T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PARKİNSON HASTALIĞINDA OKSİDATİF STRES VE MELATONİN DÜZEYLERİ

GÜLCAN HASKAYA

YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ 2015

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

PARKİNSON HASTALIĞINDA OKSİDATİF STRES VE MELATONİN DÜZEYLERİ

GÜLCAN HASKAYA
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
PROF. DR. FATMA İNANÇ TOLUN

Jüri Üyesi
DOÇ. DR. AHMET ÇELİK

Jüri Üyesi
YRD. DOÇ. DR. EDİBE SARIÇİÇEK

KAHRAMANMARAŞ-2015

KABUL VE ONAY

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü öğrencisi GÜLCAN HASKAYA tarafından hazırlanan "PARKİNSON HASTALIĞINDA OKSİDATİF STRES VE MELATONİN DÜZEYLERİ" adlı bu tez, jürimiz tarafından 09 / 07 / 2015 tarihinde oy birliği / oy çokluğu ile Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN (DANIŞMAN) …….
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, KSÜ

Doç. Dr. Ahmet ÇELİK (ÜYE) …….
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, KSÜ

Yrd. Doç. Dr. Edibe SARIÇİÇEK (ÜYE) …….
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Zirve Üniversitesi

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Mehmet BOŞNAK …….
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Gülcan HASKAYA

Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Kurulu tarafından desteklenmiştir.

Proje No:2013/5-8 YLS

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince yetişmemde emeği geçen, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam, tez danışmanım KSÜ Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN' a,

Her türlü katkı ve desteklerinden dolayı KSÜ Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Metin KILINÇ' a, KSÜ Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ' a, ve KSÜ Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ahmet ÇELİK' e,

Tezimin her aşamasında yardım ve desteklerini esirgemeyen KSÜ Nöroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Deniz TUNCEL' e, ve Necip Fazıl Kısakürek Devlet Hastanesi Nöroloji doktoru Buket TUGAN YILDIZ' a,

Değerli dekanımız Prof. Dr. Bülent KANTARÇEKEN' e,

Eğitimim boyunca laboratuvar çalışmalarım sırasında yakın ilgi ve yardımlarını gördüğüm Öğr. Gör. Meltem GÜNGÖR, Betül KABAKCI BABAOĞLU, Seyfettin ÇELİK, Emine ARAZ, Araş. Gör. Nuray Üremiş ve Araş. Gör. Muhammed ÜREMİŞ' e,

Çalışmalarım boyunca bana rahat ve huzurlu bir çalışma ortamı sağlayan, her zaman sevgi ve desteklerini yanımda hissettiğim müstakbel eşim Nebi KAPLAN' a, sevgili annem İslim HASKAYA, sevgili babam Hüseyin HASKAYA ve kardeşlerime teşekkürlerimi sunarım.

Bu araştırma, 2013/5-8 YLS kodlu proje olarak Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

Haziran 2015 **Gülcan HASKAYA**

PARKİNSON HASTALIĞINDA OKSİDATİF STRES VE MELATONİN DÜZEYLERİ
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)
GÜLCAN HASKAYA

ÖZET

Parkinson hastalığı, kesin tedavisi olmayan, motor ve non-motor semptomlarla karakterize, sinsi başlangıçlı progressif nörodejeneratif bir hastalıktır. Yapılan çalışmalarda pek çok nörodejeneratif hastalığın etiyolojisinde serbest radikal oluşumunun önemli rolü olduğuna ilişkin bilgiler mevcuttur.

Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin) epifiz bezi tarafından salgılanan doğal bir hormondur. Melatoninin farklı organ ve dokularda doğrudan serbest radikal yakalayıcı ve antioksidan etkiye sahip olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Melatonin doğrudan radikal yakalayıcı etkisini, en çok hidroksil radikali üzerinde göstermektedir.

Bu çalışmada Parkinson hastalığında melatonin ve oksidatif stres belirteçlerinin düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştırmak amaçlanmıştır. Bunun için Parkinson tanısı almış 19 hastadan ve 19 nörodejeneratif hastalığı olmayan sağlıklı birey çalışmaya dahil edilmiştir. Parkinson hasta grubunda Hoehn&Yahr (H&Y) değerlendirme skalaları ile hastalık klinik olarak derecelendirilmiştir. Bireylerden sabah 10:00'da ve akşam 22:00'de kan örnekleri alınarak elde edilen serumda Süperoksit Dismutaz (SOD) ve Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) enzim aktiviteleri, Malondialdehid (MDA) düzeyleri spektrofotometrik olarak, melatonin düzeyleri ELİSA yöntemiyle incelenmiştir.

Nonparametrik-Wilcoxon testi sonuçlarına göre ise göre; Hasta grubu melatonin değerleri sabah ve akşam gruplarında karşılaştırıldığında; sabah grubunda akşama göre artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Kontrol grubu melatonin değerleri sabah ve akşam gruplarında karşılaştırıldığında; sabah grubunda akşama göre azalış gözlenmiştir. Fakat bu azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştur ($p>0,05$).

Hasta grubu sabah ve akşam gruplarında mda değerlerinde azalış, gsh-px değerlerinde ve sod değerlerinde artış gözlenmiştir. Kontrol grubunda sabah ve akşam mda, gsh-px ve sod değerlerinde artış gözlenmiştir. Kontrol grubu gsh-px değerleri sabah ve akşam gruplarında karşılaştırıldığında; sabah grubunda akşama göre artış gözlenmiştir. Fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Anahtar Kelimeler: Melatonin, Oksidatif stres, Parkinson hastalığı
Sayfa Adedi: 124
Danışman : Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN

IN PARKINSON'S DİSEASE OXİDATİVE STRESS AND MELATONİN LEVELS
(M.Sc. THESİS)
GÜLCAN HASKAYA

SUMMARY

Parkinson's disease, with no definitive treatment, is characterized by motor and non-motor symptoms is insidious progressive neurodegenerative disease. The studies available information regarding the important role of many neurodegenerative diseases, the etiology of free radical formation.

Melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine) is a natural hormone secreted by the pineal gland. In different organs and tissues of melatonin it has been shown by direct free radical scavenger, and studies to have antioxidant activity. Melatonin directly radical scavenger effect, shows on the hydroxyl radical.

This study aimed to investigate the relationship between melatonin and levels of oxidative stress in Parkinson's disease. 19 patients had been diagnosed with Parkinson's for it, and 19 healthy individuals were included in non-neurodegenerative disease study. Parkinson's patients in the Hoehn & Yahr (H & Y) is rated as a clinical disease assessment scales. Morning from individuals 10: 00 and evening 22: 00 obtained blood samples of serum superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) enzyme activities, malondialdehyde (MDA) levels by spectrophotometry, melatonin levels were measured by ELISA method.

According to the non-parametric Wilcoxon test results-based; The patient group compared to the group of morning and evening melatonin levels; In the morning compared to the evening group it was observed. This increase was statistically significant ($p < 0.05$). Compared to the control group melatonin levels in the morning and evening group; by morning group decreased by evening. However, this decrease was not statistically significant ($p > 0.05$).

The patient group in the morning and evening groups m decrease in value, the increase in the value of GSH-Px and SOD values were observed. Does the control group in the morning and in the evening, the increase in GSH-Px and SOD values were observed. Compared to the control group GSH-Px valuesmorning and evening group; In the morning compared to the evening group it was observed. However, this increase was not statistically significant ($p > 0.05$).

Key Words: Melatonin, Oxidative stress, Parkinson's disease,
Page Number : 124
Supervisor : Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

KABUL VE ONAY
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR I
ÖZET II
İNGİLİZCE ÖZET III
İÇİNDEKİLER IV
SİMGELER VE KISALTMALAR VIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2.GENEL BİLGİLER 3
2.1. Nörodejenerasyon 3
2.1.1. Nöronal hücre hasarının dört basamağı 4
2.1.1.1. Azalmış Enerji Metabolizması 5
2.1.1.2. Apoptoz 7
2.2. Yaşlanma 8
2.2.1.Oksidatif Stresin Yaşlanma Üzerine Etkisi 9
2.3. Parkinson Hastalığı 10
2.3.1. Tanımı 10
2.3.2. Tarihçe 11
2.3.3. Patolojik bulgular 12
2.3.4. Fizyopatolojisi 13
2.3.5. Tanı ve klinik özellikler 14
2.3.6. Epidemiyoloji ve genetik 15
2.4. Serbest Radikaller 15
2.4.1. Serbest radikalller ve reaktif oksijen türleri (Rot) 18
2.4.1.1. Süperoksit radikalleri (O_2•) 19
2.4.1.2. Hidroksil radikali (OH•) 20
2.4.1.3. Hidrojen peroksit (H_2O_2) 21
2.4.1.4. Singlet O_2 ($1O_2$) 22
2.4.1.5. Hidroperoksil radikali (HO_2•) 22
2.4.1.6. Hipokloröz asit (HOCl) 22
2.4.1.7. Nitrik oksit (NO) 23

