antioksidan koruma, enzimatik aktivitelerin regülasyonu, detoksifikasyon, transkripsiyon faktörleri, sinyal iletimi ve apoptozize yol açmada önemli rol oynadığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Biswas ve ark 2006, Circu ve Aw 2010). Yapılan diğer çalışmalarda anormal tiyol-disülfid dengesinin diyabet (Matteucci ve Giampietro 2010) , kardiyovasküler hastalıklar (Go ve Jones 2011), kanser (Prabhu ve ark 2014), ve AIDS

(Sbrana ve ark 2004) gibi hastalıkların patogenezi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. KBH olan hastalar ile alakalı ise literatürde tiyoller ile ilişkili çalışmalar mevcut ancak dinamik tiyol-disülfid dengesi ile hemodiyaliz tiyoredoksin redüktaz enzim düzeyleri üzerine etkisini birlikte gösteren çalışma mevcut değildir.

Dinamik tiyol-disülfid dengesi organizma içerisinde önemli bir role sahip olup bu dengenin korunması önemlidir (Otal ve ark 2018). Anormal tiyol disülfid dengesinin birçok hastalığın patogenezi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Tiyol disülfid dengesi 1979'dan bu yana sadece bir yönde ölçülmüş, ancak Erel ve Neşelioğlu tarafından geliştirilen yeni otomatik yöntemle her iki değişkenin seviyesi ayrı ayrı ve toplu olarak ölçülebilmektedir (Erel ve Neselioglu 2014).

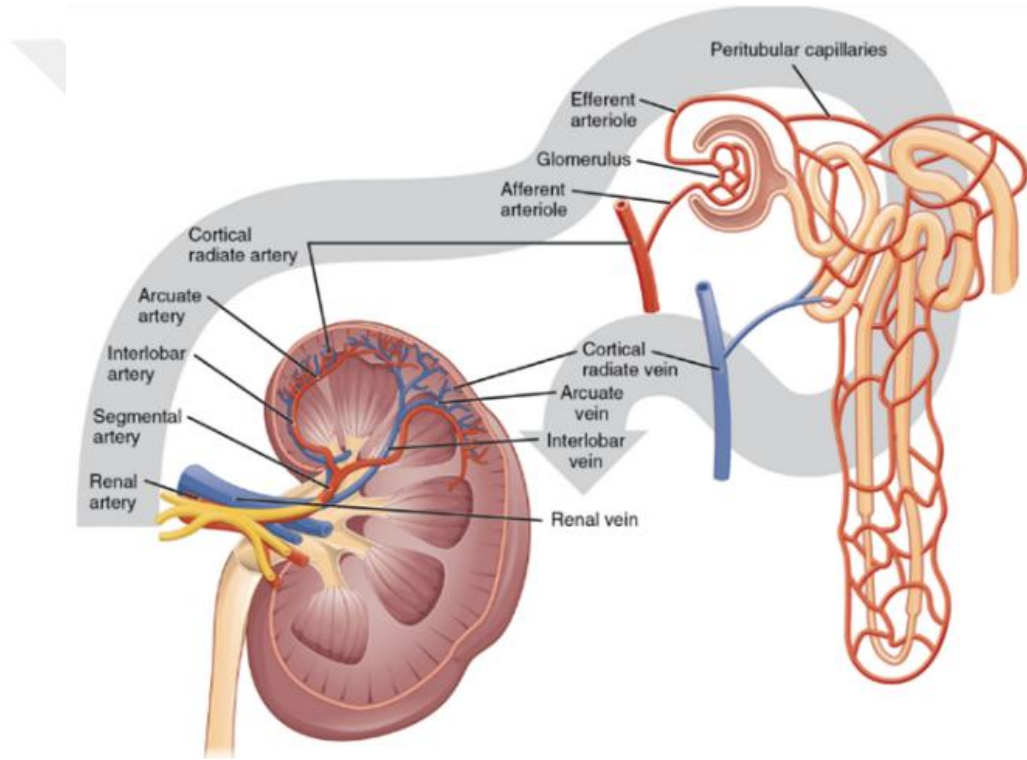
Tiyoredoksin redüktaz (TrxR) tiyoredoksinlerin katalizinden sorumlu homodimerik bir flavoenzimdir (Williams ve ark 2000, Zagrodzki 2002). TrxR aynı zamanda indirgenmiş hücre içi redoks ortamı, hücre büyümesi ve apoptozisin kontrol edilmesinde hayati bir öneme sahiptir (Arner ve Holmgren 2006). Bundan dolayı, TrxR kronik hastalıklarda patofizyolojik bir rol oynamaktadır (Mustacich ve Powis 2000). Tiyoredoksinlerin sülfidril grupları, farklı fonksiyonlara sahip çeşitli biyokimyasal mekanizmalarda ve oksidatif stress sonucunda inaktif olmuş proteinlerin yeniden üretilmesinde hücrel regülasyona sahiptir (Holmgren 1989, Gromer ve Gross 2002). Şu ana kadar yapılan çalışmalar insan TrxR sisteminin oksidatif stress içindeki önemini vurgulamaktadır (Honegger ve ark 2009, Simons ve ark 2009).

Bu tez çalışmasında, KBH (evre 3-5)'lı hastalar ile hemodiyaliz hastalarında dinamik tiyol-disülfid dengesi, sistemik oksidatif stress parametreleri ve bu dengede önemli fonksiyonu olduğu bilinen TrxR enzim düzeylerini ölçmeyi ve sağlıklı kontrollerle karşılaştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Böbrek Anatomisi

Böbrekler insan vücudunda önemli işlevleri olan organlardır. Böbrekler, kandan atık maddeleri ve fazla suyu idrar ile uzaklaştırır ve sodyum, potasyum ve kalsiyum gibi elektrolitlerin tutulmasına yardımcı olarak vücut içerisindeki elektrolit dengesini sağlar.



Şekil 2.1. Böbreğin anatomik yapısı

Böbrekler, kas, yağ ve kaburga ile korunan, parietal periton ile posterior karın duvarı arasındaki retroperitoneal alanda omurganın her iki tarafında bulunan fasulye biçiminde bir organdır (Şekil 2.1.) Sol böbrek, T12 ila L3 omurları civarında bulunurken sağ böbrek karaciğere yakın olmasından dolayı biraz daha aşağıda bulunur. Böbrekler yağ dokusu tarafından desteklendiklerinden dolayı böbreklerin sıcak ve soğuk havaya karşı korunmaları

yağ dokusu tarafından sağlanmaktadır. Her bir böbrek ağırlığı erkeklerde kadınlara göre biraz daha büyük olup yaklaşık olarak 125-175 g ağırlığındadır. Kadınlarda ise 115-155 g'dır. Böbrekler, yaklaşık olarak 11-14 cm uzunluğunda 6 cm genişliğinde ve 4 cm kalınlığında olup fibröz kapsül ile kaplıdır. İyi vaskülarize böbrekler, istirahat halindeki kalp debisinin % 25 ini alırlar. Böbreklerden bir kesit alınıp incelendiğinde böbreğin üç farklı yapıdan meydana geldiği görülür. Bu yapılar; korteks renalis, medulla renalis ve sinüs renalisdir (Arıncı ve Elhan 1995).

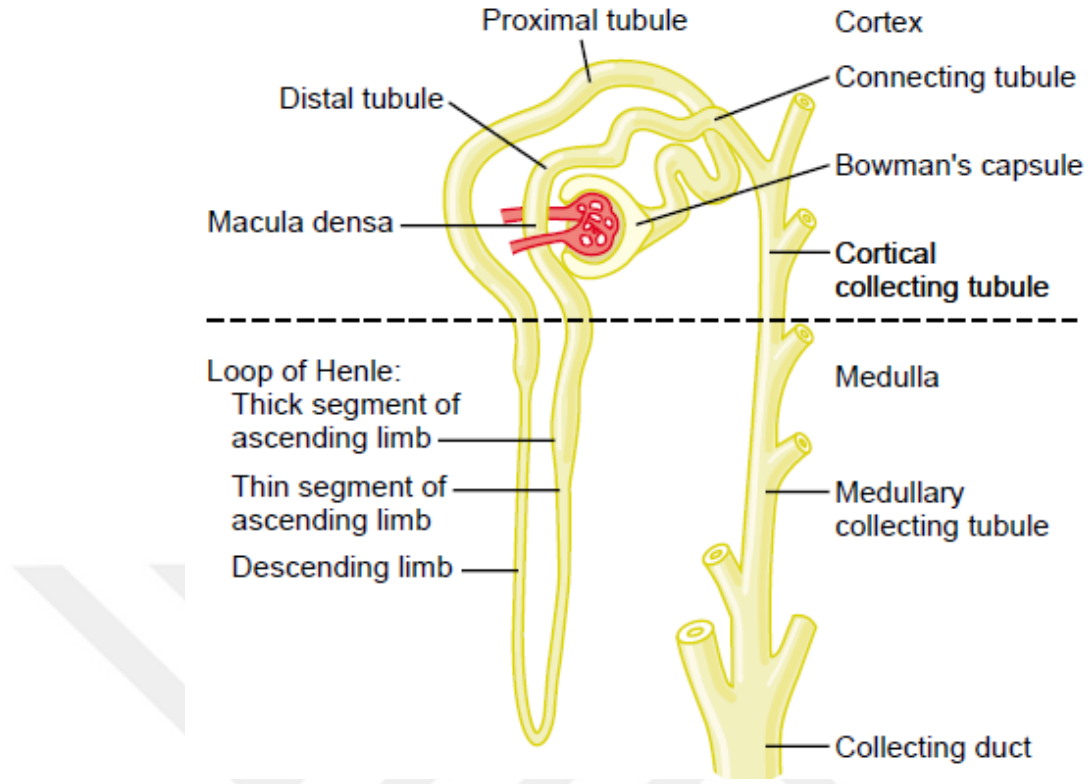
Korteks Renalis: Süzme işlemini gerçekleştiren yapılar ihtiva eden böbreğin açık kırmızı renkli dış kısmına verilen isimdir. Fibröz kapsül altında yer alır ve kaynağını nefrojen dokudan alır.

Medulla Renalis: Toplayıcı kanallardan oluşan böbreğin koyu (kahverengi-kırmızı) renkli iç kısmına verilen isimdir.

Sinüs Renalis: Böbreğin orta kısmında yer alan boşluğa verilen isimdir.

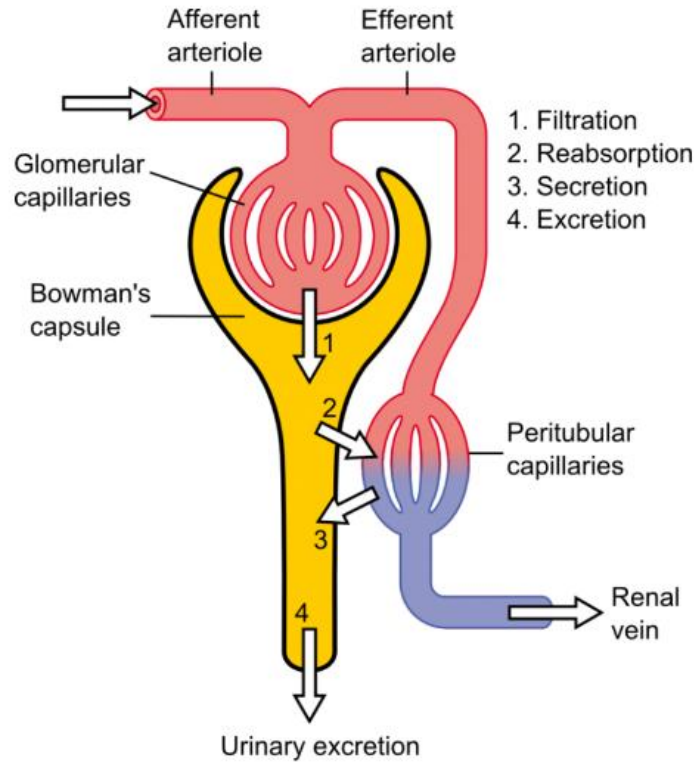
Böbreğin fonksiyon gören parçası nefron olup 6 kısımdan oluşmaktadır.

1. Glomerül
2. Proksimal tübül
3. Henle kulpu
4. Distal tübül
5. Konnektör segment
6. Toplayıcı tübül



Şekil 2.2. Nefronun temel bölümleri (Guyton ve Hall 2006)

Glomerulus, yüksek hidrostatik basınca sahip (yaklaşık 60 mm Hg) glomerulus kılcallarından meydana gelmektedir. Glomerulus kılcalları epitel hücreler tarafından çevrilmiş ve Bowman kapsülü içerisine hapsolünmüştür. Glomerulus kılcallarından filtre edilen sıvı Bowman kapsülü içine akmakta ve sonrasında böbrek korteksinde bulunan proksimal tübül içinde devam etmektedir. Proksimal tübül içinde devam eden sıvı inen ve çıkan olmak üzere iki koldan oluşan ve renal medulla içerisinde bulunan henle kulpu içine akar. Daha sonra buradan renal korteks içerisinde uzanan distal tübüle giriş yaparak toplayıcı tübül ve kortikal toplayıcı tübül içinde devam eder. Atık maddelerden temizlenmiş kan nefronlar aracılığı ile tekrardan dolaşıma verilir. Afferent ve efferent arterioller, böbreğin glomerulusuna giren ve çıkan kandan sorumlu olan ana arterlerdir. Renal arterin bir parçası olan afferent arteriöl nitroz atıklarla yüklü kanı glomerüllere getirir ve filtrasyon sonrası efferent bir arteriöl ile kanı dolaşım sistemine tekrar taşır. Afferent ve efferent arterioller arasındaki temel fark, afferent arteriollerin başta üre olmak üzere nitroz atıklarla yüklü olan kanı glomerulusa getirmesi, efferent arteriollerin ise filtrasyon sonrası temizlenmiş kanı dolaşıma tekrar vermesidir (Şekil 2.3.)



Şekil 2.3. Afarent ve eferent arterioller

2.2. Böbrek Fizyolojisi

Böbrekler insan vücudunda çok önemli işlevlere sahip olan organımızdır. Özellikle vücudumuzdaki atık maddelerin temizlenmesinde ve bu atık maddelerin vücudumuzdan uzaklaştırılmasında hayati rol oynamaktadır. Vücudumuzdaki atık maddelerin temizlenmesinde nefron adı verilen birimler görev almaktadır. Her bir böbrek yaklaşık olarak 800.000 ila 1.200.000 arasında nefrona sahiptir. Her nefron, ilk toplama tübülünün başka bir tübül ile birleştiği noktaya kadar bağımsız bir fonksiyonel ünedir. Nefron, bir glomerulus ve bir tübülden oluşmaktadır (Boron ve Boulpaep 2012). Böbreklerin vücudumuzdaki başlıca görevleri aşağıdaki gibidir;

- 1) Arter kan basıncının düzenlenmesi
- 2) Su ve elektrolit dengesininin düzenlenmesi
- 3) Metabolik atık ürünler ve yabancı maddelerin atılımı
- 4) Kırmızı kan hücresi üretiminin düzenlenmesi
- 5) Vitamin D üretiminin düzenlenmesi
- 6) Glikoneojenez
- 7) Asit ve baz dengesinin düzenlenmesi

Böbrekler, bu fonksiyonları nefronların ve toplama tübüllerinin çalışmasıyla gerçekleştirebilirler.

2.3. Böbrek Hastalıkları

Böbrek hastalıkları gelişen ve özellikle gelişmekte olan ülkelerde son zamanlarda gittikçe artan bir halk sağlığı problemi olmaya devam etmektedir. Özellikle beslenmeye bağlı olarak sekonder gelişen diyabet melitus, kardiyovasküler hastalıklar vb. ile birlikte böbrek fonksiyonları giderek bozulmakta ve böbrek hastalıkları ortaya çıkmaktadır. Böbrek hastalıkları akut ve kronik olmak üzere iki kısımdan meydana gelmektedir.

2.3.1. Akut Böbrek Hastalıkları

Akut böbrek hastalıklarına yol açan nedenler genel olarak pre-renal, renal ve post-renal olarak incelenmektedir. Pre-renal nedenler akut böbrek hastalıklarının en önemli kısmını oluşturmaktadır. Bu nedenler çoğunlukla b breğin yeterli miktarda kanlanması olmadığı durumlardır. Renal nedenler ise böbrek dokusunun glomerülonefrit, nefrotoksinler, damar iltihaplanması vb. nedenlerle hasara uğraması sonucunda meydana gelmektedir. Post-renal nedenler pre-renal nedenlere göre daha az görülmekte olup böbrek taşları, prostat hipertrofisi, vb. nedenler yer almaktadır. Aşağıdaki tabloda akut böbrek yetmezliğine neden olan sebepler Çizelge 2.1. de görülmektedir (Makris ve Spanou 2016).

Çizelge 2.1. Akut böbrek hastalıkları nedenleri

Pre-renal	Renal	Post-renal
Hipovolemi	Renal iskemi	Prostat hipertrofisi
Bozulmuş kardiyak fonksiyon	Glomerülonefrit	Nefrolitiazis
Sistemik vazodilatasyon	Enfeksiyonlar	
Artmış vasküler direnç	Vasküler	

2.3.2. Kronik Böbrek Hastalıkları

Kronik böbrek hastalıklarına sahip hasta sayısı hem ülkemizde hemde dünya genelinde her geçen gün artmaktadır (Atkins 2005). Kronik böbrek hastalığı (KBH)'nın en sık görülme nedenleri diyabet ve hipertansiyon olarak gösterilmektedir. KBH'nın görülme

nedenlerinde etkili olan başlatıcı ve KBH progresyonuna neden olan faktörler aşağıda Çizelge 2.2. de gösterilmiştir (Parmar 2002).

Çizelge 2.2. KBH progresyonuna neden olan faktörler

Başlatıcı faktörler	Progresyonda etkili faktörler
Diyabetik-Nefropati	Kalıcı proteinüri
Hipertansiyon-Nefroskleroz	Artmış kan basıncı
Kronik glomerülonefrit	Artmış kan glikozu
Kistik böbrek hastalıkları	Yüksek protein/fosfat diyet
Kronik interstisiyel nefrit	Hiperlipidemi
Diğer nedenler	Hiperfosfatemi

2.4. Oksidatif Stres ve Kronik Böbrek Hastalığı

Oksidatif stress, reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi ve antioksidan savunma sistemleri arasındaki biyokimyasal düzensizlik olarak tanımlanmaktadır ve birçok hastalığın önemli bir biyokimyasal belirteçidir (Signorini ve ark 2017). Hemodiyaliz hastalarında erken dönemde ortaya çıkan oksidan ve antioksidan durumdaki değişiklikler hemodiyaliz ile daha da şiddetlenebilir (Modaresi ve ark 2015). Diyaliz aracılığıyla antioksidan maddelerin uzaklaştırılması, diyalizat içerisindeki eser miktarda izotoksinlerin NADPH oksidaz aktivasyonunu ve ROS'un aşırı üretimini tetikleyen hemodiyaliz, hastaların pro-oksidan durumundan sorumlu olası faktörler olabilmektedir (Canaud ve ark 1999). Hemodiyaliz hastalarının daha ileri düzeye ilerlemesi ROS'daki aşırı artışla ilişkilidir. Bu durumun uzun süreli devamı, ateroskleroz, amiloidoz, anemi ve malnütrisyonu hızlandırabilir. Çeşitli çalışmalarda, diyabetes mellitus, ileri yaş, hipertansiyon ve hipoalbuminemi hemodiyaliz hastalarında iskemik kalp hastalığının belirleyicileri olarak ortaya çıkmıştır, ancak kardiyovasküler morbidite ve mortalite prevalansı bu popülasyonlarda klasik kardiyak risk faktörleri ile yeterince açıklanamamıştır. Bu yüzden, oksidatif stres endotel disfonksiyonu ve hiperhomosisteinemi gibi diğer bazı etiyolojilerin bu durumların zararlı etkilerine katkıda bulunması mümkündür. Biyolojik olarak uyumlu membran, ultra saf diyalizat ve antioksidan vitaminlerin kullanımı ve ROS ile oksidatif olarak değiştirilmiş maddelerin ekstrakorporeal olarak çıkarılması, bu hastalarda uzun süreli komplikasyonların önlenmesinde yararlı olabilir. Hemodiyaliz

hastalarında fagosit sisteminin aktivasyonu, lökosit DNA'larına zarar verebilen ROS oluşumuna katkıda bulunur (Tarnag ve ark 2000).

Hemodiyaliz süresi, malondialdehit (MDA) düzeyindeki artışla kanıtlanan oksidatif bozukluğu etkileyebilmektedir. Uzun süreli hemodiyaliz dönemlerinde total sülfidril düzeylerinin ve süper oksit dismutaz (SOD) aktivitesinin önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir (Koca ve ark 2010, Modaresi ve ark 2015).

Oksidatif stress ve hücrel fonksiyonlardaki değişiklikler SDBH'nın önemli nedenlerinden biri olan diyabetik nefropatinin gelişmesinde ve ilerlemesinde önemli rol oynamaktadır. Bunun yanında, inflamasyon sonucunda artan oksidatif stres hemodiyaliz hastalarında kardiyovasküler hastalıkların oluşmasına neden olmaktadır (Modaresi ve ark 2015).

2.4.1. KBH Tanımı ve Sınıflaması

KBH ülkemizde ve dünya genelinde oldukça yaygın olan ve prevalansı gittikçe artan bir halk sağlığı problemidir (James ve ark 2010). KBH, üç ay veya daha fazla süre glomerüler filtrasyon hızının (GFH) $60 \text{ mL/dk/1.73 m}^2$ 'den düşük olması veya böbrek yapı ve fonksiyonlarında meydana gelen hasar olarak tanımlanmaktadır (Inker ve Levey 2013). KBH, 2012 yılında yayınlanan Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) tarafından GFH'larına göre 5 evrede sınıflandırılmış ve evre 3 kendi arasında iki alt gruba ayrılmış olup, son evre olarak tanımlanan evre 5 ise son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) olarak tanımlanmıştır (Çizelge 2.3.) (Inker ve Levey 2013). Albüminüri ise böbrek glomerüler filtrasyon bariyerindeki fonksiyon bozukluğunun (glomerüler hasar) bir göstergesidir. GFH ile birlikte her ikisinin de uzun dönem KBH izleminde güvenilir belirteçler olduğu bilinmektedir (Romagnani ve ark 2017). Albuminüri seviyelerine göre KBH sınıflaması Çizelge 2.4. de gösterilmiştir (Inker ve Levey 2013). Böbrek fonksiyonlarında meydana gelen bozukluk ortaya çıkan birtakım değişikliklerle gözlemlenebilmektedir. Böbrek fonksiyon bozukluğu hipertansiyon, ödem, idrar çıkışında ve kalitesinde değişiklik ve çocuklarda büyüme geriliği olarak kendini gösterebilir. Bu değişiklikler çoğu zaman serum kreatinin, sistain C veya kan üre nitrojen (BUN)

seviyelerindeki artış ile tanımlanır. KBH'nın hastalıktan bağımsız olarak en yaygın patolojik göstergesi bir tür renal fibrözür (Romagnani ve ark 2017).

Çizelge 2.3. GFH'ya bağlı olarak KBH evreleri

Evre	Tanım	GFH (ml/dk/1,73 m ²)
1	Normal veya yüksek GFH	≥ 90
2	Hafif azalmış GFH	60-89
3a	Hafif- orta azalmış GFH	45-59
3b	Orta –ciddi azalmış GFH	30-44
4	Şiddetli azalmış GFH	15-29
5	Böbrek yetmezliği	<15

GFH: Glomerüler Filtrasyon Hızı

Böbrek hastalıklarının önemli bir göstergesi idrarla atılan protein miktarının artmasıdır. Proteinüri böbrek hastalıklarında güçlü bir tahmin edici olup proteinüri değerlendirmesinin doğru yapılması KBH hastalığının değerlendirilmesi ve yönetilmesi açısından önemlidir (Viswanathan ve Upadhyay 2011). İdrar başlıca plazma ve non-plazma protein olmak üzere iki grup proteinden oluşmaktadır. Albümin başlıca plazma proteindir ve çoğu proteinürik böbrek hastalıklarında baskın idrar proteindir. Uromodulin veya Tamm-Horsfall protein ise önemli nonplazma proteindir. Normal bireyler genellikle çok küçük miktarda proteini idrar ile atarlar. Günde > 150 mg protein veya 30 g albüminin devamlı olarak atılımı böbrek hasarı olarak nitelendirilir (Viswanathan ve Upadhyay 2011).

Proteinüri ölçüm metotları

Dipstik, precipitation ve elektroforez metodu klinik pratikte en yaygın kullanılan total idrar protein ölçüm metotlarıdır.

1. Dipstik metot

Dipstik yöntemi, proteinüri değerlendirmesi için kullanılan en yaygın yöntemdir ve negatif yüklü idrar proteinlerinin varlığında renk değiştiren pH'ya duyarlı bir boya ile emdirilmiş bir kağıt veya plastik şerit kullanır. Renk değişiminin derecesi proteinüri derecesine tekabül eder, beraberindeki ölçek 0 ila 3 veya > 4 arasında bir konsantrasyon sağlar. Tetrabromofenol mavisi için, yaygın olarak kullanılan bir pH'ya duyarlı boya

kullanılır, sarı renk düşük protein konsantrasyonu, mavi renk ise yüksek protein konsantrasyonu anlamına gelir. Çubukların kullanımı uygun olsa da, proteinüri tespiti için çok hassas değildirler (Allen ve ark 1991).

2. Precipitation metot

Precipitation yönteminde, idrara asit eklenir ve proteinüri, bir fotometre veya nefelometre kullanılarak protein çöktürmesinin neden olduğu bulanıklık ölçümü ve standart ile karşılaştırılarak ölçülür (Henry ve ark 1956).

3. Elektroforez metot

Elektroforez yöntemi öncelikle idrarda immünoglobülin ve immünoglobülin hafif zincirlerinin varlığını tespit etmek için kullanılır. İdrar elektroforezi, monoklonal pik gösterir ve immünoelektroforez, spesifik proteini çok yüksek hassasiyetle tanımlar (Roden ve ark 2008).

Çizelge 2.4. Albüminüri düzeylerine göre KBH sınıflaması

Kategori	AER (mg/ 24 h)	ACR (mg/mmol)	ACR (mg/g)	Terim
A1 (Normalbüminüri)	<30	<3	<30	Normal-hafif artmış
A2 (Mikroalbüminüri)	30-300	3-30	30-300	Orta şiddette artmış
A3 (Makroalbüminüri)	>300	>30	>300	Şiddetli artmış

AER: Albümin ekskresyon oranı, ACR: Albümin/ kreatin oranı

2.4.2. KBH Epidemiyolojisi

Dünyadaki hastalık profili gün geçtikçe değişmekte ve bu değişime bağlı olarak son dönemde kronik hastalıkların yol açtığı hastalık ve ölüm oranları her geçen gün artmaya devam etmektedir. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde yaygın olarak görülen diyabet ve hipertansiyon varlığı KBH'ya yol açan en önemli sebeplerden biri olarak gösterilmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde diyabet artış hızı ve buna bağlı olarak sekonder gelişen KBH 'nın kontrol edilmesinde ekonomik olarak bir hayli yüksek maliyet ortaya çıkmaktadır (Atkins

2005). 2011 yılında ülkemizde yapılan CREDIT çalışma sonuçlarına göre ülkemizde KBH (evre 3-5) prevalansı %15.7 olarak belirlenmiş olup kadınlarda görülme sıklığı %18.4 erkeklere oranla %12.8 daha yaygın bulunmuştur. Bunun yanında, KBH (evre 3-5) görülme sıklığının yaş ile ilişkisi incelenmiş ve artan yaş ile görülme sıklığında artış tespit edilmiştir. Özellikle 60 yaş ve üzeri hasta grupta görülme sıklığı %38.3 bulunurken 60 yaş altı grupta bu oran %11.5 olarak tespit edilmiştir. Bölgelere göre değerlendirildiğinde en yüksek Marmara bölgesinde %19.7 en düşük ise Akdeniz bölgesinde %11.7 görüldüğü bildirilmiştir (Suleymanlar ve ark 2011).

2.4.3. KBH Etiyolojisi ve Risk Faktörleri

KBH'nın şiddetinin GFH ve albüminüri ile sınıflandırılması yararlı olmasına rağmen, KBH'nın risk faktörlerini veya altta yatan nedenlerini tanımlamak, optimal yönetim için önemlidir ve mevcut kılavuzlar tarafından önerilmektedir (Romagnani ve ark 2017). KBH 65 yaş üstündeki kişilerde daha yaygın görülür, ancak SDBY'ye ilerleme olasılığı KBH'lı olan genç insanlarda daha yüksektir (Hill ve ark 2016). Bunun yanında, KBH'nın kadınlarda görülme sıklığı erkeklere oranla daha fazla olmasına rağmen, erkeklerin SDBY'ye ilerlemesi daha olasıdır. KBH ile ilişkili özellikle yüksek gelirli ve orta gelirli ülkelerde en yaygın altta yatan hastalıklar diyabet ve hipertansiyondur. Diyabetli hastalarda KBH yaygınlığı % 30-40 olarak tahmin edilmektedir. Bu bireylerde KBH'nın diyabetin kendisinden mi kaynaklı yoksa diyabetin bir sonucu olarak ortaya çıkan mikrovasküler rahatsızlıktan mı kaynaklanıp kaynaklanmadığı ise bilinmemektedir (Romagnani ve ark 2017). KBH'ya neden olan risk faktörleri Çizelge 2.5. de gösterilmiştir (Romagnani ve ark 2017).

Çizelge 2.5. KBH risk faktörleri

- ❖ Monojenik böbrek hastalıkları
 - ❖ Konjenital bozukluklar
 - ❖ Tip 1 ve Tip 2 Diyabet Melitus
 - ❖ Obezite
 - ❖ Kötü kontrollü arteriyel hipertansiyon
 - ❖ Nefrotoksinlere uzun süreli maruz kalma
 - ❖ İklim
 - ❖ Kronik inflamasyon ve enfeksiyonlar
 - ❖ Malignensi (habis tümör)
 - ❖ Akut böbrek hasarı bölümleri
 - ❖ Doğumda düşük nefron sayısına sahip olma
 - ❖ Obstrüktif üropati
-

2.4.4. KBH Patogenezi

Yukarıda tanımlanan hastalıklara bağlı olarak böbrek fonksiyonlarında işlevsel azalış ve sonuç olarak fonksiyon kaybı görülmektedir. Bu hastalıklardan en yaygın olanları diyabet ve hipertansiyon olup KBH'nın en yaygın görülme nedenleridir. Diyabetin türk toplumu içindeki genel prevalansı %12,7 olup yeme alışkanlıkları, sedenter bir hayat tarzı ve giderek artan şehirleşme bu artışa gün geçtikçe katkıda bulunmaktadır (Suleymanlar ve ark 2011).

Diyabet, böbrek mikrovaskülaritesinin bozulmasına yol açar ve glomerüler kılcal damarlar ve tübüler interstisyum seviyesinde progresif hasar görülür. Diyabetin ciddi ve korkulan bir mikrovasküler komplikasyonu olan diyabetik nefropati (DN), kalıcı albuminüri ve GFH'da devam eden ilerleyici düşüş ile karakterize olup KBH'nın önde gelen nedeni olarak gösterilmektedir.

