



**T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI AD**

**SON DÖNEM BÖBREK YETERSİZLİĞİ
HASTALARINDA LOSARTAN VE NEBİVOLOL'ÜN
OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

(UZMANLIK TEZİ)

Dr. Hasan KAYABAŞI

Diyarbakır – 2007

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI AD
Prof. Dr. Ekrem MÜFTÜOĞLU
İç Hastalıkları AD Başkanı

SON DÖNEM BÖBREK YETERSİZLİĞİ
HASTALARINDA LOSARTAN VE NEBİVOLOL'ÜN
OKSİDATİF STRES ÜZERİNE ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI

(UZMANLIK TEZİ)

TEZ YÖNETİCİSİ
Prof. Dr. M. Emin YILMAZ

Dr. Hasan KAYABAŞI

Diyarbakır – 2007

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

İç Hastalıkları eğitimim süresince yetişmemde büyük emekleri olan saygıdeğer hocalarım: Rektörümüz; Sayın Prof. Dr. Fikri CANORUÇ'a, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanımız; Sayın Prof. Dr. Ekrem MÜFTÜOĞLU'na, tez yöneticim Sayın Prof. Dr. Mehmet Emin YILMAZ'a, Anabilim Dalı öğretim üyelerinden emekli olan Sayın Prof. Dr. Bünyamin İŞİKOĞLU'na ve Sayın Prof. Dr. Halil DEĞERTEKİN'e, ayrıca Sayın Prof. Dr. Vedat GÖRAL'a, Sayın Prof. Dr. Orhan AYYILDIZ'a, Sayın Prof. Dr. Orhan YAZANEL'e, Sayın Prof. Dr. Mithat BAHÇECİ'ye, Sayın Doç. Dr. Kendal YALÇIN'a, Sayın Doç. Dr. Abdurrahman İŞIKDOĞAN'a, Sayın Doç. Dr. Alparslan TUZCU'ya ve diğer tüm öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Rotasyon eğitimim sırasında bilgilerinden faydalandığım Kardiyoloji, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz ile Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Tezimin çalışma sürecinde araştırma laboratuvarlarından faydalanmama izin veren Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. Özcan EREL'e, Sayın Yrd. Doç. Dr. Hakim ÇELİK'e ve Uz. Dr. Şahabettin SELEK'e teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında büyük bir özveri ile yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Ali Kemal KADİROĞLU'na ve Yrd. Doç. Dr. Dede ŞİT'e teşekkür ederim.

Birlikte çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma ve İç Hastalıkları Anabilim Dalı çalışanlarına teşekkür ederim.

Eğitimim süresince yardımlarını esirgemeyen ve her türlü özveriyi göstererek her an yanımda olan sevgili eşime, biricik kızıma ve oğluma, anneme, babama ve tüm aile fertlerime teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

1- TABLO DİZİNİ	3
2- KISALTMALAR	4
3- GİRİŞ VE AMAÇ	6
4- GENEL BİLGİLER	8
4.1. Kronik Böbrek Hastalığı	8
4.1.1. Tanım	8
4.1.2. Etiyoloji ve sınıflandırma	8
4.1.3. Klinik ve Laboratuvar Bulguları	9
4.1.4. Son Dönem Böbrek Yetmezliğinin Tedavisi	10
4.2. Oksidatif Stres, Fizyopatolojisi, Son Dönem Böbrek Hastalığında Önemi	10
4.2.1. Oksidatif Stres (OS)	10
4.2.2. Serbest Radikaller ve Oksidanlar	11
4.2.3. Serbest Radikal Reaksiyonları	12
4.2.4. Reaktif Oksijen Türleri	13
4.2.5. Reaktif Nitrojen Türleri	17
4.2.6. Başlıca Serbest Radikal Üretim Kaynakları	18
4.2.7. Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri	21
4.3. Antoksidan Savunma Sistemleri	25
4.3.1. Enzimatik Antioksidanlar	25
4.3.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	30
4.4. Böbrek ve Antioksidan Enzimler	32
4.5. SDBY'li Hastalarda OS ve Antioksidan Savunma Sistemlerindeki Değişiklikler	34
5. MATERYAL VE METOD	36
5.1. Hasta ve Kontrol Grupları	36
5.2. Örneklerin Hazırlanması	36
5.3. Yöntemler	37
5.4. İstatistiksel Analizler	39
6. BULGULAR	40
7. TARTIŞMA	46
8. ÖZET VE ANAHTAR KELİMELELER	51
9. SUMMARY AND KEY WORDS	52
10. KAYNAKLAR	53

1. TABLO DİZİNİ

1. Tablo 4.1. KBH'nın NKF-K/DOQI kılavuzlarına göre evreleri	8
2. Tablo 4.2. Son Dönem Böbrek Yetmezliği Nedenleri	9
3. Tablo 4.3. Oksijen türevi bileşikler	13
4. Tablo 4.4. Fagositlerin ürettiği reaktif oksidan ürünler	20
5. Tablo 4.5. Reaktif oksijen partiküllerinin patogenezinde rol oynadığı düşünülen böbrek hastalıkları	33
6. Tablo 6.1. Gruplara göre SDBH'nın etyolojik dağılımı	41
7. Tablo 6.2. Hastaların ve kontrol grubunun laboratuvar özellikleri	42
8. Tablo 6.3. Hastaların ve kontrol grubu pro-oksidan ve antioksidan parametreleri	43
9. Tablo 6.4. Diyaliz modalitesine göre pro-oksidan ve anti-oksidanlar	43
10. Tablo 6.5. Çalışma başlangıcında hasta gruplarının demografik, klinik ve laboratuvar özellikleri	44
11. Tablo 6.6. Tedavi öncesi ve sonrası hasta gruplarının kan basıncı, pro-oksidan ve antioksidan parametreleri	45

2. KISALTMALAR

ACEi:	Anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörü
ARB:	Anjiotensin reseptör blokeri
AGE:	İleri glikasyon son ürünleri
ATP:	Adenozin trifosfat
BB:	Betabloker
DNA:	Deoksiribo nükleik asit
DM:	Diyabetes mellitus
ER:	Endoplazmik Retikulum
GFH:	Glomerul Filtrasyon Hızı
GST:	Glutation-S-Transferazlar
GSHPx:	Glutasyon peroksidaz
H₂O₂:	Hidrojen Peroksit
HOCl:	Hipoklorik Asit
HT:	Hipertansiyon
KAT:	Katalaz
KBH:	Kronik böbrek hastalığı
KGN:	Kronik glomerulonefrit
KVH:	Kardiyovasküler hastalıklar
LDL:	Düşük dansiteli lipoprotein
MDA:	Malonildialdehit
METS:	Mitokondriyal Elektron Transport Sistemi
NAD:	Nikotinamid adenin dinükleotid
NADH:	Nikotinamid adenin dinükleotid hidrojen
NADPH:	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat hidrojen
NKF-K/DOQI:	National Kidney Foundation / Kidney Disease Outcomes Quality Initiative
NO:	Nitrik oksid
OSİ:	Oksidatif stres indeksi
OS:	Oksidatif stres
OH•:	Hidroksil Radikalleri
O₂^{↑↓}:	Singlet O ₂

O₃: Ozon
O₂⁻: Süperoksit Radikalleri
PTH: Paratiroidhormon
RRT: Renal replasman tedavisi
RNA: Ribonükleik asit
RNT: Reaktif nitrojen türleri
ROT: Reaktif oksijen türleri
SDBY: Son Dönem Böbrek Yetmezliği
SH: Tiyol
SOD: Eritrosit süperoksid dismutaz
TOS: Total oksidant seviye
TAK: Total antioksidant kapasite
TND: Türk Nefroloji Derneği
XOD: Ksantin oksidaz
XDH: Ksantin dehidrogenaz

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) böbrek fonksiyonlarının çeşitli nedenlerle geri dönüşümsüz olarak bozulmasıdır. Fonksiyon gören böbrek dokusunun herhangi bir nedenle harabiyeti ve bunun sonucunda böbrek fonksiyonlarının progressif kaybı, vücuttan atılması gereken toksik maddelerin birikimine neden olur (1,2). SDBY'e neden olan patolojilerin çoğunun, etkin ve özgün bir tedavisi yoktur. Kronik böbrek hastalığının başlangıç dönemlerinde medikal tedavi ve diyet ile SDBY'na ilerlemesi geciktirilmeye çalışılsa da, terminal dönemde mutlaka renal replasman tedavisi (RRT) olan diyaliz veya transplantasyona gerek duyulmaktadır (3).

SDBY'de en önemli morbidite ve mortalite nedeni ateroskleroz ve bununla ilişkili olan kardiyovasküler hastalıklar (KVH)'dır (4). Bu hastalarda KVH riski normal popülasyona kıyasla 3.5-50 kat artmıştır (5,6). Yaş, hipertansiyon, dislipidemi, sol ventrikül hipertrofisi, kalp yetmezliği ve fiziksel inaktivite gibi klasik kardiyovasküler risk faktörleri renal replasman tedavisi almakta olan hastalarda yaygındır ve bu kısmen SDBY hastalarının sıklıkla yaşlı, diyabetik ve vasküler hastalığı olan popülasyondan oluşmasından kaynaklanmaktadır (7). SDBY'de KVH riskindeki bu artış sadece klasik risk faktörleri ile değil, kronik hipervolemi, anemi, kalsiyum-fosfor metabolizması bozuklukları, hiperhomosisteinemi ve artmış oksidatif stres (OS) ile ilişkili mikroinflamatuvar durum gibi üremiye özgül, geleneksel olmayan risk faktörleri ile de ilişkilendirilmektedir (8).

Günümüzde sistemik hastalıkların oluşmasında, ilerlemesinde ve ilişkili komplikasyonlarının ortaya çıkmasında büyük role sahip olduğu bilinen oksidatif stres; vücuttaki oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine değişmesiyle oluşan çeşitli moleküler değişikliklerin ifadesidir (9,10). Oksidatif stresin özellikle yaşlanma, diyabet, üremi, kardiyovasküler hastalıklar, malnütrisyon ve kanser gibi durumlarda önemi ortaya konmuştur (11). SDBY'de pro-oksidanlar ile anti-oksidanlar arasındaki denge artmış oksidatif stres yönüne kaymıştır. SDBY hastaları böbrek hastalığının kendisinin yanında diyaliz işlemi, diyaliz tedavisi sırasında kullanılan diyaliz sıvısı, diyaliz membranı, immün sistem aktivatörleri ve diğer farmakolojik tedaviler nedeniyle yoğun oksidatif stress yükü altındadırlar (12). Bu hastalarda ateroskleroz gelişiminde oksidatif stresin olumsuz etkileri gösterilmiştir. Bu nedenle son zamanlarda SDBY hastalarında oksidatif stres ve antioksidanlarla ilgili çalışmalar ilgi çeken konuların

başında gelmektedir. Diyaliz hastalarındaki oksidatif stresin en iyi araştırılmış biyolojik etkilerinden birisi olan lipid peroksidasyonu, endotel disfonksiyonu ve ateroskleroz oluşturarak kardiyovasküler komplikasyonlara katkıda bulunmaktadır. Üremide yaygın olan lipoprotein bozuklukları ateroskleroz ve renal hasarın ilerlemesine de katkıda bulunabilir. Antioksidan kapasitenin azalması ve lipid peroksidasyonu her iki olayda da önemli role sahiptir (12). OS ve inflamasyonun SDBY’de en önemli morbidite ve mortalite nedeni olan KVH patogenezinde yer aldığı göz önüne alındığında geliştirilecek anti-oksidan ve anti-inflamatuvar tedavilerin bu hastalardaki önemi bir kez daha ortaya çıkmaktadır.

KBH’da en fazla kullanılan farmasötik ajanlardan olan anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri (ACEi), anjiyotensin reseptör blokleri (ARB) ve betablokerlerin (BB) kardiyovasküler sistem ve oksidatif stres üzerine etkileri birçok çalışmaya konu olmuştur. Ancak farmakolojik tedavinin en önemli ve vazgeçilmez öğelerinden olan bu ilaçların oksidatif stres üzerine olan etkilerini birebir karşılaştıran çalışmaların sayısı sınırlıdır.

Çeşitli çalışmalarda ACEi ve ARB’lerin gerek sistemik gerek böbrekte lokalize olsun NADPH oksidaz inhibisyonu ile (13-16), O_2^- düzeyini düşürerek (17), okside LDL düzeyinde (18), ileri glikasyon son ürünlerinde (AGE) (19), azalma yaparak oksidatif yükü azalttıkları gösterilmiştir. Ayrıca Nebivolol’ün organizmada araşidonik asidin serbest radikaller ile peroksidasyonu sonucu oluşan bir izoproston olan 8-iso-PGF2a’nın üriner atılımını arttırdığını (20), endotel hücrelerinde oksidatif inaktivasyonu azaltarak nitrik oksid (NO) miktarını arttırdığını (21), yine endotel hücrelerinde oksidatif stresi azalttığını (22), plazma ve LDL hidroksilipid, plazma 8-izoproston, ve okside LDL üzerine olumlu etkilerini gösteren çalışmalar mevcuttur. Ancak literatürde losartan ile nebivolol’ün oksidatif stres parametreleri olan Total oksidant seviye (TOS), oksidatif stres indeksi (OSİ), total antioksidant kapasite (TAK) ve eritrosit süperoksid dismutaz (SOD) düzeyleri üzerine olan etkilerini karşılaştıran çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada Losartan ile Nebivolol’ün hemodiyaliz ve periton diyalizi hastalarında oksidatif stres parametreleri olan TOS, OSİ, TAK ve SOD düzeyleri üzerine olan etkilerinin karşılaştırılmasını amaçladık.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Kronik Böbrek Hastalığı (KBH)

4.1.1. Tanım

KBH, renal fonksiyonların çeşitli nedenlerle ilerleyici ve geridönüşümsüz kaybı ile böbreğin atılım ve düzenleme fonksiyonlarında yetmezliğe yol açan klinik bir sendromdur (1,2). National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (NKF-K/DOQI) kılavuzlarında KBH sonuncusu (evre 5) SDBY olarak isimlendirilen 5 evreye ayrılır (Tablo 4.1). Böbrek yetmezliği, fonksiyon gören nefron sayısı % 30'un altına düştüğünde ortaya çıkar ve bu sayı % 10'un altına düştüğünde ise üremik sendrom tablosu yerleşir (23).

Tablo 4.1. KBH'nın NKF-K/DOQI kılavuzlarına göre evreleri

Evre	Tanım	GFH* (ml/dak/1.73m ²)
1	Normal veya artmış GFH ile birlikte böbrek hasarı	≥ 90
2	Hafif düşük GFH ile birlikte böbrek hasarı	60-89
3	Orta derecede düşük GFH	30-59
4	Ağır derecede düşük GFH	15-29
5	Son dönem böbrek yetmezliği (SDBY)	<15

* GFH: Glomerul Filtrasyon Hızı

4.1.2. Etiyoloji ve sınıflandırma

1980'li yılların ortalarından beri dünyada RRT gören SDBY sıklığında belirgin bir artış görülmektedir. Amerika Birleşik Devletlerin'de günümüzde yaklaşık 270.000 hasta diyaliz tedavisi ile, 100.000 kişi de transplantasyon ile yaşamına devam etmektedir ve 2010 yılında 600.000 kişinin RRT göreceği tahmin edilmektedir (24). SDBY'nin etyolojisinde dünyada diyabetes mellitus (DM), kronik glomerulonefrit (KGN) ve hipertansiyon (HT) bölgeye göre sıralaması değişmekle birlikte ilk 3 sırayı paylaşmaktadırlar. Ülkemizde ise Türk Nefroloji Derneği (TND) kayıtlarına göre buna paralel olarak DM ilk sırayı almaktadır (Tablo 4.2) (25).

Böbreğin fonksiyonel bir adaptasyon yeteneği vardır. Böbrek dokusunun % 75 oranında kaybı, glomerüler filtrasyonda, ancak yarı yarıya bir azalmaya neden olur. Böbrek rezervinin azaldığı dönemlerde, böbrek fonksiyonunda ölçülebilen bir düşme söz konusudur. Ancak, bu fonksiyonlar; sekonder hiperparatroidizm ve böbrek içindeki

glomerülo-tübüler denge değişiklikleri gibi bazı hormonal adaptasyonla devam ettirilmeye çalışılır (26,27).

Böbrek yetmezliği başladığında, vücutta azotlu bileşiklerin hafifçe birikmesi söz konusudur. Bu durum kendisini serum üre azotu ve kreatinin değerlerinin yükselmesiyle gösterir. Böbrekteki fonksiyon bozukluğunun daha ileri evrelerinde, sıvı-elektrolit dengesinde bozukluklar görülmeye başlar, azotemi şiddetlenir ve sistemik belirtiler ortaya çıkar (26,27).

Böbreğin ekskresyon fonksiyonunu en iyi gösteren parametre GFH'dır ve klinik pratikte en sık kullanılan kreatinin klirensi basit ve güvenilir bir yöntemdir. Endojen kreatinin klirensi normalde 90-125 ml/dk'dır. GFH normalin % 35-50'sinin altına düşüncüye kadar, hastalar genelde klinik olarak semptom vermezler. GFH normalin % 20-35'nin altına düştüğünde azotemi gelişmeye başlar ve normalin % 5-10'u seviyesine indiğinde, üremik sendrom tablosu meydana gelir (26,27).

