



T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**DENEYSEL PERİTONİT OLUŞTURULMUŞ RATLARDA
İNTRAPERİTONEAL ETANERCEPT UYGULAMASININ OKSİDATİF
STRES GÖSTERGELERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Esma Gülsun ARSLAN CELLAT

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ali Kemal KADİROĞLU

DİYARBAKIR - 2014



T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**DENEYSEL PERİTONİT OLUŞTURULMUŞ RATLARDA
İNTRAPERİTONEAL ETANERCEPT UYGULAMASININ OKSİDATİF
STRES GÖSTERGELERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Esmâ Gülsun ARSLAN CELLAT

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ali Kemal KADİROĞLU

DİYARBAKIR - 2014

TEŞEKKÜR

İç Hastalıkları eğitimim sürecinde, bana emeği geçen değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Ekrem MÜFTÜOĞLU başta olmak üzere, İç Hastalıkları A.D. Başkanımız sayın Prof. Dr. M.Emin YILMAZ'a, tezimin her aşamasında büyük emeği olan, yardımlarını esirgemeyen tez hocam sayın Prof. Dr. Ali Kemal KADİROĞLU'na ve tezimin şekillenmesinde bana büyük desteği olan sayın Yrd. Doç. Dr. Yaşar YILDIRIM'a, ayrıca İç Hastalıkları A.D'nin saygıdeğer öğretim üyeleri Prof. Dr. Vedat GÖRAL'a, Prof. Dr. M.Orhan AYYILDIZ'a, Prof. Dr. Abdurrahman IŞIKDOĞAN'a, Prof. Dr. Kendal YALÇIN'a, Prof. Dr. Alparslan Kemal TUZCU'ya, Prof. Dr. Muhsin KAYA'ya, Doç. Dr. M.Ali KAPLAN'a, Doç. Dr. Mehmet KÜÇÜKÖNER'e, Doç. Dr. Ali İNAL'a, Yrd. Doç. Dr. Zülfikar YILMAZ'a, Yrd. Doç. Dr. M.Sinan DAL'a, Yrd. Doç. Dr. Faruk KILINÇ'a, Yrd. Doç. Dr. Zuhat URAKÇI'ya, Yrd. Doç. Dr. Feyzullah UÇMAK'a ile Uzm. Dr. Nazım EKİN'e, Uz. Dr. Abdullah KARAKUŞ'a, Uz. Dr. Ali Veysel KARA'ya, Uz. Dr. Zafer PEKKOLAY'a, Uz. Dr. Mazhar TUNA'ya, Uz. Dr. Hikmet SOYLU'ya, Uz. Dr. Zeynep ORUÇ'a ve Uz. Dr. Elif Tuğba TUNCEL'e teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Tezimin yapımında bana yardımları olan değerli hocalarım Prof. Dr. Aydın KETANİ'ye, Prof. Dr. Leyla ÇOLPAN'a, Doç. Dr. Mesut GÜL'e ve Yrd. Doç. Dr. M.Veysi BAHADIR'a, rotasyon eğitimim sırasında bilgilerini benden esirgemeyen Kardiyoloji A.D. , Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.D. , Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz A.D. ve Radyoloji A.D. değerli öğretim üyelerine, teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Birlikte çalıştığım değerli hekim arkadaşlarım ve iç hastalıkları bünyesinde çeşitli görevlerde çalışan, bana bu süreçte emeği geçen herkese teşekkür ederim.

Hekimliğe henüz adım atmamışken hekimliği kendisinde gözlemleyip sevdiğim, hastaya yaklaşımını ve etik tutumunu her zaman örnek aldığım, ilk hocam, canım babam Dr. Sadrettin ARSLAN'a, teşekkür eder sevgi ve saygılarımı sunarım.

Hayatım boyunca benden sevgilerini ve desteklerini esirgemeyen değerli annem ve kardeşlerime, hayatıma girdiğinden beri her konuda benim en büyük destekçim ve yardımcım olan sevgili eşim Dr. Orhan CELLAT'a ve canım çocuklarıma teşekkür eder, sevgilerimi sunarım.

Dr. Esma Gülsun ARSLAN CELLAT

İÇİNDEKİLER

Sayfa no:

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR.....	vi
TABLolar.....	viii
RESİMLER.....	ix
ŞEKİLLER.....	ix
ÖZET.....	x
ABSTRACT.....	xii
1.GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Periton.....	3
2.2.Peritonit.....	3
2.2.1.Sepsis.....	4
2.2.2.Multiple Organ Disfonksiyonu Sendromu.....	7
2.2.3.Sınıflama.....	8
2.2.4.Klinik ve Laboratuvar Bulguları.....	8
2.2.5.Tedavi.....	9
2.3.İnflamasyon.....	9
2.3.1.Akut İnflamasyon.....	9
2.3.2.Kronik İnflamasyon.....	10
2.3.3.İnflamasyonun Kimyasal Medyatorları.....	10
2.3.3.1.Vazoaktif Aminler.....	10
2.3.3.2.Plazma Proteazları.....	11
2.3.3.3.Araşidonik Asit Metabolitleri.....	11
2.3.3.4.Trombosit Aktive Eden Faktör.....	11
2.3.3.5.Sitokinler.....	11
2.4.Oksidatif stres ve serbest radikaller.....	12
2.4.1.Oksidatif stres.....	12
2.4.2.Serbest Radikaller ve Oksidanlar.....	13

2.4.3.Serbest Radikal Reaksiyonları.....	13
2.4.4.Serbest Oksijen Radikalleri.....	14
2.4.4.1.Süperoksit Radikalleri (O_2^-).....	15
2.4.4.2.Hidroksil Radikalleri (OH^-).....	15
2.4.4.3.Hidrojen Peroksit (H_2O_2).....	16
2.4.4.4.Hipoklorik Asit ($HOCl$).....	17
2.4.4.5.Singlet O_2	17
2.4.4.6.Ozon (O_3).....	17
2.4.5.Reaktif Nitrojen Türleri (NO , NO_2 , NO^+ , NO^-).....	18
2.4.6.Başlıca Serbest Radikal Üretim Kaynakları.....	18
2.4.6.1.Endojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları.....	18
2.4.6.1.1.Mitokondriyal Elektron Transport Sistemi (METS).....	18
2.4.6.1.2.Endoplazmik Retikulum (ER).....	18
2.4.6.1.3.Redoks Döngüsü.....	19
2.4.6.1.4.Araşidonik Asit Metabolizması.....	19
2.4.6.1.5.Fagositoz.....	20
2.4.6.1.6.Otooksidasyon.....	20
2.4.6.1.7.Oksidan Enzim Reaksiyonları.....	21
2.4.6.2.Ekzojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları.....	21
2.4.7.Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri	21
2.4.7.1.Serbest Radikallerin Lipitlere Etkileri	21
2.4.7.2.Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri	22
2.4.7.3.Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri.....	23
2.4.7.4.Serbest Radikallerin DNA'ya Etkileri.....	23
2.5.Antioksidan Savunma Sistemleri.....	24
2.5.1.Enzimatik Antioksidanlar.....	25
2.5.1.1.Süperoksit Dismutaz (SOD).....	25
2.5.1.2.Katalaz (CAT).....	25
2.5.1.3.Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px).....	25
2.5.1.4.Glutation-S-Transferazlar (GST).....	26
2.5.1.5.Mitokondrial Sitokrom Oksidaz.....	27
2.5.1.6.Tiyoller (SH).....	27
2.5.2.Enzimatik Olmayan Antioksidanlar.....	30
2.5.2.1.Askorbik Asit.....	30

2.5.2.2.β-Karoten (Vitamin A ön maddesi).....	30
2.5.2.3.Vitamin E (α-Tokoferol).....	30
2.5.2.4.Polifenoller.....	31
2.5.2.5.Transferin ve Laktoferrin.....	31
2.5.2.6.Seruloplazmin.....	31
2.5.2.7.Albümin.....	31
2.5.2.8.Ürik Asit.....	32
2.5.2.9.Bilirubin.....	32
2.6.Malondialdehit.....	32
2.7.Nitrik Oksit.....	32
2.8.Paraoksonaz.....	33
2.9.Tümör Nekrozis Faktör-alfa (TNF-α)	34
2.10.Etanercept.....	36
2.10.1.Farmakolojik Özellikleri.....	36
2.10.2.Endikasyonlar	37
2.10.3.Kontrendikasyonlar	38
2.10.4.Uyarılar/Önlemler	38
2.10.5.Yan Etkiler.....	40
3.MATERYAL VE METOD	42
3.1.Deney Protokolü.....	42
3.2.Biyokimyasal Analizler.....	43
3.2.1.Kan ve Doku Örneklerinin Hazırlanması.....	43
3.2.2.Paraoksonaz ölçümü.....	44
3.2.3.Malondialdehit Ölçümü.....	44
3.2.4.Nitrik Oksit Ölçümü.....	44
3.2.5.Total Antioksidan Kapasite (TAK) ölçümü.....	44
3.2.6.Total Oksidan Stres (TOS) ölçümü.....	45
3.2.7.Serum TNF-α Ölçümü.....	45
3.3.Histopatolojik Değerlendirme.....	45
4.BULGULAR.....	46
4.1.Biyokimyasal Bulgular.....	46
4.1.1.Paraoksonaz Seviyeleri.....	46
4.1.2.Malondialdehit Seviyeleri.....	46
4.1.3.Nitrik Oksit Seviyeleri.....	46

4.1.4.Total Antioksidan Kapasite (TAK) Seviyeleri.....	46
4.1.5.Total Oksidan Stres (TOS) Seviyeleri.....	47
4.1.6.TNF-α Seviyeleri.....	47
4.2.Histopatolojik Bulgular.....	48
5.İSTATİSTİKSEL ANALİZLER.....	50
6.TARTIŞMA.....	51
7.SONUÇ	59
8.KAYNAKLAR.....	60

KISALTMALAR

MDA	: Malondialdehit
NO	: Nitrik oksit
OS	: Oksidatif stres
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
TAK	: Total antioksidan kapasite
TOS	: Total oksidatif stress
MODS	: Multiple organ disfonksiyonu sendromu
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör - alfa
IL-1	: İnterlökin -1
SIRS	: Systemic Inflammatory Response Syndrome
DİK (DİC)	: Dissemine İntravasküler Koagülopati
ALI	: Akut akciğer hasarı
OAB	: Ortalama arter basıncı
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
O₂⁻	: Süperoksit anyonu
OH⁻	: Hidroksil radikali
OH₂⁻	: Perhidroksi radikali
SOD	: Süperoksid dismutaz
CAT	: Katalaz
GSHPx	: Glutasyon peroksidaz

NOS	: Nitrik Oksid Sentaz
GC	: Guanilat Siklaz
NO₂	: Nitrojen dioksit
ROT	: Reaktif oksijen türevleri
ONOOH	: Peroksinitrit
PON	: Paraoksonaz
LCAT	: Lesitin Kolesterol Açıltransferaz
MPO	: Myeloperoksidaz

TABLÖLAR

Tablo 1: Sepsis tanımları

Tablo 2: Oksijen türevi bileşikler

Tablo 3: Histolojik skörlama

Tablo 4: Serum oksidan ve antioksidan parametrelerinin karşılaştırılması

Tablo 5: Doku oksidan ve antioksidan parametrelerinin karşılaştırılması

Tablo 6: Grupların histopatolojik karşılaştırılması

RESİMLER

Resim-1 : Kontrol ve Deney gruplarının parietal peritonitlerinin mikrofotografileri

Resim 1.1 : Kontrol grubu

Resim 1.2 : Peritonit grubu

Resim 1.3 : Sefazol grubu

Resim 1.4 : Sefazol + Etanercept grubu

ŞEKİLLER

Şekil 1- MDA'nın serum ve doku değerleri

Şekil 2- TOS'un serum ve doku değerleri

Şekil 3- Paraoksonaz'ın serum ve doku değerleri

Şekil 4- TAK'ın serum ve doku değerleri

Şekil 5- TNF- α 'nın serum ve doku değerleri

Şekil 6- NO'nin serum ve doku değerleri

ÖZET

Giriş: Peritonit, visseral ve/veya parietal peritonu içine alan bir inflamasyondur. Peritonit uygun tedavi edilmezse sistemik inflamatuvar yanıt ve sepsise neden olabilmektedir. Sepsis morbiditesi ve mortalitesi yüksek olan ciddi bir tablodur. TNF- α , IL-1 gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimi ile karakterize sepsiste, sitokinler doku hasarını sınırlamak için lokal koagulasyonu aktive edici yararlı inflamatuvar yanıtı tetiklemektedirler. Ancak proinflamatuvar sitokinlerin aşırı üretimi, immün yanıtın normal düzenini bozmakta ve patolojik inflamatuvar bozukluk oluşturmaktadır. Genellikle sepsisteki aşırı sitokin üretiminin kapiller kaçak, doku hasarı ve multiorgan yetmezliği ile sonuçlanmakta olduğu bilinmektedir.

Etanercept, TNF- α 'nın kompetitif inhibitörü olarak hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanmasını engelleyen ve biyolojik aktivitesini önleyen bir ajandır.

Oksidatif stres, herhangi bir nedenle oksidan üretiminde artış ve antioksidan savunma mekanizmasında yetersizlik nedeniyle aradaki dengenin bozulması sonucunda oluşan doku hasarını gösteren bir parametredir.

Amaç: Deneysel Peritonit oluşturduğumuz ratlarda intraperitoneal etanercept uygulamasının oksidatif stres göstergeleri üzerine olan etkisini değerlendirerek doku hasarlanması üzerindeki etkisini görmek ve gelecekte peritonit tedavisinde etanerceptin kullanılabilirliğini araştırmaktır.

Materyal Metod: Çalışmamızda toplam 28 adet erişkin dişi 200 – 250 gram ağırlığında olan Wistar Albino cinsi rattan oluşan 7 şerli 4 grup oluşturuldu. Deney Grupları: Kontrol grubu(Herhangi bir madde enjeksiyonu yapılmadı), Peritonit grubu (İntraperitoneal E.Coli süspansiyonu 1,5 ml (10^7 CFU/ml) enjeksiyonu yapıldı), Peritonit + Sefazolin Sodyum grubu (E.Coli enjeksiyonundan 1 saat sonra 50 mg/kg dozunda intraperitoneal sefazolin sodyum verildi), Peritonit + Sefazolin Sodyum + Etanercept grubu (E.Coli enjeksiyonundan 1 saat sonra 50 mg/kg dozunda intraperitoneal sefazolin sodyum verildi.1 ve 4 saat sonra intraperitoneal etanercept uygulandı). Etanercept uygulandıktan 24 saat sonra deney sonlandırıldı.

Tüm gruplardaki ratlardan histopatolojik ve biyokimyasal inceleme için periton dokusu ve kan örnekleri alındı. Oksidatif stres parametreleri olarak kanda ve dokuda: PON, MDA, NO, TAK, TOS ve TNF- α çalışıldı.

Bulgular: Peritonit grubunda kontrol grubuna göre serum ve doku oksidatif parametreler artmış, antioksidatif parametreler azalmıştı. Peritonit olan ratlara Sefazol verildikten sonra oksidatif parametrelerde azalma, antioksidatif parametrelerde artış gözlemlendi. Ratların Sefazol tedavisinden fayda gördüğü gözlemlendi. Sefazol + Etanercept verilen grupta sonuçlar sadece sefazol verilen gruba göre daha olumluydu, oksidatif parametreler sefazol grubuna göre daha fazla azaldı, antioksidan parametrelerde daha fazla artış gösterildi.

Histopatolojik olarak; kontrol grubuna ait kesitlerin incelenmesinde periton epiteli ve lamina propriada herhangi bir değişikliğe rastlanmadı. Periton grubunda epitelde dökülme, lamina propriada yaygın nötrofil infiltrasyonu, ödem ve kapiler damarlarda konjesyon izlendi. Sefazol grubunda periton grubuna oranla lezyonların azaldığı gözlemlendi. Sefazol + Etanercept grubunda epiteldeki deskuamasyonun ortadan kalkması, nötrofil infiltrasyonun oldukça azalması, lamina propriada ödemin şiddetinin azalması dikkat çekiciydi.

Sonuç: Yaptığımız araştırma sonucunda, peritonit tedavisinde antibiyotik tedavisine ek olarak verilen Etanercept'in, sadece antibiyotik ile tedavi edilen gruptan daha olumlu sonuçlar verdiğini gördük. Bu sonuç doğrultusunda Etanercept'in inflamasyonu baskılayarak, sepsise gidişi azaltacağını düşünmekteyiz. Ancak peritonit tedavisinde kullanılabilirliği için daha kapsamlı hayvan deneylerine ve insan çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Deneysel peritonit, Etanercept, Oksidatif Stress

ABSTRACT

Introduction: Peritonitis is an inflammation which involves visceral and/or parietal peritoneum. Without a proper treatment, peritonitis may cause a systemic inflammatory response and sepsis. Sepsis is a serious situation which has high morbidity and mortality. Cytokines trigger beneficial inflammatory response to activate local coagulation to limit tissue damage in sepsis which characterized by production of proinflammatory cytokines such as TNF- α , IL – 1. However excessive production of proinflammatory cytokines break the layout of the normal immune response and constitutes inflammatory disorder of the immune response. Generally, excessive production of cytokines in sepsis results capillary leak, tissue damage and multiorgan failure is well known.

Etanercept is an agent which blocks the TNF- α 's binding to its cellular surface receptors as a competitive inhibitor and inhibits its biological activity.

Oxidative stress is a parameter indicating tissue damage as a result of deterioration of the balance between antioxidant defense and oxidant production for any reason.

Aim: to evaluate effects of etanercept administration on oxidative stress parameters in rats with induced peritonitis and to see effects on tissue injury and to investigate availability of etanercept in peritonitis in future.

Materials and Methods: In the study 28 adult female Wistar Albino rats which weights 200 - 250 grams were divided into 4 groups consisting 7 rats in each group. Experiment Groups: Control Group (Any injection of a substance was made), Peritonitis group (1,5 ml suspension of E.Coli (10^7 CFU/ml) was injected intraperitoneal in order to create experimental peritonitis), peritonitis + cefazolin sodium group (1 hour after injection of E.Coli for experimental peritonitis, 50mg/kg dose of cefazolin sodium was injected intraperitoneally), Peritonitis + cefazolin sodium + etanercept group (1 hour after injection of E.Coli for experimental peritonitis, 50mg/kg dose of cefazolin sodium was injected intraperitoneally. 8mg/kg/dose etanercept was injected intraperitoneal to rats with experimental peritonitis after 1 hour and 4 hours after injection of E.Coli for experimental peritonitis). 24 hours after etanercept injection experiment was ended.

Peritoneal tissue samples and blood samples were taken from all groups of rats for histopathological and biochemical examinations. As oxidative stress parameters in blood and tissues: paraoxonase (PON), malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO), total antioxidant capacity (TAC), total oxidant stress (TOS), TNF- α were studied.

Results: Peritonitis group compared to the control group, oxidative parameters of serum and tissue were increased, antioxidative parameters were decreased in peritonitis group. after cefazolin injections to rats with peritonitis, reduction in oxidative parameters and increase in antioxidative parameters were observed. sefazolin + etanercept group results were more positive than the group given only cefazolin, oxidative parameters were decreased and antioxidative parameters were increased in cefazolin + etanercept group according to the cefazolin group.

Histopathological changes; there was no changes in the study of section of control group peritoneal epithelium and lamina propria. In the section of peritonitis group epithelial shedding, widely neutrophil infiltration in the lamina propria, edema and capillary vascular congestion was viewed. In the cefazolin group lesions was observed to decrease according to the peritonitis group. In the cefazolin + etanercept group, dissappearance of epithelial desquamation, decrease of neutrophil infiltration and decrease of the severity of the edema in the lamina propria was remarkable.

Conclusion: As a result of our research, we found that etanercept treatment in addition to antibiotic treatment in peritonitis gave more positive results than treatment with antibiotics alone. In accordance with these results, we consider that etanercept reduces the progression to sepsis by supression of inflammation. However more comprehensive animal experiements and human studies are needed for availability of Etanercept in treatment of pertonitis.

Keywords: Experimental peritonitis, Etanercept, Oxidative stress

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Peritonit, periton dokusunun inflamasyonudur. İnflamasyona sebep olan bağırsak içeriği, bakteriler, bakteri yıkım ürünleri, polimorfonükleer hücreler ve makrofajlar periton yüzeyinden ve diyafram altındaki porlardan hızla kan dolasımına karışarak sistemik inflamatuvar yanıt ve sepsise neden olmaktadır. Peritoneal sepsis, yüksek morbidite ve mortalitesi olan bir tablodur.

Peritonda meydana gelen inflamasyon, hümmoral ve hücreyel immün yanıtın aracılık ettiğı bir süreçtir. Hücreyel immünitede makrofajlar, mast hücreleri, bazofiller, trombositler ve lenfositler rol oynarken, hümmoral immüniteyi immunglobulinler, kompleman sistemi, lökotrienler ve akut faz reaktanları oluşturur. Konakçının inflamasyona verdiği yanıt, inflamasyonun ortaya çıktığı bölgenin yanı sıra organizmanın tüm sistemlerine ait doku ve hücrelerini etkiler (1). Sepsis ve MODS' a neden olabilir.

Sistemik inflamasyonun patofizyolojisinde sitokin kaskadının yer aldığını bilmekteyiz. TNF- α , IL-1 gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimi ile karakterize sepsiste, sitokinler doku hasarını sınırlamak için lokal koagulasyonu aktive edici yararlı inflamatuvar yanıtı tetiklemektedir. Ancak proinflamatuvar sitokinlerin aşırı üretiminin, immün yanıtın normal düzenini bozup, patolojik inflamatuvar bozukluk oluşturduğunu bilmekteyiz (2). Genellikle sepsisteki aşırı sitokin üretiminin kapiller kaçak, doku hasarı ve multiorgan yetmezliği ile sonuçlanmakta olduğu bilinmektedir.

Etanercept, TNF- α 'nın kompetitif inhibitörü olarak hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanmasını engelleyen ve biyolojik aktivitesini önleyen bir immünsupresif ajandır. TNF α 'yı inhibe ederek inflamasyonu baskılamaktadır. Bu amaçla tıpta, romatoid artrit, aktif poliaritiküler tip juvenil kronik artrit, psöriatik artrit, ankilozan spondilit, FMF, orta şiddette veya şiddetli psöriazis vulgaris gibi inflamatuvar hasarın söz konusu olduğu hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır.

Oksidatif stres; herhangi bir nedenle oksidan üretiminde artış ve antioksidan savunma mekanizmasında yetersizlik nedeniyle aradaki dengenin bozulması sonucunda oluşan doku hasarı olarak tanımlanmaktadır (3). UV ışınları, ilaçlar, yağ oksidasyonu, immunolojik reaksiyonlar, kronik inflamasyonlar, radyasyon, stres, sigara, alkol ve biyokimyasal redoks

reaksiyonları gibi pek çok neden serbest radikal oluşumunu arttırıp oksidatif stresi arttırmaktadır. Oksidatif stres, insandaki birçok patolojik durumun meydana gelmesinde, ilerlemesinde ve komplikasyonlarının ortaya çıkmasında önemli yere sahiptir. Tüm hücrelerde yapısal ve fonksiyonel değişiklikler oluşturarak hasara neden olabilir. İyon dengesini, hücre redoks sistemini, hücre içi haberleşmeyi ve gen transkripsiyonunu etkiler, sonuç olarak, hücre döngüsünü etkileyerek hücrenin ölümüne neden olur (4).

Biz de bu bilgilerden yola çıkarak enfeksiyona sekonder gelişen inflamasyonda etanerceptin etkisini görmek istedik. Deneysel peritonit oluşturduğumuz ratlara, antibiyoterapiye ek olarak etanercept vererek, aşırı immün cevabı baskılayarak, oksidatif stres göstergeleri ve doku hasarı üzerine etkisini değerlendirerek, peritonit tedavisindeki etkinliğini görmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.PERİTON :

Batın duvarının iç yüzünü ve mezodermal kökenli batın içi organları saran zara periton adı verilir. Batın duvarının iç yüzünü örten parietal, abdominal organları saran ise visseral peritondur. Parietal ve visseral periton birbirinin kesintisiz devamı olup iki periton yaprağı arasında periton boşluğu yer alır (5). Bu boşlukta seröz bir sıvı bulunur ve abdominal organların rahatça hareket edebilmesi için sürtünmesiz bir ortam sağlar. Periton sıvısı, peritoneal seroza tarafından salgılanan, yaklaşık 75–100 ml miktarda, protein içeriği 3 g/dl olan seröz vasıfta lenf sıvısıdır. %80 diyafram tarafından emilir ve santral dolaşıma torasik lenfatikler yoluyla katılır. Büyük moleküller laküna adı verilen diyaframa komşu peritoneal mezoteldeki lenfatiklerden emilir. Peritonitte mevcut olan bakteri ve ürünleri, bu yolla sistemik dolaşıma geçer. Periton içine verilen terapotik ajanlar da aynı şekilde sistemik dolaşıma geçerek etki ederler (6).

2.2.PERİTONİT

Peritonit, peritonun bir kısmı ya da tamamının inflamasyonudur. Periton boşluğu normalde sterildir. Ancak herhangi bir kontaminasyon halinde inflamatuvar yanıt başlar ve peritoneal makrofajlar ve mast hücreleri sitokinleri ve vazoaktif maddeleri üretmeye başlar. Bunlar da periton sıvısının kemotaksinler, opsoninler ve komplemanlar bakımından zenginleşmesini sağlar. Ardından biyokimyasal değişikliklerle birlikte periton ve subepitelyal bağ dokusunda masif sıvı birikimi olur. Bakteriler, lenfatikler tarafından hızlıca uzaklaştırılır ve sistemik dolaşıma geçerek sistemik savunma mekanizmaları ile karşı karşıya kalırlar.

Erken inflamasyon döneminde, hasarlanan damar endotelinden plazma ve fibrin eksüdasyonu olur. Yüzey prokoagulan aktivitesi aracılığıyla peritoneal makrofajlar, fibrin birikimini arttırıp peritoneal yüzeye hücre agregasyonu ve adherensini sağlarlar. Enfeksiyon ilerledikçe olay periferik doğru ilerler ve makrofajlar ile fibrin birikimi, enfeksiyonu sınırlamaya çalışır. Piyojenik bir membran oluşturarak abseleşebilir. Doku hasarı ve bakteri yoğunluğu, konakçı savunmasının enfeksiyonu ortadan kaldırma kapasitesini aştığı zaman, abse oluşması efektif savunma olduğunu gösterir (7).