DN, GFH ve idrar albümin ekskresyonuna dayanan beş tanımlanmış aşamaya sahiptir ve Çizelge 2.6. de bu aşamalar gösterilmiştir (Hovind ve ark 2001, K.Sagoo ve Gnudi 2018).

Çizelge 2.6. Diyabetik nefropati evreleri

Diyabetik nefropati evreleri	Tanım
Glomüler hiperfiltrasyon	Erken hiperfonksiyon ve hipertrofi.
Sessiz Evre	Klinik hastalığı olmayan glomerüler lezyonlar.
Mikroalbuminüri ile gelişen nefropati	İdrar albümin atılımı 30-300 mg / gün.
Aşırı nefropati	İdrar albümin atılımı > 300 mg / gün.
Son dönem böbrek hastalığı	Böbrek fonksiyonunda büyük kayıp, diyaliz gereksinimi

Hipertansiyon, Türkiye'de de oldukça yaygın olup KBH'nın ikinci büyük sebebidir. Dört yıllık çalışma sonucunda, Türkiye'de hipertansiyon prevalans oranının % 30.8 olduğu ve 65 yaş üstü bireyler için % 43.4'e ulaştığı gösterilmiştir (Arıcı ve ark 2010). KBH ve hipertansiyon birbiriyle örtüşen bir sebep-sonuç ilişkisiyle yakından ilişkilidir. Böbrek fonksiyonunda meydana gelen azalma tipik olarak kan basıncındaki artışla ilişkilidir ve kan basıncında meydana gelen sürekli artışlar böbrek fonksiyonlarındaki azalışı hızlandırır (Judd ve Calhoun 2015).

2.4.5. KBH Tanısı ve Klinik Bulguları

Böbrek hastalığına sahip olan hastalar, ödem (nefritik veya nefrotik sendrom) gibi semptomlarla ve idrarda meydana gelen değişikliklerle birlikte görünse de, histolojik ve fonksiyonel renal dekompanseasyon semptom eksikliği nedeniyle sıklıkla teşhis edilemezler. Uzun bir süre boyunca böbrek fonksiyonunun azalması, sonuçta, böbrek yetmezliğinin hatta SDBY'nin semptomatik evresine yol açabilir. Asemptomatik bir hastada böbrek hastalığının varlığının tek göstergesi, idrarda saptanan, mikroalbuminüri ve proteinüri hücreleri gibi idrar anormallikleri olsun ya da olmasın, artmış kan basıncı olabilir. KBH tanısı sıklıkla (i) mikroalbuminüri (en erken anormallik) veya (ii) idrar dipstik testindeki proteinüri ile birlikte, böbrek fonksiyonunda anlamlı bir azalmanın saptanmasından önce bile eşlik eder.

KBH sadece anemi veya kemik mineral bozukluğu gibi bir komplikasyon ile ortaya çıktığında teşhis edilebilir. Bu komplikasyonlar ise genellikle böbrek çalışma fonksiyonun gittikçe azaldığı evre 4 ve 5 hasta grubunda görülmektedir. Özellikle, ileri evre KBH'lı

hastalar (diyaliz tedavisi alan) sıklıkla kronik inflamasyon ve kronik yetersiz beslenmeye sahiptir ve bu durum aterosklerozun artışına katkıda bulunur (Rensburg ve Meyers 2015). KBH'nın klinik bulguları Çizelge 2.7. de gösterilmiştir.

Çizelge 2.7. KBH'nın klinik bulguları

Hipervolemi, hipokalsemi, hipermagnezemi vb. gibi sıvı ve elektrolit dengesinde meydana gelen bozukluklar.
Gastrointestinal kanama, ülser vb. gastrointestinal sistem bozuklukları.
Hipertansiyon, ateroskleroz vb kardiyovasküler bozukluklar.
Kaşınma, tırnak atrofisi gibi ciltte meydana gelen bozukluklar.
Demans, uyku düzensizlikleri ve konuşma bozuklukları gibi sinir sistem hasarı.

2.4.6. KBH'da Tedavi Yaklaşımları

Dünya genelinde yaklaşık 2.6 milyon insan SDBY sebebiyle tedavi edilmektedir. SDBY gelişen hastalarda diyaliz veya böbrek nakli gibi renal replasman tedavi (RRT)'lerinin başlanması gerekmektedir. Diyaliz işlemi, Periton Diyaliz (PD) ve Hemodiyaliz (HD) olmak üzere iki şekilde uygulanmaktadır. PD ve HD arasındaki seçim çeşitli belirleyiciler içermektedir. Bununla birlikte, HD ve PD hastaları arasında mortalitede büyük bir fark yoktur. Bu işlemlerin hastaların yaşam kalitesine ve süresine olumlu etkisinin olduğu bilinmektedir. Diyaliz hastalarında kardiyovasküler morbitide ve mortalite oldukça yüksektir. Kardiyovasküler riske geleneksel risk faktörleri (hipertansiyon, dislipidemi ve diyabet gibi) ve geleneksel olmayan risk faktörleri (oksidatif stres, endotelial disfonksiyon ve kronik inflamasyon gibi) katkıda bulunmaktadır. Bu hastalarda görülen yüksek mortalite ve morbidite oranlarını düşürmek için hastalarda görülen kronik inflamasyonun ele alınması gerekmektedir. Diyaliz hastalarında görülen sistemik inflamasyona, üremi, altta yatan böbrek hastalığı, komorbiditeler ve diyaliz ile ilişkili faktörler katkıda bulunabilir (Yeates ve ark 2012, Robinson ve ark 2016, Poppelaars ve ark 2018).

2.4.6.1. Periton Diyaliz

Periton diyalizi (PD), 1980 yılından bugüne yaygın kullanımda olan RRT'nin etkili bir şeklidir. PD evde en yaygın kullanılan diyaliz tekniğidir ve SDBY tedavisinde HD ile eşit derecede etkilidir (Li ve Chow 2013). Bununla birlikte, geride kalan böbrek fonksiyonunun daha iyi korunması, düşük bulaşıcı risk ve daha yüksek hasta memnuniyet oranları PD avantajları içerisinde yer almaktadır. PD tedavisi ile elde edilen iyi sonuçlara rağmen, bu diyaliz tekniği yeteri kadar kullanılmamaktadır. PD'de HD 'den farklı olarak sentetik olmayan membran kullanılmaktadır. Aksine, hastaların karın boşluğunda bulunan periton, diyaliz sıvısı ve dolaşım arasındaki difüzyona izin veren yarı geçirgen bir zar görevi görür. PD sırasındaki osmotik gradyan, diyalizat içindeki yüksek glikoz seviyelerine dayanır. Bununla birlikte, glikoz, bir ozmotik ajan olarak hizmet ettiği için, aynı zamanda uyumsuzluk reaksiyonundan da sorumlu olur ve çift kenarlı bir kılıç görevi görür. Peritoneal zar, bir iç mezotel tabakasından oluşur ve bu hücreler, dolaylı olarak, diyaliz sıvısı ile doğrudan temas halindedir. Diyalizata uzun süre maruz kalınması peritoneal fibrozis ile sonuçlanan bu tabakanın yeniden doku oluşumuna yol açar. Bu ilerleyici fibroz formu kronik PD tedavisi için önemli bir sınırlama oluşturur. PD'de başka bir yaygın komplikasyon peritonittir. Peritonit gelişen hastalar geri dönüşümsüz periton hasarı, PD başarısızlığı ve önemli morbidite ve hatta mortaliteye sahip olabilir. Bu nedenle, peritonit veya fibrozis nedeniyle PD başarısızlığının önlenmesi nefrologlar için bir sorun olmaya devam etmektedir (Li ve Chow 2013, Shi ve ark 2017, Poppelaars ve ark 2018).

2.4.6.2. Hemodiyaliz

Hemodiyaliz (HD) işlemini özel bir makine aracılığı ile hasta kanının zararlı toksin ve atıklardan temizlenmesi olarak tanımlayabiliriz. Bu işlem RRT içerisinde yaygın olarak tercih edilmektedir. HD genellikle yetişkin SDBY hastalarında en çok tercih RRT şeklidir. HD düşük veya yüksek akımlı HD (difüzyon temelli diyaliz) ve çevrimiçi hemodiyafiltrasyon (kombine konvektif ve difüzyon tedavi) gibi çeşitli teknikleri içeren genel bir terimdir. Dünya genelinde 1.5 milyondan fazla insan hemodiyaliz tedavisi almakta ve bunların her yıl %10-%25'i hayatını kaybetmektedir (Ravani ve ark 2013). Hemodiyaliz

tedavisi genellikle haftada 3 defa ve her bir seansı 4 saat süren bir işlemdir. Bu işlem genellikle diyaliz merkezlerinde uzman personeller tarafından gerçekleştirilmektedir.

Bu tedavi şeklinde kullanılan diyaliz membranları, selüloz tabanlı membranlar ve sentetik membranlar olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Selüloz tabanlı membranların sentetik membranlara göre dezavantajı serbest hidroksil gruplarından dolayı meydana gelen immünoreaktivitedir. Sonrasında, modifiye edilmiş selülozik membranlar, serbest hidroksil gruplarının farklı süstitüsyonlarla (özellikle asetat) değiştirilmesiyle biyouyumluluğun artırılması için geliştirilmiştir. Daha sonraki aşamalarda ise poliakrilonitril, akrilonitril-sodyum mehallil sülfonat, polisülfon, polikarbonat, poliamid ve polimetilmetakrilat membranlar gibi "sentetik" membranlar geliştirilmiştir. Sentetik membranlar günümüzde klinik uygulamalarda en yaygın kullanılan membranlar olup değişen gözenek büyüklüğü ve azaltılmış immünoreaktiviteye sahip olmalarından dolayı tercih edilmektedir (Kerr ve Huang 2010, Kokubo ve ark 2015, Ekdahl ve ark 2017, Poppelaars ve ark 2018).

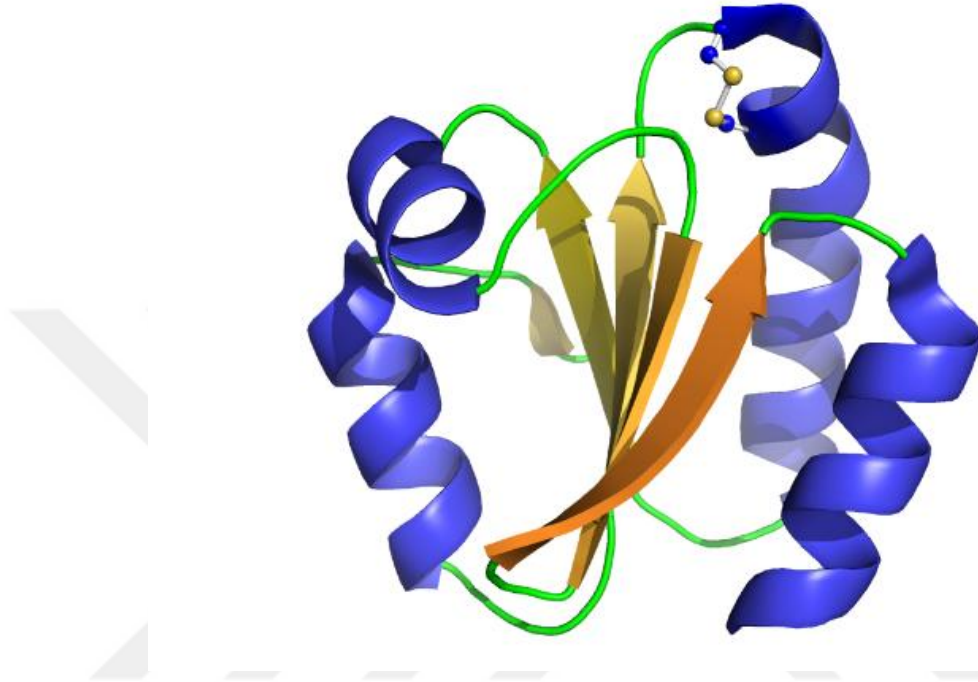
2.4.6.2.1. Hemodiyalizde Görülen Komplikasyonlar

HD tedavisi yaygın olarak SDBY hastalarına uygulanmakta ve hasta yaşam kalitesini olumlu yönde etkilemektedir. Bununla birlikte hastalarda hemodiyaliz tedavisinden sonra değişik semptomlar görülmekte ve bunlar hastaların gündelik ve sosyal aktivitelerinde düzensizlik ve aile yaşamlarında bozulmaya neden olmaktadır. Yapılan çalışmalar hemodiyaliz tedavisinden sonra en sık gözlenen semptomların baş ağrısı, halsizlik, kendini yorgun hissetme ve eklem ağrıları olduğunu göstermiştir (Himmelfarb 2005, Akgöz ve Arslan 2017).

2.5. Tiyoredoksin Sistemi

Metabolik, antioksidatif ve düzenleyici özelliklere sahip olan hücrel redoks ortamı çoğunlukla iki enzim sistemi tarafından sürdürülür ve düzenlenir. Bunlar, glutasyon ve tiyoredoksin (Trx) sistemleridir (Arner ve Holmgren 2000, Gromer ve ark 2004). Her bir sistem glutasyon redüktaz ve tiyoredoksin redüktaz olarak adlandırılan bir NADPH bağımlı flavoenzim içermektedir. Her iki enzim de lipoamid dehidrojenaz, tripanotiyon redüktaz gibi enzimleri içeren homodimerik piridin nükleotid-disülfid oksidoredüktazlardan oluşan bir

aileye aittir (Gromer ve ark 2004). Tiyoredoksinler, prokaryotik ve ökaryotik hücrelerde eksprese edilir ve tüm canlı hücrelerde bulunur (Arner ve Holmgren 2006, Lu ve Holmgren 2014).



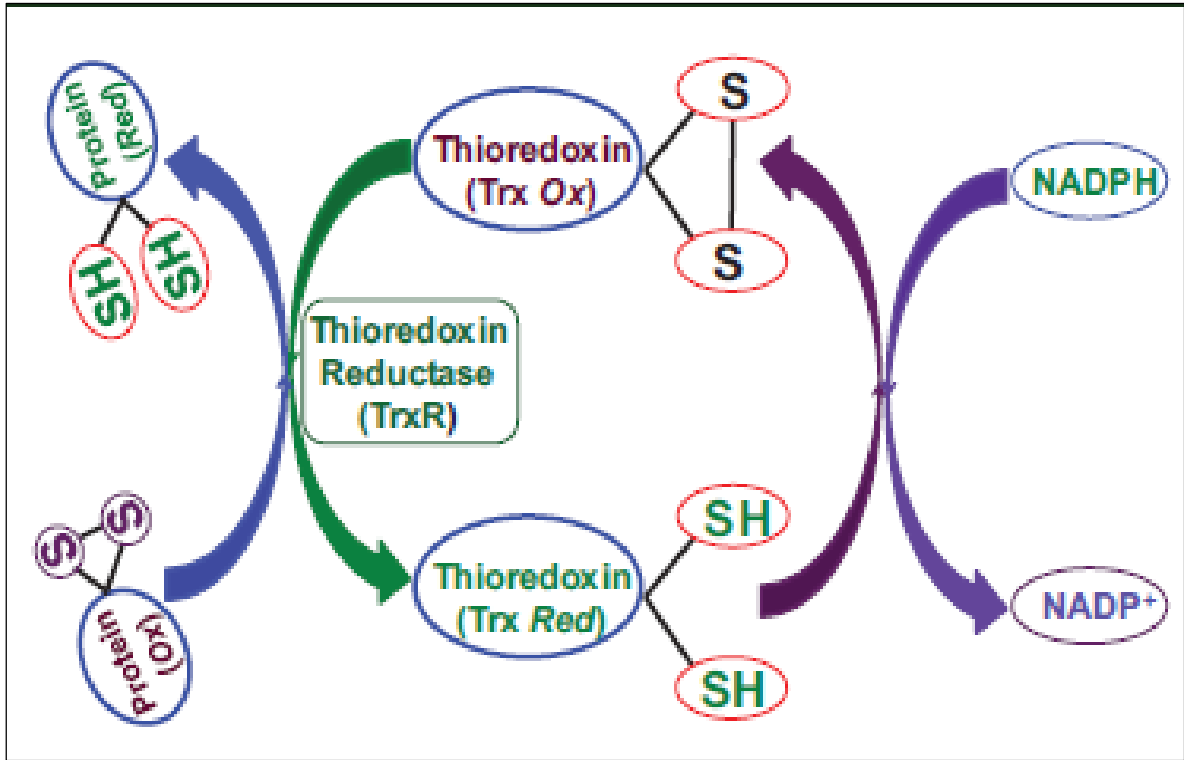
Şekil 2.4 Tiyoredoksin yapısı

Sitozolik tiyoredoksin-1 (Trx1) ve mitokondriyal tiyoredoksin-2 (Trx2) hücre içi redoks durumunun sürdürülmesi için gerekli ve önemli bir antioksidan sistem olan tiyoredoksin sisteminin birer parçasıdır ve hücrel redoks dengesinde ve normal hücre ve tümör hücreleri sinyalizasyonunda önemli rol oynarlar (Monteiro ve ark 2017).

Tiyoredoksin sistemi, karakteristik alt grubu olan tiyoredoksin redüktaz (TrxR) ve redoks aktif protein Trx ve NADPH tarafından oluşturulur (Demirbilek 2007). Trx, antioksidan etkilerini öncelikle, peroksiredoksinler için elektron donörü olarak işlev görerek kullanır. Trx, tiyol (-SH) grubu içeren diğer proteinlerin sistein tiyol-disülfid (-S-S-) değişimi aracılığı ile indirgenmesini kolaylaştırarak bir antioksidan olarak işlev gören küçük molekül ağırlıklı bir proteindir ve deoksiribonükleik asit (DNA)'in replikasyonunda temel bir enzim olan ribonükleotit redüktaz için bir hidrojen vericidir (Holmgren 1989). Elektron transferi,

bir disülfid köprüsü içeren iki bitişik proteine bağlı sülfidril (-SH) grubunun geri dönüşümlü oksidasyonun spesifik bir mekanizması aracılığı ile meydana gelmektedir.

Bu durum NADPH ve onun indirgenmiş formundaki elektronlar aracılığı ile ribonükleotit redüksiyonunu ve diğer reaksiyonları destekleyebilir. Bu yüzden, tiyoredoksin sistemi NADPH, flavoprotein olan tiyoredoksin redüktaz ve Trx'den meydana gelmektedir. Bu sistem, birçok organizmada çeşitli fonksiyonlara sahip olup hücre regülasyonunda kritik öneme sahip olan birçok biyokimyasal reaksiyonda disülfid (-S-S-) ile birlikte -SH grubunun önemini yansıtmaktadır (Şekil 2.5) (Whayne ve ark 2015).



Şekil 2.5. Elektron verici NADPH varlığında okside tiyoredoksinin indirgenmiş tiyoredoksine dönüşüm mekanizması

Memelilerdeki TrxR, Trx ile birlikte, antioksidan ve redoks düzenleyici role sahip olan ve her yerde yaygın bulunan bir oksidoredüktaz sistemidir. Trx'in hücre dışı formlarının sitokin benzeri olaylarda ilişkili olduğu bulunmuştur (Nordberg ve Arner 2001). Memeli TrxR enzimi içinde selenosistein kalıntısı içeren oldukça reaktif bir bölge vardır ve Trx'e ek olarak çeşitli alt tabakaların indirgenmesi ile bağlantılı olarak çok güçlü bir indirgeyici kapasiteye sahiptir. Memelilerdeki Trx sistemi hücrel redoks kontrol ve antioksidan

savunmanın merkezinde bulunmaktadır. Bu sistem, bu yüzden ROS ve çoklu hücrel antioksidan enzimler ile reaksiyona girmektedir.

Başlangıçta, Trx'in başlıca oksidatif strese karşı korumada ilişkili olduğu, peroksiredoksin ile etkileşimi aracılığıyla ROS'u süpürdüğü ve hücrel redoks dengesini kontrol etmek için çalıştığı düşünülmüştür. Yapılan çalışmalar sonucunda Trx'in gen ekspresyonu, sinyal iletimi, hücre büyümesi ve apoptoz gibi redoks bağımlı hücrel proseslerde katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Rhee ve ark 2005, Matsuo ve Yodoi 2013). Trx, hücrelerden oksidatif strese yanıt olarak salınmakta ve ekstraselüler tiyoredoksin oksidatif ve inflamatuvar durumlarda sitoprotektif etki göstermektedir (Nakamura ve ark 2006). Dolaşımdaki Trx'nin monositler, nötrofiller ve T lenfositler için kemotaktik aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Bertini ve ark 1999). Bununla birlikte dolaşımdaki aşırı artmış Trx seviyeleri, nötrofillerin inflamasyon bölgelerine ekstrasvazasyonunu engeller (Nakamura ve ark 2001, Nakamura ve ark 2001). Trx, N-terminal sinyal dizisine sahip olmamasına rağmen sekretuar yolağın içerisine girmesi için çeşitli normal ve neoplastik hücrelerden salınması gerekmektedir (Rubartelli ve ark 1992, Kondo ve ark 2004). Trx, hücre dışı boşluğa klasik olmayan veya Endoplazmik retikulum / Golgiden bağımsız bir yolak ile çıkabilmekte fakat Trx sekresyonuna aracılık eden kesin mekanizma hala bilinmemektedir (Nickel 2003). Oksidatif strese maruz kaldıktan sonra, Trx transkripsiyonel olarak up regüle edildiği gösterilmiştir. Plazma gibi biyolojik sıvılardaki artmış Trx seviyeleri, oksidatif stres ile ilişkili birçok patolojik durumlarla bildirilmiştir (Çizelge 2.8.) (Nakamura ve ark 2006).

Çizelge 2.8. Biyolojik sıvılarda artmış tiyoredoksin seviyelerinin oksidatif stres ile ilişkili patolojik hastalıklarda görülme durumu.

Hastalık	Örnek türü
AIDS	Plazma
Hepatosellüler kanser	Serum
Hepatit C	Serum
Pulmoner sarkoidoz	BALF
Astım	Serum
İntertisyel akciğer hastalığı	Serum
Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri	Serum
Obstrüktif uyku apnesi (OSA)	Plazma
Diabetes Mellitus	Plazma/ serum
Konjestif kalp yetmezliği	Plazma
Yanıklar	Serum

BALF: Bronkoalveoler lavaj sıvısı

2.5.1. Tiyoredoksin Sisteminin Biyolojik Fonksiyonları

Oksidatif stresin yaşlanma ve yaşlanma ile ilişkili hastalıklarda önemli rol oynadığı bilinmektedir. Serbest radikal kaynaklı makromoleküler hasar, oksidatif stresin kritik bir mekanizması olarak kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Serbest radikal süpürücü antioksidan takviyeleri ile büyük ölçekli müdahale denemeleri, ne yazık ki insanlarda çok az fayda göstermiştir. Bir başka hipotez ise, oksidatif stresin tiyol-redoks çeviriminin bozulmasının bir sonucu olarak ortaya çıkmasıdır (Jones 2008). Bu tiyol redoks çevirimleri, normal olarak hücre-sinyal kaskadlarının ve fizyolojik fonksiyonların düzenlenmesinde görev yaparlar. Trx, glutatyon (GSH) ve sistein ile birlikte redoks-merkezli kontrol mekanizmalarını temsil eder. Trx sisteminin daha iyi anlaşılması, spesifik tiyol-redoks kontrol yollarının aydınlatılmasına ve normal redoks kontrolünü geri kazandırmak için girişimsel stratejilerin geliştirilmesine ve yaşlanmaya bağlı ortaya çıkan oksidatif strese karşı korunmaya katkıda bulunabilir. Trx sistemi, oksidatif strese karşı koruma, hücrel redoks dengesinin korunması ve farklılaşma ve hücre kaderinin düzenlenmesi için çok önemli ve gerekli bir sistemdir. Trx sisteminin bu geniş hücrel fonksiyonları, çeşitli hastalıklarda rol oynar.

2.5.1.1. Trx'in Apoptosizdeki Rolü

Apoptoz, organların normal gelişimi için temel olan ve sıkı kontrol edilen hücre ölüm sürecidir. Yapılan çalışmalarda gösterildiği üzere, apoptosizin başlatılmasının ve uygulanmasının redoks ortamındaki değişikliklerle tetiklendiğini göstermektedir. Trx1'in en az iki farklı yolla apoptotik proses ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. İlk olarak, apoptotik sürecin anahtar belirleyicilerinden birinin redoks durumu, Kaspaz-3, Trx1 tarafından korunur. İkinci olarak, apoptotik olayları düzenleyen bir enzim olan apoptoz sinyalinidüzenleyici kinaz 1 (ASK-1), ASK-1'e bağlanan ve apoptotik aktivitesini inhibe eden Trx1 için bir substrattır (Mahmood ve ark 2013).

2.5.1.2. Trx Sistemi ve Yaşlanma

Çok hücreli organizmalar genellikle biyolojik fonksiyonların ilerleyici dejenerasyonu, hastalıklara karşı artan duyarlılık ve belirli bir süre içinde ölüm olasılığının artması ile ilişkili zamanla (yaşlanma) niteliksel değişimlere uğrarlar (Mahmood ve ark 2013). Kardiyovasküler hastalıktan (KVH) ve inmeden kaynaklanan yaşa özgü mortalite oranları, yaşamın ilerleyen yılları boyunca yaşla birlikte katlanarak artmakta, 65-74 yaş arasındaki tüm ölümlerin % 40'ından fazlasına ve neredeyse 85 yaş ve üzerindeki tüm ölümlerin % 60'ına karşılık gelmektedir (Ungvari ve ark 2010). Hücrel yaşlanma yaygın olarak mitokondriyal ve nükleer genomların dengesizliği ve ayrıca çevresel ve genetik strese yanıt olarak oksidatif protein hasarı ile ilişkilidir (Volkova ve ark 2005). Yaşlanmanın KVH için önemli bir risk faktörü olduğu ve yaşlanma sırasında endotel bağımlı vazodilatasyon ve Nitrik oksit (NO)'in bazal salınımının azaldığı gösterilmiştir. Daha ileri çalışmalar Trx1'in endotel fonksiyonunu geliştirdiğini ve endotel hücrelerin yaşa bağlı olarak ortaya çıkan hastalıklardan kurtulabildiğini göstermiştir (Altschmied ve Haendeler 2009). Mitokondri yaşlanma sürecinde önemli bir rol oynamakta olup serbest radikallerin hem ana kaynağı hem de önemli hedefleridir. Hücrel antioksidan sistemler yaş ile birlikte azalarak serbest radikal/ antioksidan dengenin yavaş bir şekilde kaybolmasına ve sonrasında oksidatif hasarın birikmesine neden olur (Wei ve Lee 2002). TRx1'in kanser, nörodejeneratif hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar ve immün yetmezlik gibi birçok hastalıkla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Fu ve ark 2009).

2.5.1.3. Trx Sistem ve Kardiyovasküler Hastalık

Kalp ve kan damarlarının disfonksiyonu olarak bilinen ve batı ülkelerinde meydana gelen tüm ölümlerin %80'inden fazlasını oluşturan KVH dünya çapında morbidite ve mortalitenin önde gelen nedeni olmaya devam etmektedir (Reddy 2002, Mahmood ve ark 2013). KVH için risk faktörleri yaş, cinsiyet, etnik köken ve genetik gibi değiştirilemez nedenler veya artmış serum lipitleri, yüksek kan basıncı, fiziksel inaktivite, sigara içiciliği ve obezite gibi değiştirilebilir nedenler olabilmektedir (Mahmood ve ark 2013). Giderek artan kanıtlar, patofizyolojik koşullar altında ROS'un aşırı üretilmesinin, ateroskleroz, iskemik kalp hastalığı, hipertansiyon, kardiyomiyopatiler, kalp hipertrofisi ve konjestif kalp yetmezliği gibi KVH gelişiminde ayrılmaz bir bileşen olduğunu göstermektedir. Çünkü bunlar aterogenezde vasküler inflamasyonun altında yatan çeşitli sinyal yollarını aktive ederler. Bu yüzden, Trx1 KVH'yı antogonize eden faydalı bir rol oynayabilmektedir. Birçok çalışmada TrxR1'nin aterosklerozun patogenezinde rol oynadığı gösterilmiştir. NO ve peroksinitrit, artmış Trx ve TrxR mRNA'ları ile birlikte aterosklerotik plaklarda görülen düz kas ve endotel hücrelerinin hasarına katkıda bulunur (Patel ve ark 1996, Takagi ve ark 1998). Trx1, saflaştırılmış NO sentazın NO- bağımlı inhibisyonunu engeller. Ayrıca, bunun yanında endojen Trx1 seviyeleri, endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) aktivitesinin NO indüklenmiş kaybının geri kazanılması için kritiktir, çünkü Trx1'in aşırı ekspresyonu NO kaynaklı eNOS katalitik aktivitesinin kaybını engeller (Zhang ve ark 1998, Tao ve ark 2006).

2.5.1.4. Trx Sistem ve Kanser

Trx sistemi, diğer büyüme faktörlerine karşı duyarlılığı ve / veya spontan apoptozun inhibisyonunu ve ilaca bağlı apoptoza karşı azalmış duyarlılığı artırarak kanser hücresi sağkalımı ve büyümesi için gereklidir. Bunun yanında, Trx sisteminin antioksidan savunma ile ilişkili olduğu ve karsinojenik antioksidanlar aracılığı ile veya oksidize haldeki proteinlerin tamir edilmesi yoluyla kanserin önlenmesinde rol oynadığı iyi bilinmektedir (Arner ve Holmgren 2006). Neoplastik karaciğer hücreleri de dahil olmak üzere birçok kanser hücresinde, hem Trx hem de TrxR'lerin yüksek ekspresyon seviyeleri rapor edilmiştir; bu, sitozolik TrxR1'deki artışın, neoplastik karaciğer hücrelerinin hayatta kalması ve kanser progresyonu için önemli olduğu bildirilmiştir (Skogastierna ve ark 2012).

2.5.1.5 Trx Sistem ve Nörodejeneratif Hastalıklar

Nörodejeneratif hastalıklar, başlangıçta özel nöronal devrelerde seçilmiş nöron gruplarını etkileyen progresif nöronal disfonksiyon ile karakterizedir. Alzheimer hastalığı, frontotemporal demans, parkinson hastalığı ve diğer nörodejeneratif bozukluklar hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde önemli bir sağlık sorunudur (Gascon ve Gao 2012). Beyin, yüksek miktarda oksijen kullandığı ve oksitlenebilen çoklu doymamış yağ asitleri ve redoks-aktif metaller içerdiği için oksidatif hasara karşı oldukça hassastır (Valko ve ark 2007). Oksidatif stres yaşla birlikte artmakta olduğundan yaşlı bireyler için çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda önemli bir nedensel faktör olarak düşünülebilir. Çalışmalar değişmiş redoks homeostazının ve çoğul multiple skleroz patogenezinde rol oynayan artmış oksidatif stresin, beyin stres yanıtının aktivasyonu için tetikleyici olduğunu göstermektedir (Pennisi ve ark 2011).