Tablo 4.2. Son Dönem Böbrek Yetmezliği Nedenleri:

Hastalık	Avrupa *	ABD**	Türkiye***
Diyabetes Mellitus	12	44,9	22,8
Hipertansiyon	10	26,8	16,7
Glomerülonefrit	25	8,8	15,9
Kistik Böbrek hastalığı	8	2,3	2,8
Ürolojik nedenler	19	1,7	9,5
Diğer nedenler	11	11,1	14,1
Etyolojisi bilinmeyen	15	4,3	18,2

* : EDTA Registry 1985-1987

** : USRDS Annual Report 1985- 2000

*** : TND Kayıtları 2003

4.1.3. Klinik ve Laboratuvar Bulguları

Belirtiler genelde non-spesifik olup, hipertansiyon, anemi, ödem, poliüri, oligüri, anüri, noktüri, dizüri, hematüri, idrarda renk değişikliği, halsizlik, iştahsızlık, bulantı-kusma, tat alma duyusunda bozulma ve yan ağrısı görülebilecek başlıca belirtilerdir. Karbonhidrat intoleransı, hiperürisemi, dislipidemi gibi metabolik anormallikler görülür. Karakteristik klinik bulgular azotlu madde birikmesine, asit-baz dengesi bozukluğuna ve anemiye bağlı olarak şekillenir (28).

Üre, kreatinin, ürik asit gibi azot katabolizmasının ürünleri birikir. Serum Na düzeyi, normal veya azalmış, potasyum düzeyi normal veya artmış olabilir. Hipokalsemi ve

hiperfosfatemi vardır, serum PTH düzeyi yükselmiştir. Metabolik asidoz görülür. Normokrom normositer veya demir eksikliğine bağlı hipokrom mikrositer anemi görülür. İdrar dansitesi izostenüriktir (1008-1010). Oliguri mevcut, terminal safha ise anüriktir (29).

4.1.4. Son Dönem Böbrek Yetmezliğinin Tedavisi

KBH'nı oluşturan hastalıkların çoğunun, etkin ve özgün bir tedavisi yoktur. Hastalığın başlangıcında, medikal tedavi ve diyet ile son dönem böbrek yetmezliğine ilerlemesi geciktirilmeye çalışılsa da, son dönemde diyaliz tedavisi veya transplantasyona gerek duyulmaktadır (30).

Son dönem böbrek yetmezliği gelişen hastalarda, yaşamın devam ettirilebilmesi için, diyaliz tedavisi veya transplantasyon şarttır. Her ne kadar kronik diyaliz tedavisiyle hayat sürdürülse de, böbrek fonksiyonlarındaki yetersizlik sonucunda organizmanın diğer fonksiyonlarında da yetersizlik görülmektedir (1).

Diyaliz kandaki bazı toksik maddelerin yarı geçirgen bir zar aracılığıyla diyalizat adı verilen fizyolojik konsantrasyonda elektrolit içeren bir solüsyona geçmesidir. Günümüzde hemodiyalizde çoğunlukla selüloz veya kuprofan gibi yarı sentetik membranlar kullanılır. Kanın şekilli elemanları, plazma proteinleri, molekül ağırlığı büyük olan maddeler, bu membranlardan geçemezken suda eriyebilen, plazma proteinlerine bağlı olmayan düşük molekül ağırlıklı maddeler, membrandan difüzyon yolu ile geçerler. Diyaliz yöntemleri ile böbreğin tüm fonksiyonlarını yerine getirebilmek imkansızdır, ancak hayatın devam ettirilmesi mümkündür. Hemodiyaliz tedavisi $KtV_{\text{üre}}$ değeri minimum 1.2 olacak şekilde her biri en az 4 saat olmak üzere haftada 3 seans olarak uygulanır (28). Hemodiyalizin diğer bir alternatif şekli periton zarının diyaliz membranı görevini gördüğü periton diyalizidir.

4.2. Oksidatif Stres, Fizyopatolojisi, Son Dönem Böbrek Hastalığında Önemi

4.2.1. Oksidatif Stres

Oksidatif stres; herhangi bir nedenle oksidan üretiminde artış ve antioksidan savunma mekanizmasında yetersizlik nedeniyle aradaki dengenin bozulması sonucunda oluşan doku hasarı olarak tanımlanmaktadır (10).

Oksidatif stres insandaki birçok patolojik durumun meydana gelmesinde, ilerlemesinde ve komplikasyonlarının ortaya çıkmasında önemli yere sahiptir. Bu konuyla

ilgili yapılan çalışmalar çoğunlukla oksijenin indirgenmesiyle oluşan serbest radikallerin organizmadaki biyolojik ve kimyasal özelliklerine aittir. Oksijen, serbest radikallerin ana kaynaklarından birisi olup genel görüş, serbest radikallerin oksidan özelliğinin yapısındaki oksijenden kaynaklandığı yönündedir (9).

Gerçekte oksijen radikallerinin üretimi normal biyolojik fonksiyonların ayrılmaz bir parçasıdır (30). Serbest radikaller her zaman oksidan aktivite göstermez ve sadece oksidatif stresten sorumlu değildirler. Serbest radikaller ve oksidasyon organizmada birçok biyokimyasal reaksiyon ve hücre iletim sisteminde rol almaktadırlar (31). Bazal koşullarda tüm aerobik hücrelerde; solunum, fagositoz, araşidonik asit metabolizması gibi reaksiyonlarda bir miktar serbest oksijen radikali oluşur ve bunlar sağlıklı bir organizmada antioksidan savunma mekanizmaları tarafından hızla ortadan kaldırılır (30).

Serbest radikaller, üretim hızlarına, aktivitelerine ve savunma sistemine bağlı olarak oksidatif stres oluştururlar. Serbest radikallerin fazla üretilmesi, birtakım enzimlerin (oksidazlar, hem içeren proteinazlar, metaloproteinazlar) hücre dışına çıkması, demir – bakır gibi bazı maddelerin serbest radikallerle kompleks yapması ve savunma sistemindeki bozukluklar oksidatif stresin artmasına neden olurlar (31). Günümüzde oksidatif stres ile birçok önemli hastalığın patogenezi açıklanmaya çalışılmaktadır. Oksidatif stres kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve yaşlanmayla birlikte olan dejeneratif hastalıkların patogenezinde etkilidir.

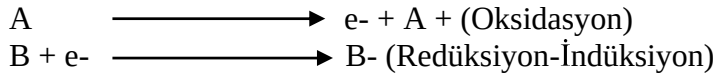
Oksidatif stres, tüm hücrelerde yapısal ve fonksiyonel değişiklikler oluşturarak hasara neden olabilir. Oksidatif stresin hücredeki başlıca bilinen hedefleri çoklu doymamış yağlar, şekerler, proteinler ve nükleik asittir. Oksidatif stres, iyon dengesi hücre redoks sistemini (32), hücre içi haberleşmeyi (33) ve gen transkripsiyonunu etkiler, sonuç olarak, hücre döngüsünü etkileyerek hücrenin ölümüne neden olur (34).

4.2.2. Serbest Radikaller ve Oksidanlar

Radikal terimi kökenini Latince ‘radicalis’ kelimesinden alır ve ‘kökü olan’ anlamındadır. On dokuzuncu yüzyılda, kimyasal olarak; atomik ve moleküler bağlar ayrı kavramlar olarak bilinmediklerinden tanımlamak için ‘radikal’ kelimesi kullanılmıştır. Yirminci yüzyıl başlarında radikallerin, molekülden bağımsız olduğu saptanarak ‘serbest radikal’ terimi kullanılmaya başlanmıştır. Biyolojik reaksiyonlarda serbest radikallerin

spontan veya enzimatik mekanizmalarla ara ürün olarak tek elektron transferinde rol aldığı belirtilmiştir.

Serbest radikaller; paylaşılmamış bir veya birden fazla elektrona sahip molekül veya atomlar olup, paylaşılmamış elektronun üzerinde olduğu oksijen molekülleridirler (35). Ortamda bulunan kimyasal veya fiziksel enerji kaynaklarının, kovalent bağlarında hemolize sebep olarak iki farklı türde paylaşılmamış olan elektron oluşturması serbest radikal oluşumuna neden olur. Bir diğer radikal oluşturma yöntemi de redoks reaksiyonudur. Bu reaksiyonlarda bir elektronun kaybı veya kazanılması söz konusudur.



Her oksidasyon bir redüksiyonla birliktedir. Böylece kütle kuralına göre oksidatif strete her iki reaksiyon da yer alır. Serbest radikallerin aktiviteleri farklılık gösterir. Hidroksil ($\text{HO}^\cdot$) gibi bazı radikaller yüksek aktiviteye sahipken, E vitamininin oksidasyon ürünü olan tokoferoksil gibi bazı bileşiklerin aktiviteleri çok önemli değildir (36). Serbest radikallerin hedef molekülle kompleks oluşturma reaksiyonları; başlangıç, ilerleme ve sonlanma olmak üzere üç aşamada meydana gelir. Serbest radikalın etkinliği substrata ve bulunduğu fiziksel şartlara göre farklılık gösterir. Aynı serbest radikal, aynı maddeyi oksidant veya redüktant olarak kullanabilir. Reaksiyonun oluşma hızı; ortamın ısısına, pH'sına ve ortamdaki katalizörlere bağlıdır (37).

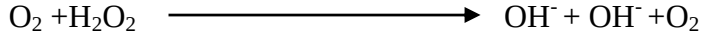
4.2.3. Serbest Radikal Reaksiyonları

Oksijen radikalleri içinde, süperoksit anyonu (O_2^-), oksijenin bir elektron almasıyla oluşan ilk ürün olup, en kolay ve en fazla oluşan serbest radikaldır. Canlılarda diğer radikallerin oluşumu sıklıkla O_2^- nin birikimine bağlıdır. O_2^- radikalının ana kaynağı ise moleküler oksijenin metabolize edildiği, mitokondriyal elektron transport zinciridir. Elektron transport zincirinde moleküler oksijenin biyolojik oksidasyonu, organizmaya enerji kazandıran ve yaşamın devamını sağlayan bir süreç olup, bu zincirin ara basamaklarında O_2^- oluşur (35) ve normal şartlarda oluşan O_2^- 'ler organizmadan dismutasyon denilen bir dizi reaksiyon vasıtasıyla uzaklaştırılır.

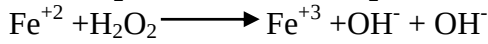
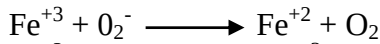
Bu reaksiyonlar hidrojen peroksit (H_2O_2) ve perhidroksi ($\text{OH}_2^\cdot$) radikallerinin meydana gelmesi ile sonuçlanır. Bu dismutasyon reaksiyonları kendiliğinden meydana gelebileceği gibi süperoksit dismutaz (SOD) tarafından da katalizlenebilir.

Oluşan H_2O_2 , SOD gibi antioksidan enzim sistemlerinden olan katalaz (KAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) ile suya dönüştürülür.

Oksijen radikalleri içinde en fazla reaktif olan hidroksil ($OH^\cdot$) radikalidir ve hemen her molekül ile reaksiyona girebilme özelliğine sahip olup invivo oluşumu için Haber Weis reaksiyonuna gereksinim vardır. Bu tepkimede $O_2^\cdot$ ve H_2O_2 etkileşir ve sonuçta $OH^\cdot$ radikali meydana gelir.



İskemi oluştuğunda ve de özellikle reperfüzyon ile dokuların oksijenasyonu ile oluşan bu reaksiyonu demir gibi metaloproteinler, askorbik asit ve NADPH katalize edebilir.



Organizmada $OH^\cdot$ radikaline karşı SOD, KAT, GPx gibi bir antioksidan savunma mekanizmaları yoktur (38).

4.2.4. Reaktif Oksijen Türleri

Oksijen 8 atom numaralı kararsız bir element olup doğada dioksijen (O_2) halinde bulunur. Bu durum, enerji düzeylerindeki elektronlarının yapısıyla ilişkilidir (39).

Oksijen molekülündeki aynı yöne dönen iki elektrona sahip 2P son orbitali önemlidir ve bu orbitallerden herhangi birindeki elektron, bir orbitali bırakıp diğerine geçtiğinde veya farklı yönde döndüğünde “singlet oksijen” oluşur. Orbitallerden birine ters dönüşlü iki elektron veya ikisine ters dönüşlü iki elektron daha eklenirse “oksijen radikali” meydana gelir (Tablo 4.3).

Reaktif oksijen türleri, biyoaktif lipidler örneğin araşidonik asitler, lipid oksidasyonunun alt ürünleri, aldehytler-alkenaller, hücre içi enzimler ve metalleri lokal ve sistemik olarak etkileyerek doku hasarı meydana getirirler (40).

Tablo 4.3. Oksijen türevi bileşikler

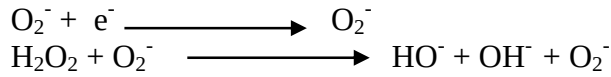
Radikaller		Radikal Olmayanlar	
Hidroksil	($HO^\cdot$)	Hidrojen Peroksit	(H_2O_2)
Alkoksil	($RO^\cdot$)	Singlet Oksijen	($O_2^{\uparrow\downarrow}$)
Peroksil	($ROO^\cdot$)	Ozon	(O_3)
Superoksit	($O_2^\cdot$)	Hipoklorid	($HOCl$)
Nitrik oksit	($NO^\cdot$)	Lipid hidroperoksit	($LOOH$)
Azot dioksit	($NO_2^\cdot$)	Peroksinitrit	($ONOO^\cdot$)

Oluşan radikal eşleşmemiş tek elektronu nedeniyle dengesiz olup hızla ortamdan kaybolur. Bu yüzden bu radikaller tek elektronlarını bir başka moleküle verebilir (redüksiyon) ya da bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilirler (oksidasyon). Sonuçta radikal olmayan yapıyı radikal şekle dönüştürebilirler (39).

4.2.4.1. Süperoksit Radikalleri (O_2^-)

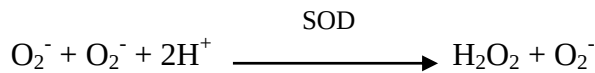
Süperoksit radikalleri (O_2^-), hücrelerde redükte elektron taşıyıcılarının otooksidasyonu ile oluşmaktadırlar. O_2^- oluşumu; elektron taşıyıcısının redoks durumuna ve ortamdaki oksijen derişimine bağlıdır.

Zayıf bir oksidan olan O_2^- kendi başına önemli hücre hasarına yol açması olağan değildir, ancak oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonu tetikleyebilir (41). Bu reaksiyonların en önemlilerinden biri Haber-Weiss reaksiyonu olup, O_2^- ve H_2O_2 demir varlığında etkileşerek oldukça reaktif olan HO radikalini oluştururlar.



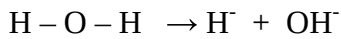
Üretilen bu $OH^\cdot$ oldukça reaktif olup DNA gibi önemli yapılarla reaksiyona girerek önemli hasarlar oluşturabilmektedirler (42).

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



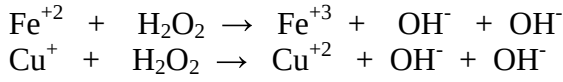
4.2.4.2. Hidroksil Radikalleri ($OH^\cdot$)

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



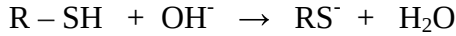
Hidrojen peroksitin (H_2O_2) Fe^{+2} veya Cu^{+2} ile reaksiyona girmesiyle de $OH^\cdot$ radikali meydana gelmektedir. H_2O_2 toksisitesinin büyük çoğunluğunun temelinde oluşan

OH radikali olduğu düşünölmektedir. Bu reaksiyon ilk defa 1894 yılında Fenton tarafından gözlenmiş ve günümüzde de Fenton reaksiyonu olarak bilinmektedir.



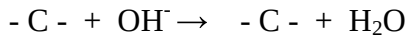
OH⁻, başta lipid, protein ve nükleik asitler olmak üzere hemen hemen bütün hücrel moleküllerle reaksiyona girebilmektedirler. OH⁻, DNA'da bulunan deoksiriboz molekülüne etki ederek çeşitli ürünler oluşturur ve bu oluşan ürünlerin bazıları mutajeniktir. Yine OH⁻ aromatik halkaya katılma özelliğine sahip olduklarından DNA ve RNA'da bulunan pürin ve pirimidin bazlarına katılarak radikal oluşumuna yol açarlar. Böyle bir dizi reaksiyona katılabilen OH⁻, DNA'nın baz ve şekerlerinde ciddi hasarlar oluşturarak DNA'da iplik kırılmaları meydana getirir, ancak büyük hasarlar hücrel koruyucu sistemler tarafından onarılamayabilir ve bunun sonucunda mutasyonlar ve hücre ölümleri görülür (41,43).

OH⁻, DNA'nın pürin ve pirimidin bazları ile etkileşmenin yanısıra tiol grubu içeren biyolojik moleküllerden H atomu da koparabilme özelliğindedir.



Sonuçta oluşan sülfür radikallerinin ilginç kimyasal özellikleri olup, O₂ ile kombine olabilir ve oksî-sülfür radikallerini meydana getirir. RSO₂⁻ ve RSO⁻ gibi bunların birçoğı da biyolojik moleküllerde hasar oluştururlar.

OH⁻'ın sebep olduğı en iyi bilinen biyolojik hasarı lipid peroksidasyonudur. OH⁻, özellikle araşidonik asit gibi doymamış yağ asit yan zincirlerinden -C atomunun birinden H atomunun çıkartılması ve su oluşumu ile sonuçlandığı reaksiyonlarda olduğı gibi membran fosfolipitlerinin doymamış yağ asit yan zincirlerine hücum eder.



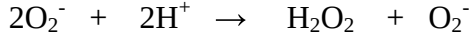
Bu reaksiyon sonunda membranda kalan - C - radikali oksijen ile kombine olarak peroksil radikalini oluşturur.

