

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**KÖK HÜCRE TRANSPLANTASYONU HASTALARINDA SERUM DEMİR
PARAMETRELERİ İLE PARAOKSONAZ, ARİLESTERAZ VE
OKSİDATİF STRES BELİRTEÇLERİNİN İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ
Hasan KARAGEÇİLİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Hatice PAŞAOĞLU

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
01/2010-60 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
EKİM 2012

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**Biyokimya Ana Bilim Dalı Doktora Programı
çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşğıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.**

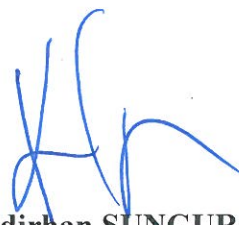
Tez Savunma Tarihi : 02/10/2012


Prof. Dr. Hatice PAŞAOĞLU
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı


Prof. Dr. Nurten TÜRKÖZKAN
Gazi Üniversitesi


Prof. Dr. Gülsan SUCAK
Gazi Üniversitesi


Prof. Dr. Mustafa KAVUTÇU
Gazi Üniversitesi


Prof. Dr. Kadirhan SUNGUROĞLU
Ankara Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....	I
İçindekiler.....	II
Şekiller, Resimler, Grafikler.....	V
Tablolar.....	VII
Semboller, Kısaltmalar.....	IX
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Hematopoietik Kök Hücre.....	3
2.1.1 Otolog Hematopoietik Kök Hücre Nakli.....	5
2.1.2. Allojenik Hematopoietik Kök hücre Nakli.....	5
2.1.3. Hematopoietik Kök Hücre Nakli Uygulanan hastalıklar.....	6
2.2. Demir Metabolizması.....	8
2.2.1. Demir Emilimi.....	10
2.2.2. Demir Yüklenmesi.....	12
2.2.3. Ferritin.....	13
2.2.4. Transferin.....	13
2.2.5. Demir ve Serbest Radikal Oluşumu Arasındaki İlişki.....	14
2.3. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller.....	15
2.3.1. Serbest Radikallerin Tanımı ve Önemi.....	15
2.3.2. Serbest Radikaller.....	16
2.3.3. Reaktif Oksijen Türleri.....	19
2.3.3.1. Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$).....	20
2.3.3.2. Hipoklorikasit Radikali (HOCl).....	21
2.3.3.3. Hidrojen Peroksit (H_2O_2).....	21
2.3.3.4. Hidroksil Radikali ($OH^{\cdot}$).....	22
2.3.3.5. Singlet Oksijen (1O_2).....	23
2.3.3.6. Perhidroksil Radikali ($OOH^{\cdot}$).....	23
2.3.3.7. Peroksil Radikali ($ROO^{\cdot}$).....	23
2.3.3.8. Nitrik Oksit ($NO^{\cdot}$).....	24

2.3.3.9. Peroksinitrit (ONOO ⁻).....	24
2.3.4. Serbest Radikallerin Biyomoleküller Üzerine Etkileri	25
2.3.5. Membran Lipidlerine Etkileri (Lipid Peroksidasyonu)	25
2.3.6. Antioksidan Sistem	27
2.3.6.1. Nonenzimatik Yapıda Olan Antioksidanlar	29
2.3.6.1.1. Glutasyon (GSH).....	30
2.3.7. Enzimatik Yapıda Olan Antioksidanlar.	31
2.3.7.1. Süperoksit Dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1).....	31
2.3.7.2. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px; EC 1.11.1.9) ve Glutasyon Redüktaz (GR; EC.1.6.4.2).....	32
2.3.7.3. Glutasyon-S-Transferaz (GST; EC 2.5.1.8).....	34
2.3.7.4. Katalaz (CAT; EC 1.11.1.6).....	35
2.3.7.5. Paraoksonaz/Arilesteraz	35
2.3.7.5.1. İnsan Serum Paraoksonazının Özellikleri.....	36
2.3.7.5.2. PON1 ve Oksidatif stres.....	37
3. GEREÇ VE YÖNTEM	39
3.1. Deney Grupları.....	39
3.2. Kullanılan Aletler.....	39
3.3. Yöntemlerin Uygulanması.....	40
3.3.1. Serum Malondialdehit (MDA) Analizi.....	40
3.3.2. Serum Glutasyon Peroksidaz (GPx) Analizi.....	41
3.3.3. Serum Glutasyon-S-Transferaz Aktivitesinin Ölçümü.....	43
3.3.4. Serum Katalaz Aktivitesi Tayini.....	44
3.3.5. Paraoksonaz ve Arilesteraz Aktivitesinin Tayini.....	45
3.4. İstatistiksel Değerlendirme.....	47
4. BULGULAR	48
4.1. Hasta ve kontrol Grubu Serum MDA Düzeyleri.....	49
4.2. Hasta ve kontrol Grubu Serum Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi.....	50
4.3. Hasta ve kontrol Grubu Serum Glutasyon S Transferaz Aktivitesi.....	51
4.4. Hasta ve kontrol Grubu Serum Katalaz Aktivitesi.....	52
4.5. Hasta ve kontrol Grubu Serum Paraoksonaz Aktivitesi.....	53

4.6. Hasta ve kontrol Grubu Serum Arilesteraz Aktivitesi.....	54
4.7. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Demir Seviyesi.....	55
4.8. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Demir Bağlama Kapasitesi.....	56
4.9. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Ferritin Seviyesi.....	57
4.10. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum MDA Düzeyleri.....	60
4.11. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi.....	61
4.12. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum Glutasyon S Transferaz Aktivitesi.....	63
4.13. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum Katalaz Aktivitesi.....	65
4.14. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum Paraoksonaz Aktivitesi..	67
4.15. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum Arilesteraz Aktivitesi.....	68
4.16. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum Demir Seviyesi.....	70
4.17. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum Demir Bağlama Kapasitesi.....	72
4.18. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum Ferritin Seviyesi.....	73
4.19. Spearman korelasyon analizi.....	75
5. TARTIŞMA.....	79
6. SONUÇ.....	89
7. ÖZET.....	91
8. SUMMARY.....	93
9. KAYNAKLAR.....	95
10. EKLER.....	109
11. ÖZGEÇMİŞ.....	110

Şekil Listesi

Şekil 1. Bir Multipotent Hematopoietik Kök Hücre Hematopoezi.....	4
Şekil 2. Demir Metabolizması.....	9
Şekil 3. Serbest Radikal Oluşumu.....	17
Şekil 4. Reaktif Oksijen Türlerinin Oluşum Yolları.....	18
Şekil 5. Lipid Peroksidasyon Kimyası.....	26
Şekil 6. Reaktif Oksijen Türleri Üretimi ve Anahtar Antioksidan Enzim Yolu.....	28
Şekil 7. Glutasyon Peroksidaz ve Glutasyon Redüktazın Katalizlediği Reaksiyon.....	33
Şekil 8. Paraoksonaz Tarafından Paroksonun Hidrolizi	36
Şekil 9. PON1'in Paraoksonaz Aktivitesi	45
Şekil 10. PON1'in Arilesteraz Aktivitesi.	46

Grafik Listesi

Grafik 1. Serum MDA Standart Grafiği.....	41
Grafik 2. Hasta ve Kontrol Grubu Serum MDA düzeyleri (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	49
Grafik 3. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	50
Grafik 4. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Glutasyon S Transferaz Aktivitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	51
Grafik 5. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Katalaz Aktivitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	52
Grafik 6. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Paraoksonaz Aktivitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	53
Grafik 7. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Arilesteraz Aktivitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	54

Grafik 8. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Demir Seviyesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	55
Grafik 9. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Demir Bağlama Kapasitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	56
Grafik 10. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Ferritin Seviyesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	57
Grafik 11. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum MDA düzeyleri (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	60
Grafik 12. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	62
Grafik 13. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum Glutasyon S Transferaz Aktivitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	64
Grafik 14. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum Katalaz Aktivitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	66
Grafik 15. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum Paraoksonaz Aktivitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	67
Grafik 16: Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum Arilesteraz Aktivitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	69
Grafik 17. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum Demir Seviyesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	71
Grafik 18. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum Demir Bağlama Kapasitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	72
Grafik 19. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum Ferritin Seviyesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	74
Grafik 20. Serum MDA Düzeyleri ile Serum GPx Aktivitesi Arasındaki Korelasyon.....	76
Grafik 21. Serum MDA Düzeyleri ile Serum GST Aktivitesi Arasındaki Korelasyon.....	77
Grafik 22. Serum Paraoksonaz ile Serum Arilesteraz Aktivitesi Arasındaki Korelasyon.....	78

Tablo Listesi

Tablo 1. Tedavi Olarak Otolog HKHN Yapılan Hastalıklar	7
Tablo 2. Tedavi Olarak Allojenik HKHN Yapılan Hastalıklar.....	7
Tablo 3: Reaktif Türler ve Radikaller.....	16
Tablo 4. Serum MDA Tayini.....	40
Tablo 5. Serum GPx Tayini.....	42
Tablo 6. Serum GST Tayini.....	43
Tablo 7. Serum Katalaz Tayini.....	44
Tablo 8. Serum MDA, Demir, Demir Bağlama Kapasitesi ve Ferritin Düzeyleri ile Paraoksonaz, Arilesteraz, GSH-Px, GSTve Katalaz Enzim Aktiviteleri İstatistik Sonuçları.....	48
Tablo 9. Hasta ve Kontrol Grubu Serum MDA Düzeyleri (Ortalama ± Standart Hata).....	49
Tablo 10.Hasta ve Kontrol Grubu Serum Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi (Ortalama ± Standart Hata).....	50
Tablo 11. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Glutasyon S Transferaz Aktivitesi (Ortalama ± Standart Hata).....	51
Tablo 12. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Katalaz Aktivitesi (Ortalama ± Standart Hata).....	52
Tablo 13. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Paraoksonaz Aktivitesi (Ortalama ± Standart Hata).....	53
Tablo 14. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Arilesteraz Aktivitesi (Ortalama ± Standart Hata).....	54
Tablo 15. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Demir Seviyesi (Ortalama ± Standart Hata).....	55
Tablo 16. Hasta ve Kontrol Grubu SerumDemir Bağlama Kapasitesi (Ortalama ± Standart Hata).....	56

Tablo 17. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Ferritin Seviyesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	57
Tablo 18. Serum MDA, Demir, Demir Bağlama Kapasitesi ve Ferritin Düzeyleri ile Paraoksonaz, Arilesteraz, GSH-Px, GSTve Katalaz Enzim Aktiviteleri istatistik Sonuçları.....	59
Tablo 19. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum MDA Düzeyleri (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	61
Tablo 20. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	62
Tablo 21. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum Glutasyon S Transferaz Aktivitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	64
Tablo 22. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum Katalaz Aktivitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	66
Tablo 23. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum Paraoksonaz Aktivitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	68
Tablo 24. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum Arilesteraz Aktivitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	69
Tablo 25. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum Demir Seviyesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	71
Tablo 26. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu SerumDemir Bağlama Kapasitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	73
Tablo 27. Allojenik, Otolog ve Kontrol Grubu Serum Ferritin Seviyesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata).....	74
Tablo 28. Spearman Korelasyon Analizi Sonuçları.....	75

Kısaltmalar

MDA : Malondialdehit

SOD : Süperoksit Dismutaz

GSH : Redükte Glutasyon

GPx : Glutasyon Peroksidaz

GST : Glutasyon S Transferaz

HKHN: Hematopoietik Kök Hücre Nakli

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

GVHD: Graft- Versus-Konak Hastalığı

GVL: Graft-Versus Lösemi

1. GİRİŞ

Hematopoietik kök hücre nakli (HKHN) hematopoietik ve immün sistemin çeşitli hastalıklarında şifa sağlayan tedavi olarak artan bir şekilde kullanılmaktadır ¹. Donör kaynağına göre allojenik ve otolog olmak üzere iki tip kök hücre nakli (KHN) mevcuttur. Allojenik transplantasyonda, kök hücreler doku uyumlu akraba veya akraba dışı vericilerden hastaya verilir. Otolog transplantasyonda ise hastanın kendi hematopoietik kök hücreleri kullanılır. Otolog transplantasyonun allojenik prosedüre göre avantajları hematopoietik kök hücrelerin büyük miktarda bulunabilmesi ve graft-versus-konak hastalığını engellemesidir. Bu durumda daha az morbidite, mortalite ve ekonomik maliyete neden olur. En büyük dezavantaj potansiyel dokunun tümör hücreleri ile kontamine olmasıdır ². Transplantasyon pratiğinde önemli ilerlemeler olması ve hayatta kalma oranını artırsa da transplantasyona bağlı mortaliteler HKHN sonucunun iyi olmasında engeldir. HKHN uygulanan, kırmızı hücre transfüzyonuna-bağımlı hastalarda demir yüklenmesi genel bir problemdir. Demirin HKHN uygulananlar üzerindeki ters etkileri talasemi hastalarından güçlü kanıtlarla desteklenmektedir ¹. Hematolojik malign lezyonlarda demir yüklenmesinin altında yatan mekanizmalar uzamış diseritropoez, hemoliz, artan bağırsak demir emilimi ve birden çok kırmızı kan hücresi transfüzyonudur. Demir organizmada gerekli bir elementtir ve birkaç biyokimyasal tepkimede oksijen transportu ve elektron transferi de dahil önemli bir role sahiptir. Bununla birlikte demirin fazlası hidrojen peroksidi reaktif oksijen türlerine dönüştürerek protein oksidasyonu, membran lipid peroksidasyonu ve nükleik asit modifikasyonu yolu ile doku hasarına neden olabilir. HKHN öncesi demir artışının bir dizi komplikasyondan sorumlu olduğu görülmektedir ³.

Çeşitli kaynaklardan serbest radikallere maruz kalmak organizmayı bir dizi savunma mekanizması geliştirmeye yöneltir. Serbest radikallerin indüklediği oksidatif strese karşı savunma mekanizmaları: (i) engelleme mekanizmaları, (ii) tamir mekanizmaları, (iii) fiziksel savunma ve (iv) antioksidan savunma gerektirir. Enzimatik antioksidan savunma Süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon peroksidaz (GPx) ve Katalaz (CAT), Glutasyon S-Transferaz (GST) içerir. Enzimatik olmayan antioksidanlar askorbik asit (Vitamin C), α -tokoferol (Vitamin E), glutasyon (GSH), karotenoidler, flavonoidler ve diğer antioksidanlardır. Normal koşullar altında, bu antioksidanların aktiviteleri ve intraselüler düzeyleri arasında bir denge vardır. Bu denge organizmaların sağ kalımları ve sağlıkları için gereklidir ⁴.

Bu çalışmada allojenik ve otolog kök hücre transplantasyonu yapılan hasta ve kontrol grubunda serum demir, demir bağlama kapasitesi ve ferritin ölçüldü. Hasta ve kontrol serumlarında bir lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehit düzeyleri ölçüldü. Bazı toksik bileşiklerin metabolizmasının yanı sıra plazmada lipoproteinlerin oksidasyonunu önlemede rolü olduğu belirtilen, antioksidan kapasiteye sahip paraoksonaz ve arilesteraz aktiviteleri tespit edildi. Antioksidan savunmada rol alan glutasyon peroksidaz, katalaz ve glutasyon s transferaz enzim seviyeleri kök hücre transplantasyonu olan hastalarda ve kontrol grubunda ölçüldü ve her bir enzim aktivitesinin değeri tespit edilerek hasta ve kontrol bireylerde bu parametrelerin aktivitesini ve birbiriyle ilişkisini değerlendirmek amaçlandı.

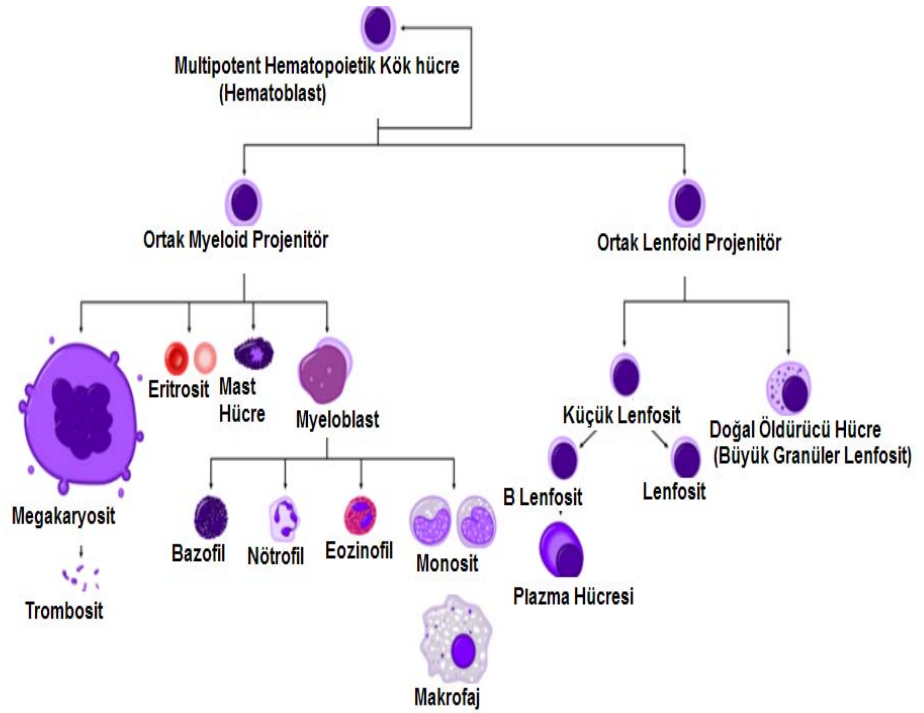
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hematopoietik Kök Hücre

Kök hücreler blastosist gelişimi esnasında iç hücre kütlelerinden köken alırlar. Pluripotentdirler ve embriyonik kök hücreler olarak adlandırılırlar. Bu hücreler doku-özgün multipotent kök hücrelere farklılaşmaya yol açarlar. Bu multipotent doku-özgün kök hücreler daha sonra progenitor hücrelere neden olurlar. Kök hücrelerin genellikle dört önemli özellik gösterdikleri düşünülür: (1) kendini yenileme veya kendini-yönetme; (2) multipotent olmaları; (3) fonksiyonel, uzun dönemli doku yeniden oluşumu; ve (4) transplantabilitede bulunan farklılaşmamış hücreler olup diğer hücresel elemanları meydana getirme yeteneğine sahip ana hücrelerdir ⁵. Kendi kendilerini yenileme kapasiteleri vardır ve olgunlaştıklarında trombosit, eritrosit ve lökosit olarak periferik dolaşıma katılırlar. Periferik kök hücre nakli (PKHN) miyeloablatif tedavide zarar gören kök hücrelerin yerine yenisini koyma işlemi olup özellikle solid tümörler gibi malignitelerde yoğun kemoterapi verilmesine fırsat verir ve bazı kanser tiplerinde kemoterapiye göre üstünlük sağlar (yüksek riskli akut lenfoblastik lösemi (ALL), akut myeloid lösemi (AML), relaps lenfomalar). Kök hücreler aferez denilen işlemle hastanın periferik dolaşımından toplanır ⁶. Kök hücrelerin, pankreas, eklemler, kas ve iskelet sistemi ve kardiyovasküler sistemin bileşenleri gibi farklı organ ve sistemlerin rejenerasyonunu gerçekleştirdikleri ve ayrıca malignitelerde adjuvant tedavi olarak kullanıldıkları gösterildi. Geniş bir hücre tipi olan endotelyal progenitor hücrelerden başka, mezenşimal kök hücreler, embriyonik kök hücreler, kemik iliği-kaynaklı hemapoietik kök hücreler ve nöral kök hücreler farklı sistemlere uygulandı ⁷. Hematopoietik hücre transplantasyonu çeşitli malign ve malign olmayan hastalıklarda artarak kullanılmaktadır ⁸.

HKHN'nin graft kaynağı olarak periferik kan, kemik iliği, kord kanı veya fetal karaciğer ekstresinden her biri tek başına veya kombine kullanılabilir⁹.

Hematopoietik sistem vücutta tüm kan hücrelerini, lökosit ve lenfosit veya kırmızı kan hücrelerini meydana getirir. Bu hücreler pek çok görev için kullanılırlar; enfeksiyondan korunma, hasarlı dokuların uzaklaştırılması, bundan başka yaşamsal moleküllerden oksijenin gerekli olduğu yerlere taşınması. Bu hematopoietik hücrelerin çoğunun sınırlı bir ömrü vardır ve bu görevlerin yerine getirilmesi sürekli bir ihtiyaç doğurur¹⁰.



Şekil 1: Bir Multipotent Hematopoietik Kök Hücre Hematopoez Diyagramı¹⁹.

HKHN yüksek-doz kemoradioterapiyi izleyen öncül hematopoietik kök hücre infüzyonu uygulaması içeren bir agresif tedavi prosedürüdür. Donörün kim olduğuna bağlı olarak iki tip transplantasyon

vardır: allojenik ve otolog. Allojenik transplantasyonda kök hücreler doku uyumlu akraba veya akraba dışı vericilerden hastaya verilir. Otolog transplantasyonda ise hastanın kendi hematopoietik kök hücreleri kullanılır. Otolog transplantasyonun allojenik prosedüre göre avantajları hematopoietik kök hücrelerin büyük oranda bulunabilirliği ve graft- versus- konak hastalığını (GVHD) önlemesi, sırayla daha az morbidite, daha az mortalite ve daha az ekonomik maliyete yol açar. En büyük dezavantajı tümör hücreleri ile dokunun kontamine olması ve daha büyük risk ise tümörün nüksetmesidir ².

2.1.1 Otolog Hematopetik Kök Hücre Nakli

Otolog transplantasyonda hastanın kendi hematopoietik hücreleri kullanılır. Otolog transplantasyonun allojenik prosedüre göre avantajı hematopoietik kök hücrelerin büyük miktarda elde edilebilmesi ve GVHD'nin engellenmesidir. Otolog transplantasyonun daha az morbidite, daha az mortalite ve daha az ekonomik maliyeti vardır. En büyük dezavantajı potansiyel greftin tümör hücreleri ile kontaminasyonu ve neoplazinin nüksetmesidir. Farklı kemoterapiler ve radyoterapiler sadece tümör hücreleri üzerinde etki etmez ayrıca sağlıklı hücreler, özellikle hızlı eşlenen hücreler üzerinde etkide bulunur ^{2,11}. Malign hücrelerin tedavi edilen alıcının greftini kontamine etme riskinin olması kök hücreleri ayıklama teknolojisi ile malign hücreleri transplantdan uzaklaştırmaya neden olur. Bununla beraber otolog kök hücre transplantasyonunda kök hücre ayıklamanın açık bir avantajı bulunamamıştır ¹².

2.1.2. Allojenik Hematopoietik Kök Hücre Nakli

Allojenik hematopoietik kök hücre transplantasyonu hematolojik malign hastalıkların tedavisinde kullanılan potansiyel tedavi edici özelliği olan bir yöntemdir. Allojenik hematopoietik kök hücre

transplantasyonu için ideal donör insan lökosit antijen (HLA)-eş kardeşlerdir. Bununla beraber transplantasyon gereksinimi duyan hastaların yalnız % 30'u uygun kardeş donörlere sahiptirler. Kök hücre kaynağı adayı olarak alternatif donörler gönüllü akraba olmayan donörler, akraba olmayandan umbilikal kord kanı ve haplotip-uyumsuz aile üyeleridir. Akraba olmayan transplantedelerde transplant sonrası sağkalımı maksimize etmek için yüksek oranda HLA uyumunun olması önerilmektedir. Transplant sonucunu etkileyen en önemli HLA lokuslarının HLA-A, -B, -C (sınıf I lokus) ve –DRB1 (sınıf II lokus) olduğu bilinmektedir ¹³.

Allojenik HKHN tedaviye bağlı toksisite, erken ve geç dönem enfeksiyonlar, veno-oklüziv hastalık, akut ve kronik GVHD post transplant komplikasyonlardan bir kısmını oluşturmaktadır. Allojenik HKHN'de hedef hematopoietik ve immünolojik toparlanma elde etmek ve GVHD gelişmesinden kaçınmaktır. Lösemi ve malign hastalığı olanlarda diğer önemli bir nokta da relapsın önlenmesinde önemli olan graft-versus lösemi (GVL) etkisidir. GVL etkisi ve GVHD'ne T lenfositler aracılık etmektedir. Bu, hayvan modellerinde ve klinik çalışmalarda gösterilmiştir. Ancak hem GVL etkisi, hem de GVHD'nin etyopatogenezi tam olarak anlaşılmış değildir. Bununla birlikte bu etkiler açısından sorumlu tutulmakta olan T hücre alt grupları kısmen belirlenmiştir. GVL etkisi ve GVHD patogenezinin tam olarak anlaşılması ile hem nükslerin önlenmesi hem de allojenik HKHN'de önemli mortalite ve morbidite nedeni olan GVHD'nin önlenmesi klinik sonuçları önemli ölçüde etkileyecektir ⁹.

2.1.3. Hematopoietik Kök Hücre Nakli Uygulanan Hastalıklar

Tedavi olarak HKHN uygulanan hastalıklar Tablo 1 ve Tablo 2'de görülmektedir ¹⁴.

Tablo 1: Tedavi Olarak Otolog HKHN Yapılan Hastalıklar

Multiple myelom
Non-Hodgkin lenfoma
Hodgkin lenfoma
Nöroblastoma
Meme kanseri
Diğer kanserler; Akut myeloid lösemi, Akut lenfositik
lösemi, Kronik myeloid lösemi, Kronik lenfositik lösemi
Germ hücre tümörleri, Over kanseri, Küçük Hücreli
Akciğer Kanseri, Merkezi Sinir Sistemi tümörleri

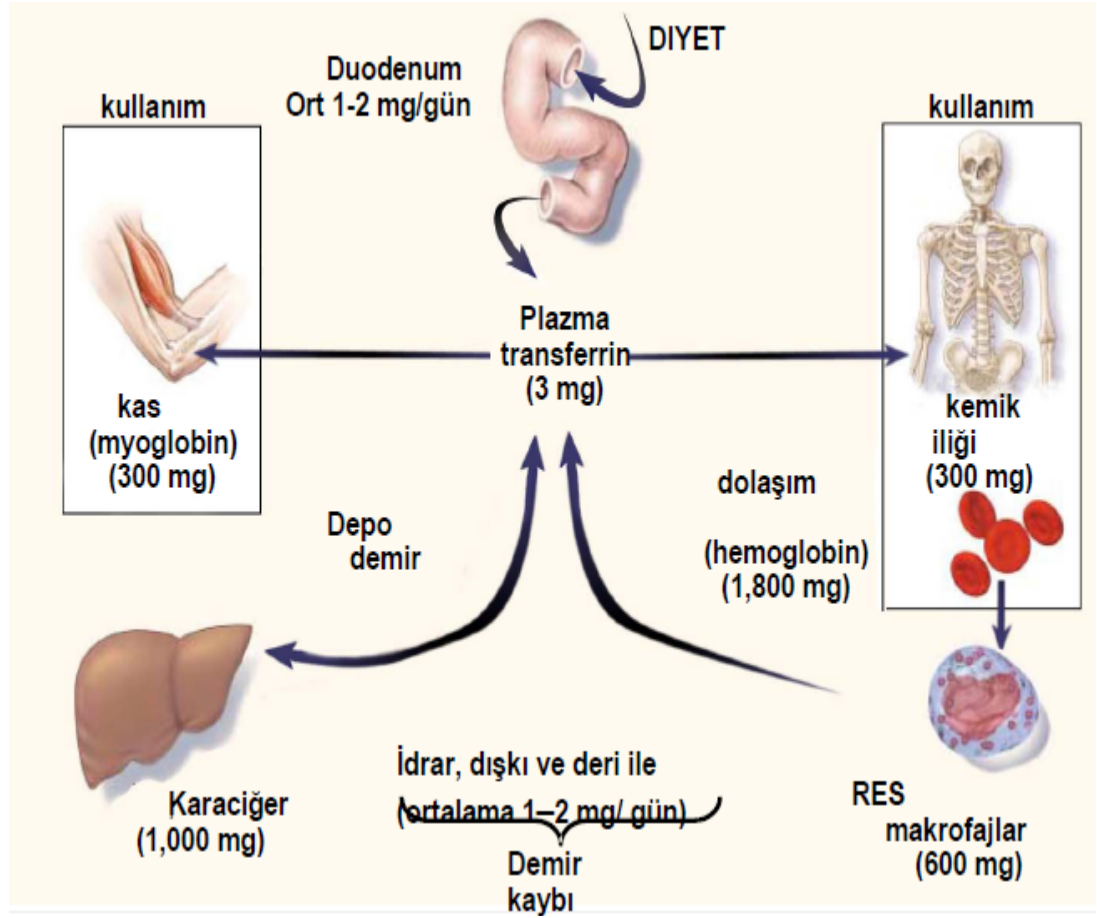
Tablo 2: Tedavi Olarak Allojenik HKHN Yapılan hastalıklar

Akut Myeloid lösemi
Akut Lenfositik Lösemi
Myelodisplastik sendrom
Non-Hodgkin lenfoma
Kronik Myeloid Lösemi
Malign Olmayan hastalıklar: Aplastik anemi
Fanconi Anemisi, Talasemi, Orak Hücreli Anemi
Doğumsal immun yetmezlikler, Kalıtsal metabolik bozukluklar

2.2. Demir Metabolizması

Demir, oksijenin taşınmasında ve kullanılmasında görevli hem proteinlerinin üretiminde gereklidir ¹⁵. Demir, ferröz ve ferrik hal arasında birbirine dönüşme özelliği ile oksijenasyon, hidroksilasyon ve benzeri diğer bir çok metabolik olayı katalize eder ¹⁶. Toplam vücut demir miktarı yaklaşık 3-4 gramdır ve büyük çoğunluğu eritrosit yapısındaki hemoglobinde bulunur ¹⁷. Demir içeren hemoglobin, myoglobin ve sitokromlar toplam vücut demirinin %70-90'ını oluşturur. Geri kalan kısım ise ferritin ve hemosiderin olarak karaciğer, dalak ve kemik iliğinde depolanır ¹⁵. Eritrosit yıkımı sonucu ortaya çıkan hem ve hemoglobin, hemopeksin ve haptoglobülin tarafından alınır ve tekrar eritrosit yapımında kullanılmak üzere kemik iliğine veya depolanmak üzere karaciğere taşınır

¹⁸



Şekil 2: Demir Metabolizması ²⁰.