2.5.1.6. Antioksidan Sistemlerde Trx'in Fonksiyonu

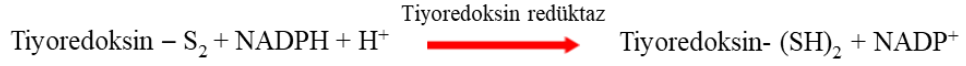
Oksijenli solunum yapılan bir ortamda (aerobik), ROS'un hücre içinde oluşumu kaçınılmaz bir durumdur. ROS düşük ve yüksek konsantrasyona sahip olabilmektedir. Düşük konsantrasyonlara sahip ROS normal fizyolojik fonksiyonlar ile uyumlu iken, yüksek konsantrasyona sahip olanların oksidatif strese yol açarak hücrelere zarar verdiği bilinmektedir. ROS'u nötralize etmek için çeşitli enzimatik ve nonenzimatik antioksidan sistemler geliştirilmiştir. GSH ve Trx sistemleri hücrelerin çoğunda en önemli dört antioksidan sistemin ikisini oluşturmaktadır. Trx, ROS tarafından hasar gören proteinleri yenilemek için diğer proteinlerle etkileşime giren bir redoks-aktif sistein çiftine sahiptir. Örneğin, indirgenmiş Trx, Hidrojen peroksit (H_2O_2) ile inaktive edilmiş gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz aktivitesini geri döndürebilir (Fernando ve ark 1992). Trx, aynı zamanda, ROS'un neden olduğu okside protein içindeki metionin sülfoksit kalıntılarını azaltabilen metiyonin sülfoksit redüktaz için bir kofaktördür. (Gromer ve ark 2004, Watson ve ark 2004). Trx, hidrojen peroksiti azaltmak için peroksiredoksin (Prx; tiyoredoksin peroksidaz) ve glutatyon peroksidaz (GP) için bir elektron vericisi olarak davranır (Chae ve ark 1994, Becker ve ark 2000). İndirgenmiş Trx'ler, indirgenmiş eşdeğerleri oksitlenmiş proteinlere geçtikten sonra oksidize olur; oksitlenmiş Trx'ler, NADPH

kullanılarak TrxR ile indirgenir. Memeli TrxR'leri, ROS'un ortadan kaldırılmasında doğrudan rol oynamaktadır. Oldukça reaktif selenosisteinlere sahip olduklarından dolayı, kinonlar, hidrojen peroksit ve alkil hidroperoksitler gibi birden fazla oksidantı doğrudan indirgeyebilirler (Becker ve ark 2000, Mustacich ve Powis 2000, Cenas ve ark 2004). Dahası, memeli TrxR, askorbil serbest radikalleri, α -tokoferolü ve lipoik asit gibi diğer antioksidanları yeniden üretebilir. Hücrelerde enzimatik olmayan bir antioksidan olan askorbik asit ROS ile reaksiyona girdikten sonra bir askorbil serbest radikale oksitlenecektir. Memeli TrxR, bu serbest radikal grubunu askorbik aside indirgeyebilme kabiliyetine sahiptir (Becker ve ark 2000). α -Tokoferol (Vitamin E) hücrelerde azaltılmış α -tokoferol miktarını düzenlemek için memeli TrxR ile indirgenen askorbat tarafından çevrilebilir. Hücrelerde bir başka antioksidan olan lipoik asit, direkt olarak memeli TrxR tarafından rejenere edilebilmektedir (Nordberg ve Arner 2001).

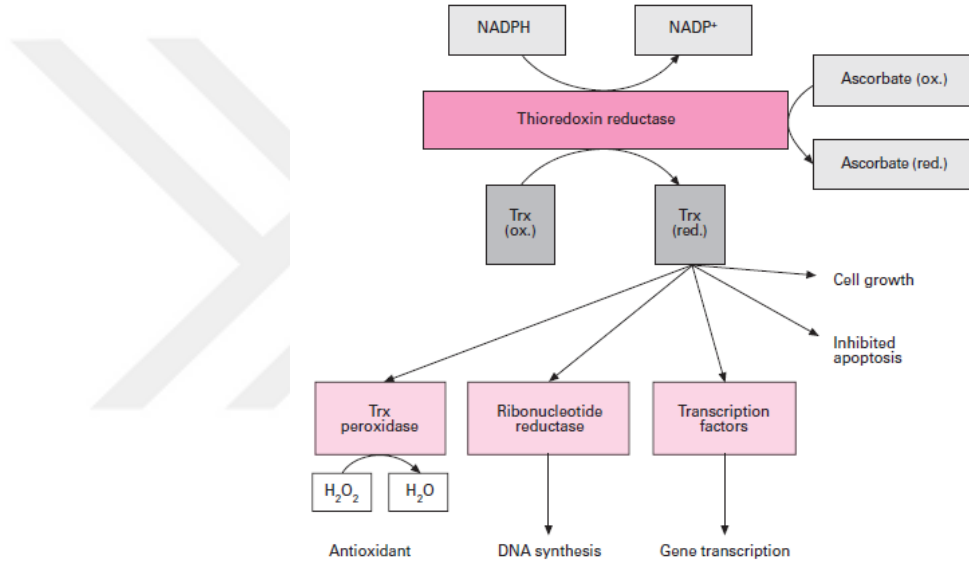
2.5.2. Tiyoredoksin Redüktaz

Tiyoredoksin redüktaz (TrxR) flavoprotein ailesine ait aktif bölgesinde bir selenosistein kalıntısına sahip redoks aktif selenoenzimdir (Tamura ve Stadtman 1996). TrxR, Trx'in aktif bölgelerini indirgeme özelliğine sahip tek enzimdir ve tüm canlı hücrelerde bulunmaktadır. TrxR'ler pridine nükleotid-disülfid oksiderüktaz ailesine ait olup bu aile glutatyon redüktaz, lipoamid dehidrojenaz ve civa iyon redüktaz içermektedir (Mustacich ve Powis 2000). Bu ailenin üyeleri, her monomerin bir flavin adenin dinükleotit (FAD) prostetik grubu, bir NADPH bağlanma bölgesi ve bir redoks aktif disülfid içeren bir aktif bölge içerdiği homodimerik proteinlerdir. Elektronlar NADPH'den FAD yoluyla TrxR'nin aktif bölge disülfidine aktarılır, bu da substratı indirger (Williams 1992).

Trx ilk olarak 1964 yılında izole edildi ve *E. coli*'de ribonükleotit redüktaz tarafından deoksiribonükleotidlerin enzimatik sentezi için hidrojen verici olarak karakterize edildi. Trx ismi küçük bir proteine fonksiyonu tek bir S-S grubunun siklik redüksiyon-oksidasyonuna bağımlı olduğu için verildi. Oksitlenmiş tiyoredoksinin (tiyoredoksin- S₂) S-S bağı NADPH ve TrxR adı verilen spesifik bir enzim tarafından indirgenir (Holmgren 1985). TrxR'ler NADPH'yı tüketen ve Trx'lerin disülfid formunu bir di tiyole indirgeyen oldukça reaktif proteinlerdir.



TrxR, Trx'in indirgeyici substrat olarak ilişkili olduğu tüm biyokimyasal yollar için gereklidir. Memeli TrxR'leri, piridin nükleotit disülfid oksidoredüktazlar olarak işlev gören selenoenzimlerdir (Monteiro ve ark 2017). TrxR'ler memeli hücrelerinde sitozolik TrxR1, mitokondriyal TrxR2 ve testis spesifik tiyoredoksin glutatyon redüktaz (TGR) olmak üzere üç izoenzim grubundan oluşur (Lu ve Holmgren 2014). TrxRs'nin aktif bölgesindeki selenosistein kalıntısının varlığı nedeniyle Trx'leri indirgenmiş halde tutarlar (Bock ve ark 1991).



Şekil 2.6. TrxR'nin hücre içerisindeki reaksiyonları ve fonksiyonları (Mustacich ve Powis 2000).

TrxR, Trx (ox) halden Trx (red) hale dönüşümünde NADPH dan yararlanmaktadır. Benzer şekilde okside formdaki askorbati redükte askorbata dönüştürmek için de NADPH dan yararlanır. Şekil 2.6. da görüldüğü üzere Trx peroksidaz hidrojen peroksiti suya parçalar, ribonükleotit redüktaz ise DNA sentezi için ribonükleotitleri deoksiribonükleotitlere indirger. Transkripsiyon faktörleri ise DNA ya bağlanmalarına ve gen transkripsiyonunun değişmesine neden olur. Buna ek olarak, TRx hücre büyümesini artırarak apoptozisi inhibe eder.

2.5.3. Tiyoredoksin Redüktazın Moleküler Yapısı ve Fonksiyonu

TrxR enzimi Trx sisteminin önemli bileşenlerinden biridir. Bu yüksek derecede korunmuş sistem her yerde bulunur ve bitkilerden arke ve insanlara kadar tüm yaşam seviyelerinde mevcuttur. Antioksidan savunma ve selenyum metabolizmasından gen transkripsiyon regülasyonuna kadar, hücre içi ortamı azaltmayı ve çoklu hücrel redoks sinyal yollarını düzenlemede önemli bir rol oynar. Trx proteinleri, aktif bölgelerinde korunmuş bir Trp-Cys-Gly-Pro-Cys-Lys sekansını paylaşan küçük (12 kDa) redoks proteinlerdir ve 1960'ların başlarında ilk tanımlandıklarından bu yana bilinirler (Lee ve ark 2013) (Hanschmann ve ark 2013). TrxR enzimleri homodimerik proteinlerdir ve bir FAD prostetik grubu, bir NADPH bağlanma bölgesi ve bir ditiyol / disülfür motifi içeren bir redoks aktif bölgesi olan piridin nükleotit-disülfid oksidoredüktazların flavoprotein familyasına aittir. İnsanlarda en az üç memeli izoformu bulunur. Bunlar sitozol ve nükleusda bulunan TrxR1, mitokondride bulunan TrxR2 ve testis dokuya spesifik TGR olarak da adlandırılan Trx3. Farklı hücrel lokalizasyonlara rağmen TrxR1 ve TrxR2 benzer bir yapı ve katalitik mekanizmayı paylaşır (Zhang ve ark 2017).

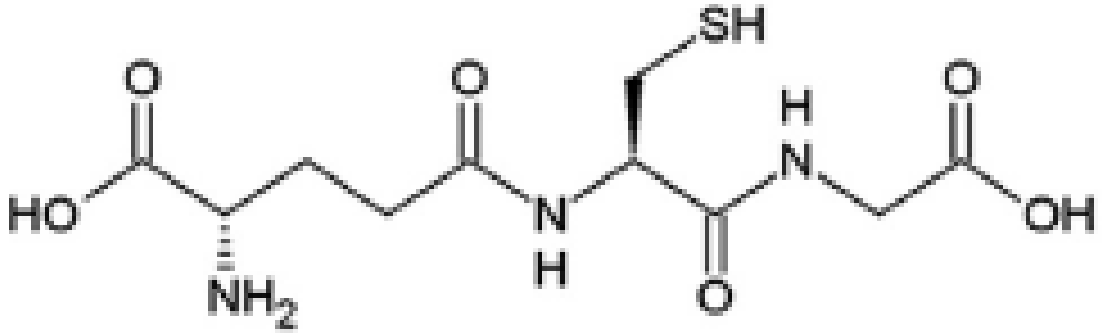
2.6. Glutaredoksin Sistem

Glutaredoksin sistem; glutaredoksin (Grx), glutatyon redüktaz (GR), GSH ve hücre içi major protein disülfid redüktaz olan NADPH'tan oluşmaktadır. Bu enzim sistemi hücre içerisinde en bol bulunan tiyol içeren bileşik olan indirgenmiş GSH ihtiva ettiğinden dolayı oldukça önemlidir. Hücre içerisindeki konsantrasyonu 10-20 mM dır. Glutatyonun indirgenmiş formda kalabilmesi için NADPH ve GR ye ihtiyacı vardır. Protein-disülfitlerin azaltılması, glutaredoksin sistemi tarafından iki farklı fakat işlevsel olarak birbirine bağlı mekanizma aracılığıyla katalize edilir.

2.6.1. Glutatyon

Glutatyon (GSH) aslen Joseph de Rey oth Pailhade tarafından 1888 yıllarında philothion olarak tanıtıldı. GSH adı ilk olarak 1921 yılında, bu molekülün redoks özelliklerini ve tripeptid yapısını birkaç yıl sonra da redoks özelliklerini açıklayan Frederick Gowland Hopkins tarafından bahsedildi (Berndt ve Lillig 2017). GSH canlı hücreler içinde

hücrel konsantrasyonu 0.5 ile 10 mM arasında değişen ve fizyolojik sıvılardaki konsantrasyonu sağlıklı bireyler için yaklaşık 2-12 μ M arasında olan önemli nonprotein tiyoldür (Hanko ve ark 2019). Sağlıklı hücre ve dokulardaki total glutatyon havuzunun %90'ı indirgenmiş form (GSH) ve %10 dan daha azı ise disülfit (GSSH) formundan oluşmaktadır (Slivka ve ark 1987). GSH ayrıca katabolizma, ilaçların taşınması ve detoksifikasyonu gibi birçok biyolojik süreçte önemli bir kofaktördür ve hücreler arası iletişimi sağlayan kanal aracılığıyla (gap junction) hücreler arasındaki iletişimin sürdürülmesine yardımcı olur ve genellikle proteine bağlı olan SH gruplarının oksitlenmesini ve çapraz bağlanmasını önler (Atta ve ark 2012). Birden fazla klinik çalışma GSH'nın oksidatif stress (Masella ve ark 2005), parkinson hastalığı (Hauser ve ark 2009), kistik fibrozis (Dickerhof ve ark 2017), karaciğer hastalığı (Yuan ve Kaplowitz 2009) ve psikiyatrik hastalıklar (Ngamchuea ve ark 2018) ile ilişkisini göstermiştir. Örneğin, oksidatif stress ile bağlantılı GSH kanser (Locigno ve Castronovo 2001), Alzheimer (Locigno ve Castronovo 2001), Huntington hastalığı (Choo ve ark 2005), yaşlanma (Homma ve Fujii 2015), nörotoksitite (James ve ark 2005) ve tip 2 diyabetes mellitus (Lagman ve ark 2015) ile ilişkilidir. Bu patolojiler daha çok GSH konsantrasyon seviyelerinin değişmesi ile gösterilir. GSH'nın organizma içerisindeki fonksiyonları Çizelge 2.9. da gösterilmiştir. (Hanko ve ark 2019).



Şekil 2.7. Glutatyon yapısı (Hanko ve ark 2019).

Çizelge 2.9.GSH'nın organizmadaki fonksiyonları

Metabolizma	Antioksidan Savunma	Regülasyon
Leukotriene ve prostaglandinlerin sentezi	Serbest radikal ve diğer reaktif oksijen türlerinin temizlenmesi	Hücre içi redoks durumu
Metilglyoxal dan D-laktat üretimi	Hidrojen ve lipit peroksitlerinin temizlenmesi	Sinyal iletimi ve gen ekspresyonu
Sisteinin depo ve transportu	Biomoleküllerin oksidasyonunun engellenmesi	DNA ve protein sentezi ve proteolizis Hücre proliferasyonu ve apoptozis Sitokin üretimi ve immün yanıt Mitokondriyal fonksiyon ve bütünlük

Glutasyon, hücrelerin biyolojik durumuyla ilişkili hücrel redoks potansiyelinin belirlenmesinde önemli bir role sahip olup bu proliferasyon sırasında -240 mV, büyümenin durduğu hücreler için farklılaşma sırasında -200 mV ve apoptoz sırasında -170 mV' dur. Bu redoks potansiyellerinin, her bir hücrel sürece katılan enzimlerin, transkripsiyon faktörlerinin ve diğer proteinlerin aktivitesi için en uygun redoks ortamını sağlaması önerilmektedir (Watson ve ark 2003). GSH ve GSSG arasındaki oran, hücrel redoks durumu için çok önemli bir göstergedir. Dinlenme halindeki normal bir hücrede, glutasyon çoğunlukla GSSG olarak % 1'den daha az olan indirgenmiş formdadır. Oksidatif stres altında, GSH / GSSG oranı, yaklaşık 100 civarında olan normal oran yerine yaklaşık 1 değerine yaklaşır (Gilbert 1995). Bu durum oksidatif stresin daha pozitif bir hücrel redoks potansiyeline yol açtığı anlamına gelmektedir (Klatt ve Lamas 2000).

2.6.2. Glutaredoxin

Glutaredoksin (Grx)'ler GSH bağımlı oksidoredüktazlardır ve Trx ailesinin bir üyesidir (Holmgren ve Morgan 1976) Grx, E. coli'de klasik olarak aktif bölgesi –Cys-Pro-Tyr-Cys ile birlikte dört molekülle bir protein ailesini oluşturur (Holmgren 1979). Memeli hücrelerinde üç farklı Grx tanımlanmıştır: Sitosolik Grx1, mitokondriyal Grx2 ve Grx5. Klasik ditiyol glutaredoksin olan Grx1 ve Grx2'nin aksine, memeli Grx5, mitokondriye yönelik olabilen bir monotiyol Grx'dir (Molina-Navarro ve ark 2006).

2.6.3. Glutasyon Redüktaz

Glutasyon redüktazlar (GR), indirgenmiş glutasyon arzını sürdürmekten sorumlu flavoenzimlerdir (Tuggle ve Fuchs 1985). GR'ler, piridin nükleotit disülfid oksidoredüktaz ailesine aittir, farklı türlerde yüksek oranda korunan bir N-terminal-Cys-Val-Asn-Val-Gly-Cys-aktif bölgesi ile memeli TrxR'lere homoloji iledir. Aktif enzim, "tepeden tırnağa" düzende düzenlenmiş iki özdeş alt birimden oluşan dimerik formdadır. İnsan GR'sinin her bir alt birimi, 51 kDa'lık bir moleküler kütleyle sahiptir ve bir NADPH bağlanma alanı, bir FAD bağlanma alanı ve bir arayüz alanı içeren üç alan içerir (Karplus ve Schulz 1987). GSH'ın indirgenmesi için iki elektron NADPH'den FAD'a ve ardından FAD bağlanma bölgesinde bulunan aktif GR bölgesine transfer edilir. Bir disülfid / ditiyol değişim reaksiyonundan sonra, indirgenmiş GR'den gelen elektronlar, GSH'yi indirgemek için GSSG'ye transfer edilir. Farklı hücresel bölmelerde lokalize olan ve farklı genler tarafından kodlanan iki ayrı izoenzime sahip olan TrxR'nin aksine, benzer biyokimyasal özelliklere sahip olan hem sitozolik hem de mitokondriyal GR'leri kodlayan tek bir gen vardır (Taniguchi ve ark 1986).

2.7. Serbest Radikaller

2.7.1. Serbest Radikallerin Tanımı ve Oluşum Şekilleri

Atomlar bir çekirdek içerirler ve elektronlar genellikle çiftler halinde bu çekirdek etrafında hareket ederler. Serbest radikaller, herhangi bir atom ya da molekül olup son yörüngelerinde eşleşmemiş bir ya da birden fazla elektron ihtiva eden moleküllerdir. Bu özelliklerinden dolayı diğer moleküllerle kolay bir şekilde tepkimeye girerler. Eşleşmemiş elektronlar, atom veya moleküllerin kimyasal reaktivitesini değiştirerek onların daha reaktif bir hale gelmelerine sebep olurlar (Halliwell 1994). Radikallerin çoğu stabil olmayan ve yüksek reaktiviteye sahip atom yada moleküller olup, diğer moleküllere ya bir elektron vererek yada diğer moleküllerden bir elektron alarak yükseltgeyici veya indirgeyici olarak davranış gösterirler (Cheeseman ve Slater 1993). Serbest radikallerin çoğu biyomoleküller ile kolayca reaksiyona girebilmekte ve serbest radikal oluşum zincir reaksiyonunu başlatabilmektedirler. Bu zincirleme reaksiyonu durdurmak için, yeni oluşan radikal ya başka bir serbest radikal ile reaksiyona girerek eşleşmeyen elektronları yok eder

ya da bir serbest radikal süpürücü veya primer antioksidan ile reaksiyona girer (Nordberg ve Arner 2001) .

Serbest radikallerin oluşumu üç şekilde gerçekleşmektedir (Kilinc ve Kilinc 2002).

- 1) Kovalent bağlanmış bir molekülün her bir bileşeninde ortak elektronlardan birinin varlığında homolitik olarak bölünmesi ile



- 2) Molekülün bir elektron kaybetmesi ile



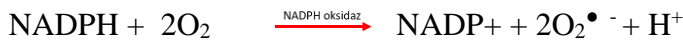
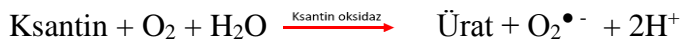
- 3) Moleküle dışarıdan bir elektron ilavesi ile



Yüksek reaktiviteye sahip olan bu serbest radikaller, makro moleküllere etki ederek bu moleküllerin yapı ve fonksiyonlarında değişikliğe yol açtığı ve özellikle hücre bileşenlerinden nükleik asitler, lipid ve proteinler üzerinde kalıcı hasara sebebiyet vererek hücre hasara neden olduğu bilinmektedir (Cheeseman ve Slater 1993, Karafakıoğlu 2010, Özcan. ve ark 2015).

Hücre içerisinde serbest radikal oluşumu enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlar sonucunda oluşur (Bagchi ve Puri 1998).

Enzimatik reaksiyon sonucu serbest radikal oluşumu:



Enzimatik olmayan reaksiyon sonucu serbest radikal üretimi:



Reaktif oksijen türleri radikal olan ve radikal olmayan olmak üzere iki sınıfa ayrılır. Serbest radikal ürünlerinin oluşumu oksijen kaynaklı (Çizelge 2.10.) ve nitrojen kaynaklı olabilmektedir (Çizelge 2.11.). Oksijen kaynaklı serbest radikaller ROS olarak adlandırılırken, nitrojen kaynaklı serbest radikaller ise RNT olarak adlandırılmaktadır (Valko ve ark 2007, Karabulut ve Gülay 2016).

Çizelge 2.10. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) (Karabulut ve Gülay 2016).

Radikaller		Radikal olmayanlar	
Süperoksit	O_2^\bullet	Hidrojen Peroksit	H_2O_2
Hidroksil	OH^\bullet	Hipokloröz asit	$HOCl$
Peroksil	ROO^\bullet	Hipobromöz asit	$HOBr$
Alkoksil	RO^\bullet	Singlet Oksijen	1O_2
Hidroperoksil	HO_2^\bullet	Ozon	O_3
Lipid preroksil	LOO^\bullet		

Çizelge 2.11. Reaktif Nitrojen Türleri (RNT) (Karabulut ve Gülay 2016).

Radikaller		Radikal olmayanlar	
Nitrik Oksit	NO^\bullet	Nitrik asit	HNO_2
Nitrojen Dioksit	NO_2^\bullet	Nitrosil katyonu	NO^+
		Nitroksil anyonu	NO^-
		Dinitrojen tetroksit	N_2O_4
		Dinitrojen trioksit	N_2O_3
		Peroksinitrit	$ONOO^-$
		Peroksinitrik asit	$ONOOH$
		Nitronyum katyonu	NO_2^+
		Nitril klorid	NO_2Cl
		Alkil peroksinitrit	$ROONO$

2.7.2. Serbest Radikal Kaynakları

Serbest radikal kaynakları ve diğer reaktif oksijen türleri vücut içerisinde gerçekleşen temel metabolik işlemler (prosesler) aracılığı ile (endojen) veya harici dış kaynaklar (ekzojen) aracılığı ile üretilmektedir. Serbest radikal kaynakları endojen ve ekzojen kaynaklar olmak üzere iki grupta ele alınabilir (Bagchi ve Puri 1998, Nagendrappa 2005, Sen ve ark 2010).

Endojen kaynaklar:

- 1) Mitokondri
- 2) Fagositler
- 3) Ksantin oksidaz
- 4) Peroksizomlar
- 5) İnflamasyon
- 6) İskemi/ reperfüzyon

Ekzojen kaynaklar:

- 1) X-ray ve gama ışınlarına maruz kalma
- 2) Sigara kullanımı
- 3) Hava kirliliği ve endüstriyel kimyasallara maruz kalma
- 4) Radyasyon ve ultraviyole ışına maruz kalma
- 5) Orman yangınları
- 6) Volkanik faaliyetler

2.7.3. Reaktif Oksijen Türleri

Oksijenden üretilen reaktif oksijen türleri (ROS) biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikal kaynaklarıdır. Oksijen atomu iki adet eşleşmemiş elektron ihtiva ettiğinden, yüksek reaktiviteye sahip olmakta ve diğer moleküllerden bir elektron koparma isteğinde olup diğer serbest radikaller ile kolay bir şekilde reaksiyona girmektedir. ROS oksijen kaynaklı kimyasal olarak reaktif moleküller içermektedir (Fridovich 1999). Bu moleküllerden bazıları oldukça reaktif özellik gösterirken (örn: hidroksil radikali), bazıları da (örn: süperoksit ve hidrojen peroksit) daha az reaktif özellik göstermektedir (Nordberg ve Arner 2001). Önemli reaktif oksijen molekülleri Çizelge 2.12 de gösterilmiştir.

Çizelge 2.12. Önemli reaktif oksijen molekülleri ve onların metabolizmaları (Nordberg ve Arner 2001).

Reaktif Oksijen Türleri	Ana kaynaklar	Enzimatik savunma sistemleri	Ürün(ler)
Süperoksit ($O_2 \cdot^-$)	Elektron transport zincirindeki elektron kaçakları Aktif fagositler Ksantin oksidaz Flavoenzimler	Süperoksit Dismutaz (SOD) Süperoksit Redüktaz (bazı bakteriler)	$H_2O_2 + O_2$ H_2O_2
Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	Moleküler oksijenden SOD aracılığı ile NADPH-oxidase (netrofiller) Glikoz oksidaz Ksantin oksidaz	Glutatyon Peroksidaz Katalaz Peroksiredoksin (Prx)	$H_2O + GSSG$ $H_2O + O_2$ H_2O
Hidroksil Radikal ($\cdot OH$)	$O_2 \cdot^-$ - ve H_2O_2 den geçiş metalleri aracılığı ile (Fe veya Cu)		
Nitrik Oksit (NO)	Nitrik oksit sentaz	Glutatyon /TrxR	GSNO

Aerobik metabolizmanın doğal ürünleri olan ROS radikal ve radikal olmayan oksijen türlerinden oluşurlar ve uyarılmaya yanıt olarak sitokinler, ksenobiyotikler, tarafından mitokondriyal oksidatif metabolizma boyunca içsel olarak üretilirler (Qiao ve ark 2018) . ROS'daki anormal artış oksidatif stres ve onun yol açtığı hastalıklarla örn: ateroskleroz (Forstermann ve ark 2017) , diyabet (Maritim ve ark 2003), nörodejenerasyon (Chen ve ark 2012) ve yaşlanma (Haigis ve Yankner 2010) ile ilişkili olup makromoleküllerden protein, lipid ve nükleik asitlere hasar ile sonuçlanır.

2.7.3.1. Süperoksit Radikali ($O_2^{\bullet-}$)

Moleküler oksijen bir radikal olup kendine özgü elektronik konfüğürasyona sahiptir (Valko ve ark 2007). Moleküler oksijene bir elektron eklenerek indirgenmesi sonucunda süperoksit anyonu meydana gelmekte olup bu oluşum özellikle elektronca zengin aerobik ortamda kendiliğinden gerçekleşmektedir. Süperoksit anyonu, serbest radikal olmasına rağmen yüksek reaktiviteye sahip değildir ve lipid membran yüzeyini geçme kabiliyeti yoktur (Nordberg ve Arner 2001). Süperoksit anyonu ya metabolik süreçler (prosesler) aracılığı ile ya da fiziksel ışınlanma yolu ile oksijen aktivasyonunu takiben ortaya çıkmakta olup birincil ROT olarak kabul edilir ve ikincil ROS üretmek için diğer moleküller ile doğrudan veya yaygın şekilde enzim ya da metal katalizli işlemler yoluyla etkileşime girebilir (Valko ve ark 2005, Valko ve ark 2007). Süperoksit radikali üretimi çoğunlukla bir hücrenin mitokondrisi içerisinde meydana gelir (Cadenas ve Sies 1998). Elektron transport zinciri (ETZ) , memeli hücrelerinde ATP üretiminin ana kaynağıdır ve yaşam için hayati öneme sahiptir (Kovacic ve Jacintho 2001, Valko ve ark 2004). Enerji iletimi sırasında, az sayıdaki elektron, ETZ' den kaçarak moleküler oksijen ile birleşir ve birçok hastalığın patofizyolojisinde rol oynayan süperoksit radikalini oluşturur (Valko ve ark 2007).

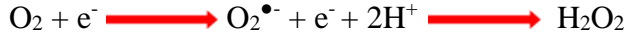


Bir diğer süperoksit oluşumu ise geçiş metallerin oto oksidasyonu ile gerçekleşmektedir.

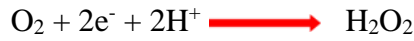


2.7.3.2. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Oksijen molekülünün iki elektron alarak indirgenmesi sonucunda oluşur. Hidrojen peroksit (H₂O₂) bir radikal olmayıp lipid içerisinde çözünebilir ve biyolojik membranlara nüfuz etme kabiliyeti nedeniyle oldukça önemlidir (Nordberg ve Arner 2001, Cadenas 2018).



Peroksit molekülleri de hidrojen peroksit oluşumuna katkıda bulunurlar (Akkuş 1995).



2.7.3.3. Hidroksil Radikali (OH[•])

Canlı organizmalarda oksijenin suya indirgenmesi sonucunda iki önemli reaktif oksijen türü olan süperoksit radikali ve hidroksil radikalinin oluştuğu bilinmektedir (Lipinski 2011). Hidroksil radikali (OH[•]), hidroksil iyonunun nötral formu olup canlı organizma içinde yaklaşık olarak 10⁻⁹ s yarılanma ömrüne sahiptir (Pastor ve ark 2000). Hidroksil radikali reaktiviteye girme potansiyeli yüksek olduğundan dolayı oldukça tehlikelidir ve biyomoleküller ile güçlü reaktiviteye girme kabiliyetinden ötürü biyolojik sistemlere daha fazla hasar verdiği bilinmektedir (Betteridge 2000, Nordberg ve Arner 2001). Hidroksil radikali, canlı organizmada hidrojen peroksit ve geçiş metallere olan demir iyonları varlığında Haber-Weiss reaksiyonuyla meydana gelmektedir. OH[•] radikali iki aşamada meydana gelmektedir. İlk aşamada Ferrik (Fe³⁺) iyon ferröz (Fe²⁺) iyonuna indirgenir. İkinci aşama ise fenton reaksiyonudur. Burada ise ferröz iyon hidrojen peroksitle birleşerek çok reaktif olan hidroksil radikalini oluşturur.



İkinci aşama ise Fenton reaksiyonudur.



Haber- Weiss reaksiyonu



2.7.3.4. Singlet Oksijen (1O_2)

Singlet oksijen ilk olarak 1924 yılında gözlemlendi ve oksijenin daha reaktif bir formu olarak tanımlandı (Zhao 2001). Singlet oksijenin DNA, protein ve lipitler gibi birden fazla farklı biyomoleküller ile reaksiyona girdiği gösterilmiştir (Briviba ve ark 1997).

