

**T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AORT VE MİTRAL KAPAK HASTALIKLARINDA
SERUM PARAOKSONAZ, ARİLESTERAZ, TOTAL
ANTİOKSİDAN KAPASİTE, TOTAL OKSİDAN
KAPASİTE VE PON 1 - Q192R FENOTİP İLİŞKİSİ**

DOKTORA TEZİ

DR. EMİRHAN YARDAN

**DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ
PROF. DR. SADIK BÜYÜKBAŞ**

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AORT VE MİTRAL KAPAK HASTALIKLARINDA
SERUM PARAOKSONAZ, ARİLESTERAZ, TOTAL
ANTİOKSİDAN KAPASİTE, TOTAL OKSİDAN
KAPASİTE VE PON 1 - Q192R FENOTİP İLİŞKİSİ**

DOKTORA TEZİ

DR. EMİRHAN YARDAN

**DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ
PROF. DR. SADIK BÜYÜKBAŞ**

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR 2011

DR. EMİRHAN YARDAN

DİCLE ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ DOKTORA TEZİ DİYARBAKIR

2011

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez hazırlığım esnasında bana bilimsel ve sosyal çalışmamın her aşamasında destek ve katkılarını esirgemeyen, başta Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Nuriye METE hocam olmak üzere, danışmanlığımı yürüten Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. Sadık BÜYÜKBAŞ'a ve diğer hocalarıma en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, Antalya Eğitim Araştırma Hastanesi Biyokimya Klinik Şefi Prof. Dr. Necat YILMAZ'a, Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kardiyoloji Kliniği Öğretim Üyesi Doç. Dr. Şakir ASLAN'a, çalışmam esnasında araştırma, konu ve ilgili bilgilere ulaşmamı sağlayan Antalya İl Sağlık Müdürlüğü ve Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne ve her zaman yanımda olan aileme sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ONAY	I
TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	III
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
TABLOLAR DİZİNİ	VIII
KISALTMALAR DİZİNİ.....	IX
TÜRKÇE ÖZET	XI
İNGİLİZCE ÖZET	XIII
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1.Kalp Kapak Anatomisi	2
2.1.1. Mitral Kapak Anatomisi	2
2.1.1.1. Kapakçıklar	4
2.1.1.2. Fibröz İskelet/Anulus	4
2.1.1.3. Korda Tendinealar	5
2.1.1.4. Papiller Kaslar	5
2.1.1.5. Sol Atrium ve Sol Ventrikül.....	6
2.1.2.Aort Kapak Anatomisi	6
2.2.Kalp Kapak Hastalıklarında Etiyopatogenez	8
2.2.1. Romatizmal Ateş	9
2.2.1.1. Romatizmal Ateş Morfolojisi.....	10
2.2.2. İnfektif Endokardit.....	12
2.2.2.1 Vegetasyon gelişimleri	12
2.3. Kalp Kapak Hastalıklarında Oksidatif Stresin Rolü.....	14
2.3.1. Oksidanlar.....	15

2.3.1.1. Oksijen	15
2.3.2. Oksidasyon	15
2.3.2.1. Reaktif Oksijen Türevleri	17
2.3.2.2. Serbest Radikaller ile meydana gelen hücre hasarı.....	17
2.3.3. Serbest radikal oluşturan başlıca mekanizmalar.....	17
2.3.3.1. Otooksidasyon.....	18
2.3.3.1.1. Lipid Oksidasyonu	19
2.3.3.1.2. Geçiş Metal İyonlarının Otooksidasyona Etkisi.....	19
2.3.3.2. Fotooksidasyon.....	20
2.3.3.3. Enzimatik Oksidasyonlar	22
2.3.3.3.1. Ksantin Oksidaz	22
2.3.3.3.2. NADPH Oksidaz	22
2.3.3.3.3. Nötrofil Miyeloperoksidaz	22
2.3.3.4. Halojenlenmiş Hidrokarbonlar ile oluşan oksidasyon	22
2.3.3.5. Reaktif Nitrojen Türevleri ile oluşan oksidasyon	23
2.3.3.5.1. Nitrik oksit sentetaz	23
2.3.3.6. Mitokondrial solunum neticesinde oluşan otooksidasyon	24
2.3.4. En önemli Serbest Oksijen Radikalleri.....	26
2.3.4.1. Süperoksit Radikali	26
2.3.4.2. Hidrojen Peroksit	26
2.3.4.3. Hidroksil Radikali	27
2.3.4.4. Singlet Oksijen	27
2.3.5. Antioksidanlar.....	28
2.3.5.1. Tanım	28
2.3.5.2. Tarihçe.....	28
2.3.5.3. Antioksidan Etki Tipleri.....	28

2.3.5.3.1. Ürik Asit	30
2.3.5.3.2. Askorbik Asit	31
2.3.5.3.3. Glutasyon	31
2.3.5.3.4. Melatonin.....	31
2.3.5.3.5. Tokoferoller (Vitamin E).....	31
2.3.5.4. Pro-Antioksidan Aktivite Tanımı.....	32
2.3.5.5. Enzimatik ve peptid antioksidan savunma sistemleri	32
2.3.5.5.1. Katalaz ve Peroksidaz	32
2.3.5.5.2. Süperoksit Dismutaz Enzimi	32
2.3.5.5.3. Glutasyon ve Glutasyon Peroksidaz	33
2.4.Oksidatif Stres	37
2.4.1. Kalp Kapak Hastalıklarının Patofizyolojik Mekanizmaları	37
2.4.1.1. Dejeneratif Kalp Kapak Hastalıkları ve Ateroskleroz.....	38
2.4.1.2. Romatizmal Kalp Kapak Hastalıkları ve kollajenler.....	39
2.5. Paraoksonaz ve Arilesteraz enzim ailesi	40
2.5.1. Tarihçe	40
2.5.2. Paraoksonaz 2	41
2.5.3. Paraoksonaz 3	41
2.5.4. Paraoksonaz 1	42
2.5.4.1. PON1 yapısı ve substratları.....	42
2.5.4.1.1.192 Polimorfizm.....	43
2.5.4.1.2. 55 Polimorfizm.....	43
2.5.4.2. Paraoksonaz Reaksiyonu.....	44
2.5.4.3. Arilesteraz Reaksiyonu	44
2.5.5. Paraoksonaz aktivitesini etkileyen faktörler	45
2.6.1. Total Oksidan Seviye	46

2.6.2. Total Antioksidan seviye	46
3.GEREÇ VE YÖNTEM	48
3.1. Hasta ve kontrol grupları	48
3.2. Kan Örnekleri	48
3.3. Laboratuvar Ölçümleri	49
3.3.1. Rutin Parametreler	49
3.3.2.Paraoksonaz ölçümü	49
3.3.3. Arilesteraz Aktivitesi	49
3.3.4. Total Oksidan Seviye Ölçümü.....	50
3.3.5. Total Antioksidan Seviye Ölçümü.....	50
3.3.6. Oksidatif Stres İndeksi.....	50
3.3.7. PON Fenotipleme.....	50
3.4.Verilerin Analizi	51
4.BULGULAR	51
5.TARTIŞMA	62
6.SONUÇ	70
7.KAYNAKLAR	71
8.ÖZGEÇMİŞ	83

ŞEKİLLER DİZİNİ

1. Şekil 1: Kalbin genel anatomisi
2. Şekil 2: Mitral kapak
3. Şekil 3: Korda tendinealar
4. Şekil 4: Aort kapağı
5. Şekil 5: Aort ve mitral kapaklar
6. Şekil 6: Mitral stenoz
7. Şekil 7: Aort stenozu
8. Şekil 8: Kalp kapak hasarı oluşumundaki hücresel süreç
9. Şekil 9: Paraoksonazın yapısı
10. Şekil 10: Hücre membranında bulunan PON1 in HDL ye transferi
11. Şekil 11: Hasta grubunda kalp kapak hastalığı dağılımı
12. Şekil 12: Hasta ve kontrol grubu HDL düzeyleri
13. Şekil 13: Hasta ve kontrol grubu ARE düzeyleri
14. Şekil 14: Hasta ve kontrol grubu PON1 düzeyleri
15. Şekil 15: Hasta ve kontrol grubu TOS düzeyleri
16. Şekil 16: Hasta ve kontrol grubu TAS düzeyleri
17. Şekil 17: Hasta grubunda pozitif korelasyonların grafiği
18. Şekil 18: Hasta grubunda negatif korelasyonların grafiği
19. Şekil 19: Kontrol grubunda pozitif korelasyonların grafiği

TABLO DİZİNİ

1. Tablo 2.3.2 Biyolojik sistemlerdeki serbest radikal örnekleri
2. Tablo 2.3.3.6 Non radikal oksidanların damar içi oksidatif stres potansiyelleri ile ilgili örnekler
3. Tablo 2.3.5.4 Vücut sıvılarında bulunan antioksidanlar ve konsantrasyonları
4. Tablo 2.3.5.7 Hücrel antioksidanlar
5. Tablo 2.3.5.8 Hücre dışı antioksidanlar
6. Tablo 4.1 Kalp kapak hastalıkları ve kontrollerinin demografik ve klinik verileri
7. Tablo 4.2 Hasta grubu ekokardiyografik ölçüm bulguları
8. Tablo 4.3 Kalp kapak hastalıkları ve kontrol grubunda serum lipid parametreleri
9. Tablo 4.4 Kalp kapak hastalıkları ve kontrol grubunda serum oksidatif stres parametreleri
10. Tablo 4.5 Hasta ve kontrol kadın grubunda serum oksidatif stres parametreleri
11. Tablo 4.6 Hasta ve kontrol erkek grubunda serum oksidatif stres parametreleri
12. Tablo 4.7 Hasta grubu korelasyon analizi
13. Tablo 4.8 Kontrol grubu korelasyon analizi

KISALTMALAR

Apo A1: Apolipoprotein A1

ARE: Arilesteraz

ATP: Adenozintrifosfat

BMI: Vücut kitle indeksi

BMP: Kemik morfojenik protein

BUN: Blood urea nitrogen

CAT: Katalaz

CPK: Kreatin fosfokinaz

DİC: Dissemine intravasküler koagulasyon

GABA: Gama amino bütirik asit

GS: Glutasyon sentaz

GSH: İndirgenmiş glutasyon

GSHPx: Glutasyon peroksidaz

GSSG: Okside glutasyon

GST: Glutasyon S transferaz

HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein

İE: İnfektif endokardit

İL: İnterlökin

KAH: Koroner arter hastalığı

KAKH: Kalp Kapak Hastalığı

KC: Karaciğer

LDL: Düşük dansiteli lipoprotein

MMP: Matriks metallo proteinaz

MPO: Miyeloperoksidaz

NAD: Nikotinamid adenin dinükleotid

NADPH: Redükte nikotinamid adenin dinukleotid fosfat

NBTv: Non-bakteriyel trombosit vejetasyonu

NOS: Nitrik oksit sentetaz

OSI: Oksidatif stres indeksi

PON 1: Serum Paraoksonaz
PUFA: Çoklu doymamış yağ asitleri
RKKH: Romatik kalp kapak hastalığı
RF: Romatizmal ateş
RNS Reaktif nitrojen türleri
ROS: Reaktif oksijen türleri
SOD: Süperoksit dismutaz
TAS: Total antioksidan seviye
TOS: Total oksidan seviye
TNF- α : Tümör nekrotizan faktör
t-PMP: Doku mikrobisit proteini
UV: Ultraviyole
VLDL: Çok düşük dansiteli lipoprotein
XOD: Ksantin oksidaz

ÖZET

Kalp kapak hastalıkları (KAKH) dünyada hala önemli bir sağlık sorunudur. Sosyo-ekonomik düzeyin artmış olduğu yerlerde akut romatizmal ateş insidansının düşmesine rağmen kalp kapak hastalığı insidansının yükseldiği görülmektedir. KAKH ile kalsifik ve dejeneratif hastalık özdeşleşmiştir. KAKH, koroner arter hastalıklarından daha az sıklıkla görülmesine rağmen kalp yetmezliklerinin ve ani ölümlerin en önemli sebeplerinden biridir.

KAKH yüksek maliyetli tedavi gerektirdiğinden koruyucu sağlık hizmetlerinin uygulanmasına olan ihtiyaç giderek artmaktadır. Her ne kadar KAKH da oksidatif stresin rolü bilinse de bu konuda takip ve tedavi parametrelerinin azlığı dikkat çekmektedir.

65 yaş üzeri KAKH ile yaptığımız bu çalışmada Total Antioksidan Seviye (TAS), Total Oksidatif Stres (TOS), Oksidatif Stress İndeksi (OSİ) ölçümleri yaparak kişi redoks dengesindeki yani oksidasyon antioksidasyon düzenlenmesini göstermeye çalıştık. Bizim bulgularımıza göre KAKH hastalarında bu denge istatistiksel anlamda bozulmuş, OSİ %37 oranında artmış olarak saptanmıştır.

Ayrıca; Osteogenetik mekanizmaların tetiklediği kapak endotel tabakasındaki kalsifikasyonla karakterize aort stenozlu hastalarda istatistiksel olarak anlamlı TOS artışı saptanmıştır.

Yaptığımız çalışmada ekokardiografik ölçümlerle saptadığımız sol atrium çapı ile arilesteraz enzim aktivitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon görüldü. Bu korelasyon bir oksidatif stres parametresi olarak değerlendirilebilir.

HDL'nin yapısında bulunan paraoksonaz enziminin iki farklı substratını kullanarak yaptığımız çalışmada, PON1 ve ARE enzim aktivitesi, kalp kapak hastalığı olanlarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. HDL, PON 1 için serum vektörüdür.

Sonuç: Antioksidan sistemler normalde bir bütünlük içinde çalışarak hücreyi serbest oksijen radikallerinin toksik hasarına karşı korumaktadırlar. Bunu organizmadaki oksidan/antioksidan denge sağlamaktadır. Patofizyolojik süreç tanı ve takibi tüm hastalıklar için önemli olsa da kronik ve tedavi maliyeti yüksek hastalıklar için ayrı bir önem taşımaktadır. Şu an için bizim bilgilerimize göre literatürde bu kapsamda

ARE, PON1 aktivitesi TAS, TOS ve OSİ ölçümü içeren bir çalışma tespit edilememiştir. Bu bağlamda bizim çalışmamız bir öncül çalışma niteliğindedir ve daha geniş kapsamlı ve sayıda yapılacak araştırmalara bir kaynak teşkil edecektir. Ayrıca KAKH takip ve tedavisinde antioksidan sistemlerin kullanılması ve PON1 enzim aktivitesinin artırılmasına yönelik girişimlere dayanak oluşturacaktır

Anahtar kelimeler: ARE, PON1, TAS, TOS, OSİ, KAKH

ABSTRACT

The cardiac valvular disease (CVD) is a still major health problem of the world. Socio-economic level where increased incidence of acute rheumatic fever in spite of falling increased incidence of heart valve disease. CVD has become synonymous with the calcific and degenerative diseases. Although seen less frequently according to coroner heart diseases, the valvular heart diseases are one of the most important causes of cardiac failure and sudden death. Because of the valvular heart disease requires high cost treatment, the need for the implementation of preventive health services is increasing.

Although, the role of oxidative stress is also known CVD also draws attention to the lack of treatment parameters and follow up on this issue.

In this study, over 65 years of age and in patients with valvular heart disease, Total Antioxidant Level (TAS), Total Oxidative Stress (TOS), Oxidative Stress Index (OSI) measured by the redox balance of people tried to show that regulation of antioxidation oxidation. According to our findings this balance (OSI) is statistically significant increased (%37 ratio) at the valvular heart diseased patients.

Also, Osteogenetik mechanisms triggered by the endothelial layer of cover characterized by calcification in patients with aortic stenosis had a statistically significant increase in total oxidative stress.

In our study, echocardiographic measurements of left atrial diameter of a statistically significant correlation was found between Arylesterase (ARE) enzyme activity. This correlation can be evaluated as a parameter of oxidative stress.

Using two different substrate for paraoxonase enzyme present in the composition of HDL, we found that PON1 and ARE enzyme activity, was statistically significant in patients with heart valve disease. HDL is serum vector for PON 1.

Conclusion: Normally the antioxidant systems working in a coherent, protects the cell from the toxic injury of free oxygen radicals. This is accomodated by the balance of oxidant\antioksidant in the organism. The patophysyologic progress of diagnose and follow-up is important for all diseases, have unique importance at the chronic and higy coast treatment required diseases. According to our knowledge there is no

such a comprehensive study that includes ARE, PON activity, TAS, TOS and OSI measurement in the literature.

In this connection, our study is a preliminary study and will serve as a resource for more comprehensive and numerous studies.

In addition, follow-up and treatment of CVD use of antioxidant systems and initiatives to increase PON1 activity will form the basis

Key Words; ARE, PON1, TAS, TOS, OSI, CVD

1. GİRİŞ VE AMAÇ:

Kalp kapak hastalıkları primer (doğrudan nedenlerle oluşan) ve sekonder (dolaylı olarak kapağı bozan) işlevsel nedenler olarak 2 ana grupta veya nedensel olarak kongenital ve akkiz olarak da sınıflandırılabilirler. Ancak en yaygın gruplandırma oluşan lezyona göre darlık veya yetmezlik olarak adlandırılması ile yapılmaktadır.

Hastalık dünyada hala önemli bir toplumsal sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Sosyo-ekonomik düzeyin düşük olduğu ve yaşam koşullarının kötü olduğu alanlarda görülme insidansı yüksektir. Buna mukabil son yıllarda sosyo-ekonomik düzeyin artmış olduğu yerlerde akut romatizmal ateş insidansındaki düşüşe rağmen, kalp kapak hastalıklığı insidansında artış gözlenmiştir. Burda mikroorganizmaların cins ve etkinliğindeki değişim ve hasta popülasyonunda değişimden yani hastalığın daha geniş kitlelere ve daha ileri yaşlara kaymasından (kalsifik/dejeneratif hastalık) kaynaklandığı düşünülmektedir.

Mitral stenoz oluşturarak sol ventrikül doluşunu engelleyen ve böylece hemodinamik sorunlara yol açan ve bu anlamda en sık görülen kalp kapak hastalığıdır. Neredeyse tamamı romatizmal kalp hastalığı sonrası meydana gelir. 1965’li yıllarda romatizmal kalp hastalığı kaynaklı mitral kapak hastalığı % 89 iken, 1985 yılında bu oran %51’e düşmüş, 1990 yılında ise azalarak bu oran % 30-35 lere kadar gelmiştir (1,2). Ancak teşhis metodlarının artması ile mitral kapak prolapsusu olgularının daha kolay tespiti kapak hastalığı insidansında artışın meydana gelmesine neden olmuştur. Mitral yetmezliğin sebepleri arasında romatizmal kalp hastalıklarının dışında mitral kapak prolapsusu ve ardından da iskemik kalp hastalıkları gelmektedir (3,4).

Özellikle gelişmiş ülkelerde yaşam sürelerinde ciddi uzamalar sebebiyle kalsifik/ dejeneratif aort kapak hastalıkları daha sık görülmeye başlamıştır. Koroner risk faktörleri ile ilintili olduğu düşünülen kalsifik/dejeneratif aort kapak hastalıklarının yanı sıra kongenital biküspit aorta kapağının kalsifikasyonu da kalp kapak insidansını artıran diğer önemli nedenlerdendir (1,2). Kalp kapak hastalıkları, koroner arter hastalığına göre daha az sıklıkla karşılaşılmamasına rağmen kalp yetmezliklerinin ve ani ölümlerin en önemli sebeplerinden biridir (5).

Kalp kapak hastalıklarının önemli ölçüde ölümlere ve toplumsal iş gücü kaybına sebep olmakla birlikte tedavi maliyeti de oldukça yüksektir. Yaptığımız bu çalışmada KAKH'nda TOS, TAS) ve OSİ ile ilgili benzer çalışmalar yapılmıştır. Ancak Bu çalışmaya PON1 ve Arilesteraz (ARE) enzim ilişkilerini de ekleyerek;

a) Bu parametrelerin kendi aralarında ve hastalık seyri ile ilgili olarak bir korelasyonunun olup olmadığını,

b) Elde edilen değerlerle kontrol ve vaka grupları arasında farklılık bulunup bulunmadığını göstermeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER:

2.1.Kalp kapak anatomisi:

2.1.1.Mitral kapak anatomisi:

Mitral kapak, iki kapakçıktan meydana gelmiştir, sol atriyum ile sol ventrikül arasına yerleşmiştir. Kapakçıkların serbest kenarları korda tendinealarla ventrikül myokardının uzantısı olan papiller kaslara yapışır. Bu nedenle mitral kapak işlevini görürken, kapakçıkları ve subvalvuler yapıları ile birlikte fonksiyonel bir ünite olarak çalışmaktadır.

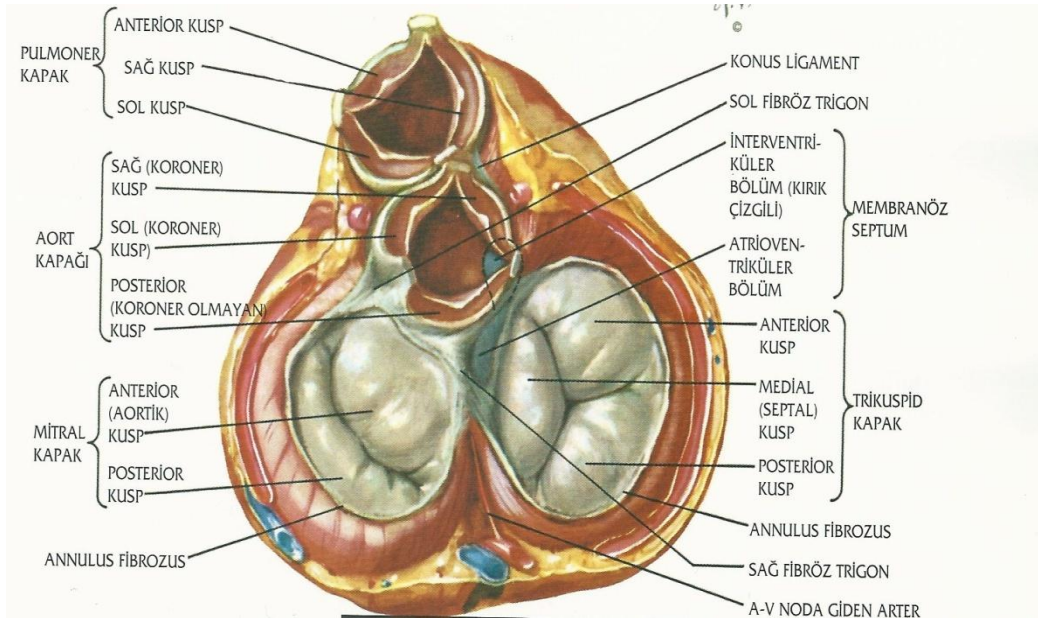
Fonksiyonel mitral kapak ünitesi bileşenleri:

- a) Kapakçıklar
- b) Fibröz iskelet /Anulus
- c) Korda tendinealar
- d) Papiller kaslar
- e) Sol ventrikül ve sol atrium

2.1.1.1. Kapakçıklar:

Mitral kapağın 2 kapakçığını şekil ve büyüklükleri farklıdır. Kapakçıklar kollajenle desteklenmiş endotelial yapılardan oluşmakta olup, nöromuskuler bileşenleri bulunmamaktadır. Histolojik olarak atriyal, spongiöz ve fibröz olmak üzere 3 tabakadan oluşmuşlardır (Şekil:1,2).

Şekil 2: Mitral Kapak



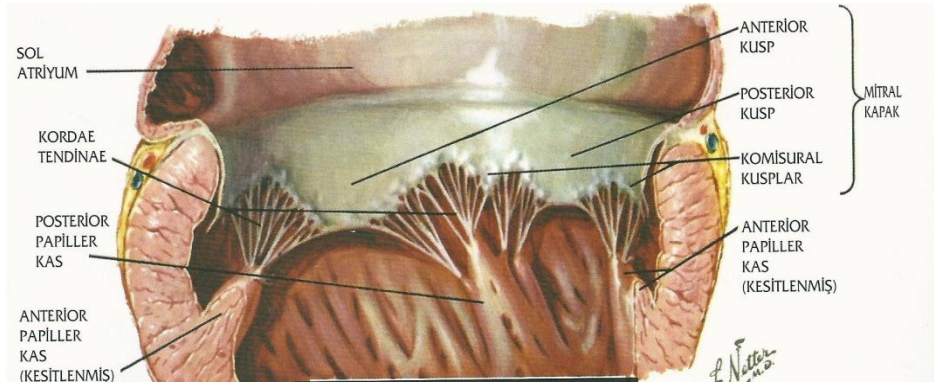
2.1.1.2. Fibröz İskelet/Anulus:

Kalbin tabanında atriumlar ile ventriküllerin arasına bulunan deliklerin ve damarların çıkış deliklerinin çevresinde fibröz doku bulunur. Bu fibröz dokuya kalbin iskeleti denir. Kalbin kas lifleri bu fibröz dokudan başlayıp bu dokuda sonlanır. Fibröz iskeletin deliklerin ve damarların çevresini saran kısmına ise ‘annuli fibrosi’ denir. Kalbin iskeletini yapan sağ ve sol fibröz trigonlar mitral kapak halkasının bir bölümünü meydana getirirler (6). İki fibröz trigon aort kapak ve mitral kapağın anterior yaprakçığı arasında birleşir ve aorto-mitral fibröz yapıda süreklilik oluşur (7,8). Mitral anulusun anterior bölümünün kalbin fibröz yapısı ile olan ilişkisi, mitral yetmezlikte esnemesini ve genişlemesini kısıtlar. Bu nedenle mitral yetmezlikte dilatasyon sadece posterior anulusda meydana gelir.

2.1.1.3. Korda tendinea'lar:

Korda tendinealar Papiller kaslar ile kapakçığa yapışmayı sağlayan tendon yapılarıdır. Direkt ventrikül duvarından köken alan veya muskuler yapıda olan kordalarda mevcuttur. Kapakçığa yapışmadan önce birkaç dala ayrılırlar. Kordalar, posterior kapakçıkta serbest kenarla kapakçığın bazal kısmı arasında herhangi bir yere yapışırken, anterior kapakçıkta daha çok serbest kenar ve rough zona (pürtüklü yüzey) yapışır. Tek bir korda tendinea şemsiye tarzında 5-7 küçük kordaya ayrılarak, her bir kapakçığın komissural kısmına yapışır. Anterolateral kommissur kordalarının ortalama uzunluğu 1.2-1.4 cm. iken posteromedial kommissur kordaları 1.4-1.7 cm.dir (9,10). Romatizmal veya iskemik olmayan romatizmal prolapsuslarının % 90'ında korda tendineaların düzensiz veya eksik yerleşimlerinin olduğu bildirilmiştir (Şekil: 3).

Şekil 3: Corda Tendinea'lar



2.1.1.4. Papiller kaslar:

Sol ventrikül yapısında anterolateral ve posteromedial olmak üzere her ikisi de ventrikül serbest duvarında 1/3 apikal kısımdan köken alan 2 adet papiller kas mevcuttur. Papiller kaslar her iki liflete de korda gönderir. posteromedial papiller kas rüptürü daha sık görülür.

2.1.1.5. Sol atrium ve sol ventrikül:

Sol ventrikül kavitesi, tabanını mitral-aortik orifisin oluşturduğu elipsoid bir yapıya sahiptir (11). Sol ventrikül posterior duvarı ve papiller adaleler kapak lifletlerinin kapanmasında ve yeterliliğinde önemli rol oynar.

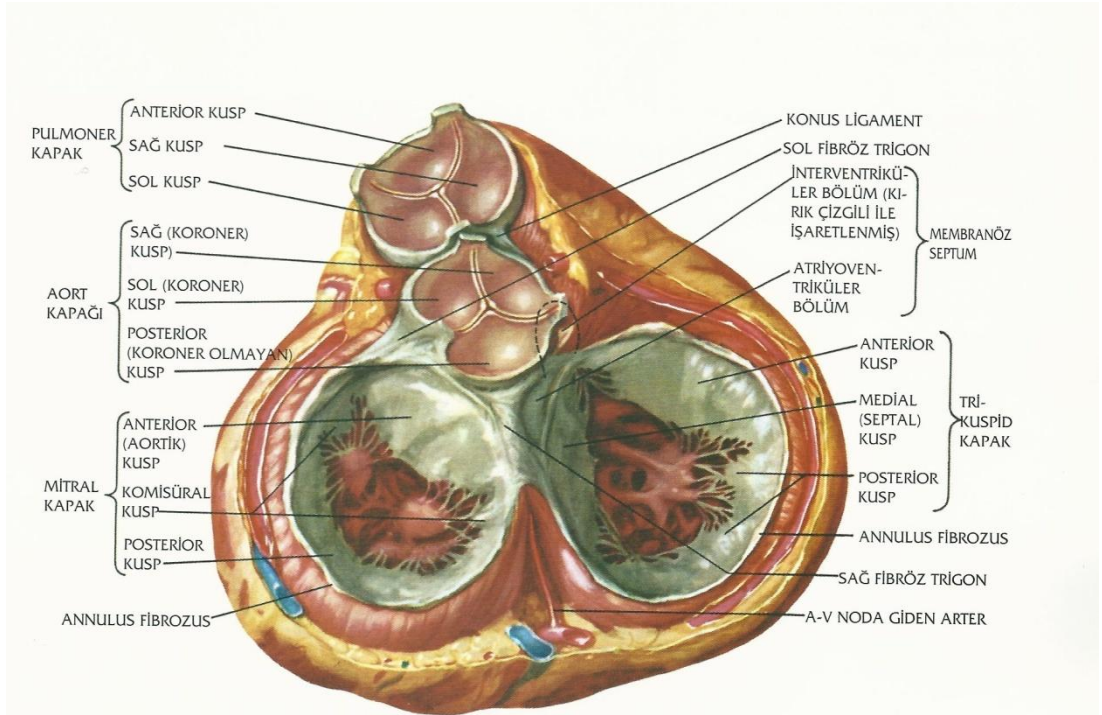
2.1.2. Aort kapağı anatomisi:

Aort üç yapıdan oluşur (anulus, kapakçıklar ve komissürler). Mitral ve triküspit kapağın aksine her iki semilunar kapağın tensor apparatusu yoktur (korda tendinea ya da papiller adale gibi). Komissürler kapakçıkların birleşim yerlerinde, uzun, tepecikli boşluklar oluşturur. Çıkan aortanın sinüs ve tubuler yapılarını birbirinden ayıran çıkıntıya sinotubular bileşke (sinotubular junction) denir ve burası komissürlerle aynı seviyededir (12).

