



T.C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KLASİK FENİLKETONÜRİLİ HASTALARDA OKSİDATİF
PARAMETRELERİN ARAŞTIRILMASI**

Burcu KUMRU
YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Cahit BAĞCI

Gaziantep

2015

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KLASİK FENİLKETONÜRİLİ HASTALARDA OKSİDATİF
PARAMETRELERİN ARAŞTIRILMASI**

Burcu KUMRU

Tez Savunma Tarihi: 22.12.2015

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışmasının bir “Yüksek Lisans” derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. Cahit BAĞCI

Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans” tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Cahit BAĞCI

Tez Danışmanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans” tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi İmzası

İmzası

Prof. Dr. Cahit BAĞCI

Prof. Dr. Ramazan BAL

Prof. Dr. Mehmet KESKİN

Doç. Dr. Hülya GÖKMEN ÖZEL

Yard. Doç. Dr. Davut Sinan KAPLAN

BEYAN

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

10.12.2015

Burcu KUMRU

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca danışmanlığımı üstlenerek yol göstericiliğini, yardımını, bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen, öğrencisi olmaktan kıvanç duyduğum değerli hocam **Prof. Dr. Cahit Bağcı**'ya

Bu araştırmanın gerçekleşmesinde büyük emeği olan, bilimsel ve manevi desteğini esirgemeyen **Yard. Doç. Dr. Davut Sinan Kaplan**'a

Ayrıca birlikte çalışmak onuruna ve şansına eriştiğim, her zaman katkı ve desteklerini gördüğüm **Uzm. Dr. Burcu Öztürk Hişmi**'ye

Biyokimyasal analizlerin çalışılma aşamasında büyük bir titizlikle çalışarak yardımlarını eksik etmeyen **Yard. Doç. Dr. Hakim Çelik**'e

Dostluğu ve bilimsel katkısı ile her zaman yanımda olan sevgili arkadaşım **Dyt. Meliha Tuğcu**'ya

Çalışmayı destekleyen **Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi**'ne

Hayatımın her aşamasında yanımda olan sevgileri, fedakarlıkları ve destekleri ile beni hiç yalnız bırakmayan aileme

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER ve KISALTMALAR	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
TABLO LİSTESİ.....	ix
ÖZET	1
ABSTRACT	2
1. GİRİŞ VE AMAÇ	3
2. GENEL BİLGİLER.....	6
2.1. Fenilketonüri	6
2.1.1. Tanım	6
2.1.2. Fenilalanin biyokimyası ve metabolizması	6
2.1.3. Hiperfenilalaninemi nedenleri.....	7
2.1.3.1. Kalıtsal nedenler	7
2.1.3.2. Edinsel nedenler	7
2.1.4. Klasik fenilketonüri ve diğer hiperfenilalaninemilerin tanısı ve sınıflaması	8
2.1.5. Biyopterin bozuklukları.....	8
2.1.6. Maternal fenilketonüri.....	9
2.1.7. Fenilketonüri tarihçesi.....	9
2.1.8. Fenilketonürde klinik bulgular	10
2.1.9. Fenilketonürde yenidoğan taraması	10
2.2. Fenilketonürinin Tedavisi	11
2.2.1. Tıbbi beslenme tedavisi.....	11
2.2.2. BH ₄ ve diyet tedavisi	13
2.2.3. Enzim tedavisi	13

2.2.4. Gen tedavisi.....	14
2.3. Büyük Nötral Aminoasitler ve Diyet Tedavisi.....	14
2.4. Serbest Radikaller.....	20
2.4.1. Serbest Oksijen Radikallerin Etkileri.....	22
2.4.1.1 Membran lipitleri üzerine etkileri.....	23
2.4.1.2. Serbest radikallerin proteinlere etkileri	23
2.4.1.3. Karbonhidratlar üzerine etkileri.....	23
2.4.1.4. Nükleik asitler ve DNA üzerine etkisi.....	24
2.5. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	24
2.5.1. Enzimatik antioksidanlar.....	25
2.5.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar	26
2.6. Total Oksidan Seviye, Total Antioksidan Seviye ve Oksidatif Stres İndeksi ...	27
2.6.1. Total oksidan seviye (TOS).....	27
2.6.2. Total antioksidan seviye (TAS).....	27
2.7. Glutatyon Peroksidaz (GSHPx).....	28
2.8. Paraoksonaz 1(PON1)	28
2.8.1. Paraoksonaz' ın hastalıklarla ilişkisi	30
2.9. Koenzim Q 10 (Q10)	31
2.10. L-karnitin.....	34
2.11. Serbest Radikaller ve Oksidatif Hasar	35
2.12. Oksidatif Stres ve Nörodejenerasyon.....	36
2.13. Fenilketonüride Oksidatif Stresle İlgili Deneysel Çalışmalar.....	37
2.14. Oksidatif Stresle İlgili Fenilketonürlü Hasta Çalışmaları	37
2.15. Fenilketonüride Oksidatif Stres.....	39
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	43

3.1. Hasta Seçimi ve Hastalar.....	43
3.2. Kan Örneklerinin Toplanması ve Analizi	45
3.3. Total Antioksidan Seviye Ölçümü	45
3.4. Total Oksidan Seviye Ölçümü	46
3.5. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ).....	46
3.6. Glutasyon Peroksidaz Ölçümü.....	46
3.7. Paraoksonaz 1 Ölçümü.....	46
3.8. Koenzim Q10 Ölçümü	47
3.9. Diğer Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü	47
3.10. İstatiksel Analiz Yöntemi	47
4. BULGULAR.....	47
5. TARTIŞMA	61
6. KAYNAKLAR	74

SİMGELER ve KISALTMALAR

μmol	: Mikromol
8-OHdG	: 8-hidroksi-2-deoksiguanozin
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
Ark	: Arkadaşları
ATP	: Adenozin tripsfat
AU	: Arbitrary units
BH₄	: Tetrahidrobiyopterin
CAT	: Katalaz
DNA	: Deoksiribo nükleik ait
E.C.	:Enzim kodu
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
EEG	: Elektroensefalografi
Eqv	: Equvalan
FA	: Fenilalanin
FAH	: Fenilalanin hidroksilaz
FKÜ	: Fenilketonüri
GSH	: Glutasyon
GSHPx	: Glutasyon peroksidaz
GST	: Glutasyon transferaz
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HDL	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HFA	: Hiperfenilalaninemi
HMG-KoA	: Hidroksimetil glutaril-KoA
IQ	: Zeka puanı
IUGG	: İntrauterin gelişme geriliği
KBB	: Kan beyin bariyeri
LAT1	: L-aminoasit taşıyıcı 1
LCAT	: Lesitin kolesterol açıl-transferaz
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
LNAA	: Büyük nötral aminoasitler
MDA	: Malondialdehit

METC	: Mitokondriyal elektron transfer zinciri
Mg	: Miligram
MRS	: Manyetik rezonans spektroskopi
NaCl	: Sodyum klorür
Ng	: Nanogram
Nm	: Nanometre
NO	: Nitrik oksit
O₂⁻	: Süperoksit radikali
O₂↑↓	: Singlet oksijen
OH⁻	: Hidroksil radikali
ONOO⁻	: Peroksinitrit
OSİ	: Oksidatif stres indeksi
PEG-Fal	: Polietilenglikol-Fenilalanin amonyak liyaz
PON	: Paraoksonaz
PON1	: Paraoksonaz 1
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asitleri
Q10	: Koenzim Q10
RNA	: Ribo-nükleik asit
RNS	: Reaktif nitrojen türleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SD	: Standart sapma
SOD	: Süperoksit dismutaz
TAS	: Total antioksidan seviyesi
TOS	: Total oksidan seviyesi
U	: Ünite
VLDL	: Çok düşük dansiteli lipoprotein

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1. Fenilalaninin tirozine dönüşmesi.....	7
Şekil 2.2. Fenilalanin metabolizması.....	14
Şekil 2.3. Tedavide LNAA takviyesinin günlük kullanımı (g/gün).....	20
Şekil 2.4. NADPH'dan GSH ve Glutasyon redüktaz aracılığı ile elekteron transferi....	28
Şekil 2.5. HDL alt birimleri.....	29
Şekil 2.6. İnsan serum paraoksonaz (PON 1) enziminin yapısı.....	31
Şekil 2.7. Ubikinon ve ubikinolun yapısı.....	32
Şekil 2.8. Koenzim Q10 biyosentezi.....	33
Şekil 2.9. L-karnitin kimyasal yapısı.....	34
Şekil 2.10. Fenilketonürde oksidatif hasara neden olan bazı mekanizmalar.....	41
Şekil 2.11. Fenilketonürde oksidatif stres.....	42
Şekil 3.1. Araştırmanın genel planı.....	44
Şekil 4.1. Erken tanılı hasta gruplarının ve kontrol grubunun TAS düzeyi.....	50
Şekil 4.2. Erken tanılı hasta gruplarının ve kontrol grubunun TOS düzeyi.....	50
Şekil 4.3. Erken tanılı hasta gruplarının ve kontrol grubunun OSİ düzeyi.....	51
Şekil 4.4. Erken tanılı hasta gruplarının ve kontrol grubunun GSHPx düzeyi.....	51
Şekil 4.5. Erken tanılı hasta gruplarının ve kontrol grubunun PON1 düzeyi.....	52
Şekil 4.6. Erken tanılı hasta gruplarının ve kontrol grubunun Q10 düzeyi.....	53
Şekil 4.7. Erken tanılı hasta gruplarının ve kontrol grubunun L-karnitin düzeyi.....	53
Şekil 4.8. Geç tanılı hasta gruplarının ve kontrol grubunun TAS düzeyi.....	56
Şekil 4.9. Geç tanılı hasta gruplarının ve kontrol grubunun TOS düzeyi.....	56
Şekil 4.10. Geç tanılı hasta gruplarının ve kontrol grubunun OSİ düzeyi.....	57

Şekil 4.11. Geç tanıli hasta gruplarının ve kontrol grubunun GSHPx düzeyi.....	58
Şekil 4.12. Geç tanıli hasta gruplarının ve kontrol grubunun PON1 düzeyi.....	58
Şekil 4.13. Geç tanıli hasta gruplarının ve kontrol grubunun Q10 düzeyi.....	59
Şekil 4.14. Geç tanıli hasta gruplarının ve kontrol grubunun L-karnitin düzeyi.....	59

TABLO LİSTESİ

Tablo 4.1. Erken tanılı hastaların ve sağlıklı kontrollerin yaş ortalamaları.....	48
Tablo 4.2. Erken tanılı hastaların ve kontrol grubunun laboratuvar bulguları.....	49
Tablo 4.3. Erken tanılı hastaların diğer biyokimyasal parametreleri.....	54
Tablo 4.4. Geç tanılı hastaların ve sağlıklı kontrollerin yaş ortalamaları.....	54
Tablo 4.5. Geç tanılı hastaların ve kontrol grubunun laboratuvar bulguları.....	55
Tablo 4.6. Geç tanılı hastaların diğer biyokimyasal parametreleri.....	60

ÖZET

KLASİK FENİLKETONÜRİLİ HASTALARDA OKSİDATİF PARAMETRELERİN ARAŞTIRILMASI

Burcu KUMRU

Yüksek Lisans Tezi, Fizyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Cahit BAĞCI

Aralık 2015, 90 sayfa

Fenilketonüri (FKÜ) doğumsal metabolizma hastalıkları arasında en sık görülen bir aminoasit metabolizması hastalığıdır. Karaciğerde bulunan fenilalanin hidroksilaz (FAH) enziminin yetersizliği veya yokluğu sonucu fenilalanin tirozine dönüşememekte, fenilalanin ve metabolitleri kanda ve vücut dokularında birikerek toksik etki yapmaktadır. Fenilketonüride en önemli klinik özellik mental retardasyondur ve fizyopatolojisi tam olarak anlaşılamamıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda bu patolojinin oksidatif stresle bağlantılı olabileceği kanıtı vardır. Bizde çalışmamızda FKÜ hastalarında oksidatif stres parametrelerinden Total antioksidan seviyesi (TAS), Total oksidan seviyesi (TOS), Oksidatif stres indeksi (OSİ), Glutasyon peroksidaz (GSHPx), Paraoksonaz 1(PON1), KoenzimQ10 (Q10) ve L-karnitin düzeylerine bakmayı amaçladık. Bu çalışmaya klasik FKÜ (n=40) tanısı almış hastalar dahil edilerek “erken tanılı” hastalar (n=20) ve “geç tanılı” hastalar (n=20) olarak ayrılmıştır. Erken tanılı hastalar, iki yıllık kan fenilalanin düzeyi ortalamalarına göre “iyi kontrollü” (n=10) ve “kötü kontrollü” (n=10) olarak gruplandırılıp sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Hastalar ve kontroller karşılaştırıldığında TAS, TOS, OSİ, PON1 düzeylerinde anlamlı fark gözlenmezken, GSHPx ve Q10 düzeyleri kötü kontrollü hastalarda sağlıklı kontrollere göre anlamlı düşüktür. L-karnitin kötü kontrollü hastalarda, iyi kontrollü hastalar ve sağlıklı kontrollere göre anlamlı düşüktür. Geç tanılı hastalar “aminoasit karışımı alanlar” (n=10) ve “büyük nötral aminoasit (LNAA) takviyesi alanlar” (n=10) olarak gruplandırılıp sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Hastalar ve kontroller karşılaştırıldığında TAS, TOS, OSİ, PON1, L-karnitin düzeylerinde anlamlı fark gözlenmezken, GSHPx LNAA takviyesi alan hastalarda sağlıklı kontrollere göre anlamlı düşüktür. Q10 düzeyi aminoasit karışımı alan hastalarda, LNAA takviyesi alanlar ve sağlıklı kontrollere göre anlamlı düşüktür. Sonuç olarak, bu çalışma ile erken dönemde tanı alan hastalara bakıldığında, kötü kontrollü hastaların oksidatif strese daha yatkın olduğu, geç tanılı hastalara bakıldığında ise LNAA takviyelerinin aminoasit karışımları kullanan hastalara göre oksidatif strese maruziyeti azalttığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Diyet tedavisi, Fenilalanin, Fenilketonüri, LNAA, Oksidatif stres

ABSTRACT

INVESTIGATION OF OXIDATIVE PARAMETERS IN CLASSICAL PHENYLKETONURIC PATIENTS

Burcu KUMRU

MS Thesis, Department of Physiology

Supervisor: Cahit BAĞCI, M.D. Professor

December 2015, 90 page

Phenylketonuria (PKU) is the most frequent inherited disorder of amino acid metabolism. PKU is caused by deficiency of phenylalanine-4- hydroxylase (PAH), which is a liver-specific enzyme that catalyzes the conversion of l-phenylalanine (Phe) to l-tyrosine (Tyr). Failure of this conversion results in elevated concentrations of Phe and its metabolites. Phenylketonuric patients present as the major clinical feature mental retardation, whose pathomechanisms are poorly understood. In recent years, mounting evidence has emerged indicating that oxidative stress is possibly involved in the pathology of PKU. In this work, we aimed a large spectrum of oxidative stress parameters including Total antioxidant status (TAS), Total oxidant status (TOS), Oxidative stress index (OSI), Glutathione peroxidase (GSHPx), Paraoxonase (PON1), Coenzyme Q10 (CoQ10) and L-carnitine in serum and erythrocytes from PKU patients. The study population consisted of classical PKU patients (n=40) who were divided into two groups: early diagnosed patients (n=20) and late diagnosed patients (n=20). Early diagnosed patients were classified into two groups according to their mean Phe level: good compliance (n=10) and bad compliance (n=10). Age-matched healthy children (n=10) were used as the control group. No significant differences between early diagnosed patients and controls were observed in the levels of TAS, TOS, OSI and PON1. Glutathione peroxidase and L-carnitine levels were significantly reduced in bad compliance patients as compared to good compliance patients and controls. Late diagnosed patients were classified into two groups according to amino acid supplementation type: “received amino acid mixture” (n=10) and “received LNAA supplementation” (n=10). Age-matched healthy children (n=10) were used as the control group. No significant differences between late diagnosed patients and controls were observed TAS, TOS, OSI, PON1 and L-carnitine. GSHPx level was significantly reduced in received LNAA supplementation patients as compared to controls. Coenzyme Q10 levels was significantly reduced in received amino acid mixture patients as compared to received LNAA supplementation patients and controls. As a result, in this work when we look at the early diagnosed patients, poorly controlled patients are prone to oxidative stress. When we look at the late diagnosed patients, LNAA supplementation reduce oxidative stress compared to received amino acid mixture patients.

Key words: Diet therapy, LNAA, Oxidative stress, Phenylalanine, Phenylketonuria

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Fenilketonüri (FKÜ) en sık görülen doğuştan aminoasit metabolizması bozukluğudur. Fenilketonüride, karaciğerde bulunan kofaktörü tetrahidrobiyopterin (BH₄) olan Fenilalanin hidroksilaz (FAH) enzimi eksikliği sonucu fenilalanin (FA) tirozine dönüşmemektedir. Bunun sonucu olarak da, etkilenmiş olan hastalarda FA ve metabolitleri olan fenillaktik, fanilasetik ve fenilpirüvik asit düzeyi kanda ve dokularda artmaktadır. Bunların düzeyinin artmasıyla santral sinir sisteminin normal gelişimi etkilenmekte ve mental retardasyon ile sonuçlanmaktadır (1,2). FKÜ hastalarında altın standart olan fenilalanin düzeyi ile hastaların prognozu arasında sıkı bir ilişki bulunmaktadır. Hastalar tedavide, yaşam boyu FA'den kısıtlı diyet ile birlikte FA içermeyen vitamin, mineral ve elementlerden zengin aminoasit karışımları tüketmektedir (2,3). Son zamanlarda FKÜ hastalarının tedavisinde büyük nötral aminoasitler (LNAA) kullanılmaya başlanmıştır. LNAA tedavisinin farklı amaçları, beyinde artmış olan FA konsantrasyonunun azaltılması, plazma FA konsantrasyonunun azaltılması, serebral nörotransmitter konsantrasyonlarının artırılması ve serebral temel aminoasit konsantrasyonunun artırılmasıdır (4).

Fenilketonüri hastalarında meydana gelen mental retardasyonun nedeni olarak artmış olan oksidatif stres sorumlu tutulmaktadır. Fenilalanin, reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS)'nin artışına neden olarak dokulardaki antioksidan savunmayı azaltmakta ve oksidatif strese neden olmaktadır. Aynı zamanda FA, enerji metabolizmasında anahtar rol oynayan Na⁺, K⁺ ve ATPaz, azaltarak enerjinin azalmasına neden olmaktadır. Artmış olan ROS ve RNS, lipid ve protein oksidasyonu, DNA hasarıyla sonuçlanmaktadır. FA, LNAA'ların beyine girişine engel olarak dopamin ve noradrenalin gibi nörotransmitterlerin sentezi için gerekli olan tirozinin düzeyini azaltmakta bu da antioksidan savunmanın azalmasıyla sonuçlanmaktadır. Özellikle santral sinir sistemi, yüksek oksijen, demir ve çoklu doymamış yağ asitlerinden zengin olan yağ içeriğinden dolayı düşük antioksidan savunmaya sahip olup oksidatif strese yatkındır (5,6).

Total antioksidan seviyesi (TAS), total oksidan seviyesi (TOS) ve oksidatif stres indeksini (OSİ) oluşturan en önemli etken diyetle alınmış olan antioksidan vitamin-minerallerdir. Ayrıca FA'nin de antioksidan sistem üzerinde etkisi vardır (7,8).

Kofaktörü selenyum olan glutatyon peroksidaz (GSHPx), hücreleri reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerinden koruyarak antioksidan olarak görev yapar. Aynı zamanda eritrositlerde oksidatif hasara karşı en etkili antioksidanlardandır (9,10). FKÜ hastalarında GSHPx düzeyini diyetle aldıkları selenyum miktarı ve kan FA düzeyi etkilemektedir (9,11,12).

Paraoksonaz 1 (PON1) enziminin, oksidatif strese karşı önemli bir antioksidan olarak görev yaparak hem LDL'yi hemde HDL'yi oksidasyondan koruduğu bildirilmiştir. Fenilketonüri hastalarında, rezidüel enzim aktivitesine bağlı olarak alınan doğal protein (FA alımı) genellikle bitkisel kaynaklı proteinlerden karşılanmakta olup bu yönüyle diyet “aterojenik olmayan” olarak isimlendirilmiştir. Bundan dolayı, diyet tedavisi alan hastalarda kan lipitleriyle ilişkili olan PON1 aktivitesine bakılmıştır. Hastaların hayvansal kaynaklı protein alımı arttıkça, PON1 düzeyleri azalmıştır (13).

Bir antioksidan olan koenzim Q10 (Q10) kanda ve dokularda lipit peroksidasyonunu önleyerek antioksidan olarak görev yapar. Aynı zamanda, Q10'un mitokondriyal elektron taşıma zincirinde elektron taşıma görevi vardır. Eksikliği respiratuar zincirin fonksiyon yetersizliği ile ilgili olup bu da oksidatif stres riskini arttırmaktadır (14,15). FKÜ hastalarında elektron taşıma zincirinde yeterli Q10 bulunmadığı bildirilmiştir. Koenzim Q10'un elektron taşıma ve antioksidan sistemdeki görevlerinden dolayı, Q10 düzeyinin düşmesi beyindeki enerji metabolizmasının bozulması ve aynı zamanda hücrelerdeki antioksidan kapasitenin azalması ile hastalıkların patofizyolojisine katkıda bulunur (15,16). Hastaların almış oldukları diyetle Q10 kaynaklarından zengin besinlerin yetersizliği, tirozin ve B6 vitamini alımındaki yetersizlik, yüksek kan FA düzeyi düşük Q10 seviyesi ile ilişkilendirilmiştir (14,15,17,19).

L-karnitin'in antiperoksidatif, reaktif oksijen türlerinden koruyucu, nitrik oksit ve hücresel solunumu düzenleyici ve oksidatif hasara karşı koruyucu enzim aktiviteleri mevcuttur (20). Hastaların diyetlerinde L-karnitin'i yüksek oranda içeren hayvansal proteinlerin bulunmaması, FA metaboliti olan fenilasetik asitin karnitin biyosentezini baskılaması hastalarda yetersizliklere yol açtığı görüşü vardır (10,21).

Bu araştırmada klasik FKÜ hastalarını çalışmaya dahil ederek, hastaları homojen şekilde gruplandırarak daha net sonuçlar ortaya konulmak istenmiştir. Bu amaçla hastalar erken tanı ve geç tanı olmak üzere iki ana gruba ayrılmıştır. Hastalar yenidoğan döneminde tanı almış olsa bile bazı hastaların kan FA düzeyi daha yüksek

seyretmektedir. Bunun sonucu olarak da hastalarda nöropsikiyatrik sorunlar, epilepsi, dikkat dağınıklığı gibi nörolojik problemler ortaya çıkmaktadır. Bununda oksidatif stresle ilgili olduğu düşünülmektedir. Bizde erken tanılı hastalarımızı kan FA düzeyine göre gruplara ayırıp sağlıklı kontrollerle karşılaştırma yaparak oksidatif strese yatkınlıklarını ortaya koymayı amaçladık. Türkiye’de yenidoğan taramasının birçok ülkeye göre geç başlaması ve zaman zaman taramada karşılaşılan aksilikler sonucunda birçok geç tanılı hasta bulunmaktadır. Ayrıca hastalar yenidoğan döneminde tanı almış olsa bile ilerleyen dönemde diyet tedavisinden çıkarak diyete uyumları azalmaktadır. Bu hastaların metabolik kontrollerini daha kolay sağlamak ve/veya yaşam kalitesini arttırmak amacıyla FA’dan kısıtlı diyet tedavisi ile birlikte farklı aminoasit takviyeleri (aminoasit karışımları ve/veya LNAA takviyeleri) kullanılmaktadır. Bunun yanında çalışmada geç dönemde tanı alan hastalarda uygulanan farklı tedavilerin hastalarda ortaya çıkan oksidatif strese etkisi incelenmiştir. Yapılan literatür taraması sonucunda, LNAA takviyelerinin oksidatif strese etkisini araştıran başka bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca Türkiye’de klasik FKÜ hastalarında hem kan FA düzeyinin hem de farklı aminoasit takviyelerinin oksidatif strese etkisini araştıran ilk çalışma olması özelliği ile ülkemizdeki hastaların durumunu ortaya koymaktadır. Çalışmada hastaların farklı tedavi ihtiyaçları olduğunu göz önünde tutularak hastaların klinikteki durumlarına özel adjuvan antioksidan tedaviler ortaya koymak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Fenilketonüri

2.1.1. Tanım

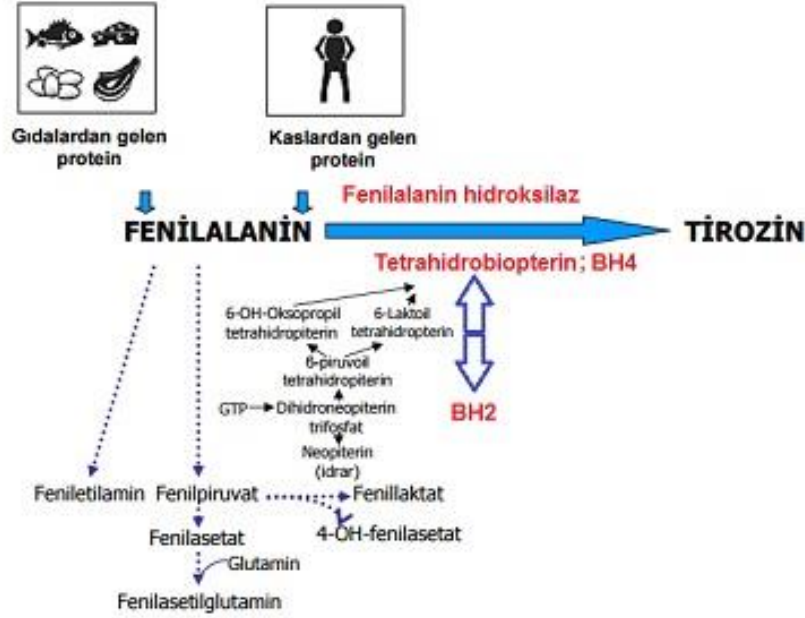
Fenilketonüri (OMIM 261600), fenilalanini (FA) tirozine çeviren fenilalanin hidroksilaz (FAH) (EC 1. 14.16.1) enzimi veya bu enzimin kofaktörü olan tetrahidrobiopterinin (BH₄) eksikliği sonucu ortaya çıkan otozomal resesif geçişli kalıtsal bir metabolik hastalıktır. Fenilalaninin tirozine dönüşümündeki azalma FAH genindeki mutasyondan, biyopterinlerin sentezi ya da geri dönüşümündeki bozukluklardan kaynaklanabilir (22). Bu güne kadar FAH enziminde 500'den farklı mutasyon saptanmasına rağmen, hastalığa özel genotip/fenotif korelasyonu saptanmamıştır (23). Tedavi edilmeyen FKÜ olgularında gelişen bilişsel bozukluklar, gelişimsel sorunlar, davranış bozuklukları ve psikiyatrik belirtiler ilerleyici olup çocuk büyüdükçe belirginleşerek mental gerilik, mikrosefali, havale, egzama gibi bulgulara görülebilir (24,25). Sağlıklı bireylerde plazma FA düzeyi çocuk ve erişkinlerde önemli değişiklikler göstermezken; erişkinlerde 58±15 µmol/L, çocuklarda 62±18 µmol/L, ergenlerde 60±13 µmol/L'dir. Yenidoğan döneminde ve çocukluk çağında normal plazma FA düzeyleri erişkinlerdeki gibidir. Ergen erkeklerdeki plazma FA düzeyi kızlarınkinden daha yüksektir. Kan FA düzeyi >2 mg/dl (>120 µmol/L)'nin üzerinde bulunduğunda hiperfenilalaninemi (HFA) varlığından söz edilebilir (24,26,27).

Fenilketonüri insidansı ülkeler arasında değişkenlik göstermektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) 1/15.000, Avrupa'da ise 1/10.000'dir. Latin Amerika'da 1/25–50.000 arasında değişiklik göstermektedir. Asya'da; Çin'de 1/15.000–100.000, Tayland'da 1/200.000, Japonya'da 1/70.000 olarak bildirilmiştir (24,28,29). FKÜ'nün ülkemizdeki sıklığı 1/5049, HFA sıklığı ise 1/4172'dir. Ülkemizde yılda yaklaşık 250-300 çocuk bu hastalıkla doğmaktadır. Bu oranın ülkemizde yüksek olmasının nedeni toplumda 26 kişiden birinin hastalık taşıyıcısı olması ve akraba evliliğinin çok sık gerçekleşmesidir (30).

2.1.2. Fenilalanin biyokimyası ve metabolizması

Esansiyel bir aminoasit olan FA memeliler tarafından sentezlenememekte ve büyümenin sağlanması için diyet ile dışarıdan alınmalıdır. Protein yapımı için gerekli

olmayan fazla FA'nin (%75 kadarı), karaciğerde bulunan fenilalanin hidroksilaz (FAH) (fenilalanin-4-monooksijenaz) enzimi ile tirozine dönüştürülmektedir (Şekil 2.1.) (31).



Şekil 2.1. Fenilalaninin tirozine dönüşmesi (32)

2.1.3. Hiperfenilalaninemi nedenleri

Hiperfenilalaninemiler (HFA) FA'nın tirozine dönüşümünü sağlayan FAH veya enzimin kofaktörü olan BH₄ üretimi veya döngüsünde bozukluk sonucunda ortaya çıkarlar. Kan plazma FA düzeyi >2 mg/dl (>120 µmol/L)'nin üzerinde bulunduğunda HFA varlığından söz edilebilir (33). FA'nın tirozine dönüştürülme hızında azalmaya neden olan tüm kalıtsal ya da edinsel nedenler vücut sıvılarında ve beyinde FA konsantrasyonunun artmasına neden olur (24).

2.1.3.1. Kalıtsal nedenler

- Klasik FKÜ
- Hafif Hiperfenilalaninemi (HFA)
- BH₄'e yanıt veren HFA
- BH₄ metabolizması bozukluklarına bağlı HFA

2.1.3.2. Edinsel nedenler

- Sirkadyen ritm (öğleden sonra kanda FA düzeyi biraz artar)
- Kwashiorkor
- Obezite

- Yanık (vücut yüzeyinin %20 ve daha fazlasını kapsayan yanıklardan 0-7 gün sonra)
- Enfeksiyonlar
- Böbrek yetmezliği
- Metotreksat tedavisi (kanda FA/tirozin oranı artar)
- Yenidoğan döneminin geçici tirozinemisi
- Prematürite (geçici olarak kanda FA artar)

2.1.4. Klasik fenilketonüri ve diğer hiperfenilalaninemilerin tanısı ve sınıflaması

HFA için dünyada kabul görmüş bir sınıflama yapılmamıştır. HFA sınıflandırmasında diyetteki FA tolerasyonu temel alınarak da yapılabilir; ancak ölçüm zorluğu ve tolerans değişkenliği nedeniyle bu sınıflandırma daha az kullanılmaktadır (25). Tanı anındaki kan FA düzeylerine göre hastalar alt gruplara ayrılmıştır:

- Klasik FKÜ: Kan FA düzeyi 20 mg/dl'nin üzerindedir.
- Orta derecede “moderate” FKÜ: Kan FA düzeyi 15-20 mg/dl arasındadır.
- Hafif “mild” FKÜ: Kan FA düzeyi 10-15 mg/dl arasındadır.
- Hafif “mild” HFA-gri bölge (fenilketonüri olmayan HFA): Kan FA düzeyi 6-10 mg/dl arasındadır.
- Hafif “mild” HFA-tedavi gerektirmeyen: Kan FA düzeyi 2-6 mg/dl arasındadır (34).

Hiperfenilalaninemi saptanan her bebek idrar neopterin, biyopterin düzeyleri ve Guthrie kartı üzerine alınmış kan örneklerinde dihidropteridin redüktaz enzim aktivitesi ölçülerek BH₄ metabolizması bozukluğu yönünden incelenmelidir. Kalıcı HFA saptanan vakaların %1-3'ünde BH₄ metabolizması bozukluğu vardır (24).

2.1.5 Biyopterin bozuklukları

Bu grup hastalık yenidoğan döneminde kalıcı HFA vakalarının %2'sinden azını oluşturmaktadır. Guanozin trifosfat siklohidrolaz eksikliği, 6-pürivoyil tetrahidropiterin sentaz eksikliği, piterin-4 α -kabinolamin dehidrataz eksikliği, dihidropteridin redüktaz eksikliği bu grubu oluşturan hastalıklardır. Dihidropteridin redüktaz eksikliği en ağır seyreden formudur. BH₄ metabolizması bozukluğuna ait bulgular yenidoğan döneminde ortaya çıkabilmekle birlikte genellikle hasta yaklaşık 4 aylıkken bulgular görülmektedir. Motor-mental retardasyon, nöbet, hipotoni, hipersalivasyon, beslenme-yutma güçlüğü ve otonomik sorunlar gözlenir. Tedavide FA kısıtlanmasının yanında nörotransmitter

öncüleri (L-dopa, karbidopa ve 5-hidroksitriptofan), tetrahidrobiyopiterin ve folinik asit kullanılır (34). BH₄, FAH enziminin kofaktörüdür fakat aynı zamanda beyin nörotransmitter (serotonin, dopamin) metabolizmasında görev alan triptofan hidroksilaz ve tirozin hidroksilaz için de gereklidir (35).