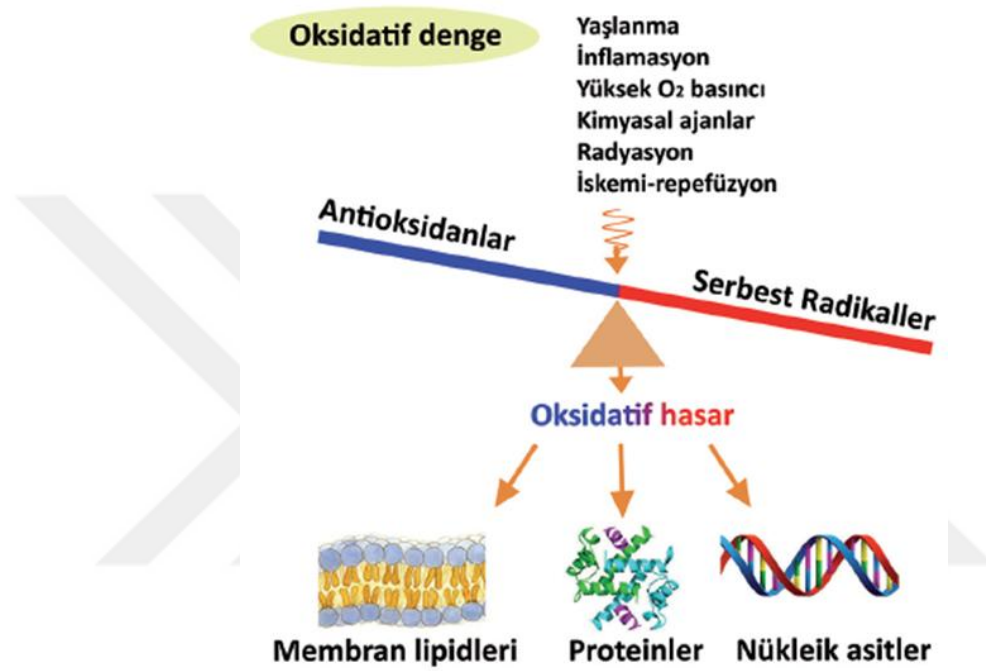
2.7.3.5. Nitrik Oksit Radikali (NO^\bullet)

Nitrik Oksit Radikali (NO^\bullet) bir adet eşleşmemiş elektrona sahip olduğundan serbest radikal olarak tanımlanır ve biyolojik dokularda nitrik oksit sentaz (NOSs) enzimi aracılığı ile L-argininden üretilir (Ghafourifar ve Cadenas 2005, Valko ve ark 2007). Sulu ortam içerisindeki yarılanma ömrü birkaç saniye iken, düşük oksijen konsantrasyonuna sahip ortamdaki yarılanma ömrü 15 saniyeden daha fazladır. Bununla birlikte, sulu ortamda ve lipit ortamında çözünemediğinden sitoplazma ve plazma membranı boyunca kolay bir şekilde difüze olabilmektedir (Chiueh 1999). NO^\bullet merkezi sinir sistemi içerisinde nöronal iletim ve sinaptik plastiside üzerinde etkiye sahiptir. Ekstrasellüler ortamda su ve oksijen ile reaksiyona girerek nitrat ve nitrit anyonlarının oluşmasına yol açar.

2.8. Oksidatif Stres

Aerobik canlılarda mitokondri de gerçekleşen oksidatif fosforilasyon ATP üretiminin önemli bir kaynağı olup serbest radikaller veya ROS, RNT ile karbon ve sülfür merkezli radikallerin oluşumundan sorumludur (Salim 2017). Oksidan ve antioksidan moleküller arasındaki denge sağlıklı ve kaliteli bir yaşam sürdürmek için oldukça önemlidir (Karafakıoğlu 2010). Bu yüzden, organizmada bulunan serbest radikaller ve antioksidan moleküller bir denge halinde olup bu durum oksidatif denge olarak tanımlanmakta ve serbest radikallerin aşırı artışı sonucunda dengenin bozularak serbest radikal tarafına kayması oksidatif stress olarak tanımlanmaktadır (Kaya ve ark 2012, Özcan. ve ark 2015) (Şekil 2.8). Yaşlanma, inflamasyon, yüksek oksijen basıncı, kimyasal ajanlar, radyasyon ve iskemi reperfüzyon hasarı serbest radikal oluşumunu tetikleyerek oksidatif dengenin bozulmasına dolayısıyla oksidatif stres düzeyinde artışa neden olmaktadır (Yan ve Sohal 1998, Yan 2014). Artmış oksidatif stress nükleik asitler, proteinler ve hücre membranları üzerinde

kalıcı hasara yol açarak hücrenin işlevsel kayıp ve ölümüne neden olmaktadır (Özcan. ve ark 2015). Oksidatif stress; nörodejenaratif hastalıklar, inflamatuvar hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, immün sistem bozuklukları, diyabetes melitus, yaşlanma ve kanser gibi hastalıklar ile ilişkili olup bu hastalıkların patogenezinin sorumludur (Berlett ve Stadtman 1997, Sosa ve ark 2013) (Aydın ve ark 2012, Şahin ve ark 2012).



Şekil 2.8. Oksidatif denge (Özcan. ve ark 2015).

2.8.1. Oksidatif Stresin Makromoleküller Üzerine Etkisi

Canlı organizmalarda oksidan ve antioksidan moleküller bir denge halindedir. Serbest radikallerin hücre içerisinde aşırı üretimi ya da çeşitli patolojik durumlar sonucunda antioksidanların miktarındaki azalış bu dengenin bozulmasına neden olur ve makro moleküller üzerinde kalıcı hasara yol açar. Serbest radikallerdeki artış hücre membranları üzerinde tahribata yol açarak lipit peroksidasyonuna, hücre içi proteinlerin yapı ve fonksiyonlarında değişiklik ile nükleik asitler üzerinde mutasyona yol açmaktadır (Özcan. ve ark 2015).

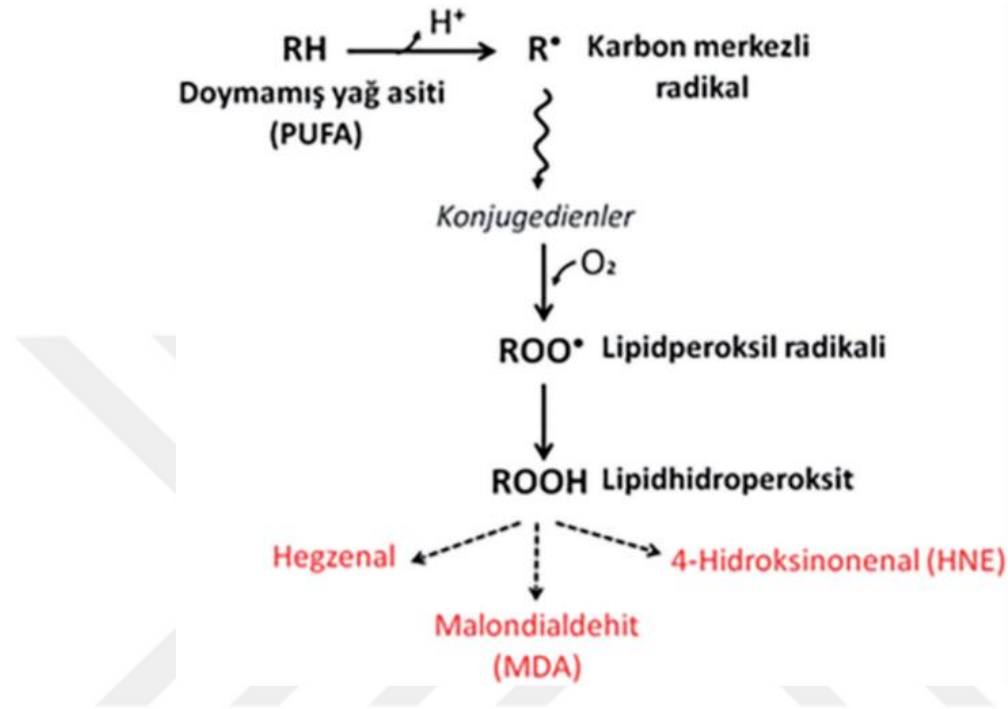
2.8.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkisi

Serbest radikaller peptit zincirinin parçalanmasına, proteinlerin elektriksel yüklerinin değişmesine, proteinlerin çapraz bağlanmasına ve spesifik aminoasitlerin oksidasyonuna yol açabilmektedir ve bundan dolayı spesifik proteazlar tarafından parçalanma yoluyla proteolize duyarlılığın artmasına yol açar. Proteinler içindeki sistein ve metiyonin kalıntıları özellikle oksidasyona aşırı duyarlıdır. Proteinlerdeki sülfidril gruplarının oksidasyonu veya metiyonin kalıntılarının oksidasyonu, konformasyonel değişiklikler ve protein katlanmaları degradesyona yol açmaktadır (Lyras ve ark 1997, Kelly ve Mudway 2003, Birben ve ark 2012).

2.8.3. Serbest Radikallerin Lipitler Üzerine Etkisi

Hücre membranından var olan poliansatüre yağ asitleri (PUFA) ve onların metabolitleri enerji sağlama, membran yapısı, hücre sinyalizasyonu ve gen ekspresyonun düzenlenmesi gibi çeşitli fizyolojik rollere sahiptir. Tüm hücrel membranlar yüksek konsantrasyonda PUFA içerdiğinden dolayı oksidasyona karşı oldukça hassastır. Biyolojik sistemlerde PUFA'ların serbest radikaller tarafından oksidasyona uğraması lipit peroksidasyonu olarak bilinmekte olup bu peroksidasyon enzimatik veya non-enzimatik yolla gerçekleşebilir (Catala 2006). Lipit peroksidasyon süreci, serbest radikallerin biyolojik membranlarda bulunan PUFA'lara saldırarak bir hidrojen atomunu metilen gruptan ($-CH_2-$) almasıyla başlar (Gutteridge 1995). PUFA'lardan zengin biyolojik membranlar biyolojik sistemler için hayati öneme sahip olup sitoplazma içerisindeki hücrel metabolitlerin ve hücrel organellerin konsantrasyonunu oldukça seçici bir şekilde pasif ve aktif iletim yolları ile kontrol etmektedir. Lipit peroksidasyonu başlangıç, yayılma ve sonlanma olmak üzere üç aşamadan meydana gelmektedir (Ayala ve ark 2014). Lipit peroksidasyonunun başlangıç aşamasında, hidroksil radikali gibi prooksidanlar, karbon merkezli lipit radikalini (L^\bullet) oluştururlar. Yayılma aşamasında ise, oluşan lipit radikali (L^\bullet) hızlı bir şekilde oksijen ile reaksiyona girerek lipit peroksil (LOO^\bullet) radikalini oluşturur. Sonlanma aşamasında ise, E vitamini gibi antioksidanlar lipit peroksil radikal (LOO^\bullet) türlerine bir hidrojen atomu verir ve buna karşılık gelen bir E vitamini radikalini oluştururlar. Oluşan bu radikalde başka bir lipit peroksil radikali ile reaksiyona girer ve radikal olmayan ürünler oluşturur. Lipit peroksidasyonu sonucunda oluşan ana ürünler lipit hidroperoksitler ($LOOH$) dir. Lipit

peroksidasyonu sırasında ikincil veya son ürünler olarak Malondialdehit (MDA), propanal, heksanal ve 4- Hidroksinonenal (HNE) aldehyitleri meydana gelir. Oluşan ürünlerden en mutajenik olanı MDA iken en toksik olanı 4-HNE dir (Esterbauer ve ark 1990). (Şekil 2.9)



Şekil 2.9. Serbest radikaller sonucunda oluşan lipid peroksidasyon ürünleri (Özcan. ve ark 2015).

Lipit peroksidasyonuna uğrayan membranda meydana gelen hasar sonucunda hücre membranının yapısal bütünlüğü bozulurak, iyonlara karşı geçirgenliği artar, membran akışkanlığı bozulur ve bu durum hücrede kalıcı hasar ve ölüm ile sonuçlanır (Ayala ve ark 2014).

2.8.4. Serbest Radikallerin Nükleik Asitler Üzerine Etkisi

Serbest radikaller DNA hasarının önemli bir kaynağıdır (Imlay ve Linn 1988). ROS, nükleer ve mitokondriyal DNA'ya oksidatif hasar verebilir. DNA, hücrenin genetik materyalidir ve DNA'daki herhangi bir hasar kodlanmış proteinlerde değişikliklere neden olabilir ve bu da kodlanmış proteinlerin arızalanmasına veya tamamen inaktivasyona neden olabilir. DNA'ya oksidatif saldırı, deoksiriboz oksidasyonu, iplikçik kırılması, nükleotitlerin çıkarılması, nükleotitlerin organik bazlarındaki modifikasyon çeşitleri ve DNA-protein

çapraz bağlamalarına neden olur. Ayrıca, bir iplikçikte bulunan nükleotitlerdeki değişiklikler, diğer iplikçikte bulunan nükleotitlerle uyumsuzluklara neden olabilir ve bu da daha sonraki mutasyonları verir. DNA'nın hem şeker hem de baz kısımları ROS tarafından oksidasyona duyarlıdır. Hidroksil radikalının tüm purin ve pirimidin bazları ve aynı zamanda deoksiriboz omurgası ile reaksiyona girdiği bilinmektedir (Sharma ve ark 2012). 8-Hidroksiguanin en sık görülen DNA baz mutasyon ürünüdür. Hasar gören DNA için onarım sistemi var olmasına rağmen, serbest radikallerin neden olduğu aşırı değişiklikler, DNA için zararlı etkileri olan kalıcı hasara yol açar.

2.9. Antioksidan Tanımı ve Sınıflandırılması

Oksijen canlı yaşamı için vazgeçilmez bir elementtir (Bucci 2009). Hücreler enerji üretmek için oksijen kullandıklarında mitokondri tarafından adenzin trifosfat (ATP) üretimi gerçekleşmekte ve sonucunda serbest radikaller üretilmektedir. Canlı organizmalarda serbest radikallerin verdiği zararı en aza indirmek ya da tamamen ortadan kaldırmak için antioksidanlar olarak isimlendirilen savunma mekanizmaları mevcuttur. Endojen ve ekzogen antioksidanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılır (Gupta ve ark 2014). Bu antioksidanlar Çizelge 2.13., Çizelge 2.14. ve Çizelge 2.15. de gösterilmiştir.

2.9.1. Endojen Antioksidanlar

Enzimatik antioksidanlar

Çizelge 2.13. Enzimatik antioksidanlar ve fonksiyonları

Enzimatik antioksidanlar	Fonksiyonları	Hücre içi lokalizasyonu
Süperoksit dismutaz (SOD)	Süperoksit radikalini, ortamdan uzaklaştırır. $O_2^{\bullet-} + O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow 2H_2O_2 + O_2$	Peroksizom, mitokondri, sitozol ve kloroplast
Katalaz (CAT)	Hidrojen peroksiti moleküler oksijen ve suya parçalar. $2H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2H_2O$ Düşük konsantrasyondaki hidrojen peroksiti ortamdan uzaklaştırır.	Peroksizom ve mitokondri
Glutasyon peroksidaz (GPx)	$H_2O_2 + 2GSH \rightarrow GSSG + 2H_2O$	Mitokondri, sitoplazma, kloroplast ve endoplazmik retikulum
Glutasyon redüktaz (GRx)	Hücre içi glutasyon indirgenmesi ve yükseltgenmesini sağlar. $GSSG + NADPH \rightarrow 2GSH + NADP^+$	Mitokondri, sitoplazma ve kloroplast

Enzimatik olmayan antioksidanlar

Çizelge 2.14. Enzimatik olmayan antioksidanlar ve fonksiyonları

Antioksidanlar	Fonksiyon
Albumin	Demir ve bakırı bağlar HOCl yi ortamdandan süpürür.
Serüloplazmin	Hidrojen peroksiti kullanarak bakırın yeniden oksitlenmesini sağlar.
Transferin	Ferrik haldeki demir iyonlarını bağlar.
Laktoferin	Düşük pH'da ferrik demir iyonlarını bağlar.
Haptoglobulinler	Hemoglobini bağlar.
Askorbik asit	Hidroksil radikallerinin ortamdandan uzaklaştırılmasını sağlar.
Hemopeksin	Hem grubunu bağlar.
Bilirubin	Peroksil radikallerini ortamdandan süpürür.
Mukus	Hidroksil radikallerini ortamdandan süpürür.
Ürat	Radikal süpürücü ve metal bağlayıcıdır.
Glikoz	Hidroksil radikallerini ortamdandan süpürür.

2.9.2. Ekzojen Antioksidanlar

Ekzojen antioksidanlar

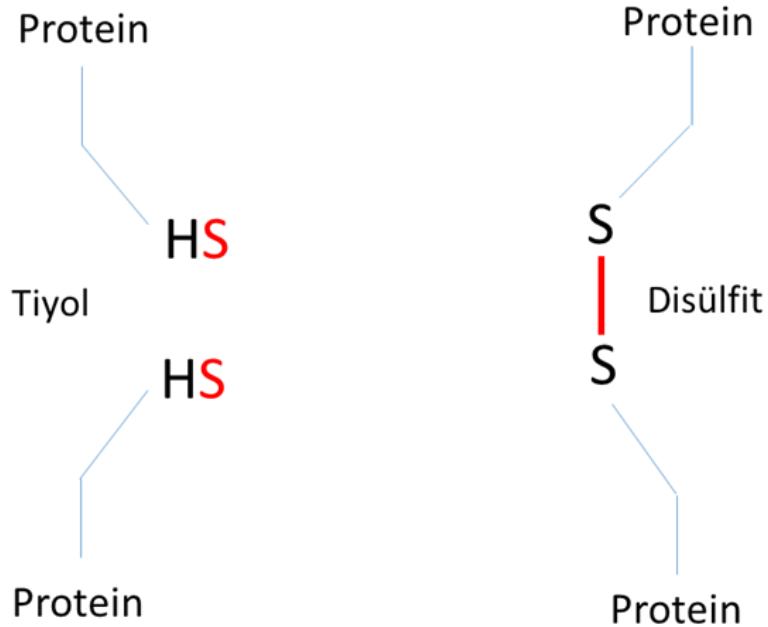
Çizelge 2.15. Ekzojen antioksidanlar ve fonksiyonları

Antioksidanlar	Fonksiyon
Askorbik asit (Vitamin C)	Hidroksil radikallerinin temizlenmesini sağlar.
Alfa tokoferol (Vitamin E)	Zincir kırıcı etkiye sahiptir ve yağda çözünür.
Beta – karoten (Vitamin A)	Güçlü bir antioksidandır.

2.10. Tiyoller

Merkaptan olarak da adlandırılan tiyoller (RSH), organik bileşikler sınıfından olup canlı organizmadaki ana proteinlerin yapısında bulunan ve bir sülfidril grup (-SH) ihtiva eden fonksiyonel gruplardır (Sen ve Packer 2000, Omma ve ark 2017). Antioksidan özelliğe sahip tiyoller bir adet sülfür atomu ve hidrojen atomunun karbon atomuna bağlanması sonucunda meydana gelmektedir (Sen ve Packer 2000, Inal ve ark 2017). (Şekil 2.10). Plazma tiyol havuzunun büyük çoğunluğu albümin tiyoller ve protein tiyollerden

oluşurken geri kalanı ise az oranda sistein (Cys), sisteinglisin, GSH, homosistein ve γ -glutamilsistein gibi düşük molekül ağırlıklı tiyollerden oluşur (Turell ve ark 2013). Tiyoller, oksidatif stress sonucunda meydana gelen oksidanlar tarafından oksidasyon reaksiyonlarına maruz kalarak disülfid (RSSR) bağlarını oluştururlar (Cremers ve Jakob 2013). Disülfid bağ kovalent bir bağdır ve bağlanma bölgesi SS-bağı veya disülfid köprüsü olarak da adlandırılır. GSH gibi düşük molekül ağırlıklı tiyoller, okside olmuş tiyol gruplarının indirgenmesi ve oksidatif hasara karşı koruma için gereklidir. Hipoksik koşullarda, tiyollerin oksitleyiciler ile oksitlenmesi, esasen, albüminin oksitlenmiş bir şekli olan sülfenik asit (RSOH) oluşumuna yol açar. Sülfenik asit, tersinir disülfidler oluşturabilir veya aşırı oksidan varlığında, geri döndürülemez bir süreç olan sülfirik (RSO₂H) ve sülfonik asitlere (RSO₃H) okside edilebilir. Bu oksitlenmiş albümin formları nispeten kısa yarılanma ömrüne sahiptir ve karaciğer hücreleri tarafından dolaşımdan süpürülür (Peters Jr 1995, Turell ve ark 2013). Serbest radikaller ile antioksidanlar arasındaki dengesizlik, çoğunluğu albümin olan organik sülfür türevlerini (-SH) etkiler ve redoks hemostazında önemli rol oynar. Oksidatif stresdeki artış, protein tiyol grupları arasında dinamik disülfid bağlarının geri dönüşümlü oluşumunda dengesizliğe yol açar (Ghezzi ve ark 2005, Erel ve Neselioglu 2014).



Şekil 2.10. Tiyol ve disülfid yapısı.

2.10.1. Dinamik Tiyol-Disülfit Dengesi

Tiyoller, oksidatif stress durumunda oluşan oksidanlar tarafından oksidasyon reaksiyonlarına maruz kalarak disülfit (RSSR) bağlarını oluştururlar (Cremers ve Jakob 2013). Disülfit bağ kovalent bir bağdır ve bağlanma bölgesi SS-bağı veya disülfit köprüsü olarak da adlandırılır. Oluşan disülfit bağlar tekrardan tiyol gruplarına indirgenebilir ve bu sayede dinamik tiyol disülfit dengesi sağlanmış olur (Jones ve Liang 2009). Dinamik tiyol-disülfit dengesi antioksidan koruma, detoksifikasyon, sinyal iletimi, apoptosis, enzimatik aktivitelerin düzenlenmesi, transkripsiyon faktörleri ve hücrel sinyal mekanizmalarında önemli role sahiptir (Biswas ve ark 2006, Circu ve Aw 2010) . Anormal tiyol-disülfit denge durumu diyabet hastalığı (Matteucci ve Giampietro 2010), kardiyovasküler hastalıklar (Go ve Jones 2011), kanser (Prabhu ve ark 2014), romatoid artrit (Tetik ve ark 2010) , kronik böbrek yetmezliği (Rodrigues ve ark 2012), AIDS (Sbrana ve ark 2004), parkinson hastalığı, alzheimer hastalığı, multiple skleroz ve amyotropik lateral skleroz (Sbrana ve ark 2004, Calabrese ve ark 2005, Smeyne ve Smeyne 2013) ve karaciğer bozuklukları gibi çeşitli hastalıkların patogenezi ile ilişkilidir (Steele ve ark 2013). Bu yüzden, dinamik tiyol- disülfit dengesinin belirlenmesi çeşitli normal ve anormal biyokimyasal süreçler hakkında önemli bilgiler sağlayarak oksidatif stress düzeyinin indirek olarak ölçülmesini sağlar (Erel ve Neselioglu 2014, Omma ve ark 2017).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubu

Bu çalışmaya Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Nefroloji polikliniğinde takip edilen ve haftada 3 kez hemodiyaliz tedavisi alan 30 adet hemodiyaliz (HD) hastası [17 E (% 56) , 13 K (% 44)], 30 adet KBH (evre 3-5) hastası [19 E (% 63), 11 K (% 37)] ve 30 adet sağlıklı kontrol [18 E (% 60), 12 K (% 40)] çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen tüm hastaların yaş ortalaması 49.7 ± 11.7 idi. Çalışmaya dahil edilen hasta gruplarının yaş ortalamaları ise HD grubu için 47.8 ± 6.2 , KBH (evre 3-5) grubu için 50.2 ± 10.1 ve kontrol grubu için 51.0 ± 16.4 idi. HD hasta grubunun ortalama diyaliz süresi 70.1 ± 45.0 ay idi. Akut ve kronik enfeksiyonu, kronik inflamatuvar hastalığı olanlar, hematolojik hastalığı olanlar ile malignensi tanısı olan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Kontroller, kan merkezine başvuran herhangi kronik bir hastalığı olmayan yaş ve cins uyumlu sağlıklı bireylerden oluşturuldu. Çalışmaya dahil edilen bireylerin yaş, cinsiyet gibi demografik bilgileri, kullandığı ilaçlar ve önceden geçirmiş olduğu hastalıklar, diyaliz işlemi aldıkları süreler sorgulandı ve kaydedildi. Hastaların vücut kitle indeksi (VKİ) kg/m^2 formülü kullanılarak hesaplandı ve kaydedildi.

Çalışmaya dahil edilen KBH (evre 3-5) ve HD hastaları ile sağlıklı kontroller aşağıdaki şekilde gruplandırıldı. Hemodiyaliz tedavisi alan hastaların bazı değerleri diyaliz öncesi ve sonrası olmak üzere iki gruba ayrıldı.

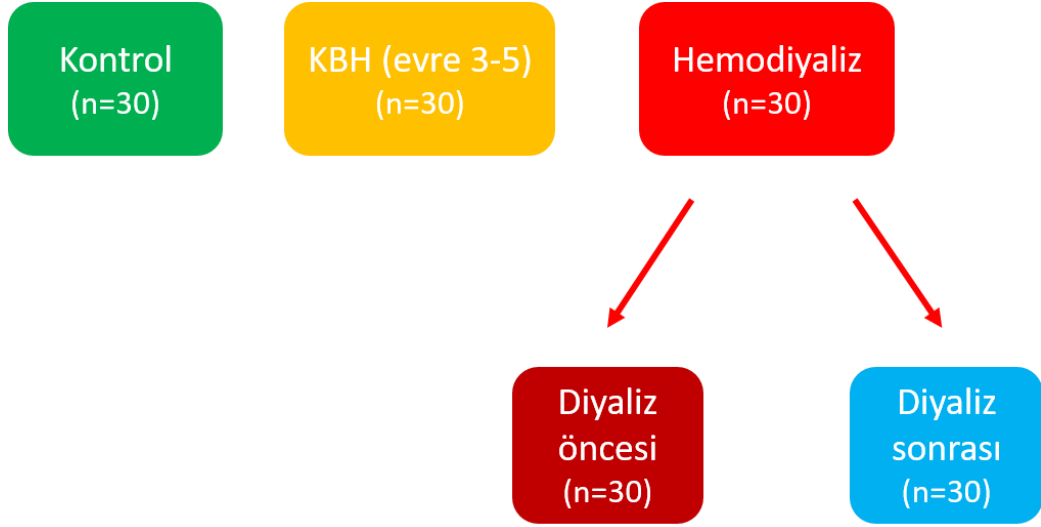
Grup I. Kontrol grubu (30)

Grup II. KBH (evre 3-5) hasta grubu (30)

Grup III. Hemodiyaliz hasta grubu (30)

Grup III A: Diyaliz öncesi (30)

Grup III B: Diyaliz sonrası (30)



Şekil 3.1. Çalışma gruplarının şematik gösterimi.

3.2. Etik Kurul Onayı

Çalışmaya dahil edilen KBH (evre 3-5) ve hemodiyaliz hastalarından ve sağlıklı kontrollerden Helsinki etik konular bildirgesi şartlarına uygun olarak tıbbi onam alınmıştır. Etik onay için, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı tarafından **05.07.2017** tarih ve **23017/128** protokol kodu ile etik onayı alınmıştır.

3.3. Örneklerin Toplanması

Sağlıklı kontrol ve KBH (evre 3-5) hasta grubunun kan örnekleri uzman kan alma personeli tarafından sabah aç karnına alındı. HD hasta grubuna ait kan örnekleri ise diyaliz öncesi ve diyaliz sonrası olmak üzere, uzman kan alma personeli tarafından sabah aç karnına alındı. Biyokimyasal çalışmalar için kan örnekleri düz jelli tüplere (BD Vacutainer SST II Advance) alındı. Native ve total tiyol ölçümü için kan örnekleri lityum heparinli tüplere (BD Vacutainer), hemogram örnekleri ise EDTA'lı tüplere alındı. Biyokimya tüplerine alınan örnekler 1500g x 10 dk santrifüj edilerek serum ve plazmalarına ayrıldı. Santrifüj işleminden sonra ayrılan serum ve plazmalar porsiyonlanarak -80°C'de derin dondurucuya koyularak çalışma gününe kadar muhafaza edildi. Hemogram örnekleri ise aynı gün çalışıldı ve sonuçlar kaydedildi.

3.4. Kullanılan Cihaz ve Kimyasallar

Örneklerin muhafaza edilmesi için derin dondurucu (New Brunswick Scientific U570), Soğutmalı Santrifüj (Thermo Scientific SL 16 R, UK). Ultra saf su cihazı (ELGA, UK), kalibre edilmiş pipet (Thermo Scientific, FINNIPETTE F₂ Finland) kullanıldı.

İndirgenmiş glutasyon (GSH), Okside glutasyon (GSSG), Albumin, 2-merkaptoetanol, 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoikasıit (DTNB), Hidrojen peroksit (H₂O₂), Kloramine-T, Etilendiamintetraasetikasit (EDTA), NaBH₄, TRIS, NaOH, metanol ve formaldehit. Tüm kimyasallar Sigma-Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, WI) and Merck Co. (Darmstadt, Germany) firmasından alınmış olup ultrasaflıkta idi.

3.5. Örneklerin Çalışılması

3.5.1. Rutin Biyokimyasal Parametrelerin Ölçülmesi

Biyokimyasal ölçümler, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında bulunan otoanalizör (Abbot Architect C-8000) kullanılarak spektrofotometrik olarak yapılmıştır. Hemogram örnekleri ise tam kan sayım cihazı kullanılarak yapılmıştır (Mindray BC 6800- China). Ölçüm metotları Çizelge 3.1.de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Rutin biyokimyasal ve hemogram parametrelerin ölçüm metotları

Hemogram parametreleri	Çalışma Metodu
HGB	Fotometrik
HCT	Empedans
WBC	Laser
Biyokimya parametreleri	
ALB	Brom krezol yeşili (BCG), fotometrik
BUN	Üreaz, kolorimetrik
Kreatinin	Alkali pikrat/deproteinizasyonsuz
Sodyum	ISE, indirekt
Potasyum	ISE, indirekt
Klor	ISE, indirekt
CRP	Nefelometrik

3.5.2. Serum PON1 Düzeylerinin Ölçülmesi

Çalışma gruplarındaki serum Paraoksonaz 1 (PON1) enzim aktivite düzeyleri ticari kitler kullanılarak spektrofotometrik olarak Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında bulunan otoanalizör (Abbot Architect C-8000) ile belirlenmiştir.

3.5.3. Oksidatif Stres Parametreleri

3.5.3.1. Total Antioksidan Seviye (TAS)

Tüm gruplardaki TAS seviyeleri Erel tarafından geliştirilen tam otomatik bir yöntem ile Rel Assay marka ticari kitler (Rel Assay Kit Diagnostics, Türkiye) kullanılarak ölçüldü ve kalibratör olarak Trolox kullanıldı. Elde edilen çalışma sonuçları mmol Trolox equiv./lt olarak ifade edildi (Erel 2004).

3.5.3.2. Total Oksidan Seviye (TOS)

Tüm gruplardaki TOS seviyeleri Erel tarafından geliştirilen tam otomatik bir yöntem ile Rel Assay marka ticari kitler (Rel Assay Kit Diagnostics, Türkiye) kullanılarak ölçüm yapıldı ve kalibratör olarak hidrojen peroksit (H₂O₂) kullanıldı. Elde edilen çalışma sonuçları µmol H₂O₂ equiv./lt olarak ifade edildi (Erel 2005).