Peritonitte, peritonda lokalize inflamatuvar olay, üçüncü boşluklara sıvı kaybı ile hipovolemik şoka neden olabilir. Paralitik ileus, bakteriyel aşırı çoğalma ve bunların

sonucunda gelişen bu translokasyon ile erken dönemde endotoksinler sistemik dolaşıma geçebilir. Bakteriyemi, endotoksemi ve şok ciddi sistemik inflamatuvar cevabı aktive edebilirler. Dolaşımdaki serbest bakteriyel ekzotoksinler ve endotoksinler birçok organ fonksiyonunu olumsuz yönde etkiler. Sonuçta sepsis ve multiorgan yetmezliği tabloları gelişebilir (7).

2.2.1. Sepsis

Sepsis, birçok sistemi tutan, hemodinamik değişikliklere yol açan organ fonksiyon bozukluğu, organ yetmezliği ve şoka kadar gidebilen ölümcül bir enfeksiyon hastalığıdır (8). Çağımızdaki tüm gelişmelere rağmen enfeksiyon, sepsis, sistemik inflamatuvar yanıt sendromu (Systemic Inflammatory Response Syndrome, SIRS) ve ağır sepsis tanımları için 1991 yılında American College of Chest Physicians (ACCP) ve Society of Critical Care Medicine (SCCM) cemiyetlerinin ortak düzenledikleri uzlaşi konferansındaki tanımlar kullanılmaktadır (9). Bu tanımlar yapılırken amaçlanan mortalitesi yüksek olan bu klinik tablonun tanımlanmasında söz birliği olması, organ yetmezliklerinin erken tanınması, erken tedaviye başlanması ve mortalitenin azaltılması, ayrıca yapılan çalışmaların standardizasyonunun sağlanabilmesidir.

Bu uzlaşi konferansında, uzlaşılan tanımlardan biri de SIRS' dır. Adından da anlaşılabilceği gibi bu sendrom organizmanın tehditlere karşı verdiği sistemik nörohümmoral, endokrin ve kardiyovasküler bir cevaptır. SIRS tanısı için hastada şu şartlardan en az ikisi olmalıdır:

- Ateş (vücut ısısı $> 38.0^{\circ}\text{C}$) veya hipotermi (vücut ısısı $< 36.0^{\circ}\text{C}$),
- Taşikardi (kalp hızı $> 90/\text{dakika}$),
- Takipne (solunum sayısı $> 20/\text{dakika}$) veya hipokarbi ($\text{pCO}_2 < 32 \text{ mm/Hg}$),
- Lökositoz (lökosit sayısı $> 12.000/\text{mm}^3$) veya lökopeni (lökosit sayısı $< 4.000/\text{mm}^3$) veya lökosit formülünde genç formların %10' un üzerinde olması.

SIRS enfeksiyonlara ya da enfeksiyon dışı olaylara bağlı (yanıklar, travma, pankreatit, pulmoner emboli vb.) gelişebilir. Bu uzlaşi konferansında enfeksiyona bağlı gelişen SIRS tablosu sepsis olarak tanımlanmıştır. SIRS tanımı; özgül olmaması, SIRS kriterlerini sağlamayan hastalarda da benzeri mortalite oranlarının görülebilmesi, sağlanan kriter sayısının artmasının mortalite üzerinde etkisinin olmaması nedenleriyle eleştirildi (10,11).

Fakat tanım eksikliğinin olmaması, yatak başında klinisyen tarafından kolaylıkla kriterlerin kullanılabilmesi ve alternatif yöntemlerin olmaması nedeniyle halen geçerliliğini korumaktadır (12,13).

Daha önceleri sepsis tanısında enfeksiyonun mikrobiyolojik olarak kanıtlanması hatta bakteriyemi şart koşulurken sepsis tanısı için mikrobiyolojik kanıtın gerekli olmadığı belirtilmiştir (14). Anlaşılmıştır ki mikrobiyolojik bulgular, klinik bulgularla eř zamanlı olarak ortaya çıkmamakta, mikrobiyolojik bulgular ile tedaviye başlamak önemli zaman kaybına neden olmakta ve çeşitli nedenlerle çok sayıda enfeksiyonda mikrobiyolojik kanıt ulaşılamamaktadır. Fakat yine de sepsis hastalarında mikrobiyolojik tanı birçok yönden önem taşımaktadır ve vazgeçilmezdir. Sepsise hipotansiyon veya laktat yüksekliği veya organ yetmezliği eşlik ederse klinik tablonun adı Ağır Sepsis'tir. Ağır sepsiste hipotansiyon sıvı tedavisi ile düzeltilemiyorsa klinik tablo septik şok, hastanın tansiyonunu sağlamak için bir saatten uzun damar büzücü (vazopressör) tedavi gereksinimi varsa tanım refrakter septik şoktur (Tablo 1).

Tablo 1: Sepsis Tanımları

Sistemik Enflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS)	Aşağıdakilerden en az 2' sinin olması 1. Ateş > 38 °C ya da < 36 °C 2. Solunum sayısı > 20/dak ya da hipokarbi (pCO ₂ < 32mm/Hg) 3. Taşikardi (Kalp vurusu > 90/dak) 4. Lökositoz (lökosit sayısı > 12.000/mm ³) veya lökopeni (lökosit sayısı < 4.000/mm ³) veya lökosit formülünde genç formların %10' un üzerinde olması
Sepsis	SIRS varlığında kanıtlanmış enfeksiyon ya da ciddi enfeksiyon Şüphesi
Ağır Sepsis	Sepsis ve aşağıdakilerden en az birinin olması: 1. Kapiller geri dolum zamanı > 3 sn 2. Cutis marmoratus 3. İdrar çıkışı < 0.5 ml/kg (en az bir saat) ya da renal replasman tedavisi ihtiyacı ya da kreatinin değerinin > 0.5 mg/dl artışı 4. Laktat > 2 mmol/L 5. Mental durumda bozulma ya da anormal elektroensefalogram 6. Trombosit < 100.000/mm ³ ya da Dissemine İntravasküler Koagülopati (DİK) 7. Akut akciğer hasarı (ALI) (PaO ₂ /FiO ₂ < 300) 8. Kardiyak disfonksiyon 9. İleus 10. Hiperbilirubinemi (total bilirubin > 4 mg/dl)
Septik Şok	Ağır sepsis ve 1. Ortalama arter basıncı (OAB) < 60 mm-Hg (20- 30 ml/kg kolloid sıvıya ya da 40- 60 ml/kg kristalloid'e rağmen ya da ölçülen pulmoner kapiller kama basıncı 12- 20 mm-Hg iken) 2. Hipertansif hastalarda OAB < 80 mm-Hg ya da bilinen sistolik tansiyon değerinde 40 mm-Hg düşüş olması 3. Tansiyonu sağlamak için dopamin > 5 µg/kg/dak ya da norepinefrin < 0.25 µg/kg/dak ihtiyacı
Refrakter Septik Şok	OAB > 60 mm-Hg (hipertansiflerde > 80 mm-Hg) sağlamak için dopamin > 15 µg/kg/dak ya da norepinefrin > 0.25 µg/kg/dak olması

(9,13) no' lu referanslardan uyarlanmıştır.

2.2.2. Multiple Organ Disfonksiyonu Sendromu:

Multiple organ disfonksiyonu sendromu (MODS), genellikle sepsis ve septik şokun ileri dönemlerinde karşılaştığımız, organ sistemlerinde homeostazın müdahale olmaksızın sürdürülmesine imkan vermeyen bozuklukların olmasıyla karakterize, mortalitesi çok yüksek bir klinik durumdur. İlk kez 1969 yılında Shillman tarafından yoğun bakım hastalarında eroziv gastritten sonra gelişen, sepsis ve sarılıkla karakterize bir tablo tarif edilmiştir.

MODS tanısı için; 1989'da Knaus tarafından ortaya konulan 5 organ/sisteme ait yetmezlik bulguları şematize edilecek olursa, su bulgulardan en az ikisinin 24 saatten fazla bulunması gereklidir (15)

Kardiovaksüler sistem:

- Kalp hızı $<54/\text{dk}$.
- Ortalama arterial basınç $<49 \text{ mmHg}$
- Ventriküler taşikardi veya fibrilasyon

Respiratuar sistem:

- Solunum hızı $<5/\text{dk}$. veya $>49/\text{dk}$
- $\text{pH} <7,24$ ve $\text{PaCO}_2 >49 \text{ mmHg}$ veya $\text{PaO}_2 <50 \text{ mmHg}$
- Ventilatöre bağımlılık

Renal sistem:

- İdrar çıkışı $<479 \text{ ml /24 h}$
- Serum BUN $>100 \text{ mg/dl}$
- Serum kreatinin $> 3,5 \text{ mg/dl}$

Hematolojik:

- Lökosit sayısı $<1000/\text{mm}^3$
- Trombosit sayısı $<20000/\text{mm}^3$
- Hct $<\%20$

Nörolojik:

- Glasgow koma skoru <6

2.2.3. Sınıflama

Peritonitler primer, sekonder ve tersiyer olarak üç grupta sınıflandırılır. İdiyopatik veya spontan peritonit olarak adlandırılan primer peritonit, periton boşluğunun karın içi organlardan kaynaklanmayan bakteriyel enfeksiyonudur. Bakterilerin periton boşluğuna ulaşması %50 olguda kan, diğer olgularda ise transdiyaframatik lenfatikler yoluyla, diyaliz kateteri, ventriküloperitoneal şantlar gibi yabancı cisimler, genital, üriner ve sindirim sisteminden translokasyonla veya direk yayılımla olur. Çoğunlukla batın içi organların inflamasyonu, perforasyonu veya delici karın yaralanmaları sırasında ortaya çıkan tablo sekonder peritonittir (16). Tersiyer peritonit ise; peritonit ve sepsisi olan hastalarda, tedavide cerrahi girişim uygulananlarda ve başarılı antibiyotik tedavisi uygulananlarda gelişir. Konakçı defans yetmezliği söz konusudur. Bu hastalarda tanımlanmış bir enfeksiyon odağı olmaksızın sepsisin klinik bulgusu vardır ve genellikle rekürren veya rezidüel enfekte sıvıların drenajı için gereksiz laparatomiler uygulanmıştır. Sıklıkla hiçbir patojen yoktur veya düşük patojenitesi olan koagülaz negatif stafilokok ve mantarların neden olduğu bir tablo söz konusudur (17).

Neden ne olursa olsun batın içi enfeksiyon periton, barsaklar ve onu takiben sekonder endokrin, kardiyak, respiratuar, renal ve metabolik olaylara yol açan sıvı kompartmanını ilgilendiren lokal ve sistemik cevap olarak ortaya çıkar. Bu patofizyolojik cevap, klinik olarak görülen belirti ve bulguları açıklar.

2.2.4. Klinik ve Laboratuvar Bulguları

Klinikte genellikle karın ağrısı vardır. Başlangıçta, ağrı otonom sinir sistemi irritasyonuna bağlı olarak özgül olmayabilir ve çoğunlukla peritoneal inflamasyonun en fazla olduğu bölgededir. Ağrı şiddetinin zamanla azalması inflamatuvar olayın lokalize olduğunu, artması ise yaygın peritonit geliştiğini düşündürür. Hemen her zaman iştahsızlık ve bulantı vardır, bazen kusma eşlik eder. Susuzluk hissi, titreme ile yükselen ateş (38-40°C) vardır. Karın ağrısı nedeni ile yüzeysel solunum mevcuttur. Batın distansiyonu vardır. Batında hassasiyet, defans, rebound mevcuttur. Erken dönemde barsak sesleri duyulabilirken, inflamasyon yayıldıkça paralitik ileus yerleşir ve barsak sesleri duyulamaz. Taşikardi ve zayıf periferik nabız hipovolemiyi gösterir. Hipovolemi ilerledikçe şok tablosu yerleşir.

Lökositoz sık görülür, ancak masif peritoneal inflamasyon bölgeye lökosit mobilizasyonuna yol açarak periferik lökopeniye neden olabilir. Lökositozun $25000/\text{mm}^3$ ün üzerinde veya lökopeninin $4000/\text{mm}^3$ ün altında olması ile mortalite artar (17).

2.2.5. Tedavi

Tedavide amaç mortalite ve morbiditenin azaltılmasıdır. Patojenlerin daha iyi tanımlanmaları, bunlara etkin antimikrobiyal tedavinin kullanımı, erken cerrahi prensiplerinin uygulanması ve cerrahi tekniklerindeki gelişmeler ile mortalite son yıllarda %30'un altına inmiştir. Erken cerrahi tedavi prensipleri;

- a) Enfeksiyon kaynağının kontrolü ve ortadan kaldırılması,
- b) Bakteri, toksin ve nekrotik materyalin konsantrasyonunun azaltılması veya ortadan kaldırılması,
- c) Rezidüel bakterilerin ilaçla tedavisi,
- d) Organ fonksiyon bozukluklarının düzeltilmesi

Cerrahi tedavide ise amaç, batın içindeki pürülan ve nekrotik materyali temizlemek, enfeksiyöz odağı ortadan kaldırmaktır (17).

2.3. İNFLAMASYON

Organizmanın, hücre hasarı oluşturacak uyarılara karşı vaskülarize konnektif dokuda verdiği koruyucu yanıtıdır. Amaç, organizmayı hücre hasarı oluşturan uyarandan ve bu hasarın sonucunda oluşan nekrotik materyal ve dokulardan temizlemektir. İnflamatuvar yanıt konnektif doku, plazma, dolaşan hücreler ve kan damarlarını içerir. İki tip inflamasyon mevcuttur. Akut inflamasyon, nisbeten kısa süreli, birkaç dakika ila birkaç gün arasında olup esas özellikleri plazma protein ve sıvısının eksudasyonu, lökositlerin emigrasyonudur. Kronik inflamasyon ise, daha uzun sürelidir ve histolojik olarak lenfositler ve makrofajların bulunuşu, kan damarları proliferasyonu ve konnektif dokunun mevcudiyeti ile birliktedir (18).

2.3.1. Akut İnflamasyon

Organizmanın hücre hasarı oluşturacak uyarana karşı verdiği ani ve erken yanıtıdır. Üç majör komponenti vardır. Kan akışında artışa neden olan damar çapındaki değişiklikler, plazma protein ve lökositlerinin sirkülasyondan dışarı çıkmasına yol açan mikrosirkülasyondaki striktürel değişiklikler, mikrosirkülasyondan lökositlerin emigrasyonu

ve hasar bölgesinde toplanması. Hasarlı bölgede artan kan akışı ile karakterize vasküler olay, arteriolar dilatasyon ve kapiller yatağın açılmasıyla meydana gelir. Artan vasküler permeabilite, proteinden zengin ekstravasküler sıvı birikimine neden olur ve eksüdayı meydana getirir. Plazma proteinleri, damarları ya venüllerin genişlemiş intraendotelial hücre bileşkelerinden veya direk endotelial hücre hasarlanmasıyla terk eder. Baslıca nötrofiller olmak üzere lökositler, önce adezyon molekülleriyle endotele yapışır, sonra mikrosirkülasyonu terk eder ve kemotaktik ajanların etkisi ile hasarlı bölgeye doğru göç ederler. Bunu, hasar oluşturan etkenin fagositozu takip eder ve bu da mikroorganizmanın ölümüne yol açabilir. Kemotaksis ve fagositoz esnasında aktive lökositler toksik metabolitleri ve proteazları ekstrasellüler olarak açığa çıkarabilir ve bu da endotelial ve doku hasarına yol açabilir (18).

2.3.2. Kronik İnflamasyon

Akut inflamasyonu takiben gelişebilir veya hasarlanmanın başından itibaren kronik olabilir. Akut inflamatuvar yanıt, hücre hasarı oluşturan uyarının devam etmesi halinde ya da normal iyileşmedeki bazı bozukluklarda kronik hale geçebilir. Çoğu durumlarda kronik inflamasyon primer olay olarak başlar. Genellikle, akut inflamasyona yol açan uyarılara göre daha az toksik ajanlara maruziyet söz konusudur. D s k toksisiteli intrasellüler mikroorganizmalarla gelişen persistan enfeksiyonlar, parçalanamayan cansız materyale (silika inhalasyonu) uzun süre maruz kalma veya bazı otoimmün reaksiyonlar kronik inflamasyona yol açar. Kronik inflamasyon makrofaj, lenfosit ve plazma hücrelerini, doku detruksiyonunu ve fibrozisi içeren özellik tasır (18).

2.3.3. İnflamasyonun Kimyasal Medyat rleri

İnflamasyonun vasküler ve selüler yanıtları, plazma ve hücrelerden çıkan ve inflamatuvar stimulusla meydana gelen kimyasal faktörlerle ortaya çıkmaktadır. Bu kimyasal medyatörler ve sitokinler, bir arada veya sırayla etki yaparak inflamatuvar yanıtı oluştururlar. Medyat rler, aktive edilince veya hücreden salınınca çoğu bozulur veya inaktive olur. Bu şekilde, medyatör etkilerinin ayarlanmasında kontrol ve denge sistemi vardır. Hemen tüm medyatörler, hedef hücredeki spesifik reseptöre bağlanarak biyolojik aktivitelerini meydana getirirler (18).

2.3.3.1. Vazoaktif Aminler:

Histamin; konnektif dokuda yer alan mast hücrelerinde, kanda bazofillerde ve trombositlerde bulunur. Artan vasküler permeabilitenin ani fazının başlıca medyat r d r (18).

2.3.3.2. Plazma Proteazları:

Kinin sistemi aktivasyonu, bradikinin olusumuna yol açar. Bradikinin, arterioler dilatasyona, endotel hücre kontraksiyonu ile venüler permeabilite artışına ve ekstrasellüler düz kas kontraksiyonuna neden olur. Kompleman sistemi hem immünitede, hem de inflamasyonda önemli rol oynayan bir dizi plazma proteini içerir. En kritik basamak, kompleman C3'ün aktivasyonu olup diğer tüm kompleman komponentleri, C3 ile etkileşimleriyle ilgili olarak fonksiyonel üniteler şeklinde sınıflandırılabilir. Bu gruplar da, vasküler fenomen, kemotaksis ve fagositoz gibi inflamasyonun çeşitli aşamalarında rol oynarlar. Pıhtılaşma sistemi de bir seri plazma proteini olup Hageman faktörü ile aktive edilebilir. Son basamakta, trombinin etkisiyle fibrinojenden fibrin oluşumu esnasında meydana gelen fibrinopeptidler, vasküler geçirgenliği artırır ve lökositler için kemotaktiktir (18).

2.3.3.3. Araşidonik Asit Metabolitleri:

Araşidonik asit, poliansature bir yağ asidi olup hücre membranındaki fosfolipidlerde bulunur. Araşidonik asit metabolizması sonucunda, siklooksijenaz yoluyla oluşan prostoglandinler ve lipooksijenaz yoluyla oluşan lökotrienler inflamasyonun hemen her basamağını etkiler (18).

2.3.3.4. Trombosit Aktive Eden Faktör:

Trombosit stimülasyonuna ilaveten vasküler permeabilite artışı, lökosit migrasyonu, adezyonu, kemotaksis ve bir dizi sistemik hemodinamik degisikliklere neden olur (18).

2.3.3.5. Sitokinler:

Özellikle aktive lenfosit ve makrofaj gibi birçok hücreden salınan, değişik yapıda bir grup çözünür proteinden oluşan polipeptitlerdir. Bazı karakteristik özellikleri vardır:

- a)Çok düşük konsantrasyonlarda ($<10^{-11}$ mol/L) aktif olan protein yapısında hormonlardır.
- b)Doğal ve spesifik immünitenin efektör evresinde üretilirler.
- c)Diğer polipeptit hormonlar gibi, hedef hücredeki spesifik reseptörlere bağlanarak etki gösterirler.

d)Konağın immün ve inflamatuvar yanıtlarına aracılık ederler ve önemli otokrin, parakrin ve endokrin etkileri vardır (19).

Sitokinlerin inflamasyondaki en önemli etkileri endotel üzerine olan lokal etkileri ile sistemik olarak akut faz reaktanları ve fibroblastlar üzerinedir. Endotelyal adezyon moleküllerinin yüzey düzenlemesini sağlar ve endotelin trombojenitesini arttırmaları (18).

2.4. OKSİDATİF STRES VE SERBEST RADİKALLER

2.4.1. Oksidatif stres

Oksidatif stres; herhangi bir nedenle oksidan üretiminde artış ve antioksidan savunma mekanizmasında yetersizlik nedeniyle aradaki dengenin bozulması sonucunda oluşan doku hasarı olarak tanımlanmaktadır (3).

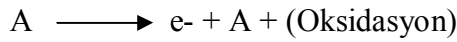
Oksidatif stres insandaki birçok patolojik durumun meydana gelmesinde, ilerlemesinde ve komplikasyonlarının ortaya çıkmasında önemli yere sahiptir. Bu konuyla ilgili yapılan çalışmalar çoğunlukla oksijenin indirgenmesiyle oluşan serbest radikallerin organizmadaki biyolojik ve kimyasal özelliklerine aittir. Oksijen, serbest radikallerin ana kaynaklarından birisi olup genel görüş, serbest radikallerin oksidan özelliğinin yapısındaki oksijenden kaynaklandığı yönündedir.

Gerçekte oksijen radikallerinin üretimi normal biyolojik fonksiyonların ayrılmaz bir parçasıdır. Serbest radikaller her zaman oksidan aktivite göstermez ve sadece oksidatif stresten sorumlu değildirler. Serbest radikaller ve oksidasyon organizmada birçok biyokimyasal reaksiyon ve hücre iletim sisteminde rol almaktadırlar. Bazal koşullarda tüm aerobik hücrelerde; solunum, fagositoz, araşidonik asit metabolizması gibi reaksiyonlarda bir miktar serbest oksijen radikali oluşur ve bunlar sağlıklı bir organizmada antioksidan savunma mekanizmaları tarafından hızla ortadan kaldırılır (20,21).

Oksidatif stres, tüm hücrelerde yapısal ve fonksiyonel değişiklikler oluşturarak hasara neden olabilir. Oksidatif stresin hücredeki başlıca bilinen hedefleri çoklu doymamış yağlar, şekerler, proteinler ve nükleik asittir. Oksidatif stres, iyon dengesi hücre redoks sistemini, hücre içi haberleşmeyi ve gen transkripsiyonunu etkiler, sonuç olarak, hücre döngüsünü etkileyerek hücrenin ölümüne neden olur (22).

2.4.2. Serbest Radikaller ve Oksidanlar

Serbest radikaller; paylaşılmamış bir veya birden fazla elektrona sahip molekül veya atomlar olup, paylaşılmamış elektronun üzerinde olduğu oksijen molekülleridirler (23). Ortamda bulunan kimyasal veya fiziksel enerji kaynaklarının, kovalent bağlarında hemolize sebep olarak iki farklı türde paylaşılmamış olan elektron oluşturmaları serbest radikal oluşumuna neden olur. Bir diğer radikal oluşturma yöntemi de redoks reaksiyonudur. Bu reaksiyonlarda bir elektronun kaybı veya kazanılması söz konusudur.



Her oksidasyon bir redüksiyonla birliktedir. Böylece kütle kuralına göre oksidatif strese her iki reaksiyon da yer alır. Serbest radikallerin aktiviteleri farklılık gösterir. Hidroksil ($\text{HO}^\cdot$) gibi bazı radikaller yüksek aktiviteye sahipken, E vitamininin oksidasyon ürünü olan tokoferoksil gibi bazı bileşiklerin aktiviteleri çok önemli değildir. Serbest radikallerin hedef molekülle kompleks oluşturma reaksiyonları; başlangıç, ilerleme ve sonlanma olmak üzere üç aşamada meydana gelir. Serbest radikalın etkinliği substrata ve bulunduğu fiziksel şartlara göre farklılık gösterir. Aynı serbest radikal, aynı maddeyi oksidant veya redüktant olarak kullanabilir. Reaksiyonun oluşma hızı; ortamın ısısına, pH'sına ve ortamdaki katalizörlere bağlıdır (24).

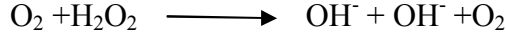
2.4.3. Serbest Radikal Reaksiyonları

Oksijen radikalleri içinde, süperoksit anyonu ($\text{O}_2^\cdot$), oksijenin bir elektron almasıyla oluşan ilk ürün olup, en kolay ve en fazla oluşan serbest radikaldır. Canlılarda diğer radikallerin oluşumu sıklıkla $\text{O}_2^\cdot$ nin birikimine bağlıdır. $\text{O}_2^\cdot$ radikalının ana kaynağı ise moleküler oksijenin metabolize edildiği, mitokondriyal elektron transport zinciridir. Elektron transport zincirinde moleküler oksijenin biyolojik oksidasyonu, organizmaya enerji kazandıran ve yaşamın devamını sağlayan bir süreç olup, bu zincirin ara basamaklarında $\text{O}_2^\cdot$ oluşur ve normal şartlarda oluşan $\text{O}_2^\cdot$ ler organizmadan dismutasyon denilen bir dizi reaksiyon vasıtasıyla uzaklaştırılır (23).

Bu reaksiyonlar hidrojen peroksit (H_2O_2) ve perhidroksi ($\text{OH}_2^\cdot$) radikallerinin meydana gelmesi ile sonuçlanır. Bu dismutasyon reaksiyonları kendiliğinden meydana gelebileceği gibi süperoksit dismutaz (SOD) tarafından da katalizlenebilir.

Oluşan H₂O₂, SOD gibi antioksidan enzim sistemlerinden olan katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSHPx) ile suya dönüştürülür.

Oksijen radikalleri içinde en fazla reaktif olan hidroksil (OH[•]) radikalidir ve hemen her molekül ile reaksiyona girebilme özelliğine sahip olup invivo oluşumu için Haber Weis reaksiyonuna gereksinim vardır. Bu tepkimede O₂⁻ ve H₂O₂ etkileşir ve sonuçta OH[•] radikali meydana gelir.