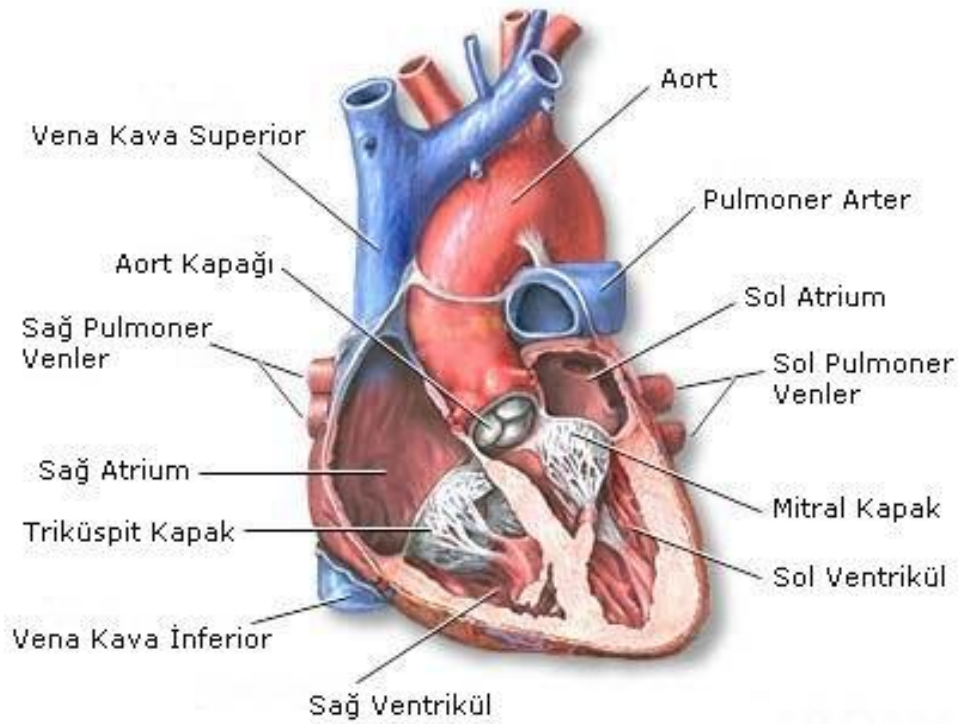
Aortik kapağın fonksiyonel orifisi sinotubular bileşkede veya sinotubular bileşkenin proksimalinde olabilir (13). Yarım ay (semilunar) şeklindeki her üç aort kapakçığı cep şeklinde avasküler doku flepleri oluştururlar. Her kapakçığın serbest kenarının hemen aşağısında kapanma kenarı bulunur. Her kapakçığın kapanma kenarı ile serbest kenarı kapakçığın merkezinde birleşerek arantius'un nodülü (Nodul of Arantius) adı verilen fibröz küçük tepeciği oluşturur. Nodülün her iki tarafında, serbest kenar ile kapanma kenarı arasında hilal şeklinde bir alan oluşur ki buraya lunula denir. Lunula, kapak kapanması sırasında kapakçıkların birbirlerine temas ettikleri yerlerdir. Yaşlanma ile birlikte lunulaların özellikle komissür yakınlarındaki bölgelerinde delikler (lunular fenestrasyon) oluşur. Yaş ilerledikçe deliklerin sayısı ve büyüklüğü artar (12). Delikler yerleşim olarak kapanma kenarının distalinde olduğu için ender olarak kaçağa sebep olurlar (13). Kapakçıklara yukarıdan bakıldığında her kapakçığın kapanma kenarının uzunluğunun o kapakçığın iki komissürünü birleştiren doğrunun uzunluğundan fazla olduğu görülür. Bu ekstra kapakçık dokusu kapağın stenotik olmayan açılması ve regürjitasyon yapmayan kapanması için gereklidir (12). Normalde aortik kapağın anulusunun çapı asendan aortanın sinotubular bileşkedeki çapına eşittir (14). Biküspid kapağı olan veya diğer konjenital aort kapak hastalığı olan erişkinlerde anulusun çapı genelde büyümüştür. Tam tersine santral aort kaçağı olan ve kapakçıkları normal olan hastalarda sinotubular bileşkede genişleme görülür (15). Romatizmal kapak hastalığı gibi komissüral füzyonu olan hastalarda veya fibröz ya da kalsifikasyon sebebiyle

kapakçık hareketleri kısıtlanmış olanlarda aort stenozu oluşabilir (12). Kapakçık boyutlarının küçüldüğü romatizmal kapak hastalığı veya aort kökünün genişlemesine sebep olan hastalıklar aort regürjitasyonuna sebep olabilirler (Şekil: 4).

Şekil 4: Aort kapağı



Şekil 5: Aort ve mitral kapaklar



2.2. Kalp kapak hastalıklarında etiyopatogenez:

Oksijen bütün canlılar için vazgeçilmez bir element olup, organik moleküllerin temel yapısal atomlarından birisidir. Bunun yanında, aerobik canlıların enerji metabolizmasındaki rolü nedeniyle oksijen, hayati bir öneme sahiptir. Yaşamları için mutlak oksijene ihtiyaç duyan canlılarda oksijenin yer aldığı biyokimyasal tepkimelerde bazı toksik ürünler de ortaya çıkmaktadır. Kalp kapak hastalıklarının etiyopatogenezinde son yıllarda gittikçe artan oranda oksidatif stres ile alakalandırılmalar olmaktadır. İnflamatuar hasar kalp kapak hastalıklarının etiyopatogenezinde çok önemli bir rol oynarken oksidatif stresin bu etiyopatogenez de yer almaması düşünülemez. Aşağıda yer alan etiyopatogenez bilgileri bizi hep inflamasyon ve oksidatif hasar bulgularına yönlendirmektedir:

- a) Mitral stenoz: Post inflamatuvar hasar (Romatizmal kalp hastalıkları).
- b) Mitral yetmezlik: Post inflamatuvar hasar(Romatizmal kalp hastalıkları), infektif endokardit, mitral valf prolapsusu, valvuler fibrosis.

c) Aort stenozu: Post inflamatuvar hasar (Romatizmal kalp hastalıkları), senil aortik kalsifikasyon, kalsifiye kongenital kapak deformiteleri.

d) Aort yetmezliği: Post inflamatuvar hasar (Romatizmal kalp hastalıkları), infektif endokardit.

e) Diğerleri: Tensor aparat bozuklukları (Papiller adale yırtılmaları, fibrozis gibi papiller adale disfonksiyonları, korda tendinealarda rüptür), aortik hastalıklar (Dejeneratif aortik genişlemeler, sifilitik aortit, ankilozan spondilit, romatoid artrit, Marfan sendromu), sol ventrikül kavitesi ve/veya anulusta anormallikler (miyokardit, kardiyomiyopatiler, mitral ring kalsifikasyonları) (16).

Valvüler kalp hastalıklarında stenoz veya yetmezlik ya da her ikisiyle birlikte görülebilir. Stenozis kapakların tam olarak açılmaması ve kan atımında tıkanmayla ortaya çıkar ve hemen daima kalsifikasyon ve kapaklarda oluşan hasarlarla meydana gelen kronik süreçlerden kaynaklanır. Yetmezlikler ise kalp kapaklarının tam olarak kapanmaması ve geride reserve kan akımının kalmasıyla izah edilir.

Valvüler yetmezlikler kapak yıkımı gibi intrinsik olarak ve ayrıca aorta ve mitral anulus, korda tendinealar, papiller adaleler serbest ventriküler yüz gibi destekleyici faktörlerin bozulması ile ekstrinsik olarak da meydana gelebilir. Yine akut olarak kordal rüptür ve kronik olarak da oluşan skarlar ve retraksiyonlar bu durumu oluşturabilir Kalp kapak hastalıkları içinde, Romatizmal Ateş ve İnfektif Endokardit en önemli yeri tutar.

2.2.1. Romatizmal ateş:

Romatizmal ateş (RF) kalp kapak hastalıklarının en sık nedenidir. A Grubu β -Hemolitik Streptokoklar tarafından oluşan akut farenjit enfeksiyonundan sonraki 2-3 haftalık epizodu takiben oluşan immünolojik multisistem inflamatuvar bir hastalıktır. Romatizmal ateşin kardiyak tutulumunda enflamasyon kapaklarla birlikte miyokard ve perikardı da tutar.

Romatizmal kalp hastalıklarında gelişen en önemli sonuç kronik valvüler deformitelerdir. Diffüz yaygın kapak hasarları ve valvüler fonksiyon bozuklukları oluştururlar. Sıklıkla mitral stenoz gelişir.

Geç dönemdeki en sık komplikasyonu mitral yetmezlik gelişimidir. Mitral darlık ise genelde yıllar sonra bir komplikasyon olarak ortaya çıkar. Vakaların %40'ında mitral darlık ve mitral yetmezlik bir arada bulunabilir (17). Romatizmal

inflamasyon sonucu endokard, miyokard ve perikardial dokularda değişik derecelerde pankardit meydana getirir (10). Kalıcı hasarın nedeni kapakçıklarda ilerleyici fibrozis yapan endokardittir. Romatizmal valvulit ile komissüral füzyonu, ilaveten kordalarda kısalma ve dejenerasyon ve kapakla beraber subvalvuler yapının yaygın fiksasyonu gibi patolojiye sebep olur.

Mitral kapağın normal de kesit alanı $4-6 \text{ cm}^2$ 'dir. Hemodinamik değişiklikler genelde kapak alanı $2-2.5 \text{ cm}^2$ nin altına indiğinde meydana gelir. Yorgunluk ve nefes darlığı mitral darlığının en sık belirtileridir. Ayrıca hemoptizi görülebilir (19). Sağ kalp fonksiyonların da bozulma (20) ve buna bağlı trikuspid yetmezliği, ödem, hepatomegali ve asit gelişebilir. Sol atriyal basınçta artışın giderek yükselmesi sol atrial hipertrofiye, atriyal fibrilasyona ve trombüs oluşumuna neden olabilir (18,21,22). Atriyal fibrilasyon kardiyak outputu düşürür, akut dispne ve pulmoner ödem meydana gelir (23,24).

Koroner arter bypass cerrahisi uygulanan hastaların %4-5'inde iskemik nedenlere dayalı mitral yetmezliği saptanmıştır (25,26,27). Klinik açıdan iskemik mitral yetmezlik akut ve kronik olarak ayrılabilir. Akut iskemik mitral yetmezlik miyokard enfarktüsü sonrası ilk 30 gün içinde gelişir. Kronik iskemik mitral yetmezlik ise miyokard enfarktüsü sonrası papiller kas elongasyonuna veya ventrikül geometrisindeki değişikliklere bağlı olarak gelişir.

Mitral yetmezliğinde temel patoloji sol ventrikül atım volümünün kısmen sol atriyuma kaçmasıdır. Buna bağlı olarak ileri kan akımı azalır ve sol atriyum basıncı artar. Yetmezlik ilerledikçe sol atriyum boyutlarında da artış olur. Atriyum boyutlarındaki bu progresif artış atriyal aritmilere, sonuçta da atriyal fibrilasyona yol açar. Kronik mitral yetmezliği olanlarda semptomlar geç dönemde ortaya çıkarken, akut mitral yetmezliği gelişen hastalarda sol atriyum basıncının ani artışı konjestif kalp yetmezliği gelişimine neden olur. Kronik süreçte eforla gelen nefes dalığı, ortopne, kolay yorulma ve çarpıntı başlıca semptomlardır. Sol ventrikül disfonksiyonunun ilerlemesiyle pulmoner hipertansiyon ve sağ kalp yetmezliği gelişir.

2.2.1.1. Romatizmal ateş morfolojisi:

Aschoff cisimcikleri patognomoniktir. Kronik romatik kalp hastalıklarında akut enflamasyon sonrası kapaklarda skar meydana gelir. Mitral kapakta kardinal

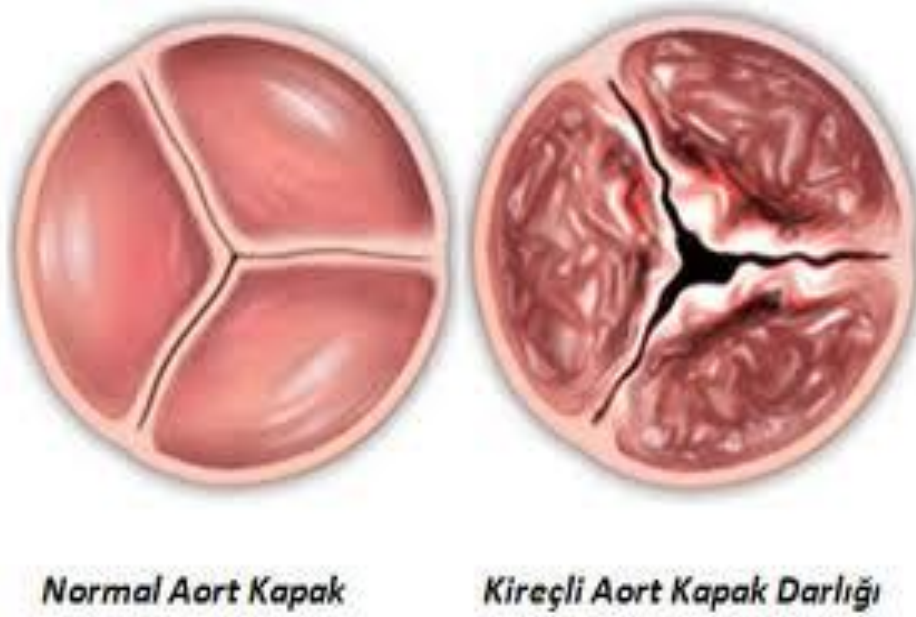
anatomik değişiklikler kapaklarda kalınlaşma, kapak birleşim yerlerinde kaynaşma ve kısılma, valvüler birleşim yerleriyle fibroz köprüleşmeler ve kalsifikasyonlar sonrasında ‘‘Balık Ağız’’ veya ‘‘İğne Deliğı’’ şeklinde stenoz gelişmesidir. Fibrozis gelişen ve yeni liflet oluşumunun durduğı yerlerde neovaskularizasyonlar başlar. Fibröz skar içinde spesifik olan Aschoff cisimcikleri meydana gelir.

Romatizmal ateşin patogenezinde rol oynayan faktör A Grubu β Hemolitik Streptokoklar’a karşı oluşan antikorların neden olduğı hipersensitivite reaksiyonudur. Yapılan çalışmalar şunu göstermiştir ki; Streptokoklarda bulunan yüzey antijeni olan (M) proteinlerinin sebep olduğı antikorların vücut dokuları, eklemler ve kalpte glikoprotein yapıları ile reaksiyona girmesi temel patolojidir. Semptomlar enfeksiyondan 2-3 hafta sonra ortaya çıkar ve lezyonlardan Streptokok izole edilemez.

Şekil 6: Mitral Stenoz



Şekil 7: Aort Stenozu



2.2.2. İnfektif endokardit:

Akut bakteriyel endokardit kalbin iç yüzünde endotel tabakasında oluşan enfeksiyon ile kalp kapaklarını tutan bir hastalıktır. Tipik lezyon “vejetasyondur”. Hastalıkta mortalite ve morbidite yüksektir. İnfektif endokardite bağlı olarak gelişen mitral yetmezlikte sık görülen patolojiler korda rüptürü, kapakçık perforasyonu, anüler abse ve vejetasyonlardır. Fonksiyonel mitral kapak ünitesini oluşturan yapıların herhangi birinde oluşacak anormallik mitral yetmezliğe neden olur.

Hastalık akut veya subakut olarak gelişebilir. Akut formunda Stafilokok/Stafilokok Aureus ile oluşur. Prognoz kötüdür. Subakut formunda ise etken Streptokok/Streptokok Viridans’tır.

Non-bakteriyel trombotik endokardit oluşumundaki özellik ise içerisinde herhangi bir mikroorganizma bulundurmayan vejetasyonlar gelişmesidir. Bu steril vejetasyonların etrafı fibrillerle çevrili olup çok az sayıda lökosit bulunur.

2.2.2.1 Vejetasyon gelişimleri:

a) Tbc, üremi, siroz seyri esnasında, dissemine intravasküler koagülasyon (DİC), Libman-Sacks endokarditi gibi durumlarda oluşan steril vejetasyonlar mitral kapakların ventriküler yüzeylerinde trombotik kitleler olarak görülebilirler (4). Yine

çeşitli perkütan işlemler ile meydana gelen endotel zedelenmesi ile de oluşurlar (28,29). Doku hasarı ile oluşan trombosit-fibrin yumakları bakterilerin yerleşmesi için uygun ortam oluşturarak enfeksiyonun gelişmesine neden olurlar. Etkeni belirgin olan veya olmayan odaklardan salınan aktif mikroorganizmalar bu konuda etken olurlar.

b) Non-Bakteriyel Trombosit Vegetasyonları (NBTV) oluşmuş olması bir etkidir. Hiperkoagulabilitenin artışı ile ilgilidir. Endotel hasar görünce subendotel bağ dokusu açığa çıkar ve trombositler aktive olur. Trombosit kümeleri oluşur. Mikroorganizmaların fibrin ağları ile büyüyen trombosit kümelerine tutunarak enfeksiyon geliştirirler.

c) Herhangi bir odaktan gelen mikroorganizmaların etkinliği önemli bir faktördür.

d) Bu mikroorganizmaların hasar gören kalp/kapak ve damar endotelinde yer alan NTBTV(Non-Bakteriyel Trombosit Vegetasyonu) ye yerleşimi gerekmektedir. Mikroorganizmaların bu NBTV'yi enfekte edebilmesi için tutunabilmek için seçici yüzey faktör ve reseptörlerine ihtiyacı bulunmaktadır. Mikroorganizmaların salgıladığı bazı maddeler ile direkt veya ilgili reseptörler aracılığı ile hem birbirlerine hem de fibrinojene ve trombosit-fibrin yumağına yapışırlar. Bu virulans faktörler organizmaları bir araya getirerek direnç geliştirmekte ve çoğalmak için uygun ortam meydana getirmiş olurlar (30,31).

e) Mikroorganizmaların çoğalması için, mevcut savunma sistemini aşmaları gerekmektedir. Staphylococcus Aureus gibi bazı mikroorganizmaların taşıdıkları α -Toksinler trombositleri aktive eder, doku trombosit mikrobisid proteini (t-PMP) salgılanmasına sebep olurlar. t-PMP bazı mikroorganizmalara karşı oldukça etkili öldürücü bir proteindir (32). Bu engeli aşamayan mikroorganizmalar kısa sürede yok olurlar. Mikroorganizmaların yerleştiği, etrafı fibrin ile çevrili trombosit, eritrosit ve iltihabi hücrelerden oluşan ve avasküler yapıya sahip İnfektif Endokarditin (İE) ilk gelişen karakteristik yapısı olan vegetasyonlar meydana gelmiş olurlar. Bakteri varlığına karşın bölgeye akın eden lökositler fibrin ile karşılaştıklarından tromboplastin –trombin oluşumu sebebiyle fibrin yapımını artırıp vegetasyonların büyümesine sebep olurlar. Yani bakteriler trombozun ilerlemesine sebep olurlar (33,34). Ardından inflamatuvar sitokinlerin de devreye girmesiyle inflamatuvar süreç başlamış olur.

2.3.Kalp Kapağı Hastalığında(KAKH) Oksidatif Stresin Rolü:

Sadece ABD de 5.2 milyon insan KAKH hastası olup yaş ile artan prevalans sonucu 65 yaş üstü kişilerin %30 aortik kapak sklerozuna sahip olup bunların % 4'ü aortik kapak darlığı hastasıdır (35).

Bizim ülkemizde de gittikçe artan yaşlı nüfusa paralel olarak gerek kalp kapak hastalıklarının sayısal artışı ve pahalı cerrahi kapak operasyonların yapılmasına yol açmaktadır.

Yalnızca kalsifik aort kapak hastalığına bağlı cerrahi kapak değişimi operasyonu ABD'de 95 bin adet olup sorunun önemini göstermektedir. Üstelik hastalık dünyadaki yaş ortalamasındaki artışa paralel olarak artmaktadır (35).

Kapak hastalıklarında cerrahi kapak değişimi mekanik veya biyolojik protez takılması başlıca tedavi seçeneğidir. Ancak diğer bir tedavi seçeneği valvuloplasti veya perkütanöz kapak değişimidir. Balon valvuloplasti tekrarlayan restenoz oranlarına ve orta düzeyde kapak yetmezliklerine yol açabilmektedir. Perkütanöz kapak değişim operasyonları teknik olarak tercih edilebilir, fakat her hasta için uygun olmayıp şu an için bu tedavi seçeneğinin uzun zaman süresinde takılan protezlerin performansı hakkında bilgi birikimi oluşmamıştır (36).

Kalp kapak hastalıklarının etkin bir medikal tedavisin henüz bulunmaması cerrahiye alternatif tedavilerin yoğun bir şekilde araştırılmasına neden olmaktadır. Kalp kapak hastalığının ilerleyişini engellemek için birçok yeni medikal tedavi denemeleri araştırmacılar tarafından uygulanmaktadır. Örneğin statinlerin kullanımı, renin-anjiotensin inhibitörlerinin kullanımı yaygınlaşmaktadır. Fakat ilk alınan sonuçlar pek de etkileyici değildir (37).

Gerçekte kapak değişimi yapılan cerrahi operasyonlarda dahi altta yatan temel hastalık mekanizması çözümlenemediğinden yeni takılan kapakta da dejenerasyon devam etmektedir. Bu nedenle araştırmacılar kapak hasarına yol açan patofizyolojik mekanizmayı anlamaya odaklanmışlardır. Bu amaçla yapılan birçok çalışma mevcuttur. Antioksidanların ve oksidanların ölçümü son yıllarda daha ucuz ve tam otomatik yapılmaya başlanmıştır (38,39).

İlk önceleri KAKH ları basit dejeneratif bir süreç gibi düşünülmüş ve kalsiyumun pasif bir şekilde birikmesi sonucu kalp kapak hasarının oluştuğuna inanılmıştır. Son elde edilen bilgiler ışığında kapak hasarının aktif hücresel süreçler sonucunda

geliştiği anlaşılmıştır. Araştırmacılar bu hücresel süreçleri anlamak için birçok çalışma yapmaktadır. Çalışmalar arasında oksidatif hasar ön plana çıkmıştır.

2.3.1. Oksidanlar:

2.3.1.1. Oksijen:

Oksijenin canlılardaki toksik etkileri başlıca iki tür mekanizma ile gerçekleşmektedir.

1. Aerobik canlılarda gözlenen oksijen toksisitesinin ilk açıklaması, moleküler oksijenin bazı enzimleri inhibe ettiği şeklindedir. Bu mekanizmaya örnek olarak oksijenin, glutamat dekarboksilaz enzimini inhibe ederek beyinde Gama amino bütirik asit (GABA) düzeyini düşürmesi gösterilmektedir.

2. Oksijenin enzim inhibisyonu etkisi sınırlı ve çok zayıftır. Oksijenin canlılardaki asıl toksik etkisinin “oksijen radikalleri” olarak adlandırılan ve oksijenin vücuttaki metabolizması sırasında oluşan reaktif türlerden kaynaklandığı belirtilmektedir. Serbest oksijen radikalleri, en dış elektron yörüngelerinde bir tek çiftleşmemiş elektron bulunduran ve stabil olmayan kimyasal bileşiklerdir. En dış yörüngede bulunan elektron çiftinin dengesi, yörüngeye bir elektron girmesi ya da çıkmasıyla bozulursa, momenti dengelenmemiş bu tek elektron atoma (ya da moleküle) büyük bir aktiflik kazandırmaktadır. En dış yörüngede eşlenmemiş bir elektronu bulunan molekül ya da molekül gruplarına “radikal” adı verilmektedir.

Oksijen molekülündeki aynı yönde dönen iki elektrona sahip 2p son orbitali önemlidir. Bu orbitallerden herhangi birindeki elektronun, bir orbitali bırakıp diğerine geçmesi veya farklı yönde dönmesi durumunda “Singlet oksijen” oluşmaktadır. Orbitallerden birine ters dönüşlü iki elektron veya ikisine ters dönüşlü iki elektron daha gelirse “Oksijen radikali” elde edilmektedir

2.3.2. Oksidasyon:

Oksidasyon bir kimyasal reaksiyon olup, okside olan ajana elektronların transferi ile meydana gelmektedir. Canlı hücrelerdeki oksijen metabolizması, çevre kirleticileri, radyasyon, pestisitler, çeşitli tıbbi tedavi yolları ve kontamine sular gibi birçok etmen kaçınılmaz bir şekilde oksijen türevi serbest radikallerin oluşumuna yol açmaktadır. Bu radikaller bir dizi zincir reaksiyon sonucu hücre hasarına yol açabilir.

Bu radikallerin başlıcaları; tekli oksijen ($O_2^{\uparrow\downarrow}$), süperoksit anyonu ($\cdot O_2^-$), hidroksi ($\cdot OH$), peroksi ($ROO\cdot$) ve alkoksi ($RO\cdot$) radikalleridir (40,41).

Tablo 2.3.2. Biyolojik Sistemlerdeki Serbest Radikal Örnekleri

BİYOLOJİK SİSTEMLERDEKİ SERBEST RADİKAL ÖRNEKLERİ		
İSİM	FORMÜL	AÇIKLAMA
Karbon merkezli radikal	$\begin{array}{c} \\ -C\cdot \\ \end{array}$	Karbon konşlu eşlenmemiş elektronlarıyla bu radikaller, genellikle peroksil radikali oluşturmak için hızla O_2 ile tepkimeye girerler
Süperoksit anyonu ve hidroperoksil radikali	$O_2^{\cdot-}, HO_2^{\cdot}$	Pozitif yüklü anyonik formdaki birincil oksijen merkezli radikaller
Peroksit ve alkoksi radikalleri	$RO_2^{\cdot}, RO\cdot$	LOOH ($RO_2, RO_2^{\cdot}$) Gibi organik peroksitlerin yıkımından veya karbon merkezli radikallerin O_2 (RO_2) ile tepkimeye girmesiyle oluşan oksijen merkezli radikaller
Hidroksil Radikali	$OH\cdot$	Tüm biomoleküllerle tepkimeye girebilen son derece reaktif oksijen merkezli radikal
Azot Oksit (azot monooksit ve azot dioksit)	$NO, NO_2^{\cdot}$	NO ile O_2 nin tepkimeye girmesiyle nitrojen dioksit ve L-arjininden de nitrik oksit oluşur
Tiyol ve pertiyol radikali	$RS^{\cdot}, RSS^{\cdot}$	Sülfür konşlu eşleşmemiş elektronlu bir grup radikal
Geçiş metalleri	$Fe, Cu, vs.$	Tekli elektron alış-verişine izin vererek, tek elektronlu oksidasyon tepkimesini değiştirme yeteneğinden dolayı; serbest radikal tepkimelerini hızlandırabilirler

2.3.2.1. Reaktif oksijen türevleri (ROS) :

Çoğunu serbest radikallerin oluşturduğu reaktif oksijen türleri normal oksijen molekülüyle karşılaştırıldığında, kimyasal reaktivitesi daha yüksek olan oksijen formlarıdır. Önemli ROS türevleri; hidrojen peroksit (H_2O_2), hipoklorik asit (HOCl) ve hidroksil radikali ($\cdot OH$)'dir. Özellikle hidroksil radikali çok kararsız olup hızlıca biyolojik moleküller ile reaksiyona girmektedir (42).

2.3.2.2. Serbest radikaller ile meydana gelen hücre hasarı:

Oksijen insan yaşamı için çok elzem olmasına karşın, normal metabolizma sırasında üretilen bazı ROS türleri vücuda yoğun bir zarar verme potansiyeline sahiptir.