3.5.3.3. Oksidatif Stress İndeksi (OSİ)

Tüm gruplardaki OSİ seviyeleri, çalışma gruplarındaki TOS seviyelerinin TAS seviyelerine oranlanarak elde edilen sonucun yüz ile çarpımı sonucunda hesaplandı. Bu hesaplama işlemi yapılırken TAS testinin birimi olan mmol değeri TOS testinin birimi olan µmol birimine çevrim işlemi yapıldı. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki formüle göre hesaplandı ve arbitrary unit (AU) olarak ifade edildi (Erel 2005).

$$OSİ = \frac{TOS, \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ equiv./lt}}{TAS, \text{mmol Trolox equiv./lt}}$$

3.5.4. Dinamik Tiyol- Disülfid Parametlerinin Ölçümü

3.5.4.1. Total ve Native Tiyol Ölçümü ve Disülfid Hesaplaması

Erel ve ark.'nın Modifiye Ellman yöntemi kullanılarak total tiyol ve native tiyol ölçümü yapıldı. Total tiyol ölçümü için kullanılacak reaktif 1 (R1), native tiyol ölçümü için kullanılacak reaktif ise (R1') olarak isimlendirildi. Total tiyol ve native tiyol ölçümünde kullanılacak bu ilk reaktifler farklı iken diğer reaktifler aynıydı.

R1, 378 mg sodyum borhidrat (NaBH_4)'ın 1000 mL su-metanol solüsyonu içinde (1/1 hacim oranı ile) son konsantrasyonu 10 mM olacak şekilde çalışmanın yapılacağı gün taze olarak hazırlanarak kullanıldı. Bu indirgeyici solüsyon total tiyol miktarını belirlemek için kullanıldı. R1' 585 mg sodyum klorür (NaCl)'ın 1000 mL su- metanol solüsyonu içinde (1/1 hacim oranı ile) son konsantrasyonu 10 mM olacak şekilde çalışmanın yapılacağı gün taze olarak hazırlandı. Elde edilen reaktif +4 °C de 6 ay süre ile saklanabilir özellikteydi. Bu solüsyon native tiyol miktarını belirlemek için kullanıldı.

Reaktif 2 (R2), son konsantrasyonu 6.715 mM olan 0.5 mL formaldehitin ve son konsantrasyonu 10 mM olan 3.8 g Etilendiamin tetra asetik asit (EDTA)'nın 1000 mL Tris tampon içerisinde, 100 mM ve pH 8.2 de çözülerek taze olarak hazırlandı. Elde edilen reaktif +4 °C de 6 ay süre ile saklanabilir özellikteydi. Bu solüsyon total ve native tiyol ölçümünde kullanıldı. Reaktif 3 (R3) 3.963 g 5,5'-ditiyobis-2-nitrobenzoik asit (DTNB) 1000 mL metanol içerisinde son konsantrasyonu 10 mM olacak şekilde çalışma gününde taze olarak hazırlandı. Bu solüsyon total ve native tiyol ölçümünde kullanıldı.

Total ve native tiyol ölçümü prensibi: Total tiyol miktar ölçümü için, 10 µl R1 (native tiyol miktarı ölçümü için 10 µl R1') ile 10 µl örnek karıştırıldı. Akabinde R2 ve R3 ilave edilerek 415 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ilk absorbans okuması (A1) yapıldı (Schimadzu UV-1800 spektrofotometre, Kyoto, Japonya). İkinci absorbans (A2) okuması aynı dalga boyunda reaksiyonun plato yaptığı 10. dakikada yapıldı. Absorbans farkı (A2-A1) elde edilerek ölçüm tamamlandı. Total tiyol ve native tiyol seviyelerinin belirlenmesinde 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit (TNB)'in molar ekstinksiyon katsayısı olan 14.100 mol/L-1 cm-1 kullanıldı.

Disülfid seviyesinin ölçümü [(total tiyol- native tiyol)/2] formülünden yararlanılarak hesaplandı.

3.5.5. İMA Düzeyinin Belirlenmesi

İskemi Modifiye Albümin (İMA) düzeyleri Bar-Or ve ark. tarafından geliştirilen albümin kobalt bağlama testi ile belirlendi. Bu test örnek içerisindeki albüminin bağlama kapasitesini ölçmektedir. Kısaca bu yöntem, seruma bilinen miktarda kobalt eklenerek bağlanmayan kobaltın, ditiotreitol (DTT) ile bağlanması ve 480 nm de spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır. Elde edilen sonuçlar absorbans ünitesi (ABSU) olarak ifade edildi (Abbot Architect C-8000).

3.6. ELISA Yöntemi ile Ölçülen Parametreler

3.6.1. Serum TNF-Alfa Tayini:

Serum TNF-Alfa analizi için Elisa yöntemi ile uyumlu ve bu yöntem ile çalışan ticari elisa kiti kullanıldı (Elabscience Human TNF-Alfa ELISA Kit, Katalog no: E-EL-H0109). Elisa kit plaklarındaki optik dansite (OD) 450 nm dalga boyunda elisa cihazında okuma yapıldı (Thermo Scientific- MultiscanGoUV). Çalışma konsantrasyonları four parametrik logistik kalibrasyon (4PL) eğrisi kullanılarak hesaplandı ve elde edilen değerler pg/mL olarak ifade edildi. Çalışmadaki analiz aralığı 7.81-500 pg/mL ve hassasiyet ise 4.69 pg/mL idi.

3.6.2. Serum Tiyoredoksin Redüktaz (TrxR) Tayini:

Serum TrxR analizi için Elisa yöntemi ile uyumlu ve bu yöntem ile çalışan ticari elisa kiti kullanıldı (Bioassay Human TrxR ELISA Kit, Katalog no: E3953Hu). Elisa kit plaklarındaki optik dansite (OD) 450 nm dalga boyunda elisa cihazında okuma yapıldı (Thermo Scientific- MultiscanGoUV). Çalışma konsantrasyonları four parametrik logistik (4PL) kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplandı ve elde edilen değerler ng/mL olarak ifade edildi. Çalışmadaki analiz aralığı 0.05-30 ng/mL ve hassasiyet ise 0.026 ng/mL idi. Çalışma örnekleri 8 kat dilüsyon işlemi yapılarak çalışıldı. Elde edilen sonuçlar dilüsyon katsayısı ile (8) çarpılarak ifade edildi.

3.7. İstatistiksel Analiz

Çalışma sonucunda elde edilen veriler SPSS 21,0 (IBM, USA) paket programı kullanılarak analiz edildi. Sayısal değişkenler için tanımlayıcı istatistik ortalama, standart sapma, medyan, minimum ve maksimum olarak verildi. Kategorik değişkenler için tanımlayıcı istatistik ise sayı ve yüzde olarak verildi. Grupların normal dağılıma uyup uymadıkları Shapiro Wilk testi ile belirlendi. İki den fazla grup arasındaki farklılık normal dağılım gösteren veriler için ANOVA testi ile normal dağılım göstermeyen veriler için Kruskal- Wallis testi ile karşılaştırıldı. Diyaliz öncesi ve diyaliz sonrası parametrelerin karşılaştırılması normal dağılıma uyan grupta Paired Sample T test, normal dağılıma uymayan grupta Wilcoxon Signed Rank test ile gerçekleştirildi. Korelasyon analizi için Pearson korelasyon testi uygulandı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Demografik Özellikleri

Çalışmaya dahil edilen kontrol ve hasta gruplarının demografik bilgileri aşağıdaki Çizelge 4.1. de gösterilmiştir. Buna göre gruplar arasında yaş, cinsiyet ve VKİ açısından istatistiksel anlamlılık yoktu.

Çizelge 4.1. Kontrol ve hasta grupların demografik özellikleri

Demografik bilgiler	Kontrol	KBH (evre3-5)	Hemodiyaliz	p
Hasta sayısı (n)	30	30	30	
Cinsiyet	-	-	-	0.857
- Kadın (%)	12 (% 40)	11 (% 37)	13 (% 44)	
- Erkek (%)	18 (% 60)	19 (% 63)	17 (% 56)	
Yaş (yıl) (x±s)	51.0 ±16.4	50.2 ± 10.1	47.8 ± 6.2	0.529
VKİ (kg/m ²) (x±s)	26.6 ± 3.3	27.3 ± 4.4	24.1 ± 6.4	0.396

x: ortalama, s: standart sapma

Hemodiyaliz hastalarının altta yatan böbrek hastalıkları dağılımı şu şekildedir. Diyabetes Mellitus (DM) %33 (10 hasta), Hipertansiyon %30 (9 hasta), Kronik glomerülonefrit %27 (8 hasta) ve diğer nedenler %10 (3 hasta).

4.2. Çalışma Gruplarında Ölçülen Analitler

Çalışmaya dahil edilen kontrol grubu ve hasta gruplarının hemogram ve biyokimya parametreleri Çizelge 4.2. de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Kontrol ve hasta gruplarındaki biyokimyasal parametrelerin düzeyleri

Analitler	Kontrol (n=30)	KBH (evre3-5) (n=30)	Hemodiyaliz (n=30)	p
HGB (g/dL)	13.6 ± 1.89	11.8 ± 1.89	11.5 ± 1.51	0.003 ^a , 0.001 ^b , 0.930 ^c
HCT (%)	41.2 ± 4.76	35.6 ± 5.32	36.5 ± 4.91	0.001 ^a , 0.001 ^b , 0.898 ^c
WBC (10 ³ /μL)	7.11 ± 1.78	8.32 ± 1.75	7.93 ± 2.36	0.038 ^a , 0.408 ^b , 0.862 ^c
ALB (g/dL)	4.02 ± 0.66	4.01 ± 0.36	3.97 ± 0.24	1.0 ^a , 0.982 ^b , 0.936 ^c
BUN (mg/dL)	12.4 ± 3.60	31.5 ± 13.5	66.9 ± 16.2	0.001 ^a , 0.001 ^b , 0.001 ^c
**Kreatinin (mg/dL)	0.96 ± 0.64	2.70 ± 1.28	10.0 ± 2.73	0.001 ^a , 0.001 ^b , 0.001 ^c
median (min-max)	0.74 (0.6;3.8)	2.5 (0.98;5.2)	9.8 (5.2;14.9)	
**CRP (mg/L)	4.02 ± 1.13	6.54 ± 3.01	9.86 ± 5.56	0.002 ^a , 0.001 ^b , 0.028 ^c
median (min-max)	3.1 (3.1;6.0)	5.3 (4.1;15.0)	9.6 (1.2;20.9)	
Sodyum (mmol/L)	138.8 ± 1.11	136.5 ± 2.16	139.7 ± 2.85	0.015 ^a , 0.488 ^b , 0.001 ^c
**Potasyum (mmol/L)	4.61 ± 0.45	4.76 ± 0.62	6.08 ± 0.85	0.222 ^a , 0.001 ^b , 0.001 ^c
median (min-max)	4.5 (4.0;5.6)	5.0 (3.6 ;6.0)	6.1 (4.3;8.5)	
**Klor (mmol/L)	99.5 ± 9.56	93.7 ± 20.3	103.7 ± 4.70	0.410 ^a , 0.086 ^b , 0.033 ^c
median (min-max)	104 (73;108)	103 (52;119)	104 (92;116)	

*ANOVA, ** Kruskal Wallis a: Kontrol ve KBH (evre 3-5) ,b: Kontrol ve Hemodiyaliz, c: KBH (evre3-5) ve Hemodiyaliz

4.3. Çalışma Gruplarında Tiyol-Disülfid Denge Parametrelerinin ve İMA Düzeylerinin Karşılaştırılması

Çalışmaya dahil edilen kontrol grubu ve hasta grupların tiyol-disülfid ve İMA düzeyleri Çizelge 4.3.de gösterilmiştir. Native tiyol, total tiyol ve disülfid parametreleri üç grup arasında istatistiksel olarak önemli derecede anlamlı bulundu ($p=0.001$). KBH (evre 3-5) ve hemodiyaliz grubu arasında native ve total tiyol parametreleri iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0.665$, $p=0.999$). Bunun yanında, disülfid düzeyleri iki grupta istatistiksel olarak önemli derecede anlamlı bulundu ($p=0.001$). İMA düzeyleri kontrol ve KBH (evre 3-5) ile kontrol ve hemodiyaliz grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.001$).

Çizelge 4.3. Kontrol ve hasta grupların tiyol-disülfid ve İMA düzeylerinin karşılaştırılması

Parametreler	Kontrol (n=30)	KBH (evre 3-5) (n=30)	Hemodiyaliz (n=30)	p
Native Tiyol ($\mu\text{mol/L}$)	463.1 \pm 69.1	230.7 \pm 59.9	202.6 \pm 79.7	0.001 ^a ,0.001 ^b ,0.665 ^c
Total Tiyol ($\mu\text{mol/L}$)	495.7 \pm 68.7	267.7 \pm 66.4	264.9 \pm 98.6	0.001 ^a ,0.001 ^b ,0.999 ^c
Disülfid ($\mu\text{mol/L}$)	16.3 \pm 4.8	18.5 \pm 7.4	31.2 \pm 12.3	0.547 ^a ,0.001 ^b ,0.001 ^c
Disülfid / Native tiyol (%)	3.6 \pm 1.46	8.5 \pm 4.4	20.7 \pm 14.6	0.001 ^a ,0.001 ^b ,0.001 ^c
Disülfid /Total tiyol (%)	3.3 \pm 1.2	7.0 \pm 3.3	13.4 \pm 6.5	0.001 ^a ,0.001 ^b ,0.001 ^c
Native tiyol / Total tiyol (%)	93.3 \pm 2.5	85.7 \pm 5.7	73.4 \pm 13.1	0.001 ^a ,0.001 ^b ,0.001 ^c
İMA (ABSU)	0.65 \pm 0.06	0.88 \pm 0,22	0.91 \pm 0.17	0.001 ^a ,0.001 ^b ,0.935 ^c

*ANOVA, a: Kontrol ve KBH (evre 3-5) ,b: Kontrol ve Hemodiyaliz, c: KBH (evre 3-5) ve Hemodiyaliz

4.4. Plazmada Ölçülen Dinamik Tiyol-Disülfid Parametreleri ile Serumda Ölçülen Böbrek Fonksiyon Testleri ve Oksidatif Stres Parametreleri Arasındaki Korelasyon

Çalışmaya dahil edilen kontrol ve hasta gruplarının plazmalarında ölçülen dinamik tiyol-disülfid parametreleri ile serumlarında ölçülen böbrek fonksiyon testleri ve oksidatif stres parametreleri Çizelge 4.4. de gösterilmiştir. Native tiyol ve total tiyol düzeyleri İMA, BUN ve Kreatinin ile anlamlı ve negatif yönde yüksek bir korelasyon göstermiştir. Bunun yanında, GFH ile anlamlı ve pozitif yönde yüksek bir korelasyon göstermiştir. Disülfid ile yaş ve GFH arasında korelasyon yoktu (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Çalışma gruplarında ölçülen ve hesaplanan parametreler arasındaki korelasyonlar

Parametreler		Yaş	BUN	Kreatin	GFH	TAS	TOS	OSİ	İMA
Native Tiyol (µmol/L)	r	0.166	-0.747	-0.732	0.835	-0.389	-0.573	-0.380	-0.628
	p	0.124	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
Total Tiyol (µmol/L)	r	0.164	-0.747	-0.721	0.824	-0.383	-0.560	-0.364	-0.631
	p	0.126	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
Disülfit (µmol/L)	r	-0.057	0.143	0.254	-0.084	0.163	0.211	0.171	0.056
	p	0.603	0.240	0.020	0.537	0.192	0.057	0.123	0.617
Disülfit/Native Tiyol (%)	r	-0.097	0.597	0.672	-0.672	0.078	0.481	0.389	0.347
	p	0.373	0.001	0.001	0.001	0.197	0.001	0.001	0.001
Disülfit/Toplam Tiyol (%)	r	-0.098	0.651	-0.682	-0.682	0.269	0.470	0.351	0.390
	p	0.361	0.001	0.001	0.001	0.013	0.001	0.001	0.001
Native T. /Total Tiyol (%)	r	0.099	-0.651	-0.725	0.682	-0.269	-0.470	-0.351	-0.390
	p	0.361	0.001	0.001	0.001	0.013	0.001	0.001	0.001

*Pearson korelasyon test

4.5. Hemodiyaliz Tedavisi Alan Hastalarda Tiyol-Disülfit Denge Parametrelerinin ve İMA Düzeylerinin Karşılaştırılması

Hemodiyaliz hasta grupta HD (giriş) ve HD (çıkış) tiyol –disülfit denge parametreleri ile Alb ve İMA düzeyleri Çizelge 4.5. de gösterilmiştir. Native ve total tiyol düzeyleri iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.001$). Disülfit düzeyleri ise iki grupta istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p = 0.152$). Bunun yanında iki grup arasında Alb düzeyleri açısından anlamlı fark bulunurken ($p = 0.001$), İMA düzeyleri arasında istatistiksel anlamlılık gözlenmedi ($p = 0.475$). İki grupta CRP düzeyleri açısından istatistiksel olarak önemli derecede anlamlı fark bulundu ($p = 0.001$).

Çizelge 4.5. Hemodiyaliz hastalarında tiyol-disülfid denge parametrelerinin ve İMA düzeylerinin karşılaştırılması

Parametreler	HD (giriş) (n=30)	HD (çıkış) (n=30)	p
Native tiyol (µmol/L)	202.6 ± 79.7	305.2 ± 78.2	0.001
Total tiyol (µmol/L)	264.9 ± 98.6	358.5 ± 83.2	0.002
Disülfid (µmol/L)	31.2 ± 12.3	26.6 ± 7.71	0.152
Disülfid / Native tiyol (%)	20.7 ± 14.6	9.2 ± 3.3	0.001
Disülfid / Total tiyol (%)	13.4 ± 6.5	7.65 ± 2.34	0.001
Native tiyol / Total tiyol (%)	73.4 ± 13.1	84.7 ± 4.63	0.001
Alb (g/dL)	3.97 ± 0.24	4.97 ± 0.71	0.001
İMA (ABSU)	0.91 ± 0.17	0.87 ± 0.17	0.475
TAS(mmol Trolox equiv./lt)	1.14 ± 0.24	0.65 ± 0.28	0.001
TOS (µmol H ₂ O ₂ equiv./lt)	27.1 ± 11.2	75.1 ± 40.2	0.007
OSİ (AU)	2.5 ± 1.1	12.4 ± 8.3	0.001
*PON1 (U/L)	223.7 ± 176.7	240.8 ± 130.4	0.751
median (min-max)	145.4(52.2;748.1)	238.9(41.8;463.5)	
TrxR (ng/mL)	27.3 ± 19.9	28.3 ± 19.4	0.555

P<0.05, Paired T test , * Wilcoxon Signed Rank test

4.6. Hemodiyaliz Tedavisi Alan Hastaların Tiyol-Disülfid Parametrelerinin Albümine Göre Düzeltilmesi

Hemodiyaliz tedavisi alan grupta HD (giriş) ve HD (çıkış) tiyol –disülfid denge parametrelerinin albümine göre düzeltilmiş sonuçları Çizelge 4.6 da gösterilmiştir. Albümine göre düzeltme işlemi sonrasında native ve total tiyol düzeylerinde istatistiksel anlamlılık kaybolmuştur. Bunun yanında, disülfid düzeylerinde ise istatistiksel anlamlılık ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.6).

Albümine göre düzeltme işlemi aşağıdaki formüle göre yapılmıştır (Korevaar ve ark 2004).

$$\text{Düzeltilmiş Native Tiyol} = \text{Ölçülen native tiyol} \times \frac{\text{Diyaliz giriş alb}}{\text{Diyaliz çıkış alb}}$$

$$\text{Düzeltilmiş Total Tiyol} = \text{Ölçülen total tiyol} \times \frac{\text{Diyaliz giriş alb}}{\text{Diyaliz çıkış alb}}$$

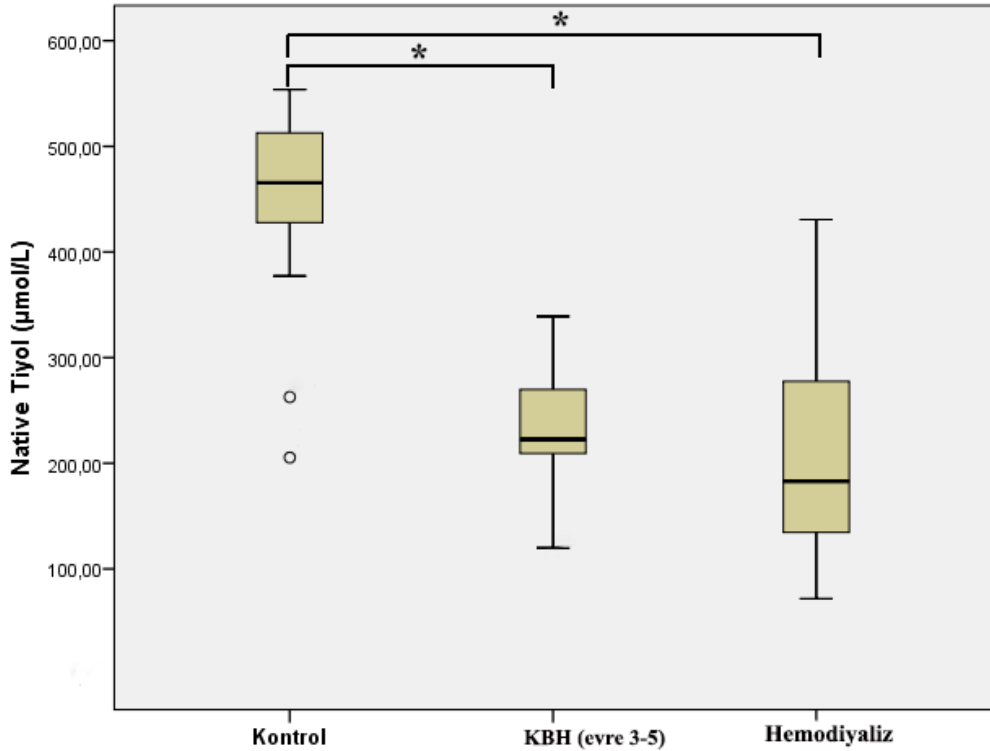
$$\text{Düzeltilmiş Disülfid} = \text{Hesaplanan disülfid} \times \frac{\text{Diyaliz giriş alb}}{\text{Diyaliz çıkış alb}}$$

Çizelge 4.6. Hemodiyaliz hastalarında tiyol-disülfid parametrelerinin albümine göre düzeltilmiş sonuçlarının karşılaştırılması

Parametreler	HD (giriş) (n=30)	HD (çıkış) (n=30)	p
Düzeltilmiş Native tiyol ($\mu\text{mol/L}$)	202.6 \pm 79.7	244.0 \pm 55.6	0.143*
Düzeltilmiş Total tiyol ($\mu\text{mol/L}$)	264.9 \pm 98.6	286.5 \pm 56.4	0.567*
Düzeltilmiş Disülfid ($\mu\text{mol/L}$)	31.2 \pm 14.6	21.2 \pm 5.49	0.001*
Düzeltilmiş Disülfid / Native tiyol (%)	20.7 \pm 14.6	7.42 \pm 2.70	0.001*
Düzeltilmiş Disülfid / Total tiyol (%)	13.4 \pm 6.5	6.17 \pm 1.95	0.001*
Düzeltilmiş Native tiyol / Total tiyol (%)	73.4 \pm 4.55	68.9 \pm 12.4	0.062*

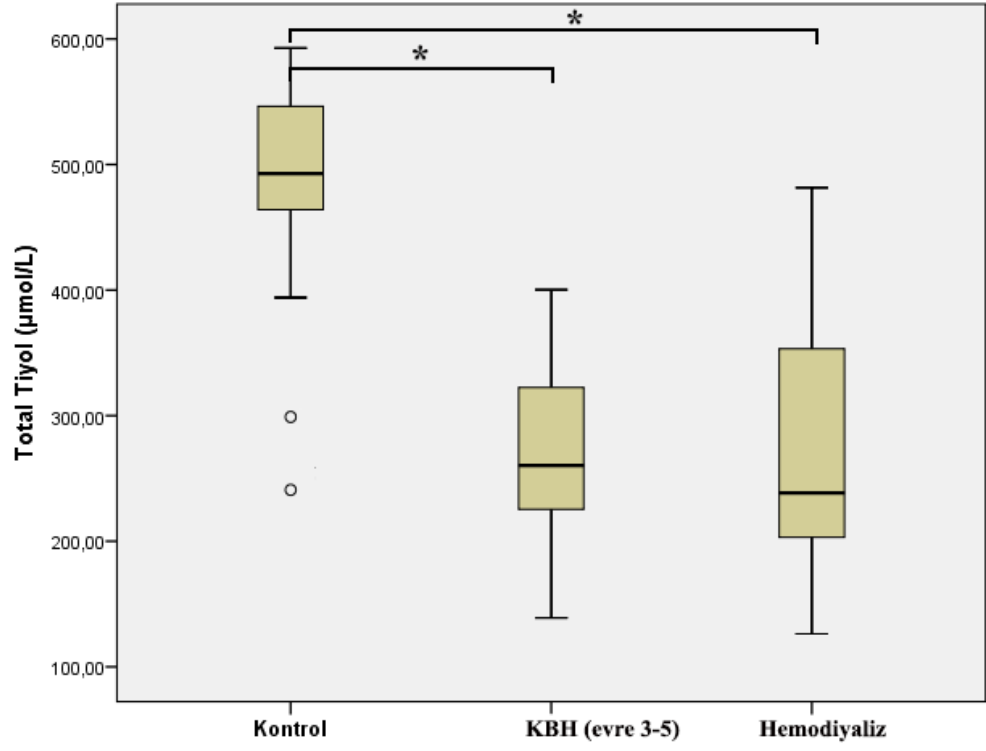
*Paired T test

4.7. Çalışma Gruplarının Native Tiyol, Total Tiyol ve Disülfid Düzeylerini Gösteren Kutu-Nokta (Box-Plot) Grafikleri



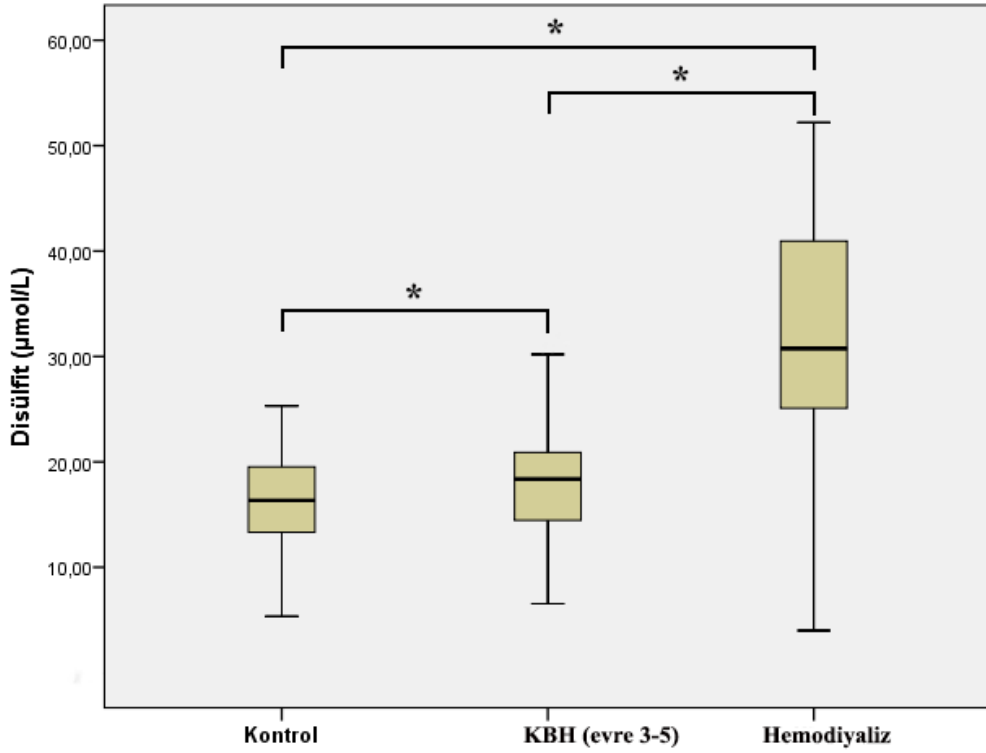
* İstatistiksel fark

Şekil 4.1. Çalışma gruplarının native tiyol düzeylerini gösteren kutu-nokta (box-plot) grafiği.



* İstatistiksel fark

Şekil 4.2. Çalışma gruplarının total tiyol düzeylerini gösteren kutu-nokta (box-plot) grafiği.



* İstatistiksel fark

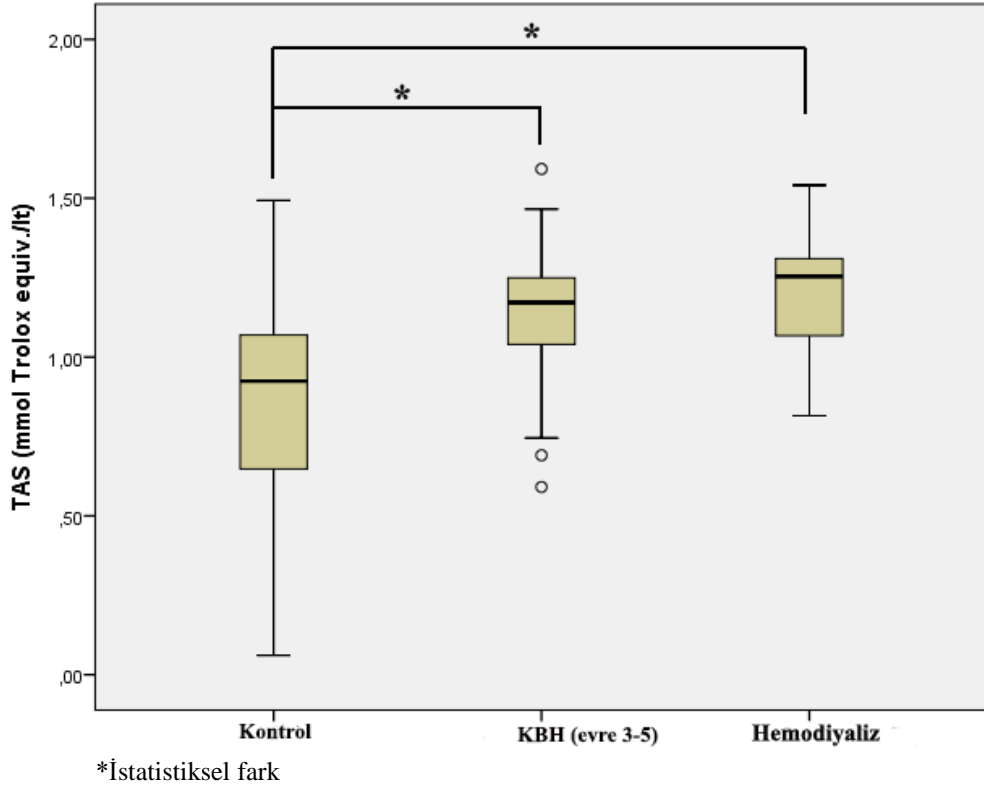
Şekil 4.3 .Çalışma gruplarının disülfid düzeylerini gösteren kutu-nokta (box-plot) grafiği.