2.4.4. Serbest Oksijen Radikalleri

Oksijen 8 atom numaralı kararsız bir element olup doğada dioksijen (O₂) halinde bulunur. Bu durum, enerji düzeylerindeki elektronlarının yapısıyla ilişkilidir (25).

Oksijen molekülündeki aynı yöne dönen iki elektrona sahip 2P son orbitali önemlidir ve bu orbitallerden herhangi birindeki elektron, bir orbitali bırakıp diğerine geçtiğinde veya farklı yönde döndüğünde "singlet oksijen" oluşur. Orbitallerden birine ters dönüşlü iki elektron veya ikisine ters dönüşlü iki elektron daha eklenirse "oksijen radikali " meydana gelir.

Serbest oksijen radikalleri, biyoaktif lipitler örneğin araşidonik asitler, lipit oksidasyonunun alt ürünleri, aldehytler-alkenaller, hücre içi enzimler ve metalleri lokal ve sistemik olarak etkileyerek doku hasarı meydana getirirler (26).

Tablo 2: Oksijen Türevi Bileşikler

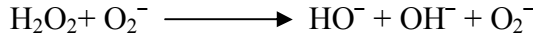
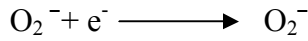
Radikal olanlar	Radikal Olmayanlar
Hidroksil (HO [•])	Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)
Alkoksil (RO [•])	Singlet Oksijen (O ₂)
Peroksil (ROO [•])	Ozon(O ₃)
Superoksit (O ₂ ⁻)	Hipoklorid (HOCl)
Nitrik oksit (NO [•])	Lipid hidroperoksit(LOOH)
Azot dioksit (NO ₂ [•])	Peroksinitrit (ONOO [•])

Oluşan radikal eşleşmemiş tek elektronu nedeniyle dengesiz olup hızla ortamdan kaybolur. Bu yüzden bu radikaller tek elektronlarını bir başka moleküle verebilir (redüksiyon) ya da bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilirler (oksidasyon). Sonuçta radikal olmayan yapıyı radikal şekle dönüştürebilirler (25).

2.4.4.1. Süperoksit Radikalleri (O_2^-)

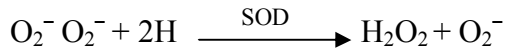
Süperoksit radikalleri (O_2^-), hücrelerde redükte elektron taşıyıcılarının otooksidasyonu ile oluşmaktadırlar. O_2^- oluşumu; elektron taşıyıcısının redoks durumuna ve ortamdaki oksijen derişimine bağlıdır.

Zayıf bir oksidan olan O_2^- kendi başına önemli hücre hasarına yol açması olağan değildir, ancak oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonu tetikleyebilir (27). Bu reaksiyonların en önemlilerinden biri Haber-Weiss reaksiyonu olup, O_2^- ve H_2O_2 demir varlığında etkileşerek oldukça reaktif olan HO^- radikalini oluştururlar.



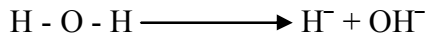
Üretilen bu OH^- oldukça reaktif olup DNA gibi önemli yapılarla reaksiyona girerek önemli hasarlar oluşturabilmektedirler (28).

O_2^- , hücre içi demir depolarından demiri serbestleştirir ve serbest haldeki demir iyonu Haber-Weiss gibi reaksiyonlarda veya diğer serbest radikal aracılıklı hücre hasarında rol alabilir. Süperoksit radikalleri çok kısa bir yarı ömre sahip olup dismutasyon ile H_2O_2 ve oksijen oluştururlar. Dismutasyon reaksiyonu spontan olarak meydana gelir ve SOD enzimi ile katalizlenir.

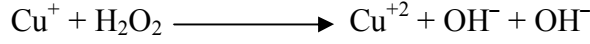
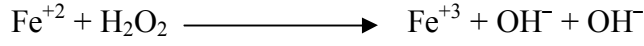


2.4.4.2. Hidroksil Radikalleri (OH^-)

Hidroksil radikali (OH^-), biyolojik sistemlerdeki en potent serbest radikaldır. Dokular radyasyona maruz kaldıklarında, enerjinin çoğu hücre içindeki su tarafından absorblanır ve radyasyon oksijen-hidrojen arasında kovalent bağa neden olur. Sonuçta biri hidrojen (H), diğeri OH^- olan iki radikal meydana gelir.

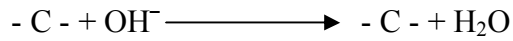


Hidrojen peroksitin (H_2O_2) Fe^{+2} veya Cu^{+2} ile reaksiyona girmesiyle de OH^- radikali meydana gelmektedir. H_2O_2 toksisitesinin büyük çoğunluğunun temelinde oluşan OH^- radikali olduğu düşünülmektedir. Bu reaksiyon ilk defa 1894 yılında Fenton tarafından gözlenmiş ve günümüzde de Fenton reaksiyonu olarak bilinmektedir.



OH^- , başta lipid, protein ve nükleik asitler olmak üzere hemen hemen bütün hücresel moleküllerle reaksiyona girebilmektedirler. OH^- , DNA da bulunan deoksiriboz molekülüne etki ederek çeşitli ürünler oluşturur ve bu oluşan ürünlerin bazıları mutajeniktir. Yine OH^- aromatik halkaya katılma özelliğine sahip olduklarından DNA ve RNA'da bulunan pürin ve pirimidin bazlarına katılarak radikal oluşumuna yol açarlar. Böyle bir dizi reaksiyona katılabilen OH^- , DNA'nın baz ve şekerlerinde ciddi hasarlar oluşturarak DNA'da iplik kalmaları meydana getirir, ancak büyük hasarlar hücresel koruyucu sistemler tarafından onarılamayabilir ve bunun sonucunda mutasyonlar ve hücre ölümleri görülür (27,28).

OH^- , DNA'nın pürin ve pirimidin bazları ile etkileşmenin yanısıra tiol grubu içeren biyolojik moleküllerden H atomu da koparabilme özelliğindedir. Sonuçta oluşan sülfür radikallerinin ilginç kimyasal özellikleri olup, O_2 ile kombine olabilir ve oksisülfür radikallerini meydana getirir. RSO_2^- ve RSO^- gibi bunların birçoğu da biyolojik moleküllerde hasar oluştururlar. OH^- 'ın sebep olduğu en iyi bilinen biyolojik hasar lipid peroksidasyonudur. OH^- , özellikle araşidonik asit gibi doymamış yağ asit yan zincirlerinden -C atomunun birinden H atomunun çıkartılması ve su oluşumu ile sonuçlandığı reaksiyonlarda olduğu gibi membran fosfolipitlerinin doymamış yağ asit yan zincirlerine hücum eder.



Bu reaksiyon sonunda membranda kalan - C - radikali oksijen ile kombine olarak peroksil radikalini oluşturur.

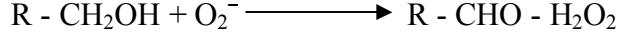
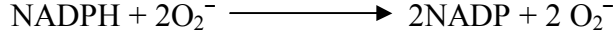
Peroksil radikalleri aktif olup yakınındaki doymamış yağ asitlerinin yan zincirlerine saldırır; böylece birçok yağ asidinin yan zincirlerini lipid hidroperoksitlere dönüştürür ve membranda lipid hidroperoksitlerinin birikimi de membran fonksiyonunda bozulmaya neden olur. Peroksil radikalleri ve sitotoksik aldehytler, membran proteinlerinde ciddi hasar oluştururlar ve membrana bağlı bazı enzim ve reseptörleri inaktive ederler (29,30,31).

2.4.4.3. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit (H_2O_2) eşleşmemiş elektronu bulunmadığından aslında bir radikal değildir. Süperoksit anyonunun (O_2^-) hidrojenle yaptığı reaksiyona dismutasyon reaksiyonu denir ve reaksiyon hızı asidik pH değerlerinde fazladır (30).

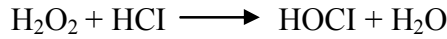
Reaksiyon şu şekilde ifade edilir; $2O_2^- + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2^-$

Bazı enzimler ile tekli (NADPH oksidaz) ya da çiftli (Glukoz oksidaz) elektron eklenmesi katalize edilerek O_2^- veya H_2O_2 oluşması sağlanır.



2.4.4.4. Hipoklorik Asit (HOCl)

Hipoklorik asit (HOCl), radikal olmamasına rağmen reaktif oksijen türleri (ROT) içinde sınıflandırılır. Bakterilerin fagositik hücreler tarafından öldürülmesinde rol oynar. Radikal üretiminin fagositik hücrelerde bakteri öldürülmesinde önemi büyüktür. Aktive olan nötrofiller, monositler, makrofajlar ve eozinofiller tarafından süperoksit radikalleri (O_2^-) üretilir ve özellikle nötrofillerde miyeloperoksidaz enzimi aracılığıyla önce O_2^- oluşturulur ve daha sonra bunun dismutasyonu ile oluşan H_2O_2 klorür iyonu ile birleştirilerek potent bir antibakteriyel olan HOCl meydana getirilir.



2.4.4.5. Singlet O_2

Bu molekül de yapısında eşleşmemiş elektron bulundurmadığından serbest radikal değil fakat serbest radikal reaksiyonlarını başlattığından serbest radikal olarak kabul edilmiştir. O_2 , oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönünde bir yörüngeye yer değiştirmesi ile oluşabileceği gibi O_2 'nin dismutasyonu ve H_2O_2 'nin hipoklorit ile reaksiyonu sonucunda da meydana gelebilir. Deri ve retina gibi gün ışığına maruz kalan bölgelerde sıkça oluştuğu saptanmıştır.

Serbest oksijen radikallerinin etkisiyle peroksil ($ROO^\cdot$), alkoksil ($RO^\cdot$), tiol radikalleri ($RS^\cdot$) veya karbon merkezli radikaller ($R^\cdot$) meydana gelebilir. Bu radikallerin tekrar oksijenle reaksiyonu sonucu yeni serbest radikaller ortaya çıkabilir (32).

2.4.4.6. Ozon (O_3)

Ozon, güneş ışınlarına karşı önemli bir stratosferik koruyucudur, ancak yeryüzünde toksik ve istenmeyen, oksidan bir ajandır. Bazı bilimsel cihazlarla, fotokopi makinelerinde kullanılan ışık kaynakları tarafından oluşturulur ve kirli şehir havasında bulunur. Akciğerlere zararlı olup, DNA, lipid ve proteinleri kolayca okside etme yeteneğine sahiptir (33).

2.4.5. Reaktif Nitrojen Türleri (NO, NO₂, NO⁺, NO⁻)

(bkz. Nitrik Oksit)

2.4.6. Başlıca Serbest Radikal Üretim Kaynakları

Serbest radikaller organizmada normal hücre metabolizması sırasında meydana gelen oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları sırasında oluşabildiği gibi çeşitli dış kaynaklı nedenlerle de oluşabilir. Hücre organellerinin her birinde farklı miktarda radikal oluşur. Bununla birlikte stres, radyasyon ve ksenobiyotikler aktive olmuş fagositlerde serbest radikal üretimini arttırabilirler. Mitokondrial elektron transport sistemi (METS), sitokrom P-450, sitokrom b-5, ksantin oksidaz, triptofan dioksijenaz, lipooksijenaz, prostoglandin sentetaz, hemoglobin, flavoproteinler, lipid peroksidasyonu, iskemi, travma ve entoksikasyon gibi durumlar, moleküler otooksidasyon yapan tiol, hidrokinon, katekolamin ve antibiyotik gibi moleküllerin hepsi hücresel serbest radikalleri oluşturabilirler (32,34). Serbest radikal oluşturan kaynaklar endojen ve ekzojen olmak üzere iki gruba ayrılabilir.

2.4.6.1. Endojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları

Normal şartlar altında metabolizmada, birçok biyokimyasal reaksiyonun çeşitli basamaklarında serbest radikaller oluşmaktadır. Bu serbest radikal yapısına sahip maddelerin organizmaya zarar verme potansiyelleri varsa da, bazı metabolik olayların ilerleyebilmesi için oluşmaları kaçınılmazdır.

2.4.6.1.1. Mitokondriyal Elektron Transport Sistemi (METS)

Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılır ve tüketilen oksijenin % 1-5 kadarı süperoksit ile sonlanır. METS deki radikal oluşumunun nedeni NADH dehidrogenaz ve koenzim Q gibi elektron taşıyıcılardan oksijene olan elektron kaçışıdır. Fizyolojik koşullarda reaktif oksijen türlerinin temel kaynağı normal oksijen metabolizmasıdır. Dolayısıyla normal koşullar altında METS serbest radikal üretiminin en önemli kaynağıdır (35).

2.4.6.1.2. Endoplazmik Retikulum (ER)

ER da bulunan sitokrom P-450 sistemi moleküler oksijeni kullanarak birçok substratı oksitler. Oksijen molekülünün bir atomu substrata bağlanırken, diğer atomu su oluşturur. Bu reaksiyon monooksijenaz veya karışık fonksiyonlu oksidaz reaksiyonu olarak isimlendirilir.

Kimyasal ajanların serbest radikal oluşturmadaki en önemli mekanizmaları, mikrozomal sitokrom P-450 sistemi aktivasyonudur ve bu sistemde moleküller ya indirgenerek ya da oksitlenerek serbest radikal oluşturulur. Son durumda bir elektron eksikliği mevcuttur ve elektrofilik bir bileşik oluşur ve bu bileşik de bir nükleofil ile reaksiyona girer. Bu elektrofilik bileşiği çeken en önemli molekül sistein kalıntıları üzerindeki tiyol (-SH) grubudur. -SH grubu ise bir çok endojen makromolekülde (DNA, RNA, enzimler, vb) bulunduğu için reaktif ara ürünler bu moleküllerle kovalent bağlanarak toksik etki gösterebilirler (36).

2.4.6.1.3. Redoks Döngüsü

Ksenobiyotiklerden serbest radikal oluşumu sadece mikrozomal reaksiyonlarla olmayıp, menadion, parakuat, dikuat, nitrofurantoin, gibi ilave bir çiftlenmemiş elektron kazanma eğilimindeki bileşikler alternatif bir redoks siklusu oluştururlar. Bu ajanlardan oluşan radikaller, tekrar ana bileşiğe dönuşmek için oksijenle kolayca oksitlenir ve süperoksit radikalini meydana getirirler (37).

Oluşan ksenobiyotik ve süperoksit radikalleri hücreiçi ferritin depolarından demiri serbestleştirir ve sitozole salınan demir, Fenton reaksiyonunda katalitik rol alarak reaktif bir serbest radikal olan hidroksil radikali gibi ikincil radikallerin oluşumunu sağlar (27).

2.4.6.1.4. Araşidonik Asit Metabolizması

Hücre membranlarındaki prostaglandin için en önemli doymamış yağ asidi kaynağı araşidonik asittir. Fagositik hücrelerin uyarılması, fosfolipaz ve protein kinazın aktivasyonu, plazma membranlarında araşidonik asidin salınımına neden olur ve araşidonik asidin siklooksijenaz ile katalizlenen oksidasyonu sonucu prostaglandinler, lipooksijenaz ile katalizlenen oksidasyonu ile de lökotrienler oluşur ve bu tepkimeler sırasında serbest radikaller meydana gelir (38).

Siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerinin ikisi de aktiviteleri için peroksitlere gereksinim duyarlar. Siklooksijenaz aktivitesi daha sonra prostaglandinlerin sentezi içinde gerekli olan endoperoksitlerin oluşumuyla sonuçlanırken, lipooksijenaz lipid peroksitler üzerinden lökotrienlerin oluşumunu katalizler. Ayrıca bu sırada bazı ksenobiyotiklerden oluşan reaktif ara ürünler hedef moleküllerle etkileşerek toksisite gösterirler (38).

2.4.6.1.5. Fagositoz

Aktive fagositler intrasellüler radikal oluşumuna neden olurlar (Tablo 2) ve bu serbest radikaller patojenlerle savaşta önemlidirler. Ksenobiyotikler, radyasyon ve stres aktive olmuş fagositlerde serbest radikal üretimini arttırmırlar.

Fagositlerin ürettiği reaktif oksidan ürünler:

Trombositler	H_2O_2, O_2^-, OH^-
Nötrofiller	$H_2O_2, O_2^-, OH^-, HOCl$
Eozinofiller	$H_2O_2, O_2^-, OH^-, HOCl,$
Makrofajlar	$H_2O_2, O_2^-, OH^-, HOCl, NO^-$

Doku makrofajları (kupffer hücreleri, alveolar makrofajlar), kan monositleri gibi fagositik hücreler ve nötrofiller, eozinofiller, bazofiller gibi granülositler immunolojik veya özel bir uyarıyla uyarıldıklarında lizozomlarını dışarı vermeye başlarlar. Reaktif oksijen oluşumunun yanısıra, mitokondri dışındaki oksijen üretiminde bir patlama (solunumsal patlama; respiratory burst) görülür. Fagosit edilmiş, patojenler oksidan ajanlarca öldürülür ve bu oksidanlar solunumsal patlama ile sağlanır. Oluşan oksidan ajanlar patojenleri öldürmenin yanısıra myeloperoksidaz sistemi üzerine de etkilidir. H_2O_2 ve hipoklorit kombinasyonu myeloperoksidaz sistemine de etkiyerek güçlü bir antimikrobiyal etkinlik göstermektedir. Bu radikaller memeli bakteri ve parazitlerine karşı sitotoksik etkiye sahip oksidanlardır. Membran peroksidasyonu, membran proteinlerinin dekarboksilasyonu ve/veya oksidasyonuna yol açıp membranın bütünlüğünü bozabilir ve DNA'yı okside ederek parçalayabilir. Fagositik kaynaklı oksidanlar; ototoksik, immunosupresif ve mutajenik etki gösterebilirler (38).

2.4.6.1.6. Otooksidasyon

Doku bileşenlerinin çoğu moleküler oksijenin varlığında kimyasal olarak stabil olmayıp, normal şartlar altında metabolizmada az ya da çok otooksidasyona uğrarlar. Kolayca otookside olabilen bu bileşenler doku ve hücrelerin son derece önemli bileşenleridirler. Hemoglobin gibi metalloproteinler, hormonlar, tiyoller, doymamış membran lipidleri bunlara örnek olarak gösterilebilirler (39-41).

Bütün otooksidasyonlar sırasında serbest radikal intermediyerleri kadar aktive oksijen türleri de üretilerek vücudun radikal kaynaklarına katkı sağlanmış olur.

2.4.6.1.7. Oksidan Enzim Reaksiyonları

Aerobik organizmalarda oksijenin katıldığı birçok reaksiyonda oksijenin tek değerlikli indirgenmesiyle süperoksit anyonu oluşabilir. Glikojen oksidaz, ksantin oksidaz, NADPH oksidaz, NADH oksidaz, diamin oksidaz, ürat oksidaz gibi enzimler bunlardan bazılarıdır.

Üzerinde en çok çalışılan enzim olan ksantin oksidaz (XOD) aslında ksantin dehidrogenaz (XDH) olarak sentezlenir ve dokularda bu şekilde bulunmaktadır ve elektronlarını moleküler oksijene değil NAD'ye verir ve süperoksit anyon radikali oluşturmaz. Fakat XOD sülfidril oksidasyonu ya da sınırlı proteolizis ile dehidrogenaz formunda oksidaz formuna dönüşebilir. XOD moleküler oksijeni kullanarak H_2O_2 ve O_2^- oluşturmaktadır (42).

2.4.6.2. Ekzojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları

Serbest radikaller, eksojen nedenlerle de oluşabilir. Radyasyon, sigara dumanı, zehirli gazlar, ilaçlar, kanserojen maddeler ve pestisitler bilinen en önemli ekzojen serbest radikal üretim kaynaklarıdır (43).

2.4.7. Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri

2.4.7.1. Serbest Radikallerin Lipitlere Etkileri

Serbest radikallerin en önemli etkisi lipit peroksidasyonu olarak adlandırılan lipitler üzerindeki etkileridir (44,45). Lipit peroksidasyonu doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerle reaksiyonu ile yağ asidindeki metilen grubundan bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Biyolojik sistemlerde bu radikalın süperoksit anyon radikali ile hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir ve süperoksit anyon radikali hidroksil radikaline dönüşmektedir. Benzer şekilde hidrojen peroksitin de hidroksil radikaline dönüştüğü bilinmektedir. Bu nedenle lipit peroksidasyonu hidroksil radikali tarafından başlatılmaktadır (44).

Hidrojen atomunun uzaklaşmasıyla meydana gelen serbest yağ asidi radikali moleküler oksijen ile reaksiyona girerek peroksit radikalini oluşturur, oluşan peroksit radikali yüksek reaksiyon yeteneğine sahip olup başka bir yağ asidi molekülü ile yeni bir hidroperoksit ve yeni bir yağ asidi radikali oluşturur ve bu yağ asidi radikali yeniden oksijen ile etkileşerek RH'dan yeniden bir hidrojen atomunun ayrılmasını sağlar. Bu zincir reaksiyon oluşan yeni radikallerin de etkisiyle devamlı olarak artan bir hızla devam eder (44). Bu şekilde oluşan lipit peroksit birçok reaksiyonda RO^- ve OH^- verecek şekilde parçalanır ve bu oluşan radikaller

hemen substrat ile reaksiyona girerek yeni zincir reaksiyonlarını başlatacak olan R[•] Radikallerini meydana getirirler ve bu şekilde oluşan bir radikal sürekli olarak yeni radikallerin oluşmasına yol açar (45).

Malondialdehit (MDA) kanda ve idrarda ortaya çıkar, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü olmamakla beraber lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde malondialdehit (MDA) ölçülmesi lipid peroksit seviyelerinin indikatörü olarak kullanılır.

Lipit peroksitleri hücre zarlarının önemli bir bileşeni olup Fe, Cu gibi geçiş metallerinin varlığında alkoksi ve peroksi radikallerini oluştururlar. Bu nedenle Fe veya Cu tuzları lipit peroksidasyonunu hızlandırırlar. Sonuçta hücre zarının akışkanlığını ve geçirgenliğini bozarak membran bütünlüğünün bozulmasına yol açarlar. Lizozomal membranlarda oluşan hasar hidrolitik enzimlerin salınmasına ve hücre içi sindirime yol açar. Biriken hidroperoksitler direkt olarak toksik etki göstermenin yanısıra duyarlı aminoasit kalıntılarını da (sistein, histin, methionin, lizin) okside edebilir veya zincir polimerizasyon reaksiyonlarıyla enzimleri inaktive edebilirler (38,46).

Paraoksonaz lipid peroksitlerini, kolesterol linoleatları, hidroperoksitleri ve hidrojen peroksitlerle olan LDL-K oksidasyonunu inhibe eder (47). HDL-K metabolizması ve revers kolesterol transportunu etkileyen en önemli faktörler HDL-K ile ilişkili enzimler olan paraoksonaz (PON) ve lesitin kolesterol acil transferaz (LCAT) enzimleridir. Yani PON HDL-K'nun oksidasyonunu da önler ve HDL-K'nun revers kolesterol transport kapasitesinin korunmasına yardımcı olur.

2.4.7.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Bu etki proteinlerin aminoasit içeriğine göre değişir. Protein molekülleri üzerindeki sülfhidril veya amino gruplarıyla serbest radikallerin etkileşmesi sonucu proteinlerde üç çeşit yapısal değişiklik görülür; 1) Aminoasitlerin modifikasyonu, 2) Proteinlerin fragmentasyonu, 3) Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmaları (48).

Aromatik aminoasitler (fenilalanin, tirozin, triptofan), doymamış yapılarından dolayı oksidatif etkiye çok hassastırlar. Sülfürlü amino asitler (sistein ve sistin) de serbest radikal etkisine hassas amino asitlerdendirler. Proteinin temel yapısındaki değişme, antijenitesinde değişikliğe ve proteolize duyarlı hale gelmesine neden olabilir. Radikaller, membran

proteinleri ile reaksiyona girebilir ve enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarında bozulmaya yol açabilirler (49).

Serbest radikallerin etkisiyle IgG ve albümin gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları zarar görür ve normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar gören proteinlerden olup, özellikle oksihemoglobin O_2^- veya H_2O_2 ile reaksiyona girerek methemoglobin oluşturur (50).

2.4.7.3. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu ile hidrojen peroksid, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelirler. Bunlar diyabet ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıklar gibi patolojik süreçlerde önemlidirler. İnflamatuvar eklem hastalıklarında synovial sıvıya geçen PML'lerden extrasellüler sıvıya salınan H_2O_2 ve O_2^- buradaki hyalüranoik asidi parçalarlar, ayrıca gözün vitröz sıvısındaki hyalüronik asitin oksidatif hasarı da katarakt oluşumuna katkıda bulunur (49).

2.4.7.4. Serbest Radikallerin DNA'ya Etkileri

Serbest radikallerin, DNA'ya etkileri, mutasyonlara ve hücre ölümlerine yol açmaktadır. Hidroksil radikali bazlarla ve deoksiribozlarla kolayca reaksiyona girerken hidrojen peroksit ise membranlardan kolayca geçebildiğinden hücre çekirdeğindeki DNA'ya ulaşarak hücrede disfonksiyona hatta ölüme yol açabilir. Bundan dolayı DNA kolay etkilenen bir moleküldür.

