

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**KORONER ARTER HASTALIĞINDA KANDA OKSİDATİF
STRES PARAMETRELERİ VE SELENYUM DÜZEYLERİNİN
KLİNİK BULGULARLA İLİŞKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. UĞUR ERÇİN**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. AYŞE BİLGİHAN**

**ANKARA
ARALIK 2010**

TEŞEKKÜRLER

Tıbbi Biyokimya uzmanlığı eğitimim boyunca deneyim ve desteğini esirgemeyen, etik kurallara bağlılığı, insana duyduğu saygı ve bilimselliği ile örnek teşkil eden, kendisiyle çalışmaktan onur ve mutluluk duyduğum saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Ayşe BİLGİHAN' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Tıbbi Biyokimya AD. başkanı Prof. Dr. Hatice PAŞAOĞLU' na, Prof. Dr. Neslihan BUKAN' a, Doç. Dr. Banu ÇAYCI SİVRİ' ye, Öğr. Gör. Dr. Özlem GÜLBAHAR' a, Öğr. Gör. Dr. Şehri ELBEG' e ve tüm saygıdeğer hocalarıma, yardım ve desteklerini esirgemeyen arkadaşlarım Araş. Gör. Dr. M. Ulaş GÜRAKAN, Araş. Gör. Dr. M. Zahit ÇIRACI ve Dr. Vet. Hek. Ahmed Ali HUSSEİN' e teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca olumlu olumsuz birçok anı paylaştığımız Merkez Biyokimya, Hematoloji, Metabolizma, İmmünoloji, Mikrobiyoloji Laboratuvarları ve Tüp Yıkama Ünitesinin tüm personeline çok teşekkür ederim.

Numunelerin toplanması aşamasında yardımlarını esirgemeyen Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dr. Rıdvan EGE Hastanesi Kardiyoloji AD. Öğretim Üyesi Sayın Yard. Doç. Dr. Aycan Fahri ERKAN' a ve tüm Anjiyografi personeline çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca desteklerini esirgemeyen bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım GÜDAM Başkanı Sayın hocam Prof. Dr. Nurten TÜRKÖZKAN' a ve güleryüzlü tüm GÜDAM personeline çok teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimine başlamamda çok emeği olan sevgili dostum Dr. Erol ÜNAL' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim boyunca destekleri ve sevgileriyle her zaman yanımda olduklarını hissettiğim canım annem, babam, abim ve ablama, kayınvalidem ve kayınpederime teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım boyunca gösterdiği hoşgörü ve desteği için sevgili eşim Dr. Derya ERÇİN' e ve beni sabırla bekleyen canım oğlum Can Uras ERÇİN' e en yürekten duygularımla teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER	I
Kabul ve Onay	VII
Şekil, Tablolar ve Grafiklerin Dizini	VIII
Kısaltmalar	XII
İçindekiler	
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Oksidatif Stres.....	3
2.1.1. Reaktif Oksijen ve Reaktif Nitrojen Türleri.....	3
2.1.1.1. Süperoksit Radikali ($O_2^{\bullet -}$).....	4
2.1.1.2. Hidrojen Peroksit(H_2O_2).....	6
2.1.1.3. Hidroksil Radikali($\cdot OH$).....	7
2.1.1.4. Singlet Oksijen ($^1O_2$).....	8
2.1.1.5. Hipokloröz Asit($HOCl$).....	8
2.1.1.6. Nitrik Oksit(NO).....	9
2.1.1.7. Perhidroksil Radikali ($HO_2^{\bullet}$).....	9
2.1.1.8. Peroksil Radikali($RO_2^{\bullet}$).....	9
2.1.2. Başlıca Serbest Radikal Üretim Kaynakları.....	9
2.1.3. Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri.....	10
2.1.4. Oksidatif Stresi Gösteren Bazı Plazma Parametreleri.....	12
2.1.4.1. Myeloperoksidaz(MPO).....	13
2.1.4.2. Total Lipid Hidroperoksit.....	14
2.1.4.3. Pirrolize Proteinler.....	15

2.1.4.4. Protein Karbonil Bileşikleri.....	16
2.1.4.5. Proteinlerin İleri Oksidasyon Ürünleri(AOPP).....	17
2.1.4.6. Neopterin.....	19
2.1.4.7. İskemik Modifiye Albümin(İMA).....	20
2.1.4.8. Serbest Tiyol Grupları.....	20
2.1.5. Antioksidan Sistem.....	21
2.1.5.1. Enzimatik Antioksidanlar.....	22
2.1.5.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	22
2.1.5.1.2. Glutasyon Redüktaz (GSH-R).....	22
2.1.5.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px).....	22
2.1.5.1.4. Katalaz (CAT).....	23
2.1.5.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar.....	24
2.1.5.2.1. C Vitamini (Askorbik Asit)	24
2.1.5.2.2. E Vitamini (α - tokoferol).....	24
2.1.5.2.3. β -karoten.....	24
2.1.5.2.4. Melatonin	24
2.1.5.2.5. Glutasyon (GSH).....	24
2.2. Selenyum.....	26
2.2.1. Kimyasal Özellikleri.....	26
2.2.2. Diyet Kaynakları.....	27
2.2.3. Absorbsiyon, Metabolizma ve Atılım.....	28
2.2.4. Transport.....	29
2.2.5. Selenoproteinlerin Biyosentezi.....	30

2.2.6. Selenoproteinler ve Fonksiyonları	31
2.2.6.1. Glutasyon Peroksidaz Ailesi(GSH-Px).....	32
2.2.6.2. İyodotronin Deiyodinaz.....	34
2.2.6.3. Tiyoredoksin Redüktaz (TrxR).....	35
2.2.6.4. Selenofosfat Sentetaz (SPS).....	36
2.2.6.5. Selenoprotein P.....	36
2.2.6.6. Selenoprotein W.....	36
2.2.6.7. Selenoprotein S.....	37
2.2.6.8. Selenoprotein N.....	37
2.2.6.9. Selenoprotein 15kDa.....	37
2.2.6.10. Selenoprotein K.....	37
2.2.7. Selenyum Eksikliği ile İlişkili Bazı Klinik Durumlar.....	38
2.2.7.1. Kanser.....	38
2.2.7.2. AIDS.....	38
2.2.7.3. Hepatit / Karaciğer Hastalığı.....	38
2.2.7.4. Romatoid Artrit (RA).....	39
2.2.7.5. Kardiyomiyopati (KMP).....	39
2.2.7.6. Astım.....	40
2.2.7.7. Myotonik Distrofi.....	40
2.2.7.8. Erkek İnfertilitesi.....	41
2.2.7.9. Hipotiroidizm.....	41
2.2.7.10. Katarakt.....	41
2.2.7.11. Ağır Metal Toksisitesi.....	42

2.2.7.12. Gıda İntoleransı.....	42
2.2.7.13. Diğer Klinik Durumlar.....	42
2.2.8. Günlük Gereksinim.....	43
2.2.9. Gıda ve İlaç Etkileşimleri.....	44
2.2.10. Toksisitesi.....	45
2.2.11. Referans Aralıkları.....	46
2.2.12. Türkiye’ de Selenyum Durumu.....	46
2.3. Koroner Arter Hastalığı.....	49
2.3.1. Ateroskleroz.....	49
2.3.2. Aterogenezde Rol Alan Hücreler	50
2.3.2.1. Endotel Hücreleri.....	50
2.3.2.2. Monosit ve Makrofajlar.....	50
2.3.2.3. Düz Kas Hücreleri.....	51
2.3.2.4. Trombositler.....	51
2.3.3. Aterogenez Patogenezi.....	51
2.3.3.1. Aterom Plak Gelişim Evreleri.....	51
2.3.3.2. Aterosklerotik Plak Başlangıcı ve Dekompanzasyonu.....	53
2.3.4. Koroner Arter Hastalığı Risk Faktörleri.....	54
2.3.4.1. Klasik Risk Faktörleri.....	55
2.3.4.1.1. Yaş ve Cinsiyet.....	55
2.3.4.1.2. Sigara İçme.....	55
2.3.4.1.3. Aile Hikayesi.....	56
2.3.4.1.4. Obezite ve Fiziksel İnaktivite.....	56

2.3.4.1.5. Diabetes Mellitus (DM) ve İnsülin Direnci.....	57
2.3.4.1.6. Hipertansiyon.....	57
2.3.4.1.7. Dislipidemi.....	58
2.3.4.2. Yeni Risk Faktörleri.....	59
2.3.4.2.1. Hiperhomosisteinemi.....	59
2.3.4.2.2. Lipoprotein(a) [Lp(a)] Yüksekliği.....	60
2.3.4.2.3. BNP ve NT-proBNP.....	61
2.3.4.2.4. Yüksek Duyarlılıklı CRP (hsCRP).....	61
2.3.4.2.5. Enfeksiyon.....	62
2.3.4.2.6. Protrombotik Faktörler.....	62
2.3.4.2.7. Çözünebilir CD40 Ligand (sCD40L, CD134).....	62
2.4. Koroner Arter Hastalığı ve Oksidatif Stres.....	65
2.5. Koroner Arter Hastalığı ve Selenyum.....	83
2.5.1. Selenyum ve Kardiyovasküler Risk Faktörleri.....	91
2.5.1.1. Hipertansiyon.....	91
2.5.1.2. Diabetes Mellitus.....	93
2.5.1.3. Lipid Düzeyleri.....	94
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	98
3.1. Kullanılan Gereçler.....	98
3.1.1. Deney Grupları.....	98
3.1.2. Kullanılan Cihazlar	99
3.1.3. Kullanılan Kimyasallar.....	99
3.2. Uygulanan Yöntemler.....	99

3.2.1. Plazma MDA Düzeylerinin Ölçümü.....	99
3.2.2. Plazma AOPP Düzeylerinin Ölçümü.....	102
3.2.3. Plazma GSH-Px Aktivitesinin Ölçümü.....	103
3.2.4. Plazma GSH-R Aktivitesinin Ölçümü.....	106
3.2.5. Plazma Total Glutasyon Düzeylerinin Ölçümü.....	107
3.2.6. Plazma Se Düzeylerinin Ölçümü.....	110
3.3. İstatistiksel Değerlendirme.....	110
4.BULGULAR.....	111
5.TARTIŞMA	119
6.SONUÇ.....	135
7.KAYNAKLAR.....	136
8.ÖZET.....	168
9.SUMMARY.....	171
10.ÖZGEÇMİŞ.....	173

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Uzmanlık Programı çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşğıdaki jüri tarafından Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : .../.../20...

BAŞKAN

İmza
Prof. Dr. Hatice PAŞAOĞLU
Gazi Üniversitesi

ÜYE

İmza
Prof. Dr. Ayşe BİLGİHAN
Gazi Üniversitesi

ÜYE

İmza
Prof. Dr. Nurten TÜRKÖZKAN
Gazi Üniversitesi

ŞEKİLLER, TABLOLAR ve GRAFİKLERİN DİZİNİ

Şekil

Şekil-1:Serbest radikal hasarının ürünleri.....	12
Şekil-2:Vücutta serbest radikallerin başlıca kaynakları ve serbest radikal hasarının sonuçları.....	13
Şekil-3:Organizmada dihidropirin ve pirrolize protein oluşumu.....	16
Şekil-4:PCC oluşum mekanizmaları.....	18
Şekil-5:Serbest radikal atağına karşı antioksidan savunmalar.....	25
Şekil-6:Selenyumun kimyasal özellikleri.....	26
Şekil-7:Selenyumun metabolik yolağı.....	27
Şekil-8:Selenyum kaynakları, metabolizması, dağılımı ve atılımı.....	29
Şekil-9:Selenoproteinlerin yapısına selenosisteinin dahil edilmesi için gerekli cis ve trans-etkili elemanların şematik gösterimi.....	31
Şekil-10:Tiyoredoksin redüktaz.....	35
Şekil-11:Selenyumun yararları.....	43
Şekil-12:Reaktif oksijen türlerinin üretimi.....	66
Şekil-13:Aterosklerozda oksidatif modifikasyon teorisi	68
Şekil-14:ROT' un uyardığı endotel disfonksiyon mekanizmaları	70
Şekil-15:Aterosklerotik endotel disfonksiyonunda eNOS uncoupling mekanizmaları.....	73
Şekil-16:Vasküler hastalıkta oksidatif stres ilişki ve patofizyolojisi.....	74
Şekil-17:Oksidatif stres aracılığı ile oluşan reaktif aldehytlere karşı hücre sel yanıt	80

Şekil-18:Selenyum eksikliğinde koroner arter hastalığı riskini arttıran olası yollar.....	86
Şekil-19:Selenyum durumunun plateletler, lökositler, düz kas hücreleri ve endotel hücreleri üzerine olası etkileri.....	90
Şekil-20:10 nmol/mL' lik MDA standartına ait kromatogram.....	102
Şekil-21:GSH resiklusu.....	108

Tablo

Tablo-1:İnsan vücudunda üretilen reaktif oksijen ve nitrojen türleri.....	5
Tablo-2:Hücrelerde serbest radikal kaynakları.....	10
Tablo-3:Antioksidanların sınıflandırılması.....	23
Tablo-4:Avrupa ülkelerinde çeşitli gıda maddelerindeki ortalama selenyum konsantrasyonları.....	28
Tablo-5:İyodotironinlerin özellikleri.....	34
Tablo-6:Çeşitli ülkeler için toprak, diyetle günlük alım, serum, idrar ve anne sütündeki selenyum konsantrasyonları.....	44
Tablo-7:Patolojik ve klinik bulguların ortaya çıkışına göre, Amerikan Kalp Cemiyeti ("American Heart Association", AHA) tarafından, aterogenez oluşum basamaklarının sınıflandırılması.....	52
Tablo-8:KAH risk faktörleri.....	56
Tablo-9:Ulusal Kolesterol Eğitim Programı ("National Cholesterol Education Programme", NCEP), Erişkin Tedavi Paneli ("Adult Treatment Panel",	

ATP) III rehberine göre serumda lipid düzeylerinin sınıflandırılması.....	58
Tablo-10:Trombojenik risk faktörleri.....	63
Tablo-11:Selenyumun KAH riskini azaltabileceğini gösteren deneysel veriler.....	85
Tablo-12:Plazma MDA ve AOPP düzeyleri (ortalama±standart hata).....	111
Tablo-13:Plazma GSH-R, GSH-Px ve GSH düzeyleri (ortalama±standart hata).....	113

Grafik

Grafik-1:MDA Standart Eğrisi.....	101
Grafik-2:AOPP standart eğrisi.....	103
Grafik-3:GSH-Px standart eğrisi.....	104
Grafik-4:GSH-Redüktaz standart eğrisi.....	107
Grafik-5:Glutatyon standart eğrisi.....	110
Grafik-6:Plazma MDA düzeylerinin gruplar arasındaki farkı.....	112
Grafik-7:Plazma AOPP düzeylerinin gruplar arasındaki farkı.....	112
Grafik-8:Plazma GSH-R düzeylerinin gruplar arasındaki farkı.....	114
Grafik-9:Plazma GSH-Px düzeylerinin gruplar arasındaki farkı	114
Grafik-10:Plazma GSH düzeylerinin gruplar arasındaki farkı	115
Grafik-11:Plazma Selenyum düzeylerinin gruplar arasındaki farkı	115
Grafik-12:GSH-Px ile GSH-R arasındaki güçlü pozitif korelasyonun grafiksel olarak gösterimi.....	116

Grafik-13:GSH-Px ile AOPP arasındaki güçlü negatif korelasyonun grafiksel olarak gösterimi.....	117
Grafik-14:GSH-R ile AOPP arasındaki zayıf negatif korelasyonun grafiksel olarak gösterimi.....	118

KISALTMALAR

ADMA: Asimetrik dimetil arjinin

AMİ: Akut miyokard infarktüsü

AOPP: Proteinlerin ileri oksidasyon ürünleri

AP-1: Plazminojen aktivatör inhibitör-1

Apo A: Apolipoprotein A

Apo B-100: Apolipoprotein B-100

AT-I: Anjiotensin tip I

cDNA: Tamamlayıcı deoksiribonükleik asit

BNP: B-tipi natriüretik peptid

CAT: Katalaz

CI: Güven aralığı

DDAH: Dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz

DIO: İyodotironin deiyodinaz

DM: Diabetes Mellitus

DNPH: 2, 4 –dinitrofenilhidrazin

DPI: Difenilen iyodonyum

DTNB: 5,5-ditio-bis-2-nitrobenzoik asit

EDTA: Etilendiamin tetra asetik asit

EGF: Epidermal büyüme faktörü

egr-1: Erken büyüme yanıt faktörü 1

eNOS: Endotelyal NO sentaz

ERK: Ekstrasellüler sinyal düzenleyen kinaz

ETS: Elektron transport sistemi

FDGF: Fibroblasttan türetilmiş büyüme faktörü

GSH: Redükte glutatyon

GSH-Px: Glutatyon peroksidaz

GSH-Redüktaz: Glutatyon Redüktaz

GSSG: Okside glutatyon

HNE: 4-hidroksi-2-nonenal

15-HPETE: 15-Hidroperoksieikoztetraenoik asit

ICAM-1: Hücre içi adezyon molekülü-1

IκB: Kappa B inhibitörü

İMA: İskemik modifiye albumin

iNOS: Uyarılabilir NO sentaz

JNK: c-Jun N-terminal kinaz

KAH: Koroner arter hastalığı

LPO: Lipid peroksidasyonu

MAPK: Mitojen ile aktive edilen protein kinaz

MCP-1: Monosit kemotaktik protein

MCSF: Monosit koloni stimüle edici faktör

MDA: Malondialdehit

MMP: Matriks metalloproteinaz

MPO: Myeloperoksidaz

NADP: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

NADPH: Redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

NFκB: Nükleer faktör κB

NO: Nitrik oksit

NT-proBNP: N-terminal pro B-tip natriüretik peptid

OLAARP: Okside lipid/Aminoasit reaksiyon ürünü

PBS: Fosfat tampon solüsyonu

PCC: Protein karbonil bileşikleri

PDGF: Trombositten türetilmiş büyüme faktörü

PI3K: Fosfotidil-inositol-3-kinaz

PRMT-1: Protein arjinin metil transferaz

RCC: Reaktif karbonil bileşikleri

ROCK: Rho-ilişkili kinaz

ROT: Reaktif oksijen türleri

SECIS: Selenosistein ekleme bölümü

SOD: Süperoksit dismutaz

SPS: Selenofosfat sentetaz

TGF-α: Dönüşüm büyüme faktörü-α

TMP: 1, 1, 3, 3-tetrametoksipropan

TNB: 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit

TNF-α: Tümör nekroz faktör-α

TrxR: Tiyoredoksin redüktaz

TXA₂: Tromboksan A₂

VCAM-1: Vasküler hücre adezyon molekülü-1

VSMC: Vasküler düz kas hücresi

1. GİRİŞ

Kardiyovasküler hastalıklar (KAH) ülkemizde ve gelişmiş ülkelerde mortalite ve morbiditenin en önemli nedenidir. Kardiyovasküler olayların dünyada yaygınlaşması sebebiyle bu hastalıkların tanı ve tedavisine ilgi ile yaklaşılmış ve oldukça önemli ilerlemeler sağlanmış ve bilinmeyen noktaların ortaya çıkarılabilmesi için de yoğun bir çaba gösterilmektedir. ABD’ de kardiyak ölümlerin % 50-75’ i KAH’ dan ileri gelmektedir. Bu olguların % 99’ unda etyolojik neden aterosklerozistir.¹

Aterosklerozise yatkınlık yaratan mekanizmalar oldukça karmaşıktır. Birçok faktör ve kompleks yollar aterosklerozis gelişimine katkıda bulunmaktadır. Oksidatif stres, lipid metabolizması bozukluğu, koagülasyon oluşumunda artış, inflamasyon ve endotel işlevlerinin bozukluğunu da içeren çok sayıda faktörün aterosklerozis gelişimine katkısı olduğu gösterilmiştir.²

Kardiyovasküler hastalıkların etyolojisinde selenyumun önemi, araştırmaların 20 yıldan fazla sürmesine rağmen halen kesin değildir. Düşük selenyum alımı ile koroner kalp hastalığı riskinin artması arasındaki bağlantı üzerine kanıtlar zayıftır.³ Çeşitli çalışmalarda, akut miyokardiyal infarktüs (AMİ), konjestif kalp yetmezliği, kardiyomiyopati, hipertansiyon, kronik kalp hastalığı, iskemik kalp hastalığı ve aterosklerozis gibi farklı kardiyopatili hastaların serum veya plazma selenyum konsantrasyonlarında anlamlı azalma gösterilmiştir. Selenyum seviyesinin etyolojik faktörler veya biyolojik sonuç olarak azalıp azalmadığı tam olarak aydınlatılamamışsa da selenyum eksikliğinin bu durumları artırma riski bilinmektedir. Selenyum eksikliğiyle birlikte oluşan GSH-Px ve

TrxR' nin azalmış antioksidan aktivitesi de göz önünde tutulması gereken bir diğer faktördür.^{4,5}

Bu çalışmada, koroner arter hastalığı derecesi koroner anjiyografi yapılarak Gensini skortlama sistemine göre belirlenen hastalarda oksidatif stres parametreleri olarak MDA(Malondialdehit) ve AOPP(Proteinlerin İleri Oksidasyon Ürünleri) düzeylerini, antioksidan parametreler olarak ise GSH-Px(Glutatyon Peroksidaz), GSH-R(Glutatyon Redüktaz) aktivitelerini ve Selenyum, GSH(Glutatyon) düzeylerini çalışmayı planladık. Amacımız bu parametreler ile KAH' ın derecesi arasındaki ilişkiyi sorgulamaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, oksidanlar ve antioksidanlar arasında oksidanlar lehine bir dengesizlik olması durumu olarak tanımlanır. Bu durum zararlı biyokimyasal reaksiyonlara sebep olur ve insanlarda aterosklerozis ve buna bağlı vasküler hastalıklar, mutagenesis ve kanser, nörodejenerasyon, immünolojik bozukluklar ve hatta yaşlanma sürecinin hızlanmasını da içeren çok çeşitli kronik hastalıkların görülmesine önemli düzeyde katkıda bulunur. Oksidatif stres durumunda ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin neden olduğu oksijen toksisitesi ilk olarak 1954 yılında Rebecca Gerschman, Daniel Gilbert ve arkadaşları tarafından akciğer dokusunda gösterilmiştir.⁶

2.1.1. Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türleri

Reaktif oksijen türleri(ROT), hem serbest oksijen radikallerini hem de oksitleyici ajanlarla kolayca radikallere dönüşebilen non-radikalleri kapsayan bir terimdir. Reaktif nitrojen türleri(RNT), nitrojen içeren radikalleri ve non-radikalleri kapsayan bir terimdir. Bazı türler farklı iki gruba da dahil edilebilirler. Örneğin; Peroksinitrit ROT veya RNT olarak kabul edilebilirken HOCl ise ROT veya RCT(Reaktif klor türleri) olarak kabul edilebilmektedir.

Bu türler geniş reaktivite düzeylerine sahiptirler; H_2O_2 , $O_2^{\bullet-}$, $NO^{\bullet}$ sadece birkaç molekülle reaksiyona girerken, $^{\bullet}OH$ hemen tüm moleküllerle hızlıca reaksiyona girebilir. $RO_2^{\bullet}$, $RO^{\bullet}$, HOCl, HOBr, NO_2Cl , $NO_2^{\bullet}$, $ONOO^-$ ve O_3 orta düzey reaktiviteye sahiptir.⁷

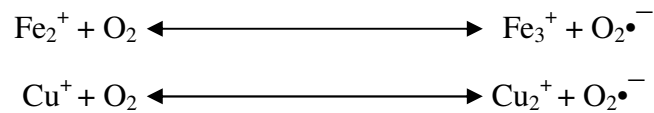
Serbest radikaller dış yörüngelerinde eşleşmemiş bir elektron bulunduran moleküller olarak tanımlanırlar. Genellikle kararsız ve çok reaktiftirler. Bu yüzden çevrelerindeki atom ve moleküllere saldırırlar. Kısa ömürlüdürler ve radikal olmayan maddelerle kolay etkileşime girmeleri onları da radikal yapmaları ve bir dizi zincir reaksiyonu başlatmalarından dolayı çok toksiktirler.

2.1.1.1. Süperoksit Radikali ($O_2^{\bullet -}$):

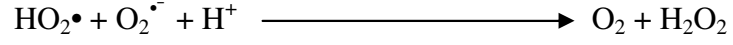
Hemen hemen tüm aerobik hücrelerde, oksijenin bir elektron alarak indirgenmesiyle süperoksit radikal anyonu ($O_2^{\bullet -}$) meydana gelir. Süperoksit, nitrik oksitle reaksiyona girerek azot dioksit (NO_2), hidroksil radikali ($\bullet OH$), nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi toksik ürünlere dönüşebilen peroksinitriti ($ONOO^-$) oluşturur.^{8,9,10}

Süperoksit radikali mitokondriyal solunum sırasında oluşur.^{11,12} Membranları kolaylıkla geçemediğinden, belli başlı tahrip edici etkisi yoktur. Genellikle hidrojen peroksit kaynağı ve geçiş metalleri indirgeyicisi olarak bilinir.¹³

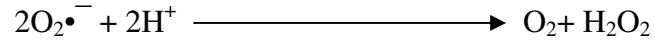
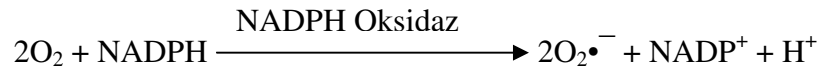
Süperoksit indirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyon reaksiyonu ile de oluşabilmektedir. Bu reaksiyonlar geri dönüşümlüdür.



Süperoksit düşük pH' da protonlanarak perhidroksil ($HO_2 \cdot$) radikalini oluşturur. Süperoksit ve perhidroksil radikali, süperoksit dismutaz (SOD) enzimi aracılığı ile etkileştiğinde biri okside olurken diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda O_2 ve H_2O_2 oluşur.^{8,9}



Nötrofillerde süperoksit radikali NADPH oksidaz enzimi aracılığı ile yapılır. Önce fagosit uyarılır ve sonra NADPH oksidaz enzimi aktive olur, redükte piridin nükleotidlerinden (NADPH) iki elektron iki molekül oksijene transfer edilir. Böylece iki molekül $\text{O}_2^{\bullet-}$ oluşur.^{8,11}

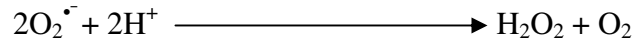


Tablo 1. İnsan Vücudunda Üretilen Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türleri.⁷

ROS	
Radikal	Non-Radikal
Süperoksit, $\text{O}_2^{\bullet-}$ Hidroksil, $\bullet\text{OH}$ Peroksil, $\text{RO}_2^{\bullet}$ Alkoksil, $\text{RO}^{\bullet}$ Hidroperoksil, $\text{HO}_2^{\bullet}$	Hidrojen peroksit, H_2O_2 Hipokloröz asit, HOCl Ozon, O_3 Singlet oksijen, $^1\text{O}_2$ Hidroperoksil, $\text{HO}_2^{\bullet}$ Hipobromöz asit, HOBr
RNS	
Radikal	Non-Radikal
Nitrik oksit, NO Nitrojen dioksit, NO_2	Nitröz asit, HNO_2 Nitrozil katyon, NO^+ Nitroksil anyon, NO_2^- Dinitrojen tetroksit, N_2O_4 Dinitrojen trioksit, N_2O_3 Peroksinitrit, ONOO_2 Nitronyum katyon, NO_2^+ Nitril klorit, NO_2Cl Alkil peroksinitratlar, ROONO_2 Nitroksil anyon, NO_2^-
RCS	
Radikal	Non-Radikal
	Hipokloröz asit, HOCl Nitril klorit, NO_2Cl

2.1.1.2. Hidrojen Peroksit(H₂O₂):

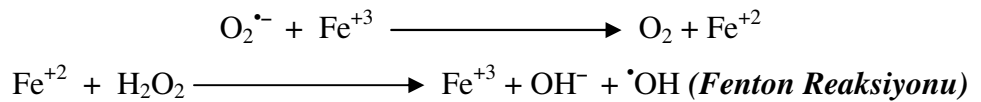
Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması, süperoksitin ise bir elektron almasıyla H₂O₂ oluşur.⁸ Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin başlıca üretimi süperoksit dismutasyonu ile gerçekleşir. Reaksiyon sonunda radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden; bu bir dismutasyon reaksiyonudur. Bu reaksiyon, spontan olarak veya süperoksit dismutaz enzimi tarafından katalizlenir.^{8,10}



Hidrojen peroksit, O₂^{•-} ile etkileşime girerek, en reaktif ve zarar verici olan [•]OH radikalini oluşturabildiğinden reaktif oksijen türleri içinde tanımlanır.¹³



Katalizörsüz ortamda H₂O₂ ve O₂^{•-} antioksidanlar tarafından temizlenir. Demir gibi geçiş metalleriyle katalizlenen tepkimeler çok daha hızlı oluşur. Tepkimede önce ferri demir (Fe⁺³), süperoksit tarafından ferro demire (Fe⁺²) indirgenir. Bu ferro demirle Fenton Tepkimesi aracılığıyla hidrojen peroksitten [•]OH ve OH⁻ üretilir.¹¹



Hidrojen peroksit, peroksizomlarda katalaz, mitokondri ve sitozolde glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimleri tarafından suya dönüştürülerek indirgenir.^{12,14}

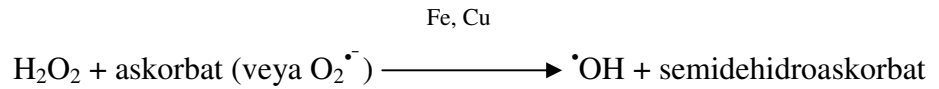
2.1.1.3. Hidroksil Radikali($\text{OH}\cdot$):

Hidroksil radikali çok reaktif ve kısa yarı ömürlü oksitleyici bir ajandır. Nonradikal moleküllerle zincirleme reaksiyonları başlatabilme kapasitesi olduğundan büyük hasara neden olur.⁸

Hidroksil radikali, iyonize edici radyasyonun etkisiyle sulu ortamda su moleküllerinin iyonlaşmasıyla oluşur. Uyarılmış su molekülü (H_2O^*) homolitik parçalanma ile, H_2O^+ ise bir başka su molekülü ile reaksiyona girerek hidroksil radikalini oluşturur.¹¹

Hidrojen peroksitin iki elektronla indirgenmesiyle su oluşurken, tek elektronla indirgenmesi sonucu $\text{OH}\cdot$ oluşur. Bu tepkime Fe, Cu gibi metal iyonlarıyla katalizlenir.

Askorbik asit, süperoksit gibi indirgeyici ajanların varlığında, okside metal iyonu tekrar indirgenir ve H_2O_2 ' den $\text{OH}\cdot$ yapımı devamlı hale gelir.¹⁵



Haber-Weiss tepkimesi ile $\text{OH}\cdot$ oluşum miktarı, üretilen H_2O_2 derişimine ve metal iyonunun varlığına bağlıdır. Süperoksitin H_2O_2 ' nin prekürsörü ve aynı zamanda metal iyonlarını indirgeyici rolünden dolayı; biyolojik koşullarda süperoksit yapımının arttığı ortamda $\text{OH}\cdot$ üretimi de artar.^{11,16,17}

Metal iyonları varlığında glutatyon ve askorbik asit gibi antioksidanlar prooksidan gibi davranırlar.



Canlılarda metal iyonları $^{\bullet}\text{OH}$ yapımını katalizledikleri için radikal hasarlarından birinci derecede sorumludur. Metal iyonları proteine bağlı formda tutuldukları takdirde bu etkiye sahip değildirler.^{11,15,16}

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

Oksijen elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin ters yönündeki bir başka orbitale yer değiştirmesiyle oluşmaktadır.^{8,13}

Singlet oksijen diğer moleküllerle karşılaştığında mevcut enerjisini transfer edebileceği gibi kovalent tepkimelere de girebilir. Karbon-karbon çift bağları sayesinde, peroksil radikalini($\text{RO}^{\bullet}_2$) meydana getirir ve lipid peroksidasyonunu başlatabilir.^{11,15}

2.1.1.5. Hipokloröz Asit(HOCl):

Enzimatik olarak nötrofiller tarafından üretilir, güçlü bir oksidandır. Aktive olan nötrofiller, makrofajlar ve eozinofiller süperoksit üretirler. Özellikle nötrofiller, içerdikleri myeloperoksidaz enzimi aracılığı ile süperoksitin dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksiti klorür iyonu ile birleştirerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl ' e dönüştürür.¹⁸

2.1.1.6. Nitrik Oksit(NO):

Bu lipofilik serbest radikal, damar endotel hücrelerinde nitrik oksit sentaz enzimi aracılığı ile L-arjinin' den sentezlenir. NO, aynı zamanda tiyol gruplarını S-nitrozilasyona uğratarak protein ve reseptör fonksiyonlarını da değiştirir. NO, oluşan reaktif oksijen türleri ile reaksiyon vererek güçlü bir oksidan olan peroksinitrit (ONOOH) oluşturmakta ve bunun da ileri dekompozisyonu ile $\cdot\text{OH}$ radikali oluşumuna yol açmaktadır.¹⁹

2.1.1.7. Perhidroksil Radikali ($\text{HO}_2\cdot$):

Düşük pH değerlerinde süperoksit radikali bir proton alarak perhidroksil radikalini ($\text{HO}_2\cdot$) oluşturur. Ancak bu radikalın oluşma olasılığı fizyolojik pH değerinde % 1' den azdır. Oluşan perhidroksil radikali yağ asidi, amino asit ve α - tokoferolle reaksiyona girer.²⁰

2.1.1.8. Peroksil Radikali($\text{RO}_2\cdot$):

Hidroksil radikali, yağ asitleri, nükleik asitler, karbohidratlar ve proteinler gibi çeşitli moleküllerden bir proton çıkarıp karbon merkezli radikallerin (alkil radikali, $\text{R}\cdot$) oluşmasına neden olur. Karbon merkezli radikaller hızlı bir şekilde oksijen ile reaksiyona girerek peroksil radikalini oluştururlar. Peroksil radikali, lipid peroksidasyonunda zincir devam ettirici radikal olup çok uzun ömürlüdür.²¹

2.1.2. Başlıca Serbest Radikal Üretim Kaynakları

Serbest radikaller, organizmada normal hücre metabolizması sırasında oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları sırasında oluşabildiği gibi çeşitli dış kaynaklı nedenlerle de oluşabilir. Serbest radikal oluşturan kaynaklar endojen ve ekzojen olmak üzere iki gruba ayrılabilir.^{22,23}

Tablo 2. Hücrelerde serbest radikal kaynakları²⁴

ENDOJEN KAYNAKLAR	EKZOJEN KAYNAKLAR
✓Mitokondriyal elektron transport zinciri ✓Mikrozomal elektron transport zinciri ✓Oksidan enzimler ✓Ksantin oksidaz ✓İndolamin dioksijenaz ✓Galaktoz oksidaz ✓Siklooksijenaz ✓Lipoksijenaz ✓Monoamin oksidaz ✓Fagositik hücreler ✓Nötrofiller ✓Monositler ve makrofajlar ✓Eozinofiller ✓Endotelial hücreler ✓Otooksidasyon reaksiyonları (ör, Fe⁺²)	✓Redoks siklus bileşikleri (ör, paraquat, doksorubisin) ✓İlaç oksidasyonları (ör, parasetamol) ✓Sigara ✓Güneş ışığı ✓Isı şoku ✓Okside glutatyon

2.1.3. Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri

Normal metabolizma sırasında ya da patolojik yolla ortaya çıkan serbest radikaller, hücre ve dokularda birçok zarara yol açmaktadır.

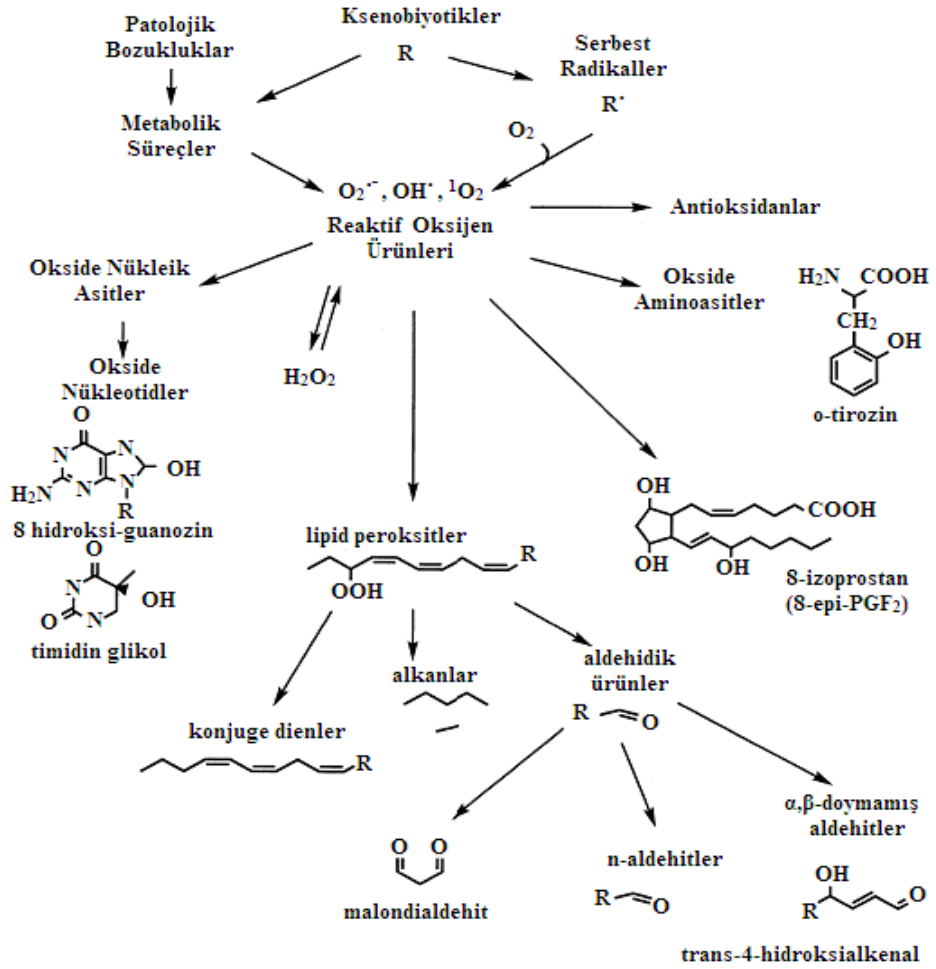
Lipidlere etkisi: Reaktif oksijen türleri, plazma ve organel membranlarında lipid peroksidasyonuna neden olurlar. Hidroksil radikali membran lipidleri ile çift bağ yapar, böylece lipid-radikal etkileşimi ile zincirleme reaksiyon sonucu malondialdehit, dien konjugatları gibi pek çok lipid peroksidasyon ürünü oluşur. Membran lipidlerinin okside olması ile bu membranların fiziksel ve kimyasal özellikleri değişir, iyon geçirgenliği bozulur. Böylece organel ve hücre hasarı ortaya çıkar, eritrositlerde hemoliz görülür.

Serbest radikallerin DNA'ya etkileri: Serbest radikallerin nükleer ve mitokondrial DNA ile tepkimesi sonucunda baz modifikasyonları, baz

delesyonları, zincir kırılmaları gerçekleşebilmektedir. DNA' nın harabiyeti genellikle mutasyonların ortaya çıkmasına neden olur. Mitokondrial DNA'da meydana gelen mutasyonlar sonucunda hücrenin enerji durumu etkilenir.

Proteinlere etkisi: Proteinlerin içerdikleri amino asitlerin oksidasyona duyarlılıkları farklı olmakla birlikte sistein, tirozin, triptofan, histidin, metionin ve lizin kalıntılarının hassasiyetinin yüksek olduğu kabul edilmektedir. Reaktif oksijen türlerinin bu amino asitlerle reaksiyona girerek oksidan etki gösterdikleri tespit edilmiştir. Bu nedenle, mikrosirkülasyonda oluşan ROT, proteinlerde, enzimlerde modifikasyona ve hücre fonksiyonlarında değişime neden olur. Proteinlerde serbest radikal etkisiyle protein tiyol gruplarının oksidasyonu, disülfid bağlarının indirgenmesi, ileri protein oksidasyon ürünleri, protein karbonil ve nitrotirozin oluşur.^{25,26}

Memeli hücrelerinde okside proteinlerin tamir mekanizmaları sınırlı olduğu için hidroliz edilerek ortamdan uzaklaştırılması gereklidir. Oksidatif strese güçlü oksidanlara maruz kalınmasıyla hücrelerdeki proteolitik kapasite yetersiz kalabilir. Bazı durumlarda okside proteinler uygun bir şekilde yıkıma gidemez, diğer yapılarla çapraz bağlar ve geniş hidrofobik bağlar yaparlar. Hasarlı proteinlerin birikimi sonucu hücre normal fonksiyonlarını yerine getiremez ve hücre ölümü ya da nekrozu gerçekleşir.²⁶



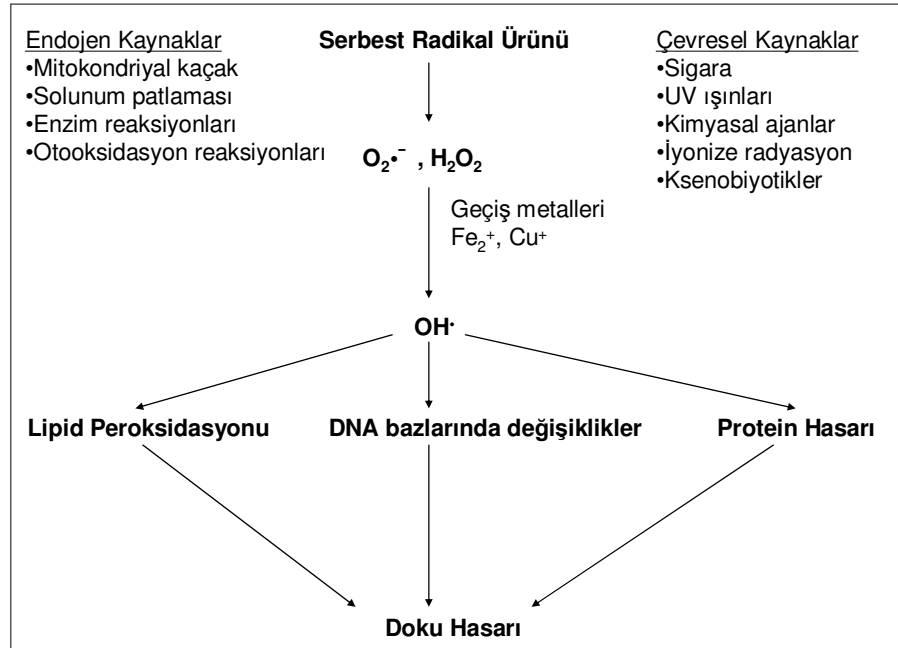
Şekil 1. Serbest radikal hasarının ürünleri. Serbest radikaller DNA, hücre membranları veya protein gibi farklı hücresel makromoleküllerle reaksiyona girebilirler, sonuç olarak pek çok farklı ürün ortaya çıkar.²⁷

2.1.4. Oksidatif Stresi Gösteren Bazı Plazma Parametreleri

Serbest oksijen radikallerinin yol açtığı oksidatif hasar, protein, lipid ve nükleik asit gibi biyomolekülleri etkilediğinden; oksidatif stresin gösterilmesinde, bu biyomoleküllerin oksidatif ürünlerine yönelik testler kullanılmaktadır.²⁸

2.1.4.1. Myeloperoksidaz(MPO)

MPO' nun organizmadaki başlıca fonksiyonu, solunum patlaması sırasında, antimikrobiyal ajanları oluşturmaktır.²⁹ NADPH oksidaz olarak bilinen enzim kompleksi tarafından gerçekleştirilen solunum patlaması sırasında tüketilen oksijenin hepsi, NADPH' dan aktarılan elektronlarla süperoksit radikaline indirgenmekte ve $O_2^{\bullet-}$ nin spontan dismutasyonu ile H_2O_2 oluşmaktadır. Nötrofiller tarafından üretilen H_2O_2 ' nin çoğu, aktif nötrofillerden salınan MPO tarafından tüketilmektedir. MPO, fagozomlarda veya hücre dışında, halidler (Cl^- , I^- , Br^-)'in biriyle, özellikle klor iyonlarıyla, H_2O_2 ' den HOCl oluşturmaktadır.³⁰



Şekil 2. Vücutta Serbest Radikallerin Başlıca Kaynakları ve Serbest Radikal Hasarının Sonuçları.³¹

Organizmada HOCl üretimini katalizleyen tek enzim olan MPO, bir taraftan HOCl üretimiyle mikrobisid aktivite gösterirken, diğer taraftan

enflamasyon alanında doku hasarına da neden olmaktadır. MPO, enzim inaktivasyonu, tirozil rezüdülerinin ve çapraz bağlı proteinlerin oluşumu, amino asit oksidasyonu ve lipidlerin kloridasyonu ile doku hasarına katkıda bulunmaktadır.^{32,33}

2.1.4.2. Total Lipid Hidroperoksit

Hidroperoksitler, doymamış lipidlerin peroksidasyonu sırasında oluşan ilk stabil ürünlerdir.³⁴ Lipid hidroperoksitler, oldukça stabil olmakla beraber; yüksek sıcaklıkta ya da geçiş metal iyonlarına maruz kaldıklarında parçalanabilirler. Lipid hidroperoksitlerin dekompozisyonu, hidrokarbon gazları (etan, pentan) ve aldehitler (Malondialdehit, 4-HNE) gibi sekonder peroksidasyon ürünlerinin kompleks bir karışımını oluşturur.^{35,38}

Lipid peroksidasyonunu yansıtan Malondialdehit(MDA) ölçümü, sıklıkla yapılsa da; MDA' nın yarı ömrünün kısalığı, düşük spesifite ve sensitivitesi olan yöntemlerin kullanılması, sonuçların güvenilirliğini etkilemektedir. Bu nedenle, oksidatif stresin gösterilmesinde, lipid türevleri yerine, protein oksidasyon ürünlerinin kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır.^{28,37}

Malondialdehit' in hücre membranlarının geçirgenliğini arttırdığı, membranların iyon alışverişine etki ederek hücre içi iyon dengesini bozduğu, enzim aktivitelerinin bozulmasına, DNA'nın yapısında kırılmalara ve baz değişimlerine neden olduğu bildirilmektedir. Malondialdehit, en çok linoleik asit, araşidonik asit, dokosahekzaenoik asit gibi ikiden fazla çift bağı olan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşur, fakat bazen eikazonoidlerin enzimatik metabolizması sırasında da ortaya çıkabilir. Malondialdehit, pH değişikliğine

bağlı olarak değişik izoformlarda olabilir. Fizyolojik pH’ da serbest formda bulunan MDA birçok amino grubuna düşük reaktivite gösteren enolat anyonu formuna dönüşür. Düşük pH’ da ise reaktivite artar ve MDA proteinlere atak yapar, özellikle lizin kalıntıları olmak üzere birçok kalıntıda modifikasyonlarla sonuçlanan molekül içi ve moleküller arası çapraz bağlar oluşur.