Serbest radikaller, dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan bileşiklerdir. Bu çiftlenmemiş elektron serbest radikallere büyük bir reaktivlik kazandırarak protein, lipid, DNA ve nükleotid koenzimler gibi birçok biyolojik materyale zarar vermektedir. Bu zararın yaşlanmayı teşvik ettiği ve ayrıca kalp-damar hastalıkları, çeşitli kanser türleri, katarakt, bağışıklık sisteminde zayıflama, sinir sistemi dejeneratif hastalıkları gibi birçok hastalığa sebep olduğuna dair bilgiler bulunmaktadır (42).

2.3.3.Serbest radikal oluşturan başlıca mekanizmalar:

Biyolojik sistemlerde meydana gelen serbest radikallerin en önemlisi oksijen radikalleridir. Serbest oksijen radikalleri, normal hücre metabolizmasında oksijen içeren birçok biyokimyasal indirgenme reaksiyonları sonucunda oluşabilmektedir. Bu işlemde oksijen, elektron transport zincirinde direkt basamaklar halinde suya indirgenmektedir. İndirgenme sonucunda her bir basamakta serbest oksijen radikalleri açığa çıkmaktadır. Kontrollü enflamatuvar reaksiyonun bir parçası olan fagositler tarafından, bazen iyonize radyasyon, ultraviyole ışığı (UV), hava kirliliği, sigara dumanı, hiperoksi, fazla egzersiz ve iskemi nedeniyle de serbest radikaller meydana gelebilmektedir.

Serbest radikaller başlıca üç temel mekanizma ile oluşmaktadır:

1) Kovalent bağların homolitik kırılması: Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık kimyasal bağların kırılmasına neden olmaktadır. Kırılma sırasında

bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde paylaşılmamış olarak kalmakta ve radikal formu oluşmaktadır

2) Normal bir molekülün elektron kaybetmesi: Dış elektron yörüngelerinde paylaşılmamış elektron kalması durumunda radikal form oluşmaktadır.

3) Normal bir moleküle elektron transferi: Dış elektron yörüngelerinde paylaşılmamış elektron oluşuyorsa da radikal oluşumuna neden olabilir (43).

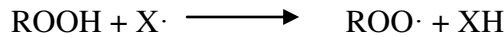
Bu radikallerin oluşum mekanizmalarına ayrıntılı bakalım;

2.3.3.1. Otooksidasyon:

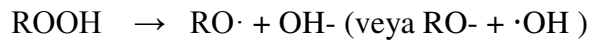
Otooksidasyon, atmosferik oksijenin katalizlediği tipik bir serbest radikal zincir reaksiyonudur. Serbest radikallerin oksijenle reaksiyonu oldukça hızlıdır ve bu reaksiyonların başlangıcı için birçok mekanizma tanımlanmıştır.

Özellikle çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) ve fosfolipidler otooksidasyona eğilimlidir. Otooksidasyonda ilk oluşan ana ürünlerin hidroperoksit (ROOH) ürünleri olduğu düşünülmektedir. Hidroperoksitlerin bir zincir reaksiyonunu başlatabilmesi için üç temel mekanizma önerilmektedir:

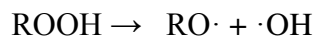
1. Hidroperoksit, zincir reaksiyonuna katılabilecek bir peroksi radikalini (ROO·) oluşturmak üzere diğer kaynaklardan gelen başlatıcı bir radikal (X·) ile reaksiyona girebilir.



2. Hidroperoksit, bir metal iyonu veya farklı bir indirgenle alkoksi (RO·) radikalini (veya daha az bir ihtimalle hidroksi (·OH) radikalini) oluşturmak üzere indirgenebilir.

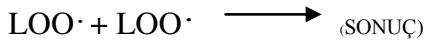
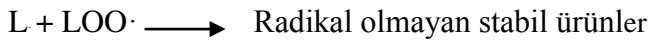
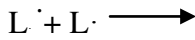
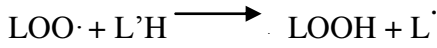
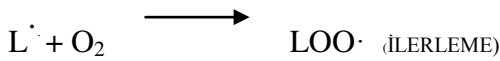


3. Diğer mekanizmalara göre daha az önemli olmakla birlikte, oda sıcaklıklarında daha ziyade yüksek sıcaklıklardan hidroperoksitte ki O-O bağı parçalanarak alkoksi ve hidroksi radikallerine dönüşebilmektedir.



2.3.3.1.1. Lipid oksidasyonu:

Başlangıç, ilerleme ve sonuç aşamalarından oluşmaktadır. Oksidasyonun başlangıç aşamasında, başlatıcı bir radikal ($X\cdot$) ile yağ asidi (LH) substratının reaksiyonu sonucu H atomu transferi yoluyla bir lipid radikali ($L\cdot$) oluşmaktadır. İlerleme aşamasında, oluşan $L\cdot$ radikaline oksijen eklenmesiyle peroksi radikali ($LOO\cdot$) meydana gelmekte ve bu peroksi radikali diğer bir yağ asidi ($L'H$) molekülünden ayrılan bir hidrojen atomu ile birleşerek tekrar hidroperoksitlere ve yeni lipid radikallerine dönüşmektedir. Sonuç aşamasında ise oluşan radikaller birbiriyle reaksiyona girerek radikal olmayan ester, eter, aldehit, keton ve alkol gibi stabil bozunma ürünlerine dönüşmektedir (44,45) .

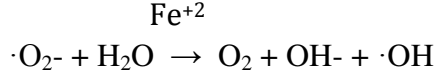


2.3.3.1.2. Geçiş metal iyonlarının otooksidasyona etkisi:

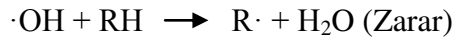
Demir ve bakır gibi geçiş metal iyonları da canlı sistemde serbest radikal oluşturan güçlü birer oksidatif katalist olarak görev yapmaktadırlar. Biyolojik sistemlerde oksijen taşınması, ATP üretimi, DNA ve klorofil sentezinde önemli role sahip olan demirin serbest formları canlı hücrelerde toksik etki yapabilmektedir. Gerçekte tüm canlı hücreler serbest demirin toksik etkisini yok eden ve demirin fazlasını toksik olmayan formlarda hücre içinde depolayan mekanizmalara sahiptir. Birçok metal doğal olarak vücutta şelat oluşturmuş formda bulunur. Örneğin; Cu çeşitli enzimlerde, Fe ise ferritin gibi proteinlerde veya miyogloblin ve hemoglobinin porfirin halkasında bu formda bulunmaktadır. Şelat oluşumu antioksidan savunma sistemine önemli katkıda bulunmakla birlikte, vücutta travma, toksinler, hastalık gibi

çeşitli nedenlerle oksidatif reaksiyonları katalizleyebilen serbest metal iyon formlarına dönüşümler gerçekleşebilmektedir. Diyabet gibi patolojik koşullar altında metal iyonlarının serbest ve zararlı formlarda bulunduğu dair güçlü kanıtlar bulunmaktadır.

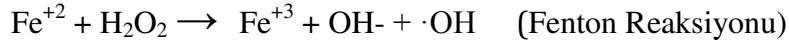
Süperoksit anyonu ($\cdot\text{O}_2^-$), Fe^{+2} katalizörlüğünde H_2O ile reaksiyona girdiği zaman zararlı hidroksi ($\cdot\text{OH}$) radikallerini oluşturan “Haber-Weiss reaksiyonu” meydana gelmektedir.



(Haber-Weiss reaksiyonu)



Fe^{+2} iyonları, hidroperoksitlerin zararlı hidroksi radikaline dönüştüğü “Fenton tipi reaksiyonları” da katalizlemektedir. Hidroksi radikali ise oldukça reaktif bir tür olup, hızlı bir şekilde lipid radikallerini oluşturarak lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonlarını başlatmaktadır

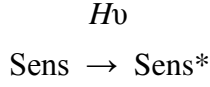


Özellikle yüksek oksijen kullanımı nedeniyle oksidatif strese karşı zayıf olan beyin, aynı zamanda yüksek düzeylerde Fe ve diğer divalent katyonları içermekte ve oluşan Fenton tipi reaksiyonlar reaktif oksijen türleri üreterek nöronlara zarar vermektedir. Kalp dokusu da bu reaksiyonlardan nasibini almaktadır (46).

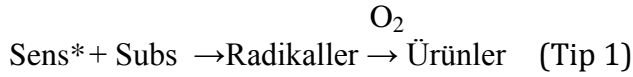
2.3.3.2. Fotooksidasyon:

Fotokimyasal iz yolları, oksidasyonlarda başlatıcı olarak rol oynayan peroksitlerin oluşumu için oldukça önemlidir. Işığın bir molekül tarafından direkt olarak absorpsiyonu, süperoksit anyonu ($\cdot\text{O}_2^-$) üretebilen elektron transfer süreçlerine neden olabilmektedir.

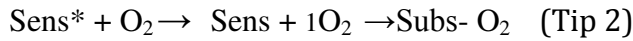
Fotosensitize süreçler ise, direkt fotokimyasal reaksiyonlardan muhtemelen daha önemli olup bu tip indirekt oksidasyonlarda sensitizer (Sens) denilen bir molekül ışığı absorbe ederek diğer bazı türlerin oksidasyonuna neden olmaktadır. Bu reaksiyonlarda genellikle sensitizerin kendisi tüketilmemekte, ışığı absorbe eden bu molekül aktif forma (Sens*) dönüşmektedir.



Hematoporfirin, hemoglobin, miyoglobin gibi bazı tekli oksijen üreten fotosensitizerler arasındadır. Fotooksidasyon reaksiyonları Tip 1 ve Tip 2 olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır. Tip 1 reaksiyonda; aktif hale geçen sensitizer, substratla hidrojen atomu transferi ya da elektron vermek suretiyle reaksiyona girerek radikalleri üretmektedir. Bu radikaller de oksijenle reaksiyona girerek oksijene ürünleri meydana getirmektedir.



Tip 2 reaksiyonda ise; aktif sensitizer O_2 ile direkt reaksiyona girerek tekli oksijen üretmekte ve bu oksijen de oksijene ürünleri meydana getirmek üzere substratla reaksiyona girmektedir.



Riboflavin gibi flavinler Tip 1 reaksiyonlar için uygun bir sensitizer iken, klorofil gibi porfirinler de Tip 2 süreçte uyan ve önemli oranda tekli oksijen üreten sensitizerler arasındadır.

Fotooksidasyondan zarar gören başlıca biyolojik hedefler arasında; histidin, metiyonin, triptofan, tirozin ve sistein içeren proteinler ve guanidin içeren nükleik asitler bulunmaktadır. Ayrıca, yağ asitleri ve kolesterol gibi doymamış bileşiklerin oksidasyonunun gerçekleştiği lipidler de zarar gören başlıca hedefler arasındadır (47,48,49).

2.3.3.3. Enzimatik oksidasyonlar:

Reaktif oksijen türleri, vücutta lipoksigenaz, siklooksigenaz, ksantin oksidaz, miyeloperoksidaz ve sitokrom P-450 gibi birçok enzimin aktivitesinin bir sonucu olarak da üretilmektedir

2.2.3.3.1.Ksantin oksidaz (XOD):

Canlı sistemde ROS oluşturan başlıca enzimatik kaynaklardan biridir. Ksantin oksidaz (XOD), pürin katabolizmasında bir ara bileşik olan hipoksantini önce ksantine daha sonra da ürik aside okside ederken NAD^{+} 'e elektron transferini gerçekleştiren bir dehidrogenaz enzimi olmasına karşın, dokuda belli stres koşulları altında tiyol gruplarını okside eden ve proteolizise neden olan bir oksidaz enzimine dönüşür. XOD'ın faaliyeti sonucunda süperoksit anyonu ($\cdot\text{O}_2^-$) ve hidroperoksit radikalleri ($\text{ROOH}\cdot$) oluşmaktadır.

2.3.3.3.2. NADPH oksidaz:

Serbest radikal oluşturan bir diğer enzim olan Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz nötrofillerin plazma zarında bulunmaktadır. Mitokondri tarafından alınan oksijenin yaklaşık %1-4'ü süperoksit anyonu üretimi için kullanılır ve üretilen süperoksit anyonunun yaklaşık %20'si hücrelere verilir. Makrofajlar ve monositleri içeren fagosit hücrelerde O_2 alımının artması ile aktiflik kazanan NADPH oksidaz, bu oksijeni süperoksit anyonuna dönüştürerek ekstraselüler sıvılardaki miktarını artırmaktadır.

2.3.3.3.3. Nötrofil miyeloperoksidaz (MPO):

Canlı sistemde güçlü oksidan kaynaklarından birisi de, hidrojen peroksit tarafından klorid iyonlarının oksidasyonu yoluyla hipoklorik asit üretimini katalizleyen “Nötrofilik miyeloperoksidaz” enzimidir. Bu reaksiyonun toksisitesi savunma sisteminde bakterilerin öldürülmesine katkıda bulunur. Buna karşılık, oluşan hipoklorik asit aynı zamanda α -1-antiproteinaz'ı inaktive etmekte ve sağlıklı insan dokusunu zarara uğratarak iltihaplanmalara neden olmaktadır (50).

2.3.3.4.Halojenlenmiş hidrokarbonlar ile oluşan oksidasyon:

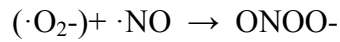
Serbest radikal meydana getiren diğer olaylar ise; kontamine içme sularında bulunan toksik etkili halojenlenmiş hidrokarbonlar ve hava kirleticileri olarak bilinen

azot oksitleridir. Karbontetraklorür (CCl₄) ve bromotriklorometan (CBrCl₃) gibi hidrokarbonların biyolojik sistemlerdeki oksidatif hasarın başlamasında etkili oldukları bildirilmektedir. Triklorometil, Triklorometil peroksil radikalleri gibi oldukça reaktif türler, sitokrom P-450 monooksijenaz enzim sisteminin çeşitli aminoasit ve doymamış yağlarla hızlı reaksiyonu sonucu CCl₄' ün metabolizması sırasında üretilmekte ve bunun sonucunda protein denatürasyonları ve lipid peroksidasyonu oluşmaktadır (51).

2.3.3.5. Reaktif nitrojen türevleri ile oluşan oksidasyon:

Yeni gündeme gelen bir diğer önemli ROS molekülü kaynağı reaktif nitrojen türevleridir (RNS) ve nitröz stres meydana getirirler. Nitröz stres hücre içerisinde azalan tiyol bileşikleri ve bunlara bağlı vasküler patofizyolojik olaylar ile alakalıdır.

İki radikal karşı karşıya geldiğinde birbirlerinin eşleşmemiş elektronları çok hızlı bir reaksiyon ile kovalent bağ oluşturmakta, sonuçta non-radikal bir ürün meydana gelmektedir. Buna en iyi örnek damar duvarında süperoksit anyonu ile nitrojen monoksit reaksiyonudur sonuçta oluşan ürün peroksinitrit olup non radikal bir moleküldür



Oluşan ONOO⁻ peroksinitrit için ana hedef CO₂ olup oluşacak ürün metastabil ürünlerdir. Bu nedenle karbondioksit redoks kimyası için gerekli ürünlerdendir.

2.3.3.5.1. Nitrik oksit sentetaz (NOS):

Nitrik oksit sentetaz ailesi L-argininin L-sitrüline katalizler ve oluşan ürün major potent vazodilatör molekül nitrik oksittir (·NO). Bu ailenin iki üyesi endotelial (eNOS) ve indüklenebilir nitrik oksit (iNOS) damar yapısı ve ateroskleroz gelişimi ile yakından alakalıdır.

Son yıllarda yapılan çalışmalar eNOS için uncoupling yani eşleşmemiş tabiri önem kazanmıştır. Çünkü aynı zamanda ROS türevi oluşturmaktadırlar. Özellikle tetrahipterin kofaktör yokluğunda enzim katalizi bozulmaktadır ve L -arjinine elektron transferi yerine moleküler oksijeni indirgenmekte süperoksit anyonu oluşturmaktadır (52).

·NO metaller ile 3 tip reaksiyon yapabilmektedir, örneğin demirsülfür ile demir nitroz kompleksi oluşturabilmektedir (42,53).

2.3.3.6. Mitokondrial solunum neticesinde oluşan otooksidasyon:

Elektron akım zincirinde tüketilen moleküler oksijenin %1-5'i süperoksit anyonuna çevrilir bu hücre içi ana ROS kaynağıdır.

Mn-SOD enzimi normal işleyiş altında mitokondri matriksinde süperoksit anyonunu hidrojen peroksit ve moleküler oksijene çevirmektedir. Yine mitokondri içerisinde dış membranda yer alan monoamin oksidaz enzimi de diğer bir hidrojen peroksit kaynağıdır. Diyabet gibi bazı hastalıkların komplikasyonlarının ortaya çıkışında mitokondrial fazla süperoksit anyon üretimi suçlanmaktadır.

Glukolizasyon ile ve protein C aktivasyonu fazla süperoksit anyonu üretiminden sorumlu tutulmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar mitokondrial disfonksiyonun birçok hastalığın oluşum da yer aldığını göstermektedir.

Serbest radikaller, hücresel lipid, protein ve DNA'da çeşitli derecelerde hasara neden olabilmektedir. Oksijen, endoplazmik retikulumda, mitokondride, plazma membranında, peroksisomlarda ve sitozollerde oksidatif enzimler tarafından süperoksit anyonuna dönüştürülmektedir. Oluşan süperoksit anyonları, SOD enzimi ile hidrojen peroksit'e dönüştürülmektedir. $\text{Cu}^{+2}/\text{Fe}^{+2}$ ile katalize olan Fenton reaksiyonu yoluyla hidroksil radikalleri oluşmaktadır. Burada ayrıca süperoksit anyonları, Fe^{+3} 'in Fe^{+2} 'ye indirgenmesini katalize eder ve Fenton reaksiyonu sayesinde hidroksil oluşumuna katkıda bulunmaktadırlar

Vücutta üretilen radikaller her zaman tehlikeli kimyasal türler değildirler. Oksijenin biyokimyasal tepkimelerde kullanılması için reaktif formlarına çevrilmesi zorunludur. Örneğin, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, steroid yapıdaki çok sayıdaki bileşiklerin ve eikozanoidler gibi biyolojik aktif moleküllerin sentezi, çok sayıdaki oksidaz ve hidroksilaz enzimleri ve sitotoksik etkilere sahip hücrelerin fonksiyonları için radikal yapımı olmazsa olmaz bir koşuldur (54,55).

Tablo 2.3.3.6 Nonradikal oksidanların damarıçi oksidatif stres potansiyelleri ile ilgili örnekler.

NON RADİKAL OKSİDANLARIN DAMAR İÇİ OKSİDATİF STRESS POTANSİYELLERİ İLE İLGİLİ ÖRNEKLER		
İSİM	FORMÜL	AÇIKLAMA
Hidrojen Peroksit	H_2O_2	Genellikle düşük aktiviteli ve sadece zayıf oksitleyici; yayılabilen bir oksidan. Hücrel sinyalizasyona katılabilir veya uygun geçiş metallerinin varlığında $\cdot OH$ oluşumuna neden olabilir.
Hipoklor,hipoklorik asid	$\cdot OCl, HOCl$	Zayıf asid ($pK_a \sim 7.5$) fakat güçlü oksitleyici. Fe-S kümesi, tiolat ligantları tarafından proteinlerce düzenlenen metal iyonları, proteinlerin aminoasid (metionin, sistein) artıkları ve GSH ile tepkimeye girer. İkincil olarak; Kloramin ve aminoasitten türemiş aldehit içeren aktif ürünlerin oluşumuna yol açabilir.
Ozon	O_3	Kollesterol içeren lipidlere ve proteinlere saldıran güçlü oksitleyici. Yan ürün olarak singlet oksijen oluşturulabilir.
Siglent oksijen	ΔgO_2	Diğer moleküllerle kimyasal olarak veya uyarıcı enerjisini aktarmak yoluyla tepkimeye girer, karbon-karbon çift bağ tepkimesi en iyi bilinenidir. ΔgO_2 ın damar içine ilgisi bilinmemektedir.
Oksoperoksonitrat(1-) veya peroksinitrit, peroksinitreus asid	$ONOO^-, ONOOH$	$\cdot O_2$ ve. NO tepkimesi üzerinden $k \sim 10^{10} M^{-1} s^{-1}$ ile oluşturulabilir. Pozitif yüklü formunun aktivitesi yüksektir. $ONOO^-$ nun en önemli tepkimesi CO_2 ile nitratlayıcı, nitrozlayıcı ve oksidan ürünlerin oluşumuna yol açmasıdır.
Alkilperoksinitritler, diazot trioksit, azot klorit nitronyum (nitril) iyonu	$ROONO, N_2O_3, NO_2Cl$ ve NO_2^+	Ek aktif azot ürünleri. En önemli Nitrozlayıcı ürün N_2O_3 dür.
Nitrosotiollar	$RSNO$	RS ile NO tepkimesi veya yüksek okside azot ile tiyol tepkimesi üzerinden oluşturulabilir. Nitrozotiyoller zayıf oksidanlardır.

Antioksidanlar bu zincir reaksiyonlarını ortamdaki serbest radikalleri ortadan kaldırarak sonlandırabilir. Bu nedenle antioksidanlar genelde redükte olan ajanlar olup kendi kendilerini okside ederler örneğin tiyoller, askorbik asit ve polifenoller gibi.

2.3.4. En önemli serbest oksijen radikalleri:

1. $O_2^{\cdot-}$ (Süperoksit) Radikali
2. H_2O_2 (Hidrojen Peroksit)
3. $HO^{\cdot}$ (Hidroksil Radikali)
4. Singlet Oksijen ($O_2 \uparrow\downarrow$)

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

Canlılarda oluştuğu ilk gösterilen radikal olan süperoksit zedeleyici özelliği fazla olmayan bir serbest radikal türevi olup H_2O_2 kaynağıdır. Oksitleyici ve metal iyonları redükleyici etkisi vardır. Bazı biyolojik moleküller aerobik ortamda oksitlenirken süperoksit yapımına neden olmaktadır. Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin % 1-5'i kadarı süperoksit yapımı ile sonlanmaktadır. Aktive edilen fagositik lökositlerden bol miktarda süperoksit üretilerek, fagozom içine ve bulundukları ortama verilmektedir. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatmaktadır.

Zar fosfolipidleri nedeniyle hücre zarı yüzeyleri, sitoplâzmaya göre daha asidiktir ve süperoksit burada daha kolayca bir proton alarak hidrojen peroksid radikalini oluşturabilmektedir. Bu radikal çok reaktif bir tür olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu başlatabilmekte ve antioksidanları oksitleyebilmektedir (56,57).

2.3.4.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2):

Hidrojen peroksit, oksijenin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi ya da süperoksitlerin enzimatik ve enzimatik olmayan dismutasyon tepkimeleri sonucunda oluşmaktadır. Oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin nedeni, metal iyonlarının varlığında hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olmasındandır. Hidrojen peroksit özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek,

yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturmaktadır. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilmektedir (42,58).

2.3.4.3. Hidroksil radikali (HO[•]):

Çok reaktif bir ajandır. Normal biyolojik fonksiyonlarda da kullanılmaktadır. Fagositoz ve çeşitli enzimatik katalizlerde üretilmektedir (42).

Dokular γ radyasyona maruz kaldıklarında, enerjinin çoğu hücre içindeki su tarafından absorbe edilmekte ve radyasyon, oksijen ile hidrojen arasında kovalent bağa neden olmaktadır. H₂O₂'nin ultraviyole (UV) ışığına maruz kalması ile de hidroksil radikali oluşabilmektedir (59).

Hidroksil radikali en reaktif radikal olarak bilinmekte ve her moleküle saldırarak hasar meydana getirebilmektedir. DNA'nın pürin ve pirimidin bazıları ile etkileşebilmektedir. Özellikle, araşidonik asitler gibi doymamış yağ asit yan zincirlerinden hidrojen atomunu çıkartmakta ve sonuçta su oluşumunu sağlamaktadır. Hidroksil radikali ile oluşan en iyi tanımlanmış biyolojik hasar, lipid peroksidasyonu olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur (59).

2.3.4.4. Singlet oksijen (O₂^{↑↓}):

Oksijenin uyarılmış şekline 'singlet oksijen' denir. Reaktivitesi çok yüksek bir oksijen türüdür. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksil radikalini oluşturmakta ve hidroksil radikali kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir.

Özellikle karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Bu bileşiklerin başında bilirubin, tokoferoller, fenoller, karotenler, DNA, kolesterol, NADPH, triptofan, metionin, sistein ve histidin gibi bileşikler gelmektedir. Bilirubin, karotenler, histidin, metionin ve bazı kimyasal bileşikler singlet oksijeni temizleyerek ona bağlı tepkimeleri inhibe edebilmektedir (60).

2.3.5. Antioksidanlar:

2.3.5.1. Tanım

Serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneğine sahip maddelere “antioksidan” adı verilir. Antioksidanlar mekanizmalarına göre, birincil ve ikincil antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Birincil antioksidanlar; mevcut radikallerle reaksiyona girerek bunların daha zararlı formlara dönüşmelerini ve yeni serbest radikal oluşumunu önleyen bileşiklerdir. Birincil antioksidan kategorisinde yer alan süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSHPx) ve katalaz gibi enzim sistemleri serbest radikalleri yok etme yeteneğindedir. Bu enzimler genel olarak serbest radikallerin DNA, proteinler ve lipidler gibi hücresel bileşenlere zarar vermesini sınırlandırmak suretiyle bir hücresel bölgeden diğerine geçişini de önleyebilmektedirler.

İkincil antioksidanlar ise; oksijen radikalini yakalayan ve radikal zincir reaksiyonlarını kıran C vitamini, E vitamini, ürik asit, bilirubin ve polifenoller gibi bileşiklerdir (61).

2.3.5.2.Tarihçe:

Geçen 19. yüzyılda antioksidan terimi ilk defa endüstride yoğun olarak kullanılmaya başlamıştır. Özellikle metal korozyonun önlenmesinde ve plastik sanayide oksidasyonun önemi anlaşılmıştır. Biyolojik sistemlerde ise antioksidanlar ilk olarak ansatüre yağ asitlerinin oksidasyonun (yağ acıması) engellemesi amacı ile yağ sanayide kullanılmaya başlamıştır. Antioksidanlar iki ana grup içinde sınıflanmaktadırlar. Bu sınıflar çözündükleri ortama göre suda çözünen (hidrofilik) ve yağda çözünen antioksidanlardır (hidrofobik). Genel olarak suda çözünen antioksidanlar hücre sitoplâzmasında ve kanda plazmada oksidanlar ile reaksiyona girer. Hâlbuki yağda çözünen antioksidanlar hücre membranı başta olmak üzere hücre organellerini lipid peroksidasyonuna karşı korur (61).

2.3.5.3.Antioksidan etki tipleri:

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler:

1) Toplayıcı etki (Scavenging etki): Serbest oksijen radikallerini tutma ya da çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine “toplayıcı etki” denilmektedir.

Bilirubin, antioksidan enzimler, trakeobronşial mukus ve küçük antioksidan moleküller bu tip bir etki göstermektedirler.

2) Bastırıcı etki (Quencher etki): Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip, onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan ya da inaktif biçime dönüştüren etki “bastırıcı etki” olarak adlandırılmaktadır. Vitaminler, bu tarz bir etkiye sahiptirler. bilirubinin bu tarz antioksidan etkisi de vardır.

3) Zincir kırıcı (Chain-breaking etki): Serbest oksijen radikallerine bağlanarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye “zincir kırıcı etki” denir. Bilirubin, hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

4) Onarıcı etki (Repair etki): Onarıcı etki üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Oksidatif hasar görmüş DNA molekülünü tamir eden enzimler bu guruba örnek olarak verilebilir (62).

Tablo 2.3.5.4. Vücut sıvılarında bulunan antioksidanlar ve konsantrasyonları.

Antioksidan Metabolit	Çözünürlük	İnsan Serum Konsantrasyonları (µM)	Karaciğer Dokusu Konsantrasyonları (µmol/kg)
Askorbik asit (Vit-C)	su	50 – 60 ^L	260 (insan)
Glutasyon	su	4	6,400 (insan)
Lipoik asit	su	0.1 – 0.7	4 – 5 (fare)
Ürik asit	su	200 – 400 ^L	1,600 (insan)
Karotenler	yağ	β-Karoten: 0.5 – 1 Retinol (Vit- A) : 1 – 3	5 (insan,tüm karotenler)
α-Tokoferol (Vit- E)	yağ	10 – 40	50 (insan)
Ubikinol koenzim Q)	yağ	5	200 (insan)

Bu antioksidanların birbirleri ve oksidanlar ile olan etkileşimlerini değerlendirmek oldukça karmaşıktır. Örneğin, bazı bileşikler antioksidan savunma sistemine şelatör etki ile katkıda bulunurlar özellikle geçiş metallerini şelate ederler ve bu yolla serbest radikal oluşumunu engellerler. Örneğin demir bağlayıcı protein transferin ve ferritin bu gruba girmektedir. Yine selenyum ve çinko antioksidan besin olarak sınıflanabilir. Fakat bu kimyasal elementler kendi kendilerine bir antioksidan etkiye sahip değildirler genellikle ilaveten bir antioksidan enzime ihtiyaç duyarlar.

Endojen antioksidanlar, enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir. Enzim olan antioksidanlar, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSHPx), katalaz (CAT), glutatyon transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise, bilirubin, albumin, ürik asit, α -tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir. Bunlar oksijen radikallerine karşı ilk savunma sistemini oluşturmaktadırlar (63,64).