2.4.2. Başlıca serbest radikal üretim kaynakları....23
2.4.2.1. Endojen serbest radikal oluşum mekanizmaları....24
2.4.2.1.1. Mitokondrial elektron transport sistemi....24
2.4.2.1.2. Araşidonik asit kaskatı....24
2.4.2.1.3. Ksantin oksidaz (XO)....24
2.4.2.1.4. Endoplazmik retikulum....26
2.4.2.1.5. Peroksizom....26
2.4.2.1.6. Plazma Membranı....26
2.4.2.1.7. Otooksidasyon....26
2.4.2.1.8. Redoks Döngüsü....27
2.4.2.1.9. Fagositoz....27
2.4.2.2. Eksojen serbest radikal oluşum mekanizması....28
2.4.3. Serbest radikallerin etkileri....28
2.4.3.1. Hücre içi etkileri....28
2.4.3.1.1. Lipit peroksidasyonu....28
2.4.3.1.2. Nükleik asitler üzerine etkileri....30
2.4.3.1.2.1. Mitokondriyal Dna'da oksidatif hasar ve yaşlanma....31
2.4.3.1.3. Proteinlere etkileri....32
2.4.3.1.4. Karbonhidratlara etkileri....32
2.4.3.2. Hücre dışı etkiler....32
2.4.3.2.1. Kemotaksi....32
2.4.3.2.2. Rolling....33
2.4.3.2.3. Adhezyon....33
2.4.3.2.4. Antiadhezyon molekülleri inhibisyonu....33
2.4.4. Reaktif oksijen türleri ve yaşlılık....34
2.5. Antioksidanlar....35
2.5.1. Antioksidan enzimler....36
2.5.1.1. Enzimatik antioksidanlar....36
2.5.1.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)....36
2.5.1.1.2. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)....38
2.5.1.1.3. Glutatyon redüktaz (GR)....39
2.5.1.1.4. Glutatyon-S-Transferaz (GST)....39
2.5.1.1.5. Katalaz (CAT)....39
2.5.1.2. Enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri....40

2.5.1.2.1. E ve C vitamini....40
2.5.1.2.2. Karotenoidler....41
2.5.1.2.3. Glutatyon (GSH)....41
2.5.1.2.4. Ürik asit (Ürat)....41
2.5.1.2.5. Melatonin....41
2.5.1.3. Antioksidan korunma ve yaşam süresi arasındaki ilişki....42
2.6. Melatonin....42
2.6.1. Tanımı....44
2.6.2. Tarihçe....46
2.6.3. Epifiz bezinin (pineal gland) yapısı....46
2.6.4. Melatonin sentez ve metabolizması....47
2.6.4.1. Melatonin sentezinin aydınlık-karanlık döngüsü ile ilişkisi....51
2.6.4.2. Melatonin sentezinin nöral kontrolü....54
2.6.5. H ormonun farmakokinetiği....55
2.6.6. Melatonin reseptörleri ve etki metabolizması....55
2.6.7. İnsanda melatonin üretimi....57
2.6.8. Melatonin yaşlanma üzerine etkileri....57
2.6.9. Melatonin antioksidan etkileri....58
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER....61
3.1. Gereç....61
3.1.1. Vaka seçimi....61
3.1.2. Numunelerin alınışı ve hazırlanması....61
3.2. Yöntem....62
3.2.1. Biykimyasal analizler....62
3.2.1.1. Malondialdehit düzeyinin tayini (Mda)....62
3.2.1.2. Süperoksit dismutaz (SOD) tayini....64
3.2.1.3. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) tayini....65
3.2.1.4. Melatonin tayini....66
3.3. İstatistik....67
4. BULGULAR....68
4.1. Biyokimyasal Analiz Sonuçları....68
4.1.1. MDA değeri üzerine etkileri....71
4.1.2. SOD değerleri üzerine etkileri....73
4.1.3. GSH-Px değerleri üzerine etkileri....75

4.1.4. Melatonin değerleri üzerine etkileri.....77
5. TARTIŞMA 80
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....85
7. KAYNAKLAR.....86
8. ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ 111
9. TABLOLAR LİSTESİ.....113
10.EKLER.....114
11. ÖZ GEÇMİŞ 124

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADP : Adenozin Difosfat

AFMK : N-asetil-N_2- formil-5-metoksi knüramin

ALS : Amiytrofik Lateral Skleroz

APUD : Amine Precursor Uptake and Decarboxilation

ATP : Adenozin Trifosfat

Bcl-2 : B-Cell Lymphoma 2

BOS : Beyin Omurilik Sıvısı

Ca : Kalsiyum

cAMP : Siklik Adenozin Monofosfat

CAT : Katalaz

CO_2 : Karbon Dioksit

CS-MS : Gaz Kromatografi-Kütle Spectrofotometre

Cu : Bakır

CuZnSOD : Bakır Çinko Süperoksit Dismutaz

DNA : Deoksiribo Nükleik Asit

DNPH : 2,4-dinitrofenilhidrazin

e^- : Elektron

EC : Enterokromofin

EDTA : Etilendiamintetraasetik Asit

ETS : Elektron Transport Sistemi

FAD : Flavin Adenin Dinükleotit

Fe : Demir

FMN : Flavin Mononükleotid

GC-MS : Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometre

GSH : Glutatyon

GnRH : Gonadotropin Salıverici Hormon

GSSG : Okside Glutatyon

GSH-Px : Glutatyon Peroksidaz

GSH-R : Glutatyon Redüktaz

HCl : Hidroklorik Asit

H_2O : Su

H_2O_2 : Hidrojen Peroksit

HO_2• : Perhidroksil Radikali

5-HIOM : 5 Hidroksindol Ometiltransferaz

5-HTP : 5-hidroksitriptofan

H• : Hidrojen Radikali

OH• : Hidroksil Radikali

HOCl : Hipoklorik asit

HPLC : Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografi

6-HMS : 6-Hidroksimelatoninsülfat

I.N.T. : Iodonitrotetrazolium

IL : İnterlökin

KSÜ : Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

KL : Korpus Luteum

Koenzim Q : Ubikinona

LH : Lüteinizan Hormon

LOO• : Lipid Peroksil Radikali

LOOH : Lipit Hidroperoksit

L• : Yağ Asidi Zincir Radikali

MAO : Monoaminoksidaz

MDA : Malondialdehit

MEL : Melatonin

MPTP : Metil-4-fenil-1,2,3,6- Tetra-Hidropridin

mRNA : Mesajcı RNA

mtDNA : Mitokondriyal DNA

MPP + : Metil-4-Fenil Piridinyum İyonu

MnSOD : Manganez Süperoksit Dismutaz

Ml : Mililitre

mU : Mili Ünit

MR : Magnetik Rezonans

NAD : Nikotin Adenin Dinükleotid

NADH : Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat

NADPH : Redükte Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat

Na_2 EDTA: Disodyum EDTA

NAT : N-asetil Transferaz

NK : Natural Killer

NO : Nitrik Oksit

NO• : Nitrik Oksit Radikali

NOS : Nitrik Oksit Sentaz

XO : Ksantin Oksidaz

XOD : Ksantin-Ksantin Oksidaz

O_2 : Süperoksit

$ONOO^-$: Peroksinitrit

O_2• : Singlet Oksijen

$O_2•^-$: Süperoksit Anyon Radikali

OD : Optik Dansite

OH : Hidroksil Radikali

6-OHDA : 6-Hidroksi Dopamin

PH : Parkinson Hastalığı

PI : Fosfoinozitid

PO_2 : Kısmi Oksijen Basıncı

RNT : Reaktif Nitrojen Türleri

ROM : Reaktif Oksijen Metabolitleri

ROR : Reaktif Oksijen Radikalleri

ROS : Reaktif Oksijen Türleri

ROT : Reaktif Oksijen Türleri

RNS : Nitrojen

RNA : Ribonükleik Asit

ROO : Peroksil Radikali

Se : Selenyum

SCN : Suprakiazmatik Nükleus

SCG : Servikal Gangliyon

SOD : Süperoksit Dismutaz

SN : Substantia Nigra

SOR : Serbest Oksijen Radikalleri

-SH : Tiyol

TBA : Tiyobarbitürik Asit

TCA : Trikloro Asetik Asit

TNF-R1 : Tümör Nekroz Faktör-Reseptör 1

Zn : Çinko

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Parkinson hastalığı (PH), motor ve non-motor semptomlarla karekterize, sinsi baslangıçlı progresif nörodejeneratif bir hastalıktır.(Mohammad A. ve ark. 1993).

Nörodejeneratif hastalıklarda, santral sinir sisteminde ve organizmanın diğer bölgelerinde makromoleküllerde oksidatif hasar artışı ile ilgili bulgular vardır. Fizyolojik yaşlanma, parkinson hastalarında beynin çeşitli bölgelerinde oksidatif olaylar ve antioksidan savunma mekanizmalarının değiştiğini gösteren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (M.Flint Beal 1995).

Kronobiyolojik çalışmalar, biyolojik saatlerin vücuttaki fizyolojik mekanizmalar üzerinde fazla ve çok yönlü etkilerinin olduğunu göstermiştir. Memelilerde biyolojik saatlerin en önemlilerinden biri gece-gündüz ritmini sağlayan sirkadiyen ritimdir. Bu canlılarda sirkadiyen ritmin düzenlenmesinde başlıca pineal bez ve suprakiazmatik nükleus (SCN) görev alır (Cassone MV. 2005). Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin) ise pineal bez tarafından salgılanan ve ritmi düzenleyen doğal bir hormon olup, 1950'li yılların sonuna doğru varlığı tanımlanmıştır. Melatoninin farklı organ ve dokularda doğrudan serbest radikal yakalayıcı, dolaylı olarak ise antioksidan etkiye sahip olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.