Günlük demir ihtiyacının, yaklaşık 20 mg'ı hemoglobin katabolizmasından sağlanır. Geri kalanı ise demir depolarından veya demir emilimi ile sağlanır ²¹. Vücutta bulunan demirin yaklaşık olarak üçte ikisi fonksiyonel demir olarak hemoglobin (%60), miyoglobin (%5) ve değişik hem (sitokromlar ve katalaz) ve hem olmayan (NADH hidrojenaz, süksinik dehidrojenaz, akonitaz) enzimler (%5) de kullanılır. Geriye kalan demir vücutta depo ferritin (%20) ve hemosiderin (%10) olarak bulunur. Sadece çok az bir miktar demir (<%0.1) vücutta bulunan esas demir taşıma proteini ile birlikte bulunur. Demir metabolizması bir yönüyle diğer minerallerden ayrılır: demirin fizyolojik bir atılım yolu yoktur ²².

Besin maddeleri ile alınan demir gastrointestinal sistemden emilir. Demirin başlıca emilim yeri duodenumdur, daha az miktarlarda mide ve jejunumdan da emilebilir. İnorganik demir tuzları % 5-16 oranında, organik demir ise % 30-70 oranında emilir. C vitamini, kalsiyum ve asit pH, demir emilimini kolaylaştırır. Antiasitler, fosfatlar ve fitatlar ise emilimi azaltır. Ayrıca hayvansal besinlerdeki demir (hem demiri), bitkisel besinlerdekinden daha kolay emilir. Başlıca demir içeren besinler et, yumurta sarısı, karaciğer, böbrek, dalak, yeşil sebze ve meyvalardır ²³.

2.2.1. Demir Emilimi

Demir ferro (Fe^{+2}) halinde kolaylıkla emilir. Ancak besinlerle alınan demirin çoğu (%90) ferri (Fe^{+3}) şeklindedir. Fe^{+3} pH>2 olan ortamlarda çözünemez ve biyoyararlanımı söz konusu olmaz. Mideden demir emilimi çok az düzeydedir. Ancak mide salgıları demiri çözündürür ve Fe^{+2} şekline indirgenmesini sağlayan askorbik asit ve diğer maddelerle çözülebilen kompleksler haline gelmesini sağlar ²⁴. Emilebilecek demir miktarını etkileyen çeşitli faktörler vardır. Askorbik asit, sitrat ve diğer organik asitler Fe^{+3} ile çözünür şelatlar oluşturup absorpsiyona yardımcı olurken; fitat, tannat, oksalatlar ve antiasitler demir ile reaksiyona girerek ince bağırsakta suda çözünmeyen şelatlar oluştururlar ve böylece absorpsiyonu olumsuz etkilerler ²⁵. Pankreatik sıvılar ise demir emilimini inhibe ederler ²⁶.

Günlük batı diyeti yaklaşık olarak 15 mg demir içerir, sadece 1-2 mg'ı emilir. Emililen demirin üçte ikisi hem, geriye kalan miktar ise inorganiktir. Hem hem hemde inorganik demir duodenal enterositlerin apikal membranlarından emilir. Gastrik sıvının düşük pH'sı mideye alınan inorganik demiri çözer ve fırçamsı kenarın ferredüktaz etkisi ile enzimatik olarak ferröz forma indirgenmesini sağlar ²⁷.

Emici hücrelerin fırçamsı kenarında, ferrik demir ferrik redüktaz tarafından ferröz forma çevrilir. Membran boyunca transportu ise divalent metal transporter-1 tarafından (DMT-1, aynı zamanda Nramp-2 yada DCT-1 olarak bilinir) sağlanır. DMT-1 genel bir katyon taşıyıcıdır. Benzer şekilde başka bir ferrokسيداز olan hefaestin burada diğer bir taşıyıcı ile hareket eder. Hefaestin bakır taşıyan protein olan seruloplazmine benzerdir ²⁸.

Demir, bol miktarda bulunan bir protein olan transferine bağlanarak dolaşıma girer. Transferin ferrik demiri çözünür tutar ve demirin redoks aktivitesini azaltarak demirin diğer moleküllerle reaksiyona girmesini engeller. Özgün bir hücre-yüzey transferin reseptörüne (TFR1) demirin hücrelere gönderilmesi için bağlanmasına yardım eder ²⁹.

Demir bağırsaklardan emildikten sonra mukozal hücrelerden kana geçer. Transferin proteini ile kemik iliğindeki gelişmekte olan eritrositlere taşınır. Demir, karaciğer ve dalak başta olmak üzere başlıca retiküloendotelial hücrelerde depolanır ²⁴. Demirin etkin kullanımı için;

- ❖ Transferrin ile demirin transportu.
- ❖ Kemik iliğindeki eritrosit prekürsörlerinin hücre membranındaki transferin reseptörlerine, transferrin-ferrik demir kompleksinin bağlanması.
- ❖ Transferrin-ferrik demir-reseptör kompleksinin sitozole alınması.
- ❖ Sitozalde transferrinden ferik demirin serbestlenmesi.
- ❖ Ferik demirin indirgenmesi.
- ❖ Mitokondriyal membranlarda ferröz demirin intrasellüler transportu.
- ❖ Demirin mitokondriye alınması.
- ❖ Mitokondride demir ve protoporfirinden hem oluşması.
- ❖ Hem'in mitokondriden sitozole bırakılması.

❖ Hem'in hemoglobin yapısına girmesi gerekmektedir ²¹.

2.2.2. Demir Yüklmesi

Demir sınırlı elde edilebilirliğı olan gerekli bir besin elementidir. Aşırı bulunduğunda, demir hücre ve dokulara tehdit arz eder, bu nedenle demir homeostasisi sıkı kontrol edilmelidir. Demirin toksisitesi daha çok radikal üretimini kataliz etmesi temelindedir, radikaller hücresel makromoleküllere saldırıp bozarak hücre ölümünü ve doku hasarını arttıırırlar. Herediter hemokromatozis veya transfüzyonel sideroz da demir yükünde artış doku hasarı ve organ hastalıklarına yol açar ²⁷. Dolaşımdaki normal demir formu transferinden başka transferin doygunluğu önemli oranda yükselen değışik patolojik koşullardaki hastaların plazmalarında transferine bağılı olmayan (NTBI) tanımlandı, NTBI sadece kronik demir yüklenme hastalıkları esnasında bulunmaz, aynı zamanda çeşitli hastalıklarda da bulunur. Demirin bu türü reaktif oksijen türlerinin üretimine sebep olan potansiyel bir toksik demir şeklidir. Plazma NTBI ve özellikle kararsız plazma demirinin azaltılması en büyük terapötik amaçtır ³⁰.

HKHN malign ve malign olmayan kan hastalıklarında önemli bir müdahaledir. Bununla beraber HKHN'nin mortalite ve morbidite ile önemli bir ilişkisi bulunmaktadır, bu oranların bir kısmı demir yüklenmesiyle ilgilidir. Demir metabolizması bozulması, transplantasyon öncesi transfüzyonları veya HKHN öncesi sitotoksik terapiler sonucunda serum demir seviyesi kök hücre transplantasyonuna girecek hastalarda yükselmektedir. Demir yüklenmesinin HKHN hastalarındaki komplikasyonları enfeksiyonları, mukositleri, kronik karaciğer hastalıklarını, sinosidal obstrüksiyon sendromunu ve idiopatik pnömoni sendromunu içerir. Demir yüklenmesinin β talasemi veya myelodisplastik sendromları da içeren hematolojik malignitelerde HKHN tedavisi gören hastaların sağ kalımı üzerinde ters etkileri vardır ³¹.

2.2.3. Ferritin

Ferritin, demirin depolanmasında rol oynayan moleküler ağırlığı 460-550 kDa arasında, 24 adet iki farklı alt birimden (h,l) meydana gelen bir proteindir. Serum ferritin seviyesi, sıklıkla vücutta bulunan demirin depo durumunu yansıttığı için, klinisyenler tarafından demir eksikliği veya aşırı demir yüklenmesini değerlendirmek amacıyla istenir. Yüksek serum ferritin düzeyleri, demir depolarıyla ilgili olabildiği gibi karaciğer hastalıkları, renal patolojiler, insan immünyetmezlik virüsü (HIV) enfeksiyonu, diğer non-HIV enfeksiyonlar, malign hastalıklar, kronik kan transfüzyonları ve orak hücre anemisi gibi bazı klinik durumlarda da gözlemlenebilir ³².

2.2.4. Transferin

β 1 globülin yapısındadır. Karaciğerde sentez edilen molekül ağırlığı 80 kDa olan bir glikoproteindir. Yarı ömrü 7,6 gündür ³³. İki demir bağlama alanı vardır; tek demir bağlanırsa monoferrik, iki demir bağlanırsa diferrik transferinden bahsedilir. Diferrik transferrinin kendi reseptörüne ilgisi diğerinden daha fazladır ³⁴.

Transferrin reseptörü eritroid öncü hücreler, plasenta ve karaciğerde çok sayıda olmak üzere bütün çekirdekli hücrelerde bulunur. Reseptörün transferrine afinitesi ortamın pH'sı ve transferrinin demir yükü ile ilişkilidir. Transferrin kendi reseptörüne bağlanınca klattrin kaplı membran içerisinde hücre içine alınır, burada ortam asidifiye edilir. Asit ortamda demir serbestleşir ³⁴.

2.2.5. Demir ve Serbest Radikal Oluşumu Arasındaki İlişki

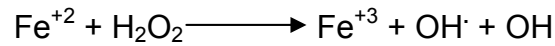
Fizyolojik şartlarda demir ve bakır gibi geçiş metalleri, çeşitli oksidasyon basamaklarında görev alırlar. Geçiş metalleri serbest radikal tepkimelerini hızlandırarak katalizör görevi üstlenirler ³⁵. Metal iyonlarının serbest radikal tepkimelerinde, LPO üzerine etkileri vardır. Oksijenin kendisi, $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , $OH^{\cdot}$ ve geçiş metallerinin iyonları reaktif oksijen türleri (ROS) biyokimyasında önemli rol oynayan maddelerdir ⁴. Canlı organizmalarda H_2O_2 ve O_2 'nin toksik etkileri, $OH^{\cdot}$ ve reaktif radikal metal komplekslerine dönüşmeleri ile oluşur ⁴. H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$ ile Haber-Weiss tepkimesi adı verilen tepkimeye girerek hücre için son derece toksik olan $OH^{\cdot}$ 'lere parçalanır ³⁶.

Haber-Weiss tepkimesi



Bu tepkime katalizör varlığında veya katalizör olmadan da oluşabilmektedir. Katalizör olmadan oluşan tepkime oldukça yavaş ilerler ³⁷. Tepkime eğer demir elementi ile katalizlenirse (Fenton tepkimesi) oldukça hızlı meydana gelir ³⁵.

Fenton tepkimesi



Vücutta demir, transferine Fe^{+3} şeklinde bağlanarak plazmada taşınır ³⁴ ve transferine bağlı demir serbest radikal oluşumuna katılmaz ³⁷.

2.3. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

ROS'un kesin ya da görelî artışı ile tanımlanır. ROS üretiminin artışı veya antioksidan savunma sistemlerinin azalması veya ikisinin birleşimiyle tanımlanabilir. Oksidatif stres biyolojik moleküllerin oksidatif hasarına ve önemli bir doku hasar mekanizmasına yol açabilir ³⁸.

Normal koşullarda soluduğumuz oksijenin yaklaşık %2'si ROS yapımında kullanılır, bu antioksidan sistem tarafından dengelenen bir üretimdir ³⁹.

Enflamatuvar cevap esnasında, aktive edilmiş nötrofiller ve makrofajlar büyük miktarda ROS salgılar. Her ne kadar istila eden mikroplara karşı fagositler tarafından ROS üretimi etkili bir savunma için gerekli ise de, kronik enflamasyon esnasında uzun süreli aşırı üretim geniş çaplı doku hasarına yol açabilir ⁴⁰.

2.3.1. Serbest Radikallerin Tanımı ve Önemi

Oksijen canlılar için hayati önemi olan bir moleküldür ve hücrede enerji üretim basamaklarında kullanılır. Serbest oksijen radikalleri enerji üretim süreçlerinin doğal bir yan ürünü olup çok reaktif ve potansiyel olarak zararlı maddelerdir ⁴¹. Serbest radikalın en yaygın tanımı moleküler ya da atomik yörüngesinde çok reaktif olan çiftleşmemiş elektron bulunduran bir kimyasal ürün olduğu şeklindedir ⁴².

Tablo 3: Reaktif Türler ve Radikaller ⁴³.

•NO	Nitrik oksit
•NO ₂	Nitrojen dioksit
ONOO ⁻	Peroksinitrit
O ₂ • ⁻	Süperoksit
•OH	Hidroksil radikal
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
ROO•	Peroksi radikal
HOCl	Hipoklorik asit

Bu eşleşmemiş elektron serbest radikali kararsız bir konuma getirir. Serbest radikalın kararlı, stabil bir yapıyı tekrar kazanması amacıyla elektronunu bir başka elektronla eşleştirmesi gerektiğinden bu durum serbest radikale kimyasal olarak büyük bir aktivite kazandırır ⁴⁴.

2.3.2. Serbest Radikaller

Serbest radikaller bir veya birden çok çiftleşmemiş elektron taşıyan kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin atom veya moleküller olarak tanımlanır. Serbest radikaller aslında serbest oksijen radikalleri (SOR) veya ROS olarakta bilinmektedir ³⁹.

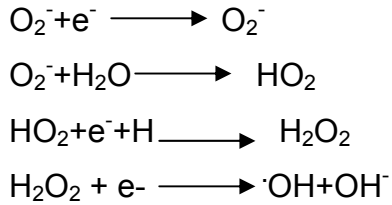
Çiftleşmemiş elektronların varlığından dolayı serbest radikaller kararsızdır ve oldukça reaktif moleküllerdir ⁴⁵.

ROS'lar hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak tüm hücreler tarafından normal veya patolojik olarak aerobik metabolizma ile sürekli üretilmektedir. Aerobik metabolizması olan

memelilerde ROS genellikle oksijenden üretilmekle birlikte organizmada oksijen türevi ROS dışında karbon ve kükürt merkezli radikallerde oluşmaktadır ⁴⁶.

Kimyasal maddelere maruz kalma, karbon tetraklorür, parasetamol gibi ilaç toksisiteleri, iyonize ve ultraviyole radyasyon, hava kirliliği yapan fitokimyasal maddeler, sigara dumanı gibi çevresel faktörler, nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin ve adriamisin gibi antineoplastik ajanlar ROS oluşumuna neden olan ekzojen kaynaklı etmenlerdir ⁴⁷.

Oksidatif metabolizma sürecinde oksijenin çoğu hidrojene bağlanarak su oluşturmaktadır. Ancak oksijenin yaklaşık % 4-5'lik kısmı ise su oluşumuna katılmaz ve ROS oluşturur. Moleküler oksijenin redüksiyon yolu Şekil 3'de gösterilmektedir ⁴⁵.



Şekil 3: Serbest Oksijen Radikallerinin Üretimi ⁴⁵.

Başlangıçta moleküler oksijenin bir elektron ile redüksiyonu süperoksit anyonunu oluşturmaktadır. Bu da hidrojen peroksit dönüşüme doğru gider. Bu reaksiyon spontan olabildiği gibi SOD ile de katalizlenebilir. Hidrojen peroksit indirgenmiş metal iyonları ile reaksiyona girerek hidroksil radikallerini oluşturur. Çok güçlü oksidan olan bu radikaller hücrelerde hasara neden olmaktadır ⁴⁸. Psikolojik stres ve yetersiz beslenme (düşük antioksidan ve fazla yağ alımı) gibi çevresel faktörler de ROS üretimini artırmaktadır. İmmün sistem, tümör büyümesine karşı major savunma mekanizmasıdır. Sitotoksik doğal öldürücü (NK)

olmaktadır. Ayrıca mutasyon ve onkojenik transformasyon hızını arttırıp DNA hasarlanması yaparak tümör gelişimine de neden olabilir ⁵⁰. Bu durumlarda ROS düzensiz bir şekilde üretilir. ROS proliferasyon, hücrel remodeling, apoptozis ve yaşlanma gibi hücrel fonksiyonlara da etki ederek kanser ve metastaz gelişimine neden olabilir ⁵¹.

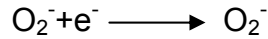
2.3.3. Reaktif Oksijen Türleri

Moleküler oksijen antibağ orbitallerinde eşleşmemiş iki elektron içerir. Bu elektronlar, paralel spinli ve farklı orbitallerde iken minimum enerji seviyesindedirler. Radikal tanımına göre oksijen ‘diradikal’ yapıya sahip bir moleküldür. Oysa oksijenin reaktivitesi beklenenin aksine çok düşüktür. Diradikal bir yapıya sahip olan oksijenin herhangi bir molekül ile tepkimeye girebilmesi için, tepkimeye girebileceği molekülün de benzer yapıya sahip olması gerekir. Ancak oksijene elektron vericiler, genellikle uygun bir orbitallerinde zıt spinli bir çift elektrona sahiptirler. Bu nedenle moleküler oksijenin reaksiyona girme eğilimi kısıtlıdır. Bu duruma “spin sınırlaması” denilmektedir. Moleküler oksijene elektron veya enerji sağlanması durumunda spin sınırlaması ortadan kalkar ve diğer ROS türleri oluşur. Moleküler oksijene tek elektron transferi ile süperoksit anyon radikali oluşur. Oluşan süperoksit anyon radikali oksijene göre daha reaktiftir ⁵².

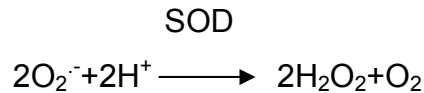
Oksijen moleküllerinin büyük kısmı oksidatif fosforilasyon sırasında mitokondrial sitokrom oksidazlar ile suya dönüştürülmekte ve sonuçta ATP elde edilmektedir. Bu reaksiyonlar esnasında reaktif ürünler oluşur. Bunlar süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikalidir ($OH^{\cdot}$). Reaktif oksijen metabolitleri içerisinde singlet oksijen, hipoklorik asit, peroksinitrit ve nitrik oksit de dahil edilebilir.³⁸

2.3.3.1. Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$)

Serbest süperoksit radikal anyonu ($O_2^{\cdot-}$) hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu meydana gelir⁵³.



Hem çevresel etkenler, hem de organizmalardaki enzimatik ve enzimatik olmayan tepkimelerle en çok ve en kolay oluşan oksijen radikali, süperoksit radikalidir. Esas önemi, hidrojen perokside kaynaklık etmesi ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Uzun bir yarı ömre sahiptir ve lipofilik özellik gösterir. Bu özelliğinden dolayı da meydana geldiği yerden uzak bölgelere difüzyonla yayılabilmektedir. Ancak doğrudan hasar yapıcı etkisi çok fazla değildir. En çok mitokondri, endoplazmik retikulum ve kloroplast gibi hücresel organellerde, elektron transport zincirinin çeşitli komponentlerinden O_2 'ye elektron sızması ile olur⁵⁴. Süperoksit aldığı elektronu metal iyonuna, sitokrom c'ye veya bir radikale verirse tekrar oksijene oksitlenir. Oksijenden daha oksitleyici olan süperoksit bir elektron daha alırsa peroksi anyonuna indirgenir. Aerobik canlılarda süperoksitlerin H_2O_2 'ye çevrilmesi, katalitik aktivitesi çok yüksek bir enzim olan SOD tarafından katalizlenir ve SOD enziminin yüksek katalitik aktivitesi sebebiyle hücrelerde süperoksit birikimine izin verilmez⁵⁵.



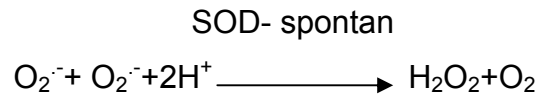
2.3.3.2. Hipoklorikasit Radikali (HOCl)

Aktif polimorfonüveli lökositler tarafından üretilen majör bakterisidal ajandır. H_2O_2 ile klorür iyonunun miyeloperoksidaz ile katalizlenen tepkimesi sonucunda oluşur ⁵⁶.

Bu reaksiyon, nötrofil fagositik vakuollerinin miyeloperoksidaz içeren lizozomal veziküllerle füzyonundan sonra meydana gelir. HOCl geçiş metallerinin varlığında $OH^\cdot$ radikali oluşturabilir. Organizmada sadece miyeloperoksidaz reaksiyonuyla oluşan HOCl'nin lipid ve DNA gibi molekülleri hiç ya da çok az modifiye edebildiği, başlıca hedefinin proteinler olduğu ve protein karbonil bileşiklerinin oluşumunu indüklediği bildirilmektedir ⁵⁷.

2.3.3.3. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksit anyonunun bir elektron alması sonucu peroksit molekülü meydana gelir. Peroksit molekülü de iki hidrojen atomuyla birleşerek hidrojen peroksiti meydana getirir ⁵⁸. Hidrojen peroksitin oluşmasına neden olan bir diğer olay da kendiliğinden veya süperoksit dismutaz enzimi tarafından katalizlenen dismutasyon tepkimesidir. İki süperoksit molekülü iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijen oluşturabilirler ⁵⁹.



Spontan olarak gerçekleşen dismutasyon için optimum pH: 4.8' dir, ancak SOD enziminin katalizlediği reaksiyonlar daha geniş bir pH aralığında gerçekleşebilir. Hidrojen peroksit birçok bileşiği oksitleyici bir

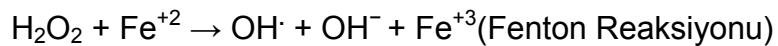
ajandır. Proteinleri, tiyol grubu içeren enzimleri, fosfolipidleri, karbohidratları ve DNA'yı hedef alıp fenton reaksiyonu aracılığıyla hasara neden olabilir ⁵⁹.

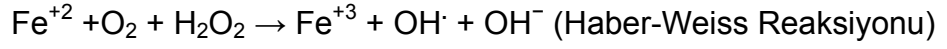
H₂O₂ bir serbest radikal değildir ancak yapısında su bulundurmasından dolayı biyolojik membranlardan geçebildiği için çok önemli bir moleküldür. Başta hidroksil ve hipokloröz asit olmak üzere birçok oksidanın oluşmasına yol açar.⁶⁰ Hidrojen peroksitin önemli bir görevi de intrasellüler iletişim molekülü olarak görev yapmasıdır ⁶¹. İnsan metabolizmasında bir saat içerisinde yaklaşık olarak 3x10⁹ toksik hidrojen peroksit molekülü oluşmaktadır ⁶².

2.3.3.4. Hidroksil Radikali (OH·)

Hidroksil radikali biyolojik sistemlerde yaklaşık olarak 10⁻⁹ saniye yarılanma ömrü olan son derece güçlü bir oksidandır. Bilinen en toksik radikaldir ve lipitler, proteinler ve nükleik asitler dahil hemen hemen bütün biyolojik molekülleri okside edebilir ⁶³. Biyomoleküllerle olan güçlü aktivitesinden dolayı OH· radikali diğer ROS'lara nazaran biyolojik sistemlere çok daha fazla hasar vermektedir ⁴⁸.

Hidroksil radikali hidrojen peroksitin geçiş metalleri varlığında indirgenmesi ile, Hidrojen peroksitin süperoksit radikali ile reaksiyonu ve suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda meydana gelir ⁵⁸. Hidrojen peroksidin Fe⁺² ve diğer geçiş elementleri (Cu, Zn, Mn, Cr, Co, Ni, Mo) varlığında indirgenmesi (Fenton Reaksiyonu) ile veya süperoksit radikali ile reaksiyonu sonucunda (Haber-Weiss Reaksiyonu) hidroksil radikali meydana getirmesi reaksiyonlarla gösterilmiştir ⁶⁰.





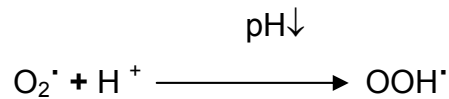
2.3.3.5. Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$)

Singlet oksijen eşleşmemiş elektron içermediği için serbest radikal değildir. Bununla birlikte dönme yönlerinin farklılığından dolayı oksijenin yüksek reaktif formudur ⁵⁶.

Moleküler oksijende paylaşılmamış iki dış elektron aynı yönde, ayrı yörüngelerdedir. Singlet oksijende ise elektron dönme yönleri birbirine zıttır ve oluşturdıkları delta veya sigma formuna göre aynı veya ayrı yörüngelerde bulunurlar. Aynı yörüngede ise delta singlet oksijen, ayrı yörüngelerde iseler sigma singlet oksijen formu oluşur. Sigma formu delta formuna göre daha enerjetik olup kolayca delta formuna dönüşebilir ⁶⁴.

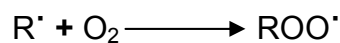
2.3.3.6. Perhidroksil Radikali ($\text{OOH}^\cdot$)

$\text{O}_2^\cdot$ radikali asidik ortamda daha reaktif olup protonlanarak kendisinden daha kuvvetli bir oksidan olan $\text{OOH}^\cdot$ radikalini oluşturur ⁵⁸.

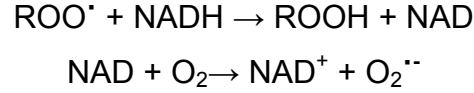


2.3.3.7. Peroksil Radikali ($\text{ROO}^\cdot$)

$\text{R}^\cdot$ radikalleri hızlı bir şekilde oksijen ile reaksiyona girerek $\text{ROO}^\cdot$ 'yi oluştururlar ⁵⁸.



Peroksil radikalleri askorbat ve NADH'ı okside etmekte; oksijen varlığında NADH'ın oksidasyonu ise süperoksit oluşumuna yol açmaktadır ⁶⁵.



2.3.3.8. Nitrik Oksit (NO)

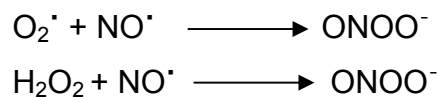
Memeli hücrelerinde NO başlıca Nitrik Oksit Sentaz (NOS)'ın aktivitesi sonucu sentezlenir. NOS, oksijeni kullanarak L-arjinin amino asitinden; sitrülün ve NO'yu oluşturur. Bu olay, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH), flavin mononükleotid (FMN), flavin adenin dinükleotid (FAD), tetrahidrobiopterin (BH₄) ve kofaktör olarak bir tiyol donörüne ihtiyaç duyar ⁵⁶.



Eşleşmemiş elektronu nedeniyle bir serbest radikal türü olarak bazı memeli hücre tiplerince üretilen NO; damar tonusunun kontrolünde, platelet agregasyonunda, lökosit adezyonunda, hücre aracılı immün sitotoksitesinde, sinaptik geçirgenlikte sinyal molekülü olarak önem taşımaktadır ⁶⁶.