Eksojen antioksidan olarak da allopurinol, folik asit, C vitamini, E vitamini, asetilsistein, mannitol, adenozin, kalsiyum kanal blokerleri, non steroid antienflamatuar ilaçlar ve demir şelatörleri sayılabilir.

Antioksidanlar ayrıca primer, sekonder ve tersiyer olarak da sınıflandırılmaktadır. Yeni serbest radikal formasyonunu önleyen antioksidanlar primer antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır. Örnek olarak SOD, GSHPx, metal bağlayan proteinler, ferritin, seruloplazmin, demir, hemopeksin, haptoglobulin gösterilebilir.

Bazıları ise metal iyonları ile reaksiyona girebilecek olan peroksitleri yok ederek serbest radikallerin oluşumunu önlemektedirler. Sekonder antioksidanlar, zincir kırıcı reaksiyon ile serbest radikalleri uzaklaştırmaktadırlar. Bilirubin, E vitamini, C vitamini, β -karoten, ürik asit ve albumin gibi maddeler bu sınıfta yer almaktadırlar. Lipid peroksidasyon zincirini kıran bir antioksidan olan α -tokoferol hücre zarında bulunmaktadır. Askorbik asit suda erimekte ve radikal toplayıcı olarak rol almakta, E Vitamininin etkisini arttırmaktadır. Ürik asit, ksantin oksidazı inhibe ederek serbest radikal oluşumunu azaltmaktadır. Tersiyer antioksidanlar, serbest radikaller tarafından hasar gören biyomolekülleri onarırlar. DNA'yı onaran enzimleri de bu grupta yer almaktadırlar (42,65,66).

2.3.5.3.1.Ürik asit:

İnsan kanındaki en yüksek konsantrasyondaki antioksidan olup total antioksidan kapasitenin yarısını meydana getirmektedir. Ksantin oksidaz enzimi tarafından ksantinden meydana getirilir ve pürin metabolizmasının atık ürünüdür.

Fakat beklendiği gibi antioksidan etkisi yeterli değildir. Aksine kalp krizi ve inme riskini ürik asittin yükseldiği gut hastalarında artırmaktadır. Tam anlaşılamayan bu etki için Pro-oksidan bir etki olabilir düşüncesi vardır (67).

2.3.5.3.2. Askorbik asit:

Diğer adı ile vitamin C, monosakkarit yapıdadır hayvan ve bitkilerde oksidasyon- redüksiyon katalizlemesi yapar. İnsanlar bu vitamini diyet yolu ile alırlar birçok diğer canlılar, başta hayvanlar bu vitamini sentezleyebilirler. Askorbik asit pro-kollajeni kollajene çevirir bu amaçla proline hidrokisproline okside olur. İndirgenmiş formun devamı için glutatyona ihtiyaç duyar reaksiyonu protein disülfid izomeraz enzimi ve glutaredoksinler katalizler.

Askorbik asit indirgen katalizleme yolu ile ROS'ları nötralize edebilir. Örneğin, hidrojen peroksit gibi. Ayrıca bitkilerde özellikle strese dayanıklılığı artıran askorbat peroksidaz enzimi için de bir substrat oluşturmaktadır (68).

2.3.5.3.3. Glutasyon:

Glutasyon sistin içeren tripeptid yapısındadır. Amino grup asitlerden vücutta sentez edilir. Glutasyon antioksidan özelliklerini yapısındaki tiyol grubundan alır sistin artığı indigen ajan olarak görev yapar ve geri-dönüşümlü olarak oksitlenir ve indirgenir.

Hücrede glutasyonun glutasyon redüktaz enzimi ile indirgenmesi sonucu devamlı süregenlik sağlanır. Bu nedenle hücresel en önemli antioksidanlardan birisidir (68).

2.3.5.3.4. Melatonin:

Çok güçlü antioksidanlardan birisi olup vitamin C, E ve glutatyondan farkı, hem vücutta sentezlenebilmesi hem de diyet ile alınabilmesidir. Ayrıca melatonin kan beyin bariyerini geçebilmektedir ve diğer antioksidanlardan farklı olarak melatonin redoks siklusuna girmez. Bu nedenle hiç bir zaman pro-oksidan özelliği yoktur. Serbest radikal üretmez. Melatonin bir kez okside olursa, bir daha önceki düzeyine indirgenemez. Bu nedenle terminal veya intihar antioksidanı olarak bilinir (69).

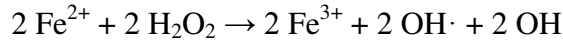
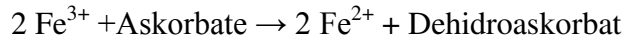
2.3.5.3.5. Tokoferoller (Vitamin E):

Tokoferoller yağda eriyen vitamin grubundadır ve antioksidan özellikleri taşır. α -tokoferol en yüksek biyoyararlanıma sahiptir. Özellikle membranları oksidasyona karşı korur. Bu amaçla lipid radikalleri ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu engeller. Ortamdan serbest radikalleri uzaklaştırır, oksitlenen α -tokoferol radikalleri

diğer antioksidanlar; vitamin C, vitamin E ve Ubiquinol gibi re-siklus yolu ile geri indirgenir (70).

2.3.5.4. Pro- oksidan aktivite tanımı:

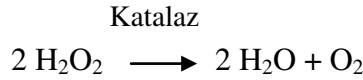
Bazı antioksidanlar pro-oksidan gibi davranabilirler, örneğin vitamin C antioksidan aktivitesini hidrojen peroksiti indirgeyerek göstermenin yanı sıra bazı metal iyonlarını indirgeyerek Fenton reaksiyonu ile serbest radikal haline çevirebilir (71).



2.3.5.5. Enzimatik ve peptid antioksidan savunma sistemleri:

2.3.5.5.1. Katalaz ve peroksidaz:

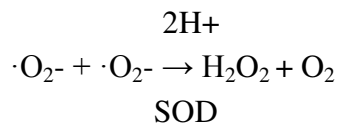
Bir metalloenzim olarak bilinen katalaz enzimi redoks reaksiyonunu teşvik eden en etkili protein katalistlerinden birisidir (Larson 1988). SOD enzimi faaliyeti sonucunda meydana gelen toksik hidrojen peroksit (H_2O_2) katalaz enzimi etkisiyle su ve oksijene dönüştürülmektedir.



Hidrojen peroksit (H_2O_2), biyolojik önemi olan moleküllerin çoğu ile spesifik olarak reaksiyona girmemekle birlikte, OH radikali gibi daha reaktif oksidanların oluşumunda bir ön madde olarak rol oynamaktadır. Peroksidazlar da katalaz enzimiyle aynı özelliklere sahiptir (71).

2.3.5.5.2. Süperoksit dismutaz enzimi (SOD):

Bu enzim, süperoksit anyonunun ($\cdot\text{O}_2^-$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene dönüşümünü katalize ederek bu radikallerin etkisini azaltmaktadır. Bu olayda SOD enziminin aktif bölgesini oluşturan Zn önemli bir mineraldir (72).

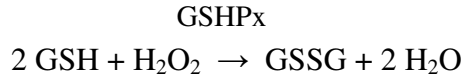


Bu reaksiyon, normal fizyolojik pH değerlerinde oldukça hızlı yürümektedir. Bununla birlikte, gerçekte tüm aerobik organizmaların SOD içerdiği belirlenmiştir. SOD enzimi reaksiyon hızını artırmak için yeterince güçlü bir katalisttir.

Süperoksit anyonu ($\cdot\text{O}_2^-$) da, H_2O_2 gibi bir oksidan olarak çoğu organik bileşikle direkt olarak reaksiyona girmez, ancak muhtemelen daha reaktif ve yüksek toksisiteye sahip oksijen türlerinin oluşumuna neden olmaktadır (73).

2.3.5.5.3. Glutasyon ve Glutasyon peroksidaz (GSHPx):

Tiyol grupları, enzimatik reaksiyonlar aracılığıyla ve serbest radikalleri yakalamak suretiyle görev yapan hücresel antioksidanlardır. Tiyol grubu taşıyan bir tripeptid olan glutatyon, serbest radikallerin yıkıcı etkilerini önleyen veya azaltan transferazlar, peroksidazlar gibi birçok enzimin substratı olarak görev yapmaktadır. Suda çözünebilen bir tiyol olan ve birçok hücrede çok yüksek konsantrasyonlarda bulunan glutatyon, biyolojik membranları lipid peroksidasyonuna karşı korumaktadır. Bu koruma, enzimatik olarak gerçekleşmektedir. Aktivitesi için selenyum(Se) mineraline ihtiyaç duyan GSHPx enzimi, glutatyon'un indirgenmiş formunu (GSH), oksitlenmiş hale (GSSG) dönüştürmektedir (74).



Glutasyon aynı zamanda hücre içinde tekli oksijen (1O_2), süperoksit anyonu ($\cdot\text{O}_2^-$), hidroksi ($\cdot\text{OH}$) radikalleri gibi birçok zararlı oksidanla enzim katalizi olmaksızın da reaksiyona girmektedir (75).

Tablo 2.3.5.7: Hücresel antioksidanlar.

HÜCRESEL ANTİOKSİDANLAR		
ANTİOKSİDAN	İŞLEVİ	BULUNDUĞU YERLER
ENZİMLER		
Cu, Zn-SOD	O_2^- nin H_2O_2 ve O_2 ye dismutasyonunu aktifler	Sitozol, çekirdek ve lizozomlar
Mn-SOD	O_2^- nin H_2O_2 ve O_2 ye dismutasyonunu aktifler	Mitokondri
Katalaz	H_2O_2 yi H_2O ve O_2^- ye dönüştürür	Büyük ölçüde peroksizomlarla sınırlı
Klasik glutatyon peroksidaz (cGPx)	GSH nin GSSG ye oksidasyonu ile bağlantılı olarak sırasıyla H_2O_2 yi ve yağ asit hidroksiperoksitlerini H_2O ve yağ asidi alkole indirger	Baskın olarak sitozolde bulunur ancak mitokondri ve çekirdekte de mevcuttur
Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PHGPx)	Kolesterol ve yağ asidi esterleri hidroksiperoksitlerini indirgerler	Membrana bağlı
Glutatyon Redüktaz	GSSG'yi GSH ye indirger ve böylece peroksidazlarla beraber çalışır	Peroksidazlarla beraber bulunur
Glutatyon-S-transferaz	GSH ile birleşerek zenobiotikleri metabolize ederler; bazı transferazlar organik hidroperoksitler ile glutatyon peroksidaz benzeri aktivite gösterebilirler.	Sitozol ve membrana bağlı
Protein-disülfid izomeraz	Yeni disülfid bağ oluşumunu ve enzim aktif bölgesindeki ditiyol\disülfid grup değiş tokuşu yoluyla olan mevcut düzenlemeleri katalize eder	Birincil olarak endoplasmik retikulum lümeninde ayrıca diğer membranlarla da ilişkilidir.
Tiyoredoksin	Tiyollere karşılık gelen protein disülfitlerini indirger ayrıca H_2O_2 ve lipid peroksitlerini metabolize eder.	Birincil olarak endoplasmik retikulumdadır ama ayrıca hücre yüzeyinde de bulunur
Tiyoredoksin Redüktaz	NADPH yardımıyla tiyoredoksin ve PDI'yı indirger	Tiyoredoksine benzer
Glutaredoksin (veya tiyoltransferaz)	Proteinlerle tiyol-disülfid takasını aktifler ayrıca da dehidroascorbat -indirgeyici aktivitesi vardır.	Baskın olarak sitozolde
Peroksiredoksin (veya tiyole has antioksidan)	H_2O_2 veya peroksitlerle tepkimeye girerek; tiyoredoksin sistem (tiyoredoksin bağımlı peroksit indirgeyici sistemin esas fonksiyonu sabit kalmaya devam edebilmesidir) ; .tarafından onarılan -SH grup oksidasyonuna sebep olan tiyol radikallerini uzaklaştırabilir.	Protein tipine bağlı olarak değişik yerlerde bulunabilir
Metionin sülfoksit	İndirgenmiş tiyoredoksin pahasına protein	

Redüktaz	Metionin sülfoksidi Metionin geri çevirerek indirger.	Sitozol
Hem Oksigenaz	Öncül-oksidan Hemi uzaklaştırır ve güçlü antioksidanlar olan bilirubin ve biliverdin çevirir. Ayrıca güçlü öncül-oksidan demiri de oluşturur. Her halükarda bu Ferritin sentezi ile bağlantılıdır, öyle ki hem oksijenazların tamamı antioksidan aktiviteyi sağlar görünüyor.	Sitozol
METAL İYON SEKESTRASYONLARI		
Ferritin	Başlıca hücre içi demir deposudur	Sitozol
Metallotiyonenler	Tiolat bağları yolu ile her bir protein Zn^{+2} , Cu^{+2} , Cd^{+2} ve Hg gibi metallerin 5-7 iyonunu bağlarlar. Tüm hücre proteinleri içinde kayda değer oran tiyollerdedir.	Sitozol ve çekirdek
DÜŞÜK MOLEKÜL AĞIRLIKLI FAKTÖRLER		
GSH	Glutasyon peroksidaz için kofaktör olarak ayrıca protein katlanmasına ve Askorbat Metabolizmasına katılan en önemli protein olmayan tiyoldür. Ve genel olarak proteinlerin -SH gruplarını oksidasyon ve çapraz bağlantılardan koruyarak aktif ürünleri ortamdaki temizler.	Tüm hücre boyunca
Askorbik asid (vitamin C)	Birçok enzim için ko-faktör, GSH ile eşzamanlı çalışır ve doğrudan ROS'ları temizleme potansiyeli vardır.	Tüm hücre boyunca
α -Tokoferol (vitamin E)	LOO'nun ortamdaki temizleyicisi olarak membranları radikallerce uyarılmış oksidatif hasardan korur.	Tüm membranlar
Ubiquinol-10 ($CoQ_{10}H_2$)	Esas rolü mitokondrial ve diğer hücre membranlarındaki elektron transport zincirindedir. Ayrıca ortamdaki LOO'yu temizler ve hücre membranlarının radikallerce uyarılmış oksidatif hasardan korunmasında Vitamin E ile birliktelik gösterir.	Tüm membranlar

Tablo 2.3.5.8: Hücre dışı antioksidanlar.

HÜCRE DİŞİ ANTİOKSİDANLAR	
ANTİOKSİDAN SAVUNMA	AÇIKLAMALAR
Eritrositler	Hücre içi antioksidan savunmalarla metabolizma için O_2^- ve H_2O_2 yi tutabilir.
ENZİMLER	
EC-SOD	Başta arter duvarında olmak üzere bağıl yüksek moleküler kütleyle mevcuttur.
Hücre dışı peroksidaz	Hücre içi peroksidazlara kıyasla düşük konsantrasyonda bulunmaktadır. Özellikle extrasellüler alanda GSH ın konsantrasyonunun düşük olması ışığında ekivalanları indirgeme kaynağı açık değildir.
PROTEİNLER	
Transferri ve Laktoferrin	Öncül-oksidan aktiviteden korumak için demire bağlanırlar.
Seruloplasmin	Demir ve bakır uyaranlı lipid peroksidasyonunu baskılayan akut-faz proteindir.
Albümin	Albümin-bağlı-bakır aktif redoks olarak kalmasına rağmen bakırı sıkı ve demiri zayıf bağlar. Hücre dışı tiyollerin en önemli kaynağıdır.
Haptoglobulin	Başta istenmeyen redoks tepkimelerinden korumak münasebetiyle; serbest hemoglobini bağlar.
Hemopeksin	Hemi bağlar ve onu istenmeyen redoks tepkimelerinden korur.
Apolipoproteinler	Metionin kalıntılarının fosfolipid ve kolesterol ester hidroperoksitlerini ilgili alkollere kimyasal olarak indirgeme potansiyelleri vardır.
PROTEİN OLMAYAN BİLEŞİKLER	
Glukoz	Yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır. H_2O_2 yi temizleme potansiyeli vardır.
Ürik asit	ROS ve RSN yi temizleyebilmesinin yanında demir ve bakır iyonlarını da bağlayabilmektedir.
Askorbik asit(vitamin C)	Başta L-oksidasyon olmak üzere değişik oksidanları etkin temizler. Canlı plazma lipitleri için farklı oksidanlara karşı birinci basamak antioksidan savunmayı sağlar.
Bilirubin	ROS ve RSN yi temizler ve albümin-bağlı yağ asitlerini oksidasyondan korur. Askorbat gibi, albümin-bağlı -bilirubin lipoprotein-birleşik α TO yu indirger.
α –Tokoferol (vitamin E)	Lipoprotein lipitleri için zincir-kıran antioksidan olarak davranmadığına dair kanıtlar olsa da; etkin LOO temizleyicisidir. 2 e-oksidasyona karşı etkinliği yoktur
Ubikinol-10(CoQ10H2)	Yalnızca çok düşük konsantrasyonlarda bulunur. Her nasılsa canlı lipoproteinlerinin birinci basamak yağda-çözünebilen antioksidan savunmasında mevcut görülmektedir.

2.4. Oksidatif stres:

İlk derleme yazısı hidrojen peroksitin metabolizması üzerine 1979 yılında yapılmış olup oksidatif stres ile ilgili çalışmalar bu yayın öncesinde oksijen toksikolojisi ve X- ışını radyasyonu üzerinde odaklanmıştır (76,78). Daha sonraki yıllarda oksidan stres ve Pro-oksidan stres tanımlaması yapılmış ve redüktif stres sinonim terimleri olarak kullanılmıştır. Sies, oksidatif stresi pro-oksidan/oksidan dengedeki bozukluk olarak tarif etmiştir (77). Bu tarif aslında potansiyel olarak hasar yapabilecek olan oksidan ve antioksidanların dengesizliğidir. Bu tarif önemlidir çünkü birçok konunun anlaşılabilmesi bu tarifi dikkatlice yapılmasına bağlıdır. Örneğin; oksidatif değişiklikler veya antioksidanların kaybı tek başına oksidatif stres oluşturmaz. Bununla beraber artan oksidanlar ile birlikte antioksidanlardaki kayıplar ve/veya antioksidanların okside formlarındaki artışlar oksidatif stres ile sonuçlanabilir.

Bu dikkatli tarif bize oksidatif stres ile oksidan hasar arasındaki bağlantıyı kurar. Şiddetli oksidatif saldırı olsa bile beraberinde antioksidan kayıp yoksa bu saldırı oksidatif hasarla sonuçlanmayabilir.

Biyolojik sistemler zaten bu tip saldırılara karşı adaptasyon yeteneğine sahiptirler ve bu saldırıyı kompanse edebilirler. Fakat çevrede artan redoks potansiyeli bu konuda kendi kendine bir ilave kompensasyon oluşturabilir. Gerçekte redüktif stres tanımı bu dengenin redüktanlar lehine değiştiğini daha iyi tanımlamaktadır. Oksidatif stres redüktif stres ile yakından ilişkilidir. Örneğin, indirgen ajan olan NAD(P)H artmış redoks siklusun sonucudur. Tekrarlayan oksidasyon/redüksiyonlar için substrattır ve süperoksit anyonu radikalinin ($\cdot O_2^-$) artışı ile sonuçlanır (42,76,78).

2.4.1. KAKH patofizyolojik mekanizmaları:

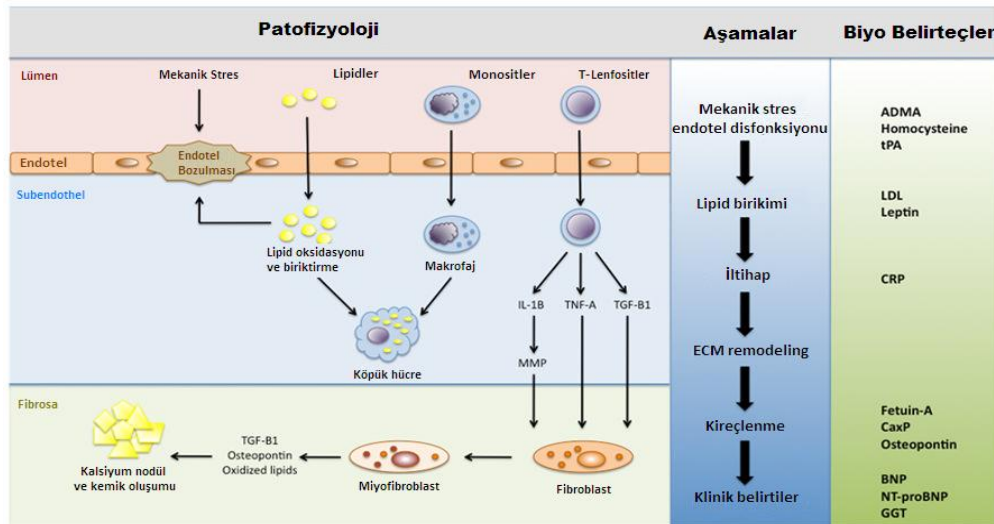
Kalp kapak hastalığı çok faktörlü bir süreç olup patofizyolojisi oldukça karmaşıktır. Dejeneratif veya romatik KAKH birçok risk faktöründen etkilenir; bunların arasında genetik, inflamasyon, otoimmünite, enfeksiyonlar ve oksidatif stres önemli rol oynar. Kalp kapakları yapısal olarak başlıca matriks, düz kas, fibroblastlar ve endotelial hücrelerden oluşur. Fibrozis ve kalsifikasyon kapak lezyonlarının başlıca özelliği olup özellikle aortik dejeneratif kapak hastalığına neden olur. Kalsifikasyon oluşumu hastalığın şiddeti ve prognozu ile ilişkilidir (79).

Aslında koroner ateroskleroz ile kapak hastalıkları benzer süreçlere sahiptir. Ateroskleroz gelişimi için gerekli risk faktörleri KAKH için de gereklidir. Özellikle aortik kapak lezyonları ve koroner hastalık hemen hemen aynı risk faktörlerine sahiptir. Kapak lezyonlarında LDL nin serbest oksijen radikalleri tarafından değiştirilmesi ve kapak lezyonlarının başlangıcında ve ilerlemesinde önemli bir rolü olduğu bilinmektedir (80). Oysaki Romatik Kalp Kapak Hastalıklarında (RKKH) meydana gelen otoimmünite ve patogenez hala karanlıktır. Fakat oksidatif stresin rolü ve sistemik inflamasyonun RKKH oluşumundaki etkisi bilinmektedir. Özellikle inflamasyon, hastalığın kronik fazında önemli bir rol oynamaktadır (79).

2.4.1.1. Dejeneratif KAKH ve ateroskleroz:

Kalp kapak hastalıklarının oluşum süreci yavaş fakat ilerleyici tarzdır. Bu özelliği ile yıllar içinde gelişim gösterir. Daha önce bahsettiğimiz gibi ateroskleroz gelişim sürecine benzerdir (81). Özellikle aortik kalp kapak sklerozu hastalığında orta düzeyde bir kapak kalınlaşması vardır. Zaman içerisinde bu kalınlaşma kapakçıkların açılıp kapanmasını bozmakta ve kapaktan kan akımının geçişini kısıtlanmaktadır. Bu durum aortik kapak sklerozu ve aortik kapak darlığı olarak bilinmektedir (82).

Şekil 8: Kalp kapak hasarı oluşumdaki hücresel süreç



Mekanik stres → Endotelial disfonksiyon → Lipit depolanması → İnflamasyon → Endotelial hücresel remodeling → Kalsifikasyon → Klinik semptomlar

Kalbin çalışması esnasında oluşan mekanik stres kalp kapakları üzerinde ilave bir atherosklerotik risk faktörünü oluşturur. Bunun sonucunda endotelial disfonksiyon /kaçak meydana gelir. Endotelial disfonksiyonu takip eden süreç lipidlerin toplanması ve diğer bileşenlerin birikmesidir. Beklendiği gibi bu durumda inflamasyon süreci tetiklenir interlökin (IL-18), tümör nekrotizan faktör (TNF- α), Transforming Growth Factor (TGF- β 1) gibi sitokinler salgılanır. Özellikle matriks metallo proteinaz etkisi ile ilginç bir şekilde kapak dokusundaki miyofibroblastlar osteoblastik transdifferansyona uğrarlar. Bu olaylar ekstrasellüler matrikste yeniden yapılanmaya ve yeni damarlanmaya, sonuçta kalp kapak hasarına neden olabilen kalsifikasyon gelişimine neden olmaktadır. Oluşan bu kalsifik değişiklikler yüksek türbülansın neden olduğu mekanik strese bağlı olarak kapak yüzeyinde ilave kalsifikasyona yol açar. Bu süreç sonucunda kapaklardaki tıkanma yavaş yavaş artan oranda onlarca yıl içerisinde meydana gelir (79,83).

Her ne kadar bu süreç birçok açıdan ateroskleroz gelişimi ile aynı karakteristik özellikleri paylaşmış olsa da; bu iki hastalık eş değildir. Her iki durumda da (ateroskleroz ve KAKH) var olmasına rağmen aterosklerotik plak oluşumu ve vasküler kalsifikasyon bulgusu davranış olarak çok farklıdır. Aterosklerotik plağın istikrarsız oluşu en önemli özelliği iken; kalp kapak hastalığında plak boyutu ve büyüklüğü en önemli özelliktir.

2.4.1.2. Romatizmal KAKH ve kollajenler:

Dejeneratif kalp kapak hasarının ortaya çıkışında birçok karakteristik aktif patolojik süreç vardır. Kollajen metabolizmasının prolidaz enzim aktivitesini azaltması, yara iyileşme süreci bozukluğu, dejeneratif kapak hastalıklarının oluşumunda rol oynayabilir. Normal insan kalp kapak dokusunda kollajen tiplerinden I,III ve V ekstrasellüler matriks de yer alır. Kollajen Tip I ve III ayrıca kordal tendonun da ve miyokardiyal interstiyumunda da bulunur. Romatik kalp kapağı hasarı olan kişilerde iyi bilindiği üzere kollajen sentezinde bir artış söz konusudur. Kalp kapak hücrelerinde ekstrasellüler matriks de fibroz doku birikimi oluşur. Matriks metallo-proteinazı (MMP) artışı ve inflamasyon sonucunda fibroz oluşumunda artış gösterir (84).Yukarıda sayılanlara ilaveten renin - angiotensin sistemindeki aktivasyon sürecindeki bozukluklarda KAKH oluşumunda rol oynar (85).

2.5. Paraoksonaz ve Arilesteraz enzim ailesi:

2.5.1.Tarihçe:

1953 yılında ilk defa memeli dokusunda organofosfatları hidrolize edebilen enzim serumda tanımlanmış ve Paraoksonaz adı verilmiştir bu adı alması parationun toksik metaboliti olan paroksonu hidrolize edebilme yeteneğinden dolayıdır (86). Bundan kısa bir süre sonra da enzimin arilesteraz aktivitesi tanımlanmıştır. Paraoksonazın endojen substratı hala bilinmemektedir. Bu konuda çok sayıda çalışma vardır özellikle homosistein tiyolakton endojen substratlarından birisi gibi görülmektedir. Ayrıca PON1 birçok ilacı veya pro-ilacı sahip olduğu laktonaz aktivitesi ile metabolize edebilmektedir. İnsanda 3 tane PON geni vardır (PON1, PON2, PON3). Bu genlere bağlı üretilen enzimler %65 oranında benzer amino asit dizilimine sahiptirler ve insan 7. kromozomunda kodlanırlar (87). 1993 yılında klonlanan PON1 geninde 200 den fazla tek-nükleotid polimorfizmi (SNPs) genin farklı bölgelerinde tespit edilmiştir. Bu SNPs ların enzimin protein seviyesine ve aktivitesine olan etkileri daha sonraki çalışmalarda gösterilmiştir. Araştırmacılar polimorfizimlerin kodlandıkları bölgeler içinde 192,55.ve 108. promotor bölgelere odaklanmışlardır. Örneğin, Glutamin (Q)/Arjinin (R) yer değiştirmesi kodon 192’de enzimin değişik allelerinde farklı substratlarda farklı hidrolitik akitiviteye yol açmaktadır (88).

Paraoksonaz (PON), hem arilesteraz (E.C.3.1.1.2) hem de paraoksonaz arildialkil fosfataz, organofosfat hidrolaz, paraokson hidrolaz (E.C.3.1.8.1) aktivitesine sahip bir ester hidrolazdır. İnsektisit ve sinir gazı yapımında yaygın olarak kullanılan organofosfat bileşiklerinin hidrolizini katalizlemekte ve bu nedenle in vivo ksenobiyotik metabolizması ve toksikoloji çalışmaları için büyük önem taşımaktadır (89).

Memeli türleri arasında geniş bir dağılıma sahip olan PON proteinleri, balıklarda, kuşlarda ve eklembacaklılar gibi omurgasızlarda mevcut değildir. Memelilerde, insanlarda ve farelerde, aynı kromozom üzerinde birbirine komşu üç ayrı PON geni (PON1,2,3) bulunmaktadır. Kromozomun uzun kolunda, q 21,3 ile q 21,1 bölgesinde sınırlandırılmış oldukları bilinmektedir. PON proteinleri dokulardaki ekspresyonlarına ve dağılımlarına göre, birbirinden farklılaşmaktadırlar. PON1’e ait m-RNA’nın karaciğer’in (KC) yanı sıra böbrek, kalp, beyin, ince bağırsak ve akciğer dokularında da bulunduğu gösterilmiş ve PON1’in, bu dokuların hepsinde endotelial

tabakada lokalize olduğu, immuno-histokimyasal yöntemlerle tayin edilmiştir (90,91).