Yaşlanma ile birlikte melatonin düzeyi azalmaktadır ve akşam saatlerindeki melatonin düzeylerinin daha fazla olduğu bilinmektedir. Diğer yandan Parkinson hastalarında akşam ve gündüz melatonin düzeyleri ve oksidatif stres parametreleri arasındaki ilişki hiç araştırılmamıştır. Bu konu ile ilgili bir çalışmanın olmaması, bu konuda yapılacak çalışmalara gerekçe teşkil etmektedir.

Melatonin, memelilerde başta pineal bez olmak üzere over, lens ve kemik iliği hücreleri ile safra yolları ve gastrointestinal sistemden sentezlenip salgılanan bir hormondur. Sentezinin düzenlenmesi primer olarak geceye yani karanlığa bağlıdır. Melatoninin kanseri önleyici, hücresel hasarı onarıcı ve bağışıklık sistemini destekleyici etkileri olduğu da gösterilmiştir (Reiter RJ. 2005).

Eksojen olarak verilen melatonin, kan beyin bariyerlerin kolayca aşarak beyne girer, lipid ve suda çözünebilir özelliğinden dolayı tüm subsellüler kompartmanlara kolayca dağılabilir. Bu özelliğinden dolayı melatonin bilinen eşsiz bir antioksidandır. Ayrıca glutatyon peroksidaz aktivitesini stimüle etmekte, beyinde serbest radikal oluşumuna neden olan nitrik oksidi sentezleyen nitrik oksit sentazı inhibe ettiği bildirilmiştir (Tan D.X ve ark 1993).

İlerleyen yaş ile birlikte Melatonin düzeylerinin belirgin ölçüde azalması, yaşa bağlı nörodejeneratif hastalıklarının ortaya çıkmasında kademeli melatonin kaybının etkili olabileceğini düşündürmektedir. Nigrosirial dopaminerjik nöronlar yaş ilerledikçe azalır, Parkinson hastalarında bu azalma daha da hızlıdır. Nöron kaybının nedeni kesin olarak bilinmemekle birlikte, oksidatif stresin artışının etken olabileceği ile ilgili bulgular vardır(Örmen M. ve Fadıloğlu M. 1997).

Organizmalar, serbest radikallerin yol açtığı oksidatif hasara karşı kendilerini koruyabilmek için, birçok savunma mekanizmasına sahiptirler. Bu mekanizmaların başında da süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimleri gelmektedir. Eritrositlerde oksidatif stres oluşumu, membranın yapısında bulunan lipidlerin peroksidasyona uğraması, membran bütünlüğünün bozularak eritrositlerin parçalanma riskinin artmasına neden olur (Ianas O. ve ark. 1991, Reiter RJ. ve ark. 2003).Eritrositlerde membran lipidlerinin peroksidasyona uğraması sonucunda ikincil ürün olarak oluşan önemli oksidasyon ürünlerinden birisi MDA (Malondialdehit)'dir (Reiter RJ. 2003).

Bu çalışmada amaç Parkinson hastalığında farklı aydınlık/karanlık döngüsü ile vücutta fizyolojik olarak sentezlenen melatonin düzeylerindeki değişiklikler ile lipid peroksidasyonunda oluşan değişikliklerin arasında bir ilişkinin olup olmadığının araştırılmasıdır. Böylelikle farklı ışık döngüsüne maruz kalınması durumunda serumda oksidatif hasar gelişip gelişmeyeceği konusuna açıklık getirilmek istenmiştir. Bunun için klinik olarak Parkinson hastalığı tanısı konulmuş hastalardan alınan kan örnekleri ve Parkinson hastalığı bulunmayan kontrol grubu kan örneklerinde, melatonin düzeylerinin değişimini ve oksidatif stres biyomarkerlarının düzeyleri arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçladık.

Parkinson hastalarında melatonin düzeyleri ve oksidatif stres belirteçleri arasındaki ilişki hiç araştırılmamıştır. Yapılan araştırma Parkinson hastalığı sürecinde melatonin etkisini ve oksidatif stres ile arasındaki ilişkiyi anlayabilmeye yöneliktir. Bu araştırma sonucunun Parkinson hastalığının tedavisinde melatoninin yerinin belirlenmesinde yararlı olacağını düşünmekteyiz.

Yapılan araştırma Parkinson hastalığı sürecinde melatonin etkisini anlayabilmeye yöneliktir. Bu çalışmada melatonin nörodejeneratif beyin hasarı arasındaki ilişkiye ek olarak oksidatif stres ile de arasındaki ilişkiyi de inceleyebilmektir. Bu sayede bundan sonraki araştırmalara katkı sağlanacaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Nörodejenerasyon

Sinir sistemi oldukça kompleks biyokimyasal, fizyolojik ve anatomik özelliklere sahiptir. Nöronlar arası ileti elektriksel veya kimyasal haberci moleküller tarafından sağlanmaktadır. Bu iletişim sisteminin düzenlenebilmesi için beyinde enerji ihtiyacının sağlıklı olarak karşılanması gereklidir (Evans P.H 1993, Halliwell B. ve Gutteridge J. 1985, Strange P.G 1996).

Santral sinir sistemi oksidatif hasarlara çok fazla maruz kalmaktadır. Beyin dokusu enerjisini yalnızca oksidatif metabolizmadan elde eder ve vücuttaki oksijenin büyük bölümünü kullanır. Oksidatif fosforilasyon esnasında mitokondrial elektron transport zincirinden yüksek enerjili elektronların kaçışı serbest radikallerin oluşumunu sağlar. Beyin dokusu oksidan strese özellikle duyarlıdır. Çünkü beyin total vücut ağırlığının % 2' sini oluşturmasına rağmen, total vücut oksijeninin yani inhale edilen oksijenin % 20' sini kullanır. Bu da nöron hücrelerinin diğer organlardan neden daha çabuk tahrip olduğunu göstermektedir. Nöronların membran yüzeyi sitoplazma hacmine oranlandığında, bu oranın membran yüzeyi lehine arttığı bilinmektedir. Beyin hücre zarları büyük oranda doymamış yağ asitlerinden oluşur, bunlar lipid peroksidasyon reaksiyonlarında serbest radikallerin başlıca substratlarıdır. Bununla beraber beyinin savunma mekanizması oldukça zayıftır, hemen hemen hiç CAT içermezken, GSH-Px ve SOD enzimleri ile glutatyon ve E vitamini düzeyleri ise sınırlıdır. Nöronal ağ anatomik açıdan hasara uğramaya uygundur. Periferik hasara bağlı olarak aksonların uzama yeteneği de sınırlıdır. Rejenerasyon kapasitesi sınırlı olan beyinde, serbest radikallerin oluşmasını sağlayan metaller (örneğin demir) spesifik bölgelerde birikebilir (Evans P.H 1993, Halliwell B. ve Gutteridge J. 1985).

Bağlanmamış demir tek başına ve askorbik asitle kombine halde aktif olarak oksidanları meydana getirir. Beyin oksidatif olayları kolayca başlatan ve çoğaltan, idame ettiren çoklu doymamış yağ asitlerini yüksek konsantrasyonda bulundurmaktadır. Beyin kan-beyin engeli diye adlandırılan bariyer sayesinde çeşitli toksinlerin merkezi sinir sitemine girişine engel olduğu gibi aynı zamanda çeşitli antioksidanların girişini de sınırlamaktadır (Reiter, R.J 1998).

Harman (Weber G.F 1994), yaşlanmayla ilgili teorisinde, oksijen kaynaklı serbest radikallerin, aerobik organizmaların hücrelerinde veya hücreler arasında kendiliğinden

kimyasal modifikasyonlara neden olduğunu ve biyolojik olarak dejenerasyonun oluştuğunu ileri sürmüştür.

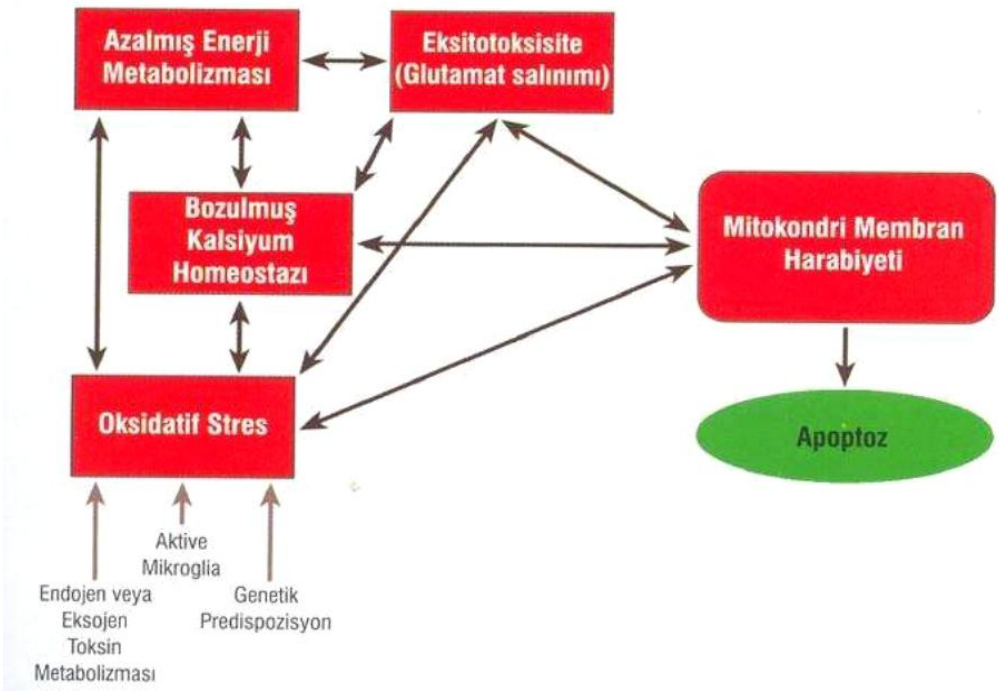
Belirli beyin bölgelerinde ortak özelliklere sahip nöronların ölümü sonucunda nörodejeneratif hastalıklar ortaya çıkmaktadır (Gerlach M. ve ark. 1996). Nörodejeneratif hastalıklar, farklı klinik fenotiplere ve genetik etyolojiye sahip bir grup heterojen hastalıktır. Bunlar arasında Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, Hungtington hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarla birlikte Epilepsi, Friedrich ataksisi, Amiyotrofik lateral skleroz (ALS) gibi daha birçok hastalıklar bulunmaktadır (Reiter R.J 1998, Beal M.F 1998, Gerlach M. ve ark. 1996).