Peroksil radikalleri aktif olup yakınındaki doymamış yağ asitlerinin yan zincirlerine saldırır; böylece birçok yağ asidinin yan zincirlerini lipid hidroperoksitlere dönüştürür ve membranda lipid hidroperoksitlerinin birikimi de membran fonksiyonunda bozulmaya neden olur. Peroksil radikalleri ve sitotoksik aldehitler, membran proteinlerinde ciddi hasar oluştururlar ve membrana bağı bazı enzim ve reseptörleri inaktive ederler (39, 44,45).

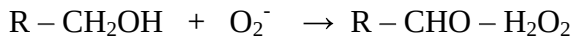
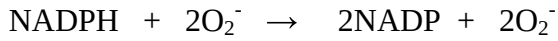
4.2.4.3. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit (H₂O₂) eşleşmemiş elektronu bulunmadığından aslında bir radikal değildir. Süperoksit anyonunun (O₂⁻) hidrojenle yaptığı reaksiyona dismutasyon reaksiyonu denir ve reaksiyon hızı asidik pH değerlerinde fazladır (39, 46).

Reaksiyon şu şekilde ifade edilir;

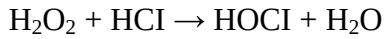


Bazı enzimler ile tekli (NADPH oksidaz) ya da çiftli (Glukoz oksidaz) elektron eklenmesi katalize edilerek O₂⁻ veya H₂O₂ oluşması sağlanır.



4.2.4.4. Hipoklorik Asit (HOCl)

Hipoklorik asit (HOCl), radikal olmamasına rağmen reaktif oksijen türleri (ROT) içinde sınıflandırılır. Bakterilerin fagositik hücreler tarafından öldürülmesinde rol oynar. Radikal üretiminin fagositik hücrelerde bakteri öldürülmesinde önemi büyüktür. Aktive olan nötrofiller, monositler, makrofajlar ve eozinofiller tarafından süperoksit radikalleri (O₂⁻) üretilir ve özellikle nötrofillerde miyeloperoksidaz enzimi aracılığıyla önce O₂⁻ oluşturulur ve daha sonra bunun dismutasyonu ile oluşan H₂O₂ klorür iyonu ile birleştirilerek potent bir antibakteriyel olan HOCl meydana getirilir.



4.2.4.5. Singlet O₂ (O₂^{↑↓})

Bu molekül de yapısında eşleşmemiş elektron bulundurmadığından serbest radikal değil fakat serbest radikal reaksiyonlarını başlattığından serbest radikal olarak kabul edilmiştir. O₂^{↑↓}, oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönünde bir yörüngeye yer değiştirmesi ile oluşabileceği gibi O₂'nin dismutasyonu ve H₂O₂'nin hipoklorit ile reaksiyonu sonucunda da meydana gelebilir. Deri ve retina gibi gün ışığına maruz kalan bölgelerde sıkça olduğu saptanmıştır.

Serbest oksijen radikallerinin etkisiyle peroksil (ROO⁻), alkoksil (RO⁻), tiol radikalleri (RS⁻) veya karbon merkezli radikaller (R⁻) meydana gelebilir. Bu radikallerin tekrar oksijenle reaksiyonu sonucu yeni serbest radikaller ortaya çıkabilir (47).

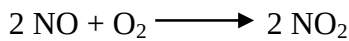
4.2.4.6. Ozon (O₃)

Ozon, güneş ışınlarına karşı önemli bir stratosferik koruyucudur, ancak yeryüzünde toksik ve istenmeyen, oksidan bir ajandır. Bazı bilimsel cihazlarla, fotokopi makinelerinde kullanılan ışık kaynakları tarafından oluşturulur ve kirli şehir havasında bulunur. Akciğerlere zararlı olup, DNA, lipid ve proteinleri kolayca okside etme yeteneğine sahiptir (48).

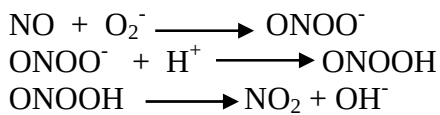
4.2.5. Reaktif Nitrojen Türleri (NO, NO₂, NO⁺, NO⁻)

Nitrik Oksit (NO), Lipofilik özellikte ve oksijensiz ortamda oldukça karardır (49). Düşük konsantrasyonlarda iken, ortamda oksijen varlığında dahi karardılığını koruyabilen NO, biyoaktif memeli hücresinin bilinen en düşük moleköl ağırlıklı ürünüdür (50, 51, 52). Diğer radikallerden farklı olarak düşük dozlarda toksik olmayıp, hatta fizyolojik olarak çok önemli fonksiyonları vardır (49). NO⁻; bir atom azot ile bir atom oksijenin çiftleşmemiş elektron vererek birleşmesinden oluştuğundan radikal tanımına uyar (53). Vasküler endotel hücrelerinde, birçok izoformu tanımlanmış olan, Nitrik Oksid Sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla L-arjininden sentezlenir. NO⁻'in yarı ömrü 10–20 saniye gibi çok kısa bir zamandır. Kolayca düz kas hücresine girerek Guanilat Siklaz (GC) enziminin “hem” demirine bağlanır ve cGMP sentezini uyararak vazodilatasyonu sağlar. NO, aynı zamanda tiyol gruplarını S-nitrozilasyona uğratarak protein ve reseptör fonksiyonlarını da etkiler. Fe-S kümelerine afinite gösterdiği için bu grupları içeren ve hücre içi demir trafiğini kontrol eden akonitaz enzimine de bağlanır ve bu enzime mRNA bağlanmasını artırarak enzimin aktivitesini inhibe eder.

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



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



Oluşan OH⁻ ise biyolojik olarak yıkıcı bir moleküldür. Ayrıca, peroksinitrit de tirozin gibi fenolik aminoasitleri nitrolayarak toksik nitro türevlerini (nitrotirozin) meydana

getirmektedir. Sonuçta NO, endotel hücre disfonksiyonu ve bununla ilişkili olan DM, hipertansiyon, ateroskleroz gibi bazı önemli hastalıklarda etkili olabilmektedir.

4.2.6. Başlıca Serbest Radikal Üretim Kaynakları

Serbest radikaller organizmada normal hücre metabolizması sırasında meydana gelen oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları sırasında oluşabildiği gibi çeşitli dış kaynaklı nedenlerle de oluşabilir. Hücre organellerinin her birinde farklı miktarda radikal oluşur. Bununla birlikte stres, radyasyon ve ksenobiyotikler aktive olmuş fagositlerde serbest radikal üretimini arttırabilirler. Mitokondrial elektron transport sistemi (METS), sitokrom P-450, sitokrom b-5, ksantin oksidaz, triptofan dioksijenaz, lipooksijenaz, prostoglandin sentetaz, hemoglobin, flavoproteinler, lipid peroksidasyonu, iskemi, travma ve entoksikasyon gibi durumlar, moleküler otooksidasyon yapan tiol, hidrokinon, katekolamin ve antibiyotik gibi moleküllerin hepsi hücrel serbest radikalleri oluşturabilirler (47, 54). Serbest radikal oluşturan kaynaklar endojen ve ekzojen olmak üzere iki gruba ayrılabilir.

4.2.6.1. Endojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları

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

4.2.6.1.1. Mitokondriyal Elektron Transport Sistemi (METS)

Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılır ve tüketilen oksijenin % 1–5 kadarı süperoksit ile sonlanır. METS'deki radikal oluşumunun nedeni NADH dehidrogenaz ve koenzim Q gibi elektron taşıyıcılardan oksijene olan elektron kaçışıdır. Fizyolojik koşullarda reaktif oksijen türlerinin temel kaynağı normal oksijen metabolizmasıdır. Dolayısıyla normal koşullar altında METS serbest radikal üretiminin en önemli kaynağıdır (55).

4.2.6.1.2. Endoplazmik Retikulum (ER)

ER'da bulunan sitokrom P-450 sistemi moleküler oksijeni kullanarak birçok substratı oksitler. Oksijen molekülünün bir atomu substrata bağlanırken, diğer atomu su

oluşturur. Bu reaksiyon monooksijenaz veya karışık fonksiyonlu oksidaz reaksiyonu olarak isimlendirilir.

Kimyasal ajanların serbest radikal oluşturmadaki en önemli mekanizmaları, mikrozomal sitokrom P-450 sistemi aktivasyonudur ve bu sistemde moleküller ya indirgenerek ya da oksitlenerek serbest radikal oluşturulur. Son durumda bir elektron eksikliği mevcuttur ve elektrofilik bir bileşik oluşur ve bu bileşik de bir nükleofil ile reaksiyona girer. Bu elektrofilik bileşiği çeken en önemli molekül sistein kalıntıları üzerindeki tiyol (-SH) grubudur. -SH grubu ise bir çok endojen makromolekülde (DNA, RNA, enzimler, vb) bulunduğu için reaktif ara ürünler bu moleküllerle kovalent bağlanarak toksik etki gösterbilirler (56).

4.2.6.1.3. Redoks Döngüsü

Ksenobiyotiklerden serbest radikal oluşumu sadece mikrozomal reaksiyonlarla olmayıp, menadion, parakuat, dikuat, nitrofurantoin, gibi ilave bir çiftlenmemiş elektron kazanma eğilimindeki bileşikler alternatif bir redoks siklusu oluştururlar. Bu ajanlardan oluşan radikaller, tekrar ana bileşiğe dönüşmek için oksijenle kolayca oksitlenir ve süperoksit radikalini meydana getirirler (57).

Oluşan ksenobiyotik ve süperoksit radikalleri hücre içi ferritin depolarından demiri serbestleştirir ve sitozole salınan demir, Fenton reaksiyonunda katalitik rol alarak reaktif bir serbest radikal olan hidroksil radikali gibi ikincil radikallerin oluşumunu sağlar (41).

4.2.6.1.4. Araşidonik Asit Metabolizması

Hücre membranlarındaki prostaglandin için en önemli doymamış yağ asidi kaynağı araşidonik asittir. Fagositik hücrelerin uyarılması, fosfolipaz ve protein kinazın aktivasyonu, plazma membranlarında araşidonik asidin salınımına neden olur ve araşidonik asidin siklooksijenaz ile katalizlenen oksidasyonu sonucu prostaglandinler, lipooksijenaz ile katalizlenen oksidasyonu ile de lökotrienler oluşur ve bu tepkimeler sırasında serbest radikaller meydana gelir (58).

Siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerinin ikisi de aktiviteleri için peroksitlere gereksinim duyarlar. Siklooksijenaz aktivitesi daha sonra prostaglandinlerin sentezi içinde gerekli olan endoperoksitlerin oluşumuyla sonuçlanırken, lipooksijenaz lipid peroksitler üzerinden lökotrienlerin oluşumunu katalizler (58). Ayrıca bu sırada bazı

ksenobiyotiklerden oluşan reaktif ara ürünler hedef moleküllerle etkileşerek toksisite gösterirler.

4.2.6.1.5. Fagositoz

Aktive fagositler intrasellüler radikal oluşumuna neden olurlar (Tablo 4.4) ve bu serbest radikaller patojenlerle savaşta önemlidirler. Ksenobiyotikler, radyasyon ve stres aktive olmuş fagositlerde serbest radikal üretimini arttırırlar.

Tablo 4.4. Fagositlerin ürettiği reaktif oksidan ürünler

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

Doku makrofajları (kupffer hücreleri, alveolar makrofajlar), kan monositleri gibi fagositik hücreler ve nötrofiller, eozinofiller, bazofiller gibi granülositler immunolojik veya özel bir uyarıyla uyarıldıklarında lizozomlarını dışarı vermeye başlarlar. Reaktif oksijen oluşumunun yanısıra, mitokondri dışındaki oksijen üretiminde bir patlama (solunumsal patlama; respiratory burst) görülür. Fagosit edilmiş, patojenler oksidan ajanlarca öldürülür ve bu oksidanlar solunumsal patlama ile sağlanır. Oluşan oksidan ajanlar patojenleri öldürmenin yanısıra myeloperoksidaz sistemi üzerine de etkilidir. H_2O_2 ve hipoklorit kombinasyonu myeloperoksidaz sistemine de etkiyerek güçlü bir antimikrobiyal etkinlik göstermektedir. Bu radikaller memeli bakteri ve parazitlerine karşı sitotoksik etkiye sahip oksidanlardır. Membran peroksidasyonu, membran proteinlerinin dekarboksilasyonu ve/veya oksidasyonuna yol açıp membranın bütünlüğünü bozabilir ve DNA'yı okside ederek parçalayabilir. Fagositik kaynaklı oksidanlar; ototoksik, immunosupresif ve mutajenik etki gösterebilirler (58).

4.2.6.1.6. Otooksidasyon

Doku bileşenlerinin çoğu moleküler oksijenin varlığında kimyasal olarak stabil olmayıp, normal şartlar altında metabolizmada az ya da çok otooksidasyona uğrarlar. Kolayca otookside olabilen bu bileşenler doku ve hücrelerin son derece önemli bileşenleridirler (59, 60, 61). Hemoglobin gibi metalloproteinler, hormonlar, tiyoller, doymamış membran lipitleri bunlara örnek olarak gösterilebilirler.

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

4.2.6.1.7. Oksidan Enzimlerin Reaksiyonları

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

Üzerinde en çok çalışılan enzim olan ksantin oksidaz (XOD) aslında ksantin dehidrogenaz (XDH) olarak sentezlenir ve dokularda bu şekilde bulunmaktadır ve elektronlarını moleküler oksijene değil NAD'ye verir ve süperoksit anyon radikali oluşturmaz. Fakat XOD sülfidril oksidasyonu ya da sınırlı proteolizis ile dehidrogenaz formunda oksidaz formuna dönüşebilir. XOD moleküler oksijeni kullanarak H_2O_2 ve O_2^- oluşturmaktadır (62).

4.2.6.2. Ekzojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları

Serbest radikaller, eksojen nedenlerle de oluşabilir. Radyasyon, sigara dumanı, zehirli gazlar, ilaçlar, kanserojen maddeler ve pestisitler bilinen en önemli ekzojen serbest radikal üretim kaynaklarıdır (63).

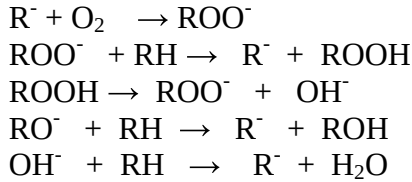
4.2.7. Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri

4.2.7.1. Serbest Radikallerin Lipitlere Etkileri

Serbest radikallerin en önemli etkisi lipit peroksidasyonu olarak adlandırılan lipitler üzerindeki etkileridir (64, 65, 66). Lipit peroksidasyonu doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerle reaksiyonu ile yağ asidindeki metilen grubundan bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Biyolojik sistemlerde bu radikalin süperoksit anyon radikali ile hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir ve süperoksit anyon radikali hidroksil radikaline dönüşmektedir. Benzer şekilde hidrojen peroksidin de hidroksil radikaline dönüştüğü bilinmektedir. Bu nedenle lipit peroksidasyonu hidroksil radikali tarafından başlatılmaktadır (64).

Hidrojen atomunun uzaklaşmasıyla meydana gelen serbest yağ asidi radikali moleküler oksijen ile reaksiyona girerek peroksit radikalini oluşturur, oluşan peroksit

radikali yüksek reaksiyon yeteneğine sahip olup başka bir yağ asidi molekülü ile yeni bir hidroperoksit ve yeni bir yağ asidi radikali oluşturur ve bu yağ asidi radikali yeniden oksijen ile etkileşerek RH'dan yeniden bir hidrojen atomunun ayrılmasını sağlar. Bu zincir reaksiyon oluşan yeni radikallerin de etkisiyle devamlı olarak artan bir hızla devam eder (64, 65).



Bu şekilde oluşan lipid peroksit birçok reaksiyonda $RO^\cdot$ ve $OH^\cdot$ verecek şekilde parçalanır ve bu oluşan radikaller hemen substrat ile reaksiyona girerek yeni zincir reaksiyonlarını başlatacak olan $R^\cdot$ Radikallerini meydana getirirler, ve bu şekilde oluşan bir radikal sürekli olarak yeni radikallerin oluşmasına yol açar (65).

Lipit peroksitleri hücre zarlarının önemli bir bileşeni olup Fe, Cu gibi geçiş metallerinin varlığında alkoksi ve peroksi radikallerini oluşturular. Bu nedenle Fe veya Cu tuzları lipid peroksidasyonunu hızlandırırlar. Sonuçta hücre zarının akışkanlığını ve geçirgenliğini bozarak membran bütünlüğünün bozulmasına yol açarlar. Lizozomal membranlarda oluşan hasar hidrolitik enzimlerin salınmasına ve hücreiçi sindirime yol açar. Biriken hidroperoksitler direkt olarak toksik etki göstermenin yanı sıra duyarlı aminoasit kalıntıları da (sistein, histin, methionin, lizin) okside edebilir veya zincir polimerizasyon reaksiyonlarıyla enzimleri inaktive edebilirler (58, 65, 67).

4.2.7.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Bu etki proteinlerin aminoasit içeriğine göre değişir. Protein molekülleri üzerindeki sülfhidril veya amino gruplarıyla serbest radikallerin etkileşmesi sonucu proteinlerde üç çeşit yapısal değişiklik görülür; 1) Aminoasitlerin modifikasyonu, 2) Proteinlerin fragmentasyonu, 3) Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmaları (68).

Aromatik aminoasitler (fenilalanin, tirozin, triptofan), doymamış yapılarından dolayı oksidatif etkiye çok hassastırlar. Sülfürlü amino asitler (sistein ve sistin) de serbest radikal etkisine hassas amino asitlerdendirler. Proteinin temel yapısındaki değişme, antijenitesinde değişikliğe ve proteolize duyarlı hale gelmesine neden olabilir. Radikaller, membran proteinleri ile reaksiyona girebilir ve enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarında bozulmaya yol açabilirler (69).