ROT ve RNT ile oluşan DNA hasarlarının çok az bir kısmı doğal olarak oluşmaktadır (51). Oksidasyon, metilasyon, depürinasyon ve deaminasyon reaksiyonları DNA hasarlarının oluşumunda yer alan endojen reaksiyonlardır. Nitrik oksid veya nitrojen dioksit (NO_2), peroksinitrit ($ONOO^-$), dinitrojen trioksit (N_2O_3) ve nitrik asit (HNO_3) gibi reaktif ürünler nitrozasyon ve deaminasyon reaksiyonları ile mutajenik aktivite gösterebilirler. Farklı ROT'leri farklı yollardan DNA hasarlarına neden olurlar (52). Örneğin O_2^- ve H_2O_2 hiçbir zaman bazlarla reaksiyona girmez, ancak OH^- , DNA'daki dört bazdan herhangi birine bağlanarak farklı reaktif ürünlerin oluşmasına yol açabilmektedir (53). Singlet oksijen ise guanine spesifik bağlanarak hasar oluşturur (54). Hidroksil radikali pürin bazları ile C4, C5 ve C8 pozisyonlarından reaksiyona girerek sırasıyla C4-OH-, C5-OH-, ve C8-OH- pürin radikallerini oluşturur ve C4-OH- ve C5-OH-pürin radikalleri dehidrasyona uğrayarak okside pürin radikallerini oluştururlar. C8-OH-pürin radikallerinin bir elektronlarının oksidasyonu ve bir elektronlarının redüksiyonu ile sırasıyla 8-hidroksipürinler (7,8-dihidroksi-8-oxo-pürinler)

ve formamidopirimidinler oluşur (54). İndirgeyici ajanlar formamidopirimidinlerin oluşumunu arttırırken 8-OH-pirimidinlerin oluşması için oksijenli ortam gerekmektedir. 8-OH-guanin çok yaygın olarak meydana gelen bir baz hasar ürünü olduğundan oksidatif DNA hasarlarının ölçülmesinde hasar indeksi olarak kullanılmaktadır. Çoğunlukla 8-hidroksideoksiguanozin (8-OH-dGua) nükleoziti şeklinde ölçülmektedir (55).

Timinin alil radikalının oksidasyonu ile 5-hidroksimetilurasil ve 5-furmilurasil meydana gelmektedir. Dehidrasyon ve deaminasyon reaksiyonlarına yalnızca sitozin katılabilmekte ve böylece sitozin; glikol dehidrasyonla urasil, glikol deaminasyon ile 5-hidroksi urasil (5-OH-Ura), dehidrasyon ve deaminasyon ile de 5-hidroksisitozini (5-OH-Cyt) meydana getirmektedir (25).

Hidroksil radikalının DNA'daki şeker grubu ile etkileşmesi, beş karbon atomunun herhangi birinden bir H atomunun çıkarılmasıyla olmaktadır (43). Şeker radikalleri birçok farklı reaksiyonla oluşmaktadır. Oksijensiz sistemlerde C4 ' merkezli radikaller parçalanmaya uğrar ve DNA zincirleri kırılarak sağlam baz ve değişikliğe uğramış şeker serbest kalır. C1 merkezli radikallerin oksidasyonu ile de şeker laktonu oluşumu ve sağlam bazın salınımı gerçekleşir. Oksijen yokluğunda, baz radikalleri kendilerine komşu olan şeker grubundan H atomu alarak şeker radikallerini oluştururlar ve sonuçta zincir kırılmalarına neden olurken, oksijenli ortamda karbon merkezli şeker radikale moleküler oksijenin eklenmesi sonucu peroksil radikalleri oluşur ve şeker peroksil radikallerinin en karakteristik özelliği de karbonkarbon bağını kırarak alkali bölge oluşturmalarıdır. C5' merkezli peroksil radikali oksil radikale dönüştürülerek parçalanma ile DNA zincirinin kırılmasına, sağlam bazın ve değişmiş şekerin serbest kalmasına yol açmaktadır (56). DNA'daki değişikliğe uğramış şeker grupları zincirden ayrılabilir ya da fosfat bağlarıyla DNA'ya bağlı kalabilir.

Baz ve şeker radikallerinin reaksiyonları sonucunda değişik modifiye baz ve şekerler, kontrolsüz baz dizilimi, zincir kırılmaları ve DNA-protein çapraz bağları meydana gelirler.

Oksidatif DNA hasarı denilen bu tip hasarlar sonucu yaşlanma, mutasyonlar ve kanserler ortaya çıkabilir (57).

2.5.ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

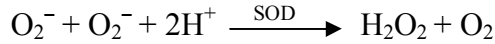
SOR'nin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücut "antioksidan savunma sistemi" adı verilen birçok savunma mekanizmasına sahiptir. Bütün hücrelerin oksidatif strese karşı güçlü savunma sistemleri vardır. Bu savunma sistemlerini serbest radikal

tutucular ve bazı enzimler oluşturmaktadır. Savunma sisteminde öncelikle enzim sistemi etkilidir (57).

2.5.1. Enzimatik Antioksidanlar

2.5.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

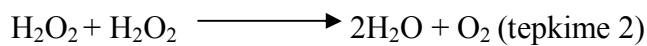
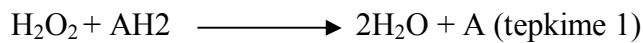
SOD süperoksit anyonunun hidrojen perokside dismutasyonu reaksiyonunu katalizler.



SOD, glutatyon peroksidaz (GPx) ve CAT oksijen radikalleriyle oluşan hasara karşı başlıca enzimatik savunma mekanizmalarıdır. SOD ile O_2^- 'nin dismutasyonu ile H_2O_2 oluşumu hücre için biyolojik avantaj sağlar. Hücreden H_2O_2 çıkarılması için SOD; CAT ve GPx enzimleri ile birlikte çalışmaktadır (57,58).

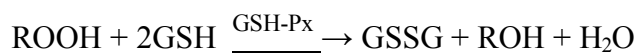
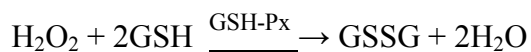
2.5.1.2. Katalaz (CAT)

Katalaz yapısında içerdiği hem grubundan dolayı hemoprotein olarak kabul edilmektedir (59). Kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek ve müköz membranda yüksek konsantrasyonda olup, H_2O_2 oluşum hızının düşük olduğu durumlarda peroksidatif tepkimeyle (tepkime 1), H_2O_2 oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda ise katalitik tepkimeyle (tepkime 2) hidrojen peroksiti suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırır (39).



2.5.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

GSH-Px, hidrojenperoksidlerin indirgenmesinden sorumludur. Tetramerik yapıda ve 4 selenyum atomu ihtiva eden sitozolik bir enzimdir. Birbirine kenetli enzim sistemi olan GSH-Px ve glutatyon redüktaz (GSH-Rd) glutatyon harcayarak H_2O_2 'nin redüksiyonunu katalizlerler (57).



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

Fosfolipid hidroperoksid glutatyon peroksidaz (PLGSH-Px) da molekül ağırlığı 20.000 dalton olan, monomerik selenyum atomu ihtiva eden sitozolik bir enzim olup membran fosfolipid hidroperoksidlerini, alkollere indirgemektedir. Membrana bağlı en önemli antioksidan olan vitamin E yetersizliğinde, PLGSH-Px membranın peroksidasyona karşı korunmasını sağlar.

GSH-Px'in, fagositik hücrelerde önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu ile fagositik hücrelerde oluşabilecek zararı önler. GSH-Px eritrositlerde de oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksit artışı ve şiddetli hücre hasarı ile sonuçlanır.

2.5.1.4. Glutation-S-Transferazlar (GST)

GST'lar antioksidan aktivitelerine ilave olarak çok önemli başka biyokimyasal fonksiyonlara da sahip olup, son yıllara kadar katalizledikleri reaksiyonlara göre sınıflandırılmaktaydılar (aril transferaz, alkil transferaz, epoksit transferaz ve alken transferaz gibi). Daha sonra yapılan çalışmalarda bu enzimlerin söz konusu reaksiyonların herhangi birine özgül olmadığı, iç içe geçmiş substrat özgüllüğüne sahip olduğu gösterilerek 'glutatyon-S-transferaz' adı altında toplanmıştır. Günümüzde ise türe bağımsız bir sınıflama yapıldığında GSTlar geleneksel olarak üç sitozolik bir de mikrozomal olmak üzere dört ana grupta toplanırlar.

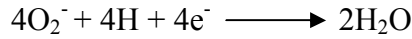
GST'lar, başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksidleri olmak üzere lipid peroksidlerine karşı Selenyum-bağımsız GSH peroksidaz aktivitesi göstererek bir savunma mekanizması oluştururlar.

Homodimerik veya heterodimerik enzimler olan GST'ların, araştırılan tüm canlı türlerinde bulunması bunların önemini göstermektedir. Bu enzimlerin katalitik ve katalitik olmayan birçok fonksiyonları vardır. Hem detoksifikasyon hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. Katalitik olarak; yabancı maddeleri glutatyon (GSH)'daki sisteine ait -SH grubu ile bağlayarak onların elektrofilik bölgelerini nötralize ederler ve ürünün daha fazla hidrofilik hale gelmesini sağlarlar. Oluşan bu GSH konjugatları bu yolla organizmadan uzaklaştırılabilir veya daha ileri metabolize olurlar. Bu GST'ların mutajen, kanserojen ve diğer zararlı kimyasalların intrasellüler detoksifikasyonunda rolleri olduğunu gösterir.

Metabolize edilemeyen lipofilik - hidrofobik pek çok bileşiği bağlamaları ise bu enzimlerin depo ve taşıma rolünü gösterir. Birçok pigment (bilirubin, hematin, bromsülfoftalein, indosiyenin green gibi), kolik asitler, steroid hormonlar, polisilik aromatik hidrokarbonlar bu proteinler tarafından bağlanıp taşınabilen maddelerdir.

2.5.1.5. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz, aşağıdaki reaksiyonla süperoksidi detoksifiye eden bir enzimdir.



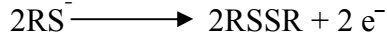
Bu reaksiyon, normal koşullarda sürekli cereyan eden normal bir reaksiyon olup bu yolla yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve enerji üretimi sağlanır. Ancak, süperoksid üretimi çoğu zaman bu enzimin kapasitesini aşar ve bu durumda diğer antioksidan enzimler devreye girerek süperoksidin zararlı etkilerini engellerler.

2.5.1.6. Tiyoller (SH)

Tiyol veya sülfhidril terimi, SH gruplarını ifade etmektedir ve biyolojik tiyoller, sülfür metabolizması ürünleridir. S-H bağının fiziksel özellikleri, reaktivitesine ve kimyasal özelliklerini yönlendirir. Biyolojik açıdan; pK, redoks potansiyeli ve serbest radikal oluşturma kapasitesi, tiyol biyokimyasının önemli noktalarıdır. Tiyoller (R-SH), H₂O'dan türeyen çeşitli alkoller (R-OH) ile bazı kimyasal özellikleri paylaşırlar ancak fiziksel olarak S-H ve O-H bağları farklılık gösterirler. O-H bağı S-H bağına göre daha kısa olup, daha kuvvetlidir. Oksijen ile karşılaştırıldığında, sülfürün daha düşük elektronegativitesine karşın, S-H bağının dissosiyasyon enerjisi ve asiditesi alkollere göre daha az olmaktadır. Tiyoller RS⁻ olarak reaksiyona girdiklerinde, reaksiyon hızı, pH ve tiyol reaktivitesi arasındaki bu ilişki sonucunda, tiyol pK'sı reaktivite indikatörü olarak kullanılmaktadır. pK ve reaktivite arasındaki bu ilişki, tiyolat iyonlarının nükleofilik oluşları ve yüksek pK'ya sahip zayıf asidlerin tiyolat anyonlarının elektronlarını, reaksiyonu hızlandırmak için kolayca vermeleriyle açıklanabilir. Özellikle sistein üzerindeki karboksil gruplarının tiyol pK sı üzerine negatif etkisi vardır.

Zayıf olan S-H bağının oksidasyonu O-H bağına göre daha kolaydır. Böylece, tiyoller ve alkoller oksidan ajanlara karşı farklı davranırlar. Karbonun oksidasyon seviyesinin arttığı alkol oksidasyonuna karşı, tiyol oksidasyonu sülfürün oksidasyonu üzerinden olmaktadır.

Tiyoller önce disülfidlere (RSSR) oksitlenir, daha kuvvetli oksidasyon durumlarında ise sülfenik (RSOH), sülfirik (RSOOH) ve sülfonik (RSOOOH) aside oksitlenirler. Biyolojik sistemlerde tiyol-disülfid redoksu önem arzeder. Biyolojik amino tiyollerin ve disülfidlerin redoks potansiyelleri benzerdir. Tam olmayan bir reaksiyonda, tiyol-disülfid değişimi potansiyeli-0.2--0.4voltkadardır(60).



Tiyoller, flavoproteinler, sitokromlar, askorbat, reaktif oksijen türleri, amino asitler gibi hücre içi moleküllerle reaksiyon sonucu disülfidlere oksitlenirken, amino tiyollerin otooksidasyonu ise bir metal katalizöre ihtiyaç duymakta ve kararsız tiyol radikallerini (RS^-) meydana getirmektedir. RS^- , solüsyonda serbest olan veya metaller ile kompleks yapan bir elektron kaybetmiştir (60).

Normal şartlarda, alkil ve aril halidlerle olan reaksiyonda, halidlerin yerini alarak sülfidleri oluşturur (RSR). Tiyollerin alkilasyonu, alkenlerin ($-\text{C}=\text{C}$) eklenmesi sonucunda da meydana gelmektedir. Biyolojik olarak bu reaksiyonun karşılığı; RS^- 'nin alfa beta doymamış karbonil gruplarına ($-\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$) beta pozisyonunda nükleofilik eklenmesi reaksiyonudur. Tiyoller ile vit K ve norepinefrin arasındaki reaksiyon bu reaksiyona örnektir. Tiyollerin izole karbon-karbon çift bağına eklenmesi, serbest radikal mekanizması açısından fazla önemli değildir. Tiyoller siyanatlardaki çift bağ ($\text{C}=\text{N}$) ile de reaksiyona girerek tiyokarbonatları ($\text{NH}_2-\text{CO}-\text{SR}$) oluşturabilirler (60).

Biyolojik amino tiyollerin karbonil ($-\text{C}=\text{O}$) grupları ile olan reaksiyonları sonucu oluşan ürünler, alkollerle olan reaksiyon sonucu oluşan ürünlerden farklılık göstermektedir. Tiyoller karbonil grupları ile etkileşerek tiyazolidinleri oluştururlar. Serbest amino grubu, sülfidril grubundan ne kadar uzaklaşırsa, kararlı halka türevlerinin oluşumu o kadar zorlaşır. Glutasyon örneği düşünülürse karbonil gruplarının eklenmesi ile hemimerkaptal meydana gelmektedir. Bazı piridoksal fosfata bağımlı enzimlerin inhibisyonu biyokimyasal olarak tiyazolidin oluşumu ile koreledir. Diğer taraftan izomerizasyon, dehidrojenasyon ve hidrasyon reaksiyonlarında, glutasyonun kofaktör rolü, hemimerkaptal oluşturma mekanizmasına bağlıdır (60,61).

Alifatik amino tiyoller, nitrojen dioksit (NO_2), dinitrojen trioksit (N_2O_3) ve dinitrojen tetraoksit (N_2O_4) gibi nitrojen oksitlerle (NO_x) olan reaksiyonlarında değişiklik gösterirler. Aynı özellik, tiyollerin hem proteinleri gibi metal-nitrozil kompleksleri ($\text{M}-\text{NO}$) ile

gerçekleştirdiği reaksiyonlar için de sözkonusudur. Bu NO_x bileşiklerinin kimyası, elektrondan zengin bazların eklenmesi ve çıkarılması reaksiyonları ile karakterizedir. Bu bileşikler NO^+ 'yu nükleofilik substatlara transfer ederler. Sonuçta S-nitrozotiyol (RS-NO) veya tiyonitrit oluşur. Bu bileşikler guanilat siklazı aktive ederek endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) metabolizmasında önemli rol oynarlar. EDRF'nin vazodilatör ve antiplatelet fonksiyonlarını redükte tiyollerle gerçekleştirmesi bu görüşü doğrulamaktır. Tiyonitrit dekompozisyonu, diğer metal veya tiyol içeren enzim aktivitelerini de etkileyebilir (62).

Metal içeren enzimlerin aktiviteleri ya NO-metal bağlanması veya S-metal bağlanması ile metal iyonlarının asit-kararlı şelatör komplekslerini oluşturmaları ile değişebilir. Tiyol içeren enzim aktiviteleri ise, RS-NO nun proteinlerin aktif veya allosterik tiyol bölgeleri ile transnitrozilasyon reaksiyonuna katılarak NO^+ transferi yapması ile oluşur. Gerçekte bu şekilde RS-NO dekompozisyonunun heterolitik yolla, NO'nun homolitik salınımından daha üstün olmakta ve birçok metabolik aktivitede rol almaktadır (62).

Tiyol grupları tokoferil radikalleriyle reaksiyona girerek tokoferolü tekrar meydana getirirler ve tokoferoller de, tiyol radikalleriyle birleşerek tiyolleri oluştururlar. Hücre içinde düşük molekül ağırlıklı en önemli tiyol GSH'dir. Dihidrolipoat gibi lipid çözünen, güçlü redüktan non-GSH tiyollerde mikrozomal peroksidasyonu inhibe eder ve tokoferolü korurlar ancak tripsinizasyon veya ısıtılma sonrasında kaybolmazlar (60-62).

GSH, fosfolipid hidroperoksitleri indirgeyen membran bağımlı GSH-Px üzerinden etki eder ve eksikliğinde hidroperoksitler hızlı ve geri dönüşsüz zincir reaksiyonları ile hızla birikirler. Tokoferol daha fazla zincir reaksiyonlarının oluşmasını engelleyerek hidroperoksit oluşturur ve peroksidazın azalmasının önüne geçer ve tokoferolün sisteinil veya diğer radikaller tarafından kullanılması halinde lipidlerin otokatalitik peroksidasyonuna karşı koruma potansiyeli azalır. Protein tiyol gruplarının oksidasyonu, mikrozomlarda tokoferol kaybına paralel olarak meydana gelir (60).

Hücrede birçok biyolojik, farmakolojik ve toksik reaksiyon, sinyal iletimi ile ilişkili olan tiyol-redoks değişiklikleri aracılığıyla gerçekleşmektedir. N-asetil sistein, penisilamin, merkaptopropionit glisin, dihidrolipoat ve kaptopril gibi geliştirilen bazı farmakolojik reaktif ajanların bazı spesifik özellikleri gözlenmiştir. Bazı sülfür içeren ajanlar, antioksidan özellikleri tedavide tercih nedenidir. Tiyoller, doku hasarını önlemek için proteinaz inhibitörlerinin oksidasyonunun baskılanmasında kullanılmaktadır ve okside olduklarında sülfidril grupları kalsiyum salınımına neden olurlar (61).

2.5.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

2.5.2.1. Askorbik Asit

Askorbik asit, suda çözünme özelliği gösteren bir vitamin olmasına karşın lipid peroksidasyonunu başlatan radikallerin etkilerini yok ederek, lipidleri oksidasyona karşı korur. Antiproteazların oksidan maddeler ile inaktive olmasını engeller. E vitaminin rejenerasyonunda görev alarak tokoferoksil radikalının α -tokoferole indirgenmesini sağlar ve böylece E vitamini ile birlikte LDL oksidasyonunu etkili bir şekilde engeller. Ayrıca fagositoz için de gereklidir. Bu vitaminin kemotaktik cevabı artırdığı saptanmış; oksidatif patlama sırasında çevreye yayılan reaktif bakterisidal moleküllerin antibakterisidal etkisini hücre içi konsantrasyonlarında bir azalma yapmadan, zarar verici etkilerini önlediği gözlemlenmiştir.

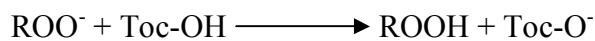
Askorbik asit, antioksidan etkileri yanında organizmada fenton reaksiyonunda ferri demiri ferro demire indirgeyerek hidrojen peroksitle etkileşmeye uygun olan süperoksit radikalının üretimine neden olur ve bu etkisi sebebiyle askorbik asit aynı zamanda pro-oksidan olarak kabul edilmektedir; fakat bu etkisi sadece düşük konsantrasyonlarda olup, yüksek konsantrasyonlarda güçlü bir antioksidandır (63).

2.5.2.2. β -Karoten (Vitamin A ön maddesi)

β -karoten yağda çözünen bir antioksidan olarak serbest radikalleri biyolojik hedeflerle reaksiyona girmeden direkt olarak onları yakalayabilir. Aynı zamanda zincir kıran bir antioksidan olarak etki ederek de peroksit radikallerin oluşumunu engeller (64).

2.5.2.3. Vitamin E (α -Tokoferol)

α -Tokoferol yağda çözünen ve zincir-kırıcı bir antioksidan olup en önemli görevi oksijen serbest radikallerine karşı membran lipidlerindeki yağ asitlerini korumaktır. Mitokondri, endoplazmik retikulum ve plazma membran fosfolipitlerinin α -tokoferole affinitesi çok yüksektir. Tokoferoller fenolik bir hidrojeni peroksidasyona uğramış bir doymamış yağ asidindeki serbest peroksit radikaline aktararak serbest radikal zincir reaksiyonları kırılmasını sağlarlar (37).



(Toc-OH = TOKOFEROL)

Oluşan serbest α -tokoferol radikali bundan sonra yeni bir serbest peroksit radikaliyle reaksiyona girer. Böylece α -tokoferol kolay geri dönüşlü oksidasyona uğramaz. Kroman halkası ve yan zincir şeklindeki serbest olmayan radikal ürününe okside olur ve bu ürün ikinci konumundaki hidroksil grubu üzerinden glukuronik asit ile konjugasyona uğrayarak safra ile atılır (65).

Tokoferolün antioksidan etkisi yüksek oksijen konsantrasyonlarında fazla olduğundan en yüksek oksijene maruz kalan lipid yapılarında örneğin eritrosit ve solunum sistemi membranlarında etkileri belirgindir (66).

2.5.2.4. Polifenoller

Fenoller, aromatik halkaya bağlı OH grubu içeren etkili antioksidanlardır, çünkü bu bileşiklerden oluşan radikaller, rezonans kararlılığına sahiptir, bu nedenle diğer radikallere göre etkin değildir.

2.5.2.5. Transferin ve Laktoferrin

Demiri bağlayarak lipid peroksidasyonu ve demir katalizli Haber-Weiss reaksiyonlarına katılımını durdurarak veya yavaşlatarak etkili olurlar.

2.5.2.6. Seruloplazmin

Plazma antioksidan aktivitesinin önemli bir kısmını akut faz proteini olan seruloplazmin kaynaklıdır. Seruloplazmin oksijen radikal ara ürünleri salınmaksızın Fe^{+2} 'yi Fe^{+3} 'e oksitler. Seruloplazmin demir ve bakır bağımlı lipid peroksidasyonu inhibe eder. Daha az önemli olmakla birlikte süperoksit radikali ile de reaksiyona girer.

2.5.2.7. Albümin

Albümin bakırı kuvvetli şekilde bağlarken, demiri zayıf olarak bağlar. Yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Albumine bağlı bakır, Fenton reaksiyonuna katılabilir fakat albumin yüzeyinde oluşacak olan OH radikali albumin tarafından temizlenerek radikalın serbestlemesine izin vermez. Aynı zamanda myeloperoksidaz türevi bir oksidan olan HOCl'i hızlı bir şekilde temizler.

2.5.2.8. Ürik Asit

Kuvvetli olarak demir ve bakır bağlama yeteneği olan önemli bir antioksidandır. Ayrıca lipid peroksidasyonunu inhibe etme ve radikalleri temizleme görevi vardır.

2.5.2.9. Bilirubin

Hem katabolizması ile meydana gelen ve albumine bağlı olarak taşınan bir safra pigmenti olup yağ asitlerini peroksidasyona karşı korur.

Plazmada antioksidanlar birbiri ile etkileşim içinde bulunurlar. Genel olarak bu maddeler sinerjist olarak çalışmaktadırlar. Bu etkileşimden dolayı, bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir etki yaparak total antioksidan kapasiteyi oluşturur. Bu sinerjizme örnek glutatyonun askorbatı, askorbatın da tokoferolün yeniden aktifleşmesini sağlaması gösterilebilir. Ayrıca bir antioksidandaki azalma diğerindeki artış ile kompanse edilebilmektedir. Total antioksidan kapasitenin (TAK) ve Total oksidatif stres (TOS) ölçümü, oksidanların ve antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler vermektedir. Bu yüzden kanın antioksidan durumunu saptamada toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan kapasite ölçümü giderek yaygınlaşmaktadır (67,68,69).

2.6. MALONDİALDEHİT

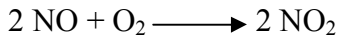
En önemli üç serbest oksijen radikali; süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), ve hidroksil iyonlarıdır ($OH^{\cdot}$). Serbest oksijen radikalleri aracılığıyla oluşan lipid peroksidasyonu, hücre membran hasarının önemli bir nedenidir, membran geçirgenliğini etkileyerek hücre içinde aşırı Ca^{+2} birikimine yol açar (70). Hücre membranı disfonksiyonu da, hücre şişmesi ve hücre ölümü ile sonuçlanır. Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonunda bir son üründür ve oksidatif hasarın düzeyini göstermede kullanılır (71-73).

2.7. NİTRİK OKSİT

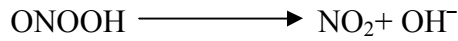
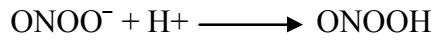
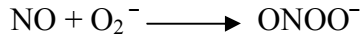
Nitrik Oksit (NO), Lipofilik özellikte ve oksijensiz ortamda oldukça karardır. Düşük konsantrasyonlarda iken, ortamda oksijen varlığında dahi karardılığını koruyabilen NO, biyoaktif memeli hücresinin bilinen en düşük molekül ağırlıklı ürünüdür (74-76). Diğer radikallerden farklı olarak düşük dozlarda toksik olmayıp, hatta fizyolojik olarak çok önemli fonksiyonları vardır (74). $NO^{\cdot}$; bir atom azot ile bir atom oksijenin çiftleşmemiş elektron vererek birleşmesinden oluştuğundan radikal tanımına uyar (77). Vasküler endotel

hücrelerinde, birçok izoformu tanımlanmış olan, Nitrik Oksid Sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla L-arjininden sentezlenir. NO'nın yarı ömrü 10-20 saniye gibi çok kısa bir zamandır. Kolayca düz kas hücresine girerek Guanilat Siklaz (GC) enziminin "hem" demirine bağlanır ve cGMP sentezini uyarak vazodilatasyonu sağlar. NO, aynı zamanda tiyol gruplarını S-nitrozilasyona uğratarak protein ve reseptör fonksiyonlarını da etkiler. Fe-S kümelerine afinite gösterdiği için bu grupları içeren ve hücre içi demir trafiğini kontrol eden akonitaz enzimine de bağlanır ve bu enzime mRNA bağlanmasını artırarak enzimin aktivitesini inhibe eder.