2.5.2. Paraoksonaz 2:

Filogenetik çalışmalar bu enzim ailesinin en eski üyesinin PON2 olduğunu göstermiştir. PON2 nin insanda tam olarak ne görev yaptığı bilinmemektedir. PON1 ve PON3 başlıca karaciğerde üretilse de PON2 serum da tespit edilemez, fakat PON2 beyin, karaciğer, böbrek ve testis gibi birçok dokuda bulunur. Bu dokularda bulunan PON2 enzimi hücreden genelde salgılanmaz. Hücre membranında lokalize olan bu enzim aktif kısmı hücre dışında olacak şekilde membranın dış yüzeyindedir. PON1 de benzer şekilde hücre membranında yer alır daha sonra seruma salgılanır ve HDL ye bağlanır (92). Dihidroksimadın antikoagulanı PON2 nin rapor edilmiş tek sentetik substratıdır. PON2 nin anti-aterojenik etkisi özellikle mitokondriyal fonksiyonu düzenlemesi ile olmaktadır(93). PON2 özellikle hücre içinde üretilen tip olup ve hücre içi antioksidan görev yapmaktadır. Yapılan bir çalışmada insan endotel hücrelerinde ve aortik düz kas hücrelerinde PON2 gösterilmiş ve hücre içi oksidatif stresi azaltabildiği gösterilmiştir (94). Bu bilgiler bize PON2 nin anti-aterojenik rolünü göstermektedir ve özellikle hücre içi hidrojen peroksit miktarını azaltarak etki etmektedir. Hemen hemen tüm dokularda görülen PON1 ve mRNA'ya göre, dokular arasında daha geniş bir dağılım gösteren PON2 geninin, protein ürünleri henüz bilinmemektedir (95,96).

2.5.3. Paraoksonaz 3:

PON1 aktivitesine benzer etkiye sahiptir fakat substrat spesifiteleri farklıdır. Son yıllarda tavşan KC'i ve serumundan saflaştırılan ve bir laktonaz olduğu tanımlanan PON3 gen ürününün; en çok plazmada, HDL yapısında yer almaktadır. PON 1 gibi PON3 de HDL yapısında yer alır fakat PON2 ve PON3 paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesinden yoksundur. Bununla beraber PON1 enzimine benzer şekilde aromatik uzun zincirli alifatik laktonları hidrolize edebilirler. Özellikle PON3 enzimi statin laktonlarını lovastatin ve simvastatini ve bir diüretik olan spirinolaktonu hidrolize edebilir. Aslında memeli gelişim sürecinde sentetik organofosfatları ve ilaçları metabolize edecek enzimlerin gelişmesinin mantıksal bir açıklaması yoktur (97).

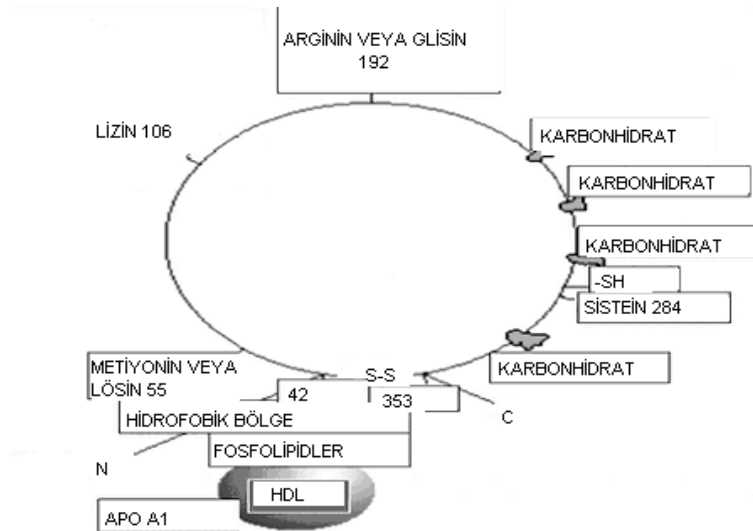
2.5.4. Paraoksonaz 1:

Kalsiyum bağımlı glikoprotein yapısında bir esterazdır. PON1 karaciğerde (KC) sentezlenmekte ve plasmada HDL üzerinde taşınmaktadır. Antioksidan görev yapmakta ve özellikle LDL'yi oksidasyondan korumaktadır. PON1'in aynı zamanda trigliserid içeren şilomikron ve VLDL ile de ilişkili olduğu bildirilmiştir. PON-1'in yapısındaki sistein aminoasidine bağlı olarak antioksidan özellik taşıdığı ve LDL'yi oksidasyona karşı korumada önemli rol aldığı ve ayrıca lipid peroksitlerini hidroliz edebilme özelliği ile de HDL ve LDL'de hidroperoksit birikimini azalttığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Ayrıca okside LDL'nin PON1'in sülfidril grubu ile okside lipidler arasındaki etkileşimi yoluyla PON1'i inaktive ettiği bildirilmiştir. PON1 özellikle başlıca ROS ürünü olan hidrojen peroksitin yıkımında adeta bir peroksidaz gibi rol oynar oksidatif stresi azaltır (88,92,93).

2.5.4.1. PON1 yapısı ve substratları:

İnsan serumundan saflaştırılan PON1, minimum 43.000 dalton ağırlığında, 354 amino asitten oluşan bir glikoproteindir. Ağırlığının %15-18'ini oluşturan karbohidrat üniteleri, 4 farklı konumda proteine bağlı olarak bulunur.

Şekil 9: Paraoksonazın yapısı:



PON1'in amino asit bileşimi incelendiğinde, lösin içeriğinin yüksek olmasına karşılık, “kringle” yapısına sahip olacak kadar sistein içermediği görülür. Bununla

beraber, 42, 284 ve 353. konumlarda yer alan sistein artıklarının, PON1'in yapısal ve fonksiyonel özelliklerine katkıda bulunduğu söylenebilir. Protein yapısında bulunan tek disülfid bağı, polipeptid zincirinin siklik yapıda olmasına neden olmaktadır. PON1, hidrofobik N-terminal bölgesi aracılığıyla HDL lipidlerine kolayca bağlanabilmektedir. PON1'i bağlayan HDL alt birimleri, Apolipoprotein A1(Apo A1) ve Apo J (Klusterin) proteinlerini de içerdiğinden, Apo A1 ve Apo J'nin bağlanmada rol oynayabileceği düşünülmektedir. PON1, 2 tipte genetik polimorfizm gösterir (98,99).

2.5.4.1.1 192-polimorfizmi:

m-RNA yapısında 192. konumda bulunan amino asit (glutamin-Q- veya arginin-R-)'in cinsine göre, enzimin Q (Tip A) veya R (Tip B) izozimleri oluşmaktadır.

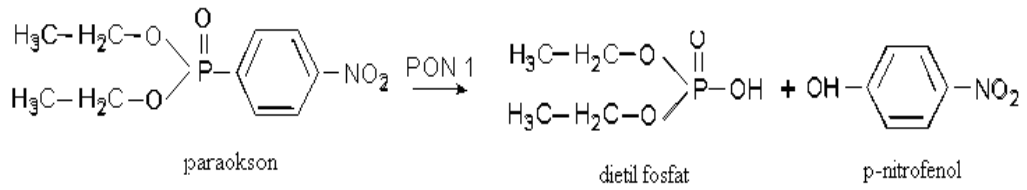
2.5.4.1.2 55-polimorfizmi:

55. konumda bulunan amino asit, Lösin (L) ya da metiyonin (M) olabilmektedir. PON1'in başlıca substratları arasında, organofosfat ve organofosfimat bileşikleri, somon, sarin gibi sinir gazları, aromatik karboksilik asit esterler, doymamış alifatik esterleri ve laktonlar sayılabilir (100,101). Yüksek amino asit benzer dizilimine sahip PON proteinleri benzer etkiler gösterebilirler. Örneğin PON1 gibi PON2 ve PON3 de LDL hücresel oksidatif değişimini engellerler. Gerçekte yalnızca PON1 organofosfatları hidroliz edebilme yeteneğine sahipken diğer izoenzim formlarına aynı ismin (paraoksonaz) verilmesi, adlandırmadaki yanlışlığı bize göstermektedir (99,102).

Yoğun çalışmalara rağmen doğal substratı bulunamayan PON enzimlerinin katalitik aktivite ölçüm çalışmalarında artifikal substratları kullanılmaktadır. Parokson (paraoksonaz aktivitesi için) ve fenilasetat (arilestraz aktivitesi için) bu amaçla sık kullanılır (99).

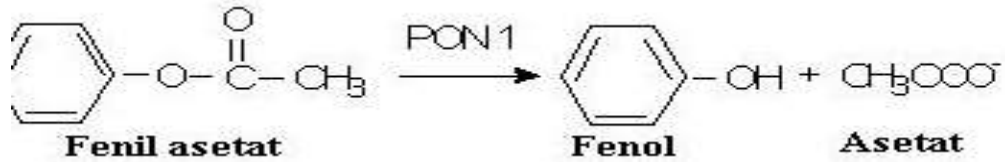
2.5.4.2. Paraoksonaz reaksiyonu:

Organofosfat bileşiklerinden paratiyonun aktif katabolik metaboliti olan paraokson (o,o-dietil-o-p-nitrofenil fosfat), enzime adına verdiği gibi, aktivite tayininde de en çok kullanılan substratlardan birisidir. PON1'in hidrolitik aktivitesiyle açığa çıkan p-nitrofenol veya fenolün konsantrasyonu üzerinden, PON1 aktivitesi spektrofotometrik olarak tayin edilebilmektedir.



2.5.4.3. Arilesteraz reaksiyonu:

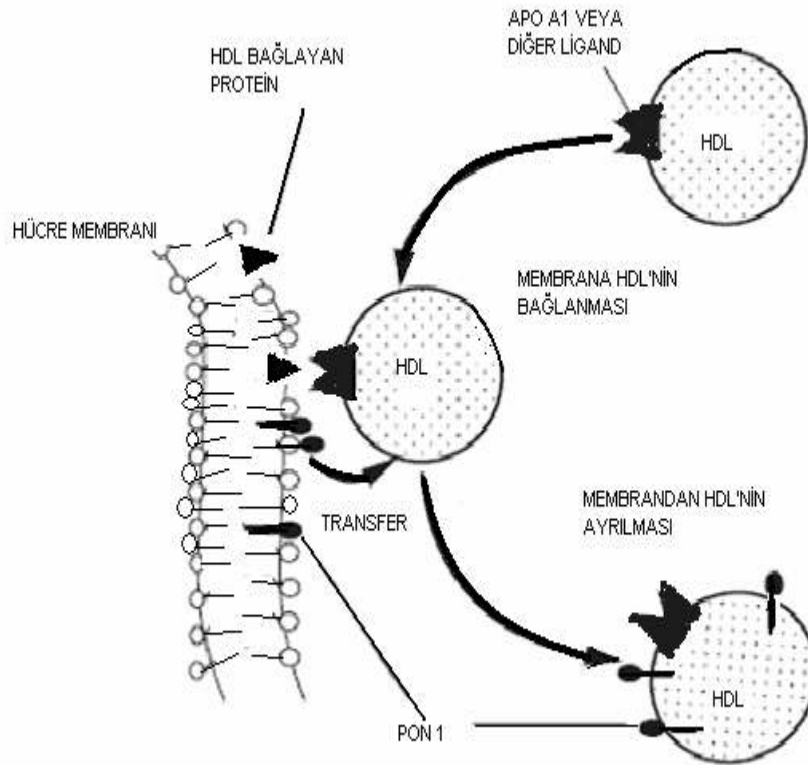
Aromatik karboksilik asit esterlerinden fenil asetat, enziminin arilesteraz aktivitesinin tayininde sıklıkla kullanılmaktadır. Son çalışmalar göstermektedir ki; PON enzimin arilesteraz aktivite ölçümü antioksidan aktiviteyi göstermekte daha etkindir.



Her ne kadar PON1 antioksidan etkiye sahip olarak bilinse de biz hala tam olarak biyokimyasal temel fonksiyonlarını bilmemekteyiz. Antioksidan aktivite değerlendirmesinde kullandığımız paraoksonaz ve arilesteraz aktiviteleri gerçekte hidrolitik aktivite izlemi olup, bu artifical substratlar varsayılan redoks aktiviteyi göstermez. Laktonaz aktivitesinin bu endojen substrat aktivitesini göstermede daha iyi olabileceği son yıllardaki çalışmalarda iddia edilmektedir. Özellikle homosistein tiyolaktonaz aktivitesi üzerinde çalışmalar yoğunlaşmaktadır. Lipid substratlar da son yıllarda öne çıkmaktaysa da PON1 ölçümünde lipit oksidasyon ürünlerini değerlendirmek stabilitelerinin az olması ve oksidasyon sürelerinin uzunluğu dikkate

alındığında teknik olarak zordur (38,103). PON1 enziminin bir diğer aktivite ölçümü için lipid hidroperoksitlerinin hidroksitlere indirgenmesi kullanılabilir bu peroksidaz benzeri aktivite PON1 için önemlidir. Hidrojen peroksit gibi temel bir ROS türevi ajanını yıkıma uğratar ve oksidatif stresin azaltılmasına katkı sağlar (103).

Şekil 10: Hücre membranında bulunan PON1'in HDL'ye transferi



2.5.5. Paraoksonaz aktivitesini etkileyen faktörler:

İnsan serum PON1 aktivitesi yaşa ve cinsiyete bağlı değişim göstermez. Bununla birlikte diyet, sigara, akut faz proteinleri ve gebelik serum PON1 düzeylerini ve aktivitelerini etkiler. Yapılan çalışmalarda diyabet, hiperkolesterolemi ve kardiyovasküler hastalıklar gibi oksidatif stresin arttığı durumlarda bazı hasta gruplarında PON1 aktivitesi düşük bulunmuştur. PON-1'in HDL ile birlikteliğinin anlaşılmasından sonra koroner arter hastalığı (KAH) ile ilişkisine yönelik çalışmalar artmıştır. Düşük PON1 aktivitesinin KAH ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. Günümüzde metabolik sendromun kardiyovasküler hastalıklar için majör risk oluşturduğu bilinmektedir. Metabolik Sendrom tanısı için The Third Report of the

National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) ve Uluslararası Diyabet Derneğinin (IDF) kriterlerinden birisi olan dislipideminin KAKH için de risk faktörlerinden olması nedeniyle Metabolik Sendrom ve ateroskleroz ilişkisine yönelik çalışmalar gittikçe yoğunluk kazanmaktadır. Bundan dolayı metabolik sendromda düşük PON1 aktivitesinin artmış oksidatif stresi yansıtabileceği ileri sürülmüştür (104).

2.6.1. Total antioksidan seviye (TOS):

Normal fizyolojik koşullarda organizma, endojen veya eksojen nedenlerle oluşan serbest radikaller ve bunlara bağlı oluşan oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan defans sistemine sahiptir. Vücudun oluşan oksidan durumlara karşı redoks ayarını sürdürebilmesinde kan çok önemlidir (38).

Canlı sistemlerde, normal metabolik işlemler esnasında sürekli bir serbest radikal oluşumu vardır. Serbest radikaller, mitokondriyal solunum zincirinde, karaciğer karışık fonksiyonlu oksidaz ve ksantin-ksantin oksidaz aktivitesi aracılığıyla, atmosferdeki kirlenmelerde, geçiş metallerinin katalizlediği reaksiyonlarda, ilaç ve ksenobiyotik metabolizmasındaki reaksiyonlarda meydana gelirler. Ayrıca laktasyon, egzersiz, ateş, enfeksiyon ve açlık gibi bazı durumlarda yağ depolarının kimyasal mobilizasyonu, radikal aktivitelerinde bir artışa ve doku hasarına neden olur. Oksijen kaynaklı serbest radikaller, lipid peroksidasyonunun yanında proteinlerde glukasyona, enzimlerde inaktivasyona ve zarlarda yapı ve fonksiyon değişikliklerine de yol açarlar (105).

2.6.2. Total antioksidan seviye (TAS):

Antioksidan moleküller, hem organizmada oluşan zararlı moleküllerin, hem de radyasyon, alkol, sigara ve hava kirliliği gibi dışardan alınan maddelerin zararlı etkilerini önler ve inhibe ederler. Serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek oksidatif reaksiyonları yavaşlatır veya durdurur ve metallerin deaktivasyonunu sağlarlar. Antioksidanlar, iskemi-reperfüzyon hasarı, anemi, artrit, enflamasyon, nörodejenerasyon, Parkinson hastalığı, mongolizm, yaşlanma ve demans gibi serbest radikallerin neden olduğu patolojik durumlara karşı koyan yapılardır. En önemli eksojen (dışarıdan alınan) antioksidanlar; A, C ve E vitaminleri ile karotenoidler,

flavonoidler, koenzim Q ve alfa-lipoik asittir. Bizim ölçüm yöntemimizde Total Antioksidan Kapasite (TAS) serumda değerlendirilmektedir (105).

Total antioksidan kapasiteye en büyük katkı plazmadaki antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada bilirubin, serbest demiri toplayan transferin ve seruloplazmin, ürik asit, E vitamini, C vitamini gibi proteinler yanında serbest radikalleri tutan zincir kırıcı antioksidanlarda bulunmaktadır. Serumda ölçümü yapılan TAS miktarı büyük oranda ürik asit, tiyol grubu bileşikler, C vitamini, bilirubin ve diğer antioksidan moleküllerden meydana gelmektedir.

Albumin, ürik asit, askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan kapasitenin %85'inden fazlasını oluşturmaktadır. Bunun nedeni, kanda bilirubin, glutatyon, flavinoidler, alfa tokoferol ve beta karoten gibi antioksidan sistemin komponentlerine nazaran albumin, ürik asit ve askorbik asitin seviyelerinin fazla olmasına bağlıdır. Yenidoğanlarda ise bu sistemin en önemli bileşenlerini bilirubin ve ürik asit oluşturmaktadır. Bağ kıran antioksidanlar (bilirubin, sülfhidril grupları, C vitamini, E vitamini) özellikle yenidoğanlarda total antioksidan sisteme önemli katkıda bulunmaktadır (106).

Plazmada antioksidanlar bir etkileşim içinde bulunurlar. Genel olarak bu maddeler sinerjist olarak çalışmaktadırlar. Bu etkileşimden dolayı, bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir etki oluşmaktadır. Bu sinerjizme örnek glutatyonun askorbatı, askorbatın da tokoferolün yeniden aktifleşmesini sağlaması gösterilebilir. Ayrıca bir antioksidandaki azalma diğerindeki artış ile kompanse edilebilmektedir. Örneğin yenidoğanda postnatal dönemde fizyolojik şartlarda plazmada ürik asit, C vitamini ve sülfhidril grupları azalırken, bilirubin ve E vitamini düzeyleri artmaktadır. Total antioksidan kapasitenin ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler vermektedir. Bu yüzden kanın antioksidan durumunu saptamada, bireysel antioksidanlardan çok bunların toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan kapasite ölçümü yaygınlaşmaktadır (38). Tam tersine TOS serumda büyük oranda hidrojen peroksit, lipid hidroperoksitler ve peroksi nitritler gibi ROS türevleri meydana getirmektedir.

Çoğu memelilerin savunma sistemleri kronik olarak maruz kaldığı oksidanlara karşı adapte olma yeteneği gösterir. Hastalıklar esnasında oluşabilecek oksidatif hasarın boyutu sadece serbest radikal üretimine değil aynı zamanda antioksidan savunma kapasitesine de bağlıdır. Bu nedenle bu iki testin birlikte ölçülmesi ve

Oksidatif Stres İndeksinin hesaplanması oksidatif dengenin durumunun anlaşılması açısından son derece gereklidir. Biz bu çalışmada kalp kapağı hastası kişilerdeki oksidatif dengenin tam olarak anlaşılabilmesi için TAS, TOS, OSİ ile PON1 ve ARE ölçümlerini yaparak bu tezin bir öncül çalışma olmasını amaçladık.

3. GEREÇ VE YÖNTEM:

3.1. Hasta ve kontrol grupları:

Sağlık Bakanlığı Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kardiyoloji Kliniği'ne Kasım 2010 – Nisan 2011 tarihleri arasında başvuran, ekokardiyografi bulgularına göre kalp kapak hastalığı (mitral darlık, mitral yetmezlik, aort darlığı ve aort yetmezliği) olan 67 hasta (35 kadın, 32 erkek; ortalama yaş, 65.1 ± 13.9) çalışmaya alındı.

Kontrol grubu olarak; kalp kapak hastalığı olmayan 37 kişi (20 kadın, 17 erkek; ortalama yaş, 58 ± 9.4) çalışmaya alındı. Akut veya kronik inflamatuvar hastalık, miyeloproliferatif hastalık, malignite, karaciğer, böbrek, tiroid ve serebrovasküler hastalık öyküsü olanlar, gebeler ve antioksidan kullananlar çalışmaya dahil edilmedi.

Çalışmaya dâhil edilen bireyler çalışma hakkında bilgilendirildi ve onayları alındı. Hastaların vücut kitle indeksi (BMI) ile diğer fiziksel bulguları ve alışkanlıkları da sorgulanıp kaydedildi. BMI kilogram cinsinden ağırlığın metre cinsinden boy uzunluğunun karesine bölünmesi ile hesaplandı.

Bu çalışma Helsinki Bildirgesi tarafından belirlenen etik standartlara uygun olarak yapıldı ve hastane etik kurulu tarafından onaylandı.

3.2. Kan örnekleri:

Çalışma grubuna dâhil edilen hastalardan kan örnekleri 12 saatlik gece açlığını takiben, sabah aç karnına, saat 8.00-9.00 arasında, vakumlu kırmızı kapaklı jelli biyokimya tüplerine alındı. Alınan kanlar yarım saat içinde 2000 g'de soğutmalı olmayan santrifüj cihazı ile 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Hemoliz olan serum örnekleri çalışmaya dahil edilmedi. Rutin biyokimya ölçümleri; Total Kolesterol, LDL Kolesterol, HDL Kolesterol, Trigliserid, BUN ve Kreatinin analizi örnekler bekletilmeden yapıldı. Serum örnekleri plastik kapaklı ependorf tüplere aktararak analiz edileceği güne kadar $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ de saklandı. Saklanan bu serum örneklerinden PON1, ARE, TAS, TOS değerleri bakıldı. Analitlerin ölçüm yöntemi

üretici firma (Rel Assay) ve literatüre uygun bir şekilde yapıldı (107,108). Bütün testler çalışmadan önce gerekli kalibrasyon ve kontroller yapıldı.

3.3. Laboratuvar ölçümleri:

3.3.1. Rutin parametreler:

Total kolesterol, LDL Kolesterol, HDL Kolesterol, Triglisericid, BUN, Kreatinin, PON1, ARE, TAS, TOS ölçümleri; Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvar'ında yapıldı. Total Kolesterol ve HDL Kolesterol ölçümü CHOD-PAP enzimatik kolorimetrik metod ile Triglisericid ölçümü GPO-PAP enzimatik kolorimetrik metod ile Kreatinin ölçümü Alkalın Pikrat-Jaffe yöntemi ile BUN ölçümü kinetik Üreaz metodu ile Abbott marka ticari kit kullanılarak Abbott Architect® c16000 otoanalizöründe çalışıldı.

LDL Kolesterol düzeyi, tüm hastaların Triglisericid değerleri < 400 mg/dl olduğu için Friedwald formülüyle hesaplandı:

$$\text{LDL K} = \text{Total Kolesterol} - (\text{VLDL} + \text{HDL K})$$

$$\text{VLDL} = \text{TG}/5$$

3.3.2. Paraoksonaz ölçümü:

Tam otomatik RL0031 Rel Assay® (Gaziantep-Türkiye) marka ticari kit kullanılarak Abbott Architect® c16000 otoanalizörde çalışıldı. Tris tamponu içerisinde kalsiyum iyonu ile aktive edilen PON1 enzimi paroksonu p-nitrofenole (diethyl-p-nitrophenylphosphate) parçalamaktadır. P-nitrofenolün molar absorbitivitesi $18.290 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ve bir ünite paraoksonaz aktivitesi 37°C 'de dakikada oluşan 1 mol ürüne eşit olmaktadır. Absorbanttaki artış 417 nm de kaydedilmektedir. Yöntemin CVs %1.7 ortam PH: 8.0'dır (38).

3.3.3. Arilesteraz ölçümü:

Tam otomatik RL0055 Rel Assay® (Gaziantep-Türkiye) marka ticari kit kullanılarak Abbott Architect® c16000 otoanalizörde çalışıldı. Fenilasetat substrat olarak kullanıldı. Oluşan ürün olan fenol'ün molar absorbitivitesi $1310 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ olup, bir ünite arilesteraz aktivitesini oluşan 1 μmol fenol /dk verir (38) .

3.3.4. Total oksidan seviye ölçümü (TOS):

Tam otomatik RL0031 Rel Assay® (Gaziantep-Türkiye) marka ticari kit kullanılarak Abbott Architect® c16000 otoanalizörde çalışıldı. Erel tarafından geliştirilen bu otomatik kolorimetrik ölçüm yönteminde ferröz iyon-demir kompleksinin ferrik iyon okside olması temeline dayanır. Asidik ortamda ferrik demir renkli bileşik oluşturur. Spektrofotometrik olarak ölçülen renk yoğunluğu numunede mevcut olan total oksidan molekül miktarı ile ilişkilidir. Hidrojen peroksit ile kalibre edilir. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{Equiv./L}$ olarak verilir (38).

3.3.5 Total antioksidan seviye(TAS) ölçümü:

Tam otomatik RL0031 Rel Assay® (Gaziantep-Türkiye) marka ticari kit kullanılarak Abbott Architect® c16000 otoanalizörde çalışıldı. Erel tarafından geliştirilen bu otomatik kolorimetrik ölçüm yönteminde antioksidanlar koyu mavi-yeşil renkli ABTS' nin renk kaybına neden olur. Bu renk değişimi 660 nm de kaydedilir. Yöntemin CVs $< \%3$ dür. Sonuçlar mikromolar troloks/litre olarak verilir (38).

3.3.6. Oksidatif stress indeksi (OSI) ölçümü:

TOS seviyesinin TAS seviyesine oranının yüzdesi oksidatif stress indeksi olarak kabul edildi. OSI değeri aşağıdaki formüle göre hesaplandı: $\text{OSI} = [\text{TOS} (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{Equiv./L}) / \text{TAS} (\mu\text{mol troloks Equiv./L}) \times 100]$

3.3.7. PON fenotiplemesi:

PON fenotiplemesi olarak planladığımız ve fenotip durumunu net olarak belirleyebilmek için çalışmaya aldığımız gruplarda kromatidlerdeki gen durumunu anlayabilmek ve herhangi bir mutasyonun yarattığı değişimle ortaya çıkabilecek olan mutant fenotipi tespit edebilmek amacıyla PCR çalışmaları düşünüldü. Ancak; PCR çalışmaları için alınan kan örneklerinin büyük çoğunluğunda sonradan hemoliz gelişmesi neticesinde PCR çalışmaları yapılamamıştır. Ayrıca; hastaların fenotip değerlendirmesine ışık tutacak aile hikâyelerini tespit edebilmek için denek grubumuzda bulunanların ailelerine ulaşılmaya çalışılmışsa da gerek hastalarımızdan, gerekse ulaşabildiğimiz ailelerinden sağlıklı veri elde edilememesi sonucu çalışmaya PON fenotiplemesi dâhil edilememiştir.

3.4. Verilerin analizi:

Hasta grupları ile kontrol grubu arasındaki karşılaştırmalar, gruplar homojen dağılım gösterdiğinde bağımsız Student-t testi ile homojen dağılım göstermediğinden Mann Whitney-U testi ile yapıldı. Sonuçlar ortalama ve standart sapma olarak ifade edildi. Her bir grup içinde incelenen parametreler arasındaki ilişkileri saptamada Pearson korelasyon analizi uygulandı. Çalışmada $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Tüm istatistik analizler ‘Medcalc’ (mariakerke, Belgium) programı ile gerçekleştirildi.