Santral sinir sistemi, çeşitli biyolojik ajanların toksik etkilerine oldukça duyarlıdır. Bu problem nöron ve nöron türevi hücrelerin kendilerini yenileyememeleri ile artmaktadır. Çeşitli nöron ve onların sinaptik bağlantılarının gizli redüksiyonu zamanla tüm santral sinir sistemi fonksiyonlarında görülebilmektedir. Bu nedenle erken davranılarak nöronal kayıp minimize edilebileceği ve yaşla birlikte kaçınılmaz olarak görülen 'nöropsikolojik' ve 'nörobehavioral' bozuklukların ortadan kaldırılabileceği ve azaltılabileceği iddia edilmiştir (Reiter, R.J 1998).

2.1.1. Nöronal hücre hasarının dört basamağı

Nörodejeneratif süreçler arasındaki etkileşim bize Parkinson Hastalığının gelişimini açıklayabilir. Nöronal hücre hasarının temel 4 basamağı şu şekilde sıralanabilir:

1. Azalmış enerji metabolizması
2. Oksidatif stres
3. Ekzotoksisite (Glutamat salınımı)
4. Bozulmuş kalsiyum (Ca^{+2}) homeostazı ve enzim sistemlerinin indüksiyonu (Gürer R. 2005)



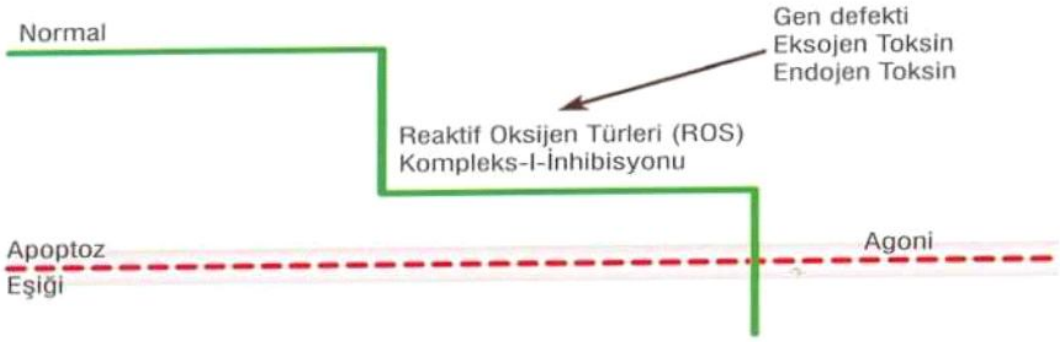
Şekil 1: Mitokondri membranı harabiyeti ve farklı uyarılarla oluşan apoptoz (Gürer R. 2005).

2.1.1.1. Azalmış Enerji Metabolizması

Mitokondri, enerji akışının yönlendirildiği ve Adenozin Trifosfat (ATP)'nın elde edildiği organel olarak tüm vücut hücrelerinde olduğu gibi nöronlarda da önemli bir yer tutmaktadır. Krebs döngüsünde oluşan elektronlar $NADH^{+}H^{+}$ ile $FADH_2$'de toplanır ve mitokondri iç zarında yer alan enzim yapısında proteinler üzerinden elektrokimyasal gradientinin oluşturulmasına katkıda bulunurlar. Bu enzim sisteminde yer alan NADH dehidrogenaz (kompleks-I) ve süksinat dehidrogenaz (kompleks-II) elektron transport zincirinde başlangıç yolunu oluşturur. Elektronlar bu sisteme flavin mononükleotidler ve kompleks I ve II'nin demir-sülfür merkezlerinden giriş yaparak, ubikinona (koenzim Q) taşınırlar. Ubikinol-sitokrom c oksidoredüktaz (kompleks III) sitokrom b, sitokrom c1 ve Rieske demir-kükürt proteininden ibaret önemli bir komplekstir. Koenzim Q'dan kompleks III'e transfer olan elektronlar, bakır içeren ve bir enzim olan sitokrom c oksidaza (kompleks IV) geçerler. Son olarak da elektronlar oksijen molekülüne aktarılarak, ATP sentaz'dan (kompleks V) bir molekül ATP'nin sentezini gerçekleştirirler. Elektronlar kompleks I ve II den III. ve IV. komplekslere geçiş yaparken protonlar da mitokondriyal iç zardan geçerek, bir elektrokimyasal gradient oluşumuna katkıda bulunurlar (Beal M.F 1998, Schapira A.H.V 1998, Turski L. ve Turski W.A. 1993).

Normal koşullarda elektronlar bir kompleksten diğerine aktarılırken bazen kaçaklar meydana gelmektedir. Bu kaçaklar reaktif oksijen türleri (ROT) (örn: superoksit radikali, singlet oksijen, hidrojen peroksit, hidroksil radikali, hidroperoksil radikali, hipoklorik asit/ hipoklorür) oluşumuna yol açmaktadır (Weber G. F 1994, Gerlach M. ve ark. 1996).

Parkinson hastalığı nedeniyle hayatını kaybeden hastaların beyin dokularında gerçekleştirilen post-mortem araştırmalarda sadece substantia nigra pars kompaktada kompleks-I aktivitesinde azalma saptanmıştır (Olenow C.W ve ark 2002). Mitokondrial iç membranın elektron transport komplekslerinin inhibitörü olan MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6 tetrahidropiridin) (Metil-4-fenil piridinyum iyonu (MPP+) metabolitleri aracılığıyla) gibi nörotoksinler, insan ve hayvan modellerinde Parkinson hastalığını aktive etmektedir. Daha ileri bir kompleks-I inhibitörü olan rotenon, sıçanlarda benzer bir etkiyi indüklemekte ve Parkinson hastalığında tetikleyici model olarak kullanılmaktadır. Sonuçta, mitokondrial kompleks-I defekti apoptozun tetiklenmesinde santral rol oynamaktadır (Darnell J. 1994).



Şekil 2: Apoptoz etki mekanizması (Gürer R. 2005).

Mitokondri hasarlanması, nöron kurtarıcı etkisi olmayan, fakat nöroprotektif etkisi olan terapötik maddelerin geliştirilmesi açısından bir çıkış noktasıdır. Bu konuda özellikle, Parkinson hastalığında substantia nigradaki patojenik değişiklikler ve normal şartlarda elekrokimyasal proton konsantrasyon gradienti ile mitokondriyal membran potansiyellerinde azalma arasındaki ilişki ilgi çekmektedir Bu gradientlerde depolanan enerji, mitokondrilerin sitoplazmik membran bölgesindeki ATP sentezinin proton transportu ile ekzoplazmik alandan veziküllerin içine taşınması amacıyla kullanılmaktadır. Mitokondriler, mitokondriyal iç membran hasarlanmadığı sürece ATP sentezler (Schapira A.H.V 2002).

Membran geçirgenliğine neden olan düşük miktarda temizleyici madde varlığında, ATP sentezi kontrol edilir, çünkü bu şartlar altında membranda elektriksel potansiyel ve proton gradientinin devamlılığı sağlanmaz Substantia nigrada patojenik değişiklikler, serbest

radikal oluşumunu ve mitokondriyal membran potansiyelinde azalma ile seyreder. Bu nedenle nöronal hücrelerde apoptotik eşik azalır. Bu duruma genellikle, hücrelerde apoptoza neden olan hipoksi eşlik eder (Schapira A.H.V 2002).

2.1.1.2. Apoptoz

Hücre ölümü iki farklı şekilde gerçekleşmektedir: nekrotik ve apoptotik hücre ölümü. Nekroz, hücrede akut, örneğin toksik hasarlar sonucu gerçekleşir ('nöronal assosiasyon'), apoptoz ise hücre süisit sürecidir. Nöronal hücre kültürlerinde yapılan araştırmalar her iki form arasında benzerlikler göstermiştir. Nörodejeneratif hastalıklarda apoptotik hücre ölümünü destekleyen çok sayıda deneysel kanıtlar bulunmaktadır (Stahl S.M 2000).