NO⁻, moleküler oksijen ile bağlanıp nitrojen dioksit (NO₂) oluşturarak metabolize olur:



NO' in reaktif oksijen türevleri (ROT) ile reaksiyona girerek güçlü bir oksidan olan peroksinitriti (ONOOH) oluşturduğu ve bunun da ileri dekompozisyonla OH radikalinin oluşumunu sağladığı belirtilmektedir:



Oluşan OH⁻ ise biyolojik olarak yıkıcı bir moleküldür. Ayrıca, peroksinitrit de tirozin gibi fenolik aminoasitleri nitrolayarak toksik nitro türevlerini (nitrotirozin) meydana getirmektedir. Sonuçta NO, endotel hücre disfonksiyonu ve bununla ilişkili olan DM, hipertansiyon, ateroskleroz gibi bazı önemli hastalıklarda etkili olabilmektedir.

2.8. PARAOKSONAZ

Glikoprotein yapıda, kalsiyum bağımlı bir ester hidrolaz olan paraoksonaz (PON), hem arilesteraz hem de paraoksonaz aktivitesine sahip bir enzimdir(87). Paraoksonaz gen ailesi, insanlarda 7q 21.3-22.1 kromozomunun uzun kolunda, birbiriyle bağlantılı PON1, PON2 ve PON3 şeklinde üç üyeden oluşmaktadır. PON1, hidrolize ettiği organofosfat substratlarına geri dönüşümlü olarak bağlanır. PON1, dolaşıma giren organofosfatların nörotoksitesinden sinir sistemini koruyucu bir ajandır (78). *In vitro* çalışmalar, PON1 ve PON3'ün LDL'nin lipid oksidasyonunu inhibe ettiğini, böylece ateroskleroza başlatan ve ilerleten okside lipid seviyelerini azalttığını göstermiştir (79). PON'lar için bildirilen fizyolojik roller arasında;

platelet-aktive edici faktör hidrolizi(80), lipid oksidasyonu (81), aterosklerotik vasküler hastalık için risk faktörü olarak bilinen homosistein tiyolakton hidroliz ve inaktivasyonu (82) yer almaktadır. PON1, makrofaj kolesterol biyosentezini inhibe eder ve makrofajlara kolesterol akışını stimüle eder (83-84). PON1 aynı zamanda kolesterol esterlerinin peroksitlerini metabolize eder(85). PON'ların antiaterosklerotik aktivitesi HDL partikülleri üzerindeki lokalizasyonları ile yakından ilişkili olup; kolesterol (aterosklerotik lezyonlarda köpük hücrelerinden) akışına aracılık eder ve LDL'nin lipid oksidasyonunda sınırlama rolüne sahiptir. PON1, HDL'nin glikasyon ve homosisteinilasyon yatkınlığında modülatör etkiye sahiptir (86). PON1'in LDL oksidasyonunun engellemesinde, Lesitin Kolesterol Açıltransferaz (LCAT) ve Apo A1 üzerinden etkili olduğu deneysel olarak kanıtlanmıştır(87).

2.9. TÜMÖR NEKROZİS FAKTÖR – alfa (TNF- α)

Solid tümörlerde tanımlanmış sitolitik bir peptittir(88). İlk kez 1893'de Newyork'lu cerrah William Coley tarafından, erizipelden alınan inokulasyon materyali içinde, malign tümörlerin nekrozuna yol açan bir toksin tanımlanmıştır (89) ve 1975'de Carwell ve arkadaşları tarafından ilk kez “Tümör Nekrozis Faktör” terimi kullanılmıştır (90). TNF- α , 233 aminoasitli bir prohormondan bir seri proteolitik reaksiyon sonucu ortaya çıkan, 157 aminoasitli bir polipeptiddir (91). Bu sitokin, birçok değişik hücrede mevcut olan özgül bir reseptörle etkileşime girer (92,93,94) ve bu reseptörlerin sadece %5' ini tutarak bir biyolojik yanıt oluşturabilir(94). Parazitemi, serebral malarya, transplantasyonda doku reddi, septik şok gibi birçok inflamatuvar reaksiyonda gözlenen hasardan TNF- α 'nın aşırı yapımı sorumlu tutulmaktadır(88). Değişik etkilerinden çoğunu, hücrel etkileşimlerle (parakrin etki) oluşturur(95). Birçok hücreden salınmakla birlikte asıl kaynağı, aktive olmuş mononükleer fagositlerdir. Lokal olarak nötrofil aktivitesini ve nötrofillerin endotele adherensini artırır. Patojenlerin hızlı eliminasyonunu indükler (88).

TNF- α , inflamasyonun erken sitokin yanıtlarındandır (116). İnflamasyonun başlamasına neden olan herhangi bir uyarıdan sonraki dakikalar içinde TNF- α salınımı başlar, 1 saatte pik yapar ve 3-4 saat sonra salınım durur (2). TNF- α düzeylerindeki kısa süreli yükselme, ardışık sekonder reaksiyonlara yol açar ve bunların etkileri, TNF- α serumdan kaybolduktan uzun süre sonra da devam eder. Bu sekonder etkilerin çoğu, muhtemelen TNF- α ile sinerjistik etkisi olan diğer sitokinlerin salınımına bağlıdır (96,97,98,99).

İnflamatuvar sürecin medyatörleri üzerine yapılan araştırmalar sonucunda sitokinlerin sayıları giderek artmaktadır. Ancak bu kadar çok sayıdaki sitokinden hangilerinin klinik

olarak anlam taşıdığı tam olarak aydınlatılamamıştır (100). Bu konudaki istisnalardan birisi TNF- α 'dır. TNF- α hakkında edinilen bilgiler temelinde bazı noktalar kesinleşmiştir:

1- Kritik enfektif hastalıkların başlangıcında kan dolaşımında saptanabilir. Dolaşımda TNF- α 'nın belirmesi kısa süreli olup semptomların ortaya çıkması ile birlikte seviyesi hızla düşmektedir. Değişik etyolojiye sahip enfektif hastalıkların prodrom döneminde ve hastalığın başlangıcında dolaşımdaki TNF- α kanıtlanmıştır. Bazı seçilmiş enfeksiyonlarda TNF- α konsantrasyonları hastalığın prognozu hakkında dikkat çekici bir doğrulukla önceden bilgi vermektedir (101,102).

2- TNF- α uygulanması, bakteriyel invazyonu takiben oluşarlardan ayırt edilemeyecek değışiklikler başlatır. Memelilerde rekombinant TNF- α verilmesi dolaşım kollapsı, böbrek yetmezliğı ve dissemine intravasküler koagülasyona bağı ölümüne neden olur. Otopsi bulguları ciddi gram-negatif sepsisemi sonrası gözlenenlerin aynısıdır (103). Köpeklerde subletal dozlarda TNF- α infüzyonu, sepsiste görülen karakteristik hormonal ve metabolik bozuklukları başlatmıştır (104).

3- TNF- α , letal sistemik inflamasyonda ortaya çıkan ilk medyatördür. Ölmekte olan konağın dolaşımında birçok medyatör bulunmakla birlikte, deneysel ve klinik araştırmalarda kan akımında ilk saptanan medyatörün TNF- α olduğu gösterilmiştir. İn vitro olarak TNF- α 'nın diğer medyatör ve yolakların çoğunu uyardığı bilindiğı için, letal sistemik inflamasyonda ilk sinyal olduğuna ilişkin oldukça güçlenen bir görüş mevcuttur.

4- TNF- α 'nın nötralizasyonu, sistemik inflamasyonu takip eden ölümden korur (105,106)

TNF- α 'nın septik sürecin en önemli medyatörlerinden biri olduğuna inanılmaktadır. İnflamasyonda konağın cevabını düzenleyen ilk sitokin olduğu hipotezini destekleyen birçok bulgu vardır (107): İlk olarak, septik şoktaki hayvanların serumlarında saptanmıştır. İkinci bulgu, genetik bir defektten dolayı TNF- α üretemeyen hayvanların letal endotoksin uygulamalarına dirençli olması ya da hasta hayvanlardan farmakolojik yöntemlerle TNF- α çıkarılmasının sağkalımda belirgin düzelmeye neden olmasıdır. Üçüncüsü ise, sağlıklı hayvanlara TNF- α verilmesi ile sepsise benzer klinik tablo görülmesidir (116). Örneğın ratlara yüksek konsantrasyonda TNF- α infüzyonu laktik asidoz, hipotansiyon ve ölümüne yol açmıştır. Bu hayvanların postmortem incelemesinde adrenal nekroz, pulmoner konjesyon, çekum nekrozu, intestinal iskemi, pankreatik infarkt, pulmoner inflamasyon ve anüri saptanmıştır (100-112).

TNF- α 'nın letal sistemik inflamasyonun patogeneğinde önemli rolü olduğunu düşündüren bu deneysel bulgular, daha sonra serum TNF- α düzeyleri ile hastalığın ciddiyeti ve septik şoka bağı mortalite arasında korelasyon olduğunu gösteren birçok klinik çalışmayla doğrulanmıştır (113,114,115). Calandra ve arkadaşları, septik şokta hayatta kalanlarda TNF- α düzeylerinde progresif bir düşme olduğunu, kaybedilen hastalarda ise ilk tanı ve tedavi süresince TNF- α düzeylerinin yüksek kaldığını bildirmişlerdir (114).

TNF- α 'nın sistemik inflamasyon ve bunun sonucunda gelişen septik şok ve multiorgan yetmezliği oluşum mekanizmalarındaki önemli rolü anlaşıldığından beri, tedavide TNF- α ve diğer inflamatuvar medyatörler üzerine etkili olacak, bunların oluşum ya da etkilerini baskılayacak modaliteler üzerinde durulmaya başlanmıştır. Konağın bu yıkıcı yanıtını düzenlemeye yönelik çabalar, yeni tedavilerin gelişimine yol açmıştır. Bu tedavi yöntemleri, direk endotoksini nötralize etmek, hücrelerden sitokin salınımını inhibe etmek, aşırı sitokin salınımının sonuçlarından korunmak için endojen medyatörlerin etkilerini direk bloke etme amacını güden tedavilerdir (19).

2.10. ETANERCEPT

2.10.1. Farmakolojik Özellikleri

Etanercept, rekombinant DNA teknolojisi ile üretilmiş, insan tümör nekrotize edici faktör reseptör p75 (TNFR2/p75) ve insan IgG1-Fc proteininin birleştirilmesi ile elde edilen bir insan tümör nekrotize edici faktör reseptör p75 -Fc füzyon proteinidir.

Tümör nekrotize edici faktör (TNF), romatoid artrite bağı inflamasyonda dominant sitokin işlevini görür. Psöriatik artritli hastaların sinovyalarda ve psöriatik plaklarında da TNF miktarları yükselir. Ankilozan spondilitli hastaların sinovyal dokularında ve serumlarında da TNF miktarları yükselir. Psöriazis plaklarında, psöriatik lezyon görülmeyen derideki seviyelerle kıyaslandığında T-hücreleri de dahil inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu, psöriatik lezyonlarda TNF seviyelerinin yükselmesine sebep olur.

Etanercept, TNF'in kompetitif inhibitörü olarak hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanmasını engeller ve biyolojik aktivitesini önler.

Romatoid artrit ve ankilozan spondilitte eklem patolojisi ve psöriazis vulgaris'te deri patolojisi, büyük oranda TNF tarafından kontrol edilen pro-inflamatuvar moleküller aracılığıyla düzenlenir. Etanercept etkisini, TNF'nin hücre yüzeyindeki TNFR'lere

bağlanmasını kompetitif olarak inhibe ederek, biyolojik aktivitelerini yok edip, TNF'e bağlı gelişen hücresel yanıtlarını önleyerek göstermektedir. Ayrıca etanercept, TNF'nin düzenlediği veya diğer moleküllerin (örneğin, sitokinler, adhezyon molekülleri veya proteinazlar) kontrol ettiği biyolojik yanıtları da değiştirebilmektedir.

Etanercept, subkutan (s.c) enjeksiyonundan sonra yavaş absorbe olur, tek dozda 48 saat içinde maksimum konsantrasyona ulaşır. Mutlak biyoyararlanımı %76 dır. Haftada iki defa alınan dozda beklenen sabit konsantrasyonları tek doz alımında gözlenenden iki kat fazla olur.

Etanercept vücuttan yavaş yavaş itrah edilir. Yarılanma ömrü, yaklaşık 80 saattir. Karaciğer ve böbrek yetersizliklerinde özel bir doz ayarı yapılmasına gerek yoktur. Farmakokinetik açıdan kadın ve erkek arasında bir fark yoktur. Yaşlı hastalarda, Etanercept'in klirens ve serum konsantrasyonları açısından 65-87 yaş grubu ile 65 yaşın altındaki hastalar arasında herhangi bir fark saptanmamıştır. Etanercept 4 yaşından küçük çocuklarda çalışılmamıştır.

2.10.2. Endikasyonlar

Etanercept, yetişkinlerde metotreksat dahil (kontrendike değil ise), hastalığı modifiye edici antiromatizmal ilaçlara yeterli cevap alınamayan durumlarda tek başına veya metotreksat ile birlikte aktif romatoid artrit kontrolünde kullanılır. Etanercept, önceden metotreksat ile tedavi edilmemiş yetişkinlerde ciddi, aktif ve ilerleyen romatoid artrit kontrolünde kullanılır.

Etanercept ayrıca, metotreksata yeterli cevap alınamayan veya metotreksatı tolere edemeyen 4-17 yaş arası çocuklarda aktif poliartiküler tip juvenil kronik artrit tedavisinde endikedir.

Etanercept, yetişkinlerde hastalığı modifiye edici antiromatizmal ilaçlara yeterli cevap alınamayan durumlarda aktif ve ilerleyen psöriatik artrit tedavisi için kullanılır.

Etanercept, erişkinlerde konvansiyel tedaviye yeterli cevap alınamayan ağır aktif ankilozan spondilitin tedavisinde endikedir.

Etanercept, yetişkinlerde siklosporin, metotreksat veya PUVA gibi sistemik tedaviler ile cevap alınamayan, bu ilaçların kontrendike olduğu, veya bu tedavileri tolere edemeyen hastalarda, orta şiddette veya şiddetli psöriazis vulgaris tedavisinde kullanılır.

2.10.3. Kontrendikasyonlar

İlacın etken maddesine veya içindeki diğer maddelere aşırı hassasiyet ile sepsis veya sepsis riskinin bulunduğu durumlarda kullanılmamalıdır. Aktif tüberküloz, kronik veya lokalize enfeksiyonlar dahil olmak üzere aktif enfeksiyonu bulunan hastalarda Etanercept tedavisine başlanmamalıdır.

2.10.4. Uyarılar/Önlemler

Enfeksiyonlar: Etanercept kullanımı ile ölüm dahil, ciddi enfeksiyon olayları ve sepsis rapor edilmiştir. Etanercept dahil TNF antagonistleriyle tedavi edilen hastalarda ender olarak tüberküloz gözlenmiştir. Etanercept ile tedavi gören hastalar, yeni bir enfeksiyon ortaya çıkması durumunda yakından takip edilmelidir. Hastada ciddi düzeyde enfeksiyon veya sepsis gözlenirse etanercept uygulaması derhal durdurulmalıdır. Kronik veya lokalize enfeksiyonlar dahil aktif enfeksiyonu olan hastalarda etanercept tedavisi uygulanmamalıdır. Sık sık tekrarlayan veya kronik enfeksiyon öyküsü olan hastalar ile, diyabet gibi hastanın enfeksiyonlara direncini azaltan durumlarda etanercept kullanımı düşünülüyorsa azami dikkat göstermelidir.

Allerjik reaksiyonlar: Etanercept kullanımı ile ilgili allerjik reaksiyonlar rapor edilmiştir. Ciddi allerjik veya anafilaktik reaksiyonlar görülmesi durumunda etanercept kullanımına derhal son verilmelidir.

İmmünosupresyon: TNF'nin inflamasyona aracılık etmesi ve hücrel bağışıklık sistemini düzenlemesi nedeniyle, etanercept dahil anti-TNF tedavileri, vücudun enfeksiyonlara ve kanser gelişmesine karşı savunmalarını etkileyebilir. Pazarlama sonrası dönemde değişik vücut bölgelerinde kanser gelişimi bildirimleri olmuştur (Bkz.Yan Etkiler/Advers Etkiler). Etanercept tedavisinin kanser gelişimi ile, aktif ve/veya kronik enfeksiyonlar üzerindeki etkileri henüz bilinmemektedir.

TNF antagonistleri ile yapılan klinik çalışmaların kontrollü bölümlerinde, TNF antagonisti alan hastalar arasında, kontrol hastaları ile karşılaştırıldığında, lenfoma sıklığında artış gözlenmiştir. Ancak, lenfoma oluşumu ender olarak görülmüştür ve plasebo hastalarının takip periyodu TNF antagonisti tedavisi uygulanan hastalarinkinden kısadır. Ayrıca, uzun süreli, yüksek aktiviteli, inflamatuvar hastalığı olan romatoid artrit hastalarında lenfoma riskinin

artması risk tahminini zorlaştırmaktadır. Güncel bilgiye göre TNF antagonisti ile tedavi gören hastalarda lenfoma veya diğer malinite oluşumu muhtemel riski göz ardı edilemez.

Hematolojik Reaksiyonlar: Etanercept kullanan hastalarda, bazıları ölüm ile sonuçlanan nadir olarak pansitopeni ve çok nadir olarak aplastik anemi rapor edilmiştir.

Geçmişinde kan diskrazisi bulguları olup etanercept tedavisi görmekte olan hastalara dikkat edilmelidir. Etanercept kullanmakta olan tüm hastalar kan diskrazisi veya enfeksiyonların (sürekli ateş, boğaz ağrısı, çürük, kanama, solukluk) muhtemel belirti ve semptomlarının gelişimine karşı uyarılmalı ve derhal medikal yardım istenmelidir. Bu tip hastalar acil olarak tüm kan sayımları dahil incelenmeli; eğer kan diskrazisi tespit edilir ise etanercept kullanımı durdurulmalıdır.

Otoantikör oluşumları: Etanercept ile tedavi, otoimmün antikorların oluşmasına neden olabilir.

Aşılar: Etanercept kullanan psöriatik artrit hastalarının çoğunluğu, polisakkarid pnömokok aşılarına etkili B-hücre bağışıklık yanıtı verebilmektedir, fakat toplam antikor titreleri oldukça düşüktür ve Etanercept kullanmayan hastalar ile kıyaslandığında az sayıda hastada antikor düzeyinde iki kat artış görülmüştür. Bu durumun klinik açıdan önemi bilinmemektedir. Canlı aşılar, etanercept ile birlikte verilmemelidir. Etanercept tedavisine başlamadan önce, mümkün olduğu oranda pediatrik hastaların geçerli lokal bağışıklama takvimine uygun olarak tüm aşıların tamamlanması önerilmektedir.

Santral Sinir Sistemi (SSS) Hastalıkları: Múltipl skleroz hastalarında etanercept tedavisini değerlendiren klinik çalışmalar yapılmamasına rağmen, bu hastalarda diğer TNF antagonistleri ile yapılan klinik çalışmalar hastalığın aktivitesinde artış göstermiştir. Etanercept ile tedavi gören hastalarda nadir olarak SSS'nde demyelinizan hastalıklar rapor edilmiştir; etanercept ile bu vakalar arasındaki ilişki henüz açıklanmış değildir. Önceden varolan veya yeni ortaya çıkmış demyelinizan SSS hastalığı bulunan veya bu tür riskleri olan hastalara etanercept tedavisi önerilirken nörolojik inceleme dahil risk/yarar değerlendirimi dikkatli bir şekilde yapılmalıdır.

Kardiyak Hastalıklar: Etanercept kullanan, tanımlanmamış presipitasyon faktörleri bulunan ya da bulunmayan hastalarda, konjestif kalp yetmezliğinin kötüleştiğine dair raporlar bildirilmiştir. Konjestif kalp yetmezliğinde etanercept kullanımının değerlendirildiği iki

büyük klinik çalışmadan birinin verileri, etanercept grubundaki hastalarda konjestif kalp yetmezliğinin kötüleşmesine doğru bir eğilim olduğu ihtimalini düşündürmüştür. Hekimler, konjestif kalp yetmezliği bulunan hastalarda etanercept'i kullanırken dikkatli olmalıdırlar.

Enfeksiyonlar: Hastalar, etanercept'in ortalama eliminasyon yarı ömrünün 80 saat olduğu da dikkate alınarak (28 saatlik standart sapma; 7 ila 300 saat arasında) Etanercept ile tedaviden önce, tedavi sırasında ve sonrasında enfeksiyonlar açısından değerlendirilmelidir

Tüberküloz: Etanercept ile tedaviye başlamadan önce TB açısından yüksek risk altındaki her hasta aktif ya da latent enfeksiyon açısından değerlendirilmelidir. Latent TB enfeksiyonunun profilaksisi Etanercept ile tedaviden önce başlatılmalıdır. Uygun lokal kılavuzlar dikkate alınmalıdır. RA bulunan hastalar yüksek bir TB enfeksiyonu oranına sahip gibi görünmektedirler. Etanercept tedavisinin bu riski arttırıp arttırmadığı bilinmemektedir.

Hepatit B virüsü reaktivasyonu: Etanercept de dahil olmak üzere anti-TNF ajanlar alan kronik virüs taşıyıcısı hastalarda hepatit B virüsünün (HBV) yeniden aktive olduğu bildirilmiştir. Bu bildirimlerin çoğu, eşzamanlı olarak immün sistemi baskılayan ve HBV reaktivasyonuna neden olduğu bilinen başka ilaçları kullanmakta olan hastalarda ortaya çıkmıştır. HBV enfeksiyonu riski altında olan hastalar, anti-TNF tedavisine başlamadan önce HBV enfeksiyonu kanıtı açısından değerlendirilmelidir.

Etanercept ile nedensel bir ilişki ortaya konmamış olsa da, HBV taşıyıcısı olduğu saptanmış hastalarda etanercept uygulaması sırasında dikkatli olunmalıdır. Eğer HBV taşıyıcılarında etanercept kullanılırsa, hastalar aktif HBV enfeksiyonunun belirti ve semptomları açısından takip edilmelidir.

Hepatit C'nin kötüleşmesi: Etanercept ile nedensel bir ilişki ortaya konmamış olsa da, etanercept alan hastalarda hepatit C kötüleşmesi bildirimleri yapılmıştır.

2.10.5. Yan Etkiler

Enjeksiyon bölgesinde reaksiyon

Enfeksiyonlar

Kanser Gelişimi

Otoantikör Oluşumu

Diğer istenmeyen etkiler:

Kan ve lenfatik sistem hastalıkları

Sık olmayan: Trombositopeni

Nadir: Anemi, lökopeni, nötropeni, pansitopeni

Çok nadir: Aplastik anemi

Bağıışıklık sistem hastalıkları

Sık: Alerjik reaksiyonlar, otoantikör oluşumu

Nadir: Ciddi alerjik/anafilaktik reaksiyonlar (anjiyoödem, bronkospazm dahil)

Genel hastalıklar ve uygulama bölgesi durumları

Sık: Ateş

Sinir sistemi hastalıkları

Nadir: Nöbet, multipl skleroz veya optik nörit ve transvers myelit gibi lokalize demyeline edici durumlar dahil SSS demyelinizan olaylar.

Solunum, torasik ve mediastinal hastalıklar

Sık olmayan: İntertisyel akciğer hastalığı (pulmoner fibrozis ve pnömonitis dahil)

Deri ve subkutan doku hastalıkları

Sık: Kaşıntı

Sık olmayan: Döküntü, ürtiker

Nadir: Kutanözvaskulit (lökositoklastik vaskülit dahil)

Kas-iskelet, bağ dokusu ve kemik hastalıkları

Nadir: Subakut deri lupus eritematozus, diskoid lupus eritematozus, lupus benzeri sendrom

Kardiyak hastalıklar

Nadir: Konjestif kalp yetmezliğinin kötüleştiğine dair bildiriler vardır.

Hepato-biliyer bozukluk

Nadir: Karaciğer enzimlerinde yükselme, otoimmün hepatit

3. MATERYAL METOD

Bu çalışma Dicle Üniversitesi Prof. Dr. Sabahattin PAYZIN Sağlık Bilimler Araştırma ve Uygulama Merkezi Deney Hayvanları Etik Kurulunun (DÜHADEK) onayı ile Dicle Üniversitesi Prof. Dr. Sabahattin PAYZIN Sağlık Bilimler Araştırma ve Uygulama Merkezinde (DÜSAM) yapılmıştır. Biyokimyasal analizler Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalı Merkez Laboratuvarında, histopatolojik incelemeler ise Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır. Deneysel araştırmamız Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğünce (Proje No:13-TF-34) desteklenmiştir.

3.1. DENEY PROTOKOLÜ

Çalışma toplam 28 adet erişkin dişi 200-250 gram ağırlığında olan Wistar Albino cinsi rat ile yapıldı. Deney öncesi tüm hayvanlar standart yem ve su ile beslendi.

Deney Grupları:

1.Grup: (Kontrol grubu) Herhangi bir madde enjeksiyonu yapılmadı.

2.Grup: (Peritonit grubu) Deneysel peritonit oluşturmak amacıyla İntraperitoneal E.Coli süspansiyonu 1,5 ml (10^7 CFU/ml) enjeksiyonu yapıldı. (Peritonit modeli olarak Yücel ve arkadaşlarının yaptığı gibi E.Coli enjeksiyonu ile oluşturulan deneysel peritonit modelini tercih ettik.)

3.Grup: (Peritonit + Sefazolin Sodyum grubu) Deneysel peritonit oluşturulan bu gruba E.Coli enjeksiyonundan 1 saat sonra 50 mg/kg dozunda intraperitoneal sefazolin sodyum verildi.

4.Grup: (Peritonit + Sefazolin Sodyum + Etanercept grubu) Deneysel peritonit oluşturulan bu gruba E.Coli enjeksiyonundan 1 saat sonra 50 mg/kg dozunda intraperitoneal sefazolin sodyum verildi.1 ve 4 saat sonra intraperitoneal (i.p.) etanercept uygulandı (Tuştaş Ay ve arkadaşları gibi 8 mg/kg/doz etanercept verildi). Etanercept uygulandıktan 24 saat sonra deney sonlandırıldı.