2.3.3.9. Peroksinitrit (ONOO⁻)

Süperoksit radikali veya hidrojen peroksitin NO[•] ile reaksiyona girmesi ile oluşur ⁶⁷.



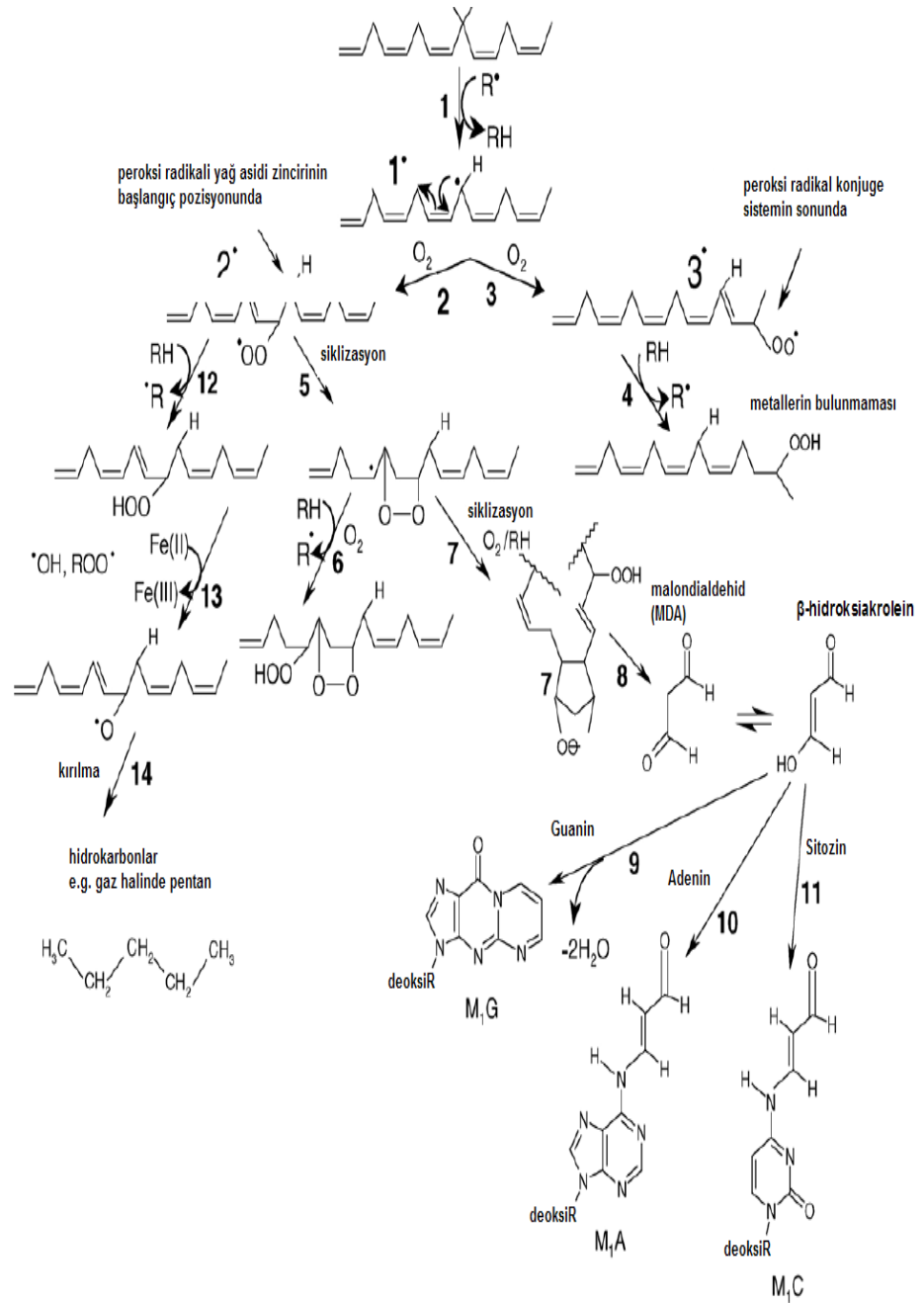
Oluşan peroksinitrit radikalının oksidatif potansiyeli $O_2^{\cdot -}$ ve H_2O_2 'ye göre daha yüksektir ⁶⁸.

2.3.4. Serbest Radikallerin Biyomoleküller Üzerine Etkileri

Fizyolojik şartlarda organizmada oksidan-antioksidan sistemler denge halindedir. Bu dengenin antioksidan sistem yönünde bozulmasıyla serbest radikaller hücrelerin lipit, protein, karbohidrat, DNA ve enzim gibi tüm önemli bileşenlerine etki ederler. Hücre duvarı hasarı, DNA hasarı, kollajen yıkımı, lipitlerin depolimerizasyonu ve lipit peroksidasyonuna neden olurlar ⁶⁹.

2.3.5. Membran Lipidlerine Etkileri (Lipid Peroksidasyonu)

Lipidler serbest radikal etkilerine en duyarlı hücre bileşenleridir. Biyolojik sistemlerde poliansatüre yağ asitlerinin (PUFA) serbest radikallerle oksidasyonu lipid peroksidasyonu olarak isimlendirilir. Lipid peroksidasyonu organizmada oluşan kuvvetli bir oksidan radikalın zar yapısındaki PUFA zincirinin alfa metilen gruplarından bir hidrojen atomunu uzaklaştırması ile başlar. Biyolojik sistemlerde birçok radikalın lipid peroksidasyonuna neden olduğu kabul edilmektedir. Bununla beraber lipid peroksidasyonunu başlatan asıl ajan OH radikalıdır ⁵⁶.



Şekil 5: Lipid Peroksidasyon Kimyası⁷⁰.

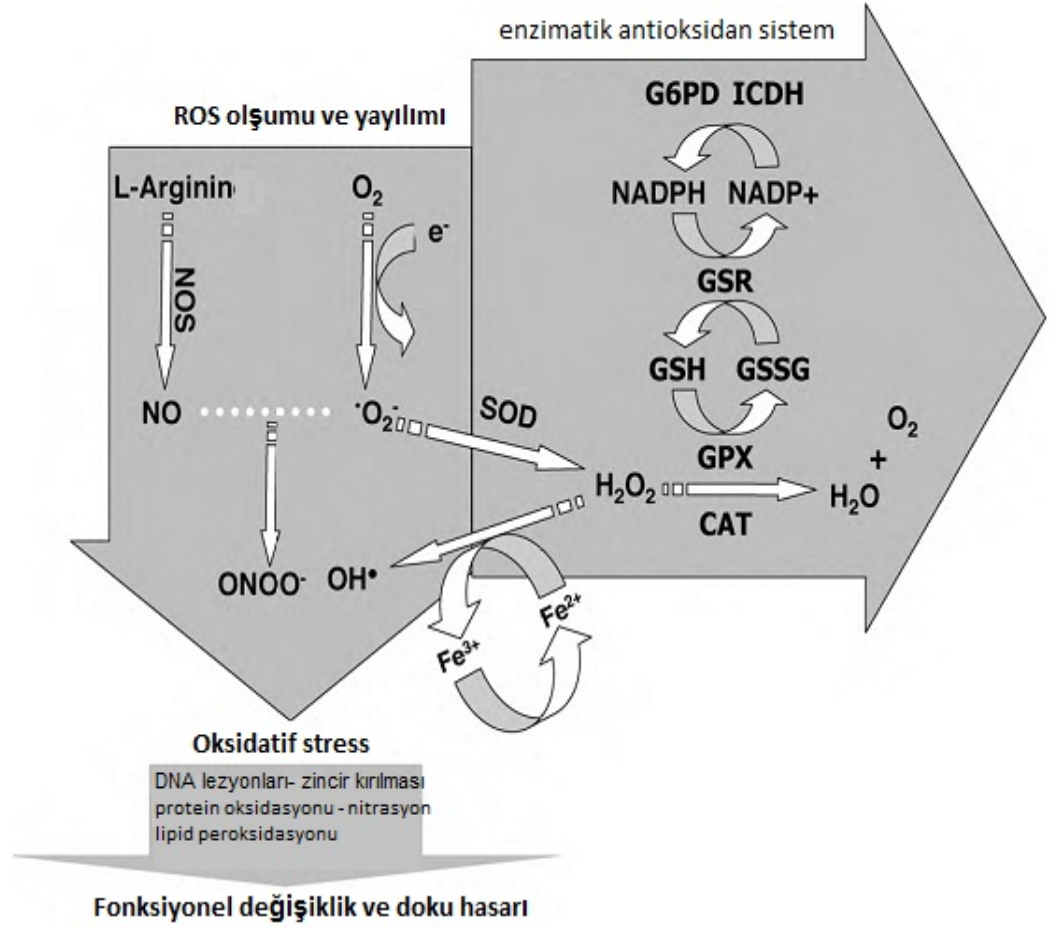
Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiobarbitürik asitle ölçülebilen malondialdehit meydana gelir. MDA, membran componentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Böylece iyon transportu enzim aktivitesi

gibi membran özelliklerini bozar. MDA ölçümü lipid peroksit seviyelerinin belirlenmesinde sıklıkla kullanılır ⁴². Lipid peroksidasyonu son derece zararlı bir zincir reaksiyonudur. Membran akışkanlığında kayıp, membran potansiyelinde azalma, hidrojen ve diğer iyonların permeabilitesinde artma ve sonuç olarak membranın parçalanması ile hücre ve organel içeriklerinin ortama boşalmasına neden olur. Bazı peroksid parçalanmalarının sitotoksik özellikleride vardır ⁵⁶. Hücre membranı yanında mitokondri gibi organellerin membranları da fosfolipidlerinde fazla miktarda doymamış yağ asidi bulundurmaları nedeniyle lipid peroksidasyonuna karşı duyarlıdır. Lizozomal membranların tahribi hidrolitik enzimlerin salınması ve intrasellüler sindirimle sonuçlanır ⁷¹.

2.3.6. Antioksidan Sistem

Antioksidan moleküller; endojen (organizma tarafından sentezlenen) veya eksojen (dışarıdan besinlerle alınan) kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin hücreye hasar vermesini engellemektedirler. Hücre dışında ve hücrede farklı organellerde yerleşerek savunma mekanizmasında rol alan biyomoleküller enzimatik yapıda olabilecekleri gibi non-enzimatik yapıda da olabilirler ⁷². Hücre dışı savunma; albümin, bilirubin, seruloplazmin, ürik asit gibi çeşitli molekülleri içermektedir. Hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimler asıl antioksidan savunmayı sağlamaktadır. Bu enzimler SOD, GST, GPx, glutatyon redüktaz, katalaz ve sitokrom oksidazdır ⁷³.

Organizmada, oksidan ve prooksidan yapılar arasında denge söz konusudur. Bu dengenin oksidanların lehine kayması, değişik düzeylerde hücresel hasarlara neden olmaktadır ⁷⁴.



Şekil 6: Reaktif Oksijen Türleri Üretimi ve Anahtar Antioksidan Enzim Yolu ⁷⁴.

Antioksidanlar, şu prensipler doğrultusunda koruma sağlarlar

⁷⁵.

- Enzim aktivitesi üzerinden veya doğrudan kimyasal reaksiyonlar yoluyla,
- Oksijenden türeyen moleküllerin oluşumunu en az düzeye indirerek,
- Radikallerle doğrudan kimyasal yolla temasa geçerek,

- Reaktif metabolitlerin temizlenmesini veya bu radikallerin daha az aktif ve toksik olmayan ürünlere dönüşümünü sağlayarak,
- Zayıf reaktif türlerin daha zararlı türlere dönüşümü için gereksinim duyulan metal iyonlarını bağlayarak,
- Hedef molekülde oluşan hasarı onarma yoluyla,
- Hasar çok büyük olduğunda, hasara uğramış molekülü uzaklaştırarak.

Antioksidan ajanlar, oksidan moleküllere karşı etkilerini dört yolla göstermektedirler ⁷⁶.

1) *Süpürücü etki gösterenler*: Oluşturdukları etki ile yeni radikal oluşumunu engeller ve oluşmuş olan radikalleri daha az zararlı hale getirirler. SOD, GPx, ferritin, serüloplazmin ve metallothionein gibi metal bağlayıcı proteinler bu tür etkiye örnektir.

2) *Giderici etki gösterenler*: Oksidanlarla etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini inhibe eden bileşiklerdir. β -karoten, vitamin C ve vitamin E bu tür etkiye örnektir.

3) *Zincir kırıcı etki gösterenler*: Zincirleme olarak devam eden reaksiyonları belli yerlerinden kırarak, oksidan etkiyi durdururlar. Bunlara örnek olarak, bazı vitaminler, mineraller, hemoglobin, ürik asit, bilirubin ve albümin verilebilir.

4) *Onarıcı etki gösterenler*: Bu grupta DNA tamir enzimleri ve metiyonin sülfoksit redüktaz örnek gösterilmektedir.

2.3.6.1. Nonenzimatik Yapıda Olan Antioksidanlar:

Ekzojen Kaynaklı Nonenzimatik Antioksidanlar: β -karoten, vitamin C ve vitamin E. Endojen Kaynaklı Nonenzimatik Antioksidanlar: Hemoglobin, ferritin, miyoglobin, ürik asit, bilirubin, laktoferrin, transferrin, melatonin, askorbik asit, albümin ve glutatyon.

2.3.6.1.1. Glutatyon (GSH)

Glutatyon (γ -glutamilsisteinilglisin), düşük moleköl ağırlıklı önemli bir tripeptiddir. Glutatyon hücrelerde en çok bulunan protein dışı endojen tioldür. Doku GSH düzeyi sadece senteze katılan enzimler tarafından düzenlenmez, tiol içeren aminoasitlerin yeterince olması da oldukça önemlidir ⁷⁷.

GSH, tüm memeli hücrelerinde bol miktarda (0.5-10 mM) sentezlenir. Bu sentez iki basamakta gerçekleşir. Birinci basamakta, γ -glutamilsistein sentetaz enzimi GSH'ın prekürsör amino asitleri olan glutamat ve sisteinden, γ -glutamilsisteinin oluşumunu katalizler. İkinci basamakta ise, glutatyon sentetaz, glisin ve γ -glutamilsisteinden glutatyonu oluşturur. GSH negatif geri besleme ile glutamilsistein oluşum hızını ve böylelikle kendi sentezini de denetler. Bu sentezde bir moleköl GSH için 2 moleköl ATP'nın hidrolizi gerekir ⁷⁸.

İn vivo sentezlenebilen ve ince bağırsaktan kısmen emilebilen GSH endojen ve eksojen bir antioksidandır. Glutatyon, GSH transferaz ve peroksidazlar için bir substrat olup ksenobiyotik ve reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonuna katılır. Ayrıca, antioksidan etkili C ve E vitaminleri üzerinde orta düzeyde koruyucu etkiye sahiptir ⁶⁸.

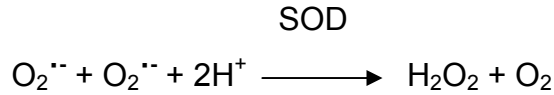
GSH eksikliği hücre ölümüne yol açar. Karaciğer iki GSH havuzuna sahiptir. Birincisinin yarı ömrü 2-4 saat ve sitozoliktir, ikincisinin yarı ömrü 30 saattir ve mitokondriyaldir. Ökaryotik hücrelerde GSH'nin %90'ı sitozolde, %10'u mitokondride, çok azı da endoplazmik retikulumda bulunur ⁷⁹. GSH oksidasyonu, apoptotik sürecin erken olarak metabolik sinyal gibi davranabilir ⁸⁰. GSH, DNA sentezinde ve hasarlı DNA parçalarının onarılmasında, metabolik fonksiyonların yerine getirilmesinde,

zehirli maddelerin inaktif hale dönüştürülmesinde ve serbest radikallerin olası hasarlarının önlenmesinde görev yapmaktadır ⁸¹.

2.3.7. Enzimatik Yapıda Olan Antioksidanlar:

2.3.7.1. Süperoksit Dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1)

SOD, $O_2^{\cdot -}$ radikalinin H_2O_2 'ye dismutasyonunu katalizleyen bir metaloproteindir. Hücredeki süperoksit düzeyleri kontrol etmede önemli bir rol oynar. Hücre içi serbest radikal üretimine karşı ilk enzimatik savunma sistemidir. O_2 başlı başına toksik olmamasına rağmen biyolojik membran ve diğer hücre komponentlerinden elektron kopararak serbest radikal zinciri reaksiyonlarına neden olabilir, bu nedenle O_2 'nin kontrol altında tutulması hücre için şarttır. 2 molekül $O_2^{\cdot -}$ 'yi 2 molekül proton ile reaksiyona sokarak H_2O_2 'e dönüştürür ⁸².



3 farklı süperoksit dismutaz enzimi bulunmaktadır:

1. Aktif bölgesinde Cu^{+2} ve Zn^{+2} içeren süperoksit dismutazlar, tüm ökaryotik hücrelerin sitozolünde bulunur. Memeli hücrelerindeki Cu, Zn içeren SOD'ların (Cu-ZnSOD) molekül ağırlığı 32000 daltonudur. İki protein alt birimi içerir. Herbir altbirim aktif kısmında bir bakır ve bir çinko içerir. Bu enzimlerin aktivitesinden bakır, stabilitesinden ise çinko sorumludur ⁸³.

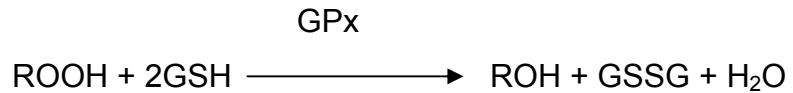
2. Aktif bölgesinde manganez içeren SOD'lar prokaryot ve ökaryotların mitokondrisinde bulunur. MnSOD, 6 nolu kromozomda lokalizedir. Mitokondriyal MnSOD, sitozolik Cu-ZnSOD gibi siyanidle inhibe

olmaz ⁷¹. MnSOD'lar bakterilerden yüksek yapılı organizmalara kadar pek çok kaynaktan izole edilmiştir. Yüksek yapılı organizmalardan elde edilen tüm MnSOD'lar tetramerdir ve alt birimde 1.0 Mn⁺² iyonu içerirler ^{82,83}.

3. Aktif bölgesinde demir içeren SOD'lar prokaryotlarda bulunur. FeSOD'lar daha çok prostatik grup olarak demire gereksinen bakterilerde bulunur. FeSOD'lar da MnSOD'lar gibi CN⁻ ile inhibe olmamaktadır. Ayrıca hücre dışı sıvılarda çok az miktarda glikoprotein yapısında EC-SOD bulunduğu tespit edilmiştir. Bu sebepten dolayı hücre dışı sıvıda bulunan O₂^{••} radikalinin eritrosit membranına penetre olduğunda enzimatik olarak dismutasyona uğradığı gösterilmiştir ⁸³.

2.3.7.2. Glutatyon Peroksidaz (GPx; EC.1.11.1.9) ve Glutatyon Redüktaz (GR; EC.1.6.4.2)

GPx, lipit peroksitlerini daha az toksik yağ asitlerine indirger. Kofaktör olarak GSH'ı kullanmaktadır.

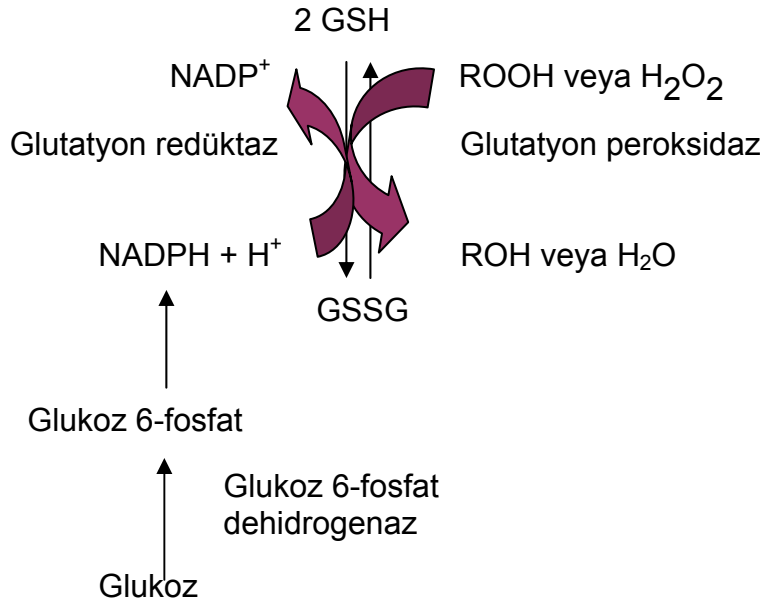


GPx, hücrede H₂O₂'nin temizlenmesinden sorumlu iki enzimden biri olup diğer enzim ise katalazdır. Glutatyon-GPx sistemi H₂O₂'nin H₂O'ya indirgenmesini katalizlerken organik hidroperoksitleri de parçalamaktadır ⁸⁴.

Genel olarak GPx'in H₂O₂'e karşı en belirgin savunma sistemi olduğu düşünülmektedir. Tetramerik yapıda olan enzim en çok karaciğer ve eritrositte aktif olarak bulunmaktadır. Kalp, akciğer ve beyinde orta, kasta ise düşük aktivitede bulunur. %60-75'i stoplazmada, %25-40'ı mitokondride yer alır. Selenyuma bağımlı ve bağımsız iki tipi mevcuttur. Selenyuma bağımlı olan GPx (Se-GPx) sitozol ve mitokondride

bulunmaktadır ve hem H_2O_2 hem de lipid hidroperoksitleri metabolize eder. Selenyumdan bağımsız olan GPx (non-Se GPx) ise sadece lipid hidroperoksitleri metabolize eder. Bu fonksiyonu ile lipid peroksidasyonunun başlamasını ve ilerlemesini önlemektedir ⁸⁵.

GR; hücreSEL GSH redox siklusundan sorumlu olup endojen peroksitlerin detoksifikasyonu için önemlidir ⁸⁶. GPx peroksitleri temizlemek için hidrojen donörü olarak GSH'a ihtiyaç duymaktadır. Okside formu olan GSSG, glutatyon redüktaz ile yeniden glutatyona dönüşmektedir. Gerekli olan NADPH pentoz fosfat yolundan sağlanmaktadır ⁸⁷.

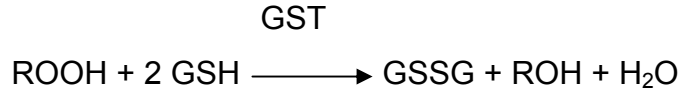


Şekil 7: Glutatyon Peroksidaz ve Glutatyon Redüktazın Katalizlediği Reaksiyon.

2.3.7.3. Glutasyon S-Transferaz (GST; EC 2.5.1.18)

Ökaryotik hücrelerin sitozollerinde bulunan dimerik yapıda bir enzimdir. GST'lerin homo ve heterodimerik çok farklı yapıları ve izoenzim formlarının bulunduğu bilinmektedir. İzoenzim dağılımlarıyla ilgili belirgin bireysel farklılıklar görülmektedir. Karaciğer başta olmak üzere böbrek, adrenal, akciğer, eritrosit, plasenta, testis, iskelet ve kalp kasında bulunur⁸⁸.

Başta araşidonik asit ve lineloat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı GST'ler selenyum bağımsız glutasyon peroksidaz aktivitesi göstererek bir savunma mekanizması oluştururlar.



GST enzimleri katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahiptirler. Hem detoksifikasyon yaparlar hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. Katalitik olarak; yabancı maddeleri glutatyondaki sisteine ait –SH grubu ile bağlayarak onların elektrofilik bölgelerini nötralize ederler ve ürünün daha fazla suda çözünür hale gelmesini sağlarlar. Oluşan bu GSH konjugatları böylece organizmadan atılabilir. GSH'dan glutamat ve glisin koparılmasından sonra sisteinin serbest amino grubu asetillenerek merkaptürik asitlere dönüştürülür. Ksenobiyotiklerin klasik atılım ürünleri olan bu merkaptürik asitler, yani N-asetil sisteinin S-alkile olmuş türevleri, daha sonra safra ile atılırlar. Bu yol, GST'lerin kanserojen, mutajen ve diğer zararlı kimyasalların hücre içi detoksifikasyonunda rolleri olduğunu gösterir. Metabolize edilmeyen lipofilik-hidrofobik pek çok bileşiği bağlamaları ise bu enzimlerin hücre içinde sınırlı çözünürlüğe sahip moleküller için depo ve taşıma rolü üstlendiğini gösterir⁸⁹.

2.3.7.4. Katalaz (CAT EC 1.11.1.6)

Peoksizomlarda lokalize, dört tane hem grubu bulunan hemoproteindir. Karaciğer, böbrek ve eritrositlerde aktivitesi yüksektir. H_2O_2 'i oksijen ve suya parçalar ⁹⁰.

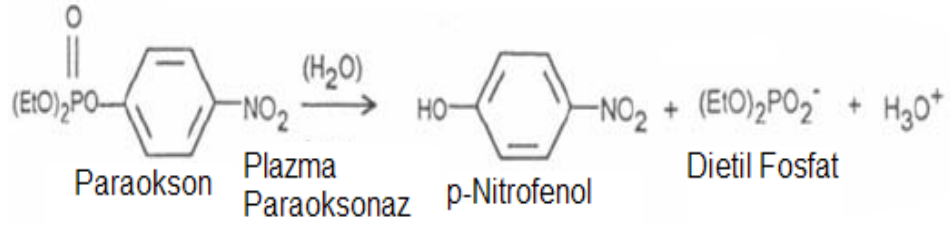


Aynı zamanda fenol ve alkollerin de detoksifikasyonunu sağlayan katalaz; hidrojen peroksitin fenton reaksiyonları ile demir ve bakır iyonları tarafından reaktif hidroksil radikaline dönüşümünü engeller ⁹¹.

2.3.7.5. Paraoksonaz/Arilesteraz

Enzim aktivitesini ölçmek için en sık kullanılan paraokson substratından dolayı paraoksonaz (arildialkilfosfataz, E.C.3.1.8.1.) olarak isimlendirilmiştir. Paraoksonaz (PON1), hem aktivite hemde stabilite için kalsiyuma ihtiyaç duyar. Bu özellik PON1'i diğer A-esterazlardan ayırmaktadır. Çünkü diğer esterazlar aktiviteleri için Co^{+2} , Mn^{+} , Mg^{+2} 'a ihtiyaç duyarlar ⁹². İnsan serum PON1'i kalsiyum bağımlı anti-aterojenik özellikleri olan organofosfat ve lakton gibi esterleri hidrolize eden bir enzimdir ⁹³.

Paraoksonazın fizyolojik rolü tam olarak bilinmemekle birlikte plazma düşük dansiteli lipoproteinlerdeki okside lipidlerden, bakteri endotoksinlerinden, toksik organofosfatlar gibi toksik ajanların oluşturabileceği hücrel hasara karşı önemli koruyuculuk görevi yapar ^{94,95}. Bir organofosfat olan paraokson PON tarafından şekil 8 de görüldüğü gibi hidroliz olur ⁹⁶.



Şekil 8: Paraoksonaz Tarafından Paroksonun Hidrolizi ⁹⁶.

In situ hibridizasyon çalışmalarında paraoksonaz geninin insanlarda 7. kromozomun uzun kolu q21–q22 lokusunda lokalize olduğu gösterilmiştir ⁹⁷.

Paraoksonaz gen ailesinin PON1, PON2 ve PON3 olmak üzere üç üyesi vardır. İnsan genomu, PON2 ve PON3 olarak adlandırılan iki PON1 benzeri gen içerir. İnsan PON1 ve PON2 her birinin dokuz eksonu bulunur. PON1 geni, PON2 ve PON3 genine bitişik yerleşimlidir. Genlerin yapısal benzerlikleri oldukça fazladır ve bir evrimsel rekürsörden gen duplikasyonu ile oluşmuşlardır. Bazı memeli türleri içinde PON1, PON2, PON3 aminoasit dizilimlerinde ve nükleotit dizilimlerinde özdeşlik göstermektedir ⁹⁴.