Serbest radikallerin etkisiyle IgG ve albümin gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları zarar görür ve normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar gören proteinlerden olup, özellikle oksihemoglobin O_2^- veya H_2O_2 ile reaksiyona girerek methemoglobin oluşturur (70,71).

4.2.7.3. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu ile hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelirler. Bunlar diyabet ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıklar gibi patolojik süreçlerde önemlidirler (69). İnflamatuvar eklem hastalıklarında synovial sıvıya geçen PML'lerden extrasellüler sıvıya salınan H_2O_2 ve O_2^- buradaki hyalüronik asidi parçalarlar, ayrıca gözün vitröz sıvısındaki hyalüronik asitin oksidatif hasarı da katarakt oluşumuna katkıda bulunur (71).

4.2.7.4. Serbest Radikallerin DNA'ya Etkileri

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

ROS ve RNT ile oluşan DNA hasarlarının çok az bir kısmı doğal olarak oluşmaktadır (72). Oksidasyon, metilasyon, depürinasyon ve deaminasyon reaksiyonları DNA hasarlarının oluşumunda yer alan endojen reaksiyonlardır. Nitrik oksid veya nitrojen dioksit (NO_2), peroksinitrit ($ONOO^-$), dinitrojen trioksit (N_2O_3) ve nitrik asit (HNO_3) gibi reaktif ürünler nitrozasyon ve deaminasyon reaksiyonları ile mutajenik aktivite gösterebilirler. Farklı ROT'leri farklı yollardan DNA hasarlarına neden olurlar (73,74). Örneğin O_2^- ve H_2O_2 hiçbir zaman bazlarla reaksiyona girmez, ancak OH^- , DNA'daki dört bazdan herhangi birine bağlanarak farklı reaktif ürünlerin oluşmasına yol açabilmektedir (75). Singlet oksijen ise guanine spesifik bağlanarak hasar oluşturur (76,77).

Hidroksil radikali pürin bazları ile C4, C5 ve C8 pozisyonlarından reaksiyona girerek sırasıyla C4-OH-, C5-OH-, ve C8-OH- pürin radikallerini oluşturur (77) ve C4-OH- ve C5-OH-pürin radikalleri dehidrasyona uğrayarak okside pürin radikallerini

oluştururlar. C8-OH-pürin radikallerinin bir elektronlarının oksidasyonu ve bir elektronlarının redüksiyonu ile sırasıyla 8-hidroksipürinler (7,8-dihidroksi-8-oxo-pürinler) ve formamidopirimidinler oluşur (77). İndirgeyici ajanlar formamidopirimidinlerin oluşumunu arttırırken 8-OH-pirimidinlerin oluşması için oksijenli ortam gerekmektedir. 8-OH-guanin çok yaygın olarak meydana gelen bir baz hasar ürünü olduğundan oksidatif DNA hasarlarının ölçülmesinde hasar indeksi olarak kullanılmaktadır. Çoğunlukla 8-hidroksideoksiguanozin (8-OH-dGua) nükleoziti şeklinde ölçülmektedir (78).

Timinin alil radikalının oksidasyonu ile 5-hidroksimetilurasil ve 5-furmilurasil meydana gelmektedir. Dehidrasyon ve deaminasyon reaksiyonlarına yalnızca sitozin katılabilmekte ve böylece sitozin; glikol dehidrasyonla urasil, glikol deaminasyon ile 5-hidroksi urasil (5-OH-Ura), dehidrasyon ve deaminasyon ile de 5-hidroksisitozini (5-OH-Cyt) meydana getirmektedir (39).

Hidroksil radikalının DNA'daki şeker grubu ile etkileşmesi, beş karbon atomunun herhangi birinden bir H atomunun çıkarılmasıyla olmaktadır (63). Şeker radikalleri birçok farklı reaksiyonla oluşmaktadır. Oksijensiz sistemlerde C4' merkezli radikaller parçalanmaya uğrar ve DNA zincirleri kırılarak sağlam baz ve değişikliğe uğramış şeker serbest kalır. Cl merkezli radikallerin oksidasyonu ile de şeker laktonu oluşumu ve sağlam bazın salınımı gerçekleşir. Oksijen yokluğunda, baz radikalleri kendilerine komşu olan şeker grubundan H atomu alarak şeker radikallerini oluştururlar ve sonuçta zincir kırılmalarına neden olurken, oksijenli ortamda karbon merkezli şeker radikaline moleküler oksijenin eklenmesi sonucu peroksil radikalleri oluşur ve şeker peroksil radikallerinin en karakteristik özelliği de karbon-karbon bağını kırarak alkali bölge oluşturmalarıdır. C5' merkezli peroksil radikali oksil radikaline dönüştürülerek parçalanma ile DNA zincirinin kırılmasına, sağlam bazın ve değişmiş şekerin serbest kalmasına yol açmaktadır (79). DNA'daki değişikliğe uğramış şeker grupları zincirden ayrılabilir ya da fosfat bağlarıyla DNA'ya bağlı kalabilir.

Baz ve şeker radikallerinin reaksiyonları sonucunda değişik modifiye baz ve şekerler, kontrolsüz baz dizilimi, zincir kırılmaları ve DNA-protein çapraz bağları meydana gelirler. Oksidatif DNA hasarı denilen bu tip hasarlar sonucu yaşlanma, mutasyonlar ve kanserler ortaya çıkabilir (80).

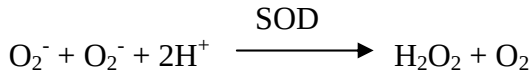
4.3. Antioksidan Savunma Sistemleri

ROT'nin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücut “antioksidan savunma sistemi” adı verilen birçok savunma mekanizmasına sahiptir. Bütün hücrelerin oksidatif strese karşı güçlü savunma sistemleri vardır. Bu savunma sistemlerini serbest radikal tutucular ve bazı enzimler oluşturmaktadır. Savunma sisteminde öncelikle enzim sistemi etkilidir (81).

4.3.1. Enzimatik Antioksidanlar

4.3.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

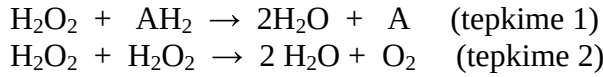
SOD süperoksit anyonunun hidrojen perokside dismutasyonu reaksiyonunu katalizler.



SOD, glutatyon peroksidaz (GPx) ve KAT oksijen radikalleriyle oluşan hasara karşı başlıca enzimatik savunma mekanizmalarıdır. SOD ile O_2^- 'nin dismutasyonu ile H_2O_2 oluşumu hücre için biyolojik avantaj sağlar. Hücreden H_2O_2 çıkarılması için SOD; KAT ve GPx enzimleri ile birlikte çalışmaktadır (81, 82).

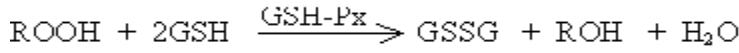
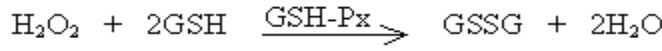
4.3.1.2. Katalaz (KAT)

Katalaz yapısında içerdiği hem grubundan dolayı hemoprotein olarak kabul edilmektedir (83). Kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek ve müköz membranda yüksek konsantrasyonda (84) olup, H_2O_2 oluşum hızının düşük olduğu durumlarda peroksidatif tepkimeyle (tepkime 1), H_2O_2 oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda ise katalitik tepkimeyle (tepkime 2) hidrojen peroksiti suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırır (59).



4.3.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

GSH-Px, hidrojenperoksidlerin indirgenmesinden sorumludur. Tetramerik yapıda ve 4 selenyum atomu ihtiva eden sitozolik bir enzimdir. Birbirine kenetli enzim sistemi olan GSH-Px ve glutatyon redüktaz (GSH-Rd) glutatyon harcayarak H_2O_2 'nin redüksiyonunu katalizlerler (81).



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

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

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

4.3.1.4. Glutation-S-Transferazlar (GST)

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

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

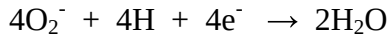
Homodimerik veya heterodimerik enzimler olan GST'ların, araştırılan tüm canlı türlerinde bulunması bunların önemini göstermektedir. Bu enzimlerin katalitik ve katalitik olmayan birçok fonksiyonları vardır. Hem detoksifikasyon hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. Katalitik olarak; yabancı maddeleri glutatyon (GSH)'daki sisteine ait

–SH grubu ile bağlayarak onların elektrofilik bölgelerini nötralize ederler ve ürünün daha fazla hidrofilik hale gelmesini sağlarlar. Oluşan bu GSH konjugatları bu yolla organizmadan uzaklaştırılabilir veya daha ileri metabolize olurlar. Bu GST’ların mutajen, kanserojen ve diğer zararlı kimyasalların intrasellüler detoksifikasyonunda rolleri olduğunu gösterir.

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

4.3.1.5. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

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



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

4.3.1.6. Tiyoller (SH)

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

reaksiyonu hızlandırmak için kolayca vermeleriyle açıklanabilir. Özellikle sistein üzerindeki karboksil gruplarının tiyol pK sı üzerine negatif etkisi vardır.

Zayıf olan S-H bağının oksidasyonu O-H bağına göre daha kolaydır. Böylece, tiyoller ve alkoller oksidan ajanlara karşı farklı davranırlar. Karbonun oksidasyon seviyesinin arttığı alkol oksidasyonuna karşı, tiyol oksidasyonu sülfürün oksidasyonu üzerinden olmaktadır. Tiyoller önce disülfidlere (RSSR) oksitlenir, daha kuvvetli oksidasyon durumlarında ise sülfenik (RSOH), sülfirik (RSOOH) ve sülfonik (RSOOOH) aside oksitlenirler. Biyolojik sistemlerde tiyol-disülfid redoksu önem arzeder. Biyolojik amino tiyollerin ve disülfidlerin redoks potansiyelleri benzerdir. Tam olmayan bir reaksiyonda, tiyol-disülfid değişimi potansiyeli -0.2 - -0.4 volt kadardır (85).



Tiyoller, flavoproteinler, sitokromlar, askorbat, reaktif oksijen türleri, amino asitler gibi hücre içi moleküllerle reaksiyon sonucu disülfidlere oksitlenirken, amino tiyollerin otooksidasyonu ise bir metal katalizöre ihtiyaç duymakta ve kararsız tiyol radikallerini ($\text{RS}^\cdot$) meydana getirmektedir. $\text{RS}^\cdot$, solüsyonda serbest olan veya metaller ile kompleks yapan bir elektron kaybetmiştir (85).

Normal şartlarda, alkil ve aril halidlerle olan reaksiyonda, halidlerin yerini alarak sülfidleri oluşturur (RSR'). Tiyollerin alkilasyonu, alkenlerin (-C=C-) eklenmesi sonucunda da meydana gelmektedir. Biyolojik olarak bu reaksiyonun karşılığı; $\text{RS}^\cdot$ 'nin alfa beta doymamış karbonil gruplarına (-C=C-C=O-) beta pozisyonunda nükleofilik eklenmesi reaksiyonudur. Tiyoller ile vit K ve norepinefrin arasındaki reaksiyon bu reaksiyona örnektir. Tiyollerin izole karbon-karbon çift bağına eklenmesi, serbest radikal mekanizması açısından fazla önemli değildir. Tiyoller siyanatlardaki çift bağ (C=N) ile de reaksiyona girerek tiyokarbonatları ($\text{NH}_2\text{-CO-SR}$) oluşturabilirler (85).

Biyolojik amino tiyollerin karbonil (-C=O) grupları ile olan reaksiyonları sonucu oluşan ürünler, alkollerle olan reaksiyon sonucu oluşan ürünlerden farklılık göstermektedir. Tiyoller karbonil grupları ile etkileşerek tiyazolidinleri oluştururlar. Serbest amino grubu, sülfidril grubundan ne kadar uzaklaşırsa, kararlı halka türevlerinin oluşumu o kadar zorlaşır. Glutasyon örneği düşünülürse karbonil gruplarının eklenmesi ile hemimerkaptal meydana gelmektedir. Bazı piridoksal fosfata bağımlı enzimlerin inhibisyonu biyokimyasal olarak tiyazolidin oluşumu ile koreledir. Diğer taraftan

izomerizasyon, dehidrojenasyon ve hidrasyon reaksiyonlarında, glutatyonun kofaktör rolü, hemimerkaptal oluşturma mekanizmasına bağlıdır (85, 86).

Alifatik amino tiyoller, nitrojen dioksit (NO_2), dinitrojen trioksit (N_2O_3) ve dinitrojen tetraoksit (N_2O_4) gibi nitrojen oksitlerle (NO_x) olan reaksiyonlarında değişiklik gösterirler. Aynı özellik, tiyollerin hem proteinleri gibi metal-nitrozil kompleksleri (M-NO) ile gerçekleştirdiği reaksiyonlar için de sözkonusudur. Bu NO_x bileşiklerinin kimyası, elektrondan zengin bazların eklenmesi ve çıkarılması reaksiyonları ile karakterizedir. Bu bileşikler NO^+ 'yu nükleofilik substratlara transfer ederler. Sonuçta S-nitrozotiyol (RS-NO) veya tiyonitrit oluşur. Bu bileşikler guanilat siklazı aktive ederek endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) metabolizmasında önemli rol oynarlar. EDRF'nin vazodilatör ve antiplatelet fonksiyonlarını redükte tiyollerle gerçekleştirmesi bu görüşü doğrulamaktır. Tiyonitrit dekompozisyonu, diğer metal veya tiyol içeren enzim aktivitelerini de etkileyebilir (87).

Metal içeren enzimlerin aktiviteleri ya NO -metal bağlanması veya S-metal bağlanması ile metal iyonlarının asit-kararlı şelatör komplekslerini oluşturmaları ile değişebilir. Tiyol içeren enzim aktiviteleri ise, RS-NO 'nun proteinlerin aktif veya allosterik tiyol bölgeleri ile transnitrozilasyon reaksiyonuna katılarak NO^+ transferi yapması ile oluşur. Gerçekte bu şekilde RS-NO dekompozisyonunun heterolitik yolları, NO 'nun homolitik salınımından daha üstün olmakta ve birçok metabolik aktivitede rol almaktadır (87).

Tiyol grupları tokoferil radikalleriyle reaksiyona girerek tokoferolü tekrar meydana getirirler ve tokoferoller de, tiyol radikalleriyle birleşerek tiyollerini oluştururlar. Hücre içinde düşük molekül ağırlıklı en önemli tiyol GSH'dir. Dihidrolipoat gibi lipid çözünen, güçlü redüktan non-GSH tiyollerde mikrozomal peroksidasyonu inhibe eder ve tokoferolü korurlar ancak tripsinizasyon veya ısıtılma sonrasında kaybolmazlar (85, 86, 87).

GSH, fosfolipid hidroperoksitleri indirgeyen membran bağımlı GSH-Px üzerinden etki eder ve eksikliğinde hidroperoksitler hızlı ve geridönüşsüz zincir reaksiyonları ile hızla birikirler. Tokoferol daha fazla zincir reaksiyonlarının oluşmasını engelleyerek hidroperoksit oluşturur ve peroksidazın azalmasının önüne geçer ve tokoferolün sisteinil veya diğer radikaller tarafından kullanılması halinde lipidlerin otokatalitik peroksidasyonuna karşı koruma potansiyeli azalır. Protein tiyol gruplarının oksidasyonu, mikrozomlarda tokoferol kaybına paralel olarak meydana gelir (85, 86).

Hücrede birçok biyolojik, farmakolojik ve toksik reaksiyon, sinyal iletimi ile ilişkili olan tiyol-redoks değişiklikleri aracılığıyla gerçekleşmektedir. N-asetil sistein, penisilamin, merkaptopropionit glisin, dihidrolipoat ve kaptopril gibi geliştirilen bazı farmakolojik reaktif ajanların bazı spesifik özellikleri gözlenmiştir. Bazı sülfür içeren ajanlar, antioksidan özellikleri tedavide tercih nedenidir. Tiyoller, doku hasarını önlemek için proteinaz inhibitörlerinin oksidasyonunun baskılanmasında kullanılmaktadır ve okside olduklarında sülfidril grupları kalsiyum salınımına neden olurlar (85).

4.3.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

4.3.2.1. Askorbik Asit

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

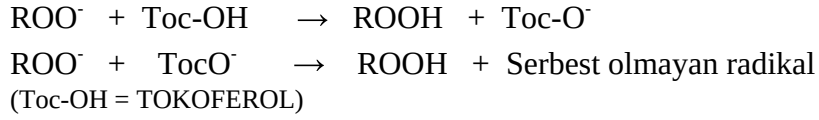
Askorbik asit, antioksidan etkileri yanında organizmada fenton reaksiyonunda ferri demiri ferro demire indirgeyerek hidrojen peroksitle etkileşmeye uygun olan süperoksit radikalının üretimine neden olur ve bu etkisi sebebiyle askorbik asit aynı zamanda pro-oksidan olarak kabul edilmektedir; fakat bu etkisi sadece düşük konsantrasyonlarda olup, yüksek konsantrasyonlarda güçlü bir antioksidandır (88).

4.3.2.2. β -Karoten (Vitamin A ön maddesi)

β -karoten yağda çözünen bir antioksidan olarak serbest radikalleri biyolojik hedeflerle reaksiyona girmeden direkt olarak onları yakalayabilir. Aynı zamanda zincir kıran bir antioksidan olarak etki ederek de peroksit radikallerin oluşumunu engeller (89).