4. BULGULAR:

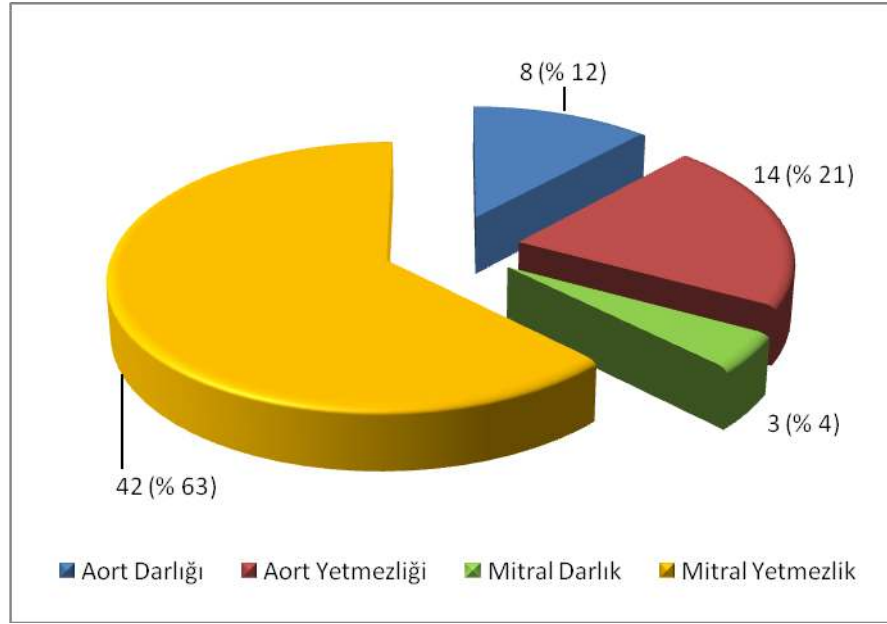
Çalışmaya, yaşları ortalama 65.1 ± 13.9 olan 67 kalp kapak hastası ve yaşları ortalama 58.0 ± 9.4 olan 37 sağlıklı kontrol grubu olmak üzere toplam 104 kişi alındı. Bu hastaların 35’i (% 52.2) kadın, 32’si (%47.8) erkek idi. Kontrol grubunda ise 20’si (%54) kadın, 17’si (%45.9) erkek olmak üzere toplam 37 kişi bulunuyordu.

TABLO 4.1: Kalp kapak hastaları ve kontrollerin demografik ve klinik verileri.

Parametre	Hasta(n=67)	Kontrol(n=37)	P
Yaş, ortalama $\pm$ SD	65.1 ± 13.9	58.0 ± 9.4	0.0064
Cinsiyet			
Erkek, (n),(%)	32 (%47.8)	17 (%45.9)	
Kadın, (n),(%)	35 (%52.2)	20 (%54.1)	
Hipertansiyon,(n),(%)	37 (%55.2)	20 (%54)	
Diabetes mellitus, (n),(%)	23 (%34.3)	5 (%13.5)	
Sigara, (n),(%)	16 (%23.8)	8 (%21.6)	
BMI(kg/m ²),ortalama $\pm$ SD	26.6 ± 4.3	29.3 ± 3.7	0.0021
Aile hikayesi (KAKH)(n),(%)	24 (%35.8)	8 (%21.6)	

Hasta grubunda 37 (%55.2) kişi hipertansiyon, 23 (%34.3) kişi diyabet hastasıydı ve 24 (%35.8) kişinin ailesinde kalp kapak hastalığı bulunuyordu. Kontrol grubunda ise 20 (%54) kişi hipertansiyon, 5 (%13.5) kişi diyabet hastasıydı ve 8 (%21.6) kişinin ailesinde kalp kapak hastalığı bulunuyordu. Sigara kullananlar ise hasta grubunda 16 (%23.8), kontrol grubunda 8 (%21.6) kişiden oluşuyordu. Hasta grubunda BMI ortalama 26.6 ± 4.3 ; kontrol grubunda ise BMI 29.3 ± 3.7 olarak bulundu. (Tablo 4.1

Şekil 11: Hasta grubunda kalp kapak hastalığı dağılımı



Hasta grubunda Aort darlığı olan 8 (%12) kişi, Aort yetmezliği olan 14 (%21) kişi, Mitral darlığı olan 3 (%4) kişi ve Mitral yetmezliği olan 42 (%63) kişi bulunuyordu (Şekil 11). Hasta grubu ekokardiyografik ölçüm bulguları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 4.2: Hasta grubu ekokardiyografik ölçüm bulguları

Parametre	Bulgular	Referans Aralığı
EF(%),(ortanca)(IQR)	55 (40 -65)	≥55
SVDSÇ,(mm) ortalama ± SD	52.6±8.5	50.8±3.6
SVSSÇ,(mm) ortalama ± SD	37.6±10	32.9±3.4
Aort velositesi, (m/sn) (ortanca) (IQR)	1.5(1.2-2.17)	0.7-1.6
Ao çapı,(cm)ortalama ± SD	3.15±0.46	2.5-2.9
LA çapı,(mm) ortalama ± SD	46.5±8.8	37.5±3.6
IVS,(cm) ortalama ± SD	1.20±0.25	0.6-0.9

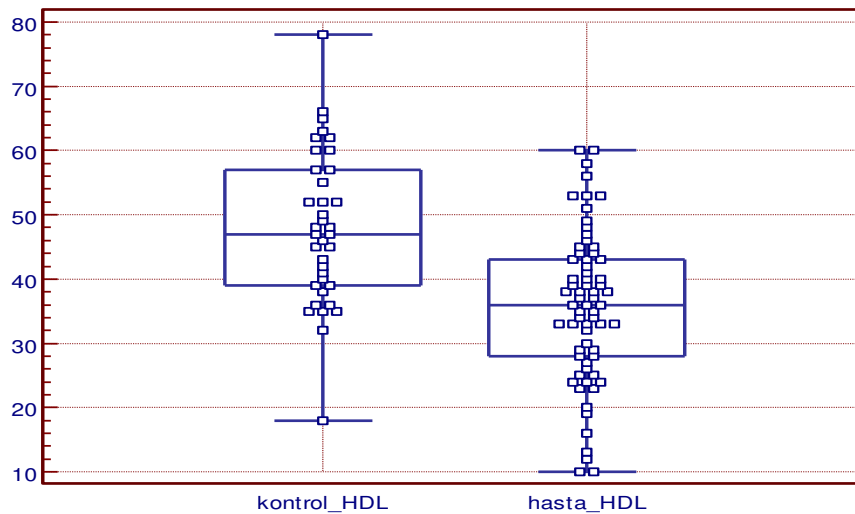
(EF: Ejeksiyon Fraksiyonu, SVDSÇ: Sol Ventrikül Diyastolsonu Çapı, SVSSÇ: Sol Ventrikül Sistolsonu Çapı, Ao çapı: Aort Çapı, LA çapı: Sol Atriyum, IVS: İnterventriküler Septum),(**Tablo 4.2**)

Tablo 4.3: Kalp kapak hastaları ve kontrol grubunda serum lipid parametreleri

Parametre (ortalama±SD)/ (ortanca)(IQR)	Hasta(n=67)	Kontrol(n=37)	P
TK (mg/dL)	175.1 ± 39.3	207.5 ± 50.5	0.0005
TG (mg/dL)	126.0 ± 61.3	147.4 ± 55.7	0.0808
HDL kolesterol(mg/dL)	35.7 ± 11.7	47.9 ± 11.8	<0.0001
LDL kolesterol (mg/dL)	114.1 ± 31.6	126.1 ± 37.2	0.0864
Non-HDL Kolesterol(mg/dL)	139.4 ± 35.5	159.5 ± 48.5	0.0171
Kreatinin(mg/dL)	0.8 (0.70 - 1.07)	0.7 (0.7 – 0.9)	0.0759

(TK: Total kolesterol, TG: Trigliserit, IQR: Interquartile range)

Hasta grubunda ortalama TK değeri 175.1 ± 39.3 mg/dL, kontrol grubunda ise 207.5 ± 50.5 mg/dL olarak tespit edildi. Ortalama HDL kolesterol değeri hasta grubunda 35.7 ± 11.7 mg/dL, kontrol grubunda 47.9 ± 11.8 mg/dL olarak bulundu. Non-HDL kolesterol düzeyi hasta grubunda ortalama 139.4 ± 35.5 mg/dL iken, kontrol grubunda 159.5 ± 48.5 mg/dL bulundu. Hasta grubunda TK, HDL kolesterol ve non-HDL kolesterol düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur (sırasıyla $p=0,0005$, $p<0.0001$, $p=0.0171$). Lipid parametreleri arasında özellikle HDL düzeyleri arasındaki fark oldukça anlamlıdır. Hasta ve kontrol gruplarının TG, LDL kolesterol ve Kreatinin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$) (Tablo 4.3).

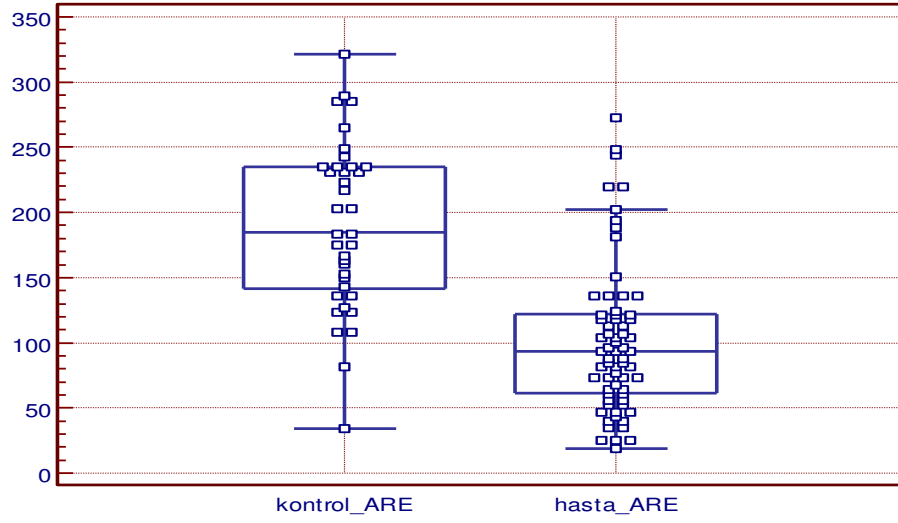
Şekil 12: Hasta ve kontrol grubu HDL düzeyleri

Tablo 4.4: Kalp kapak hastalarında ve kontrol grubunda serum oksidatif stres parametreleri.

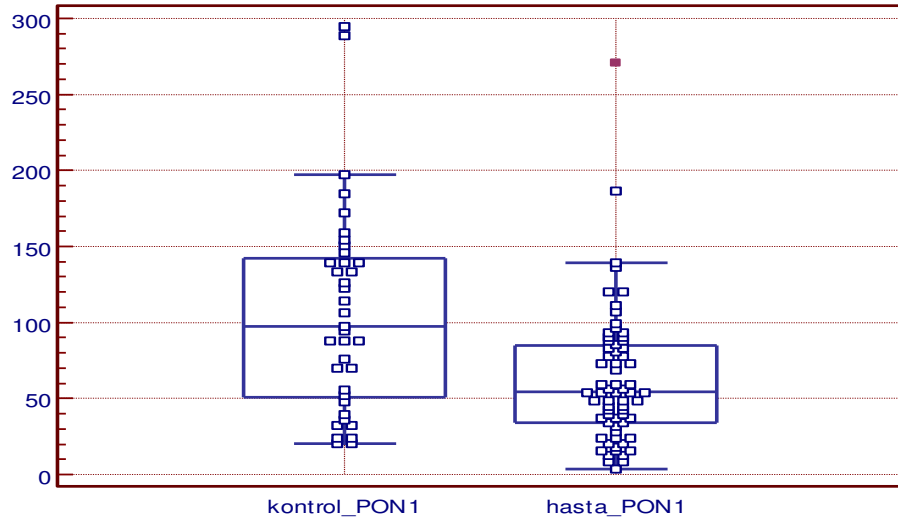
Parametre (ortalama $\pm$ SD)/ (ortanca)(IQR)	Hasta (n=67)	Kontrol (n=37)	P
PON1(U/L)	62.7 $\pm$ 44.5	107.2 $\pm$ 67.3	0.0001
ARE(kU/L)	101.2 $\pm$ 57.2	190.7 $\pm$ 64.1	<0.0001
TAS(μ mol Trolox Equiv/L)	1.31 $\pm$ 0.42	1.37 $\pm$ 0.25	0.4639
TOS(μ mol H ₂ O ₂ Equiv./L)	7.82 (5.58-17.23)	6.30 $\pm$ 2.80	0.0039
OSİ	629.6 (437.8-1379.7)	458.9 $\pm$ 204.2	<0.0001
PON1/ARE	0.6826 $\pm$ 0.38	0.5479 (0.2397-0.8423)	0.1549

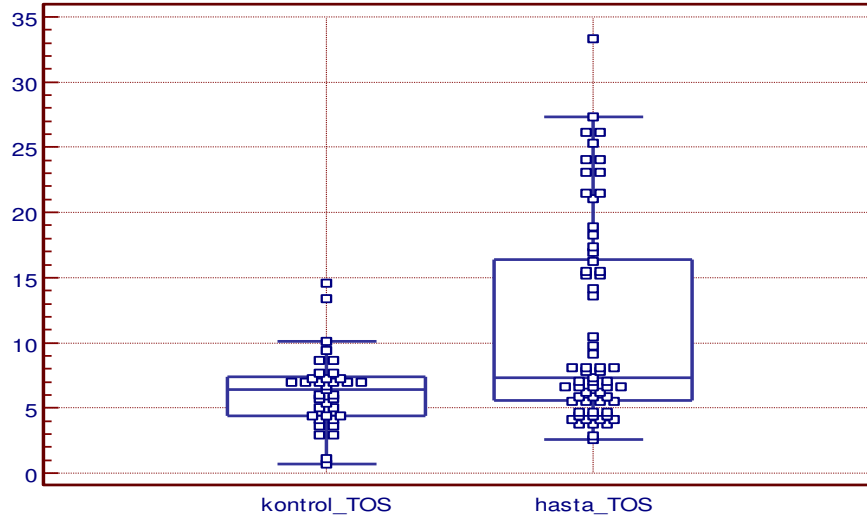
Hasta ve kontrol grubunda serum oksidatif stres parametreleri (**Tablo 4.4’ de**) görülmektedir. Hasta grubunda ortalama PON 1 değeri 62.7 $\pm$ 44.5 U/L, ARE değeri 101.2 $\pm$ 57.2 kU/L ve TOS değeri 7.82 (5.58-17.23) μ mol H₂O₂ Equiv./L olarak tespit edildi. Kontrol grubunda ortalama PON1 değeri 107.2 $\pm$ 67.3 U/L, ARE değeri 190.7 $\pm$ 64.1 kU/L, TOS değeri 6.30 $\pm$ 2.80 μ mol H₂O₂ Equiv./L olarak tespit edildi. Hasta grubunda ortalama PON1 ve ARE değerleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulundu (sırasıyla p=0.0001, p<0.0001). Özellikle hasta grubunda ARE düzeyi kontrol grubuna göre oldukça düşük bulunmuştur. Ortalama TOS düzeyleri hasta grubunda kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (p=0.0039). Hastalarda kontrol grubuna göre PON1/ARE oranında artış oldukça anlamlıdır (p=0.1549)

Şekil 13: Hasta ve kontrol grubu ARE düzeyleri

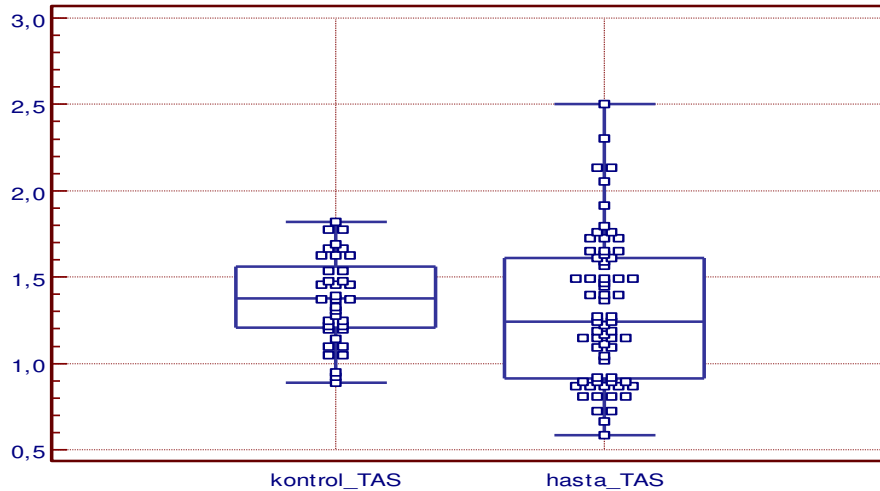


Şekil 14: Hasta ve kontrol grubu PON1 düzeyleri



Şekil 15: Hasta ve kontrol grubu TOS düzeyleri

(Grafiğin daha anlaşılabilir olması için iki, üç hasta TOS değeri (75.073- 79.195) çıkarılmıştır.) Ortalama TAS düzeyleri açısından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$), Grupların oksidatif stres indeksi (OSİ) değerleri de hesaplandı. Bu indeks TOS/TAS oranı göz önüne alınarak hesaplanan bir indekstir. Buna göre OSİ değeri hasta grubunda 629.6 (437.8-1379.7), kontrol grubunda ise 458.9 ± 204.2 olarak bulundu. Hastaların ortalama OSİ değeri kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek bulundu ($p<0.001$).

Şekil 16: Hasta ve kontrol grubu TAS düzeyleri

Hasta ve kontrol kadın grubunda serum oksidatif stres parametreleri (**Tablo 4.5'** de) gösterilmiştir. Hasta kadınların PON1 ve ARE düzeyi kontrol grubundaki kadınlara göre anlamlı derecede düşük bulundu.(sırasıyla $p=0.0124$, $p=0.0001$).

Ortalama TAS düzeyleri açısından hasta ve kontrol kadın grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$). Hasta kadınlarda ortalama HDL kolesterol değeri (37.3 ± 11.8 mg/dL), kontrol grubundaki kadınlara Hasta kadın TOS düzeyi [$8.32(5.72-21.63)$] kontrol kadın TOS düzeyine(5.99 ± 2.69) göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.0046$). Hasta kadın ortalama OSI değeri (1122.6 ± 977.9), kontrol kadın ortalama OSI değerine (460.3 ± 229.5) göre anlamlı derecede yüksek bulundu($p=0.0005$).

Tablo 4.5: Hasta ve kontrol kadın grubunda serum oksidatif stres parametreleri

Parametre (ortalama $\pm$ SD)	Hasta kadın (n=35)	Kontrol kadın (n=20)	P
PON1(U/L)	63.6 $\pm$ 51	114.7 $\pm$ 81.4	0.0124
ARE(kU/L)	103.9 $\pm$ 59.7	181.9 $\pm$ 69.6	0.0001
TAS(μ mol Troloks Equiv/L)	1.35 $\pm$ 0.44	1.31 $\pm$ 0.26	0.8337
TOS(μ molH ₂ O ₂ Equiv./L)	8.32(5.72- 21.63)	5.99 $\pm$ 2.69	0.0046
OSI	1122.6 $\pm$ 977.9	460.3 $\pm$ 229.5	0.0005
HDL	37.3 $\pm$ 11.8	52.4 $\pm$ 11	<0.0001

Hasta ve kontrol erkek grubunda serum oksidatif stres parametreleri (Tablo 4.6'da) gösterilmiştir. Hasta erkeklerin PON1 ve ARE düzeyi kontrol grubundaki erkeklere göre anlamlı derecede düşük bulundu.(sırasıyla $p=0.0107$, $p<0.0001$).

Hasta erkek ortalama TAS değeri (1.27 ± 0.40) kontrol erkek ortalama TAS değerine (1.43 ± 0.22) göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p= 0.0427$).

Ortalama TOS düzeyleri açısından hasta ve kontrol erkek grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$). Hasta erkek HDL kolesterol düzeyi (33.9 ± 11.6 mg/dL) kontrol erkek grubuna (42.70 ± 10.9 mg/dL) göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p=0.0153$). Erkeklerin ortalama HDL kolesterol değeri kadınlardan daha düşük bulunmuştur. Hasta erkek ortalama OSI değeri (806.5 ± 540.8), kontrol erkek ortalama OSI değerine (457.2 ± 176.7) göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.0132$), (**Tablo 4.5**).

TABLO 4.6: Hasta ve kontrol erkek grubunda serum oksidatif stres parametreleri.

Parametre (ortalama±SD)/ (ortanca)(IQR)	Hasta erkek (n=32)	Kontrol erkek (n=17)	P
PON1(U/L)	61.8±36,9	98.3±46.6	0.0107
ARE(kU/L)	98.3±55.2	201.2±57.3	<0.0001
TAS(μmol Trolox Equiv/L)	1.27±0.40	1.43±0.22	0.0427
TOS(μmolH ₂ O ₂ Equiv./L)	7.25(4.99-15.43)	6.68±2.97	0.2076
OSI	806.5±540.8	457.2±176.7	0.0132
HDL	33.9±11.6	42.70±10.9	0.0153

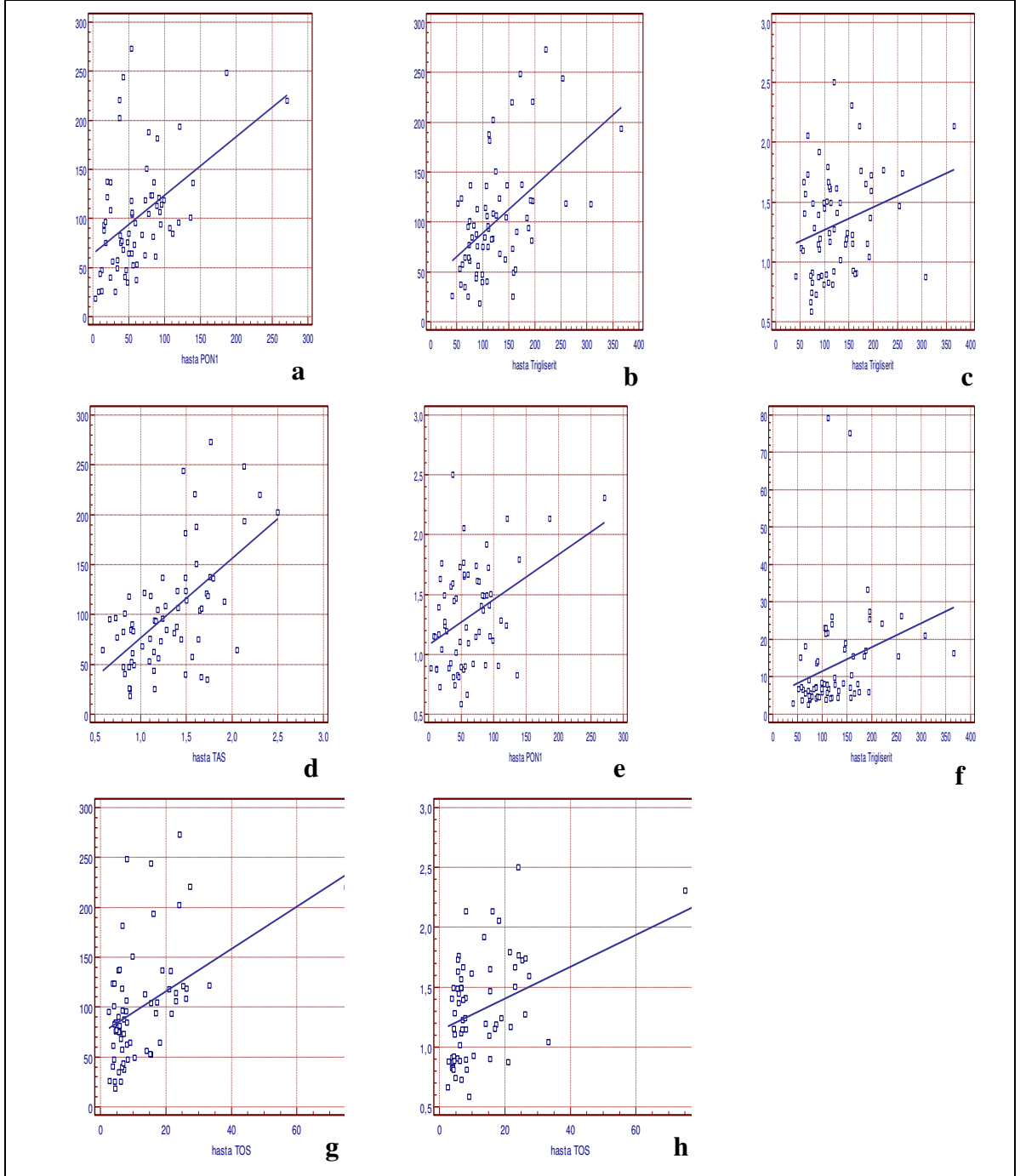
Erkek hastalarda; PON1 düzeyi ($61.8 \pm 36,9$) kontrol grubuna göre(98.3 ± 46.6) anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p=0.0107$). Erkek hastalarda ARE düzeyi (98.3 ± 55.2) kontrol grubuna göre (201.2 ± 57.3) düşük bulunmuştur ($p=<0.0001$). Hasta TAS düzeyleri ile (1.27 ± 0.40) ,kontrol grubu arasında (1.43 ± 0.22) anlamlı bir fark bulunamamıştır. Hasta TOS düzeyi 7.25 (4.99-15.43) kontrol grubuna göre (6.68 ± 2.97) düşük çıkmıştır ($p=0,2076$). Hasta OSI düzeyi ($806.5 \pm .8$), kontrol grubuna göre (457.2 ± 176.7) oldukça yükselmiştir ($p=0.0132$). Hasta HDL düzeyi (33.9 ± 11.6) kontrol grubuna göre (42.70 ± 10.9) düşüktür ($p=0.0153$),(**Tablo 4.6**).

TABLO 4.7: Hasta grubunda korelasyon analizi.

Parametreler	P
Hasta ARE - hasta PON1	$p= 0.0001$
Hasta ARE - hasta TAS	$p< 0.0001$
Hasta ARE - hasta TOS	$p= 0.0001$
Hasta ARE - hasta TG	$p< 0.0001$
Hasta TAS - hasta PON 1	$p= 0.0009$
Hasta TAS - hasta TOS	$p= 0.0001$
Hasta TAS - hasta TG	$p= 0.0245$
Hasta TAS- hasta HDL	$p= -0.0058$
Hasta TOS- hasta TG	$p= 0.0001$
Hasta ARE- LA çapı	$p= -0,0243$
Hasta TAS -EF	$p= -0.0494$

ARE ile PON1, TAS, TOS ve TG arasında; TAS ile PON1, TOS ve TG arasında; TOS ile TG arasında pozitif korelasyon bulundu (**Tablo 4.7**)

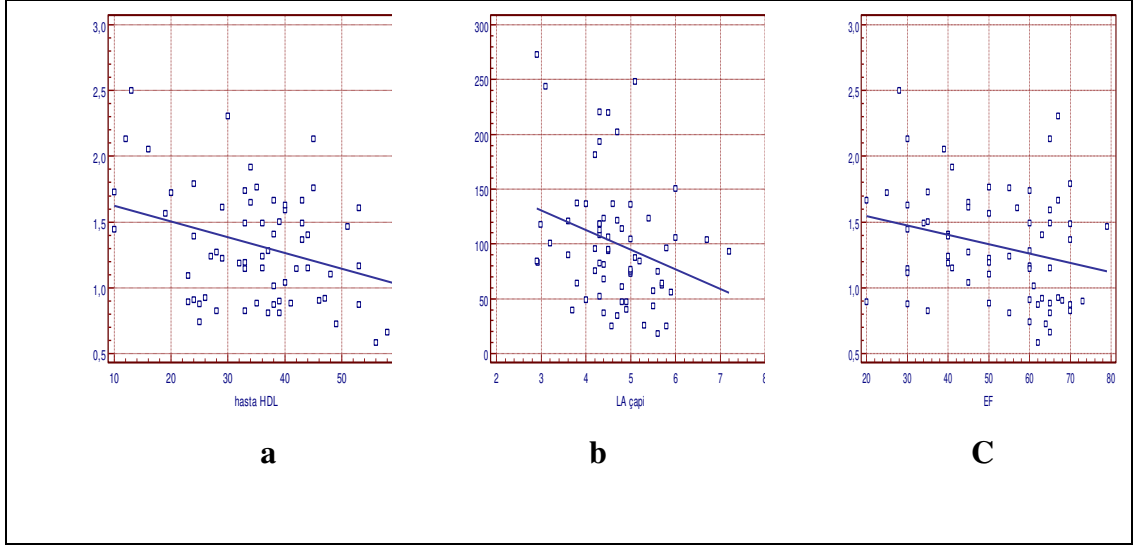
Şekil 17: Hasta grubunda pozitif korelasyonların grafiği



a)ARE ve PON 1 (r:0.4655, p:0.0001), **b)**ARE ve TG (r:0.5067, p<0.0001), **c)**TAS ve TG (r:0.2746, p:0.0245), **d)** ARE ve TAS (r: 0.5887, p<0.0001), **e)** TAS ve PON1

($r:0.3964$, $p:0.0009$), **f**) TOS ve TG ($\rho: 0.488$, $p:0.0001$), **g**) ARE ve TOS ($\rho:0.486$, $p:0.0001$), **h**)TAS ve TOS ($\rho:0.469$, $p:0.0001$).TAS ile HDL ve EF arasında; ARE ile LA çapı arasında negatif korelasyon saptandı (**Şekil 17**).