Cerrahi işlem öncesi ratların anestezisini sağlamak amacıyla 70mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar) (Eczacıbaşı ilaç Sanayi, istanbul, TÜRKİYE) intramuskuler (i.m.) uygulandı. Ratlar anestezi altında supin pozisyonda yatırılıp tespit edildi. Tüm gruplardaki ratlardan

histopatolojik ve biyokimyasal inceleme için karın ön duvarı orta hattın kesi yapıldı. Histopatolojik inceleme amacı ile karın ön duvarı orta hattının sol yarısından, biyokimyasal inceleme amacı ile sağ yarısından deri hariç 1 cm uzunlukta ve 3 mm kalınlıkta tam kat doku alındı. Histopatolojik değerlendirme yapılacak olan doku örnekleri %10'luk nötral formalinde fikse edildi. Biyokimyasal değerlendirme yapılacak olan doku örnekleri ise alüminyum folyolar içine alındı. Daha sonra yapılan sternotomi ile kalpten biyokimyasal inceleme için 5 ml kan örneği alındı. Bu uygulama ile aynı zamanda hayvanın öldürülmesi sağlandı.

Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler:

-Etanercept (Enbrel) Wyeth ilaçları A.Ş USA

-Sefazolin Sodyum (Sefazol flk – Mustafa Nevzat)

3.2. Biyokimyasal Analizler

3.2.1. Kan ve Doku Örneklerinin Hazırlanması

Kan örneklerinin biyokimyasal ölçümü için örnekler 5000 rpm devirde 8 dakika ve +4°C'de santrifüj edildi ve süpernatant çalışma için alındı.

Doku örnekleri homojenize edilinceye kadar -20°C'de dolapta saklandı. Doku homojenizasyonu Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Laboratuvarındaki bıçaklı doku homojenizatörüyle yapıldı. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında biyokimyasal çalışması yapıldı.

Biyokimyasal olarak, doku homojenizasyonu yapıldıktan sonra doku örnekleri ve kanda oksidatif stress parametreleri olarak ;

-Paraoksonaz (PON)

-Malondialdehit (MDA),

-Nitrik oksit (NO),

-Total antioksidan kapasite (TAK),

-Total oksidan stress (TOS),

-TNF- α çalışıldı.

3.2.2. Paraoksonaz ölçümü:

Tam otomatik RL0031 Rel Assay[®] Diagnostics Paraoxonase (Gaziantep-Türkiye) marka Paraoxonase Assay kit kullanılarak Abbott Architect[®] c16000 otoanalizörde çalışıldı. Tris tamponu içerisinde kalsiyum iyonu ile aktive edilen PON enzimi paroksonu p-nitrofenole (diethyl-p-nitrophenylphosphate) parçalamaktadır. P-nitrofenolün molar absorbitivitesi 18.290 M-1 cm-1 ve bir ünite paraoksonaz aktivitesi 37 °C'de dakikada oluşan 1 mol ürüne eşit olmaktadır. Absorbanttaki artış 412 nm de kaydedilmektedir. Yöntemin CVs %1.7 ortam pH:8.0'dır (117).

3.2.3. Malondialdehit Ölçümü:

Northwest Life Science Specialties marka NWLSS Malondialdehyde Assay kit kullanıldı. Tüpler hasta sırasına göre dizilir. İlk beş tüpe calibratör 0,1,2,3,4,5 (calibratör) olarak 250 µL konuldu. Diğer tüplere 250 µL örnek bırakıldı. Bunların üzerine 10 µL BHT Reagent, 250 µL Acid Reagent ve 250 µL TBA Reagent eklenir ve vortexlendi. 60 °C'de 60 dakika inkübe edildikten sonra 10.000 devirde 2-3 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan süpernatant pleytlere sırasıyla konularak Dynex tam otomatik microelisa cihazında 450 nm'de okutuldu.

3.2.4. Nitrik Oksit Ölçümü

Cayman Chemical Company 780001 Nitrite Colorimetric Assay kit kullanıldı. Boş pleyte sırasıyla 80 µL örnek bırakıldı. 200 µL blank olarak Assay buffer pleytin ilk kuyucuğuna bırakıldı. İkinci kuyucuğuna Assay buffer ile dilüe edilmiş 80 µL standartlar eklendi. Blank'e hiçbir reagent eklenmedi. Blank hariç hepsine 10 µL Enzyme cofactor mixture üzerine 10 µL Nitrate redüktase mixture eklendi. Oda sıcaklığında bir saat inkübasyona bırakıldı. Pleytteki kuyucuklara 50 µL Griess Reagent R1 ve 50 µL Griess Reagent R2 bırakılarak oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. Dynex tam otomatik microelisa cihazında 540 nm-550 nm arası okuma yapıldı.

3.2.5. Total Antioksidan Kapasite (TAK) ölçümü:

Tam otomatik RL0017 Rel Assay[®] Diagnostics (Gaziantep-Türkiye) marka (TAS) Assay 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 mmol troloks equiv / litre olarak verilir (117).

3.2.6. Total Oksidan Stres (TOS) ölçümü:

Tam otomatik RL0024 Rel Assay[®] Diagnostics (Gaziantep-Türkiye) marka (TOS) Assay 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 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L olarak verilir (117).

3.2.7. Serum TNF- α Ölçümü:

Serumda TNF- α düzeyleri “Biosource Rat TNF- α kit; lot. no: KRC3011” ile solid faz sandöviç Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) yöntemi ile ölçüldü. Tabak içindeki kuyucuklar, TNF- α için spesifik antikorlar ile kaplandı. Standartlar, kontroller ve örnekler kuyucuklara eklendikten sonra üzerlerine biotinlenmiş ikinci bir antikor eklendi. Birinci inkübasyon sırasında TNF- α antijenleri, immobilize antikorlara ve biyotinlenmiş antikorlara bağlandı. Ortamdaki fazla antikorların yıkama ile uzaklaştırılmalarından sonra streptavidin-peroksidaz enzimi eklendi. İkinci inkübasyon ve yıkama sonrasında bağlanmayan enzimler ortamdaki uzaklaştırıldı. Üzerlerine, enzime bağlanarak renk oluşturan substrat solusyonu eklendi. Oluşan rengin absorbansı, örnekte bulunan TNF- α konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Sonuçlar standartlardan oluşturulan konsantrasyon-absorbans eğrisinden pg/ml olarak hesaplandı.

3.3. Histopatolojik Değerlendirme

Histopatolojik olarak, rutin doku takipleriyle elde edilen parafin bloklardan rotarymikrotom yardımıyla 4-5 mikrometre kalınlığında parafin kesitler alındı. Parafin kesitler Hematoksilen-Eozin (H-E) ile boyanarak Nikon Eclipse 400 dijital fotoğraf makinası (NikonDSRi) ataçmanlı araştırma mikroskopunda değerlendirildi. Histopatolojik olarak Periton epitelinde dökülme (Desquamasyon), Lamina propriada konjesyon, Lamina propriada nötrofil infiltrasyonu, Lamina propriada ödem değerlendirildi. 0 dan 4 e kadar skorlandı.

4. BULGULAR

4.1. BİYOKİMYASAL BULGULAR:

4.1.1. Paraoksonaz Seviyeleri:

Serum ölçümlerinde Paraoksonaz Seviyeleri: Kontrol Grubu: 197.03 ± 37.63 (U/L), Peritonit Grubu: 124.61 ± 15.81 (U/L), Sefazol Grubu: 145.67 ± 7.75 (U/L), Sefazol+Etanercept Grubu: 157.70 ± 10.25 (U/L) ölçüldü.

Doku Ölçümlerinde Paraoksonaz Seviyeleri: Kontrol Grubu: 12.74 ± 3.32 (U/L) , Peritonit Grubu: 1.83 ± 2.54 (U/L), Sefazol Grubu: 4.82 ± 1.37 (U/L), Sefazol+Etanercept Grubu: 8.34 ± 1.14 (U/L) ölçüldü.

4.1.2. Malondialdehit Seviyeleri:

Serum ölçümlerinde Malondialdehit Seviyeleri: Kontrol Grubu: 0.73 ± 0.17 (mmol/ml), Peritonit Grubu: 1.67 ± 0.32 (mmol/ml), Sefazol Grubu: 1.28 ± 0.21 (mmol/ml), Sefazol+Etanercept Grubu: 0.90 ± 0.26 (mmol/ml) ölçüldü.

Doku Ölçümlerinde Malondialdehit Seviyeleri: Kontrol Grubu: 0.12 ± 0.25 (mmol/ml), Peritonit Grubu: 1.31 ± 0.41 (mmol/ml), Sefazol Grubu: 0.59 ± 0.35 (mmol/ml), Sefazol+Etanercept Grubu: 0.12 ± 0.07 (mmol/ml) ölçüldü.

4.1.3. Nitrik Oksit Seviyeleri:

Serum ölçümlerinde Nitrik Oksit Seviyeleri: Kontrol Grubu: 4.85 ± 0.39 (μ M/L), Peritonit Grubu: 5.80 ± 0.46 (μ M/L), Sefazol Grubu: 5.41 ± 0.32 (μ M/L), Sefazol+Etanercept Grubu: 4.90 ± 0.32 (μ M/L) ölçüldü.

Doku ölçümlerinde Nitrik Oksit Seviyeleri: Kontrol Grubu: 3.95 ± 0.87 (μ M/L), Peritonit Grubu: 6.65 ± 1.36 (μ M/L), Sefazol Grubu: 6.00 ± 0.52 (μ M/L), Sefazol+Etanercept Grubu: 5.29 ± 0.22 (μ M/L) ölçüldü.

4.1.4. Total Antioksidan Kapasite (TAK) Seviyeleri:

Serum ölçümlerinde Total Antioksidan Kapasite(TAK) Seviyeleri: Kontrol Grubu: 1.32 ± 0.10 (mmol/L), Peritonit Grubu: 0.87 ± 0.30 (mmol/L), Sefazol Grubu: 1.18 ± 0.10 (mmol/L), Sefazol+Etanercept Grubu: 1.56 ± 0.11 (mmol/L) ölçüldü.

Doku ölçümlerinde Total Antioksidan Kapasite(TAK) Seviyeleri: Kontrol Grubu: 0.80 ± 0.11 (mmol/L), Peritonit Grubu: 0.34 ± 0.08 (mmol/L), Sefazol Grubu: 0.47 ± 0.064 (mmol/L), Sefazol+Etanercept Grubu: 0.66 ± 0.14 (mmol/L) ölçüldü.

4.1.5. Total Oksidan Stress (TOS) Seviyeleri:

Serum ölçümlerinde Total Oksidan Stress (TOS) Seviyeleri: Kontrol Grubu: 33.59 ± 11.23 ($\mu\text{mol /L}$), Peritonit Grubu: 80.30 ± 11.26 ($\mu\text{mol /L}$), Sefazol Grubu: 52.73 ± 12.48 ($\mu\text{mol /L}$) Sefazol+Etanercept Grubu: 39.07 ± 7.07 ($\mu\text{mol /L}$) ölçüldü.

Doku ölçümlerinde Total Oksidan Stress (TOS) Seviyeleri: Kontrol Grubu: 7.16 ± 3.53 ($\mu\text{mol /L}$), Peritonit Grubu: 45.90 ± 26.57 ($\mu\text{mol /L}$) , Sefazol Grubu: 14.18 ± 4.58 ($\mu\text{mol /L}$), Sefazol+Etanercept Grubu: 8.774 ± 4.11 ($\mu\text{mol /L}$) ölçüldü.

4.1.6. TNF- α Seviyeleri:

Serum ölçümlerinde TNF- α Seviyeleri: Kontrol Grubu: 2.72 ± 1.45 (pg/ml), Peritonit Grubu: 18.50 ± 10.01 (pg/ml), Sefazol Grubu: 9.01 ± 2.06 (pg/ml), Sefazol+Etanercept Grubu: 5.77 ± 2.34 (pg/ml) ölçüldü.

Doku ölçümlerinde TNF- α Seviyeleri: Kontrol Grubu: 116.39 ± 42.36 (pg/ml), Peritonit Grubu: 487.21 ± 238.44 (pg/ml), Sefazol Grubu: 265.22 ± 52.74 (pg/ml), Sefazol+Etanercept Grubu: 136.83 ± 24.26 (pg/ml) ölçüldü.

4.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Tablo-3 Histolojik Skorlama (Skorlama 0 dan 4. Dereceye kadar yapıldı. +: ratları temsil etmektedir)

1-Kontrol Grubu

Skor	0	1	2	3	4
Periton epitelinde dökülme (Deskuamasyon)	+++++++				
Lamina propriada konjesyon	+++++++				
Lamina propriada nötrofil infiltrasyonu	+++++++				
Lamina propriada ödem	+++++++				

2-Peritonit Grubu

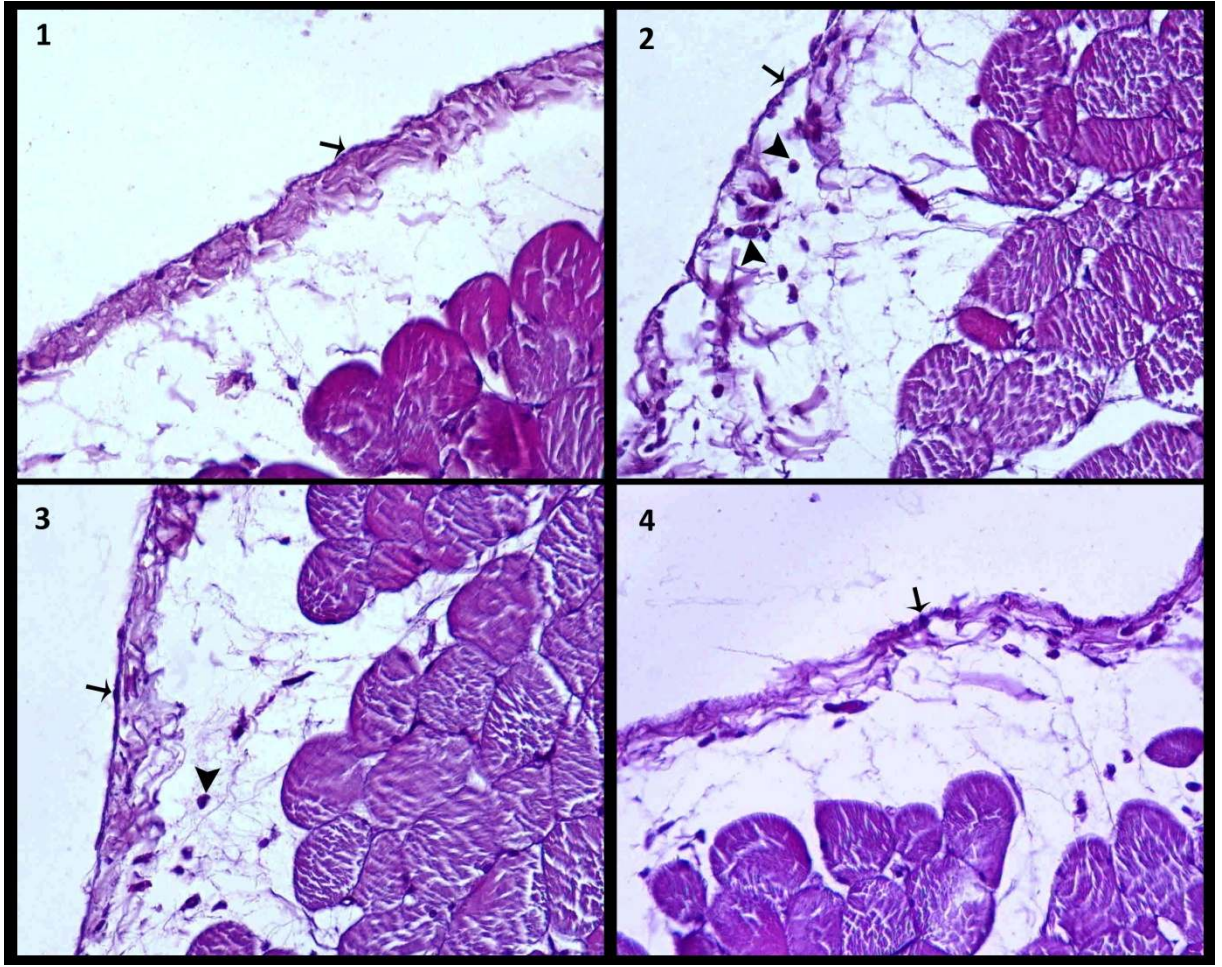
Skor	0	1	2	3	4
Periton epitelinde dökülme (Deskuamasyon)				++	+++++
Lamina propriada konjesyon					+++++
Lamina propriada nötrofil infiltrasyonu					+++++
Lamina propriada ödem				++	+++++

3- Sefazol Grubu

Skor	0	1	2	3	4
Periton epitelinde dökülme (Deskuamasyon)			++	+++++	
Lamina propriada konjesyon		+	++	++++	
Lamina propriada nötrofil infiltrasyonu			+++++	++	
Lamina propriada ödem		++	++++	+	

4- Sefazol + Etanercept Grubu

Skor	0	1	2	3	4
Periton epitelinde dökülme (Deskuamasyon)	+	+++++	+		
Lamina propriada konjesyon		+++++	++		
Lamina propriada nötrofil infiltrasyonu		+++++	+		
Lamina propriada ödem		+++++	+		



Resim 1 : Kontrol ve Deney gruplarının parietal peritonitlerinin mikrofotografileri.

1-Kontrol grubu, 2-Peritonit grubu, 3-Sefazol grubu, 4-Sefazol + Etanercept grubu.

Ok: parietal peritona ait epitelyum, ok başı: lamina propriada nötrofil infiltrasyonu.

Boyama: Hematoksilen-Eozin (H-E), Büyütme:X400.

Kontrol grubuna ait kesitlerin incelenmesinde periton epiteli ve lamina propriada herhangi bir değişikliğe rastlanmadı. Periton grubunda epitelde dökülme, laminapropriada yaygın nötrofil infiltrasyonu, ödem ve kapiler damarlarda konjesyon izlendi. Sefazol grubunda periton grubuna oranla lezyonların azaldığı gözlemlendi. Sefazol + Etanercept grubunda epiteldeki deskuamasyonun ortadan kalkması, nötrofil infiltrasyonun oldukça azalması, lamina propriada ödemin şiddetinin azalması dikkat çekiciydi (Resim-1).

5. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

İstatistiksel analizler SPSS 16.0 PC ortamında yapıldı. İki gruplu karşılaştırmalarda Mann-whitney U testi, çoklu karşılaştırmada Oneway Anova Bonferroni testi kullanıldı. Veriler ortalama $\pm$ SD olarak gösterildi. $p<0,05$ anlamlı kabul edildi.

Tablo 4: Serum oksidan ve antioksidan parametrelerinin karşılaştırılması

Parametreler	Kontrol Grubu	Peritonit Grubu	P ^{1,2}	Sefazol Grubu	P ^{2,3}	Sefazol+Etanercept Grubu	P ^{2,4}	P ^{3,4}
MDA(mmol/ml)	0.73 $\pm$ 0.17	1.67 $\pm$ 0.32	<0.001	1.28 $\pm$ 0.21	0.024	0.90 $\pm$ 0.26	<0.001	0.011
NO(μ M/L)	4.85 $\pm$ 0.39	5.80 $\pm$ 0.46	0.001	5.41 $\pm$ 0.32	0.090	4.90 $\pm$ 0.32	0.001	0.012
TNF- α (pg/ml)	2.72 $\pm$ 1.45	18.50 $\pm$ 10.01	0.001	9.01 $\pm$ 2.06	0.030	5.77 $\pm$ 2.34	0.007	0.018
TAK (mmol /L)	1.32 $\pm$ 0.10	0.87 $\pm$ 0.30	0.003	1.18 $\pm$ 0.10	0.024	1.56 $\pm$ 0.11	<0.001	<0.001
TOS(μ mol /L)	33.59 $\pm$ 11.23	80.30 $\pm$ 11.26	<0.001	52.73 $\pm$ 12.48	0.001	39.07 $\pm$ 7.07	<0.001	0.027
Paraoksonaz (U/L)	197.03 $\pm$ 37.63	124.61 $\pm$ 15.81	0.001	145.67 $\pm$ 7.75	0.008	157.70 $\pm$ 10.25	0.001	0.029

MDA:Malondialdehid, NO:Nitrik oksit, TNF α :Tümör Nekrozis Faktör alfa, TAK: Total Antioksidan Kapasite, TOS:Total Oksidan Kapasite

Tablo 5: Doku oksidan ve antioksidan parametrelerinin karşılaştırılması

Parametreler	Kontrol Grubu	Peritonit Grubu	P ^{1,2}	Sefazol Grubu	P ^{2,3}	Sefazol+Etanercept Grubu	P ^{2,4}	P ^{3,4}
MDA(mmol/ml)	0.12 $\pm$ 0.25	1.31 $\pm$ 0.41	<0.001	0.59 $\pm$ 0.35	0.005	0.12 $\pm$ 0.07	<0.001	0.004
NO(μ M/L)	3.95 $\pm$ 0.87	6.65 $\pm$ 1.36	0.001	6.00 $\pm$ 0.52	0.264	5.29 $\pm$ 0.22	0.023	0.006
TNF- α (pg/ml)	116.39 $\pm$ 42.36	487.21 $\pm$ 238.44	0.002	265.22 $\pm$ 52.74	0.033	136.83 $\pm$ 24.26	0.002	<0.001
TAK (mmol /L)	0.80 $\pm$ 0.11	0.34 $\pm$ 0.08	<0.001	0.47 $\pm$ 0.064	0.006	0.66 $\pm$ 0.14	<0.001	0.011
TOS(μ mol /L)	7.16 $\pm$ 3.53	45.90 $\pm$ 26.57	0.002	14.18 $\pm$ 4.58	0.009	8.774 $\pm$ 4.11	0.003	0.038
Paraoksonaz(U/L)	12.74 $\pm$ 3.32	1.83 $\pm$ 2.54	<0.001	4.82 $\pm$ 1.37	0.018	8.34 $\pm$ 1.14	<0.001	<0.001

Tablo 6: Grupların histopatolojik karşılaştırılması

Parametre	Kontrol Grubu	Peritonit Grubu	P ^{1,2}	Sefazol Grubu	P ^{2,3}	Sefazol+Etanercept Grubu	P ^{2,4}	P ^{3,4}
Histopatolojik skor	0.00 $\pm$ 0.00	22.00 $\pm$ 2,30	<0.001	11.25 $\pm$ 2.98	<0.001	5.50 $\pm$ 0.57	<0.001	0.007

6. TARTIŞMA

Peritonit, visseral ve/veya parietal peritonun inflamasyonudur. Uygun tedavi edilmezse sistemik inflamatuvar yanıt ve sepsise neden olabilmektedir. Bununla beraber tedavi edici yöntemler, yoğun bakım şartları ve cihazları ne kadar gelişirse gelişsin halen tüm dünyada önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir. Peritonitte basit bir enfeksiyon süreci dışında enflamasyon ve immunolojik disregulasyonun farklı mekanizmaları devreye girer ve sepsise neden olarak çoklu organ hasarına yol açabilir. Dolayısıyla peritonit çoklu organ hasarına yol açabilen önemli bir klinik tablodur. Bu nedenle olayın peritonit aşamasında sınırlandırılması oldukça önemlidir. Ancak bu süreçte henüz aydınlatılamamış patogenetik mekanizmalar olduğu sanılmaktadır ve bu yüzden deneysel modellere ihtiyaç vardır.

Periton zarı yarı geçirgen bir membrandır. İleri derecede sekresyon ve absorpsiyon yeteneğine sahiptir. Periton boşluğuna üre, elektrolitli sıvılar, ilaçlar ve enfektif materyal verildiğinde absorpsiyonla hızla sistemik dolaşıma geçer (118). Bu nedenle deneysel hayvan çalışmalarında peritonit modelleri sepsis oluşturmada değerlidir ve bu modeller insan sepsisine en yakın dizaynlardır.

Enflamasyon, sepsis oluşumunda önemli bir yer alır. TNF- α , IL-1 gibi proinflamatuvar sitokinler doku hasarını sınırlamak için salınır (2). Ancak proinflamatuvar sitokinlerin aşırı üretimi, immün yanıtın normal düzenini bozup patolojik bir inflamatuvar yanıtı sebep olabilir (2). Bu durum kapiller kaçak, doku hasarı ve multiorgan yetmezliği ile sonuçlanır (119). TNF- α , enflamasyon sürecinde önemli bir rol oynar ve hatta enflamasyonun erken dönemlerinde süreci yöneten temel mediatör olarak tanımlanmaktadır (119). Guo Z ve ark lipopolisakkarit enjekte ederek oluşturdukları septik şoklu rat modelinde TNF- α 'yı enjeksiyon sonrası erken dönemde 0.5 ila 1 saat içerisinde en yüksek değerinde görmüşlerdir(120).TNF- α enflamasyonun erken döneminde önemli bir moderatör gibi durmaktadır.

Etanercept ise TNF- α 'nın kompetitif inhibitörü olarak hücre yüzeyi reseptörlerine bağlanmasını engelleyen ve biyolojik aktivitesini önleyen bir ajandır. Aşırı bir immun yanıtta TNF- α 'nın etanercept ile baskılanması enflamasyonu sınırlamada önemli rol oynayabilir (121). Karabacak ve ark öngördükleri gibi Etanercept septik şokta klinik fayda gösterebilir (122). Surveyi artırabilir (120).

Enfeksiyöz ve immünolojik nedenlerin sonucu olarak reaktif oksijen partiküllerinin salınımı hücrelerde lipid, protein ve DNA yapısını bozarak hücre hasarlanmasına ve ölümüne

yol açar (123-126). Bununla beraber oksidanların zararlı etkilerine karşı koruyucu olarak antioksidanların salınımı olur. Antioksidanların yeterli/dengeli salınımı oksidatif strese karşı önemli bir koruyucudur. Bu dengenin enfeksiyöz durumlarda artan inflamatuvar mediatörler vasıtasıyla bozulması organizma üzerinde zararlı olur (127).