2.3.7.5.1. İnsan Serum Paraoksonazının Özellikleri

Saflaştırılmış PON1, yaklaşık 43000 dalton molekül ağırlığı olan glikolize bir proteindir. Her molekül üç şeker bağı içermekte ve her molekülün total ağırlığının %15.8'ini karbonhidrat oluşturmaktadır. İzoelektrik noktası 5.1'dir ^{98, 99}. Protein kısmı ise üç sistein kalıntısı içeren 354 aminoasitten oluşmuştur. Aminoasit bileşimi yüksek lösin içeriği dışında bir özellik göstermez ⁹⁹. Saflaştırılmış aktif PON1 yapısında Cys-41 ve Cys-352 arasında intramoleküler disülfid bağı ile 283 serbest sistein olmak üzere sadece 3 sistein rezidüsü bulunur. 283. konumdaki serbest sistein kalıntısı enzimin aktif merkezine yakın bölgede bulunduğu ve bu

bölgenin substrata bağlanma için gerekli olduğu düşünülmektedir ¹⁰⁰. Sistein rezidüleri, PON1 aktivitesi için gerekli bir bileşendir. Sistein, sulfidril re ajanları tarafından baskılanmış PON1 aktivitesini tersine çevirmektedir ¹⁰⁰. E52 ve D53 gibi kalsiyum ligandları veya W280 gibi substrat bağlayan yerler veya nükleofilik yerler olarak etki gösteren esansiyel aminoasit rezidüleri PON1'in etkin yerlerinin bir parçasıdır ¹⁰¹.

Paraoksonaz, serumda spesifik olarak HDL üzerinde lokalize ve aktivitesi kalsiyuma bağımlı bir enzimdir. Kalsiyum, enzimin hem aktivitesi hem de stabilitesi için gerekmektedir. Kalsiyum direkt olarak katalitik reaksiyonda yer alarak veya aktif alanın uygun konformasyonda tutulmasını sağlayarak aktif alanın korunmasında görev alır ¹⁰².

Paraoksonazın bir özelliği hidrofobik N terminal sinyal peptidi bölgesinin olmasıdır. N terminal bölgesi aracılığıyla HDL'deki fosfolipidlere bağlanır. PON1'infosfolipidlere bağlanması ve stabilizasyonunda apo A1 rol oynar ¹⁰³. İnsan serum arilesteraz (ARE) ve PON1 aktivitesi bazı aromatik asit esterleri ve organofosfatların büyük bir kısmını hidrolize etme özelliği olan tek bir enzim tarafından katalizlenmektedir ⁹⁹.

2.3.7.5.2. PON1 ve Oksidatif Stres

PON1'in, LDL'nin hücre kaynaklı oksidasyonuna karşı koruyucu olduğu gösterildi ¹⁰⁴. PON1, lipid peroksitlerinin aterojenik etkilerini nötralize ederek hücre membranlarını koruyucu etki gösterir ¹⁰⁵. PON1'in bunu nasıl yaptığının mekanizması tam olarak açıklanamamasına rağmen çalışmalarda PON1'in antioksidan kapasitesinde 284. pozisyondaki serbest sisteinin rol oynadığı bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada sistein 284'de mutasyon olan PON1'in, LDL'yi oksidasyona karşı koruyucu olmadığını göstermişlerdir. HDL bağımlı PON1'in yalnız LDL oksidasyonunu değil, aynı zamanda HDL

oksidasyonunu da engellediği gsterilmiřtir¹⁰⁶. PON1'in lipoprotein kaynaklı fosfolipid peroksitlerinde ve kolesterol ester peroksitlerinde bulunan O ve P arasındaki ester bağını hidroliz edebildiği gösterilmiştir ¹⁰⁷. Paraoksonazın fosfatidilkolinleri hidroliz etme kapasitesi, okside LDL'deki kolesterol linoleat hidroperoksitleri ve hidroksitleri indirgemesi nedeni ile peroksidaz benzeri aktivitesi olduğu bildirilmiştir ¹⁰⁸. LDL zerine PON1'in antioksidan etkisi endotel hücrelerine monosit adezyonunu ve okside fosfolipidlere bağlanan makrofaj kemotaksisini azalttığı bildirilmiştir ¹⁰⁹. Yapılan çalışmalarda paraoksonaz düzeyi ile oksidatif stres arasında karşılıklı bir ilişki olduğu ileri sürülmüştür ¹¹⁰.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Ankara Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Hematoloji polikliniğine gelen, tanıları aşağıda belirtilen kök hücre transplantasyonu kararı verilen hastaların kan örnekleri alınıp Ankara Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında çalışılmıştır. Çalışma için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulundan bilimsel araştırma izni alınmış olup, bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimi (01/2010-60 No'lu Proje) tarafından desteklenmiştir. Toplam 61 hasta ve 36 kontrol grubuna ait serum değerleri çalışıldı. Hastalık tanıları; akut myeloid lösemi (5), akut lenfoblastik lösemi (2), multiple myeloma (16), ağır aplastik anemi (7), Non hodgkin lenfoma (8), Hodgkin lenfoma (19), kronik lenfoblastik lösemi (1), myelodisplastik sendrom (mds) (2) ve kronik myeloid lösemi (1) olmak üzere 61 hastadır. Otolog hastalar 10 kadın ve 21 erkektir. Allojenik hastalar 10 kadın ve 20 erkekten oluşur. Otolog median 41 (20-66) yaştır. Allojenik median 27 (16-64) yaştır. Kontrol grubu median 35 (17-58) yaştır.

3.1. Deney Grupları

Serumlar deney gününe kadar -80°C de saklanmıştır. Serumda MDA, demir, ferritin ve demir bağlama kapasitesi düzeyleri, katalaz, GPx, GST, paraoksonaz ve arilesteraz aktiviteleri ölçülmüştür. Serum demir, demir bağlama kapasitesi ve ferritin düzeyleri Gazi Üniversitesi Klinik Biyokimya Laboratuvarında çalışıldı. Diğer parametreler araştırma laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.2.Kullanılan Aletler

- Hassas terazi(Schimadzu, Libror, AEG 220)

- Vorteks (Heidolf Reax 200)
- Santrifuj (Hermle Z 380K)
- Santrifüj (Damon IEC, B-20A Hermle Z 323 K, soğutmalı Germany)
- Spektrofotometre(Schimadzu, UV1601)
- pH metre (Jenway)

3.3. Yöntemlerin Uygulanması:

3.3.1. Serum Malondialdehit (MDA) Analizi

Serum MDA düzeyleri Yoshioka ve arkadaşlarının¹¹¹ tarifledikleri yönteme göre analiz edildi. Yöntemin temel ilkesi serumdaki proteinlerin trikloroasetik asit (TCA) ile çöktürülmesinden sonra MDA'nın TBA ile oluşturduğu kompleksin kolorometrik olarak ölçümüne dayanır.

Kullanılan Reaktifler:

% 20 Trikloroasetik asit (TCA) : Distile su içinde hazırlanmıştır

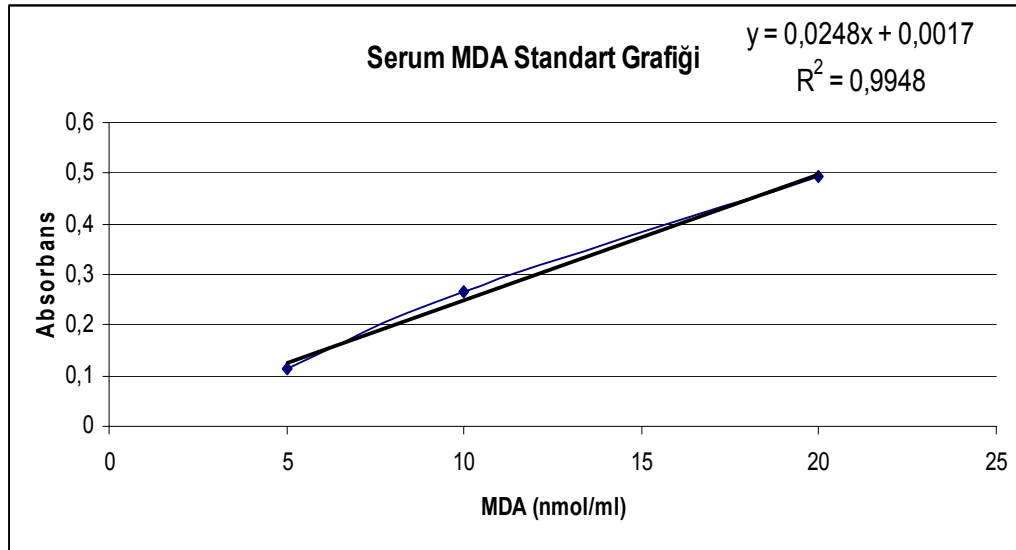
% 0.67 Tiobarbitürik asit (TBA) : Distile su içinde hazırlanmıştır
n butanol.

Tablo 4: Serum MDA Tayini

	Numune	Standart 1	Standart 2	Standart 3
Standart	-	250 µl	125 µl	62,5 µl
Distile su	-	-	125 µl	187,5 µl
Numune	250 µl	-	-	-
TCA	1.25 ml	1.25 ml	1.25 ml	1.25 ml
TBA	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml
Tüpler 30 dakika, 95 °C'de su banyosunda kaynatılmıştır.				
Bundan hemen sonra örnekler soğutularak ,				
Butanol	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml

Daha sonra 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilip üst faz 532 nm.'de butanole karşı okunmuştur.

MDA standart olarak **1,1',3,3' tetraetoksi propan** kullanılarak standart grafik elde edilmiş (grafik 1) ve örneklerin absorbans değerlerinin nmol/ml cinsinden MDA miktarı saptanmıştır.



Grafik 1: Serum MDA Standart Grafiği

Sonuçlar **nmol/ml** cinsinden verilmiştir.

3.3.2. Serum Glutatyon Peroksidaz (GPx) Analizi :

Glutatyon peroksidaz aktivitesi Paglia DE, Valentina ve arkadaşlarının ¹¹² metoduna göre tayin edilmiştir. Bu metotda GSSG oluşum hızı 340 nm dalga boyunda, NADPH'ın NADP'ye dönmesi sonucu karışımın optik dansitesinde azalma ile tayin edilmektedir.

Kullanılan Reaktifler :

NADPH : 3 mM tampon ile hazırlanır.

NaN₃ : 2 M

H₂O₂: % 30 luk stoktan 100 mM olarak, tamponda hazırlanır.

GSH : 150 mM olacak şekilde tamponda hazırlanır.

Glutasyon Redüktaz : (200 U/mg protein) 1N(NH₄)₂SO₄ ile 10 kat seyreltilerek kullanılır.

Deneyin Yapılışı:

Spektrofotometre 340 nm 'ye ayarlanıp, distile suya karşı sıfırlanmıştır.

Tablo 5: Serum GPx Tayini

	Numune
Fosfat tamponu + 5mM EDTA	2635 µl
NaN₃	30 µl
GSH	100 µl
NADPH	100 µl
Glutasyon Redüktaz	10 µl
Numune	25µl
H₂O₂	0,100

H₂O₂ ilave edilerek reaksiyon başlatılmış, 3 dakika boyunca 340 nm dalga boyunda numune absorbans azalması izlenmiştir. Dakikadaki absorbans değişimi hesaplanmıştır. NADPH için molar absorpsiyon katsayısı olan $\epsilon = 6.22 \times 10^3 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ kullanılarak $\Delta A = a_m \cdot \Delta C \cdot l$ formülüne göre dakika başına okside olan NADPH hesaplanmıştır. Glutasyon peroksidaz aktivitesi **nmol/dak/ml olarak verilmiştir**.

3.3.3. Serum Glutasyon-S-Transferaz Aktivitesinin Ölçümü

Glutasyon-S-transferaz aktivitesi, Habig ve arkadaşlarının¹¹³, GSH ile 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB)'nin 340 nm'de absorbans artışı ile izlenebilen bir konjugasyonla tioeter bağı oluşturmaya dayanan metodu ile çalışılmıştır.

Kullanılan Reaktifler:

CDNB: 25 mM (saf etanolde çözülür)

GSH: 25 mM (tamponda çözülür)

Fosfat Tamponu : 100 mM pH:6 Na₂HPO₄/KH₂PO₄

Deneyin Yapılışı:

Serumdan GST aktivitesi çalışılmıştır (tablo 6).

Tablo 6: Serum GST Tayini

	Numune
Fosfat Tamponu	1850 µl
CDNB	50 µl
GSH	50 µl
Numune	50 µl

Spektrofotometre distile su ile sıfırlanmıştır. Absorbans artışı köre karşı 25°C'de 5 dakika boyunca izlenmiştir. CDNB için molar absorpsiyon katsayısı olan $\epsilon = 9,6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ kullanılarak hesap yapılmıştır. 1 Ünite GST aktivitesi 25°C'de ve pH:6,5'de dakikada 1 µmol ürün oluşturan enzim miktarı olarak tanımlanmıştır. Sonuçlar **µmol/dk/ml** olarak verilmiştir.

3.3.4. Serum Katalaz Aktivitesi Tayini :

Serum katalaz aktivitesi Aebi ve arkadaşlarının¹¹⁴ metoduna göre çalışılmıştır.

Kullanılan Reaktifler:

Fosfat Tamponu : 50 mM pH:7 $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$

H_2O_2 Çözeltisi : %30 luk H_2O_2

Tamponlanmış H_2O_2 Çözeltisi : 50 mM pH:7 fosfat tamponunun içine çözelti absorbansı ortalama 0,500 olacak şekilde %30 luk H_2O_2 katılarak hazırlanır.

Deneyin Yapılışı:

Serumdan katalaz aktivitesi çalışılmıştır (tablo 7).

Tablo 7: Serum Katalaz Tayini

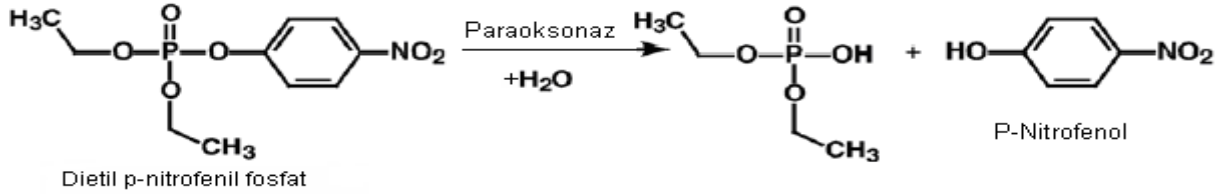
	Numune
Tamponlanmış H_2O_2 Çözeltisi	2995 μl
Numune	5 μl

Kör olarak, içinde H_2O_2 olmayan fosfat tamponu kullanılır.

Numune eklenir eklenmez küvet alt üst edilip absorbans değişimi 240 nm de 5 dk takip edilir. Dakikadaki absorbans azalması hesaplanır. H_2O_2 için molar absorpsiyon katsayısı olan $\epsilon = 0,040 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ kullanılarak hesap yapılmıştır. Serumdan da protein tayini yapılarak sonuçlar $\mu\text{mol/dk/ml}$ olarak verilmiştir.

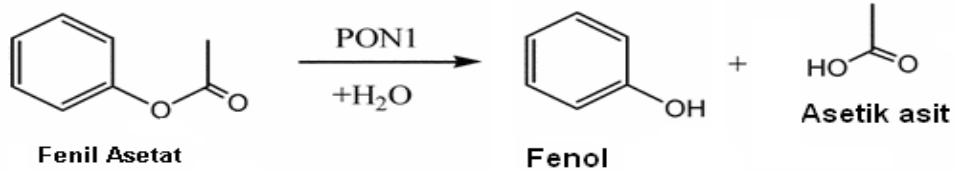
3.3.5. Paraoksonaz ve Arilesteraz Aktivitesinin Tayini

Paraoksonaz aktivitesinin ölçümü, sentetik substrat olarak kullanılan paraoksonun enzimatik hidrolizi sonucu oluşan p-nitrofenolün spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır⁹⁶. Paraokson substratı ile PON1'in paraoksonaz aktivitesinin saptanmasında kullanılan yöntemin tepkimesi aşağıda verilmiştir:



Şekil 9: PON1'in Paraoksonaz Aktivitesi.

Paraoksonaz aktivitesi 2.5 mM CaCl₂ ve 1 M NaCl içeren 0.1 M Tris-HCl (pH 8.5) tamponu içinde ölçüldü. Tepkime ortamına uygun miktarda serum örneği eklendikten sonra, son konsantrasyonu 1.2 mM olacak şekilde paraokson (Sigma) ilavesi ile tepkime başlatıldı ve oluşan tepkime ürünü 4-nitrofenol 412 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. P-nitrofenol için molar absorbtivite katsayısı $\epsilon_{412} = 18000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ olarak alındı. Paraoksonaz aktivitesinin bir birimi (bir ünite paraoksonaz), bu ölçüm koşullarında dakikada bir nmol paraoksonu hidroliz eden enzim miktarı olarak tanımlanmış ve enzim aktivitesi nmol/dak/ml (U/ml) şeklinde ifade edilmiştir. Arilesteraz aktivitesi, substrat olarak kullanılan fenilasetatın enzimatik hidrolizi sonucu oluşan fenolün 270 nm'de spektrofotometrik olarak modifiye metodlar kullanılarak ölçülmesi esasına dayanır^{96,115}. Fenilasetat substratı ile PON1'in arilesteraz aktivitesinin saptanmasında kullanılan yöntemin tepkimesi aşağıda verilmiştir:



Şekil 10: PON1'in Arilesteraz Aktivitesi.

Arilesteraz aktivitesi 0.9 mM CaCl₂ içeren 10 mM Tris-HCl (pH 8) tamponu içinde ölçüldü. Tepkime ortamına uygun miktarda serum eklendikten sonra, son konsantrasyonu 3.6 mM olacak şekilde fenilasetat (Merck) ilavesi ile tepkime başlatıldı. Tepkime sonunda oluşan fenol 270 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Fenol için molar absorbtivite katsayısı $\epsilon_{270} = 1310 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ olarak alınmıştır. Arilesteraz aktivitesinin bir ünitesi bu ölçüm koşullarında dakikada bir mikromol fenilasetatı hidroliz eden enzim miktarı olarak tanımlanmış ve enzim aktivitesi $\mu\text{mol/dak/ml}$ (U/ml) şeklinde ifade edilmiştir. Paraoksonaz ve arilesteraz enzimlerinin aktiviteleri, yukarıda verilen deney ortamları kullanılarak paraoksonaz aktivitesi için pH 8.5 ve 37 °C, arilesteraz aktivitesi için pH 8 ve 25 °C'de ölçüldü. Paraoksonaz aktivitesi ölçülerek yapılan kinetik çalışmalarda, son hacmi 1 ml olan ölçüm ortamı 2 mM CaCl₂ ve 1 M NaCl içeren 0.1 M Tris-HCl tamponu (pH 8.5), 0-2 mM arasında paraokson ve uygun miktarda enzim içermektedir. Spektrofotometrede 37 °C'de 3 dakika inkübe edilen aktivite karışımına paraokson substratının pipetlenmesi ile başlatılan tepkime, 3 dakika süreyle izlendi. Arilesteraz aktivitesi ölçülerek yapılan kinetik çalışmalarda da, son hacmi 1ml olan tepkime ortamı 0.9 mM CaCl₂ içeren 10 mM Tris/HCl tamponu (pH 8), 0-3.6 mM arasında fenilasetat ve uygun miktarda enzim içermektedir. Spektrofotometrede 25 °C'de 3 dakika inkübe edilen aktivite karışımına fenilasetat substratının pipetlenmesi ile başlatılan tepkime, 3 dakika süreyle izlendi. Bütün bulgular üç ölçümün ortalaması olarak değerlendirildi.

3.4. İstatistiksel Değerlendirme:

İstatistiksel hesaplamalar, istatistik paket programı SPSS (Statistical Package for the Social Sciences Program, for windows 16.0) ve Microsoft Excel (for windows XP) programları ile yapılmıştır. Değerlendirmede Kruskal-Wallis varyans analizi ve gruplar arasındaki farklılığı tespit etmek için Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Ayrıca gruplar spearman korelasyon analizine tabi tutulmuştur. Tüm sonuçlar tablo ve grafiklerde **ortalama $\pm$ standart hata** olarak verilmiştir. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Gruplara ait serum MDA, Demir, Demir Bağlama ve Ferritin düzeyleri ile Paraoksonaz, Arilesteraz, GSH-Px, GST ve Katalaz enzim aktivitelerinin istatistiksel sonuçları tablo 8 'de sunulmuştur.

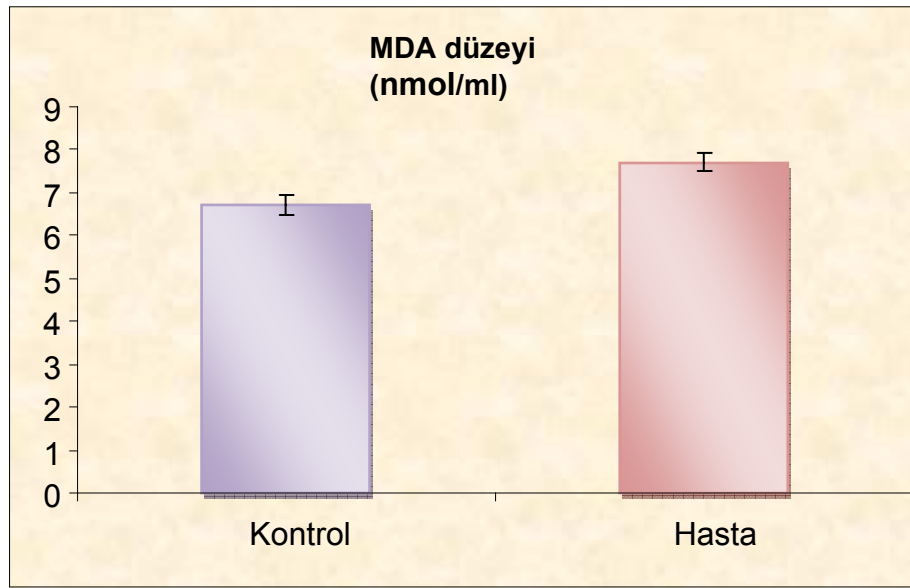
Tablo 8: Hasta ve Kontrol Grubu Serum MDA, Demir, Demir Bağlama Kapasitesi ve Ferritin düzeyleri ile Paraoksonaz, Arilesteraz, GSH-Px, GST ve Katalaz Enzim Aktiviteleri İstatistik Sonuçları.

(ortalama $\pm$ standart hata = $\bar{X} \pm SE$)

Biyokimyasal Parametreler	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (Hasta)
MDA(nmol/ml serum)	6.72 $\pm$ 0.25	7.71 $\pm$ 0.23
GPx (nmol/dk/ml)	1197.71 $\pm$ 28.13	1120.64 $\pm$ 31.41
GST (μmol/dk/ml)	68.02 $\pm$ 2.72	68.03 $\pm$ 2.35
Katalaz (μmol/dk/ml)	1035.76 $\pm$ 69.77	937.19 $\pm$ 75.69
Arilesteraz aktivitesi (μmol/dk/ml)	133.78 $\pm$ 5.13	130.42 $\pm$ 3.70
Paraoksonaz aktivitesi (nmol/dk/ml)	118.55 $\pm$ 9.25	90.51 $\pm$ 4.82
Demir Seviyesi (μg/dL)	88.36 $\pm$ 5.59	85.69 $\pm$ 8.36
Demir Bağlama Kapasitesi (μg/dL)	255.30 $\pm$ 13.63	282.38 $\pm$ 9.06
Ferritin (ng/ml)	98.84 $\pm$ 17.05	604.49 $\pm$ 100.60

4.1. Hasta ve Kontrol Grubu Serum MDA Düzeyleri

Serum MDA düzeyleri için kontrol grubu ile hasta grubu karşılaştırıldığında MDA düzeylerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek görüldüğü tespit edilmiştir. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0.004$; $p<0.05$) (grafik 2).



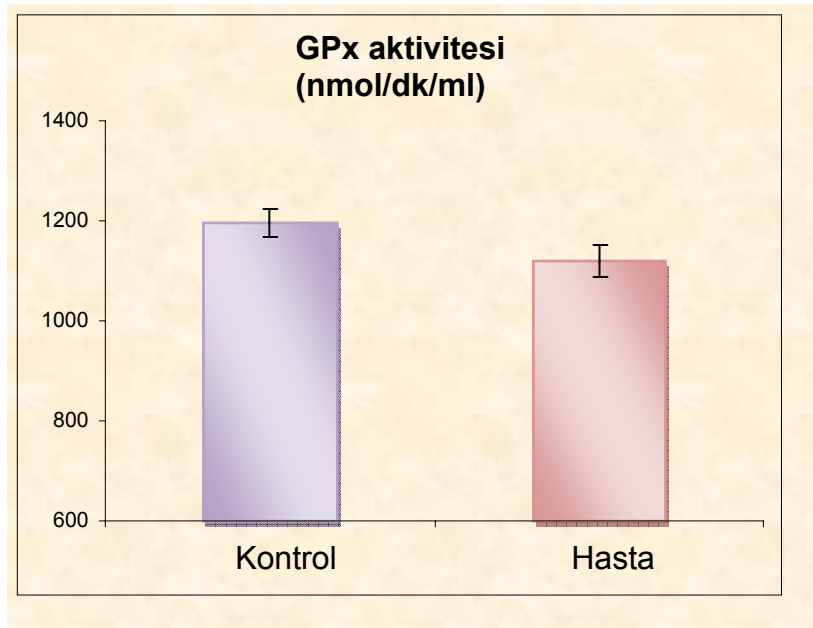
Grafik 2: Hasta ve Kontrol Grubu Serum MDA düzeyleri (Ortalama ± Standart Hata).

Tablo 9: Hasta ve Kontrol Grubu Serum MDA düzeyleri (Ortalama ± Standart Hata)

MDA (nmol/ml serum)		
Kontrol	6.72 ± 0.25	n=36
Hasta	7.71 ± 0.23	n=61

4.2. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi

Serum glutasyon peroksidaz aktivite düzeyleri karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre hasta grubunda düşüş tespit edilmiştir. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0.028$; $p<0.05$). (grafik 3).



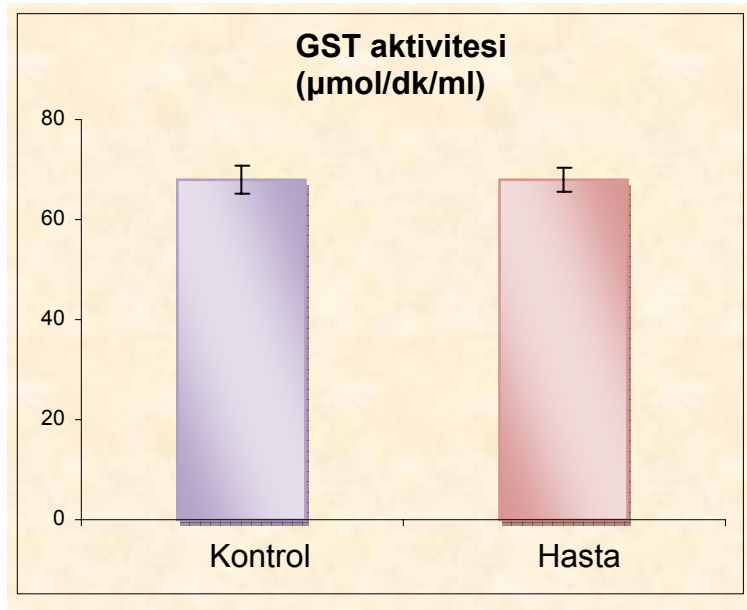
Grafik 3: Hasta ve Kontrol Grubu Serum Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi (Ortalama ± Standart Hata)

Tablo 10: Hasta ve Kontrol Grubu Serum Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi (Ortalama ± Standart Hata)

GPx (nmol/dk/ml)		
Kontrol	1197.72 ±28.13	n=36
Hasta	1120.64 ± 31.41	n=61

4.3. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Glutasyon S Transferaz Aktivitesi

Serum GST aktivitesi için kontrol ve hasta grupları arasında önemli bir farktespit edilememiş olup, istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.878$; $p>0.05$) (grafik 4).