Malondialdehit, memeli dokularında hızlıca metabolize olur. Aldehid dehidrojenazlar ile malonik semialdehide okside olur, dekarboksilazlar ile asetaldehide, ardından aldehid dehidrojenazlar ile asetata dönüşerek metabolize olur.³⁸

2.1.4.3. Pirrolize Proteinler

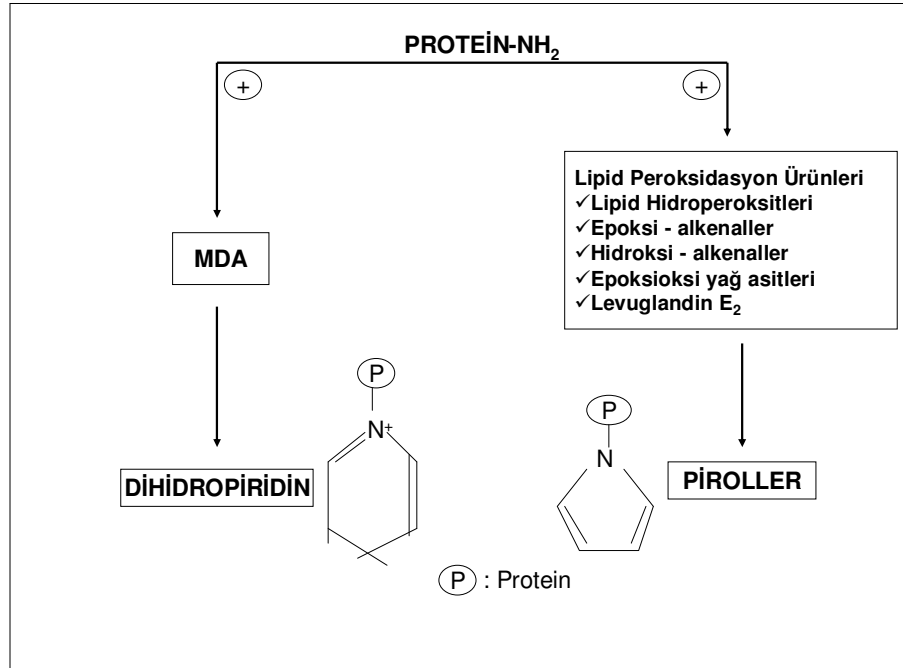
Lipid peroksidasyon ürünlerinden MDA gibi dikarbonilik aldehitler ile 4-HNE, 4-hidroksi-2-alkenal ve 4,5-epoksi-2- alkenal gibi α , β -doymamış aldehitlerin genel özelliği, proteinlerin reaktif gruplarını modifiye ederek, proteinler üzerinde okside lipid/amino asit reaksiyon ürünü (oxidized lipid/amino acid reaction product; OLAARP) olarak adlandırılan bir takım değişikliklere yol açmalarıdır. OLAARP oluşumu, proteinlerin varlığında, lipid peroksidasyonunun nihai sonucu olarak kabul edilmektedir.³⁹

Oksidatif stresi takiben, proteinlerin serbest amino gruplarıyla lipid peroksidasyon ürünlerinin reaksiyonu sonucu, doğal ve yaygın şekilde oluşan pirrolize proteinlerin, hücrelerin veya organizmanın maruz kaldığı stresin gösterilmesinde bir belirteç olarak kullanılabileceği öne sürülmektedir.⁴⁰

2.1.4.4. Protein Karbonil Bileşikleri

Amino asit, karbohidrat ve lipidlerin oksidasyonu ile oluşan ve yapılarında aldehit ya da keton grubu bulunan karbonil türevleri; hep birlikte, reaktif karbonil bileşikleri (reactive carbonyl compounds; RCC) olarak adlandırılırlar.⁴¹

Organizmada RCC tanımına uyan pek çok bileşik vardır. RCC' lere örnek olarak, glukoz ve benzeri şekerler, 3-deoksiglukozon (3-DG), glioksal (GO), metilglioksal (MGO), MDA ve 4-HNE verilebilir.³⁷



Şekil 3. Organizmada Dihidropirin ve Pirrolize Protein Oluşumu.⁴²

Son derece reaktif olan RCC' ler, başta proteinler olmak üzere, fosfolipid ve nükleik asitler gibi biyomoleküllerin fonksiyonel gruplarıyla etkileşerek modifiye yapılar oluşturabilirler. Organizmada RCC oluşum hızı ile RCC yıkım ya da atılım hızı arasındaki dengenin bozulmasına bağlı olarak; RCC seviyelerinin

artması ve RCC' lerin biyomoleküllere yaptığı toksik etkilerin tümü, “karbonil stres” olarak adlandırılmaktadır.³⁷

Oksidatif stresin, proteinleri modifiye ettiği bilinmektedir. Oksidatif stresin yanı sıra karbonil stres de, başka bir ifadeyle, serbest oksijen radikalleri ve RCC' ler, proteinlerle irreversibl ve nonenzimatik olarak etkileşerek, protein karbonil bileşikleri (protein carbonyl compounds; PCC) denilen modifiye protein yapılarını oluştururlar.⁴³

Protein karbonilasyonu, irreversibl bir oksidatif protein modifikasyonu olduğundan, onarılamayan karbonillenmiş proteinler; ya proteolitik olarak yıkılırlar ya da hasarlı modifiye protein yapıları şeklinde, organizmada birikirler.³⁷

Proteinlerdeki karbonil grubunun miktarı ile oksidatif stres kaynaklı protein hasarı arasında çok yüksek bir korelasyon bulunduğu; biyolojik örneklerde PCC düzeylerinin tayini, oksidatif protein hasarının derecesini belirlemede iyi bir gösterge olarak kabul edilmektedir.⁴³

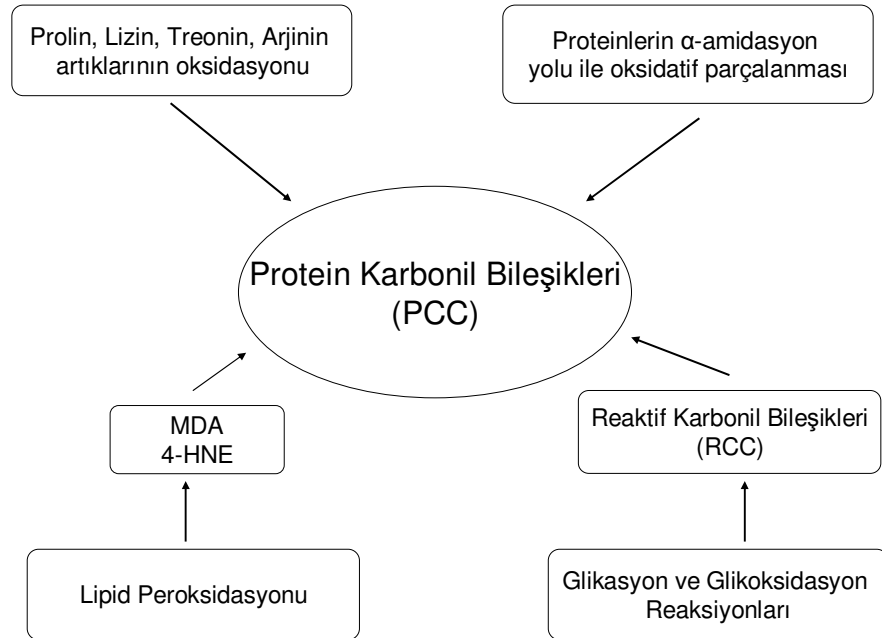
2.1.4.5. Proteinlerin İleri Oksidasyon Ürünleri(AOPP)

Yüksek derecede okside proteinler olarak, ilk kez Witko-Sarsat ve ark. tarafından üremik hastaların plazmasında tanımlanan AOPP; protein oksidasyonunun son çapraz bağlanma ürünleri olarak kabul edilmekte ve bir oksidatif stres parametresi olarak kullanılabileceği öne sürülmektedir.

Kimyasal yapısı halen araştırılmakta olan AOPP' nin, kendi klirensini de önleyebilen yüksek bir molekül ağırlığına sahip olduğu, yüksek oranda disülfid köprüleri ve/veya tirozin çapraz bağlanmalarını içeren albümin agregatlarından oluştuğu, hem saflaştırılmış hem de plazmada bulunan albüminden farklı olduğu,

kromatografik ve elektroforetik tekniklerle gösterilmiş⁴⁵ ve oksidatif modifikasyona uğrayan albüminin son çapraz bağlanma ürünleri, AOPP olarak tanımlanmıştır.⁴⁴

AOPP' nin in vitro şartlarda H_2O_2 ' den çok, HOCl gibi klorlu oksidantlara maruz kalan saf albümin veya plazma örneklerinde oluştuğu belirlendiğinden; in vivo olarak aktif nötrofillerce üretilen klorlu oksidantların plazma AOPP oluşumundan sorumlu olabilecekleri düşünülmektedir. Fagositik hücrelerde oluşturulan HOCl, kloramin ($RNH-Cl$)' leri oluşturmak üzere endojen amin ($R-NH$)' ler ile reaksiyona girmekte ve kloraminlerle okside olan proteinler üzerinde AOPP oluşmaktadır.⁴⁵



Şekil 4. PCC oluşum mekanizmaları.⁴⁶

AOPP' nin 340 nm' de pik veren düşük ve yüksek molekül ağırlığına sahip iki formda bulunduğu ve her ikisinin de albüminden kaynaklandığı bildirilmektedir.⁴⁴ Yüksek molekül ağırlıklı AOPP, disülfid köprüleri ve/veya ditirozin çapraz bağlanmalarla modifiye olmuş albüminden; düşük molekül ağırlıklı AOPP ise monomerik formdaki albüminden kaynaklanmaktadır.⁴⁵ Üremik hastaların plazmasında, AOPP ile nötrofil sayısı ve neopterin düzeyleri arasında bulunan pozitif ilişki; AOPP' nin monosit aktivasyonu ile da oluşabileceğini göstermektedir. Ayrıca, mononükleer fagositleri bizzat aktive eden AOPP' nin proinflatuvar mediatörler gibi davrandıkları da öne sürülmektedir.⁴⁷ Plazma AOPP düzeylerini spektrofotometrik bir yöntemle tayin etmek mümkündür. PCC ile karşılaştırıldığında, çok daha kolay olan AOPP tayininin diğer bir avantajı da, MDA gibi lipid peroksidasyonu son ürünlerinden bağımsız olmasıdır.²⁸

2.1.4.6. Neopterin

Pteridin ailesine mensup olan neopterin; monosit, makrofaj ve dentritik hücrelerde üretilen bir sitokindir.⁴⁸ Neopterin sentezinin en güçlü uyarıcı, T lenfosit ve Naturel Killer hücrelerinden salınan γ -interferondur. Neopterin, bu nedenle hücre aracılığıyla immünitenin sensitif bir göstergesi olarak kabul edilmektedir.^{48,49} Neopterin invaziv patojenlere karşı oluşan serbest oksijen radikallerinin sitotoksik etkilerini artırarak savunmada rol oynadığı; uygun hücre ortamı içinde, hücre ortamı redoks durumunu artırdığı gösterilmiştir. Böylece neopterin, γ - interferonun uyardığı monosit, makrofaj ve muhtemelen monosit

köken alan dentritik hücrelerde, ekstrasellüler sitotoksik savunma mekanizmalarının oluşmasına katkıda bulunmaktadır.⁴⁹

2.1.4.7. İskemik Modifiye Albümin(İMA)

Albuminin N-terminalindeki herhangi bir modifikasyon, örneğin; amino asit delesyonları ya da N-asetilasyon, kobaltın albümine bağlanmasını tamamen önlemektedir.⁵⁰ Son 20 yıl içerisinde in vivo olarak kardiyak iskemi, hipoksi, asidoz, serbest radikal hasarı, oksidatif stres (özellikle protein oksidasyonu) veya Fe/Cu iyonlarına maruz kalma durumlarında, metal bağlama kapasitesinin azaldığı gösterilen albümin, İMA olarak adlandırılmıştır.⁵¹

2.1.4.8. Serbest Tiyol Grupları

Plazmanın başlıca antioksidanları arasında, vitamin E, seruloplazmin, transferin ve tiyol bileşikleri yer almaktadır. İntrasellüler antioksidanlar olarak da rol oynayan tiyol bileşikleri içerisinde en önemlisi, içerdiği sistein nedeniyle, GSH' dir.⁵² Hücrelerden kan dolaşımına salınan GSH' nin büyük kısmı eritrositlerde toplandığından; plazma GSH düzeyleri nispeten düşüktür.⁵³

Tiyol bileşiklerinin selektif olarak HOCl ve kloraminleri yakaladığı bilinmektedir.³⁸ Bu nedenle plazmada HOCl' yi yakalayan en önemli antioksidanın tiyol olduğu söylenebilir. Plazmada, askorbik asit gibi diğer antioksidanlarla karşılaştırıldığında; albüminin içerdiği serbest tiyol grupları nedeniyle, HOCl' ye karşı yaklaşık 10 kat daha büyük antioksidan kapasiteye sahip olduğu gösterilmiştir.⁵⁴

Serbest tiyol grubu içeren bileşikler, radikallerle direkt veya indirekt reaksiyona girerek ya da protein üzerindeki serbest tiyol gruplarıyla reversibl

bağlar oluşturarak, proteinlerin oksidatif hasara uğramalarını önleyebilmektedirler.⁵⁵

Plazmada total peroksil radikal yakalama sürecinde ilk olarak tiyoller tüketildiğinden,⁵⁶ plazma tiyol düzeylerinin tayini, proteinlerin serbest oksijen radikali aracılı oksidasyondan ne denli etkilendiklerini göstermesi bakımından önem taşımaktadır.⁵⁵

2.1.5. Antioksidan Sistem

Antioksidanlar genel olarak endojen ve ekzojen antioksidanlar olmak üzere iki grupta incelenir. Mekanizmalarına göre ise antioksidanlar; reaktif oksijen türlerinin oluşumunu inhibe edenler, direkt olarak serbest radikal süpürücü etki gösterenler ve endojen antioksidan savunmayı artırarak etki gösterenler olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır.^{57,58}

Antioksidan sistemde öncelikle enzim sistemleri etkilidir. Bunlardan en önemlileri süperoksit dismutaz, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz, katalaz gibi enzimlerdir.⁸

Antioksidan enzimler genellikle hücre içi ortamda, serbest radikal türlerinin bozulmasını katalizler. Geçiş metal bağlayan proteinler, demir ve bakır gibi geçiş metallerinin yüksek reaktif $\cdot\text{OH}$ radikali üreten H_2O_2 ve $\text{O}_2^{\cdot-}$ ile etkileşimini önlerler. Zincir kıran antioksidanlar önemli hedef moleküller hasara uğramadan önce güçlü elektron vericileri ve serbest radikaller ile reaksiyona girerler. Bunu yaparken antioksidan okside olduğundan tekrar rejenere edilmesi veya yerine konması gerekmektedir(Şekil 5).³¹

2.1.5.1. Enzimatik Antioksidanlar

2.1.5.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Organizmada serbest radikallere karşı ilk savunma süperoksit dismutaz enzimiyle gerçekleşir. Süperoksit dismutaz süperoksit radikallerinin hidrojen perokside dismutasyonunu katalizleyen enzim grubudur. Süperoksit genel olarak, zincirleme radikalik tepkimeleri başlatır ve tepkimeler boyunca hidroksil radikali, $^1\text{O}_2$ ve organik radikallerin oluşumuna neden olur. Radikalik zincir tepkimelerinin başlaması ve tepkimeler boyunca $\text{O}_2^{\cdot-}$ ’ den çok daha reaktif ve toksik etkili radikallerin yapımı SOD tarafından engellenir. SOD, CAT ve GSH-Px’ den farklı olarak serbest radikali substrat olarak kullanır.^{59,60}

Süperoksit dismutaz ile katalizlenen tepkimenin ürünü olan H_2O_2 ise CAT ile H_2O ’ ya indirgenmektedir.⁶⁰

2.1.5.1.2. Glutasyon Redüktaz (GSH-Redüktaz)

Antioksidan savunmanın etkinliğini sürdürebilmesi için oksitlenmiş glutasyonun (GSSG) tekrar indirgenmiş olan glutatyona (GSH) dönüşmesi gerekir. Glutasyon redüktaz, NADPH varlığında indirgenme reaksiyonunu katalizler. Redükte glutasyonun yüksek konsantrasyonları ve okside glutasyonun düşük düzeyleri organizmanın yaşamı için gereklidir. Glutasyon redüktaz sitozol ve mitokondride lokalizedir.⁶¹

2.1.5.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidaz, H_2O_2 ve lipid peroksitlerin glutasyon tarafından indirgenmesini katalizleyen enzimdir. Selenyum bağımlı ve bağımsız olmak üzere iki tipi vardır. Selenyum bağımlı olan GSH-Px hem H_2O_2 ’ yi hem de lipid

hidroperoksitlerini (LOOH) metabolize ettiği halde, selenyumdan bağımsız GSPH-Px ise yalnızca LOOH' lerini metabolize edebilmektedir.⁶¹

Tablo 3. Antioksidanların sınıflandırılması

ENDOJEN ANTİOKSİDANLAR	
I. ENZİMLER	II. ENZİM OLMAYANLAR
✓ Süperoksit dismutaz (SOD) ✓ Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) ✓ Glutasyon redüktaz (GSSG-R) ✓ Glukoz 6-P dehidrogenaz (G6PD) ✓ Katalaz (CAT) ✓ Seruloplazmin ✓ Glutasyon-S-transferaz ✓ Tioredoksin redüktaz (TR)	✓ Lipid fazda çözünenler: α-tokoferol, β-karoten ✓ Sıvı faz (sitozol, kan plazması) da çözünenler: • Askorbik asit • Albümin • Glutasyon (GSH) • Hemoglobin • Ürat • Miyogloblin • Sistein • Transferrin • Bilirubin • Laktoferrin • Ferritin • Lipoik asit • Bazı metal iyonları (Mg²⁺, Mn²⁺, Zn²⁺) • Seruloplazmin
EKZOJEN ANTİOKSİDANLAR	
✓ Demir redoks döngüsünün inhibitörleri ✓ N-Asetilsistein (NAC) ✓ Rekombinant antioksidan enzimler (r-SOD) ✓ Melatonin (MEL) ✓ Ksantin oksidaz inhibitörleri ✓ Demir şelatörleri (Desferroksamin) ✓ NADPH-oksidaz inhibitörleri ✓ Barbitüratlar ✓ NOS inhibitörleri ✓ Lokal anestezikler	

2.1.5.1.4. Katalaz (CAT)

Hidrojen peroksitin O₂ ve H₂O' ya indirgenmesini katalizler.⁶²

2.1.5.2. Enzimatik olmayan Antioksidanlar

2.1.5.2.1. C Vitamini (Askorbik Asit)

C vitamini hücre dışı sıvıların en önemli antioksidanıdır. Güçlü bir indirgeyici ajan ve antioksidan olup, $^1\text{O}_2$, $\text{O}_2^{\bullet-}$ ve $\bullet\text{OH}$ radikalleri ile reaksiyona girerek onları etkisizleştirir. Membran içindeki ve ekstraselüler dokulardaki lipid peroksidasyonunu önler.⁶³

2.1.5.2.2. E Vitamini (α -tokoferol)

E vitamini zarlarda bulunan fosfolipitlerin yapısındaki doymamış yağ asitlerini serbest radikallerin etkisinden korur. Aynı zamanda $^1\text{O}_2$ ' nin kuvvetli bir tutucusudur. Ayrıca $\bullet\text{OH}$ radikali, $\text{O}_2^{\bullet-}$ radikali ve lipid peroksit radikalleri ile direkt olarak reaksiyona girebilir.⁸

2.1.5.2.3. β -karoten

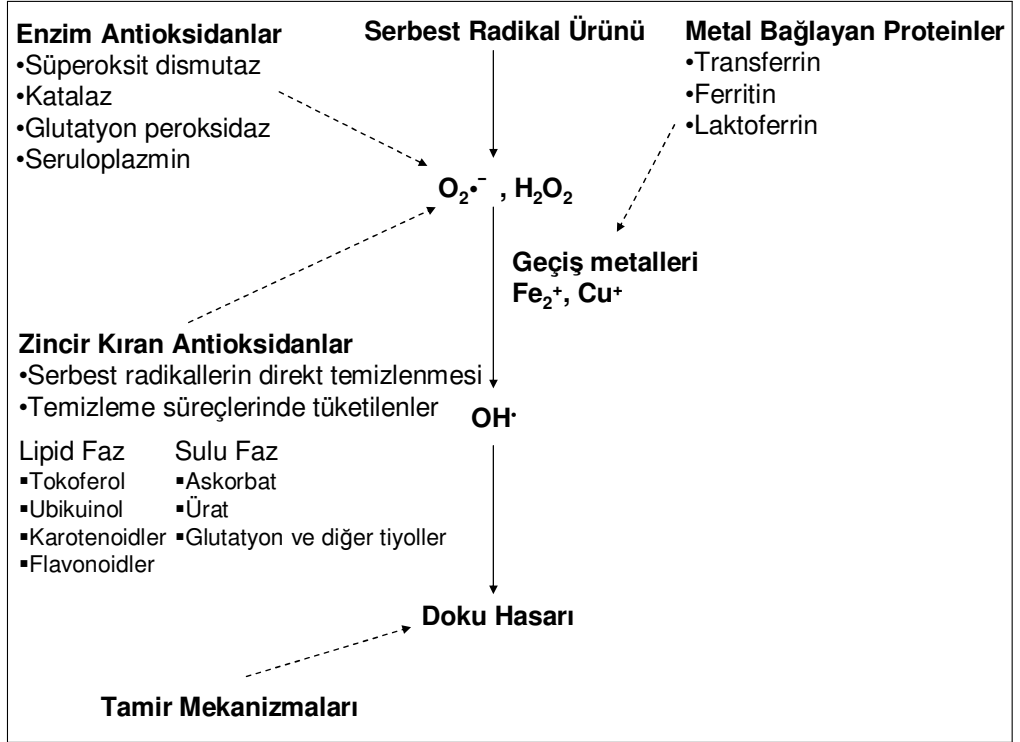
Biyolojik antioksidanlar arasında en etkili $^1\text{O}_2$ tutucudur.⁶⁴

2.1.5.2.4. Melatonin

Direkt olarak radikal temizleyici, indirekt olarak da antioksidan enzim düzeylerini artırıcı etkisi vardır. Prooksidatif enzimleri (nitrik oksit sentetaz) baskılayarak antioksidan etki gösteren bir hormondur. En zararlı radikal olan $\bullet\text{OH}$ radikalini ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır.⁸

2.1.5.2.5. Glutatyon (GSH)

Glutatyon, proteinlerdeki -SH gruplarını redükte halde tutarak bu grupların oksidasyona karşı korunmasını sağlar. Antioksidan olarak önemli bir yer tutan GSH, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasardan korur.⁸



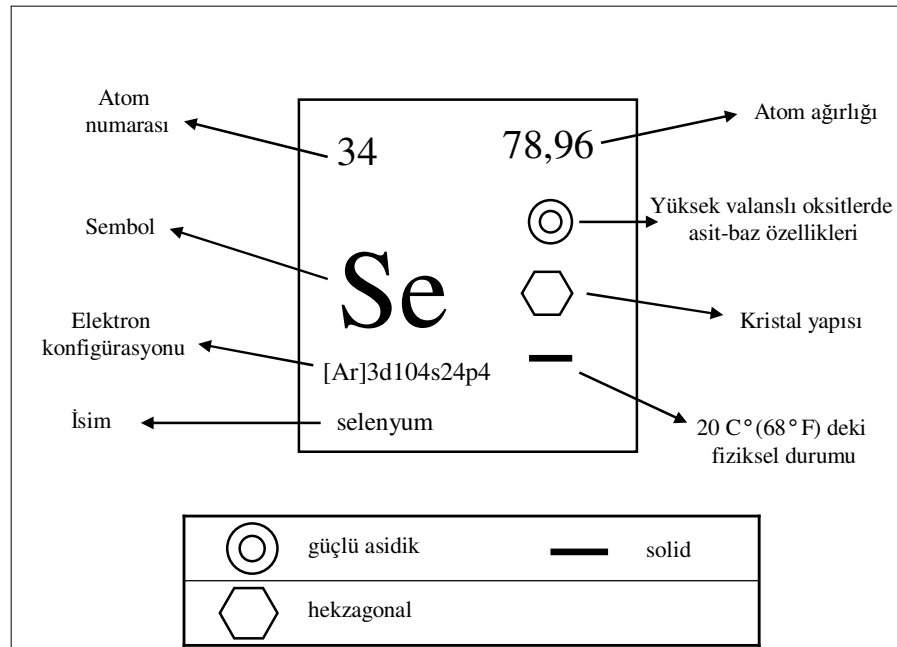
Şekil 5. Serbest radikal atağına karşı antioksidan savunmalar.³¹

2.2. Selenyum

Selenyum 1817 yılında İsveçli kimyacı Berzelius tarafından bulunmuştur ancak Schwarz ve Foltz selenyum eksikliğinin nekrotik karaciğer dejenerasyonuna sebep olduğunu gösterdiği 1957 yılına kadar biyolojik rolü bilinmemektedir. Fakat fizyolojik etkilerinin ilk olarak anlaşılması 1973 yılında selenyumun memeli enzimlerinden olan glutatyon peroksidazın yapısında bulunmasıyla olmuştur.⁶⁵

2.2.1. Kimyasal Özellikleri

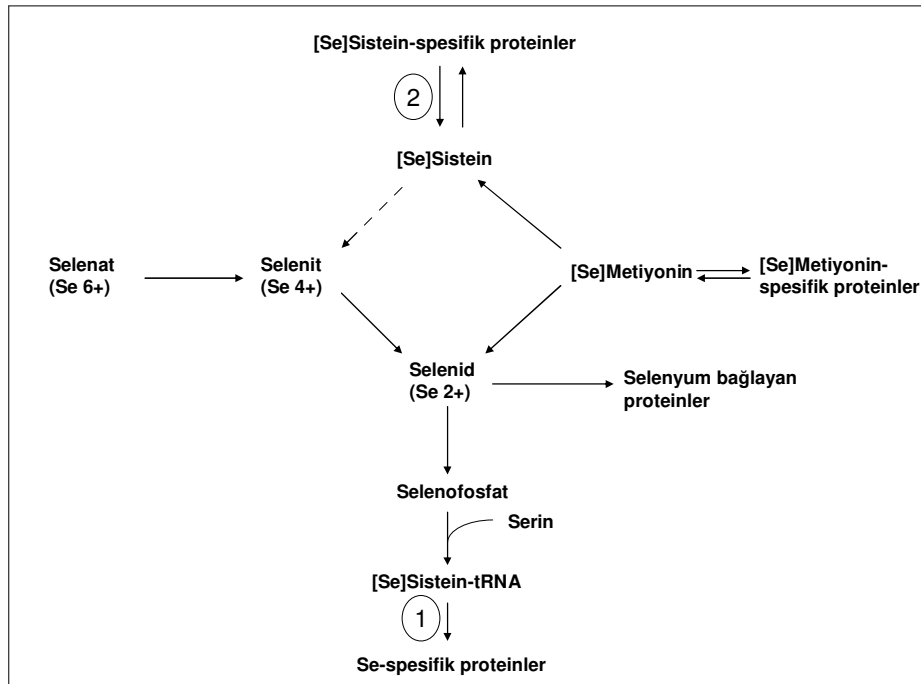
Periyodik tabloda Sülfür ailesi elementlerinin bulunduğu Grup VI-A' da yer alan, erime noktası 221°C (494K), kaynama noktası 685°C (958K) olan bir ametaldir.⁶⁶



Şekil 6. Selenyumun kimyasal özellikleri. (www.britannica.com)

2.2.2. Diyet Kaynakları

Selenyum bileşikleri özellikle selenate, selenite, selenosistein ve selenometionin olarak vücuda alınırlar. Besinlerle alınan selenosistein haricindeki bu selenyum bileşikleri öncelikle selenofosfata daha sonra da selenosisteine dönüştürülerek selenoproteinlerin yapısına dahil olurlar.



Şekil 7. Selenyumun metabolik yolağı.1.yol $tRNA^{Sec}$ aracılığı ile selenosistein eklemek için kullanılırken, 2.yol da selenosistein eklemek için $tRNA^{Cys}$ kullanılır.

Selenyum vücuda en sık olarak selenometionin şeklinde ve bitkisel gıdalarla alınır. Selenometionin insanlarda ve hayvanlarda sentezlenmez. Bitkilerdeki miktarı ise yetiştikleri toprağın özelliklerine bağlıdır. Volkanik topraklarda (Çin, Yeni Zelanda) çok az miktarda selenyum bulunur. Asitli topraklarda ise demir ve alüminyum ile değişik bileşikler oluşturduğundan gastrointestinal sistemden emilimi azalır.⁶⁶

2.2.3. Absorbsiyon, Metabolizma ve Atılım

Selenyum bileşikleri esas olarak gastrointestinal sistemden absorbe edilir. Bir çalışmada mide tüpü ile ratların midesine direkt olarak verilen işaretli Selenyum75' in %95' inin absorbe olduğu tespit edilmiştir.⁶⁷

Tablo 4. Avrupa ülkelerinde çeşitli gıda maddelerindeki ortalama selenyum konsantrasyonları.⁶⁸

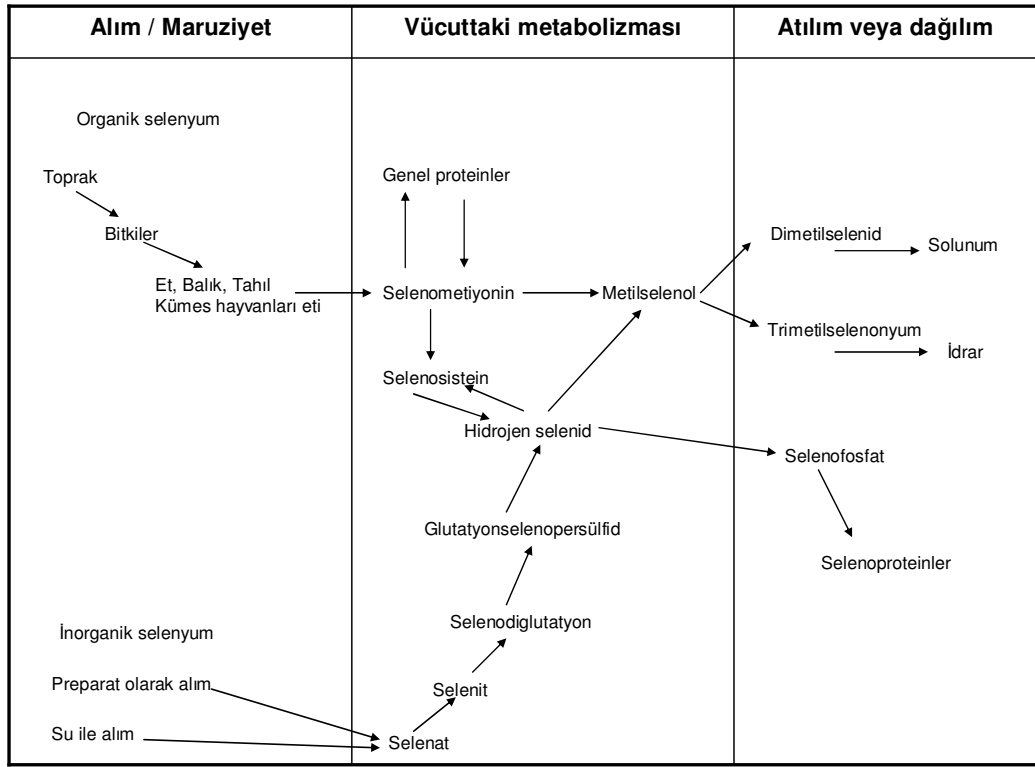
GIDA MADDESİ	ORTALAMA SELENYUM KONSANTRASYONU µg/100 g
SÜT	1.5
SIĞIR ETİ	7.6
DOMUZ ETİ	14
KARACİĞER	42
BÖBREK	145
BALIK	16
MEYVE	1
SEBZE	2
TAHİL	11
EKMEK	4.5
BREZİLYA FINDIĞI	254

Günümüzde selenite ve selenate diyet desteği olarak besinlere eklenmekte olup emilimleri de neredeyse %100 oranında olmaktadır.

Total vücut selenyum miktarı; 3 mg (Yeni Zelanda) - 14,6 mg (ABD) arasındadır. En fazla miktarda kas dokusunda bulunmakla birlikte, özellikle böbrek ve karaciğerde de bol miktarda bulunmaktadır.⁶⁷

İdrar ana atılım mekanizmasıdır ve diyetle alınan miktarla, atılan miktar direkt olarak etkilenir. İdrarla atılım aralığı çok geniş olup 20-1000 µg/L' dir ve

bu miktar coğrafik bölgelere göre değişmektedir.⁶⁶ Özellikle inorganik ve organik bileşiklerle alınan selenyumun büyük kısmı idrarla atılmaktadır. Doğal besinlerle alınan selenyum ise gastrointestinal sistem ve idrarla eşit oranlarda atılmaktadır. Yüksek miktarlarda selenyum alımı sonrasında akciğerlerden solunum yoluyla da atılımı olmaktadır.



Şekil 8. Selenyum kaynakları, metabolizması, dağılımı ve atılımı.⁶⁹

2.2.4. Transport

Total plazma selenyumunun; %50-60' ı selenoprotein P, %30' u glutatyon peroksidaz, geri kalanı ise albümin ve hemoglobin yapısında selenometiyonin şeklindedir.⁶⁶

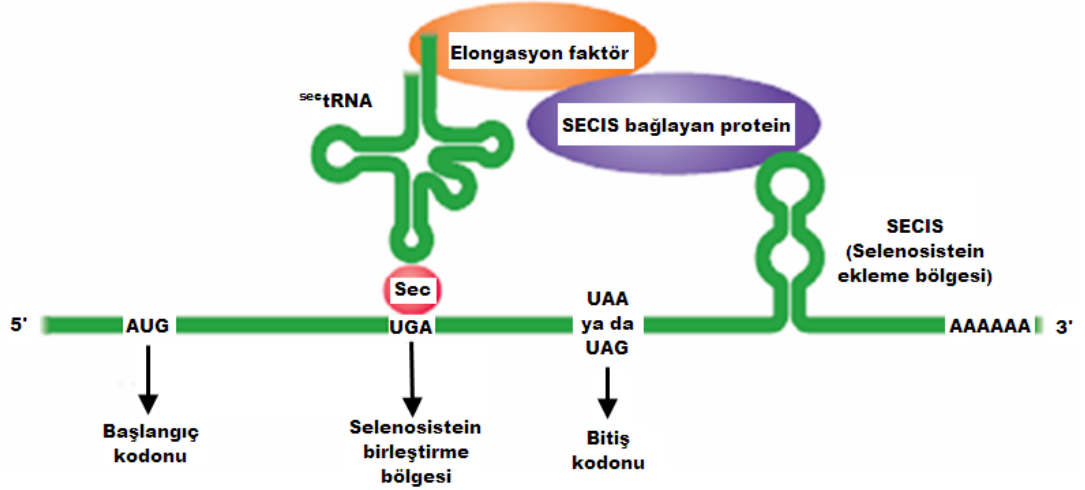
2.2.5. Selenoproteinlerin Biyosentezi

Selenyum canlılarda etkisini selenoproteinler üzerinden göstermektedir. Ana biyolojik formu selenosisteindir ve bunun sentezi de serin aminoasidinin tRNA' ya bağlanmasıyla başlamaktadır. Selenosistein, sisteine birebir benzemektedir fakat yapısında sülfür yerine selenyum atomu vardır ve fizyolojik pH' da iyonize halde bulunur. Yapılan birçok çalışmada selenosisteinin yerine sistein' in geçmesi enzim aktivitesini dramatik bir şekilde azaltmaktadır. Bu da iyonize selenyum atomunun kritik bir rolü olduğunu destekleyen bir durumdur.

Selenoproteinler primer yapılarında bir veya daha fazla selenosistein rezidüleri bulundurlar. Günümüzde edinilen bilgilere göre Selenoprotein P hariç tüm selenoproteinler redoks reaksiyonlarında yer alırlar, enzimlerin katalitik bölgelerinde bulunurlar ve enzimatik aktivite gösterirler. Selenoproteinlerin genel anlamda benzer birçok işlevleri olmasına rağmen amino asit dizilimleri, enzimatik aktivitelerinin doku dağılımları ve diğer moleküllerle etkileşimleri çok çeşitlilik göstermektedir. Antioksidan korunmada, fertilitede, kas gelişmesi ve fonksiyonlarında, tiroid hormon metabolizmasında ve immün fonksiyonlarda görev alırlar.⁶⁵

Selenosisteinin ilginç ve benzersiz bir yol ile protein yapısına girmesi onun 21. amino asit olarak adlandırılmasına neden olmuştur. Normalde bir sonlanma kodonu olan UGA aynı zamanda selenosisteinin de kodonudur. UGA' nın sonlanma değil de selenosistein olarak okunması için mRNA' nın 3' uzun ucunda SECIS(Selenosistein Ekleme Bölümü) bağlayan protein ve selenosisteine spesifik

Elongasyon Faktör(EF) bulunmalıdır. Bu durumda UGA protein yapıya selenosisteini eklemektedir.⁶⁵



Şekil 9. Selenoproteinlerin yapısına selenosisteinin dahil edilmesi için gerekli cis ve trans-etkili elemanların şematik gösterimi.

Kryukov ve ark., SECIS elemanlarının ikincil yapılarını kullanarak insan genomunda UGA kodonu içeren dizilimlerin 3' uçlarında potansiyel SECIS elemanlarını aratmışlardır. Bu yolla önceden bilinen selenoproteinleri bulmuşlar ayrıca 7 adet de yeni selenoprotein keşfetmişlerdir. Sonuç olarak selenoproteinlerin sayısını 25' e çıkartmışlardır.⁶⁵

2.2.6. Selenoproteinler ve Fonksiyonları

Selenoproteinler

- Glutasyon Peroksidaz Ailesi
- İyodotronin Deiyodinaz Ailesi
- Tiyoredoksin Redüktaz Ailesi
- Selenofosfat Sentetaz
- Selenoprotein P
- Selenoprotein W
- Selenoprotein S
- Selenoprotein N
- Selenoprotein 15kda
- Selenoprotein K

2.2.6.1. Glutasyon Peroksidaz Ailesi(GSH-Px)

GSH-Px ailesi yapısal olarak birbirine benzeyen ve altı üyesi olan bir ailedir. Genel olarak hücre ve dokulara zarar verebilen peroksitlerin redüksiyonunu katalize etmektedirler.

Selenyum GSH-Px' lerin yapısında bulunduğundan vitamin E, Fe, Zn ve Cu ile ilişki içinde olan bir antioksidan olarak kabul edilmektedir. Bu antioksidanlar serbest radikal oluşumunu önleyerek dokuların oksidatif hasara karşı korunmasını sağlarlar.⁷⁰

GSH-Px ailesi üyeleri;

a-Hücrese/Klasik GSH-Px (GSH-Px-1)

Hemen bütün hücrelerde ve sitozolde bulunur.^{65,70} Hidrojen peroksiti ve serbest organik peroksitleri sırasıyla su ve alkollere indirger. Başka amaçlar için kullanılacak selenyum için depo görevi vardır. Bu enzim aktivitesinin ölçümü selenyumun nutrisyonel durumunun belirlenmesinde fonksiyonel indeks olarak kullanılmaktadır. Selenyum eksikliğinde enzim aktivitesi azalır.⁷⁰

b-Gastrointestinal GSH-Px (GSH-Px-2)

Sitozolde bulunur.⁶⁵ Gastrointestinal sistemde majör glutasyon bağımlı peroksidaz olup canlıların, lipid hidroperoksitlerin toksisitesinden korunmasında önemli bir rol oynamaktadır.

Sıçanlarda selenyum eksikliğinde gastrointestinal sistem mukozasındaki GSH-Px aktivitesinin azaldığı gösterilmiş olsa da, selenyum eksikliğinin spesifik bir insan gastrointestinal glutasyon peroksidaz aktivitesini etkilediği rapor edilmemiştir.⁷⁰

c-Ekstrasellüler/Plazma GSH-Px (GSH-Px-3)

Bu enzim 1987’de insan plazmasından izole edilmiş olan bir glikoproteindir.

Aynı zamanda insan sütünde de bulunduğu ve primer olarak böbrek proksimal tübül hücrelerinde sentezlendiği tespit edilmiştir.

Selenyum eksikliğinde aktivitesi azalmakta; yeterli düzeyde selenyum alındığında ise aktivitesi belirli bir düzeyi korumaktadır. Bu nedenle bu enzim aktivitesinin ölçümü de selenyumun nutrisyonel durumunun belirlenmesinde fonksiyonel indeks olarak kullanılabilir.⁷⁰

d-Fosfolipid Hidroperoksit GSH-Px (GSH-Px-4)

Beyin ve testis gibi çok çeşitli dokularda, sitozol ve membranda bulunur.⁶⁵ Bu enzim, fosfolipidlere esterifiye olmuş yağ asidi hidroperoksitlerini indirgemektedir. Ayrıca bu enzimin, membranlar ve LDL’deki kolesterol ve kolesterol ester hidroperoksidlerini de indirgediği bulunmuştur. Sonuç olarak bu enzimin primer rolü, lipid peroksidasyonuna karşı korunma da görev almaktır.

Okside LDL’ nin arter duvarlarındaki endotel hücreleri ve makrofajlar tarafından alınması aterosklerozun ilk basamağını oluşturduğundan, koroner arter hastalığının önlenmesinde GSH-Px-4 önemli bir rol oynamaktadır.

GSH-Px-4’nin sperm mitokondriyal kapsülünde bulunan selenoprotein olduğu kabul edilmektedir.