4.8. Çalışma Gruplarında TAS, TOS, OSİ ve PON1 Değerlerinin Karşılaştırılması

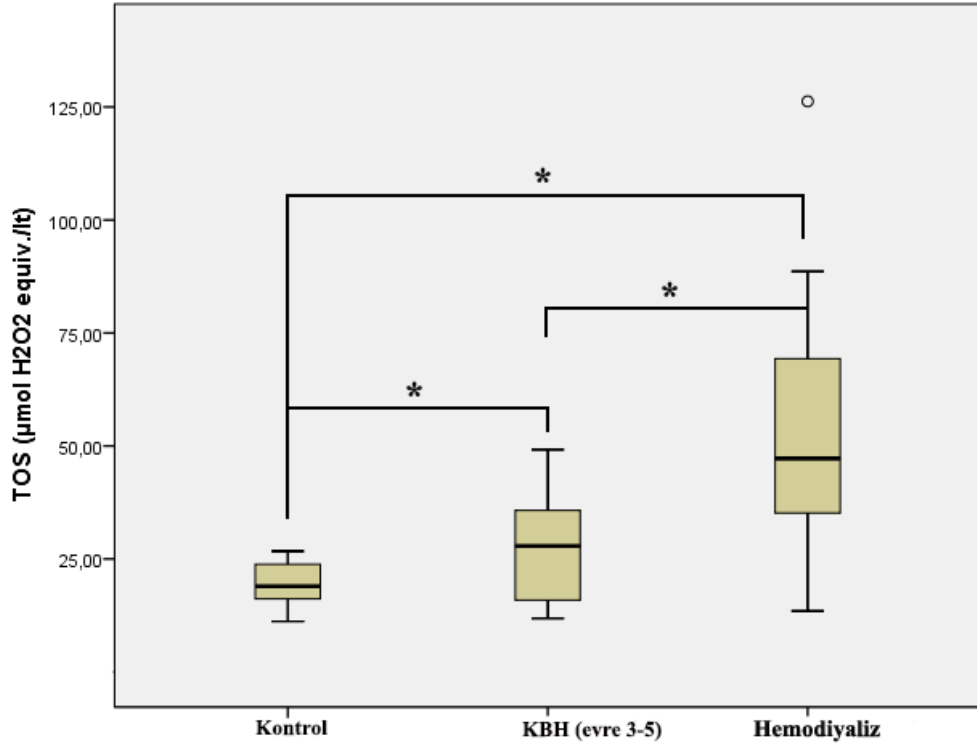
Çizelge 4.7. Çalışma gruplarının TAS, TOS, OSİ ve PON1 değerlerinin karşılaştırılması

Analitler	Kontrol (n=30)	KBH (evre 3-5) (n=30)	Hemodiyaliz (n=30)	p
TAS (mmol Trolox equiv./lt)	0.85 ± 0.30	1.14 ± 0.24	1.20 ± 0.19	0.001 ^a ,0.001 ^b ,0.589 ^c
TOS (µmol H ₂ O ₂ equiv./lt)	19.4 ± 4.4	27.1 ± 11.2	52.2 ± 24.7	0.004 ^a ,0.001 ^b ,0.001 ^c
**OSİ (AU)	2.6 ± 1.6	2.5 ± 1.1	4.5 ± 2.3	0.476 ^a ,0.001 ^b ,0.001 ^c
median (min; max)	1.9 (1.20 ; 7.1)	2.3 (1.1; 5.5)	4.6 (1.0;11.6)	
**PON1 (U/L)	333.1 ± 204.6	223.7 ± 176.7	226.2 ± 133.7	0.008 ^a ,0.031 ^b ,0.599 ^c
median (min; max)	233.1(114.6;754.2)	145.4(52.2;748.1)	172.2(50.4;446.2)	

** Kruskal Wallis a: Kontrol ve KBH (evre 3-5) ,b: Kontrol ve Hemodiyaliz c: KBH (evre3-5) ve Hemodiyaliz

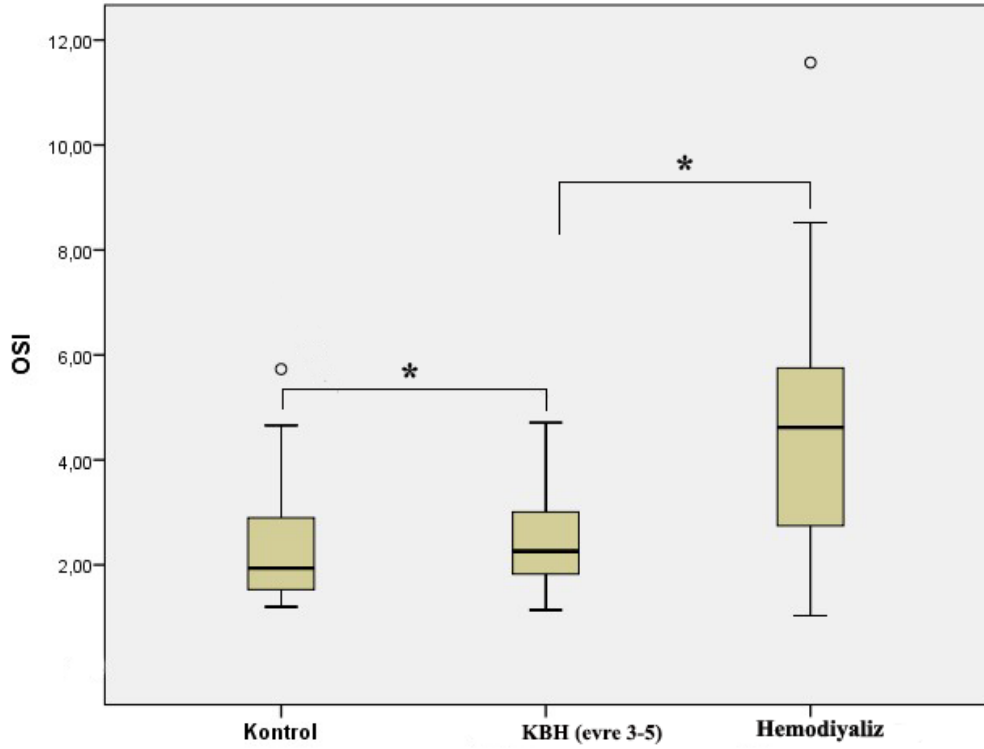


Şekil 4.4. Çalışma gruplarının TAS değerlerini gösteren kutu-nokta (box-plot) grafiği.



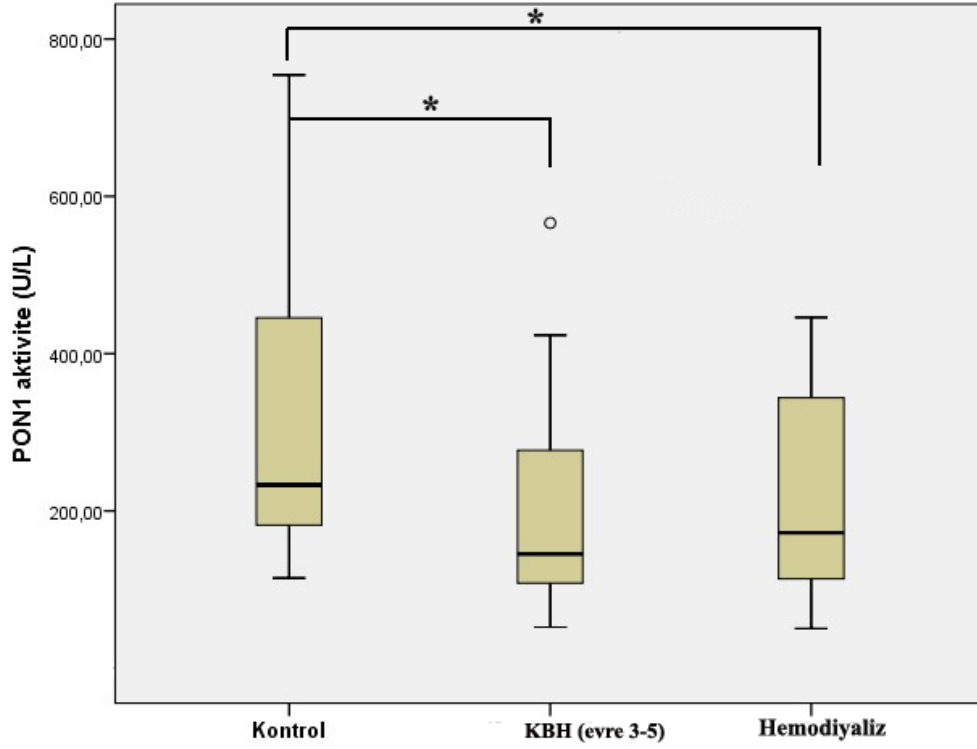
*İstatistiksel fark

Şekil 4.5. Çalışma gruplarının TOS değerlerini gösteren kutu-nokta (box-plot) grafiği.



*İstatistiksel fark

Şekil 4.6. Çalışma gruplarının OSI değerlerini gösteren kutu-nokta (box-plot) grafiği.



*İstatistiksel fark

Şekil 4.7. Çalışma gruplarının PON1 düzeylerini gösteren kutu-nokta(box-plot) grafiği.

4.9. Elisa Çalışma Bulguları

Çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol gruplarında ölçülen TNF- α , ve TrxR elisa çalışma bulguları Çizelge 4.8. de gösterilmiştir. KBH (evre 3-5) ve hemodiyaliz grupta TNF- α , düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.001$). Benzer şekilde TrxR düzeyleride KBH (evre 3-5) ve hemodiyaliz grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.001$).

Çizelge 4.8. Çalışma gruplarındaki ELISA çalışma bulguları

Analitler	Kontrol (n=30)	KBH (evre 3-5) (n=30)	Hemodiyaliz (n=30)	p
TNF- α (pg/mL)	19.2 \pm 6.98	37.1 \pm 15.9	55.4 \pm 24.5	0.008 ^a ,0.001 ^b ,0.001 ^c
TrxR (ng/mL)	5.2 \pm 2.4	7.7 \pm 2.1	27.3 \pm 19.9	0.001 ^a ,0.001 ^b ,0.001 ^c

*ANOVA, a: Kontrol ve KBH (evre 3-5), b: Kontrol ve Hemodiyaliz c: KBH (evre 3-5) ve Hemodiyaliz

5. TARTIŞMA

KBH ülkemizde ve dünya genelinde oldukça yaygın olan ve prevalansı gittikçe artan bir halk sağlığı problemidir (James ve ark 2010). Bu tez çalışmasında, KBH (evre 3-5)'lı hastalar ile hemodiyaliz tedavisi alan KBH hastalarında dinamik tiyol-disülfid dengesi ve bu dengede önemli fonksiyonu olduğu bilinen TrxR enzim düzeyleri ile sistemik oksidatif stress parametreleri ölçülmüş ve sağlıklı kontrollerle karşılaştırılmıştır. Ayrıca hemodiyaliz işleminin dinamik tiyol-disülfid dengesi üzerine etkisi HD (giriş) ve HD (çıkış) gruplarındaki dinamik tiyol-disülfid miktarlarını total olarak ölçen Erel ve ark. tarafından geliştirilen yeni bir kolorimetrik metot ile değerlendirildi. Literatürde şimdiye kadar KBH hastalarında glutatyon, homosistein gibi tiyol içeren bileşikler ayrı ayrı ele alan çalışmalar ile oksidatif stressi gösteren birçok çalışma yapılmıştır (Menon ve ark 2005, Tbahriti ve ark 2013). Ancak dinamik tiyol-disülfid dengesinde TrxR enziminin rolünü değerlendiren çalışma mevcut değildir. Bu çalışma bu yönüyle ilk çalışma olup hemodiyaliz tedavisi alan KBH hastalarının patogenezinin anlaşılmasına yönelik önemli veriler sağlayacağını düşünmekteyiz.

Bu çalışmada KBH (evre 3-5) ve hemodiyaliz grubunun plazma örneklerinde total ve native tiyol miktarları sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük iken hesaplanan disülfid miktarları sadece hemodiyaliz grupta KBH (evre 3-5) ve kontrol gruba göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bunun yanında KBH (evre 3-5) ve hemodiyaliz grupta TrxR serum enzim düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ve bu yükseklik hemodiyaliz grupta daha belirgindir ($p=0.001$, Çizelge 4.8).

Serum İMA ve TOS değerleri KBH (evre 3-5) ve hemodiyaliz grubunda kontrol gruba göre anlamlı derecede yüksek olup TOS yüksekliği hemodiyaliz grupta daha belirgin bulunmuştur. Hesaplanan OSİ değerleri ise sadece hemodiyaliz grubunda anlamlı derecede yüksekti. Parametreler arasındaki korelasyonlar incelendiğinde ise total ve native tiyol ile İMA, TOS ve OSİ arasında hafif ve orta seviyede değişen derecelerde negatif yönde anlamlı korelasyonlar saptanmıştır (Çizelge 4.4.). Ayrıca native ve total tiyol ile GFH arasında yüksek derecede anlamlı pozitif korelasyon mevcuttu ($p=0.001$, Çizelge 4.4).

Organizmada bulunan tiyoller (-SH) (merkaptan olarak da bilinir), karbon atomuna bağlı bir fonksiyonel sülfidril grubu içeren organik bileşiklerdir ve hücre içerisinde meydana

gelen oksidatif stresin önlenmesinde önemli rol oynamaktadırlar. Plazma tiyol havuzu çoğunlukla albüminden oluşurken geriye kalan kısım ise düşük molekül ağırlıklı tiyollerden %4 sistein, %9 sisteinglisin, %3 homosistein, glutatyon, %1 γ -glutamilsistein meydana gelmektedir (Turell ve ark 2013). Tiyoller, vücut içinde hem serbest radikallere karşı önemli bir tampon hem de antioksidan savunma sisteminin önemli bir elemanı olup önemi gittikçe artmaktadır (Ganime Ayar ve ark 2018). Proteinlerin tiyol grupları, düşük molekül ağırlıklı bileşikler, sistein kalıntıları ve diğer tiyol grupları patolojik süreçler sonunda oluşan oksidan radikaller tarafından oksidize olarak disülfid yapılara dönüşürler. Disülfid yapılar ise geri dönüşümlü olup sonrasında diğer antioksidan sistemlerce tekrar tiyol gruplarına indirgenebilirler. Sonuçta dinamik bir tiyol-disülfid dengesi sağlanmış olur ve bu denge antioksidan savunmanın sürdürülmesinde hayati bir öneme sahiptir (Ganime Ayar ve ark 2018, Otal ve ark 2018). Önceki çalışmalarda tiyol-disülfid dengesinin oksidatif stres ile ilişkisi birçok hastalıkta gösterilmiş ve hastalık patogenezi ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüş ancak yine de dinamik tiyol dengesinin, oksidatif stres ile inflamasyon kaskadındaki kompleks rolleri tam olarak aydınlatılamamıştır. Bununla birlikte dinamik tiyol dengesine yönelik bazı spekülasyonlar yapılmıştır. Örneğin, tiyollerin plazma konsantrasyonlarının ve oksidize türevlerinin, başlıca reaktif oksijen türlerinden etkileniyor olabileceği ileri sürülmüştür (Altıparmak ve ark 2016, Elmas ve ark 2017). Ayrıca yine tiyollerin plazma kompartmanları ve hücreler arası (eritrositler ve endotel hücreleri arasındaki) taşınımındaki değişikliklerin veya albümin ve glutatyon gibi tiyol içeren moleküllerin karaciğerde kullanımının da bu dengeyi etkileyebileceği iddia edilmiştir (Turell ve ark 2013, Özcan ve ark 2018). Organizmadaki tiyol seviyelerine yönelik olarak yapılan bazı klinik çalışmalarda ise tiyol düzeyleri inflamasyon ile ilişkilendirilmiştir. Örneğin, bir çalışmada romatoid artrit ve osteoartrit hastalarında plazma tiyol düzeyleri ölçülmüş ve her iki hasta grubunda da tiyol düzeyleri kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. Bu düşüklüğün nedeni olarak romatoid artrit ve osteoartrit hastalarındaki yüksek oksidatif stres seviyeleri ve bunun sebep olduğu kronik inflamasyon ileri sürülmüştür. Ayrıca hastalık aktivitesi ve tiyol konsantrasyonları arasında negatif bir korelasyon olduğu bildirilmiştir. (Tetik ve ark 2010). Başka bir çalışmada kronik böbrek hastalarında plazma tiyol düzeyleri düşük bulunmuş ve üremik toksinler ve buna bağlı olarak ortaya çıkan inflamasyon ve oksidatif stres bu düşüklüğün nedeni olarak ileri sürülmüştür (Rodrigues ve ark 2012). İnflamasyonda lökosit aktivasyonunun ürünleri olan hem hipoklorik asitin hem de hidrojen

peroksitin, plazma moleküllerinde oksitlenmeye ve sonuçta plazma tiyol seviyelerinde azalmaya yol açabileceği düşünülmüştür (Himmelfarb ve ark 2000). Yapılan diğer bir çalışmada HD, PD ve kontrol gruplarında glutatyon düzeylerine bakılmış ve hasta grupta glutatyon düzeyleri kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. Hemodiyaliz tedavisi alan diyaliz hastalarındaki glutatyon düzeylerindeki düşüklüğü, glutatyon üretiminin inhibe edilmesinin, GSSG olarak eritrositlerden glutatyon salınımının artmasının veya oksidan stresi baskılamak için tüketiminin artmasının bir sonucu olabileceğini ileri sürmüşlerdir (Ozden ve ark 2002, Ahmadpoor ve ark 2009).

Literatürde tiyol dengesine yönelik yapılan çalışmalarda genel olarak yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC), floresans kapiler elektroforez ve bioluminesans gibi otomatize olmayan kompleks yöntemler kullanılmıştır (Mourad ve ark 2000, Carru ve ark 2004, Głowacki ve Bald 2009). Bu sistemlerin, analiz öncesi hazırlık aşamaları, analiz esnasındaki ölçüm süreçleri oldukça zaman almakta ve yüksek maliyet ortaya çıkarmaktadır. Biz bu çalışmada tiyol gruplarını önceki çalışmalardan farklı olarak total olarak ele alan Erel yöntemi ile değerlendirdik. Erel ve ark.'nın geliştirdiği yeni otomatize sistemde ise serum/plazmada dinamik olarak tiyol-disülfid ölçümü yapılabilmektedir. Yöntem temel olarak kolorimetrik bir prensibe dayalı olarak çalışmaktadır. Bu yöntem ile doku ve plazma örneklerinde tiyollerin toplam olarak ölçülmesi ve sistemik tiyol dengesinin bir bütün olarak değerlendirilmesi mümkün olmaktadır. Ayrıca bu yöntem maliyet etkin, kolay uygulanabilir bir yöntemdir (Erel ve Neselioglu 2014). Yöntemin performansına bakıldığında ise intra-assay CV değerleri disülfid miktarları için yüksek konsantrasyonlarda %4, orta seviyedeki konsantrasyonlarda %5, düşük seviyeli konsantrasyonlarda ise %13 olarak bildirilmiş ve yöntem ile alakalı olarak herhangi bir interferans (lipemi, hemoliz, vb.) bildirilmemiştir (Erel ve Neselioglu 2014).

Literatürde ayrıca Erel yöntemi kullanılarak native ve total tiyol seviyelerini belirleyen çalışmalar da mevcuttur. Yapılan bir çalışmada hemodiyaliz tedavisi alan hastaların native ve total tiyol düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Bu düşüklüğü hemodiyaliz hastalarında görülen oksidatif stres ve kronik inflamasyon ile ilişkilendirmişlerdir (Coşkun ve ark 2016). Yapılan başka bir çalışmada hemodiyaliz hastalarında native ve total tiyol düzeylerinin kontrol grubuna göre düşük bulunduğunu rapor etmişler ve bu düşüklüğü organizmadaki total tiyol rezervlerindeki azalma ile ilişkilendirmişlerdir (Ateş ve ark 2018).

Köken ve ark. ise hemodiyaliz tedavi süresindeki artışın protein sülfidril grupları (-SH) ile negatif bir şekilde korele olduğunu bildirmişler ve hemodiyaliz hastalarındaki bu azalışı iki muhtemel mekanizmaya bağlı olarak açıklamışlardır. İlk mekanizmada, HD hastalarında artış gösteren üremiye bağlı olarak artan serbest radikallerin protein sülfidril grupları tarafından detoksifikasyona uğramış olmasından dolayı protein sülfidril gruplarının miktarının azalması. İkinci mekanizmada ise, indirgenmiş glutatyon düzeyindeki azalmaya bağlı olarak protein sülfidril gruplarının azalması. Bu durumun, artan reaktif karbonil bileşiklerinin detoksifiye edilmesinde kullanılan NADPH'ın GSSG –indirgenmiş aktivitesinde azalmaya yol açmasından kaynaklandığını rapor etmişlerdir (Köken ve ark 2004).

Bizim çalışmamızda hem KBH (evre 3-5) hem de hemodiyaliz grubundaki plazma örneklerinde total ve native tiyol seviyeleri ile TrxR enzim düzeyleri ölçüldü. Total ve native tiyol seviyeleri KBH'lı hasta gruplarında (evre 3-5 ve hemodiyaliz grubu) kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük iken ($p=0.001$, Çizelge 4.3). TrxR enzim düzeyleri hasta grupta yüksek bulundu ($p=0.001$, Çizelge 4.8). Buna ilave olarak TrxR'deki bu yükseklik hemodiyaliz grubunda, KBH (evre 3-5)'e göre de anlamlı derecede daha yüksekti. Plazma tiyol seviyelerindeki düşüklüğün bir nedeni önceden ileri sürüldüğü gibi ROS'un temizlenebilmesi için başta glutatyon olmak üzere sülfidril içeren hücre içi antioksidan elemanların sürekli tüketilmesi olabilir. Ancak bu antioksidanlardan olan glutatyon düzeylerinin her ne kadar hücre içerisinde yüksek olduğu bilinse de (Forman ve ark 2009) glutatyon ve glutatyon gibi düşük molekül ağırlıklı diğer tiyollü bileşiklerin plazma sülfidril havuzuna katkısı albüminle kıyaslandığında nispeten düşüktür (Turell ve ark 2013). Dolayısıyla KBH (evre 3-5) hastalarında total tiyol düşüklüğünü tek başına açıklamakta yeterli olmayabilir. Tiyol düşüklüğüne katkı yapan bir diğer neden ise albümin ve tiyol dengesi arasındaki dinamik ilişki ile açıklanabilir. Albüminin plazmadaki tiyol havuzunun çoğunu (%70-90) oluşturduğu bilinmektedir (Turell ve ark 2013). Albümin uzun süreli oksidatif hasar sonucunda geri dönüşümsüz olarak son ürünlere dönüştüğü bilinmektedir. Albüminin dönüştüğü bu son ürünlerden ilki sülfenik asit olup (RSOH) oksidan varlığındaki artışa bağlı olarak sülfenik (RSO_2H) veya sülfonik (RSO_3H) asit meydana gelmekte (Carballal ve ark 2007) ve oluşan bu ürünlerin de karaciğer yoluyla dolaşımdan temizlendiği ileri sürülmüştür (Turell ve ark 2013). Bizim çalışmamızda KBH (evre 3-5) hastaları seçilmişti. KBH (evre 3-5) hastalarında üremik toksinler oksidatif stresin kronik olarak

sürekli yüksekliğine yol açtığından albüminin sürekli bir oksidatif strese maruziyeti söz konusudur. Bunun sonucunda albümin KBH (evre 3-5) hastalarında uzun süreli oksidatif stres altında önceden gösterilen sülfenik, sülfirik ve sülfonik asit gibi oksidasyon ürünlerine geri dönüşümsüz olarak çevriliyor ve dolaşımdan çekiliyor olabilir. Buna ilave olarak karaciğerin bu artmış detoksifikasyon metabolizması nedeniyle plazma glutatyon ve sülfidril kaynaklarını tüketiyor olması da plazmadaki tiyol düşüklüğüne katkıda bulunuyor olabilir (Carbonell ve ark 2000).

Bu çalışmada tiyol grupları ile GFH arasındaki korelasyonlara bakıldığında ise native ve total tiyol ile GFH arasında görülen pozitif yönde ve güçlü korelasyon ($r=0.835$, $p=0.001$; $r=0.824$, $p=0.001$) varlığı oldukça dikkat çekicidir. Bilindiği gibi GFH böbrek hastalıklarında böbreğin fonksiyon kaybının öngörülmesinde kullanılan önemli bir tanı ve takip parametresi olup hastalığın şiddeti ile ilişkili olduğundan KBH'nın evrenmesinde kullanılır (Romagnani ve ark 2017). Plazma tiyol düzeylerinin hem native hem de total olarak miktarlarının GFH ile pozitif yönde ve yüksek derecede korele olması, tiyollerin KBH hastalarında hastalık prognozu ile ilişkili bir test parametresi olarak kullanılabilceğini düşündürmektedir.

Bizim çalışmamızda ayrıca disülfid miktarları hesaplanmış ve hemodiyaliz grubunda KBH (evre 3-5) ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0.001$, Çizelge 4.3). Ancak KBH (evre 3-5) ile kontrol grup arasında disülfid açısından anlamlı fark yoktu. Tiyollerin oksidan moleküller tarafından oksidasyon reaksiyonlarına maruz kalması sonucunda proteinlerdeki sistein aminoasitlerinin sülfidril grupları arasında kovalent bağlı disülfid yapıların meydana geldiği bilinmektedir. Önceki çalışmalarda disülfid oluşumundaki artışın oksidatif stres artışı ile paralel olduğu gösterilmiştir. Örneğin yapılan bir çalışmada hemodiyaliz tedavisi alan KBH hastalarındaki disülfid miktarının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yüksek bulunmuş ve bu yükseklik artan oksidan stres ile ilişkilendirilmiştir (Ustundag Budak ve ark 2017). Bizim çalışmamızda bu paralelliği test etmek için ayrıca serum TOS düzeyleri ölçülmüş, TOS değerleri hemodiyaliz grupta daha belirgin olmak üzere her iki grupta, hesaplanan OSI değerleri ise sadece hemodiyaliz grubunda kontrol gruba göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu artış hemodiyaliz grubunda daha belirgindi. OSI değerlerindeki bu artış, hemodiyaliz grubundaki hastalarda sistemik oksidatif stresin varlığını doğrular nitelikte olup, oksidasyon sonucu oluştuğu bilinen disülfid miktarlarındaki anlamlı artışla olan ilişkisini

desteklemektedir ($p=0.001$, Çizelge 4.8.1). Ayrıca TOS'daki bu artışın hemodiyaliz grubunda, erken evre KBH'ya göre daha belirgin olması TOS'un hastalık şiddeti ile ilişkili bir gösterge olabileceği yönünde fikir verebilir.

Literatürde tiyol dengesi ile TrxR enzimini birlikte değerlendiren çalışma mevcut değildir ancak farklı hasta gruplarında sadece TrxR'yi veya Trx proteinini değerlendiren araştırmalar mevcuttur. Bizim çalışmamızda hasta ve kontrol grubunda plazma native ve total tiyol seviyeleri ile TrxR enzim miktarları birlikte ölçüldü. Sonuçta serum TrxR değerleri KBH (evre 3-5) ve hemodiyaliz grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. ($p=0.001$, Çizelge 4.8). Bu yükseklik hemodiyaliz grubunda daha belirgindi. TrxR enzimi, oksitlenmiş tiyoredoksin proteinini (Trx) indirgenmiş formuna etkili bir şekilde dönüştüren bir selenoproteindir. Bu nedenle Trx rejenerasyonundan sorumlu olup antioksidan etkinin sürdürülmesinde birlikte rol alırlar. TrxR enzimi bu yönüyle bazı çalışmalara konu olmuştur. Örneğin diyaliz hastalarında yapılan bir çalışmada TrxR aktivitesine bakılmış ve kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı derecede yüksek bulunduğu rapor edilmiştir (Demir ve ark 2016). Yapılan bir diğer çalışmada koroner arter hastalarında TrxR enzim aktivitesine bakılmış ve koroner arter hastalarında TrxR aktivitesinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Wu ve ark 2010). Bu artış bazı yayınlarda TrxR'nin oksidatif stres sırasında aşırı eksprese olarak serbest kalması ve plazmada belirlenebilir düzeye çıkması ile açıklanmıştır (Arner ve Holmgren 2000, Soderberg ve ark 2000). Bizim çalışmamızda da KBH hastalarında serum TrxR enzim seviyelerindeki bu artış önceki çalışmalarda ileri sürüldüğü gibi oksidatif stres artışına karşı antioksidan etkiyi artırmaya yönelik olarak enzimin aşırı eksprese olması ile açıklanabilir. Bu çalışmada hasta grupta ölçülen plazmadaki antioksidan kapasiteyi total olarak gösteren TAS düzeyleri de kontrol gruba göre yüksekti. TOS artışı yanında TAS düzeylerinin de yüksek bulunması antioksidan kapasitedeki göreceli artışı destekler niteliktedir. Ancak TOS artışı daha belirgin olduğundan oksidatif denge, oksidatif stres artışı yönünde idi. Bir başka deyişle antioksidan yanıt hasta grupta artmış ancak oksidatif dengeyi koruyacak düzeyde gerçekleşmemiştir. Antioksidan bir sistem olan TrxR/Trx sisteminde de benzer ilişki söz konusu olabilir. Bizim çalışmamızda Trx düzeyleri bakılmamıştır. Ancak literatürde TrxR enzimi yerine Trx artışını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Kakisaka ve ark 2002).

Bizim çalışmamızda ayrıca İMA düzeyleri de KBH (evre 3-5) ve hemodiyaliz hastalarında kontrol gruba göre yüksek bulunmuştur ($p=0.001$, Çizelge 4.3.). Ancak

hemodiyaliz ile KBH (evre3-5) arasında fark yoktu. İMA, albüminin oksidatif strese bağlı modifiye olmuş şeklidir (Ellidag ve ark 2013). Özellikle iskemik kalp hastalıkları başta olmak üzere oksidatif stres artışı ile ilişkili hastalıklarda plazma değerlerinin yüksekliği gösterilmiştir (Zuwała-Jagiełło ve ark 2012, Reddy ve ark 2014). Hemodiyaliz hastalarında da İMA düzeyi ölçülmüş ve yüksek bulunmuştur (Turedi ve ark 2010). Bizim çalışmamızda da önceki çalışmalarla uyumlu olarak elde edilen İMA yüksekliği oksidatif stres artışının albüminde modifikasyona yol açabileceği görüşünü desteklemektedir.

Bununla birlikte bu çalışmada serumdaki antioksidan kapasite de total olarak ölçüldü ve KBH (evre 3-5) ve hemodiyaliz grubunda TAS değerleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.001$, Çizelge 4.7). Serum ve plazmada serbest radikaller antioksidan sistemler tarafından temizlenir. Bu antioksidan sistemlerin GR, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) gibi enzimler ve albumin, bilirübin, ürik asit gibi enzim olmayan endojen antioksidanlar olduğu iyi bilinmektedir.