2.1.6. Maternal fenilketonüri

Annenin çocuğa trans plasental olarak geçen FA annenin kan düzeyinin 1,5 katı olarak fetüse yansır (31). FA'nin teratojenik etkisinden dolayı bebeklerde ciddi beyin zedelenmesi gelişir, bunun sonucunda mikrosefali, mental gerilik oluşur. Kalp anomalileri, özefagus atrezisi ve IUGG görülen diğer konjenital anomalilerdir. Bu komplikasyonlar artmış kan FA düzeyi ile orantılı olarak artar. Gebelik öncesi ve gebelik boyunca kan FA düzeyi 2-6 mg/dl arasında olduğunda maternal fenilketonüri'nin getirdiği komplikasyonlar azalmaktadır (31,34). Gebelik planlayan hastalarda konsepsiyon öncesi diyet kontrolü sağlanarak maternal FKÜ komplikasyonları önlenabilir (34,36).

2.1.7. Fenilketonüri tarihçesi

1934 yılında Norveçli hekim Askjörn Følling, biri altı buçuk diğeri dört yaşında olan zihinsel engelli iki kardeşin tuhaf kokan idrarlarının demir III klorür ile koyu yeşil renk aldığını görmüştür. Bu tepkimeye neden olan maddenin idrarda fazla miktarda atılan fenilpirüvik asit olduğunu göstererek fenilketonüriye neden olan biyokimyasal bozukluğu açıklamıştır (1,37). Kanda FA yüksekliğine (HFA) yol açan nedenin FAH enziminin işlevinde azalma olduğu 1937'de anlaşılmıştır (25). 1950'lerin ortalarında FA alımını kısıtlamak için yapay diyet mamaları denenmiş ve başarılı olmuştur (38). 1953 yılında Horst Bickel tarafından FA kısıtlı diyet tedavisi ciddi mental ve motor geriliği olan 2 yaşındaki FKÜ'lü bir hastaya uygulanmış, tedavi sonrasında yürümeye, sandalyeye tırmanmaya başlamış ve saç rengi koyulaşmıştır (39). 1958'de hastaların çoğunda esas patolojinin FAH aktivitesinin düşüklüğü olduğu, 1978'de ise tetrahidrobiyopterin biyosentezi ile ilişkili basamakların eksikliğinin hastalığa neden olabileceği gösterilmiştir (40). Robert Guthrie tarafından 1960'ta geliştirilen bakteriyel inhibisyon testi sayesinde FKÜ yaygın olarak yenidoğanlarda filtre kağıdına alınan bir damla kan ile taranmaya başlanmıştır. Bu test, kandaki yüksek FA'nin, fenilpirüvat ve fenillaktat miktarının, inhibitörlü ortamdaki *Bacillus subtilis*'in üremesi üzerindeki inhibisyonu kaldırması esasına dayanmaktadır (41). 1980 yılında FAH geni kromozom 12 üzerine haritalanmış ve genetik analizi yapılmıştır. Mutasyon Analiz Birliği'nin

kurulması ile 1990'lerden günümüze 500'den fazla mutasyonu olduğu tanımlanmıştır (42,43).

2.1.8. Fenilketonüride klinik bulgular

Klasik FKÜ'lü hastalarda genelde doğumda normal olup herhangi bir klinik belirti ya da bulgu göstermezken, çocuk 2-3 aylık olduktan sonra gelişim basamaklarının yaşitlarına göre geri olduğu fark edilmeye başlanır. Hastada zeka ve motor gelişim geriliği 6-7. aydan itibaren belirginleşir ve tedavi almamış FKÜ hastalarındaki en belirgin bulgu zeka geriliğinin varlığıdır. Mental retardasyona ek olarak da mikrosefali, egzama, cilt ve saçta açık renk ile idrarda küf kokusunda hastalığa eşlik eder. Hastaların çoğunda elektroensefalografide (EEG) bozukluklar, konvülsiyon, ilerleyen yaşlarda otistik davranış bozuklukları görülebilir. Diğer sık karşılaşılan bulgular, belirgin maksilla, geniş aralıklı yerleşim gösteren dişler ve mine tabakası hipoplazisidir. (1,24,44).

Fenilketonürinin klinik belirtilerinin zamanla ortaya çıkacağı ve klinik belirtilerle tanı koyulabilen en erken yaşta bile geri dönüşümsüz beyin hasarının oluşmaya başlamış olacağı düşünülürse tanı koymanın en uygun yolu yenidoğan taramasıdır (24).

Hastalığın klinik, biyokimyasal ve genetik yönü çok iyi bilinmesine rağmen, beyin görüntülemesi ile saptanan beyaz cevherdeki bulguların patogenezi tam olarak anlaşılamamıştır. Kronik olarak yükselmiş kan FA düzeyleri ile ilişkilendirilmiştir. Yeterli tedavi almayan veya tedaviyi erken bırakanlarda dismyelinizasyon önemli bir bulgudur (45,47).

Erken dönemde uygun tedaviye başlanan fenilketonürlü bireylerde mental retardasyon, konvülsiyonlar ve davranış bozuklukları gibi bulgular görülmemektedir; ancak çeşitli nörobilişsel sorunlar görülebildiği ortaya konmuştur. Bu hastalarda zeka katsayıları (IQ) normal sınırlar içerisinde olsa da hasta olmayan kardeşlerinden ortalama 7-10 puan daha düşüktür (48).

2.1.9. Fenilketonüride yenidoğan taraması

Hiperfenilalaninemi tanısının yenidoğan döneminde ilk 15 gün içinde konulması, ülkemizde son yıllarda yaygınlaşan yenidoğan taramasının temel hedeflerinden biridir. Taramanın etkin olabilmesi için kan örneğinin, proteinle beslenmeye başladıktan en az 24-48 saat sonra alınmasıdır. Ancak yenidoğanların çoğu 48. saatten önce taburcu edildikleri için taramanın bebek 7-10 günlükken tekrar edilmesi önerilmektedir (24).

1960'lı yıllarda erken tedavi ile nörolojik zedelenmenin önlenebildiği anlaşıldıktan sonra yenidoğan hasta bebeklerin belirlenmesi ve uygun tedavisinin en kısa sürede başlanmasına yönelik toplum tarama testleri geliştirilmiştir. Bu yolla erken tanı alan çocuklarda zeka geriliği önlenmiştir (41). 1963'te Amerika Birleşik Devletlerinde (ABD) yenidoğanlarda FKÜ taraması başlarken, ülkemizde 1983 yılında Prof. Dr. İmran Özalp önderliğinde yenidoğanlarda FKÜ taraması, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Metabolizma ve Beslenme Ünitesi ile TÜBİTAK (Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu) işbirliğinde pilot proje olarak başlamış olup hastalık sıklığı yüksek olarak saptanmış ve 1986 yılından itibaren Sağlık Bakanlığı'nın organizasyonu ile 36 il merkezinde tarama programı yürütülmeye başlanmıştır. Tarama 1990 yılında 81 ilimizi içine alacak şekilde genişletilerek ulusal çapta uygulanmıştır (24,43). Yenidoğan tarama programı ülkemizde 1986 yılından beri uygulandığı için gelişmiş ülkelere kıyasla geç tanı alan hastalara daha çok rastlanmaktadır (30).

2.2. Fenilketonürinin Tedavisi

Tedavide temel amaç FA'nin toksik etkilerinden korunmak için kan FA düzeylerini kontrol altında tutmak ve aynı zamanda da normal büyümenin ve gelişimin sağlanması için gerekli olan enerji ve besin öğelerinin sağlanmasıdır (34,50). FKÜ tedavisinde FA ve metabolitlerinin beyin üzerine toksik etkisini önleyecek çeşitli tedaviler bulunmaktadır (43). Fenilketonürlü hastalar kalıtsal metabolizma hastalıkları merkezlerinde deneyimli doktor ve diyetisyen tarafından izlenmelidir (34).

2.2.1. Tıbbi beslenme tedavisi

Diyette FA kısıtlaması ile kan FA düzeyinin hedeflenen sınırlar içerisinde (2-6 mg/dl) tutulması istenir. 1960'lı yıllarda birçok metabolizma merkezi, diyet tedavisine 4-8 yaşları arasında son vermekteydi. Ancak bu durum özellikle 12 yaşın altındaki çocukların zeka puanlarının (IQ) düşmesine ve nörofizyolojik yetersizliklere neden olmuştur. Tıbbi beslenme tedavisine erken başlanması ve ilerleyen yaşlarda kognitif fonksiyonların sağlıklı sürdürülmesi için yaşam boyu diyet tedavisinin gerekliliği bildirilmiştir (23,34,51). FA'den kısıtlı diyet tedavisi ile yüksek protein içeren besinlerin diyetle alımı kısıtlanırken gerekli besin öğelerinin karşılanması için FA içermeyen aminoasit karışımları ve düşük protein içeren özel tıbbi besinler kullanılır (52). Diyet, kişinin FA tolerasyonuna göre bireysel olarak değişmekte ve yaşına,

hastalık durumuna, aktivite düzeyine göre uygun enerji, protein, vitamin ve mineral içermektedir (53).

Fenilketonüri hastalarının diyetinde sebze, meyve, düşük FA içeren besinler ve FA içermeyen aminoasit karışımları yer almakta ve bir yönüyle vejetaryen diyetle benzemektedir (54). Hastalar yüksek FA içeren hayvansal gıdaları tüketemediklerinden, diyetleri yüksek karbonhidrat, düşük kolesterol, düşük doymuş ve uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleri içermektedir. Diyet tedavisi düşük proteinli özel tarif bilgisi, pişirme yeteneği, ölçü kaplarının doğru kullanımını gerektirdiğinden karmaşık olarak nitelendirilmekte ve diyetle uyumu zorlaştırmaktadır. Diyetle FA alımının yanında hasta nörolojik, fiziksel, davranışsal gelişim ve biyokimyasal parametrelerin izlemi ile takip edilmelidir (55). Hastaların diyetlerinde bir tatlandırıcı olan aspartamın alımına dikkat edilmelidir. Aspartam L-fenilalanin, L-aspartik asit ve methanole hidrolize olur. 330 ml'lik aspartam ile tatlandırılmış içecek tüketen bir hasta günlük alması gereken FA'nin tamamını karşılamış olur (31).

Fenilketonüri bireylerde emzirme oranlarının düşük olduğu gösterilmiştir (56). Dünya Sağlık Örgütü'nün sağlıklı çocuklara da önerdiği gibi FKÜ hastalarında da emzirmenin 2 yaşına kadar sürdürülmesi gerektiği bildirilmiştir. Bu dönemde kan FA düzeyine göre anne sütü FA içermeyen aminoasit karışımları ile beraber kullanılmalıdır. FKÜ bireylerin gelişiminde anne sütünün yararlı etkileri üzerinde durulmuştur. Anne sütü ile beslenen FKÜ'lü hastaların, mama ile beslenenlere kıyasla zeka puanlarının (IQ) 14 puan daha fazla olduğu gösterilmiştir. Anne sütünün adapte mamaya göre düşük FA içeriği (anne sütü 50 mg/100 ml, adapte mama 60 mg/100 ml), en iyi FA/tirozin oranı, büyüme ve beyin fonksiyonlarının gelişinde önemli yeri olan araşidonik asit, dokozaheksaenoik asit gibi uzun zincirli çoklu doymamış yağ içeriği nedeni ile önerilmesi gerektiği vurgulanmıştır. Ayrıca anne bebek birlikteliğini desteklemek açısından da önemli görevi vardır (55). Herhangi bir nedenle anne sütü alamayan bebeklere günde 50-60 mg/kg FA sağlayacak şekilde adapte mama başlanmalı ve bebeğin protein gereksinimi FA içermeyen aminoasit karışımları ile karşılanmalıdır (51).

Tamamlayıcı beslenmeye bebek 6 aylık olduğunda meyve püreleri veya taze sıkılmış meyve suları (özellikle elma veya şeftali), sebze püreleri veya çorbaları, düşük proteinli pirinç veya FA gereksinimine göre normal pirinç, pirinç unu diyetle eklenmelidir. Bu dönemde verilen diyeti tam olarak bitiremeyen hastalarda FA gereksinimini karşılamak amacıyla adapte mamalardan yararlanılabilir (51,57).

Hastaların enfeksiyon dönemlerinde, azot kaybı, kas protein katabolizmasında artış, albümin sentezinde azalma, plazma FA düzeyinde artma gibi birçok metabolik değişiklik gerçekleşmektedir. Bu nedenle enerji gereksinmesi, enfeksiyon döneminde % 20-30 oranında artmakta, ayrıca vücut ısısının her 1 derece artışında enerji gereksiniminin % 10-12 oranında arttığı bilinmektedir (57).

Diyette doğal protein alımı sınırlandırıldığı için, büyüme ve gelişmenin sürdürülmesini sağlamak amacıyla günlük protein gereksinmesinin %75'i aminoasit karışımlarından sağlanmalıdır. Aminoasit karışımları FA dışında özellikle FKÜ hastalarında elzem olan tirozin içermektedir ve gereksinim kadar vitamin, mineral ve elzem yağ asitlerini karşılamaktadır. Aminoasit karışımlarının yenidoğanlarda ve süt çocuklarında günde 6-8 kere, bir yaşından büyük çocuklarda ise en az günde üç veya dört kere alınması, aminoasit karışımlarının gün boyunca eşit aralıklarla verilmesi ve FA içeren besinlerle birlikte kullanılması önerilmektedir (51).

Diyetin etkili uygulanması için deneyimli bir diyetisyenin varlığı önem taşır. Hastaların kan FA düzeyleri düzenli bir şekilde izlenmeli, diyet büyüyen ve gelişen çocuğun gereksinimlerine göre düzenlenmelidir. Hastaların büyümeleri, kilo alımları, nörolojik gelişimleri değerlendirilmeli, olası besin eksiklikleri açısından yakından izlenmelidir (33).

2.2.2. BH₄ ve diyet tedavisi

Fenilketonürlü hastaların bir kısmı, FAH gen mutasyonunun tipine bağlı olarak, oral BH₄ tedavisine olumlu yanıt verebilir. Sapropterin dihidroklorid (Kuvan, Biomarin Pharma) BH₄'ün sentetik analogudur ve oral yoldan aktiftir. Çalışmalar, bu maddenin BH₄ yükleme testine yanıt veren HFA'lı ve FKÜ'lü hastalarda etkili ve güvenli bir tedavi desteği olabileceğini göstermiştir. BH₄ yanıtı, BH₄ yükleme testi ile değerlendirilir ve kan FA düzeyinde %30'dan fazla azalma olması durumunda hasta yanıtı olarak kabul edilir (31,58,59). Bu hastalarda 10-20 mg/kg/gün düzeyinde BH₄ kullanıldığında, kan FA düzeyleri 8-12 saat içerisinde normale gelmektedir. BH₄ yanıtı FKÜ hastalarının diyetle aldıkları FA miktarları artmaktadır (51).

2.2.3. Enzim tedavisi

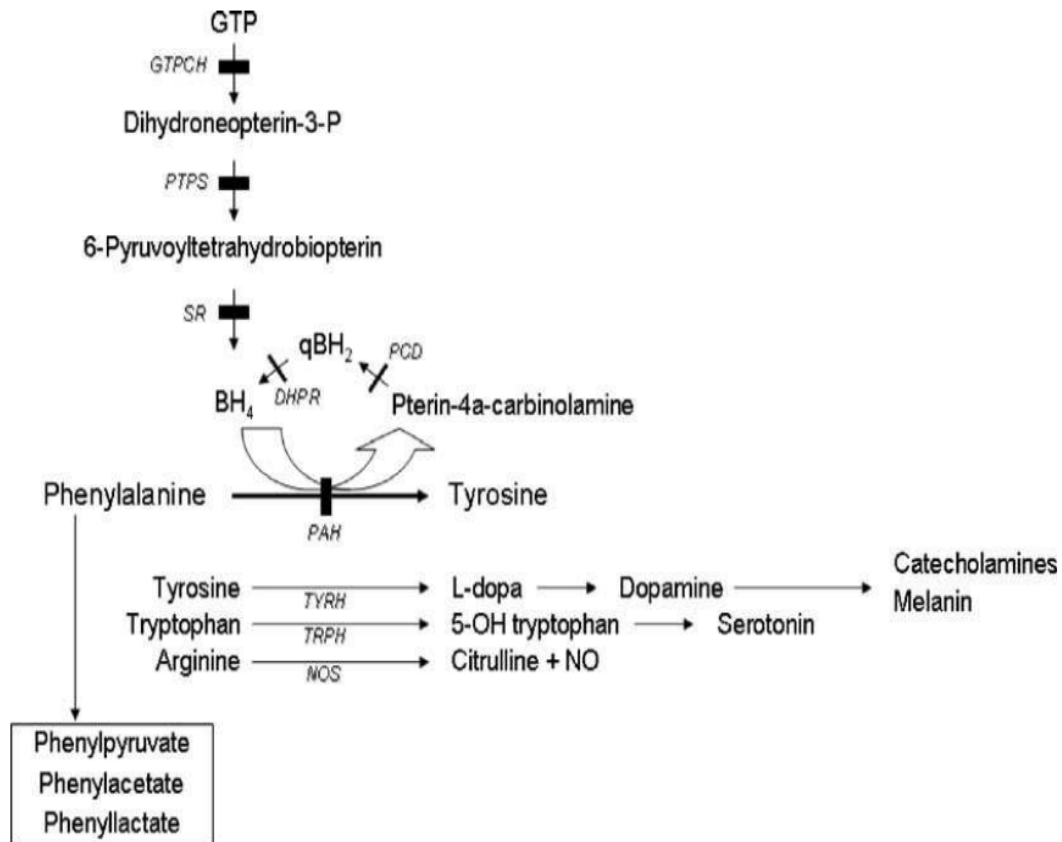
Doğada bakterilerde ve bitkilerde bulunan FA amonyak liyaz, FA'yı amonyağa ve zararsız bir metabolit olan, benzoik asite dönüşerek hipurat olarak idrarla atılan trans-cinnamik asite yıkar. Fenilalanin amonyak liyaz memelilerde bulunmayan ve kofaktöre

gerek duymayan bir enzimdir (60,61). Polietilenglikol ile konjuge edilmiş fenilalanin amonyak liyaz (PEG-FAL) enziminin 2007’de başlayan faz II çalışmaları tamamlanmış ve 2013’de faz III aşamasına geçilmiştir (25,62). Subkutan enjeksiyon ile uygulanan PEG-FAL tedavisinin kan fenilalanin düzeyini yaklaşık olarak %62 oranında düşürdüğü ve ciddi yan etkilerin gözlenmediği bildirilmiştir (63). İnsanlarda uygulanması ile ilgili araştırmalar halen devam etmekte olup, bu tedavi FKÜ hastalarında umut vadetmektedir.

2.2.4. Gen tedavisi

Fenilketonürinin hayvan modellerinde viral vektörlerle başarılı gen replasmanı gerçekleştirilmiştir. Karaciğerde FA hidroksilasyonu ile tirozin sentezlenmesi ve bununda melanine dönüşmesi sonucunda fare modellerinin renklerinin griden siyaha döndüğü görülmüştür. Ancak insanlardaki çalışmaları getirmiş olduğu riskler bakımından yavaş ilerlemektedir (64).

2.3. Büyük Nötral Aminoasitler ve Diyet Tedavisi



Şekil 2.2. Fenilalanin metabolizması (65)

Fenilalanin hidroksilaz eksikliği hepatik düzeyde oluşsa da, HFA klinik etkileri beyin gelişimi ve fonksiyonu üzerindedir. Nörotoksin olarak bilinen FA'nin plazma düzeyi tedavi edilmemiş FKÜ hastalarında artmakta ve ağır mental retardasyonla sonuçlanmaktadır. Bunun yanında erken tedavi altına alınmış FKÜ hastalarında da bilişsel anormallikler gözlenmektedir. FKÜ'de standart tedavi diyetinde FA kısıtlamasına dayanmaktadır. Yapılan çalışmalar, büyük çocuklarda düşük FA içeren diyetle serbestlikler olduğunda plazma FA düzeyinin arttığını ve bunun da zihinsel performansta düşüşle sonuçlandığını göstermiştir. Erken tanı almış ve tedavi olan FKÜ hastalarında bile diyetle uyum azaldığında nöropsikolojik bozukluklarla sonuçlanmaktadır. FKÜ hastalarında plazma FA düzeyleri benzer olsa da beyin FA düzeyleri farklı olabilmektedir. Hastalardaki zihinsel durum plazma FA düzeyinden çok beyin FA düzeyi ile ilişkilidir (65,67). FKÜ hastalarında yaştan bağımsız olmak üzere, kan FA düzeyi 500 $\mu\text{mol/L}$ 'nin üzerinde olduğunda posterior serebral derin beyaz cevher de anormal bulgular ortaya çıkmaktadır (19).

Kan beyin bariyeri (KBB), beyin kapiller endotelyal hücrelerinden meydana gelir Kan beyin bariyeri hücreler arası hareketi bloke eder ve luminal (kan yüzeyi) ve abluminal (beyin yüzeyi) yüzeyler arasında intrinsik proteinlerin ve yağların alışverişini engeller (65). LNAA'lar FA dışında, tirozin, triptofan, treonin, metiyonin, valin, izolözin ve histidini kapsar. Tirozin haricinde, bunların hepsi sağlıklı bireylerdeki temel aminoasitlerdir. Tirozin, FKÜ hastalarında temel bir aminoasit olmuştur (4). LNAA'ların KBB'den taşınması büyük nötral aminoasit taşıyıcısı 1 (LAT1) aracılığı ile sağlanır. Bu kolaylaştırıcı taşıma sistemi, beyin endotelyal hücrelerini hem luminal hem de abluminal membranı üzerinde bulunur. LNAA'lar arasındaki LAT1 rekabeti ve bu taşıyıcının farklı LNAA'lar için farklı afiniteye sahip olduğu göz önünde bulundurulduğunda, bu LNAA'ların kandaki oranları ve LAT1'in her biri için sahip olduğu afinite, LNAA'ların kandan beyne net alımını belirler. FA sistem için en yüksek afiniteye sahiptir. Dolayısıyla, yüksek plazma FA konsantrasyonları diğer LNAA'ların beyne alımını olumsuz etkiler. Kolaylaştırıcı sistem LAT1 aracılığı ile beynin tüm nötral aminoasitlere erişimi vardır ve sodyuma bağlı bir sistemle kendi ekstrasellüler sıvı bileşimini ayarlama yeteneğine sahiptir (65).

Yüksek beyin FA konsantrasyonu nörotoksik olarak kabul edilir. Tüm LNAA'lar beyne girmek için ortak bir taşıma sistemini paylaşması ve LNAA'ların yüksek plazma konsantrasyonlarının, FA beyne taşınmasını bloke edebilmesi nedeniyle, kan LNAA

konsantrasyonlarının artırılması beyne FA alımını azaltabilir. Bu hipotez ilk olarak deneysel HFA'sı olan sıçanlar üzerinde çalışılmıştır. LNAA ile tedavi edilen HFA sıçanların beyin FA konsantrasyonlarının, tedavi edilmeyen, benzer kan FA konsantrasyonlarına sahip HFA sıçanlara kıyasla önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir. Yüksek beyin FA konsantrasyonları, beyin nörotransmitter konsantrasyonlarının azalmasıyla sonuçlanmaktadır. Bu durum, FKÜ'lü farelerin beyindeki nörotransmitter konsantrasyonlarının azalmasıyla ve FKÜ hastalarında, hem serebrospinal sıvıda (CSF) hem de otopsi yapılan beyin dokusunda dopamin, serotonin, ve metabolitlerinin konsantrasyonlarının azalmasıyla yansıtılmıştır. Prefrontal lob bozukluğu teorisi, böyle bir tedavi stratejisini desteklemiştir (4).

Kan FA artmasının birinci sonucu beyin FA düzeyinin artmasıdır. KBB düzeyindeki (LAT1 aracılı) taşıma için FA ve diğer tüm LNAA'lar arasındaki rekabetten kaynaklanan ikinci sonuç, beyin diğer LNAA'ları (esas olarak dallı zincirli aminoasitler olan tirozin ve triptofan) alımındaki bozukluktur. Bu aminoasitlerin beyinde bulunabilirlikleri, düşük bir suprafizyolojik plazma FA konsantrasyonu (3.3-8.3 mg/dl aralığında) tarafından ciddi derecede bozulabilir. Fazla plazmatik FA'den kaynaklanan dengesizlik, beyin triptofan düzeyini etkileyecek ve eş zamanlı olarak beyin serotonin sentezini azaltacaktır; ayrıca beyindeki tirozin düzeyinide etkileyecek ve bu durum kesinlikle dopamin, nöradrenalin ve adrenalin biyosentezinin azalmasıyla sonuçlanacaktır. Kan beyin bariyeri'nden yetersiz LNAA taşınmasının bir diğer sonucu ise, hayvan modellerinde gözlenen bozulmuş protein sentezidir. Son olarak, FKÜ hastalarının klinik tablosunu daha da kötüleştiren miyelinizasyon anomalilerinin, beyin FA konsantrasyonlarının artmasını takiben artan miyelin yapım yıkım hızı ve azalan miyelin üretiminin bir kombinasyonu olduğu görülmektedir. Tüm bu faktörlerin, özellikle tedavi edilmeyen veya geç tanı konulan hastalarda, FKÜ'de görülen nörolojik bozukluğun patofizyolojisinde payı vardır. Özetlemek gerekirse yüksek beyin FA konsantrasyonu FKÜ hastalarında görülen beyin işlev bozukluğundan sorumlu tek faktör değildir (65). FKÜ hastalarında yapılan daha sonraki çalışmalar valin, izolösin, lösin takviyesinin FKÜ hastalarında nöropsikolojik fonksiyonun hafif iyileşmesiyle sonuçlandığını göstermiştir. Daha sonraki çalışmalar tüm LNAA'ların uygulanmasını içermektedir. Pietz ve ark. ve Moats ve ark., oral LNAA takviyesinin, beyin FA konsantrasyonlarını azalttığını ve nörofizyolojik ve nöropsikolojik fonksiyonu iyileştirdiğini göstermiştir. Beyindeki herhangi bir temel aminoasidin eksik olmasının

beyin (protein) metabolizmasını etkileyebileceği hipotezi öne sürülmektedir. Sonuç olarak, LNAA takviyesinin, beyin FA konsantrasyonları üzerindeki etkisinden çok beyin LNAA konsantrasyonları üzerindeki etkisine odaklanmaktadır (4).

Büyük nötral aminoasit tedavisi daha 1948 yılında diyet ile FA kısıtlamasına alternatif olarak önerilmiştir ve ilk olarak 1976 yılında sıçanlar üzerinde çalışılmıştır. O zamandan itibaren, farklı gerekçelere ve tedavi hedeflerine dayanarak farklı kombinasyonlarda LNAA'lar tasarlanmıştır. LNAA takviyesiyle ilgili yaklaşım, LNAA transferinin yalnızca kan beyin bariyerinde değil, aynı zamanda bağırsak kan bariyerinde de gerçekleştiği gerekçesine dayanmaktadır (4).

Fenilketonüri hastalarının tedavisinde LNAA kullanımı ile ilgili denemeler, beyindeki FA taşınması üzerine odaklanmıştır. Lou ve ark. (1985) tirozin ile ilgili yaptığı çalışmada FKÜ hastalarına 160 mg/kg tirozin kullanılmış, dikkat düzeyinde ve nörotransmitter düzeyindeki artış görülmüştür. Buna rağmen Pietz ve ark. (1995) yaptığı çalışmada 24 erken tanı FKÜ hastasına 4 hafta boyunca 100 mg/kg tirozin verilmiş ve sonucunda nöropsikolojik testlerde herhangi bir gelişme görülmemiştir (67). Tedavide LNAA kullanılması ile ilgili yapılan ilk çalışmada, lizin içermeyen LNAA karışımı kullanılmıştır. Çalışmaya alınan 4 FKÜ hastasına bir ay süresince düşük protein diyetiyle (0.6 g/kg) birlikte 0.8 g/kg LNAA takviyesi yapılmıştır. Bu tedavi lizin eksikliğine bağlı negatif nitrojen dengesine yol açmıştır ve bu karışımın FKÜ hastaların tedavisinde yeterli olmayacağı görülmüştür (68). Pietz ve ark. (1996) yaptığı çalışmaya 6 FKÜ hastası alınmıştır ve LNAA takviyesi ile birlikte veya tek başına 100 mg/kg FA yüklemesi yapılmıştır. LNAA tedavisi sırasında, manyetik rezonans spektroskopisi ($\mu\mu$) ile ölçüm yapılarak beyne FA girişi azaldığı görülmüştür (69). Moats ve ark. (1999, 2000), hastalara 0,6 g/kg LNAA takviyesi vererek MRS ile beyin FA düzeylerini ölçmüşlerdir ve çalışmanın sonunda LNAA takviyesi boyunca beyin FA konsantrasyonunun azaldığı bulunmuştur (70,71).

Matalon ve ark. (2007) yaptığı bir çalışmaya yaşları 11-32 olan 20 FKÜ hastası dahil edilmiştir. Hastalar daha önce aldıkları diyetle ek olarak kg başına yaklaşık 1 tablet olmak üzere her gün 0.5 g/kg LNAA tableti günde 3 kere yemeklerle birlikte almışlardır. Plasebo tablet de aynı dozlarda kullanılmıştır. Hem plasebo hem de LNAA kullanımı süresince haftada 2 kere kan FA düzeyine bakılmıştır. Yapılan çift kör çalışma sonucunda LNAA kullandıkları bir haftalık zamanda kan FA düzeylerinde

%39'luk anlamlı bir düşme görülmüştür (67). Çalışmaların sonuçları FKÜ hastalarında yeni tedavi modellerinin kullanımı konusunda cesaret verici olmuştur (67).

Matalon ve ark. fareler üzerinde çalışmalar yaptıktan sonra, öğünlerle birlikte günde üç kez LNAA alan ancak normal diyetleri değiştirilmeyen hastalarda bir çalışma gerçekleştirmiştir. 0,5-1,0 g/kg/gün LNAA takviyesinde, kan FA konsantrasyonlarında ilk değerlere göre %50'ye kadar azalma görülmüştür (67,68). İlk olarak, LNAA takviyesinin, hastalarda, plazma FA konsantrasyonları >1000 µmol/L'de bile, beyin FA konsantrasyonlarının azaltıldığı bulunmuştur. İkinci olarak, LNAA takviyesi plazma FA konsantrasyonunu azaltabilir, ancak tüm yazarlar böyle bir etki bildirmemiştir. Üçüncü olarak, veriler, yalnızca tirozin ve triptofan takviyesinin, biyokimyasal ve nöropsikolojik anormallikleri yeterince düzeltemediğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte yakın zamanlı LNAA çalışmalarında, tirozin ve triptofan takviyesinde çalışılardan çok daha büyük bir doz olan 0,5 g/kg/gün dozunda LNAA takviyesi verilmiştir. Dördüncü olarak, sınırsız doğal protein alımıyla kombinasyon halindeki LNAA takviyesinin, serebral temel aminoasit konsantrasyonlarını artırdığı ortaya konulmuştur. Bu durum normal diyet tedavisine eklenen LNAA takviyesinin gastrointestinal kanalda FA absorpsiyonunu azaltabileceğini ortaya koymaktadır (4).Yapılan birçok çalışma diyete farklı oranlarda eklenen LNAA takviyesinin plazma FA düzeyini anlamlı olarak düşürdüğünü göstermiştir (65).

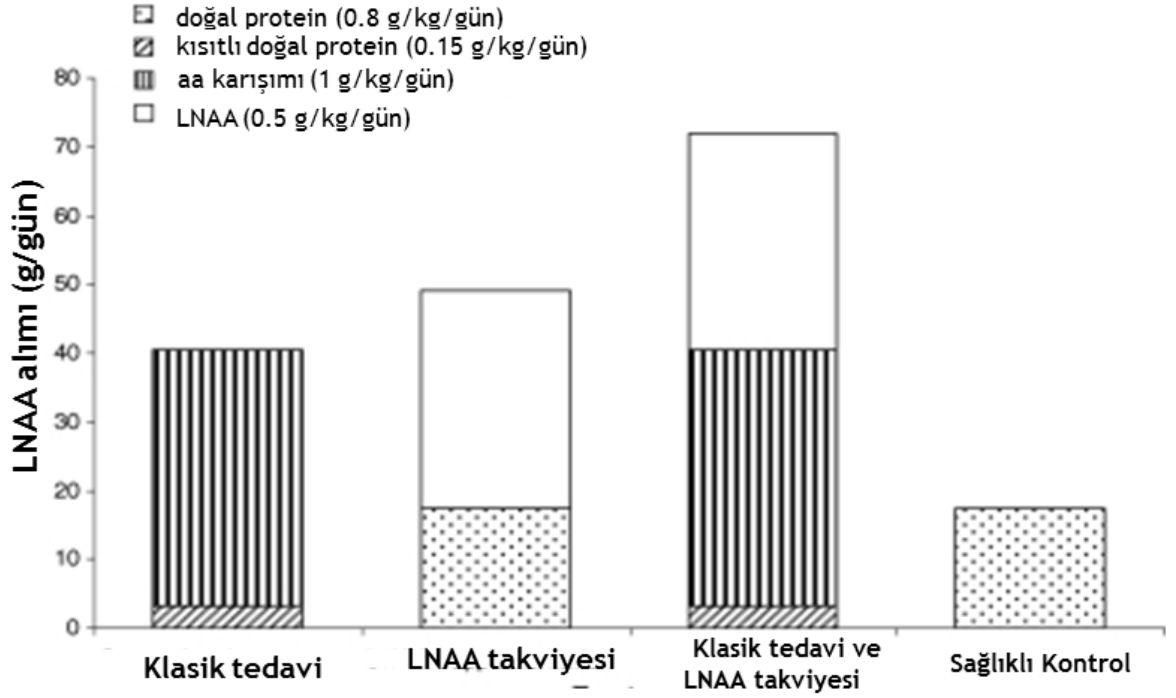
Büyük nötral aminoasit tedavisinin farklı amaçları olabilir: beyin FA konsantrasyonunun azaltılması, plazma FA konsantrasyonunun azaltılması, serebral nörotransmitter konsantrasyonlarının artırılması ve serebral temel aminoasit konsantrasyonunun artırılmasıdır (4). LNAA'lar ile tedavide hastalardan bazılarında konsantrasyonda artış, dış uyaranlara karşı farkındalık düzeylerinde artış ve böylece hastaların duyarlılığını artırdığı, sosyalleşmesini sağladığı ve ruh halini geliştirdiği gösterilmiştir (72).