Dopamin, glukokortikoidler, kalsiyum ve glutamat apoptozu fizyolojik olarak hızlandıran maddelerdir. Apoptozu hızlandıran patolojik süreçler büyüme faktörleri ve sitokin seviyesinde azalma, viral ve bakteriyel infeksiyonlar, etanol, amiloid-beta-peptid ve özellikle oksidatif strestir (Dy M. 1999). Apoptozun en önemli mediatörleri reaktif oksijen türleridir. Etkinin, radikal türlerinin dozuna bağlı olduğu düşünülmektedir. İn vitro eksitotoksisite modelinde, glutamat gibi eksitotoksik bir nörotransmitterin yüksek dozlarda nekroza, düşük dozlarda ise nöronların apotozuna neden olduğu saptanmıştır (Gürer R. 2005).

İnsanlarda, substantia nigra (SN) pars compakta yaklaşık 450.000 dopaminerjik nöron içerir. Pozitron emisyon tomografi (fluoro-l-dopa) ile yapılan çalışmalar ve post mortem incelemeler nigral nöron kaybının başlangıçta daha hızlı olduğunu ancak daha sonra normal yaş ilintili azalmaya eriştiğini ortaya koymaktadır (Fearnley JM. ve Lees AJ. 1991, Calne DB. ve ark. 1997).

Parkinson hastalığı, SN pars compakta'daki dopaminerjik nöronların ölüm şeklidir Parkinson hastalarının beyin dokuları üzerinde yapılan çalışmalar SN'da, kaspaz-1, kaspaz-3 ve tümör nekroz faktör-reseptör1 (TNF-R1) düzeylerinin kontrol örneklerine göre daha fazla olduğunu göstermiştir. Her üç protein için Parkinson hastalarının beyinlerinin diğer bölgelerinde (kaudat nükleus, putamen, serebellum ve frontal korteks) kontrol örnekleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Mogi M. 2000).

Metil-4-fenil-1,2,3,6- tetra-hidropridin (MPTP) kullanılarak farelerde parkinsonizm oluşturulan bir başka çalışmada, dopaminerjik nöronlarda bir pro-apoptotik protein olan Bax'ın mRNA ve protein düzeylerinde artış gözlenmiş, buna karşılık bir anti-apoptotik protein olan Bcl-2 seviyesinin düştüğü kanıtlanmıştır (Vila M. 2001).

Bu bulgular yine PH'lı olgularda görülen mitokondriyal kompleks I seviyesindeki azalma ile birlikte düşünüldüğünde, mitokondriyal yoldan aktive edilen apoptoz mekanizmasını akla getirmektedir (Andersen JK. 2001).

2.2. Yaşlanma

Yaşlanma, bütün canlılarda görülen temel biyolojik bir süreçtir. Zaman faktörüne bağlı olarak kişinin çevreye uyum sağlama yeteneği ile hücre fonksiyonlarının iç ve dış etkenler arasında denge kurma potansiyeli dereceli olarak azalmaktadır. Yaşlanma ile ortaya çıkan fizyolojik ve anatomik değişiklikler hastalıkların gelişmesini ve sonucunu etkilemektedir (Eşer İ. 1991, Rusk HMD 1971, Ergin K. 1992, Cluff LR. 1983).

Yirminci yüzyılda dünya üzerindeki pek çok toplumda olduğu gibi ülkemizde de bebek ölümlerinin azalması, enfeksiyon hastalıklarının kontrolü, beslenme ve sağlık hizmet olanaklarının gelişmesi ile beklenen yaşam süresi artmıştır (Belek İ. 1998, Erdoğan N. 1993,Bilir N. 2006). Yaşlanmayla birlikte kronik hastalıkların, yetersizliklerin meydana gelme olasılığı ve sağlık tedavi sistemlerinin kullanım oranı artmaktadır. Hastalıkların önlenmesi ve sağlığın arttırılması yaşlı sağlığının önemli bölümünü oluşturur. Hastalıkların %40 ile %70'i yaşam biçimi modifikasyonları, risk etmenlerinin tedavisi ve koruyucu uygulamalarla kısmen ya da tamamen önlenebilir (Erdinçer DS. 2004, U.S. Department of Health and Human Services 1996).

Yaşlı nüfusun artmasıyla bir taraftan yaşlanmayla gelişen hastalıklara yönelik tedavi programları yapılırken bir taraftanda bu hastalıkları önleyici uygulamalar çalışılmaktadır (Erişim Tarihi 2007).

Yaşlanma ve buna bağlı olarak gerçekleşen hastalıkların artışına çeşitli etkenler neden olmaktadır. Örneğin, oksidanlar aerobik metabolizma tarafından yüksek oranlarda ve sürekli üretilir. Bu oksidanlar DNA, protein ve lipid makromoleküllerinin hasarına neden olurlar. Sonuçta böyle hasarlanmanın artması yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı dejeneratif hastalıkların oluşmasına neden olabilir (Ergin K. 1992).

Serbest radikaller, vücutta metabolizma sırasında meydana gelen son derece etkin kimyasal ürünlerdir. Hücre büyüme ve gelişimi üzerine doğrudan etkilidirler ve hücre yaşamı üzerine olan bu doğrudan etkilerinden dolayı damar sertliği, kanser ve romatizmal hastalıklar ve yaşlılık hastalıkları gibi bazı hastalıkların oluşmasında önemli rol oynarlar. Serbest radikal teorisine göre yaşlanmanın en önemli nedenlerinden birisi, yaş ilerledikçe metabolizmada ROT ve reaktif nitrojen türleri (RNT) oluşumunun artması ve bunların makro moleküllerin

modifikasyonuna neden olmasıdır (Bejma J ve Ji L. 1999, Çakatay U. ve Telci A. 2000, Stadtman ER. 2004, Zaobornyj T. ve ark. 2005). Aslında yaşlılıkta redoks homeostazındaki denge kaybolmaktadır. Bir yandan antioksidan enzim mekanizması yeterince işlev görememekte, diğer yandan ilerleyen yaşlarda hücrede daha çok radikal oluşumu söz konusu olmaktadır. Klinik bilgiler yüksek demir depolarının birçok hastalıkta risk artışına neden olduğunu göstermektedir. Kalp hastalığı olanlarda artmış demir düzeyleri bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Serbest radikallerin neredeyse tüm hastalıkların oluşmasında önemli rol oynadığı ve demirin bu olayları hızlandrdığı düşünülürse, vücuttaki artan demirin yaslılarda daha fazla hasar oluşturacağı aşikârdır (II. mtNOS activity-2005, Shigenaga MK. 1994, Gülbahar Ö. 2007).

Yaşlanmaya neden olan mekanizmalarla ilişkili başlıca teoriler şunlardır (Hipkiss QR. 2007);

1) Oksidatif stres ve serbest radikaller ile ilişkili olan
   a)Mitokondriyal hasar teorisi
   b)Epifiz-melatonin teorisi
2) Telomer kısalması

2.2.1.Oksidatif Stresin Yaşlanma Üzerine Etkisi

Yaşlanmanın nedeni olarak pek çok faktör ve teori öne atılmıştır. Bu teorilerden biri olan oksidatif stres teorisinin ana prensibi, moleküler oksidatif hasarın geri dönüşümsüz ve ilerleyen artışından dolayı ortaya çıkan fonksiyonel kayıptır (Sohal RS. ve Orr WC. 1995).Yaşla birlikte oksidatif stres miktarındaki artış; serbest radikal oluşum miktarındaki artış, antioksidatif savunmalardaki azalma ve zarara uğramış moleküllerin uzaklaştırılması veya tamirindeki azalmalara bağlıdır (Sohal RS. ve Weindruch R. 1996). Yaşlanmanın mitokondrial teorisi ise serbest radikal hasarının mitokondrial DNA'da birikimi sonucu mitokondrilerin etkinliğinin düşmesi, hücre ölümü ve sonuçta yaşlanmaya yol açmasıyla ilgilidir (Wallace DC. 1997, Atlı Z. 2001).

Yaşlanmanın bir sebebi olarak, moleküler oksidatif hasarların birikmesi gösterilmesinin nedeni, oksijenin toksik bir madde olmasıyla ilgilidir. Biyolojik sistemlerdeki serbest oksijen radikallerin veya reaktif olan oksijen metabolitlerinin (ROM) en yaygın kaynağı oksijendir (Halliwell B. ve Gutteridge JM. 1989). Her ne kadar ömür uzunluğuna zarar verse de, aerobik canlılar hayatta kalabilmek için oksijeni kullanılırlar. Serbest radikallerin üretildiği bir takım kaynaklar vardır ve bunların en önemlisi oksijenin suya kadar

indirgendiği mitokondrilerdir. Fakat bu sırada moleküler oksijen, süperoksit anyonu ($0_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit(H_2O_2), hidroksil radikali (OH.) ve nitrik oksit (NO.) gibi aşırı derecede reaktif olan oksijen metabolitlerinin üretimine neden olmaktadır (Richter C. 1994).

Mitokondrilerde oluşan serbest radikaller karşılaştıkları herhangi bir molekülü okside etme eğilimindedirler. Serbest radikaller oluşur oluşmaz; proteinlere, lipitlere, karbohidratlara ve DNA'ya zarar vererek büyük oksidatif hasarlara neden olurlar ve sonuçta hücre ölümüne yol açarlar (Heilbronn LK. ve Ravussin E. 2003, Sastre J. ve ark. 2003, Evans MD. ve Cooke MS. 2004).