Diğer GSH-Px’ larla karşılaştırıldığında daha düşük düzeyde selenyum, maksimum GSH-Px-4 aktivitesi için yeterli olduğundan, bu enzim aktivitesi selenyum durumunun belirlenmesinde kullanılmamaktadır.⁷⁰

e-GSH-Px-5

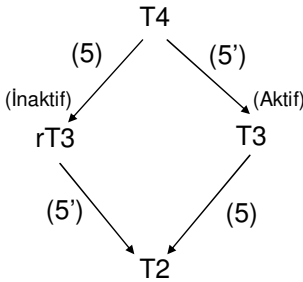
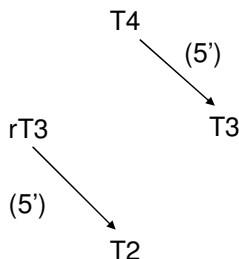
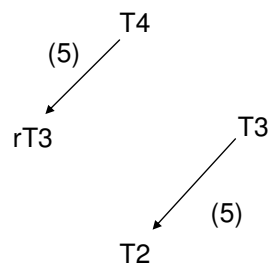
Bu enzim selenyum içermemektedir.⁷¹

2.2.6.2. İyodotironin Deiyodinaz

Bu selenoproteinler tiroid hormon biyosentezinde yer alan integral membran proteinleridir. Her üçü de katalitik bölgelerinde selenosistein rezidüsü bulundurmaktadır.⁶⁵

Selenyum eksikliği durumlarında T₃ ve T₄'ün miktarlarında %15-20 oranında azalma görülmektedir.⁷⁰ Bu enzimler tiroid hormon metabolizmasında önemli rollere sahip olmalarına rağmen bunlarla ilgili bugüne kadar hiç mutasyon saptanmamıştır.⁶⁵

Tablo 5. İyodotironinlerin özellikleri. D1 için 5-deiyodinizasyonda T₃ sülfat da bir substrattır. (R: rat dokusu; H: insan dokusu).⁷²

D1	D2	D3
		
Doku Lokasyonu Karaciğer Böbrek Tiroid Pituiter bez Santral Sinir Sistemi (R)	Doku Lokasyonu Tiroid (H) Kalp (H) Beyin (H) Spinal kord (H) Kahverengi yağ dokusu Plasenta Pituiter bez	Doku Lokasyonu Santral Sinir Sistemi Deri Plasenta Fetal karaciğer (H)
Hücresel Lokasyon Plazma membranı	Hücresel Lokasyon Endoplazmik retikulum	Hücresel Lokasyon Plazma membranı

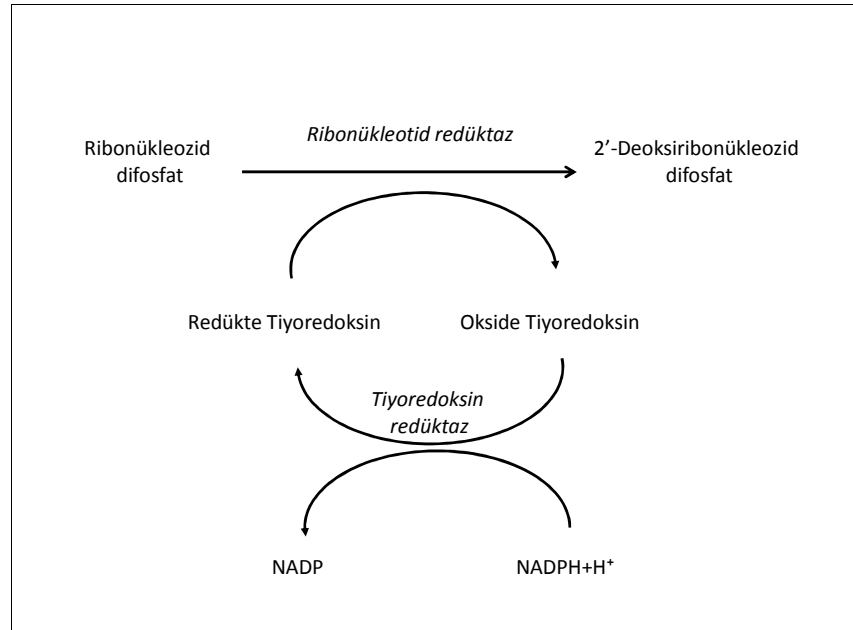
2.2.6.3. Tiyoredoksin Redüktaz (TrxR)

Tiyoredoksin redüktaz, 1996 yılında insan T hücrelerinden izole edilen⁷⁰ NADPH bağımlı bir flavoenzimdir. Üç üyesi olan bir ailedir;

TrxR-1; vücutta çok çeşitli dokularda ve hem sitozol hem de mitokondride bulunmaktadır. TrxR-2; karaciğer, böbrek ve kalpte bulunur. Sitozolde yerleşmiştir. TrxR-3; testislerde bulunur, sitozolde yerleşmiştir.⁶⁵

DNA sentezi için gerekli olan deoksiribonükleotidlerin sentezinde görev alan ribonükleotid redüktaz enzimine indirgenmiş tiyoredoksin sağlar.

TrxR' ın katalizlediği ve sonuçta indirgenmiş tiyoredoksin elde edilen reaksiyonda indirgen güç olarak NADPH+H kullanılır. TrxR' lerin selenogrupları serbest oksijen radikalleri varlığında antioksidan ürün oluşturan genlerin transkripsiyonunu artırmaktadır. Bu özellikleri nedeniyle TrxR' lerin kanser gelişimi üzerine koruyucu etkisi olduğu kabul edilmektedir.



Şekil 10. Tiyoredoksin redüktaz

2.2.6.4. Selenofosfat Sentetaz (SPS)

Çok çeşitli dokularda ve sitozolde bulunur.⁶⁵ Selenosisteinin selenoprotein yapısına katılması spesifik bir genetik kod tarafından belirlenmekte ve SPS' da dahil olmak üzere birçok bileşiğe ihtiyaç duymaktadır.

İnsanlarda enzimin iki tipi tanımlanmış olmakla birlikte sadece SPS-2 selenoproteindir.

Selenofosfat sentetaz özel olarak monoselenyum fosfat oluşumunu katalizlemekte ve bu bileşik de biyolojik reaksiyonlarda selenyum donörü olarak görev almaktadır.⁷⁰

2.2.6.5. Selenoprotein P

Bu protein yapısında 10 adet selenosistein rezidüsü bulundurması nedeniyle diğer selenoproteinlerden farklıdır. Sekrete edilen bir proteindir. Selenyumun beyine transportunda görev alır.⁶⁵

2.2.6.6. Selenoprotein W

İskelet ve kalp kasında, sitozolde bulunur.⁶⁵ Selenoprotein W adlandırması, bu enzimin beyaz kas hastalığı ile olası ilişkisi üzerinden olmuştur. Beyaz kas hastalığı, çiftlik hayvanlarında görülen iskelet kaslarının kalsifikasyonu ile karakterize selenyum tedavisiyle hafifleyen metabolik bir hastalıktır.

Selenoprotein W, 20 yıldan fazla bir zaman önce tahmin edilmesine rağmen, ancak 1990 yılında sıçan kasından pürifiye edilebilmiş ve cDNA' sını klonlanmıştır.⁷⁰

2.2.6.7. Selenoprotein S

Bu protein endoplazmik retikulumun membranında bulunur. İşlevi; hatalı katlanan proteinlerin endoplazmik retikulum’ dan sitoplazmaya çıkartılması ve burada ubiquitin ile etkileşerek yıkılmasını sağlamaktır.⁶⁵

2.2.6.8. Selenoprotein N

Bu protein endoplazmik retikulum membranında bulunur. Diğer proteinlerin maturasyonunda ve kas gelişiminde rol aldığı düşünülür.

İnsan genetik hastalıklarında ilk saptanan selenoprotein mutasyonu Selenoprotein N’ ye aittir. Bu mutasyon” Selenoprotein N ilişkili Myopatiler ” olarak adlandırılan, erken proksimal kas güçsüzlüğü, skolyoz ve ciddi solunum yetmezliği ile giden bir grup kas hastalığına yol açar.⁶⁵

2.2.6.9. Selenoprotein 15kDa

Prostat, tiroid ve paratiroid bezinde bulunur. Endoplazmik retikulum selenoproteinidir ve disülfid bağı formasyonlarında ve protein katlanmalarında rol oynamaktadır. Tümör supresyonunda görev aldığı düşünülmektedir.⁶⁵

2.2.6.10. Selenoprotein K

94 amino asitten oluşan bir proteindir. Özellikle kalp ve iskelet kasında olmak üzere pankreas, karaciğer gibi dokularda da bulunmaktadır. Endoplazmik retikulum’ da ve plazma membranında lokalizedir.

Selenoprotein K overekspresyonu intrasellüler ROT düzeylerini azaltır ve kalp kası hücrelerini oksidan strese karşı koruyarak antioksidan olarak görev yapar.⁷³

2.2.7. Selenyum Eksikliği ile İlişkili Bazı Klinik Durumlar

2.2.7.1. Kanser

Birçok epidemiyolojik çalışma, selenyum alımı ile kanser oluşumu arasında ters ilişki olduğunu göstermiştir. Fakat hala moleküler mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır. Selenoproteinlerin, antioksidan olduklarından DNA' yı oksidan hasara karşı koruyarak kanser oluşumunu önledikleri düşünülmektedir.⁶⁵

1996' da yapılan bir çalışmada 200 µg/gün selenyum desteği verilmesinin prostat kanserini %60 oranında azalttığı gösterilmiştir.⁷⁴

2.2.7.2. AIDS

HIV' in inaktif proviral durumdan aktif forma dönüşmesi reaktif oksijen radikalleri yardımıyla olmaktadır. Selenoproteinler antioksidan olduklarından bunların aktivitelerinin artırılmasının HIV enfeksiyonunun progresyonunu yavaşlatacağı düşünülmektedir.

Son dönemde yapılan çalışmalarda, enfeksiyonun başlangıcında, GSH-Px-1'in HIV ile enfekte hücrelerin apoptoza gitmesine engel olarak enfeksiyonun yayılmasına katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak selenyumun HIV enfeksiyonlulardaki etkisi viral sıklusa göre değişmektedir.⁶⁵

2.2.7.3. Hepatit / Karaciğer Hastalığı

Selenyum düzeyleri siroz ve hepatit gibi karaciğer hastalığı olanlarda ciddi olarak düşük olarak tespit edilmiştir. Sirozlu(n=12) ve hepatitli hastalar(n=28) karşılaştırıldığında ise karaciğer fonksiyonlarındaki azalma nedeniyle sirozlularda selenyum düzeyleri daha düşük olarak saptanmıştır.⁷⁴

2.2.7.4. Romatoid Artrit (RA)

Romatoid Artrit aktive fagosit ve lökositlerin migrasyonu ile karakterize belirgin selenyum eksikliği görülen inflamatuvar bir hastalıktır. Romatoid artritli hastalara, 200 µg/gün selenyum 3 ay süreyle verildiğinde, hastalarda ağrılı eklem tutulumunun azaldığı gözlenmiştir.⁷⁴

2.2.7.5. Kardiyomiyopati (KMP)

Selenyumun besinsel eksikliğinde Keshan hastalığı adı verilen bir dilate kardiyomiyopati şekli gözlenir. Keshan hastalığı ilk olarak Çin' in bazı bölgelerinde keşfedilmiştir. Hastalığa rastlanılan bölgelerin topraklarında yapılan çalışmalarda selenyum konsantrasyonu düşük olarak saptanmıştır. Bu bölgelerde yaşayanların sofraya selenyum eklenmesi hastalık insidansında azalmaya yol açmıştır.

Keshan hastalarının kan ve dokularında *Coxsackievirus* izole edilmiştir ve bu virüsün kardiyomiyopati gelişiminde kofaktör olduğu kabul edilmektedir. *Coxsackievirus*' un belli suşları ile enfekte edilen farelerde Keshan hastalığına benzer kalp hastalığı gözlenmiştir. Selenyum eksikliğinin ve buna bağlı GSH-Px-1 aktivitesinin azalmasının viral RNA genom mutasyonlarını artırdığı, benign virüslerin malign formlara dönüşmesine neden olduğu ve sonuçta kardiyomiyopati geliştiği düşünülmektedir.⁶⁵

Çin' de yapılan bir çalışma, selenyum desteğinin Keshan hastalarında sadece morbidite ve mortaliteyi azaltmakla kalmayıp, kardiyak hasarı da azalttığını göstermiştir.⁷⁴

2.2.7.6. Astım

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı ve özellikle astımlı erişkinlerde kan selenyum düzeyleri düşük olarak ölçülmektedir. Popülasyon bazlı bir çalışmada yüksek düzeyde selenyum alan erişkinlerde astım sıklığının daha az olduğu gösterilmiştir. Yüksek selenyum düzeylerinin GSH-Px düzeylerini artırarak oksidan ürünlerin düzeylerini azaltması sonucunda, astımda inflamasyonu baskıladığı görülmüştür.

ISAAC (The International Study of Asthma and Allergies in Childhood) selenyumdan zengin gıdaların çocuklarda astıma karşı koruyucu olduğunu kanıtlamıştır. Kortikosteroid bağımlı astmatiklerin kullanıldığı bir çalışmada 200 µg/gün selenyum kullanımının inhale ve sistemik kortikosteroid kullanımını azalttığı gösterilmiştir.⁷⁴

2.2.7.7. Myotonik Distrofi

Bu hastalığın patogenezinde lipid peroksidazlar ve serbest radikallerin düzeylerindeki artışın önemli rol oynadığı bilinmektedir. Myotonik distrofi hastalarıyla yapılan bir çalışmada serum selenyum düzeylerinin azalmış olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan birkaç çalışmada selenyum desteğinin myotoni üzerinde olumlu etkileri olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmalardan birinde 1,6-4 mg/gün selenyum ile 600-800 mg vitamin E kombine kullanıldığında yürümede, yürüme hızında ve elin kavrama gücünde düzelme tespit edilmiştir.⁷⁴

2.2.7.8. Erkek İnfertilitesi

Bütün selenoproteinlerin enzimatik aktivitesi vardır fakat GSH-Px-4' ün enzimatik aktivitesine ek olarak yapısal rolü de bulunmaktadır. Spermatidlerde GSH-Px-4 çözülmüş haldedir ve peroksidaz aktivitesine sahiptir fakat matür spermatozoada çözünmemiş haldedir ve enzimatik olarak inaktiftir. İnsoluble haldeki bu form, spermatozoanın orta kısmındaki mitokondrinin helikoid formunda bulunmasını stabilize eder. Bu nedenle GSH-Px-4 erkek infertilitesinde önemlidir.⁶⁵

Artmış GSH-Px-4 düzeyleri; spermin artmış yaşam yeteneği, morfolojik bütünlüğü ve motilitesi ile yakından ilişkilidir.

İnsan çalışmaları 3,5 µg/kg/gün selenyum desteğinin erkek infertilitesinin düzenlenmesinde etkili olduğunu göstermiştir.⁷⁴

2.2.7.9. Hipotiroidizm

Yapılan randomize bir çalışmada otoimmün tiroiditli hastalara 3 ay boyunca 200 µg/gün selenyum desteği verildiğinde, tiroid spesifik antikor (Anti TPO) düzeyinin % 100' den % 63,6' ya düştüğü gözlenmiştir. Bu çalışmada daha da önemli olan 36 hastadan 9' unda Anti TPO konsantrasyonları tamamen normale dönmüştür.⁷⁴

2.2.7.10. Katarakt

Kataraktın patofizyolojisinin bir kısmında lens proteinlerinin oksidasyonu vardır. Selenyum eksikliği olan ratların lenslerinde GSH-Px' in azaldığı tespit edilmiştir. Ek olarak selenyum ve vitamin E eksikliği olan grupta serbest radikallerin arttığı gözlenmiştir.

Katarakt hastası olan insanların aköz hümör ve serumlarındaki selenyum düzeyleri normalden düşük bulunmuştur.⁷⁴

2.2.7.11. Ağır Metal Toksisitesi

Selenyum, civa ve diğer ağır metal toksisitelerinde koruyucu etkiye sahiptir. Deneysel bulgular selenyum eksikliği olan kemirgenlerin, metil-civanın prenatal toksisitesine daha duyarlı olduğunu göstermiştir. Selenyum özellikle akut maruziyette kadmiyuma antagonist etki gösterir. Bir fare çalışmasında; akut kadmiyum maruziyetinden sonra 8 hafta süresince günlük selenyum desteği verildiğinde, karaciğer ve böbreklerde kadmiyum düzeylerinde belirgin azalma tespit edilmiştir.⁷⁴

2.2.7.12. Gıda İntoleransı

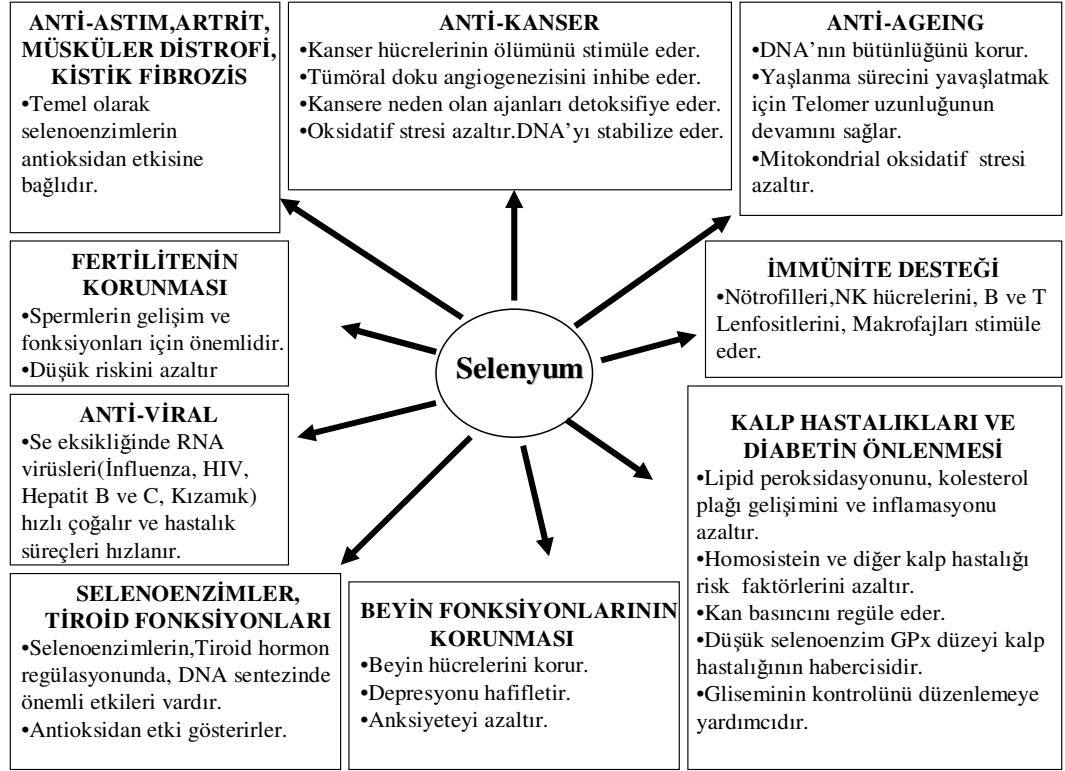
Bazı malabsorbsiyon sendromlarında ve sindirim ile ilgili allerjik durumlarda selenyum eksikliğine rastlanılmıştır.

Sağlıklı çocuklar ile besin allerjisi olan çocuklarda selenyum konsantrasyonları karşılaştırılmıştır. Sağlıklı çocuklarda ortalama selenyum düzeyleri 71,8 mg/L iken besin allerjisi olanlarda ortalama 54,1 mg/L olarak bulunmuştur. Sonuç olarak besin allerjisi olan çocuklar selenyum eksikliği bakımından risk grubu oluşturlar.⁷⁴

2.2.7.13. Diğer Klinik Durumlar

Selenyum desteğinin ani bebek ölümü sendromu, kistik fibrozis, otitis media ve çölyak hastalığını da içeren birçok durumun tedavi ve korunmasında etkili olduğu gösterilmiştir.

Selenyum desteğinin ayrıca ruhsal durumu güçlendirmede ve yaşlanma sürecinin yavaşlatılmasında da etkili olduğu gösterilmiştir.⁷⁴



Şekil 11. Selenyumun yararları (www.laucke.com.au)

2.2.8. Günlük Gereksinim

Yeni Zelanda'da yapılan bir çalışmada erişkin için günlük minimum alım miktarı 55 µg olarak tespit edilmiştir.

ABD ve birçok Avrupa ülkesinde günlük alım miktarları 55 µg' a yakın ya da daha az olmasına rağmen eksiklik bulguları gözlenmemiştir. Bu da şunu göstermektedir ki; minimum günlük alım miktarı coğrafi bölgelere göre farklılık göstermektedir.⁶⁶

2.2.9. Gıda ve İlaç Etkileşimleri

Bazı çalışmalarda selenyumun, vitamin A ile desteklendiğinde meme kanserine karşı ilave koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir.

Tablo 6. Çeşitli ülkeler için toprak, diyetle günlük alım, serum, idrar ve anne sütündeki selenyum konsantrasyonları.⁷⁵

Ülke	Toprak (mg kg ⁻¹)	Alım (µg gün ⁻¹)	Serum (µg L ⁻¹)	İdrar (µg L ⁻¹)	Anne sütü (µg L ⁻¹)
Belçika	0,11	28-61	73-110	13-30	9,7-15,5
Brezilya	veri yok	60	veri yok	veri yok	14,1
Çin (Enshi)	10-40	3.200-6.690	1.300-7.500	2.680	94,8-120,5
Çin (Keshan)	0,17	3-11	23,9	7	3,0
Finlandiya	0,15-0,72	125	77-134	veri yok	6-14,3
Fransa	0,18	47	84,7	12,3	veri yok
Almanya	6,6	47	63-106	16-23	9,9-59
İtalya	veri yok	49	76-94	7,4	13,3
Japonya	0,1-1,0	133	veri yok	36-288	11,2-40,3
İspanya	0,07-0,39	60	74-84	veri yok	11,4-21,7
İsveç	0,39	38	105	36	13,1
İsviçre	veri yok	70	96-113	veri yok	veri yok
Türkiye	0,03	30	58-113	veri yok	11,2-48,6
Hollanda	veri yok	67	93,6	veri yok	veri yok
İngiltere	0,18-29,70	41	60-81	5	8,3
ABD	0,11-18,36	98	95-320	19,2-118	7-105

Vitamin C, selenyumun bazı formlarının koruyucu etkinliğini azaltabilir. Bir çalışmada selenometionin ve selenit yalnız başlarına kullanıldıklarında ratlardaki meme kanserine karşı eşit olarak etki gösterirler iken, selenit ile birlikte vitamin C kullanıldığında bu koruyucu etki kaybolmuştur ancak selenometioninin koruyucu etkisi vitamin C' den etkilenmemiştir. Selenyumun ilaçlarla olan etkileşimleri hakkında henüz yeterli bilgi elde edilememiştir.⁷⁴

2.2.10. Toksisitesi

Erişkinler için tolere edilebilen günlük üst limit 400 µg' dır. Bu miktar aşıldığında toksisite bulguları görülmeye başlar.⁶⁶ Akut selenyum intoksikasyonu bulantı, kusma ve diareye neden olur. Akut ve kronik selenoziste tırnaklarda harabiyet, saç değişiklikleri, periferik nöropati, yorgunluk, irritabilite ve ağızda sarımsak kokusu gözlenir.

Toksisite tanısında tam kan, serum ya da plazma kullanılabilir ancak tam kandaki selenyum düzeyleri daha anlamlıdır.

Kan selenyum düzeyi diyetdeki vitamin E miktarına, civa, kadmiyum gibi inorganik bileşiklere ve alınan selenyum formunun selenometiyonin, selenate veya selenite olmasına göre farklılık göstermektedir. İdrar selenyum düzeyleri sadece ilk 24 saat için anlamlıdır. Saç selenyum düzeyleri ekzojen kontaminasyonun tamamen ekarte edilmesi durumunda anlamlıdır.

Selenyum toksikasyonunun efektif bir tedavisi yoktur. Marjinal letal doza yakın düzeydeki miktarlarla oluşan akut zehirlenmelerde nonspesifik destek tedavileri yeterli görülmüştür(gastrik lavaj, respiratuvar yardım, O₂ verilmesi, intravenöz sıvı desteği, vazopressör dolaşım desteği vb.). Marjinal letal dozdan daha yüksek miktarlardaki zehirlenmelerde ise bu destek tedavileri yetersiz kalmaktadır. Bu durumda ise p-bromobenzen tedavisi denenmekte ancak hepatotoksik olduğundan yaygın olarak kullanılamamaktadır.

Yüksek dozlarda selenyum trioksit ya da hidrojen selenidin topikal maruziyetinde ise tedavide %10 sodyum tiyosülfat banyoları kullanılabilir.⁶⁷

2.2.11. Referans Aralıkları

Selenyumun diyetle alımı coğrafi olarak farklılık gösterdiğinden tam kan, serum, plazma saç ya da tırnaktaki miktarları için belirlenen referans aralıkları da bölgesel olarak farklılık göstermektedir.

Erişkinlerdeki plazma selenyum düzeyi 63 -160 µg/L dir. 40 µg/L den az olması selenyum eksikliğini ifade eder. Çocuklardaki selenyum düzeyleri daha düşüktür. İngiltere’ de çocuklar için belirlenen referans aralıkları; 2 yaşın altındaki çocuklarda 16-71 µg/L, 2-4 yaş arasındaki çocuklarda 40-103 µg/L, 4-16 yaş arasındaki çocuklarda 55-134 µg/L olup yenidoğanlar için ise 8 µg/L’ den düşük plazma selenyum düzeylerinin selenyum eksikliğini ifade ettiği belirtilmiştir.

Eritrosit GSH-Px aktivitesi 13-25 U/g Hb dir. Yine çocuklarda bu değer daha düşüktür. Bu parametre için de referans aralıkları coğrafi bölgeler arası farklılık göstermektedir.⁶⁶

2.2.12. Türkiye’ de Selenyum Durumu

Ülkemizde topraktaki selenyum düzeyi ile ilgili kabul edilebilir detaylı bilgiler bulunmamakla birlikte, konsantrasyonunun diğer ülkelerden daha düşük olduğu rapor edilmiştir.⁷⁶

Ülkemizde selenyum düzeyi ile ilgili ilk bilgi 1988 yılında Ankara’ da yaşayan orta ve orta-üst düzey ailelerin çocukları arasından 76 çocuk üzerinde yapılmış ve serum selenyum düzeyi 88 ± 12 µg/L olarak rapor edilmiştir.⁷⁶

Daha sonra aynı spektrofotometrik metod ile Ankara’ daki şehirli popülasyonda farklı yaş grubu ve farklı sosyoekonomik düzeye sahip 218 kişiden

oluşan heterojen bir grupta serum selenyum düzeyleri ölçülmüştür. Selenyum düzeyleri; Kord kanında: $45 \pm 10 \mu\text{g/L}$, 2-12 ay infantlarda: $69 \pm 13 \mu\text{g/L}$, 12 ay-16 yaş: $77 \pm 12 \mu\text{g/L}$, erişkinlerde 18 - 48 yaş: $74 \pm 16 \mu\text{g/L}$ saptanmıştır.

Çalışma daha da genişletilerek 19 - 61 yaş arası, 7 farklı coğrafik bölgede yaşayan, orta ve orta-üst düzey ailelerden gelen 274 bireyi kapsamıştır. Bu çalışmada ise plazma selenyum düzeyi $79 \pm 15 \mu\text{g/L}$ olarak bulunmuştur. Coğrafik bölgelerin hiç birinde eksiklik saptanmamış olup, ortalama en düşük değer ise Karadeniz bölgesinde tespit edilmiştir.⁷⁶

Güncel çalışmalar Türkiye’ deki genel popülasyon için ortalama selenyum değerinin $55 - 75 \mu\text{g/L}$ olduğunu göstermiştir.⁷⁶

Giray B ve ark.’ nın yaptığı; Türkiye’ nin kırsal bölgelerinde yaşayan sağlıklı erişkinlerde selenyum durumunun belirlenmesi amacı güdülen çalışmada bazal toprak yapılarına göre; I.Samsun–Terme, II.Sivas–Kangal, III.Konya–Kadınhanı ve Ilgın olmak üzere üç bölge seçilmiş olup bu çalışmaya 79 kadın, 74 erkek olmak üzere toplam 153 sağlıklı erişkin dahil edilmiştir. Katılımcıların yaşları 22 - 51 yaş aralığında olup ortalama 39 ± 8 olarak tespit edilmiştir. Plazma selenyum düzeyleri spektrofotometrik yöntem ile ölçülmüş olup;

I. Samsun –Terme’ de(n=52) $75 \pm 3 \mu\text{g/L}$

II. Sivas – Kangal’ da(n=50) $65 \pm 2 \mu\text{g/L}$

III. Konya – Kadınhanı ve Ilgın’ da(n=51) $55 \pm 2 \mu\text{g/L}$ olarak bulunmuştur. Bu bölgelerdeki günlük ortalama selenyum alım miktarları da sırasıyla 46 ± 2 , 38 ± 2 , $30 \pm 2 \mu\text{g /gün}$ olarak tespit edilmiştir ve katılımcıların plazma selenyum düzeylerinde cinsiyetler arası fark saptanmamıştır. Ülkemizdeki diyetle günlük

selenyum alım miktarlarının US RDA(United States Recommended Daily Allowances) (55 µg /gün) ve UK NRI(United Kingdom Natural Resources Institute)(60 - 75 µg /gün) tarafından tavsiye edilen miktarlardan daha az olduğunu göstermişlerdir.⁷⁶

Aras NK ve ark., total diyet, buğday, un ve ekmekdeki selenyum miktarlarını nötron aktivasyon analizi ile ölçtükleri bir çalışma yapmışlardır. Total diyet numunelerini, kırsal bölgede yaşayan insanların diyetlerinden, Ankara Üniversitesi Hastanesinde yatan hastaların diyetlerinden, orta-üst gelir düzeyi olan insanların diyetlerinden ve anaokulu çocuklarının diyetlerinden olmak üzere dört ayrı gruptan toplamışlardır. Ekmek ve un numunelerini ise Ankara’ daki fırınlardan toplamışlardır. Dört farklı gruptaki 34 günlük kuru diyet numunelerinin ortalama selenyum konsantrasyonunu 72 ± 21 µgSe/kg, buğday yetişen dört ayrı bölgedeki ortalama konsantrasyonu ise 45 ± 20 µgSe/kg olarak bulmuşlardır. Yaz ve kış sezonlarında Ankara’ daki 6 farklı fırından topladıkları 24 numunede ortalama selenyum konsantrasyonunu 70 ± 40 µgSe/kg, yine yaz ve kış sezonlarında Ankara’ daki 6 farklı fırından topladıkları 30 numunenin ise ortalama selenyum konsantrasyonunu 52 ± 16 µgSe/kg olarak bulmuşlardır. Dört farklı gruptan 34 katılımcının günlük diyetle selenyum alımını hesaplamışlar ve ortalamayı 32 µgSe/gün, aralığını ise 18 - 53 µgSe/gün olarak bulmuşlardır. Bu değerin RDA tarafından tavsiye edilen günlük alım miktarı olan 55 µgSe/gün’ den düşük olması nedeniyle Türkiye’ de diyetle günlük selenyum alım miktarının düşük olduğu sonucuna varmışlardır.⁷⁶

2.3. Koroner Arter Hastalığı(KAH)

Koroner arter hastalığı (KAH), endüstrileşmiş dünyada en önemli morbidite ve mortalite nedenleri arasında yer almaktadır. Dünya popülasyonunda ölüm nedenleri arasında KAH, 45 yaş altındakiler için ikinci, 45 yaş üstündekiler için ilk sırada yer alır.

Her yaşta, önemli bir morbidite etkenidir ve prevalansı gün geçtikçe artmaktadır. Bu nedenle, ateroskleroza organ tutulumu olmadan teşhis etmek ve aterosklerozun yaygınlığını tespit etmek amacıyla çalışmalar sürdürülmektedir. Aterosklerozun klinik bulguları ortaya çıktığında, tutulum genellikle ileri dönemde olup, uygulanacak tedavi palyatif ve sekonder korumaya yöneliktir. Oysa, erken subklinik dönemde tanı koyulabilse, uygulanacak etkene yönelik tedaviyle, tam bir iyileşme sağlanabilir. KAH altında yatan esas neden, ateroskleroza yol açan koroner endotel disfonksiyonudur. Endotel disfonksiyonu, enflamasyon, lipid birikmesi ve fibromüsküler hiperplazi ile koroner aterosklerotik plak meydana gelmesiyle neticelenir.⁷⁷

2.3.1. Ateroskleroz

Lipidler, fibroblastlar, makrofajlar, düz kas hücreleri ve hücre dışı maddeleri değişik oranlarda içeren intimal plaklara bağlı olarak meydana gelen, ilerleyici arteriyel darlık ve tıkanmalara, arterlerin esneklik ve antitrombotik özelliklerinin bozulmasına yol açan bozukluğa ateroskleroz denir.⁷⁷ Dejeneratif, ilerleyici ve multifaktöryel bir hastalık olan ateroskleroz, çeşitli organlara kan akımının bozulmasına yol açan, fetal yaşamda başlayan kompleks bir hastalıktır.⁷⁸ Ateroskleroz, nedenleri tespit edilip tedavi edilebildiği takdirde durdurulabilen

veya geriletilebilen multifaktöryel, morbid ve mortal, sadece koroner damarları değil tüm arteriyel yapıları tutabilen ve etkileyen sistemik bir hastalıktır.

2.3.2. Aterogeneizde Rol Alan Hücreler

2.3.2.1. Endotel hücreleri

Endotel' in, normal fizyolojinin sürdürülmesi için vasküler vazomotor regülasyonun idamesi, lökosit adhezyonunun ve enflamasyonun kontrolü ve hemostazın sağlanması olmak üzere üç ana rolü vardır.⁷⁹

Endotel, dolaşımda bulunan nörotransmitterler, hormonlar, ilaçlar, toksinler gibi endojen veya ekzojen kaynaklı maddeler veya bazı fiziksel kuvvetler ile ilk temas eden hücrelerdir. Bu nedenle, fizyolojik koşulların değişiminde, ilk olarak endotel etkilenir.⁸⁰

2.3.2.2. Monosit ve Makrofajlar

Köpük hücrelerinin intimada toplanması ateroskleroz için karakteristiktir. Köpüksü hücreler dolaşımdaki monosit ve makrofajlardan kaynaklanmaktadır.⁸¹ Monosit veya makrofajlar aterosklerozun hem başlaması, hem de ilerlemesinde önemli rol oynar. Aterosklerozun erken döneminde arter duvarında monositler toplanmaya başlar. İntimada modifiye LDL' yi hücre içine alan monositler, enflamasyonun önemli mediyatörleri olan makrofajlara dönüşür. Makrofajlar, lokal inflamatuvar yanıtı sitokinler, serbest oksijen radikalleri, proteazlar ve kompleman faktörlerini sentezleyerek katkıda bulunur. Makrofajların modifiye LDL' yi hücre içine almasıyla birlikte ateroskleroz için karakteristik olan köpük hücreleri meydana gelir. Ayrıca makrofajlar, matriks metalloproteinazları sentezleyerek plak yırtılmasına yol açabilirler.⁸²

2.3.2.3. Düz Kas Hücreleri

Aterogenez ve hipertansiyonda, düz kas hücreleri aktive olur. Aktive düz kas hücreleri çeşitli kemotaktik ajanlar ve büyüme faktörleri salgılar. Prolifere olan düz kas hücreleri kollajen ve elastin gibi matriks proteinlerini sentezlemeye başlar, böylece fibröz plak meydana gelir ve aterom plağının stabilitesi sağlanır.⁸³

2.3.2.4. Trombositler

Ateroskleroz gelişiminde trombositlerin makrofajlara göre, daha az etkisi olmasına karşın, pıhtı oluşumunda major rolleri vardır.⁸⁴ Trombositler adhezyon, agregasyon ve degranülasyonu indükleyen maddeler varlığında “Platelet Derived Growth Factor” (PDGF), “Fibroblast Derived Growth Factor” (FDGF), “Epidermal Growth Factor”(EGF) ve “Transforming Growth Factor- α ” (TGF- α) gibi büyüme faktörlerini salgılar. PDGF, düz kas hücrelerine yüksek affinite ile bağlanarak DNA sentezini indükler ve bu hücrelerin proliferasyonunu stimüle eder.⁸⁵

Hiperlipidemi durumunda, trombositlerin dolaşımda aktif formda bulunduğu gösterilmiştir.⁸⁶ Şener ve ark. tarafından hiperlipidemililerde trombositlerde, lipid peroksidasyonu, apoptozis, trombosit-lökosit agregatları oluşumunun arttığı da bildirilmiştir.⁸⁷

2.3.3. Aterogenez Patogenezi

2.3.3.1. Aterom Plak Gelişim Evreleri

1995 yılında, Amerikan Kalp Cemiyeti (AHA) vasküler lezyonlar çalışma grubu olan “The American Heart Association Committee on Vascular Lesions”,

plak gelişimini yağlı çizgilenmeden, komplike lezyona kadar beş ayrı faza ayırmıştır(Tablo 7).⁸⁸

Tablo 7. Patolojik ve klinik bulguların ortaya çıkışına göre, Amerikan Kalp Cemiyeti (“American Heart Association”, AHA) tarafından, aterogenez oluşum basamaklarının sınıflandırılması

Plak Tipi	Plak Karakteristiği	İlişkili Klinik Sendrom
1-İntimal kalınlaşma	Köpük hücrelerinin infiltrasyonu	Aseptomatik
2-Yağlı çizgilenme	İnfiltrate makrofaj ve düz kas hücrelerinin içinde lipid birikimi	Aseptomatik
3-Preaterom	Ekstraselüler lipid birikimi ve bağ dokusu artışı	Aseptomatik
4-Aterom	Geniş ekstrasellüler intimal lipid çekirdeği; makrofaj, köpük hücresi ve T hücrelerini içeren inflamatuvar hücre infiltrasyonu	Genellikle Aseptomatik, Stabil Anjina ile birlikte olabilir
5a-Fibroaterom	Fibröz tabakalı aterom	Stabil Anjina Pektoris veya Aseptomatik
5b	Lipid çekirdeğinde yaygın kalsifikasyon bulunan aterom	
5c	Fibröz aterom veya organize mural pıhtı	
Komplike Lezyon	İntramural hemoraji ve/veya pıhtı olan yırtılmış, tip IV veya V lezyon	Akut Koroner Sendromlar veya Aseptomatik Lezyon Gelişimi

2.3.3.2. Aterosklerotik Plak Başlangıcı ve Dekompanzasyonu

Son bilgilere göre ateroskleroz, endotel hasarına inflamatuvar cevap nedeniyle gelişir. Damar duvarına etki eden mekanik kuvvetler dengesinin bozulmasıyla, damar duvarında zayıflama ortaya çıkar. Damar homeostazının bozulması veya enfeksiyonlar gibi immünolojik veya diğer toksik (okside LDL, homosistein gibi) bileşenlerin etkisiyle, inflamasyon başlar.^{85,88} Kandaki makrofaj ve lenfositler lezyona doğru göç eder. Bu hücrelerin aktivasyonu sonucunda, enzimler, kemokinler ve büyüme faktörleri salınır. Bu inflamatuvar maddelerin, düz kas hücrelerini aktive etmesi sonucunda, hücre dışı matriksin sentezi artar.

Ateroskleroz gelişiminde klinik olarak anlamlı olan kritik basamak, çoğu LDL veya LDL orijinli lipidlerin subendotelyal alana girişi ve birikmesidir.^{83,88,89} LDL, endotel disfonksiyonu olan veya hasarlı damar duvarından girer ve endotel hücrelerinde lipooksijenaz gibi enzimlerle okside edilir.⁹⁰ Aterosklerotik lezyonda makrofajlar tarafından alındıktan sonra; LDL, lipid peroksidlerine dönüştürülür. Endotelde LDL oksidasyonu sonucunda, endotel adhezyon molekülleri ve monosit kemotaktik protein (MCP-1) gen ekspresyonu artar. Bu da, monositlerin endotele adhezyonunu ve intimaya göçü indükler. Subendotelyal alanda monositler, okside LDL partiküllerini LDL reseptörleri aracılığıyla gerçekleştiren endositozla değil, çöpçü reseptörler aracılığıyla kontrolsüz biçimde alarak, köpük hücrelerine dönüşür.^{88,91} Böylece ester kolesterol birikimi kolaylaşır.⁹² Lipidlerle doygunluk sonrasında ve makrofaj ölümü öncesinde, bu makrofajlar veya köpük hücreleri çok sayıda ürünü (ester veya okside kolesterol gibi) salıverebilir. Salınan bu maddeler, endotel hasarını ilerletebilir ve aterosklerotik lezyon gelişimine

katkıda bulunabilirler. Bu moleküller arasında, endotel adezyon molekülleri (VCAM-1, ICAM-1 gibi), Monosit Kemotaktik Protein (MCP-1), Monosit Koloni Stimüle Edici Faktör (M-CSF) ve İnterlökin-2 (IL-2) sayılabilir. Makrofajlar, muhtemelen, lipid birikimini önlemek üzere plak içerisinde birleşerek, apoptotik ölüme uğrayabilir. Bu sırada metalloproteinazlar (MMP) salınıp salınmadığı henüz açıklığa kavuşturulamamıştır. Makrofajın ölümüyle, hücre yüzeyinde bulunan fosfolipidlerin gibi membran mikropartikülleri salınır ve güçlü prokoagulan aktivite meydana gelir.

Plak bozunmasının ardından salıverilen partiküllerin çoğu, doku faktör aktivitesine sahip olduğundan, trombojeniz oluşumuna katkıda bulunabilir. Köpük hücresi ve aktive endotel, TNF- α , İnterlökin-1, İnterlökin-6, İnterferon- γ gibi proinflamatuar sitokinler ve makrofajlarla düz kas hücrelerinin proliferasyonunu arttıran büyüme faktörlerini salgılar. Özellikle İnterferon- γ , proaterojenik ve proinflamatuar etkili bir sitokindir.^{93,94} MCP-1 etkisiyle, T-lenfositlerin lezyona göç etmeleri ve proinflamatuar sitokinler salgılamaları da, aterosklerozun kronik inflamatuvar komponentine katkıda bulunur.^{81,93} Prolifere olan düz kas hücreleri, kollajen gibi matriks proteinlerini sentezlemeye başlar ve fibröz plak meydana gelir.⁸³

2.3.4. Koroner Arter Hastalığı Risk Faktörleri

Aterogenezin başlangıcında ortaya çıkan endotel disfonksiyonu, tedaviyle normale döndürülebilir. Genellikle, klinik olarak ateroskleroz tanısı koyulduğunda, primer tedavi yerine, sekonder tedavi uygulanarak ancak hastalığın ilerlemesi önlenemez. Bu nedenle, hastalığın risk faktörlerinin ve bunların KAH

oluşumuna katkılarının doğru belirlenmesi, toplum sağlığı açısından yararlı olacaktır.⁸⁸ Risk faktörlerinden bazıları değiştirilebilir (sigara, fiziksel aktivite, obezite gibi) veya kontrol altına alınabilir (DM, hipertansiyon, enfeksiyon gibi), bazıları da değiştirilemez (aile hikayesi, yaş, genetik ve ırksal faktörler gibi).⁹⁵

2.3.4.1. Klasik Risk Faktörleri

2.3.4.1.1. Yaş ve Cinsiyet

Erkeklerde 45, kadınlarda 55 yaşın üstünde olmak, KAH bakımından risk teşkil eder. Kontraseptif ilaç alan veya erken menopozlu kadınlarda risk artar. Premenopoz dönemde kadında KAH riski erkeğe göre 1/7 iken, oran gittikçe yaklaşır ve 70 yaş itibariyle eşit hale gelir.