Büyük nötral aminoasitler, hastalara okul, iş, spor ve tatil gibi alanları içeren sosyal yaşamlarını ve normal aktivitelerini sürdürebilmeleri için daha fazla kolaylık sağlar ve sonuç olarak hastaların düşük protein diyetlerine kıyasla LNAA'lara bağlı kalma olasılığı daha fazladır. LNAA kullanımının, düşük protein diyeti ve FA'siz aminoasit karışımları takviyesine kıyasla, uzun süreli faydalarının ve sonuçlarının belirlenmesi için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir (72).

Fenilketonüri hastalarına mümkün olan en iyi tedavinin verilmesi sözünü yerine getirebilmek için, “yaşam için diyet”e gerçekçi bir yaklaşımın yanı sıra, klinisyenlerin deneyimlerinden ders çıkarmak ve bu durumdaki hastaların tedavisinde alternatif ürünler veya yaklaşımlar üzerinde düşünürken açık görüşlülüğü elden bırakmamak gerekmektedir (72).

Büyük nötral aminoasitler, diyetine uymayan yetişkin ve ergen hastaların yanında, tedavi edilmemiş/geç tanı almış, ciddi zihinsel, psikolojik ve davranışsal bozukluklar gösteren yaşlı hastaların tedavisinde de kullanılmaktadır. FA’siz aminoasit karışımı ve protein içermeyen besinlerin kullanıldığı rutin tedaviye rağmen başarı sağlanamayan hastalarda yeni tedavi modeli olarak LNAA kullanılabilir (67,72).

Büyük nötral aminoasitlerin günlük diyetle kullanımı, diyetle alınan toplam protein 1 gr/kg/gün (ideal vücut ağırlığı) olacak şekilde hesaplandıktan sonra, alınan bu proteinin %60-70’i doğal besinlerden, %30-40’ı LNAA’lardan gelecek şekilde diyet planlanmaktadır. LNAA’lar toz veya tablet şeklinde kullanılabilir. Günde üç kez ana öğünlerle birlikte alınması önerilmektedir. LNAA’lar B6, B12 vitamini, folik asit ve biotin içerirler. Fakat bunlar dışında vitamin-mineral içermedikleri için bunların yetersizlikleri bakımından sıkı takip edilmelidir. Gerekli görüldüğünde vitamin-mineral takviyeleri yapılmalıdır. Geleneksel tedavinin (FA kısıtlı diyet tedavisi ve aminoasit karışımları) yanında LNAA takviyeleri birlikte kullanılarak daha etkin tedavinin elde edilmesi sağlanabilir (Şekil 2.3.) (4,66).



Şekil 2.3. Tedavide LNAA takviyesinin günlük kullanımı (g/gün) (73)

2.4. Serbest Radikaller

Eşleşmemiş elektron içeren atom, atom grubu veya moleküller serbest radikal olarak tanımlanırlar. Ancak Fe^{3+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} ve Mo^{5+} gibi geçiş metalleri de eşleşmemiş elektronlara sahip oldukları halde serbest radikal olarak kabul edilmezler, fakat serbest radikal oluşumunda katalizör etkilerinden dolayı önemli rol oynarlar. Serbest radikaller pozitif yüklü (katyon), negatif yüklü (anyon) veya elektriksel olarak nötral olabilirler (74). Oksijen radikalleri, biyolojik sistemlerde meydana gelen serbest radikallerin en önemlisidir. Serbest oksijen radikalleri, normal hücre metabolizmasında oksijen içeren birçok biyokimyasal indirgenme reaksiyonları sonucunda oluşabilir (75). Serbest radikallerin oluşum hızı ile ortadan kaldırılma hızı arasında denge olduğu sürece, organizma bundan etkilenmemektedir. Bu dengenin bozulması organizma oksidatif strese maruz kalmasına ve hücresel metabolizma işleyişinin bozulmasına neden olur (74). Vücutta üretilen radikaller her zaman zararlı olarak görülmemelidir. Oksijenin biyokimyasal tepkimelerde kullanılması için reaktif formlara çevrilmesi zorunludur (76).

En Önemli Serbest Oksijen Radikalleri Şunlardır (76);

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

1. Süperoksit Radikali (O_2^-)

Canlılarda oluştuğu ilk gösterilen radikal olan süperoksit, başlıca şu mekanizmalarla üretilmektedir:

1. İndirgeyici özellikteki biyomoleküller oksijene tek elektron verip kendileri oksitlenirlerken süperoksit radikali oluşurlar.
2. Başta çeşitli dehidrogenazlar ve oksidazlar olmak üzere, yüzlerce enzimin katalitik etkisi sırasında süperoksit radikali bir ürün olarak oluşabilir.
3. Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin %1-5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanır. Buradaki radikal yapımının nedeni NADH dehidrogenaz ve koenzim Q10 gibi elektron taşıyıcılarından oksijene elektron kaçağının olmasıdır.
4. Aktive edilen fagositik lökositler bol miktarda süperoksit üreterek fagozom içine ve bulundukları ortama verirler. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatırlar. Bu örnekte görüldüğü gibi radikal yapımı bazı hücrel fonksiyonlar için gerekli de olabilir (76).

Zar fosfolipidleri nedeniyle hücre zarı yüzeyleri sitoplazmaya göre daha asidiktir ve süperoksit burada daha kolayca bir proton alarak hidrojen peroksit radikalini oluşturabilmektedir. Bu radikal de çok reaktif bir tür olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu başlatabilmekte ve antioksidanları oksitleyebilmektedir (76).

2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit eşleşmemiş elektrona sahip olmadığından aslında bir radikal değildir. Hidrojen peroksit, oksijenin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi veya

süperoksitlerin enzimatik ve enzimatik olmayan tepkimeleri sonucunda oluşmaktadır. Oksitleyici olarak bilinmesinin nedeni ise metal iyonlarının varlığında hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olmasıdır. Hidrojen peroksit özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek, yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturmaktadır. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilmektedir (75,77). Belirtilen potansiyel oksitleyici özelliği nedeniyle biyolojik sistemlerde oluşan H_2O_2 'nin hemen ortamdan uzaklaştırılması gerekir. Bu görevi, hücrelerdeki önemli antioksidan enzimler olan katalaz ve peroksidaz enzimleri yerine getirirler (76).

3. Hidroksil Radikali ($HO^\cdot$)

Hidrojen peroksitin U.V. ışığına maruz kalması ile de hidroksil radikali oluşabilmektedir. Hidroksil radikali en reaktif radikal olarak bilinmekte ve her moleküle hücum ederek hasar meydana getirebilmektedir. DNA'nın pürin ve pirimidin bazları ile etkileşebilmektedir. Özellikle araşidonik asitler gibi doymamış yağ asit yan zincirlerinden hidrojen atomunu çıkartmakta ve sonuçta su oluşumunu sağlamaktadır. Hidroksil radikali ile oluşan en iyi tanımlanmış biyolojik hasar, "lipit peroksidasyonu" olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur. Bunlardan en önemlilerden biri de Malondialdehit (MDA)'dır (75,76).

4. Singlet Oksijen ($O_2^{\uparrow\downarrow}$)

Oksijenin uyarılmış şekline "singlet oksijen" denir. Reaktivitesi çok yüksek bir oksijen türüdür. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksil radikalini oluşturur ve hidroksil radikali kadar etkin bir şekilde lipit peroksidasyonunu başlatabilir. Özellikle karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Bu bileşiklerin başında bilirubin, tokoferoller, fenoller, karotenler, DNA, kolesterol NADPH, triptofan, metionin, sistein ve histidin gibi bileşikler gelmektedir. Bilirubin karotenler, histidin, metionin ve bazı kimyasal bileşikler singlet oksijeni temizleyerek ona bağlı tepkimeleri inhibe edebilir (75).

2.4.1. Serbest Oksijen Radikallerin Etkileri

Vücutta serbest radikaller ile antioksidan savunma mekanizması arasında bir homeostasis vardır. Bu denge oksidanlar lehine bozulduğunda, serbest radikaller

karbonhidrat, lipit, protein ve DNA gibi biyomoleküller ile etkileşerek hücrede işlev bozukluğuna neden olurlar (75).

2.4.1.1 Membran lipitleri üzerine etkileri

Lipit peroksidasyonu serbest oksijen radikalleri tarafından başlatılan ve zar yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) oksidasyonunu içeren kimyasal bir otokatalitik zincir reaksiyonu olup, lipit peroksitlerinin aldehit türevleri, hidrokarbon radikalleri ve uçucu bazı ürünlere çevrilmesi şeklinde sonlanır (78). Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Lipit peroksidasyonu membranlara yakın bölgelerde ortaya çıkan OH[•] radikalının, membran fosfolipitlerinin yağ asidi yan zincirlerine saldırması ile oluşurlar (75).

2.4.1.2. Serbest radikallerin proteinlere etkileri

Proteinler, serbest radikal hasarına duyarlı moleküllerdir. Serbest radikallerin etkisi ile bu moleküllerin sülfidril gruplarında hasar meydana gelebilmektedir. Protein moleküllerinin yapısı değişmekte ve oksidasyon reaksiyonları sonucu büyük agregatlar haline dönüşebilmektedirler (75).

Fenilalanin, tirozin, triptofan gibi aromatik aminoasitlerde doymamış yapılar olduğundan oksidatif ataklara çok hassastırlar. Sülfürlü amino grup asitler olan sistein ve sistin de serbest radikal atağına hassas amino grup asitlerdir. Proteinin temel yapısındaki değişme, antijenitesindeki değişmeye ve proteolize hassasiyete yol açabilir. Serbest radikaller, membran proteinleri ile reaksiyona girerek enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına neden olabilirler (79).

Serbest radikallerin protein molekülleri üzerindeki etkileri ile oluşan yapısal değişiklikler üçe ayrılır (80):

- 1) Amino grup asitlerin modifikasyonu
- 2) Proteinlerin fragmentasyonu
- 3) Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmaları

2.4.1.3. Karbonhidratlar üzerine etkileri

Serbest radikallerin karbonhidratlara etkisiyle meydana gelen ürünler çeşitli patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Okzoaldehitler DNA, RNA ve

proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı çeşitli hastalıkların patolojisinde önemli rol oynarlar (75,81).

2.4.1.4. Nükleik asitler ve DNA üzerine etkisi

Serbest radikallerin, DNA atakları mutasyonlara ve hücre ölümüne yol açmaktadır. Hidroksil radikali bazlarla ve deoksiribozlarla kolayca reaksiyona girer. Hidrojen peroksit ise membranlardan kolayca geçebileceğinden hücre çekirdeğindeki DNA'ya ulaşır ve hücre disfonksiyonuna hatta ölümüne yol açar. Bu nedenle DNA kolay zarar görebilen bir moleküldür (82).

2.5. Antioksidan Savunma Sistemleri

Vücutta reaktif oksijen türlerinin düzeylerini kontrol altında tutmak ve oluşturabilecekleri hasarları önlemek için birçok savunma mekanizmaları bulunmaktadır. Serbest radikalleri metabolize eden, serbest radikal oluşumunu önleyen veya serbest radikallerin temizlenmesini sağlayan maddelere “antioksidan” maddeler denir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ya da reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Aerobik hücrelerde pek çok antioksidan sistem bulunmaktadır. Antioksidanlar endojen ve ekzojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır (83).

Endojen antioksidanlar, enzim olan ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir. Enzim olan antioksidanlar, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSHPx), katalaz (CAT), glutatyon transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise, bilirubin, albumin, ürik asit, α - tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir. Bunlar oksijen radikallerine karşı ilk savunma sistemini oluşturmaktadırlar (75,83).

Eksojen antioksidan olarak da allopurinol, folik asit, C vitamini, E vitamini, asetilsistein, mannitol, adenozin, kalsiyum kanal blokerleri, non steroid antienflamatuar ilaçlar ve demir şelatörleri sayılabilir (75,83).

2.5.1. Enzimatik antioksidanlar

2.5.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

SOD, substrat olarak serbest oksijen radikallerini kullanan ve superoksiti hidrojen peroksit'e çeviren bir metalloenzimdir. Bu sistem sayesinde hücresel kompartmanlardaki süperoksit düzeyleri kontrol altında tutulur. Lösemi, iskemi, hepatit, kaslar distrofi, respiratuar distres sendromu böbrek yetmezligi, Fanconi anemisi, akciğer enfeksiyonları ve motor nöron hastalıkları gibi serbest radikal açığa çıkaran olaylarda ve hastalıklarda koruyucu rol oynadığı düşünülür. Aynı zamanda SOD, lipid peroksidasyonunu da inhibe eder. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır (75).

2.5.1.2. Katalaz (CAT)

Katalaz peroksizomlarda bulunan bir enzimdir. Hidrojen peroksiti su ve oksijene dönüştürerek ortamdan uzaklaştırır (83).

2.5.1.3. Glutasyon peroksidaz (GSHPx)

Glutasyon peroksidaz fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Diğer antioksidanlarla birlikte GSHPx, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu, fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GSHPx oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GSHPx aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açmaktadır (75).

2.5.1.4. Glutasyon-S-transferazlar (GST)

Organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda görev almaktadırlar. Başta arasıdonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipid hidroperoksitlere karşı glutasyon-S-transferazlar selenyumdan bağımsız aktivasyon göstermektedirler (75).

2.5.1.5. Glutasyon redüktaz (GR)

Glutasyon peroksidaz tarafından hidrojen peroksit ve diğer lipid peroksitlerin yükseltgenmesi sırasında glutasyon, okside glutatyon'a dönüşmektedir. Oksidasyona uğramış bu yapıyı tekrar kullanmak için redükte glutatyon'a dönüştüren enzim glutasyon redüktazdır (75).

2.5.1.6. Mitokondrial sitokrom oksidaz

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz süperoksit radikalini suya çevirerek etki göstermektedir (75).

2.5.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar

2.5.2.1. Glutasyon (GSH)

Önemli bir intraselüler antioksidandır ve ekstraselüler mesafede çok düşük konsantrasyonlarda bulunur. GSH'ya antioksidan özelliğini sisteinin tiyol grubu kazandırır. Glutasyon, OH^- , O_2^- , gibi reaktif oksijen türevlerinin temizleyicisidir. Serbest radikal ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korumaktadır (75).

2.5.2.2. Askorbik asit (C vitamini)

Lipidleri oksidasyona karşı korur. Antiproteazların oksidan maddeler ile inaktive olmasını engeller. Fagositozda oksidatif parçalanma ürünlerinin zararlı etkilerini önler. E vitamini ile birlikte LDL oksidasyonun engeller (75).

2.5.2.3. Vitamin E (Tokoferol)

Tokoferol yağda çözünen ve zincir-kırıcı bir antioksidandır. En önemli görevi oksijen serbest radikallerinin ataklarına karşı membran lipidlerindeki yağ asitlerini korumaktır (84).

2.5.2.4. Vitamin A (Beta Karoten)

A vitaminin metabolik bir ön maddesi olan ve yağda çözünen bir antioksidan olan beta karoten son derece güçlü singlet oksijen temizleyicisidir. Serbest radikaller biyolojik hedeflerle interaksiyona girmeden önce direkt olarak onları yakalayabilir ve aynı zamanda zincir kıran bir antioksidan olarak etki ederek de peroksit radikalleri oluşumunu engeller (85).

2.5.2.5. Seruloplazmin

Demir ve bakır bağımlı lipid peroksidasyonu inhibe eder. Daha az önemli olmakla birlikte süperoksit radikali ile reaksiyona da girer (84).

2.5.2.6. Albümin

Albümin kuvvetli şekilde bakır ve zayıf olarak da demiri bağlar. Albümin yüzeyinde oluşacak olan OH- radikali albümin tarafından temizlenir (84).

2.5.2.7. Ürik asit

Kuvvetli olarak demir ve bakır bağlama yeteneği, antioksidatif rolünün önemli bir parçasıdır. Lipid peroksidasyonunu inhibe etme ve radikalleri temizleme görevine sahiptir (84).

2.5.2.8. Bilirubin

Yağ asitlerini peroksidasyona karşı koruma görevine sahiptir (84).

2.6. Total Oksidan Seviye, Total Antioksidan Seviye ve Oksidatif Stres İndeksi

Reaktif oksijen türleri, metabolik ve fizyolojik olaylarda üretilir ve organizmada zararlı oksidatif reaksiyonların oluşmasına sebep olurlar. Bunlar enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan mekanizmalarla organizmadan uzaklaştırılır. Bazı durumlarda oksidanlardaki artış ve antioksidanlarda azalma önlenemez ve oksidan/antioksidan denge bozulmuş olur (86).

2.6.1. Total oksidan seviye (TOS)

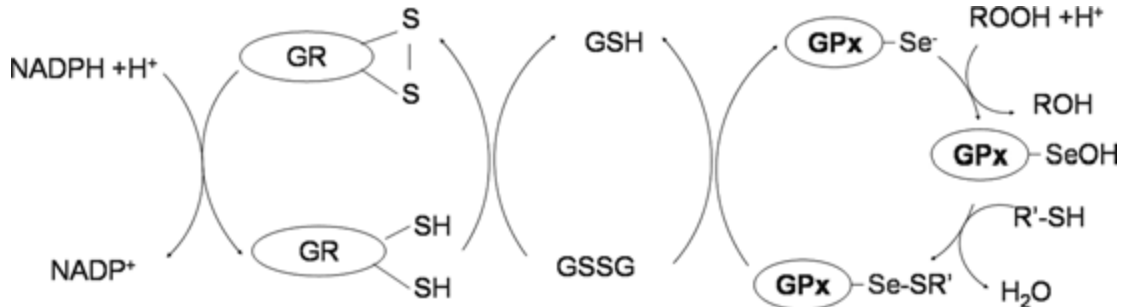
Bilinen birçok yöntemle serum veya plazmadaki oksidan moleküllerin düzeyleri ayrı ayrı ölçülebilmektedir. Oksidatif stresin arttığı durumlarda artan bu moleküllerin oksidan etkileri birbiri üzerine eklenebilir. Tek tek ölçüm yapmak yerine total ölçümün daha pratik olacağı düşünülerek tüm oksidanların durumunu yansıtabilecek bir yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemle *in vitro* olarak TOS ölçümü yapılabilmektedir (87,88).

2.6.2. Total antioksidan seviye (TAS)

Serbest radikallerin organizmada yarattıkları zararlı etkileri gösteren birçok antioksidan bulunmaktadır. TAS çeşitli reaktif oksijen ve nitrojen radikallerine karşı organizmanın antioksidan savunma etkisini bir bütün olarak gösterir. TAS metoduyla enzimatik olmayan antioksidanların durumu tespit edilebilmektedir. Böylece antioksidan moleküller tek tek ölçülmeyp zaman ve maliyet kaybı yaşanmamaktadır (87,89).

2.7. Glutatyon Peroksidaz (GSHPx)

Glutatyon peroksidaz 1957 yılında Mills tarafından hemoglobini oksidatif yıkımdan koruyan eritrosit enzimi olarak keşfedilmiştir. Glutatyon peroksidazlar endotel hücrelerinde eksprese edilen başlıca selenoproteinlerdendir. Endotelde selenoproteinlerin rolü, oksidatif hücre hasarından koruma ile ilgilidir. Endotelde hidroperoksitleri indirgeyerek endotel hücresinin fizyolojisinin sürdürülmesi ve oksidatif hasardan korunmasını sağlarlar (90). GSHPx, glutatyon redüktaz ve GSH aracılığı ile NADPH'dan elektron alarak hidrojen peroksit ve organik hidroperoksitlerin indirgenmesini katalize ederler böylece hücreleri oksidatif strese karşı korurlar (Şekil 2.4.) (91).



Şekil 2.4. NADPH'dan GSH ve Glutatyon redüktaz aracılığı ile elektron transferi (91)

Glutatyon peroksidaz (GSHPx), selenyum bağlı ve selenyum bağlı olmayan olarak iki formda bulunabilir. Selenyuma bağlı GSHPx, hem hidrojen peroksiti detoksifiye eder hem de lipid hidroperoksitleri zararlı olmayan alkollere dönüştürür. Selenyuma bağlı olmayan GSHPx enzimi ise sadece lipid peroksitlerin metabolizmasından sorumludur (92).

GSHPx'in substratlara özgü ve farklı doku dağılımlı sitozolik GSHPx, fosfolipit hidroperoksit GSHPx, plazma GSHPx ile mide ve bağırsaklarla ilgili dört farklı izoformu bulunmaktadır (93).

2.8. Paraoksonaz 1(PON1)

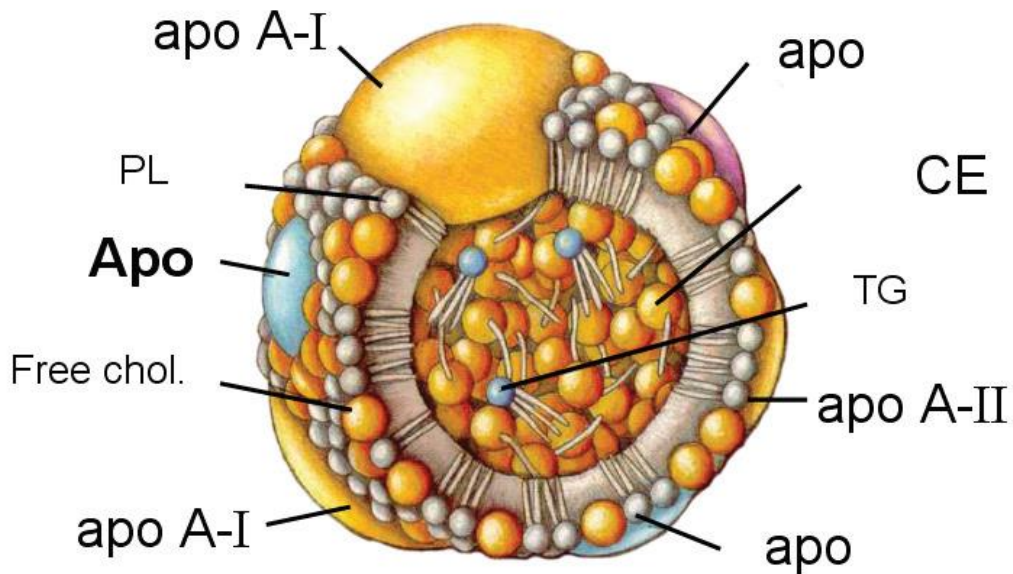
Paraoksonaz (PON), hem arilesteraz (E.C. 3.1.1.2) hem de paraoksonaz (arildialkil fosfataz; organofosfat hidrolaz; paraokson hidrolaz; (E.C.3.1.8.1) aktivitesine sahip bir ester hidrolazdır (94). Memelilerde aynı kromozom üzerinde birbirine komşu üç ayrı

PON geni (PON1, 2, 3) bulunmaktadır. PON insanlarda 7. kromozomun uzun kolunda, q 21.3 ile q 21.1 bölgesinde lokalize olarak bulunmaktadır (95).

PON1'e ait mRNA'nın karaciğer'in yanı sıra böbrek, kalp, beyin, ince bağırsak ve akciğer dokularında da bulunduğu gösterilmiştir (96).

İnsan serumundan saflaştırılan PON1, minimum 43 000 dalton ağırlığında, 354 amino asitten oluşan bir glikoproteindir. Ağırlığının %15.8'ini oluşturan karbonhidrat üniteleri 4 farklı konumda proteine bağlı olarak bulunur (97). PON1, hidrofobik N-terminal bölgesi aracılığıyla HDL- lipitlerine kolayca bağlanmakta olup serumda genellikle HDL üzerine lokalize şekilde bulunur (98).

Oksidatif strese karşı önemli bir antioksidan olarak görev yapan bu enzim, kanser ve kardiyovasküler hastalıklar başta olmak üzere birçok hastalığın patogeneziyle ilişkilendirilmektedir (99). Oksidatif stres altında lipit peroksidasyonu sadece LDL'de değil; HDL'deki lipitlerde de meydana gelmektedir (100). PON1'in hem LDL'yi, hem de HDL'yi oksidasyondan koruduğu bildirilmiştir. PON1'in HDL vasıtasıyla antioksidan etkiye katkıda bulunduğu ve HDL'nin inhibitör etkisinde, metal iyon şelasyonu ve/veya peroksidaz benzeri aktivite ile ilişkili olabileceği ileri sürülmektedir. HDL-PON1, uzun zincirli okside fosfolipidleri hidroliz edebilme yeteneğine sahiptir (101). PON1'in LDL oksidasyonunun engellenmesinde, HDL alt birimlerinden Lesitin Kolesterol Açıl- transferaz (LCAT) ve Apo A1 üzerinden etkili olduğu bilinmektedir (102).



Şekil 2.5. HDL alt birimleri (103)

Paraoksonaz 1, sadece lipoproteinlerle ilişkili peroksidlerin (kolesteril linoleat hidroperoksidler) değil, aynı zamanda H_2O_2 üzerine de etkilidir. H_2O_2 ateroskleroz oluşumu sırasında arteriyel duvar hücreleri tarafından üretilen başlıca reaktif oksijen metabolitidir ve oksidatif stres sırasında daha etkili radikallere dönüştürülerek LDL oksidasyonuna neden olur. HDL ile ilişkili PON1'in H_2O_2 'yi hidroliz edebilme özelliği ateroskleroz sırasında oluşan oksidanların ortadan kaldırılmasında önemlidir (104).

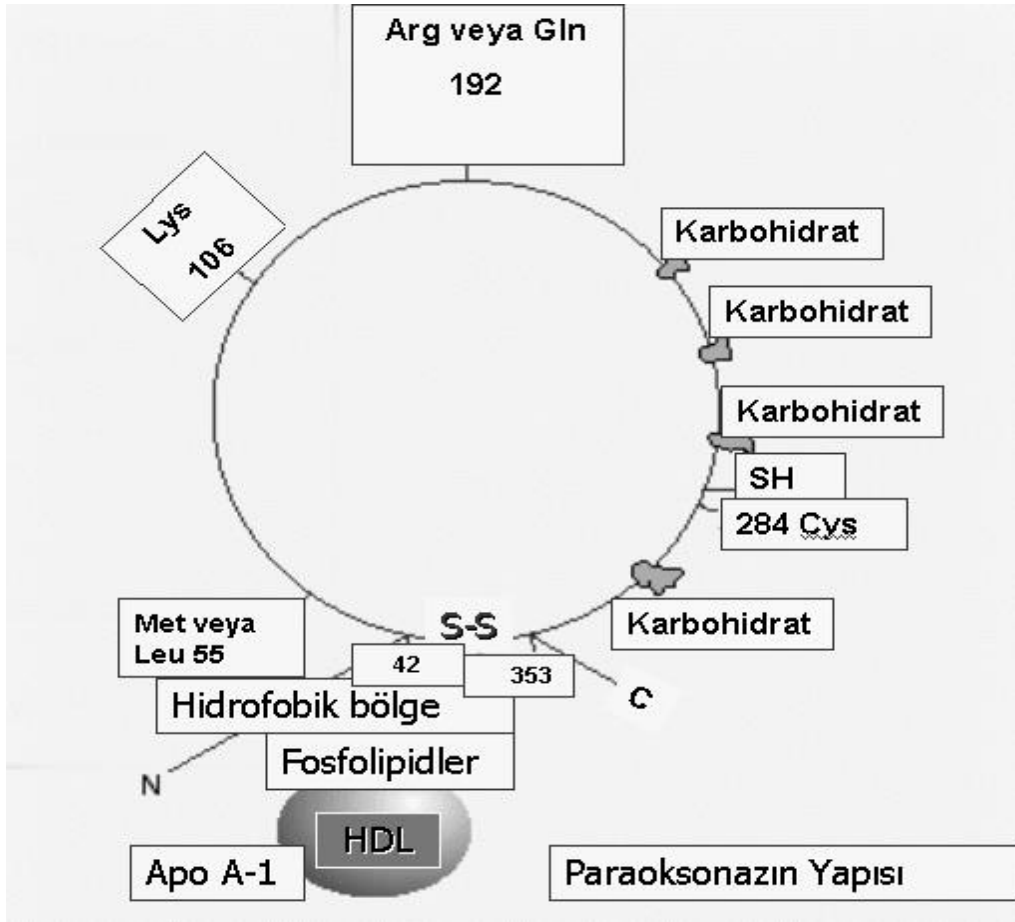
2.8.1. Paraoksonaz' ın hastalıklarla ilişkisi

PON1 ile ateroskleroz arasındaki ilişki HDL'nin anti-aterojenik özellikleri ile ilişkidir. PON1'in LDL'yi hidrolizleyerek lipid peroksit oluşumunu anlamlı olarak azalttığı, bu şekilde yağlı çizgi oluşumunu önleyerek koruyucu rol üstlendiği bildirilmiştir. PON1 LDL oksidasyonu ile oluşan proinflatuar molekülleri parçalayarak kardiyovasküler hastalık riskini azaltır (105). Serum PON1 aktivitesi, myokard infarktüsü, hiperkolesterolemi ve diyabet hastalarında, sağlıklı kontrollere göre daha düşük bulunmuştur (106).

Diyabetik hastalarda görülen düşük serum PON1 aktivitesi de muhtemelen lipid peroksidasyonuna yatkınlığın artmış olmasından kaynaklanmaktadır (107).

Ferreti ve ark., sağlıklı ve obez kişilerde lipoprotein, oksidatif stres ve HDL-PON1 aktivitesini araştırdıkları çalışmada; obezlerde HDL-PON1 aktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğunu göstermişlerdir. HDL içeriğindeki değişimlerin HDL yüzeyine paraoksonaz bağlanmasını etkileyerek enzim aktivitesini azalttığını öne sürmüşlerdir (108).

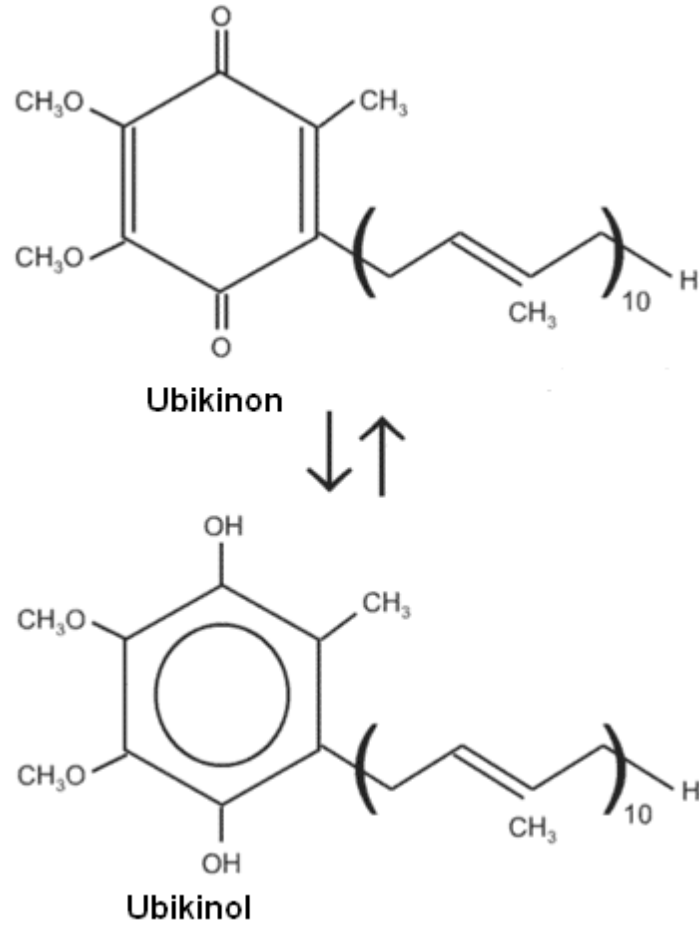
Kılıç ve ark., sağlıklı kontrol grubuna göre kronik hepatitli hastalarda PON1 aktivitesinin düşük olduğunu gözlemlemişler ve kronik hepatitte PON1 düşüklüğüne nedeni olarak da, hepatositlerin hasara bağlı PON1 ekspresyonunu kaybetmeleri ve HDL dinamiklerinin değişimi şeklinde iki olası hipotez ileri sürmüşlerdir (109).