Özellikle KBH hastalarında artmış oksidatif stresin SOD, CAT, GR ve GPX seviyelerinin azalmasına neden olduğu bildirilmiştir. Oksidatif stress artışında bu antioksidanların tüketildiği gösterilmiştir (Wong ve ark 2018, Neelofar ve ark 2019). Bizim çalışmamızda TAS düzeyleri KBH'lı grupta yüksek olarak ölçülmüştür. Önceki çalışmalarda antioksidan enzim düzeylerinin azaldığı gösterilmesine rağmen TAS düzeylerinin yüksek olarak bulunması çelişik gibi görünmektedir. Ancak kanda antioksidan kapasitenin sadece enzimlerin değil aynı zamanda enzim olmayan endojen antioksidanların (ürik asit, melatonin, albümin v.b) da katkısı ile oluştuğu göz önüne alındığında plazmadaki antioksidan kapasiteyi total olarak ölçen TAS testinin yüksek olarak ölçülmesi beklenebilir bir bulgudur. Nitekim yapılan bir çalışmada KBH hastalarında TAS düzeyleri ölçülmüş ve sağlıklı kontrollere göre yüksek bulunduğu bildirilmiştir. Bu yüksekliğin ise başlıca ürik asit düzeylerindeki artıştan kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir (Kuchta ve ark 2011).

Biz bu çalışmada ayrıca hemodiyaliz işleminin native tiyol ve total tiyol düzeyleri ile disülfid parametreleri üzerine etkisini değerlendirdik. Bu amaçla hemodiyaliz işlemi öncesinde (HD giriş) ve sonrasında (HD çıkış) alınan kan örneklerinde dinamik tiyol parametreleri ölçüldü. Sonuçta HD (çıkış) örneklerinde ölçülen total ve native tiyol düzeyleri, HD (giriş) örnekleri ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek bulundu (sırasıyla $p=0.002$, $p=0.001$). Ancak her iki grup arasında hesaplanan disülfid düzeyi

açısından anlamlı fark yoktu ($p=0.152$, Çizelge 4.5). Ancak albümin ile düzeltme yapıldığında total ve native tiyol değerlerinde iki grup arasındaki anlamlılık ortadan kalktı (sırasıyla; $p=0.567$, $p= 0.143$, Çizelge 4.6) ancak disülfid düzeylerinin HD (çıkış) örneklerindeki düşüklük anlamlılık düzeyine ulaştı ($p = 0.001$, Çizelge 4.6). Bir başka deyişle hemodiyaliz işlemi total ve native tiyoller üzerine anlamlı düzeyde etki oluşturmadı ancak disülfid düzeyleri üzerinde anlamlı azalmaya yol açtı.

Literatürde şimdiye kadar hemodiyalizin plazma dinamik tiyol dengesi üzerine etkisini Erel yöntemi ile total olarak ele alan sadece iki çalışma olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmalardan birinde akut böbrek hastalarında diyaliz öncesi ve diyaliz sonrası örneklerde native ve total tiyol düzeyleri ile hesaplanan disülfid düzeyleri değerlendirilmiş ve diyaliz sonrası grupta native ve total tiyol düzeyleri anlamlı derecede yüksek bulunurken disülfid düzeyleri diyaliz öncesine göre düşük bulunmuştur. Disülfid düzeylerindeki düşüklük hakkında bilgi verilmemiştir. Ancak, diyaliz öncesi grupta native ve total tiyol düşüklüğünün sebebi akut böbrek hastalarında görülen inflamasyon ve metabolizmanın unstabilizasyonu sonucunda ortaya çıkan oksidatif stres gösterilmiştir. (Otal ve ark 2018). Bir diğer çalışma ise akut böbrek yetmezliğine sahip pediatrik hastalarda yapılmıştır. Bu çalışmada diyaliz sonrası grupta native tiyol ve total tiyol düzeyleri diyaliz öncesine göre anlamlı derecede yüksek olup önceki çalışma ile uyumlu iken, farklı olarak disülfid düzeylerinde de anlamlı derecede artış elde edilmiştir. Bu üç parametredeki yüksekliğin ise akut dönemde hemodiyaliz işleminin plazma tiyol redoks durumunu yenilemesi fakat kronik dönemde antioksidan kapasitenin yeterli olmayışı ile ilişkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir (Ganime Ayar ve ark 2018). Her iki çalışma da tiyoller açısından uyumlu iken disülfid açısından çelişik sonuçlar ileri sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızda da kronik böbrek hastalarında ve yetişkin grupta hemodiyaliz işleminin tiyol seviyelerini anlamlı derecede artırdığı gözlemlendi. Bu yönüyle sonuçlarımız yukarıda bahsedilen çalışmalar ile uyumlu olup benzerlik göstermektedir. Ancak diyaliz işleminin yol açabileceği volüm düzeltmesinin özellikle albümin ile ilişkili olan tiyol değerlerinin karşılaştırılmasında önemli olabileceğini düşünmekteyiz. Önceki iki çalışmada da hemodiyalize bağlı ortaya çıkabilecek olası bir volüm değişikliğine yönelik bir düzeltmeden bahsedilmemiştir. Hemodiyaliz işlemi sırasında hastalardan volüm çekilmesine bağlı olarak çıkış kanlarında değişik derecelerde hemokonsantrasyon ortaya çıkabileceği bilinmektedir. Sonuçta çekilen volümle orantılı olarak analit konsantrasyonlarında artış özellikle büyük moleküler ağırlıklı albümin veya

albüminle ilişkili bileşikler için önemli bir interferans nedeni olabilir. Biz bu çalışmada önceki iki çalışmadan farklı olarak olası bir hemokonsantrasyona karşı hem giriş ve hem de çıkış kanlarında albümin düzeylerini belirledik. Çıkış kanlarında albümin değerleri anlamlı derecede yüksekti. Total ve native tiyol düzeyleri albümin değerlerine göre oranlandığında giriş ve çıkış ortalamaları arasındaki istatistiksel anlamlılık ortadan kayboldu. Yani diyaliz işleminin total ve native tiyoller üzerine anlamlı bir etki yapmadığı gözlemlendi. Ancak disülfid düzeyleri anlamlı derecede azalmış olarak hesaplandı. Disülfid düzeyindeki bu azalmanın önceki çalışmada ifade edildiği gibi hemodiyaliz işleminin plazma tiyol redoks durumunu yenilemesi ile ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. Literatürdeki bir başka çalışmada benzer sonuçlar ileri sürmüştür. Örneğin Wlodek ve ark.'ları hemodiyaliz tedavisi alan hastalarda sisteinin farklı formlardaki (total, indirgenmiş ve okside) plazma konsantrasyon seviyelerine bakmışlar (Wlodek ve ark 2001) ve hastaların indirgenmiş sistein düzeylerini diyaliz işleminden sonra bir miktar artmış olarak bulmuşlardır. Bu durumun aksine, sisteinin okside hali olan sistin düzeylerini ise kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmış iken diyaliz işlemi sonrasında tekrar azalarak kontrol grubundaki seviyesine yakın bir seviyeye geldiğini göstermişlerdir. Bu durumu, hemodiyaliz işleminin plazmadan sistini uzaklaştırmasından kaynaklı olarak meydana geldiğini ileri sürmüşlerdir. (Wlodek ve ark 2001).

Çalışmamızda ayrıca plazmada başka bir antioksidan olarak Paraoksonaz (PON1) enzim aktivitesine bakılmıştır. PON1, TrxR'den farklı olarak tiyol redüksiyon sistemi içerisinde yer almaz ancak okside lipoproteinlerde lipit peroksidleri hidrolize eden antioksidan bir enzimdir. Bu çalışmaya da KBH'nın antioksidan bir enzim üzerine etkisini gözlemlemek için dahil edildi ve PON1 enzim aktivitesi KBH (evre 3-5) ve hemodiyaliz grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük bulundu ($p=0.008$, $p=0.031$, Çizelge 4.7). Hemodiyaliz hastalarında PON1 enzim aktivitesinin düşük olduğu yapılan önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Juretić ve ark 2001, Gadicherla ve ark 2013). Bu düşüklüğün nedeni olarak serbest radikal üretimi boyunca antioksidanların tüketimi ve üremik toksinlere maruz kalma gösterilmiştir (Gadicherla ve ark 2013). Bir başka çalışmada KBH hastalarında PON1 enzim aktivitesinin düşük bulunduğu rapor edilmiştir. Hastalığa bağlı olarak artan üremik toksinler tarafından enzimin inaktive edilerek aktivitesinin azalması bu düşüklüğün bir nedeni olarak ileri sürülmüştür. (Kuchta ve ark 2011). Buna göre KBH hastalarında baskılanan antioksidan enzimler için ileri sürülen mekanizmalar bizim çalışmamızdaki PON1 düşüklüğü için de geçerli olabilir. TrxR'in protein miktarındaki artıştan farklı olarak

PON1'deki aktivite azalması PON1 enziminin tiyol redoks sisteminde bir antioksidan olarak yer almayışı ile ilişkili olabilir.



6. SONUÇ

Sonuç olarak, bu çalışmada native ve total tiyol düzeyleri KBH (evre 3-5) ve hemodiyaliz grupta kontrol grubuna göre düşük bulundu. Bunun yanında disülfid düzeyleri ise hemodiyaliz grupta hem KBH (evre 3-5) hem de kontrol grubuna göre yüksek bulundu. Buna göre KBH hastalarında plazma tiyol değerleri azalmakta iken disülfid değerlerindeki artış hemodiyaliz evresinde anlamlı hale gelmektedir. Ayrıca tiyollerle GFH arasında gösterilen güçlü pozitif korelasyon varlığı da tiyollerin KBH hastalığında prognostik değeri olan biyokimyasal bir belirteç olarak kullanılabilmesi olasılığını akla getirmektedir. Şüphesiz bu alanda daha ileri prospektif çalışmalara ihtiyaç olduğu açıktır. Disülfid ile korelasyon olmayışı ise dinamik tiyol dengesinde total ve native tiyollerin disülfidlere göre hastalık evresi ile ilişkili daha üstün bir gösterge olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmada ayrıca serum TOS değerleri ile hesaplanan OSİ değerleri hemodiyaliz hastalarında kontrol gruba göre yüksek bulundu. Bu durum hemodiyaliz hastalarındaki oksidatif stresin sistemik olarak varlığını göstermekte olup oksidasyon sonucunda olduğu bilinen disülfid miktarlarındaki anlamlı artış ile olan ilişkisini de desteklemektedir. Ancak OSİ ile disülfid düzeyleri arasında beklendiği gibi bir korelasyon bulunamamıştır. Sistemik oksidatif stres ile disülfid düzeylerinin ilişkisini inceleyen daha büyük örneklemle yapılan çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Bunun yanında serum TAS düzeyleri de ölçüldü ve KBH (evre3-5) ve hemodiyaliz grubunda sağlıklı kontrollere göre artmış olarak bulundu. TOS artışı yanında TAS düzeylerinin de yüksek bulunması KBH'lı hastalarda antioksidan kapasitenin artan TOS yükünü karşılamaya yönelik olarak artma eğiliminde olabileceğini ancak bu artışın genel oksidatif dengeyi korumak için yeterli olmadığını düşündürmektedir. Zira oksidatif dengenin daha iyi bir ölçütü olan OSİ değerleri hemodiyaliz grupta TAS artışına rağmen anlamlı derecede yüksekti.

Bu çalışmada elde edilen bir diğer sonuç ise tiyol değerlerinde albümin düzeltmesinin yol açtığı dikkat çekici değişiktir. Başlangıçta hemodiyaliz grupta [HD (giriş) ve HD (çıkış)] native ve total tiyol parametreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark var iken hesaplanan disülfid seviyelerinde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Albümin ile düzeltme işlemi yapıldıktan sonra ise native ve total tiyol

değerlerindeki anlamlılık ortadan kalktı ancak disülfid düzeylerinin HD (çıkış) örneklerinde anlamlı derecede azalmış olduğu gözlemlendi. Bu durumun diyaliz işleminin neden olabileceği volüm düzeltmesinin plazma tiyol değerlerini ele alan çalışmalarda hesaba katılmasının önemli olduğunu ve mutlaka düzeltme işlemi yapılarak verilmesi gerektiğini göstermiştir. Zira plazma tiyol düzeylerinin büyük kısmı albümin kaynaklı olduğundan gruplar arasındaki tiyol değişikliğinin hastalığın genel doğasına mı yoksa hastalığa sekonder ortaya çıkan albümin düşüklüğünden mi kaynaklandığı albümin düzeltilmesi yapılmayan çalışmalarda önemli bir bias nedeni olabilir.

Çalışma gruplarındaki serum TrxR enzim düzeylerine bakıldığında KBH (evre 3-5) ve hemodiyaliz grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu. KBH hasta gruptaki oksidatif stres varlığına bağlı olarak antioksidan etkiyi artırmaya yönelik olarak TrxR enziminin aşırı eksprese olabileceği görüşünü desteklemektedir.

Çalışma sonucunda elde ettiğimiz veriler gösteriyor ki dinamik tiyol düzeyleri ve TrxR enzimi KBH patogenezinde önemli bir role sahip olup oksidatif stres ile ilişkili görünmektedir. Dinamik tiyol seviyesinin kolorimetrik yöntemle ölçümü rutin klinik biyokimya laboratuvarlarında kolayca uygulanabilir olması ve KBH hastalarında hastalık şiddeti ile ilişkisi nedeniyle bir belirteç olarak hastalığın tanısına ve takibine katkı sağlayabilir.

Çalışmamızdaki kısıtlılıklar

TrxR enzimin aynı zamanda aktivite ölçümünün de yapılmamış olması çalışmamızda önemli kısıtlılıklarından biridir. Tiyol içeren ve plazma dinamik tiyol dengesine katkıda bulunan bileşkerin ayrı ayrı çalışılmamış olması da diğer bir kısıtlılık olarak ön plana çıkmaktadır.

KBH hastalarının tüm evrelerinde ve daha büyük hasta gruplarında tiyol dengesinin gösteren çalışmaların yapılması hastalık patogenezinde tiyol dengesinin ve TrxR enziminin rolünün anlaşılmasına önemli katkı sağlayacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. **Adejumo OA, Okaka EI, Okwuonu CG, Iyawe IO, Odujoko OO**, Serum C-reactive protein levels in pre-dialysis chronic kidney disease patients in southern Nigeria. *Ghana medical journal*, **2016**. 50, 1, 31-8.
2. **Ahmadpoor P, Eftekhar E, Nourooz Zadeh J, Servat H, Makhdoomi K, ve ark.**, Glutathione, glutathione-related enzymes, and total antioxidant capacity in patients on maintenance dialysis. *Iranian journal of kidney diseases*, **2009**. 3, 1, 22-7.
3. **Akgöz N, Arslan S**, Hemodiyaliz Tedavisi Alan Hastalarda Yaşanan Semptomların İncelenmesi. *NEFROLOJİ HEMŞİRELİĞİ DERGİSİ*, **2017**. 12, 1, 20-8.
4. **Akkuş İ**, Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza Yayınları, Konya*, **1995**. 32.
5. **Allen J, Krauss E, Deeter R**, Dipstick analysis of urinary protein. A comparison of Chemstrip-9 and Multistix-10SG. *Archives of pathology & laboratory medicine*, **1991**. 115, 1, 34-7.
6. **Altıparmak İH, Erkus ME, Sezen H, Demirbag R, Kaya Z, ve ark.**, Evaluation of thiol levels, thiol/disulfide homeostasis and their relation with inflammation in cardiac syndrome X. *Coronary artery disease*, **2016**. 27, 4, 295-301.
7. **Altschmied J, Haendeler J**, Thioredoxin-1 and endothelial cell aging: role in cardiovascular diseases. *Antioxidants & redox signaling*, **2009**. 11, 7, 1733-40.
8. **Arici M, Turgan C, Altun B, Sindel S, Erbay B, ve ark.**, Hypertension incidence in Turkey (HinT): a population-based study. *Journal of hypertension*, **2010**. 28, 2, 240-4.
9. **Arıncı K, Elhan A**, Anatomi 1. cilt. *Güneş Kitabevi, Ankara*, **1995**. 388.
10. **Arner ES, Holmgren A**, Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase. *European journal of biochemistry*, **2000**. 267, 20, 6102-9.
11. **Arner ES, Holmgren A**, The thioredoxin system in cancer. *Seminars in cancer biology*, 2006. 16, 6, 420-6.
12. **Aslan M, Sabuncu T, Kocuyigit A, Celik H, Selek S**, Relationship between total oxidant status and severity of diabetic nephropathy in type 2 diabetic patients. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*, **2007**. 17, 10, 734-40.
13. **Ates I, Ozkayar N, Inan B, Yilmaz FM, Topcuoglu C, ve ark.**, Dynamic thiol/disulphide homeostasis in patients with newly diagnosed primary hypertension. *Journal of the American Society of Hypertension : JASH*, **2016**. 10, 2, 159-66.
14. **Ateş İ, Özkayar N, Yılmaz FM, Bayrakçı N, Neşelioğlu S, ve ark.**, Oxidative stress level in patients with chronic kidney disease. *Ortadoğu Medical Journal/Ortadoğu Tıp Dergisi*, **2018**. 10, 1.
15. **Atkins RC**, The epidemiology of chronic kidney disease. *Kidney international*, 2005. 67, S14-S8.
16. **Atta NF, Galal A, Azab SM**, Novel sensor based on carbon paste/Nafion® modified with gold nanoparticles for the determination of glutathione. *Analytical and bioanalytical chemistry*, **2012**. 404, 6-7, 1661-72.
17. **Ayala A, Munoz MF, Arguelles S**, Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*, **2014**. 360438.
18. **Aydın M, Selcoki Y, Nazlı Y, Çolak N, Yalçın KS, ve ark.**, Relationship between total antioxidant capacity and the severity of coronary artery disease. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, **2012**. 3, 1, 22-8.
19. **Bagchi K, Puri S**, Free radicals and antioxidants in health and disease. *East Mediterr Health J*, **1998**. 4, 2, 350-60.
20. **Becker K, Gromer S, Schirmer RH, Muller S**, Thioredoxin reductase as a pathophysiological factor and drug target. *European journal of biochemistry*, **2000**. 267, 20, 6118-25.
21. **Berlett BS, Stadtman ER**, Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *The Journal of biological chemistry*, **1997**. 272, 33, 20313-6.
22. **Berndt C, Lillig CH**, Glutathione, glutaredoxins, and iron. *Antioxidants & redox signaling*, **2017**. 27, 15, 1235-51.
23. **Bertini R, Howard OM, Dong HF, Oppenheim JJ, Bizzarri C, ve ark.**, Thioredoxin, a redox enzyme released in infection and inflammation, is a unique chemoattractant for neutrophils, monocytes, and T cells. *The Journal of experimental medicine*, **1999**. 189, 11, 1783-9.
24. **Betteridge DJ**, What is oxidative stress? *Metabolism: clinical and experimental*, **2000**. 49, 2 Suppl 1, 3-8.

25. **Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O**, Oxidative stress and antioxidant defense. *The World Allergy Organization journal*, **2012**. 5, 1, 9-19.
26. **Biswas S, Chida AS, Rahman I**, Redox modifications of protein-thiols: emerging roles in cell signaling. *Biochemical pharmacology*, **2006**. 71, 5, 551-64.
27. **Bock A, Forchhammer K, Heider J, Leinfelder W, Sawers G, ve ark.**, Selenocysteine: the 21st amino acid. *Molecular microbiology*, **1991**. 5, 3, 515-20.
28. **Boger RH**, The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor. *Cardiovascular research*, **2003**. 59, 4, 824-33.
29. **Boron WF, Boulpaep EL.**, Medical Physiology, 2e Updated Edition E-Book: with STUDENT CONSULT Online Access, Elsevier Health Sciences, **2012**. p.
30. **Briviba K, Klotz LO, Sies H**, Toxic and signaling effects of photochemically or chemically generated singlet oxygen in biological systems. *Biological chemistry*, **1997**. 378, 11, 1259-65.
31. **Bucci E**, Thermodynamic approach to oxygen delivery in vivo by natural and artificial oxygen carriers. *Biophysical chemistry*, **2009**. 142, 1-3, 1-6.
32. **Cadenas E, Sies H**, The lag phase. *Free radical research*, **1998**. 28, 6, 601-9.
33. **Cadenas S**, ROS and redox signaling in myocardial ischemia-reperfusion injury and cardioprotection. *Free radical biology & medicine*, **2018**. 117, 76-89.
34. **Calabrese V, Lodi R, Tonon C, D'Agata V, Sapienza M, ve ark.**, Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and cellular stress response in Friedreich's ataxia. *Journal of the neurological sciences*, **2005**. 233, 1-2, 145-62.
35. **Canaud B, Cristol J, Morena M, Leray-Moragues H, Bosc J, ve ark.**, Imbalance of oxidants and antioxidants in haemodialysis patients. *Blood purification*, **1999**. 17, 2-3, 99-106.
36. **Carballal S, Alvarez B, Turell L, Botti H, Freeman B, ve ark.**, Sulfenic acid in human serum albumin. *Amino acids*, **2007**. 32, 4, 543-51.
37. **Carbonell LF, Nadal JA, Llanos MC, Hernández I, Nava E, ve ark.**, Depletion of liver glutathione potentiates the oxidative stress and decreases nitric oxide synthesis in a rat endotoxin shock model. *Critical care medicine*, **2000**. 28, 6, 2002-6.
38. **Carru C, Deiana L, Sotgia S, Pes GM, Zinellu A**, Plasma thiols redox status by laser- induced fluorescence capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, **2004**. 25, 6, 882-9.
39. **Catala A**, An overview of lipid peroxidation with emphasis in outer segments of photoreceptors and the chemiluminescence assay. *The international journal of biochemistry & cell biology*, **2006**. 38, 9, 1482-95.
40. **Cenas N, Nivinskas H, Anusevicius Z, Sarlauskas J, Lederer F, ve ark.**, Interactions of quinones with thioredoxin reductase: a challenge to the antioxidant role of the mammalian selenoprotein. *The Journal of biological chemistry*, **2004**. 279, 4, 2583-92.
41. **Chae HZ, Chung SJ, Rhee SG**, Thioredoxin-dependent peroxide reductase from yeast. *The Journal of biological chemistry*, **1994**. 269, 44, 27670-8.
42. **Cheeseman KH, Slater TF**, An introduction to free radical biochemistry. *British medical bulletin*, **1993**. 49, 3, 481-93.
43. **Chen X, Guo C, Kong J**, Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Neural regeneration research*, **2012**. 7, 5, 376-85.
44. **Chiueh CC**, Neuroprotective properties of nitric oxide. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1999**. 890, 301-11.
45. **Choo YS, Mao Z, Johnson GV, Lesort M**, Increased glutathione levels in cortical and striatal mitochondria of the R6/2 Huntington's disease mouse model. *Neuroscience letters*, **2005**. 386, 1, 63-8.
46. **Circu ML, Aw TY**, Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. *Free radical biology & medicine*, **2010**. 48, 6, 749-62.
47. **Clermont G, Lecour S, Lahet J-J, Siohan P, Vergely C, ve ark.**, Alteration in plasma antioxidant capacities in chronic renal failure and hemodialysis patients: a possible explanation for the increased cardiovascular risk in these patients. *Cardiovascular research*, **2000**. 47, 3, 618-23.
48. **Coşkun C, Emre HÖ, Gümüş A, Uzun S, Karadağ S, ve ark.**, Diyabetik ve Diyabetik Olmayan Kronik Böbrek Yetmezliğinde Dinamik Tiyol Disülfit Homeostazi ve İleri Protein Oksidasyon Ürünleri (AOPPs). *DENEYSEL TIP DERGİSİ*, **2016**. 6, 12, 1-9.
49. **Cremers CM, Jakob U**, Oxidant sensing by reversible disulfide bond formation. *The Journal of biological chemistry*, **2013**. 288, 37, 26489-96.
50. **Demirbilek ME.**, Serebral İskemi Oluşturulan Sıçanlarda Egf, Tnf-A Düzeylerinin Ve Tiyoredoksin Sisteminin İncelenmesi, Gazi Üniversitesi, **2007**.

51. **Dickerhof N, Turner R, Khalilova I, Fantino E, Sly PD, ve ark.**, Oxidized glutathione and uric acid as biomarkers of early cystic fibrosis lung disease. *Journal of Cystic Fibrosis*, **2017**. 16, 2, 214-21.
52. **Dounousi E, Papavasiliou E, Makedou A, Ioannou K, Katopodis KP, ve ark.**, Oxidative stress is progressively enhanced with advancing stages of CKD. *American Journal of Kidney Diseases*, **2006**. 48, 5, 752-60.
53. **Dursun E, Ozben T, Süleymanlar G, Dursun B, Yakupoglu G**, Effect of hemodialysis on the oxidative stress and antioxidants. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, **2002**. 40, 10, 1009-13.
54. **Ekdahl KN, Soveri I, Hilborn J, Fellstrom B, Nilsson B**, Cardiovascular disease in haemodialysis: role of the intravascular innate immune system. *Nature reviews. Nephrology*, **2017**. 13, 5, 285-96.
55. **Ellidag HY, Bulbulla N, Eren E, Abusoglu S, Akgol E, ve ark.**, Ischemia-modified albumin: could it be a new oxidative stress biomarker for colorectal carcinoma? *Gut and liver*, **2013**. 7, 6, 675.
56. **Elmas B, Karacan M, Dervişoğlu P, Kösecik M, İşgüven ŞP, ve ark.**, Dynamic thiol/disulphide homeostasis as a novel indicator of oxidative stress in obese children and its relationship with inflammatory-cardiovascular markers. *Anatolian journal of cardiology*, **2017**. 18, 5, 361.
57. **Epperlein MM, Nourooz-Zadeh J, Jayasena SD, Hothersall JS, Noronha-Dutra A, ve ark.**, Nature and biological significance of free radicals generated during bicarbonate hemodialysis. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, **1998**. 9, 3, 457-63.
58. **Erel O**, A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clinical biochemistry*, **2004**. 37, 2, 112-9.
59. **Erel O**, A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical biochemistry*, **2005**. 38, 12, 1103-11.
60. **Erel O, Neselioglu S**, A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. *Clinical biochemistry*, **2014**. 47, 18, 326-32.
61. **Esterbauer H, Eckl P, Ortner A**, Possible mutagens derived from lipids and lipid precursors. *Mutation research*, **1990**. 238, 3, 223-33.
62. **Fernando MR, Nanri H, Yoshitake S, Nagata-Kuno K, Minakami S**, Thioredoxin regenerates proteins inactivated by oxidative stress in endothelial cells. *European journal of biochemistry*, **1992**. 209, 3, 917-22.
63. **Forman HJ, Zhang H, Rinna A**, Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Molecular aspects of medicine*, **2009**. 30, 1-2, 1-12.
64. **Forstermann U, Xia N, Li H**, Roles of Vascular Oxidative Stress and Nitric Oxide in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Circulation research*, **2017**. 120, 4, 713-35.
65. **Fridovich I**, Fundamental aspects of reactive oxygen species, or what's the matter with oxygen? *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1999**. 893, 13-8.
66. **Fu C, Wu C, Liu T, Ago T, Zhai P, ve ark.**, Elucidation of thioredoxin target protein networks in mouse. *Molecular & Cellular Proteomics*, **2009**. 8, 7, 1674-87.
67. **Gadicherla S, Suma M, Prashanth A**, Study of Serum Paraoxonase Activity in Chronic Renal Failure. *Scope Med*, **2013**.
68. **Ganime Ayar, Sanliay Sahin, Mutlu Uysal Yazici, Salim Neselioglu, Ozcan Erel, ve ark.**, Effects of Hemodialysis on Thiol-Disulphide Homeostasis in Critically Ill Pediatric Patients with Acute Kidney Injury. *BioMed research international*, **2018**. 6.
69. **Gascon E, Gao FB**, Cause or Effect: Misregulation of microRNA Pathways in Neurodegeneration. *Frontiers in neuroscience*, **2012**. 6, 48.
70. **Ghafourifar P, Cadenas E**, Mitochondrial nitric oxide synthase. *Trends in pharmacological sciences*, **2005**. 26, 4, 190-5.
71. **Ghezzi P, Bonetto V, Fratelli M**, Thiol-disulfide balance: from the concept of oxidative stress to that of redox regulation. *Antioxidants & redox signaling*, **2005**. 7, 7-8, 964-72.
72. **Gilbert HF**, [2] Thiol/disulfide exchange equilibria and disulfidebond stability. *Methods in enzymology*, **1995**. 251, 8-28.
73. **Głowacki R, Bald E**, Fully automated method for simultaneous determination of total cysteine, cysteinylglycine, glutathione and homocysteine in plasma by HPLC with UV absorbance detection. *Journal of Chromatography B*, **2009**. 877, 28, 3400-4.
74. **Go YM, Jones DP**, Cysteine/cystine redox signaling in cardiovascular disease. *Free radical biology & medicine*, **2011**. 50, 4, 495-509.
75. **Gromer S, Gross JH**, Methylseleninate is a substrate rather than an inhibitor of mammalian thioredoxin reductase. Implications for the antitumor effects of selenium. *The Journal of biological chemistry*, **2002**. 277, 12, 9701-6.