2.3.4.1.2. Sigara İçme

KAH riski, günde 20 adetten fazla sigara içenlerde içmeyenlere göre 4 kat daha fazladır. Öte yandan akut miyokard enfarktüs (AMI) riskinin, 3-6 kat daha fazla olduğu bildirilmektedir.⁹⁶ Hafif içicilerde (günde <5 adet) bu risk, içmeyenlere oranla 2 kat artmaktadır. Sigaranın bırakılması, sağlıklı veya AMI geçirmiş hastalarda, yaşam süresini uzatmakta ve üç beş yıl içinde KAH riskini %50-80 azaltmaktadır.⁹⁷

Çeşitli çalışmalarda, sigara içmenin plazma fibrinojen düzeyini, trombosit aktivasyonunu ve kan viskozitesini arttırdığı, NO düzeyini azaltması nedeniyle aterosklerotik riski yükselttiği gösterilmiştir. Ayrıca, tütünde bulunan kimyasal tahriş ediciler, endotel hasarı meydana getirirler. Sigara içme, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) düzeyini azaltır ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksidasyonuna ortam hazırlar. Sigara tiryakisinde, lipid profilinde değişikliklerin

oluşum mekanizması, lipoproteinlerin, serbest radikallere maruz kalmasıyla açıklanabilir.⁹⁶

Tablo 8. KAH risk faktörleri

Riski Arttıran Faktörler		Riski Azaltan Faktörler
Klasik Faktörler	Yeni Faktörler	
Yaş	Homosistein yüksekliği	Apolipoprotein A1 varlığı
Erkek olmak	hsCRP yüksekliği	HDL-kolesterol
Sigara	sCD40L yüksekliği	
Menapoz, Kontraseptif kullanımı	BNP, ProBNP yüksekliği	
Ailede erken KAH ölümü	Enfeksiyon	
Dislipidemi	Protrombotik faktörler	
Hipertansiyon		
DM ve İnsülin direnci		
Obezite		
Stresli yaşam		
Fiziksel aktivite azlığı		
?Tip A kişilik(sabırsız, agresif)		

[sCD40L: çözünebilir CD40 ligand]

2.3.4.1.3. Aile Hikayesi

Ailede birinci derece erkek akrabanın 55, kadın akrabanın 65 yaşından önce AMI veya ani ölümle kaybedilmesi, bireyde KAH için bağımsız risk meydana getirir.⁹⁸

2.3.4.1.4. Obezite ve Fiziksel İnaktivite

Obezite, özellikle gençlerde KAH için önemli bir primer risk faktörüdür. Vücut kitle indeksi (VKİ), 18,5-24,9 kg/m² üzerine çıktıkça, KAH riski artar.

Obezite nedeniyle, DM, hipertansiyon da ortaya çıkabilir. Ayrıca insülin direnci, dislipidemi ve abdominal obeziteyle karakterize metabolik sendrom tablosu da, KAH için belirgin risk oluşturur.⁹⁸ Fiziksel aktivite, yağ dokusunu ve kan basıncını azaltırken, glukoz toleransını, kardiyovasküler ve pulmoner kapasiteyi arttırmaktadır.⁹⁹

2.3.4.1.5. Diabetes Mellitus (DM) ve İnsülin Direnci

İnsülin direnci ve hiperinsülinemi, ateroskleroza neden olan vasküler yapı değişikliklerini artırır, endotel disfonksiyonuna katkıda bulunur, KAH için zemin hazırlar.^{100,101} Artan plazma insülin düzeyi, KAH riskinde artış meydana getirir.¹⁰²

Kadınlarda diabet, KAH riskini üç kat artırır. Bu risk, genç DM' luda daha yüksektir. Metabolik regülasyonu kötü olan tip 1 ve tip 2 DM' lu hastalarda, “insulin growth factor-1” gibi büyüme faktörlerini artırır. Bu büyüme faktörleri hiperglisemi varlığında gelişmekte olan, aterosklerotik lezyonların fibromusküler bileşenlerinin proliferasyonunu hızlandırır. Yine de, LDL-kolesterol düzeyleri normal kalabilir. Diabetlide tipik lipid profili, artmış total trigliserit ve azalmış HDL kolesterol ile karakterizedir. Bu profilin görülme nedeni, sıklıkla trigliseridden zengin lipoprotein (TGZLP) metabolizmasında anormallik ve LDL yapısının bozulmasıdır. Böylece, küçük yoğun LDL (“small dense LDL”, sdLDL) partikülleri meydana gelir. Ayrıca, metabolik kontrolü kötü olan diabetlide, serum lipoprotein (a) düzeyleri de yükselir.

2.3.4.1.6. Hipertansiyon

Artmış sistemik kan basıncı, endotel disfonksiyonuna yol açarak aterosklerotik kalp hastalığı ve inme için risk oluşturur. Yüksek kan basıncı,

endotelden salınan vazodilatörler, LDL gibi makromoleküllere karşı vasküler geçirgenliği arttıracak biçimde damarı zayıflatır. Bu arada, endotelde, yine aterojenik bir madde olan “endotelin” üretimini artır.¹⁰³ Yüksek kan basıncı, lökositlerin endotele yapışmasını da indükler. Sonuç olarak hipertansiyon, düz kas hücre proliferasyonu ve büyüme faktörlerinin salınımıyla ilişkilidir.⁹⁸

2.3.4.1.7. Dislipidemi

Fizyolojik koşullarda lipoproteinler, normal büyüme ve gelişmeye yardım, enerji temini ve depolanması için hücrelere lipid taşırlar. Aterogenezde özellikle önemli bir rol oynadığı bilinen LDL, damar duvarında iki yönlü lipid transportunda etkilidir.¹⁰⁴ Yine LDL, akut koroner kanıtlarda son basamak olan pıhtı oluşumuna katkıda bulunabilir. Antiaterojenik özellikteki HDL ise, aterosklerotik lezyonlardan kolesterolün uzaklaştırılmasında rol alır. Öte yandan HDL, LDL oksidasyonunu ve birikimini inhibe eder.

Tablo 9. Ulusal Kolesterol Eğitim Programı (“National Cholesterol Education Programme”, NCEP), Erişkin Tedavi Paneli (“Adult Treatment Panel”, ATP) III rehberine göre serumda lipid düzeylerinin sınıflandırılması.¹⁰⁵

	Total kolesterol	Trigliserid	LDL kolesterol	HDL kolesterol
Optimum	< 200	< 150	< 100	E: > 40; K: > 50
Optimal Üzeri	200-239	150-199	100-129	
Sınırdaki Yüksek	≥ 240	200-499	130-159	
Yüksek		> 500	160-189	≥ 60
Çok yüksek			≥ 190	

(E: Erkek, K: Kadın)

Plazma Lp(a) düzeyleri artışı, özellikle artmış LDL düzeyleriyle beraber ise, önemli risk meydana getirir. Fakat henüz bu riskin derecesi dökümanite edilememiştir. Serum total kolesterol düzeyi arttıkça, KAH riski arttığı kabul edilmektedir. LDL düzeyinde %1 oranında azalmanın, KAH riskini %2 azalttığı bildirilmektedir. KAH' lılarda LDL düzeyinin 100 mg/dl altında olması hedeflenir.⁹⁸ Ancak, son klinik çalışmalarda, LDL düzeyi arzu edilen sınırlarda olduğu halde, tek başına HDL düşüklüğünün de, KAH riski oluşturduğu belirtilmektedir.^{106,107,108} Hipertrigliserideminin, bağımsız bir risk faktörü olduğu tartışılabilir. Ancak serum trigliserid düzeyindeki 250-500 mg/dl seviyelerinde (bazı metabolik sendrom vakalarında olduğu gibi), aterojenik dislipidemiden söz edilmektedir.⁹⁸ Metabolik sendromlu bireylerde, total kolesterol referans düzeylerde olsa dahi, hipertrigliseridemi olması nedeniyle aterojenik risk vardır.

2.3.4.2. Yeni Risk Faktörleri

KAH prevalansını ve bazı hastalarda ortaya çıkan prematüre KAH nedenini açıklamak için, klasik major risk faktörleri yeterli olmamaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda bazı yeni risk faktörleri belirlenmiştir. Ancak bunların bazıları geniş epidemiyolojik çalışmalarda tam kanıtlanamamış veya bazılarının modifikasyonu ile koroner hastalığında regresyon sağlanıp sağlanamayacağı tam anlaşılamamıştır.

2.3.4.2.1. Hiperhomosisteinemi

Homosistein(Hcy), metiyonin metabolizmasının son ürünüdür. Remetilasyon ve transsülfürasyon olmak üzere iki yolla metabolize edilir. Remetilasyon döngüsünde, kofaktörü vitamin B₁₂ ve kosubstratı

metiltetrahidrofolat olan metiyoninsentaz enzimiyle yine metiyonin; transsülfürasyonda ise, kofaktörü vitamin B₆ olan sistatyon-β-sentaz ile sistein meydana gelir. Plazma folatıyla Hcy düzeyi arasında kuvvetli bir ters orantı bulunduğu halde; vitamin B₁₂ ve vitamin B₆ ile zayıf ilişkisi vardır.¹⁰⁹ Metiyonin yükleme testi, hangi yolda problem olduğunu ayırtetmekte yararlı olabilir.¹¹⁰ Hcy, vücutta, serbest radikal davranışı göstererek, endotel hasarı, LDL oksidasyonu ve biyolojik membran hasarı, NO düzeyinde azalma, trombosit aktivasyonu, pıhtılaşma faktörlerinin modifikasyonuna ve tromboza meyil oluşturmaktadır.¹¹¹

Son yıllarda yapılan çalışmalarla, plazma homosistein düzeyinin 15- 50 µmol/L olmasıyla karakterize ılımlı hiperhomosisteineminin, artmış periferik damar hastalıkları, venöz tromboz, kardiyovasküler hastalıklar ve inme ile ilişkili olduğu anlaşılmıştır.¹⁰³ Hatta homosistein seviyesi referans aralığı olan 5-15 µmol/L' nin üst sınırına yakın son çeyreğinde olan bireylerde AMI geçirme riskinin yaklaşık 2-3 kat arttığı kaydedilmektedir.^{80,103}

2.3.4.2.2. Lipoprotein(a) [Lp(a)] Yüksekliği

Lp (a), Apo B-100' e disülfid bağıyla bağlanmış bir Apo(a) molekülü içeren lipoprotein olup; hem plazminojene, hem de LDL' ye benzerlik gösterir. LDL gibi köpük hücre oluşumuna katkısına ilave olarak, plazminojen aktivitesini engelleyerek fibrinolizi inhibe etmesi de aterojenik aktivitesini arttırmaktadır.¹¹² Lp(a)' nın protrombotik etkisini araştıran çalışmalar, plazminojen reseptörleriyle etkileşmesinin fibrin üzerinde plazmin oluşumunu azaltarak fibrinolizi engellediği ve hipertrombotik bir tablo yaratarak pıhtı oluşumunu kolaylaştırdığını göstermiştir.^{88,113}

Plazma Lp(a) düzeyi >30 mg/dL ise, özellikle genç yaşta ortaya çıkan KAH ve inme için önemli bir risk faktörüdür. Lp(a), LDL metabolizmasından bağımsız olarak karaciğerden salınır. LDL ile beraber artması durumunda, risk daha da artar.¹¹⁴

2.3.4.2.3. BNP ve NT-proBNP

Natriüretik peptidler, kan basıncı, sıvı ve elektrolit dengesinin regülasyonunda yer alan hormon benzeri moleküllerdir. Natriüretik peptidlerden biri olan BNP ve bunun N-terminali, ventrikül duvarının gerilmesiyle (NT-proBNP) kardiyak miyositlerden prepro-BNP olarak salınmaktadır. Henüz nekrozun yokluğunda iskemi varlığında, ventrikül relaksasyonunun bozulması ve ventrikül içi basıncının artması sonucu BNP ve NT-proBNP artmaktadır. Bu salınım iskeminin erken döneminde olmaktadır.¹¹⁵ Özellikle unstabil anjina pektoriste, BNP ve NT-proBNP yükselir.¹¹⁶

2.3.4.2.4. Yüksek Duyarlılıklı CRP (hsCRP)

CRP, sistemik ve lokal enflamasyonun belirteci olan bir akut faz reaktanıdır. Aterosklerozun başlangıç ve ilerlemesinde enflamasyonun önemi bir çok çalışmada vurgulanmıştır. İmmünolojik reaksiyonlar sırasında proinflamatuvar sitokinlerin stimülasyonuna cevap olarak, karaciğerden CRP salınımı artar. Özellikle arteriyel duvardaki makrofajlar tarafından aktive edilen IL-6, CRP düzeylerini önemli ölçüde etkiler. Erken dönem plak formasyonunda bile, damar duvarında CRP' nin varlığı, CRP' nin çeşitli vasküler, endotelial etkileri olduğunu düşündürmektedir. CRP' nin monositler üzerine kemotaktik etki yaptığı, nötrofillere hızla bağlandığı, makrofajlar tarafından modifiye LDL' nin

tutulumunu arttırdığı bildirilmiştir.^{108,117} Artmış plazma CRP konsantrasyonu ve bozulmuş endotelial fonksiyon arasında güçlü ilişki ortaya konmuştur.^{88,108}

CRP ölçümü için kullanılan geleneksel yöntemlerin saptama sınırı 3-5 mg/L' dir. Yeni geliştirilen yüksek duyarlıklı CRP ölçüm yöntemleri 0,007 mg/L ye kadar hassastır.¹¹⁸ 10 mg/L' nin üzerindeki değerlerin aktif koroner arter hastalığıyla ilişkisi bilinmekle birlikte 0,01-10 mg/L CRP konsantrasyonları da koroner arter hastalığı riskini değerlendirme açısından anlamlı bulunmuştur.¹¹⁹

2.3.4.2.5. Enfeksiyon

Ateroskleroz ve bunun trombotik komplikasyonlarıyla ilişkisi olduğu düşünülen; "*Chlamydia pneumonia*", "*Helicobacter pylori*", "*Cytomegalovirus*", *Herpes virus* gibi bazı enfeksiyon etkenleri de vardır. Bu enfeksiyon ajanları şu mekanizmalarla aterosklerotik olayın gelişimine katkıda bulunabilir: Doğrudan endotel hasarı, inflamatuvar yanıt oluşturarak sitokinlerin salınımını tetiklemesi, serbest radikal oluşumunda artış, NO salınımının azalması, trombosit ve monosit aktivasyonu, fibrinojen artışı. Bu olayların sonucu vazokonstriksiyon, pıhtı oluşumu ve LDL oksidasyonudur.^{80,91}

2.3.4.2.6. Protrombotik Faktörler

Trombojenik risk faktörleri, Tablo 10' da gösterilmektedir. Son yıllarda elde edilen klinik ve deneysel kanıtlar, trombojenik sistemik faktörlerin fokal tromboz gelişiminde anlamlı bir role sahip olduğunu göstermektedir.⁹¹

2.3.4.2.7. Çözünebilir CD40 Ligand (sCD40L, CD134)

CD40 ligand, trimerik yapılı, tümör nekrozis faktör ailesinden bir transmembran proteindir. Ateroskleroz ve trombozla sonuçlanan inflamatuvar

işlemlere önemli katkıları vardır.^{86,120} Hem CD40 hem de CD40L, pek çok immünolojik ve vasküler hücre¹²¹ ve aterom plakta gösterilmiştir.¹²⁰ Trombositlerde, stimülasyon sonrasında trombosit yüzeyine hızla transloke olan CD40L, taze pıhtının artmasına yol açar. Dolaşımdaki sCD40L' nin %95 kadarı trombositlerden, geri kalanı ise daha çok lenfositlerden kaynaklanır. Ayrıca B hücresi, makrofaj, endotel hücresi, düz kas hücresinde de eksprese edilir.¹²²

Tablo 10. Trombojenik risk faktörleri

LOKAL FAKTÖRLER	SİSTEMİK FAKTÖRLER
Plak bozulmasının derecesi (aşınma, ülser vb.)	Kolesterol, Lp(a)
Stenozun derecesi (damar geometrisinde değişiklik vb.)	Katekolaminler (Stres durumu)
Doku substratları (Lipidden zengin plak vb.)	Fibrinojen, bozulmuş fibrinoliz (PAI-1 vb.)
Rezidüel pıhtı yüzeyi	Aktive trombositler ve pıhtı (Faktör VIIa, vWF vb.)
Vazokonstriksiyon	Enfeksiyonlar (Chlamydia Pneumoniae, CMV, H.Pylori vb.)

Aterosklerozda, çoğu inflamatuvar hücrelerde CD40L eksprese olup, CD40 reseptörüyle bağlanması söz konusudur. Proinflamatuvar sitokinler, inflamatuvar hücrelerde CD40 ekspresyonunu artırır.¹²³ CD40 bağlanmasını, lökosit adhezyon molekül ekspresyonu¹²² ve kemotaktik maddelerin salınımı indükler. CD40L bağlanması da, doku faktörünün ekspresyonunu indükler.¹²⁰ CD40L' nin erken aterogenezden, geç trombotik komplikasyonlara uzanan süreçte yeri vardır.

sCD40L' nin, trombosit aktivasyonu, stabil olmayan plak, kardiyak nekroz belirteci olarak kullanılabileceği düşünölmektedir.¹²¹ Hem enflamasyon, hem de trombosit aktivasyon belirteci olan sCD40L, yeni bir kardiyak belirteç olma yolundadır. Ayrıca akut koroner sendrom tedavisini takipte, tanısal bir belirteç olmasının yanında, prognoz belirteci olabileceği de umut edilmektedir.¹²⁴

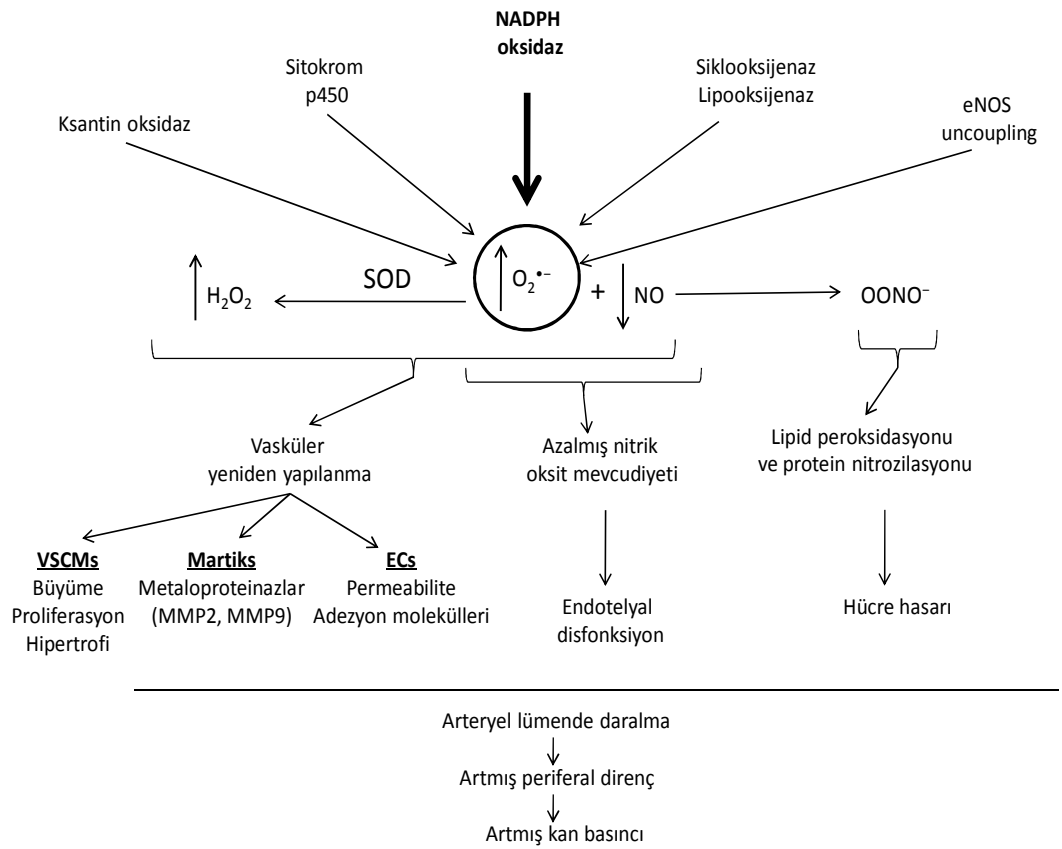
2.4. Koroner Arter Hastalığı ve Oksidatif Stres

Arteriyel ateroskleroz etyopatogenezi halen tam olarak bilinmemekle beraber, koroner ateroskleroz ve komplikasyonları patogenezinde, antioksidan savunma ve reaktif oksijen türleri üretimi arasındaki dengenin bozulmasından dolayı ortaya çıkan oksidatif stresin hayati bir rol oynadığını gösteren kanıtlar vardır. ROT' nin oluşumunun aterogenezis gelişimine LDL' nin oksidasyonu, endotel disfonksiyon, vasküler düz kas hücrelerinde büyüme ve monositlerin migrasyonu gibi mekanizmalarla katkıda bulunabileceği öngörülmektedir.¹²⁵

Mitokondriyal respirasyon, araşidonik asit yolağı enzimleri olan lipooksijenaz ve siklooksijenaz, sitokrom p450, ksantin oksidaz, NADH/NADPH oksidazlar, NO sentaz, peroksidazlar ve diğer hemoproteinler gibi birçok enzim sistemi, reaktif oksijen türlerinin üretiminde etkili olur. Bu kaynakların çoğu potansiyel olarak ROT üreterek NO inaktivasyonuna neden olabilmelerine rağmen kardiyovasküler sistemde özellikle üç tanesi oldukça yaygın olarak incelenmiştir. Bunlar ksantin oksidaz, NADH/NADPH oksidazlar ve NO sentazdır. Şekil 12' deki diyagram, arteriyel hipertansiyonda reaktif oksijen türlerinin fonksiyonel ve yapısal sonuçlarını göstermektedir. Aşırı $O_2^{\bullet-}$ birikimi başlıca NADPH oksidaz enzim aktivasyonu ile olmaktadır ve bunu takip eden NO miktarının azalması, H_2O_2 ve $ONOO^-$ artışı sonucunda endotelial disfonksiyon ve vasküler yeniden yapılanma(remodelling) gözlenir.

ROT üretimi, LDL oksidasyonu, MMP' ların aktivasyonu ve endotelial NO miktarının azalmasına katkıda bulunarak, ateromatozis, vasküler yapıların

yeniden yapılandırılması, plak instabilitesi ve endotelial disfonksiyona neden olur. Sonuç olarak çok sayıda çalışma göstermiştir ki; oksidatif stres, aterosklerozis gelişimi ve ilerlemesi ile yakından ilişkilidir.¹²⁶



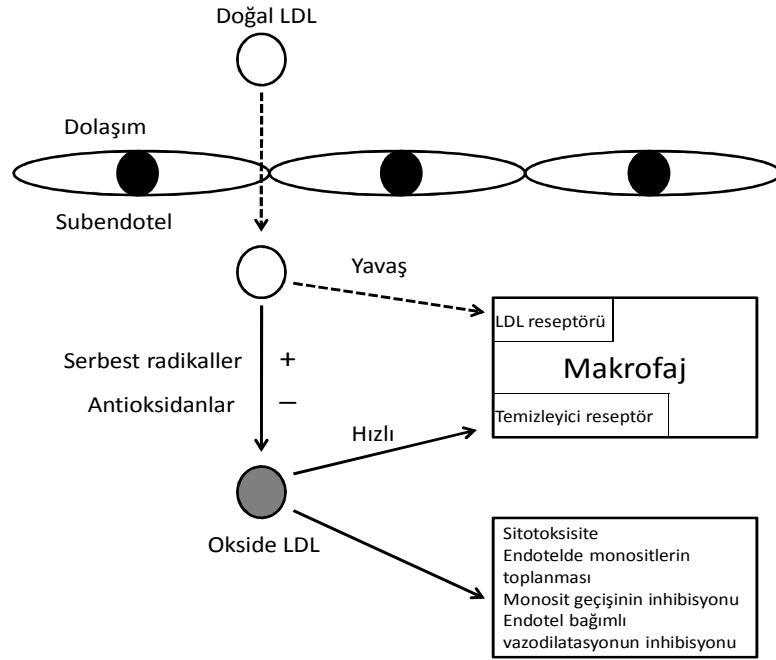
Şekil 12. Reaktif oksijen türlerinin üretimi(ECs, endotelial hücreler).¹²⁶

Hiperkolesterolemi, hipertansiyon, DM, sigara, obezite ve yaşlılık gibi ROT ve RNT üretimi ile sonuçlanan birçok durum lipid peroksidasyonuna yol açarak aterosklerozis oluşum mekanizmasında yer alır. Böylece, artan lipid

peroksidasyonunun aterosklerozis gelişiminde anahtar bir rol oynadığı tespit edilmiştir.

Yüksek serum LDL düzeyi ve koroner kalp hastalığı gelişme riski arasındaki ilişki çok sayıda yapılan klinik çalışmalar ile belirlenmiştir. Oksidatif LDL' nin erken ateroskleroziste patogenezi hızlandıran bir faktör olduğu düşünülmektedir. Orjinal oksidatif hipotezlere göre, oksidatif LDL' nin subendotelyuma migrasyonu ve ortaya çıkan pro-inflamatuvar etkilerin sonucunda aterom ve ateromun neden olduğu komplikasyonlar gelişir. LDL' deki çoklu doymamış yağ asitlerinin büyük kısmını araşidonik ve linoleik asitler oluşturur. Bu lipid maddeler oksidatif modifikasyona karşı çok hassastırlar ve oksidatif stres sırasında başlatılan serbest radikal gelişim reaksiyonlarına katılırlar. Lipid peroksidasyonu sonucunda ve özellikle araşidonik asitten oluşan ürünler insan aterosklerotik plaklarında önemli miktarlarda bulunurlar.¹²⁷

Oksidatif modifikasyon teorisine göre; Aralıklı olarak dolaşımdaki LDL partikülleri endotelden geçerek kan damarlarının intima tabakasına gelirler. Doğal formunu koruyan LDL partikülleri az da olsa intimal makrofajlar tarafından alınarak tekrar dolaşıma dönerler. Buna rağmen bazı partiküller geçiş metal iyonları ve proteoglikan bağlayıcıları varlığında lokal hücre uyaranları ile okside olur. LDL partikülleri oksidatif modifikasyona uğradıktan sonra temizleyici reseptör aracılığı ile hızlıca makrofajlar içine alınır. Daha sonra kolesterol ester formlarıyla yüklendikten sonra “köpük hücreleri” olarak adlandırılırlar ve bu yapı ateroskleroziste erken histolojik kanıttır. Okside LDL, bulunduğu hücrelerde zararlı biyolojik aktiviteler gösterir(Şekil 13).¹²⁸



Şekil 13. Aterosklerozda Oksidatif modifikasyon teorisi.

Weinbrenner T ve ark.' larının 32 stabil KAH ve 32 sağlıklı kontrol bireylerde yaptıkları bir çalışmada; plazma okside LDL düzeylerini(U/L) hasta grubunda($63,3 \pm 25,5$) kontrol grubuna($37,7 \pm 20,6$) göre anlamlı olarak yüksek tespit etmişlerdir($p < 0,01$). Ayrıca eritrosit SOD aktivitesi(U/g Hb) ve tam kan glutatyon peroksidaz aktivitesi(U/L) de hasta grubunda(sırasıyla, $950,96 \pm 270,2$; $10714,4 \pm 3705,4$) kontrol grubuna($771,6 \pm 191,2$; $5512 \pm 1498,1$) göre anlamlı olarak(sırasıyla, $p < 0,05$; $p < 0,001$)yüksek tespit edilmiştir. Her iki grup arasında Lipid peroksit değerleri(kontrol grubu: $4,06 \pm 2,7$ $\mu\text{mol/L}$; hasta grubu: $5,03 \pm 3,99$ $\mu\text{mol/L}$) açısından anlamlı bir fark belirlenememiştir.¹²⁹

Nitrik oksit varlığı LDL' nin oksidatif modifikasyona uğramasını önler. LDL' nin oksidasyonu aterosklerotik süreçlerde majör rol oynar ayrıca plazma ve koroner plakta yer alan makrofajlardaki okside LDL miktarı akut koroner

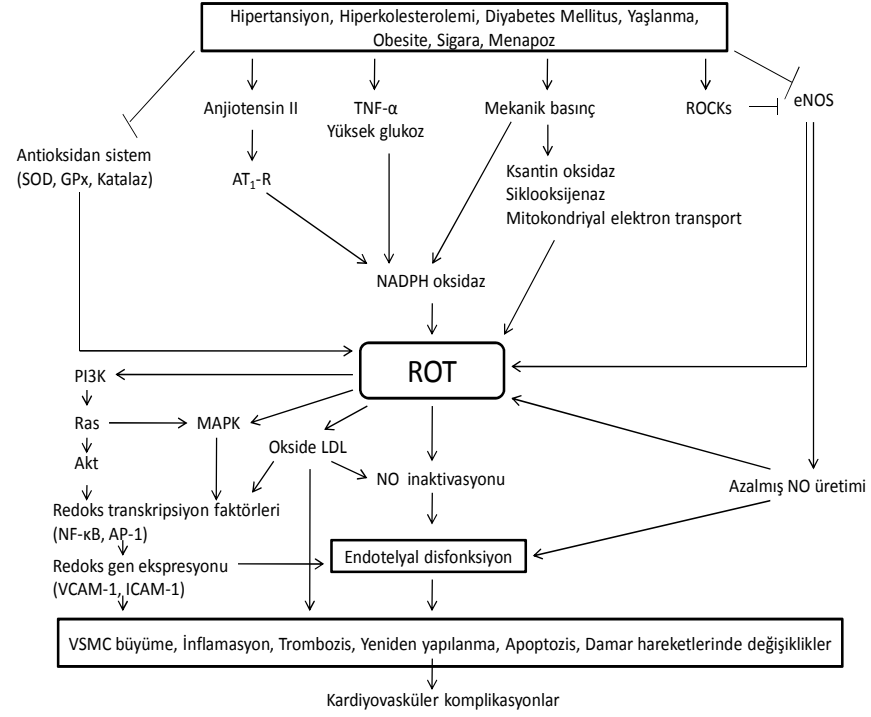
sendromun derecesiyle korelasyon gösterir. Aksine, bozulmuş üretim veya NO' nun bozulmuş aktivitesine neden olan vazokonstriksiyon, platelet agregasyonu, düz kas hücre proliferasyonu, lökosit adezyon ve migrasyonu gibi olaylar aterosklerozis oluşumunu tetikler. Okside LDL kolesterol; eNOS(endotelial NO sentaz) aktivasyonunu sağlayan kalmodulini bağlayan caveolin-1 proteini sentezini artırır bu da eNOS inaktivasyonuna neden olarak NO üretimini inhibe eder. Oksidatif stres NO üretimi ve aktivitesini LDL' den bağımsız bir dizi mekanizma ile de etkileyebilir. Örneğin; $O_2^{\bullet-}$, hızlıca NO' yu inaktive edebilir ve NO sentezi için gerekli bir kofaktör olan tetrahidrobiopteridin yapısında bozulmaya yol açar.¹²⁷

Proteinler hücre yaşamı için majör komponentleri oluşturur ve nispeten daha küçük bir yapısal değişiklik, fonksiyonlarında belirgin değişikliklere neden olur. Oksidatif stres altında lipidler ve proteinler majör hedef yapılardır. ROT ile proteinlerde oluşan oksidatif modifikasyon, proteinlerin katalitik aktivitesinde ve protein yıkımının takibinde kullanılan protein belirteçlerinde kayıba neden olur. Hücrelerin protein komponentlerinde hasar oluşması önemli enzimlerin miktarlarında belirgin düşüslere yol açar ve hasarlı proteinlerin hücre içinde birikmesine neden olabilir. Hasarlı proteinlerin birikmesi hücresel bütünlüğü ciddi şekilde bozabilir. Kardiyovasküler hastalıklara neden olması açısından lipid peroksidasyonun etkisini açıklayan önemli literatürler ile karşılaştırıldığında, protein oksidasyonu ve kardiyovasküler hastalık arasındaki ilişki hakkında nispeten daha az bilgi mevcuttur.¹³⁰

Serdar Z ve ark.'larının yaptığı bir çalışmada; anjiyografik olarak KAH' ı olmadığı tespit edilen 54 birey kontrol grubu olarak, anjiyografik olarak KAH' ı oldukları belirlenen 154 birey de hasta grubunu oluşturmuş olup hasta grubu da kendi içinde bir damar hastalığı olan(n=50), iki damar hastalığı olan(n=51) ve üç damar hastalığı olan(n=53) olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Gruplar arasında plazma MDA düzeylerinde ve serum protein karbonilleri düzeylerinde farklılık olup olmadığı araştırıldığında; her iki parametrede, hasta grupların da kontrol grubuna göre anlamlı yüksek($p<0,001$) bulunmuş olup ayrıca iki damar hastalığı olanlarda tek damar hastalığı olanlara göre, üç damar hastalığı olanlarda da iki damar hastalığı olanlara göre anlamlı($p<0,001$) yüksek tespit edilmiştir.¹³⁰

Endotelial disfonksiyon aterosklerozis patogeneğinde başlangıç basamağını oluşturur. ROT ile indüklenen endotelial disfonksiyon mekanizmaları Şekil 14' de gösterilmiştir.¹³¹

Majör vasküler ROT olan $O_2^{\bullet-}$ ¹³² ve diğer radikaller NO ile reaksiyona girerek endotelial disfonksiyona sebep olurlar. NO ile $O_2^{\bullet-}$ reaksiyona girerek peroksinitrit oluşumuna yol açar. Peroksinitrit potent bir antioksidan olup proteinlerde, lipidlerde ve DNA'da oksidasyona neden olur. Ek olarak ROT vasküler düz kas hücrelerinde hipertrofi ve hiperplaziyi uyarır. Dahası ROT düzeylerinin artması çeşitli mekanizmalar yolu ile damarlarda proinflamatuvar durum gelişimini başlatırlar. Bu proinflamatuvar durum NF κ B ve lökosit adezyon molekül, vasküler hücre adezyon molekül gibi redoks duyarlı transkripsiyon faktörlerinin NO düzeylerindeki azalma veya Ang-II-bağımlı yollar ile aktivasyonu sonucunda daha da ilerler.¹³³



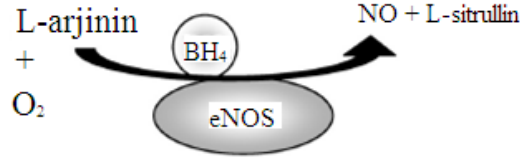
Şekil 14. ROT' un uyardığı endotelial disfonksiyon mekanizmaları. NO, nitrik oksit; ROCK, Rho-ilişkili kinaz; SOD, süperoksit dismutaz; VSMC, vasküler düz kas hücresi; VCAM-1, vasküler hücre adezyon molekülü-1; MAPK, mitojen ile aktive edilen protein kinaz; AP-1, plazminojen aktivatör inhibitör-1; ICAM-1, hücre içi adezyon molekülü-1; PI3K, fosfotidil-inositol-3-kinaz; ROT, Reaktif oksijen türleri; NFκB, nükleer faktör κB; eNOS, endotelial NO sentaz.

ADMA(Asimetrik Dimetil Arjinin) proteinlerde metillenmiş arjinin kalıntılarının proteolizi ile oluşan doğal bir amino asittir. Arjininin metilasyonu protein arjinin metiltransferaz(PRMT-1) enzimi ile katalizlenir. ADMA, eNOS' un endojen inhibitörüdür. NO üretim yolunda L-arjinin ile yarışarak eNOS' un oluşturduğu NO miktarını azaltır. ADMA' nın endotelial disfonksiyonda, aterosklerozisi de içeren ciddi patolojik durumlarda önemli bir role sahip olduğu

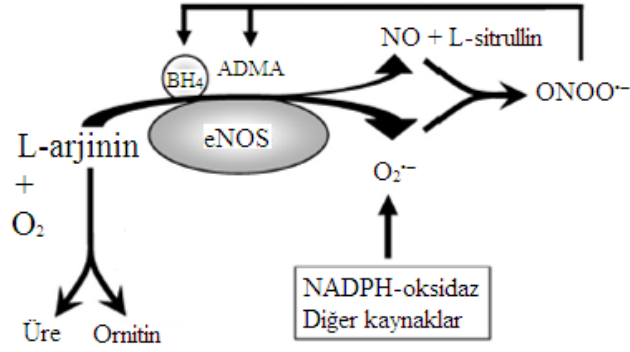
gösterilmiştir. Yüksek plazma ADMA konsantrasyonunun aterosklerozis ve akut koroner olayların riskindeki artışla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Güncel çalışmalar, plazma ADMA düzeyinin yeni tanı konmuş akut koroner sendromlu hastalarda, sağlıklı kontrol grubunu oluşturan katılımcılardan daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur. ADMA miktarı hücre içinde oluşan protein turnover hızına ve proteinlerdeki arjinin metilasyon derecesine bağlıdır. Aterosklerozisde görülen yüksek plazma ADMA düzeylerine neden olan mekanizma tam olarak bilinmemektedir. Vasküler endotel hücrelerinde PRMT-1 enziminin ekspresyonunun LDL ile up-regüle olduğu gösterilmiştir. ADMA' nın %90' ı dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz (DDAH) enzimi ile metabolize edilir. Ateroskleroz gibi eNOS ile yüksek miktarda NO oluşumu olan durumlarda, potent bir oksidan olan peroksinitrit ile oluşan nitrozation ile bu enzim inhibe olur.

Fizyolojik koşullarda, endotel hücresinde optimal konsantrasyonda kofaktör tetrahidrobiopterin varlığında, L-arjininden NO sentezlenir. Aterosklerozis gibi patolojik durumlarda, endotelyal tetrahidrobiopterin üretimi azalır, endojen eNOS inhibitörü olan ADMA yapımı artar ve arjinaz aktivitesi artarak L-arjinin eNOS uncoupling nedenler olan üre ve ornitine metabolize olur. Bu durum $O_2^{\bullet-}$ üretimine ve NO salınımında azalmaya neden olur. Endotel hücresinde, eNOS uncouplingi, tetrahidrobiopterinin aşırı derecede inaktive olması ve ADMA' nın artışı sonucu oluşan $O_2^{\bullet-}$ ' nun ve diğer enzimlerin etkisi ile NO' dan potent bir oksidan olan peroksinitrit($ONOO^-$) üretilir. Bu olayların sonucunda endotelyal disfonksiyon görülür ve bu da aterogenezis gelişimini başlatabilir(Şekil 15).¹³⁴

Fizyolojik durum



Aterosklerozis

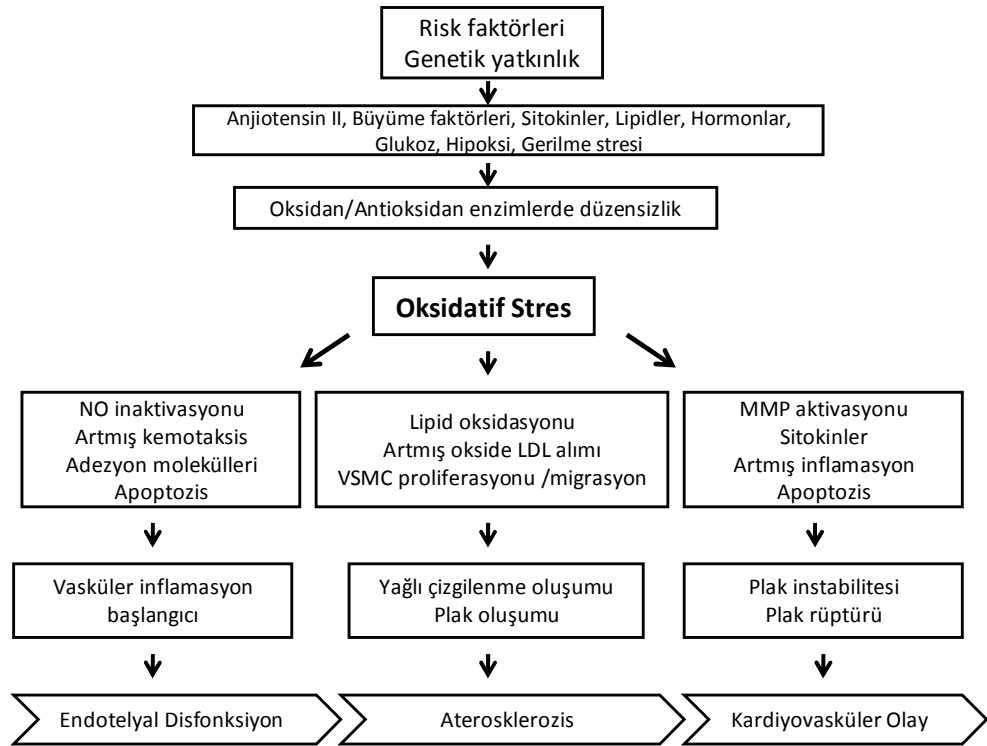


Şekil 15. Aterosklerotik endotel disfonksiyonunda eNOS uncoupling mekanizmaları.

Sonuç olarak ADMA birikimi olur. ADMA birikiminin açıklanmasında kullanılan bir başka hipotez ise tetrahidrobiyopterin eksikliğinin neden olduğu eNOS aktivitesindeki azalmadır. ADMA' nın yüksek konsantrasyonlarda bulunması, eNOS' un O₂^{•-} yerine daha fazla NO üretmesine yol açar. Bunun sonucunda DDAH enziminde ileri oksidasyona neden olarak ADMA miktarlarını daha da artırır. Ancak bu hipotezlerin kanıtlanması için daha ileri düzeyde araştırmalar gerekmektedir.¹³⁴

Kardiyovasküler risk faktörlerine zemin hazırlayan aterosklerozis de oksidatif stres ile ilişkilidir. Birkaç agonistik etkili durum ile patolojik durumlar,

oksidan ve antioksidan enzimlerin fonksiyonlarında disregülasyona yol açar ve sonuçta damardaki serbest radikal yükü artar. Oksidatif stres, hastalığın her evresinde hücrede aterosklerozis gelişimi ve ilerlemesini de içeren patolojik olayları tetikler(Şekil 16).¹³⁵



Şekil 16. Vasküler hastalıkta oksidatif stres ilişki ve patofizyolojisi. MMP, matriks metalloproteinaz.