Perokside edici reaksiyonlara karşı hassas bölgelerden birisi de hücresel membranlardır. Yaşa bağlı olarak, oksidatif stresin seviyesindeki artış; membran lipitlerinin peroksidasyonu ve oksidasyona uğramış proteinlerin birikimindeki artışlara da yol açmaktadır. Serbest radikallerin çoklu doymamış yağ asitleri ile tepkimeye girerek lipit peroksitleri oluşturduğu ve bunların hücre yırtılmalarına yol açarak membran akışkanlığının ve elastikiyetinin geri dönüşümsüz hasarına neden olduğu ortaya konulmuştur (Lippman RD. 1983).

Kardiyolojik hastalıklar, nörolojik hastalıklar, astım, diabetes mellitus, romatoid artrit, kanser ve yaşlılıkta görülen pek çok hastalığın oksidatif stres ile ilişkisi gösterilmiştir (Engin A. ve Altan N. 2000, Özenirler S. ve ark. 1994, Engin A. ve ark. 2003, Yardım-Akaydın S. 2004). Sıçan ve güvercinlerin yaşam süreleri arasındaki farkın mitokondrilerdeki ROM üretimi ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Burçak G. ve Andican G. 2004). Aynı şekilde, yaşa bağlı olarak mitokondrial DNA'daki hasarların artışı da elektron taşıma zincirinin elemanlarında anormalliklere yol açar. Bu birikimlerin sonucu olarak yaş arttıkça beyin, kalp ve iskelet kaslarında ATP üretiminin düştüğü ve buna bağlı olarak pek çok hastalığın ortaya çıktığı da gözlenmiştir (Sohal RS. ve Weindruch R. 1996).

2.3. Parkinson Hastalığı

2.3.1. Tanımı

Parkinson hastalığı (PH) ilerleyici bir hareket bozukluğudur (Hilker R. ve ark. 2005).İlk defa 1817 yılında James Parkinson tarafından tanımlanan PH, esas olarak nigrostriyatal dopaminerjik nöronların harabiyeti sonucu gelişmektedir (Jankovic J. 2008).

Parkinson hastalığında nöron harabiyetinden farklı mekanizmalar sorumludur. Bununla birlikte etiyolojik nedenlerin hastalığa yol açma mekanizmaları benzerdir.

Parkinson hastalığı klinik olarak bir kısım motor semptomların (akinezi, istirahat tremoru, rijidite ve postural reflekslerin bozukluğu) kombinasyonu ile nitelenen ortalama başlangıç yaşı 55 olan ilerleyici bir hareket bozukluğudur. Birçok diğer nörodejeneratif hastalık gibi PH da genellikle sporadik olarak ortaya çıkmaktadır. Seyrek rastlanan bazı durumlarda PH'nın genlerdeki mutasyonlara bağlı olarak geliştiği de görülebilmektedir.

Klinik ve patolojik olarak sporadik ve ailesel PH arasında farklılıklar olmasına karşın, her iki kategoride de ortak olarak görülen biyokimyasal bozukluk beyindeki dopamin miktarındaki dramatik azalmadır. Bu azalma beynin substantiya nigra pars compakta bölgesindeki dopaminerjik nöronların dejenerasyonu sonucu striatal dopamin düzeyindeki geri dönüşsüz kayıpla olmaktadır. PH'daki nöropatolojisinin nigrostriatal yol ile sınırlı değildir; beynin diğer bölgelerindeki dopaminerjik olan ve olmayan hücre gruplarında da histolojik değişimler bulunmaktadır. PH'nın nöropatolojik tanısında Lewy cisimciklerinin varlığı önemlidir. Lewy cisimcikleri küresel eozinofilik sitoplazmik protein agregatları olup, başlıca α-sinüklein, parkin, ubikütin ve nörofilamentleri içermektedirler (Gasser T. 2001, Ahlskog JE. 2001).

2.3.2. Tarihçe

1817 yılında "paralizi ajitans (Parkinson hastalığı)'ı tanımlayan James Parkinson'un adı özel bir motor fonksiyon bozukluğuna verilmiştir. İstemli hareketlerde yavaşlama, akinezi, kas rijiditesi ve tremor ile karakterize bu sendroma "Parkinsonizm" denmektedir. (Yaltkaya K. ve ark. 1998).

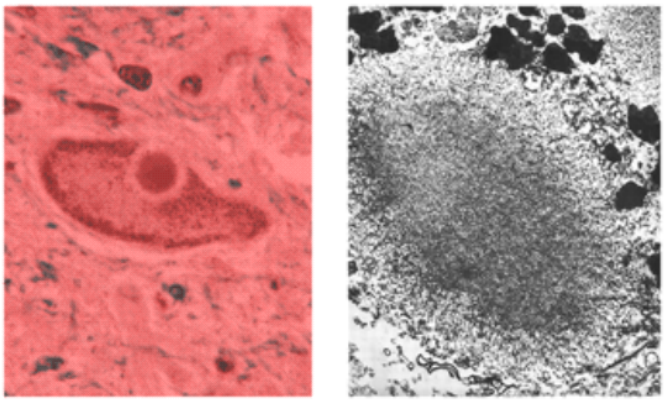
Parkinson hastalığının görülme sıklığı, hastalığın yaşlanma ile kesin olarak ilişkili olduğunu düşündürmektedir (Karabudak R. 1997). Çocuklukta ve adolesan dönemde de başlayabilir (juvenil Parkinsonizm) (Keklikoğlu M. ve Tuzcu M. 1995, Conley SC. ve Kirchner JT. 2000). Elli yaş üzerindeki insanlar arasında hastalık %1 oranında görülmektedir (Yaltkaya K. ve ark. 1998). 65- 74 yaşları arasında olanların %15'i, 75-84 yaşları arasındakilerin yaklaşık %30'u ve 85'ten yaşlı olanların %50'den fazlası Parkinsonizmin en az iki bulgusunu göstermektedir. Erkeklerde daha sık görülen bu hastalık, siyahlarda beyaz ırka oranla ¼ oranında daha az görülmektedir (Karabudak R. 1997, Conley SC. ve Kirchner JT. 2000).

Günümüzde, Parkinson hastalığının nedeni olarak kalıtsal etkenler, ekzojen toksinler ve oksidatif tepkiler sonucu oluşan hücresel endojen toksinler üzerinde durulmaktadır. Seksenli yıllarda sentetik eroin kullanımını takiben bir grup gençte Parkinsonizm tablosunun oluştuğu saptanmıştır. Parkinsonizm oluşturan ve sentetik eroinin içinde bulunan maddenin "metil-4-fenil-1,2,3,6- tetra-hidropridin (MPTP denilen toksin olduğu saptanmış ve bulgu Parkinson hastalığının çevresel bir toksinle oluşabileceği düşüncesini güçlendirmiştir (Yaltkaya K.ve ark. 1998).Etiyolojisinde daha az sıklıkla görülenler ise karbonmonoksit ve mangan zehirlenmesi, hidrosefali, yapısal lezyonlar (orta beyin ve bazal ganglionları tutan tümör ve infarkt), subdural hematom, striatstriatonigral dejenerasyon ve multiple sistem atrofisi gibi dejeneratif hastalıklardır (Keklikoğlu M. ve Tuzcu M. 1995).

2.3.3. Patolojik bulgular

Parkinson hastalığı seçilmiş ancak heterojen nöron popülasyonunun progresif ölümü ile karakterizedir. Bunlar substantia nigra pars compaktadaki nöromelanin yüklü dopaminerjik nöronlar, seçilmiş beyin sapı aminerjik nukleusları (katekominerjik ve serotonerjik), Meynert kolinerjik nukleus bazalisi, hipotalamik nöronlar, küçük kortikal nöronlar, sempatik ganglia ve bağırsaktaki parasempatik nöronları içerir. Substantia nigra pars compaktada, nöronal kayıp, ventrolateral bölgede daha yoğundur (semptomların başlangıç aşamasında kayıp % 60-70 oranındadır). Bunu medial ventral ve dorsal bölgeler takip eder (Fearnley JM. ve Lees AJ. 1991).

Lewy body, eozinofilik hyalin inkluzyon cisimciğidir. Cisim içinde oluşan nörofilament birikiminin değişken nörofilament ekspresyonundan ziyade, bunların normal sentezini takiben posttranslasyonel değişimine bağlı olduğu düşünülmektedir. (Bergeron C. ve ark. 1996).



Şekil 3; **Panel A**: Substantia nigra dopaminerjik nöron sitoplazması içinde Lewy body (hematoxylin–eosin and Luxol fast blue, x100).

Panel B: Ultrastrüktürel inceleme (filament ve granüler materyalin akümülasyonunu göstermekte) (x21,560) (Dr. Catherine Bergeron).

Lewy body'nin Parkinsona spesifik olmayıp, diğer bir grup nörodejeneratif hastalıktada da gözlenir. Bunların nöronların dejenerasyondan korunmak adına, sekrete ettikleri toksik proteinlerin bir işareti olduğu düşünülmektedir. Ancak, nörofilament subünitlerinden Lewy body oluşumu, akson içindeki nörofilamentlerin fonksiyonunu bozmakta, ve substantia nigra pars compaktadan striatuma uzanan aksonal bağlantıya hasar vermektedir. Gibb ve Lees Lewy body oluşumunun yaşa spesifik olarak arttığını ortaya koymuş ve 6. ve 9. decadlarda klinik olarak kesin Parkinson tanısı almış olan hastaların beyinleri üzerinde yaptıkları araştırmalarda bu oranın % 3.8'den 12.8'e yükseldiğini tespit etmişlerdir (Trojanowski J. ve Lee VMY. 1994).