4.3.2.3. Vitamin E (α -Tokoferol)

α -Tokoferol yağda çözünen ve zincir-kırıcı bir antioksidan olup en önemli görevi oksijen serbest radikallerine karşı membran lipidlerindeki yağ asitlerini korumaktır. Mitokondri, endoplazmik retikulum ve plazma membran fosfolipitlerinin α -tokoferole affinitesi çok yüksektir. Tokoferoller fenolik bir hidrojeni peroksidasyona uğramış bir doymamış yağ asidindeki serbest peroksit radikaline aktararak (57) serbest radikal zincir reaksiyonları kırılmasını sağlarlar.



Oluşan serbest α -tokoferol radikali bundan sonra yeni bir serbest peroksit radikaliyle reaksiyona girer. Böylece α -tokoferol kolay geri dönüşlü oksidasyona uğramaz. Kroman halkası ve yan zincir şeklindeki serbest olmayan radikal ürününe okside olur ve bu ürün ikinci konumundaki hidroksil grubu üzerinden glukuronik asit ile konjugasyona uğrayarak safra ile atılır (90).

Tokoferolün antioksidan etkisi yüksek oksijen konsantrasyonlarında fazla olduğundan en yüksek oksijene maruz kalan lipid yapılarında örneğin eritrosit ve solunum sistemi membranlarında etkileri belirgindir (91, 92).

4.3.2.4. Polifenoller

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

4.3.2.5. Transferin ve Laktoferrin

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

4.3.2.6. Seruloplazmin

Plazma antioksidan aktivitesinin önemli bir kısmını akut faz proteini olan seruloplazmin kaynaklıdır. Seruloplazmin oksijen radikal ara ürünleri salınmaksızın Fe^{+2} 'yi

Fe⁺³'e oksitler. Seruloplazmin demir ve bakır bağımlı lipit peroksidasyonu inhibe eder. Daha az önemli olmakla birlikte süperoksit radikali ile de reaksiyona girer.

4.3.2.7. Albümin

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

4.3.2.8. Ürik Asit

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

4.3.2.9. Bilirubin

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

4.4. Böbrek ve Antioksidan Enzimler

Son yıllarda yapılan hayvan çalışmaları ROT'ların ister akut ister kronik olsun ve ister immün, ister non-immün olsun, böbrek hastalıklarında patofizyolojik öneme sahip olduklarını göstermiştir (Tablo 4.5) (93). Böbrek dokusu veya idrarda oksidan hasar ürünlerinin saptanması yanında ROT inhibitörleriyle koruyucu etkinin gösterilmesi bu ilişkiyi kanıtlamıştır.

Tablo 4.5. Reaktif oksijen partiküllerinin patogeneğinde rol oynadığı düşünölen böbrek hastalıkları

Glomeröler hastalıklar

Minimal lezyon hastalığı

Membranöz nefropati

Nötrofil infiltrasyonu sonucu gelişen hasarlar

Akut böbrek yetmezliği

Post - iskemik

Toksik (Cis- platinum, gentamisin, kontrast ilaçlar, myoglobininüri, hemoglobininüri, radyasyon, hemolitik- üremik sendrom)

Obstrüktif nefropati

Pyelonefrit

Normal koşullarda böbreklerde oluşan ve doku hasarına yol açan oksidan radikaller, antioksidan savunma sistemleriyle temizlenirler. Böbrek hücreleri, nötrofilleri veya dolaşımdaki diğer hücreler başlıca ROT kaynakları olabilir ve glomeröler mesangial hücreler kompleman 5b-9 membran kompleksleriyle reaksiyona girdiklerinde ROT sentezleyebilirler. Puromisin aminonükleozid ile oluşturulan renal toksisite yoğun proteinüriyle karakterize olup, gelişen glomeröler lezyon ultrastrüktürel olarak minimal lezyon hastalığıyla aynıdır. Glomerölde ksantin oksidaz aktivitesi ve aldehid düzeyi (nonspesifik lipid peroksidasyon ürünü) artmıştır (94, 95). SOD veya KAT enziminin dışarıdan uygulanmasıyla işlevsel ve yapısal iyileşme hızlandırılabilir. Bu antioksidan enzimlerin etkinliği iskemi-reperfüzyon hasarı gibi birçok deneysel çalışmada gösterilmiştir (96,97).

Endojen antioksidan enzimler, böbreklerin oksidan hasarına karşı gelişen en önemli savunma sistemidir. E vitamini ve selenyumdan fakir diyetin antioksidan aktivitede düşüşe neden olarak yoğun proteinüri ve GFH'da azalma yaptığı gösterilmiştir (98). Sıçanlarda dietiltiokarbamat ile SOD depresyonu ile puromisin aminonükleozid nefrotoksisitenin şiddetlendiği gösterilmiştir (98). Rabdomiyolize bağı gelişen akut böbrek yetmezliği oksidan stresin önemli rol aldığı bir tablodur. Dimetiltioüre veya desferrioksamin ile antioksidan savunma güçlendirilerek düşmüş GFH üzerine olumlu etki sağlanır (98, 99). Böylece oksidatif böbrek hasarında endojen antioksidan enzimlerin belirgin koruyucu etkisi gösterilmiştir. Minimal lezyon hastalığında tedavide kullanılan glikokortikoidler de

glomerüler ayaksı çıkıntı kaybını ve glomerüler lipid peroksidasyon ürünlerinin oluşumunu azaltıp, antioksidan enzimleri arttırarak etki eder (95).

Renal antioksidan enzimlerin postnatal gelişim gösterdiği, SOD ve KAT enzimlerinin jukstamedüller bölge ve kortikal nefronlarda olduğu immünohistokimyasal olarak gösterilmiştir (100). Antioksidan enzimlerin aktivitesi biyolojik uyarıyla böbrek hücreleri ve diğer birçok hücrede artmaktadır (98).

Böbrekler oksidatif hasara uğradıktan sonra ortamdaki antioksidan enzimler lokal antioksidan savunma genlerinin aktivasyonu ile regüle edilirler (98, 99). Sonuç olarak böbrekler, OS karşısında antioksidan savunma mekanizmasını kullanır ve bu savunma doğal veya farmakolojik ajanlarla güçlendirilebilir ve birçok hasara karşı yeni tedavi yaklaşımları araştırılmaktadır.

4.5. SDBY’li Hastalarda Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Sistemlerindeki Değişiklikler

SDBY serbest radikallerin arttığı, antioksidan savunmanın ise zayıfladığı (101-104) kompleks bir patalojidir. Üremide karbonil artışının karbonil strese sebep olduğu ve karbonil stresin de SDBY hastalarında bazı komplikasyonlara yol açtığı gösterilmiştir. Karbonil birikmesi, karbonhidrat veya lipidlerin oksidatif stres sonucu artmış oksidasyonu ile olur ve bu maddelerin de uygun şekilde detoksifiye edilmemesi reaktif türlerin oluşumuna ve birikimine sebep olur. Ayrıca, üremik hastalarda immün sistemin bozulmasında ROT’de etkilidirler. Üremik hastalarda ROT üretimine sebep olan karboniller; glioksal, metilglioksal, 3-deoksi glikozun, dihidroaskorbat ve MDA’dır (40).

Üremik hastalarda homosistein oksidatif H_2O_2 üretimini artırarak endotel hücrelerinde ve dolaşımdaki LDL’yi oksitler ve homosistein düzeylerindeki minimal yükselme bile serebrovasküler ve koroner kalp hastalıkları için risk faktörü olarak kabul edilmektedir (105).

SDBY nedeniyle hemodiyalize giren hastalarda eritrositlerin parçalanması, lökositlerin ve trombositlerin aktivasyonu sonucu enzimlerin, hem içeren proteinlerin ve geçiş metallerinin artmasıyla ROT’lar oluşur (106,107). Diyaliz membranının vücutla uyumsuzluğu sonucu aktif hale gelen lökosit ve trombositler mikroagregasyonlar oluşturur. Bu agregasyonlar aterom plağı oluşumuna katkıda bulunmaktadır (106).

HD’de kullanılan bazı maddeler hastalarda önemli bir oksidatif stres sebebidir. Bu maddeler fagositik sistemi aktif hale getirerek ROT üretimine sebep olabilir. Bu nedenle son zamanlarda vücutta daha uyumlu sentetik membranlar üretilmiştir. Bu membranlar klasik kullanımda olan selüloz membranlarına göre diyalizde daha az oksidatif olaya sebep olurlar (108) ve diyaliz membranlarının steril edildikten sonra tekrar kullanılması (reuse) ile membrana bağlı oksidatif stresin azaltıldığı gösterilmiştir (109).

HD hastalarında diyalizat da oksidatif stres için diğer bir sebep olup bazı çalışmalarda bikarbonatlı diyalizatın laktatlı diyalizatlara göre daha fazla radikal oluşturduğu gösterilirken (110), diğer çalışmalarda; laktat içeren diyalizatla yapılan hemodiyalizin daha fazla oksidatif stres oluşturduğu bildirilmiştir ve serumdaki laktatın yükselmesiyle glikolizin inhibe edilerek, antioksidan sistemde önemli bir fonksiyonu olan NADPH ve adenozin trifosfat (ATP) üretiminin azalması bunun nedeni olarak kabul edilmiştir. Ayrıca in vitro çalışmalarda laktatın lökosit apoptozisini artırdığı ve hücre içi tiyol miktarını azalttığı saptanmıştır (111).

SDBY hastalarında sıkça kullanılan farmakolojik ajanlar da oksitadif strese sebep olabilirler. Eritropoetin tedavisinin erken dönemlerinde uygun antioksidan savunma yoksa, lipid oksidasyonuna sebep olduğu belirtilerek eritropoetin tedavisi planlananlarda eşzamanlı olarak antioksidan olan E vitamini de önerilmiştir (112).

5. MATERYAL VE METOD

5.1. Hasta ve Kontrol Grupları

5.1.1. Hasta Grubu

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Diyaliz Merkezinde takip edilen, en az 6 aydır diyaliz tedavisi altında olan ve antihipertansif tedavi almayan toplam 80 PD ve HD hastası çalışmaya alındı. Diyabetes Mellitus, kronik infeksiyon ve inflamasyonu (tüberküloz, romatoid artrit gibi), iskemik kalp hastalığı, konjestif kalp yetersizliği olan ve antihipertansif kullanan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Tüm hastalar yapılacak tedavi, takip ve olası komplikasyonlar konusunda bilgilendirildi ve bilgilendirilmiş olur alındı. Yazı tura yöntemiyle randomizasyon yapılarak hastalar iki gruba ayrıldı. Grup 1'e Losartan olarak Cozaar 50-100 mg tablet (Merck Sharp Dohme, ABD), grup 2'ye Nebivolol olarak Vasoxen 5 mg tablet (İbrahim Ethem Ulagay – Menarini International, İtalya) tedavisi başlandı. Takip süresi 6 ay olarak planlandı.

5.1.2. Kontrol Grubu

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde çalışan yaş grubu uyumlu, normotansif, sigara ve alkol kullanmayan ve son 15 günde herhangi bir ilaç almamış olan sağlıklı gönüllülerden seçildi.

5.2. Örneklerin Hazırlanması

Kan örnekleri 12 saatlik açlığı takiben HD hastalarında diyaliz seansından önce, SAPD hastalarında ilk değişim yapılmadan hemen önce antekubital venden alındı. Oksidatif stres parametreleri ve serum biyokimyası çalışılmak üzere iki adet düz biyokimya tüpü, eritrosit SOD ve GPx için eritrosit paketi hazırlanmak üzere K-EDTA içeren tam kan tüpü kullanıldı. Örnekler oda sıcaklığında 3000 g'de 15 dakika santrifüj edildi. Ayrılan serum ve eritrositler oksidatif stres parametrelerini çalışmak üzere -80 °C'de saklanırken, rutin biyokimyasal incelemeler Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında yapıldı. Oksidatif stres parametreleri soğuk zincire uygun şekilde transfer edilerek Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD Araştırma Laboratuvarında çalışıldı.

5.3. Yöntemler

5.3.1. Total Antioksidan Kapasite (TAK)

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik bir yöntem olup, güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen bir metoddur.

Reaktifler

Reaktif 1: 75 mM Clark tamponu (pH=1.8) içerisinde 10 mM o-Dianisidine ve 45 AM $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ çözülerek hazırlanır.

Reaktif 2: 7,5 mM hidrojen peroksit 75 mM Clark tamponu (pH=1.8) içerisinde karıştırılarak hazırlanır.

Prensip

Fe^{2+} -o-dianisidine kompleksi hidrojen peroksit ile Fenton tipi reaksiyon oluşturarak OH radikalini oluşturur. Bu güçlü reaktif oksijen türü indirgenerek düşük pH'da renksiz o-dianisidine molekülü ile reaksiyona girerek sarı-kahverengi dianisidyl radikallerini oluştururlar. Dianisidyl radikalleri ileri oksidasyon reaksiyonlarına katılarak renk oluşumu artmaktadır. Ancak örneklerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırarak renk oluşumunu durdurmaktadırlar. Bu reaksiyon otomatik analizörde spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuçlar $\mu\text{mol Trolox Eqv./L}$ olarak verilmektedir (113).

5.3.2. Total Oksidant Seviye (TOS)

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir.

Reaktifler

Reaktif 1: 140 mM'lık NaCl çözeltisi içerisine 25 mM H_2SO_4 çözülerek ana solüsyon hazırlanır. Ana solüsyonda önce % 10 oranında gliserol çözülüp daha sonra total volümde 250 μM Xlenol orange çözülerek hazırlanır.

Reaktif 2: Ana solüsyon içerisinde önce 10 mM o-Dianisidine dihidrochloride çözülüp sonra 5 mM amonyom ferröz sülfat çözülerek reaktif hazırlanır.

Prensip

Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyonla oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xlenol orange ile renkli bir kompleks

oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./L olarak verilmektedir (114).

5.3.3. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Total Oksidatif Stress (TOS) / Total Antioksidan Kapasite (TAK) şeklinde bölünerek Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplandı (115).

5.3.4. Eritrosit Süperoksit Dismutaz Aktivitesi (SOD)

Eritrosit SOD aktivitesi Randox Lab. Ransod® (Kat. No. SD 125) ticari kiti kullanılarak ölçülmüştür.

Reaktifler:

1-Substrat

- Ksantin	0.05 mmol/l
- I.N.T.	0.025 mmol/l

2-Tampon

- CAPS	40 mmol/l, pH 10.2
- EDTA	0.94 mmol/l

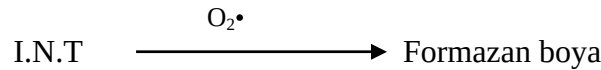
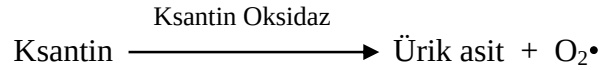
3-Ksantin Oksidaz

80 U/l

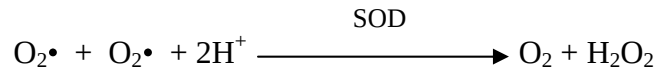
4-Standard

Çalışma prensibi ve İşlemler:

Bu yöntemde ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak süperoksit radikali oluşturulur. Oluşan bu süperoksit radikali, 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium klorid'i (I.N.T.) 505 nm'de absorbanı veren ve kırmızı boyanan formazana dönüştürür. SOD aktivitesi 3 dakikalık süre içinde bu reaksiyonun inhibisyonunun derecesine bağlı olarak ölçülür.



veya



Eritrositler soğuk distile su ile 1/200 oranında sulandırılarak hemolizat hazırlandı. 50 μl hemolizat üzerine substrat karışımından 1.7 ml ilave edilip karıştırıldı. Ksantin

oksidaz ayırıcından 0.25 ml konuldu ve karıştırıldı. 30 saniye sonra başlangıç absorbanı 505 nm’de ölçüldü. Zaman ayarlandı ve 3 dakika sonra aynı dalga boyunda son absorban okundu. Absorbans farkları 3’e bölünerek $\Delta A_T/dk$ bulundu. Örneği içermeyen ayıraç körünün absorbanı ($\Delta A_B/dk$), numunelerin absorbanlarından çıkarıldı.

$100 - (\Delta A_T/dk - \Delta A_B/dk)$ formülü kullanılarak enzimin % inhibisyon değeri bulundu. Standart eğriden U/l cinsinden değerlendirildi. Dilüsyon faktörü ile çarpıldı. Bulunan değer eritrosit gHb’e oranlandı ve U/gHb cinsinden ifade edildi. Hemogloblin ölçümler siyanmethemoglobin yöntemiyle yapıldı (116).

Absorbans ölçümleri Jasco marka V-530 model UV/VIS spektrofotometrede yapıldı.

Dalga Boyu: 340 nm, Işık yolu:1 cm, Isı: 37 °C, Okuma: Havaya karşı

5.4. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler SPSS 13.0 PC ortamında yapıldı. Bağımsız değişkenler student’s t-test, bağımlı değişkenler Wilcoxon Signed Rank test ve değişkenler arasındaki ilişki pearson’s korelasyon analizi ile değerlendirildi. Veriler ortalama $\pm$ SD olarak gösterildi. $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi.

6. BULGULAR

Çalışmaya Losartan grubu (n=40), Nebivolol grubu (n=40) ve kontrol grubundan oluşan (n=30) toplam 110 birey alındı. Losartan grubunda 4 hasta başka merkezlere transfer, 1 hasta transplantasyon nedeniyle toplam 5 hasta, Nebivolol grubunda ise 2 hasta başka merkezlere transfer, 1 hasta kardiyak nedenden dolayı tedavi değişikliği ve 1 hasta exitus nedeniyle toplam 4 hasta çalışma dışı bırakıldı. Losartan grubunda toplam 35 hasta ve Nebivolol grubunda 36 hasta çalışmayı tamamladı. Losartan alan gruptaki hastaların 15'i HD, 20'si PD, Nebivolol alanların 19'u HD, 17'si PD programında olan hastalardan oluştu. SDBH'nın gruplara göre etyolojik dağılımı tablo 6.1'de verildi. Hastaların ve kontrol grubunun demografik, klinik ve laboratuvar özellikleri tablo 6.2'de verildi.