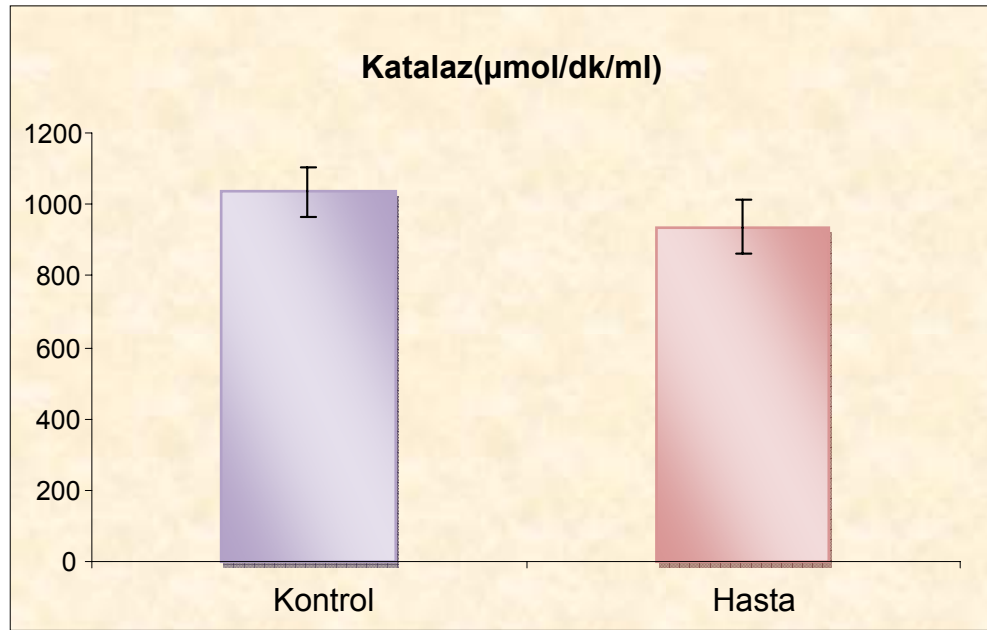
Grafik 4: Hasta ve Kontrol Grubu Serum Glutasyon S Transferaz Aktivitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata)

Tablo 11: Hasta ve Kontrol Grubu Serum Glutasyon S Transferaz Aktivitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata)

GST ($\mu\text{mol/dk/ml}$)		
Kontrol	68.02 ± 2.72	n=36
Hasta	68.03 ± 2.35	n=61

4.4. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Katalaz Aktivitesi

Serum katalaz aktivitesi hasta gruplarda kontrole göre azalmış olarak bulunmuş ancak kontrol ve hasta grupları arasında aktivite istatistiksel olarak anlamlı görülmemiştir ($p=0.063$; $p>0.05$) (grafik 5).



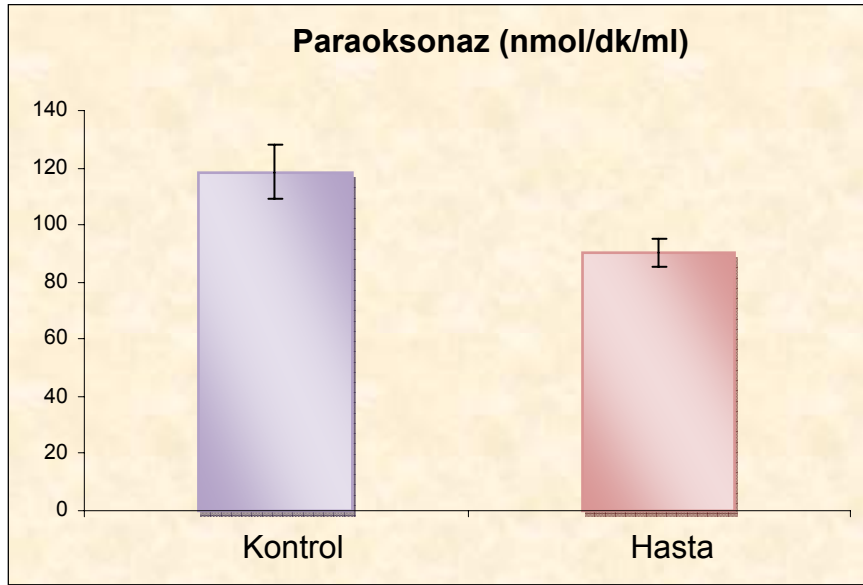
Grafik 5: Hasta ve Kontrol Grubu Serum Katalaz Aktivitesi (Ortalama ± Standart Hata)

Tablo 12: Hasta ve Kontrol Grubu Serum Katalaz Aktivitesi (Ortalama ± Standart Hata)

Katalaz (μmol/dk/ml)		
Kontrol	1035.76 ± 69.77	N=36
Hasta	937.19 ± 75.69	N=61

4.5. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Paraoksonaz Aktivitesi

Serum paraoksonaz aktivite seviyesi hasta gruplarda, kontrol grubuna göre önemli farklı bulunmuştur. İstatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir ($p=0.015$; $p<0.05$) (grafik 6).



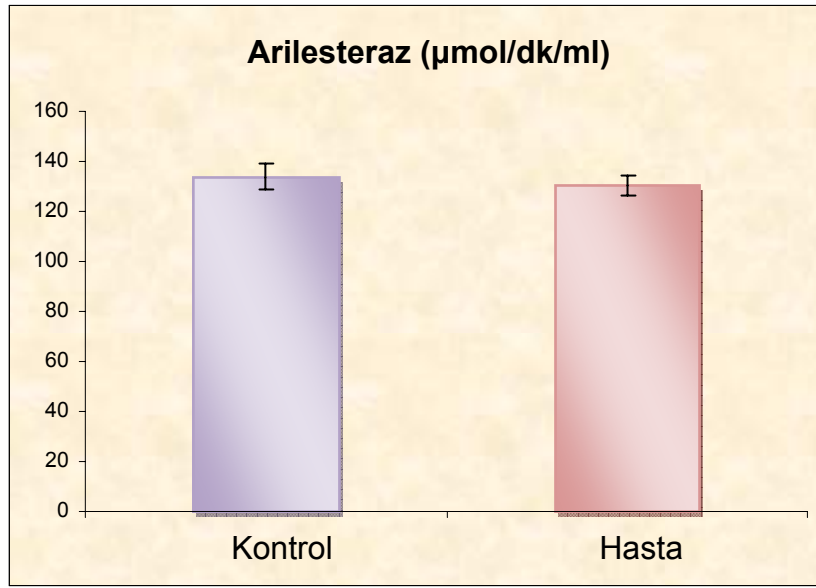
Grafik 6: Hasta ve Kontrol Grubu Serum Paraoksonaz Aktivitesi
(Ortalama ± Standart Hata)

Tablo 13: Hasta ve Kontrol Grubu Serum Paraoksonaz Aktivitesi
(Ortalama ± Standart Hata)

Paraoksonaz (nmol/dk/ml)		
Kontrol	118.55 ± 9.25	N=36
Hasta	90.51 ± 4.82	N=61

4.6. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Arilesteraz Aktivitesi

Serum arilesteraz aktivite seviyesi kontrol ve hasta gruplarda önemli fark tespit edilmemiştir ($p=0.540$; $p>0.05$) (grafik 7).



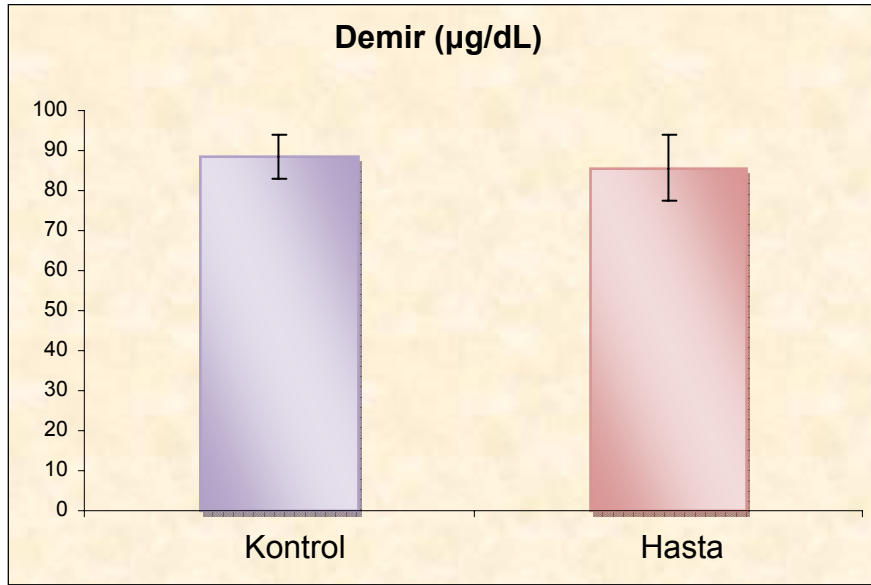
Grafik 7: Hasta ve Kontrol Grubu Serum Arilesteraz Aktivitesi (Ortalama ± Standart Hata)

Tablo 14: Hasta ve Kontrol Grubu Serum Arilesteraz Aktivitesi (Ortalama ± Standart Hata)

Arilesteraz (μmol/dk/ml)		
Kontrol	133.78 ± 5.13	N=36
Hasta	130.42 ± 3.70	N=61

4.7. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Demir Seviyesi

Serum demir seviyesi kontrol ve hasta grubu karşılaştırıldığında, gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.021$; $p<0.05$) (grafik 8).



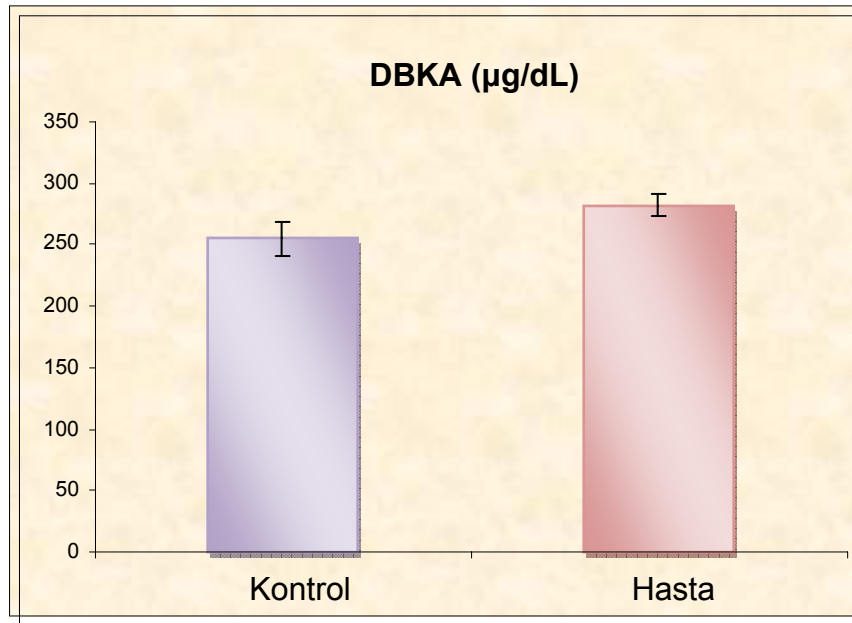
Grafik 8: Hasta ve Kontrol Grubu Serum Demir Seviyesi (Ortalama ± Standart Hata)

Tablo 15 : Hasta ve Kontrol Grubu Serum Demir Seviyesi (Ortalama ± Standart Hata)

Demir (µg/dL)		
Kontrol	88.36 ± 5.59	n=36
Hasta	85.69 ± 8.36	n=61

4.8. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Demir Bağlama Kapasitesi

Serum demir bağlama kapasitesi kontrol ve hasta grubu karşılaştırıldığında, kontrol ve hasta grubu arasındaki fark önemlidir. Hasta grubunda serum demir bağlama kapasitesi yüksek bulunmuştur. Fark istatistiksel olarak anlamlı görülmüştür ($p=0.015$; $p<0.05$) (grafik 9).



Grafik 9: Hasta ve Kontrol Grubu Serum Demir Bağlama Kapasitesi (Ortalama ± Standart Hata)

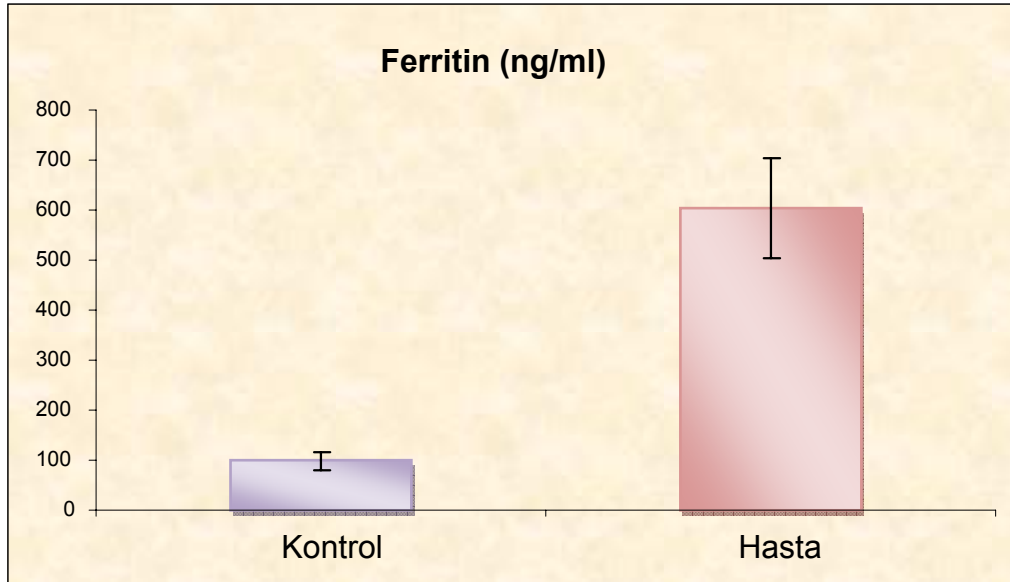
Tablo 16: Hasta ve Kontrol Grubu Serum Demir Bağlama Kapasitesi (Ortalama ± Standart Hata)

Demir Bağlama Kapasitesi (µg/dL)		
Kontrol	255.30 ± 13.63	n=36
Hasta	282.38 ± 9.06	n=61

4.9. Hasta ve Kontrol Grubu Serum Ferritin Seviyesi

Serum ferritin seviyesi kontrol ve hasta grubu karşılaştırıldığında, hasta grubunda önemli oranda artmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir ($p=0.000$; $p<0.05$) (grafik 10).

Grafik 10: Hasta ve Kontrol Grubu Serum Ferritin Seviyesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata)



Tablo 17: Hasta ve Kontrol Grubu Serum Ferritin Seviyesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata)

Ferritin (ng/ml)		
Kontrol	98.84 $\pm$ 17.05	n=36
Hasta	604.49 $\pm$ 100.60	n=61

Tüm gruplara ait kalp dokusu MDA, Demir. Demir Bağlama ve Ferritin düzeyleri ile Paraoksonaz, Arilesteraz, GSH-Px, GST ve Katalaz enzim aktivitelerinin istatistiksel sonuçları tablo 18’de sunulmuştur.

Tablo 18: Allojenik, Otolog ve Hasta Serum MDA, Demir, Demir Bağlama Kapasitesi ve Ferritin Düzeyleri ile Paraoksonaz, Arilesteraz, GSH-Px, GSTve Katalaz Enzim Aktiviteleri İstatistik Sonuçları.

(ortalama $\pm$ standart hata = $X \pm SE$)

Biyokimyasal Parametreler	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (Allojenik)	Grup 3 (Otolog)
MDA (nmol/ml serum)	6.72 $\pm$ 0.25	7.43 $\pm$ 0.33	7.93 $\pm$ 0.32
GPx(nmol/dk/ml)	1197.72 $\pm$ 28.13	1133.80 $\pm$ 55.87	1110.87 $\pm$ 36.36
GST (μ mol/dk/ml)	68.02 $\pm$ 2.72	63.52 $\pm$ 3.65	71.39 $\pm$ 2.9
Katalaz (μ mol/dk/ml)	1035.76 $\pm$ 69.77	944.71 $\pm$ 107.54	931.61 $\pm$ 106.31
Arilesteraz aktivitesi (μ mol/dk/ml)	133.78 $\pm$ 5.13	130.12 $\pm$ 5.31	130.65 $\pm$ 5.16
Paraoksonaz aktivitesi (nmol/dk/ml)	118.55 $\pm$ 9.25	92.29 $\pm$ 7.94	89.18 $\pm$ 6.08
Demir Seviyesi(μ g/dL)	88.36 $\pm$ 5.59	118.81 $\pm$ 15.41	61.08 $\pm$ 6.58
Demir Bağlama Kapasitesi (μ g/dL)	255.30 $\pm$ 13.63	274.15 $\pm$ 13.68	288.48 $\pm$ 12.16
Ferritin(ng/ml)	98.84 $\pm$ 17.05	841.94 $\pm$ 176.34	428.09 $\pm$ 109.51

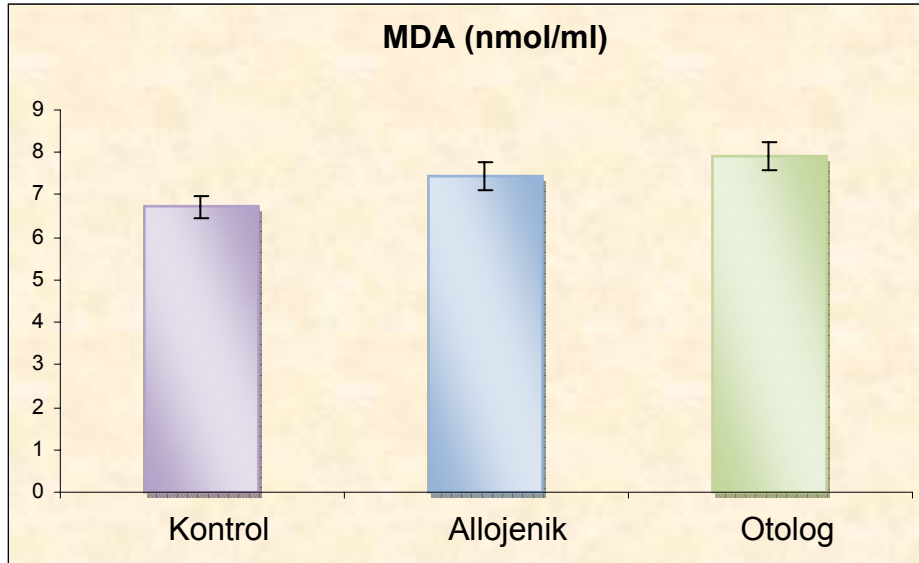
4.10. Allojenik, Otolog ve Hasta Serum MDA Düzeyleri

Serum MDA düzeyleri için kontrol grubu ile allojenik ve otolog grubu karşılaştırıldığında MDA düzeyleri hasta gruplarında kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Aralarında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmiştir ($p=0.009$; $p<0.05$) (grafik 11).

Kontrol grubu ile allojenik grup karşılaştırıldığında allojenik grupta MDA yüksek bulunmuştur. Ancak aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.067$; $p>0.05$).

Kontrol grubu ile otolog grubu karşılaştırıldığında, otolog grubunda MDA düzeyi yüksek bulunmuştur. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0.003$; $p<0.05$).

Allojenik grup ile otolog grup arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.274$).



Grafik 11: Allojenik, Otolog ve Hasta Serum MDA düzeyleri (Ortalama ± Standart Hata).

Tablo 19: Allojenik, Otolog ve Hasta Serum MDA düzeyleri (Ortalama $\pm$ Standart Hata)

MDA (nmol/ml)		
Kontrol	6.72 $\pm$ 0.25	n=36
Allojenik	7.43 $\pm$ 0.32	n=26
Otolog	7.93 $\pm$ 0.32	n=35

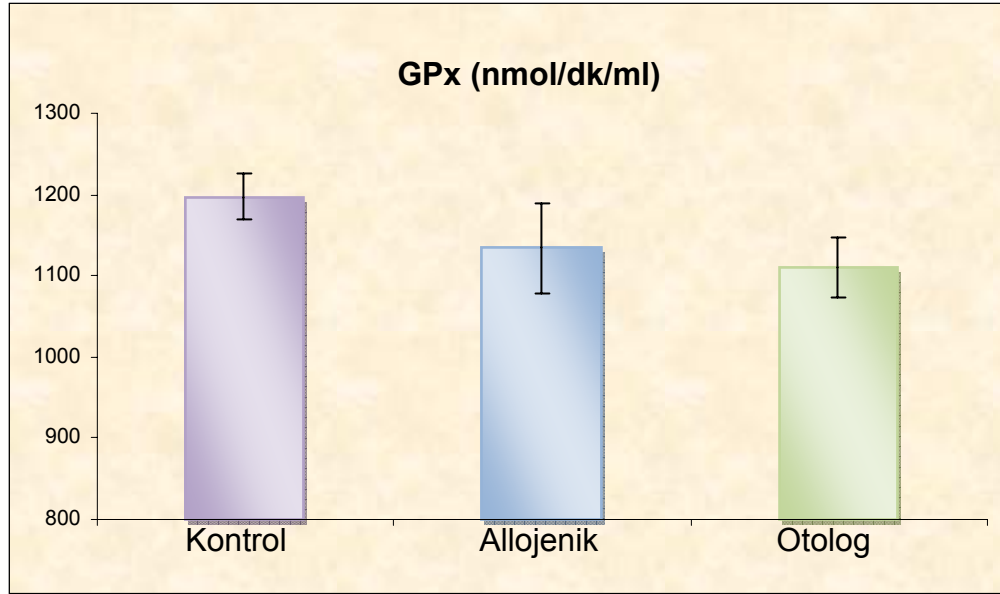
4.11. Allojenik, Otolog ve Hasta Serum Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi

Serum glutasyon peroksidaz düzeyleri için kontrol grubu ile allojenik ve otolog grubu karşılaştırıldığında glutasyon düzeyleri hasta gruplarında kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. Aralarında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmemiştir (**p=0.089; p>0.05**) (grafik 12).

Kontrol grubu ile allojenik grup karşılaştırıldığında allojenik grupta glutasyon peroksidaz seviyesi düşük bulunmuştur. Ancak aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (**p=0.086; p>0.05**).

Kontrol grubu ile otolog grubu karşılaştırılmış. Otolog grubunda glutasyon peroksidaz düzeyi düşük bulunmuştur. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir (**p=0.045; p<0.05**).

Allojenik grup ile otolog grup arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır (**p=0.884**).



Grafik 12: Allojenik, Otolog ve Hasta Serum Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata)

Tablo 20: Allojenik, Otolog ve Hasta Serum Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata)

Glutasyon Peroksidaz (nmol/dk/ml)		
Kontrol	1197.72 $\pm$ 28.13	n=36
Allojenik	1133.78 $\pm$ 55.87	n=26
Otolog	1110.87 $\pm$ 36.36	n=35

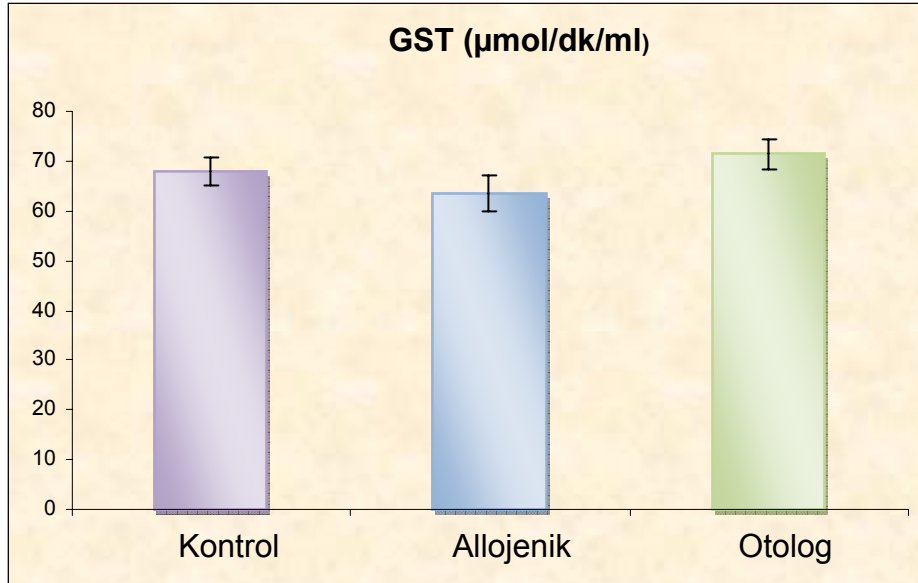
4.12. Allojenik, Otolog ve Hasta Serum Glutasyon S Transferaz Aktivitesi

Serum glutasyon s transferaz düzeyleri için kontrol grubu ile allojenik ve otolog grubu karşılaştırıldığında glutasyon s transferaz düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmemiştir (grafik 13).

Kontrol grubu ile allojenik grup karşılaştırıldığında allojenik grupta glutasyon s transferaz seviyesi düşük bulunmuştur. Ancak aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (**p=0.275; p>0.05**).

Kontrol grubu ile otolog grubu karşılaştırılmış. otolog grupta glutasyon s transferaz düzeyi yüksek bulunmuştur. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (**p=0.264; p>0.05**)

Allojenik grup ile otolog grup arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır (**p=0.101; p>0.05**).



Grafik 13: Allojenik, Otolog ve Hasta Serum Glutasyon S Transferaz Aktivitesi (Ortalama ± Standart Hata)

Tablo 21: Allojenik, Otolog ve Hasta Serum Glutasyon S Transferaz Aktivitesi (Ortalama ± Standart Hata)

Glutasyon S Transferaz GST (μmol/dk/ml)		
Kontrol	68.01 ± 2.72	n= 36
Allojenik	63.51 ± 3.65	n= 26
Otolog	71.39 ± 2.99	n= 35

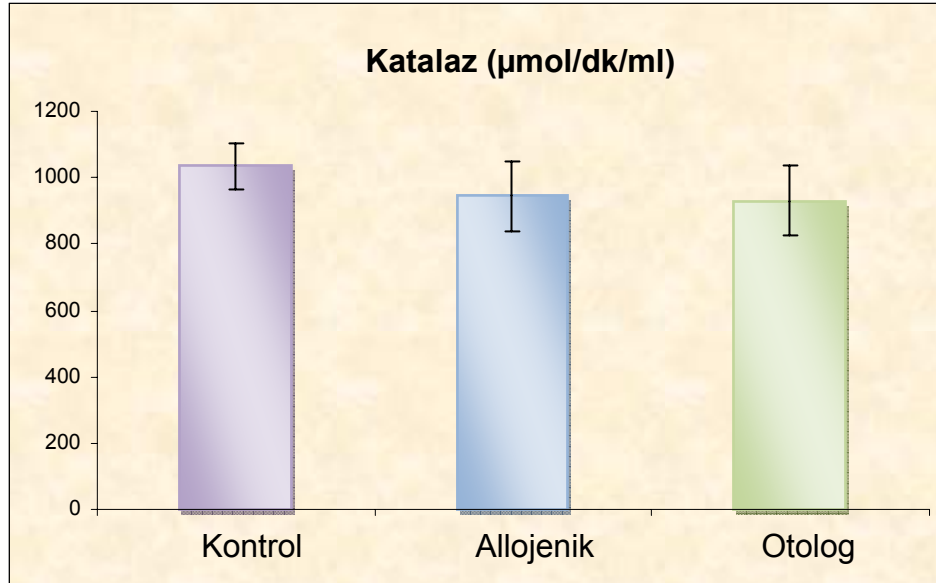
4.13. Allojenik, Otolog ve Hasta Serum Katalaz Aktivitesi

Serum katalaz düzeyleri için kontrol grubu ile allojenik ve otolog grubu karşılaştırıldığında katalaz düzeyleri hasta gruplarında kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. Aralarında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmemiştir (grafik 14).

Kontrol grubu ile allojenik grup karşılaştırıldığında allojenik grupta katalaz seviyesi düşük bulunmuştur, ancak aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmemiştir ($p=0.169$; $p>0.05$).

Kontrol grubu ile otolog grubu karşılaştırılmış, otolog grupta katalaz düzeyi düşük bulunmuştur. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p=0.079$; $p>0.05$).

Allojenik grup ile otolog grup arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.930$; $p>0.05$).