Şekil 2.6. İnsan serum paraoksonaz (PON 1) enziminin yapısı (110)

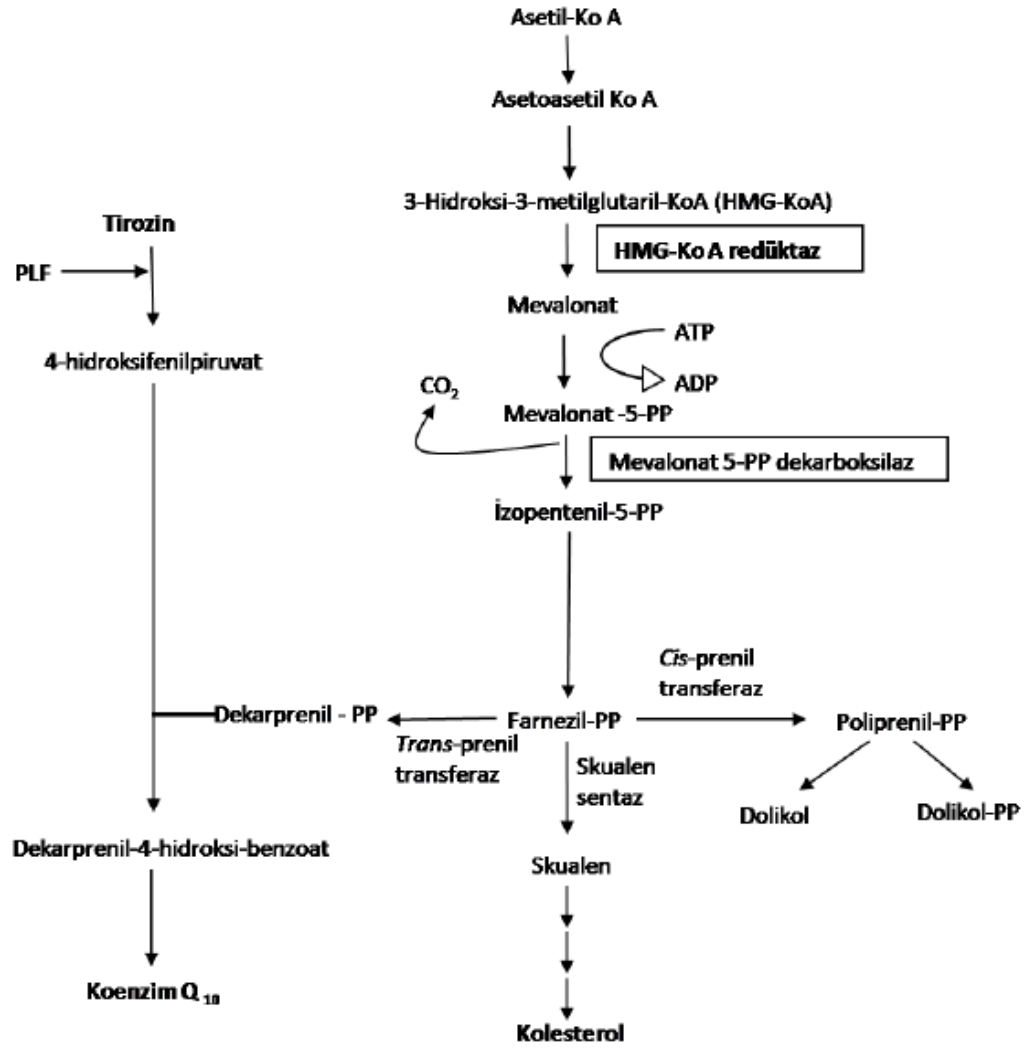
2.9. Koenzim Q 10 (Q10)

Koenzim Q 10 (Q10), organizmada birçok biyolojik fonksiyonda görev alan lipid yapısında bir moleküldür. Yapı olarak vitamin K'ya benzemekle birlikte vücutta sentezlenebilmesi nedeniyle de vitamin olarak adlandırılmaz (111). Q10 ilk olarak 1957'de Dr. Frederick Crane tarafından sığır kalbi mitokondrisinden izole edilmiş ve kimyasal yapısı tanımlanmıştır. Aynı yılda İngiltere de Profesör Morton sıçan ciğerinde vitamin A ile aynı yapıda KoQ'i bulmuş ve "ubiquitous quinon" (her yerde hazır kinonlar) anlamına gelen Ubiquinon ismini vermiştir (112).



Şekil 2.7. Ubikinon ve ubikinolun yapısı (113)

Koenzim Q10; folik asit, niasin, riboflavin ve pridoksin gibi vitaminlerin ihtiyaç duyulduğu yolaktaki tirozin aminoasitinden sentezlenir. Q10 sentezi üç temel basakta olmaktadır. Tirozinden, mevalonat yolağı aracılığıyla asetil-koenzim-A'dan sentezlenir ve bu iki ana parçanın birleşmesi de transprenil transferaz tarafından katalizlenir. Hidroksimetil glutaril-KoA (HMG-KoA) redüktaz hem Q10 sentezinde hem de kolesterol sentezinde görev alır (Şekil 2.8.) (113)



Şekil 2.8. Koenzim Q10 biyosentezi (15)

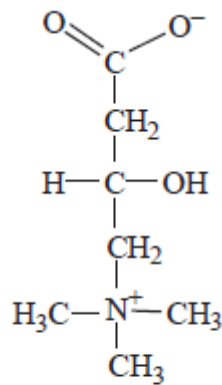
Koenzimler fonksiyonlarına göre büyük ve kompleks enzimlerin kofaktörleri olarak görev alırlar. Mitokondri iç membranında bulunan Q10, oksidatif fosforilasyon da önemli rol oynayan 3 mitokondriyal enzim (kompleks I,II,III) için bir kofaktördür (114,115). Yapısındaki kinon grubu Q10'a elektron taşıyıcısı özelliğini kazandırır. Redoks özelliği ile elektronların kompleks I (nikotinamid adenin dinükleotid dehidrogenaz) ve kompleks II'den (süksinat dehidrogenaz) kompleks III'e (ubikinon - sitokrom c redüktaz) taşınmasını sağlar. Bu yüzden, Q10 hücrel enerjinin üretilmesinde önemli bir rol oynar (116). Q10 serbest radikalleri toplar ve protein oksidasyonu ile lipid peroksidasyonunun inhibisyonunda rol alarak antioksidan olarak çalışır (117).

2.10. L-karnitin

L-karnitin'in kimyasal formülü β -hidroksi- γ -trimetilaminobutirat'tır. Yapısındaki karbon zincirleri ve nitrojeni L-lisinden, metil grupları ise metioninden gelmektedir (Şekil 2.9.) (118). 1905 yılında Gulewitsc ve Krimberg tarafından memeli bir canlının kas dokusundan elde edilmiş olmasına karşın kimyasal yapısı ancak 1927 yılında, biyolojik yapısı ise 1960'lı yıllarda tam olarak aydınlatılmıştır (119).

L-karnitin'in organizmadaki kaynaklarının %75'i diyetset, %25'i ise lizin ve metionin gibi aminoasitlerden endojen olarak sentezlenmektedir. Vücutta en fazla karaciğer, böbrek ve beyinde sentezlenir. Latince et anlamına gelen "carnis" sözcüğünden köken alarak L-karnitin olarak adlandırılmıştır. En zengin diyetset kaynakları ise, kırmızı et ve kümes hayvanlarının etleri, ayrıca yumurta ve sütte de bulunur. Meyve çeşitlerinde, sebzelerde ve fındıkta da bulunur (10).

L-karnitin, uzun zincirli yağ asitlerinin beta oksidasyon ve ATP üretimi için mitokondriye taşınmasında önemli rol oynar. Bunun yanında antioksidan görevi de vardır. L-karnitin serbest yağ asitlerini sitoplazmadan mitokondriye taşıyarak bu yağ asitlerinin beta oksidasyonla asetil-KoA'ya dönüşmesini sağlar (118). L-karnitin nörall fonksiyonlardaki en önemli rolü, asetilkolin sentezi için asetil grupların taşınmasıdır. Aynı zamanda nöronda sinyal yollarında ve gen ekspresyonunda da görevleri vardır (120).



L-Carnitine

Şekil 2.9. L-karnitin kimyasal yapısı (118)

2.10.1. L-karnitin eksikliği

2.10.1.1. Primer karnitin eksikliği

Nadir görülen otozomal resesif geçişli hastalıklarda ortaya çıkar. Plazma membran karnitin transportunda bozukluk vardır. Bu bozukluk yağın iskelet kası ve kalp kasında depolanmasına, miyopati, kardiyomiyopati, karaciğer bozukluğu ve hipoketotik hipoglisemiye neden olmaktadır (24).

2.10.1.2. Sekonder karnitin eksikliği

Nadir görülen sekonder karnitin eksikliği, genetik hastalıklar ve edinilmiş bazı durumlara bağlı olarak gelişebilir.

Genetik hastalıklara bağlı sekonder karnitin eksikliği

- Karnitin palmitil transferaz I eksikliği
- Karnitin palmitil transferaz II eksikliği

Edinilmiş sekonder karnitin eksikliği

- Böbrek tübülüs lezyonları
- Hemodiyaliz
- Barsak rezeksiyonları
- Ciddi enfeksiyonlar
- Karaciğer hastalıkları (121)

2.11. Serbest Radikaller ve Oksidatif Hasar

Serbest radikaller, molekül veya molekül parçalarının yörüngelerinde bulunun bir veya daha fazla eşleşmemiş elektronlar olarak tanımlanmaktadır. Bunlar hücre zararına neden olabilen reaktif ve kararsız türlerdir (84). ROS ve RNS süperoksit ($O_2^{\bullet-}$), nitrik oksit ($NO^{\bullet}$) ve hidroksil radikali ($OH^{\bullet}$), ve diğer molekül türleri olan, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve peroksinitrit ($ONOO^-$) gibi serbest radikalleri içermektedir (82). Enerji döngüsünde, oksijen zamanında önce sızarak süperoksit anyon şeklini alır ve bu da birçok hastalığın patofizyolojisinde görev alır (122). Süperoksit, aynı zamanda sinir sisteminde yerleşmiş olan makrofajları aktive eder veya katekolamin gibi oksitlenmiş maddeleri meydana getirir. Süperoksit ve nitrik oksit birleşerek hidrojen peroksite dönüşür. Nitrik oksit nitrik oksit sentaz tarafından sentezlenir. Arjinin ve sitrülün nitrik

oksit sentaz tarafında okside edilerek nitrik oksit ortaya çıkmaktadır (123). NO makrofajlar tarafından aktive dilmektedir ve immun cevabın oluşmasında önemli bir aracı olarak görev almaktadır (124).

Doymamış yağ asitleri oksidatif modifikasyonlara daha duyarlıdır ve bu olay lipid peroksidasyonu ile sonuçlanır. Daha sonra okside olan doymamış yağ asitleri reaksiyon zincirlerinde görev alır. Lipid oksidasyonu hücresel homeostaziye engel olmakta, mitokondri gibi hücre organellerinin membran yapılarını ve hücresel akışkanlığı değiştirmektedir (125,126). Buna ek olarak lipid peroksidasyonu sonucu protein sentezi ve önemli membran enzim aktiviteleri azalır aynı zamanda hücrelerde mutajenik ve sitotoksik etkilere neden olur (127).

DNA, ROS maddelerinden özellikle hidroksil radikalleri tarafından oksitlenir. DNA'nın oksitlenmesi mutasyona yol açarak DNA replikasyonuna engel olur (126,128).

Sağlıklı aerobik organizmalarda ROS yapımıyla antioksidan savunma sistemi dengededir (82). Buna rağmen belli durumlarda ROS yapımı sürekli artar ve/veya antioksidan savunma sistemi redoks homeostaz seviyesini dengelemede yetersiz kalır. Bu da oksidatif stresle sonuçlanmaktadır. Oksidatif hücre hasarı, bazı hastalıkların patomekanizmalarında rol almaktadır (84).

2.12. Oksidatif Stres ve Nörodejenerasyon

Serbest radikaller ve diğer reaktif maddeler beyinde sürekli olarak üretilirler. Beyinde yüksek ATP talebi vardır ve mikroglia tarafından aktive olan mitokondriyal elektron taşıma zincirinden sürekli bir elektron transferi söz konusudur. Sonuç olarak beyin yüksek oranda vücut oksijenini kullanır ve bu yüzden mitokondride oksijen formasyonu artmıştır (129,130). Başka faktörler de beyin hasarına neden olabilmektedir. Nöronal membrandan kalsiyum geçişi, glutamat, nörotransmitterlerden dopamin ve noradrenalin gibi aminoasitlerin ekzositozu oksidatif hasarlara ne olurlar (82). Bütün bu bakış açılarının sonucu olarak, oksidatif stres birçok nörodejeneratif hastalıkların patofizyolojisinden sorumludur.

2.13. Fenilketonüride Oksidatif Stresle İlgili Deneysel Çalışmalar

Yapılan *in vitro* çalışmalar, FA'nin lipit ve protein hasarını indüklediğini ve glutatyon düzeylerini hipokampus ve serebral korteks de azalttığını göstermiştir. FA metabolitlerinin beyin korteksinde lipit peroksidasyonunu da arttırdığını görmüşlerdir (131). Başka bir çalışma ise, antioksidan olan lipoik asitin, antioksidan enzimler olan katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidazın azalmasına engel olduğunu ve aynı zamanda antioksidan savunma sistemini desteklediğini göstermiştir (132).

2.14. Oksidatif Stresle İlgili Fenilketonürlü Hasta Çalışmaları

Fenilketonüri hastalarında hücrel oksidatif stres hasarları bulunmuştur, bu reaktif maddelerin yapımının artması sonucu olabilir. Özellikle kırmızı kan hücreleri ve nöronlar oksidatif ataklara karşı daha savunmasız olmaktadır. Hastalarda tanı aldıkları zamanda ve diyet tedavileri sırasında bakılan plazma malondialdehit (MDA) düzeyleri yüksektir. MDA lipit peroksidasyonunun bir göstergesidir. Bu sonuçlar bize erken tedaviden bağımsız olmak üzere yüksek FA ve/veya metabolitlerinin hücrel oksidatif hasara neden olduğunu göstermiştir (133). Schulpis ve ark., FA düzeyi yüksek seyreden kötü kontrollü hastalarda DNA oksidatif hasar belirteci olan 8-hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHdG) düzeyinin arttığını ve bunun plazma FA düzeyi ile pozitif korelasyon gösterdiğini rapor etmiştir (8). Başka bir çalışma *in vivo* ve *in vitro* ortamda lökositlerdeki DNA hasarının FA dozuna bağlı olarak arttığını göstermiştir. Bu sonuçlar DNA hasarı ile kan FA düzeyi arasında güçlü bir korelasyon olduğunu ortaya koymaktadır (134). Birçok çalışma oksidatif hasarın dışında oksidatif kapasitenin de azaldığını bildirmiştir (135).

L-karnitin uzun zincirli yağ asitlerinin beta oksidasyon için sitoplazmadan mitokondri membranına geçişinde rol oynayan önemli bir endojen bileşiktir. Bunun yanında antioksidan, antiradikal ve antiperoksidatif etkileri olan L-karnitin farklı mekanizmalarla biyoenerjik süreçlerde rol alır (118). L-karnitin diyetel kaynakları kırmızı et ve süt ürünleridir. FA kısıtlı diyet sonucu L-karnitin eksiklikleri gelişebilir. Bu yüzden FKÜ tedavisinde adjuvan tedavi olarak L-karnitin takviyesi yapılabilir (20).

Sadece belli bir düzeye kadar (erken tanı almış ve FA daha az maruz kalan hasta grupları) serbest radikallere ve ortaya çıkan reaktif türlerle antioksidan savunmayı değiştirerek başa çıkabilmektedir. Fakat bu savunma geç tanı almış hastalarda olduğu

gibi FA fazla uzun maruz kalındığında başa çıkamamakta ve oksidatif hasarla sonuçlanmaktadır (133).

Sonuç olarak, oksidatif stres nörodejeneratif hastalıklarda semptomların artmasında patolojik süreç olarak gösterilebilir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, oksidatif stresin FKÜ patogenezinde rol oynadığını göstermiştir. Bu bilgiler FKÜ’de antioksidan savunmanın azaldığına karşılık gelmektedir. Bu durumun birincil ihtimal nedeni ise, antioksidan maddeler olan mikro ve makro besinlerin diyetteki kısıtlamaları ve buna karşılık olarak da lipit, protein, DNA’da oksidatif hasarlar olmasıdır. İkincil neden ise, reaktif maddelerin artışı olarak gösterilebilir. Bu yüzden FKÜ’de nörolojik hasarların patofizyolojisinde oksidatif stresin sorumlu olduğu tahmin edilmektedir (6).

Yapılan çalışmalarda FA’siz aminoasit karışımı kullanan hastalar çalışmaya alınmıştır. Fakat geçmiş yıllarda yapılan bu çalışmalarda kullanılan aminoasit karışımlarının içerikleri şimdi daha zenginleştirilerek revizyona gidilmiştir. Son yıllarda değişen aminoasit karışımlarına tirozin, esansiyel yağ asitleri, L-karnitin, selenyum, çinko gibi birçok mikro ve makronütrientler eklenmiştir (10).

Kan lipitleri ve kardiyovasküler hastalıklar arasında ilişki olduğu bilinmektedir. İki önemli kan lipit belirteci Yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ve Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL)’dir. HDL’nin antioksidan, antienflamatuvar, antitrombotik, antiaterosklerotik ve vazodilatör görevleri vardır. Bunlara ek olarak da Paraoksonaz 1 (PON 1) enzimi ile de ilişkilidir. PON 1, HDL’yi LDL’nin oksidasyonuna karşı korumaktadır. LDL oksidasyonu abdominal obezite ile birlikte aterosklerozdan sorumludur (136,137). Sonuç olarak kardiyovasküler hastalıklar, obezite ve oksidatif stres arasında sıkı bir ilişki vardır (138,140) ve PON 1’in doku ve kan oksidatif stres kontrolü ile ilgili önemi artmaktadır (137).

Fenilketonüri hastalarının tedavisinde uygulanan diyet, vejeteryan diyetle benzer, antioksidandan zengin olsa da kötü kontrollü hastalar ve nutrisyonel eksikliği olanlarda oksidatif strese maruz kalma daha fazladır. Yani, erken tanı almış ve diyet uyumu iyi olan hastalar daha geç tanı almış ve diyet uyumu kötü olan hastalara kıyasla oksidatif hasarlara daha az yakındırlar. İlerleyen yaşla birlikte hastaların diyet uyumları azalmakta ve metabolik kontrolleri bozulmaktadır. Hastaların erişkin yaşlarında da diyet uyumlarının sağlanması, klinik takiplerinin sürdürülmesi ve gerekli eğitimlerin verilmesi sağlanmalıdır (10).

Bu yüzden, FKÜ tedavisinde protein kısıtlaması ve aminoasit karışımları takviyesi, BH₄ takviyesi veya LNAA takviyesinin yanında adjuvan tedavi olarak antioksidanlar kullanılabilir (6).

2.15. Fenilketonürde Oksidatif Stres

Fenilketonürlü hastalarda, en belirgin klinik özelliklerden biri olan mental retardasyonun fizyopatolojisi tam olarak anlaşılamamıştır. Son yıllarda, bu patolojinin oksidatif stresle bağlantılı olabileceği ile ilgili kanıtlar vardır. Birçok çalışma FKÜ hastalarının plazma ve eritrositlerinde azalan enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sisteminin, serbest radikallerin artışına veya savunmada etkili temel mikronütrientlerin azalmasına bağlı olduğunu ortaya koymuştur. FA kısıtlı diyet tedavisi sebze ve meyvelerden zengin olsa da besinsel eksiklikler açısından birçok risk olduğu bilinmektedir. Diyet, diyetel antioksidanlar (fitokimyasallar, vitamin ve mineraller) bakımından zengin olmasına rağmen bazı eksiklikler (selenyum, çinko, koenzim Q10, L-karnitin) bakımından risk taşımaktadır. Bu hastalarda lipid markerlarında, protein ve DNA da oksidatif hasarlar olduğu rapor edilmiştir. Hastalıkta oluşan reaktif maddelerin hasarların oluşmasına işaret ettiği bildirilmiştir. Yapılan *in vitro* ve *in vivo* hayvan çalışmaları FA ve/veya metabolitlerinin hayvanların beyinlerinde reaktif maddelerin artışına neden olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar FKÜ hastalarında oksidan/antioksidan dengenin bozulduğunun göstergesidir. Bundan dolayı oksidatif stres daha çok geç tanı almış veya kötü metabolik kontrolü olan hastalarda daha fazla artış göstermektedir. Beyinin oksidatif hasarlara karşı savunmasız olduğu göz önünde bulundurulursa geleneksel tedavinin (diyet kısıtlaması veya BH₄ takviyesi) yanında antioksidanlar FKÜ hastalarındaki nörolojik hasarı önlemede adjuvan ajanlar olarak kullanılabilir (6,10).

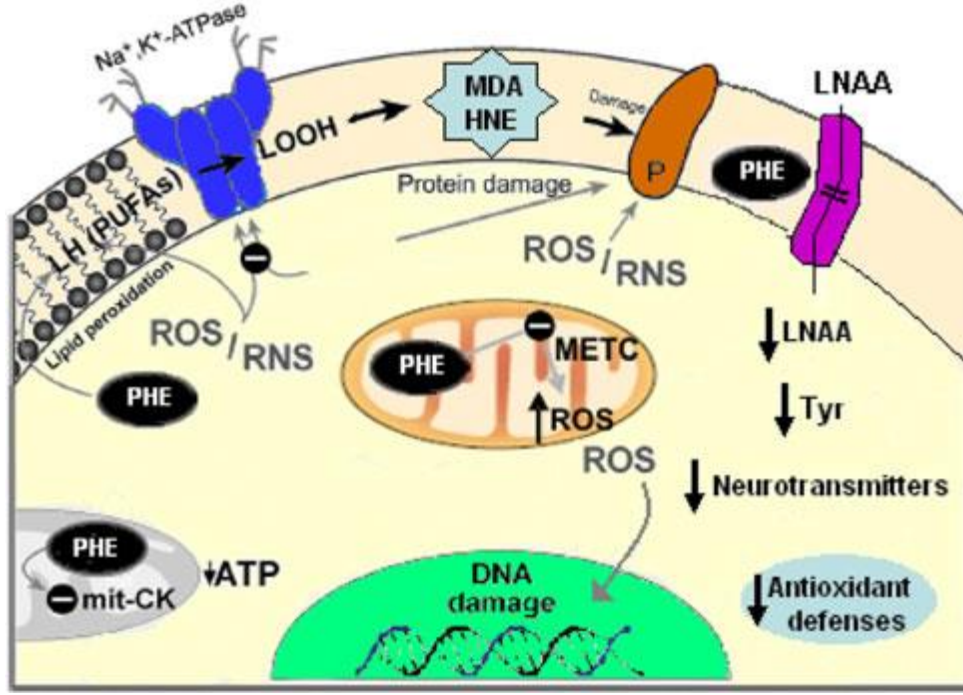
Diyet tedavisinin yararları inkar edilemez fakat iyi metabolik kontrollü ve erken tanıli hastalarda nörofizyolojik gelişmelerin neden tamamen normal olmadığı ile ilgili tartışmalar sürmektedir (141,143). Bu hastalardaki bazı besinsel eksiklikler düşük antioksidan seviyelerine yatkınlaştırmakta ve/veya katkı sağlamaktadır (5,19,133,144).

Erken tanı ve tedavi ile mental retardasyonun önlenbilmesine rağmen özellikle diyet uyumun kötü olduğu hastalarda hafif nöropsikolojik problemler, okul başarısında düşme, düşük IQ düzeyleri ortaya çıkmaktadır (145). Hastalarda miyelinizasyonda, aksonlarda, snaptik geçiş hızlarında bozulmalar tespit edilmiştir. Bunlara rağmen

Fenilketonüri de beyin hasarlarının patofizyolojik mekanizması çok yönlü ve belirsizdir (146). Bunlara ek olarak *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar FA'nin beyin enerji metabolizmasını bozduğunu göstermiştir. Bunun sonucu olarak da FKÜ hastalarının beyinlerindeki enerji harcamasının azaldığı ortaya çıkmıştır. Buna göre beyin beyaz maddesi başta olmak üzere glikoz metabolizması önemli ölçüde azalmıştır (6). Hiperfenilalaninemik sıçanlarda, beyindeki kompleks I-III solunum zinciri ve süksinat dehidrogenaz aktivitesi azalmıştır. Bu çıkarımlar hayvan temelli çalışmalarda beyindeki düşük oksijen ve glikoz tüketiminin nedenlerini açıklamaktadır (147).

Beyin gelişimi sırasında artmış FA seviyesi beyin respirasyonunu azaltıyor. Ayrıca yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar FA'nin, sıçanların beyin korteksinde piruvat kinaz ve kreatin kinaz düzeylerini azalttığını göstermiştir (148,149). Sonuç olarak bu bulgular, fenilketonürlü hayvan modellerinde snaptik plazma membranlarındaki Na^+ , K^+ , ATPaz düzeylerinin azalmış olduğunu göstermiştir. Bu durum FKÜ'de sinir sistemindeki değişikliğin ve epilepsinin nedeni olabilir. Tedavi edilmemiş FKÜ olgularının beyinlerindeki enerji metabolizmalarındaki bozulma, miyelinizasyon, hücre miktarı ve organizasyonu, dentritik dalgalanma ve sinaptik hızlardaki bozulmalar gözlenmiştir (150).

Bunun yanında oksidatif stres, kronik nörodejeneratif hastalıklar, epilepsi, multiple skleroz gibi santral sinir sistemi ile ilgili hastalıkların patogeneziyle ilişkilidir (81). Aynı zamanda oksidatif stres, FKÜ, MSUD, tirozinemi, üre döngüsü bozukluğu, homosistinüri ve bazı organik asidemi gibi doğuştan gelen metabolik hastalıklarla ilişkilidir (5,20,151). Buna rağmen bu hastalıklarda artmış oksidatif stresin nedeni tam olarak anlaşılamamıştır, bu durumun nedeninin toksik metabolitlerin serbest radikalleri üretmesi veya kısıtlı diyetler sonucu antioksidan öncül maddelerinin üretiminin azalması olduğu farz edilmektedir (152,153). Şekil 2.10'da fenilketonüride oksidatif hasara neden olan bazı mekanizmalar gösterilmiştir (6).

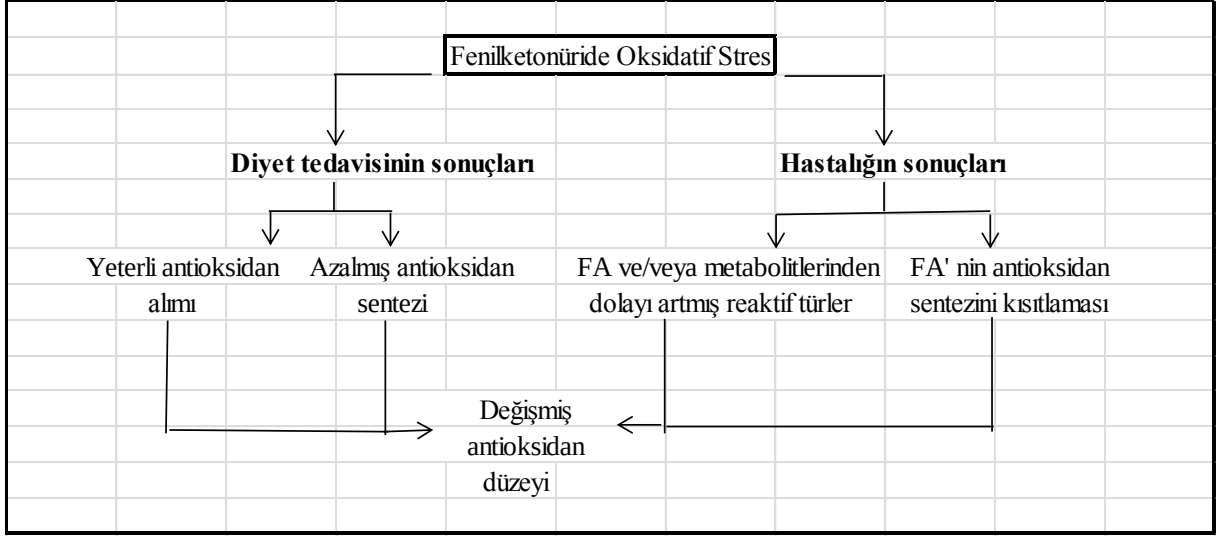


Şekil 2.10. Fenilketonürde oksidatif hasara neden olan bazı mekanizmalar (6)

Fenilalanin, reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS)'nin artışına neden olarak dokulardaki antioksidan savunmayı azaltarak oksidatif strese neden olmaktadır. Aynı zamanda FA, enerji metabolizmasında anahtar rol oynayan Na^+ , K^+ , ATPaz, mitokondriyal kreatin kinaz, izoform (*mit-CK*) ve mitokondriyal elektron transfer zincirini (METC) azaltarak enerjinin azalmasına neden olmaktadır. METC inhibisyonu ROS üretiminin artmasıyla sonuçlanmaktadır. Artmış olan ROS ve RNS, lipid ve protein oksidasyonu, DNA hasarıyla sonuçlanmaktadır. FA, LNAAs'ların beyine girişine engel olarak dopamin ve noradrenalin gibi nörotransmitterlerin sentezi için gerekli olan tirozinin düzeyini azaltmaktadır ve bu da antioksidan savunmanın azalmasıyla sonuçlanmaktadır (6).

Genel olarak FKÜ'de oksidatif stresle ilgili iki temel bakış açısı vardır (Şekil 2.11.) (10):

- *Diyet kısıtlaması*- enzimatik ve enzimatik olmayan savunmayı değiştirmektedir
- *Reaktif maddelerin aşırı üretimi*- hastalığın kendisi veya ortaya çıkardığı metabolitlerle ilişkilidir



Şekil 2.11. Fenilketonürde oksidatif stres (10)

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi ve Hastalar

Bu araştırma T.C. Sağlık Bakanlığı Gaziantep Çocuk Hastanesi, Çocuk Metabolizma Hastalıkları ve Beslenme Kliniğine başvuran klasik fenilketonürlü hastalarda yapılmıştır. Araştırmaya 1 ay - 18 yaş arasında bulunan hasta ve kontroller dahil edilmiştir. Çalışmaya klasik FKÜ (tanı anında kan FA değerleri 20 mg/dl'nin üzerinde olan) tanısı almış 40 FKÜ hastası ve 20 sağlıklı kontrol alınmıştır.

Çalışmaya dahil olma kriterleri

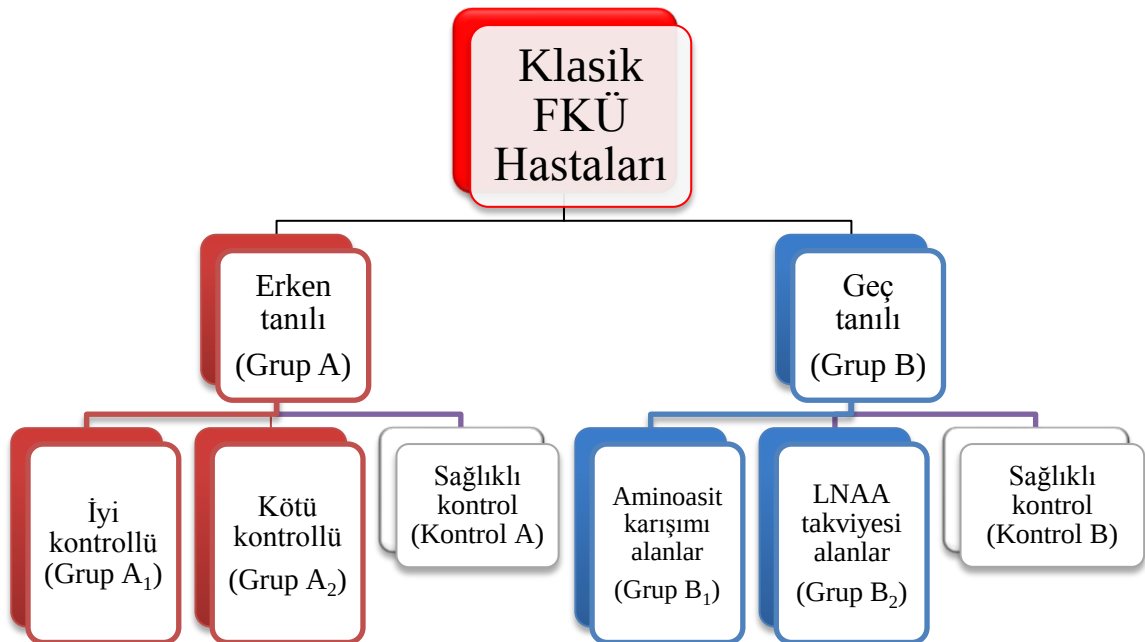
1. Klasik fenilketonüri tanısı almış olmak
2. Fenilalaninden kısıtlı diyet tedavisi altında FA içermeyen aminoasit karışımı tüketiyor olmak
3. Fenilalaninden kısıtlı diyet tedavisi altında LNAA (büyük nötral aminoasit) takviyesi alıyor olmak
4. 1 ay-18 yaş aralığında olmak

Çalışmaya dahil olmama kriterleri

1. Hastaların tanı anındaki kan FA değeri 20 mg/dl'nin altında olması,
2. Klasik fenilketonüri tedavisi dışında tedavi alması (BH4 tedavisi görmesi gibi)
3. Serbest diyet tedavisi (FA'den kısıtlı diyet almayan) alması,
4. Anne sütü alıyor olması
5. Sigara kullanıyor olması,
6. Gebeler ve emzirenler,
7. Araştırılan parametreleri etkileyebilecek farklı patolojik rahatsızlıkların (Diyabet vb...) bulunması

Araştırmanın genel planı

Hastaların dosya ve laboratuvar kayıtları geçmişe dönük olarak incelenerek önceki kan FA düzeyleri, tanı zamanları ve kullanmakta oldukları aminoasit karışımları veya LNAA takviyeleri almalarına göre tedavi şekilleri araştırılmıştır. Hastalar öncelikle tanı zamanlarına göre erken dönemde tanı alanlar (yaklaşık ilk 2 ay içerisinde) (34) “erken tanı” (Grup A) ve daha geç dönemde tanı alanlar “geç tanı” (Grup B) olarak ayrılmıştır. Erken tanı hastalar, yaklaşık son iki yıllık kan FA düzeyi ortalamalarına göre hastaların diyetle uyumları dikkate alınarak “iyi kontrollü” (kan FA değerleri önerilen düzeyde seyreden) (Grup A₁) ve “kötü kontrollü” (kan FA değerleri önerilen düzeyin üzerinde seyreden) (Grup A₂) olarak sınıflandırılmışlar ve bu hasta grupları için yaşlarıyla uyumlu olarak sağlıklı kontrol grubu (Kontrol A) alınmıştır. Tedavide hedeflenen yaklaşık kan FA düzeyi 2-6 mg/dl’dir (34). Geç tanı hastalar, FA’dan kısıtlı diyet tedavisi ile birlikte almış oldukları aminoasit takviyelerine bakılarak FA’sız “aminoasit (aa) karışımı alanlar” (Grup B₁) ve “LNAA takviyesi alanlar” (Grup B₂) olarak sınıflandırılmışlar ve bu hasta grupları için yaşlarıyla uyumlu olarak sağlıklı kontrol grubu (Kontrol B) alınmıştır. Araştırmanın genel planı Şekil 3.1.’de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Araştırmanın genel planı

Hastalardan ve sağlıklı kontrollerden, hastaların her rutin kontrol muayenesi sırasında bakılan kan FA düzeylerinin dışında, L-karnitin, total kolesterol, trigliserit, LDL, VLDL, HDL kolesterol düzeylerini saptamak amacıyla kan örnekleri alınmıştır. Bu parametrelere Gaziantep Çocuk Hastanesi laboratuvarında çalışılmıştır. Ayrıca hastalardan ve sağlıklı kontrollerden serum parametrelerinden TAS, TOS, PON1, Q10 bakılması için 5 ml venöz kan sarı kapaklı jelli düz tüplere alınmıştır. Eritrositte GSHPx bakılması için 2 ml venöz kan EDTA içeren tüplere alınarak gerekli işlemler yapılmıştır.