Yapılan karşılaştırmada pro-oksidan olarak bakılan TOS, OSİ, antioksidan olarak bakılan TAK ve eritrosit SOD parametrelerinde hasta grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu (sırasıyla, $p=0.002$, $p=0.005$, $p=0.002$, $p<0.001$). Hasta ve sağlıklı grubun pro-oksidan ve antioksidan parametreleri tablo 6.3'te karşılaştırıldı. Tüm hastalar tedavi gördükleri diyaliz modalitesine göre gruplara ayrılarak bakılan TOS ($p=0.253$) ve SOD ($p=0.568$) değerlerinde iki grup arasında istatistiksel anlamlılık saptanmadı, ancak TAK ($p=0.001$) ve OSİ ($p<0.001$) değerlerinde SAPD grubunda sonuçlar daha iyi bulundu. Sonuçlar tablo 6.4'te gösterildi.

Çalışmanın başlangıcında grup 1 ve 2 arasında demografik, klinik ve laboratuvar özelliklerinde fark görülmedi. Hasta gruplarının çalışma başlangıcı demografik, klinik ve laboratuvar özellikleri tablo 6.5'te karşılaştırıldı.

Çalışma sonunda tedavi öncesi ile karşılaştırıldığında her iki grupta da hastaların kan basıncı değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu (Nebivolol grubu $p<0.001$, Losartan grubu $p<0.001$), ancak her iki grup arasında fark olmadığı saptandı (sırasıyla sistolik ve diyastolik kan basıncı için $p=0.699$, ve $p=0.737$). Gruplar kendi içlerinde değerlendirildiğinde Losartan grubunda TAK anlamlı olarak yükselirken ($p<0.001$), OSİ'de anlamlı düşüş görüldü ($p<0.001$). TOS ve SOD düzeylerinde değişiklik izlenmedi (sırayla $p=0.272$, $p=0.404$). Nebivolol alan grupta ise TAK değerlerindeki anlamlı yükselme, ($p<0.001$) TOS ve OSİ değerlerinde anlamlı düşüş (sırasıyla $p=0.019$ ve $p<0.001$) görülürken, SOD değerinde değişiklik izlenmedi ($p=0.087$).

Hastaların tedavi öncesi ve sonrası kan basıncı, TAK, TOS, OSİ ve SOD düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel bir fark saptanmadı (sırasıyla $p=0.574$, $p=0.696$, $p=0.586$, $p=0.534$). Sonuçlar tablo 6.6’da karşılaştırıldı.

Tablo 6.1. Gruplara göre SDBH’nın etyolojik dağılımı

Etyolojik neden	Losartan grubu		Nebivolol grubu	
	Hasta sayısı (n)	Oran (%)	Hasta sayısı (n)	Oran (%)
Hipertansiyon	12	34.3	11	30.6
KGN	10	28.6	11	30.6
PKBH	4	11.4	5	13.9
Ürolojik Hadise	3	8.6	2	5.5
Nedeni Bilinmeyen	6	17.1	7	19.4
Toplam	35	100.0	36	100.0

Tablo 6.2. Hastaların ve kontrol grubunun laboratuvar özellikleri

Parametre	Hasta grubu (n=71)	Kontrol grubu (n=30)	p
Yaş (yıl)	40.9±14.0	38.0±10.5	0.389
Cins (E/K)	34/37	14/16	0.983
BMI (kg/m ²)	21.9±4.3	24.3±3.7	0.025
SKB (mmHg)	136.6±28.2	116.6±12.3	0.002
DKB (mmHg)	83.9±13.6	77.1±9.0	0.035
Glukoz (mg/dl)	104.3±49.9	93.1±11.8	0.314
Na (mg/dl)	139.5±3.5	139.8±2.2	0.791
K (mg/dl)	4.8±1.0	4.1±0.2	0.003
Ca (mg/dl)	9.3±1.2	9.3±0.3	0.901
P (mg/dl)	5.9±2.0	3.7±0.5	<0.001
CaXP (mg ² /dl ²)	55.2±19.2	34.9±4.9	<0.001
PTH (pg/ml)	382.6±386.9	49.5±19.1	<0.001
Hgb (g/dl)	10.4±1.7	14.4±1.2	<0.001
Hct (%)	31.0±5.0	42.1±3.2	<0.001
Ferritin (ng/ml)	1157.2±1641.7	100.5±104.4	0.004
Albümin (g/dl)	3.3±0.5	4.3±0.2	<0.001
CRP (mg/dl)	13.5±29.4	3.4±0.4	0.119
Fibrinojen (mg/dl)	516.7±166.7	250.9±52.4	<0.001
Ürik Asit (mg/dl)	7.8±8.9	3.7±1.2	0.040
Total Kolesterol (mg/dl)	185.6±56.6	171.7±36.7	0.292
Trigliserid (mg/dl)	185.8±139.4	140.1±97.1	0.164
LDL-K (mg/dl)	111.9±38.1	97.9±29.2	0.126
HDL-K (mg/dl)	38.6±12.0	45.9±10.4	0.014

Tablo 6.3. Hastaların ve kontrol grubunun pro-oksidan ve antioksidan parametreleri

Parametre	Hasta Grubu (n=71)	Kontrol Grubu (n=30)	p
TAK ($\mu\text{mol Trolox Eqv./L}$)	1.9 $\pm$ 1.8	1.2 $\pm$ 0.3	0.002
TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv. / L)	5.1 $\pm$ 1.8	8.0 $\pm$ 4.7	0.002
OSI	4.3 $\pm$ 2.5	6.8 $\pm$ 3.5	0.005
SOD (U/gHb)	1730.4 $\pm$ 228.4	1391.6 $\pm$ 252.9	<0.001

Tablo 6.4. Diyaliz modalitesine göre pro-oksidan ve anti-oksidanlar

Parametre	HD Grubu (n=34)	PD Grubu (n=37)	p
TAK ($\mu\text{mol Trolox Eqv./L}$)	1.1 $\pm$ 0.3	1.3 $\pm$ 0.3	0.001
TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./L)	8.7 $\pm$ 5.5	7.4 $\pm$ 3.8	0.253
OSI	8.3 $\pm$ 3.9	5.4 $\pm$ 2.5	<0.001
SOD (U/gHb)	1409.7 $\pm$ 262.5	1375.1 $\pm$ 246.2	0.568

Tablo 6.5. Çalışma başlangıcında hasta gruplarının demografik, klinik ve laboratuvar özellikleri

Parametre	Losartan grubu (n=35)	Nebivolol grubu (n=36)	P
Yaş (yıl)	39.9±12.7	41.9±15.3	0.547
Cins (E/K)	14/21	20/16	0.699
Diyaliz süresi (ay)	45.9±41.5	42.0±43.3	0.699
Takip süresi (gün)	196.3±33.7	198.5±15.6	0.726
BMI (kg/m ²)	21.9±4.0	21.9±4.6	0.966
SKB (mmHg)	139.7±34.1	133.6±20.9	0.366
DKB (mmHg)	86.5±14.1	81.3±12.9	0.111
Glukoz (mg/dl)	105.8±50.8	102.9±49.8	0.812
Na (mmol/L)	139.4±3.5	139.6±3.5	0.806
K (mmol/L)	4.8±1.1	4.8±0.9	0.834
Ca (mg/dl)	9.4±1.1	9.3±1.2	0.752
P (mg/dl)	5.7±2.0	6.0±2.0	0.558
CaXP (mg ² /dl ²)	54.0±8.8	56.4±19.8	0.608
PTH (pg/ml)	349.8±291.2	414.5±463.6	0.485
Hgb (g/dl)	10.5±1.9	10.3±1.4	0.533
Hct (%)	31.1±4.6	30.6±4.4	0.525
Ferritin (ng/ml)	998.5±581.6	1311.6±2238.7	0.426
Albümin (g/dl)	3.4±0.6	3.2±0.5	0.186
CRP (mg/dl)	8.4±9.3	18.4±39.9	0.153
Fibrinojen (mg/dl)	472.1±163.7	559.8±160.3	0.026
Ürik Asit (mg/dl)	8.7±12.7	6.9±1.8	0.422
Total Kolesterol (mg/dl)	185.9±67.3	185.3±44.3	0.969
Trigliserid (mg/dl)	195.9±79.5	175.9±85.7	0.549
LDL-K (mg/dl)	107.9±27.2	115.7±36.1	0.393
HDL-K (mg/dl)	40.0±13.9	37.2±9.7	0.329

Tablo 6.6. Tedavi öncesi ve sonrası hasta gruplarının kan basıncı, pro-oksidan ve antioksidan parametreleri

Parametre	Losartan grubu (n=35)		Nebivolol grubu (n=36)		p ¹
	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	
SKB ^a	139.7±34.1	115.2±26.4	133.6±20.9	117.2±16.3	0.699
DKB ^a	86.5±26.4	73.4±12.1	81.3±12.9	72.5±11.0	0.737
TAK ^b	1.2±0.4	1.5±0.3	1.2±0.3	1.6±0.2	0.574
TOS ^c	8.2±5.6	6.5±1.9	7.9±3.5	6.3±0.9	0.696
OSI	6.7±3.1	4.0±.8	6.9±3.8	4.0±0.9	0.586
SOD ^d	1388.9±247.9	1423.7±252.6	1394.3±261.1	1459.0±222.8	0.534

¹ Her iki grubun tedavi sonrası karşılaştırması

a: mmHg, **b:** µmol Trolox Eqv./L, **c:** µmol H₂O₂ Eqv./L, **d:** U/gHb.

7. TARTIŞMA

SDBY’de en önemli mortalite nedeni KVH’lar olup, bu artış klasik kardiyovasküler risk faktörlerinin yanı sıra nonklasik risk faktörleri olarak kabul gören kronik hipervolemi, anemi, Ca-P metabolizması bozuklukları, hiperhomosisteinemi ve artmış oksidatif stres ile ilişkili mikroi inflamasyonun varlığı ile açıklanmaya çalışılmaktadır (8, 12). Geleneksel olmayan risk faktörlerinden artmış inflamasyon kadar artmış oksidatif stres de yüksek üremik kardiyovasküler riske katkıda bulunmaktadır. Üremik hastalarda oksidatif stres inflamasyon gelişimine katkıda bulunurken inflamatuvar belirteçler ile oksidatif stres belirteçleri arasında ilişki vardır (117). Bu nonklasik risk faktörleri sadece SDBY hastalarında artmış olan KVH riskini açıklamak için önemli olmayıp aynı zamanda bu hastalarda kardiyovasküler komplikasyonları azaltmak ve yaşamı uzatmak için yeni tedavi yöntemleri geliştirilmesinde önem arz etmektedir. Bu koşullarda OS daha fazla önem kazanmaktadır.

OS; herhangi bir nedenle pro-oksidan üretiminde artış ve anti-oksidan savunma mekanizmasında yetersizlik nedeniyle aradaki dengenin bozulması sonucunda oluşan doku hasarı olarak tanımlanmaktadır (10). Oksidatif stres insandaki birçok patolojik durumun ortaya çıkmasında, ilerlemesinde ve komplikasyonların ortaya çıkmasında öneme sahiptir. Bu konuyla ilgili yapılan çalışmalar daha çok vücutta oksijenin indirgenmesiyle oluşan serbest radikallerin biyolojik ve kimyasal özelliklerine yöneliktir. Vücuttaki oksijen, serbest radikallerin ana kaynaklarından birisi olup bu konudaki genel görüş, serbest radikallerin oksidan özelliğinin yapısındaki oksijenden kaynaklandığı yönündedir (9). Serbest radikaller ve pro-oksidanlar her zaman zararlı olmayıp, tüm organizmalarda serbest radikal oluşumu ve oksidasyon birçok biyokimyasal reaksiyonda yer almaktadır. Normal şartlar altında bu durum anti-oksidan sistemin kontrolünde olup bir denge halindedir (20, 21). Bu dengenin pro-oksidanlar lehine bozulduğu durumlarda artmış OS’ten söz edilir. Serbest radikaller üretim hızlarına, aktivitelerine ve savunma sisteminin durumuna bağlı olarak OS’e yol açarlar. SDBY pro-oksidanlar ile antioksidanlar arasında dengesizlikle karakterize olan bir hastalık olup, artmış OS ateroskleroz ve B2 mikroglobulin amiloidozu gibi komplikasyonlar ile ilişkilidir (118). Bununla birlikte Pawlak ve arkadaşları HD hastalarında yaptıkları çalışmada OS ile aterogenez sürecinde yer alan vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) arasında özellikle kardiyovasküler hastalığı olanlarda daha belirgin olan bir ilişki olduğunu göstermişlerdir (119).

Son zamanlarda SDBH’da artmış OS’e yönelik tedavi girişimleri ile ilgili çalışmalar ilgi çekmektedir. Eritropoietin tedavisinin (120), vitamin suplemantasyonunun (121), farklı membranların (122), ACEi’lerinin, Betablokerlerin, ARB’lerin OS üzerine etkilerinin incelendiği birçok çalışma bu arayışlara örnek olarak verilebilirler. Tüm bunlarla birlikte literatürde SDBY’de ARB ve NO üzerinden etki gösteren Nebivolol gibi yeni kuşak betablokerlerle karşılaştıran çalışma yoktur. Shimada ve arkadaşları (123) yaptıkları çalışmada telmisartanın okside albumin düzeylerinde anlamlı düşüş sağlayarak oksidatif stresi azalttığını göstermişlerdir. Bununla birlikte Biasioli ve arkadaşları (122) yaptıkları çalışmada diyaliz hastalarında OS’in arttığını ve Cuprofan membranının bunu daha da arttırdığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da sağlıklı grupla karşılaştırıldığında SDBY’li grupta total OS’in artmış olduğu görüldü. Çalışmış olduğumuz oksidatif parametrelerden TOS ve OSI istatistiksel anlamlı olarak yüksek (sırasıyla $p=0.002$ ve $p=0.005$) bulunurken, anti-oksidan parametrelerden TAK ve SOD düzeyleri istatistiksel anlamlılık ile hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla daha düşük (sırasıyla $p=0.002$, $p=0.001$). Bu sonuçlar bize SDBY’de artmış OS’te sadece pro-oksidanların artışının değil eş zamanlı olarak anti-oksidan savunma mekanizmalarının yetersizliğinin de etkisi olduğunu açıkça göstermektedir. Ayrıca tüm hastaları kendi aralarında başlangıç değerlerine göre HD ve PD grubu olarak bölüp yaptığımız student-t testinde gruplar arasında TOS ve SOD değerlerinde fark saptamazken (sırasıyla $p=0.253$ ve $p=0.568$) TAK ve OSI değerlerinde PD grubunun daha iyi olduğunu gördük (sırasıyla $p=0.001$ ve $p<0.001$). Pawlak ve arkadaşları da (124) yaptıkları çalışmada Cu/Zn SOD değerlerini ve okside LDL düzeylerini HD hastalarında daha yüksek saptamışlardır. Biz bu sonuçlarda farklı olarak her ne kadar SOD değerlerinde her iki grup arasında fark bulmamış isek de antioksidan parametrelerin PD grubunda daha iyi olduğunu saptadık. Bu iyilik halinin HD işlemindeki ekstrakorporeal dolaşımdan ve immün sistemin PD’ye nazaran daha fazla aktive olmasından kaynaklanıyor olması muhtemeldir.

ACEi ve ARB’ler günümüzde esansiyel hipertansiyon, diyabetik nefropati, nefrotik sendrom gibi diğer nefropatiler, iskemik kalp hastalığı, kalp yetersizliği gibi birçok durumda ilk tercih edilen ilaçlar konumunu almışlardır. Gerek diyabetik gerek non-diyabetik hastalarda ACEi ve ARB’lerin anti-oksidan özelliklerinden kaynaklanan faydaları gösterilmiştir. Hayvan çalışmalarında anjiyotensin II’nin NADPH oksidaz aktivitesini stimüle ederek ROS düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir (13). Bu bulgular insan

çalışmalarıyla da desteklenmiştir (14, 15) Anjiyotensin II aynı zamanda okside LDL için spesifik olan LOX-1 reseptör ekspresyonu ile de ilişkilendirilmiştir. Bundan dolayıdır ki Anjiyotensin II oluşumunun ister ACEi ile olsun ister ARB ile baskılanmasının organizma için zararlı olan bu durumun hafifletilmesinde faydalı olacaktır (18). Bununla birlikte, Berry ve arkadaşları (17) koroner arter hastalığı olanlarda yaptıkları bir çalışmada ACEi ve ARB tedavisinin insan damar yapısında O₂⁻ düzeylerini düşürdüğünü göstermişlerdir. Yine Onozato ve arkadaşları (16) diyabetik nefropatili ratlarda yaptıkları çalışmada ACEi'lerinin renal NADPH oksidazı inhibe ettiğini ve proteinüriyi azalttığını göstermişlerdir. Bu sonuçlara paralel olarak Fan ve arkadaşları da (19) yaptıkları deneysel çalışmada bir ARB olan Candesartan'ın diyabetik nefropatili ratlarda artmış olan AGE oluşumunu ve oksidatif stresi azalttığını göstermişlerdir. Tüm bu sonuçlara paralel olarak biz de yaptığımız çalışmada Losartan alan hastalarda tedavi başlangıcına göre pro-oksidanlarda düşüş, anti-oksidanlarda ise artış saptadık. Pro-oksidan parametrelerden OSI 4.1±0.8 den 3.6±0.5'e geriledi (p=0.004). Bununla birlikte istatistiksel anlamlılık göstermese de TOS düzeyleri 8.2±5.6 dan 6.5±1.9 µmol H₂O₂ Eqv./L'ye (p=0.272) geriledi. Karşı savunma mekanizması olan anti-oksidanlardan TAK düzeyleri 1.2±0.4'ten 1.5±0.3 µmol Trolox Eqv./L'ye (p<0.001), SOD düzeyleri ise 1388.9±247.9'dan 1423.7±252.6 U/gHb'ne (p=0.404), bulundu. Pro-oksidanlardaki düşüş, anti-oksidanlardaki artış Losartan'ın diyaliz tedavisi altındaki SDBY hastalarında net oksidatif stresi azaltma yönündeki etkisini açık olarak ortaya koymaktadır.