Grafik 14: Allojenik, Otolog ve Hasta Serum Katalaz Aktivitesi (Ortalama ± Standart Hata)

Tablo 22: Allojenik, Otolog ve Hasta Serum Katalaz Aktivitesi (Ortalama ± Standart Hata)

Katalaz (μmol/dk/ml)		
Kontrol	1035.76 ± 69.77	n= 36
Allojenik	944.71 ± 107.54	n= 26
Otolog	931.61 ± 106.31	n= 35

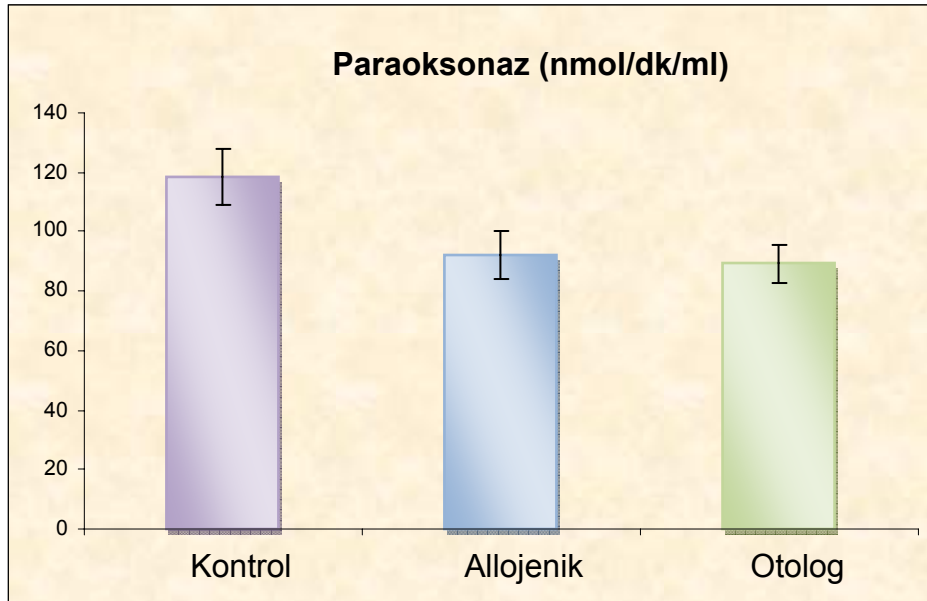
4.14. Allojenik, Otolog ve Hasta Serum Paraoksonaz Aktivitesi

Serum paraoksonaz düzeyleri için kontrol grubu ile allojenik ve otolog grubu karşılaştırıldığında paraoksonaz düzeyleri hasta gruplarında kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. Aralarında fark istatistiksel olarak anlamlı sınır görülmüştür ($p=0.052$; $p>0.05$) (grafik 15).

Kontrol grubu ile allojenik grup karşılaştırıldığında allojenik grupta paraoksonaz seviyesi düşük bulunmuştur. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir ($p=0.058$; $p>0.05$).

Kontrol grubu ile otolog grubu karşılaştırılmış. Otolog grupta paraoksonaz düzeyi düşük bulunmuştur. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir ($p=0.027$; $p<0.05$).

Allojenik grup ile otolog grup arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.890$; $p>0.05$).



Grafik 15: Allojenik, Otolog ve Hasta Serum Paraoksonaz Aktivitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata)

**Tablo 23: Allojenik, Otolog ve Hasta Serum Paraoksonaz Aktivitesi
(Ortalama $\pm$ Standart Hata)**

Paraoksonaz aktivitesi (nmol/dk/ml)		
Kontrol	118.55 $\pm$ 9.25	n= 36
Allojenik	92.29 $\pm$ 7.94	n= 26
Otolog	89.18 $\pm$ 6.08	n= 35

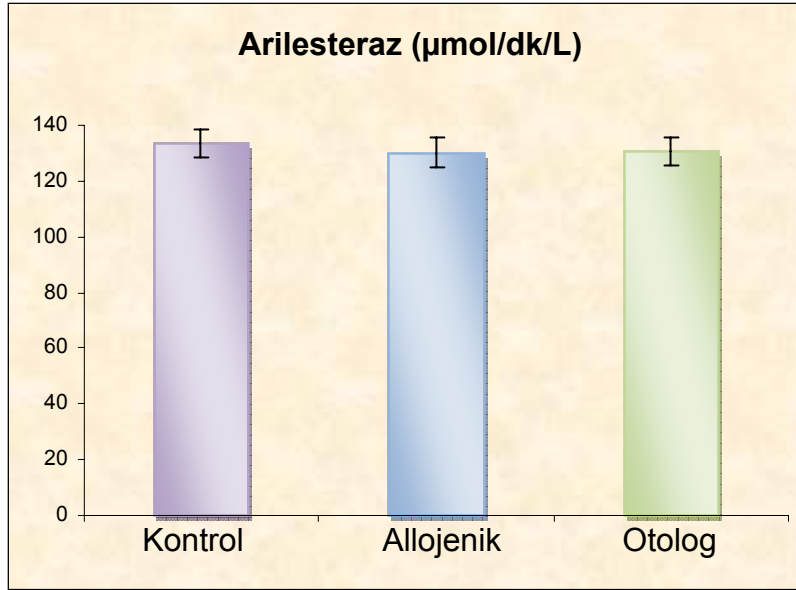
4.15. Allojenik, Otolog ve Hasta Serum Arilesteraz Aktivitesi

Serum arilesteraz düzeyleri için kontrol grubu ile allojenik ve otolog grubu karşılaştırıldığında arilesteraz düzeyleri hasta gruplarında kontrol grubuna göre az farklı bulunmuştur. Aralarında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmemiştir (grafik 16).

Kontrol grubu ile allojenik grup karşılaştırıldığında allojenik grupta arilesteraz seviyesi düşük bulunmuştur, ancak aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir (**p=0.559; p>0.05**).

Kontrol grubu ile otolog grubu karşılaştırılmış. Otolog grubunda arilesteraz düzeyi düşük bulunmuştur. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (**p=0.637; p>0.05**).

Allojenik grup ile otolog grup arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır (**p=0.953; p>0.05**).



Grafik 16: Allojenik, Otolog ve Hasta Serum Ariesteraz Aktivitesi (Ortalama ± Standart Hata)

Tablo 24: Allojenik, Otolog ve Hasta Serum Ariesteraz Aktivitesi (Ortalama ± Standart Hata)

Ariesteraz aktivitesi (μmol/dak/ml)		
Kontrol	133.78 ± 5.13	n= 36
Allojenik	130.12 ± 5.31	n= 26
Otolog	130.65 ± 5.16	n= 35

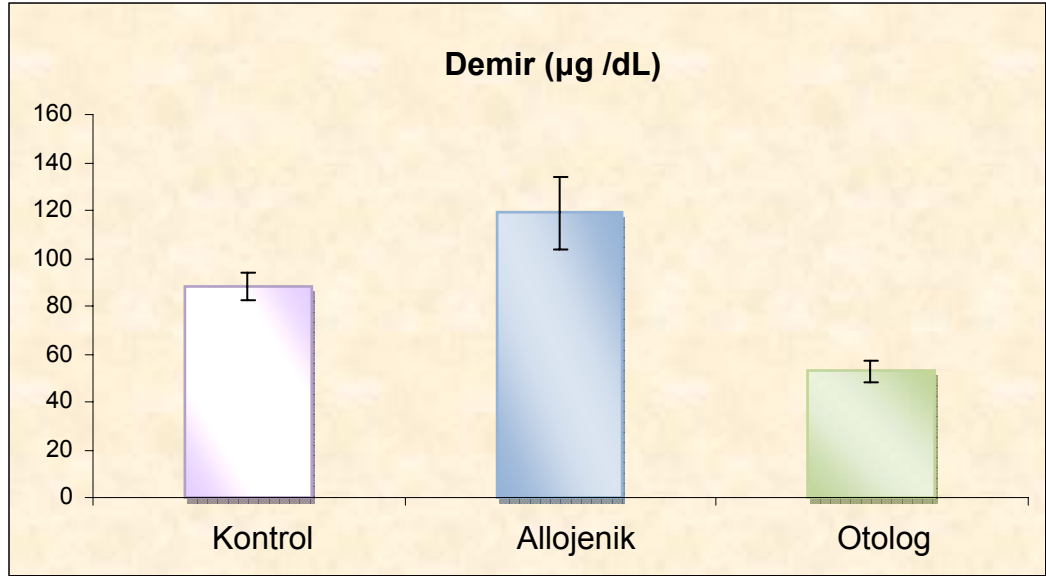
4.16. Allojenik, Otolog ve Hasta Serum Demir Seviyesi

Serum demir düzeyleri için kontrol grubu ile allojenik ve otolog grubu karşılaştırıldığında demir düzeyleri hasta gruplarında kontrol grubuna göre farklı bulunmuştur. Aralarında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmiştir. (**p=0.000; p<0.05**) (grafik 17).

Kontrol grubu ile allojenik grup karşılaştırıldığında allojenik grupta demir seviyesi yüksek bulunmuştur. Ancak aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir (**p=0.454; p>0.05**).

Kontrol grubu ile otolog grubu karşılaştırılmış, otolog grupta demir düzeyi düşük bulunmuştur. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir (**p=0.000; p<0.05**).

Allojenik grup ile otolog grup arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur (**p=0.000; p<0.05**).



Grafik 17: Allojenik, Otolog ve Hasta Serum Demir Seviyesi (Ortalama ± Standart Hata)

Tablo 25 : Allojenik, Otolog ve Hasta Serum Demir Seviyesi (Ortalama ± Standart Hata)

Demir Seviyesi (µg/dL)		
Kontrol	88.36 ± 5.59	n= 36
Allojenik	118.81 ± 15.41	n= 26
Otolog	61.08 ± 6.58	n= 35

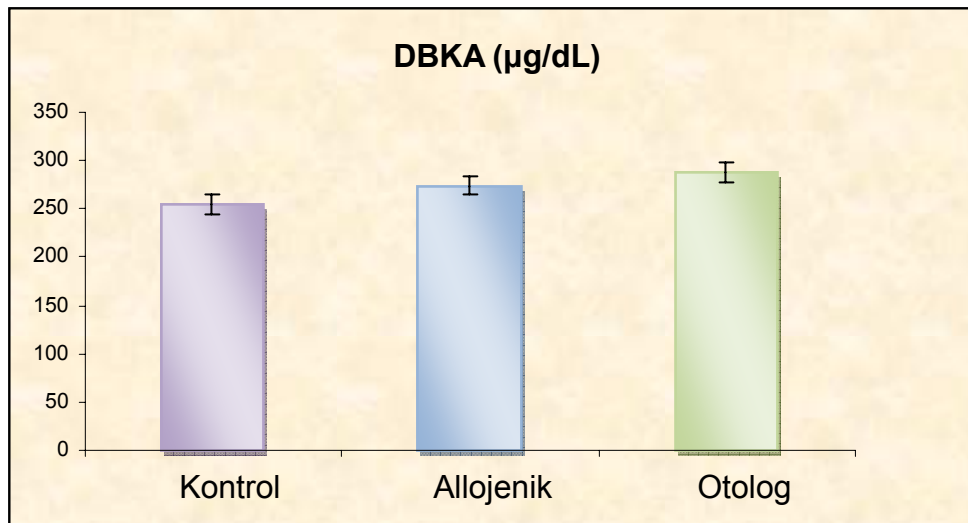
4.17. Allojenik, Otolog ve Hasta Serum Demir Bağlama Kapasitesi

Serum demir bağlama kapasitesi düzeyleri için kontrol grubu ile allojenik ve otolog grubu karşılaştırıldığında demir bağlama kapasitesi düzeyleri hasta gruplarında kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Aralarında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmemiştir ($p=0.032$; $p<0.05$) (grafik 18).

Kontrol grubu ile allojenik grup karşılaştırıldığında allojenik grupta demir bağlama kapasitesi düzeyi yüksek bulunmuştur. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir ($p=0.164$; $p>0.05$).

Kontrol grubu ile otolog grubu karşılaştırılmış, otolog grubunda demir bağlama kapasitesi düzeyi yüksek bulunmuştur. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir ($p=0.009$; $p<0.05$).

Allojenik grup ile otolog grup arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur ($p=0.314$; $p>0.05$).



Grafik 18: Allojenik, Otolog ve Hasta Serum Demir Bağlama Kapasitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata)

Tablo 26: Allojenik, Otolog ve Hasta Serum Demir Bağlama Kapasitesi (Ortalama $\pm$ Standart Hata)

Demir Bağlama Kapasitesi ($\mu\text{g/dL}$)		
Kontrol	255.30 $\pm$ 13.63	n= 36
Allojenik	274.15 $\pm$ 13.68	n= 26
Otolog	288.48 $\pm$ 12.16	n= 35

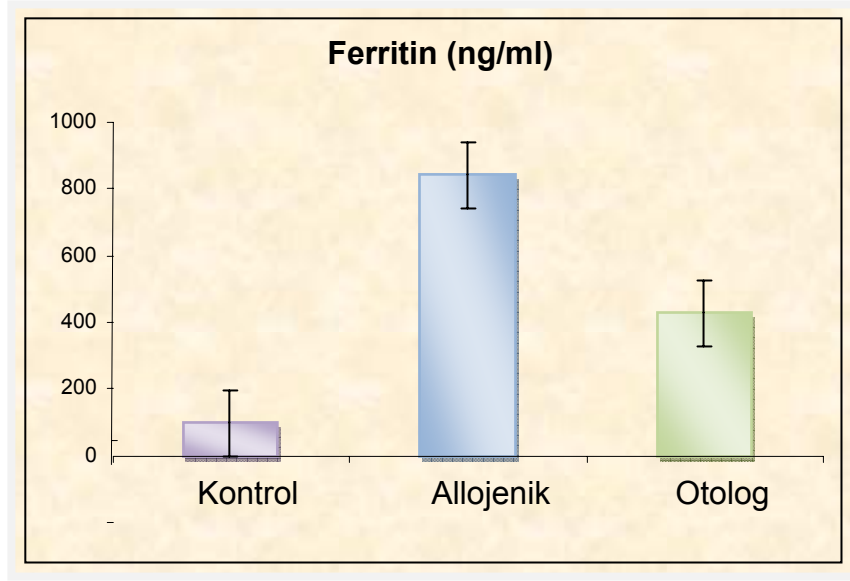
4.18. Allojenik, Otolog ve Hasta Serum Ferritin Seviyesi

Serum ferritin düzeyleri için kontrol grubu ile allojenik ve otolog grubu karşılaştırıldığında ferritin düzeyleri hasta gruplarında kontrol grubunda göre yüksek bulunmuştur. Aralarında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmiştir (**p=0.000; p<0.05**) (grafik 19).

Kontrol grubu ile allojenik grup karşılaştırıldığında allojenik grupta ferritin düzeyi yüksek bulunmuştur. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir (**p=0.000; p<0.05**).

Kontrol grubu ile otolog grubu karşılaştırılmış, Otolog grubunda ferritin düzeyi yüksek bulunmuştur. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir (**p=0.001; p<0.05**).

Allojenik grup ile otolog grubu karşılaştırıldığında, allojenik grubunda ferritin düzeyi yüksek bulunmuştur. Aralarında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmiştir (**p=0.011; p<0.05**).



Grafik 19: Allojenik, Otolog ve Hasta Serum Ferritin Seviyesi (Ortalama ± Standart Hata)

Tablo 27: Allojenik, Otolog ve Hasta: Serum Ferritin Seviyesi (Ortalama ± Standart Hata)

Ferritin (ng/ml)		
Kontrol	98.84 ± 17.05	36
Allojenik	841.94 ± 176.34	26
Otolog	428.10 ± 109.51	35

4.19. Spearman Korelasyon Analizi

Parametreler arasındaki korelasyonu incelemek amacıyla yaptığımız spearman korelasyon analizi tablo 28’de gösterilmiştir.

Tablo 28: Spearman korelasyon analizi sonuçları (r ve p değerleri).

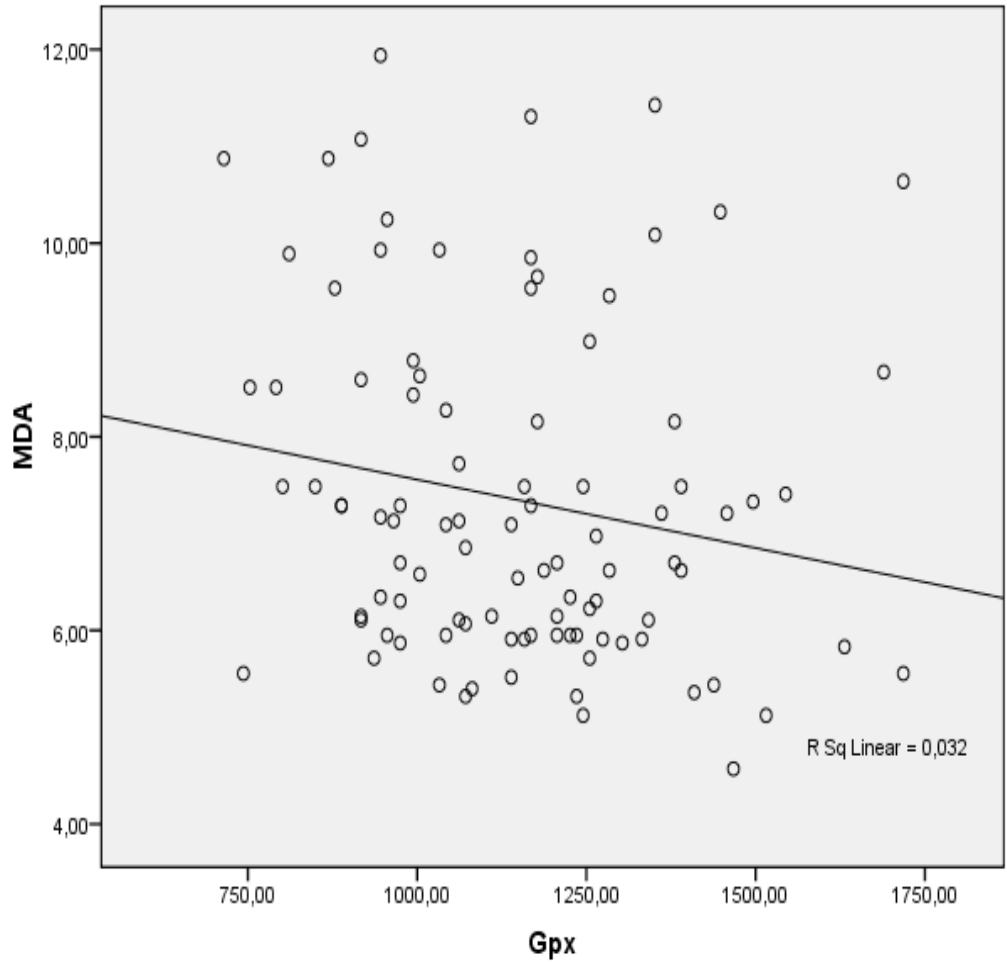
	MDA	GPx	GST	KATALAZ	ARİLES T	PARAOK SONAZ	DEMİR	DBK	FERRİTİN
MDA	---	r=-0.224* p=0.028	r=0.249* p=0.014	r=-0.141 P=0.168	r=-0.030 p=0.771	r=-0.132 p=0.199	r=-0.113 p=0.268	r=0.049 p=0.631	r=0.096 p=0.348
GPX	r=-0.224* p=0.028	---	r=-0.044 p=0.668	r=0.052 p=0.614	r=0.023 p=0.822	r=0.134 p=0.189	r=0.052 p=0.611	r=-0.011 p=0.911	r=-0.119 p=0.246
GST	r=0.249* p=0.014	r=-0.044 p=0.668	---	r=-0.050 p=0.627	r=0.198 p=0.052	r=0.132 p=0.197	r=-0.250* p=0.014	r=-0.212* p=0.037	r=-0.016 p=0.873
KATALAZ	r=-0.141 p=0.168	r=0.052 p=0.614	r=-0.050 p=0.627	---	r=0.184 p=0.072	r=0.123 p=0.231	r=0.015 p=0.887	r=-0.056 p=0.587	r=-0.053 p=0.609
ARİLESTE RAZ	r=-0.030 p=0.771	r=0.023 p=0.822	r=0.198 p=0.052	r=0.184 p=0.072	---	r=0.207* p=0.041	r=-0.092 p=0.373	r=-0.035 p=0.732	r=0.059 p=0.564
PARAOKS ONAZ	r=-0.132 p=0.199	r=0.134 p=0.189	r=0.132 p=0.197	r=0.123 p=0.231	r=0.207* p=0.041	---	r=0.092 p=0.369	r=-0.045 p=0.659	r=-0.090 p=0.378
DEMİR	r=-0.113 p=0.268	r=0.052 p=0.611	r=-0.250* p=0.014	r=0.015 p=0.887	r=-0.092 p=0.373	r=0.092 p=0.369	---	r=-0.341** P=0.001	r=0.098 p=0.341
DBK	r=0.049 p=0.631	r=-0.011 p=0.911	r=0.212* p=0.037	r=-0.056 p=0.587	r=-0.035 p=0.732	r=-0.045 p=0.659	r=-0.341** p=0.001	---	r=-0.282** p=0.005
FERRİTİN	r=0.096 p=0.348	r=-0.119 p=0.246	r=-0.016 p=0.873	r=-0.053 p=0.609	r=0.059 p=0.564	r=-0.090 p=0.378	r=0.098 p=0.341	r=-0.282** p=0.005	---

****güçlü korelasyon**

*** zayıf korelasyon**

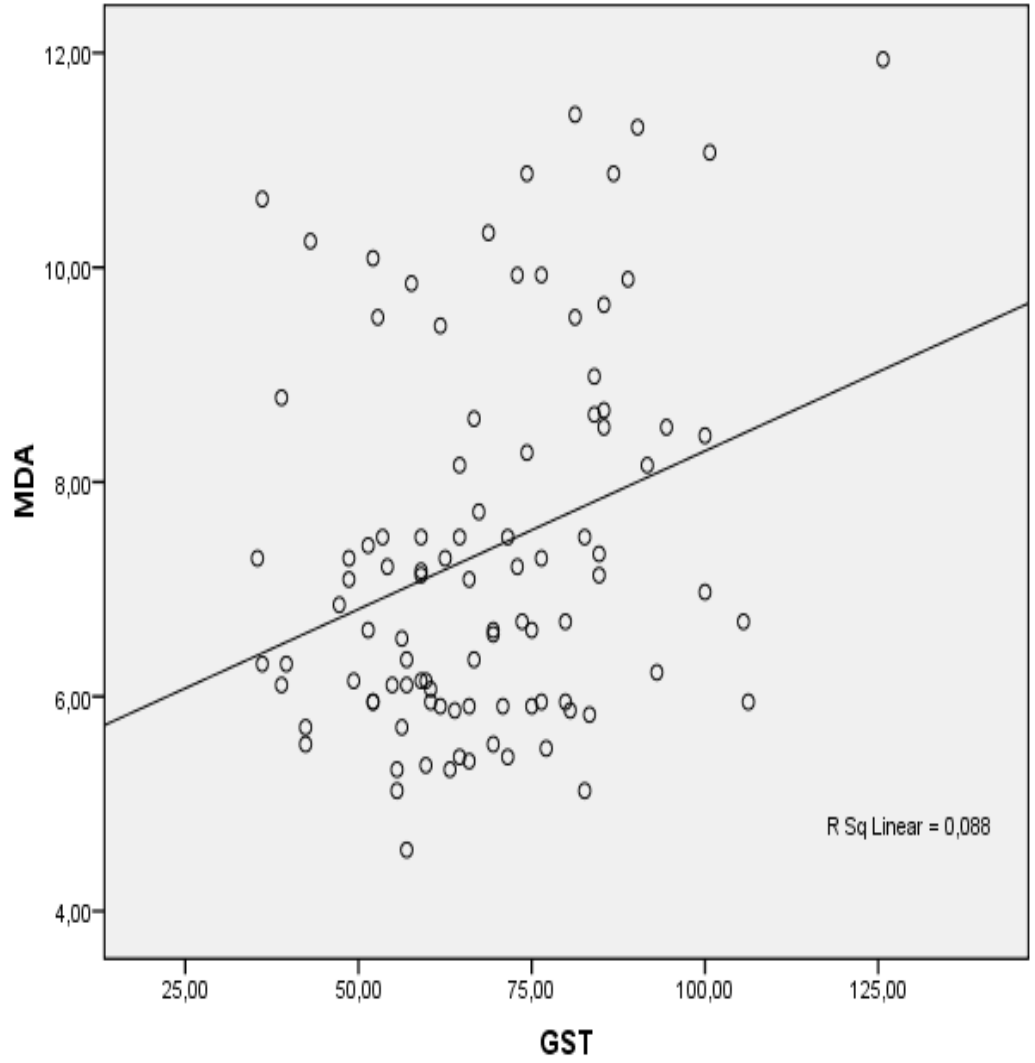
Spearman korelasyon analizi sonuçlarına göre :

Serum MDA ile serum GPx aktivitesi arasında negatif korelasyon bulunmuştur. Serum MDA düzeyi azalırken GPx aktivitesi artmıştır ($r = -0.224$; $p = 0.028^*$), (grafik 20).



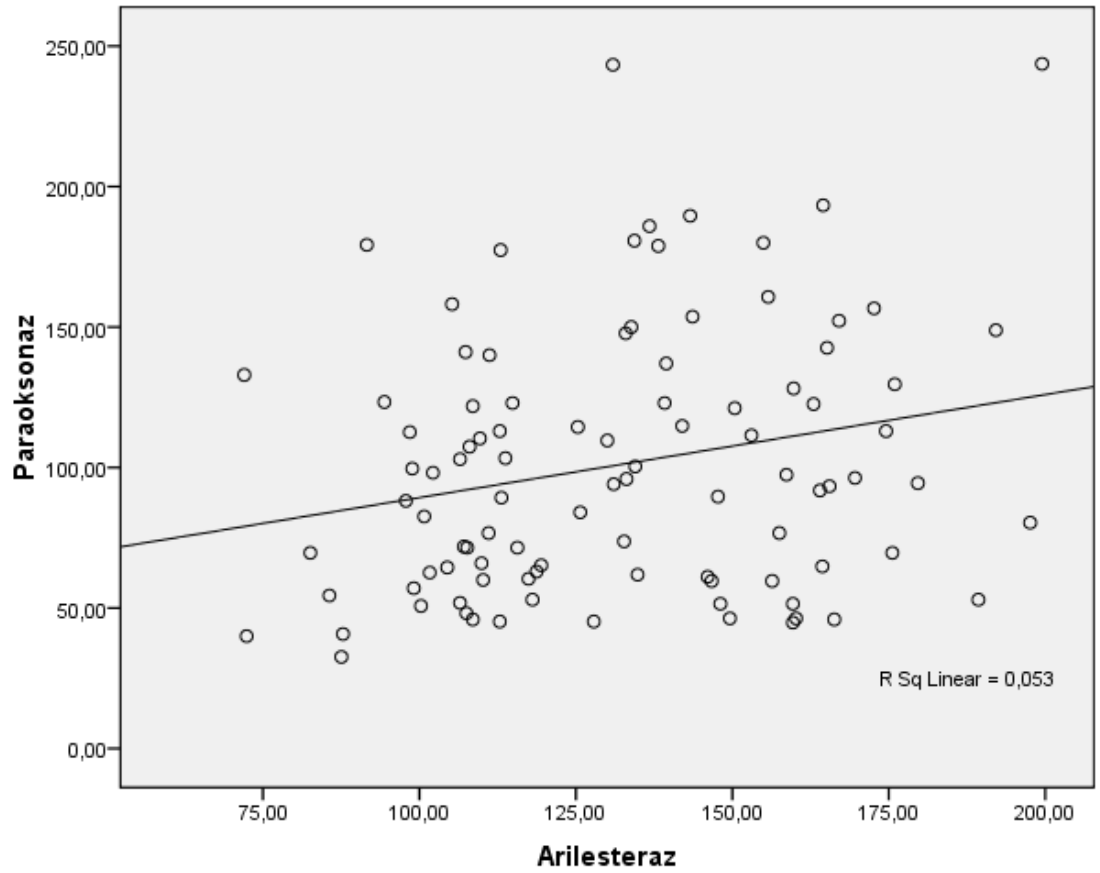
Grafik 20: Serum MDA düzeyleri ile serum GPx aktivitesi arasındaki korelasyon.

Serum MDA ile serum GST aktivitesi arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Serum MDA düzeyi artarken GST aktivitesi de korole bir şekilde artmıştır ($r = 0.249$; $p = 0.014^*$), (grafik 21).



Grafik 21: Serum MDA düzeyleri ile serum GST aktivitesi arasındaki korelasyon.

Serum paraoksonaz ile serum arilesteraz aktivitesi arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Serum paraoksonaz düzeyi artarken serum arilesteraz aktivitesi de korole bir şekilde artmıştır ($r = 0.207$; $p = 0.041^*$), (grafik 22).



Grafik 22: Serum paraoksonaz ile serum arilesteraz aktivitesi arasındaki korelasyon.