Biz, bu bilgiler doğrultusunda deneysel peritonit oluşturduğumuz ratlarda intraperitoneal etanercept kullanarak, enflamasyonu baskılayarak bu durumun oksidan ve antioksidan parametreler üzerindeki etkisini görmeyi amaçladık. Etanercept kullanarak peritonit ve sepsis kliniğinde oksidatif stress vasıtasıyla oluşacak hasarı engelleyip engelleyemeyeceğimizi araştırdık. 1,5 ml (10^7 CFU/ml) E.Coli süspansiyonu enjeksiyonu ile peritonit oluşturduğumuz ratları dört gruba ayırdık. 1. grubu kontrol grubu, 2. grubu peritonit grubu, 3. grubu peritonit + sefazolin sodyum grubu ve 4. grubu peritonit + sefazolin sodyum + etanercept grubu olarak sınıflandırdık.

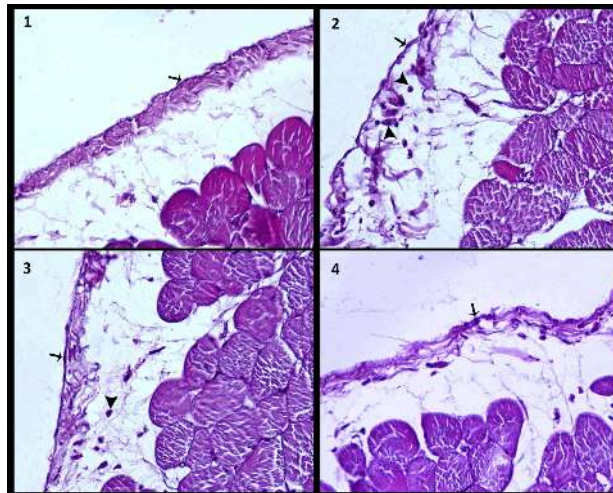
Enfektif peritonitin tedavisini esas olarak antibiyotikler oluşturur. Bu amaçla birçok araştırmacı peritonitte çeşitli antibiyotiklerin etkinliklerini karşılaştırmışlardır (128,129). Çalışmamızda antibiyotik olarak peritonit tedavisinde etkili olan sefazolin sodyum kullanmayı tercih ettik (128). 3. ve 4. gruba E.Coli enjeksiyonundan 1 saat sonra 50 mg/kg dozunda intraperitoneal sefazolin sodyum verdik. Peritonit kliniğini sınırlamada antibiyotik tedavisinin yanı sıra antibiyotiklerle kombine edilmiş birçok ajanla yapılmış çalışma bulunmaktadır. Örneğin, antibiyotik tedavisi ile birlikte Shrivastava ve arkadaşları güçlü bir antioksidan olan vit E (130), Yücel ve arkadaşları normobarik oksijen (131), Gökgöz ve arkadaşları serbest oksijen radikal gidericilerini (132) kullanmışlardır.

Literatürü taradığımızda etanerceptin, romatoid artrit (133), ankilozan spondilit (134), psöriatik artrit (135), psöriazis vulgaris (136) gibi otoimmün hastalıklarda inflamasyonu baskılamak için kullanıldığını gördük. Bunun yanı sıra etanerceptin otoimmün kökenli olmayan inflamatuvar hadiselerde de deneysel çalışmalarda kullanıldığını gördük (137, 138, 139, 140). Ye J ve arkadaşlarının çalışmasında etanerceptin nöro-inflamasyonu (137), Mei Yang ve arkadaşlarının çalışmasında ise oksidatif stresi azaltarak miyokardial iskemi reperfüzyon hasarını azalttığı (138) bilinmektedir. Biz de çalışmamızda , sefazolin sodyuma ek olarak verilen etanerceptin , peritonitte erken dönemdeki oksidan ve antioksidan parametreler üzerindeki etkisini ve histopatolojik delillerle enflamasyon üzerindeki etkisini araştırdık.

TNF- α 'nın inflamasyonun erken yanıtlarından sorumlu olduğu, inflamatuvar uyarıdan sonra dakikalar içerisinde salınmaya başladığı, 1. saate pik yapıp 3-4 saat sonra salınımının durduğu bilinmektedir (2, 116). Bundan dolayı biz de Tuştas Ay ve arkadaşlarının yaptığı gibi etanercepti, TNF- α 'nın pik yaptığı 1. saatte ve salınımının durduğu 4. saatte enjekte ettik. İlacı, toksik olmayan ancak TNF- α 'yı bloke edebildiği 8 mg/kg dozunda verdik (141, 142). Temel olarak bu iki tedavi yöntemini; MDA, NO, TNF- α , TOS, TAK ve Paraoksonazın doku ve serum düzeylerine bakarak karşılaştırdık. Bütün grupların dokulardaki histopatolojik bulgularını değerlendirdik.

MDA, TNF- α ve TOS düzeylerinin artışı oksidasyonun , TAK ve Paraoksonaz düzeylerinin artışı ise antioksidasyonun göstergesidir. Bununla beraber yapılan çalışmalar incelendiğinde NO'nin diğer parametrelerden farklı olarak düşük seviyelerde sitoprotektif, yüksek seviyelerde sitotoksik olduğu görülmektedir (143).

Çalışma sonuçlarını kısaca özetlemek gerekirse histopatolojik olarak grup 1' de periton epitel ve lamina propria herhangi bir patolojik değişikliğe rastlanmadı. Grup 2'de ise periton epitelinde dökülme, lamina propria yaygın nötrofil infiltrasyonu, ödem ve kapiller damarlarda konjesyon vardı. Grup 3'te, Grup 2'ye göre periton epitelinde sefazolin sodyumun etkisi olarak daha az deskuamasyon, lamina propria daha az ödem, konjesyon ve lökosit infiltrasyonu gözlemlendi. Etanerceptin kullanıldığı grup 4' te ise hem 2. hem de 3. gruba göre periton epitelinde deskuamasyon , lamina propria ödem, konjesyon ve lökosit infiltrasyonu anlamlı olarak azalmıştı. Grupların histopatolojik sonuçları istatistiksel olarak anlamlıydı. ($p^{1,2} < 0.001$, $p^{2,3} < 0.001$, $p^{2,4} < 0.001$, $p^{3,4} 0.007$).

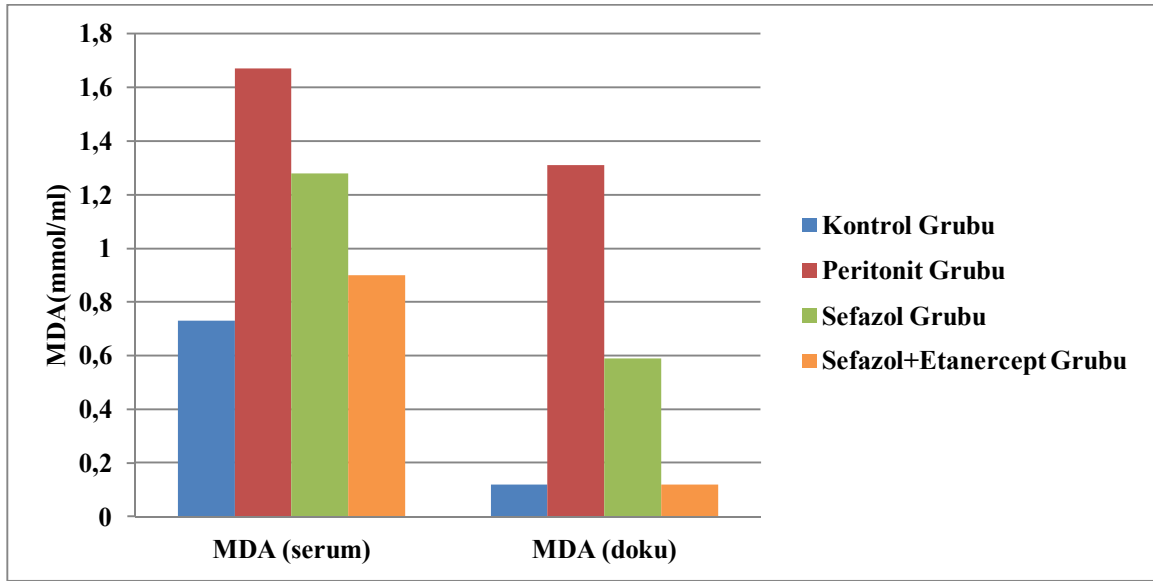


Resim-1 : Kontrol ve Deney gruplarının parietal peritonitlerinin mikrofotografileri

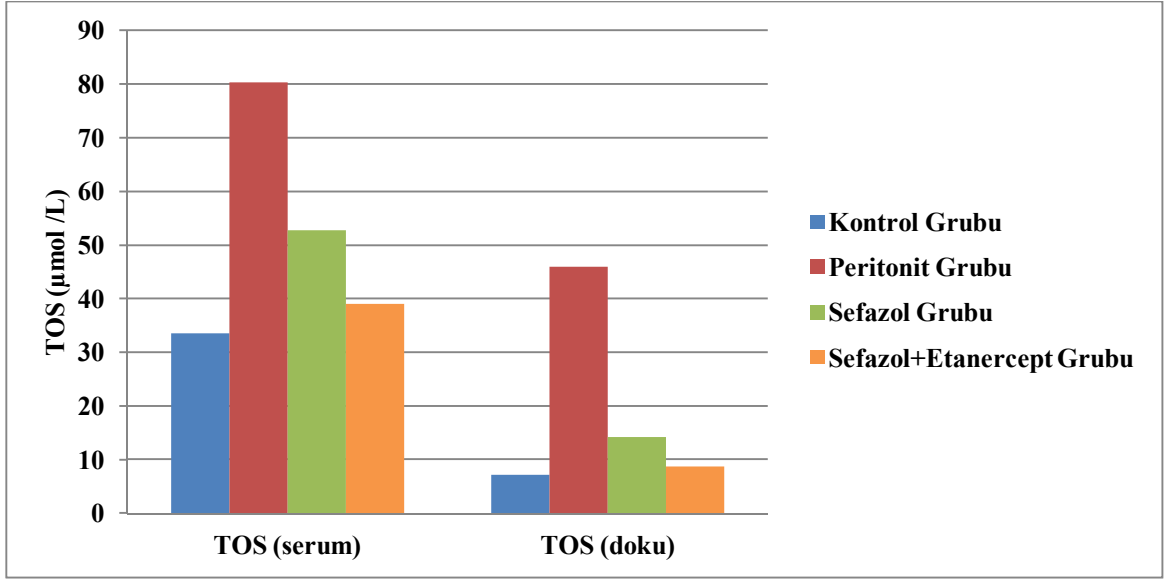
1 : Kontrol grubu , 2 : Peritonit grubu, 3 : Sefazol grubu, 4 : Sefazol + Etanercept grubu

Bulguları; oksidan ve antioksidan parametrelerle karşılaştırdığımızda grup 1 ile grup 2 arasında serum ve periton dokusundaki oksidatif parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı artış, antioksidanlarda ise azalma vardı. 2. grubu, 3. gruba karşılaştırdığımızda sefazolin sodyum tedavisi ile birlikte 3. grupta serum ve periton dokusunda MDA, TNF- α , TOS parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma, TAK ve Paraoksonaz seviyelerinde ise artış gözlemlendi. Ancak NO değerleri aynı gruplar arasında, serum ($p=0.090$) ve periton dokusunda ($p=0.264$) istatistiksel olarak anlamlı fark göstermiyordu. Çalışmamızda etanercept etkinliği açısından esas olarak görmek istediğimiz grup 3 ile grup 4 arasındaki serum ve periton dokusundaki oksidan parametreler olan MDA, TNF- α , TOS, NO'da istatistiksel olarak anlamlı azalma, antioksidan olan TAK ve Paraoksanaz seviyelerinde ise artış gözlemlendi.

Oksidan Parametrelerde Değişkenlik

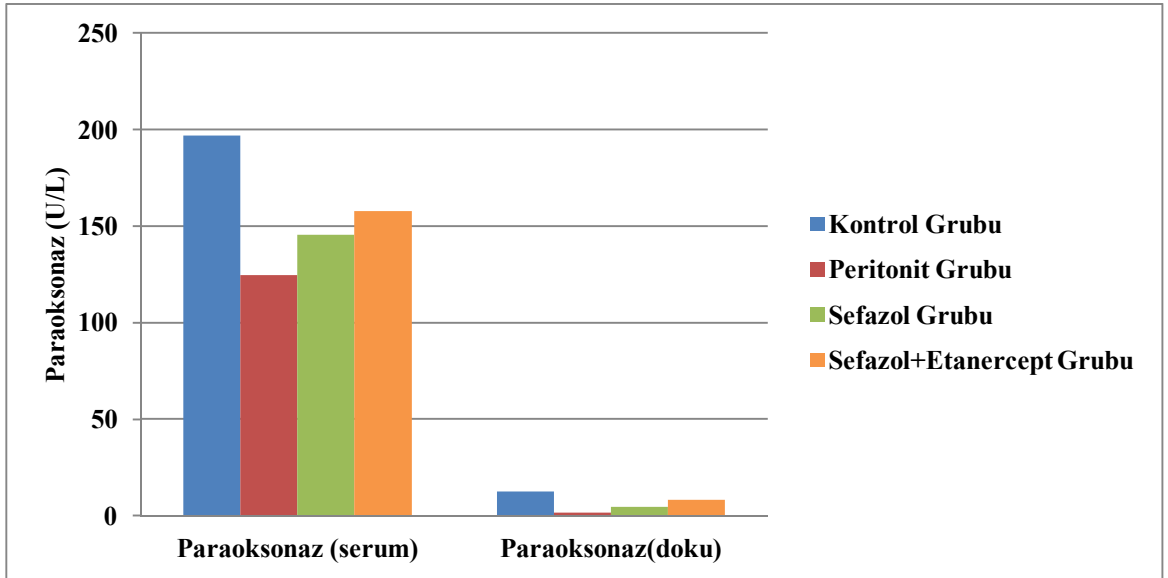


Şekil 1- MDA'nın serum ve doku değerleri

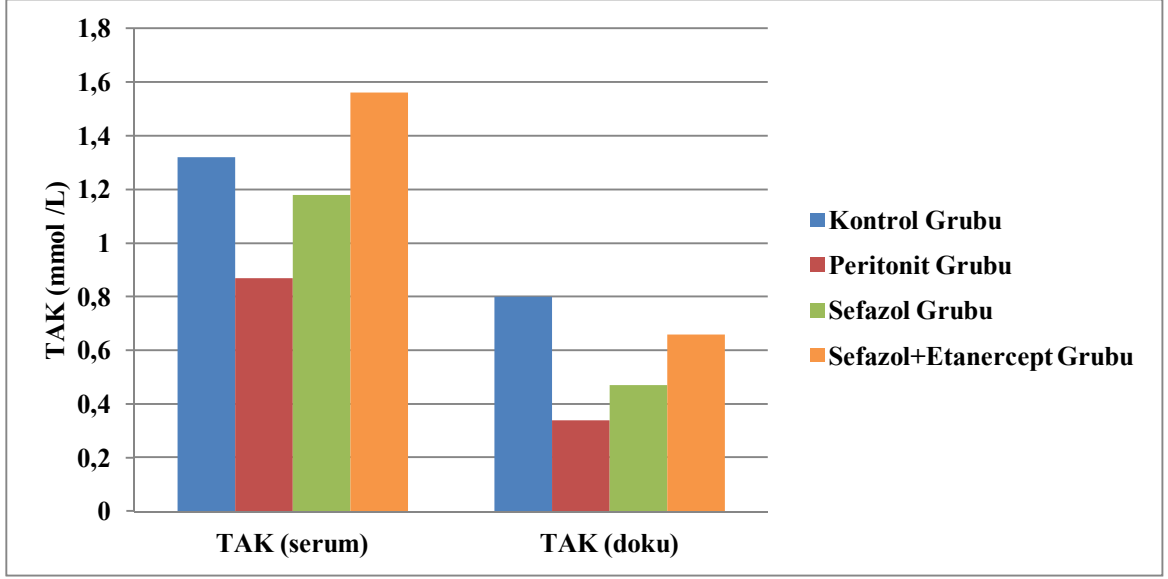


Şekil 2- TOS'un serum ve doku değerleri

Antioksidan parametrelerde değişkenlik



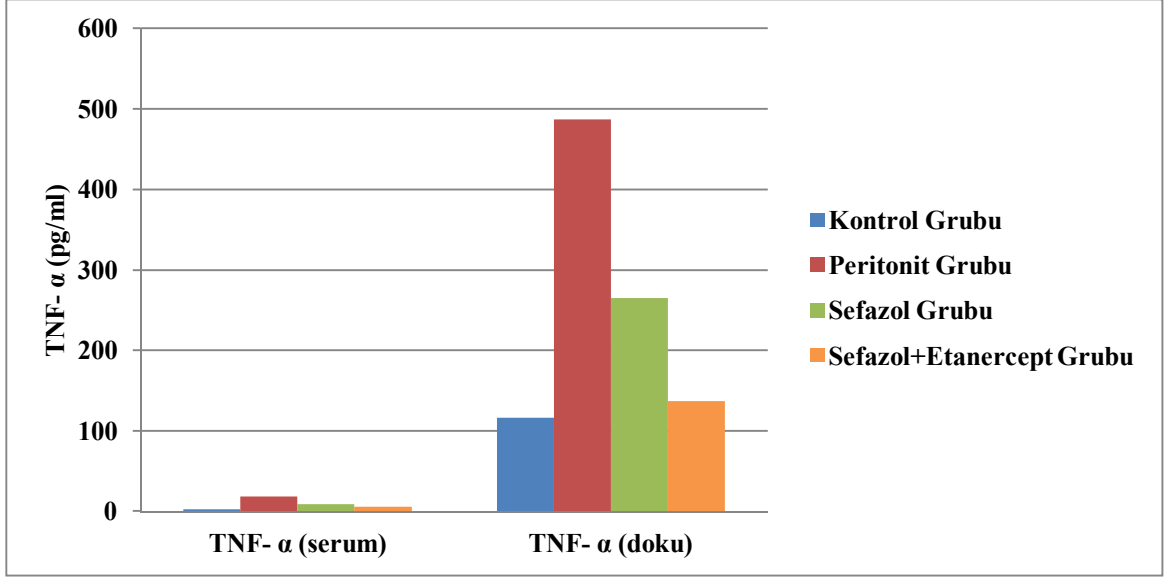
Şekil 3- Paraoksonaz'ın serum ve doku değerleri



Şekil 4- TAK'ın serum ve doku değerleri

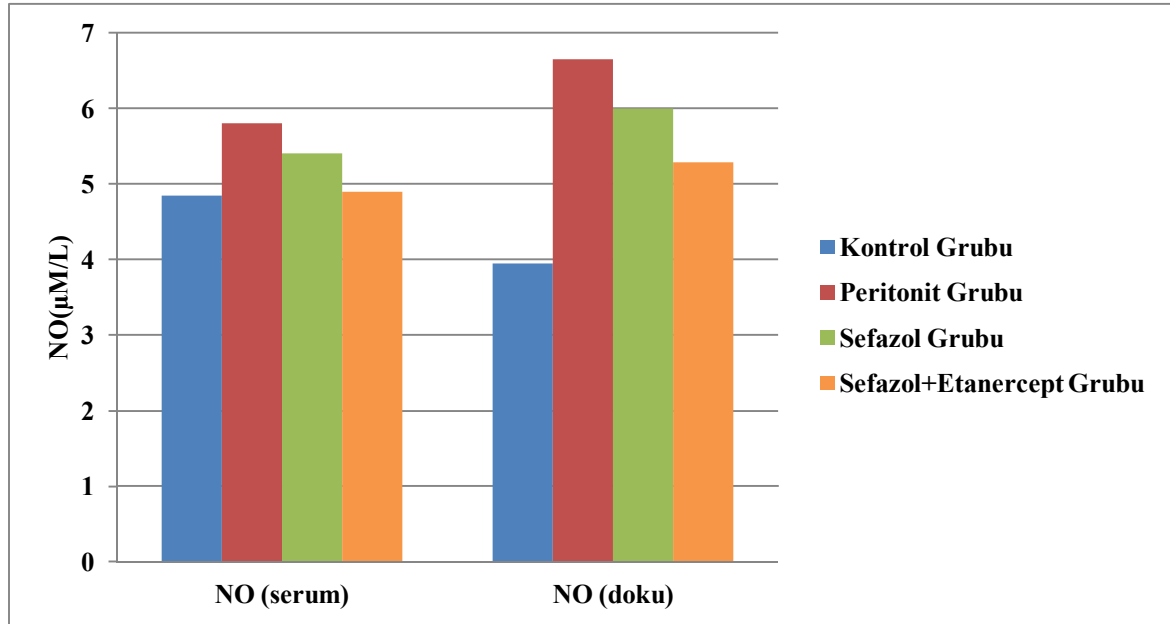
Histopatolojik bulgularla korele olan serum ve periton dokusundaki oksidan ve antioksidan değişkenliği göstermektedir ki peritonit varlığında sefazolin sodyuma erken dönemlerde eklenen etanercept, peritonit kliniğini sınırlamada faydalı olabilir. Etanercept ile elde edilen bu sonuçların artan TNF- α baskılanması ile ilişkili olduğunu düşünmekteyiz.

Literatüre baktığımızda Chen YH ve arkadaşlarının subakut peritonitli ratlarda sağlam gruba göre azalan antioksidan düzeyini biz de çalışmamızda görmekteyiz (144). Di Paola ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada ratlarda enfekte dokuda (Periodontitisli) sağlam gruba göre artan TNF- α düzeyini (139) biz de sağlam ve peritonitli gruplar arasında gördük (Grup 1: 116.39 $\pm$ 42.36pg/ml, Grup 2: 487.21 $\pm$ 238.44pg/ml, P= 0.002). Aynı çalışmada etanercept kullanılarak elde edilen TNF- α 'daki düşüşü bizde çalışmamızda grup 4'te gördük (TNF- α : 136.83 $\pm$ 24.26). Di Paola'nın çalışmasında, lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeyinde Etanercept verildiğinde azalma görülmüş (139). Çalışmamızda 2. ve 4.gruplar arasında serum (p<0.001) ve doku (p<0.001) MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktaydı. Etanercept verilerek sağlanan TNF- α ve MDA düşüşü histopatolojik düzelme ile birliktelik göstermektedir.



Şekil 5- TNF-α'nın serum ve doku değerleri

Oudenhoven ve arkadaşları sıçan peritonuna S.Enteritis lipopolisakkaridi vererek sağladığı peritonit modelinde (145) olduğu gibi bizde peritonitli grubumuzda sağlam gruba göre artan NO değerlerini gördük. Grup 1 ve grup 2 arasındaki doku ($p=0.001$) ve serum ($p=0.001$) NO değerleri istatistiksel olarak anlamlı fark gösteriyordu. Çalışmamızda diğer takip parametrelerinden farklı olarak NO, grup 3' te istatistiksel olarak anlamlı olmayan azalma göstermişken, grup 4' te istatistiksel olarak anlamlı azalma göstermişti.



Şekil 6- NO'nın serum ve doku değerleri

Güçlü bir antioksidan olan paraoksonaz enfeksiyon varlığında azalmaktadır (146, 147). Çalışmamızda sağlıklı grup 1 ratlar ve peritonitli grup 2 ratlarda serum ($p=0.001$) ve doku ($p<0.001$) paraoksonaz düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark vardı. Peritonitli ratlarda paraoksonaz periton dokusu (1.83 ± 2.54) ve serumda (124.61 ± 15.81 (U/L) azalmıştı. Paraoksonaz değeri grup 3 ve grup 4 te artmaktaydı. Artış grup 4'te istatistiksel olarak anlamlı, serum ($p=0.029$) ve periton dokusunda ($p<0.001$) daha fazlaydı.

Deneyssel peritonit modeli oluşturulan ratlarda, sefazolin sodyum yanı sıra erken dönemde verilen etanercept ile serumdaki ve dokudaki oksidan ve antioksidan parametrelerde ve periton dokusunda histopatolojik değişiklikleri gördük. Literatür ile uyumlu olarak enfeksiyonla beraber değişen serum ve dokulardaki artan oksidan ve azalan antioksidan düzeyleri, etanercept ile değişmekte oksidan parametreler azalmakta, antioksidanlar artmaktadır. Daha önemli bir bulgu olarak da istatistiksel olarak anlamlı olan peritonun lamina propria'sındaki ödem ve konjesyonda ve nötrofil infiltrasyonunda azalma olmaktadır. Görünen o ki erken dönemde baskılanan TNF- α , organizmanın harabiyetiyle sonuçlanan aşırı immun yanıtı azaltabilir.

7. SONUÇ

Sonuç olarak antibiyotik tedavisine ek olarak erken dönemde verilen TNF- α inhibitörü olan etanerceptin peritonit tedavisinde, sadece antibiyotik alanlara göre daha olumlu sonuçlar verebileceğini ve sepsise gidişi azaltacağını düşünmekteyiz. Ancak etanerceptin peritonit tedavisinde kullanılabilmesi için daha kapsamlı deneysel çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- 1- Lodato RF, Khan AR, Zembowicz MJ, et. al. Roles of IL-1 and TNF in the decreased ileal muscle contractility induced by lipopolysaccharide. *Am J Physiol.* 1999;276(6 Pt 1):G1356-62.
- 2- Ulloa L, Tracey KJ. The cytokine profile: a code for sepsis. *Trends Mol Med.* 2005; 11 (2): 56-63.
- 3- Sies H. Oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* 1997; 82:291-295
- 4- Suzuki YJ, Forman HJ, Sevanian A. Oxidants as stimulator of signal transduction. *Free Radic Biol Med* 1997; 22:269-285
- 5- Sayek _ . Temel Cerrahi, 2. Baskı Ankara: Günes Kitabevi, 1996:895-96.
- 6- Wittmann DH, Walker AP, Condon RE. Peritonitis and Intraabdominal Infection. In Schwartz SI, editors: *Principles of Surgery*, 6th ed. New York. Mc Graw Hill; 1994:1449-83.
- 7- Sayek _ . Temel Cerrahi, 2. Baskı Ankara: Günes Kitabevi, 1996:1408-33.
- 8- Yalçın AN, Hayran M, Unal S. Economic analysis of nosocomial infections in a Turkish university hospital. *J Chemother.*1997;9:411-414
- 9- Bone, R.C., W.J. Sibbald, and C.L. Sprung, The ACCP-SCCM consensus conference on sepsis and organ failure. *Chest*, 1992. 101(6): p. 1481-3
- 10- Vincent, J.L., Dear SIRS, I'm sorry to say that I don't like you. *Crit Care Med*, 1997. 25(2):p. 372-4.
- 11- Alberti, C., Brun-Buisson C, Goodman SV, Guidici D, Granton J, Moreno R, Smithies M, Thomas O, Artigas A, Le Gall JR; European Sepsis Group. Influence of systemic inflammatory response syndrome and sepsis on outcome of critically ill infected patients. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003. 168(1): p. 77-84.
- 12- Levy, M.M., Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, at al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*, 2003. 31(4): p. 1250-6.
- 13- Munford, R.S., Sepsis, Severe Sepsis, and Septic Shock, in *Principles and Practice of Infectious Diseases*, G.L. Mandell, J.E. Bennet, and Dolin, Editors. 2005, Churchill Livingstone: Philadelphia, PA. p. 906-925.
- 14- Llewelyn M, Cohen J. Diagnosis of infection in sepsis. *Intensive Care Med* 2001; 27 (Suppl 1) : S10- S32.
- 15- Balk RA. Severe sepsis and septic shock: definitions, epidemiology, and clinical manifestations *Crit Care Clin* 2000; 16:179–192.