Nebivolol, kalsiyum bağımlı endotelial NO sentaz (eNOS) aktivitesini yükseltip NO üretimini arttırarak (125) vazodilatasyon yaptığı gösterilen selektif β1 bloker ajan olup endotel üzerine olumlu etkileri vardır (126). Troost ve arkadaşları (20) 20 sağlıklı bireyde yaptıkları randomize çift-kör çalışmada Nebivololün organizmada arşidonik asidin serbest radikaller ile peroksidasyonu sonucu oluşan bir izoproston olan 8-iso-PGF_{2a}'nın üriner atılımını arttırdığını göstermiş ve bunu sağlıklı populasyonda da oksidatif stresi azalttığı şeklinde yorumlamışlardır. Bir diğer çalışmada Fahlbusch ve arkadaşları (127) çalışmalarında başka iki betablokeri, Carvedilol ve Metoprolol'ü plasebo ile karşılaştırmışlar ve sağlıklı grubun idrar 8-iso-PGF_{2a} atılımında değişiklik olmadığını göstermişlerdir. Farklı bir çalışmada Cominacini ve arkadaşları (21), Nebivololün endotel hücrelerinde oksidatif inaktivasyonu azaltarak NO miktarını arttırdığını göstermişlerdir. Yine başka bir çalışmada Mason ve arkadaşları (22) Nebivolol'ün endotel hücrelerinde

OS'i azalttığını göstermişlerdir. Ayrıca Pasini ve arkadaşları da (128) Nebivolölün oksidatif stres parametreleri olan plazma ve LDL hidroksilipid, plazma 8-izoproston, ve okside LDL üzerine olumlu etkilerini göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da tedavi öncesi ve sonrası pro-oksidanlar karşılaştırıldığında OSİ 6.9 ± 3.8 'den 4.0 ± 0.9 'a ($p < 0.001$), TOS düzeyleri 7.9 ± 3.5 dan 6.3 ± 0.9 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./L'ye ($p = 0.019$), gerilediği saptandı. Anti-oksidanlardan TAK düzeyleri 1.0 ± 0.3 'den 1.6 ± 0.2 $\mu\text{mol Trolox Eqv./L'ye}$ ($p < 0.001$), SOD düzeyleri 1394.3 ± 261.1 'den 1459.0 ± 222.8 U/gHb'e ($p = 0.087$), yükseldikleri saptandı. Tüm parametrelerdeki olumlu değişiklikler literatür ile uyumlu bir şekilde Nebivolölün antioksidan etkisini bir kez daha göstermektedir.

Diyaliz hastalarında hipervolemi ve bununla ilişkili LVH gibi kardiyak komplikasyonlar KVH için önemli risk faktörlerindendir. Çalışmamızda tüm hastaların kan basıncı değerlerinde her iki ilaçla da hedef değerlere ulaştık. Tüm hastalara baktığımızda çalışma başlangıcında çok yüksek olmasa da ortalama sistolik ve diyastolik kan basınçlarının 136.6 ± 28.2 ve 83.99 ± 13.6 mmHg'dan çalışma sonunda sırasıyla 116.2 ± 21.7 ve 72.9 ± 11.5 mmHg'ye düştükleri saptandı (her ikisi için $p < 0.001$). Her iki grup için ayrı ayrı bakıldığında her iki grupta da kan basıncında istatistiksel olarak anlamlı düşüş sağlandığı görüldü ($p < 0.001$).

Literatürde özellikle diyabetik, hipertansif hastalarda çeşitli antihipertansif gruplarının kendi aralarında karşılaştırıldığı bazı çalışmalar mevcut, ama diyaliz tedavisi almakta olan SDBY hastalarında oksidatif stres üzerine gerek yalnız gerekse karşılaştırmalı olsun yeni tedavi girişimleri geliştirecek çalışmaların sayısı çok azdır. Ülkemizde Çelik ve arkadaşları (129) hipertansif hastalarda yaptıkları çalışmada oksidatif stres üzerine Nebivolöl ile Metoprolol'ün etkilerini karşılaştırmışlar ve Nebivolöl'ün oksidatif stres üzerine Metoprololden daha etkin olduğunu göstermişlerdir. Biz çalışmamızda Losartan ile Nebivolölü karşılaştırdığımızda iki grupta hastaların yaş, cinsiyet, diyaliz süresi, takip süresi, BMI, URR, SKB ve DKB arasında fark saptamadık (sırasıyla $p = 0.547$, $p = 0.938$, $p = 0.699$, $p = 0.726$, $p = 0.966$, $p = 0.366$ ve $p = 0.111$), homojen dağılmış olan bu iki grupta çalışma sonunda pro-oksidan [TOS ($p = 0.574$), OSİ ($p = 0.586$)] ve anti-oksidan [TAK ($p = 0.915$), SOD ($p = 0.534$),] parametrelerde olan değişikliklerde anlamlı farklılık gözlemlenemedi. Bu sonuçlar bize artmış oksidatif stres altında olan SDBY hastalarında BB ve ARB'lerin birbirinden farklı olmadığını düşündürmektedir.

Sonuç olarak; diyaliz tedavisi alan SDBY hastalarında normal popölasyona kıyasla OS'in arttığı saptandı. Losartan ile Nebivolol'ün OS parametreleri olan TAK, TOS, OSI ve eritrosit SOD düzeyleri üzerindeki etkilerinde anlamlı bir farklılık bulunmadı. Ancak gruplar kendi içlerinde değeriendirildiğinde Nebivolol'ün oksidatif stres üzerindeki olumlu yöndeki değışikliklerinin daha belirgin olduğu saptandı.

8. ÖZET VE ANAHTAR KELİMELER

SDBY’de en önemli morbidite ve mortalite nedeni ateroskleroz ve bununla ilişkili olan KVVH’dır. SDBY’de KVVH riskindeki bu artış sadece klasik risk faktörleri ile değil, kronik hipervolemi, anemi, kalsiyum-fosfor metabolizması bozuklukları, hiperhomosisteinemi ve artmış OS ile ilişkili mikroiinflatuar durum gibi üremiye özgül, geleneksel olmayan risk faktörleri ile de ilişkilendirilmektedir.

SDBY hastaları böbrek hastalığının kendisinin yanında diyaliz işlemi, diyaliz tedavisi sırasında kullanılan diyaliz sıvısı, diyaliz membranı, immün sistem aktivatörleri ve diğer farmakolojik tedaviler nedeniyle yoğun oksidatif stress yükü altındadırlar. Bu hastalarda ateroskleroz gelişiminde oksidatif stresin olumsuz etkileri gösterilmiştir.

Bu çalışmada Losartan ile Nebivolol’ün hemodiyaliz ve periton diyalizi hastalarında oksidatif stres parametreleri olan TOS, OSI, TAK ve SOD düzeyleri üzerine olan etkilerinin karşılaştırılmasını amaçladık.

Losartan grubunda toplam 35 hasta ve Nebivolol grubunda 36 hasta 6 ay boyunca takip edildi. Yapılan karşılaştırmada pro-oksidan olarak bakılan TOS, OSI, antioksidan olarak bakılan TAK ve eritrosit SOD parametrelerinde hasta grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (sırasıyla, $p=0.002$, $p=0.005$, $p=0.002$, $p<0.001$). Gruplar kendi içlerinde değerlendirildiğinde Losartan grubunda TAK anlamlı olarak yükselirken ($p<0.001$), OSI’de anlamlı düşüş görüldü ($p<0.001$). TOS ve SOD düzeylerinde değişiklik izlenmedi (sırayla $p=0.272$, $p=0.404$). Nebivolol alan grupta ise TAK değerlerindeki anlamlı yükselme, ($p<0.001$) TOS ve OSI değerlerinde anlamlı düşüş (sırasıyla $p=0.019$ ve $p<0.001$) görülürken, SOD değerinde değişiklik izlenmedi ($p=0.087$).

Hastaların tedavi sonrası kan basıncı, TAK, TOS, OSI ve SOD düzeyleri karşılaştırıldığında Losartan ve Nebivolol arasında istatistiksel bir fark saptanmadı (sırasıyla $p=0.574$, $p=0.696$, $p=0.586$, $p=0.534$).

Sonuç olarak; Losartan ile Nebivolol’ün OS parametreleri olan TAK, TOS, OSI ve eritrosit SOD düzeyleri üzerindeki etkilerinde anlamlı bir farklılık bulunmadı. Ancak gruplar kendi içlerinde değerlendirildiğinde Nebivolol’ün oksidatif stres üzerindeki olumlu yöndeki değişikliklerinin daha belirgin olduğu saptandı.

Anahtar Kelimeler: Son dönem böbrek yetersizliği, oksidatif stres, Losartan, Nebivolol.

9. SUMMARY AND KEY WORDS

The most important cause of morbidity and mortality in ESRD is atherosclerosis and CVD. This elevation in CVD risk is has not been only explained with traditional risk factors but also with nontraditional risk factors such as chronic hypervolemia, anemia, calcium-phosphorus metabolism disorders, hyperhomocysteinemia, and microinflammatory status associated with increased oxidative stress.

ESRD patients are suffered from enhanced OS because of dialysis process, dialysate solutions, dialysis membrane, immun system activators, and other pharmacological treatments beside primary renal disease. The negative effects of OS on occurring atherosclerosis among these patients have been shown.

In recent study, it was aimed that to compare the effects of Losartan and Nebivolol on oxidative stress parameters, TOS, OSI, TAC, and SOD, among hemodialysis and peritoneal dialysis patients.

35 patients in Losartan group, and 36 patients in Nebivolol group were followed up for a period of 6 months. Statistically significant differences were found in TOS, and OSI as pro-oxidants, and TAC, and SOD as anti-oxidants in comparing patients with healthy controls ($p=0.002$, $p=0.005$, $p=0.002$, $p<0.001$, respectively). In Losartan group, while TAC elevated ($p<0.001$), OSI decreased ($p<0.001$) significantly. No statistically significance waws found in TOS and SOD ($p=0.272$, $p=0.404$ respectively). In Nebivolol group, while TAC elevated significantly ($p<0.001$), TOS and OSI decreased ($p=0.019$ and $p<0.001$, respectively) but there was no statistically significat change in SOD levels ($p=0.087$).

No statistical significance was found between Losartan and Nebivolol in blood pressure, TAC, TOS, OSI, and SOD levels of patients ($p=0.574$, $p=0.696$, $p=0.586$, $p=0.534$ respectively).

In conclusion; There was no statistically significance between the effects of Losartan and Nebivolol on TAC, TOS, OSI, and erythrocyte SOD, the OS parameters. But when the groups were evaluated in themselves the positive effects of Nebivolol on OS were better than Losartan.

Key Words: End stage renal failure, oxidative stress, Losartan, Nebivolol.

10. KAYNAKLAR

1. Kınıkoğlu M. (Ed): Temel Tedavi Tıp Yayınları, Ankara 1983, 125-28.
2. Haugen E, Nath KA. The involvement of oxidative stress in the progression of renal injury, *Blood Purificat.* 1999;17: 58-65.
3. Kachar FJ, Moss WD. Enzymes Tietze N (Ed). *Fundamentals of Clinical Chemistry*, WD Saunders Comp, London 1986, 565-81.
4. Locatelli F, Marcelli D, Conte F *et al.* Cardiovascular disease in chronic renal failure: the challenge continues. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15 [Suppl 5]:S69–S80
5. Levey AS, Beto JA, Coronado BE *et al.* Controlling the epidemic of cardiovascular disease in chronic renal disease: what do we know? What do we need to learn? Where do we go from here? *Am J Kidney Dis* 1998; 32: 853–906.
6. Brunner FP, Selwood NH on behalf of the EDTA Registry Committee. Profile of patients on RRT in Europe and death rates due to major causes of death groups. *Kidney Int* 1992; 42 [Suppl 38]:S4–S15.
7. Locatelli F, Manzoni C, Del Vecchio L, Di Filippo S. Changes in the clinical condition of haemodialysis patients. *J Nephrol* 1999; 12 [Suppl 2]:S82–S91.
8. Zoccali C. Cardiovascular risk in uraemic patients—is it fully explained by classical risk factors? *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 454–457.
9. Ronco C, La Greca G. Vitamin E bonded membrane, a further step in dialysis optimization. *Contrib Nephrol* 127: 1-31, 1999.
10. Sies H. Oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* 1997; 82: 291–295.
- 11-Altan N, Dinçel AS, Koca C, Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. *Türk Biyokimya Dergisi.* 2006; 31 (2); 51–56.
12. Francesco Locatelli, Bernard Canaud, Kai-Uwe Eckardt, Peter Stenvinkel, Christoph Wanner and Carmine Zoccali. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome, Consensus Paper. *Nephrol Dial Transplant.* 2003; 18: 1272-1280.
13. Taniyama Y, Griendling KK: Reactive oxygen species in the vasculature: Molecular and cellular mechanisms. *Hypertension* 2003, 42(6): 1075-1081.
14. Touyz RM: Reactive oxygen species and angiotensin II signaling in vascular cells – implications in cardiovascular disease. *Braz J Med Biol Res* 2004, 37(8): 1263-1273.
15. Touyz RM, Schiffrin EL: Ang II-stimulated superoxide production is mediated via phospholipase D in human vascular smooth muscle cells. *Hypertension* 1999, 34: 976-982.
16. Onozato ML, Tojo A, Goto A, Fujita T, Wilcox CS. Oxidative stress and nitric oxide synthase in rat diabetic nephropathy: effects of ACEI and ARB. *Kidney Int.* 2002; 61: 186–194.
17. Berry C, Anderson N, Kirk AJ, Dominiczak AF, McMurray JJ: Renin angiotensin system inhibition is associated with reduced free radical concentrations in arteries of patients with coronary heart disease. *Heart* 2001, 86(2): 217-220.
18. Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ and Ergul A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: Linking basic science to clinical practice. *Cardiovascular Diabetology* 2005, 4: 5.
19. Fan Q, Liao J, Kobayashi M, Yamashita M, Gu L, Gohda T, Suzuki Y, Wangl LN, Horikoshi S and Tomino Y. Candesartan reduced advanced glycation end-products

accumulation and diminished nitro-oxidative stress in type 2 diabetic KK/Ta mice. *Nephrol Dial Transplant* (2004) 19: 3012–3020.

20. Troost R, Schwedhelm E, Rojczyk S, Tsikas D, and Frölich JC. Nebivolol decreases systemic oxidative stress in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol*, 2000; 50(4), 377±379.

21. Cominacini L, Fratta Pasini A, Garbin U, Nava C, Davoli A, Criscuoli M, et al. Nebivolol and its 4-keto derivative increase nitric oxide in endothelial cells by reducing its oxidative inactivation. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42: 1838–1844.

22. Mason RP, Kalinowski L, Jacob RF, Jacoby AM, Malinski T. Nebivolol Reduces Nitrooxidative Stress and Restores Nitric Oxide Bioavailability in Endothelium of Black Americans. *Circulation* 2005; 112: 3795-3801

23. Early LE, Gottschalk CM. Straus and Welt's disease of the kidney. Third Ed: Little Brown and Com. Boston 1979, 211.

24. Luke RG, Chronic Renal Failure. Goldman L, Ausiello D (Eds), Cecil Textbook of Medicine, 22nd edition, USA 2004, 708-716

25. Erek E, Serdengeçti K, Süleymanlar G. Türkiye 2003 yılı Ulusal Hemodiyaliz, Transplantasyon ve Nefroloji Kayıt Sistemi Raporu. İstanbul 2004, 11-12

26. Schrier RW (Ed), Süleymanlar G. (Çev Ed); Nefroloji El Kitabı, Güneş Kitabevi, 10. Bölüm. İstanbul 2000, 155-67.

27. Arık N. Nefroloji, Ondokuz Mayıs Ün. Tıp Fakültesi, 2001, 225-43.

28. NKF-K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Hemodialysis Adequacy: update 2000. *Am J Kidney Dis* 2001; 37 [Suppl 1]: S7–S64.

29. Yetkin D, Dalgıç N. Üremik toksinler, Ç.Ü. Tıp Fak. Dergisi, 1983; 5(1-2), 93.

30. Jaques L, Goy J, Rozensztajn L. et al: Lipid peroxidation and protective enzymes during myocardial infarction. *Chim Acta*. 1989; 196:119-26.

31. Rice-Evans CA, Diplock AT. Current status of antioxidant therapy. *Free Radic Biol Med*. 1993;15: 77-96.

32. Bellomo G, Orrenius S. Altered ion and calcium homeostasis in oxidative hepatocellular injury. *Hepatology*, 1985; 5: 876-82.

33. Suzuki YJ, Forman HJ, Sevanian A. Oxidants as stimulator of signal transduction. *Free Radic Biol Med* 1997; 22: 269-85.