5. TARTIŞMA

HKHN malign ve malign olmayan kan hastalıklarında önemli bir müdahaledir. Bununla beraber HKHN'nin mortalite ve morbidite ile önemli bir ilişkisi bulunmaktadır, bu ilişki biraz da demir yüklenmesiyle ilgilidir. Demir metabolizmasının bozulması, transplantasyon öncesi transfüzyonlar veya HKHN öncesi sitotoksik terapiler sonucunda olup, serum demir seviyesi kök hücre transplantasyonu yapılacak hastalarda yükselmektedir. Demir yüklenmesinin HKHN hastalarındaki komplikasyonları enfeksiyonlar, mukositler, kronik karaciğer hastalıkları, sinosidal obstrüksiyon sendromu ve idiopatik pnömoni sendromunu içerir. Demir yüklenmesinin β talasemi veya myelodisplastik sendromları da içeren hematolojik malignitelerde HKHN tedavisi gören hastaların sağ kalımı üzerinde ters etkileri vardır ³¹.

Donörün kaynağına göre allojenik ve otolog olmak üzere iki tip transplantasyon bulunur. Allojenik transplantasyonda, kök hücreler doku uyumlu vericiden olup, akraba olmasına bakılmaksızın hastaya verilir. Otolog transplantasyonda ise hastanın kendi hematopoietik kök hücreleri kullanılır. Otolog transplantasyonun allojenik prosedüre göre avantajı hematopoietik kök hücrelerin büyük miktarda bulunabilmesi ve GVHD'yi engellemesi nedeniyledir. Bu durum daha az morbidite, mortalite ve ekonomik maliyete neden olur. En büyük dezavantaj potansiyel dokunun tümör hücreleri ile kontamine olmasıdır ². Demir organizmada gerekli bir elementtir ve oksijen transportu ve elektron transferi dahil pek çok biyokimyasal tepkimede önemli bir role sahiptir. Bununla birlikte demirin fazlası hidrojen peroksidi reaktif oksijen türlerine dönüştürerek protein oksidasyonu, membran lipid peroksidasyonu ve nükleik asit modifikasyonu yolu ile doku hasarına neden olabilir. HKHN öncesi demir artışının bir dizi komplikasyondan sorumlu olduğu görünmektedir ³.

Demir artışı HKHN olan kırmızı hücre transfüzyonu-bağımlı hastalarda yaygın bir problemdir. Demir artışının ters etkilerine en güçlü kanıt HKHN olan talasemi kaynaklarından verilebilmektedir ¹¹⁶. Demir artışı transplantasyon öncesi serum ferritini ölçülen HKHN alıcılarında, özellikle de hemoglobinopatiler, akut lösemi ve myelodisplastik sendromlarında yaygın görülmektedir. Kırmızı hücre transfüzyon tedavisi kronik anemi için yardımcı bir tedbir olup böyle hastalarda en önemli demir artışı nedeni olduğu görülmüştür ¹¹⁷.

Bu çalışmamızda serum demir seviyesi kontrol ve hasta grubu karşılaştırıldığında, gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (**p=0.021; p<0.05**). Serum demir bağlama kapasitesi düzeyi kontrol ve hasta grubu karşılaştırıldığında, kontrol ve hasta grubu arasındaki fark önemlidir. İstatistiksel olarak önemli fark bulunmuştur (**p=0.015; p<0.05**). Serum ferritin seviyesi kontrol ve hasta grubu karşılaştırıldığında, hasta grubunda önemli oranda artmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (**p=0.000; p<0.05**).

Armand ve ark ¹¹⁸. yaptıkları bir çalışmanın analizinde myeloablatif allojenik HKHN yapılan 543 yetişkin hastada transplantasyon öncesi yüksek serum ferritin seviyelerinin genel olarak düşük hastalıksız sağ kalımla ilişkisi olduğunu rapor etmiştir. İleriye yönelik myeloablatif HKHN olan 190 yetişkin hastası bulunan bir çalışmada artmış transplantasyon öncesi serum ferritini artmış ölüm riski, 100. gün ölüm oranı, akut GVHD, kan dolaşım enfeksiyonları ve ölüm ile bağlantılı olduğu belgelenmiştir ¹¹⁹. Oral yoldan busulfan kullanımı ile ferritin düzeyleri artmış hastalarda Hepatik veno-oklisif hastalık/sinozidal-tıkanma-sendromu şeklinde görünen HKHN toksisitesi artış göstermiştir ¹²⁰.

Gözlemsel yapılan 20 yıllık bir çalışmada orak hücre hastalığı olan 247 yetişkin hastada demir yüklenmesi olan hastalar akut

ağrılı ve organ yetmezliği öyküsü sergilemiştir. Aşırı demir artışı olan orak hücre hastalarının demir artışı olmayan hastalara göre ölüm oranları yüksek gözlenmiştir ¹²¹.

Demir yükünü tahmin etmek için kullanılan en yaygın test plazma veya serum ferritin konsantrasyonudur ¹²².

Myelodisplastik sendrom veya aplastik anemi hastalarında kardiyak ve karaciğer yetmezliği nedeniyle ölümler yapılan bir analizle serum ferritin seviyeleri 1000 µg/L üzerinde olduğunda gözlenmiştir ¹²³.

Serum ferritin seviyesi ayrıca kronik karaciğer hastalıklarında ve malignitelerde yüksek görülmüştür ¹²⁴.

Önceki çalışmalar transplantasyon öncesi yüksek serum ferritin seviyesinin demir artışının bir işareti olduğunu göstermiştir. Demir artışı düşük genel sağkalımla ve hematolojik maligniteler için myeloablatif allojenik HKHN yapılan hastalarda artmış ölümle ilişkili bulunmuştur ¹¹⁸.

Kataoka ve ark ¹²⁵. hematolojik maligniteler için allojenik HKHN yapılan 264 yetişkin hastanın kayıtlarını gözden geçirmiş. Transplantasyon öncesi serum ferritin medyan değerini 599 ng/mL (5-8128 ng/mL) tespit etmiştir. Transplantasyon öncesi serum ferritin ile genel sağkalım arasında güçlü bir ilişki bulmuştur. Yüksek ferritin değerine sahip hastalarda genel sağkalımdaki düşüş artmış nüksetmeyen ölüme atfedilmiştir. Nüksetmeyen ölüm, enfeksiyon ve organ yetmezliğini açıklayabilecek çeşitli nedenler arasında anlamlı olarak yüksek ferritin seviyesi bulunmuştur. Bu bulgular önceki raporlarda geçen demir yüklenmesi ve transplantasyon bağımlı komplikasyonlardan enfeksiyon ve kronik karaciğer hastalıkları bağlantısı ile HKHN sonrası uyusmaktadır.

Hastaliksız ve genel sağ kalım transfüzyon-ilifkili demir-yüklenen ve kök hücre transplantasyonu olan bir grup hastada daha düşük çıkmıştır ¹²⁶. Ferritin değerinin yaklaşık olarak 685 ng/ml olması nüks ve nükse bağlı ölüm ile ilifkili bulunmuştur. Fakat Hodgkin veya non-Hodgkin lenfomalar için otolog hematopoietik kök hücre transplantasyonu olan geniş bir hasta grubunda nüksetmeyen ölüm ile ilifkili görölmemiştir ¹²⁷. Yüksek serum ferritin artmış ölüm riskiyle ilifkili olup, 100. günde ölüm oranı , akut GVHD ve dolaşım sistemi enfeksiyonları artmıştır ¹¹⁹.

Son yıllarda, bir dizi çalışma transplantasyon öncesi yüksek serum ferritin seviyelerinin HKHN sonrası talasemi olmayan hastalarda sağkalım üzerinde etkilerini araştırmıştır. Çalışmaların çoğu retrospektif olmasına rağmen, sonuçlar anlaşılır görölmüştür; komplikasyonların insidansında artış yüksek demir yükü ile ilifkili olup HKHN sonrası özellikle MDS li ve akut lösemili hastalarda düşük genel sağkalıma neden olmuştur ¹¹⁹. Bu veriler yüksek transplantasyon öncesi serum ferritin seviyelerinin posttransplant komplikasyonlar ve sağkalım üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. HKHN öncesi serum ferritin seviyesi allojenik transplantasyon yapılan MDS veya akut lösemi hastaları için prognoza son zamanlarda dahil edilmiştir ¹²⁸.

Oksidatif stres serbest radikaller, reaktif oksijen türleri ve endojen antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengede bir bozulma olarak tanımlanmıştır. Oksidatif stres, proteinler, DNA ve membran lipidleri gibi tüm önemli hücresel bileşenlerin zarar görmesine ve hücre ölümüne neden olabilmektedir. Oksidatif stresin DNA hasarı, proliferasyon, hücre yapışması ve sağkalım gibi çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde rol aldığı gösterilmiştir. Ayrıca birkaç deneysel ve klinik veri oksidatif stresin karsinogenezinde dahil olduğu pek çok patolojik duruma katıldığını gösteren kanıtlar sağlamıştır ¹²⁹.

Bu çalışmamızda serum MDA düzeyleri için kontrol grubu ile hasta grubu karşılaştırıldığında MDA düzeylerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek görüldüğü tespit edilmiştir. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (**p=0.004; p<0.05**). Serum glutatyon peroksidaz aktivite düzeyleri karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre hasta grubunda düşüş tespit edilmiştir. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (**p=0.028; p>0.05**). Serum GST aktivitesi için kontrol ve hasta grupları arasında önemli bir fark tespit edilememiş olup, istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır (**p=0.878; p>0.05**). Serum katalaz aktivitesi hasta gruplarda kontrole göre azalmış olarak bulunmuş ancak kontrol ve hasta grupları arasında aktivite istatistiksel olarak anlamlı görülmemiştir (**p=0.063; p>0.05**). Serum paraoksonaz aktivite seviyesi hasta gruplarda, kontrol grubuna göre önemli farklı bulunmuştur. İstatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir (**p=0.015; p<0.05**). Serum arilesteraz aktivite seviyesi kontrol ve hasta gruplarda önemli fark tespit edilmemiştir. İstatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (**p=0.540; p<0.05**).

Membran poliansatüre yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu oluşan malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonunun en önemli göstergelerinden birisidir ¹³⁰. Antioksidanlar, serbest oksijen radikallerinin hedef dokularda yapacakları hasarı önleyen, geciktiren veya meydana gelen hasarın tamirinde görev alan maddelerdir. Antioksidanlar, enzimatik ve non-enzimatik olmak üzere iki grup altında toplanırlar. Enzimatik antioksidanlar; SOD, katalazve GPx, non-enzimatik antioksidanlar ise vitamin E, vitamin C, vitamin A (α -karoten), selenyum, transferin ve laktoferrindir. Antioksidanlar sıklıkla intrasellüler bazen de ekstrasellüler olabilirler ¹³⁰.

Serbest radikal ve antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması sonucunda oksidatif stresin artabileceği, DNA dizisinde kırıklar

oluşturarak kanser dahil pek çok hastalığa neden olabileceği görülmüştür¹³¹. Bakan ve ark¹³². kronik lösemili olgularda serum GSH-Px ve Cu-ZnSOD seviyesini kontrol grubundan düşük, NO ve MDA seviyesini ise kontrol grubundan yüksek bulmuş ancak glutatyon redüktaz seviyesinde anlamlı bir fark bulamamıştır.

Singh ve ark¹³³. akut lösemi tanısı almış olgularda serum MDA seviyelerinin kontrol grubuna göre artışını tespit etmiştir . Abou-Seif ve ark¹³⁴. yeni tanı almış ALL hastalarının MDA seviyelerinin normalden yüksek olduğunu ve tedavi sonrasında düştüğünü tespit etmiştir. Yine aynı şekilde Dağdaş ve ark¹³⁵. AML'li hastalarda serum MDA seviyesinin kontrol grubuna nazaran arttığını bildirmişlerdir.

Akut lösemiler dışındaki hematolojik malignitelerde de buna benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bolaman ve ark¹³⁶. multipl myelomalı hastalarda serum MDA seviyesinin arttığını bildirmişlerdir.

Berköz ve ark¹³⁷. yaptıkları çalışmada serbest oksijen radikali ve lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA seviyesinde anlamlı bir artış, antioksidan savunma sisteminin önemli bir komponenti olan katalaz seviyesinde ise anlamlı bir azalma gözlemişlerdir.

Farklı kanser tiplerinde GSH ve GSH bağımlı enzimlerle ilgili raporlar tartışmalıdır. Bazı araştırmacılar kanserli hastaların kanlarında antioksidan aktivite seviyesini (GSH, GSHPx, GST, GSHR) düşük bulurken¹³⁸, bazıları da farklı tümörleri olan hastalarda GSH seviyesini ve GSH-bağımlı enzim aktivitelerini yüksek bulmuşlardır¹³⁹. Ścibior ve ark¹⁴⁰. gastrik kanseri hastalarında GST aktivitesinde kontrol grubuna göre kayda değer artış gözlemişlerdir.

Bizim bu çalışmada ise hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında GST aktivitesinde anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Gruner ve ark ¹⁴¹. akciğer kanseri hastalarının CAT ve SOD aktivitelerini kontrol grubu ile karşılaştırdıklarında önemli bir düşüş gözlemişlerdir.

Depresyon hastalarının oksidan ve antioksidan savunma sistemlerinin bozulduğu kanıtlanmıştır. Özcan ve ark ¹⁴². GSH-Px, CAT, SOD ve NO nun konsantrasyonlarının duygusal bozukluk hastalarında düşük olduğunu rapor etmiştir, oysa MDA konsantrasyonları depressif olmayan bireylerle karşılaştırıldığında yüksek çıkmıştır. Oksidatif stres metabolizmasında bozulma değişmiş tümör hücrelerin genel özelliği olarak gözlenmiştir ¹⁴³.

Battisti ve ark ¹⁴⁴. SOD ve CAT aktivitelerinin ALL hastalarında azaldığını göstermişlerdir. Oltra ve ark ¹⁴⁵. düşük SOD ve CAT aktivitelerinin kronik lenfositik lösemi (CLL) hastalarında düşük olduğunu doğrulamıştır. Benzer sonuçlar; CAT ve SOD aktivitelerinin ALL hastalarının lenfositlerinde azaldığı, Sentuerker ve ark ¹⁴⁶. tarafından rapor edilmiştir.

PON1 üç genli bir ailenin üyesi olup aynı zamanda PON2 ve PON3 de kapsar. Hepsi insan 7.ci kromozomunun (q21.22) uzun kolu üzerinde ard arda kümelenmiştir. PON 1 başlıca karaciğerden sentezlenir ve bir kısmı plazmaya salgılanır. Plazmada yüksek densiteli lipoproteinlere (HDL) bağlanır. PON1 hem düşük dansiteli lipoproteinleri (LDL), hem de HDL yi oksidasyondan korur ¹⁴⁷.

Camuzcuoğlu ve ark ¹⁴⁸. yumurtalık kanseri bireylerde PON1 aktivitesini kontrol grubu ile karşılaştırdıklarında önemli derecede düşük

gözlemişlerdir. Akcay ve ark¹⁴⁹. pankreatik ve gastrik kanseri hastalarında PON ve HDL düzeyleri sağlıklı bireylerle karşılaştırdıklarında düşük bulmuştur. Benzer şekilde, Elkiran ve ark¹⁵⁰. Serum PON1 ve ARE aktivitesinin akciğer kanseri hastalarında önemli derecede düşük olduğunu bulmuştur. Fakat metastaz durumunun akciğer kanseri hastalarında serum PON1 aktivitesini etkilemediğini gözlemişlerdir. Tersine, Korpicka ve ark¹⁵¹. azalmış PON1 aktivitesinin gastroözofajal kanser hastalarında lenf nodu metastazının işareti olduğunu bulmuştur.

Çayır ve ark¹⁵². serum bazal PON1, tuzla uyarılan PON1 ve ARE aktivitelerinin özofajal kanserli hastalarda sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında önemli derecede yüksek olduğunu göstermiştir.

Çalışmamızda serum MDA seviyesi yönünden Kontrol grubu ile allojenik grup karşılaştırıldığında allojenik grupta MDA yüksek bulunmuştur. Ancak aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (**p=0.067; p>0.05**). Kontrol grubu ile otolog grubu karşılaştırılmış, otolog grubunda MDA düzeyi yüksek bulunmuş olup, aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (**p=0.003; p<0.05**). Allojenik grup ile otolog grup arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır (**p=0.274**).

Bu çalışmada serum glutatyon peroksidaz aktivite seviyesi için kontrol grubu ile allojenik grup karşılaştırıldığında allojenik grupta glutatyon peroksidaz seviyesi düşük bulunmuştur. Ancak aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (**p=0.086; p>0.05**). Kontrol grubu ile otolog grubu karşılaştırılmış, hasta grubunda glutatyon peroksidaz düzeyi düşük bulunmuştur. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (**p=0.045; p>0.05**). Allojenik grup ile otolog grup arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır (**p=0.884**).

Çalışmamızda serum paraoksonaz seviyesi yönünden kontrol grubu ile allojenik grup karşılaştırıldığında allojenik grupta paraoksonaz seviyesi düşük bulunmuştur. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir (**p=0.058; p<0.05**). Kontrol grubu ile otolog grubu karşılaştırılmış. Otolog grupta paraoksonaz düzeyi düşük bulunmuştur. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir (**p=0.027; p<0.05**). Allojenik grup ile otolog grup arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır (**p=0.890; p>0.05**).

Bu çalışmada serum ferritin düzeyleri yönünden kontrol grubu ile allojenik grup karşılaştırıldığında allojenik grupta ferritin düzeyi yüksek bulunmuştur. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir (**p=0.000; p<0.05**). Kontrol grubu ile otolog grubu karşılaştırılmış. Otolog grubunda ferritin düzeyi yüksek bulunmuştur. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir (**p=0.001; p<0.05**). Allojenik grup ile otolog grubu karşılaştırıldığında, allojenik grupta ferritin düzeyi yüksek bulunmuştur. Aralarında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmiştir (**p=0.011; p<0.05**).

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar göstermektedir ki hematolojik hastalıkların gelişiminde oksidatif stresin önemli olduğu, antioksidan enzim seviyelerine bakılarak tespit edilebilir. Oksidatif stresin mekanizmalarının açığa çıkarılması ile fonksiyonel gruplarda ne tür işlevsel etkileşimlere neden oldukları tam olarak açığa çıkarılabilir. Fonsiyonel grup hasarlarına karşı antioksidanlar geliştirebilir veya doğada antioksidan özelliği olan pek çok bitki ekstraktı besinlerle birlikte ek olarak alınarak savunma desteklenebilir. Oksidatif stres belirteci olarak MDA seviyesinin bakılması önemlidir. Yaygın olarak serum seviyeleri tespit edilen SOD, CAT ve GPx in yanı sıra paraoksonaz da önemli bir antioksidan enzim olarak bakılabilir. Arilesteraz ve GST enzimleri için daha fazla sayıda bireyde ve farklı doku hasarlarında seviyeleri bakıldığında

faydalı olabilir. Hematolojik hastalıklarda en önemli hasar kaynağı olarak serbest demir, en iyi depo formu ve göstergesi olarak ise ferritin seviyesi önemlidir. Antioksidan enzim aktiviteleri ile ferritin düzeyleri arasında korelasyon görülmemiştir. Ferritin yeterince çalışılmış olup oksidatif stres ve demir yüklenmesinin güvenilir bir belirteci olarak kullanılabilir. Hasta sayısı arttırıldığında ve belirli bir hastalık grubu çalışıldığında güvenilir sonuçlar elde edilebilir.

6. SONUÇLAR

Hematolojik hastalıklar pek çok etkileşimle hemen her yaşta görülebilen insidansı olan hastalıklardır. Tanı koymada kullanılan belirteçlerden bu çalışmada önemli olduğu istatistiksel olarak da görülen ferritindir. Demirin depo formu olarak önemlidir, oksidatif stres oluşumuna fenton reaksiyonlarıyla girdiği deneysel olarak da kanıtlanan demirin göstergesi olarak malignitelerde transplantasyon öncesi seviyesi bakılarak, genel sağ kalımda etkisi istatistiksel olarak analiz edilebilir.

MDA'nın bir lipid peroksidasyonu son ürünü olması ve seviyesinin kolay tespiti oksidasyon belirteci olarak kullanımını önemli hale getirmektedir. Oksidatif stresin etkisi hesaplandığında MDA'nın bakılması gereken en önemli belirteçlerden biri olduğu bu çalışmada da tespit edilmiştir.

Oksidatif stresle ilişkili hastalıklarda aktivite seviyeleri yaygın olarak bakılan antioksidan enzimlerden CAT ve GPx bu çalışmada hasta grubunda kontrol grubuna göre düşük çıkmıştır. Fakat istatistiksel olarak anlamlılığı çalışılan hasta sayısı artırılarak test edilmelidir. GST aktivitesi tespitinde gruplar arasında fark bulunmamıştır.

Paraoksonaz ve aynı gen ailesine bağlı etkisi olduğu bilinen arilesteraz aktiviteleri de çalışılmış olup, paraoksonazın gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklı aktivite gösteren bir enzim olduğu görüldü. Paraoksonaz enzim seviyesi hastalarda düşük çıkmıştır. Arilesteraz seviyesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Paraoksonaz ROS artışına karşı koruma sağladığından serum aktivite değeri azalan en önemli enzimlerden biri olarak bulunmuştur.

Allojenik ile otolog gruplar arası ve her bir grubun kontrol grubu ile istatistiksel analizlerinin daha güvenilir bir sonucunu elde etmek için hasta sayısının arttırılması ve alt gruplarında çalışılması olası veri evrenine ulaşmak için iyi bir yaklaşım olabilir.

7. Özet

Kök hücre transplantasyonu hastalarında serum demir parametreleri ile paraoksonaz, arilesteraz ve oksidatif stres belirteçlerinin ilişkisinin incelenmesi

Hematopoietik kök hücre nakli (HKHN) çeşitli malign ve malign olmayan hastalıkların tedavisinde artarak kullanılmaktadır. HKHN aynı zamanda morbidite ve mortalite ile artmış demir düzeyi üzerinden ilişkilendirilmektedir. Dokularda ve sistemik dolaşımda demir artışının önemli derecede oksidatif stresi arttırdığı düşünülmektedir.

Oksidatif stresin kanser dahil pek çok hastalığa neden olduğu bildirilmiştir. Hasta ve kontrol bireylerin serum demir, serum demir bağlama kapasitesi ve serum ferritin düzeyleri ölçüldü. Antioksidan enzimler; katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), paraoksonaz (PON), arilesteraz (ARE) ve glutatyon s transferaz (GST) serum aktiviteleri ölçüldü. Bu parametrelerin ve enzimlerin MDA ile ilişkisi değerlendirildi. Bu çalışma allojenik veya otolog transplantasyon tedavisi alacak farklı hastalıklardan hastaların serumları alınarak yapıldı. Bu çalışmada, 61 hasta ve 36 kontrol serumu çalışıldı.

Serum ferritin ve MDA düzeyleri hasta grubunda önemli oranda artmıştır. Hasta grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlı fark tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Serum glutatyon peroksidaz ve katalaz aktivite düzeyleri hasta grubunda düşük tespit edilmiş, ancak kontrol grubu ile hasta grubu arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$). Serum GST aktivite seviyesi ve serum arilesteraz aktivite seviyesi değerlendirildiğinde, gruplar arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Serum paraoksonaz aktivite seviyesi hasta grupta kontrol gruba göre düşük bulunmuştur. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Spearman korelasyon analizi sonuçlarına göre, serum MDA düzeyi azalırken, serum GPx aktivitesi artmış ve aralarında negatif korelasyon bulunmuştur. Serum MDA ile serum GST arasında, serum paraoksonaz ile serum arilesteraz aktivitesi arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Hematolojik hastalıkların tedavisinde, serum ve dokularda demirin artışı engellenmelidir. Buna ek olarak, antioksidan enzim seviyelerini korumak için antioksidan özelliklere sahip doğal gıdalar yemek gerekir.

Anahtar Kelimeler : Kök hücre nakli, demir, oksidatif stres, paraoksonaz, arilesteraz, malondialdehid.

8. SUMMARY

Analyzing the correlation of serum iron parameters with paraoxanase, arylesterase and oxidative stres markers in stem cell transplantation patients

HSCT is increasingly used for the treatment of a variety of the malignant and nonmalignant disorders. However, HSCT is also associated with morbidity and mortality, because of increasing in iron level. Iron overload, in tissues and systemic circulation, is importantly thought that increase the oxidative stress.

Oxidative stress has been reported to cause many diseases, including cancer. In patients and controls serum iron, iron binding capacity and ferritin levels were measured. Antioxidant enzymes, CAT, GPx, PON, ARE, and GST activities were measured in serum. These parameters and enzymes in relevance to MDA were evaluated. This study was done by taking serum from different disease's patients who will take allogeneic or otolog transplantation therapy. In this study, 61 patients and 36 controls serum were studied.

Serum ferritin and MDA levels were significantly increased in the patient group. Statistically significant difference was found between the patient group and the control group ($p < 0.05$).

Serum glutathione peroxidase and catalase activity levels were lower in the patient group, but no significant difference was observed between the control group and patient group ($p > 0.05$). Serum GST activity level and the level of serum arylesterase activity was evaluated, there was no statistically significant difference between the groups ($p > 0.05$). Serum paraoxonase activity levels in the patient group was lower than the control

group. Statistically significant difference was found between the two groups ($p < 0.05$).

According to Spearman's correlation analysis, while serum MDA level was decreasing, GPx activity in serum was increased, and between them a negative correlation was found. Between serum MDA and serum GST, and between serum paraoxonase activity and serum arylesterase activity were found a positive correlation. In treatment of the hematological diseases serum and tissues iron overload must be prevented. In addition, to protect our antioxidant enzymes levels. we must ingest natural foods which have antioxidant features.

Key words: Stem cell transplantation, iron, oxidative stress, paraoxonase, arylesterase, malondialdehyde.

9. KAYNAKLAR

1. Pullarkat V. Iron Overload in Patients Undergoing Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Advances in Hematology* Volume 2010; 10: 1155.
2. Salces M.M, Paz R, Canales M.A, Mesejo A, Navarro F.H. Nutritional recommendations in hematopoietic stem cell transplantation. *Nutrition* 24 2008; 769–775.
3. Sucak G.T, Yegin Z.A, Özkurt Z.N, Akı S.Z, Yağcı M. Iron Overload: Predictor of Adverse Outcome in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Transplantation Proceedings* 2010; 42: 1841–1848.
4. Valko M, Leibfritz D, Moncola J, Cronin M.T.D, Mazura M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2007; 39: 44–84.
5. Oertel M, Shafritz D.A. Stem cells, cell transplantation and liver repopulation *Biochimica et Biophysica Acta* 2008; 1782: 61–74.
6. Forte K, Norville R Hematopoeitic Stem Cell Transplantation. In *Essentials of Pediatric Oncology Nursing: A Core Curriculum* 1998; 100-110.
7. Regenerative Nephrology DOI: 10.1016/B978-0-12-380928-5.10017-X
8. Majhail N.S, Lazarus H.M, Burns L.J. Iron overload in hematopoietic cell transplantation *Bone Marrow Transplantation* 2008; 41: 997–1003.
9. Dilek İ, Arslan Ö, Günhan Gürman. Allojenik Periferik Kök Hücre Transplantasyonu *Van Tıp Dergisi* 1998; 5 (3): 183-187.
10. Renström J, Kröger M, Peschel C, Oostendorp R.A.J. How the niche regulates hematopoietic stem cells. *Chemico-Biological Interactions* 2010; 184: 7–15.
11. Jung AS, Holman PR, Castro JE, Carrier EK, Bashey A, Lane TA, et al. Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation as an Intensive Consolidation Therapy for Adult Patients in Remission from Acute

- Myelogenous Leukemia. Biol Blood Marrow Transplant 2009; 15: 1306-1313.
12. Brenner MK, Rill DR, Moen RC. Gene marking and autologous bone marrow transplantation. Ann NY Acad Sci 1994;716:204–214.
13. Baek HJ, Kook H, Han DK, Hwang TJ. Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children with Leukemia: A Single Institution Experience with Respect to Donors. J Korean Med Sci 2011; 26: 1548-1555
14. Hołowiecki J. Indications for hematopoietic stem cell transplantation Pol Arch Med Wewn. 2008; 118(11): 658-63.
15. Lanzkowsky P. Iron-Deficiency Anemia. Manual of Pediatric Hematology and Oncology 3rd. Edition. USA; Academic Press 2000; 33-47.
16. Ünal S, Yetgin S. Demir Eksikliği Anemisi. Sosyal Pediatri. Katkı Dergisi 2003; 25(3): 327-345.
17. Andrews NC, Iron Metabolism; Iron Deficiency and Iron overload. Ann, Rev Genom and Hum Genet 2000; 175-98.
18. Hagar W, Theil EC, Vihinsky EP. Diseases of Iron Metabolism. The Pediatric Clinics of North America 2002; 49(5): 893-909.
19. Cutler C, Antin JH. Peripheral blood stem cells for allogenic transplantation: a review Stem Cells 2001; 19(2): 108-117.
20. Andrews NC. Demir metabolizması. N Engl J Med 1999; 341:1986–1995.
21. Fairbanks VF. Iron Deficiency Anemias. Mazza JT, editor: Manual of Clinical hematology 2nd. Edition 1995; 17-38.
22. Gibney MJ. Lanham-New SA, Cassidy A, Vorster HH. Introduction to Human Nutrition. Nutrition Physiology 2. Food. QU 2009; 145: 1623.
23. Neyzi O, Ertuğrul T. Pediatri. Cilt 1. 2.B. İzmir: Nobel Tıp Kitapevleri; 1993; 373.
24. Ülkü B, Anemiler. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri; Anemiler Sempozyumu 2001; 25: 23–32.