76. **Gromer S, Urig S, Becker K**, The thioredoxin system--from science to clinic. *Medicinal research reviews*, **2004**. 24, 1, 40-89.
77. **Gupta RK, Patel AK, Shah N, Chaudhary AK, Jha UK, ve ark.**, Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*, **2014**. 15, 11, 4405-9.
78. **Gutteridge JM**, Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical chemistry*, **1995**. 41, 12 Pt 2, 1819-28.
79. **Guyton AC, Hall JE**, Textbook of medical physiology. 11th. *WB Saunders Company, Philadelphia*, **2006**.
80. **Haigis MC, Yankner BA**, The aging stress response. *Molecular cell*, **2010**. 40, 2, 333-44.
81. **Halliwell B**, Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet*, **1994**. 344, 8924, 721-4.
82. **Hanko M, Švorc I, Planková A, Mikuš P**, Overview and recent advances in electrochemical sensing of glutathione--A review. *Analytica Chimica Acta*, **2019**.
83. **Hanschmann EM, Godoy JR, Berndt C, Hudemann C, Lillig CH**, Thioredoxins, glutaredoxins, and peroxiredoxins--molecular mechanisms and health significance: from cofactors to antioxidants to redox signaling. *Antioxidants & redox signaling*, **2013**. 19, 13, 1539-605.
84. **Hauser RA, Lyons KE, McClain T, Carter S, Perlmutter D**, Randomized, double-blind, pilot evaluation of intravenous glutathione in Parkinson's disease. *Movement Disorders*, **2009**. 24, 7, 979-83.
85. **Henry RJ, Sobel C, Segalove M**, Turbidimetric determination of proteins with sulfosalicylic and trichloroacetic acids. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, **1956**. 92, 4, 748-51.
86. **Hill NR, Fatoba ST, Oke JL, Hirst JA, O'Callaghan CA, ve ark.**, Global prevalence of chronic kidney disease--a systematic review and meta-analysis. *PloS one*, **2016**. 11, 7, e0158765.
87. **Himmelfarb J**, Hemodialysis complications. *American Journal of Kidney Diseases*, **2005**. 45, 6, 1122-31.
88. **Himmelfarb J, McMonagle E, McMenamin E**, Plasma protein thiol oxidation and carbonyl formation in chronic renal failure. *Kidney international*, **2000**. 58, 6, 2571-8.
89. **Holmgren A**, Reduction of disulfides by thioredoxin. Exceptional reactivity of insulin and suggested functions of thioredoxin in mechanism of hormone action. *Journal of Biological Chemistry*, **1979**. 254, 18, 9113-9.
90. **Holmgren A**, Thioredoxin. *Annual review of biochemistry*, **1985**. 54, 1, 237-71.
91. **Holmgren A**, Thioredoxin and glutaredoxin systems. *The Journal of biological chemistry*, **1989**. 264, 24, 13963-6.
92. **HOLMGREN A, MORGAN FJ**, Enzymic reduction of disulfide bonds by thioredoxin: The reactivity of disulfide bonds in human choriogonadotropin and its subunits. *European journal of biochemistry*, **1976**. 70, 2, 377-83.
93. **Homma T, Fujii J**, Application of glutathione as anti-oxidative and anti-aging drugs. *Current drug metabolism*, **2015**. 16, 7, 560-71.
94. **Honeggar M, Beck R, Moos PJ**, Thioredoxin reductase 1 ablation sensitizes colon cancer cells to methylseleninate-mediated cytotoxicity. *Toxicology and applied pharmacology*, **2009**. 241, 3, 348-55.
95. **Horoz M, Aslan M, Koçlu AO, Bolukbas C, Bolukbas FF, ve ark.**, Relationship Between Leptin Level and Oxidative Status Parameters in Hemodialysis Patients. *Artif Organs*, **2009**. 33, 1.
96. **Hovind P, Rossing P, Tarnow L, Smidt UM, Parving HH**, Progression of diabetic nephropathy. *Kidney international*, **2001**. 59, 2, 702-9.
97. **İliçin G, Biberöğlü K SGva**, Temel İç Hastalıkları kitabı. **1996**. 769-802.
98. **Imlay JA, Linn S**, DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science*, **1988**. 240, 4857, 1302-9.
99. **Inal BB, Emre HO, Baran O, Ahmedov M, Ozdemir AF, ve ark.**, Dynamic thiol-disulphide homeostasis in low-grade gliomas: Preliminary results in serum. *Clinical neurology and neurosurgery*, **2017**. 161, 17-21.
100. **Inker LA, Levey AS**, Staging and management of chronic kidney disease. *National Kidney Foundation Primer on Kidney Diseases*, **2013**. 458.
101. **James MT, Hemmelgarn BR, Tonelli M**, Early recognition and prevention of chronic kidney disease. *The Lancet*, **2010**. 375, 9722, 1296-309.
102. **James S, Slikker III W, Melnyk S, New E, Pogribna M, ve ark.**, Thimerosal neurotoxicity is associated with glutathione depletion: protection with glutathione precursors. *Neurotoxicology*, **2005**. 26, 1, 1-8.

103. **Jones DP**, Radical-free biology of oxidative stress. *American journal of physiology. Cell physiology*, **2008**. 295, 4, C849-68.
104. **Jones DP, Liang Y**, Measuring the poise of thiol/disulfide couples in vivo. *Free radical biology & medicine*, **2009**. 47, 10, 1329-38.
105. **Judd E, Calhoun DA**, Management of hypertension in CKD: beyond the guidelines. *Advances in chronic kidney disease*, **2015**. 22, 2, 116-22.
106. **Juretić D, Tadijanović M, Rekić B, Simeon-Rudolf V, Reiner E, ve ark.**, Serum paraoxonase activities in hemodialyzed uremic patients: cohort study. *Croat Med J*, **2001**. 42, 2, 146-50.
107. **K.Sagoo M, Gnudi L**, Diabetic nephropathy: Is there a role for oxidative stress? *Free Radical Biology and Medicine*, **2018**. 116, 50-63.
108. **Karabulut H, Gülay MŞ**, Serbest radikaller. *MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg*, **2016**. 4, 1, 50-9.
109. **Karafakıoğlu YS**, Antioxidants and Taurine As an Antioxidant *Kocatepe Vet J* **2010**. 3, 1, 55-61.
110. **Karplus PA, Schulz GE**, Refined structure of glutathione reductase at 1.54 Å resolution. *Journal of molecular biology*, **1987**. 195, 3, 701-29.
111. **Kaya S, Eskiocak S, Tezel HA, Soyulu ARz, Ümit HC, ve ark.**, Oxidative and Nitrosative Stress in Patients with Colorectal Cancer. *Türk Klinik Biyokimya Derg*, **2012**. 10, 2, 57-63.
112. **Kelly FJ, Mudway IS**, Protein oxidation at the air-lung interface. *Amino acids*, 2003. 25, 3-4, 375-96.
113. **Kerr PG, Huang L**, Review: membranes for haemodialysis. *Nephrology*, **2010**. 15, 4, 381-5.
114. **Kilinc K, Kilinc A**, Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri] de, Hacettepe. *Medical Journal*, **2002**. 33, 110-8.
115. **Klatt P, Lamas S**, Regulation of protein function by S- glutathiolation in response to oxidative and nitrosative stress. *European journal of biochemistry*, **2000**. 267, 16, 4928-44.
116. **Koca T, Berber A, Koca HB, Demir TA, Koken T**, Effects of hemodialysis period on levels of blood trace elements and oxidative stress. *Clinical and experimental nephrology*, **2010**. 14, 5, 463-8.
117. **Kokubo K, Kurihara Y, Kobayashi K, Tsukao H, Kobayashi H**, Evaluation of the Biocompatibility of Dialysis Membranes. *Blood purification*, **2015**. 40, 4, 293-7.
118. **Kondo N, Ishii Y, Kwon YW, Tanito M, Horita H, ve ark.**, Redox-sensing release of human thioredoxin from T lymphocytes with negative feedback loops. *Journal of immunology*, **2004**. 172, 1, 442-8.
119. **Korevaar JC, van Manen JG, Dekker FW, de Waart DR, Boeschoten EW, ve ark.**, Effect of an increase in C-reactive protein level during a hemodialysis session on mortality. *Journal of the American Society of Nephrology*, **2004**. 15, 11, 2916-22.
120. **Kovacic P, Jacintho JD**, Mechanisms of carcinogenesis: focus on oxidative stress and electron transfer. *Current medicinal chemistry*, **2001**. 8, 7, 773-96.
121. **Köken T, Kahraman A, Serteser M, Gökçe Ç**, Hemodiyaliz ve Oksidatif Stress. *Kocatepe Tıp Dergisi* **2004**. 5, Ek Sayı 1.
122. **Kuchta A, Pacanis A, Kortas-Stempak B, Çwiklińska A, Ziętkiewicz M, ve ark.**, Estimation of oxidative stress markers in chronic kidney disease. *Kidney and Blood Pressure Research*, **2011**. 34, 1, 12-9.
123. **Lagman M, Ly J, Saing T, Singh MK, Tudela EV, ve ark.**, Investigating the causes for decreased levels of glutathione in individuals with type II diabetes. *PloS one*, **2015**. 10, 3, e0118436.
124. **Lee BT, Ahmed FA, Hamm LL, Teran FJ, Chen C-S, ve ark.**, Association of C-reactive protein, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-6 with chronic kidney disease. *BMC nephrology*, **2015**. 16, 1, 77.
125. **Lee S, Kim SM, Lee RT**, Thioredoxin and thioredoxin target proteins: from molecular mechanisms to functional significance. *Antioxidants & redox signaling*, **2013**. 18, 10, 1165-207.
126. **Li PK-t, Chow KM**, Peritoneal dialysis—first policy made successful: perspectives and actions. *American Journal of Kidney Diseases*, **2013**. 62, 5, 993-1005.
127. **Li PK, Chow KM**, Peritoneal dialysis—first policy made successful: perspectives and actions. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*, **2013**. 62, 5, 993-1005.
128. **Liakopoulos V, Roumeliotis S, Gorny X, Dounousi E, Mertens PR**, Oxidative stress in hemodialysis patients: a review of the literature. *Oxidative medicine and cellular longevity*, **2017**.
129. **Lipinski B**, Hydroxyl Radical and Its Scavengers in Health and Disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, **2011**. 1-9.
130. **Locigno R, Castronovo V**, Reduced glutathione system: role in cancer development, prevention and treatment. *International journal of oncology*, **2001**. 19, 2, 221-36.

131. **Lu J, Holmgren A**, The thioredoxin antioxidant system. *Free radical biology & medicine*, **2014**. 66, 75-87.
132. **Lyras L, Cairns NJ, Jenner A, Jenner P, Halliwell B**, An assessment of oxidative damage to proteins, lipids, and DNA in brain from patients with Alzheimer's disease. *Journal of neurochemistry*, **1997**. 68, 5, 2061-9.
133. **Mahmood DFD, Abderrazak A, El Hadri K, Simmet T, Rouis M**, The thioredoxin system as a therapeutic target in human health and disease. *Antioxidants & redox signaling*, **2013**. 19, 11, 1266-303.
134. **Makris K, Spanou L**, Acute kidney injury: definition, pathophysiology and clinical phenotypes. *The Clinical Biochemist Reviews*, **2016**. 37, 2, 85.
135. **Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB, 3rd**, Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, **2003**. 17, 1, 24-38.
136. **Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Filesi C, Giovannini C**, Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *The Journal of nutritional biochemistry*, **2005**. 16, 10, 577-86.
137. **Matsuo Y, Yodoi J**, Extracellular thioredoxin: a therapeutic tool to combat inflammation. *Cytokine & growth factor reviews*, **2013**. 24, 4, 345-53.
138. **Matteucci E, Giampietro O**, Thiol signalling network with an eye to diabetes. *Molecules*, **2010**. 15, 12, 8890-903.
139. **Mehmetoglu I, Yerlikaya FH, Kurban S, Erdem SS, Tonbul Z**, Oxidative stress markers in hemodialysis and peritoneal dialysis patients, including coenzyme Q10 and ischemia-modified albumin. *The International journal of artificial organs*, **2012**. 35, 3, 226-32.
140. **Menon V, Wang X, Greene T, Beck GJ, Kusek JW, ve ark.**, Homocysteine in chronic kidney disease: effect of low protein diet and repletion with B vitamins. *Kidney international*, **2005**. 67, 4, 1539-46.
141. **Modaresi A, Nafar M, Sahraei Z**, Oxidative stress in chronic kidney disease. *Iranian journal of kidney diseases*, **2015**. 9, 3, 165-79.
142. **Molina-Navarro MM, Casas C, Piedrafita L, Bellí G, Herrero E**, Prokaryotic and eukaryotic monothiol glutaredoxins are able to perform the functions of Grx5 in the biogenesis of Fe/S clusters in yeast mitochondria. *FEBS letters*, **2006**. 580, 9, 2273-80.
143. **Monteiro HP, Ogata FT, Stern A**, Thioredoxin promotes survival signaling events under nitrosative/oxidative stress associated with cancer development. *Biomedical journal*, **2017**. 40, 4, 189-99.
144. **Morena M, Delbosc S, Dupuy AM, Canaud B, Cristol JP**, Overproduction of reactive oxygen species in end-stage renal disease patients: a potential component of hemodialysis-associated inflammation. *Hemodialysis international. International Symposium on Home Hemodialysis*, **2005**. 9, 1, 37-46.
145. **Mourad T, Min K-L, Steghens J-P**, Measurement of oxidized glutathione by enzymatic recycling coupled to bioluminescent detection. *Analytical biochemistry*, **2000**. 283, 2, 146-52.
146. **Mustacich D, Powis G**, Thioredoxin reductase. *The Biochemical journal*, **2000**. 346 Pt 1, 1-8.
147. **Nagendruppa G**, An appreciation of free radical chemistry 3. Free radicals in diseases and health. *Resonance* **2005**. 10, 4, 65-74.
148. **Nakamura H, De Rosa SC, Yodoi J, Holmgren A, Ghezzi P, ve ark.**, Chronic elevation of plasma thioredoxin: inhibition of chemotaxis and curtailment of life expectancy in AIDS. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **2001**. 98, 5, 2688-93.
149. **Nakamura H, Herzenberg LA, Bai J, Araya S, Kondo N, ve ark.**, Circulating thioredoxin suppresses lipopolysaccharide-induced neutrophil chemotaxis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **2001**. 98, 26, 15143-8.
150. **Nakamura H, Masutani H, Yodoi J**, Extracellular thioredoxin and thioredoxin-binding protein 2 in control of cancer. *Seminars in cancer biology*, **2006**. 16, 6, 444-51.
151. **Neelofar K, Arif Z, Arafat MY, Alam K, Ahmad J**, A study on correlation between oxidative stress parameters and inflammatory markers in type 2 diabetic patients with kidney dysfunction in north Indian population. *Journal of cellular biochemistry*, **2019**. 120, 4, 4892-902.
152. **Ngamchuea K, Batchelor-McAuley C, Williams C, Godlewska BR, Sharpley AL, ve ark.**, Salivary glutathione in bipolar disorder: A pilot study. *Journal of affective disorders*, **2018**. 238, 277-80.
153. **Nickel W**, The mystery of nonclassical protein secretion. A current view on cargo proteins and potential export routes. *European journal of biochemistry*, **2003**. 270, 10, 2109-19.
154. **Nordberg J, Arner ES**, Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free radical biology & medicine*, **2001**. 31, 11, 1287-312.

155. **Omama A, Sandikci SC, Kucuksahin O, Alisik M, Erel O**, Can the Thiol/Disulfide Imbalance Be a Predictor of Colchicine Resistance in Familial Mediterranean Fever? *Journal of Korean medical science*, **2017**. 32, 10, 1588-94.
156. **Otal Y, Demircan S, Şener A, Alışık M, Tanrıverdi F, ve ark.**, Acute Renal Failure and Thiol-Disulfide Homeostasis. *J Nephrol Ther*, **2018**. 8, 3.
157. **Ozden M, Maral H, Akaydin D, Cetinalp P, Kalender B**, Erythrocyte glutathione peroxidase activity, plasma malondialdehyde and erythrocyte glutathione levels in hemodialysis and CAPD patients. *Clinical biochemistry*, **2002**. 35, 4, 269-73.
158. **Özcan O, Hüseyin Erdal Gİ, Demir D, Gürpınar AB, Neşeliöglu S, ve ark.**, Plasma Ischemia-Modified Albumin Levels and Dynamic Thiol/Disulfide Balance in Sickle Cell Disease: A Case-Control Study. *Turkish Journal of Hematology*, **2018**. 35, 4, 265.
159. **Özcan. O, Erdal. H, Çakırca. G, Yönden. Z**, Oxidative stress and its impacts on intracellular lipids, proteins and DNA. *JCEI /Journal of Clinical and Experimental Investigations*, **2015**. 6, 3, 331-6.
160. **Parmar MS**, Chronic renal disease. *Bmj*, **2002**. 325, 7355, 85-90.
161. **Pastor N, Weinstein H, Jamison E, Brenowitz M**, A detailed interpretation of OH radical footprints in a TBP-DNA complex reveals the role of dynamics in the mechanism of sequence-specific binding. *Journal of molecular biology*, **2000**. 304, 1, 55-68.
162. **Patel JM, Zhang J, Block ER**, Nitric oxide-induced inhibition of lung endothelial cell nitric oxide synthase via interaction with allosteric thiols: role of thioredoxin in regulation of catalytic activity. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, **1996**. 15, 3, 410-9.
163. **Pennisi G, Cornelius C, Cavallaro MM, Salinaro AT, Cambria MT, ve ark.**, Redox regulation of cellular stress response in multiple sclerosis. *Biochemical pharmacology*, **2011**. 82, 10, 1490-9.
164. **Peters Jr T**, All about albumin: biochemistry, genetics, and medical applications, Academic press, **1995**.
165. **Poppelaars F, Faria B, Gaya da Costa M, Franssen CFM, van Son WJ, ve ark.**, The Complement System in Dialysis: A Forgotten Story? *Frontiers in immunology*, **2018**. 9, 71.
166. **Prabhu A, Sarcar B, Kahali S, Yuan Z, Johnson JJ, ve ark.**, Cysteine catabolism: a novel metabolic pathway contributing to glioblastoma growth. *Cancer research*, **2014**. 74, 3, 787-96.
167. **Prakash M, Upadhyaya S, Prabhu R**, Protein thiol oxidation and lipid peroxidation in patients with uraemia. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*, **2004**. 64, 6, 599-604.
168. **Putri AY, Thaha M**, Role of oxidative stress on chronic kidney disease progression. *Acta medica Indonesiana*, **2014**. 46, 3, 244-52.
169. **Qiao J, Arthur JF, Gardiner EE, Andrews RK, Zeng L, ve ark.**, Regulation of platelet activation and thrombus formation by reactive oxygen species. *Redox biology*, **2018**. 14, 126-30.
170. **Ravani P, Palmer SC, Oliver MJ, Quinn RR, MacRae JM, ve ark.**, Associations between hemodialysis access type and clinical outcomes: a systematic review. *Journal of the American Society of Nephrology*, **2013**. 24, 3, 465-73.
171. **Reddy CB, Cyriac C, Desle HB**, Role of "Ischemia Modified Albumin"(IMA) in acute coronary syndromes. *indian heart journal*, **2014**. 66, 6, 656-62.
172. **Reddy KS**, Cardiovascular diseases in the developing countries: dimensions, determinants, dynamics and directions for public health action. *Public health nutrition*, **2002**. 5, 1a, 231-7.
173. **Rensburg Bv, Meyers AM**, Clinical aspects of chronic kidney disease. *S Afr Med J* **2015**. 105, 3, 237.
174. **Rhee SG, Chae HZ, Kim K**, Peroxiredoxins: a historical overview and speculative preview of novel mechanisms and emerging concepts in cell signaling. *Free radical biology & medicine*, **2005**. 38, 12, 1543-52.
175. **Robinson BM, Akizawa T, Jager KJ, Kerr PG, Saran R, ve ark.**, Factors affecting outcomes in patients reaching end-stage kidney disease worldwide: differences in access to renal replacement therapy, modality use, and haemodialysis practices. *Lancet*, **2016**. 388, 10041, 294-306.
176. **Roden AC, Lockington KS, Tostrud LJ, Katzmann JA**, Urine protein electrophoresis and immunoelectrophoresis using unconcentrated or minimally concentrated urine samples. *American journal of clinical pathology*, **2008**. 130, 1, 141-5.
177. **Rodrigues SD, Batista GB, Ingberman M, Pecoits-Filho R, Nakao LS**, Plasma cysteine/cystine reduction potential correlates with plasma creatinine levels in chronic kidney disease. *Blood purification*, **2012**. 34, 3-4, 231-7.
178. **Rodrigues SD, Batista GB, Ingberman M, Pecoits-Filho R, Nakao LS**, Plasma cysteine/cystine reduction potential correlates with plasma creatinine levels in chronic kidney disease. *Blood purification*, **2012**. 34, 3-4, 231-7.
179. **Romagnani P, Remuzzi G, Glasscock R, Levin A, Jager KJ, ve ark.**, Chronic kidney disease. *Nature Reviews Disease Primers*, **2017**. 3, 17088.

180. **Rubartelli A, Bajetto A, Allavena G, Wollman E, Sitia R**, Secretion of thioredoxin by normal and neoplastic cells through a leaderless secretory pathway. *The Journal of biological chemistry*, **1992**. 267, 34, 24161-4.
181. **Salim S**, Oxidative Stress and the Central Nervous System. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, **2017**. 360, 1, 201-5.
182. **Sbrana E, Paladini A, Bramanti E, Spinetti MC, Raspi G**, Quantitation of reduced glutathione and cysteine in human immunodeficiency virus-infected patients. *Electrophoresis*, **2004**. 25, 10-11, 1522-9.
183. **Sen CK, Packer L**, Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *The American journal of clinical nutrition*, **2000**. 72, 2, 653-69.
184. **Sen S, Chakraborty R, Sridhar C, Reddy YSR, De B**, FREE RADICALS, ANTIOXIDANTS, DISEASES AND PHYTOMEDICINES: CURRENT STATUS AND FUTURE PROSPECT. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, **2010**. 3, 1, 91-100.
185. **Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessaraki M**, Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany*, **2012**. 1-26.
186. **Shi J, Yu M, Sheng M**, Angiogenesis and Inflammation in Peritoneal Dialysis: The Role of Adipocytes. *Kidney & blood pressure research*, **2017**. 42, 2, 209-19.
187. **Signorini L, Granata S, Lupo A, Zaza G**, Naturally Occurring Compounds: New Potential Weapons against Oxidative Stress in Chronic Kidney Disease. *International journal of molecular sciences*, **2017**. 18, 7.
188. **Simons AL, Parsons AD, Foster KA, Orcutt KP, Fath MA, ve ark.**, Inhibition of glutathione and thioredoxin metabolism enhances sensitivity to perifosine in head and neck cancer cells. *Journal of oncology*, **2009**. 519563.
189. **Skogastierna C, Johansson M, Parini P, Eriksson M, Eriksson LC, ve ark.**, Statins inhibit expression of thioredoxin reductase 1 in rat and human liver and reduce tumour development. *Biochemical and biophysical research communications*, **2012**. 417, 3, 1046-51.
190. **Slivka A, Spina MB, Cohen G**, Reduced and oxidized glutathione in human and monkey brain. *Neuroscience letters*, **1987**. 74, 1, 112-8.
191. **Smeyne M, Smeyne RJ**, Glutathione metabolism and Parkinson's disease. *Free radical biology & medicine*, **2013**. 62, 13-25.
192. **Soejima H, Suefuji H, Miyamoto S, Kajiwaram I, Kojima S, ve ark.**, Increased plasma thioredoxin in patients with acute myocardial infarction. *Clinical cardiology*, **2003**. 26, 12, 583-7.
193. **Sosa V, Moline T, Somoza R, Paciucci R, Kondoh H, ve ark.**, Oxidative stress and cancer: an overview. *Ageing research reviews*, **2013**. 12, 1, 376-90.
194. **Steele ML, Fuller S, Maczurek AE, Kersaitis C, Ooi L, ve ark.**, Chronic inflammation alters production and release of glutathione and related thiols in human U373 astroglial cells. *Cellular and molecular neurobiology*, **2013**. 33, 1, 19-30.
195. **Sugimoto M, Yamaoka Y**, Review of Helicobacter pylori infection and chronic renal failure. *Therapeutic apheresis and dialysis : official peer-reviewed journal of the International Society for Apheresis, the Japanese Society for Apheresis, the Japanese Society for Dialysis Therapy*, **2011**. 15, 1, 1-9.
196. **Suleymanlar G, Utas C, Arinsoy T, Ates K, Altun B, ve ark.**, A population-based survey of Chronic RENal Disease In Turkey--the CREDIT study. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, **2011**. 26, 6, 1862-71.
197. **Şahin DY, Elbasan Z, Gür M, Türkoğlu C, Betül Özaltun, ve ark.**, Relationship between oxidative stress markers and cardiac syndrome X. *JCEI / Journal of Clinical and Experimental Investigations*, **2012**. 3, 2, 174-80.
198. **Takagi Y, Gon Y, Todaka T, Nozaki K, Nishiyama A, ve ark.**, Expression of thioredoxin Is enhanced in atherosclerotic plaques and during neointima. *Laboratory investigation*, **1998**. 78, 8, 957.
199. **Tamura T, Stadtman TC**, A new selenoprotein from human lung adenocarcinoma cells: purification, properties, and thioredoxin reductase activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **1996**. 93, 3, 1006-11.
200. **Taniguchi M, Hara T, Honda H**, Similarities between rat liver mitochondrial and cytosolic glutathione reductases and their apoenzyme accumulation in riboflavin deficiency. *Biochemistry international*, **1986**. 13, 3, 447-54.
201. **Tao L, Jiao X, Gao E, Lau WB, Yuan Y, ve ark.**, Nitrate inactivation of thioredoxin-1 and its role in postischemic myocardial apoptosis. *Circulation*, **2006**. 114, 13, 1395-402.

202. **Tarng DC, Huang TP, Wei YH, Liu TY, Chen HW, ve ark.**, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine of leukocyte DNA as a marker of oxidative stress in chronic hemodialysis patients. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*, **2000**. 36, 5, 934-44.
203. **Tbahriti HF, Kaddous A, Bouchenak M, Mekki K**, Effect of different stages of chronic kidney disease and renal replacement therapies on oxidant-antioxidant balance in uremic patients. *Biochemistry research international*, **2013**.
204. **Tetik S, Ahmad S, Alturfan AA, Fresko I, Disbudak M, ve ark.**, Determination of oxidant stress in plasma of rheumatoid arthritis and primary osteoarthritis patients. *Indian journal of biochemistry & biophysics*, **2010**. 47, 6, 353-8.
205. **Tetik S, Ahmad S, Alturfan AA, Fresko I, Disbudak M, ve ark.**, Determination of oxidant stress in plasma of rheumatoid arthritis and primary osteoarthritis patients. **2010**.
206. **Toborek M, Wasik T, Drozd M, Klin M, Magner-Wrobel K, ve ark.**, Effect of hemodialysis on lipid peroxidation and antioxidant system in patients with chronic renal failure. *Metabolism: clinical and experimental*, **1992**. 41, 11, 1229-32.
207. **Tuggle CK, Fuchs JA**, Glutathione reductase is not required for maintenance of reduced glutathione in *Escherichia coli* K-12. *Journal of bacteriology*, **1985**. 162, 1, 448-50.
208. **Turedi S, Cinar O, Yavuz I, Mentese A, Gunduz A, ve ark.**, Differences in ischemia-modified albumin levels between end stage renal disease patients and the normal population. *Journal of nephrology*, **2010**. 23, 3, 335-40.
209. **Turell L, Radi R, Alvarez B**, The thiol pool in human plasma: the central contribution of albumin to redox processes. *Free radical biology & medicine*, **2013**. 65, 244-53.
210. **Tülay KÖKEN, Ahmet KAHRAMAN, Mustafa SERTESER, GÖKÇE Ç**, Hemodialysis and Oxidative Stress. *The Medical Journal of Kocatepe*, **2004**. 5, 1.
211. **Ungvari Z, Kaley G, De Cabo R, Sonntag WE, Csiszar A**, Mechanisms of vascular aging: new perspectives. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*, **2010**. 65, 10, 1028-41.
212. **Ustundag Budak Y, Kahvecioglu S, Celik H, Alisik M, Erel O**, Serum Thiol/Disulfide Homeostasis in Hemodialysis, Peritoneal Dialysis, and Renal Transplantation Patients. *TURKISH NEPHROLOGY DIALYSIS AND TRANSPLANTATION JOURNAL*, **2017**. 26, 1, 105-10.
213. **Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J**, Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and cellular biochemistry*, **2004**. 266, 1-2, 37-56.
214. **Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, ve ark.**, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, **2007**. 39, 1, 44-84.
215. **Valko M, Morris H, Cronin MT**, Metals, toxicity and oxidative stress. *Current medicinal chemistry*, **2005**. 12, 10, 1161-208.
216. **Viswanathan G, Upadhyay A**, Assessment of proteinuria. *Advances in chronic kidney disease*, **2011**. 18, 4, 243-8.
217. **Volkova M, Garg R, Dick S, Boheler KR**, Aging-associated changes in cardiac gene expression. *Cardiovascular research*, **2005**. 66, 2, 194-204.
218. **Watson WH, Chen Y, Jones DP**, Redox state of glutathione and thioredoxin in differentiation and apoptosis. *Biofactors*, **2003**. 17, 1- 4, 307-14.
219. **Watson WH, Yang X, Choi YE, Jones DP, Kehrer JP**, Thioredoxin and its role in toxicology. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*, **2004**. 78, 1, 3-14.
220. **Wei YH, Lee HC**, Oxidative stress, mitochondrial DNA mutation, and impairment of antioxidant enzymes in aging. *Experimental biology and medicine*, **2002**. 227, 9, 671-82.
221. **Wayne TF, Jr., Parinandi N, Maulik N**, Thioredoxins in cardiovascular disease. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, **2015**. 93, 11, 903-11.
222. **Williams C**, Chemistry and biochemistry of flavoenzymes. *Vol. III, ed. Muller, F., CRC Press, Boca Raton, Florida*, **1992**. 121-211.
223. **Williams CH, Arscott LD, Muller S, Lennon BW, Ludwig ML, ve ark.**, Thioredoxin reductase two modes of catalysis have evolved. *European journal of biochemistry*, **2000**. 267, 20, 6110-7.
224. **Wlodek PJ, Iciek MB, Milkowski A, Smolenski OB**, Various forms of plasma cysteine and its metabolites in patients undergoing hemodialysis. *Clinica chimica acta*, **2001**. 304, 1-2, 9-18.
225. **Wong FN, Chua KH, Tan JAMA, Wong CM, Kuppusamy UR**, Glycaemic control in type 2 diabetic patients with chronic kidney disease: the impacts on enzymatic antioxidants and soluble RAGE. *PeerJ*, **2018**. 6, e4421.

226. **Yan LJ**, Positive oxidative stress in aging and aging-related disease tolerance. *Redox biology*, **2014**. 2, 165-9.
227. **Yan LJ, Sohal RS**, Mitochondrial adenine nucleotide translocase is modified oxidatively during aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **1998**. 95, 22, 12896-901.
228. **Yeates K, Zhu N, Vonesh E, Trpeski L, Blake P, ve ark.**, Hemodialysis and peritoneal dialysis are associated with similar outcomes for end-stage renal disease treatment in Canada. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, **2012**. 27, 9, 3568-75.
229. **Yuan L, Kaplowitz N**, Glutathione in liver diseases and hepatotoxicity. *Molecular aspects of medicine*, **2009**. 30, 1-2, 29-41.
230. **Zagrodzki P**, [Thioredoxin reductase--a new target for molecular medical investigations]. *Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej*, **2002**. 56, 2, 155-67.
231. **Zhang J, Li X, Han X, Liu R, Fang J**, Targeting the Thioredoxin System for Cancer Therapy. *Trends in pharmacological sciences*, **2017**. 38, 9, 794-808.
232. **Zhang J, Li YD, Patel JM, Block ER**, Thioredoxin overexpression prevents NO-induced reduction of NO synthase activity in lung endothelial cells. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, **1998**. 275, 2, L288-L93.
233. **Zhao L**, Singlet oxygen. *Free radicals in biology and medicine, An assignment In the graduate course, Free Radical and Radiation Biology Program B-180 Med Labs, The University of Iowa, Iowa City, IA*, **2001**. 52242-1181.
234. **Zuwala-Jagiello J, Warwas M, Pazgan-Simon M**, Ischemia-modified albumin (IMA) is increased in patients with chronic hepatitis C infection and related to markers of oxidative stress and inflammation. *Acta Biochimica Polonica*, **2012**. 59, 4.
235. <http://philschatz.com/anatomy-book/contents/m46429.html>
236. <http://www.differencebetween.com/difference-between-afferent-and-vs-efferent-arterioles>
237. <http://www.ebi.ac.uk/pdbe/about/news/thioredoxin-small-protein-radical-role>

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Ankara’da doğdu. 2003 yılında Fatih Sultan Mehmet Lisesi (yabancı dil ağırlıklı)’ ni tamamladı. 2009 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümünden mezun oldu. 2009 yılında Milli Eğitim Bakanlığının açtığı yurtdışı yükseköğrenim sınavını kazandı. 2011 yılında ABD’ye yüksek lisans eğitimi için gitti. 2013 yılında Florida Üniversitesi/Analitik Kimya anabilim dalından mezun oldu. 2014 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Analitik Anabilim Dalına Arş. Gör. olarak atandı. Çok iyi derecede İngilizce bilen Hüseyin ERDAL evli ve iki kız çocuk babasıdır.