2.3.4. Fizyopatolojisi

Parkinson hastalığında "substantia nigra"da pigment içeren hücrelerin dejenere olması nedeniyle, nörotransmitter dopamin eksikliği saptanmıştır. Bunun bazal ganglionlarda nörohümoral iletişimin bozulmasına neden olan önemli bir bulgu olduğu bilinmektedir.

Parkinson hastalığındaki serbest radikal teorisine göre; dopaminerjik sinirler reaktif oksijen türlerine maruz kalmaları ile orantılı olarak dejenere olurlar. Substantia nigrada H_2O_2 hem monoamin oksidaz etkinliğinden dolayı, hem de otooksidasyon nedeniyle üretilir ve dopamin eksikliğine yol açar. Sadece oksidatif stres değil, aynı zamanda mitokondrial oksidatif fosforilasyon da dopaminerjik nöronlarda enerji verimini azaltarak bu hücrelerin ölümüne neden olur (Dexter D.T. ve ark. 1989).

Parkinson hastalığının mekanizmasının anlaşılabilmesi için çok yaygın olarak kullanılan model l-metil-4-fenil-l,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP) toksisitesidir. Bu sitotoksin Parkinson hastalığının mekanizması için önemli bilgiler sağlamıştır. MPTP, metil-4-fenil piridinyum iyonuna (MPP+) metabolize olur. Bu katyon serbest radikal üreterek veya apoptosis meydana getirerek hücre ölümüne neden olur (Chan, P. ve ark. 1991, Acuna-Castroviejo D. ve ark. 1997).

Parkinson hastalığının mekanizmasının anlaşılabilmesi için başka bir model, 6-hidroksi dopamin (6-OHDA) içeren modeldir. Bu ajan da MPTP gibi katekolaminerjik nöronları tahrip eder. Kobaylarda substantia nigra'ya enjekte edildiği zaman nigro-striatal sistemindejenerasyonu, apoptosis, DNA fragmantasyonu ve PC12 sinir hücrelerinde hem hasar hem de ölüme neden olmuştur. Melatonin varlığında, 6-OHDA' nın sitotoksisitesinin önemli derecede azaldığı bildirilmiştir.6-OHDA, manganez süperoksit dismutaz (MnSOD), bakır çinko süperoksit dismutaz (CuZnSOD) ve GSH-Px gibi antioksidan enzimler, mRNA düzeyinde önemli derecede azalmalara neden olur.Bu azalmalar melatonin ile önlenmektedir. (Mayo J.C. ve ark. 1998).

Ayrıca Mayo ve arkadaşları (1998) melatoninin antiproliferatif etkileri olduğunuda ileri sürmüşlerdir. Bu sistemde melatoninin antiapoptotik etkilerinin indolün hem antioksidan, hem de antiproliferatif etkilerinden kaynaklandığına inanılmaktadır.

2.3.5. Tanı ve klinik özellikler

Son yıllarda gelişen yapısal ve fonksiyonel nörogörüntüleme yöntemlerine rağmen hastalığın tanısı halen klinik özelliklere göre konmaktadır. Hastalığın tanısında ''United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank'' tarafından oluşturulan tanısal kriterler kullanılmaktadır (Hughes AJ. ve ark. 2001). Bu tanı kriterlerine göre hastalarda bradikinezinin yanında rijidite, istirahat tremoru veya postural dengesizlik semptomlarında en az bir tanesinin bulunması gereklidir.

Hastalığın klasik triadı temor, rijidite ve akinezidir. Tanı klinik kriterler baz alınarak konulur. Yanlış tanı hastalıkta önemli bir problemdir. Tanıyı kesinleştiren biyolojik gösterge yoktur. Otopsi çalışmalarında, ölüm öncesi Parkinson tanısı almış vakaların %24'ünde yanlış tanı konulduğu saptanmıştır (Rajput AH. ve ark. 1991, Hughes AJ. ve ark. 1993).

Parkinson vakalarında levodopaya başlangıç yanıtı % 90 oranınındadır. Bu cevabın olmayışı, alternatif bir tanı lehine ipucu sağlamaktadır. Ancak, multisistem atrofide de levodopa yanıtı gözlenebilmektedir (Hughes AJ. ve ark. 1993).

2.3.6. Epidemiyoloji ve genetik

Parkinson hastalığı tüm etnik gruplarda görülen, hafifçe erkek predominansına sahip bir hastalıktır Prevelansı 60-90 yaşları arasında artmaktadır. Tüm populasyonun % 0.3'ünü etkilemekle beraber, bu oran 60 yaşın üzerinde %3'e yükselmektedir. Hastaların % 5-10'unda semptomlar 40 yaşın altında ortaya çıkmaktadır (Zhang Z-X. ve Roman GC. 1993).

Hastalık ilk kez endüstriyel devrim zamanında tanımlanmış olsa da, antik Hint literatüründe (4500-1000 B.C.) tremor ve akineziyi tanımlayan açıklamalara rastlanmıştır MPTP'nin nigral hücre ölümüne yol açtığının anlaşılması çevresel faktörlerin hastalık etyopatogenezinde önemli bir rolü olduğu verisini sağlamıştır (Manyam BV. 1990).

Pek çok çalışma, diyetin hastalık patogenezindeki yerini belirtmiştir. Bunların çoğu yetersiz antioksidan alımı üzerine kuruludur. Kommünite bazlı Hollanda çalışmasında Parkinson hastalarında, kontrollerle karşılaştırıldığında vitamin E alımının daha düşük olduğu saptanmıştır (de Rijk MC. ve ark. 1997).

Genetik faktörlerin hastalıkta önemli rolü olduğuna dair giderek artan deliller mevcuttur. Monozigotik ikizler üzerinde yapılan bir çalışmada, birisinde genç başlangıçlı Parkinson olması durumunda, yüksek oranda konkordans saptanmıştır (Tanner CM. ve ark. 1997). Epidemiyolojik çalışmalar, yaş faktöründen başka, artan hastalık riskini işaret eden en önemli göstergenin aile öyküsü olduğunu ortaya koymuştur Ancak, bazı ailelerde, ortak çevresel etkilenim faktörleri olduğu göz ardı edilmemelidir (Semchuk KM. ve ark. 1993).

Hastalığın etiyolojisinde çevresel nedenler önemlidir ancak bunların hiçbirisi kesin olarak ispatlanmamıştır. Vaka kontrol çalışmaları, PH'nın genellikle çiftçilerde veya çeşitli metallerle, kimyasallarla teması olan kişilerde daha fazla olduğunu göstermiştir (Checkoway H. ve Nelson LM. 1999, Tanner CM. ve Goldman SM. 1996, Gorell JM. ve ark. 1999). Parkinson hastalığı, kırsal kesimde yaşamak, çeşitli tarım ilaçları ile veya pestisitlerle temas etmek ile ilişkili olarak düşünülmektedir (Rajput AH. ve ark. 1984). Aile hikayesinin olması da risk artışına neden olur (Checkoway H. ve Nelson LM. 1999, Gorell JM. ve ark. 1999).

2.4. Serbest Radikaller

Aerobik organizmalar sürekli olarak reaktif oksijen türleri (ROT) olarak adlandırılan moleküler oksijenden türetilen reaktif molekülleri üretirler. Bu serbest radikaller dış orbitalinde tek sayıda ortaklanmamış elektron taşıyan, elektrik yüklü veya yüksüz olabilen

atom veya moleküllerdir. Kısa ömürlüdürler, radikal olmayan maddeler ile reaksiyona girerek yeni radikaller oluşturur ve zincir reaksiyonu başlatabilmeler (Sen CK. 2001).

Vücutta doğal metabolik yollarla serbest radikaller oluşur, ancak radikal parçalayan antioksidan sistemlerle oluşan serbest radikaller ortadan kaldırılabildiğinden, herhangi bir sitotoksisite ortaya çıkmaz. Ancak bu işleyişin bozulduğu durumlarda patolojik olaylar ortaya çıkar. Organizmada serbest radikal oluşturan doğal olayların başlıcaları; mitokondrial elektron transportu, heksoz monofosfat yolu, ksenobiotiklerin metabolizması, doğal uyaranla fagositik hücrelerin aktivasyonu, biosentetik ve biyokimyasal yıkım olaylarıdır (Karabulut B. ve Kabakçı T. 1995, Fridowich I. 1978).