3.2. Kan Örneklerinin Toplanması ve Analizi

Serum örneklerinde oksidatif stres parametrelerinin çalışılması amacıyla sarı kapaklı, jelli düz tüplere alınan kanlar 4°C'de 3500 rpm de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Serum kısmı ependorflara ayrılarak analiz yapılincaya kadar -40°C'de saklanmıştır. Eritrosit örneklerinde oksidatif stres parametrelerinin çalışılması amacıyla EDTA içeren tüplere alınan kanlar 4°C'de 2100 rpm de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Geride kalan şekilli elemanlar üzerine 2 ml % 0,9'luk NaCl solüsyonu ilave edilerek hafifçe ters yüz edilmiştir ve 4°C'de 5 dakika santrifüj edilerek üstteki süpernatant atılmıştır. Bu işlem iki defa daha tekrar edilmiş ve sonunda kalan eritrosit ependorfa alınarak analiz yapılincaya kadar -40°C'de saklanmıştır.

Kontrol grubu olarak, gönüllü çalışmaya katılan sağlıklı kontroller hastaların yaşlarıyla uyumlu olarak çalışmaya dahil edilmiştir. Kan örnekleri alınmadan önce gerekli bilgilendirilmeler yapılmış hastaların ve kontrollerin ailelerine Bilgilendirilmiş Olur Formu imzalatılmıştır. Bu çalışma Gaziantep Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 10.11.2014 tarihinde 2014/337 karar numarası ile onaylanmıştır.

3.3. Total Antioksidan Seviye Ölçümü

Örneklerin total antioksidan seviye (TAS) düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak Erel yöntemine göre ölçülmüştür. Bu metoda göre; Fe^{+2} -o-dianisidine kompleksi, hidrojen peroksit ile Fenton tipi reaksiyon oluşturarak, OH radikalini oluşturur. Bu güçlü reaktif oksijen türü düşük pH'da renksiz o-dianisidine molekülü ile reaksiyona girerek sarı-kahverengi dianisidyl radikallerini oluştururlar. Dianisidyl radikalleri ileri oksidasyon reaksiyonlarına katılarak renk oluşumu artmaktadır. Ancak örneklerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırarak renk oluşumunu

durdurmaktadırlar. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılır. Sonuçlar mmol trolox eqv./L olarak ifade edildi (87).

3.4. Total Oksidan Seviye Ölçümü

Örneklerin toplam oksidan seviye (TOS) düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak Erel yöntemine göre ölçülmüştür. Ölçüm testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyonla kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanıldı. Ferrik iyonlar, asidik ortamda xilenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti, spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eqv./L olarak ifade edildi (88).

3.5. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Örneklerin oksidatif stres indekslerinin (OSİ) hesaplanması için öncelikle TOS ve TAS'ın birimleri μmol şeklinde hesaplandı. Daha sonra, $\text{OSİ (AU)} = [(\text{TOS } \mu\text{mol/L})/(\text{TAS } \mu\text{mol/L})] \times 100$ formülüne göre OSİ hesaplandı. Sonuçlar Arbitrary Units (AU) olarak ifade edildi (154).

3.6. Glutasyon Peroksidaz Ölçümü

Glutasyon peroksidaz ölçümü için Randox marka ticari kit kullanıldı. Deneyin prensibi Paglia ve Valentine'nin metoduna dayanmaktadır (155). NADPH'nin azalmasına bağlı olarak 340 nm'de meydana gelen absorbanstaki değişimi ölçülerek enzim aktivitesi hesaplandı. U/L cinsinden bulunan enzim aktivitesi dilüsyon katsayısı olan 41 ile çarpıldıktan sonra, hemoglobine bölünerek U/gHb cinsinden hesaplamalar yapıldı. Okumalar kit prospektüsüne uygun olarak yapıldı (156).

3.7. Paraoksonaz 1 Ölçümü

Paraoksonaz 1 ölçümü için Rel Assay marka ticari kit kullanıldı. Tris tamponu içerisinde kalsiyum iyonu ile aktive edilen PON1 enzimi paroksonu p-nitrofenole (diethyl-p-nitrophenylphosphate) parçalamaktadır. P-nitrofenolün molar absorbitivitesi $18.290 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ve bir ünite paraoksonaz aktivitesi 37°C 'de dakikada oluşan 1 mol ürüne eşit olmaktadır. Absorbanstaki artış 417 nm de kaydedilmektedir. Yöntemin CVs %1.7 ortam PH: 8.0'dır. Okumalar kit prospektüsüne uygun olarak yapıldı (157).

3.8. Koenzim Q10 Ölçümü

Koenzim Q10 ölçümü için Biosearch marka ticari kit kullanıldı. Yüksek basınç altında sıvı olan hareketli faz ile katı olan sabit faz arasında maddelerin dağılma esasına dayanan ayırma yöntemi HPLC ile Agilent 1100 cihazında UV dedektör kullanılarak ölçüldü. Q10 düzeyleri µg/ml olarak ifade edildi. Okumalar kit prospektüsüne uygun olarak yapıldı (158).

3.9. Diğer Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü

Diğer biyokimyasal analizler olan L-karnitin, total kolesterol, trigliserit, LDL, VLDL, HDL kolesterol düzeyleri ölçümü Gaziantep Çocuk Hastanesi laboratuvarında yapıldı. Abbott marka cihazda orijinal ticari kitler kullanılarak yapıldı.

3.10. İstatiksel Analiz Yöntemi

Tüm istatistiksel analizler SPSS 16.0 (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc, Chicago, USA) programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunluk kontrolünde Kolmogorov Smirnov testi kullanılmıştır. Gruplar arası karşılaştırmalar normal dağılım gösteren değişkenler için “parametrik” testler (tek yönlü varyans analizi (ANOVA), Tukey testi) normal dağılım göstermeyen değişkenler içinse “parametrik olmayan” testler (Kruskal Wallis, Mann Whitney U testi) kullanılarak yapıldı. Çalışmada $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya 40 klasik FKÜ hastası ve 20 sağlıklı çocuk dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen FKÜ hastalarının tanı anındaki kan FA düzeyleri 20 mg/dl'nin üzerindedir. Hastalar yaşlarına ve metabolik durumlarına uygun olacak şekilde FA'den kısıtlı diyet tedavisi ile birlikte FA içermeyen aminoasit karışımları kullanmakta veya LNAA takviyesi almaktadır.

Tanı zamanlarına göre sınıflandırıldığında, erken tanılı 20 hastanın (Grup A) tanı zamanları ortalaması 25 ± 10 gün (ortalama $\pm$ SD), geç tanılı 20 hastanın (Grup B) tanı zamanları ortalaması 14.7 ± 13.6 aydır. Hastalar tanı zamanlarına göre sınıflandırıldıktan sonra hastaları özel gruplara ayırarak, farklı metabolik durumları olan ve/veya farklı tedaviler alan hastalarda hangi hasta gruplarının oksidatif strese daha fazla maruz kaldığını daha iyi anlamak amacıyla çalışma geç tanılı ve erken tanılı hastalar olmak üzere ikiye bölünerek yürütülmüştür. Bu şekilde gruplar arası karşılaştırma daha homojen yapılmıştır.

Erken tanılı hastaların bulgularının incelenmesi:

Hastaların ve sağlıklı kontrollerin yaş ortalamaları ve kan FA düzeyleri ortalamaları Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Gruplar	n	Yaş (yıl)		FA (mg/dl)	
		Ortalama $\pm$ SD	Değişim Sınırı	Ortalama $\pm$ SD	Değişim Sınırı
Kontrol (Kontrol A)	10	5.8 ± 3.2	1-10.4	-	-
İyi kontrollü (Grup A ₁)	10	4.2 ± 2.8	1.2-10.4	5.0 ± 2.6	0.57-7.9
Kötü kontrollü (Grup A ₂)	10	5.4 ± 2.4	1.9-10.5	13.8 ± 2.6	11-19

Tablo 4.1. Erken tanılı hastaların ve sağlıklı kontrollerin yaş ortalamaları

Erken tanıli hastaların ve kontrol grubunun TAS, TOS, OSİ, GSHPx, PON1, Q10 ve L-karnitin değerleri Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Parametreler	Gruplar			P
	Kontrol (Kontrol A)	İyi kontrollü (Grup A ₁)	Kötü kontrollü (Grup A ₂)	
	Ortalama $\pm$ SD	Ortalama $\pm$ SD	Ortalama $\pm$ SD	
TAS (mmol trolox eqv./L)	1.70 $\pm$ 0.40	1.69 $\pm$ 0.75	2.29 $\pm$ 1.19	0.064
TOS (μ mol H ₂ O ₂ eqv./L)	6.13 $\pm$ 2.15	5.32 $\pm$ 1.39	7.25 $\pm$ 2.72	0.153
OSİ (AU)	0.36 $\pm$ 0.167	0.29 $\pm$ 0.091	0.31 $\pm$ 0.197	0.612
GSHPx (U/L)	5991.35 $\pm$ 1374.48	5067.56 $\pm$ 757.79	4711.89 $\pm$ 1047.66 ^a	0.039 [*]
PON1 (U/L)	148.99 $\pm$ 13.72	153.27 $\pm$ 13.01	152.63 $\pm$ 11.10	0.721
Q10 (ng/ml)	151.68 $\pm$ 42.58	114.80 $\pm$ 55.32	80.25 $\pm$ 41.07 ^b	0.008 [*]
L-karnitin (μ mol/ L)	43.87 $\pm$ 11.16	39.32 $\pm$ 9.58 ^c	30.02 $\pm$ 9.92 ^d	0.029 [*]

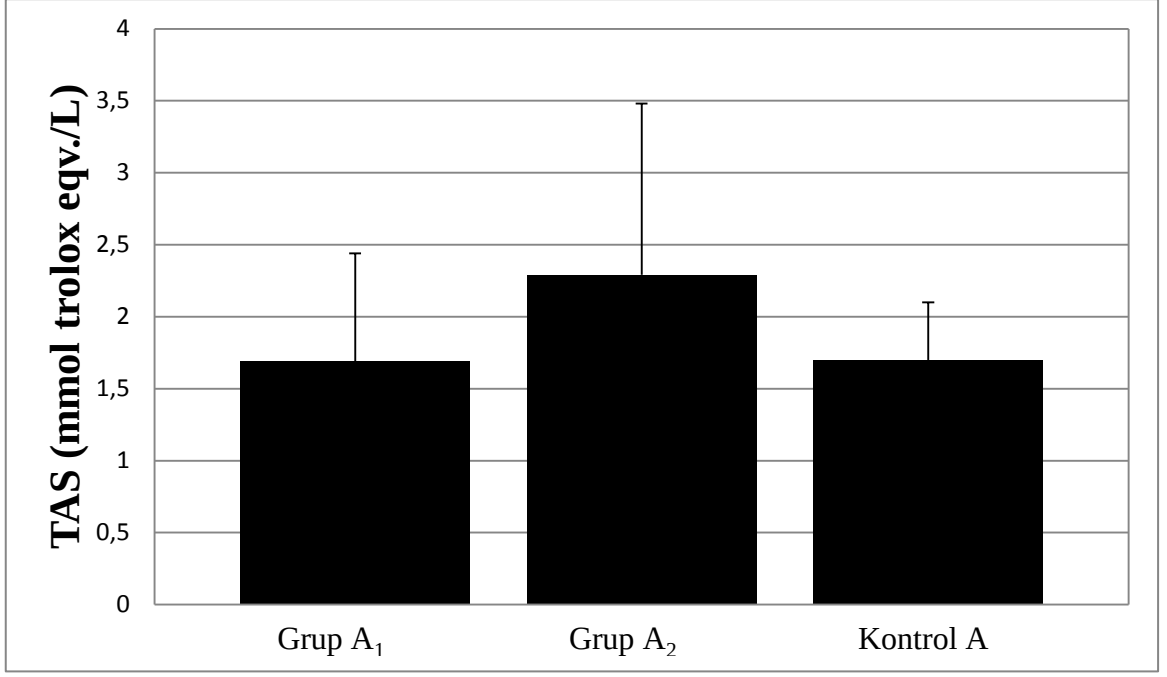
Tablo 4.2. Erken tanıli hastaların ve kontrol grubunun laboratuvar bulguları

* Gruplar arasında anlamlı fark vardır

^a Grup A₂, Kontrol A'dan istatistiksel olarak anlamlı düşüktür, ^b Grup A₂, Kontrol A'dan istatistiksel olarak anlamlı düşüktür, ^c Grup A₁, Grup A₂'den istatistiksel olarak anlamlı yüksektir, ^d Grup A₂, Kontrol A'dan istatistiksel olarak anlamlı düşüktür

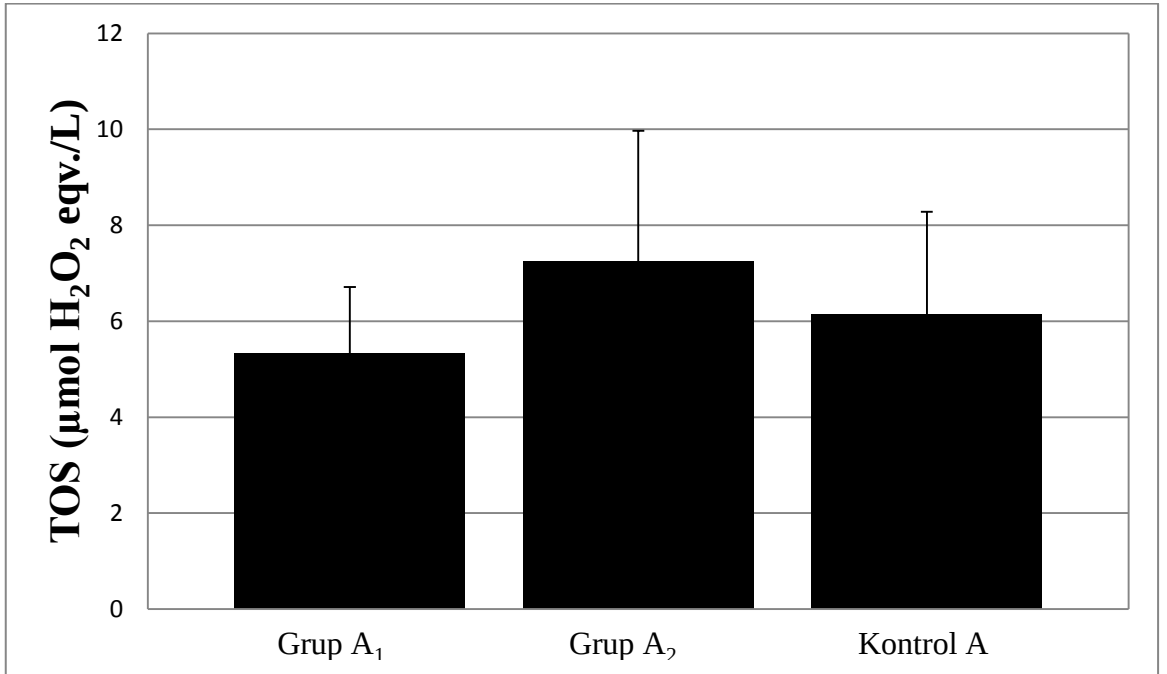
Gruplar arasında her parametre için ayrı ayrı istatistiksel analizler yapıldığında:

Serum TAS düzeyleri açısından Grup A₁ (1.69 $\pm$ 0.75 mmol trolox eqv./L). Grup A₂ (2.29 $\pm$ 1.19 mmol trolox eqv./L) ve kontrol grubu (1.70 $\pm$ 0.40 mmol trolox eqv./L) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.064$).



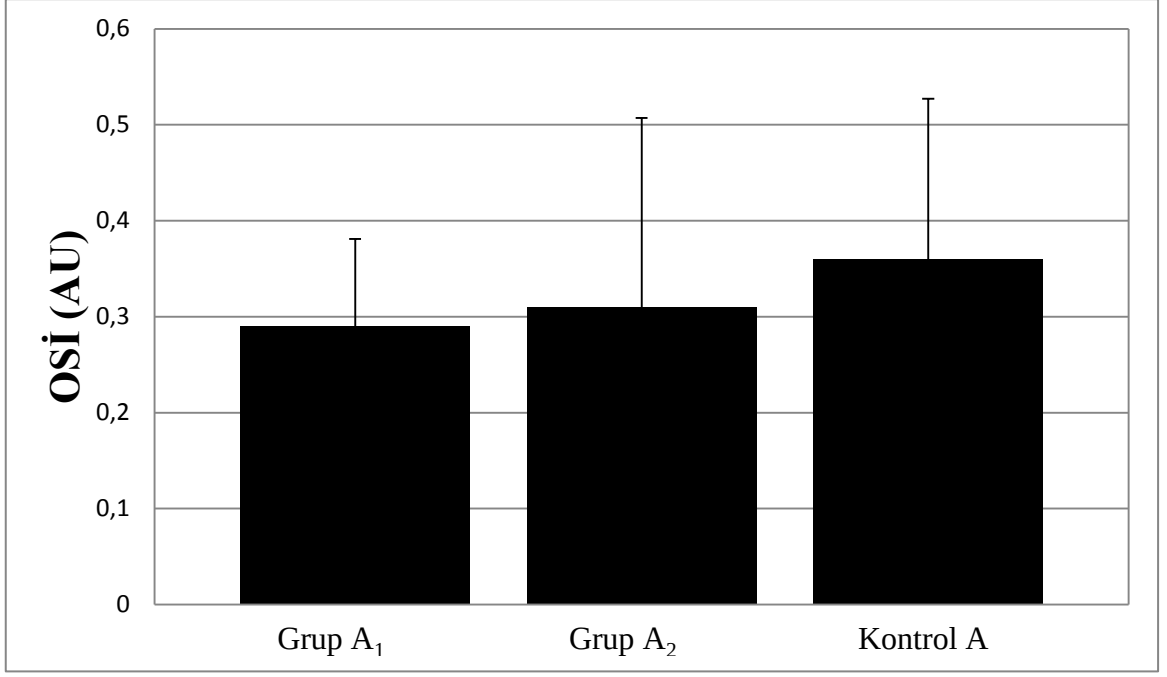
Şekil 4.1. Erken tanılı hasta gruplarının ve kontrol grubunun TAS düzeyi (Kruskal-wallis)

Serum TOS düzeyleri ise Grup A₂'de ($7.25 \pm 2.72 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ eqv./L}$), Grup A₁'e göre ($5.32 \pm 1.39 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ eqv./L}$) daha yüksek olmakla birlikte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.153$).



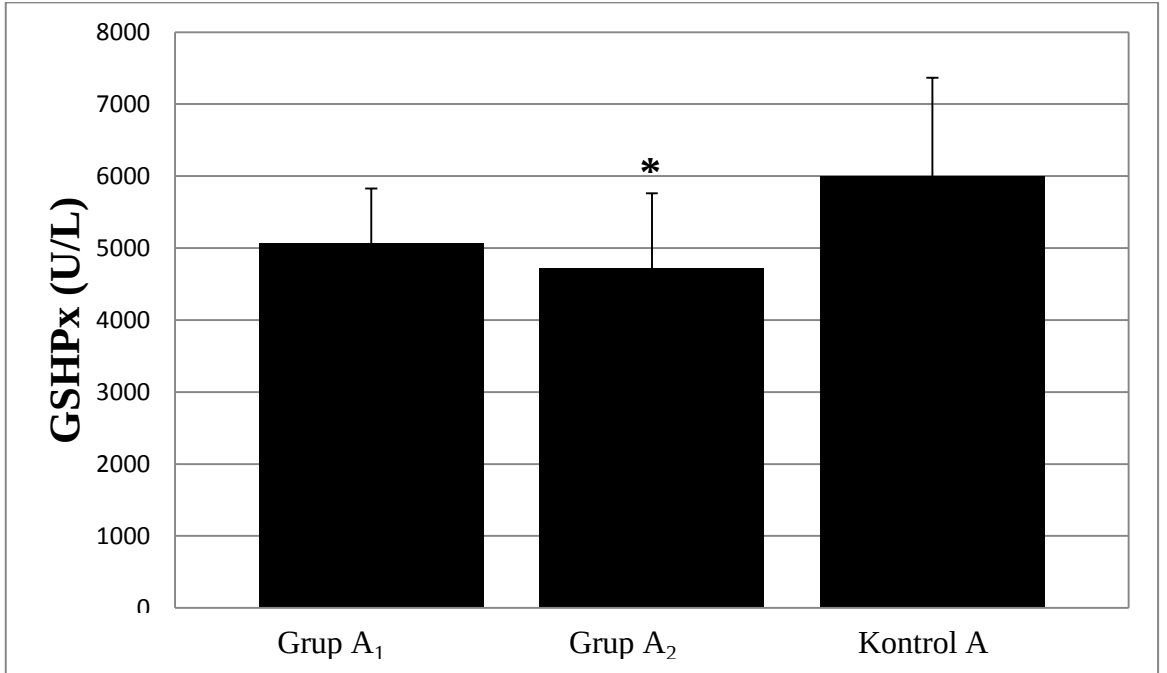
Şekil 4.2. Erken tanılı hasta gruplarının ve kontrol grubunun TOS düzeyi (ANOVA)

Serum OSİ düzeyleri açısından Grup A₁ ($0.29 \pm 0.091 \text{ AU}$), Grup A₂ ($0.31 \pm 0.197 \text{ AU}$) ve kontrol grubu ($0.36 \pm 0.167 \text{ AU}$) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p=0.612$).



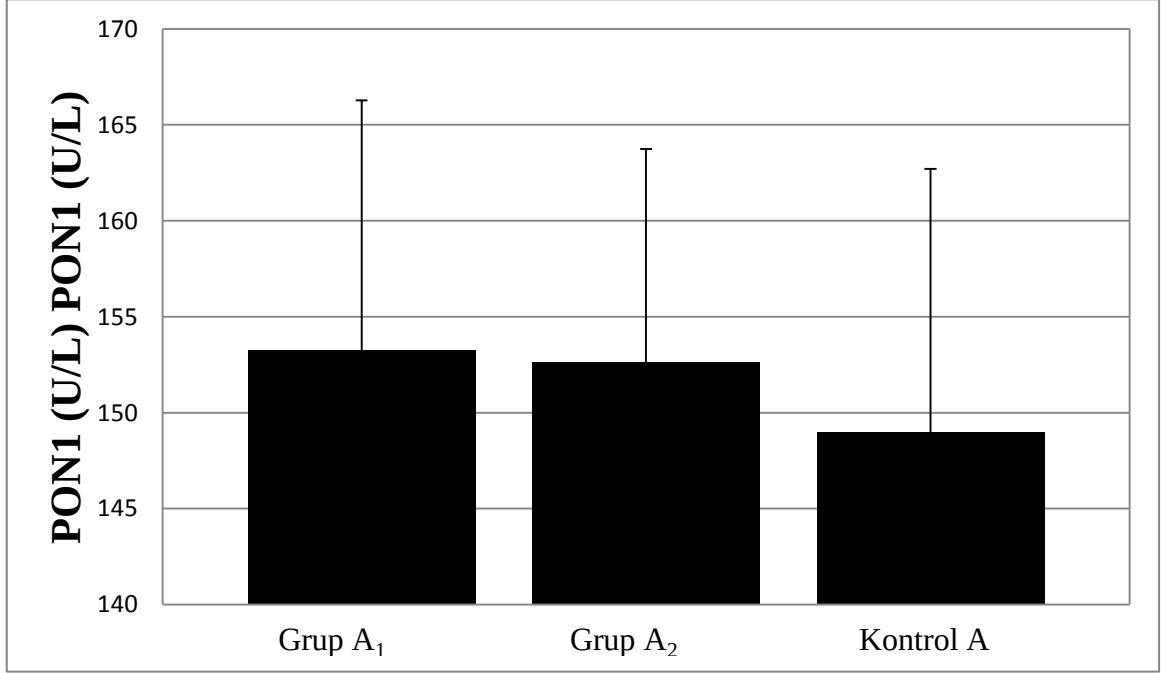
Şekil 4.3. Erken tanılı hasta gruplarının ve kontrol grubunun OSİ düzeyi (ANOVA)

Eritrosit GSHPx düzeyi açısından hasta grupları ve kontrol grubu karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p=0.039$). GSHPx kontrol grubunda (5991.35 ± 1374.48 U/L), kötü kontrollü olan Grup A₂'ye (4711.89 ± 1047.66 U/L) göre istatistiksel olarak anlamlı yüksektir ($p=0.036$). Hasta grupları arasında ve Grup A₁ ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark yoktur.



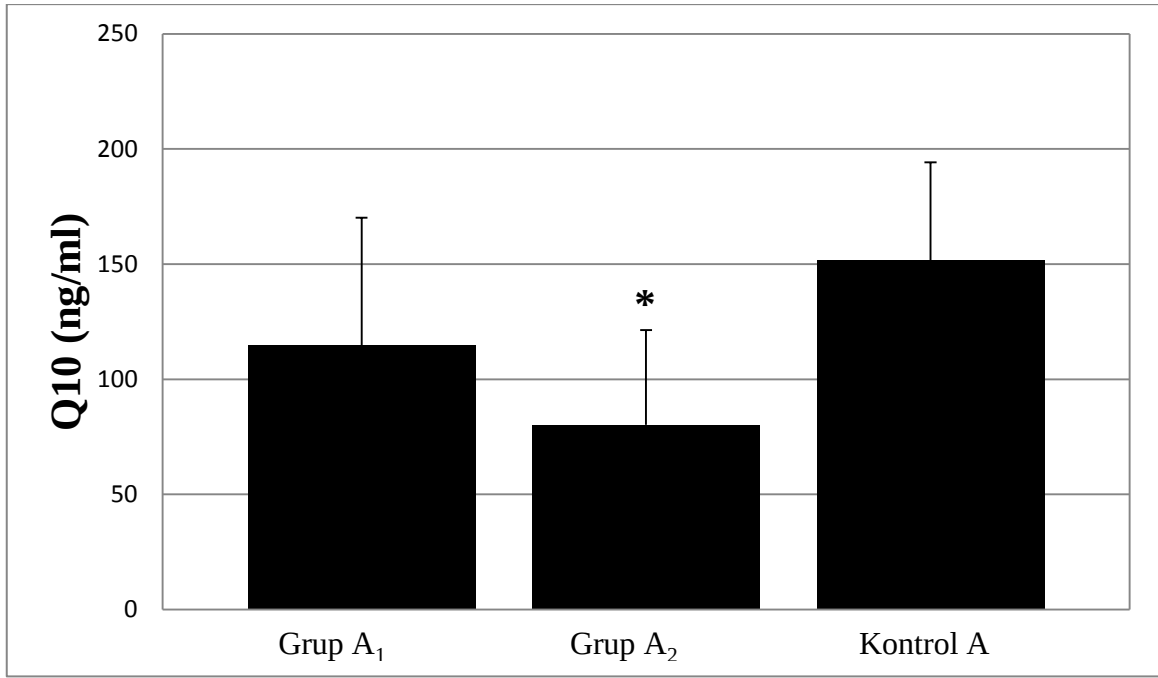
Şekil 4.4. Erken tanılı hasta gruplarının ve kontrol grubunun GSHPx düzeyi (ANOVA, Post hoc-Tukey testi) * $p < 0.05$ kontrol grubundan farklıdır.

Serum PON1 düzeyleri açısından Grup A₁ (153.27 ± 13.01 U/L), Grup A₂ (152.63 ± 11.10 U/L) ve kontrol grubu (148.99 ± 13.72 U/L) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p=0.721$).



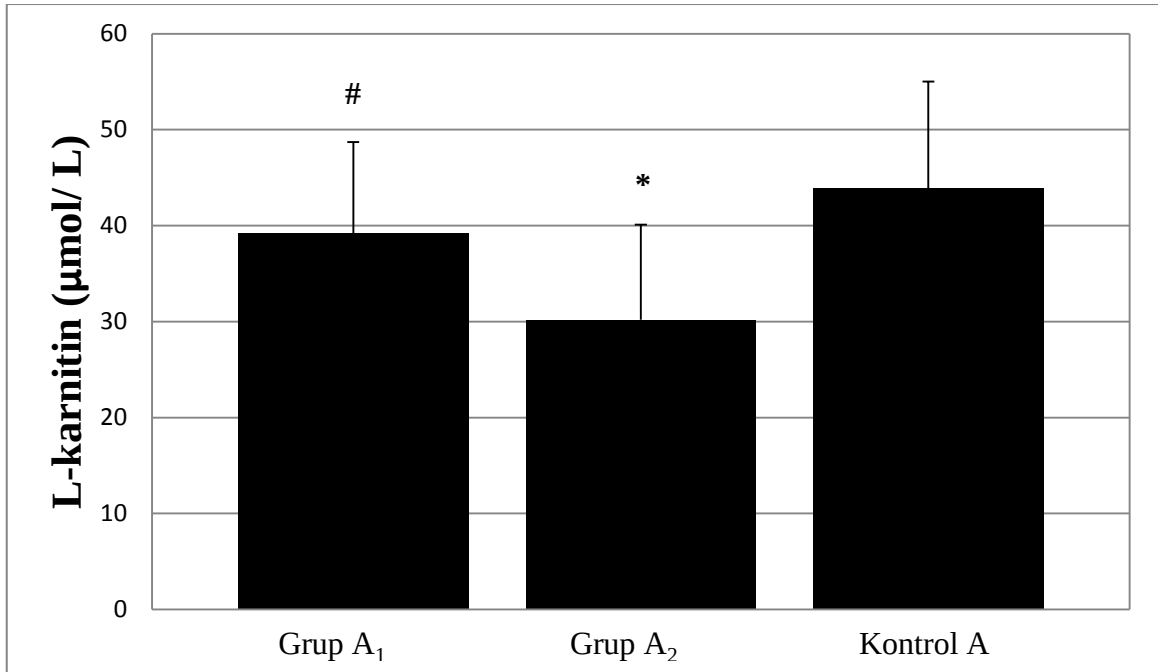
Şekil 4.5. Erken tanılı hasta gruplarının ve kontrol grubunun PON1 düzeyi (ANOVA)

Koenzim Q10 düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p=0.008$). Q10 seviyesi Grup A₂'de (80.25 ± 41.07 ng/ml) kontrol grubuna göre (151.68 ± 42.58 ng/ml) istatistiksel olarak anlamlı düşüktür ($p=0.006$). Hasta grupları arasında ise anlamlı bir fark yoktur.



Şekil 4.6. Erken tanıli hasta gruplarının ve kontrol grubunun Q10 düzeyi (ANOVA, Post hoc-Tukey testi) * $p < 0.05$ kontrol grubundan farklıdır.

L-karnitin düzeyleri açısından hasta grupları ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p=0.029$). Grup A₁ ($39.32 \pm 9.58 \mu\text{mol/L}$) Grup A₂'ye ($30.02 \pm 9.92 \mu\text{mol/L}$) göre istatistiksel olarak anlamlı yüksektir ($p=0.034$). Grup A₂, kontrol grubuna ($43.87 \pm 11.16 \mu\text{mol/L}$) istatistiksel olarak anlamlı düşüktür ($p=0.026$).



Şekil 4.7. Erken tanıli hasta gruplarının ve kontrol grubunun L-karnitin düzeyi (Kruskal-wallis, Mann Whitney U testi) * $p < 0.05$ kontrol grubundan farklıdır. # $p < 0.05$ hasta grupları birbirinden farklıdır.