Reaktif oksijen türleri, ekstrasellüler matriks proteinlerinin artmış birikimi ile vasküler yeniden yapılanmayı da biçimlendirir.¹³² MMP' ler çinko bağımlı, matriks içeriklerinin azaltılmasında işlev gören bir endopeptidaz ailesidir, dolayısıyla aterosklerotik süreçte vasküler ekstrasellüler matriksin yeniden yapılandırılmasına katılır. MMP' ler makrofajlar ve vasküler düz kas

hücrelerinden inaktif olarak sekrete edilirler. ROT' un, insan düz kas hücresi kültüründe MMP-2 ve MMP-9' u aktive ederek sırasıyla bazal membran ve elastinin yıkımını uyardığı gösterilmiştir. Özellikle peroksinitrit kardiyak dokuda MMP-2 artışını hızla aktive eder. Plazma MMP-9 düzeylerinin, aterotrombotik olayların tespit edilmesinde faydalı bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Son yıllarda MMP-9 aktivasyonunun ROT üretimine katkıda bulunabileceği gösterilmiştir. Böylece, muhtemel olarak, MMP-9 aterosklerotik süreçlerde NADPH oksidaz bağımlı ROT ürün hasarının potansiyel bir mediyatörüdür.¹²⁶

Güncel çalışmalar iNOS(uyarılabılır NO sentaz) tarafından üretilen NO' nun plak içinde $O_2^{\bullet-}$ ile reaksiyona girerek, lipid membranları oksitleyici yeteneğe sahip peroksinitrit, sülfidroksil bileşikleri, hidrosilleyiçi ve nitratlayıcı aromatikler gibi reaktif oksijen türlerinin oluşmasına neden olduğunu göstermiştir. Bu parametreler NFκB aktivasyonunu uyararak doku hasarına ve hücre ölümüne katkıda bulunabilir. NFκB apoptozis regülasyonuna katılan redoks düzenleyici protein olarak bilinir. Plak çekirdeğinde iNOS ile sentezlenen NO için diğer olası bir etki yolu ise, MMP' nin aktivasyonuna ve/veya makrofajlar ve düz kas hücrelerinde apoptozisin indüklenmesine neden olmaktadır. Bu durum neticesinde, aterosklerotik plakta hücre miktarı azalmakta, yapılar arası bağlantıların bütünlüğünün bozulması ile plak instabilitesi ve sonuç olarak ta rüptür görülebilmektedir.¹²⁶

Vasküler endotelyal disfonksiyon aterosklerozis gelişiminde bir erken habercidir. Gerçekten de, NO biyoaktivitesinin kaybı ile karakterize endotelyal

disfonksiyon, aterosklerozis gelişiminin ve gelecekte ortaya çıkması olası vasküler komplikasyonların erken bir göstergesidir. Nitrik oksit platelet agregasyonunda inhibisyona ve vazodilatasyona neden olurken, düz kasların proliferasyonunu ve lökositlerin endotele adezyonunu önler. Artmış ROT maruziyeti ve homeostatik dengenin bozulması sonucunda meydana gelen endotelial disfonksiyon, NO' nun zayıf salınımı ve vazokonstriktör pro-inflamatuar sitokinlerin üretimindeki artış ile karakterizedir ve sonuçta aterosklerozis ve plak formasyonu oluşumu için uygun ortam ortaya çıkmış olur.¹²⁶

Reaktif oksijen türleri miktarının artmasıyla ortaya çıkan NO mevcudiyetinin azalması vazokonstriksiyon, platelet agregasyonunun inhibisyonunda zayıflama, nötrofil adezyonunun uyarılması ile sonuçlanır. Endotel fonksiyon bozukluğuna neden olan bu değişiklikler, endotel hücrelerinde transkripsiyon aracılı gen ekspresyonuna ve hücre içi sinyal iletim yollarında değişikliklere katkıda bulunabilirler. Oksidatif stres fokal adezyon kinaz, paksillin ve p130^{Cas} gibi tirozin kinazlarda fosforilasyonu artırır, sonuçta artmış stres fiber formasyonu ve nötrofil-endotel hücresi adezyonu görülür. MAPK(mitojen activate protein kinase) ailesi ki serin/treonin kinaz bu ailedendir oksidatif stres için potansiyel bir hedeftir ve bu kinazlar oksidatif strese yanıtta anahtar bir rol üstlenirler. Seri fosforilasyon basamakları ile çeşitli hücre dışı sinyalleri, hücre içinde bir yanıtı çevirirler. Günümüzde memeli hücrelerinde ekstrasellüler sinyal düzenleyen kinaz(ERK), c-Jun N-terminal kinaz(JNK) ve p38 olmak üzere üç ayrı MAPK tanımlanmıştır. JNK ve p38, UV ışın, ozmotik stres, DNA hasarına neden

olan ilaçlar, ve proinflamatuvar sitokinler gibi hücrel stres durumlarına karşı güçlü yanıt verme özellikleri ile karakterizedirler. Bu MAPK basamaklarının(c-Jun dahil) hedefleri birkaç transkripsiyon faktörünü içerir ve hücrel stres durumunda oksidanlara maruziyet sonrasında aktive olurlar. Endotel hücrelerinde H₂O₂ ile p38-MAP kinaz aktive olur ve MAP kinaz aktive eden protein kinaz 2 oluşur. p38-MAP kinazın aynı zamanda, oksidatif stresin uyardığı ısı şok proteini 27 ile aktin filament reorganizasyonuna katkıda bulunduğu bilinmektedir. Diğer bir MAP kinaz olan ekstrasellüler sinyal düzenleyen kinaz H₂O₂' ye maruz kaldığında fosforillenerek endotel solüt geçirgenliği etkilemektedir. Ek olarak, Ras' ın, ROT stimülasyonu ile MAP kinaz aktivitesini artırma yönünde düzenleyerek, redoks stres sinyallerinin iletimine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Bazı reaktif aldehytlerin bu stres sinyal yolunun potansiyel uyarıcıları oldukları ve AP-1 in aktivasyonuna katıldıkları gösterilmiştir. AP-1 ve c-Jun' un majör komponentleri aktive olur olmaz birkaç genin transkripsiyonu da aktifleşir.¹³⁴

Birçok çalışma, ROT' un çeşitli hücre içi sinyal basamaklarında sapmalara neden olarak vasküler yeniden yapılanmadaki hücrel süreçlerde etkili olduğunu göstermiştir. ROT, ekstrasellüler sinyal düzenleyen kinazları(ERK), mitojen aktive eden protein kinazları(MAPK), hücre büyüme ve farklılaşmasındaki üyeleri, vasküler hasar ve kardiyovasküler yeniden yapılanmada görev alan reseptör ve non-reseptör tirozin kinazları, protein tirozin fosfatazları, hipertansiyon ve aterosklerozis ile ilişkili vasküler inflamasyonda rol alan

proinflamatuar genlerde ekspresyonu uyaran NFκB ve AP-1 gibi transkripsiyon faktörlerini kuvvetli olarak aktive eder.¹³²

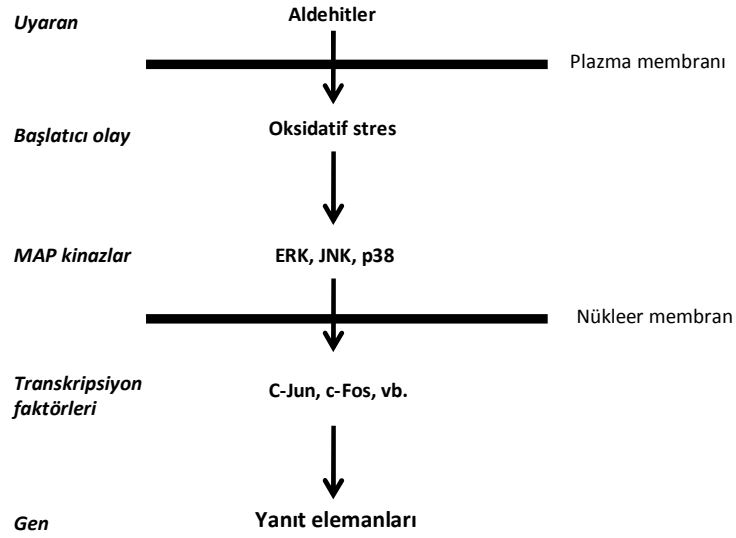
Oksidatif stresin aterosklerozis sürecine olan bir başka katkısı da proinflamatuar mediyatörleri uyarmasıylaadır. Örneğin, NFκB, AP-1(aktivatör protein) ve erken büyüme yanıt faktörü(egr-1) gibi proinflamatuar transkripsiyon faktörlerini uyarır ve bu H₂O₂' yi içeren oksidan duyarlı mekanizmalar ile gerçekleşir. Çünkü VCAM-1, ICAM-1 ve E-selektin gibi hücrel adezyon molekülleri, birçok sitokinler ve makrofaj koloni stimulan faktör gibi büyüme faktörleri, NFκB, AP-1 ve egr-1 için fonksiyonel DNA dizileri içerir ve bu transkripsiyon faktörlerinin uyarılması ile onlarında ekspresyonu uyarılır. Gerçekten de, aterosklerotik lezyonlarda düz kas hücrelerinin intimasında NFκB aktivasyonu gözlenmiştir. İlginç olarak NFκB aktivasyonu salisilatlar ve glukokortikoidler gibi antiinflamatuar ajanlar ve antioksidanlar ile inhibe olmaktadır. Gerçektende VCAM-1 gen ekspresyonu tiyoredoksin gibi antioksidanlarla baskılanmaktadır. Dahası, H₂O₂' ye maruz kalan endotel hücrelerinde bir adaptif yanıt olarak SOD ve CAT indüklenmektedir. Bu bulgular, aterosklerozisin oksidatif stres etkisi ile inflamatuvar bir süreç olarak başladığını ve yayıldığını göstermektedir. Böylece antioksidanlar, damar duvarında hücrel adezyon meleküllerinin, sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin uyarılması için gerekli olan proinflamatuar transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu inhibe ederek aterosklerozis gelişimini engellerler.¹³⁶

Ruef J ve ark.' ları 208 katılımcıyı dahil ettikleri bir çalışmada endotel disfonksiyonu belirteçleri olarak; NO, trombomodulin(TM), von Willebrand

faktör(vW), sVCAM-1, sICAM-1, sP-selektin, sE-selektin ve CRP' yi, oksidatif stres belirteçleri olarak; glutatyon, glutatyon peroksidaz, myeloperoksidaz(MPO), lipid peroksitleri, 8-izoprostan, süperoksit dismutaz, total antioksidan kapasite ve homosisteini olmak üzere 17 plazma parametresi çalışmışlardır. Çalışmada katılımcıları kontrol grubu(CO, n=46), koroner arter hastaları grubu(CAD, n=108) ve akut koroner sendrom grubu(ACS, n=54) olmak üzere 3 gruba ayırmışlardır. Çalışmanın sonucunda; TM, vW, SVCAM-1, CRP, SOD ve MPO düzeylerinde koroner arter hastalığının derecesine göre belirgin artış olduğunu (CO<SAP<ACS, p<0,05), NO ve sL-selektin düzeylerinde ise ters ilişki olduğunu gözlemlemişlerdir(p<0,05). Glutatyon, glutatyon peroksidaz, 8-izoprostan, lipid peroksitleri, total antioksidan kapasiteyide içeren diğer parametrelerin düzeylerinde ise gruplar arasında belirgin bir değişiklik olmadığını tespit etmişlerdir. Kardiyovasküler hastalığın şiddeti ve varlığında bazı belirteçlerin oksidatif stresten ziyade endotel disfonksiyonunu gösteren belirteçler olarak kullanılabileceği sonucuna varmışlardır.¹³⁷

Diğer yandan reaktif aldehytlerin NFκB sinyal yolunda da etkili olduğu gösterilmiştir. NFκB hücrel redoks durumları ile ilgili olan moleküller içerisinde üzerinde en çok çalışma yapılan moleküldür. Aterosklerotik lezyonlarda, immün yanıt ve inflamasyon sürecindeki gen regülasyonunda önemli bir role sahip olduğu düşünülmektedir. HNE' nin, IκB(kapa B inhibitörü) fosforilasyonunu inhibe ederek NFκB aktivasyonunu önlediği gösterilmiştir. Ayrıca IκB' den bağımsız olarak Akrolein ile NFκB aktivasyonunun azaltıldığı da rapor edilmiştir. Bu nedenle reaktif aldehytler ile NFκB düzenleyen gen ekspresyonunun down-

regülasyonu kronik inflamasyon ve diğer inflamatuvar dejeneratif hastalıkların erken dönemlerinde aterosklerozisin belirli düzeylerine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.¹³⁸



Şekil 17. Oksidatif stres aracılığı ile oluşan reaktif aldehitlere karşı hücresel yanıt.¹³⁸

Çeşitli çalışmalar ROT' un vasküler yeniden yapılanma ve vasküler hasarın büyüme sürecine daha fazla katkıda bulunduklarını göstermiştir. $O_2^{\bullet-}$ nin Anjiotensin tip I(AT-I) reseptör aracılı üretimi, NADPH oksidaz tarafından sağlanır ve bunu hücre içi H_2O_2 artışı takip eder. Anjiotensin tip II de uzun dönem yanıtlar(vasküler düz kaslarda hipertrofi ve hiperplazi) için ikincil haberci olarak bu sürece katılabilir. Anjiotensin II(AT-II) ile indüklenen hipertrofi, flavoprotein inhibitörü DPI' nin katalaz overekspresyonu yapması ve p22phox transfeksiyon duyarlılığını azaltması ile inhibe edilebilir. Böylece vasküler NADPH oksidaz' ın görevi desteklenmiş olur. Bu çalışmayı yapan araştırmacılar, NADPH oksidaz vererek damar duvarında hipertrofi geliştirmişler ve erişkin spontan hipertansif

ratın aortunda $O_2^{\bullet-}$ üretimi geliştirdiklerini rapor etmişlerdir. p22phox subüniti overeksprese olan transgenik fare kullanılan yeni bir çalışmada, vasküler düz kaslarda, artmış H_2O_2 ile vasküler hipertrofi arasındaki ilişkisi gösterilmiştir.

Redoks duyarlı inflamatuvar süreçler de hipertansiyonda vasküler yeniden yapılanmaya katkıda bulunur. İnflamatuvar süreçlerde gözlenen ICAM-1' in ekspresyonu aorttan aldosteron infüzyonu yapılan ratlarda artmış olarak gözlenmiştir. Dahası deneysel modellerde Anjiotensin II ile geliştirilmiş oksidatif strese, NADPH oksidaz' ın rolü açıkça gösterilmiştir. ICAM1 ekspresyonunun uyarılması doku hipertrofisi ile yakından ilişkilidir.¹³²

Sonuç olarak, endotelial redoks olayları NO ve $O_2^{\bullet-}$ arasındaki dinamik etkileşim ile primer olarak düzenlenir. NO, endotele platelet agregasyonunu ve lökositlerin adezyonunu inhibe eder. Artmış endotelial geçirgenlik, plazma proteinlerinin damar dışına çıkması ve hücreler ile inflamatuvar proteinlerin birikmesi ile sonuçlanır. Hipertansiyonlu hastalarda fagositik hücreler inflamasyon ve oksidatif strese katılırlar.¹³²

ROCK ailesi(küçük GTPaz Rho efektörleri); aterosklerozis patogenezinde de etkili olan hücre proliferasyonu, migrasyon, adezyon, apoptozis ve kontraksiyon gibi önemli hücresel fizyolojik fonksiyonlara aracılık eder. ROCK' lar ROCK-1 ve ROCK-2 olmak üzere 2 izoformdan oluşur ve hedefleri RhoA' dır. RhoA/ROCK yolağı aterosklerotik lezyonlarda, vazokonstriksiyon ve miyokardiyal hipertrofide, hipertansiyonlu hastalarda ve bunların koroner arter hastalığında gösterilmiştir. Sauzeau ve arkadaşları, NO' nun vasküler düz kas sitozol membranında RhoA translokasyonunu inhibe ettiğini göstermişlerdir. Ek

olarak eski çalışmalar kullanılarak fasudil veya Y-27632 gibi ROCK inhibitörleri gösterilmiştir. ROCK' ların kardiyovasküler hastalık patogeneğinde önemli bir rol oynayabileceği düşünölmektedir. Deneysel ve klinik çalışmalar, kardiyovasküler hastalıklarda ROCK' ların önemli terapötik hedefler olabileceği gösterilmiştir. Çeşitli araştırmacılar RhoA/ROCK yolağı ile ROT arasında bir etkileşim olduğunu göstermişlerdir. Gerçektende, hiperglisemi ile oluşturulan ROCK aktivitesinin uyardığı ROT, vasküler endotel hücrelerinde plazminojen aktivatör 1' in ekspresyonunun artırılması yoluyla aterotrombogenezise neden olur. Çok iyi bilinir ki sigara içilmesi ROT aktivasyonu yoluyla NO mevcudiyetini azaltır. Birçok araştırmacı in vivo ve in vitro şartlarda damar düz kas hücrelerinde sigara ile ROCK aktivasyonunun geliştirildiğini ve ROCK aktivitesi ile oksidatif stres arasında muhtemel bir ilişki olduğunu göstermişlerdir. Birlikte ele alındığında bulgular göstermiştir ki; ROCK aktivitesi, endojen NO ve oksidatif stres arasında bir ilişki mevcuttur.¹³¹

Tüm bu kanıtlara rağmen ROT' un kesin moleküler hedefleri tam olarak anlaşılamamıştır. ROT' un etkilediği fizyolojik süreçler insanların yanı sıra hayvan modellerinde deneysel olarak analiz edilmiştir ve hipertansif vasküler hastalığın gelişiminde; vasküler yeniden yapılanma gibi yapısal ve fonksiyonel değişiklikler, ekstrasellüler matriks proteinlerinin yaygın birikimi, inflamatuvar süreçler ve artmış endotelial permeabilite gibi önemli rolleri olduğu gösterilmiştir.¹³²

2.5. Koroner Arter Hastalığı ve Selenyum

Uzun bir süredir kardiyovasküler hastalıkların önlenmesi ile selenyum ilişkilendirilmektedir.¹³⁹ İnsanlarda ve deneysel olarak hayvanlarda selenyum ile kadiyomiyopatinin ilişkisi gösterilmiştir. Ancak, aterosklerotik kalp hastalığı ile selenyum ilişkisi henüz tartışmalıdır. Diyetle selenyum alımı eksikliğinin neden olduğu kalbi de içeren patolojik semptomlar birçok hayvan türünde gösterilmiştir.¹⁴⁰ Araştırmacılar, hayvanlar üzerinde yaptıkları çalışmaların sonuçlarında kardiyotoksik elementler, kardiyotoksik ksenobiyotikler ve kalbi etkileyen viral enfeksiyonlara karşı selenyumun koruyucu olduğunu rapor etmişlerdir.¹⁴¹

Selenyum konsantrasyonunun <55 µg/L olması ile koroner kalp hastalığı riskinde artış arasında ilişki olduğu daha önceden yapılmış çalışmalarla gösterilmiştir. Bu anlamda hayvanlarda ve insanlarda hem çevre hem de kan selenyum düzeyleri ile koroner hastalık insidansı arasında ters bir korelasyon saptanmıştır. Çeşitli araştırmacılar konjestif kalp yetmezliği ve diğer kardiyovasküler hastalıkları olan hastalarda, sağlıklı katılımcılara göre plazma selenyum konsantrasyonlarının belirgin olarak düşük olduğunu göstermişlerdir. Ancak bu hastalıklarda düşük selenyum konsantrasyonlarının etki mekanizması kesin olarak bilinmemektedir.¹³⁹

Selenyumun kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu olabileceği hipotezi GSH-Px' in lipidlerin oksidatif modifikasyonu ile savaşması ve platelet agregasyonunu azaltması yetenekleri ile desteklenmektedir. Selenyum

eksikliğinde hidroperoksitler birikir ve bunlar vasküler endotele saldırabilir. Ayrıca tromboksan üretiminin uyarılması sonucunda platelet agregasyonu ve vazokonstriksiyon gelişir. Düşük plazma selenyum düzeyleri ile ortaya çıkan bu mekanizmalar, aterosklerozis etkeni olabilirler.¹⁴²

Selenyum eksikliğinde KAH riskini artıran muhtemel mekanizmalar şu şekilde sınıflandırılabilir;

1. Azalmış antioksidatif kapasite

- a- Lipid peroksidazların intimal hasarı arttırması

- b-Önemli miyokardiyal iskemide oksijen toksisitesine karşı hassasiyetin artması

- c- Prostatiklin sentezinin azalması

2. Katekolaminlere karşı hassasiyetin artması

3. Kadmiyum ve civa gibi kalp ve böbrekler için toksik olan ağır metallere karşı korunmanın azalması

4. Aktif transportun bozulması

Selenoproteinler, serbest radikaller ve ROT' larla oluşan hasara karşı aktif etkili koruyucu olarak çeşitli antioksidan sistemlerin önemli komponentleridirler. Deneysel çalışmalar bu selenyum sistemlerinin kardiyovasküler hastalık riskini çeşitli mekanizmalar yoluyla azalttığını düşündürmektedir.

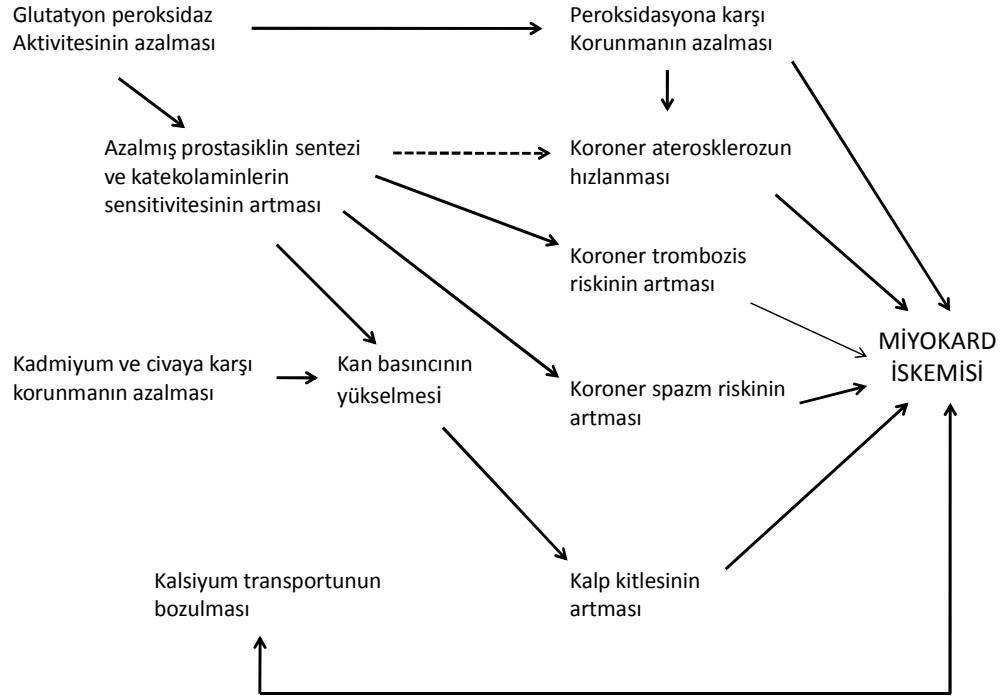
Antioksidan savunma sistemleri, diabetes mellitus, hipertansiyon, hiperlipidemi, hipoksi nedeniyle oluşan ROT' ların neden olduğu vasküler ve doku hasarını azaltabilirler. Selenyum ilişkili sistemler ayrıca lipidlerin oksidasyonunu azaltarak okside LDL partiküllerinin neden olduğu vasküler

endotel hasarına karşı koruyucu etki de gösterirler. Selenyum birleşikleri miyokardiyal fonksiyon ve hasara yanıt olarak direkt etki de gösterebilirler. Hayvan çalışmalarında, kardiyomiyozit GSH-Px aktivitesi ile selenyum tüketiminin arttığı bunun sonucunda da kalpteki iskemi-reperfüzyon hasarının düzeldiği, mitokondri ve sarkomerlerdeki iskeminin uyardığı yapısal değişikliklerin sınırlandırıldığı ve miyokardiyal infarkt boyutunun azaldığı gösterilmiştir. Diabetik hayvanlarda, selenyumun, kardiyomiyozit glutatyon redoks siklusunu düzenlediği ve potasyum akışında değişiklik yaparak kalbin mekanik ve elektriksel disfonksiyonlarında iyileşme sağladığı tespit edilmiştir.

Selenyum ayrıca DM' nin indüklediği miyofibril kaybı, miyozit çapında azalma ve miyofilament dejenerasyonu gibi yapısal miyozit anomalilerini de önlediği gösterilmiştir. Selenyum alımının ayrıca ratlarda iskemi ile uyarılan ventriküler aritmilerin insidansını belirgin olarak azalttığı belirlenmiştir.¹⁴³

Tablo 11. Selenyumun KAH riskini azaltabileceğini deneysel olarak gösteren etkileri.¹⁴³

<u>Sistemik etkileri</u>
✓Reaktif oksijen türleri ve serbest radikallere karşı antioksidan savunma
✓Lipid peroksidasyonunu azaltma
✓Okside LDL partikülünden kaynaklanan vasküler hasara karşı koruma
✓Plazma tromboxan A ₂ düzeyini azaltarak antitrombotik etki
<u>Direkt Kardiyovasküler Etkiler</u>
✓Miyokardiyal glutatyon peroksidaz aktivitesini arttırmak
✓Gelişen kardiyak iskemi-reperfüzyon hasarını düzeltme
✓İskemi ve DM' nin indüklediği yapısal hasarı sınırlandırma
✓Miyokardiyal infarktın boyutunu azaltma
✓Değişmiş miyozit iyon akımlarını düzenleme
✓İskemi ile uyarılan ventriküler aritmilerin insidansını azaltma



Şekil 18. Selenyum eksikliğinde koroner arter hastalığı riskini arttıran olası yollar.¹⁴⁰

Bazı çalışmalarda, selenyum eksikliğinde, KAH risk faktörlerinden olan düşük HDL-kolesterol seviyesi ve yüksek kan basıncı rapor edilmiştir. Bu çalışmalarda selenyum seviyesi ile kan basıncı, yaş, sigara ve cinsiyet arasında bir ilişki saptanmamıştır. Fakat, serum kolesterol miktarı 200 mg/dL' nin üzerinde olanlarda selenyum miktarı anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. Miettinen ve ark.' da, selenyum ile kan basıncı, sigara, obezite, serum trigliserit ve kolesterol düzeyleri ve DM arasında bir ilişki bulamamışlardır. Bu araştırmacılar, selenyum düzeyi ile eikozapentaenoik asit ve diğer poliansatüre yağ asitleri arasında pozitif bir ilişki olduğunu ileri sürmüşler ve poliansatüre yağ asitleri ve KAH arasındaki ilişkiyi de göz önüne alarak, selenyum eksikliğinin KAH için bir risk oluşturmayacağını, asıl riskin poliansatüre yağ asitleri düzeyinin düşüklüğü

olduğunu rapor etmişlerdir. Ancak, yapılan bu çalışmada serum selenyum miktarı 50-105 µg/L arasında değişmekteydi ve bu değerler selenyum eksikliğinin KAH için bir risk olarak kabul edilebileceği seviyenin üzerinde idi. Yapılan bir diğer çalışmada, 91 olguda selenyum düzeyi ile anjiyografik olarak KAH' ın yaygınlığı arasında ters bir ilişki olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ancak, bu çalışmada iki ve üç damar hastalığı olanlar arasında farklılık saptanmamış, sadece, iki ve üç damar hastalığı olanlarda selenyum düzeyi normal koroner arterli olgulardan daha düşük bulunmuştur ($p<0.05$ ve $p< 0.001$). Bu çalışmada ki olgularda hastalıklı damar sayısı ile selenyum düzeyi arasında bir ilişki bulunamamıştır. 7 yıl süresince olguların izlendiği bir çalışmada, selenyum düzeyi <45 µg/L olanlarda fatal veya nonfatal AMİ relatif riski, 2,1 bulunmuştur. AMİ' li 81 katılımcının dahil edildiği bir araştırmada, katılımcıların yarısına 6 ay süre ile selenyumdan zengin diyet, yarısına da normal diyet verilmiş ve ilk grupta reinfarktüs ve kardiyak ölüm daha seyrek bulunmuştur. Domuzlarda yapılan bir çalışmada, sodyum selenit infüzyonuyla kardiyak aritmilerin azaldığı, koroner rezistansın azalarak koroner kan akımının arttığı gösterilmiştir. Düşük selenyum miktarı ile KAH arasındaki ilişki direkt olmayıp, selenyumdan fakir diyetle KAH oluşumunda rolü olan diğer faktörler arasında da olabilir. Örneğin, kronik alkoliklerde hem serum selenyum düzeyi düşük, hem de KAH' dan ölüm riski yüksektir. Aynı şekilde, diyetteki "eser" elementler, vitaminler ve yağ içeriği arasındaki ilişki vardır. Finlandiya' da yapılan bir araştırmada, bu ülke için önemli bir selenyum kaynağı olan balık etinin aynı zamanda poliansatüre yağ asitleri ve özellikle eikozopentaenoik asit

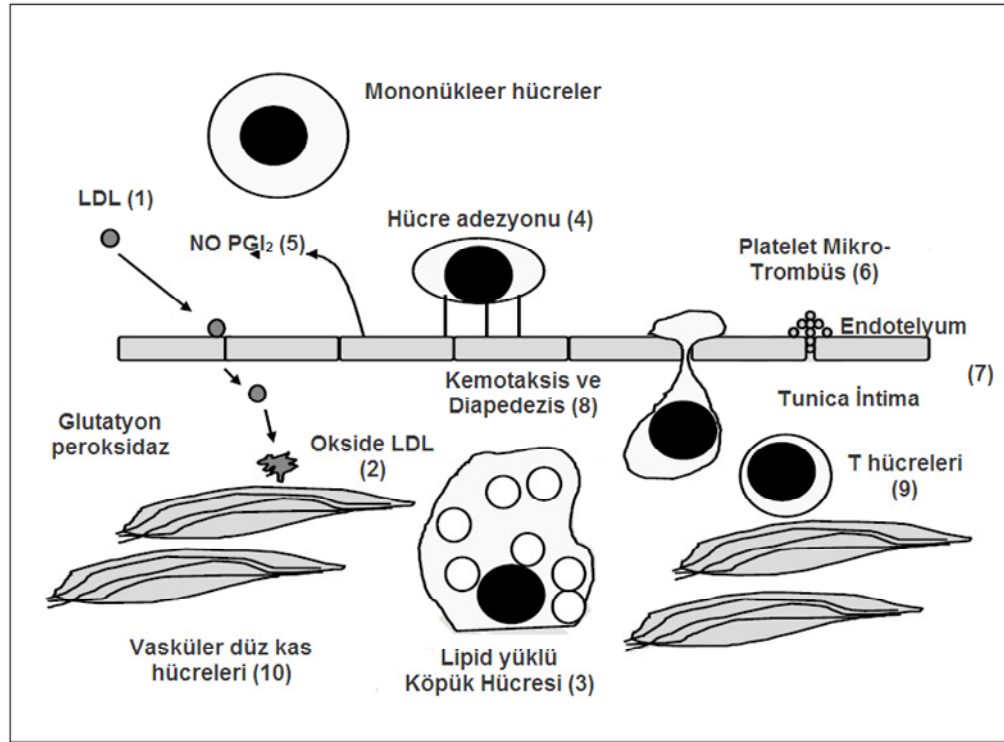
bakımından da çok zengin olduğunu vurgulanmıştır. Sonuç olarak; koroner arter hastalığı olan olgularda selenyum seviyesi düşük bulunmuştur.¹⁴⁰

Selenyumun koruyucu etkileri kısmen de araşidonik asit metabolizması üzerine olan etkisi ile de açıklanabilmektedir. Endotel hücreleri nontrombojenik bir yüzey sağlayarak, kan damarı duvarındaki düz kas hücreleri ve dolaşımdaki plateletler ve monositler arasında bir ara yüzey oluştururlar. Normal endotelyum vasküler tonusu ve geçirgenliği düzenleyen karmaşık yapıli çeşitli eikazonoidler içerir. Örneğin platelet agregasyonu inhibitörü ve güçlü vazodilatör olan prostaglandin I₂ (PGI₂) ile platelet agregasyonunu sağlayan ve vazokonstrüktör olan tromboksan A₂ (TXA₂) gibi. PGI₂ üretiminin TXA₂ üretimine oranının trombozis, aterosklerozis ve hipertansiyonda önemli bir belirleyici olduğu düşünülmektedir. Son zamanlarda selenyum bağımlı GSH-Px' in, reaktif yağ asidi hidroperoksitlerini azaltma kapasitesine sahip olduğu ve siklooksijenaz ve lipooksijenaz aktivitelerine etkili olabileceği gösterilmiştir. Ayrıca son zamanlarda araşidonik asit metabolitlerinin salınımı üzerine, azalmış GSH-Px aktivitesini belirlemek için bir selenyum-eksik hücre kültürü modeli kullanılmıştır. Bu çalışmada, endotelyal hücrelerde araşidonik asit basamaklarında, siklooksijenaz ve lipooksijenaz yollarında selenyumun düzenleyici olabileceği gösterilmiştir. Selenyum eksikliği, 15-hidroperoksieikoztetraenoik asit (15-HPETE) ve TXA₂ aşırı üretimine yol açarken, PGI₂, PGE₂ ile PGF₂' nin ise üretiminde azalmaya yol açmıştır. Bu değişikliklerin endoteldeki değişikliklere neden olabileceği varsayılmıştır.³

Böylece, endotelial hücrelerdeki GSH-Px aktivitesi, hücrel yağ asidi hidroperoksitlerinin düzeyini kontrol ederek aterogenezi önemli koruyucu bir rol oynayabilir. Hidrojen peroksit ve lipid hidroperoksitler, redoks duyarlı transkripsiyon nükleer faktör(NFκB)' ün aktivasyonu ile ilişkilidirler. Bu faktörün vasküler endoteliumda proinflatuar yanıtları artırarak aterosklerozisin başlangıcında kritik bir rol oynadığı öngörülmektedir. Glutasyon peroksidaz, hücre içinde sırasıyla H₂O₂, yağ asidi hidroperoksitleri ve reaktif alkollerin düzeylerinin azalmasını sağlayarak, NFκB' nin aktivasyonunun inhibisyonuna ve aterosklerozis riskinde azalmaya yardımcı olmaktadır.³

Selenyumun aterogenezi etkili olabileceğini düşündüren bir başka yol ise immün sistemdeki hücreler üzerine direkt etkisidir. Glutasyon peroksidaz' ın fagositik hücrelerdeki solunum patlamasında oksidatif ürünleri düzenlediği bilinmektedir. Selenyum eksikliği, makrofajlarda süperoksit ve H₂O₂ üretim hızlarında artmaya neden olurken, diyetle selenyum desteği bu süreçleri yavaşlatmaktadır ve süperoksit üretim hızlarındaki bu azalma, LDL' nin oksidasyonunu da azaltmakta böylece aterogenezi üzerinde olumlu etki yapmaktadır. T helper hücreleri üzerindeki CD4⁺ moleküller, makrofajlar tarafından alınan okside LDL moleküllerinin sunulması aşamasında, MHC Class II ile sunulan ürünlerin tanınmasından sorumlu iken, CD8⁺ moleküller Class I ile sunulan ürünlerin tanınmasından sorumludur. Makrofajlar ve CD4⁺ T hücreleri arasındaki etkileşim aterogenezi arttırıcı sitokinlerin salınımına neden olmaktadır. Bu nedenle, CD8⁺ T sitotoksik hücrelerin yüzdesindeki artış ve CD4⁺ T helper hücrelerinin yüzdesindeki azalma dolayısıyla, sitokinlerin üretimindeki

düşüş aterogenezis üzerine olumlu etki yapacaktır hipotezi öne sürülebilir. Reaktif oksijen türlerinin salınımının azalması üzerine olan bu etkiler, otoimmün yanıtı ve daha önce bahsedilen inflamatuvar sitokinleri azaltacaktır.³



Şekil 19. Selenyum durumunun plateletler, lökositler, düz kas hücreleri ve endotel hücreleri üzerine olası etkileri.

(1). Lipoprotein metabolizması. Selenyum muhtemelen tiroid hormon metabolizması üzerine etki eder ve periferik LDL yıkımını arttırarak LDL düzeylerini azaltır.

(2). Lipoprotein oksidasyonu. Selenyum in vitro LDL' nin oksidatif modifikasyonunu engeller.

(3). Selenyum LDL' nin in vitro oksidasyonuna karşı direnci belirgin olarak arttırır bu nedenle Köpük hücre oluşumunu engelleyebilir.

(4). Selenyumun insan endotel hücrelerince yapılan ICAM-1 ve VCAM-1' in sitokin duyarlı ekspresyonunu düzenlediği öne sürülmektedir.

(5). Selenyum eksikliği, prostaglandin üretiminde, prostasiklinden tromboksan A₂' ye kaymayı indükleyebilir.

(6). Serum selenyum düzeyleri platelet agregasyonu ile yakın ilişkilidir ve tromboksan A₂ üzerine de olası etkileri vardır.

(7). Selenyum eksikliği endotel hasarı yapan lipid hidroperoksitlerin artışıyla ilişkilidir.

(8). Selenyum LDL oksidasyonunda kemotaktik ürünlerin üretimini potansiyel olarak engeller.

(9). Selenyum eksikliği, dolaşımdaki T hücrelerinin azalması ve azalmış lenfosit yanıtını da içeren bozulmuş hücre aracıli immün fonksiyon ile ilişkilidir.

(10). Selenoenzimler, köpük hücreleri oluşumunu dolayısı ile vasküler düz kas hücre proliferasyonunu uyaran büyüme faktörlerinin salınımını engeller.³

Selenyumun koruyucu etkileri onun kadmiyum ve civa gibi diğer eser elementlerle olan etkileşimleri ile de açıklanabilir. Bu elementler oldukça toksiktir ve selenyum, daha az toksik selenidlerin oluşumu yoluyla veya bu katyonların daha az kritik proteinlerine bağlanmalarını sağlayarak etkili olabilir. Son zamanlarda, selenyum eksikliği olan ratlarda serum serbest homosistein düzeylerinde yükselme gözlemlendiği, bu nedenle selenyumun homosistein metabolizması üzerine de etkili olduğu rapor edilmiştir.³

Birçok çalışmada serum veya plazma selenyum konsantrasyonunun aterosklerozisin yanı sıra akut miyokardiyal infarkt, konjestif kalp yetmezliği, kardiyomiyopati, hipertansiyon, kronik kalp hastalığı, iskemik kalp hastalığını da içeren çok farklı kardiyak patolojilerde de belirgin olarak az olduğu gösterilmiştir.

Ancak selenyum düzeylerindeki bu azalmanın etyolojik faktör olup olmadığı veya biyolojik sonuçları net olarak açık değildir. Açık olan bir şey var ki o da selenyum eksikliği bu riskleri arttırmaktadır. Selenyum eksikliğinde GSH-Px ve TrxR' nin antioksidan aktivitesindeki azalma diğer bir faktör olarak dikkate alınmalıdır. Selenyum eksikliği, AMİ, koroner bypass cerrahisi ve koroner anjioplastiyi takiben oluşan iskemi reperfüzyon hasarına da katkıda bulunabilir.³

2.5.1. Selenyum ve Kardiyovasküler Risk Faktörleri

2.5.1.1. Hipertansiyon(HT)

Antioksidan beslenmenin hipertansiyondan koruduğu hipotezleri mevcut olmasına rağmen kan basıncı üzerine selenyumun etkilerini değerlendiren çok az sayıda randomize çalışma vardır. HATS(HDL-Atherosclerosis Treatment Study) çalışmasında selenyum içerikli destek, plasebo ile karşılaştırıldığında kan basıncı düzeylerine etkisi olmadığı gösterilmiştir.

Çin'in Linxian bölgesinde yapılan 50 µg selenyum, 60 mg α-tokoferol, 15 mg β-karoten desteğini içeren bir çalışmada destek alan grupla plasebo karşılaştırıldığında bu desteğin; izole diastolik hipertansiyon sıklığını arttırdığı ancak sistolik kan basıncı üzerine etkili olmadığı gözlenmiştir.¹⁴⁴

Çok az gözlemsel çalışma selenyum ve kan basıncı düzeyleri arasındaki ilişkiyi değerlendirmiştir. Ancak bunlardan elde edilen bulgular tutarsızdır. FLEMENGHO (Flemish Study on Environment Genes and Health Outcomes) çalışmasında; erkeklerde yüksek kan selenyum düzeylerinin daha düşük sistolik-diastolik kan basıncı düzeylerine yol açtığı ve hipertansiyon riskinin de az olduğu gösterilmiştir. Finlandiya'da 722 Fin erkekte yapılan çapraz-kesitsel bir çalışma

olan EVA (Etude du Viellissement Arteriel) çalışmasında ise serum selenyum düzeyleri ile sistolik kan basıncı düzeyleri arasında bir ilişki tespit edilememiştir. Hatta bu çalışmada hipertansiyonu olan erkeklerdeki selenyum düzeyleri, major kardiyovasküler risk faktörü bulunmayan erkeklerden daha yüksek olarak tespit edilmiştir.¹⁴⁴

2.5.1.2. Diabetes Mellitus

NPC(National Prevention of Cancer) çalışmasında 7,7 yıl boyunca 200 µg/gün selenyum alan katılımcılar plaseboyla karşılaştırıldığında DM riski selenyum alan grupta artmış olarak gösterilmiştir(tehlike oranı 1,50, %95 CI 1,03-2,33). Bu risk artışının özellikle serum selenyum dağılımının en yüksek olduğu(>121,6 ng/mL) ¼ lük gruptaki katılımcılarla sınırlı olduğu görülmüştür(tehlike oranı 2,70, %95 CI 1,03-5,61). İki geniş gözlemsel çalışma da bu bulguları teyit etmiştir. NHANES III (Third National Health and Nutrition Examination Survey) çalışmasında ABD popülasyonunda; DM prevalansı, serum selenyum düzeyi en yüksek olan($\geq 137,66$ ng/mL) ¼ lük grupta, serum selenyum düzeyi en düşük olan(<111,62 ng/mL) ¼ lük gruba göre daha yüksek bulunmuştur. 7,5 yıl süren SU.VI.MAX (Supplementation with Antioxidant Vitamins and Minerals, France) çalışmasında; bazal plazma selenyum düzeyleri açlık plazma glukoz düzeyleri ile pozitif ilişki göstermiştir. Buna rağmen EVA(Etude du Viellissement Arteriel) çalışmasında serum selenyum düzeyleri ile erkek ve kadınlardaki serum glukoz düzeyleri ve DM prevalansı arasında pozitif bir ilişki gösterilememiştir. Yapılan iki çapraz-kesitsel çalışmada ise DM

prevelansı ile selenyum düzeyleri arasında ters veya anlamsız ilişkiler rapor edilmiştir.¹⁴⁴

2.5.1.3. Lipid Düzeyleri

Selenyumun lipid düzeyleri üzerine etkileri tam olarak bilinmemektedir. Yapılan iki çalışmada selenyum verilen katılımcılarda, verilen selenyumun lipid profili üzerine potansiyel zararlı etkileri rapor edilmiştir. SU.VI.MAX. çalışmasında; selenyum düzeyleri total kolesterol düzeyleri ile pozitif ilişkili olarak bulunmuştur.¹⁴⁴

Yine aynı çalışmada plasebo ile karşılaştırıldığında; selenyum alan kadınlarda yüksek total kolesterol düzeyleri erkeklerde ise lipid düşürücü ilaç kullanmayı gerektirecek kadar yüksek total kolesterol düzeylerine rastlanmıştır. Yine SU.VI.MAX çalışmasında; selenyum desteği alan kadın ve erkeklerde yüksek trigliserit düzeylerine, sadece erkeklerde ise düşük HDL kolesterol düzeylerine rastlanılmıştır. EVA çalışmasında; erkeklerde, plazma selenyum düzeyleri ile total kolesterol ve LDL kolesterol düzeyleri arasında, kadınlarda ise selenyum düzeyleri ile HDL kolesterol ve Apolipoprotein A1 düzeyleri arasında pozitif bir ilişki tespit edilmiştir.¹⁴⁴

Günlük tolere edilebilecek üst sınır olan 400 µg' ın altındaki selenyum miktarının bile DM ve hiperkolesterolemi riskini arttırabileceği düşünülmektedir. Selenyum ilişkili artmış DM ve hiperkolesterolemi riskinin mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. Selenyumun paradoksik olarak oksidatif stresi arttırabileceği düşünülmektedir. Azalmış glutatyon varlığında selenit ve metilselenolün doz bağımlı olarak süperoksit üretebileceği düşünülmektedir.¹⁴⁴

Güncel deneysel ve epidemiyolojik çalışmalar, yeterli selenyum alan popülasyonlarda selenyum alımının arttırılmasının kardiyovasküler risk faktörleri üzerine olan etkilerini açıklayacak yeterli düzeyde bilgiler sağlamamıştır. Selenyum içerikli beslenme ile ilgili güncel çalışmalar yüksek veya normal selenyum düzeylerinin DM ve hiperkolesterolemi risklerini artırabileceği endişesi oluşturmuştur. Selenyum alımı hakkında sağlıklı bilgiler elde edebilmek için selenoproteinlerin fonksiyonlarının net olarak bilinmesi gerekmektedir ve maalesef günümüzde yeterli bilgiler elde edilememiştir. Selenyum düzeyleri ve kardiyovasküler risk faktörleri arasındaki ilişkileri açıklamak için yoğun çalışmalar halen devam etmektedir. Selenyumun kardiyovasküler yararları düşük selenyumlu diyet ile beslenen popülasyonlarda daha açık veriler sağlayabilir ama bu popülasyonlarda tek başına selenyum desteği olarak geniş randomize çalışmalar yapılmamıştır. Klinik olarak bakıldığında selenyum desteğinin kardiyovasküler risk faktörlerinden korunma için tavsiye edilmediği kabul görmektedir. Yüksek selenyum alımı olan bölgelerde yaşayanlara ekstra selenyum desteği yapılmasının DM ve hiperkolesterolemiye yol açabileceğinin farkına varılmıştır.¹⁴⁴

Salonen ve ark.'nın 1982' de yaptığı çalışmanın sonuçlarında serum selenyum düzeyleri ile koroner arter hastalığından ölüm riski arasında ters ilişki bulunmuşken, Miettinen ve ark.'nın 1983' de ve Kok ve ark.'nın 1987' de yaptıkları çalışmaların sonuçlarında böyle bir ilişki tespit edilmemiştir. Ayrıca miyokardial infarktüs nedeniyle ölenler ile infarktüsün neden olmadığı diğer başka nedenler nedeniyle ölenlerin dokularındaki selenyum düzeyleri

karşılaştırıldığında, iki grup arasında belirgin bir fark bulunamamıştır(Ringdal ve ark. 1986).¹⁴⁵

Flores-Mateo ve ark., selenyum ve koroner kalp hastalığı arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla bir metaanaliz yapmışlardır. Bu metaanaliz 25 gözlemsel çalışmayı (14 kohort, 11 vaka kontrol çalışması) ve 6 randomize çalışmayı içermiştir. Selenyum konsantrasyonları ve koroner kalp hastalığı arasında istatistiksel olarak orta derecede anlamlı ters ilişki gözlenmiştir. Bu gözlemsel çalışmalarda selenyum konsantrasyonundaki % 50' lik bir artışın koroner olayların riskinde % 24 oranında azalmaya neden olduğu gözlenmiştir. Birkaç randomize çalışmada koroner olaylarda küçük belirgin olmayan (~%11) azalma gözlenmiştir.¹⁴⁶

Birçok kohort çalışmasında Koroner Kalp Hastalığı insidansı ve plazma/serum selenyum düzeyleri arasında prospektif ilişki değerlendirilmiştir. Bu çalışmaların 11 tanesi Avrupa' da, 1 tanesi de Çin' de ve relatif olarak düşük selenyum alımı olan popülasyonlarda yapılmıştır. Yapılan bu çalışmaların çoğunda; ABD' de yürütülen bir çalışmada selenyum düzeyi relatif olarak yüksek(113 µg/L) olan örnek bir popülasyonda; AMİ insidansı ve riskinin belirlenmesi için en yüksek(≥ 134 µg/L) ve en düşük(≤ 92 µg/L) selenyum içeren 1/5' lik gruplar karşılaştırılmış ve rölatif risk 1,53(%95 CI 0,61-3,84) olarak tespit edilmiştir. Bu prospektif çalışmaların bulgularını içeren metaanalizlerde KAH' da relatif risk, en yüksek ile en düşük selenyum düzeyleri karşılaştırıldığında 0.84(%95 CI 0,71-0,99) olarak bulunmuştur. Bu metaanalizlerde; selenyumun sınır değeri olarak 70 µg/L alınmış ve KAH ile selenyum arasındaki ilişkide

istatistiksel olarak belirgin bir fark saptanmamıştır. Kısıtlı sayıda çalışmanın olması, selenyum düzeyi ile fonksiyonel ilişkisi arasındaki farklılıkları tanımlamayı zorlaştırmaktadır.¹⁴⁴

Yüksek kalitede prospektif çalışmalardan elde edilen güncel kanıtlar KAH riski ve selenyum düzeyleri arasında hafif bir ters ilişki olduğunu desteklemektedir. Bununla birlikte antioksidan bileşikler ve gözlemsel çalışmalarının yorumları karışıktır ve bazı metodolojik problemler vardır. Yüksek selenyum alımı veya destek kullanımı sosyoekonomik düzey, eğitim ve diğer faktörlerle ilişkilidir. Yine çevresel ve genetik faktörler de alımdan bağımsız olarak selenyum konsantrasyonunu etkiler. Ek olarak selenyumun etkilerinin temel serum selenyum düzeylerine bağımlılığı açık değildir.¹⁴⁴

Bu bulgulara rağmen, araştırmacılar selenyum ve koroner olaylarla ilgili herhangi bir ilişkinin geçerliliğini gözlemsel çalışmaların doğası gereği ve koroner kalp hastalığında selenyumun koruyucu rolünün halen yeterli düzeyde belirlenememiş olması nedeniyle halen sorgulamaktadırlar.¹⁴⁶

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma; Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı' nda ve Gazi Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi' nde(GÜDAM) çalışılmış olup Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir(Proje kodu: 01/2009-28).