34. Dypbukt JM, Ankarcrona M, Burkitt M, Sjöholm A, Strom K, Orrenius S, Nicotera P. Different prooxidant levels stimulate growth, trigger apoptosis or produce necrosis of insulin secreting RINm5F cells. *J Biol Chem*, 1994; 269: 30553-60.

35. Saugstad O. Neonatal oxygen radical disease. *Rec Adv Ped* 1992; 6: 173-87.

36. Diplock AT, Chaleux JL, Crozier-Willi G, Kok FS, Rice-Evans C, Roberfroid M, Stahl W, Wina-Ribes J. Functional food sciences and defenses against reactive oxygen species. *Br J Nutr* 1998; 80: 77-112.

37. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. *Free Rad Res*. 1998; 28: 672-78.

38. Menache P, Piwnica A. Free radicals and myocardial protection: A surgical viewpoint, *Ann Thorac Surgery* 1989; 47: 939-45.

39. Meister A. Glutathione Ascorbate and cell cycle regulation. *FEBBS letters*. 1994: 1–4.

40. Moore K, Roberts LJ. Measuremet of lipid peroxidation. *Free Radic Res*, 1998; 28: 659-71.
41. Brent JA, Rumack HH. Role of Free Radicals in Toxic Hapatic Injury I. *Free Radical Chemistry. J. Clinical Toxicology*. 1993; 49(4): 481– 93.
42. Dizdaroğlu M. Mechansms of Oxidative DNA Damage; Lesion and Their Measurement. *Kluwer Academic/Plenum Publihers*. 1999; 302: 67–87.30.
43. Dizdaroğlu M. Chemical Determination of Free Radical-Induced Damage to DNA. *J Free Radical Biology & Medicine*. 1993; 61(3): 225–242.
44. Wetberg AB, Weitzman SA, Clarck EP. Effetcs on antioxidants on antioxidant induce: sister chromatid Exchange formation. *J. Clin. Invest*. 1985; 75(3):35 – 7.
45. Slater TF. Free radical mechanismin tissue injury. *J. Biochem*. 1984; 222: 1–15.
46. Tappel AL, Dillard JC. İnvivo lipid peroxidation measurement via exhaled pentane and protection by vitamin E. *J. Federation proceedings* 1981; 40(3):174– 8.
47. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *J. Clin Chem*.1995; 42(6):18–19.
48. Chiu D, Kuypers F, Lubin B. Lipid peroxidation in human red cells. *Semin Hematol*. 1989; 26: 257-76.
49. Moncada S, Palmer RMJ, Higs EA. Nitric oxide. Physiology, patophysiology, and pharmacology. *J. Pharmacol Review* 1991; 43(29): 109–37.
50. Lancaster J (Ed). Nitric oxide, principles and and actions. Copyright by Academic Press. Inc. California/USA. 1990.
51. Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthase in mammals. *J. Biochem*. 1994; 298(12):249–58.
52. Marletta MA. Nitric oxide synthase structure and mechanism. *J. Biol. Chem*. 1993; 268(7):123–5.
53. Myatt L, Rosenfield RB, Eis ALW. Nitrotyrosine residues in placenta: Evidence of peroxinitrite formation and action. *J. Hypertension* 1996; 28(21): 488-93.
54. Halliwell B. Oxygen is poisonous: The nature and medical importance of oxygen radicals. *J. Med Lab Sci*. 1984; 41(3): 157-62.
55. Canbaş A. Gıda Bilimi ve Teknolojisi. Ziraat Fakültesi Yayını No: 78, Ç. Ü. Adana.1983.
56. Sies H, De Groot H. Role of Reactive Oxygen Species in Toxicity. *J. Toxicology*. 1992; 64 (65): 547–51.
57. Halliwell B. Reactive Oxygen Species in Living Systems: Source, Biochemistry and Role in Human Disease. *J. The American Journal of Medicine*. 1991; 91(3C): 14–22.
58. Mead J. Free radical mechanisms in lipid peroxidation and prostaglandins. *Free radical in moleculer biology. J. Aging and disease*. 1984; 65(24): 53–66.
59. Notarjan D. Oxidants and signol transduction in vasler endothelium. *J. Clin. Med*. 1994; 125(35): 26–37.
60. Logani MK, Davies RE. Lipid Oxidation: Biolojic effects and antioxidants. *J.Lipids*. 1985; 15(5): 6-12.

61. Reubset FAG, Veerkamp JH, Tirjbels JMF, Monnens LA. Total and peroxisomal oxidation of various saturated and unsaturated fatty acids in rat liver, heart. *J. M. Quadri ceps. Lipids.* 1992; 24(7):11–16.
62. Arıcıoğlu A. Serbest oksijen radikalleri ve hücre hasarı. 1994; 2(3): 139–242.
63. Stevenson MA, Pollock SS, Coleman CN, Calderwood SK. *J. Cancer Res.* 1994;54(6):12–15.
64. Ball S, Weindruch R, Walford L. Antioxidants and immun response. *J. Free radicals, Aging and Dejenervative Diseases.* 1986; 427–456.
65. Burton G, Traber M. Antioxidants action of carotenoids. *J. Nutr.* 1989;119(12): 109–111.
66. Niki E. Antioxidants in retation to lipid peroxidation chemistry and physics of lipids. 1987; 44(6): 227–53.
67. Braughler M, Chose L, Pregenter F. Oxidation of ferraus iron during peroxidation of lipid substrates. *J. Biochemica and Biohysica Acta.* 1987; 921(21): 457–64.
68. Ripine JE, Bast A, Lankharst. Lipids I, and The Oxidativc Strees Study Group: Oxidative strees in chronic obstructive pulmorary disease. *J. Respir Crit Care Med.* 1997; 156(26): 341–347.
69. Reznick AZ, Cross CE, Hu ML, Suzuki YJ, Khwaja S, Safadi A. Modification of plasma proteins by cigarette smoke as measured by protein carbonyl formation. *J. Biochem* 1992; 286(35): 607–11.
70. Mccord JM. Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem* 1993; 26(4): 351–7.
71. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 1995; 5:1–3.
72. Halliwell B, Dizdaroglu M. Free radicals and the oxidant/antioxidant balance *J. Free Radical Res.* 1992; 16: 75–87.
73. Dizdaroglu M. *DNA and Free Radicals.* Ellis Horwood, Chichester 1993; 19-39.
74. Halliwell B, Aruoma OI. *FEBS Lett.* 1991; 281: 9–19.60.
75. Horwood E. Epe B. *DNA and Free Radicals.* Chichester 1993; 41-65.
76. Van den Akker E, Lutgerink JT, Laqueur MVM, Joenje H. Retel J. *Mutat. Res.* 1994;309: 45–52.
77. Steenken S. Purine bases, nucleosides, and nucleotides: aqueous solution redox chemistry and transformation reactions of their radical cations and e- and OH adducts. *J. Chem. Rev.* 1989; 89(24):503–520.
78. Dizdaroglu M. Oxidative damage to DNA in mammalian chromatin. *J. Mutat. Res.* 1992; 275(35): 331–342.
79. Aruoma OI, Halliwell B. *DNA and Free Radicals: Techniques Mechanisms and Applications.* OICA International 1998; 3–26.
80. Totter JR. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1980; 77: 1763–7.
81. Seven A, İnci F, Civelek S, Burçak G, İnci E, Korkut N. Larenks Kanserli Olgularda Lipid Peroksidasyon ve Antioksidan Statü Göstergelerinin Dokuda İncelenmesi. *Türk ORL Arşivi* 1998; 36: 33–6.

82. Ceballos L, Triver JM, Nicole A. Age correlated modifications of copper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes. *J. Clin. Chem.* 1992; 36(1): 66–70.
83. Smith EL, Hill RL, Lehmal R. Principle of biochemistry. 7th ed- McBraw Hill, inc. USA. 1983; 382 – 383.
84. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harpers biochemistry. 2nd ed. Typo. 1991.
85. Stamler JS, Slivka A. Biological chemistry of thiols in the vasculature and in vascular-related diseases. *Nutr Rev.* 1996; 54: 1-30.
86. Endou H, Koseki C, Yamada H. Evaluation of nephrotoxicity using isolated nephron segments. *Dev. Toxicol. Environ. Sci.* 1986; 14: 207-216.
87. Arnelle DR, Stamler JS. NO⁺, NO, and NO⁻ donation by S-nitrosothiols: implications for regulation of physiological functions by S-nitrosylation and acceleration of disulfide formation. *Arch Biochem Biophys*; 1995; 318: 279-85.
88. Steinberg D. Antioxidants and atherosclerosis. *Circulation* 1991; 84:1420-25.
89. Repine J. Oxidant-Antioxidant balance: Some observations from studies of ischemia-reperfusion in isolated perfused rat hearts. *Am J Med* 1991; 91: 30-45(S).
90. Berger SJ, Gosky D, Zberowska E. Sensitive enzymatic cycling in diabetes. *J. Diabetes* 1991; 46(4): 405 – 12.
91. Burton G, Traber M. Vitamin E: antioxidant activity biokinetics and bioavailability. *J. Annu. Rev. Nutr.* 1990; J. 10: 357–82.
92. Pabón A, Carmona J, Burgos LC, Blair S. Oxidative stress in patients with non-complicated malaria. *J. Clinical Biochemistry* 2003; 36(5): 71–78.
93. Ichikawa et al. Renal antioxidant enzymes. *Kidney Int.* 1994; 45:1-9.
94. Endou H, Koseki C, Yamada H, Obara T. Evaluation of nephrotoxicity using isolated nephron segments. In: Tanabe T. Hook JB, Endou H. (Eds.) *Nephrotoxicity of Antibiotics and Immunosuppressants*. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam, 1986, 207-216.
95. Kawamura T, Yoshioka T, Bills T, et al. Glucocorticoid activates glomerular antioxidant enzymes and protects glomerul from oxidant injuries. *Kidney Int* 1991; 40: 229-301.
96. Steinberg D. Antioxidants and atherosclerosis. *Circulation* 1991; 84: 1420-25.
97. Repine J. Oxidant-Antioxidant balance: Some observations from studies of ischemia-reperfusion in isolated perfused rat hearts. *Am J Med* 1991; 91: 30-45(S).
98. Hara T, Miyai H, Iida T et al. Aggrevation of Puromycine aminonucleoside nephrosis by the inibition of endogenous superoxide dismutase. *Proc XIth Int Congr Nephrol.* 1990, 442.
99. Voest E, Vreugdenhil G, Marx M. Iron-chelating agents in non-iron overload conditions. *Ann Intern Med* 1994; 120: 490-99.
100. Oberley TD, Oberley LW, Slaterry AF, et al. Immunohistochemical localization of antioxidant enzymes in adult syrian hamster tissue and during kidney development. *Am J Pathol* 1990; 137: 199-214.
101. Giardini O, Galluci M, Lubrano R, et al. Evidence of red blood cell membrane lipid peroxidation in haemodialysis patients. *Nephron* 1984; 36: 235-37.

- 102.** Miguel A, Miguel AI, Linares M et al. Evidence of an increased susceptibility to lipid peroxidation in red blood cells of chronic renal failure. *Nephron* 1988; 50:64-5.
- 103.** Koçak N, Toker A, Yalçın S. Erythrocyte lipid peroxidation and glutathione peroxidase activities in patients with chronic renal failure. *Med Bull İstanbul*, 1986; 19: 69-74.
- 104.** Seth RK, Saini AS, Aggarwal SK. Glutathione peroxidase activity and reduced glutathione content in erythrocytes of patients with chronic renal failure. *Scand J Haematol* 1985; 35: 01-4.
- 105.** Huysmans K, Lins RL, Daelemans R, Zacheé P, De Broe ME. Hypertension and accelerated atherosclerosis in end-stage renal diseases. *J Nephrol* 1998; 11: 185-95.
- 106.** Bonomini M, Sirolli V, Stuard S, Settefrati N: Interactions between platelets and leukocytes during hemodialysis. *Artif Organs* 1999; 23: 23-28.
- 107.** Himmelfarb J, Lazarus JM, Hakim R. Reactive oxygen species production by monocyte and polymorphonuclear leukocytes during dialysis. *Am J Kidney Disease* 1991; 17: 271-76.
- 108.** Galli F, Rovidati S, Chiarantini L, Kulurianu H, Canestrari F, Bouncristiani U. Bioreactivity and biocompatibility of a Vitamin E modified multi-layer hemodialysis filter. *Kidney Int* 1998; 54: 580-89.
- 109.** Köse K, Doğan P, Gündüz S, Düşünsel R, Utaş C. Oxidative stress in hemodialysis patients and long term effects of dialyzer reuse practice. *Chin Biochem* 1997; 30: 601-06.
- 110.** Epperlein MM, Naurooz-Zadeh J, Jayasena SD, Hothersall JS, Noronha-Dutra A, Neild GH. Nature and biological significance of free radicals generated during bicarbonate hemodialysis. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 457-63.
- 111.** Bouncristiani U, Galli F, Rovidati S, Albertini MC, Covarelli C, Carobi C, Dipaolo N, Canestrari F. Bicarbonate versus lactate buffer in peritoneal dialysis solutions: The beneficial effect on RBC metabolism. *Perit Dial Int* 1996; 16: 511-18.
- 112.** Cristol JP, Bose JY, Badiou S, Leblanc M, Lorrho R, Descomps B, Canaud B. Erythropoietin and oxidative stress in hemodialysis. Beneficial effects of vitamin E supplementation. *Nephrol Dial Transplant* 1997;12: 2312-17.
- 113.** Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *J. Clinical Biochemistry* 2004; 37: 112– 9.
- 114.** Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *J. Clinical Biochemistry* 2005; 47(5): 119– 29.
- 115.** Harma M, Harma M, Kocyigit A, Erel O. Increased DNA damage in patients with complete hydatidiform mole. *J. Mutation Research* 2005; 583: 49–54.
- 116.** Delmas-Beauvieux MC, Peuchant E, Dumon MF, Receveur MC, Le Bras M, Clerc M. Relationship between red blood cell antioxidant enzymatic system status and lipoperoxidation during the acute phase of malaria. *Clin Biochem* 1995; 28: 163-169.
- 117.** Himmelfarb J. Linking oxidative stress and inflammation in kidney disease: which is the chicken and which is the egg? *Semin Dial.* 2004 Nov-Dec;17(6): 449-54.
- 118.** Descamps-Latscha B, Drüeke T, Witko-Sarsat V. Dialysis-induced oxidative stress: biological aspects, clinical consequences, and therapy. *Semin Dial* 2001; 14: 193–199.
- 119.** Pawlak K, Pawlak D, Mysliwiec M. Possible association between circulating vascular endothelial growth factor and oxidative stress markers in hemodialysis patients. *Med Sci Monit.* 2006;12(4): CR181-5.

- 120.** Siems W, Carluccio F, Radenkovic S, Grune T, Hampl H. Oxidative stress in renal anemia of hemodialysis patients is mitigated by epoetin treatment. *Kidney Blood Press Res.* 2005;28 (5-6):295-301.
- 121.** Nascimento MM, Suliman ME, Murayama Y, Nihi M, Hayashi SY, Stenvinkel P, Riella MC, Lindholm B. Effect of high-dose thiamine and pyridoxine on advanced glycation end products and other oxidative stress markers in hemodialysis patients: a randomized placebo-controlled study. *J Ren Nutr.* 2006;16(2):119-24.
- 122.** Biasioli S, Schiavon R, Petrosino L, Cavallini L, Zambello A, De Fanti E, Giavarina D. Free radicals and oxidative stress challenge dialysis patients: effects of two different membranes. *ASAIO J.* 1997;43(5): M766-72.
- 123.** Shimada H, Kitamura K, Anraku M, Miyoshi T, Adachi M, Tuyen do G, Wakamatsu S, Nonoguchi H, Tanaka M, Tomita K. Effect of telmisartan on ambulatory blood pressure monitoring, plasma brain natriuretic peptide, and oxidative status of serum albumin in hemodialysis patients. *Hypertens Res.* 2005;28(12): 987-94.
- 124.** Pawlak K, Pawlak D, Mysliwiec M. Method of dialysis therapy and selected markers of oxidative stress and endothelial injury in patients with chronic renal failure. *Pol Arch Med Wewn.* 2005;113(1): 21-6.
- 125.** Broeders MA, Doevendans PA, Bekkers BC, Bronsaer R, Gorsel E van, Heemskerk JW, et al. Nebivolol: a third-generation beta-blocker that augments vascular nitric oxide release: endothelial beta(2)-adrenergic receptor-mediated nitric oxide production. *Circulation* 2000; 102:677–684.
- 126.** Tzemos N, Lim PO, MacDonald TM. Nebivolol reverses endothelial dysfunction in essential hypertension: a randomized, double-blind, crossover study. *Circulation* 2001; 104:511–514.
- 127.** Fahlbusch SA, Tsikas D, Mehls C, Gutzki FM, Böger RH, Frölich JC, Stichtenoth DO. Effects of carvedilol on oxidative stress in human endothelial cells and healthy volunteers *Eur J Clin Pharmacol* 2004; 60: 83–88.
- 128.** Fratta Pasini A, Garbin U, Nava MC, Stranieri C, Davoli A, Sawamura T, Lo Cascio V, Cominacini L. Nebivolol decreases oxidative stress in essential hypertensive patients and increases nitric oxide by reducing its oxidative inactivation. *J Hypertens.* 2005; 23(3): 589-96.
- 129.** Celik T, İyisoy A, Kursaklioglu H, Kardesoglu E, Kilic S, Turhan H, Yilmaz MI, Ozcan O, Yaman H, Isik E, Fici F. Comparative effects of nebivolol and metoprolol on oxidative stress, insulin resistance, plasma adiponectin and soluble P-selectin levels in hypertensive patients. *J Hypertens.* 2006; 24(3): 591-6.