Erken tanılı hastaların diğer biyokimyasal parametreleri;

Erken tanılı hastalar ve kontrol grubu arasında karşılaştırma yapıldığında, trigliserit, total kolesterol, HDL, LDL ve VLDL açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.(Tablo 4.3.)

Parametreler	Gruplar		
	İyi kontrollü (Grup A ₁)	Kötü kontrollü (Grup A ₂)	Kontrol (Kontrol A)
	Ortalama ± SD	Ortalama ± SD	Ortalama ± SD
Trigliserit (mg/dL)	124.20 ± 54.49	132.40 ± 95.76	101.00 ± 46.95
Total kolesterol (mg/dL)	135.50 ± 28.59	127.00 ± 48.11	151.00 ± 29.94
HDL (mg/dL)	34.00 ± 7.13	39.70 ± 11.60	44.00 ± 7.29
LDL (mg/dL)	73.90 ± 24.35	67.00 ± 43.08	84.66 ± 21.38
VLDL (mg/dL)	24.90 ± 10.88	26.30 ± 19.28	20.33 ± 9.39

Tablo 4.3. Erken tanılı hastaların diğer biyokimyasal parametreleri

Geç tanılı hastaların bulgularının incelenmesi:

Hastaların ve sağlıklı kontrollerin yaş ortalamaları Tablo 4.4.’de verilmiştir.

Gruplar	n	Yaş (yıl)	
		Ortalama ± SD	Aralık
Aminoasit karışımı alanlar (Grup B ₁)	10	13.8 ± 2.8	10-18
LNAA takviyesi alanlar (Grup B ₂)	10	14.8 ± 3.8	8-18
Kontrol (Kontrol B)	10	13.6 ± 4.8	7-18

Tablo 4.4. Geç tanılı hastaların ve sağlıklı kontrollerin yaş ortalamaları

Geç tanılı hastaların ve kontrol grubunun TAS, TOS, OSİ, GSHPx, PON1, Q10 ve L-karnitin laboratuvar bulguları Tablo 4.5.’da verilmiştir.

Parametreler	Gruplar			P
	Kontrol (Kontrol B)	Amimoasit karışımı alanlar (Grup B ₁)	LNAA takviyesi alanlar (Grup B ₂)	
	Ortalama ± SD	Ortalama ± SD	Ortalama ± SD	
TAS (mmol trolox eqv./L)	1.92 ± 0.39	1.98 ± 0.44	1.97 ± 0.30	0.889
TOS (μmol H ₂ O ₂ eqv./L)	4.69 ± 2.08	5.59 ± 1.58	5.42 ± 4.85	0.460
OSİ (AU)	0.26 ± 0.127	0.29 ± 0.061	0.26 ± 0.27	0.930
GSHPx (U/L)	5814.80 ± 1188.43	4613.57 ± 1005.27	4137.20 ± 1661.63 ^a	0.023 [*]
PON1 (U/L)	152.08 ± 10.97	160.57 ± 6.95	155.27 ± 9.32	0.135
Q10 (ng/ml)	143.94 ± 54.61	50.44 ± 15.29 ^b	108.52 ± 59.34 ^c	0.01 [*]
L-karnitin (μmol/ L)	35.25 ± 11.64	30.91 ± 12.94	27.15 ± 9.43	0.371

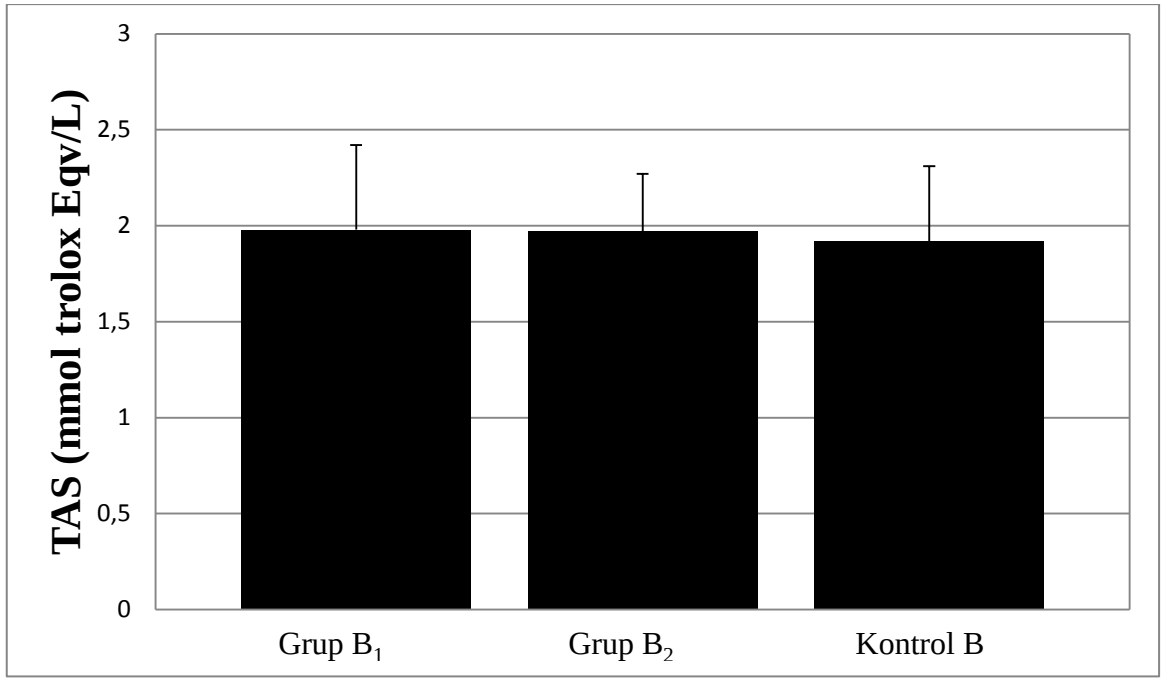
Tablo 4.5. Geç tanıli hastaların ve kontrol grubunun laboratuvar bulguları

* Gruplar arasında anlamlı fark vardır

^a Grup B₂, Kontrol B'den istatistiksel olarak anlamlı düşüktür, ^b Grup B₁, Kontrol B'den istatistiksel olarak anlamlı düşüktür, ^c Grup B₂, GrupB₁'den istatistiksel olarak anlamlı yüksektir

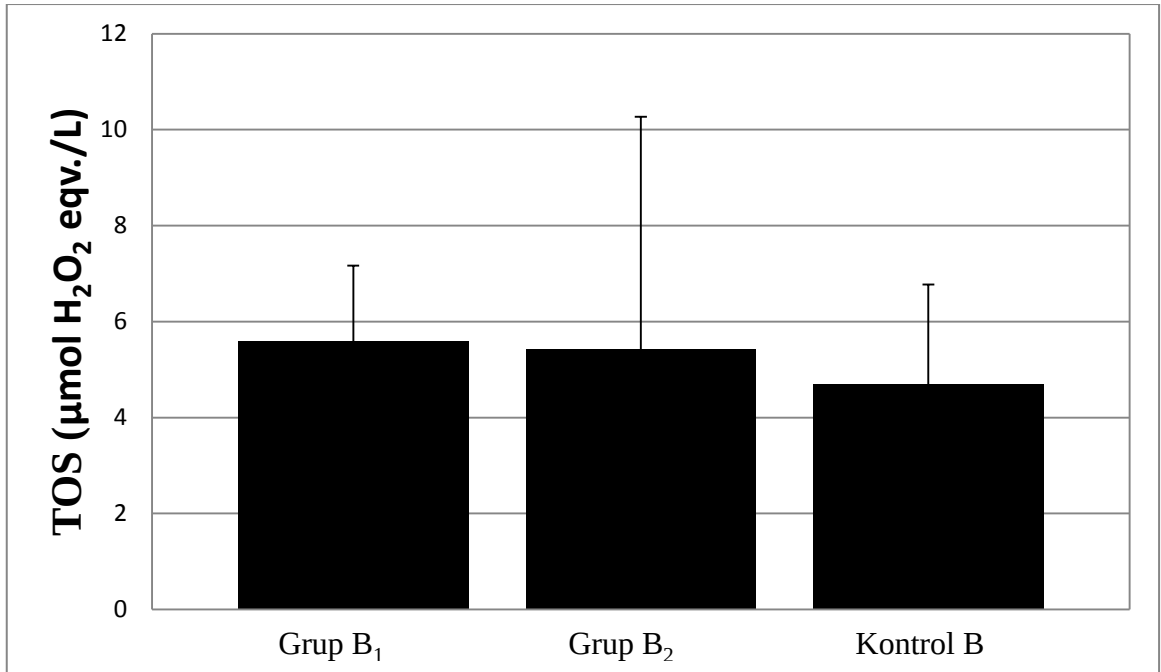
Gruplar arasında her parametre için ayrı ayrı istatistiksel analizler yapıldığında;

Serum TAS düzeyleri açısından Grup B₁ (1.98 ± 0.44 mmol trolox eqv./L), Grup B₂ (1.97 ± 0.30 mmol trolox eqv./L) ve kontrol grubu (1.92 ± 0.39 mmol trolox eqv./L) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0.889).



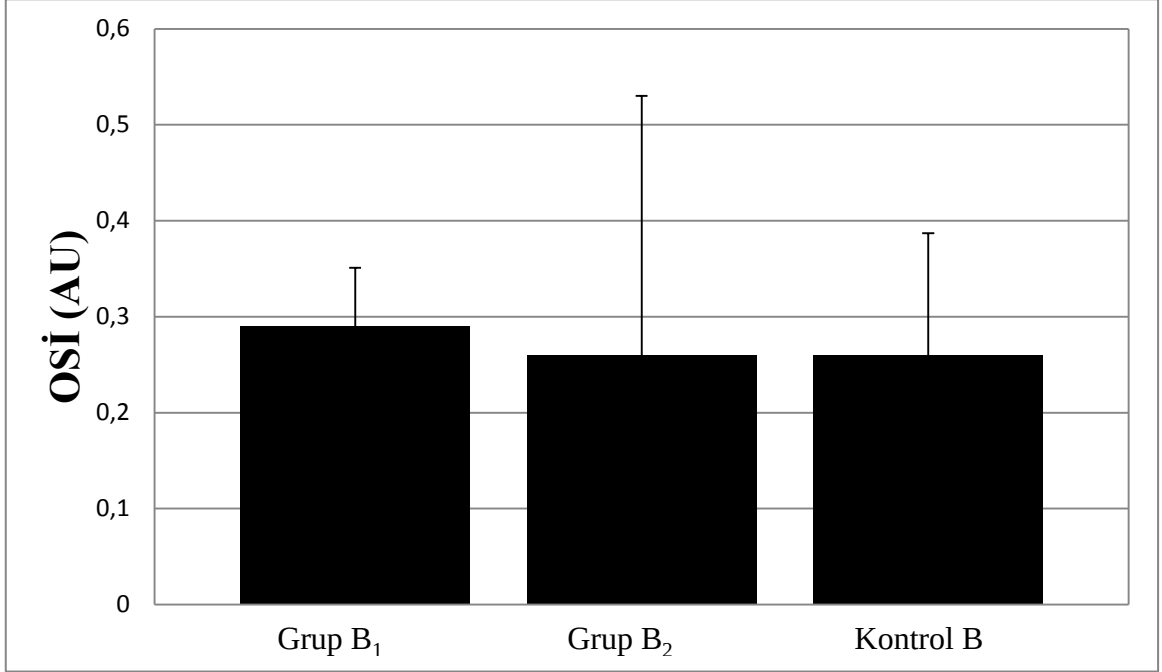
Şekil 4.8. Geç tanıli hasta gruplarının ve kontrol grubunun TAS düzeyi (Kruskal-wallis)

Serum TOS düzeylerinde kontrol grubuna ($4.69 \pm 2.08 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ eqv./L}$) göre Grup B₁ ($5.59 \pm 1.58 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ eqv./L}$) ve Grup B₂'de ($5.42 \pm 4.85 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ eqv./L}$) daha düşük bulunsada, hasta grupları ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.460$).



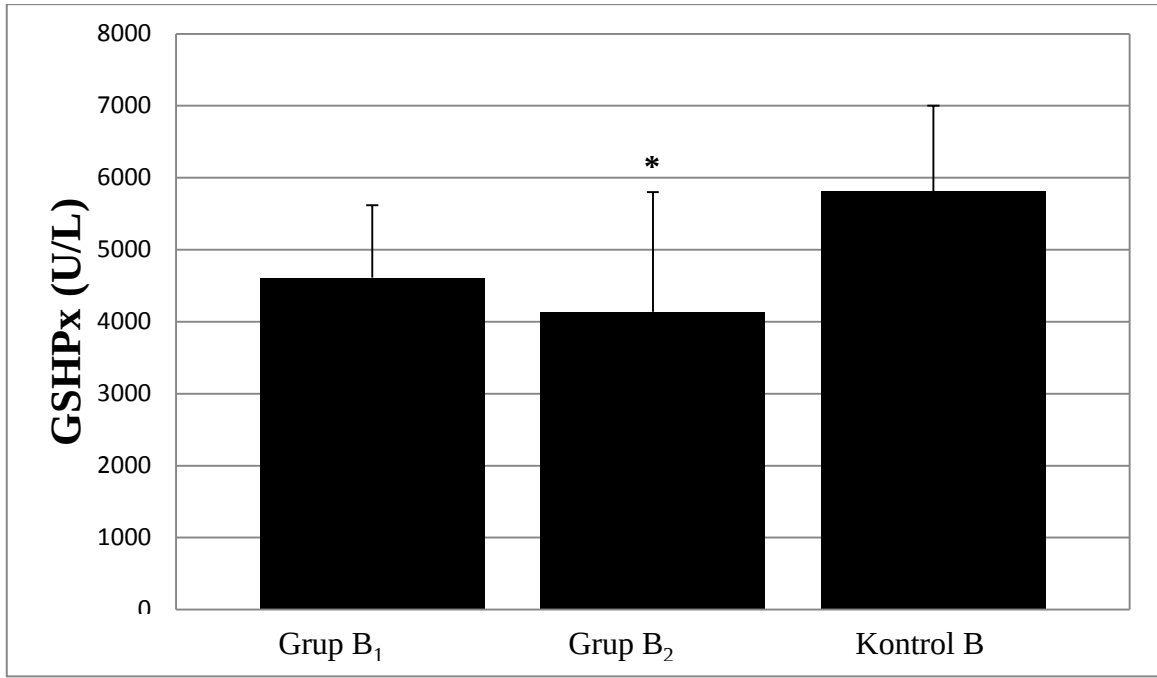
Şekil 4.9. Geç tanıli hasta gruplarının ve kontrol grubunun TOS düzeyi (Kruskal-wallis)

Serum OSİ düzeyleri açısından Grup B₁ (0.29 ± 0.061 AU), Grup B₂ (0.26 ± 0.27 AU) ve kontrol grubu (0.26 ± 0.127 AU) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p=0.930$).



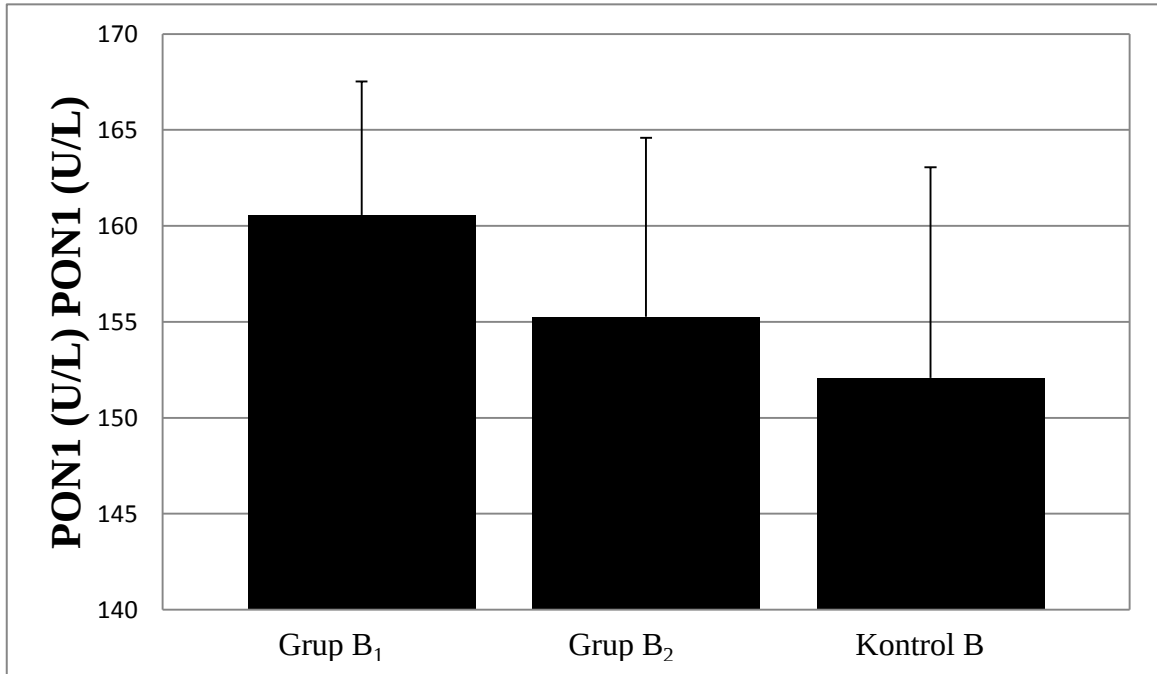
Şekil 4.10. Geç tanıli hasta gruplarının ve kontrol grubunun OSİ düzeyi (Kruskal-Wallis)

Eritrosit GSHPx düzeyi açısından hasta grupları ve kontrol grubu karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p=0.023$). GSHPx kontrol grubunda (5814.80 ± 1188.43 U/L), LNAA takviyesi alan Grup B₂'ye (4137.20 ± 1661.63 U/L) göre istatistiksel olarak anlamlı yüksektir ($p=0.022$). Hasta grupları arasında ise anlamlı bir fark yoktur.



Şekil 4.11. Geç tanıli hasta gruplarının ve kontrol grubunun GSHPx düzeyi (ANOVA, Post hoc-Tukey testi) * $p < 0.05$ kontrol grubundan farklıdır.

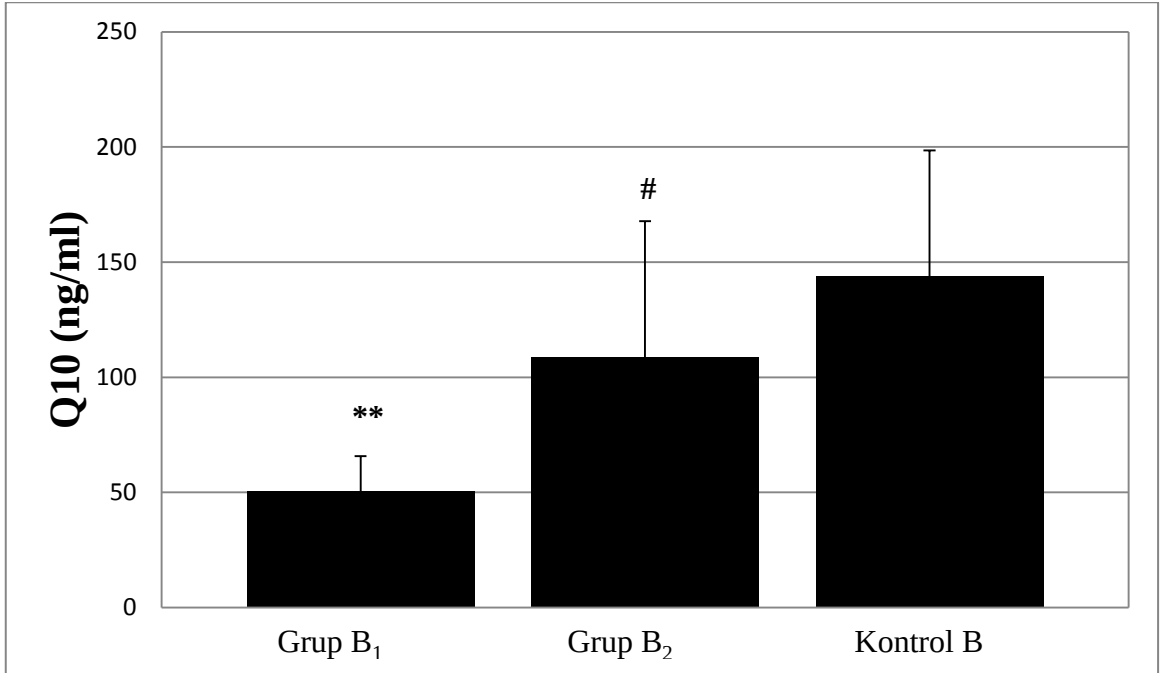
Serum PON1 düzeyleri açısından Grup B₁'de (160.57 ± 6.95 U/L), Grup B₂ (155.27 ± 9.32 U/L) ve kontrol grubuna (152.08 ± 10.97 U/L) göre daha yüksek düzeyde olsa da aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p=0.135$).



Şekil 4.12. Geç tanıli hasta gruplarının ve kontrol grubunun PON1 düzeyi (ANOVA)

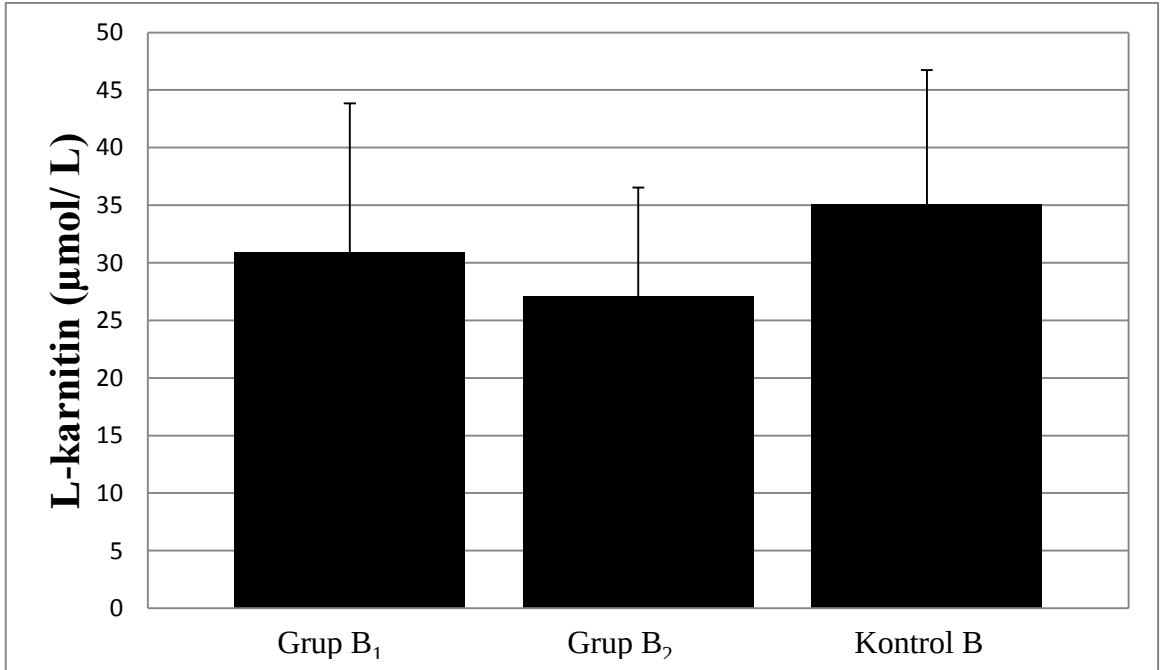
Koenzim Q10 düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p=0.01$). Q10 seviyesi Grup B₁'de (50.44 ± 15.29 ng/ml) kontrol grubuna göre (143.94 ± 54.61 ng/ml) istatistiksel olarak anlamlı düşüktür ($p=0.0001$). Hasta grupları arasında ise

Grup B₂'de (108.52 ± 59.34 ng/ml) Grup B₁'e göre istatistiksel olarak anlamlı yüksektir ($p=0.028$).



Şekil 4.13. Geç tanıli hasta gruplarının ve kontrol grubunun Q10 düzeyi (ANOVA, Post hoc-Tukey testi) ** $p < 0.001$ kontrol grubundan farklıdır. # $p < 0.05$ hasta grupları birbirinden farklıdır.

L-karnitin düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p=0.371$).



Şekil 4.14. Geç tanıli hasta gruplarının ve kontrol grubunun L-karnitin düzeyi (Kruskal-wallis)

Geç tanılı hastaların diğer biyokimyasal parametreleri;

Geç tanılı hastalar ve kontrol grubu arasında karşılaştırma yapıldığında, trigliserit, total kolesterol, HDL, LDL ve VLDL açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. (Tablo 4.6.)

Parametreler	Gruplar		
	Kontrol (Kontrol B)	Aminoasit karışımı alanlar (Grup B ₁)	LNAA takviyesi alanlar (Grup B ₂)
	Ortalama $\pm$ SD	Ortalama $\pm$ SD	Ortalama $\pm$ SD
Trigliserit (mg/dL)	111.00 $\pm$ 45.44	128.83 $\pm$ 35.17	94.00 $\pm$ 98.31
Total kolesterol (mg/dL)	160.00 $\pm$ 38.44	133.67 $\pm$ 59.61	136.12 $\pm$ 42.50
HDL (mg/dL)	47.57 $\pm$ 5.31	42.00 $\pm$ 5.72	34.55 $\pm$ 6.54
LDL (mg/dL)	85.85 $\pm$ 30.11	43.00 $\pm$ 14.09	60.00 $\pm$ 32.39
VLDL (mg/dL)	22.28 $\pm$ 9.12	68.00 $\pm$ 29.27	19.00 $\pm$ 9.75

Tablo 4.6. Geç tanılı hastaların diğer biyokimyasal parametreler

5. TARTIŞMA

Bu araştırmada fenilalanine farklı düzeylerde maruz kalan veya farklı aminoasit takviyeleri alan fenilketonüri hastaları ile sağlıklı kontrollerin oksidatif stres durumları araştırılmıştır. Fenilketonüri hastalarında oksidatif stresi araştıran birçok çalışma bulunmasına rağmen, hastaların özel gruplara ayrılarak homojen şekilde değerlendirmelerin yapıldığı çalışmaların sayısı çok azdır. FA'dan kısıtlı diyet tedavisinin yanında farklı aminoasit takviyeleri alan hastalarda (aminoasit karışımları/LNAA takviyesi) yapılmış oksidatif stres çalışmasına rastlanmamıştır. Bu araştırma, bu yönüyle literatürdeki ilk çalışma niteliğindedir. Bu kapsamda çalışma grubundaki tüm FKÜ hastaları gruplara ayrılarak serumda ve eritrositte birçok oksidatif stres parametresine bakılmıştır.

Fenilketonüri hastalarında TAS-TOS-OSİ parametrelerinin araştırıldığı çalışmalara bakıldığında, TAS ile ilgili birçok çalışma varken TOS ve OSİ'nin bakıldığı çalışmaya rastlanmamıştır. FKÜ hastalarında TAS'ın değiştiği rapor edilmiştir. Van Bakel ve ark., 24 FKÜ hastası ve 10 hiperfenilalaninemili hastayı 42 sağlıklı kontrolle karşılaştırmış ve hastalarda düşük TAS düzeyini düşük selenyum, tokoferol ve ürik asitle ilişki olduğunu ortaya koymuştur (144). Yapılan başka bir çalışmada, diyetle uyumu iyi olan hastaların kontrol grubu ve diyetle uyumu kötü olan hastalara kıyasla daha yüksek total antioksidan seviyesinin olduğu gösterilmiştir. Bunun nedeni olarak da diyetle uyumu iyi olan hastaların düşük FA içeren diyetlerinin vejeteryan diyetle benzerliği ve yüksek antioksidan içermesi olduğunu söylemişlerdir. Diyetle uyumu kötü olan hastalardaki yüksek FA düzeyinin, serbest radikallerin temizlenmesinde rol oynayan mekanizmaları baskılaması olarak göstermişlerdir (7,8). Dahası iyi tedavi edilmiş hastalardaki yüksek plazma beta karoten ve alfa tokoferol düzeyi TAS'ın artmasına katkıda bulunmuştur (7). Sirtori ve ark. 20 FKÜ hastasında yaptığı çalışmada ise FKÜ hastalarının TAS düzeyleri kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur (135). Fenilketonüri hastalarının prognozuna göre sınıflandırılarak yapılan bir çalışmaya 7 iyi kontrollü FKÜ hastası, 7 kötü kontrollü FKÜ hastası ve sağlıklı kontrol grubu alınmıştır. Fenilketonüri hasta grupları sağlıklı kontrollere göre düşük TAS düzeyine sahipken hasta grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Hasta grupları açısından bakıldığında çalışmamız bu yönüyle literatürle benzerdir. Bu sonuç araştırmacılar tarafından, kan FA düzeyinden bağımsız olarak tedavi altındaki hastalarda oluşan reaktif türlerle karşı savunma sisteminin yetersiz

kaldığı gözlenmiştir. Bunun yanında hastalarda oluşan selenyum yetersizlikleri ve antioksidan vitamin eksiklikleri de oksidatif stresin artmasına neden olduğu vurgulanmıştır. Ayrıca kan FA ile TAS düzeyi arasında bir ilişki saptanmamıştır (5). Çalışmamıza bakıldığında, bu çalışmadaki hastalara kıyasla içeriği daha zengin aminoasit karışımları tükettiklerinden antioksidan vitamin eksiklikleri olması beklenmemiş ve kontrol grubuyla benzer sonuçlar elde edilmiştir. Schulpis ve ark. yaptığı bir çalışmada ise diyet yapmayan, kötü kontrollü FKÜ hastalarının TAS'ları, diyet tedavisine alındıktan sonraki dönem ve kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bu sonuçların, hastaların diyet yapmadıkları dönemde, besinlerden aldıkları antioksidan düzeyinin düşük olmasıyla ilişkilendirilmiştir. Bu görüş de, yazarlar tarafından hastalar diyet tedavisine uyumlu hale geldikten sonra hastaların total antioksidan seviyelerinin artmasıyla desteklenmiştir (13). Yapılan bir diğer çalışmaya 20 FKÜ hastası alınarak diyet uyumlarına göre 10 hasta iyi kontrollü (kan FA düzeyi ortalaması 6,6 mg/dl) ve 10 hasta kötü kontrollü (kan FA düzeyi ortalaması 18,2 mg/dl) olarak ayrılmıştır. Hasta gruplarının TAS'ları kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak düşüktür ve hasta grupları arasında TAS açısından fark yoktur (20). Bu çalışmanın sonucu da yukarıda benzer şekilde tartışıldığı gibi hasta grupları açısından bakıldığında çalışmamız ile uyumludur. Sanayama ve ark. (2011) yaptığı bir çalışmaya adolesan dönemde olan ve yetişkin olan toplam 42 FKÜ hastası ve 30 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Total antioksidan seviyesi açısından karşılaştırıldığında hastaların sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak daha düşük TAS'a sahip oldukları görülmüştür. Yetişkin FKÜ hastalarının beyinleri artmış olan FA düzeyine karşı daha korunaklı olsa da, diyet tedavisini bırakan yetişkinlerde yüksek FA düzeyi ile birlikte; nöropsikolojik ve psikososyal problemler gelişebilmektedir. Bundan dolayı FKÜ hastalarında diyet tedavisinin yaşam boyu devam etmesi önerilmektedir. 15 yaşın üstündeki FKÜ hastalarında oksidatif stresin artışı önlemek için kan FA düzeyi 11-13 mg/dl'nin altında tutulması gerektiği rapor edilmiştir (19). Literatürde bu konuyla ilgili karşılaşılan son çalışma Deon ve ark. (2015) tarafından yapılmıştır. Çalışmaya 10 geç tanıli FKÜ hastası alınarak idrar antioksidan düzeylerine bakılmış ve FKÜ hastalarında total antioksidan düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Araştırmacılar yüksek FA düzeyinin total antioksidan durumu etkilediğini söylemişlerdir. Çalışmamızda ise, hem erken tanıli hastalarda hem de geç tanıli hastalarda, hasta grupları ve sağlıklı kontrol grubu arasında TAS, TOS ve OSİ bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Literatürde TAS'ın bakıldığı

Çalışmaların sonuçları yukarıda anlatıldığı gibi çeşitlilik göstermektedir ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Hastaların antioksidan kapasitesini diyet tedavisi ile birlikte etkileyen en önemli faktörlerden biri olan aminoasit karışımlarının içerisindeki antioksidan vitaminler zaman içerisinde değişiklik göstermiştir. Yapılan eski çalışmalarda, hastaların almış oldukları aminoasit karışımlarının içerisinde selenyum, L-karnitin gibi antioksidanlar bulunmazken, daha sonraki dönemlerde bu aminoasit karışımlarına eklemeler yapılarak içerikleri zenginleştirilmiştir. Böylelikle içeriği zenginleştirilmiş aminoasit karışımlarını kullanan hastalarda antioksidan savunma sistemi güçlenmiş olabilir. Bu da erken dönemde tanı alan hastalarda farklı prognozları olmalarına rağmen neden TAS'ın değişmediğini açıklayabilir. Geç dönemde tanı alan hastalarda ise LNAA takviyesi alan hasta grubunda, LNAA takviyelerinde antioksidan vitamin-elementler olmamasına rağmen hasta grupları ve kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Bunun nedeni olarak da, hastaların almış oldukları diyetle doğal protein miktarı bir miktar arttırılmakta olup bu artan doğal proteinin de büyük çoğunluğunun antioksidan içeriği yüksek bitkisel kaynaklı proteinlerden gelmiş olması ile açıklanabilir. Böylelikle geç tanılı hastalar ve kontrol grubu arasında da TAS açısından fark ortadan kalkmış olmaktadır. Çalışmadaki bütün hasta grupları düşünüldüğünde, TAS-TOS ve OSI arasında bir denge söz konusudur. Bu durumda da oksidatif dengenin tamamına bakıldığında, total oksidan durumu ve total antioksidan durumu arasında bir dengeden söz edilebilir.