3.1. Kullanılan Gereçler

3.1.1. Deney Grupları

Numuneler Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dr. Rıdvan EGE Hastanesi Kardiyoloji AD. Anjiyografi bölümünden temin edilmiştir. Araştırma için Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dr. Rıdvan EGE Hastanesi Etik Kurulu' ndan gerekli izin alınmıştır. Çalışmada toplam 88 hastaya ait plazma numune olarak kullanılmıştır. Numuneler çalışılacak olan zamana kadar -80 °C' de saklanmıştır.

Katılımcılara yapılan anjiyografik tetkik sonrası katılımcıların koroner arter hastalığı derecesi Gensini tarafından tanımlanan stenoz skorlaması ile belirlenmiştir. Gensini skoru; anjiyografik stenoz derecesine göre, %0-25 arası darlık için 1 puan, %25-50 arası darlık için 2 puan, %50-75 arası darlık için 4 puan, %75-90 arası darlık için 8 puan, %90-99 arası darlık için 16 puan, %100 total lezyon için 32 puan verildikten sonra her bir ana koroner arter ve her bir segment için tanımlanmış olan katsayı ile çarpılarak ve sonuçlar toplanarak elde edilir.¹⁴⁷ Katılımcıların numuneleri, Gensini skoru 0-4 arası olanlar(Grup-I), 5-35 arasında olanlar(Grup-II) ve >35 olanlar(Grup-III) olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır.

3.1.2. Kullanılan Cihazlar

- Vorteks(Heidolf Reax 200, Labinco L 24)
- Hassas terazi(Schimadzu, Libror, AEG 220)
- pH metre(Jenway)
- Santrifüj(Hermle Z 380K)
- Soğutmalı santrifüj(Damon IEC, B-20A soğutmalı, Hermle Z 323 K)
- Orbital çalkalayıcı(Nüve SL 350)
- HITACHI U-2900 Spektrofotometre
- HPLC(Agilent 1100 Serisi)
- BIOTEK ELx50 ELISA plate yıkayıcı
- BIOTEK ELx800 ELISA plate okuyucu

Ayrıca araştırma laboratuvarında mevcut olan ve biyokimyasal analizler için gerekli olan diğer malzemeler de kullanılmıştır.

3.1.3. Kullanılan Kimyasallar

Sodyum Hidroksit (NaOH), 2,4–dinitrofenilhidrazin (DNPH), Perklorik asit (HClO₄), Sülfürik asit (H₂SO₄), Asetik asit (CH₃COOH), Hidroklorik asit (HCl), 1,1,3,3-tetrametoksipropan (TMP), Potasyum iyodür (KI), Kloramin-T, Asetonitril (CH₃CN), Dipotasyum fosfat (K₂HPO₄), Monopotasyum fosfat (KH₂PO₄), Metanol (CH₃OH).

3.2. Uygulanan Yöntemler

3.2.1. Plazma MDA Düzeylerinin Ölçümü

Plazma MDA düzeyleri; Pilz ve ark.'nın, numunenin oda sıcaklığında 2,4-dinitrofenilhidrazin(DNPH) ile türevlendirilmesi ile oluşturulan MDA hidrazonunun, HPLC' de kromatografik olarak ayrıştırılması metodunun bir modifikasyonu ile tayin edilmiştir.¹⁴⁸

Reaktifler:

- 6 M NaOH
- 5 mM DNPH
- %35 Perklorik asit
- %1 Sülfürik asit
- % 0,2 Asetik asit
- 2 M HCl
- 1 nmol/mL stok standart: 17 µL 1,1,3,3-tetrametoksipropan (TMP) 100 mL' ye deiyonize su ile tamamlandı.

Deneyin Yapılışı:

Standart olarak stok standarttan 0,625 nM, 1,25 nM, 2,5 nM, 5 nM, 10 nM 1,1,3,3-tetrametoksipropan (TMP) hazırlandı.

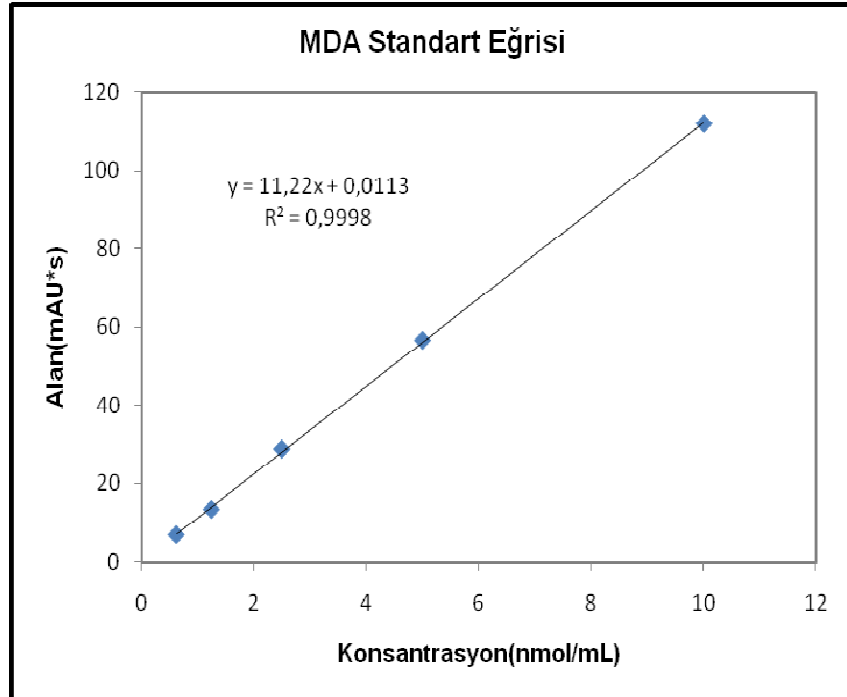
Numunenin hidrolizi için; ependorf tüpü içerisine 250 µL plazma 50 µL NaOH eklenerek vortekslendi. Sıcak su banyosunda 60 °C' de 30 dk inkübe edildi. Hidrolize olmuş numunelere 125 µL perklorik asit ilave edilerek vortekslendi ve proteinler çöktürüldü. 2800 x g' de + 4 °C'de 10 dk santrifüj edilerek 250 µL süpernatantları yeni ependorf tüplerine ayrıldı. Ayrılan

süpernatantların üzerine 25 µL DNPH eklenerek 30 dk oda ısısında karanlıkta türevlendirildi. Türevlendirilen numuneler direkt olarak HPLC sistemine enjekte edildi.

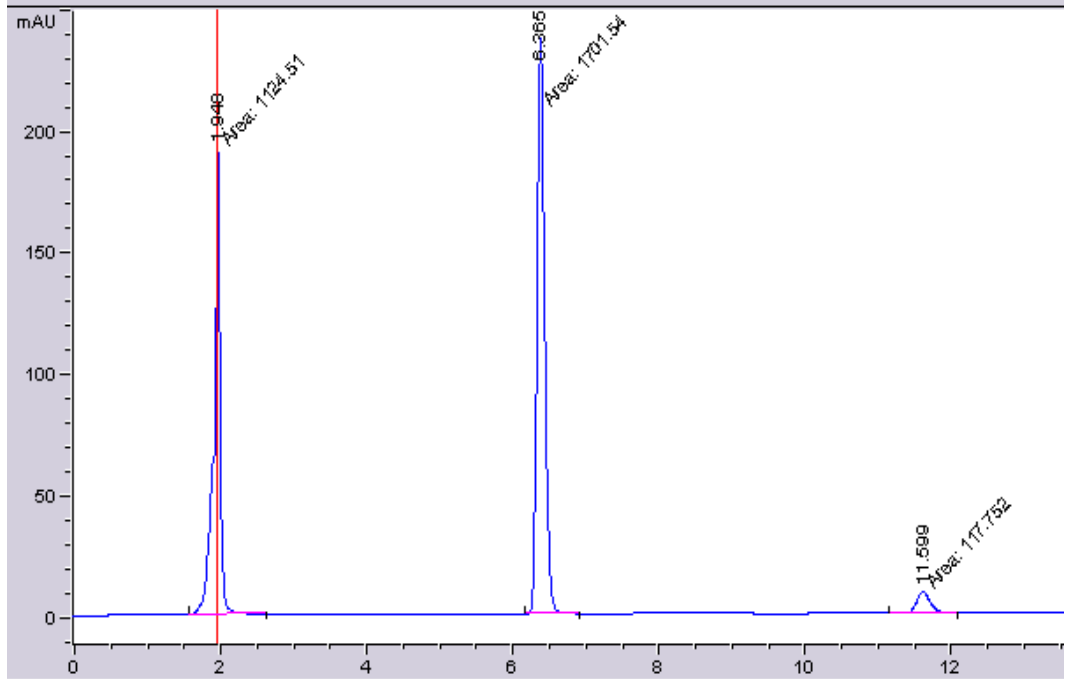
HPLC Analiz Şartları:

- Mobil faz: % 0,2 Asetik asit içeren (38 : 62, v/v) Asetonitril / Deiyonize su
- Kolon: Zorbax 80A, Extend-C₁₈, revers faz kolon, 250 x 4,6 mm, 5 µM partikül boyutlu
- Dedektör: UV dedektör, 310 nm
- Akış hızı: 1 mL/dk

Hesaplama: Numunelerdeki MDA değerleri standart eğri üzerinden(Grafik 1) hesaplanarak nmol/ml olarak ifade edildi.



Grafik 1. MDA Standart Eğrisi.



Şekil 20. 10 nmol/mL' lik MDA standartına ait kromatogram.

3.2.2. Plazma AOPP Düzeylerinin Ölçümü

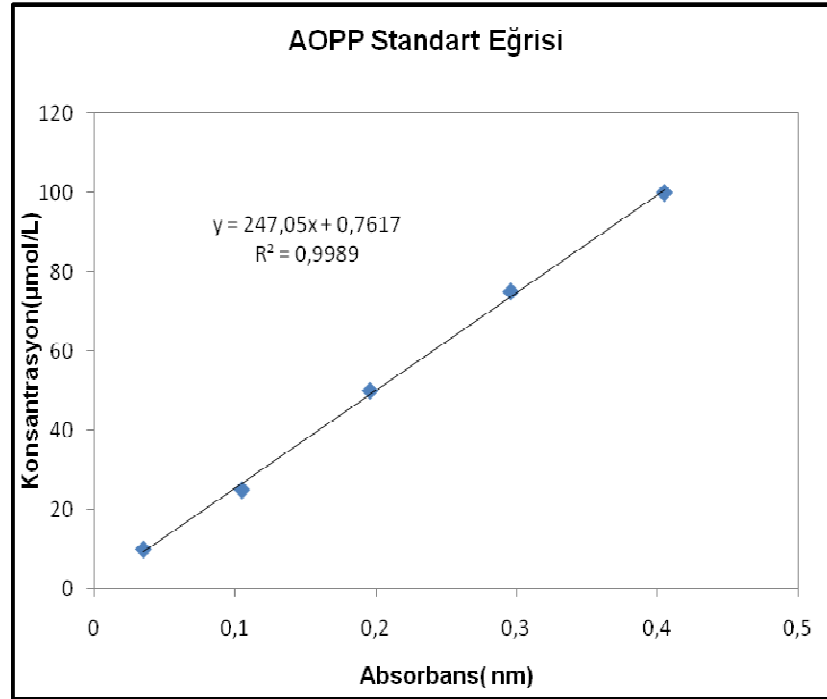
Plazma AOPP düzeyleri Witko-Sarsat ve ark.'nın tanımladığı spektrofotometrik yöntem ile ölçülmüştür.¹⁴⁹

Reaktifler:

- PBS (Fosfat tampon solüsyonu, pH: 7,4)
- 1,16 M KI (Potasyum iyodür)
- Asetik asit % 100
- Kloramin-T (0-100 μ M arasındaki konsantrasyonlarda standart olarak hazırlandı).

Deneyin Yapılışı:

200 µl plazma 1:5 oranında fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile dilüe edildi. Üzerine 10 µl KI ve 20 µl asetik asit eklenerek numuneler vortekslendi ve 340 nm absorbansta PBS' e karşı spektrofotometrik olarak ölçüm yapıldı. 0-100 µM Kloramin-T standartları numune gibi çalışıldı. Sonuçlar standart eğriden(Grafik 2) hesaplanarak, µmol/L olacak şekilde ifade edildi.

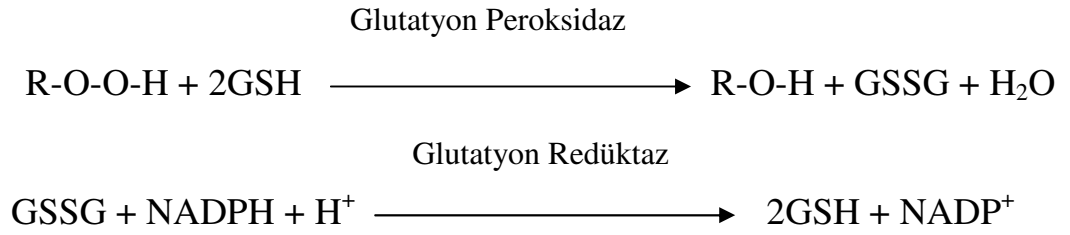


Grafik 2. AOPP standart eğrisi

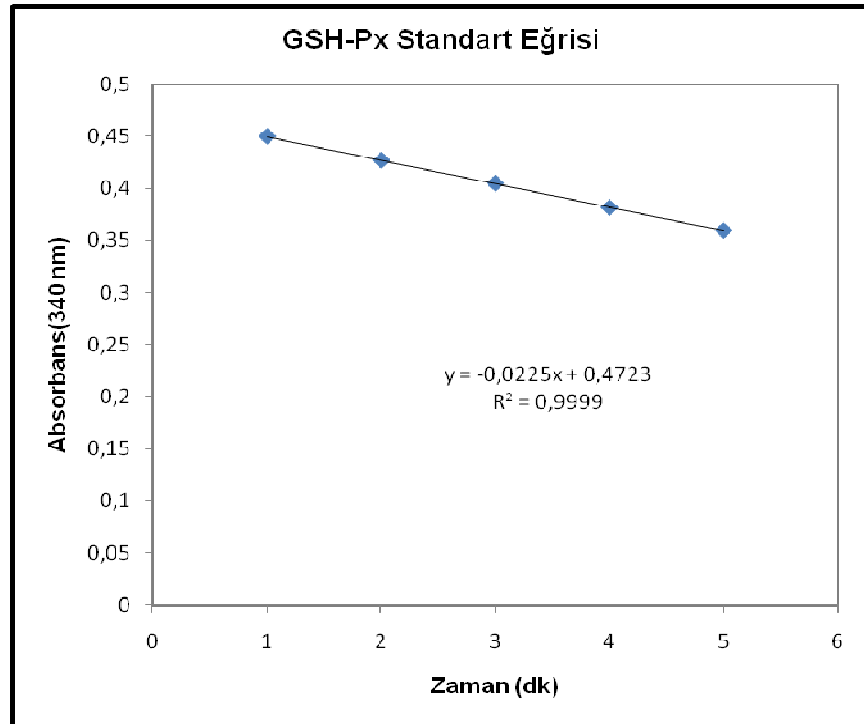
3.2.3. Plazma GSH-Px Aktivitesinin Ölçümü

Plazma GSH-Px aktivitesi, Cayman marka hazır ticari kit(Katalog No:703102) ile kolorimetrik olarak ölçüldü.

Metodun prensibi; GSH-Px aktivitesi, GSH-R ile bağlantılı bir reaksiyon ile ölçülür.



NADPH' in NADP' ye oksidasyonu sırasında 340 nm' deki absorbansta bir düşüş gözlenir. 340 nm dalga boyundaki bu azalmanın hızı GSH-Px aktivitesi ile direkt olarak ilişkilidir.



Grafik 3. GSH-Px standart eğrisi

Reaktifler

- GSH-Px ölçüm tamponu(5 mM EDTA içeren 50 mM Tris-HCl, pH 7,6)

- GSH-Px numune tamponu(5 mM EDTA ve 1 mg/ml BSA içeren 50 mM Tris-HCl, pH 7,6)
- GSH-Px kontrol(Sığır eritrosit GSH-Px)
- GSH-Px ko-substrat karışımı(Liyofilize NADPH, Glutasyon ve Glutasyon redüktaz)
- GSH-Px kümen hidroperoksidaz

Çalışma Prosedürü

1.Non-enzimatik kuyucuk: 120 µl ölçüm tamponu ve 50 µl ko-substrat karışımı koyulur.

2.Pozitif kontrol kuyucuğu(Sığır eritrosit GSH-Px): 100 µl ölçüm tamponu, 50 µl ko-substrat karışımı ve 20 µl dilüe edilmiş GSH-Px kontrol koyulur.

3.Numune kuyucukları: 100 µl ölçüm tamponu, 50 µl ko-substrat karışımı ve 20 µl numunelerden koyulur.

4.Tüm kuyucuklara 20 µl kümen hidroperoksit koyularak reaksiyon başlatılır.

5.Plate birkaç saniye dikkatlice karıştırılır.

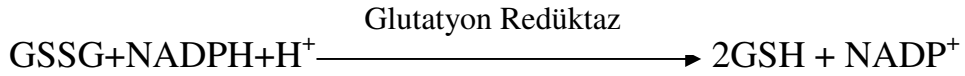
6.Bir kaç dakika içerisinde 340 nm dalga boyunda en az 5 zaman noktasında absorbans ölçümü yapılır.

Sonuçlar standart eğriden(Grafik 3) hesaplanarak, nmol/dk/mL olarak ifade edildi.

3.2.4. Plazma GSH-R Aktivitesinin Ölçümü

Plazma GSH-R aktivitesi, Cayman marka hazır ticari kit(Katalog No:703202) ile kolorimetrik olarak ölçüldü.

Metodun prensibi; GSH-R aktivitesi NADPH' ın oksidasyon hızının ölçülmesi ile belirlenir.



NADPH' ın NADP' ye okside olması sırasında 340 nm dalga boyundaki absorbansta azalma gözlenir. Bu azalma numunedeki GSH-R aktivitesi ile direkt orantılıdır.

Reaktifler

- Yıkama tamponu(1 mM EDTA içeren 50 mM potasyum fosfat, pH 7,5)
- Numune tamponu(1 mM EDTA ve 1 mg/ml BSA içeren 50 mM potasyum fosfat, pH 7,5)
- Glutasyon redüktaz kontrol çözeltisi(Baker's mayasından elde edilen)
- Okside glutasyon çözeltisi(9,5 mM)
- NADPH(Liyofilize toz NADPH içeren)

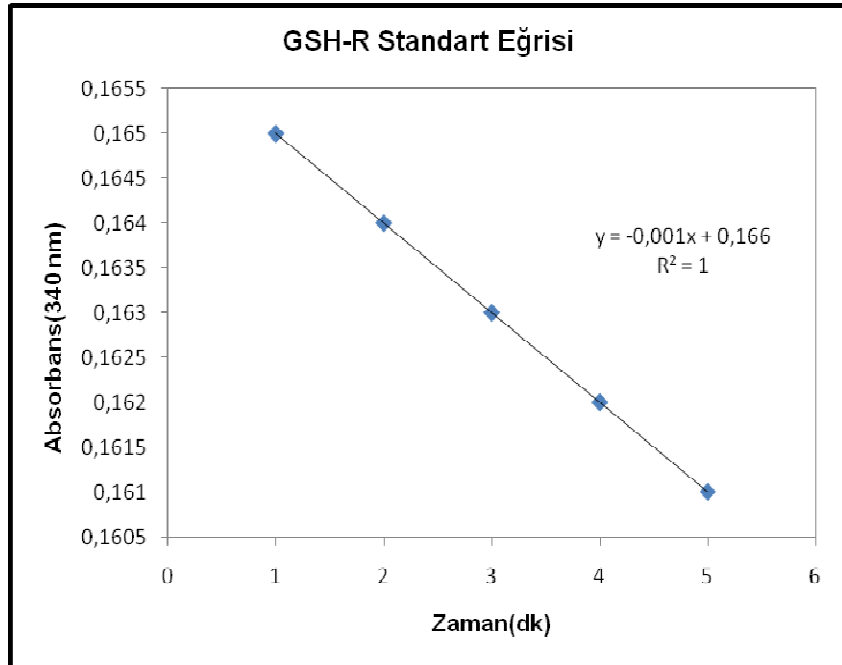
Çalışma Prosedürü

- 1.Non-enzimatik kuyucuk: 120 µl ölçüm tamponu ve 20 µl GSSG koyulur.
- 2.Pozitif kontrol kuyucuğu(Baker's maya GSH-R): 100 µl ölçüm tamponu 20 µl GSSG ve 20 µl dilüe edilmiş GSH-R kontrol koyulur.
- 3.Numune kuyucukları: 100 µl ölçüm tamponu ve 20 µl numuneler koyulur.
- 4.Tüm kuyucuklara 50 µl NADPH koyularak reaksiyon başlatılır.

5. Plate birkaç saniye dikkatlice karıştırılır.

6. Bir kaç dakika içinde 340 nm dalga boyunda en az 5 zaman noktasında absorbans ölçümü yapılır.

Sonuçlar standart eğriden (Grafik 4) hesaplanarak, nmol/dk/mL olarak ifade edildi.



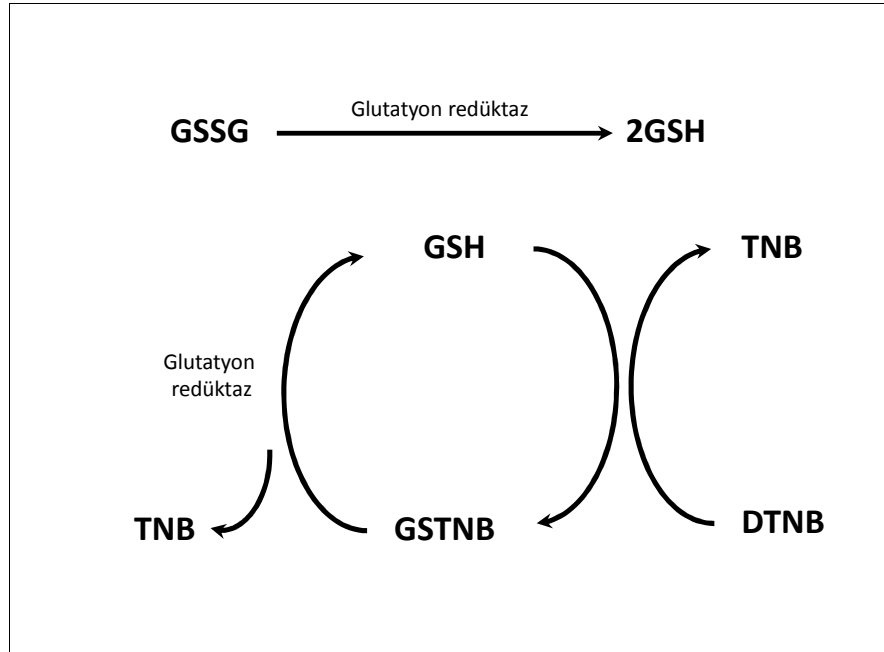
Grafik 4. GSH-Redüktaz standart eğrisi.

3.2.5. Plazma Total Glutasyon Düzeylerinin Ölçümü

Plazma total glutasyon düzeyleri, Cayman marka hazır ticari kit (Katolog No:703002) ile kolorimetrik olarak ölçüldü.

Metodun prensibi; Total Glutasyon miktarı, GSH-R kullanılarak enzimatik bir geri dönüşüm yöntemi ile ölçülür.

GSH' nin sülfidril Grubu DTNB ile (5,5 '-dithio-bis-2-(nitrobenzoik asit), Ellman's reaktifi) reaksiyona girerek sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit (TNB) üretilir. GSH ve TNB ile üretilen disülfid GSTNB, glutatyon redüktaz tarafından tekrar GSH ve TNB oluşumuna yol açar. TNB üretim hızı örnekteki GSH konsantrasyonu ile doğru orantılıdır(Şekil 21). 405-414 nm' de TNB absorbansının ölçümü örnekteki GSH konsantrasyonunun kesin bir tahminini sağlar. Bu kit ile yapılan ölçüm hem redükte hem de okside glutatyonu ölçtüğünden sonuçta örnekteki total glutatyon miktarı sonuç olarak verilmiştir.



Şekil 21. GSH resiklusu.

Reaktifler

- GSH MES tamponu(0,4 M 2-(N-morfolino)etansülfonik asit, 0,1 M fosfat ve 2 mM EDTA, pH 6,0)
- GSSG standart çözeltisi(MES tamponu içerisinde 25 µM GSSG)

- GSH ko-faktör karışımı(Liyofilize NADP ve Glukoz-6-fosfat)
- GSH enzim karışımı(0,2 ml tampon içerisinde Glutasyon redüktaz ve Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz)
- GSH DTNB(Liyofilize DTNB(5,5-ditio-bis-(2-nitrobenzoik asit), Ellman's Reaktifi)

Çalışma Prosedürü

1. 25 μ M'lık stok GSH standartından MES tamponu ile dilüe edilerek 8,0; 6,0; 4,0; 2,0; 1,0; 0,5; 0,25; ve 0,0 μ M'lık konsantrasyonlarda standart çözeltileri elde edildi.

2.Standart kuyucukları: Tüm standart çözeltilerden 50 μ l kuyucuklara koyuldu.

3.Numune kuyucukları: Tüm numunelerden 50 μ l kuyucuklara koyuldu.

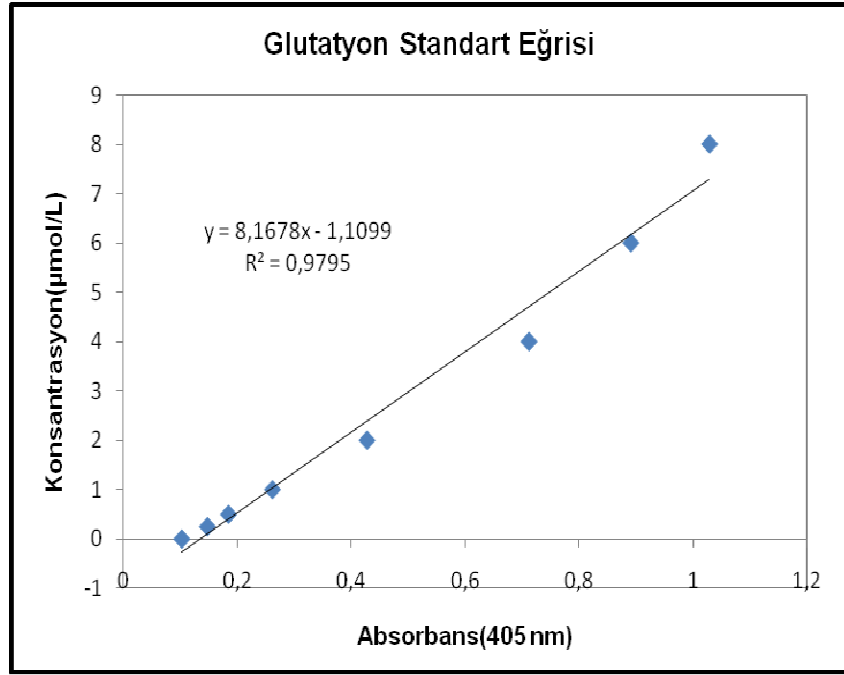
4.Plate yapışkan folyo ile kapatıldı.

5.Ölçüm kokteylinin hazırlanması: 11,25 ml MES tamponu, 0,485 ml hazırlanmış olan kofaktör karışımı, 2,1 ml hazırlanmış enzim karışımı, 2,3 ml distile su ve 0,45 ml hazırlanmış olan DTNB karıştırıldı.

6.Plate üzerindeki folyo kaldırılarak tüm kuyucuklara taze hazırlanmış ölçüm kokteylinden 150 μ l koyuldu ve plate tekrar yapışkan folyo ile kapatılarak, karanlıkta ve orbital çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.

7. 405-415 nm dalga boyunda 5 dakikalık intervallerde 6 ayrı zaman noktasında(30 dakika içerisinde) absorbans ölçümü yapıldı.

Sonuçlar standart eğriden(Grafik 5) hesaplanarak, μ mol/L olarak ifade edildi.



Grafik 5. Glutasyon standart eğrisi.

3.2.6. Plazma Selenyum Düzeylerinin Ölçümü

Plazma Selenyum düzeyleri özel bir merkezde Hewlett-Packard 4500 plus ICP-MS cihazı ile grafit fırın kullanılarak atomik absorpsiyon spektrofotometre yöntemiyle çalışılmış olup sonuçlar µg/L olarak verilmiştir.

3.3. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel hesaplamalar ve grafiklerin çiziminde istatistik paket programı SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, for windows 15.0) ile Microsoft Excel (for windows XP) programları kullanılmıştır. Değerlendirmede Kruskal-Wallis varyans analizi, gruplar arasındaki farklılığı tespit etmek için Mann-Whitney U testi ve parametreler arasındaki korelasyonu belirlemek için ise Spearman korelasyon analizi kullanılmıştır. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmamızdaki tüm gruplara ait MDA, AOPP, Glutasyon, Selenyum düzeyleri ve GSH-R, GSH-Px aktivitelerine ait istatistiksel sonuçlar Tablo 12 ile Tablo 13’ de gösterilmiştir.

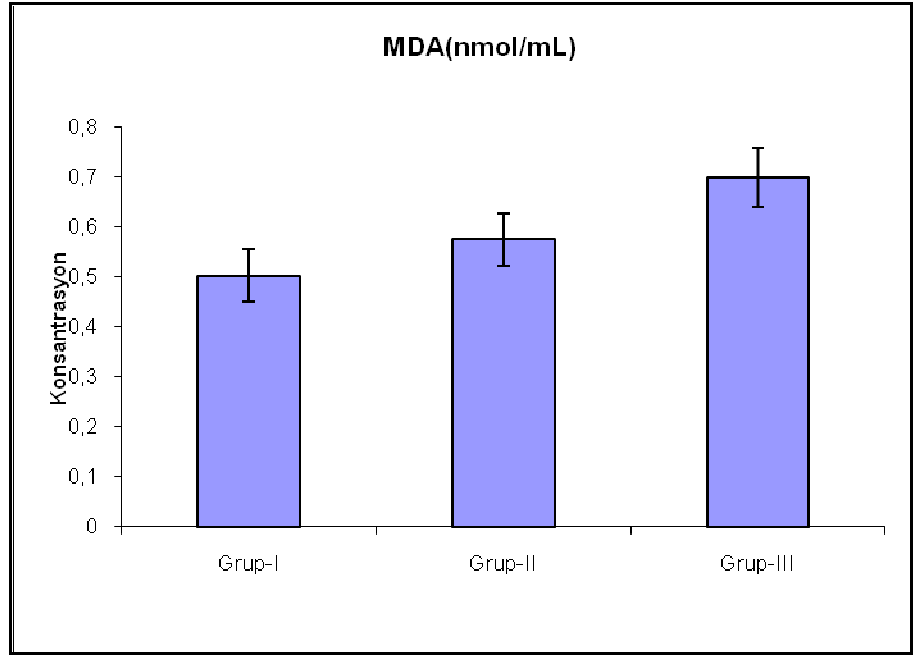
Tablo 12. Plazma MDA ve AOPP düzeyleri (ortalama±standart hata).

	Gruplar		
Biyokimyasal Parametreler	Grup-I (Gensini skoru: 0-4)	Grup-II (Gensini skoru: 5-35)	Grup-III (Gensini skoru: >35)
MDA (nmol/mL)	0,50±0,053	0,58±0,053	0,70±0,060 ^a
AOPP (µmol/L)	116,08±7,78	115,85±7,06	174,48±20,94 ^{a,b}

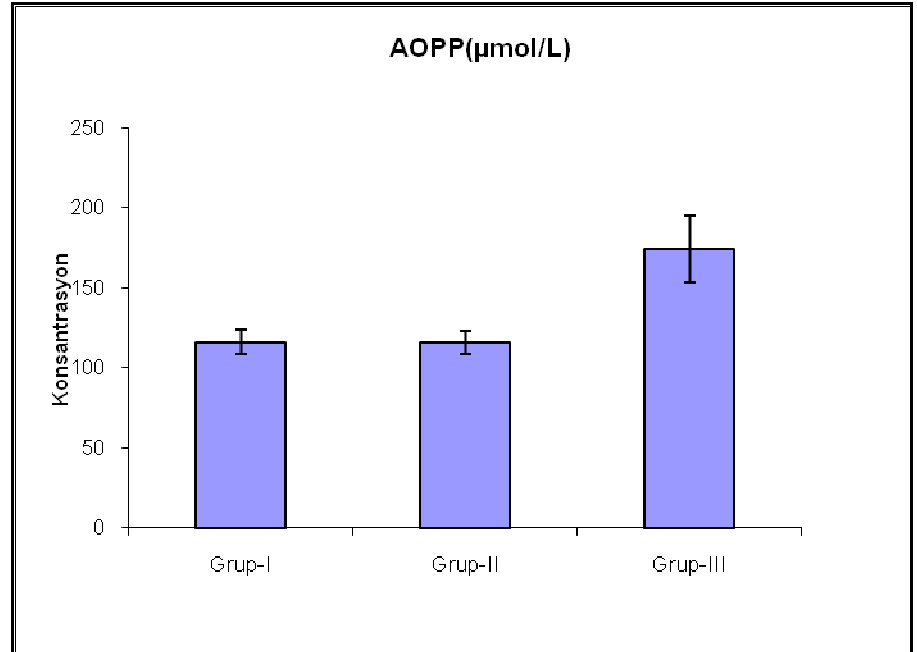
a: p<0,05 Grup I ile karşılaştırıldığında

b: p<0,05 Grup II ile karşılaştırıldığında

Plazma MDA ve AOPP düzeylerinin gruplar arasındaki farkı(ortalama±standart hata) grafiksel olarak Grafik 6 ve Grafik 7’ de gösterilmiştir.



Grafik 6. Plazma MDA düzeylerinin gruplar arasındaki farkı (ortalama±standart hata).



Grafik 7. Plazma AOPP düzeylerinin gruplar arasındaki farkı (ortalama±standart hata).

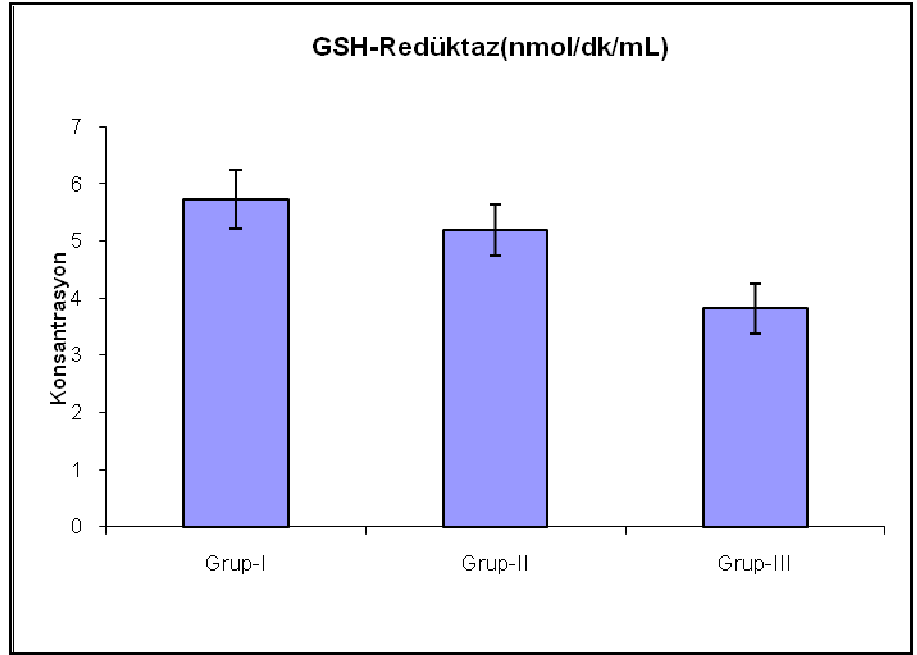
Tablo 13. Plazma GSH-R, GSH-Px ve GSH düzeyleri (ortalama±standart hata).

	Gruplar		
Biyokimyasal Parametreler	Grup-I (Gensini skoru: 0-4)	Grup-II (Gensini skoru: 5-35)	Grup-III (Gensini skoru: >35)
GSH-R (nmol/dk/mL)	5,73±0,51	5,20±0,45	3,82±0,43 ^{a,b}
GSH-Px (nmol/dk/mL)	105,80±3,57	103,66±4,41	85,64±2,86 ^{a,b}
GSH (µmol/L)	6,39±0,46	4,83±0,32 ^a	4,59±0,30 ^a
Selenyum (µg/L)	111,03±1,90	109,73±1,96	110,65±2,14

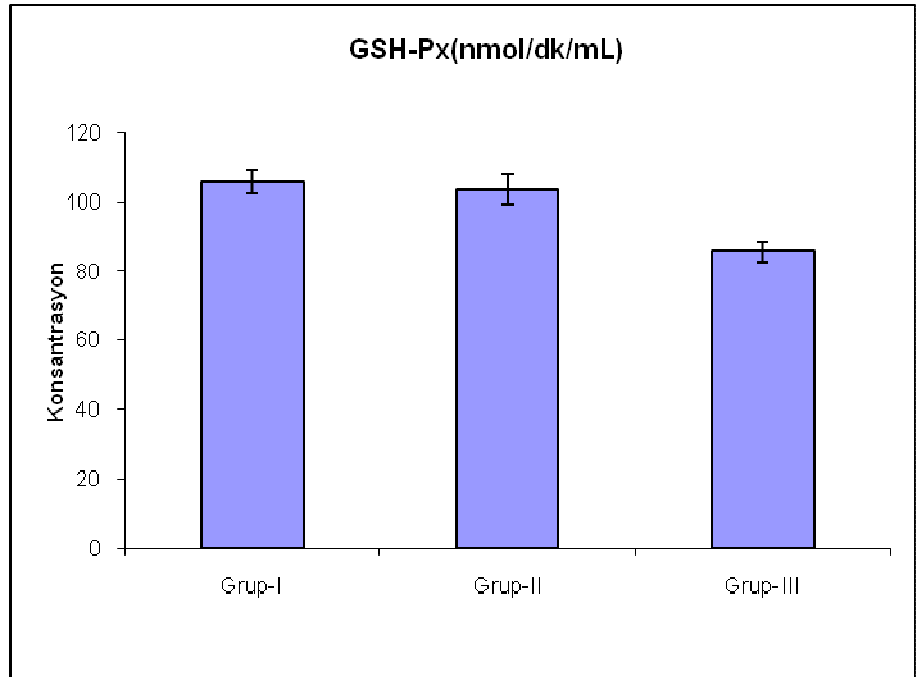
a: p<0,05 Grup I ile karşılaştırıldığında

b: p<0,05 Grup II ile karşılaştırıldığında

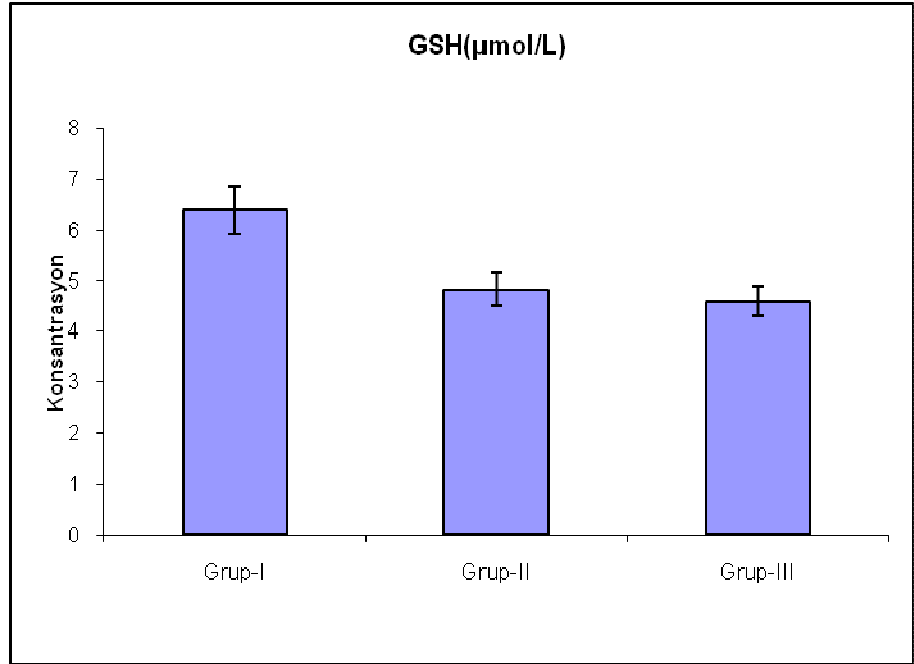
Plazma GSH-R, GSH-Px, GSH ve Selenyum düzeylerinin gruplar arasındaki farkı (**ortalama±standart hata**) grafiksel olarak Grafik 8, Grafik 9, Grafik 10 ve Grafik 11’ de gösterilmiştir.



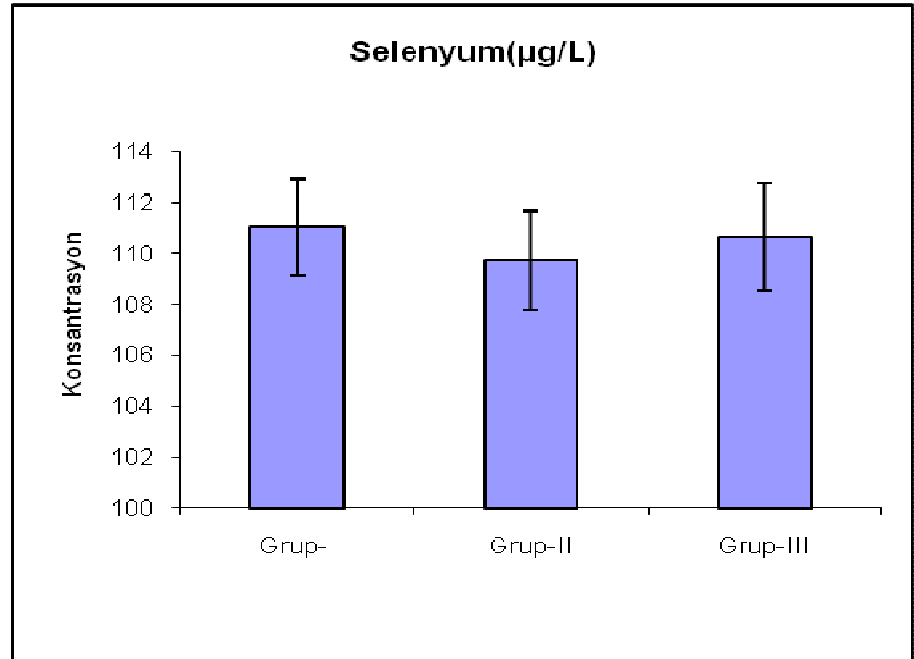
Grafik 8. Plazma GSH-R düzeylerinin gruplar arasındaki farkı (ortalama±standart hata).