- 16- Basaklar AC. Bebek ve Çocukların Cerrahi ve Ürolojik Hastalıkları, Ankara: Palme Yayıncılık, 2006:1001-2.
- 17- Sayek _ . Temel Cerrahi, 2. Baskı Ankara: Günes Kitabevi, 1996:1408-33.
- 18- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Temel Patoloji,5. Baskı İstanbul:Nobel Tıp Kitabevi, 1995:25-47.
- 19- Mollay RG, Monnick JA, Rodrick ML. Cytokines, sepsis and immunomodulation. Br J Surg 1993 80:289-297
- 20- Jaques L, Goy J, Rozensztajn L. et al: Lipid peroxidation and protective enzymes during myocardial infarction. Chim Acta. 1989; 196:119-126.
- 21- Rice-Evans CA, Diplock AT. Current status of antioxidant therapy. Free Radic Biol Med. 1993;15:77-96
- 22- Suzuki YJ, Forman HJ, Sevanian A. Oxidants as stimulator of signal transduction. Free Radic Biol Med 1997; 22:269-285
- 23- Saugstad O. Neonatal oxygen radical disease. Rec Adv Ped 1992; 6:173-187
- 24- Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. Free Rad Res. 1998; 28:672-78.
- 25- Meister A. Glutathione Ascorbate and cell cycle regulation. FEBBS letters. 1994: 1—4.
- 26- Moore K, Roberts LJ. Measuremet of lipid peroxidation. Free Radic Res 1998; 28:659-671
- 27- Brent JA, Rumack HH. Role of Free Radicals in Toxic Hapatic Injury I. Free Radical Chemistry. J. Clinical Toxicology. 1993; 49(4): 481-493
- 28- Dizdaroğlu M. Mechansms of Oxidative DNA Damage; Lesion and Their Measurement. Kluwer Academic/Plenum Publihers. 1999; 302: 67-87
- 29- Wetberg AB, Weitzman SA, Clarck EP. Effetcs on antioxidants on antioxidant induce: sister chromatid Exchange formation. J. Clin. invest. 1985; 75(3):35 - 37
- 30- Tappel AL, Dillard JC. İnvivo lipid peroxidation measurement via exhaled pentane and protection by vitamin E. J. Federation proceedings 1981; 40(3):174-178
- 31- Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. J Biochem 1984; 222:1-15
- 32- Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. J. Clin Chem 1995; 42(6):18-19
- 33- Chiu D, Kuypers F, Lubin B. Lipid peroxidation in human red cells. Semin Hematol. 1989; 26:257-276

- 34- Halliwell B. Oxygen is poisonous: The nature and medical importance of oxygen radicals. *J. Med Lab Sci.* 1984; 41(3):157-162
- 35- Canbaşı A. Gıda Bilimi ve Teknolojisi. Ziraat Fakültesi Yayını No: 78, Ç. Ü. Adana.1983
- 36- Sies H, De Groot H. Role of Reactive Oxygen Species in Toxicity. *J. Toxicology.* 1992; 64 (65): 547-551
- 37- Halliwell B. Reactive Oxygen Species in Living Systems: Source, Biochemistry and Role in Human Disease. *J. The American Journal of Medicine.* 1991; 91(3C): 14-22
- 38- Mead J. Free radical mechanisms in lipid peroxidation and prostaglandins. *Free radical in molecular biology. J. Aging and disease.* 1984; 65(24): 53-66
- 39- Notarajan D. Oxidants and signal transduction in vascular endothelium. *J. Clin. Med.* 1994; 125(35): 26-37
- 40- Logani MK, Davies RE. Lipid Oxidation: Biologic effects and antioxidants. *J.Lipids.* 1985; 15(5): 6-12
- 41- Reubset FAG, Veerkamp JH, Tirjbels JMF, Monnens LA. Total and peroxisomal oxidation of various saturated and unsaturated fatty acids in rat liver, heart. *J. M. Quadriceps. Lipids.* 1992; 24(7):11-16
- 42- Ancioğlu A. Serbest oksijen radikalleri ve hücre hasarı. 1994; 2(3): 139-242
- 43- Stevenson MA, Pollock SS, Coleman CN, Calderwood SK. *J. Cancer Res* 1994; 54(6):12-15
- 44- Ball S, Weindruch R, Walford L. Antioxidants and immun response. *J. Free radicals, Aging and Degenerative Diseases.* 1986; 427-456
- 45- Niki E. Antioxidants in relation to lipid peroxidation. *Chem Phys Lipids* 1987; 44(6): 227-253
- 46- Braughler M, Chose L, Pregenter F. Oxidation of ferric iron during peroxidation of lipid substrates. *J. Biochemica and Biohysica Acta.* 1987; 921(21): 457-464
- 47- Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primoparmo SL, La Du BN. Paraonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its function. A possible peroxidative role for paraonase. *J Clin Invest* 1998; 101:1581-1590.
- 48- Ripine JE, Bast A, Lankharst. Lipids I, and The Oxidative Strees Study Group: Oxidative strees in chronic obstructive pulmorary disease. *J. Respir Crit Care Med.* 1997; 156(26): 341-347
- 49- Reznick AZ, Cross CE, Hu ML, Suzuki YJ, Khwaja S, Safadi A. Modification of plasma proteins by cigarette smoke as measured by protein carbonyl formation. *J. Biochem* 1992; 286(35): 607-611

- 50- Mccord JM. Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. Clin Biochem 1993; 26(4): 351-357
- 51- Halliwell B, Dizdaroglu M. Free radicals and the oxidant/antioxidant balance J. Free Radical Res. 1992; 16: 75-87
- 52- Dizdaroglu M. DNA and Free Radicals. Ellis Horwood, Chichester 1993; 19-39
- 53- Horwood E. Epe B. DNA and Free Radicals. Chichester 1993; 41-65
- 54- Steenken S. Purine bases, nucleosides, and nucleotides: aqueous solution redox chemistry and transformation reactions of their radical cations and e- and OH adducts. J. Chem. Rev. 1989; 89(24):503-520
- 55- Dizdaroglu M. Oxidative damage to DNA in mammalian chromatin. J. Mutat. Res. 1992; 275(35): 331-342
- 56- Aruoma OI, Halliwell B. DNA and Free Radicals: Techniques Mechanisms and Applications. OICA International 1998; 3-26
- 57- Seven A, İnci F, Civelek S, Burçak G, İnci E, Korkut N. Larenks Kanserli Olgularda Lipid Peroksidasyon ve Antioksidan Statü Göstergelerinin Dokuda İncelenmesi. Türk ORL Arşivi 1998; 36: 33—36
- 58- Ceballos L, Triver JM, Nicole A. Age corralated modifications of cupper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activies in human erythrocytes. J. Clin. Chem. 1992; 36(1):66-70
- 59- Smith EL, Hill RL, Lehmal R. Principle of biochemistry. 7th cd- McBraw Hill, inc. USA. 1983;S:382-383
- 60- Stamler JS, Slivka A. Biological chemistry of thiols in the vasculature and in vascular-related diseases. Nutr Rev. 1996; 54: 1-30
- 61- Endou H, Koseki C, Yamada H. Evaluation of nephrotoxicity using isolated nehron segments. Dev. Toxicol. Environ. Sci. 1986; 14: 207-216
- 62- Arnelle DR, Stamler JS. NO⁺, NO, and NO⁻ donation by S-nitrosothiols: implications for regulation of physiological functions by S-nitrosylation and acceleration of disulfide formation. Arch Biochem Biophys; 1995; 318:279-285
- 63- Steinberg D. Antioxidants and atherosclerosis. Circulation 1991; 84:1420-1425
- 64- Repine J. Oxidant-Antioxidant balance: Some observations from studies of ischemia-reperfusion in isolated perfused rat hearts. Am J Med 1991; 91:30-45(S)
- 65- Berger SJ, Gosky D, Zberowska E. Sensitive enzymatic cycling in diabetes. J. Diabetes 1991; 46(4):405^412

- 66- Burton G, Traber M. Vitamin E: antioxidant activity biokinetics and bioavailability. *J. Annu. Rev. Nutr.* 1990; 10:357-382
- 67- Bayraktar M, Kılıç S, Özdemir İ, Aydemir S, Ulu R, The Investigation of Serum Malondialdehyde Levels and Erythrocyte Antioxidant Enzymes in Hypertension Patients. *J Healt Sci.* 2005;14(2):76-81.
- 68- Iqbal M, Cawthon D, Beers K. Antioxidant enzyme activities and mitochondrial fatty acids in pulmonary hypertension syndrome in broilers. *Poult Sci.* 2002;81:252-60.
- 69- Michael Lieberman ADM. Marks' Basic Medical Biochemistry A Clinical Approach: Lippincott Williams & Wilkins; Third, North American Edition edition 2008.
- 70- Kaçmaz A, Polat A, User Y, Tilki M, Ozkan S, Sener G. Octreotide improves reperfusion-induced oxidative injury in acute abdominal hypertension in rats. *J Gastrointest Surg* 2004;8:113-9.
- 71- Okutan H, Savas C, Delibas N. The antioxidant effect of melatonin in lung injury after aortic occlusion-reperfusion. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2004;3:519-22.
- 72- Bozkurt AK. Deneysel iskemi-reperfüzyon hasarının önlenmesinde pentoksifillinin rolü. *Damar Cer Derg* 2001;3:101-4
- 73- Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clin Chem* 1997;43:1209-14
- 74- Moncada S, Palmer RMJ, Higs EA. Nitric oxide. Physiology, patophysiology, and pharmacology. *J. Pharmacol Review* 1991; 43(29): 109-137
- 75- Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthase in mammals. *J. Biochem.* 1994; 298(12):249-258
- 76- Marietta MA. Nitric oxide synthase structure and mechanism. *J. Biol. Chem.* 1993;268(7):123-125
- 77- Myatt L, Rosenfield RB, Eis ALW. Nitrotyrosine residues in placenta: Evidence of peroxynitrite formation and action. *J. Hypertension* 1996; 28(21): 488-493
- 78- La Du BN. Human serum paraoxonase/arylesterase. In: Kalow W. Genetic Factors Influencing the Metabolism of Foreign Compounds: International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics. Pergamon Press, New York 1992; p.51-91
- 79- Harel M, Brumshtein B, Meged R, Dvir H, Ravelli RBG, Mccarthy A, et al. 3-D structure of serum paraoxonase 1 sheds light on its activity, sability, solubility and crystallizability. *Arh Hig Rada Toksikol* 2007;58(3):347-53
- 80- Rodrigo L, Mackness B, Durrington PN, Hernandez A, Mackness MI. Hydrolysis of platelet-activating factor by human serum paraoxonase. *Biochem J* 2001;354(1):1-7.

- 81- Ahmed Z, Ravandi A, Maguire GF, Emili A, Draganov D, La Du BN, et al. Apolipoprotein A-I promotes the formation of phosphatidylcholine core aldehydes that are hydrolyzed by paraoxonase (PON-1) during high density lipoprotein oxidation with a peroxynitrite donor. *J Biol Chem* 2001;276 (27):24473-81.
- 82- Jakubowski H. Calcium-dependent human serum homocysteine thiolactone hydrolase. A protective mechanism against protein N homocysteinylation. *J Biol Chem* 2000;275(6):3957-62.
- 83- Rozenberg O, Shih DM, Aviram M. Human serum paraoxonase 1 decreases macrophage cholesterol biosynthesis: possible role for its phospholipase-A2-like activity and lysophosphatidylcholine formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23(3):461-7.
- 84- Rosenblat M, Vaya J, Shih D, Aviram M. Paraoxonase 1 (PON1) enhances HDL-mediated macrophage cholesterol efflux via the ABCA1 transporter in association with increased HDL binding to the cells: a possible role for lysophosphatidylcholine. *Atherosclerosis* 2005;179(1):69-77.
- 85- Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Paro SL, La Du BN. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein and preserves its functions. *J Clin Invest.* 1998;101(8):1581-90
- 86- Ferretti G, Bacchetti T, Moroni C, Savino S, Liuzzi A, Balzola F, et al. Paraoxonase activity in high-density lipoproteins: a comparison between healthy and obese females. *J Clin Endocrinol Metabol* 2005;90(3):1728-33
- 87- Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21(4):473-80.
- 88-Eskandari MK, Bolgos G, Miller C, Nguyen DT, DeForge LE, Remick DG. Anti-tumor necrosis factor antibody therapy fails to prevent lethality after cecal ligation and puncture or endotoxemia. *J Immunol.* 1992;148(9):2724-30.
- 89- Coley WB The treatment of malignant tumors by repeated inoculation of erysipelas with a report of ten original cases. *Am J Med Sci* 1893;105:487-511.
- 90- Carwell EA, Old LJ, Kassel RL et al. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72:3666-70.
- 91- Beutler B, Makoney J, Le Trang et al. Purification of cachectin, a Lipoprotein Lipase-suppressing hormone secreted by endotoxin-induced RAW 264.7 Cells. *J Exp Med* 1985;161:984-95.
- 92- Aggarwal BB, Eessalu TE, Haas PE. Characterisation of the receptors for human tumor necrosis factor and their regulation by interferon. *Nature* 1985;318:665-7.
- 93- Bagliani C, McCandless S, Tavernier J et al. Binding of human tumor necrosis factor to high affinity receptors on Hela and lymphoblastoid cells sensitive to growth inhibition. *J Biol Chem* 1985;260:13395-7.

- 94- Tsujimoto M, Vilcek J. Tumor necrosis factor receptors in Hela Cells and their regulation by interferon gamma. *J Biol Chem* 1986; 261: 5384-8.
- 95- Kriegler M, Perez C, De Fay KA et al. A novel form of TNF- cachectin is a cell surface cytotoxic tgransmembrane protein; ramifications for the complex physiology of TNF. *Cell* 1988;53:45-53.
- 96- Cybulsky MI, Colditz IG, Movat HZ. The role of interleukin-1 in neutrophil leukocyte emigration induced by endotoxin. *Am J Pathol* 1986;124:367-72.
- 97- White CW, Ghezzi P, Dinarello CA et al. Recombinant tumor necrosis factor/cachectin and interleukin-1 pretreatment decreased lung oxidized glutathione accumulation, lung injury and mortality in rats exposed to hyperoxia. *J Clin Invest* 1987;79:1868-73.
- 98- Okusawa S, Gelfand JA, Ikejima T et al. Interleukin-1 induces a shocklike state in rabbits. Synergism with tumor necrosis factor and the effect of cyclooxygenase inhibition. *J Clin Invest* 1988;163:378-85.
- 99- Everaerd B, Brouckaert P, Shaw A, Fiers W. Four different interleukin-1 species sentesize to the lethal action of tumor necrosis factor. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;163:378-85.
- 100- Michie HR, Wilmore DW. Sepsis and tumor necrosis factor- bed fellows cannot be ignored (Editorial). *Ann Surg* 1990;210:653-4.
- 101- Girardin E, Gram G, Dayer J et al. Tumor necrosis factor and interleukin-1 in the serum of children with severe infectious purpura. *New Engl J Med* 1988;319:397-400.
- 102- Grame GE, Taylor TE, Molyneux ME et al. Tumor necrosis factor and disease severity in children with falciparum malaria. *New Engl J Med* 1989;320:1586-91.
- 103- Tracey KJ, Beutler B, Lowry SF et al. Shock and tissue injury induced by recombinant human cachectin. *Science* 1986;234:470-4.
- 104- Evans D, Jacobs D, Revhaug A, Wilmore D. The effects of tumor necrosis factor and their selective inhibition by ibuprofen. *Ann Surg* 1989;209:312-21.
- 105- Tracey KJ, Font Y, Hese D et al. Anti-cachectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia. *Nature* 1987;330:662-4.
- 106- Mathison J, Wolfson E, Ulevitch R. Participation of tumor necrosis factor in the mediation of Gram-negative bacterial lipopolysaccharideinduced injury rabbits. *J Clin Invest* 1988;81:1925-37.
- 107- Beutler B, Corami A. Cachectin and tumor necrosis factor as two sides of the same biological coin. *Nature* 1986;320:584-8.
- 108- Wolff SM. Biological effects of bacterial endotoxin in man. *J of Infect Dis* 1973;163:378-85.

- 109- Michie HR, Spriggs DR, Manogue KR et al. Tumor necrosis factor and endotoxin induce similar metabolic responses in human beings. *Surgery* 1988;164:280-86.
- 110- Beutler B, Milsark W, Cerami A. Cachectin/tumor necrosis factor production, distribution and metabolic fate in vivo. *J Immunol* 1985;134:3972-7.
- 111- Tracey KJ, Lowry SF, Fahey TJ III et al. Cachectin/tumor necrosis factor induces lethal shock and stress hormone responses in the dog. *Surg Gynecol Obstet* 1987;164:415-22.
- 112- Gaskill HV III. Continuous infusion of interferon tumor necrosis factor mechanisms of toxicity in the rat. *J Surg Res* 1988;44:664-71.
- 113- Cannon JG, Tompkins RG, Gelfand JA et al. Circulating interleukin-1 and tumor necrosis factor in septic shock and experimental endotoxin fever. *J Infect Dis* 1990;161:79-84.
- 114- Calendra T, Baumgartner JD, Gram GE et al. Prognostic values of tumor necrosis factor/cachectin, interleukin-1, interferon-alpha, interferon gamma in the serum of patient with septic shock. *J Infect Dis* 1990;161:982-7.
- 115- Offner F, Philpote J, Vogelaers D et al. Serum tumor necrosis factor levels in patients with infectious disease and septic shock. *J Lab Clin Med* 1990; 116:100-5.
- 116- Wang H, Yang H, Czura CJ, Sama AE, Tracey KJ. HMGB1 as a late mediator of lethal systemic inflammation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 15:164(10 Pt 1):1768-73.
- 117- Erel O A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*. 2005;38(12):1103-11
- 118- Kantarcı Gülçin. Peritonit ve Sepsis modelleri. *Türkiye Klinikleri j Nephrol-Special Topics* 2010;3(3)-42
- 119- Tuştaş Ay Burçin . Deneysel Peritonit Oluşturulan Ratlarda High Mobility Group Box - 1 (HMGB-1) ve Tümör Nekrozis Faktör - α (TNF- α) İnhibisyonunun Gastrointestinal Motilite Üzerine Etkisi 2007: 10-52
- 120- Guo Z, Wang S, Jiao Q, Xu M, Xu Z: Soluble TNFR II/IgG1 Fc fusion protein treatment in the LPS-mediated septic shock of rats. *Biomed Pharmacother*, 63, 537-542, 2009.
- 121- Taban M, Dupps WJ, Mandell B, Perez VL: Etanercept (enbrel)-associated inflammatory eye disease: Case report and review of the literature. *Ocul Immunol Inflamm*, 14, 145-50, 2006.
- 122- Karabacak A, Yazar E: Current approaches in the treatment of septic shock. *Eurasian J Vet Sci*, 22, 95-103, 2006
- 123- Cochran G G. Cellular injury by oxidants. *The American J of Med*. 1991, 91 (Suppl. 3C):23-30
- 124- Bast A, Haenen G, Goelmen J A. Oxidants and antioxidants. State of the Art *The Am J of Med*. 1991, 91 (Suppl 3C): 2-13

- 125- Yavuzer S. Serbest radikallerle hücre yaralanması, Tıpta Temel Bilimler Kolu Sonbahar Okulu: Oksidan Stres ve Hücre Hasarı Kurs notları. 1993, ss 12-14
- 126- Fuji S. Dale G L, Beutler E. Glutathione-Dependent protection against oxidative damage of the human red cell membrane. *Blood*. 1984, 63(5) (May): 1096-1101
- 127- Yerer M.Betül, Aydoğan Sami. Oksidatif Stress ve antioksidanlar. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 9(1) 49-53. 2000
- 128- Çelik A., Çamsarı T. Capd Peritonitleri ve Tedavisi. *Türk Nefroloji Diyaliz ve transplantasyon Dergisi* 1994; 3: 1 - 4 U
- 129- Adıbelli Z. , Akpolat T. Peritonit. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 2007;v(Ek 2) 45-51
- 130- Shrivastava D., Gharde P., Sharma D., Jain RK., Sharma DB., Saxena A. , Effect of Vitamin E as an Adjuvant to Metronidazole in Experimental Model of Peritonitis. *International Journal of Biomedical And Advance Research* (2013) 04 (12)
- 131- Yücel T., Gönüllü D., Güçlü S., Şit M., Adaleti R., Tetikkurt S., Özcan A., Köksoy FN., Normobarik oksijenin deneysel peritonitin tedavisindeki yeri ve tedavinin izlenmesinde rektal ateş, lökosit, CRP ve prokalsitoninin etkinliği. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* 2008;14(1):14-20
- 132- Gökgöz Ş., Yıldırım C., Ersoy G., Deneysel Peritonit Tedavisinde Antibiyotikler, Serbest Oksijen Radikal Gidericiler ve Kombinasyonlarının Rolü. *T Klin Gastroenterophepatoloji* 1995; 6:71-75
- 133- Xixi Ma, Shenqian Xu, TNF inhibitor therapy for rheumatoid arthritis (Review). *BIOMEDICAL REPORTS* 1: 177-184, 2013
- 134- Kalı G., Ersoy Y., Durmuş B., Altay Z., Baysal Ö., Ersoy Y.. Ankilozan Spondilitli Hastalarda Etanercept Tedavisinin Etkinliği ve Güvenilirliği. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 17 (2) 91-96 (2010)
- 135- Çapkın E., Karkucak M., Özden G., Tosun M., Çakırbay H., Dirençli Psöriatik Artritli Bir olguda Etanercept Tedavisi. *Nobel Medicus* 19 Cilt:7 Sayı:1
- 136- Craig L. Leonardi, Jerold L. Powers, Robert T. Matheson, Bernard S. Goffe, Ralph Zitnik, Andrea Wang, Alice B. Gottlieb. Etanercept as Monotherapy in Patients with Psoriasis. *N Engl J Med* 2003;349:2014-22.
- 137- Ye J, Jiang R, Cui M, Zhu B, Sun L, Wang Y, Zohaib A, Dong Q, Ruan X, Song Y, He W, Chen H, Cao S. Etanercept reduces neuroinflammation and lethality in mouse model of Japanese encephalitis. *J Infect Dis*. 2014 Sep 15;210(6):875-89. doi: 10.1093/infdis/jiu179. Epub 2014 Mar 20.

138- Mei Yang, Jianchang Chen, Jing Zhao, Mei Meng. Etanercept Attenuates Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury by Decreasing Inflammation and Oxidative Stress. PLOS ONE September 2014 | Volume 9 | Issue 9 | e108024

139- R Di Paola¹, E Mazzon, C Muia², C Crisafulli, D Terrana, S Greco, D Britti, D Santori, G Oteri, G Cordasco³, S Cuzzocrea. Effects of etanercept, a tumour necrosis factor- α antagonist, in an experimental model of periodontitis in rats. British Journal of Pharmacology (2007) 150, 286–297

140- M.A. Ekici, O. Uysal, H.I. Cıkırlar, Z. Özbek, D. Turgut Cosan, C. Baydemir, B. Kazancı, D. Hafizoğlu. Effect of etanercept and lithium chloride on preventing secondary tissue damage in rats with experimental diffuse severe brain injury. European Review for Medical and Pharmacological Sciences 2014; 18: 10-27

141- Geier A, Zollner G, Dietrich C et. al. Cytokine-independent repression of rodent Ntcp in obstructive cholestasis. Hepatology, 2005,41(3):470-7.

142- Roderfeld M, Geier A, Dietrich C et. al. Cytokine blockade inhibits hepatic tissue inhibitor of metalloproteinase-1 expression and up-regulates matrix metalloproteinase-9 in toxic liver injury. Liver International 2006; 26: 579-586.

143- Melek Demir, Ilknur Kaleli, Suleyman Demir, Selahattin Sert, Nural Cevahir, Umut Yildirim, Barbaros Sahin. Liver lipid peroxidation in experimental Escherichia coli peritonitis: The role of myeloperoxidase and nitric oxide inhibition. Med Sci Monit, 2007; 13(10): BR225-229

144- Chen YH, Lee CH, Hsiao CC, Hsu LS, Lo HC. Diverse effects of parenteral arginine on systemic and local oxidant-antioxidant homeostasis and nitrosative stress in rats with subacute peritonitis. J Surg Res. 2013 Oct 9.

145- Oudenhoven IM, Klaasen HL, Lapré JA, Weerkamp AH, Van der Meer R. Nitric oxide-derived urinary nitrate as a marker of intestinal bacterial translocation in rats. Gastroenterology. 1994 Jul;107(1):47-53.

146- Li Y, Zhai R, Li H, Mei X, Qiu G. Prognostic value of serum paraoxonase and arylesterase activity in patients with sepsis. J Int Med Res. 2013 Jun;41(3):681-7

147- Tekin Koruk S, Aksoy N, Hamidanoglu M, Karsen H, Unlu S, Bilinc H. The activity of paraoxonase and arylesterase in patients with osteomyelitis. Scand J Clin Lab Invest. 2012 Nov;72(7):513-7