Fenilalanin hidroksilaz enziminin rezidüel aktivitesine bağlı olarak, alınan doğal protein (FA alımı) miktarı değişmektedir. Bu protein gereksinimi genellikle bitkisel kaynaklı proteinlerden karşılanmaktadır. Bu yönüyle diyet “aterojenik olmayan” olarak nitelendirilmiştir. Bunun nedeni; hayvansal yağlardan, kolesterolden, doymuş yağ asitlerinden fakir, liften zengin olmasıdır. Bunlar kan lipidlerinin kontrolünde iyi etkileriyle bilinmektedir. Paraoksonaz 1 (PON1) aktivitesi de kan lipidleriyle ilişkili olduğundan, FK hastalarında antiaterojenik enzim aktivitelerine bakılmıştır. Fenilketonüri hastalarında serum PON1 düzeyinin bakıldığı tek alışma Schulpis ve ark. tarafından 2007 yılında yapılmıştır (13). Rocha ve ark. FK hastalarında oksidatif stresle ilgili yapmış oldukları derlemede, gelecekte FK'de oksidatif stresin araştırıldığı çalışmalarda PON1 enziminin önemli bir belirteç olarak çalışmalarda yer alması gerektiğini ermektedir (10). Schulpis ve ark., yapmış oldukları çalışmaya FK tanısı almış fakat diyet yapmadığından kötü kontrollü seyreden 17 hasta alınmış ve 30 gün

boyunca diyet tedavisi uygulanarak eskiye göre daha iyi kontrollü, diyetle uyumlu hastalar haline getirilmiştir. Hastaların diyet yapmadıkları dönemdeki kan FA düzeyi ortalaması 29,3 mg/dl iken, 30 günlük sıkı diyet tedavisi sonunda kan FA düzeyi ortalaması 8,2 mg/dl olmuştur. Hastaların diyet yapmadıkları dönemdeki PON1 düzeyleri, diyet yaptıkları dönem ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak düşüktür. Bunun nedeni olarak da diyet tedavisinden çıkan hastaların uzun süre oksidatif strese maruz kalması olarak gösterilmiştir. Hastalar diyet yapmadıkları dönemde, hidroksil radikallere uzun süre maruz kalınca TAS düzeyleriyle beraber PON1 düzeyleri de düşmektedir. Ayrıca bu dönemde de HDL sentezinin değişmesi veya azalması sonucu da PON1 düzeyi azalmaktadır. Bu çalışmada antiaterojenik enzim aktiviteleri ile TAS düzeyinin korelasyon gösterdiği rapor edilmiştir. Hastaların diyet yapmadıkları dönemde, diyet yaptıkları döneme kıyasla diyetlerinde aldıkları doymuş yağ, kolesterol ve toplam yağ miktarının fazla, doymamış yağ asitleri ve diyet lifi alımlarının az olduğu gösterilmiştir (13). Bu araştırmada ise hem erken tanı hastalar ve kontrol grubunda, hem de geç tanı hastalar ve kontrol grubunda PON1 düzeyleri ve lipid profili parametreleri (trigiserit, total kolesterol, HDL, LDL, VLDL) açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bunun nedeni olarak da erken tanı hastalarda kan FA düzeylerine göre diyetle uyumları karşılaştırıldığında, diyetle uyumu zayıf olan kötü kontrollü hastaların diyet tedavisinden tamamen çıkmadıkları görülmüştür. Düzenli olarak sorgulanan besin tüketim durumlarında, hayvansal kaynaklı besinlerin alımının artmadığı dolayısıyla aterosklerotik diyetle yatkınlık olmadığı görülmüştür. Bu hastalarda daha çok FA düzeyi fazla olan nişastalı besinlerin ve tahılların tüketiminin arttığı, bundan dolayı kan FA düzeylerinin yükseldiği fark edilmiştir. Ayrıca PON1 düzeyi değişmediği gibi TAS'ın da değişmediği sonucu, literatürdeki gibi antiaterojenik enzimlerle TAS düzeyinin korelasyonunu göstererek bu durumu desteklemektedir. Geç dönemde tanı alan hastalarda kullandıkları aminoasit takviyelerine göre kıyaslama yapıldığında, hastalar ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir. Hastalar FA kısıtlı diyet tedavisine devam ederken bir grup aminoasit karışımı kullanırken diğer grup LNAA takviyesi almaktadır. LNAA takviyesi alan hastalarda diyetle alınan FA miktarında bir miktar artışa izin verilse de, bu artışın büyük çoğunlukla hayvansal kaynaklı proteinlerden değil bitkisel kaynaklı proteinlerden gelmesidir. Böylelikle PON1 düzeylerine bakılan bütün FKÜ hasta grupları düşünüldüğünde, eğer hastaların diyetlerinde hayvansal kaynaklı proteinlerin alımı değişmiyorsa PON1 düzeylerinde de değişiminin beklenmediği düşünülebilir.

FKÜ hastalarındaki PON1 düzeylerinin değişmesini asıl belirleyen durumun kan FA düzeyleri veya almış oldukları farklı aminoasit takviyeleri değil, hastaların almış oldukları diyetin içeriğindeki değişiklikten kaynaklandığı söylenebilir.

Literatürde, FKÜ hastalarında L-karnitin'in bakıldığı birçok çalışma mevcuttur. L-karnitin'in antiperoksidatif, reaktif oksijen türlerinden koruyucu, nitrik oksit ve hücre solunumu düzenleyici ve oksidatif hasara karşı koruyucu enzim aktiviteleri mevcuttur (20). Hastaların diyetlerinde L-karnitin'i yüksek oranda içeren hayvansal proteinlerin bulunmaması, hastalarda yetersizliklere yol açtığı görüşü vardır (10). Geçmiş yıllarda yapılan çalışmalarda hastalarda (hastalar karnitin takviyesi almamaktadır) karnitin'in diyetle yetersiz alımına bağlı olarak karnitin eksikliği görülmüştür (159,160). Fischer ve ark. 2000 yılında sıçanlarda ve insanlarda bir çalışma yapmıştır. Sıçanlarda, FA metaboliti olan fenilasetik asit verildiğinde karnitin biyosentezinin baskılandığı görülmüştür. Fenilasetik asit, karnitin biyosentezinde karaciğerde ko-enzim olarak görev yapan α -ketoglutarik asit sentezini azaltmaktadır. Çalışmaya aldığı FKÜ hastaları diyet yapmayan ve diyet yapan hastalar olmak üzere ayırmıştır. Diyet yapmayan hastalarda serum karnitin düzeyini sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulmuştur. Araştırmacıların cevap aradığı soru şudur; bu hastalar FA kısıtlaması yapmaksızın beslenip, normal ekzojen karnitin almalarına rağmen neden düşük karnitin düzeyi gözlenmiştir. Bunun nedeni olarak da sıçanlarda yaptıkları çalışmada, fenilasetik asitin karnitin biyosentezini baskıladığı yönündeki bulgusudur (21). 30 FKÜ hastasının alındığı bir çalışmaya, hastalar kullanmış oldukları aminoasit karışımlarında karnitin içeren ve içermeyen olmak üzere ayrılmıştır. Hastalar arasında serbest karnitin açısından anlamlı fark gözlenmezken (almış oldukları aminoasit karışımları karnitin içersin veya içermesin), hastaların serbest karnitin düzeyleri kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düşüktür. Araştırmacılar hastaların almış oldukları aminoasit karışımlarının değil, FA'den kısıtlı diyet tedavisinin etkileri nedeniyle normal karnitin düzeyine sahip olmadıkları yorumunu yapmışlardır (161). Gebelik dönemindeki FKÜ hastalarında olduğu gibi ihtiyacın artmış olduğu durumlarda L-karnitin takviyesinin yapılabileceğini söylemişlerdir (161). Bu çalışmanın sonuçlarından farklı olarak, almış oldukları aminoasit karışımlarında L-karnitin ve selenyum bulunmayan 18 FKÜ hastası 6 ay boyunca L-karnitin ve selenyum içeren aminoasit karışımı kullanmışlardır. Hastalara L-karnitin takviyesi yapılmadan önce L-karnitin düzeyi kontrol grubuna kıyasla düşük iken, takviyeden sonra L-karnitin düzeyleri açısından kontrol grubuyla

arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir. L-karnitin takviyesi ile birlikte lipid oksidatif hasar göstergesi olan TBARS (Tiyobarbitürik asit reaktif ürünleri) düzeyi arasında negatif korelasyon görülmektedir (12). Sitta ve ark. (2009) yaptığı bir çalışmaya 20 FKÜ hastası alınarak diyet uyumlarına göre 10 hasta iyi kontrollü ve 10 hasta kötü kontrollü olarak ayrılmıştır. Hastaların almış oldukları aminoasit karışımları L-karnitin içermemektedir. Çalışma sonunda, diyet uyumu iyi olan-sıkı diyet tedavisi alan hastalarda serum L-karnitin düzeyi diyet uyumsuz hastalara ve sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Aynı zamanda diyet uyumlu hastalarda L-karnitin düzeyi ile TAS arasında pozitif korelasyon vardır. Bunun nedeni olarak da sıkı diyet tedavisi ile birlikte L-karnitin'in alımının azalması gösterilmiştir (20). Bütün çalışmalar değerlendirildiğinde, yapılan literatür taraması sonucunda L-karnitin düzeyleri açısından farklı sonuçlar elde edilmiştir. Araştırmacıların bazıları düşük L-karnitin düzeyini yüksek kan FA seviyesi ile ilişkilendirirken (21), bazıları da L-karnitin'in ekzojen alımındaki farklılığa bağlı olarak kan L-karnitin düzeyinin etkilendiğini söylemişlerdir (20). Deon ve ark. 2015 yılında yaptığı bir *in vitro* çalışmada, çalışmaya alınan 8 klasik FKÜ hastası FA'den kısıtlı diyet tedavisi ile birlikte L-karnitin içeren aminoasit karışımı kullanmaktadır. Hastaların ve kontrol grubunun kan L-karnitin düzeylerine bakıldığında anlamlı bir fark görülmemiştir. Hastalardan alınan beyaz kan hücreleri farklı düzeylerde FA ve L-karnitin'e maruz bırakılmıştır. Hücreler FA'ya maruz bırakıldığında sağlıklı kontrollere kıyasla DNA hasar indeksleri anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Daha sonra L-karnitin farklı düzeylerde eklenmiştir. Bunun sonucu olarak da ne kadar fazla L-karnitin eklenirse DNA hasar indeksinin o kadar az olduğu görülmüştür (162). Bu araştırmada, gruplar arasında ortaya çıkan farklı sonuçların nedenlerinden birisi, hasta gruplarının FA'e farklı düzeylerde maruz kalması iken bir diğer nedeni ise yapılan eski çalışmalarda L-karnitin içermeyen aminoasit karışımlarının kullanılması olup şimdi kullanmakta olduğumuz aminoasit karışımlarının L-karnitin içermesi olarak gösterilebilir. Çalışmamızda, erken tanıli hasta gruplarında diyet uyumu iyi olup kan FA düzeyleri iyi giden hastaların L-karnitin düzeyleri kötü kontrollü hastalara göre anlamlı olarak yüksektir ve iyi kontrollü hastalarla kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Kötü kontrollü hastaların L-karnitin düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktür. Bunun nedeni olarak da Fischer ve ark. çalışmasında belirtmiş olduğu gibi; yüksek FA düzeyi sonucu oluşan metabolitlerin L-karnitin sentezini baskılaması sonucu düzeylerinin değişmiş olabileceği yorumu yapılabilir. Geç dönemde tanı alan hastalarda

L-karnitin düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. LNAA takviyelerinde L-karnitin bulunmamasına rağmen, L-karnitin yetersizliği gözlenmemesinin nedeni olarak da LNAA takviyesi alan hastalarda kan ve beyindeki FA düzeyinin azalması sonucu L-karnitin sentezini baskılamamış olması olarak gösterilebilir. Bu durumun bir diğer nedeni de, lizin ve metiyonin aminoasitleri olabilir. Şöyle ki; LNAA takviyeleri alan hastalarda LAT1 aracılığı ile hastaların beyinlerine yüksek oranda büyük nötral aminoasitlerden olan lizin ve metiyoninin geçişi olduğu bilinmektedir. L-karnitin sentezi için gerekli olan lizin ve metiyonin LNAA takviyeleri alan hastalarda yüksek oranda bulunması olarak gösterilebilir. L-karnitin'in en fazla beyin, karaciğer ve böbrekte sentezlendiği de göz önüne alındığında, şu etki mekanizması ile beyin oksidatif hasarlara karşı daha iyi savunma yapabilir ve beynin enerji metabolizması daha iyi düzenlenir hale gelebilir. Hastalar eğer yüksek kan FA düzeyi ile seyreden bir prognoz gösteriyorsa, L-karnitin yetersizlikleri bakımından yakından takip edilmelidir. Sonuç olarak L-karnitin, hastalarda adjuvan tedavi olarak kullanılabilir.

Glutasyon peroksidaz (GSHPx), hücreleri reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerinden koruyarak antioksidan olarak görev alır. Selenyum GSHPx'in kofaktörüdür (9). Çalışmamızda GSHPx düzeyine eritrositlerden bakılmıştır. Çalışmamızda eritrosit kullanmamızın nedeni, GSHPx buradaki hücrelerde üretilir ve bu hücrelerin membran yapılarındaki yüksek oranda olan çoklu doymamış yağ asitleri, demir ve oksijen içeriklerinden dolayı oksidatif strese daha duyarlı hale gelmiş olurlar (163). Dahası selenyumun eritrositteki GSHPx'e bağlanması, serumdaki GSHPx'e bağlanmasından daha fazladır (164). Fenilketonüri ve hiperfenilalaninemi hastalarının alındığı bir çalışmada, hasta gruplarının Se düzeyi sağlıklı kontrol grubundan düşük bulunurken, FKÜ hastaları HFA hastalarına göre daha düşük Se seviyesine sahiptir. FKÜ hastalarının GSHPx düzeyi, HFA hastalarından ve kontrol grubundan daha düşük olduğu bildirilmiştir. Bunun nedeni olarak glutasyon peroksidazın kofaktörü olan selenyumun diyetle düşük miktarda alınması olduğu söylenmiştir (144). Kienzle ve ark. sıçanlarda yaptığı çalışmada, akut ve kronik olarak FA'ya maruz bırakılan sıçanların beyin dokularında düşük GSHPx düzeyi olduğu saptanmıştır (11). Yapılan bir diğer çalışmada, almış oldukları aminoasit karışımlarında L-karnitin ve selenyum bulunmayan 18 FKÜ hastası 6 ay boyunca L-karnitin ve selenyum içeren aminoasit karışımı kullanmışlardır. Hastalara Se takviyesi yapılmadan önce Se ve GSHPx düzeyi kontrol grubuna kıyasla düşük iken, takviyeden sonra Se ve GSHPx düzeyleri açısından

kontrol grubuyla arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir. Se ile GSHPx düzeyi arasında pozitif korelasyon olduğu rapor edilmiştir. Araştırmacılar GSHPx düzeyindeki düşüklüğün nedenini diyetle yetersiz Se alımına bağlamışlardır (12). Bu sonuçlar FKÜ hastalarının kullandığı FA içermeyen aminoasit karışımlarına selenyum, vitamin mineral ve oligoelementlerin eklenmesine neden olmuştur. Fakat düşük eritrosit GSHPx düzeyleri selenyum eklenmiş aminoasit karışımları ile düzelmemiştir (10). Bu görüşü destekleyen bir çalışmaya 42 FKÜ hastası, 28 hafif-HFA hastası dahil edilerek eritrosit GSHPx ve serum selenyum (Se) düzeylerine bakılmıştır. Hastaların hepsi Se içeren aminoasit karışımları kullanmaktadır. Her iki hasta grubunda da eritrosit GSHPx düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre düşük bulunurken hasta grupları arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Hastalar ve sağlıklı kontrol grubu arasında serum Se seviyesi bakımından da anlamlı fark yoktur. Buna rağmen GSHPx düzeyinin düşük bulunmasının nedeni olarak; yüksek FA'nın GSHPx'i baskılaması, düzeyi normal olsa da Se biyoyararlılığının azalmış olması gibi durumlar gösterilmiştir. Ayrıca eritrosit membranında yüksek FA nötral aminoasit olan metiyoninin ile L-taşıyıcı sistem vasıtasıyla yarışa girerek, metiyonin miktarının azalmasına neden olmaktadır. Bunun sonucu olarak da, eritrositlerde azalmış olan metiyonin, GSHPx sentezi için gerekli olan selenosisteinin sentezini doğrudan etkileyerek GSHPx düzeyinin azalmasına yol açmaktadır. GSHPx aktivitesi selenyumun yanında bozulmuş aminoasit profili gibi başka faktörlerden de etkilenmektedir (18). Sierra ve ark., düşük GSHPx aktivitesi olan FKÜ hastalarında nörolojik bozuklukların daha sık görüldüğünü söylese de Artuch ve ark., bunun eritrosit GSHPx düzeyinden bağımsız olduğunu söylemektedir (18,152). Eritrosit GSHPx seviyesinin FKÜ hastalarında kontrol grubuna göre benzer olduğu çalışmalarda mevcuttur (14). İlginç bir şekilde FKÜ hastalarının tanı aldıkları zamanki eritrosit GSHPx düzeyleri de kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur (135). Daha diyet tedavisine başlanmadan gözlenen bu düşüklük başta selenyum olmak üzere besinsel eksikliklerden çok enzimin kendisiyle ilgilidir (82,165). Sitta ve ark. 2006 yılında yaptığı bir çalışmaya 7 iyi kontrollü FKÜ hastası, 7 kötü kontrollü FKÜ hastası ve sağlıklı kontrol grubu alınarak, kan FA düzeyinin oksidatif strese olan etkisi araştırılmak istenmiştir. Fenilketonürlü hasta gruplarında GSHPx düzeyi benzerken, kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktür. Bu sonuç araştırmacılar tarafından, kan FA düzeyinden bağımsız olarak tedavi altındaki hastalarda oluşan reaktif türlere karşı savunma sisteminin yetersiz kaldığı yönünde yorumlanmıştır. Ayrıca kan FA ile GSHPx düzeyi arasında bir ilişki saptanmamıştır. Eritrosit GSHPx düzeyinin plazma FA

düzeyinden bağımsız olduğunu rapor etmişlerdir (5). Daha sonraki çalışmalar ise erken veya geç tanı almaktan bağımsız olarak diyetle uyumun kötü olduğu hastaların düşük eritrosit GSHPx aktiviteleri olduğunu göstermiştir (133). Yakın geçmişte yapılan çalışmaya; 42 FKÜ hastası ve 30 sağlıklı kontrolü çalışmaya dahil edilmiştir. Hastaların serum Se düzeyleri normal olmasına rağmen, GSHPx düzeyi açısından karşılaştırıldığında hastaların sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak daha düşük GSHPx'e sahip oldukları görülmüştür. Serum FA düzeyleri ile GSHPx seviyeleri arasında negatif korelasyon olduğu görülmüştür. Bunun sonucu olarak da başlı başına FA'in enzim aktivitesini inhibe ettiği görüşü vardır. GSHPx beyinde yüksek oranda üretilir ve beyinin antioksidan savunma sisteminde önemli rol oynar. Bundan dolayı FKÜ hastalarında azalan GSHPx düzeyinin nöropsikiyatrik sorunlara yol açacağı bildirilmiştir (19). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, düzenli egzersizin beyin GSHPx düzeyini azalttığı sonucuna varılmıştır. Düzenli egzersizin, oluşan reaktif türlerin detoksifikasyon kapasitesini arttırdığı görüşü vardır. Fiziksel aktivite, antioksidan sistemi düzenlemede alternatif bir strateji olabilir (166). Literatürdeki çalışmalar yorumlandığında çelişkili sonuçların ortaya çıktığı görülmektedir. Bunun nedeni olarak da dönem dönem kullanılan aminoasit karışımlarındaki içerik farklılıkları (Se), hasta grupları arasındaki farklılıklar neden olarak gösterilebilir. Çalışmamızda erken dönemde tanı alan hastaların tamamı Se içeren aminoasit karışımları kullanmaktaydı. Erken dönemde tanı alan hastalara bakıldığında iyi kontrollü ve kötü kontrollü hastalar arasında GSHPx düzeyleri açısından anlamlı bir fark gözlenmezken, kötü kontrollü hastalarda sağlıklı kontrollere göre GSHPx düzeylerinin düşmüş olduğu görülmüştür. Hasta grupları arasında fark olmaması literatür ile uyumludur (5). Kötü kontrollü hastaların GSHPx düzeylerinin kontrol grubuna göre düşük olması ise literatürdeki birçok çalışmada açıklandığı gibi, FA'ya yüksek düzeyde maruz kalma sonucu oluşmuş olabilir (18,133,135). Sonuç olarak, çalışmamızda erken tanıli bütün hastalar Se içeren aminoasit karışımları kullandığından selenyumdan bağımsız olmak olarak bakıldığında hastalar iyi kontrollü oldukları sürece GSHPx düzeyleri açısından kontrol grubuyla aralarından fark gözlenmemesi, FA'ya maruziyetin az olduğu durumda GSHPx'in baskılanmayacağı ve bu bakımdan oksidatif strese karşı antioksidan savunmanın artacağı yorumu yapılabilir. FA'ya fazla düzeyde maruz kalan kötü kontrollü hastalar ise kontrol grubuna göre daha düşük GSHPx düzeyine sahip olmakta ve oksidatif strese yatkınlık artmaktadır. Hastaların FA düzeyleri azalıp sağlıklı kontrol grubuna yaklaştıkça beyinde fazla bulunan ve antioksidan olarak görev yapan GSHPx

düzeylerinin değişmeyip nöropsikiyatrik sorunlara yatkınlığın azalabileceği yorumu yapılabilir. Geç dönemde tanı alan hastaların durumuna bakıldığında; aminoasit karışımı kullanan hastalar bu karışımlardan Se alırken, LNAA takviyesi alan hastalar Se almamaktadır. LNAA takviyesi alan hastalar sağlıklı kontrol grubuna göre daha düşük GSHPx düzeyine sahiptir. Diyetle yetersiz Se alınması bunun nedeni olarak gösterilebilir. Bu hastalara ilerleyen dönemlerde Se takviyesi yapılarak veya LNAA takviyesi ile birlikte aminoasit karışımları kullanılarak bazı yetersizlikler giderilip hastalarda daha ayrıntılı çalışmalar yapılabilir. Böylelikle GSHPx düzeyleri açısından kontrol grubu ile arasında oluşan farkın nedenleri daha net sonuçlarla ortaya koyulabilir. Aminoasit karışımları kullanan hastalar ile kontrol grubu arasında da anlamlı fark gözlenmemiştir. Bu hastalar almış oldukları Se sayesinde artmış olan reaktif türlerle karşı glutatyon peroksidazla yeterli antioksidan yanıtı vermiş olabilir. Fakat bütün bu sonuçlara bakıldığında, hasta grupları kontrol grubuyla değerlendirildiğinde farklı sonuçlar ortaya çıkmış olsa da; hasta grupları kendi aralarında değerlendirildiği zaman aralarında fark gözlenmemektedir. Bunun nedeni olarak da hasta gruplarının artmış olan FA düzeylerinin hastaları birbirine yaklaştırdığı neden olarak gösterilebilir.

Bir antioksidan olan koenzim Q10 (Q10) kanda ve dokularda lipit peroksidasyonunu önleyen lipofilik antioksidandır. Tokoperoksiksite tokoferole dönüştürerek lipit peroksil maddelerin formasyonunu sağlar. Aynı zamanda, Q10'un mitokondriyal elektron taşıma zincirinde elektron taşıma görevi vardır. Eksikliği respiratuar zincirin fonksiyon yetersizliği ile ilgili olup bu da oksidatif stres riskini arttırmaktadır (14,15). FKÜ hastalarında elektron taşıma zincirinde yeterli Q10 bulunmadığı bildirilmiştir, yani Q10 düzeyinde küçük bir azalma bile ATP sentezinin bozulmasına ve birçok disfonksiyona neden olabilir. Q10'un elektron taşıma ve antioksidan sistemdeki görevlerinden dolayı, Q10 düzeyinin düşmesi beyindeki enerji metabolizmasının bozulması ve aynı zamanda hücrelerdeki antioksidan kapasitenin azalması ile hastalıkların fizyopatolojisine katkıda bulunur (15,16). Aynı zamanda FKÜ hastalarının kısıtlı diyet tedavilerinden dolayı hastaların kanlarında düşük B6 vitamin düzeyi olduğu görülmüştür (167). B6 vitamininin aktif formu olan pridoksal 5-fosfat, tirozinden Q10 biyosentezi için gereklidir. Yapılan çalışmalarda kan Q10 düzeyi ile B6 vitamininin güçlü bir ilişkisi olduğu görülmüştür. Ayrıca, FKÜ hastalarında yüksek FA düzeyi ile birlikte tirozinde dahil olmak üzere LNAA'ların kan beyin bariyerinden ve diğer nörolojik hücre membranlarından geçişi bozulmaktadır. Bu yüzden beyin hücrelerindeki tirozin

seviyesinden dolayı Q10 biyosentezi azalmaktadır. Bu durum daha tam olarak araştırılmamıştır. LNAA takviyesi ile hastalardaki tirozin düzeyinin düzelebildiği de bilinmektedir (15). Yapılan birçok çalışmada, Q10 fenilketonürlü hastaların serumlarında düşük bulunmuştur (14,19,152,168). Hastaların diyetlerinde Q10 kaynaklarından zengin beyaz et, kırmızı et, soya ve cevizin bulunmayışı serum Q10 düzeyinin düşmesine neden olabilir. Bunun yanında yüksek FA, 3-hidroksi-3-metil-glutaril-KoA redüktazın (HMG KoA redüktaz) (kolesterol sentezi) ve mevalonat 5-pirifosfatın azalmasına yol açarak Q10 biyosentezinin azalmasına neden olur (15,18,169). Yapılan çalışmalar daha ayrıntılı incelendiğinde şu sonuçlar bulunmuştur. Artuch ve ark. 30 FKÜ hastasında yaptığı çalışmada hastaların Q10 düzeyini sağlıklı kontrollerden düşük bulmuştur. FKÜ hastalarında yüksek plazma FA konsantrasyonlarının düşük Q10 seviyeleri ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (17). Q10 düzeyi hem FKÜ hastalarında hem de kontrol grubunda yaşla birlikte azalmıştır (168). FKÜ hastalarında plazma kolesterol düzeyleri kontrol grubuna kıyasla daha düşük olduğu (168) ve aynı zamanda hastalar ve kontrol grubunda serum Q10 ve kolesterol düzeylerinin pozitif korelasyon gösterdiği bulunmuştur (17,168). Buna neden olan temel faktör olarak da artmış olan FA düzeyi sorumlu tutulmuştur (17). Yapılan uzun süreli bir çalışmaya erken dönemde tanı alan 46 FKÜ hastası alınarak 3 yıl boyunca takip edilmiştir. Takibe alınana hastalar kan FA düzeyleri ortalamasına göre iyi kontrollü ve kötü kontrollü olarak ayrılmıştır. Hastaların Q10 düzeyleri kontrol grubundan düşüken, ilerleyen yaşla birlikte Q10 düzeyinin azaldığı görülmüştür. Buna neden olarak da hem diyet tedavisinde yetersiz Q10 alımı, hem de Q10 biyosentezinin artmış olan FA ile baskılanması gösterilmiştir (152). Kyprianou ve ark. tarafından 2009 yılında yapılan bir çalışmaya (yaşları 20-49) tremoru olan 17 FKÜ hastası ve tremoru olmayan 22 FKÜ hastası dahil edilmiştir. FA'nın mitokondriyal solunum zinciri üzerindeki toksik etkisini ortaya koymak için bir araştırma planlanarak ortalama ve anlık FA ve mononükleer hücre Q10 düzeyleri incelenmiştir. Ayrıca astrositom hücre kültürüne FA eklenerek hücre kültüründe kompleks I ve sitrat sentetaz aktiviteleri ve Q10 düzeyleri ölçülmüştür. Tremoru olan veya olmayan hastalar karşılaştırıldığında FA ve Q10 düzeylerinde herhangi bir fark bulunamamıştır. Hücre kültürüne eklenen FA'nın kompleks I aktivitesi ve Q10 biyosentezinde belirgin bir düşüklüğe neden olmadığı gözlenmiştir. Daha önceki çalışmalardan farklı olarak, Q10 düzeylerinin normal bulunmuş olması hastaların erişkin yaş grubunda olmasıyla ilişkilendirilmiş ve önceki çalışmalarda Q10 düzeylerinin düşük bulunmuş olmasının artmış oksidatif strese bağlı

olabileceği bildirilmiştir. Campistol ve ark. yaptığı çalışmada ise, tremoru olan FKÜ hastalarında Q10 düzeyi daha düşük bulunmuş ve iki hastaya uygulanan Q10 tedavisi ile tremorda düzelmeler olmuştur (16). Buna karşın son yapılan çalışmalar bize FKÜ hastalarının kan FA'dan bağımsız olarak düşük Q10 düzeylerine daha yatkın olduğunu göstermiştir (19). Hastaların prognozuna göre sınıflandırılarak Q10 düzeyine bakılan çalışmaya rastlanmamıştır. Erken tanılı hastaları tek tek gruplar halinde incelediğimizde; kötü kontrollü olanlarda Q10 düzeyi kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur ve yüksek FA düzeyine sahip olduklarından bu sonuç literatürde FA'nin Q10 üzerindeki etkisi ile yapılan yorumlarla uyumludur (14,19,152,168). Bu durumun nedeni olarak hastaların maruz kalmış oldukları yüksek FA'nin Q10 biyosentezini baskılayarak sağlıklı kontrollere göre düzeyinin azalmasına neden olduğu söylenebilir. İyi kontrollü hastalarda ise Q10 düzeyinin kontrol grubuna göre farklı olmadığı görülmüştür. Buradan yola çıkarak, hastaların kan FA düzeyleri istenen sınırlarda olduğu sürece sağlıklı kontrollerden Q10 düzeyi açısından bir düşüklük gözlenmeyeceği düşünülmüştür. Böylelikle iyi kontrollü hastaların antioksidan seviyeleri, ATP sentezleri gibi durumların sağlıklı bireylere yaklaştığı görülmüştür. Geç dönemde tanı alan hastalarda ise kullanılan aminoasit takviyelerinin Q10 üzerine etkisine bakılmıştır. Literatürde daha önce belirtildiği gibi (15), hastalarda yetersiz tirozin alımından dolayı Q10 biyosentezi azalmakta ve beyin hücrelerinin enerji metabolizması bozulmaktadır. LNAA takviyesi alan hastalarda Q10 düzeyi ilk defa araştırılmış ve tahmin edileceği üzere, Q10 sentezinde direkt etkisi olan tirozinin yüksek oranda alınmasına bağlı Q10 seviyesi artmış ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı fark olmadığı görülmüştür. Ayrıca LNAA takviyesinin içerisinde yüksek oranda B6 vitamini olması, bu sayede aminoasit karışımları kullanan hastalara kıyasla B6 vitamini alımlarının daha yüksek olması da hastalardaki Q10 düzeyinin artışına katkıda bulunmuş olabilir. Bu bulgular ışığında bakıldığında, hastalar geç dönemde tanı alıp veya diyetle uyumsuzlukları olup beyin hasarları, miyelinizasyon bozuklukları olsa bile beyindeki enerji metabolizması LNAA takviyesi sayesinde, tirozin aminoasitinin Q10 sentezi üzerindeki etkisinden dolayı bozulmayarak sağlıklı kontrollerle benzer olduğu görülmüştür. Beyin, hücre membranları ve miyelinler yüksek lipid içeriğinden dolayı oksidatif strese daha fazla yatkındırlar (10). Aynı zamanda Q10'un antioksidan etkisi de düşünüldüğünde, beyin, hücre membranları ve miyelinler FA ve metabolitlerinin toksik etkilerinden korunmuş olacaktır. Bu da hastalardaki nörofizyolojik bozulmaların azalmasına katkı sağlayabilir. Geç dönemde tanı alıp aminoasit karışımları kullanan

hastalarda ise Q10 düzeyi hem LNAA takviyesi alan hastalardan, hem de kontrol grubundan düşüktür. Hastaların maruz kalmış oldukları yüksek FA düzeyinin yanında düşük tirozin alımları da bu duruma neden olmuş olabilir. Q10'un antioksidan rolü ve enerji metabolizmasındaki rolü göz önünde bulundurulduğunda, eksikliğin FKÜ'lü hastalarda uygun tedaviye karşın bildirilmiş bozuklukların nedeni olduğu düşünülebilir. Bundan dolayı uygun hastalara gerekli Q10 desteğinin verilmesi, tedavi şekillerinin değiştirilerek gerekli durumlarda LNAA takviyeleri kullanması hastalığın tedavisine yardımcı olabileceği düşünülebilir. Bu konuda ileri araştırmalara gereksinim bulunmaktadır.