Şekil 18: Hasta grubunda negatif korelasyonların grafikleri



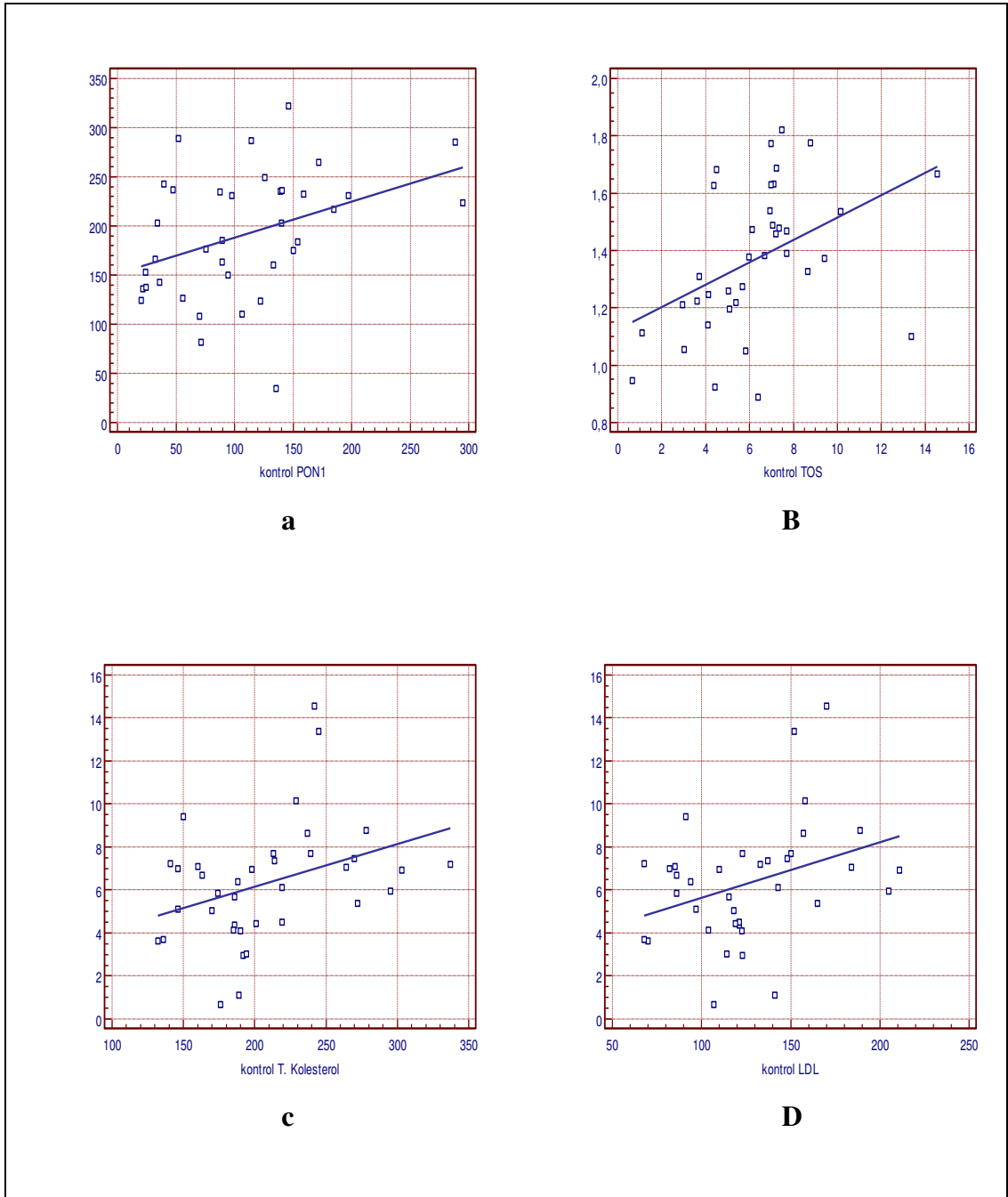
- a) TAS ve HDL ($r:-0,3336$, $p:0,0058$),
- b) ARE ve LA çapı ($r:-0,2791$, $p: 0,0243$),
- c) TAS ve EF ($\rho:-0.244$, $p:0,0494$).

Tablo 4.8: Kontrol grubu korelasyon analizi

Parametreler	P
Kontrol ARE- kontrol PON1	$p=0.0181$
Kontrol TAS- kontrol TOS	$p=0.0067$
Kontrol TOS- kontrol TK	$p=0.0308$
Kontrol TOS- kontrol LDL	$p=0.0390$

Kontrol grubundaki korelasyon analizi sonuçları **Tablo 4.8**'de gösterilmiştir. Kontrol grubunda ARE ile PON1; TAS ile TOS; TOS ile TK ve LDL kolesterol arasında pozitif korelasyon bulundu (**Şekil: 19**).

Şekil 19: Kontrol grubunda pozitif korelasyon grafikleri



a) ARE ve PON1(r:0.3866, p:0.0181),

b) TAS ve TOS (r:0.4378, p:0.0067),

c) TOS ve TK (r:0.3556, p:0.0308),

d) TOS ve LDL (r:0.3408, p:0.0390).

5. TARTIŞMA:

Günümüzde yüzden fazla hastalık serbest oksijen radikaller ile ilişkilendirilmektedir. Bu sebeple biz de çalışmamızda çeşitli kalp kapağı hastalığı olan kişilerde serum oksidatif stres belirteçleri (PON1, ARE, TAS, TOS ve OSİ) gibi yeni oksidatif stres parametrelerini ölçtük ve sağlıklı kontrol grubu kişiler ile kıyasladık. Özellikle PON1 ve ARE da eklediğimiz bu çalışmada önceden bu şekilde yapılmış başka bir çalışma ile karşılaşmadık.

Fakat literatürde bu çalışmamıza benzer çalışmalar mevcuttur. Bizim çalışmamıza en çok benzeyen **Murat R.** ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışma bulunmaktadır. Hasta grubu olarak romatizmal ve dejeneratif kalp kapak hastaları alınmıştır. Oksidan ve antioksidan seviye ölçümü plazmada ve kalp kapak dokusunda yapılmıştır (109). Bu çalışma sonucunda bizim bulgularımız ile uyumlu plazma oksidan ve antioksidan değerleri bulunmuştur.

Murat R. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sadece TAS TOS ve OSI ölçümü yapılmış olup bizim çalışmamızda yer alan serum PON1 ve ARE ölçümü yapılmamıştır (109).

Yine bu çalışmada kapak replasmanı yapılmış romatizmal ve dejeneratif kapak hastaları arasında değerlendirme yapılmış olup, kontrol grubu bulunmadığı için elde edilen veriler sadece iki farklı etyolojiye sahip kapak hastaları göstermektedir. Bizim çalışmamızda ise PON1 ve özellikle ARE enzim aktivitesi tüm kapak hastalarında çok anlamlı bir düşüş göstermiştir ve adeta kapak hastalığı için bir belirteç izlenimi vermektedir.

Hem **Murat R.** ve arkadaşlarının hem de bizim bulgularımız kalp kapak hastalarında oksidatif stresin etken olduğunu göstermektedir. Her ne kadar oksidatif stresin KAKH rolü bilinse de bu konuda henüz yeterince bilgi birikimi oluşmamış ve birçok soru cevapsız olup yeni çalışmalara ihtiyaç göstermektedir. Oluşan oksidatif stresin kalp kapağı üzerine olan muhtemel etkilerini literatür ışığında izahı;

Arterler de, kalp kapakları da endotel intima tabakası ve konnektif bağ dokusundan meydana gelir. Bu yapısal benzerlik ile ortak hastalıkların gelişimine zemin hazırlanır şeklinde olabilir.

Literatürde oksidatif stresin kapak üzerine olan olumsuz etkisinin, kalp kapağı hasarı ile kapak fibrozu oluşumda açığa çıkan immünoinflamatuvar süreç olduğu bilinmektedir. Bu aktif patobiyolojik süreçte kapak dejenerasyonu; kronik

inflamasyona, okside lipoprotein birikimine, aktif kalsifikasyona ve renin-anjiotesin sistemindeki bozukluklara bağılı gelişir.

Bizim çalışmamızda ve **Murat R.** ve arkadaşlarının kullandığı TAS, TOS ve OSI ölçümü kişinin redoks balansını, yani oksidasyon ve antioksidan dengesini göstermesi açısından çok önemlidir. Bizim bulgularımıza göre de KAKH'da bu denge bozulmuştur. Örneğin; Çalışma grubumuzda yer alan KAKH'da OSI indeksi kontrol grubundan %37 daha artmıştır ve bu istatistiksel olarak oldukça anlamlı bir artıştır ($p<0.0132$). Gerçekten de bizim hasta grubumuzda kontrollerde oldukça yüksek oranda bir TOS artışı görülmektedir ($p<0.0039$). Hastalarımızda artmış TOS miktarının osteojenik mekanizmaları tetiklediğini düşünmek mümkündür. Kapak endotel tabakasındaki kalsifikasyonu tetiklediği düşünülebilir.

Chiu-Braga ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma ile çalışmamız arasında da benzerlikler mevcuttur. Bu çalışmada romatizmal kapak hastalarında oksidatif stresi ölçülmüş ve ileri protein oksidasyon ürünlerine bakılmıştır (110). Bu çalışma bizim çalışmamıza diğer çalışmadan daha benzerdir. Çünkü bu çalışma da kontrol grubu bulunmaktadır. Chiu-Braga ve arkadaşları sonuçta oksidasyon ürünlerini KAKH bulunan grupta, kontrol grubuna göre anlamlı oranda yüksek bulmuşlardır. Fakat bu oksidasyon ürün artışını kapak hastalığının şiddeti ile ilişkili bulmamışlardır (110). Buna karşın çalışmamızda kalp eko-kardiyografik ölçümleri ile sol artrum çapı ve ARE arasında anlamlı bir korelasyon bulunması ise dikkate değerdir ($p=0.0243$).

Kapak endotelial disfonksiyonu kapak dejenerasyonun ortaya çıkışında kilit noktadır ve pro-inflamasyon, adhezyon, reseptörlerindeki ekspresyon artışı ile karakterizedir. Bu etki özellikle aort kapağı üzerinde akış yönü farklılığına bağılı daha fazla görülmektedir. Kan akımındaki bozulmalar kapak endotelinde hasara yol açabilmektedir. Bu konuda yaptıkları bir çalışmada **Jo H** ve arkadaşları hemodinamik akım farklılıklarının kapak ve damar endotelinde inflamasyon süreçlerini tetiklediğini göstermişlerdir (111).

Bir diğer çalışmada **Brooke C.** ve arkadaşları kalp yetmezliği olan aort stenozlu hayvan deneylerinde oksidatif stres artışını göstermişlerdir. Bu çalışmada matriks metalloproteinazı ve oksidan stres artmış ve antioksidan kapasite de azalmıştır. Bizim çalışmamız TOS ve OSI artışı ile bu çalışmayla benzer sonuçlara sahipken, TAS' de anlamlı bir değişiklik olmaması dikkat çekmektedir ($p<0,4639$).

Brooke C. ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışma sonuçları esas olarak kalp endoteline aşırı yüklenmenin kalp dokusundaki kollajen yapısını bozduğu temelindedir (112). Buna göre kalp içi basınç artışı temel olarak üç mekanizma ile hasar oluşturmaktadır; Artmış basınç nedeniyle oluşan doku hasarı, mekanik deformasyon, gerilmeye karşı gelişen hücresel cevap ve artmış arterial oksidatif stres. Bu etkenler ile özellikle Fosfokeatinkinaz (PKC) bağımlı NADPH oksidaz aktivitesinde direkt artış dikkat görülmektedir. Ayrıca antioksidan sistem de değişikliğe uğramaktadır azalmakta, orta düzeyde oksidatif stres ile antioksidan protein üretimi baskılanabilmektedir (113,114). Bu çalışma antioksidan seviyenin azaldığını izah etmekle birlikte bizim çalışmamızdaki değişmemiş TAS düzeyini açıklayamamıştır. Çalışmamız değişmemiş TAS düzeyini, artmış TOS ve OSI düzeylerinde farklı netkenlerin de bulunabileceğini düşündürmektedir.

Donald D. Heistad yazmış olduğu makalede oksidatif stresin vasküler hastalıklardaki rolünü açıklamaktadır. LDL'nin oksidasyonu aslında tüm kardiovasküler hastalıkların patogeneğinde rol almaktadır fakat kapak hastalıklarındaki rolü daha az bilinmektedir.

Ayrıca, oksidatif stres endotelial disfonksiyona yol açmaktadır ki, daha önce de bahsettiğimiz gibi kapak hastalıklarında bu mekanizma muhtemelen daha çok rol almaktadır ve süperoksit radikali (O_2^-), nitrik oksit (NO) inaktivasyonu ve bu yol ile endotel disfonksiyonuna neden olabilmektedir (115).

Phillippi J.A ve arkadaşları yapmış oldukları bir çalışmada biküspit aort kapağında oksidatif strese bağlı olarak tip I kollajen ekspresyonunda artış tespit etmişlerdir. Bu duruma neden olarak reaktif oksijen türlerinin düz kas hücrelerindeki dengesizliğe yol açmasını öne sürmüşlerdir (116).

Matsumoto Y. ve arkadaşlarını yapmış oldukları bir çalışmada ise düzenli yapılan egzersizin oksidatif stresi azalttığı bu sayede dejeneratif aort kapak hastalarında düzelmeler sağlanabildiğini göstermişlerdir. İlginç olan, bu çalışmada aynı zamanda azalan oksidatif strese bağlı olarak NO yanı sıra inflamasyonun da azaldığı ve kapak hastalıklarında anahtar rol oynayan osteojenik aktivitenin azaldığı gösterilmiştir (117). Endotel disfonksiyonunda NO ve prostasiklinin endotel üzerindeki etki ven kontrolünün kaybolması önemli rol oynamaktadır. Bu iki molekül aynı zamanda damardaki inflamatuvar aktivitenin çok önemli iki düzenleyicisidir.

Anatomik olarak keşfedildiği 19. yüzyıldan, 1980'li endotele bağımlı vazoreaktivitenin tanımlandığı zamana kadar endotel, su ve küçük moleküllerin değişimini sağlayan ve damar duvarının iç yüzeyini döşeyen basit bir bariyer olarak düşünülürdü. Oysa endotel tek katlı basit yapısına rağmen dolaşan kan ve dokular arasında metabolik ve düzenleyici olaylarda rol alan, sentez fonksiyonu olan, sentezlediği moleküllerle vücut homeostazının sürdürülmesine katkıda bulunan önemli bir organdır.

Jordan D. M ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada aort stenozu olan hastalarda kalp kapak dokusunda ilk defa oksidatif stresin artışı gösterilmiştir. Bu çalışmanın bizim çalışmamızdan temel farkı oksidatif stres ölçümünde **Jordan D. M** ve arkadaşları kapak dokusunda süperoksit ve hidrojen peroksit düzeylerini ölçmüşler ve antioksidan enzim aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Sonuçta stenotik kapaklarda süperoksit düzeyini normal kapaktan iki kat fazla bulmuşlardır. Özellikle kalsifiye kapak dokusunda nitrojen peroksit artışı tespit edilmiştir. Aksine NADPH oksidaz ve NOS aktiviteleri pek değişiklik göstermemiştir. Bu bakımdan önceden söz edilen diğer çalışma ile uyum göstermemektedir. Antioksidan enzim sisteminde ise azalma tespit etmişlerdir.

Jordan D. M ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışma bizim bulgularımız ile oldukça uyumlu olup temel nitelikleri ile desteklemektedir. Pek çok mediyatörün kaynağı olan endotelin salgıladığı mediyatörler ve fonksiyonları aşağıda sıralanmıştır;

- a) Antiplatelet: Prostatiklin, nitrik oksit (NO), ekto ADPaz
- b) Antikoagulan: Heparin benzeri proteoglikan, trombomodulin
- c) Profibrinolitik: tPA (doku plazminojen aktivatörü), ürokinaz
- d) Antifibrinolitik: PAI-1 (Plazminojen aktivatör inhibitörü)
- e) Vasküler tonusun düzenlenmesi: prostatiklin, NO, EDHF (endotel kökenli hiperpolarize edici faktör), ACE (anjiotensin dönüştürücü enzim), endotelin
- f) Düz kas hücre büyümesinin kontrolü: heparin benzeri moleküller, NO, TGF α (transforme edici büyüme faktörü α), platelet kökenli büyüme faktörü
- g) Selektif geçirgen bariyer özelliği: Endositik reseptörler, hücre yüzeyi glikokaliksi
- h) İnflamasyon ve hücre adezyonu: selektinler, ICAM-1 (interselüler adezyon molekülü),

ı)VCAM-1 (vasküler hücre adezyon molekülü), MCP-1 (monosit kemoatraktan protein), IL-8 (interlökin-8) (118).

Antioksidan sistemler normalde bir bütünlük içinde çalışarak, hücreyi serbest oksijen radikallerinin toksik hasarına karşı korumaktadırlar. Bunu, organizmadaki oksidan ve antioksidan sistemleri denge halinde tutarak sağlamaktadırlar. Normalde bir antioksidandaki azalma diğerindeki artma ile kompanse edilebilmektedir.

Bu dengenin pro-oksidanlar ve oksidanlar lehine bozulduğu durumlarda, lökositler tarafından enflamatuar mediatörler ve serbest oksijen radikalleri üretilmektedir. Bunlarda hücre membranlarında lipid peroksidasyonu oluşturarak hücre hasarına ve hastalıkların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu nedenle, özellikle eritrositlerde olmak üzere, hücre membranları serbest oksijen radikallerine karşı çok hassastır.

Mehrabia M.R ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada koroner arter hastalarının ve kalp yetmezliği gelişen hastaların taze çıkarılmış kapak dokularında artmış okside-LDL varlığını göstermişler. Bu artış özellikle pulmoner kapakta aort kapağından daha çok bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda oksidatif stres belirteçlerinin koroner arter hastalarında bakılmasının kapak tutulumu açısından değerli olabileceğini söylemişlerdir (119). Bu çalışma bulguları bizim çalışmamızın sonuçları ile bire bir örtüşmekte olup çalışmamızı desteklemektedir. Bizim çalışmamızda HDL yapısında yer alan PON1 enziminin iki farklı substratı kullanılarak hem PON1 aktivitesini hem de ARE aktivitesini ölçülmüştür. Bu iki enzimde antioksidan etkiye sahip enzimler olup, LDL'nin oksidasyonunu engellemektedir. Kapak hastalarında bu enzim aktivitelerinde bulmuş olduğumuz aşırı azalma **Mehrabia** ve arkadaşlarının bulgularını da açıklamaya yeterli olabilir. Bizim hasta grubumuzda ölçmüş olduğumuz ARE enziminin değeri kontrol grubundan neredeyse iki kat daha az idi ($p<0.0001$). İstatistiki açıdan son derece anlamlı ARE ve PON 1 aktivite azalışı, HDL nin disfonksiyone olarak LDL oksidasyonunu engellemekte zorlandığını bunu sonucunda da daha önce bahsetmiş olduğumuz gibi bir dizi oksidasyon reaksiyonu sonucu kalp kapak hasarı oluştuğunu ve osteojenik aktiviteye bağlı kalsifikasyon gelişebileceğini göstermektedir.

PON1 gen polimorfizmi varyasyonun %25'ini oluşturur. %75 ise diğer faktörler tarafından sağlanır (118). HDL, PON1 için serum vektörüdür. Serum konsantrasyonunun önemli bir göstergesidir. HDL eksikliği olan durumlarda PON1

konsantrasyonu da düşmektedir. PON1 trigliseridden zengin HDL2 partiküllerinde gösterilmiştir. PON1'in büyük kısmı Apo A1 içeren HDL ile birlikte. Aynı zamanda, HDL'nin Apo J ve Clusterin ile ilişkili PON1 içeren bir alt grubu daha vardır. PON1'in büyük ebattaki HDL'ye bağlanma eğilimi diabet gibi HDL'nin azaldığı hastalıklardaki değişimini açıklayabilir. Bizim çalışma grubumuzda yer alan hastalarda HDL miktarı kontrollere göre oldukça düşüktü bu nedenle PON1 enzim aktivitesinde bir azalma beklenebilir bir bulgudur.

Lloyd S.G ve arkadaşlarının bizim çalışma grubunuzda en çok yer alan mitral yetmezlikli hastalarda yapmış oldukları bir çalışmada artan oksidatif stresi kardiomyositlerdeki miyofibriller yapılarında dejenerasyona yol açtığı göstermiş ve yetmezliğin artışından sorumlu tutmuşlardır (120).

Kalp kapakları etrafında başlıca ekstrasellüler matriks yer alır ve bunun etrafını endotel hücreleri çevrelemiştir. Aralarda az sayıda fibroblastlar ve düz kas hücreleri yer almaktadır. Bu düz kas hücreleri, hücreler arası bağlantıyı sağlar ve bunun içinde aktin filamentlerini kullanır. Okside LDL proatherojenik etki ile makrofajların adhezyon moleküllerinin sitokinlerin, tip1 plazminojen aktivatör ve trombositleri ve growth faktörü yolu ile bu düz kas hücrelerine bağlanır. Okside LDL aynı aterosklerozda olduğu gibi proteinlerin modifikasyonuna neden olur. Makroskopik olarak yaşlanmayla birlikte kapaklar diffüz olarak kalınlaşır. Endotelde bozulma, endotel altı bölgede hücre içi ve hücreler arası lipid birikimi ve makrofaj infiltrasyonu gözlenir. Endotele komşu fibroza tabakasında kalınlaşma protein, lipid ve kalsiyum birikimi vardır. Hasarlı bölgeden plazma lipoproteinleri endotel altı bölgeye infiltre olur. Okside LDL gelişmesiyle bölgeye makrofaj göçü başlar ve bunlar köpük hücrelerine dönüşürler. Okside LDL ayrıca fibroblastlardan kalsifikasyonun başlaması için çekirdek oluşturacak maddelerin de salgılanmasını uyarır. Makrofajlar ile birlikte infiltrasyon bölgesine gelen T-lenfositlerinin salgıladığı β -transforming growth faktör, ekstrasellüler matriks sentezini tetikler. Bu maddenin uyarısı ile osteoblast benzeri hücreler oluşur ve osteopontin, osteonektin sentezi başlar. Osteopontin kemikleşmede rol oynayan bir proteindir. Kalsifiye aort kapaklarında lameller kemik oluşumu ve fibroblastları osteoblastlara çevirme gücü olan gen ekspresyonları gösterilmiştir (120).

Jian-Su Shao ve arkadaşları yapmış oldukları bir çalışmada kapak kalsifikasyonu oluşum mekanizmasını araştırmışlardır. Yaş ile artan bu pasif süreç

özellikle dismetabolik kişilerde karşımıza çıkmaktadır. İlginç bir şekilde kalsifikasyon mekanizması kemik mineralizasyonuna benzetilemektedir ve osteoblast, kondrosit ve osteoklast benzeri hücre tipleri rol almaktadır. Kemik morfojenik protein (BMP-2) ve (BMP-4) kapak miyofibroblastlarında osteojenik aktiviteye neden olabilmektedir. Bu işlemi tetikleyen başlıca etken okside lipid bağlanmasının yanı sıra diabet, dislipidemi ve üremidir (121) ve iskelet sistemini taklit eden bu epiteliyal-mezenşimal etkileşim kemikleşmeyi sağlamaktadır. Bu kalsifikasyon sürecinde başlıca stimülüs inflamasyon, oksidatif stres, hiperfosfatemidir (121).

C. Gorman ve arkadaşları bir metal bağlayıcı olan metallothionein miktarının bozulduğunu ve özellikle düz kas hücrelerinde bu mettalloproteinaz aktivitesi bozulmasının kapak hastalıklarında rol aldığını göstermişlerdir (122).

David H. Edwards ve arkadaşları bize bu kalsifikasyon sürecinde oksidatif stresin rolünü gösteren önemli bir çalışma yapmışlardır. Sonuçta H_2O_2 endotel tabakasında relaksasyon yaparak depolanmış olan kalsiyumun ortama salınmasına neden olduğunu göstermiş, bunu yapabilmesi için H_2O_2 'in reseptörlerde redoks yolu ile modifikasyon yaptığını ve endoteliyal kalsiyum kanallarını açtığını ve gevşettiğini göstermişlerdir (123). Bu bulgular diğer araştırmacıların bulgularını destekler. Ayrıca, bizim hasta grubumuzda artan redoks potansiyelinin de benzer mekanizma ile kapak kalsifikasyonuna katkı yapması beklenebilir.

Genel olarak endotel disfonksiyonu üzerine yapılan çalışmalar ateroskleroza konu edinse de endotel disfonksiyonunu sadece aterosklerozun bir erken belirtisi olarak düşünmek doğru olmaz. Sağlıklı endotel kardiyovasküler kontrolde merkezi bir roldedir. Bu yüzden aterosklerozun yanında sistemik ve pulmoner hipertansiyon, kardiyomyopatiler, vaskülitler gibi birçok hastalığın patogenezinde rol oynar.

Dikkat çekici ayrı bir durum da söz konusudur ki kolesterolün indüklediği endotel disfonksiyonunun sadece LDL konsantrasyonuna bağlı olmayıp, esas olarak LDL oksidasyonu ile ilgili olduğu düşüncesidir. Yaptığımız çalışma bunu desteklemektedir. Hasta grubumuzun total kolesterol değeri kontrol grubundan düşüktür, fakat muhtemelen okside LDL miktarı kontrol grubundan daha fazladır.

Keaney J.F ve arkadaşlarının yaptığı hayvan deneylerinde probukol ve antioksidan vitamin tedavisinin LDL kolesteroldeki azalmanın ötesinde endotel fonksiyonlarında düzelmeye neden olduğu gösterilmiştir (124).

Saha N. ve arkadaşları paraoksonaz aktivitesini HDL ve TG miktarına bağlamışlardır. Sonuç olarak HDL seviyesinin PON1 protein seviyesini belirlediğini buna karşın paraoksonaz genotipinin aktivite üzerine etkisi olduğunu ileri sürmüşlerdir (125). Bizim çalışmamızın bir eksiği de genotipik çalışma yapılmamış olmasıdır.

Bizim çalışma grubumuzun yaşı 65 olup PON aktivitesinin yaş ile azaldığı ve aort kapak kalsifikasyonun yaş ile arttığını iyi bilmekteyiz(126).Yine ROS türevlerinin yaş ile artışı ve SOD ve katalaz gibi enzimlerin yaş ile azalışı birçok araştırmada gösterilmiştir (127).

Niao Sung Hsiang ve arkadaşları benzer şekilde oksidatif stresin mitral yetmezlikli hastalarda arttığını göstermişlerdir ve bizim çalışmamız ile uyumlu bir bulgudur (128).

Dwight A. Towler makalesinde bu durumu açıklamakta ayrıca NOS enzimindeki bozulmaya da dikkat çekmektedir (129).

Jordan D. Miller ve arkadaşları yapmış oldukları araştırmada hiperkolesterolemik kişilerde uygulanacak lipid düşürücü tedavinin oksidatif stresi azalttığını iddia etmişlerdir. Fakat bu etkinin sınırlı olabildiğini söylemektedirler (130).

K. A. Hueyl ve arkadaşları ise vitamin-E tedavisinin interlökinleri azaltarak oksidatif stresi azalttığını bu yol ile oksidatif hasarın önlenebileceğini göstermişlerdir (131).

Beckmann E. ve arkadaşları yazmış oldukları makalelerinde kalsifik aort kapak hastalığında biyomarker olarak kullanılabilecek molekülleri yazmışlardır (132). Bu moleküller arasında 5.2 milyon Amerika'lıyı hasta eden kalp kapak hastalıklarının tanı progresyonunu ve prognozunu gösterebilecek bir biyomarkerin mevcut olmadığını bu konuda çok az bilgi birikimi olduğunu yazmıştır (132). Kullanılabilecek biyomarkerlar arasında asimetrik dimetil arjinin, homosisteine, doku plasminojen aktivatör, leptin, C-reaktif protein, fetuin A, kalsiyum fosfor ürünleri ve natriüretik dipeptidler sayılmakta bu biyomarkerlerin progresyon ve prognoz ile ilişkisi tartışılmaktadır (132). Bizim çalışmamızda yer alan biyomarkerlar arasında özellikle serum ARE düzeyi ve TOS miktarı da kalp kapak hastalıkları için bir biyomarker olabilme adına bir potansiyele sahip gözükmektedir.

Bu çalışma sonucunda elde edilen bulgular kalp kapağı hasarının oluşum sürecinde oksidatif stresin çok önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Çalışmaya dâhil edilen hastaların TOS değerleri çok anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0,0039$).

Çağrıcı G ve arkadaşları tarafından yapılmış olan bir çalışma dikkat çekicidir. Bu çalışmada sadece PON1 enzim aktivitesine bakılmış ve aort stenozu olan kişilerde stenoz şiddetine bağlı olarak PON1 aktivitesi düşük bulunmuştur (133). Fakat bu çalışmada aort stenoz'lu hastaları kendi içerisinde kıyaslanmış olup sağlıklı kontrol grubu yoktur. Dolayısıyla bizim çalışmamızdan farklıdır. Yaptığımız araştırmalaa göre literatürde çalışmamıza özdeş olabilecek başka bir ARE PON1 aktivitesi ile birlikte TAS, TOS ve OSI ölçümü gözlemleyemedik. Çalışmamız bu açıdan öncül bir araştırma olup daha geniş sayıda yapılacak araştırmalara kaynak teşkil edebilecek gibi görünmektedir. Ayrıca Kalp kapak hastalıklarının tedavisinde antioksidan sistemlerin kullanılması veya PON 1 enzim aktivitesinin artırılması gibi yeni olanaklara da dayanak oluşturabilecektir.