Grafik 9. Plazma GSH-Px düzeylerinin gruplar arasındaki farkı (ortalama±standart hata).



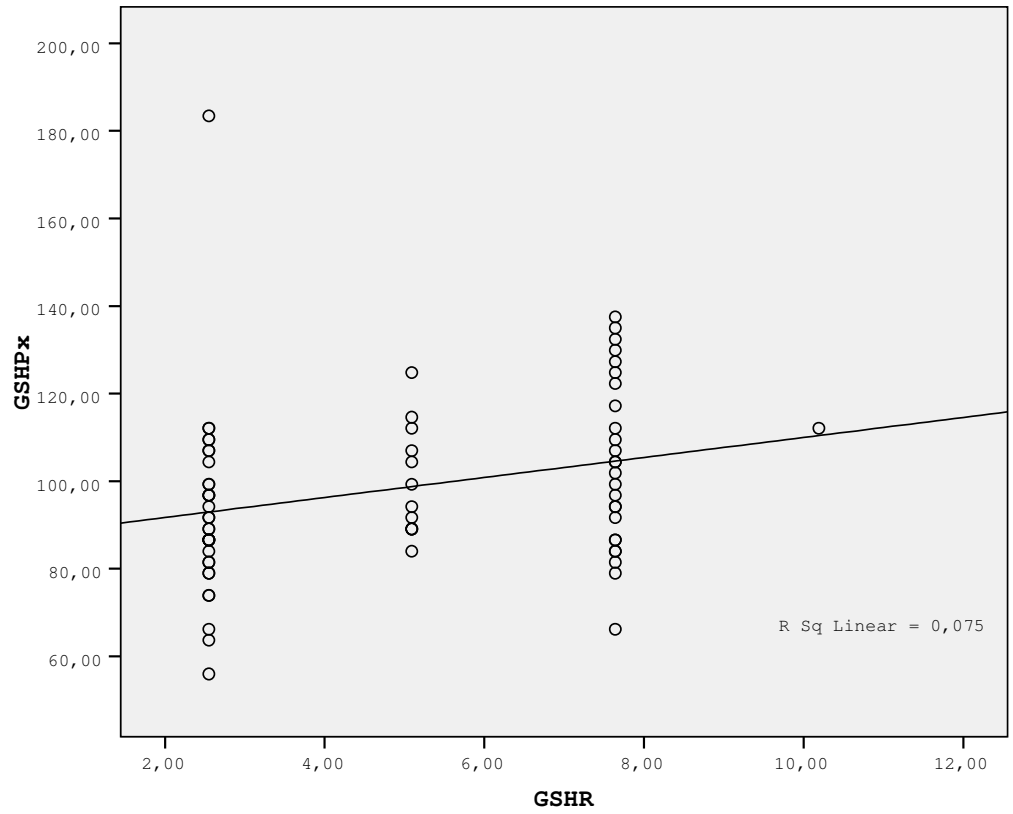
Grafik 10. Plazma GSH düzeylerinin gruplar arasındaki farkı (ortalama $\pm$ standart hata).



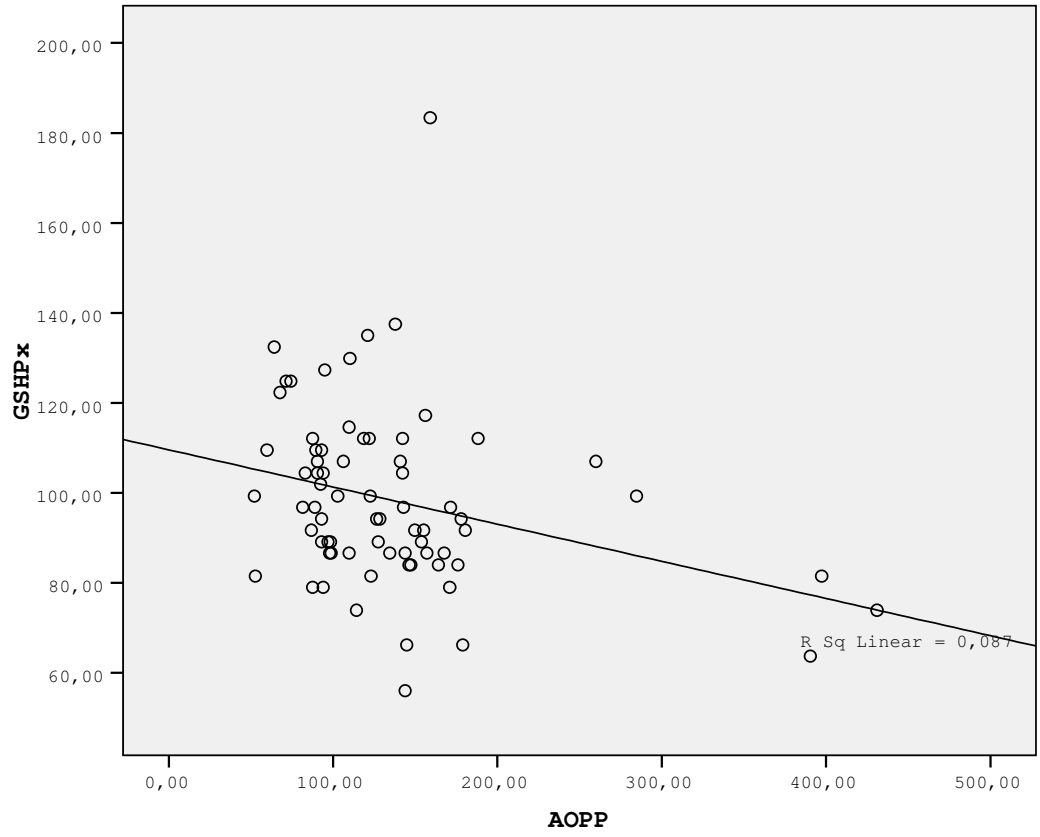
Grafik 11. Plazma Selenyum düzeylerinin gruplar arasındaki farkı (ortalama $\pm$ standart hata).

Çalışmamızın istatistiksel değerlendirmesi sonucunda GSH-Px ile GSH-R arasında güçlü pozitif korelasyon($r=0,321$, $p=0,006$), GSH-Px ile AOPP arasında güçlü negatif korelasyon($r= -0,342$, $p=0,003$), GSH-R ile AOPP arasında ise zayıf negatif korelasyon($r= -0,287$, $p=0,014$) olduğu gözlenmiştir.

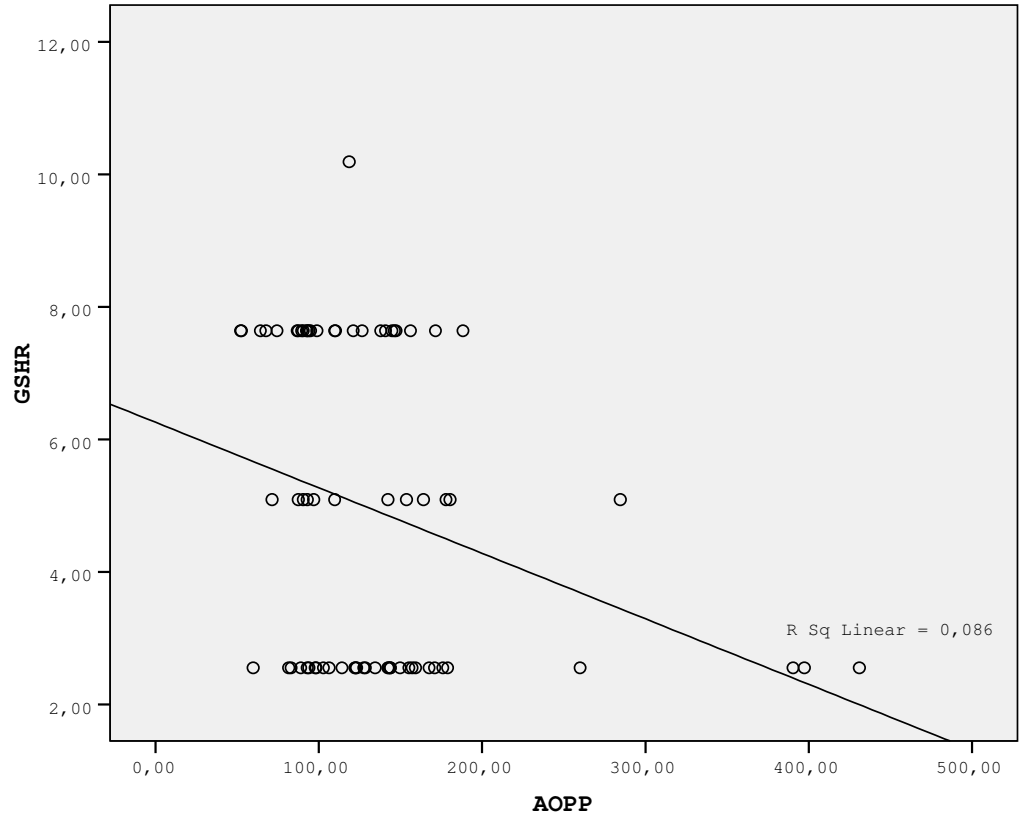
Çalışmamız dahilinde korele olan parametrelerin korelasyon grafikleri ise Grafik 12, Grafik 13 ve Grafik 14' de gösterilmiştir.



Grafik 12. GSH-Px ile GSH-R arasındaki güçlü pozitif korelasyonun grafiksel olarak gösterimi($r=0,321$, $p=0,006$).



Grafik 13. GSH-Px ile AOPP arasındaki güçlü negatif korelasyonun grafiksel olarak gösterimi($r = -0,342$, $p = 0,003$).



Grafik 14. GSH-R ile AOPP arasındaki zayıf negatif korelasyonun grafiksel olarak gösterimi($r = -0,287$, $p = 0,014$).

5. TARTIŞMA

Kardiyovasküler hastalıklar dünya çapında, mortalite ve morbiditenin majör nedeni olma yolunda gittikçe artan bir rol üstlenmektedir. Çalışmalar, tüm dünyada kardiyovasküler hastalıklardan ölüm oranının 1990 ve 2020 yılları arasında, % 28,9' dan % 36,3' e yükseleceğini göstermektedir.¹⁵⁰

Tek başına aterosklerozis batı dünyasındaki ölümlerin yarısından fazlasında rol alır. Koroner ateroskleroz, iskemik kalp hastalığına yol açabilir ve arteriyel lezyonlara trombüs eklendiğinde, iskemik kalp hastalığının en ağır formu olan miyokard infarktüsü gelişir ki, bu durum tek başına ABD' deki ölümlerin % 20-25' inden sorumludur. Birleşik Devletlerde ve diğer gelişmiş ülkelerde aterosklerozdan daha fazla ölümden sorumlu olan, araştırma yapılmasını uyaran ve en iyi nasıl kontrol edileceğine dair tartışma yaratan başka bir hastalık yoktur.¹⁵¹

Ülkemizde Türk Kardiyoloji Derneği'nin öncülüğünde 1990 yılından beri yürütülen bir çalışmada 12 yıllık izlem verilerine göre, 2 milyon koroner kalp hastasının bulunduğu ve yılda 160 bin insanın koroner kalp hastalığından öldüğü tahmin edilmektedir.¹⁵²

Ateroskleroz arterlerde kalınlaşma ve elastikiyet kaybı ile kendini gösteren ve özellikle aorta, koroner ve serebral arterleri tutan bir damar hastalığıdır. Ateroskleroz patogenezi ile ilgili çeşitli hipotezler öne sürülmüştür. Bu hipotezler arasında en geçerli olanı oksidatif stres hipotezidir.^{153,154} Birçok araştırma grubu insanlarda^{155,156} ve deney hayvanlarında^{157,158} yaptıkları çalışmalarda plazma ve eritrositlerde, karaciğer, kalp ve aorta gibi dokularda ve aterom plaklarında

prooksidan-antioksidan dengesini inceleyerek ateroskleroz ve oksidatif stres arasındaki ilişkiyi çözmeye çalışmışlardır.¹⁵⁹

Serbest radikaller, hücre metabolizması sırasında meydana gelen biyokimyasal redoks reaksiyonları ile ortaya çıkan eşleşmemiş elektrona sahip moleküllerdir.^{160,161} Pek çok hastalık sürecinde önemli rol oynarlar. Ateroskleroza bağlı gelişen miyokardiyal infarktüs, diyabet, kanser, katarakt, romatoid artrit, infertilite, solunum, santral sinir sistemi ve genitouriner sistem hastalıkları ile stres ve yaşlanma sürecinde antioksidan enzim aktivitelerinde önemli değişiklikler ve lipid peroksidasyonunda artış, birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir.^{8,162} Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbohidratlar gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler ve yapılarının bozulmasına neden olurlar. Biyolojik sistemlerdeki reaktif oksijen türleri, süperoksit anyonu, hidroksil radikali, nitrik oksit, peroksil radikali, ve radikal olmayan hidrojen peroksit gibi serbest radikaller oksidatif stresin en önemli nedenlerini oluştururlar.¹⁶³

Serbest radikal zincir reaksiyonları genellikle, moleküllerden hidrojenin uzaklaştırılmasıyla başlar. Lipid peroksidasyonu serbest radikal zincir reaksiyonu için iyi bir örnektir. Bu reaksiyonun özellikle aterosklerozisin gelişiminde çok önemli olduğu araştırmacıların öngörülleri arasında bulunmaktadır.¹⁶⁴

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. ‘Oksidatif stres’ olarak

adlandırılan bu durum özetle: serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır.¹⁶⁵

Oksidatif stres ve ateroskleroz arasındaki ilişki gerek insanlarda^{155,156} ve gerekse deney hayvanlarında^{157,158} çeşitli araştırma gruplarınca incelenmiştir. Kolesterol verilerek ateroskleroz oluşturulan deney hayvanlarında prooksidan antioksidan dengenin etkilendiği, aterom plaklarının derecesi ile bu değişiklikler arasında bir ilişki olduğu bulunmuştur.^{154,158,166} Buna karşılık insanlarda yapılan çalışmalarda genellikle kan örnekleri kullanılmış ve analizlerde daha çok lipit peroksidasyonu göstergelerine bakılmıştır. Aterosklerotik kalp-damar hastalıklarında serumda MDA, dien konjugatları veya lipit hidroperoksitlerinin arttığı birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir.^{155,156}

Biz çalışmamızda; Koroner arter hastalığı şüphesiyle koroner anjiyografi yapılan hastaları, bir stenoz skorlaması olan Gensini skorlama sistemi ile hastalığın derecesine göre üç gruba ayırdık. Gensini skoru 0-4 arasında olan hastaları kontrol grubu(Grup-I) olarak aldık. Bu grubu kontrol grubu olarak almamızın nedeni, bu çalışmaya tamamen sağlıklı olan bireylerin dahil edilmemesi ve çalışmaya katılan tüm bireylere koroner anjiyografi tetkikinin yapılarak minimal de olsa koroner arter stenozlarının Gensini skorlama sistemi ile hesaplanarak tüm katılımcıların gruplara ayrılmasıdır. Gensini skoru 5-35 arasında olan hastaları Grup-II ve Gensini skoru >35 olan hastaları da Grup-III olarak adlandırdık.

Oksidatif stresin ve antioksidan sistemin aterosklerozis ve koroner arter hastalığının düzeyi üzerine olan etkilerini araştırmak amacıyla, katılımcıların plazmalarında lipid peroksidasyon belirteci olarak MDA, protein oksidasyon belirteci olarak AOPP düzeylerini ve antioksidan parametreler olarak GSH-R, GSH-Px aktiviteleri ile GSH ve Selenyum düzeylerinin gruplar arasındaki farklarını inceledik.

Çalışmamızın istatistiksel değerlendirmesi sonucunda GSH-Px ile GSH-R arasında güçlü pozitif korelasyon($r=0,321$, $p=0,006$), GSH-Px ile AOPP arasında güçlü negatif korelasyon($r= -0,342$, $p=0,003$), GSH-R ile AOPP arasında ise zayıf negatif korelasyon($r= -0,287$, $p=0,014$) olduğu gözlenmiştir.

Çalışmamızda oksidatif stres göstergelerinden biri olan plazma MDA düzeylerinde, Grup-I ile Grup-III arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmişken($p=0,048$, $p<0,05$), Grup-I ile Grup-II ve Grup-II ile Grup-III arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır(sırasıyla, $p=0,381$, $p>0,05$; $p=0,212$, $p>0,05$). MDA düzeylerinde Gensini skoruna göre hafif koroner arter stenozu olan grup ile ileri derecede stenozu olan grup arasında istatistiksel olarak belirgin farkın olması bize MDA düzeyinin koroner arter hastalığı derecesini belirlemede bir belirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Doğru-Abbasoğlu S ve ark.'nın yaptığı 17' si sağlıklı, 50' sinin anjiyografi ile koroner arter hastası olduğu tespit edilen toplam 67 katılımcının dahil olduğu bir çalışmada; Plazma MDA düzeyleri koroner arter hastalığı olan hastalarda kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Ayrıca, yüksek lipid peroksidasyonu

ile vasküler lezyonların derecesi arasında belirgin pozitif korelasyon saptanmıştır.¹⁵⁶

Surekha RH ve ark.'nın 2007 yılında 150 sağlıklı erişkin(kontrol grubu) ve 150 anjiyografik olarak miyokard infarktüsü geçirdikleri tespit edilen katılımcı(hasta grubu) olmak üzere toplam 300 katılımcı ile yaptıkları bir çalışmada; plazma MDA düzeylerini(nmol/mL) miyokard infarktüsü geçiren hastaların olduğu grupta $6,78(\pm 1,80)$, kontrol grubunda ise $1,92(\pm 0,56)$ bulmuşlardır($p<0,01$).¹²⁵

Cavalca V ve ark., 40 koroner arter hastası(18' i kronik stabil anjina, 22' si unstabil anjina) ve 70 sağlıklı katılımcı ile yaptıkları çalışmada plazma serbest ve total MDA düzeylerini ölçmüşler ve her iki parametreyi de hasta grubunda kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek bulmuşlardır.¹⁶⁷

Kotur-Stevuljevic ve ark.'nın yaptığı bir çalışmanın sonucunda da KAH' ı olan hastalarda hastalığın şiddetine bağlı olmaksızın oksidatif stres göstergesi olan MDA düzeylerinin sağlıklı gruba göre yüksek olduğu gösterilmiştir.¹⁶⁸

Garelnabi M ve ark., toplam 120 katılımcı ile yaptıkları bir çalışmada; katılımcıları sağlıklı kontrol grubu($n=40$), MI grubu($n=40$), Unstabil anjina grubu($n=40$) ve Stabil anjina grubu($n=40$) olmak üzere dört gruba ayırmışlar ve gruplar arasında plazma MDA düzeylerini karşılaştırmışlardır. Plazma MDA düzeylerini üç hasta grubunda da kontrol grubuna grubuna göre belirgin olarak yüksek bulmuşlardır($p<0,001$). Her üç hasta grubu arasında ise anlamlı bir fark belirleyememişlerdir.¹⁶⁹

Tamer L ve ark., her iki cinsiyet grubunu içeren 30 sağlıklı kontrol ve KAH oldukları anjiyografik olarak tespit edilen 45 hasta ile yaptıkları bir çalışmada; serum MDA düzeylerini karşılaştırmışlar ve hasta grubunda kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek bulmuşlardır($p<0,001$).¹⁷⁰

Literatürdeki bu çalışmalar ile bizim çalışmamızın sonuçlarını karşılaştırdığımızda, literatürdeki bu çalışmaların sonuçlarının bizim çalışmamızın sonuçlarını desteklediğini görmekteyiz.

Proteinler oksidanlara maruz kaldıklarında birçok kovalent değişikliğe uğrar. Bu değişikliklerden bazıları serbest radikallerin protein molekülleri üzerine direkt etkileri sonucu oluşabildiği gibi, bazıları da oksidasyon yan ürünlerinin proteinlere kovalent olarak bağlanması ile meydana gelir. Proteinlerin radikal aracılı hasarı; elektron kaybı, metal iyon katalizli reaksiyonlar, lipid ve karbonhidratların otooksidasyonu ile başlatılabilmektedir. Bu ürünlerin oluşum hızının artması veya temizleyici mekanizmaların yetersiz kalması, proteinlerde dahil olmak üzere diğer hücrel moleküllerdeki oksidatif modifikasyonların artışına yol açar.^{171,172} Upston JM ve ark., insanlarda aterosklerotik lezyonlarda protein oksidasyonunun arttığını bildirmişlerdir.¹⁷³

Çalışmamızda değerlendirdiğimiz bir diğer parametre protein oksidasyonu göstergesi olan AOPP' dir. Plazma AOPP düzeylerinde, Grup-I ile Grup-III ve Grup-II ile Grup-III arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmişken(sırasıyla, $p=0,034$, $p<0,05$; $p=0,039$, $p<0,05$), Grup-I ile Grup-II arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenememiştir($p=0,053$, $p>0,05$). AOPP düzeyinde Gensini skoruna göre hafif koroner arter stenozu olan grup ile

orta ve ileri derecede stenozu olan grup arasında istatistiksel olarak belirgin farkın olması bize AOPP düzeyinin koroner arter hastalığı derecesini belirlemede bir belirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Kenada H ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada kardiyovasküler hastalığı olmayan(n=140) katılımcılar ile kardiyovasküler hastalığı olduğu anjiyografik olarak tespit edilen katılımcılarda(n=252), plazma AOPP düzeyleri($\mu\text{mol/L}$) karşılaştırılmış ve KAH' ı olan grupta kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek bulunmuştur. Ayrıca hastalar AOPP ortalama düzeylerine göre dört gruba ayrılmış ve dört gruptaki AOPP düzeyleri ile Gensini skorları arasında ANOVA ile belirgin bir ilişki saptanmıştır($p=0,033$).¹⁷⁴

Descamps-Latscha B ve ark., Aterosklerotik kardiyovasküler olay geçiren hasta grubu(n=21) ile sağlıklı kontrol grubu(n=59) arasında plazma AOPP düzeylerini karşılaştırmışlar ve hasta grubunda AOPP düzeylerini kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek bulmuşlardır($p<0,0002$).¹⁷⁵

Skvarilova M ve ark., katılımcıları; 21 sağlıklı katılımcı(Grup-I), 23 stabil anjina pektoris(Grup-II), 23 ST elevasyonu olmayan akut koroner sendrom(Grup-III) ve 22 ST elevasyonlu akut koroner sendrom(Grup-IV) olmak üzere toplam dört gruba ayırdıkları bir çalışmada gruplar arasında serum AOPP düzeylerini karşılaştırmışlar, Grup-I ile Grup-II ve Grup-III arasında anlamlı bir fark bulamamışlardır. Grup-I ile Grup-IV' ü ve Grup II ile Grup-IV' ü karşılaştırdıklarında ise Grup-I' de AOPP düzeylerini diğer iki gruba göre belirgin olarak düşük bulmuşlardır($p=0,02$).¹⁷⁶

Literatürde yer alan bu çalışmaların sonuçlarının bizim yaptığımız çalışmanın sonuçlarını desteklediğini görmekteyiz.

Antioksidanlar, günümüzde içinde bulundukları besinler, yaygın kullanım özellikleri ve koroner kalp hastalığı koruma ve tedavisindeki yeri sebebiyle ilgi çekmeye devam etmektedir. Antioksidanlar, içinde bulunduğu bir ortamda, okside edilebilen bir maddeye göre daha az bulunmasına rağmen, o maddenin oksidasyonunu önleyen veya geciktiren madde olarak tanımlanabilir. Antioksidanlar fizyolojik rolü, kimyasal reaksiyonlar sonucunda ortaya çıkan serbest radikallerin dokuya zararını önlemektir.¹⁷⁷

Serbest radikallerin proteinlerdeki –SH gruplarının oksidasyonuna yol açtığı gösterilmiştir.^{178,179} Glutasyon, sistein, albumin ve diğer yapılarıdaki protein –SH grupları oksidasyon zincirini kırma özelliğine sahip önemli antioksidanlardır. Oksidatif hasara karşı hassas olup koroner arter hastalığı, romatoid artrit, DM gibi oksidatif hasarın olduğu hastalıklarda düştüğü gösterilmiştir.¹⁸⁰

Glutasyon enzimatik olmayan önemli bir antioksidandır. En önemli görevi, enzim ve proteinlerin tiyol gruplarının (-SH) indirgenmesi ile redükte formlarının yeterli düzeylerde kontrolünü sağlamaktır. Tiyol grubuna sahip birçok enzim düşük hızda fakat okside olarak ya da O₂' nin direkt etkisiyle hızla aktivitelerini yitirirler. İşte GSH kendisi okside olup tiyol gruplarını tekrar indirgeyerek bunların aktivasyonunu sağlar. Özellikle H₂O₂' nin elimine edilmesinde de GSH' ın oksitlenebilirliğinden faydalanılır.^{8,181}

Hidroperoksitlerin redükte olması esnasında meydana gelen okside glutatyon, GSH-R' nin katalizlediği reaksiyonla tekrar redükte olarak GSH' a dönüşür. Reaksiyonun gerçekleşmesi için NADPH' a ihtiyaç vardır.^{8,182}

GSH-Px iyi bilinen doğal bir antioksidandır.¹⁸³ Birbirinin aynı dört subünitten oluşan tetramerik bir enzimdir. Her subünit bir selenyum atomu içerir. Bu nedenle hücreleri çeşitli hasarlara karşı koruyan bir selenoenzim olduğu düşünülür. GSH-Px, organik peroksitleri indirgenmiş GSH ile elimine eder. GSH-Px toksik hidroperoksitlerin alkol ve suya indirgenmesini GSH' ın GSH disülfid (GSSG) oksidasyonu ile meydana getirir. GSSG tekrar NADPH yardımı ile GSH' a indirgenir, böylece sağlıklı hücreler antioksidan sistemler ile oksidatif zarara direnç gösterirler. GSH-Px' ın hücredeki dağılımı, GSH-R' a bağımlıdır. Her iki enzim de sitozolde en yüksek konsantrasyonlarda bulunur.¹⁸⁴

Bizim çalışmamızda; plazma GSH-R aktivitesi ele alındığında, Grup-I ile Grup-III ve Grup-II ile Grup-III arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gösterilmişken(sırasıyla, $p=0,016$, $p<0,05$; $p=0,024$, $p<0,05$), Grup-I ile Grup-II arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir($p=0,420$, $p>0,05$). Bu sonuçlar koroner arter stenozu derecesi Gensini skoruna göre hafif ve orta olan katılımcılarda stenoz derecesi ileri olan katılımcılara göre GSH-R aktivitesinin yüksek olduğunu göstermekte ve bu da bize GSH-R aktivitesinin koroner arter hastalığı düzeyinin belirlenmesinde bir belirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Plazma GSH-Px aktivitesi ele alındığında, Grup-I ile Grup-III ve Grup-II ile Grup-III arasında istatistiksel olarak anlamlı belirgin bir fark

gösterilmişken(sırasıyla, $p=0,000$, $p<0,05$; $p=0,001$, $p<0,05$), Grup-I ile Grup-II arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir($p=0,397$, $p>0,05$). Bu sonuçlar koroner arter stenozu derecesi Gensini skoruna göre hafif ve orta olan katılımcılarda stenoz derecesi ileri olan katılımcılara göre GSH-Px aktivitesinin yüksek olduğunu göstermekte ve bu da bize GSH-Px aktivitesinin koroner arter hastalığı düzeyinin belirlenmesinde bir belirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Plazma GSH düzeylerinde, Grup-I ile Grup-II ve Grup-I ile Grup-III arasında istatistiksel olarak anlamlı belirgin bir fark gösterilmişken(sırasıyla, $p=0,006$, $p<0,05$; $p=0,005$, $p<0,05$), ve Grup-II ile Grup-III arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir($p=0,869$, $p>0,05$). Bu sonuçlar koroner arter stenozu derecesi Gensini skoruna göre hafif ve orta olan katılımcılarda stenoz derecesi ileri olan katılımcılara göre plazma GSH düzeylerinin yüksek olduğunu göstermekte ve bu da bize plazma GSH düzeylerinin koroner arter hastalığı düzeyinin belirlenmesinde bir belirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Morrison JA ve ark., kontrol grubu($n=78$) ve KAH' ı olan($n=81$) katılımcılarda serum total GSH düzeylerini karşılaştırmışlar ve KAH' ı olan grupta($3,20\pm2,2$) serum total GSH düzeylerini kontrol grubundan($4,35\pm2,1$) belirgin olarak düşük bulmuşlardır($p<0,0009$).¹⁸⁵

Weinbrenner T ve ark., toplam 64 erkek katılımcıyı dahil ettikleri bir vaka-kontrol çalışmasında; 32 KAH olan hasta grubu ile 32 sağlıklı kontrol grubu arasında tam kan GSH-Px aktivitelerini karşılaştırdıklarında, hasta grubunda

GSH-Px aktivitelerini kontrol grubuna göre belirgin olarak düşük bulmuşlardır($p<0,001$).¹²⁹

Bridges AB ve ark., sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubu($n=50$) ve koroner anjiyografi yapılarak 6 gruba ayrılan hasta grubu($n=58$)' da plazma MDA düzeylerini ve plazma GSH düzeylerini karşılaştırmışlardır. Koroner anjiyografi sonuçlarına göre hasta grubunu; Grup1: anjiyografide değişiklik gözlenmeyen($n=7$), Grup2: koroner arterlerinde %50' den az stenoz tespit edilenler($n=2$), Grup3: bir koroner arterinde %50' den fazla stenoz gözlenen($n=16$), Grup4: iki koroner arterinde %50' den fazla stenoz gözlenen($n=17$), Grup5: üç koroner arterinde %50' den fazla stenoz gözlenen($n=12$), Grup6: sol ana koroner arterinde %50' den fazla stenoz gözlenen($n=4$) olmak üzere 6 gruba ayırmışlardır. Plazma GSH düzeylerinde; tüm grupların plazma GSH düzeyleri kontrol grubundan daha düşük olmasına rağmen yalnızca grup3-6 arasındaki gruplarla kontrol grubu arasında istatistiksel olarak belirgin bir fark gözlenmiştir. Plazma MDA düzeylerinde; tüm grupların MDA düzeyleri kontrol grubundan belirgin olarak yüksek ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.¹⁸⁶

Literatürde yer alan bu çalışmaların sonuçları bizim çalışmamızın sonuçlarını desteklemesine rağmen, Ruef J ve ark.' nın yaptığı bir çalışma bizim sonuçlarımızla çelişmektedir. Çünkü Ruef J ve ark.' nın sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubu($n=46$), stabil anjina grubu($n=108$) ve akut koroner sendrom grubu($n=54$) olmak üzere üç gruba ayırdıkları katılımcılarda, plazma GSH düzeylerini ve GSH-Px aktivitelerini karşılaştırmışlar ve gruplar arasında anlamlı

bir fark bulamamışlardır.¹³⁷ Bizim çalışmamızla Ruef J ve ark.'nın yaptığı bu çalışmanın sonuçlarının çelişmesinin nedeni olarak, çalışma gruplarını oluştururken seçtiğimiz kriterler ve bu parametrelerin çalışılması için seçilen yöntemler olabileceğini düşünmekteyiz.

Selenyum çok sayıda biyolojik fonksiyona sahiptir ve en önemlisi antioksidan etkisidir. Bu etkisi, selenosistein formunun tiyoredoksin (TrxR) redüktazlar ve GSH-Px'lerin aktif bölgesinde bulunmasındandır. Düşük selenyum durumunda bu enzimlerin aktivitesi bu nedenle azalmaktadır.^{4,70,187}

Çeşitli çalışmalarda, akut miyokardiyal infarktüs (MI), konjestif kalp yetmezliği kardiyomiyopati, hipertansiyon, kronik kalp hastalığı, iskemik kalp hastalığı ve ateroskleroz gibi farklı kardiyopatili hastaların serum veya plazma selenyum konsantrasyonlarında anlamlı azalma gösterilmiştir. Selenyum seviyesinin etiyolojik faktörler veya biyolojik sonuç olarak azalıp azalmadığı tam olarak aydınlatılamamışsa da selenyum eksikliğinin bu durumları artırma riski bilinmektedir. Selenyum eksikliğiyle birlikte oluşan GSH-Px ve TrxR'nin azalmış antioksidan aktivitesi de göz önünde tutulması gereken bir diğer faktördür. Selenyum eksikliği bu nedenle iskemi-reperfüzyon hasarı ve bunu takiben akut miyokardiyal infarktüse neden olabilmektedir. Ayrıca, selenyum desteğinin iskemi-reperfüzyon hasarına karşı kardiyoprotektif olabileceği Toufektsian ve ark., Poltronieri ve ark. ve Sinci ve ark. tarafından gösterilmiştir.^{4,5,188-189,190} 46 hastayla yapılan küçük bir çalışmada da selenyum eklenmesinin (400 µg/gün, 7 gün boyunca) hastalar üzerinde kalp ameliyatı gereksinimini azalttığı gösterilmiştir. İlginç olarak bu çalışmada aynı zamanda

selenyum eklenen hastalarda glutatyon peroksidaz mRNA ekspresyonunun arttığı da rapor edilmiştir.¹⁹¹

Alissa EM ve ark.' larının 130 sağlıklı ve 130 KAH olduğu belirlenen toplam 260 katılımcı ile yaptıkları çalışmada; hasta grubunda($0,09 \pm 0,05$ mg/L) ortalama serum selenyum konsantrasyonunu kontrol grubuna($0,15 \pm 0,08$ mg/L) göre belirgin olarak düşük bulmuşlardır($p < 0,001$).¹⁹²

Ergin A ve ark., akut miyokard infarktüsli 22, kronik koroner arter hastalığı olan 27, ve koroner arterleri normal olan 21 olguda serum selenyum düzeylerini incelemişler ve ilk iki grupta serum selenyum düzeyleri arasında anlamlı farklılık bulamamışlarken, her iki hasta grubunda da ortalama selenyum düzeyini normal koroner arterli olguların oluşturduğu gruptan anlamlı şekilde düşük tespit etmişlerdir($p < 0,05$).¹⁴⁰

Navarro-Alarcon M ve ark., akut miyokard infarktüsli($n=32$) ve iskemik kardiomyopati($n=50$) hastalar ile sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubu($n=223$) arasında ortalama serum selenyum konsantrasyonlarını karşılaştırmışlar ve her iki hasta grubunda da kontrol grubuna göre belirgin olarak düşük bulmuşlardır($p < 0,01$).¹³⁹

Oster O ve ark., koroner arter hastalığı olan hasta grubu($n=27$) ve sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubu($n=143$)' nda serum selenyum düzeylerini karşılaştırmışlar ve hasta grubunda(46 ± 19 µg/L) serum selenyum düzeylerini kontrol grubuna(75 ± 12 µg/L) göre belirgin olarak düşük bulmuşlardır($p < 0,001$). Bu iki grup arasında tam kan selenyum düzeylerini karşılaştırdıklarında yine hasta

grubunda tam kan selenyum düzeylerini kontrol grubuna göre belirgin olarak düşük bulmuşlardır($p<0,001$).¹⁴¹

Moore AJ ve ark.' ları hastanede yatan ve koroner arteriografi yapılan 106 katılımcı ile yaptıkları bir çalışmada, katılımcıları damar hastalığı olmayan(kontrol grubu), bir damar hastası, iki damar hastası, ve üç damar hastası olmak üzere 4 gruba ayırdıkları bir çalışmada; iki(111,3 $\mu\text{g/L}$) ve üç(105,2 $\mu\text{g/L}$) damar hastalığı bulunan gruplardaki plazma selenyum düzeyleri ortalamalarını damar hastalığı olmayan grubun(136,3 $\mu\text{g/L}$) ortalamasından belirgin olarak düşük bulmuşlardır($p\leq 0,05$, $p\leq 0,01$). Ancak bir damar hastalığı olan grubun plazma selenyum ortalaması(119,2 $\mu\text{g/L}$) ile damar hastalığı olmayan kontrol grubunun plazma selenyum düzeyleri arasında anlamlı bir fark tespit etmemişler ve plazma total selenyum düzeylerinin koroner aterosklerozisin şiddeti ile ters ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır.¹⁹³

Lubos E ve ark.' larının stabil anjina pectoris(SAP) veya akut koroner sendrom(ACS) ile başvuran hastaların uzun dönem prognozlarında serum selenyum konsantrasyonunun etkilerini araştırmayı amaçladıkları bir araştırmada 1731(852 SAP' li ve 879 ACS' li hasta) katılımcının bazal selenyum konsantrasyonlarını ölçmüşlerdir. 6,1 yıllık takip boyunca, 190 katılımcı kardiyovasküler nedenlerden dolayı ölmüştür. Kardiyak nedenlerden dolayı ölenler sıklıkla ACS' li hastalardan oluşmakta ve bunların selenyum düzeyleri yaşayan katılımcılarla karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük bulunmuştur(ölenler:61,0 $\mu\text{g/L}$; yaşayanlar:71,5 $\mu\text{g/L}$; $p<0,0001$). Selenyum konsantrasyonu en düşük olan 1/3' lük grupta($n=294$; $<61,6 \mu\text{g/L}$)

karşılaştırıldığında en yüksek olan 1/3' lük grupta($n=291$; $>80 \mu\text{g/L}$) tehlike oranı 0,38(%95 CI:0,16-0,91; $p=0,03$) bulunmuştur. Selenyum düzeyleri ile kardiyovasküler sonuçlar arasında SAP' li grupta anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Sonuç olarak düşük selenyum konsantrasyonunun ACS' li hastalarda hastalık süresince gelişebilecek kardiyovasküler ölümlerle ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır.¹⁹⁴

Tüm bu veriler koroner arter hastalığı ile plazma selenyum düzeyleri arasında ters ilişki olduğunu göstermesine rağmen bizim çalışmamızda, plazma selenyum düzeylerinde, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır($p>0,05$). Ancak yine yaptığımız literatür taramaları sonucunda koroner arter hastalığı ile plazma selenyum düzeyleri arasında bir ilişki olmadığı sonucuna varılan çalışmalara da rastladık. Örneğin; Parizadeh SMR ve ark.' larının anjiyografik olarak KAH tanısı konan katılımcılar($n=152$), anjiyografik olarak normal katılımcılar($n=60$) ve kontrol grubunu oluşturan katılımcılar($n=70$) olmak üzere üç grup katılımcı ile yaptıkları bir çalışmada; üç grubun serum selenyum konsantrasyonları($\mu\text{mol/L}$) arasında(sırasıyla, $111,8\pm39,4$; $112,3\pm36,0$; $104,2\pm36,4$) belirgin bir fark olmadığını belirlemişlerdir($p>0,05$). Serum selenyum($\mu\text{mol/L}$) düzeyi ve koroner hastalık şiddeti arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla, katılımcıları kontrol($n=70$), anjiyografik olarak koroner arter hastası olmayan, tek damar hastası($n=33$), iki damar hastası($n=34$) ve üç damar hastası($n=41$) olan şekilde gruplara ayırmışlar, gruplar arasında serum selenyumu ve koroner hastalık arasında anlamlı bir ilişki tespit edememişlerdir($p>0,05$).¹⁹⁵

Birbiriyle çelişen bu çalışma sonuçlarının, çalışmalara dahil edilen katılımcıların coğrafik ve sosyoekonomik farklılıklarından, çalışmaya dahil edilme kriterleri arasındaki farklılıklardan ve selenyum analizi için seçilen yöntemler arasındaki farklılıklardan kaynaklı olabileceğini düşünmekteyiz.

Bu bulgular ışığında, selenyum ve koroner olaylarla ilgili herhangi bir ilişkinin geçerliliği halen sorgulanmaktadır. Çünkü gözlemsel çalışmaların doğası gereği ve koroner kalp hastalığında selenyumun koruyucu rolünün halen yeterli düzeyde belirlenememiş olması nedeniyle bu ilişki sorgulanmaktadır. Konunun açıklığa kavuşturulabilmesi için, diyetlerinde farklı miktarlarda selenyum bulunan büyük gruplarla, diğer risk faktörlerini de dikkate alarak yüksek kalitede prospektif çalışmalara ve hayvan deneylerine ihtiyaç vardır.¹⁴⁶

6. SONUÇ

Koroner anjiyografi yapılan toplam 72 katılımcıyı dahil ettiğimiz bu çalışmada, katılımcılar koroner arter hastalığı derecesini belirlemek için kullanılan bir stenoz sınıflaması olan Gensini skorlama sistemi sonucunda hesaplanan skora göre üç gruba ayrılmış ve oksidan parametreler olarak AOPP ve MDA düzeyleri, antioksidan parametreler olarak ise Selenyum, GSH düzeyleri ile GSH-Px ve GSH-R aktivitelerinin gruplar arasındaki farkları araştırılmıştır.

Çalışmamız sonucunda koroner arter hastalığı derecesi ile AOPP ve MDA düzeyleri arasında bir ilişki tespit edilmiştir. Koroner arter hastalığının derecesi arttıkça bu parametrelerin düzeylerinde de artma gözlenmiş olup bu parametrelerin koroner arter hastalığında prognoz göstergesi olarak kullanılabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda antioksidan parametreler arasında yer alan, GSH-Px, GSH-R aktivitesi ve GSH düzeyleri ile koroner arter hastalığı derecesi arasında ters ilişki gözlenmiştir. Elde ettiğimiz bu sonuç bize bu parametrelerin koroner arter hastalığı derecesinin ilerlemesini önlemede önemli katkıları olabileceği fikrini vermiştir. Yine antioksidan parametreler arasında yer alan ve çalışmamızda yer verdiğimiz selenyum düzeyleri ile koroner arter hastalığı derecesi arasında bir ilişkiye rastlamadık. Literatürde de bu konu ile ilgili bir fikir birliğine rastlanılmamıştır. Selenyum ile koroner arter hastalığı arasında bir ilişki olup olmadığını ortaya koyabilmek için daha çok sayıda geniş katılımlı çalışmalara ihtiyaç olduğu sonucuna varılmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. Sokolow M, Mc Lilroy M, Cheitlin MD. *Coronary Heart Disease. In: Clinical Cardiology, A Lange Medical Book. 15th ed. 1990; 145-224.*
2. Mallika V, Goswami B, Rajappa M. *Atherosclerosis pathophysiology and the role of novel risk factors: a clinicobiochemical perspective. Angiology 2007; 58: 513-522.*
3. Alissa EM, Bahijri SM, Ferns GA. *The controversy surrounding selenium and cardiovascular disease: a review of the evidence. Med Sci Monit 2003; 9: 9-18.*
4. Allan C, Lacourciere G, Stadtman T. *Responsiveness of selenoproteins to dietary selenium. Ann Rev Nutr 1999; 19: 1-16.*
5. Levander O, Burk R. *Selenium, Modern nutrition in health and disease. Philadelphia: Lea and Febiger, 1994.*
6. Castro L and Freeman BA. *Reactive Oxygen Species in Human Health and Disease. Science 1954; 119: 623-26.*

7. Evans P and Halliwell B. *Micronutrients: Oxidant/Antioxidant Status. British Journal of Nutrition* 2001; 85(2): 67-74.
8. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyoterapik Etkileri. Konya: Mimoza Basım, 1995.
9. Karabulut Bay A. *Hepatit B' li hastalarda eritrosit ve lenfosit antioksidan enzimler, nitrik oksit düzeyleri ve plazma stokinleri. Doktora Tezi. Malatya: İnönü Üniversitesi, 2001.*
10. Halliwell B, Packer L, Cadenas E. *Handbook of Antioxidants. Taylor and Francis Groups, 2002; 9-10.*
11. Kılınç K, Kılınç A. *Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri, Temel Tıptan Kliniği. Hacettepe Tıp Derg* 2002; 33(2): 110-118.
12. Farber JL. *Mechanisms of cell injury by activated oxygen species. Environ Health Perspect* 1994; 102(10): 17-24.
13. Tanırgan G, Koldas M, Uras F. *Serbest radikaller: An introduction to free radical biochemistry. Haseki Tıp Bülteni* 1994; 32(4): 304-308.
14. Mercan U. *Toksikolojide serbest radikallerin önemi. YYU Vet Fak Derg* 2004; 15(1-2): 91-96.

15. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, significance. *Am J Clin Nutr* 1993; 57: 715-25.
16. De Wolf LD, Van Zutphen LFM, Beynen AC. The possible role of copper in development of oxidative stress and associated disease. Chapter 3. Department of laboratory animal science and nutrition, faculty of veterinary medicine. The Netherlands: Utrecht University, 2002; 31-46.
17. Hurnanen D. The protective effect of metallothionein against Lipid peroxidation caused by retinoic acid in human breast cancer cells. A thesis submitted to the faculty of graduate studies and research in partial fulfillment of the requirements of the degree of Master of Science. School of dietetics and human Nutrition McGill University, Montreal 1996; 1-111.
18. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin Proc* 1998; 63(4): 381-9.
19. Cochrane CG. Cellular injury by oxidants. *Am J Med* 1991; 30(91): 23-30.
20. Cheeseman KH, Stater TF. An Introduction to Free Radical Biochemistry. *Brit Med Bulletin* 1993; 149: 481-93.

21. Merel A, Tuncel P, Sürmen-Gür E, Özbek R, Öztürk E, Günay Ü. *Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Beta-Thalassemia. Pediat Hematol Oncol* 2000; 17: 687-693.
22. Fosse E, Mollness TE, Ingvaldsen B. *Complement activation during major operations without cardiopulmonary bypass. J. Thorac Cardiovasc Surg* 1987; 93: 860.
23. Gravlee GP. *Anticoagulation for cardiopulmonary bypass. In: Gravlee GP, Davis RF, Utley JR, editors. Cardiopulmonary Bypass. Baltimore: Williams & Wilkins, 1993; 340.*
24. Aksoy Y. *Antioksidan Mekanizmada Glutatyonun Rolü. T Klin J Med Sci* 2002; 22: 442-448.
25. Baykal Y, Kocabalkan F. *Serbest radikaller ve hücre hasarı. Sendrom* 2000; 9: 31-9.
26. Davies KJ. *Degradation of oxidized proteins by the 20S proteasome. Biochimie* 2001; 83(3-4): 301-10.

27. De Zwart L, Meerman JHN, Commandeur JNM, and Vermeulen NPE. *Biomarkers Of Free Radical Damage Applications In Experimental Animals And In Humans. Free Radical Biology & Medicine* 1999; 26(1/2): 202-226.
28. Therond P, Bonnefont-Rousselot D, Davit-Spraul A, Conti M, Legrand A. *Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach. Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2000; 3: 373-84.
29. Klebanoff SJ. *Oxygen metabolism and the toxic properties of phagocytes. Ann Intern Med* 1980; 93: 480-9.
30. Hampton MB, Kettle AJ, Winterbourn CC. *Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase and bacterial killing. Blood* 1998; 92: 3007-17.
31. Young IS and Woodside JV. *Antioxidants in Health and Disease. Clin Pathol* 2001; 54: 176-186.
32. Guilpain P, Servettaz A, Batteux F, Guillevin L, Mouthon L. *Natural and disease associated anti-myeloperoxidase (MPO) autoantibodies. Autoimmunity Reviews* 2008; 7: 421-5.

33. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: friend and foe. *J Leukoc Biol* 2005; 77: 598- 625.
34. Nourooz-Zadeh J. Ferrous ion oxidation in presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxides in plasma. *Methods Enzymol* 1999; 300: 58- 62.
35. Valdez LB, Arnaiž SL, Bustamante J, Alvarez S, Costa LE, Boveris A. Free radical chemistry in biological systems. *Biol Res* 2000; 33: 1-8.
36. Gutteridge JM, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci* 1990; 15: 129-35.
37. Dalle-Donne I, Giustarini D, Colombo R, Rossi R, Milzani A. Protein carbonylation in human diseases. *Trends Mol Med* 2003; 9: 169-76.
38. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. Newyork: Oxford University Press Inc, 2007: 55-79.
39. Zamora R, Alaiz M, Hidalgo FJ. Feed-back inhibition of oxidative stress by oxidized lipid/amino acid reaction products. *Biochemistry* 1997; 36: 15765-71.

40. Martinez-Cruz F, Guerrero JM, Osuna C. Melatonin prevents the formation of pyrrolized proteins in human plasma induced by hydrogen peroxide. *Neurosci Lett* 2002; 326: 147-50.
41. Lyons TJ. Glycation, carbonyl stress, EAGLEs, and the vascular complications of diabetes. *Semin Vasc Med* 2002; 2: 175-89.
42. Hidalgo FJ, Alaiz M, Zamora R. A Spectrophotometric method for the determination of proteins damaged by oxidized lipids. *Anal Biochem* 1998; 262: 29-36.
43. Reznick AZ, Packer L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol* 1994; 233: 357-63.
44. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillere-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int* 1996; 49(5): 1304-13.
45. Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V. Importance of oxidatively modified proteins in chronic renal failure. *Kidney Int Suppl* 2001; 78: 108-13.
46. Stadtman ER. Protein oxidation and aging. *Free Radic Res* 2006; 40: 1250-8.

47. Witko-Sarsat V, Gausson V, Descamps-Latscha B. Are advanced oxidation protein products potential uremic toxins? *Kidney Int Suppl* 2003; 84: 11-4.
48. Hamerlinck FF. Neopterin: a review. *Exp Dermatol* 1999; 8: 167-76.
49. Hoffmann G, Schobersberger W. Neopterin: a mediator of the cellular immune system. *Pteridines* 2004; 15: 107-12.
50. Bar-Or D, Curtis G, Rao N, Bampos N, Lau E. Characterization of the Co(2+) and Ni(2+) binding amino-acid residues of the N-terminus of human albumin. An insight into the mechanism of a new assay for myocardial ischemia. *Eur J Biochem* 2001; 268: 42-7.
51. Bar-Or D, Lau E, Winkler JV. A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia-a preliminary report. *J Emerg Med* 2000; 19: 311-5.
52. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* 1997; 82: 291-5.
53. Rumley AG, Paterson JR. Analytical aspects of antioxidants and free radical activity in clinical biochemistry. *Ann Clin Biochem* 1998; 35: 181-200.

54. Hu ML, Louie S, Cross CE, Motchnik P, Halliwell B. Antioxidant protection against hypochlorous acid in human plasma. *J Lab Clin Med* 1993; 121: 257-62.
55. Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and pathology of radical mediated protein oxidation. *Biochem J* 1997; 324: 1-18.
56. Wayner DD, Burton GW, Ingold KU, Barclay LR, Locke SJ. The relative contributions of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the total peroxyl radical-trapping antioxidant activity of human blood plasma. *Biochim Biophys Acta* 1987; 924: 408-19.
57. Michiels C, Raes M, Toddsaint O, Remacle J. Importance of Se-Glutathione Peroxidase, Catalase, Cu-Zn Superoxide Dismutase for Cell Survival Against Oxidative Stres. *Free Rad Biol Med* 1994; 17: 235-248.
58. Winterbourn CC. Superoxide as an Intracellular Radical Sink. *Free Radic Biol And Med* 1993; 14(1): 85-90.
59. Kılınç K. Kanserde oksijen radikalleri ve süperoksit dismutaz. *Biyokimya Dergisi* 1986; 11: 59-76.

60. Ilizarov AM, Koo HC, Kazzaz JA, Mantell LL, Li Y, Bhapat R, et al. Overexpression of manganese superoxide dismutase protects lung epithelial cells against oxidant injury. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001; 24: 436-441.
61. Yalçın AS. Antioksidanlar. *Klinik gelişim* 1998; 11: 342-346.
62. Reiter R, Tang L, Garcia JJ, Munoz-Hoyos A. Pharmacological actions of melatonin in oxygen radical pathophysiology. *Life Sci* 1997; 60: 2255-2271.
63. Kılınç K. Oksijen radikalleri: üretilmeleri, fonksiyonları ve toksik etkileri. *Biyokimya Derg* 1985; 10: 60-89.
64. Bast A, Haenen GR, van den Berg R, van den Berg H. Antioxidant effects of carotenoids. *Int J Vitam Nutr Res* 1998; 68: 399-403.
65. Moghadaszadeh B and Beggs AH. Selenoproteins and Their Impact on Human Health Through Diverse Physiological Pathways. *Physiology* 2006; 21: 307-315.
66. Burtis CA, Ashwooh ER, Burns DE. *Tietz Texbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 4th ed. St. Louis; 2006.

67. Fan AM and Kizer KW. *Selenium; Nutritional, Toxicologic, and Clinical Aspects*. *West J Med* Aug 1990; 153: 160-167.
68. Brown KM and Arthur JR. *Selenium, Selenoproteins and Human Health: A Review*. *Public Health Nutrition* 2001; 4(2B): 593-599.
69. Brinkman M, Buntinx F, Muls E, Zeegers MP. *Use of selenium in chemoprevention of bladder cancer*. *Lancet Oncol* 2006; 7: 766-74.
70. Holben DH, Smith AM. *The Diverse Role of Selenium Within Selenoproteins A Review*. *J Am Diet Assoc* 1999; 99: 836-843.
71. Gromer S, Eubel JK, Lee BL and Jacob J. *Human Selenoproteins at A Glance*. *Cell Mol Life Sci* 2005; 62: 2414-2437.
72. Beckett GJ and Arthur JR. *Selenium and Endocrine Systems*. *Journal of Endocrinology* 2005; 184: 455-465.
73. Papp LV, Lu J, Holmgren A, and Khanna KK. *From Selenium to Selenoproteins: Synthesis, Identity, and Their Role in Human Health*. *Antioxidants & Redox Signaling* 2007; 9(7): 775-793.
74. *Selenium*. *Alternative Medicine Review* 2003; 8(1): 63-71.

75. Dumont E, Vanhaecke F, Cornelis R. *Selenium Speciation From Food Source to Metabolites: A Critical Review. Anal Bioanal Chem* 2006; 385: 1304-1323.
76. *International Symposium on Selenium in Health and Disease. Ankara: Abstract Book, 2006.*
77. Grobbee DE, Bots ML. *Carotid artery intima-media thickness as an indicator of generalized atherosclerosis. J Intern Med* 1994; 236: 567-573.
78. Ross R. *The Pathogenesis of atherosclerosis. In: Braunwald E, editor. Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine. 5th ed. WB Saunders Company, 1997; 1105-1125.*
79. Sacks FM, Campos H. *Cardiovascular endocrinology: Low density lipoprotein size and cardiovascular disease: a reappraisal. J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(10): 4525-32.
80. *Tromboz, Hemostaz ve Anjiyoloji Kongresi (proceeding book). Ulutin O editor. İstanbul: 2002.*
81. Hansson GK. *Medical Biology: Inflammation and Coronary Disease. New Engl J Med* 2005; 352: 1685.

82. Linton MF, Fazio S. Macrophages, inflammation and atherosclerosis. *International Journal of Obesity* 2003; 27: S35-S40.
83. Osiecki H. The role of chronic inflammation in cardiovascular disease and its regulation by nutrients. *Alternative Medicine Review* 2004; 9(1): 32-53.
84. Tetik S, Yardımcı T, Özşavcı D, Uras F, Ekşioğlu Demiralp E. HDL binding to human platelets and purified GpIIb/IIIa. proceedings of the XIIth meeting of the International Society of Haematology. Linkesch W, editor. 2003; 209-213 .
85. Naito HK. Coronary Artery Disease and Disorders of Lipid Metabolism. In: Kaplan L, Pesce AJ, Kazmierczak SC, editors. *Clinical Chemistry*. 4th ed. Mosby, 2003; 603-638.
86. Özşavcı D. Platelets and lipoproteins: how much do we know about their interactions? *Adv Mol Med* 2006; 2(1): 7-11.
87. Şener A, Özşavcı D, Oba R, Yanıkkaya Demirel G, Uras F, Yardımcı KT. Do platelete apoptozis, activation, aggregation, lipid peroxidation and platelet-leukocyte aggregate formation occur simultaneously in hyperlipidemia? *Clin Biochem* 2005; 38: 1081-1087.

88. *Handbook of Lipoprotein Testing*. Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH, editors. Washington: AACCC Press, 2000.
89. Brooks-Wilson A, Marcil M, Clee SM, Zhang LH, Roomp K, van Dam M, et al. Mutations in ABC1 in Tangier disease and familial high density lipoprotein deficiency. *Nat Genet* 1999; 22: 336-345.
90. Badimon JJ, Zaman A, Helft G, Fayad Z, Fuster V. Acute coronary syndroms: Pathophysiology and preventive priorities. *Thromb Haemost* 1999; 82(2): 997-1004.
91. Ulutin ON. Haemostasis and atherosclerosis. In: Poller L editor. *Recent Advances in Blood Coagulation*. New York: Churchill Livingstone, 1991; 53-78.
92. Rothblat GH, Liera-Moya M, Atger V, Kellner-Weibel G, Williams DL, Phillips MC. Cell cholesterol efflux: integration of old and new observation provides new insights. *J Lipid Res* 1999; 40: 781-796.
93. Binder CJ, Chang M, Shaw PX, Miller YI, Hartvigsen K, Dewan A & Witztum JL. Innate and acquired immunity in atherogenesis. *Nature Medicine* 2002; 8(11): 1218-1226.

94. Getz GS. *Thematic Review Series: The Immune System and Atherogenesis. Journal of Lipid Research* 2005; 46: 1-10.
95. Pyorala K, De Backer G, Graham I, Poole-Wilson P, Wood D. *Prevention of coronary heart disease in clinical practice: recommendations of the Task Force of the European Society of Cardiology, European Atherosclerosis Society and European Society of Hypertension. Eur Heart J* 1994; 15: 1300-31.
96. Parish S, Collins R. *Petoral cigarette smoking tar yields and nonfatal MI 10.000 Cases And 32.600 Controls in UK. Br Med J* 1995; 311: 471- 7.
97. Roserberg L, Palmer JR, Shapiro S. *Decline in the risk of MI among women who stop smoking. N Eng J Med* 1990; 322: 213-217.
98. *Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program(NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA* 2001; 285: 2486-2497.
99. Lee IM, Rexrode KM, Cook NR, Manson JE, Buring JE. *Physical activity and coronary heart disease in vomen: is “no pain, no gain” passe? JAMA* 2001; 285: 1447-54.

100. Hergenc G, Schulte H, Assmann G, von Eckardstein A. Associations of Obesity Markers, Insulin, and Sex Hormones with HDL-Cholesterol Levels in Turkish and German Individuals. Are differences in HDL-cholesterol among Turks and Germans determined by obesity, insulin, or sex hormones. *Atherosclerosis* 1999; 145: 147-156.
101. İçli A, Gök H, Altunkeser BB, Özdemir K, Gürbilek M, Gederet TY, et al. Diyabetik olmayan akut koroner sendromlarda erken dönem yeni bir risk önbelirleyicisi olarak " Geliş İnsülin Rezistans İndeksi (GİRİ)' nin değerlendirilmesi. *Anadolu Kardiyol Derg* 2002; 3: 194-201.
102. Onat A, Uyarel H, Hergenç G, Yazıcı M, Uzunlar B, Türkmen S, et al. Yüksek riskli bir örneklemimizde lipoprotein(a): Dağılımı ve bağıntıları zemininde Türk erkeklerinde insülinemi ile ters ilişkisi gözlemi. *Türk Kardiyol Dern Arş* 2004; 32: 82-90.
103. Emerk K. Endotel fonksiyonları ve hiperhomosisteinemi: ADMA' nın etkisi. In: Ulutin O, editor. *Tromboz, Hemostaz ve Anjiyoloji Kongresi (proceeding book)*. İstanbul:2004; 45- 49
104. Bagdade JD, Ritter MC, Subbaiah PV. Accelerated cholesteryl ester transfer in patients with insulin-depent diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest* 1991; 21: 161-7.

105. Hirano K, Yamashita S, Kuga Y, Sakai N, Nozaki S, Kihara S, et al. Atherosclerotic disease in marked hyperalphalipoproteinemia: combined reduction of cholesteryl ester transfer protein and hepatic triglyceride lipase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 1849-1856.
106. Barter P, Kastelein J, Nunn A, Hobbs R. High density lipoproteins (HDLs) and atherosclerosis; the unanswered questions. *Atherosclerosis* 2003; 168: 195-211.
107. Bersot TP, Palaoglu E, Mahley WM. Managing dyslipidemia in Turkey: Suggested guidelines for population characterized by low levels of high density lipoprotein cholesterol. *Anadolu Kardiyol Derg* 2002; 4: 315-22.
108. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density protein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med* 2002; 347: 1557-65.
109. Dinavahi R, Falkner B. Relationship of homocysteine with cardiovascular disease and blood pressure. *J Clin Hypertens* 2004; 6(9): 494-500.
110. Ueland PM. Homocysteine species as components of plasma redox thiol status. *Clin Chem* 1995; 41: 340-42.

111. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995; 274: 1049-57.
112. Onat A, Yazıcı M, Hergenç G, Doğan Y, Karabulut A, Sarı İ, et al. Popülasyona dayalı bir çalışmada lipoprotein (a): Klinik önemi kadınlarımızda daha mı fazla? *Anadolu Kardiyol Derg* 2005; 5: 271-277.
113. Angles-Cano E. High antifibrinolytic activity of Lipoprotein(a) containing small apolipoprotein(a) isoforms. *Circulation* 2000; 102: E184-185.
114. Rifai N, Ma J, Sacks FM, Ridker PM, Hernandez WJL, Stampfer MJ, et al. Apolipoprotein(a) size and lipoprotein(a) concentration and future risk of angina pectoris with evidence of severe coronary atherosclerosis in men: The Physicians Health Study. *Clin Chem* 2004; 50: 1364-1371.
115. Blake GJ, Dada N, Fox JC, Manson JE, Ridker PM. A prospective evaluation of lipoprotein associated phospholipase A2 levels and the risk of future cardiovascular events in women. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38: 1302-1306.
116. Omland T, de Lemos JA, Morrow DA, Antman EM, Cannon CP, Hall C, et al. Value of N-Terminal Pro-Atrial and Pro-Brain Natriuretic Peptide in Patient

with Acute Coronary Syndromes: A TIMI 11B substudy. Am J Cardiol 2002; 89: 463-5.

117. Ridker P, Cook N. Clinical Usefulness of Very High and Very Low CRP across the Range of Full Framingham Scores. *Circulation* 2004; 109: 1955-1959.

118. Adam B, Talu C, Bedir A, Alvur M, Sagkan O. The levels of lipids, lipoproteins and apolipoproteins, in healthy people in the central region of the Black Sea. *Jpn Heart J* 1999; 40: 427-434.

119. Ridker PM, Stampfer MJ, Rifai N. Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. *JAMA* 2001; 285: 2481-5.

120. Schonbeck U, Varo N, Libby P, Buring J, Ridker PM. Soluble CD40L and cardiovascular risk in women. *Circulation* 2001;104: 2266-2268.

121. Freedman EJ. CD40 Ligand-Assessing Risk Instead of Damage? *NEJM* 2003; 348: 1163-65.

122. Ueland T, Aukrust P, Yndestad A, Otterdal K, Froland SS, Dickstein K, et al. Soluble CD40 ligand in acute and chronic heart failure. *European Heart J* 2005; 26: 1101-7.
123. Blake GJ, Robert J, Ostfeld E, Yucel EK, Nerea V, Schönbeck U, et al. Soluble CD40 ligand levels indicate lipid accumulation in carotid atheroma. An in vivo study with highresolution MRI. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: e11-e14.
124. Randomised placebo-controlled trial of abciximab before and during coronary intervention in refractory unstable angina: the CAPTURE Study. *Lancet* 1997; 349: 1429-1435.
125. Surekha RH, Srikanth BBMV, Jharna P, Ramachandra RV, Dayasagar RV, Jyothy A. Oxidative Stress and Total Anti Oxidant Status in Myocardial Infarction. *Singapore Med J* 2007; 48 (2) : 137.
126. Andreadou I, Iliodromitis EK, Farmakis D & Kremastinos DT. To Prevent, Protect and Save the Ischemic Heart: Antioxidants Revisited. *Expert Opin Ther Targets* 2009; 13(8): 945-956.
127. Davignon J and Ganz P. Role of Endothelial Dysfunction in Atherosclerosis. *Circulation* 2004; 109[suppl III]: III-27–III-32.

128. Maxwell SRJ and Lip GYH. *Free Radicals and Antioxidants in Cardiovascular Disease. Br J Clin Pharmacol* 1997; 44: 307-317.
129. Weinbrenner T, Cladellas M, Covas MI, Fito M, Tomas M, Senti M, et al. *High Oxidative Stress in Patients With Stable Coronary Heart Disease. Atherosclerosis* 2003; 168: 99-106.
130. Serdar Z, Aslan K, Dirican M, Sarandöl E, Yeşilbursa D, Serdar A. *Lipid and Protein Oxidation and Antioxidant Status in Patients With Angiographically Proven Coronary Artery Disease. Clinical Biochemistry* 2006; 39: 794-803.
131. Higashi Y, Noma K, Yoshizumi M, Kihara Y. *Endothelial Function and Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases. Circ J* 2009; 73: 411-418.
132. Fortuno A, Jose GS, Moreno MU, Diez J and Zalba G. *Oxidative Stress and Vascular Remodelling. Exp Physiol* 2005; 90(4): 457-462.
133. Hamilton CA, Miller WH, Al-Benna S, Brosnan MJ, Drummond RD, McBride MW, et al. *Strategies To Reduce Oxidative Stress in Cardiovascular Disease. Clinical Science* 2004; 106: 219-234.

134. Yang Z and Ming XF. *Recent Advances in Understanding Endothelial Dysfunction in Atherosclerosis. Clinical Medicine & Research* 2006; 4(1): 53-65.
135. Wassmann S, Wassmann K and Nickenig G. *Modulation of Oxidant and Antioxidant Enzyme Expression and Function in Vascular Cells. Hypertension* 2004; 44: 381-386.
136. Ogita H and Liao JK. *Endothelial Function and Oxidative Stress. Endothelium* 2004; 11: 123-132.
137. Ruef J, Marz W & Winkelmann BR. *Markers For Endothelial Dysfunction, But Not Markers For Oxidative Stress Correlate With Classical Risk Factors and The Severity of Coronary Artery Disease. Scandinavian Cardiovascular Journal* 2006; 40: 274-279.
138. Uchida K. *Role of Reactive Aldehyde in Cardiovascular Diseases. Free Radical Biology & Medicine* 2000; 28(12): 1685-1696.
139. Navarro-Alarcon M, Lopez-Garcia de la Serrana H, Perez-Valero V, Lopez-Martinez C. *Serum and Urine Selenium Concentrations in Patients with Cardiovascular Diseases and Relationship to Other Nutritional Indexes. Ann Nutr Metab* 1999; 43: 30-36.

140. Ergin A, Küçük E, Tümtürk N, Duru E, Güvendik G, Dinçer H, et al. *Selenium and The Ischemic Heart Disease. T Klin Kardioloji* 1992; 5: 23-27.
141. Oster O, Dahm M, Oelert H and Prellwitz W. *Concentrations of Some Trace Elements (Se, Zn, Cu, Fe, Mg, K) in Blood and Heart Tissue of Patients with Coronary Heart Disease. Clin Chem* 1989; 35(5): 851-856.
142. Venardos KM and Kaye DM. *Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury, Antioxidant Enzyme Systems, and Selenium: A Review. Current Medicinal Chemistry* 2007; 14: 1539-1549.
143. Mozaffarian D. *Fish, Mercury, Selenium and Cardiovascular Risk: Current Evidence and Unanswered Questions. Int J Environ Res Public Health* 2009; 6: 1894-1916.
144. Navas-Acien A, Bleys J and Guallar E. *Selenium Intake and Cardiovascular Risk: What is New? Current Opinion in Lipidology* 2008; 19: 43-49.
145. Duthie GG, Wahle KWJ and James WPT. *Oxidants, Antioxidants and Cardiovascular Disease. Nutrition Research Reviews* 1989; 2: 51-62.

146. Boosalis MG. *The Role of Selenium in Chronic Disease*. *Nutr Clin Pract* 2008; 23: 152-160.
147. Gensini GG. *Coronary arteriography*. Mount Kisco (NY): Futura Publishing Co, 1975.
148. Pilz J, Meineke I, Gleiter CH. Measurement of free and bound malondialdehyde in plasma by High-performance liquid chromatography as the 2,4-dinitrophenylhydrazine derivative. *J Chromatogr B* 2000; 742: 315-325.
149. Witko-Sarsat V, Nguyen-Khoa T, Jungers P, Drueke T, Descamps-Latscha B. Advanced oxidation protein products as a novel molecular basis of oxidative stress in uremia. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14(1): 76-78.
150. Hennekens CH. Increasing burden of cardiovascular disease. Current knowledge and future firections for research on risc factors. *Circulation* 1998; 97: 1095-1102.
151. Kumar V, Cotran S, Robbins SL. *Robbins Basic Pathology*. Nobel Tip Kitabevleri Ltd Sti 2000; 283-289.

152. Onat A, Sansoy V, Soydan İ, Tokgözoğlu L, Adalet K. TEKHARF; Oniki Yıllık İzleme Deneyimine Göre Türk Eriskinlerinde Kalp Sağlığı. Argos İletişim Hizmetleri Reklamcılık ve Ticaret Anonim Şirketi, İstanbul: 2003.

153. Westhuyzen J. The oxidation hypothesis of atherosclerosis: *Ann Clin Lab Sci* 1997; 27: 1-9.

154. Uysal M. Ateroskleroz, kalp-damar hastalıkları ve serbest radikaller. *Aktüel Tıp Dergisi* 2000; 5: 15-21.

155. Glavind J, Hartmann S, Clemmesen J, Jessen KE, Dam H. Studies on the role of lipid peroxides in human pathology. II. The presence of peroxidized lipids in the atherosclerotic aorta. *Acta Pathol* 1925; 30: 1-6.

156. Doğru-Abbasoğlu S, Kanbağlı O, Bulur H, Babalık E, Öztürk S, Aykaç-Toker G, et al. Lipid peroxides and antioxidant status in serum of patients with angiographically defined coronary atherosclerosis. *Clin Biochem* 1999; 32: 671-672.

157. Uysal M, Kutalp G, Seçkin S. The effect of cholesterol feeding on lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in the liver of rats. *Intern J Vit Nutr Res* 1988; 58: 339-342.

158. Balkan J, Kanbağlı O, Hatipoğlu A, Küçük M, Cevikbaş U, Aykaç-Toker G, et al. Improving effect of dietary taurine supplementation on the oxidative stress and lipid levels in the plasma, liver and aorta of rabbits fed on a high-cholesterol diet. *Biosci Biotechnol Biochem* 2002; 66: 1755-1758.
159. Nakazawa H, Genka C, Fujishima M. Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *Japan J Physiol* 1996; 46: 15-32.
160. Freeman BA, Crapo ID. Biology of disease-free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412.
161. Lunec J, Blake D. Oxygen free radicals: Their relevance to disease processes. London: 1990; 189- 212.
162. Ak H, Nevbahar T, Habif N, Dingiloğlu TN, Kültürsay H, Bayındır O. Plasma lipid peroxidation, Vit. E, superoxide dismutase and glutathione peroxidase alterations in coronary atherosclerosis. *Tr J Med Sci* 1994; 26: 11-15.
163. Babior BM. Phagocytes and oxidative stress. *The American Journal of Medicine* 2000; 109: 33-44.

164. Kuyvenhoven JP, Meinders AE. *Oxidative stress and diabetes mellitus, Pathogenesis of long-term complications. European Journal of Internal Medicine* 1999; 10: 9-19.

165. Serafini M, Del Rio D. *Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool? Redox Report* 2004; 9: 145-152.

166. De La Cruz JP, Quintero L, Villalobos MA, De La Cuesta FS. *Lipid peroxidation and glutathione system in hyperlipemic rabbits: influence of olive oil administration. Biochem Biophys Acta* 2000; 1485: 36-44.

167. Cavalca V, Cighetti G, Bamonti F, Loaldi A, Bortone L, Novembrino C, et al. *Oxidative Stress and Homocysteine in Coronary Artery Disease. Clinical Chemistry* 2001; 47(5): 887-892.

168. Kotur-Stevuljevic J, Memon L, Stefanovic A, Spasic S, Spasojevic-Kalimanovska V, Bogavac-Stanojevic N, et al. *Correlation of oxidative stress parameters and inflammatory markers in coronary artery disease patients. Clin Biochem* 2007; 40: 181-7.

169. Garelnabi M, Gupta V, Mallika V and Bhattacharjee J. Platelets Oxidative Stress in Indian Patients with Ischemic Heart Disease. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 2010; 24: 49-54.

170. Tamer L, Sucu N, Polat G, Ercan B, Aytacoglu B, Yücebilgiç G, et al. Decreased Serum Total Antioxidant Status and Erythrocyte-Reduced Glutathione Levels Are Associated with Increased Serum Malondialdehyde in Atherosclerotic Patients. *Archives of Medical Research* 2002; 33: 257-260.

171. Shacter E. Protein oxidative damage. *Methods Enzymol* 2000; 319: 428-436.

172. Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta* 2003; 329: 23-38.

173. Upston JM, Niu X, Brown AJ, Mashima R, Wang H, Senthilmohan R, et al. Disease stage-dependent accumulation of lipid and protein oxidation products in human atherosclerosis. *Am J Pathol* 2002; 160: 701-710.

174. Kaneda H, Taguchi J, Ogasawara K, Aizawa T, Ohno M. Increased Level of Advanced Oxidation Protein Products in Patients With Coronary Artery Disease. *Atherosclerosis* 2002; 162: 221-225.

175. Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Gausson V, Mothu N, et al. Advanced Oxidation Protein Products as Risk Factors for Atherosclerotic Cardiovascular Events in Nondiabetic Predialysis Patients. *American Journal of Kidney Diseases* January 2005; 45(1): 39-47.
176. Skvarilova M, Bulava A, Stejskal D, Adamovska S, Bartek J. Increased Level of Advanced Oxidation Products (AOPP) as a Marker of Oxidative Stres in Patients with Acute Coronary Syndrome. *Biomed Papers* 2005; 149(1): 83-87.
177. Hertog MGL, Kromhout D, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, Fidanza F, et al. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the 7 countries study. *Arch Intern Med* 1995; 155: 381-386.
178. Bindoli A, Rigobello MP. Mitochondrial thioredoxin reductase and thiol status. *Methods Enzymol* 2002; 347: 307-316.
179. Netto LES, Kowaltowski AJ, Castilho RF, Vercesi AE. Thiol enzymes protecting mitochondria against oxidative damage. *Methods Enzymol* 2002; 348: 260-270.
180. Köken T, Kahraman A, Serteser M, Çetinkaya G. Hemodiyalizin protein karbonil içeriği ve sülfhidril grupları düzeyi üzerine etkileri. *Türk Nef Diy ve Transp Dergisi* 2001; 2: 83-85.

181. Carlberg I, Mannervik B. Glutathione reductase. *Methods Enzymol* 1985; 113: 484-490.
182. Sağ C, Özkan M, Uzun M, Yokuşoğlu M, Baysan O, Erinç K, et al. Koroner risk katsayısı ile koroner anjiyografik olarak damar tutulumu ve risk faktörleri arasındaki ilişki. *Anadolu Kardiyol Derg* 2006; 6: 353-357.
183. Barber DA, Harris SR. Oxygen free radicals and antioxidants: a review. *Am Pharmacy* 1994; 34: 26-35.
184. Punchard AS, Taylor JA, Thompson RPH, Peerson TC. Red cell lipid peroxidation and antioxidant enzymes in iron deficiency. *Eur J Haematol* 1991; 47: 287-291.
185. Morrison JA, Jacobsen DW, Sprecher DL, Robinson K, Khoury P and Daniels SR. Serum Glutathione in Adolescent Males Predicts Parental Coronary Heart Disease. *Circulation* 1999; 100: 2244-2247.
186. Bridge AB, Scott NA, Pringle TH, Mcneill GP, Belch JJF. Relationship Between the Extent of Coronary Artery Disease and Indicators of Free Radical Activity. *Clin Cardiol* 1992; 15: 169-174.

187. Berggren M, Mangin J, Gasdaska J, Powis G. Effect of selenium deficiency on Rat Thioredoxin Reductase Activity. *Biochem Pharm* 1999; 57: 187-193.
188. Toufektsian MC, Boucher F, Pucheu S, Tanguy S, Ribuot C, Sanou D, et al. Effects of selenium deficiency on the response of cardiac tissue to ischemia and reperfusion. *Toxicol* 2000; 148: 125-132.
189. Poltronieri R, Cevese A, Sbartai A. Protective effect of selenium in cardiac ischemia and reperfusion. *Cardioscience* 1992; 3: 155-160.
190. Sinci V, Gunaydin S, Kalaycioglu S, Songul H, Gokgoz L, Oz E. Effects of selenium enriched reperfusion solutions on isolated guinea pig hearts. *Keio J Med* 1998; 47: 219-222.
191. Liu D, Liu S, Huang Y, Liu Y, Zhang Z, Han L. Effect of selenium on human myocardial glutathione peroxidase gene expression. *Chin Med J* 2000; 113: 771-775.
192. Alissa EM, Bahjri SM, Ahmed WH, Al-ama N, Ferns GAA. Trace Element Status in Saudi Patients With Established Atherosclerosis. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 2006; 20: 105-114.

193. Moore JA, Noiva R and Wells IC. *Selenium Concentrations in Plasma of Patients with Arteriographically Defined Coronary Atherosclerosis. Clinical chemistry* 1984; 30(7): 1171-1173.
194. Lubos E, Sinning CR, Schnabel RB, Wild PS, Zeller T, Rupprecht H J, et al. *Serum Selenium and Prognosis in Cardiovascular Disease: Results From The Atherogene Study. Atherosclerosis* 2010; 209: 271–277.
195. Parizadeh SMR, Moohebbati M, Ghafoori F, Ghayour-Mobarhan M, Kazemi-Bajestani SMR, Tavallaie S, et al. *Serum Selenium and Glutathione Peroxidase Concentrations in Iranian Patients With Angiography-Defined Coronary Artery Disease. Angiology* 2009; 60(2): 186-191.

8. ÖZET

Oksidatif stres, oksidanlar ve antioksidanlar arasında oksidanlar lehine bir dengesizlik olması durumu olarak tanımlanır. Bu durum zararlı biyokimyasal reaksiyonlara sebep olur ve insanlarda aterosklerozis ve buna bağlı vasküler hastalıklar, mutagenesis ve kanser, nörodejenerasyon, immünolojik bozukluklar ve hatta yaşlanma sürecinin hızlanmasını da içeren çok çeşitli kronik hastalıkların görülmesine önemli düzeyde katkıda bulunur.

Serbest oksijen radikallerinin yol açtığı oksidatif hasar, protein, lipid ve nükleik asit gibi biyomolekülleri etkilediğinden; oksidatif stresin gösterilmesinde, bu biyomoleküllerin oksidatif ürünlerine yönelik testler kullanılmaktadır.

Antioksidan sistemde öncelikle enzim sistemleri etkilidir. Bunlardan en önemlileri Süperoksit dismutaz, Glutasyon redüktaz, Glutasyon peroksidaz, Katalaz gibi enzimlerdir.

Selenyum canlılarda etkisini selenoproteinler üzerinden göstermektedir. Antioksidan korunmada, fertilitede, kas gelişmesi ve fonksiyonlarında, tiroid hormon metabolizmasında ve immün fonksiyonlarda görev alırlar.

Arteriyel ateroskleroz etyopatogenezi halen tam olarak bilinmemekle beraber, koroner ateroskleroz ve komplikasyonları patogenezinde, antioksidan savunma ve reaktif oksijen türleri üretimi arasındaki dengenin bozulmasından dolayı ortaya çıkan oksidatif stresin hayati bir rol oynadığını gösteren kanıtlar vardır.

Uzun bir süredir kardiyovasküler hastalıkların önlenmesi ile selenyum ilişkilendirilmektedir. İnsanlarda ve deneysel olarak hayvanlarda selenyum ile

kadiyomiyopatinin ilişkisi gösterilmiştir. Ancak, aterosklerotik kalp hastalığı ile selenyum ilişkisi henüz tartışmalıdır.

Biz bu çalışmamızda; Koroner arter hastalığı şüphesiyle koroner anjiyografi yapılan hastaları, bir stenoz skorlaması olan Gensini skorlama sistemi ile hastalığın derecesine göre üç gruba ayırdık. Gensini skoru 0-4 arasında olan hastaları kontrol grubu(Grup-I) olarak aldık. Gensini skoru 5-35 arasında olan hastaları Grup-II ve Gensini skoru >35 olan hastaları da Grup-III olarak adlandırdık.

Çalışmamız sonucunda koroner arter hastalığı derecesi ile AOPP ve MDA düzeyleri arasında bir ilişki belirledik. Koroner arter hastalığının derecesi arttıkça bu parametrelerin düzeylerinde de artma gözlenmiş olup bu parametrelerin koroner arter hastalığında prognoz göstergesi olarak kullanılabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda antioksidan parametreler arasında yer alan, GSH-Px, GSH-R aktivitesi ve GSH düzeyleri ile koroner arter hastalığı derecesi arasında ters ilişki gözlenmiştir. Elde ettiğimiz bu sonuç bize bu parametrelerin koroner arter hastalığı derecesinin ilerlemesini önlemede önemli katkıları olabileceği fikrini vermiştir.

Çalışmamızda yer alan parametrelerden GSH-R ile GSH-Px arasında güçlü pozitif korelasyon, GSH-R ile AOPP arasında zayıf negatif korelasyon, GSH-Px ile AOPP arasında da güçlü negatif korelasyon olduğu gözlenmiştir.

Yine antioksidan parametreler arasında yer alan ve çalışmamızda yer verdiğimiz selenyum düzeyleri ile koroner arter hastalığı derecesi arasında bir

ilişkiye rastlamadık. Literatürde de bu konu ile ilgili bir fikir birliğine rastlanılmamıştır. Selenyum ile koroner arter hastalığı arasında bir ilişki olup olmadığını ortaya koyabilmek için daha çok sayıda geniş katılımlı çalışmalara ihtiyaç olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Koroner arter hastalığı, Oksidatif stres, Selenyum, Antioksidan sistemler.

9. SUMMARY

There is increasing evidence that oxidative stress, defined as an imbalance between oxidants and antioxidants in favor of the former, leads to detrimental biochemical reactions and is an important contributing factor in several chronic human diseases, including atherosclerosis and related vascular diseases, mutagenesis and cancer, neurodegeneration, immunologic disorders, and even the aging process.

Oxidative stress in biological systems results from the overproduction of radical oxygen species (superoxide anion and hydroxyl radicals) or nitric oxide. These species are capable of chemically altering all major classes of biomolecules (e.g., lipids, proteins and nucleic acids) by changing their structure and function. Humans and animals have developed mechanisms to protect these biomolecules from the deleterious effects of free radicals. Among antioxidant systems, enzymes such as superoxide dismutases, glutathione peroxidases and catalase, as well as water and lipid-soluble antioxidants such as glutathione, ascorbate (vitamin C), [alpha]-tocopherol (vitamin E), ubiquinol and [beta]-carotene, are of particular interest to limit oxidative damage in humans, thereby lowering the risk of certain chronic diseases.

In the present reviews have been reported different assays for the measurement of antioxidant defences and markers of oxidative damage to lipids, proteins and DNA occurring *in vivo*. Due to the increasing scientific interest into oxidative stress in nutrition research, it seems important to use highly specific

analytical methods to monitor the intensity of oxidative stress in pathological situations or to appreciate that antioxidant supplementation reduces oxidant damage.

The physiological effects of selenium occur mainly through the function of selenoproteins. Selenium supplementation has been suggested to have a preventive and sometimes therapeutic role in different diseases, such as cancer, male infertility, viral infection, and immune system function.

The aetiopathogenesis leading to an atherosclerotic artery is still unknown. It has been shown that oxidative stress due to the disturbance in the balance between the production of reactive oxygen species and antioxidant defence plays a vital role in the pathogenesis of coronary atherosclerosis and its complications.

For some time now, selenium has been related to the prevention of cardiovascular diseases. A deficiency of selenium is suspected to be involved in the pathogenesis of cardiomyopathy.

In this study; with coronary artery suspicious patients to be done coronary angiography, a stenosis score with Gensini score system according to disease grade we separate into three groups. As control group (Group-I) Gensini score is between 0-4 patients used. Gensini score between 5-35 patients are Group-II and Gensini score >35 patients are called Group-III.

In our study result, we determined a relation between coronary artery disease grade with AOPP and MDA levels. While coronary disease grade increase, an increase in this parameters levels was shown, these parameters had been thought. They are used in coronary artery disease as prognose indicators.

The parameters in our study, there is a strong positive correlation between GSH-R and GSH-Px, between GSH-R and AOPP weak negative correlation, between GSH-Px and AOPP a strong negative correlation had been observed.

We have not determined a relation between selenium levels which are among the antioxidant parameters and in our study and coronary artery disease grade. There was no consensus, it had not been determined about this subject in literature. The authors question the validity of any association because of the nature of observational studies and state that “the evidence is still inadequate to establish a protective role of selenium in coronary heart disease” and therefore should not be recommended.

Key Words: Coronary artery disease, Oxidative stress, Selenium, Antioxidant systems.

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı : Uğur
Soyadı : ERÇİN
Doğum Yeri ve Tarihi : Zonguldak, 15.11.1974
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitimi:

2007- : Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD.(Araştırma
Görevlisi Doktor) ANKARA
1991-1998 : Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi ADANA
1988-1991 : Çaycuma Lisesi Çaycuma /ZONGULDAK

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar:

Türk Klinik Biyokimya Derneği
Klinik Biyokimya Uzmanları Derneği

Bilimsel Etkinlikleri:

ULUSAL ve ULUSLAR ARASI YAYINLAR

1.Bozkurt Y, Öğretmen F, Erçin U and Yıldız U. Seminal plasma composition and its relationship with physical spermatological parameters of grass carp

(*Ctenopharyngodon idella*) semen: With emphasis on sperm motility. *Aquacult Res* 2008; 39: 1666-1672.

2. Seer FS, ğretmen F, Ercin U and Bozkurt Y. 2009. Relationship between seminal plasma composition and spermatological parameters in scaly carp (*Cyprinus carpio*). *J Anim Vet Adv* 2009; 8: 2745-2749.

3.Bozkurt Y, ğretmen F, Secer FS, Ercin U. Effects of Seminal Plasma Composition on Sperm Motility in Mirror Carp (*Cyprinus carpio*). *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh* 2009; 61(4): 307-314.

4. Kalaycı MU, Soylu A, Eroğlu HE, Kubilay D, Sancak B, Uğurluoğlu C, Ercin U, Koca Y, Karatepe O. Effect of ankaferd blood stopper on hemostasis and histopathological score in experimental liver injury. *Bratisl Lek Listy* 2010; 111(4): 183-8.

5. Asife Sahinarslan, Ridvan Yalcin, Sinan Kocaman, Salih Topal, Ugur Ercin, Ali C. Tanalp, Neslihan Bukan, Bulent Boyaci, and Atiye Cengel. The Relationship of Serum Erythropoietin Level With Coronary Collateral Development. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2010; 55: A153.E1439.

6. Asife Sahinarslan, Ridvan Yalcin, Sinan Kocaman, Salih Topal, Ugur Ercin, Neslihan Bukan, Bulent Boyaci, and Atiye Cengel. The Relationship Between

Plasma Asymmetrical Dimethylarginine Level and Coronary Collateral Development. . J. Am. Coll. Cardiol., March 9, 2010; 55: A153.E1441.

7. *Asife Sahinarslan, Sinan Kocaman, Salih Topal, Ugur Ercin, Neslihan Bukan, Ridvan Yalcin, and Atiye Cengel. The Relationship Between Serum Monocyte Chemoattractant Protein-1 and Coronary Collateral Development. J. Am. Coll. Cardiol., March 9, 2010; 55: A153.E1440.*

8. *Özlem Gülbahar, Ayşe Banu Çaycı, İrem Budakoğlu, Uğur Erçin, Neslihan Bukan, Hatice Paşaoğlu, Tuncay Nas. ADA Criteria for Evaluation of OGTT for Diagnosis of Gestational Diabetes Mellitus. Türk Klinik Biyokimya Derg 2010; 8(2): 63-67.*

ÖDÜLLER

1. 2008 yılı Uluslararası Yayınları Teşvik Ödülü
2. 2009 yılı Uluslararası Yayınları Teşvik Ödülü