Çalışma sonucuna bakıldığında, hastalar klasik FKÜ tanısı ile izlenmekte olsa da her hastanın ihtiyaçlarının farklı olduğu görülmektedir. Şöyle ki, hastalar erken dönemde tanı almış olsa bile çeşitli nedenlerden dolayı diyetle uyumsuzluk meydana gelmekte ve kan FA düzeylerini farklı seyretmektedir. Hastaların klinik durumları da farklı olmaktadır. Böylelikle hastalarda tek tek bakılan oksidatif stres parametrelerinde çeşitli sonuçlar ortaya çıkmaktadır. Geç dönemde tanı alan hastalara bakıldığında ise, farklı aminoasit takviyeleri aldıklarında oksidatif stres parametreleri farklı mekanizmalarla etkilenmekte ve farklı sonuçlar ortaya çıkmaktadır. Takip edilen her hastanın tanısı aynı olsa da bu hastalar tanı zamanları, besin tüketim durumları, almış oldukları farklı tedaviler, kan FA düzeyleri, vitamin- mineral eksiklikleri gibi hastalığı etkileyebilecek birçok faktör açısından tek tek değerlendirilmelidir. Ayrıca ülkemizde kullanılmakta olan aminoasit karışımlarının içerikleri (kalsiyum, dokozaheksaenoik asit-eikosapentaenoik asit, D vitamini vb.) zaman zaman yurtdışındaki eşdeğerlerinde farklı olmaktadır. Bunu da göz önüne alarak hastaların ihtiyaçları daha dikkatli analiz edilerek eksiklikler ortadan kaldırılmalıdır. Bütün değerlendirmeler sonucunda, her hastanın farklı ihtiyaçları olduğu göz önüne alınarak hastaları birçok açıdan etkilediği düşünülen oksidatif strese yanıt olarak hastaya özgü adjuvan antioksidan tedaviler uygulanmalıdır.

6. KAYNAKLAR

1. Scriver C, Kaufman S. Hyperphenylalaninemia: phenylalanine hydroxylase deficiency. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 2001. p. 1667–724.
2. Vockley J, Andersson HC, Antshel KM, Braverman NE, Burton BK, Frazier DM, et al. Phenylalanine hydroxylase deficiency: diagnosis and management guideline. *Genet Med*. 2014;16(2):188–200.
3. Deon M, Sitta A, Faverzani JL, Guerreiro GB, Donida B, Marchetti DP, et al. Urinary biomarkers of oxidative stress and plasmatic inflammatory profile in phenylketonuric treated patients. *Int J Dev Neurosci. International Society for Developmental Neuroscience*; 2015;47:259–65.
4. Van Spronsen FJ, De Groot MJ, Hoeksma M, Reijngoud DJ, Van Rijn M. Large neutral amino acids in the treatment of PKU: From theory to practice. *J Inherit Metab Dis*. 2010;33:671–6.
5. Sitta a., Barschak a. G, Deon M, Terroso T, Pires R, Giugliani R, et al. Investigation of oxidative stress parameters in treated phenylketonuric patients. *Metab Brain Dis*. 2006;21:287–96.
6. Ribas GS, Sitta A, Wajner M, Vargas CR. Oxidative stress in phenylketonuria: What is the evidence? *Cell Mol Neurobiol*. 2011;31:653–62.
7. Schulpis KH, Tsakiris S, Karikas G a, Moukas M, Behrakis P. Effect of diet on plasma total antioxidant status in phenylketonuric patients. *Eur J Clin Nutr*. 2003;57(2):383–7.
8. Schulpis KH, Tsakiris S, Traeger-Synodinos J, Papassotiriou I. Low total antioxidant status is implicated with high 8-hydroxy-2-deoxyguanosine serum concentrations in phenylketonuria. *Clin Biochem*. 2005;38(3):239–42.
9. Van Bakel MME, Printzen G, Wermuth B, Wiesmann UN. Antioxidant and thyroid hormone status in selenium-deficient phenylketonuric and hyperphenylalaninemic patients. *Am J Clin Nutr*. 2000;72(4):976–81.

10. Rocha JC, Martins MJ. Oxidative stress in Phenylketonuria: Future directions. *J Inherit Metab Dis.* 2012;35:381–98.
11. Kienzle Hagen ME, Pederzolli CD, Sgaravatti AM, Bridi R, Wajner M, Wannmacher CMD, et al. Experimental hyperphenylalaninemia provokes oxidative stress in rat brain. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis.* 2002;1586:344–52.
12. Sitta a., Vanzin CS, Biancini GB, Manfredini V, De Oliveira a. B, Wayhs C a Y, et al. Evidence that l-carnitine and selenium supplementation reduces oxidative stress in phenylketonuric patients. *Cell Mol Neurobiol.* 2011;31:429–36.
13. Schulpis KH, Bartzeliotou a, Tsakiris S, Gounaris a, Papassotiriou I. Serum paraoxonase/arylesterase activities in phenylketonuric patients on diet. *Eur J Clin Nutr.* 2007;61:803–8.
14. Colome C, Artuch R, Vilaseca M, Sierra C, Brandi N, Lambruschini N, et al. Lipophilic antioxidants in patients with phenylketonuria. *Am J Clin Nutr.* 2003;77(1):185–8.
15. Hargreaves IP. Coenzyme Q10 in phenylketonuria and mevalonic aciduria. *Mitochondrion.* 2007;7:175–80.
16. Kyprianou N, Murphy E, Lee P, Hargreaves I. Assessment of mitochondrial respiratory chain function in hyperphenylalaninaemia. *J Inherit Metab Dis.* 2009;32:289–96.
17. Artuch R, Colomé C, Vilaseca M a, Sierra C, Cambra FJ, Lambruschini N, et al. Plasma phenylalanine is associated with decreased serum ubiquinone-10 concentrations in phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis.* 2001;24(3):359–66.
18. Sierra C, Vilaseca MA, Moyano D, Brandi N, Campistol J, Lambruschini N, et al. Antioxidant status in hyperphenylalaninemia. *Clin Chim Acta.* 1998;276:1–9.

19. Sanayama Y, Nagasaka H, Takayanagi M, Ohura T, Sakamoto O, Ito T, et al. Experimental evidence that phenylalanine is strongly associated to oxidative stress in adolescents and adults with phenylketonuria. *Mol Genet Metab. Elsevier Inc.*; 2011;103(3):220–5.
20. Sitta A, Barschak AG, Deon M, De Mari JF, Barden AT, Vanzin CS, et al. L-carnitine blood levels and oxidative stress in treated phenylketonuric patients. *Cell Mol Neurobiol.* 2009;29:211–8.
21. Fischer GM, Nemeti B, Farkas V, Debreceni B, Laszlo A, Schaffer Z, et al. Metabolism of carnitine in phenylacetic acid-treated rats and in patients with phenylketonuria. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis.* 2000;1501:200–10.
22. Werner ER, Blau N, Thöny B. Tetrahydrobiopterin: biochemistry and pathophysiology. *Biochem J.* 2011;438(3):397–414.
23. Giovannini M, Verduci E, Salvatici E, Fiori L, Riva E. Phenylketonuria: Dietary and therapeutic challenges. *J Inherit Metab Dis.* 2007;30(2):145–52.
24. Amino Asit Metabolizması ve Bozuklukları - Turgay Coşkun | Nadir Kitap.
25. Blau N, van Spronsen FJ, Levy HL. Phenylketonuria. *Lancet.* 2010;376(9750):1417–27.
26. Scriver CR, Gregory DM, Sovetts D, Tissenbaum G. Normal plasma free amino acid values in adults: the influence of some common physiological variables. *Metabolism.* 1985;34(9):868–73.
27. Gregory DM, Sovetts D, Clow CL, Scriver CR. Plasma free amino acid values in normal children and adolescents. *Metabolism.* 1986;35(10):967–9.
28. Loeber JG. Neonatal screening in Europe; the situation in 2004. *Journal of Inherited Metabolic Disease.* 2007. p. 430–8.
29. Institutes N, Consensus H, Panel D. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: phenylketonuria: screening and management, October 16-18, 2000. *Pediatrics.* 2001;108(4):972–82.
30. Özalp I, Coşkun T, Tokatli A, Kalkanoğlu HS, Dursun A, Tokol S, et al.

- Newborn PKU screening in Turkey: At present and organization for future. *Turk J Pediatr.* 2001;43(2):97–101.
31. Hendriksz CJ, Walter JH. Update on phenylketonuria. *Current Paediatrics.* 2004. p. 400–6.
 32. Fenilketonüri. <http://www.hakanbuzoglu.com/fenilketonuri/>
 33. Hanley WB. Adult phenylketonuria. *American Journal of Medicine.* 2004. p. 590–5.
 34. Camp KM, Parisi M a., Acosta PB, Berry GT, Bilder D a., Blau N, et al. Phenylketonuria scientific review conference: State of the science and future research needs. *Mol Genet Metab.* 2014;112(2):87–122.
 35. Thöny B, Auerbach G, Blau N. Tetrahydrobiopterin biosynthesis, regeneration and functions. *Biochem J.* 2000;347 Pt 1:1–16.
 36. Rouse B, Azen C. Effect of high maternal blood phenylalanine on offspring congenital anomalies and developmental outcome at ages 4 and 6 years: the importance of strict dietary control preconception and throughout pregnancy. *J Pediatr.* 2004 Feb;144(2):235–9.
 37. Christ SE. Asbjørn Følling and the discovery of phenylketonuria. *J Hist Neurosci.* 2003;12(1):44–54.
 38. Woolf LI, Griffiths R, Moncrieff A, Coates S, Dillstone F. The dietary treatment of phenylketonuria. *Arch Dis Child.* 1958 Feb;33(167):31–45.
 39. Bickel H. The first treatment of phenylketonuria. *Eur J Pediatr.* 1996 Jan;155(S1):S2–3.
 40. Kaufman S, Berlow S, Summer GK, Milstien S, Schulman JD, Orloff S, et al. Hyperphenylalaninemia due to a deficiency of biopterin. A variant form of phenylketonuria. *The New England journal of medicine.* 1978. p. 673–9.
 41. Guthrie R, Susi A. A simple phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants. *Pediatrics.* 1963;32:338–43.
 42. Scriver CR, Hurtubise M, Konecki D, Phommavanh M, Prevost L, Erlandsen H,

- et al. PAHdb 2003: What a locus-specific knowledgebase can do. *Hum Mutat.* 2003;21(4):333–44.
43. Scriver CR. The PAH gene, phenylketonuria, and a paradigm shift. *Human Mutation.* 2007. p. 831–45.
 44. Miyamoto M, Fitzpatrick TB. Competitive Inhibition of Mammalian Tyrosinase by Phenylalanine and its Relationship to Hair Pigmentation in Phenylketonuria. *Nature.* 1957 Jan 26;179(4552):199–200.
 45. Weglage J, Wiedermann D, Denecke J, Feldman R, Koch HG, Ullrich K, et al. Individual blood-brain barrier phenylalanine transport in siblings with classical phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis.* 2002;25(6):431–6.
 46. Hanley WB, Azen C, Koch R, Michals-Matalon K, Matalon R, Rouse B, et al. Maternal Phenylketonuria Collaborative Study (MPKUCS)--the “outliers”. *J Inherit Metab Dis.* 2004;27(6):711–23.
 47. McKean CM, Boggs DE, Peterson NA. The influence of high phenylalanine and tyrosine on the concentrations of essential amino acids in brain. *J Neurochem.* 1968 Mar;15(3):235–41.
 48. Koch R, Azen C, Friedman EG, Williamson ML. Paired comparisons between early treated PKU children and their matched sibling controls on intelligence and school achievement test results at eight years of age. *J Inherit Metab Dis.* 1984;7(2):86–90.
 49. Gokmen Ozel H, Kucukkasap T, Koksall G, Kalkanoglu Sivri HS, Dursun a., Tokatli a., et al. Does maternal knowledge impact blood phenylalanine concentration in Turkish children with phenylketonuria? *J Inherit Metab Dis.* 2008;31:1–5.
 50. Belanger-Quintana A, Martínez-Pardo M. Physical development in patients with phenylketonuria on dietary treatment: A retrospective study. *Mol Genet Metab.* 2011;104(4):480–4.
 51. Gökmen Özel H. Diyet Tedavisi. İçinde: Çoşkun T, Yurdakök M, editörler. *Yenidoğanda Kalıtsal Metabolik Hastalıklar.* Güneş Tıp Kitapevi; 2014.

52. Weetch E, Macdonald A. The determination of phenylalanine content of foods suitable for phenylketonuria. *J Hum Nutr Diet.* 2006;19(3):229–36.
53. Centerwall SA, Centerwall WR. The discovery of phenylketonuria: the story of a young couple, two retarded children, and a scientist. *Pediatrics.* 2000;105(1 Pt 1):89–103.
54. Feillet F, Agostoni C. Nutritional issues in treating phenylketonuria. *Journal of Inherited Metabolic Disease.* 2010. p. 659–64.
55. Demirkol M, Gizewska M, Giovannini M, Walter J. Follow up of phenylketonuria patients. *Mol Genet Metab.* 2011;104(SUPPL.):31–9.
56. Agostoni C, Verduci E, Fiori L, Riva E, Giovannini M. Breastfeeding rates among hyperphenylalaninemic infants. *Acta Paediatr.* 2000 Mar 2;89(3):366–7.
57. Dixon M., MacDonald A. Disorders of Amino acid Metabolism, Organic Acidaemias and Urea Cycle Disorders. In: Shaw Vanessa, editor. *Clinical Paediatric Dietetics.* fourth Edi. John Wiley & Sons, Ltd.; 2015. p. 381–525.
58. Blau N, Bélanger-Quintana A, Demirkol M, Feillet F, Giovannini M, MacDonald A, et al. Optimizing the use of sapropterin (BH4) in the management of phenylketonuria. *Molecular Genetics and Metabolism.* 2009. p. 158–63.
59. Hennermann JB, Bührer C, Blau N, Vetter B, Mönch E. Long-term treatment with tetrahydrobiopterin increases phenylalanine tolerance in children with severe phenotype of phenylketonuria. *Mol Genet Metab.* 2005;86 Suppl 1:S86–90.
60. Hoskins JA, Holliday SB, Greenway AM. The metabolism of cinnamic acid by healthy and phenylketonuric adults: a kinetic study. *Biomed Mass Spectrom.* 1984;11(6):296–300.
61. *Clinical Paediatric Dietetics:* Amazon.co.uk: Vanessa Shaw: 9780470659984: Books.
62. Vockley J, Andersson HC, Antshel KM, Braverman NE, Burton BK, Frazier DM, et al. Phenylalanine hydroxylase deficiency: diagnosis and management guideline. *Genet Med.* 2014;16(2):188–200.

63. Longo N, Harding CO, Burton BK, Grange DK, Vockley J, Wasserstein M, et al. Single-dose, subcutaneous recombinant phenylalanine ammonia lyase conjugated with polyethylene glycol in adult patients with phenylketonuria: an open-label, multicentre, phase 1 dose-escalation trial. *Lancet*. 2014;384(9937):37–44.
64. Sibbald B. Death but one unintended consequence of gene-therapy trial. *CMAJ*. 2001 May 29;164(11):1612.
65. Rocha JC, Martel F. Large neutral amino acids supplementation in phenylketonuric patients. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 2009. p. 472–80.
66. Schindeler S, Ghosh-Jerath S, Thompson S, Rocca A, Joy P, Kemp A, et al. The effects of large neutral amino acid supplements in PKU: An MRS and neuropsychological study. *Mol Genet Metab*. 2007;91:48–54.
67. Matalon R, Michals-Matalon K, Bhatia G, Burlina a. B, Burlina a. P, Braga C, et al. Double blind placebo control trial of large neutral amino acids in treatment of PKU: Effect on blood phenylalanine. *J Inherit Metab Dis*. 2007;30:153–8.
68. Matalon R, Michals-Matalon K, Bhatia G, Grechanina E, Novikov P, McDonald JD, et al. Large neutral amino acids in the treatment of phenylketonuria (PKU). *J Inherit Metab Dis*. 2006;29:732–8.
69. Pietz J, Kreis R, Schmidt H, Meyding-Lamadé UK, Rupp A, Boesch C. Phenylketonuria: findings at MR imaging and localized in vivo H-1 MR spectroscopy of the brain in patients with early treatment. *Radiology*. 1996;201:413–20.
70. Koch R, Moats R, Guttler F, Guldborg P, Nelson M. Blood-brain phenylalanine relationships in persons with phenylketonuria. *Pediatrics*. 2000;106:1093–6.
71. Moats RA, Koch R, Moseley K, Guldborg P, Guttler F, Boles RG, et al. Brain phenylalanine concentration in the management of adults with phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis*. 2000;23:7–14.
72. Ahring KK. Large neutral amino acids in daily practice. *J Inherit Metab Dis*. 2010;3(January 2009):16–7.

73. van Spronsen FJ, de Groot MJ, Hoeksma M, Reijngoud D-J, van Rijn M. Large neutral amino acids in the treatment of PKU: from theory to practice. *J Inherit Metab Dis*. 2010;33(6):671–6.
74. Thomas MJ. The role of free radicals and antioxidants: how do we know that they are working? *Crit Rev Food Sci Nutr*. 1995 Jan;35(1-2):21–39.
75. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri - Doç. Dr. İdris Akkuş | Kitapyurdu
76. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Derg*. 2002;33(2):110–8.
77. Jensen SJK. Oxidative stress and free radicals. *J Mol Struct Theochem*. 2003;666-667:387–92.
78. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*. 1995 Dec;41(12 Pt 2):1819–28.
79. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem*. 1993 Oct;26(5):351–7.
80. Repine JE, Bast A, Lankhorst I. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. Oxidative Stress Study Group. *Am J Respir Crit Care Med*. American Thoracic Society New York, NY; 1997 Aug 14;156(2 Pt 1):341–57.
81. Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: Where are we now? *J Neurochem*. 2006;97(6):1634–58.
82. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Free Radical Biology and Medicine. 2007. 449-450 p.
83. Scandalios JG. The rise of ROS. *Trends Biochem Sci*. 2002 Sep;27(9):483–6.
84. Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol*. 2006 Jun;141(2):312–22.
85. Burton GW. Antioxidant action of carotenoids. *J Nutr*. 1989;119(1):109–11.
86. Yanik M, Erel O, Kati M. The relationship between potency of oxidative stress and severity of depression. *Acta Neuropsychiatr*. 2004;16(4):200–3.

87. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem.* 2004 Apr;37(4):277–85.
88. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005;38(12):1103–1111.
89. Tirma ARAŞ, İk AIŞ. Total Antioxidant Response and Oxidative Stress in Patients with Rheumatoid Arthritis. 2007;21(2):67–73.
90. Brigelius-Flohé R, Banning A, Schnurr K. Selenium-dependent enzymes in endothelial cell function. *Antioxid Redox Signal.* 2003;5(2):205–15.
91. Papp LV, Lu J, Holmgren A, Khanna KK. From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. *Antioxid Redox Signal.* 2007;9(7):775–806.
92. Cnubben NHP, Rietjens IMCM, Wortelboer H, Van Zanden J, Van Bladeren PJ. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2001;10(4):141–52.
93. Brigelius-Flohé R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radic Biol Med.* 1999;27(9-10):951–65.
94. Başkol G, Köse K. Paraoxanase: Biochemical Features, Functions and Clinical Importance. *Erciyes Med J.* 2004;26(2):75–80.
95. Hegele RA. Paraoxonase genes and disease. *Ann Med.* 1999;31(3):217–24.
96. Primo-Parmo SL, Sorenson RC, Teiber J, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. *Genomics.* 1996 May 1;33(3):498–507.
97. Gan KN, Smolen A, Eckerson HW, La Du BN. Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. Evidence for one esterase catalyzing both activities. *Drug Metab Dispos.* Jan;19(1):100–6.
98. Sorenson RC, Primo-Parmo SL, Kuo CL, Adkins S, Lockridge O, La Du BN. Reconsideration of the catalytic center and mechanism of mammalian

- paraoxonase/arylesterase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995 Aug 1;92(16):7187–91.
99. Uysal S, Akyol S, Hasgöl R, Armutcu F, Yiğitoğlu F. Çok Yönlü Bir Enzim: Paraoksonaz. *Yeni Tıp Derg*. 2011;28(3):136–41.
 100. Hahn M, Subbiah MT. Significant association of lipid peroxidation products with high density lipoproteins. *Biochem Mol Biol Int*. 1994 Jul 1;33(4):699–704.
 101. Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du BN, Faull KF, Fogelman AM, et al. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest*. 1995 Dec;96(6):2882–91.
 102. Durrington PN, Mackness B, Mackness MI. Paraoxonase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001 Apr;21(4):473–80.
 103. Forti N, Diment J. Review Article High-Density Lipoproteins : Metabolic, Clinical , Epidemiological and Therapeutic Intervention Aspects . An Update for Clinicians. *Arq bras Cardiol*. 2006;87:614–22.
 104. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS, Primo-Parmo SL, La Du BN. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest*. 1998 Apr 15;101(8):1581–90.
 105. Leviev I, Deakin S, James RW. Decreased stability of the M54 isoform of paraoxonase as a contributory factor to variations in human serum paraoxonase concentrations. *J Lipid Res*. 2001 Apr 1;42(4):528–35.
 106. Mackness MI, Harty D, Bhatnagar D, Winocour PH, Arrol S, Ishola M, et al. Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis*. 1991;86(2-3):193–9.
 107. Maritim a. C, Sanders R a., Watkins JB. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: A review. *J Biochem Mol Toxicol*. 2003;17(1):24–38.

108. 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 Metab.* 2005;90(3):1728–33.
109. Kilic SS, Aydin S, Kilic N, Erman F, Aydin S, Celik I. Serum arylesterase and paraoxonase activity in patients with chronic hepatitis. *World J Gastroenterol.* 2005;11(46):7351–4.
110. Hasan M. Ekmekç İ , Donma O, Ekmekç İ. 2004;35(17):78–82.
111. Kawamukai M. Biosynthesis, bioproduction and novel roles of ubiquinone. *J Biosci Bioeng.* 2002;94(6):511–7.
112. Nohl H, Kozlov a V, Staniek K, Gille L. The multiple functions of coenzyme Q. *Bioorg Chem.* 2001;29(1):1–13.
113. Young AJ, Johnson S, Steffens DC, Doraiswamy PM. Coenzyme Q10: a review of its promise as a neuroprotectant. *CNS Spectr.* 2007;12:62–8.
114. Folkers K. Relevance of the biosynthesis of coenzyme Q10 and of the four bases of DNA as a rationale for the molecular causes of cancer and a therapy. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996;224(2):358–61.
115. Molyneux SL, Young JM, Florkowski CM, Lever M, George PM. Coenzyme Q10: is there a clinical role and a case for measurement? *Clin Biochem Rev.* 2008;29(2):71–82.
116. Quinzii CM, Hirano M. Coenzyme Q and mitochondrial disease. *Dev Disabil Res Rev.* 2010;16(2):183–8.
117. Mellors A, Tappel AL. The inhibition of mitochondrial peroxidation by ubiquinone and ubiquinol. *J Biol Chem.* 1966 Oct 10;241(19):4353–6.
118. Gülçin I. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life Sci.* 2006;78(8):803–11.
119. Bieber LL. Carnitine. *Annu Rev Biochem.* 1988;57:261–83.
120. Binienda ZK, Ali SF. Neuroprotective role of L-carnitine in the 3-nitropropionic acid induced neurotoxicity. *Toxicol Lett.* 2001;125(1-3):67–73.

121. Monograph. L-carnitine. *Altern Med Rev.* 2005 Mar;10(1):42–50.
122. Kovacic P, Pozos RS, Somanathan R, Shangari N, O'Brien PJ. Mechanism of mitochondrial uncouplers, inhibitors, and toxins: focus on electron transfer, free radicals, and structure-activity relationships. *Curr Med Chem.* 2005;12(22):2601–23.
123. Bindoli A, Rigobello MP, Deeble DJ. Biochemical and toxicological properties of the oxidation products of catecholamines. *Free Radic Biol Med.* 1992;13(4):391–405.
124. Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem.* 1995;64:97–112.
125. Richter C. Biophysical consequences of lipid peroxidation in membranes. *Chem Phys Lipids.* 1987;44(2-4):175–89.
126. Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem.* 2006;52(4):601–23.
127. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and Biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med.* 1991;11(1):81–128.
128. Dizdaroglu M, Jaruga P, Birincioglu M, Rodriguez H. Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free Radic Biol Med.* 2002;32(11):1102–15.
129. Colton C, Wilt S, Gilbert D, Chernyshev O, Snell J, Dubois-Dalcq M. Species differences in the generation of reactive oxygen species by microglia. *Mol Chem Neuropathol.* 1996;28(1-3):15–20.
130. Reynolds A, Laurie C, Lee Mosley R, Gendelman HE. Oxidative Stress and the Pathogenesis of Neurodegenerative Disorders. *Int Rev Neurobiol.* 2007;82(07):297–325.

131. Fernandes CG, Leipnitz G, Seminotti B, Amaral AU, Zanatta Â, Vargas CR, et al. Experimental evidence that phenylalanine provokes oxidative stress in hippocampus and cerebral cortex of developing rats. *Cell Mol Neurobiol.* 2010;30(2):317–26.
132. Moraes TB, Zanin F, da Rosa A, de Oliveira A, Coelho J, Petrillo F, et al. Lipoic acid prevents oxidative stress in vitro and in vivo by an acute hyperphenylalaninemia chemically-induced in rat brain. *J Neurol Sci. Elsevier B.V.;* 2010;292(1-2):89–95.
133. Sitta A, Barschak AG, Deon M, Barden AT, Biancini GB, Vargas PR, et al. Effect of short- and long-term exposition to high phenylalanine blood levels on oxidative damage in phenylketonuric patients. *Int J Dev Neurosci.* 2009;27:243–7.
134. Sitta A, Manfredini V, Biasi L, Treméa R, Schwartz IVD, Wajner M, et al. Evidence that DNA damage is associated to phenylalanine blood levels in leukocytes from phenylketonuric patients. *Mutat Res.* 2009;679(1-2):13–6.
135. Sirtori LR, Dutra-Filho CS, Fitarelli D, Sitta a, Haeser a, Barschak a G, et al. Oxidative stress in patients with phenylketonuria. *Biochim Biophys Acta.* 2005;1740:68–73.
136. Rizzo M, Kotur-Stevuljevic J, Berneis K, Spinas G, Rini GB, Jelic-Ivanovic Z, et al. Atherogenic dyslipidemia and oxidative stress: a new look. *Transl Res.* 2009;153(5):217–23.
137. Précourt L-P, Amre D, Denis M-C, Lavoie J-C, Delvin E, Seidman E, et al. The three-gene paraoxonase family: Physiologic roles, actions and regulation. *Atherosclerosis.* 2011 Jan;214(1):20–36.
138. Hopps E, Noto D, Caimi G, Averna MR. A novel component of the metabolic syndrome: the oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2010;20(1):72–7.
139. Holvoet P, De Keyzer D, Jacobs DR. Oxidized LDL and metabolic syndrome. *Futur Lipidol.* 2009;3(6):637–49.
140. Hansel B, Kontush A, Bonnefont-Rousselot D, Bruckert E, Chapman MJ.

Alterations in lipoprotein defense against oxidative stress in metabolic syndrome. *Curr Atheroscler Rep.* 2006;8(6):501–9.

141. Enns GM, Koch R, Brumm V, Blakely E, Suter R, Jurecki E. Suboptimal outcomes in patients with PKU treated early with diet alone: Revisiting the evidence. *Mol Genet Metab.* Elsevier B.V.; 2010;101(2-3):99–109.
142. Moyle JJ, Fox a. M, Arthur M, Bynevelt M, Burnett JR. Meta-analysis of neuropsychological symptoms of adolescents and adults with PKU. *Neuropsychol Rev.* 2007;17(2):91–101.
143. van Spronsen FJ, Hoeksma M, Reijngoud D-J. Brain dysfunction in phenylketonuria: is phenylalanine toxicity the only possible cause? *J Inherit Metab Dis.* 2009;32(1):46–51.
144. Van Bakel MME, Printzen G, Wermuth B, Wiesmann UN. Antioxidant and thyroid hormone status in selenium-deficient phenylketonuric and hyperphenylalaninemic patients. *Am J Clin Nutr.* 2000;72(4):976–81.
145. Weglage J, Pietsch M, Fünders B, Koch HG, Ullrich K. Neurological findings in early treated phenylketonuria. *Acta Paediatr.* 1995;84(4):411–5.
146. Burri R, Matthieu JM, Vandeveld M, Lazeyras F, Posse S, Herschkowitz N. Brain damage and recovery in hyperphenylalaninemic rats. *Dev Neurosci.* 2003;25(2):116–25.
147. Rech VC, Feksa LR, Dutra-Filho CS, Wyse ATDS, Wajner M, Wannmacher CMD. Inhibition of the mitochondrial respiratory chain by phenylalanine in rat cerebral cortex. *Neurochem Res.* 2002;27(5):353–7.
148. Costabeber E, Kessler A, Severo Dutra-Filho C, de Souza Wyse AT, Wajner M, Wannmacher CMD. Hyperphenylalaninemia reduces creatine kinase activity in the cerebral cortex of rats. *Int J Dev Neurosci.* 2003;21(2):111–6.
149. Feksa LR, Cornelio AR, Rech VC, Dutra-Filho CS, Wyse ATS, Wajner M, et al. Alanine prevents the reduction of pyruvate kinase activity in brain cortex of rats subjected to chemically induced hyperphenylalaninemia. *Neurochem Res.* 2002;27(9):947–52.

150. Bauman ML, Kemper TL. Morphologic and histoanatomic observations of the brain in untreated human phenylketonuria. *Acta Neuropathol.* 1982;58(1):55–63.
151. Barschak AG, Sitta A, Deon M, Barden AT, Dutra-Filho CS, Wajner M, et al. Oxidative stress in plasma from maple syrup urine disease patients during treatment. *Metab Brain Dis.* 2008;23:71–80.
152. Artuch R, Colomé C, Sierra C, Brandi N, Lambruschini N, Campistol J, et al. A longitudinal study of antioxidant status in phenylketonuric patients. *Clin Biochem.* 2004;37:198–203.
153. Wajner M, Latini A, Wyse ATS, Dutra-Filho CS. The role of oxidative damage in the neuropathology of organic acidurias: insights from animal studies. *J Inherit Metab Dis.* 2004 Jan;27(4):427–48.
154. Selek S, Aslan M, Horoz M, Gur M, Erel O. Oxidative status and serum PON1 activity in beta-thalassemia minor. *Clin Biochem.* 2007 Mar;40(5-6):287–91.
155. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.* 1967 Jul;70(1):158–69.
156. Hydroperoxide C. Intended use for the quantitative.
157. Automated F, Kit A. Rel Assay Diagnostics. 2010;37–8.
158. Q10 kit. Biosearch.
159. Schulpis KH, Nounopoulos C, Scarpalezou A, Bouloukos A, Missiou-Tsagarakis S. Serum Carnitine Level in Phenylketonuric Children under Dietary Control in Greece. *Acta Paediatr.* 1990 Oct;79(10):930–4.
160. Vilaseca MA, Briones P, Ferrer I, Campistol J, Riverola A, Castillo P, et al. Controlled diet in phenylketonuria may cause serum carnitine deficiency. *J Inherit Metab Dis.* 1993;16(1):101–4.
161. Weigel C, Kiener C, Meier N, Schmid P, Rauh M, Rascher W, et al. Carnitine status in early-treated children, adolescents and young adults with phenylketonuria on low phenylalanine diets. *Ann Nutr Metab.* 2008;53:91–5.

162. Deon M, Landgraf SS, Lamberty JF, Moura DJ, Saffi J, Wajner M, et al. Protective effect of L-carnitine on Phenylalanine-induced DNA damage. *Metab Brain Dis.* 2015;30(4):925–33.
163. Carmagnol F, Sinet PM, Jerome H. Selenium-dependent and non-selenium-dependent glutathione peroxidases in human tissue extracts. *Biochim Biophys Acta.* 1983;759(1-2):49–57.
164. Lombeck I, Jochum F, Terwolbeck K. Selenium status in infants and children with phenylketonuria and in maternal phenylketonuria. *Eur J Pediatr.* 1996;155 Suppl:S140–4.
165. Lu J, Holmgren A. Selenoproteins. *J Biol Chem.* 2009;284(2):723–7.
166. Mazzola PN, Terra M, Rosa AP, Mescka CP, Moraes TB, Piccoli B, et al. Regular exercise prevents oxidative stress in the brain of hyperphenylalaninemic rats. *Metab Brain Dis.* 2011;26:291–7.
167. Schulpis KH, Karikas G a, Papakonstantinou E. Homocysteine and other vascular risk factors in patients with phenylketonuria on a diet. *Acta Paediatr.* 2002;91(8):905–9.
168. Artuch R, Vilaseca MA, Moreno J, Lambruschini N, Cambra FJ, Campistol J. Decreased serum ubiquinone-10 concentrations in phenylketonuria. *Am J Clin Nutr.* 1999;70:892–5.
169. Castillo M, Zafra MF, Garcia-Peregrin E. Inhibition of brain and liver 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase and mevalonate-5-pyrophosphate decarboxylase in experimental hyperphenylalaninemia. *Neurochem Res.* 1988;13(6):551–5.

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Gaziantep’de doğdu. 2008 yılında Gaziantep Anadolu Lisesinden mezun oldu. 2011 yılında Anadolu Üniversitesi Sağlık Kurumları İşletmeciliği bölümünden mezun oldu. 2013 yılında Erciyes Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik bölümünden fakülte ikincisi olarak mezun oldu. 2013’de Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim dalında yüksek lisansa başladı. Bir kamu kuruluşunda diyetisyen olarak çalışmaktadır. Yabancı dili İngilizcedir.