6. SONUÇ:

Ülkemizde ve dünyada yaygın olarak görülen kalp kapak hastalıklarında serum arilesteraz (ARE) aktivitesindeki çok anlamlı azalış bizi kapak hastalıklarının gelişimi temel mekanizmasında ARE aktivitesinin önemli bir rolü olabileceğini düşündürmeye yöneltmiştir. Ayrıca literatürde yer alan az sayıdaki çalışma bulgularına benzer olarak oksidatif stresin artışını tespit etmemiz bu iki mekanizmanın birlikte bozulduğunu göstermektedir. KAHK'larında teşhis, takip ve tedavi amaçlı gelecek çalışmalara faydalı olması açısından önem taşıyan bu çalışma, yapılacak diğer araştırmalara da kaynak olabilecektir.

7. KAYNAKLAR:

1. Peterson MD, Roach RM, Edwards JE, et al. Types of aortic stenosis surgically removed valves. *Arch Pathol Lab Med* 1985; 109;829.
2. Davies MJ, Trespure T, Parker DJ, Demographic characteristic of patients undergoing aortic valve replacement for stenosis. Relations to valve morphology. *Heart* 1996;75:174.
3. Olson LJ, Subramanian R, Ackerman DM, et al. Surgery pathology of mitral valve: a study of 712 cases spanning 21 years. *Mayo Clin Proc* 1987; 62:22.
4. Dare AJ, Harrity PJ, Tazelaar HD, et al. Evaluation of surgically excised mitral valves: revised recommendations based on changing operative producers in the 1990s. *Hum Pathol* 1993;24,1286.
5. Grigioni F, Enriquez-Sarano M, Ling LH, et al. Sudden death in mitral regurgitation due to flail leaflet. *J Am Coll Cardiol* 1999;34,2086–7.
6. Ormiston JA, Shah PM, Tei C et al. Size and motion of the mitral annulus in man. A two dimensional echocardiographic method and findings in normal subjects. *Circulation* 1981; 64: 113-120.
7. Anderson RH, Brown NA. The anatomy of the heart revisited. *Anat Rec* 1996 246: 1-7.
8. Anderson RH, Wilcox BR. Understanding cardiac anatomy: the prerequisite for optimal cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 1995; 59: 1366-1375.
9. Sakai T, Okita Y, Ueda Y, et al: Distance between mitral annulus and papillary muscles: anatomic study in normal human hearts. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999; 118: 636.
10. Anderson RH, Wilcox BR: The anatomy of the mitral valve, in Wells FC, Shapiro LM (eds): *Mitral Valve Disease*. Oxford, England, Butterworth-Heinemann, 1996; p 4.
11. Buckberg GD. Basic science review: The helix and the heart. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002;124: 863-883.
12. Edwards WD. *Anatomy of the Cardiovascular System: Clinical Medicine*, Vol. Philadelphia: Harper & Raw; 1984; 1-24.

13. Edwards WD, Giuliani ER, Fuster V, Gersh BJ, Applied Anatomy of the Heart. In: eds. Cardiology Fundamentals and Practice, 2nd ed: Vol 1. St. Louis: Mosby-Year Book; 1991; 47-112.
14. Stewart W. Intraoperative echocardiography. In: Topol EJ, ed. Textbook of Cardiovascular Medicine. Philadelphia: Lippincott-raven; 1998; 1497-1525.
15. Seward J, Freeman W, Seward J, Khandheria B, Tajik AJ, eds. Transesophageal echocardiographic anatomy. Boston: Little Brown; 1994; 55-101.
16. LV, left ventricular. Modified from schoen FJ: Surgical pathology of removed natural and prosthetic valves. Hum Pathol 1987; 18: 558.
17. V Toumanidis ST, Sideris DA, Papamichael CM, et al: The role of mitral annulus motion in left ventricular function. Acta Cardiol 1992; 47: 331.
18. Roberts WC. Morphologic aspects of cardiac valve dysfunction. Am Heart J 1992; 123: 1610.
19. Braunwald E, Heart Disease 5th ed. Philadelphia / Pennsylvania 1997; 1555.
20. C Dalen JE and Alpert JS (eds): Valvular Heart Disease, 1986; 600.
21. Choi BW, Bacharach SL, Barbour DJ. Left ventricular systolic dysfunction: Diastolic filling characteristics and exercise cardiac reserve in mitral stenosis. Am J Cardiol 1995; 75: 526.
22. Diker E, Aydoğdu S, Özdemir M. Prevalence and predictors of atrial fibrillation in rheumatic valvular heart disease. Am J Cardiol 1996; 77: 96.
23. Thompson ME, Shaver CA, Leon DF. Effect of tachycardia on atrial transport in mitral stenosis. Am Heart J 1977; 94: 297.
24. Statt DK, Marpole DGF, Bristow JD. The role of atrial transport in aortic and mitral stenosis. Circulation 1970; 41: 1031.
25. Lamas GA, Mitchell GF, Flaker GC, Smith SC, Jr., Gersh BJ, Basta L, Moye L, Braunwald E, Pfeffer MA. Clinical significance of mitral regurgitation after acute myocardial infarction. Survival and Ventricular Enlargement Investigators. Circulation 1997; 96: 827-833.
26. David TE. Techniques and results of mitral valve repair for ischemic mitral regurgitation 55. J. Card. Surg. 1994; 9: 274-277.

27. Dion R, Benetis R, Elias B, Guennaoui T, Raphael D, Van Dyck M, Noirhomme P, Van Overschelde JL. Mitral valve procedures in ischemic regurgitation 42. *J Heart Valve Dis.* 4 Suppl 1995; 2: S124-S129.
28. Ehrie M, Morgan AP, Moore FD, O'Connor NE. Endocarditis with the indwelling balloon –tipped pulmonary artery catheter in burn patients. *J Trauma* 1978; 18: 665.
29. Rowley KM, Clubb KS, Smith GJW, Cabin HS, Rightsided infective endocarditis as a consequences of flow-directed pulmonary artery catheterization: A clinicopathology study of 55 autopsied patients. *N Engl J Med* 1984; 311: 1152.
30. Scheld WM, Sande MA. Endocarditis and intravascular infections. in: Mandell GL, Douglas RG Jr, Dolin R, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 4th ed. New York: 1995; 740.
31. Livornese LL Jr, Korzeniowski O. Pathogenesis of infective endocarditis. Raven Press; 1992; 19.
32. Dankert J, Hess J, Durack DT. Pathogenesis of viridans streptococcal endocarditis (VSE): Disappearance of adherent streptococci from vegetations. 26th Interscience Conference Antimicrobial Agents and Chemotherapy (abstr). 1986.
33. Drake TA, Rogers GM, Sande MA. Tissue factor is a major stimulus for vegetation formation in enterococcal endocarditis in rabbits. *J Clin Invest* 1984; 73: 1750.
34. Van Ginkel CJW, Thoring L, Thompson J et al. Enhancement of generation of monocyte tissue thromboplastin by bacterial phagocytosis: Possible pathway for fibrin formation on infected vegetations in bacterial endocarditis. *Infect Immun* 1979; 25: 388.
35. Sangeetha Nathaniel, Shreyas Saligram, Antony Leslie Innasimuthu Aortic stenosis: An update *World J Cardiol* 2010; 2(6): 135-139.
36. Shahbudin H. Rahimtoola, The Year in Valvular Heart Disease *Journal of the American College of Cardiology* 2010; 55: No.16.
37. John J.V. McMurray, Pitt B, Latini R, Maggioni A.P, Scott D. Solomon Deborah L. Keefe, Ford J, Anil Verma and Jim Lewsey Effects of the Oral Direct Renin Inhibitor Aliskiren in Patients With Symptomatic Heart Failure 2008; 1: 17-24.

38. Erel O_A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. Clin Biochem. 2005;38(12):1103-11.
39. Nalini M. Rajamannan, Update on the pathophysiology of aortic stenosis, Division of Cardiology, Heart Journal Supplements 2008; p (10)
40. Duthie, G.G. Wahle, K.W.J. and James, W.P.T. Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. Nutr. Res. Rev. 1989; 2: 51-62.
41. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease. Methods Enzymol. 1990; 186; 1-85.
42. Stocker R. and, JR. JOHN F. Keaney, Role of Oxidative Modifications in Atherosclerosis, Massachusetts Physiol Rev 84: 1381–1478, 2004; 10.1152.
43. Sies, H. ("Oxidative stress: introductory remarks". Oxidative Stress. London: Academic Press. 1985; P. 1–7.
44. Docampo, R. "Antioxidant mechanisms". London: Academic Press. 1995; pp. 147–160.
45. Rice-Evans CA, Gopinathan V "Oxygen toxicity, free radicals and antioxidants in human disease: biochemical implications in atherosclerosis and the problems of premature neonates". Essays Biochem 1995; 29: 39–63.
46. Valko M, Morris H, Cronin MT "Metals, toxicity and oxidative stress". Curr. Med. Chem. 2005; 12 (10): 1161–1208.
47. Akkuş, İ. Serbest radikaller ve fizyolojik etkileri, S.Ü. Tıp Fak. Biyokimya AD, Konya 1995.
48. Cedet, J. And Vigny, P. The photochemistry of nucleic acids, in H.Morrison (ed), Bioorganic Photochemistry. The Photochemistry of Nucleic Acids. 1990; 1-272.
49. Chacon, J.N. McLearie, J. and Sinclair, R.S.. Singlet oxygen yields and radical contributions in the dye-sensitized photooxidation in methanol of esters of polyunsaturated fatty acids (oleic, linolenic and arachidonic). Photochem, Photobiol. 1988; 47: 647-656.
50. Meydanî M. Antioxidants and cognitive function. ILSI. Nutrition Reviews. 2001; 59(8): S75-S82.

51. Chen, H. and Tappel, A.L. Protection of multiple antioxidants against heme protein oxidation and lipid peroxidation induced by CBrCl₃ in liver, lung, kidney, heart, and spleen. *J. Agric. Food Chem* 1996; 44(3): 854-858.
52. Abu-Soud HM and Hazen SL. Nitric oxide is a physiological substrate for mammalian peroxidases. *J Biol Chem* 2000; 275: 37524–37532.
53. Alderton WK, Cooper CE, and Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J* 2001; 357: 593–615.
54. Castro L, Demichelli V, Tortora V.& Radi R. Mitochondrial protein tyrosine nitration 2010 *Free Radical Research*, January 2011; 45(1): 37–52.
55. Kerner J, Lee K & Hoppel C. Post-translational modifications of mitochondrial outer membrane proteins, School of Medicine, Cleveland, OH 44106, 2010.
56. Sawyer, DT *Superoxide Chemistry*, McGraw-Hill.
57. Abrahamsson T, Brandt U, Marklund SL, and Sjoqvist PO. Vascular bound recombinant extracellular superoxide dismutase type C protects against the detrimental effects of superoxide radicals on endothelium-dependent arterial relaxation. *Circ Res* 1992; 70: 264–271.
58. Yoon JH, Lee MS, Kang JH. Reaction of ferritin with hydrogen peroxide induces lipid peroxidation. *BMB Rep* 2010; 43(3):219-24.
59. Draganov DI, Teiber JF, Speelman A, Osawa Y, Sunahara R, La Du BN Human paraoxonases (PON1, PON2, and PON3) are lactonases with overlapping and distinct substrate specificities. *J Lipid Res.* 2005; 46(6):1239-47.
60. Wu CC, Lu KC, Chen JS, Hsieh HY, Lin SH, Chu P, Wang JY, Sytwu HK, Lin YF HO-1 induction ameliorates experimental murine membranous nephropathy: anti-oxidative, anti-apoptotic and immunomodulatory effects. *Nephrol Dial Transplant.* 2008; 23(10): 3082-90.
61. Di Mascio, P. Murphy, M.E., Sies, H.. Antioxidan defense system: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am. J. Clin. Nutr* 1991; 53: 194-200.
62. Chen, H. and Tappel, A.L.. Protection of multiple antioxidants against heme protein oxidation and lipid peroxidation induced by CBrCl₃ in liver, lung, kidney, heart, and spleen. *J. Agric. Food Chem* 1996; 44(3): 854-858.

63. Reaven, P.D. Khouw, A., Beltz, W.F. , Parthasarathy, S. and Witztum, J.L. Effect of dietary antioxidant combinations in humans. Protection of LDL by vitamin E but not by β -carotene. *Arterioscler. Thromb* 1993; 13(4):590-600.
64. Rice-Evans, C.A. Miller, N.J. Bolwell, P.G., Bramley, P.M. and Pridham, J.B. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Rad Res* 1995; 22:375.
65. Barclay LRC, Locke SJ, and MacNeil JM. Autoxidation in micelles. Synergism of vitamin C with lipid-soluble vitamin E and water-soluble Trolox. *Can J Chem* 1985; 63: 366–374.
66. Albert MA, Danielson E, Rifai N, and Ridker PM. Effect of statin therapy on C-reactive protein levels: the pravastatin inflammation/CRP evaluation (PRINCE): a randomized trial and cohort study. *JAMA* 2001; 286: 64–70.
67. Krishnan E Inflammation, oxidative stress and lipids: the risk triad for atherosclerosis in gout. *Rheumatology (Oxford)* 2010; 49(7):1229-38.
68. Foyer CH, Noctor G Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub. *Plant Physiol* 2011; 155(1): 2-18.
69. Rosenblat M. Gaidukov L, Khersonsky O, Vaya J, Oren R, Tawfik D.S, Aviram M: The catalytic histidine dyad of high density lipoprotein-associated serum paraoxonase-1(PON1) is essential for PON1-mediated inhibition of low density lipoprotein oxidation and stimulation of macrophage cholesterol efflux. *J Biol Chem* 2006; 281: 7657–7665.
70. Farbstein D, Kozak-Blickstein A, Levy AP. Antioxidant vitamins and their use in preventing cardiovascular disease. *Molecules*. 2010; 9;15(11):8098-110.
71. Ames BN, Cathcart R, Schwiers E, and Hochstein P. Uric acid provides an antioxidant defence in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proc Natl Acad Sci* 1981; 78: 6858–6862.
72. Zadák Z, Hyspler R, Tichá A, Hronek M, Fikrová P, Rathouská J, Hrnčiariková D, Stetina R Antioxidants and vitamins in clinical conditions. *Physiol Res*. 2009; 58 Suppl 1:S13-7.
73. Nishikawa M, Hashida M, Takakura Y. Catalase delivery for inhibiting ROS-mediated tissue injury and tumor metastasis. *Adv Drug Deliv Rev*. 2009; 8:61(4) : 319-26.

74. Foyer CH, Noctor G. Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub. *Plant Physiol.* 2011;155(1):2-18.
75. Laskin JD, Black AT, Jan YH, Sinko PJ, Heindel ND, Sunil V, Heck DE, Laskin DL. Oxidants and antioxidants in sulfur mustard-induced injury. 2010; 1203: 92-100.
76. Sies H. Oxidative stress: introductory remarks. In: *Oxidative Stress*, edited by Sies H. New York: Academic, 1985, p. 1–8.
77. Sies H. *Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants*. London: Academic, 1991.
78. Sies H. What is oxidative stress? In: *Oxidative Stress and Vascular Disease*, edited by Keaney JF Jr. Boston: Kluwer Academic, 2000; p. 1–8
79. Miller J.D, Yi Chu, Brooks R.M, Richenbacher W E, Ricardo Peña-Silva, MD, Donald D. Heistad. Dysregulation of Antioxidant Mechanisms Contributes to Increased Oxidative Stress in Calcific Aortic Valvular Stenosis in Humans, *Journal of the American College of Cardiology* 2008; 52: 10
80. W. H. Wilson Tang, Wu Y, Mann S, Pepoy M, Shrestha K, Borowski A.G, and Hazen S.L; Diminished Anti-Oxidant Activity of High-Density Lipoprotein-Associated Proteins in Systolic Heart Failure, *OhioCirc Heart Fail.* 2011 January 1; 4(1): 59–64.
81. Miller J.D, Chu Y, Brooks R.M, Richenbacher E.W, Ricardo Peña-Silva and Donald D. Dysregulation of Antioxidant Mechanisms Contributes to Increased Oxidative Stress in Calcific Aortic Valvular Stenosis in Humans, *J Am Coll Cardiol.* 2008 2; 52(10): 843–850.
82. Peter Libby, Paul M Ridker, and Göran K. Hansson. Inflammation in Atherosclerosis: *J Am Coll Cardiol.* 2009 December 1; 54(23): 2129–2138.
83. Mustafa I. Ahmed, Gladden J.D, Litovsky S.H, Lloyd S, Gupta H, Inusah S, Thomas Denney JR, Powell P, McGiffin D.C, Dell L.J; Increased Oxidative Stress and Cardiomyocyte Myofibrillar Degeneration in Patients With Chronic Isolated Mitral Regurgitation and Ejection Fraction >60% ,*Journal of the American College of Cardiology* 2010; 55:7.
84. Rabus M, Demirbağ R, Sezen Y, Konukoğlu O, Yıldız A, Erel Ö, Zeybek R, Yakut C; Plasma and tissue oxidative stress index in patients with rheumatic and degenerative heart valve disease. *Arch Turk Soc Cardiol* 2008; 36(8):536-540.

85. Dimitrow P, Undas A, Dubiel J.S. Enhanced oxidative stress in hypertrophic cardiomyopathy *Pharmacological Reports* 2009; 61,491-495.
86. Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevent accumulation of hydroperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Letts.* 1991; 286: 152–154
87. Arnold RS, Shi J, Murad E, Whalen AM, Sun CQ, Polavarapu R, Parthasarathy S, Petros JA, and Lambeth JD. Hydrogen peroxide mediates the cell growth and transformation caused by the mitogenic oxidase. *Proc Natl Acad Sci* 2001; 98: 5550–5555.
88. Ng CJ, Shih DM, Hama SY, Villa N, Navab M, Reddy ST. The paraoxonase gene family and atherosclerosis. *Fr Rad Biol Med.* 2005; 38: 153–163.
89. Humbert R, Adler DA, Disteché CM, Hassett C, Omiecinski CJ, Furlong CE. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. *Nat Genet.* 1993; 3(1):73-6.
90. Billecke S, Draganov D, Counsell R, Stetson P, Watson C, Hsu C, La Du B.N: Human serum paraoxonase (PON1) isozymes Q and R hydrolyze lactones and cyclic carbonate esters. *Drug Metab. Dispos.* 2000; 28: 1335–1342.
91. Lacinski M, Skorupski W, Cieslinski A, Sokolowska J, Trzeciak WH, Jakubowski H. Determinants of homocysteine-thiolactonase activity of the paraoxonase-1 (PON1) protein in humans. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand).* 2004; 50(8):885-93.
92. Zhang C, Peng W, Wang M, Zhu J, Zang Y, Shi W, Zhang J, Qin J. Studies on protective effects of human paraoxonases 1 and 3 on atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice. *Gene Ther.* 2010; 17(5):626-33.
93. Devarajan A, Bourquard N, Hama S, Navab M, Grijalva V, Morvardi S, Clarke C, Vergnes L, Reue K, Teiber JF, Reddy ST. Paraoxonase 2 deficiency alters mitochondrial function and exacerbates the development of atherosclerosis. *Antioxid Redox Signal.* 2010; 27.
94. Loscalzo J. Paraoxonase and coronary heart disease risk. *Circ Cardiovasc Genet.* 2008; 1(2):79-80.

95. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Parma SL, La Du BN. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions: a possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest* 1998; 101: 1581–1590.
96. Draganov DI Lactonases with organophosphatase activity: structural and evolutionary perspectives *Chem Biol Interact* 2010 6; 187(1-3):370-2.
97. Sutherland, WH. de Jong SA, Walker RJ. Hypochlorous acid and low serum paraoxonase activity in haemodialysis patients: an in vitro study *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 75–82.
98. Otocka-Kmiecik A, Orłowska-Majdak M. The role of genetic (PON1 polymorphism) and environmental factors, especially physical activity, in antioxidant function of paraoxonase. *Postepy Hig Med Dosw* 2009; 63: 668-677.
99. Gur M, Yildiz A, Demirbag R, Yilmaz R, Aslan M, Ozdogru I, Erel O Paraoxonase and arylesterase activities in patients with cardiac syndrome X, and their relationship with oxidative stress markers. *Coron Artery Dis* 2007;18(2):89-95.
100. Jakubowski H, Zhang L, Bardeguet A, Aviv A. Homocysteine thiolactone and protein homocysteinylation in human endothelial cells: implications for atherosclerosis. *Circ Res.* 2000; 7; 87(1):45-51.
101. Billecke S, Draganov D, Counsell R, Stetson P, Watson C, Hsu C, La Du BN Human serum paraoxonase (PON1) isozymes Q and R hydrolyze lactones and cyclic carbonate esters. *Drug Metab Dispos.* 2000; 28(11):1335-42.
102. Ng CJ, Shih DM, Hama SY, Villa N, Navab M, Reddy ST The paraoxonase gene family and atherosclerosis. *Free Radic Biol Med* 2005; 15;38(2):153-63.
103. Costa LG, Vitalone A, Cole TB, Furlong CE. Modulation of paraoxonase (PON1) activity. *Biochem Pharmacol.* 2005; 15;69(4): 541-50.
104. Yılmaz N, Eren E, Erel O; Activity paraoxonase and arylesterase and its relationship to antioxidant profiles in young basketball players and sedentary controls, *Medicina Sportiva* 2007; 11(1): 20-26.
105. Yılmaz N, Aydın O, Yegin A, Tiltak A, Eren E. Increased levels of total oxidant status and decreased activity of arylesterase in migraineurs. *Clin Biochem* 2011.

106. Yilmaz N, Erel O, Hazer M, Bağcı C, Namiduru E, Gül E. Biochemical assessments of retinol, alpha-tocopherol, pyridoxal--5-phosphate oxidative stress index and total antioxidant status in adolescent professional basketball players and sedentary controls. *Int J Adolesc Med Health* 2007;19(2):177-86.
107. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem. Clin Biochem* 2004; 37(2):112-119.
108. Erel, O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 2004; 37(4): 277-285.
109. Rabus M, Demirbağ R, Sezen Y, Konukoğlu O, Yıldız A, Erel Ö, Zeybek R, Yakut Plasma and tissue oxidative stress index in patients with rheumatic and degenerative heart valve disease; *Arch Turk Soc Cardiol* 2008; 36(8):536-540.
110. Chiu-Braga YY, Hayashi SY, Schafranski M, Messias-Reason JJ. Further evidence of inflammation in chronic rheumatic valve disease (CRVD): high levels of advanced oxidation protein products (AOPP) and high sensitive C-reactive protein (hs-CRP). *Int J Cardiol* 2006; 109:275-6.
111. Jo H and Robert M. Jonathan N, T. Butcher, Tressel S, Johnson T, Turner D, Sorescu G; Transcriptional Profiles of Valvular and Vascular Endothelial Cells. American Heart Association DOI: 10.1161/0 2005.
112. Brooke C. Henderson, Neetu Tyagi, Alexander Ovechkin, Ganesh K. Kartha, Karni S. Moshal, Suresh C. Tyagi Oxidative remodeling in pressure overload induced chronic heart failure, 2007 *European Journal of Heart Failure* 2007; 9: 450–457.
113. Thomas J. Oxidative stress: including glutathione, a peptide for cellular defense against oxidative stress. Iowa State University 1999.
114. Dwight A. Towler Oxidation, Inflammation, and Aortic Valve Calcification: Peroxide Paves An Osteogenic Path, *J Am Coll Cardiol*. 2008 September 2; 52(10): 851–854.
115. Donald D. Heistad, Oxidative Stress and Vascular Disease: American Heart Association. 2006; 621: 47-48.

116. Phillippi J.A, Ĩ Robert C. Gorman and Thomas G. Gleason, , Ekaterina A. Klyachko, John P. Kenny, IV, Michael A. Eskay n Ascending Aortic Aneurysms of Bicuspid Aortic Valve Patients Basal and Oxidative Stress Induced Expression of Metallothionein Is Decreased, American Heart Association 2009;119: 2498-2506.
117. Matsumoto Y, Adams V, Jacob S, Mangner N, Schuler G, Axel Linke Lipoprotein Receptor_Deficient Mice Regular Exercise Training Prevents Aortic Valve Disease in Low-Density American Heart Association 2010;121;759-767
118. Jordan D. Miller, Yi Chu, Robert M. Brooks, Wayne E. Richenbacher, Ricardo Peña-Silva, Donald D. Heistad; Dysregulation of Antioxidant Mechanisms Contributes to Increased Oxidative Stress in Calcific Aortic Valvular Stenosis in Humans *Iowa Journal of the American College of Cardiology* 2008; 52(10).
119. Mehrabia M.R, Sinzingerb H, Ekmekcioglu C, Tamaddona F, Plesch K, Glogar H.D, Maurer G, Stefenelli T, Lang I.M, Accumulation of oxidized LDL in human semilunar valves correlates with coronary atherosclerosis. *Cardiovascular Research* 2000; 45: 874–882.
120. Lloyd SG, Ahmed MI, Gladden JD, Litovsky H, ,Gupta H,Inusah S,Denney T Jr, Incresased oxidative stress and cardiomyocyte myofibrillar degeneration in patient with chronic isolated mitral regurgitation and ejection and ejection fraction >60 % *J Am Coll Cardiol.* 2010 Feb16;55(7):671-9.
121. Jian-Su Shao, Jun Cai and Dwight A, Aorta Molecular Mechanisms of Vascular Calcification: *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26;1423-1430.
122. C. Gorman R, Cand Thomas G. Gleason, Phillippi J. A, Ekaterina A. Klyachko, John P. Kenny, IV, Michael A. Eskay; Ĩn Ascending Aortic Aneurysms of Bicuspid Aortic Valve Patients Basal and Oxidative Stress_Induced Expression of Metallothionein Is Decreased, *Circulation* 2009;119;2498-2506.
123. David H. Edwards, Yiwen Li and Tudor M. Griffith, Hydrogen Peroxide Potentiates the EDHF Phenomenon by Promoting Endothelial Ca²⁺ Mobilization *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28;1774-1781.
124. Keaney JF, Xu A, Cunningham D, et al. Dietary probucol preserves endothelialfunction in cholesterol fed rabbits by limiting vascular oxidative stress and superoxide generation. *J Clin Invest* 1995; 95,2520-9.

125. Saha N, Roy AC, Teo SH, Tay JSH, Ratnam SS. Influence of serum paraoxonase polymorphism on serum lipids and apolipoproteins. *Clin Genet*. 1991;40:277-282.
126. Lucio G. Costaa, b, Annabella Vitaloneb, Toby B. Colea, c, Clement E. Furlongc Modulation of paraoxonase (PON1) activity, *Biochemical Pharmacology* 2005; 69: 541–550.
127. Metals, Toxicity and Oxidative Stress M. Valko, H. Morris and M.T. D. Cronin, *Current Medicinal Chemistry* 2005; 12: 1161-1208.
128. Niao Sung Hsiang, Kaohsiung Hsien; Increased serum oxidative stress in patients with severe mitral regurgitation *Clinical Biochemistry* 2009; 42: 943–948.
129. Dwight A. Towler, Oxidation, Inflammation, and Aortic Valve Calcification: Peroxide Paves An Osteogenic Path, *J Am Coll Cardiol* 2008 September 2; 52(10): 851–854.
130. Jordan D. Miller, Robert M. Weiss, Kristine M. Serrano¹, Robert M. Brooks Christopher J. Berry, Zimmerman K, *Circulation* 2009; 26; 119(20): 2693–2701.
131. K. A. Huey¹, G. Fiscus¹, A. F. Richwine, R. W. Johnson, B. M. Meador; In vivo vitamin E administration attenuates interleukin-6 and interleukin-1 β responses to an acute inflammatory insult in Mouse skeletal and cardiac muscle; *Exp Physiol* 2008; 93(12): 1263.
132. Beckman E, Juan B. Grau, Sainger R, Poggio P, Ferrari G; Insights into the Use of Biomarkers in Calcific Aortic Valve Disease ¹Department of Surgery, *J Heart Valve Dis* 2010 July; 19(4): 441–452.
133. Cagirici G, Cay S, Karakurt O, Durmaz T, Yazihan N, Canga A, Aydin C, Acikel S, Kilic H, Topaloglu S, Aras D, Demir AD, Akdemir R; Paraoxonase activity might be predictive of the severity of aortic valve stenosis *J Heart Valve Dis* 2010 Jul; 19(4):453-8.

8. ÖZGEÇMİŞ:

1965 yılında Elazığ doğumluyum. Babamın memuriyeti dolayısıyla ilk ve orta öğrenimimi farklı illerde tamamladım. 1982 yılında Adana Erkek Lisesi'nden mezun oldum. 1983 yılında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesini kazanarak 1989 yılında mezun oldum. 1997 yılında Yalova ilinde vatani görevimi tamamladım. 1999 yılında Diyarbakır İl Sağlık Müdürlüğü görevini yürüterek 2003 yılında bu görevden ayrıldım. 2006-2008 yıllarında Adana İl Sağlık Müdür Yardımcılığı görevini yürüttüm. 2008 yılında Birleşmiş Milletler Gelişim Programı (UNDP) çerçevesinde Sağlık Bakanlığı Saha Koordinatörü & Sağlıkta Dönüşüm Program Danışmanı (SDP) olarak göreve başladım. Halen bu görevi yürütmekteyim. Evli ve iki çocuk babasıyım. İyi düzeyde ingilizce bilmekteyim.