25. Beşışık SK, demir eksikliği, anemisi, Klinik Hematoloji Nobel Tıp Kitabevleri 2003; 4:47–62.
26. Ganong WF, Digestion and Absorption. Review of Medical Physiology. 15th Edition. Appleton And Lange 1991; 25: 437–447.
27. Papanikolaou G, Pantopoulos K. Iron metabolism and toxicity Toxicology and Applied Pharmacology 2005; 202: 199– 211.
28. Adamson JW. çev. Nevruz O, Güvenç B. Demir eksikliği ve diğer hipoproliferatif anemiler. In: Brunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, editors. Harrison iç hastalıkları prensipleri, çev. ed. Sağlıker Y. Cilt 1. 15.B. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri 2004; 660-66.
29. Miret S, Simpson RJ, McKie AT. Physiology and molecular biology of dietary iron absorption. Annu Rev Nutr 2003; 23: 283-301.
30. Brissot P, Ropert M, Le Lan C, Loréal O. Non-transferrin bound iron: A key role in iron overload and iron toxicity Biochimica et Biophysica Acta 2011.
31. Witte d T. The role of iron in patients after bone marrow Transplantation. Blood Reviews 2008; 22(2): S22–S28.
32. Özgürtaş T, Aydın İ, Atay AA, Yavuz İ, Nevruz O, Erbil MK. Yüksek Serum Ferritin Düzeylerinin Etiyolojik Spektrumu Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry–Turk J Biochem] 2008; 33 (4): 223–225.
33. Crichton R. Inorganic biochemistry of iron metabolism. From Molecular Mechanisms to Clinical Consequences 2 nd Ed. John Wiley & Sons Ltd 2001.
34. Brittenham G. Disorders of iron metabolism: iron deficiency and overload. In Hematology, Basic Principles and Practice 3 nd Ed. In: Hoffman R, Benz E, Shattil S, Furie B, Cohen H, Silberstein L, McGlave P (eds). New York Copyright © 2000 Churchill Livingstone 2000; 397-428.
35. Von Sonntag C. Free-Radical-Induced DNA Damage and Its Repair. Springer- Verla Berlin Heidelberg New York 2006.
36. Karihtala P, Soini Y. Reactive oxygen species and antioxidant

- mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *APMIS* 2007;115: 81-103.
37. Halliwell B. Tell me about free radicals, doctor: a review. *J R Soc Med* 1989; 82: 747-752.
38. McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med* 2000;108: 652-659.
39. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem* 1993; 26: 351-357.
40. Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med* 1989; 320: 365-376.
41. Haddad JJ. Oxygen sensing and oxidant/redox-related pathways. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 316: 969-77.
42. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1.Baskı. Konya: Mimoza Yayınları 1995; 13-9.
43. Wilson JM, Walton B. Lesions and lipids and radicals - O my! *Texas Heart Institute Journal* 2004; **31**(11) 8-26.
44. Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutr* 1996; 16: 33-50.
45. Clarkson PM, Thompson HS. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 637-646.
46. Halliwell B. Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radic Res* 1996; 25: 57-74.
47. Nakazawa H, Genka C, Fujishima M. Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *Jpn J Physiol* 1996; 46: 15-32.
48. Betteridge DJ. What is oxidative stress? *Metabolism* 2000; 49: 3-8.
49. Kang DH. Oxidative stress, DNA damage, and breast cancer. *AACN Clin Issues* 2002; 13: 540-549.
50. Jackson AL, Loeb LA. The contribution of endogenous sources of DNA damage to the multiple mutations in cancer. *Mutat Res* 2001; 477: 7-21.

51. Behrend L, Henderson G, Zwacka RM. Reactive oxygen species in oncogenic transformation. *Biochem Soc Trans* 2003; 31: 1441-1444.
52. Draganic, I.G., Draganic, Z.D., The radiation chemistry of water, Academic Press, New York 1979.
53. Jialal I, Fuller, Cj. Oxidized LDL and antioxidants. *Clin. Cardiol* 1993; 6: 1-9.
54. Ünal D. Serbest radikaller. *Sendrom* 1999; 68-80.
55. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*. 2002; 33(2):110-118.
56. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *J Clinical Chemistry* 1995; 41(12): 1819-1828.
57. Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta* 2003; 329: 23-38.
58. Cheeseman, K.H. and Slater T.F. An Introduction to Free Radical Biochemistry. *Br. Med. Bull* 1993; 49(3): 481-93.
59. Winterbourn C.C. Toxicity of Iron and Hydrogen Peroxide: The Fenton Reaction. *Toxicol. Lett* 1995; 82–83, 969–974.
60. Deaton C.M. and Marlin D.J. Exercise-Associated Oxidative Stress. *Clin. Tech. Equine Pract*, Vol 2 2003; 3: 278-291.
61. Rhee SG. Redox Signaling: Hydrogen Peroxide as Intracellular Messenger. *Exp. Mol. Med*, 1999; 31: 53-59.
62. Wickens AP. Ageing and Free Radical Theory. *Respiration Physiology* 2001; 128: 379–391.
63. Fantel AG. Reactive Oxygen Species in Developmental Toxicity: Review and Hypothesis. *Teratology* 1996; 53: 96–217.
64. Halliwell B, Gutteridge JM. Free radicals in biology and medicine. 2th Ed. Oxford: Clarendon Pres 1989;125.
65. Halliwell B, Gutteridge JM. Free Radicals in Biology and Medicine. 2nd ed. New york: Oxford University pres 1999.

66. Mayne PD. Clinical Chemistry in Diagnosis and Teratment. OxfordUniversity Press, New York 1992.
67. Berlett BS, Stadtman ER. Protein oxidation in aging, disease and oxidative stres. J Biol Chem 1997; 272: 213-6.
68. Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants and nutrition. Nutrition 2002; 18: 872-9.
69. Başağa HS. Biochemical aspects of free radicals. Biochem Cell Biol 1990; 68: 989-98.
70. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-Biological Interactions 2006; 1601–40.
71. Freeman BA ,Crapo JD :Biology of disease :free radicals and tissue injury. Lab Invest 1982; 47: 412-26.
72. Jerry P, Liu L, Zeng M, Stamler JS. An apoptotic model for nitrosative stress. Biochemistry 2000; 39: 1040-47.
73. Halliwell B. Antioxidant characterization: Methodology and mechanism, Biochem Pharmacol 1995; 49: 134-48.
74. Al-Guborya KH, Fowler PA, Garrel C. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 2010; 21634–1650.
75. Splettstoesser WD, Werner SP. Oxidative stress in phagocytes 'The Enemy Within'. Microscopy Research And Technique 2002; 57: 44-55.
76. Boyunağa H, Çelik C. Serbest radikaller ve hücre sel denge. Bilim Teknik Dergisi 1996; 347: 98-100.
77. Kim YG, Kim SK, Kwon JW, Park OJ, Kim SG, Kim YC, et al. Effects of cysteine on amino acid concentration and transsulfuration enzyme activities in rat liver with protein-calorie malnutrition. Life Sci 2003; 72: 1171-81.
78. Cochrane CG. Cellular injury by oxidants. Am J Med 1991; 23-30.
79. Lu SC. Regulation of hepatic glutathione synthesis: current concepts

and controversies. FASEB J 1999; 13: 1169-83.

80. Esteve JM, Mompo J, Asuncion JG, Sastre J, Asensi M, Boix J, et al. Oxidative damage to mitochondrial DNA and glutathione oxidation in apoptosis studies in vivo and in vitro. FASEB J 1999; 108(13): 1055-64.

81. Chavan S, Sava L, Saxena V, Pillai S, Sontakke A, Ingole D. Reduced glutathione: Importance of specimen collection. Indian J Clin Biochem 2005; 20(1): 150-52.

82. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. 2 nd ed. Oxford: Clarendon Pres 1983; 19-234.

83. Lai CC, Huang W, Askari A, Wang Y. Differential regulation of superoxide dismutase in copper deficient rat organs. Free Radic Biol Med 1994; 16(5): 613-20.

84. Basaga HS, Biochemical aspects of free radicals. Biochem Cell Biol 1990; 68: 989-98.

85. Michiels C, Raes M, Toussaint O, Remacle J. Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, Cu-Zn superoxide dismutase for cell survival against oxidative stress. Free Radic Biol Med 1994; 17: 235-48.

86. Dringen R, Pawlowski PG, Hirrlinger J. Peroxide detoxification by brain cells. J Neurosci Res 2005; 79: 157-65.

87. Halliwell B, Gutteridge J. Free Radical in Biology and Medicine. Third ed, Oxford University Press, Oxford 2000; 160-5.

88. Adachi Y, Honi K, Takahashi Y. Serum GST activity in liver disease. Clin. Chim. Acta 1990; 106: 243-55.

89. Onat T, Emerk K. Karbohidratlar: Temel Biyokimya. In: Emerk K, editor. 1. baskı. İzmir 1996; 289-409.

90. Guemori L, Arthur Y, Herbeth B, Jeandel C, Cuny G, Siest G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood. Clin Chem 1991; 37: 1932-7.

91. Nordberg J, Arner ES. Reactive oxygen species; antioxidants and the mammalian thioredoxin system. Free Radic Biol Med 2001; 31 (11): 1287-312

92. Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Human serum paraoxonase. *Gen Pharmacol* 1998; 31: 329-336.
93. Eckerson HW, Wyte CM, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet* 1983; 35: 1126-1138.
94. 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; 33: 498-507.
95. La Du BN, Aviram M, Billecke S, Navab M, Primo-Parmo S, Sorenson RC, Standiford TJ. On the physiological role(s) of the paraoxonases. *Chem Biol Interact* 1999; 119-120: 379-388.
96. Furlong CE, Richter RJ, Seidel SL, Motulsky AG. Role of genetic polymorphism of human plasma paraoxonase/arylesterase in hydrolysis of the insecticide metabolites chlorpyrifos oxon and paraoxon. *Am J Hum Genet* 1988; 43: 230–238.
97. Humbert R, Adler DA, Disteché CM, Hassett C, Omiecinski CJ, Furlong CE. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. *Nat Genet* 1993; 3: 73-76.
98. Eckerson HW, Romson J, Wyte C, La Du BN. The human serum paraoxonase polymorphism: identification of phenotypes by their response to salts. *Am J Hum Genet* 1983; 35: 214-227.
99. 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* 1991; 19: 100-106.
100. 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 US A* 1995; 92: 7187-7191.
101. Josse D, Xie W, Masson P, Lockridge O. Human serum paraoxonase (PON1): identification of essential amino acid residues by group-selective

labelling and site-directed mutagenesis. *Chem Biol Interact* 1999; 119-120: 71-78.

102. Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connelly PW, Hegele RA. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 1996; 7: 69-76.

103. Sorenson RC, Bisgaier CL, Aviram M, Hsu C, Billecke S, La Du BN. Human serum Paraoxonase/Arylesterase's retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with HDLs by binding phospholipids : apolipoprotein A-I stabilizes activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 2214-2225.

104. Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Lett* 1991; 286: 152-4.

105. Aviram M, Hardak E, Vaya J, Mahmood S, Milo S, Hoffman A et al. Human serum paraoxonases (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions. *Circulation* 2000; 101: 2510-17.

106. Aviram M, Billecke S, Sorenson R. Paraoxonase active site required against LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different than that required for its arylesterase/paraoxonase activities: selective action for human paraoxonase allozymes Q and R. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 1617-1624.

107. Navab M, Hama-Levy S, Van Lenten BJ. Mildly oxidized LDL induces an increased apolipoprotein J/paraoxonase ratio. *J Clin Invest* 1997; 99: 2005–2019.

108. Shih DM, Xia YR, Wang YP. Combined serum paraoxonase knockout/apolipoprotein E knockout mice exhibit increased lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *J Biol Chem* 2000; 275: 17527–17535.

109. Berliner JA, Navab M. Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation* 1995; 91: 2488–96.

110. Aviram M, Rosenblat M. Human serum paraoxonase (PON1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Radic Biol Med* 1999; 26: 892–904.
111. Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M (Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against active oxygen toxicity in the blood. *Am. J. Obstet. Gynecol* 1979; 135: 372–376.
112. Paglia DE, Valentina WN. Studies on quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158-69.
113. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB, Glutathione-S-transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 1974; 249(22): 7130-39.
114. Aebi H. Catalase, In: H.U.Bergmeyer, (Ed): *Methods of Enzymatic Analysis*, Academic Press, New York and London 1974; 673-7.
115. Eckerson HW, Wyte CM, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet* 1983b; 35: 1126–1138.
116. Pullarkat. G. Lucarelli and J. Gaziev, “Advances in the allogeneic transplantation for thalassemia,” *Blood Reviews* 2008; 22(2): 53–63.
117. N. C. Andrews, “Disorders of iron metabolism,” *The New England Journal of Medicine* 1999; 341(26): 1986–1995.
118. Armand P, Kim HT, Cutler CS, Ho VT, Koreth J, Alyea EP, et al. Prognostic impact of elevated pre-transplant serum ferritin in patients undergoing myeloablative stem cell transplantation. *Blood* 2007;109(10): 4586-8.
119. Pullarkat V, Blanchard S, Tegtmeier B, Dagens A, Patane K, Ito J, Forman SJ. Iron overload adversely affects outcome of allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2008; 42(12): 799-805.
120. Maradei SC, Maiolino A, de Azevedo AM, Colares M, Bouzas LF, Nucci M. Serum ferritin as risk factor for sinusoidal obstruction syndrome

of the liver in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2009; 114(6): 1270-5.

121. Ballas SK. Iron overload is a determinant of morbidity and mortality in adult patients with sickle cell disease. *Semin Hematol* 2001; 38(1): 30-6.

122. Brittenham GM, Cohen AR, McLaren CE, Martin MB, Griffith PM, Nienhuis AW, et al. Hepatic iron stores and plasma ferritin concentration in patients with sickle cell anemia and thalassemia major. *Am J Hematol* 1993; 42: 81-5.

123. Takatoku M, Uchiyama T, Okamoto S, Kanakura Y, Sawada K, Tomonaga M, et al; Japanese National Research Group on Idiopathic Bone Marrow Failure Syndromes. Retrospective nationwide survey of Japanese patients with transfusion-dependent MDS and aplastic anemia highlights the negative impact of iron overload on morbidity/mortality. *Eur J Haematol* 2007; 78: 487-94.

124. Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T, Torimoto Y, Kato J. Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *Int J Hematol* 2008; 88: 7-15.

125. Kataoka K, Nannya Y, Hangaishi A, Imai Y, Chiba S, Takahashi T, et al. Influence of Pretransplantation Serum Ferritin on Nonrelapse Mortality after Myeloablative and Nonmyeloablative Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; 15: 195-204.

126. Kim YR, Kim JS, Cheong JW, Song JW, Min YH. Transfusion-associated iron overload as an adverse risk factor for transplantation outcome in patients undergoing reduced-intensity stem cell transplantation for myeloid malignancies. *Acta Haematol* 2008; 120: 182–189.

127. Mahindra A, Bolwell B, Sobecks R, Rybicki L, Pohlman B, Dean R, et al. Elevated ferritin is associated with relapse after autologous hematopoietic stem cell transplantation for lymphoma. *Biol. Blood Marrow Transpl* 2008; 14: 1239–1244.

128. Armand P, Kim HT, Cutler CS, Ho VT, Koreth J, Ritz J, et al. A prognostic score for patients with acute leukemia or myelodysplastic

syndromes undergoing allogeneic stem cell transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 2008; 14(1) 28–35.

129. Pillai CK, Pillai KS. Antioxidants in health. *Int. J. Physiol. Pharmacol* 2002; 46: 1–5.

130. Halliwell B. Biochemistry of oxidative stress. *Biochem Soc Trans* 2007; 35: 1147-1150.

131. Halliwell B. Oxidative stress and cancer: have we moved forward? *Biochem J* 2007; 401: 1-11.

132. Bakan N, Taysi S, Yilmaz O, et al. Glutathione peroxidase, glutathione reductase, Cu-Zn superoxide dismutase activities, glutathione, nitric oxide, and malondialdehyde concentrations in serum of patients with chronic lymphocytic leukemia. *Clin Chim Acta* 2003; 338: 143-149.

133. Singh V, Ghalaut PS, Kharb S, Singh GP. Plasma concentrations of lipid peroxidation products in children with acute leukaemia. *Indian J Med Sci* 2001; 55: 215-217.

134. Abou-Seif MA, Rabia A, Nasr M. Antioxidant status, erythrocyte membrane lipid peroxidation and osmotic fragility in malignant lymphoma patients. *Clin Chem Lab Med* 2000; 38: 737-742.

135. Dagdas S, Dincer S, Dincer S, Ozet G, Ayli M. Akut myeloid lösemili hastalarda lipid peroksidasyon düzeyleri. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi* 1998; 18: 114- 118.

136. Bolaman Z, Demir S, Koseoglu MH, Enli Y, Kadikoylu G, Aslan D. Multipl myelomalo hastalarda lipid peroksidasyonu. *Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2001; 1: 13-15.

137. Berköz M, YalınS, Güler VG, Yalçın A. Akut Lösemilerde Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Enzim Aktivitesi. *Erciyes Tıp Dergisi (Erciyes Medical Journal)* 2008; 30(3): 157-162.

138. Fiaschi AI, Cozzolino A, Ruggiero G, Giorgi G. Glutathione, ascorbic acid and antioxidant enzymes in the tumor tissue and blood of patients

with oral squamous cell carcinoma. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2005;9:361–7.

139. Nomani H, Ghobadloo SM, Yaghmaei B, Rezvanie NA, Yaghmaei K. Glutathione S-transferase activity in patients with colorectal cancer. *Clin Biochem* 2005; 38: 621–4.

140. Ścibior D, Skrzycki M, Podsiad M, Czeczot H. Glutathione level and glutathione-dependent enzyme activities in blood serum of patients with gastrointestinal tract tumors. *Clinical Biochemistry* 2008; 41: 852–858.

141. Güner G, İşlekel H, Oto Ö, Hazan E, Açikel Ü. Evaluation of some antioxidant enzymes in lung carcinoma tissue, *Cancer Lett* 1996; 103: 233–239.

142. Özcan ME, Güleç M, Özerol E, Polat R, Akyol Ö. Antioxidant enzyme activities and oxidative stress in affective disorders. *Int Clin Psychopharmacol* 2004; 19: 89–95.

143. Toyokuni S, Okamoto K, Yodoy J, Hiai H. Persistent oxidative stress in cancer. *FEBS Lett* 1995; 358: 1–3.

144. Battisti Vanessa, Maders LDK, Bagatini MD, Santos KF, Spanevello RM, Maldonado PA, et al. Measurement of oxidative stress and antioxidant status in acute lymphoblastic leukemia patients *Clinical Biochemistry* 2008; 41: 11–518.

145. Oltra AM, Carbonell F, Tormos C, Iradi A, Saez GT. Antioxidant enzyme activities and production of MDA and 8-oxo-dg in chronic lymphocytic leukemia. *Free Radic Biol Med* 2001; 30: 1286–92.

146. Şentürker S, Karahalil B, Inal M, Yılmaz H, Müslümanoğlu H, Gedikoğlu G, et al. Oxidative DNA base damage and antioxidant enzyme levels in childhood acute lymphoblastic leukemia. *FEBS Lett* 1997; 416: 286–90.

147. Costa LG, Giordano G, Furlong CE. Pharmacological and dietary modulators of paraoxonase 1 (PON1) activity and expression: The hunt goes on. *Biochemical Pharmacology* 2011; 81: 337–344.

148. Camuzcuoglu H, Ario DT, Toy H, Kurt S, Celik H, Erel O. Serum paraoxonase and arylesterase activities in patients with epithelial ovarian cancer *Gynecologic Oncology* 2009; 112: 481–485.
149. Akcay MN, Polat MF, Yilmaz I, Akcay G. Serum paraoxonase levels in gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 2003; 50(2): cclxxiii–cclxxv.
150. Elkiran TE, Mar N, Aygen B, Gursu F, Karaoglu A, Koca S. Serum paraoxonase and arylesterase activities in patients with lung cancer in a Turkish population. *BMC Cancer* 2007; 7: 48.
151. Korpicka KM, Boehm D, Matusiewicz M, Diakowska D, Grabowski K, Gamain A. Paraoxonase 1 (PON1) status in gastroesophageal malignancies and associated paraneoplastic syndromes-connection with inflammation. *Clin Biochem* 2008; 41: 804–1.
152. Çayır K, Bilici M, Tekin SB, Kara F, Turkyılmaz A, Yıldırım A. Serum Paraoxonase and Arylesterase Activities in Esophageal Cancer: A Controlled Study *Eur J Gen Med* 2010; 7(4): 398-403.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince engin bilgi, tecrübe ve deneyimlerini benimle paylaşan, sabır, anlayış ve kararlılığına hayran olduğum değerli hocam, tez danışmanım Sayın Prof. Dr. HATİCE PAŞAOĞLU'na sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda sürdürdüğüm doktora eğitimim süresince göstermiş oldukları destek ve katkılarından dolayı tüm Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri'ne ve Anabilim Dalı çalışanlarına saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezimde büyük katkısı olan Hematoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi hocam, Sayın Prof. Dr. Gülsan TÜRKÖZ SUCAK'a katkılarından dolayı teşekkür ederim. Ayrıca Hematoloji Anabilim Dalı'nda görevli Sayın Uzm. Dr. Elif SUYANI ve Uzm. Bio. Çiğdem İLHAN'a yardımlarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalarım sırasında yardım, bilgi ve ilgisini esirgemeyen değerli arkadaşım Dr. Ahmed. A. HUSSEİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, bana gösterdiği sonsuz sevgi, anlayış ve desteklerinden dolayı sevgili eşim Emel'e, kızım Arya'ya teşekkür ederim.

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı: Hasan

Soyadı: KARAGEÇİLİ

Doğum Y. ve Tarihi: Kahramanmaraş, 1971

Yabancı Dil: İngilizce

Eğitim:

- | | |
|-----------|---|
| 2006 | Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Doktora Programı. |
| 2001-2005 | Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Biyokimya Yüksek Lisans Eğitimi. |
| 1990-1996 | Orta Doğu Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Lisans. |

Yaptığı işler:

- | | |
|-----------|---|
| 2007 | Ayrancı Anadolu Lisesi Biyoloji Öğretmeni. |
| 2005-2007 | Yenimahalle Anadolu Meslek ve Meslek Lisesi Biyoloji/İngilizce Öğretmeni. |
| 2003-2004 | Abidin Paşa Lisesi İngilizce Öğretmeni, Ankara. |
| 2001-2003 | Battalgazi Endüstri Meslek ve Meslek Lisesi İngilizce Öğretmeni, Ankara. |
| 1999-2001 | Mehmet Akif Ersoy P.İ.Ö. Okulu İngilizce Öğretmeni, Giresun. |
| 1999 | Biyolog Medland/Ankara. |
| 1996-1998 | Selüloz İş Sendikası Biyolog. |
| 1995 | Yüksek İhtisas Hastanesinde Staj/ Ankara. |

Yüksek Lisans Tez: Hemoglobin ve nitrit-bağımlı tirozin nitrasyonu.

Katıldığı kurslar ve aldığı belgeler:

1. Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Kursu “Hücrede Sinyal İletimi” Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mayıs 29-30, 2003.
2. Moleküler Biyoloji Kongresi Ege Üniversitesi İzmir 2003.
3. Tübitak Biyoloji Bilim Danışmanlığı Eğitimi Antalya 25 Ocak- 05 Şubat 2010
4. Tübitak Biyoloji Bilim Danışmanlığı 2. kademe uygulama ağırlıklı eğitim 28 Haziran- 10 Temmuz 2010
5. Tübitak Biyoloji Bilim Danışmanlığı 3. kademe eğitim 1-14 Temmuz 2012



T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ YEREL ETİK KURULU
RESEARCH ETHICS COMMITTEE OF MEDICAL FACULTY, GAZİ UNIVERSTY
ANKARA-TÜRKİYE
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI
İLAÇ DIŞI KLİNİK ÇALIŞMALAR

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL ADI	"Kök hücre transplantasyonu hastalarında serum demir parametreleri ile paraoksonaz, arilesteraz ve oksidatif stres belirteçlerinin ilişkisinin incelenmesi"	
	SORUMLU ARAŞTIRICI UNVANI, / ADI	Prof.Dr.Hatice Paşaoğlu	
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarihi / değişiklik No.su	Dili Türkçe
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ		
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 370	Tarih : 15 Haziran 2009	
	Üniversitemiz Tıp Fakültesinde yapılması tasarlanan ve yukarıdaki künyede kayıtlı araştırma projesine ait dosya; araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım, yöntemler ve aydınlatılmış onamın yeterliliği yönünden incelenmiş, bütçe dışında uygun olduğuna karar verilmiştir. Etik Kurul kararı; projenin bütçesi BAP tarafından kabul edildiği takdirde yürürlüğe girecek olup, BAP kararının Etik Kurula bildirilmesi gerekmektedir.		

ETİK KURUL BİLGİLERİ

ÇALIŞMA ESASI İYİ KLİNİK UYGULAMALAR KILAVUZU, HELSİNKİ BELGESİ, BİYOETİK SÖZLEŞMESİ

UYELER

Unvanı / Adı / Soyadı Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof.Dr.Necda BUYAN BAŞKAN	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları - Nefroloji	G.Ü.T.F Çocuk Sağ.ve Hast.A.D.	K	x E	xx E	
Prof. Dr.Firdevs Aktaş ÜYE	Enfeksiyon	G.Ü.T.F Enfeksiyon Hast. A.D.	K	x E	xx E	
Prof. Dr.Aysel ARICIOĞLU ÜYE	Tıbbi Biyokimya	G.Ü.T.F Tıbbi Biyokimya A.D.	K	x E	xx E	
Prof.Dr.Fatma ATALAY ÜYE	Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon	G.Ü.T.F Fiziksel Tıp ve Reha.A.D.	K	x E	X H	Katılmadı
Prof.Dr.Çağatay ÇİFTER ÜYE	Genel Cerrahi	G.Ü.T.F Genel Cerrahi A.D	E	x E	xx E	
Prof.Dr.Seyhan ERSAN ÜYE	Farmasötik Kimya Ecz. Fak.	G.Ü.E.F (Ecz.Fak.) Farmasötik Kimya	K	x E	X H	Katılmadı
Prof.Dr.Reha KURUOĞLU ÜYE	Nöroloji	G.Ü.T.F Nöroloji A.D.	E	x E	xx E	
Doç.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU ÜYE	Tıp Etiği ve Tıp Tarihi	G.Ü.T.F Tıp Etiği ve Tıp tarihi A.D.	K	x E	xx E	
Doç.Dr.Mehmet Ali Ergün ÜYE	Tıbbi Genetik	G.Ü.T.F Tıbbi Genetik A.D.	E	x E	xx E	
Doç.Dr.Aylar POYRAZ ÜYE	Tıbbi Patoloji	G.Ü.T.F Tıbbi Patoloji A.D	K	x E	xx E	
Doç.Dr.Canan ULUOĞLU ÜYE	Tıbbi Farmakoloji	G.Ü.T.F Tıbbi Farmakoloji A.D.	K	x E	xx E	
Doç.Dr.Münci YAĞCI ÜYE	İç Hastalıkları - Hematoloji	G.Ü.T.F İç Hastalıkları A.D.	E	x E	xx E	
Doç.Dr.Birol DEMİREL ÜYE	Adli Tıp	G.Ü.T.F Adli Tıp A.D.	E	x E	xx E	
Hukuk Müşaviri Adem GELİR ÜYE	Hukuk Müşavirliği	Rektörlük Hukuk Müşavirliği	E	x E	xx E	

Araştırma İle İlişki

** Toplantıda Bulunma