Serbest radikal aktivitesi enzimler ile okside ve çapraz bağlı proteinler için de gösterilmiştir. Ayrıca son yıllarda yapılan çalışmalar, artmış serbest oksijen radikallerinin birçok hastalığın fizyolojisi ve patofizyolojisinde rol aldığını göstermektedir (Çatalgöl B. ve Grune T. 2008)

Serbest radikaller üç şekilde oluşabilir (Cheeseman KH. ve Slater TF. 1993);

1- Bir molekülü oluşturan kovalent bağın hemolitik yarılması ve eşlenmiş elektronlardan her birinin ayrı parçada kalması sonucu,

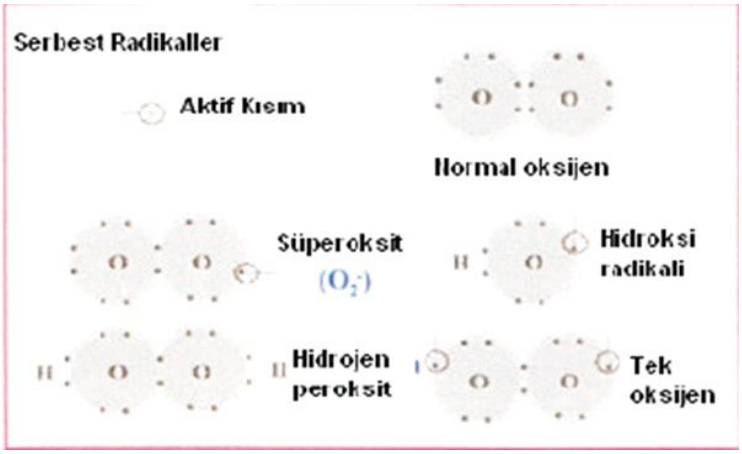
R ---------- X → R. + X.

2- Bir molekülden bir elektronun ayrılması ile

X → X. + e-

3- Bir moleküle bir atomun katılması ile

$X^- + e^- \rightarrow X^-$



Şekil 4: Bazı Serbest Radikaller (Öğüt S. ve Atay E. 2012).

Tablo 1. Serbest radikaller ve yol açtığı reaksiyonlar (Halliwell B. ve Gutteridge JMC. 1997).

Süperoksit	O_2^-	Fe^{+2} ve Cu^{+2} iyonlarını geri kazanma yoluyla Haber-Weiss reaksiyonunu katalizleme, hidrojen peroksit veya peroksinitrit oluşumu
Hidrojen peroksit	H_2O_2	Hidroksil radikali oluşumunu, enzim inaktivasyonu, biyomoleküllerin oksidasyonu
Hidroksil radikali	OH^-	Hidrojen çıkarılması, serbest radikallerin ve lipit peroksitlerin üretimi, tiyol oksidasyonu
Ozon	O_3^-	Bütün moleküllerin özellikle çift bağ içerenlerin oksidasyonu, sitotoksit aldehit ve ozonit oluşumu
Oksijen	O_2	Çifte bağlarla reaksiyon, peroksitlerin oluşumu, aminoasitlerin ve nükleotidlerin oluşumu
Nitrik oksit	NO^-	Peroksinitrit oluşumu, diğer radikallerle reaksiyon
peroksinitrit	$ONOO^-$	Hidroksil radikali oluşumu, tiyollerin ve aromatik grupların, ksantin oksidazın ksantin dehidrojenaza dönüşümü, biyomoleküllerin oksidasyonu
Hipoklorit	CIO^-	Amino ve kükürt içeren grupların oksidasyonu, klorin oluşumu
Radikal	R^+	Hidrojen çıkarılması: peroksil radikalleri ve diğer radikalellerin oluşumu, lipit ve diğer biyomoleküllerin bozulması
Peroksil Radikali	RO^+	Hidrojen çıkarılması, radikallerin oluşumu ve diğer radikalellerin oluşumu: lipit ve diğer biyomoleküllerin bozulması
Hidroperoksit	$ROOH^-$	Biyomoleküllerin oksidasyonu, biyolojik membranların bozulması
Bakır Ve Demir İyonları	$Cu+^2$ Fe^{+2}	Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonlarında hidroksil radikali oluşumu

2.4.1. Serbest radikalller ve reaktif oksijen türleri (Rot)

Enerji düzeylerinde bulunan elektronlarının yapısından dolayı oksijen 8 atom numaralı doğada dioksijen (O_2) olarak bulunan kararsız bir elementtir.(Meister A. 1994, Southorn P.ve Powis G. 1988).

Oksijen molekülündeki aynı yöne dönen iki elektrona sahip 2p son orbitali önemlidir. Bu orbitallerden herhangi birindeki elektron, bir orbitali bırakıp diğerine geçtiğinde veya farklı yönde döndüğünde "singlet oksijen" oluşur. Orbitallerden birine ters dönüşlü iki elektron veya ikisine ters dönüşlü iki elektron daha gelirse "oksijen radikali" elde edilir. Oluşan radikal eşleşmemiş tek elektronu nedeniyle çok dengesizdir ve hızla ortamdan kaybolur. Bu yüzden bu radikaller tek elektronlarını bir başka moleküle verebilir (redüksiyon) ya da bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilirler (oksidasyon). Sonuçta nonradikal yapıyı radikal şekle dönüştürebilirler. Bu özellikleri ile reaktif oksijen partikülleri radikaller ve radikal olmayanlar olmak üzere iki ana başlık altında incelenmektedir (Tablo 2) (Meister A. 1994, Southorn P. ve Powis G. 1988).

Tablo 2. Oksijen türevi bileşikler (Halliwell B. 1991).

Radikaller	Radikal Olmayanlar
Hidroksil (HO)	Hidrojen Peroksit (H2O2)
Alkoksil (RO)	Singlet Oksijen (O2)
Peroksil (ROO)	Ozon (O3)
Superoksit (O2)	Hipoklorid (HOCl)
Nitrik oksit (NO)	Lipid hidroperoksit (LOOH)
Azot dioksit (NO2)	Peroksinitrit (ONOO)

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikallerdir ve bunlara reaktif oksijen türleri (ROT) adı verilmektedir (Atmaca E. ve Aksoy A. 2009). Süperoksit anyonu, hidroksil radikali, nitrik oksit, lipid peroksit, hidrojen peroksit bilinen ROT 'lerdir.

2.4.1.1. Süperoksit radikalleri (O_2•)

Oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu kararsız bir yapı olan süperoksit radikali meydana gelir.

$O_2 + e^- \rightarrow O_2$•

Mitokondrial elektron transport zinciri sırasında O_2'nin otooksidasyonu sonucu oluşur. Süperoksit radikali O_2 varlığında ksantin oksidazın ksantini veya hipoksantini indirgemesiyle oluşabilmektedir. NADPH'ın NADPH oksidaz ile oksidasyonuyla, mitokondrial elektron transport sisteminde $NADH_2$ ve $FADH_2$'nin NAD ve flavin adenin dinükleotit (FAD)'ye dönüşümü sırasında, O_2'nin iyonize radyasyonla, sit p450 ile ve arginin veya tetrahidrobiopterin eksikliğinde nitrik oksit sentazla indirgenmesiyle oluşur (Freidovich I. 1999, Gilbert DL. 2000).

Normal metabolizma sırasında sürekli olarak oluşan süperoksit radikalleri organizmada şu reaksiyonlara girebilir:

Süperoksit radikalleri süperoksit dismutaz ile dismutasyona uğrayarak H_2O_2 oluşturabilir. İki süperoksit radikali birbiri ile etkileşerek biri yükseltgenirken diğeri indirgenmekte böylece H_2O_2 ve O_2 meydana gelmektedir.

Süperoksit radikalleri ortamdan bir proton alarak perhidroksi radikali (HO_2•) oluşturabilir. Perhidroksi radikali süperoksit radikalinden çok daha reaktiftir, örneğin membrandaki yağ asitlerinin peroksidasyonunu başlatabilir.

Süperoksit radikali ve H_2O_2 demir iyonu katalizörlüğünde OH• oluşturabilir ve bu tepkime de demir-katalizörlü Haber-Weiss reaksiyonu adını alır. Bu reaksiyonlar metal şelatörü ajanlarla inhibe edilebilir.

Süperoksit radikalleri enzimatik olmayan dismutasyon veya Haber-Weiss reaksiyonu sırasında singlet oksijen ($1O_2$) yapımına neden olabilir. Singlet oksijen süperoksit toksisitesine aracılık edebilmektedir.

Süperoksit radikali nitrik oksit radikali (NO•) ile reaksiyona girerek peroksinitrit oluşturabilir. Peroksinitrit çok daha reaktif ve sitotoksik bir türdür.

$O_2^{\bullet -} + NO\bullet \rightarrow ONOO^-$

Süperoksit radikalleri, fenoksil radikalleri ile reaksiyona girebilir ve protein yapısında modifikasyona neden olabilir. Fenoksil radikali, fenollerin oksidasyonu sonucu oluşur, organizmadaki başlıca fenol kaynakları tirozin ve E vitaminidir (Halliwell B, ve Gutteridge JM. 1986, Winterbourn C.C. ve Ketle A.J. 2003).

2.4.1.2. Hidroksil radikali (OH•)

Hidroksil radikali, biyolojik sistemlerde bulunan en güçlü serbest radikaldir. Dokular radyasyona maruz kaldıklarında, radyasyon enerjisinin çoğu hücre içindeki su tarafından absorblanır ve radyasyon oksijen-hidrojen arasında kovalent bağın ayrılmasına neden olur. Sonuçta şekilde görüldüğü gibi iki radikal meydana gelir. Bu radikallerden biri hidrojen (H•) ve diğeri ise HO•'dir.

H- O- H → H• + HO•

Hidrojen peroksidin Fe^{+2} veya Cu^{+2} ile reaksiyona girmesiyle de HO• oluşmaktadır. H_2O_2 toksisitesinin büyük çoğunluğunun temelinde bu oluşan HO• olduğu düşünülmektedir. Bu reaksiyon ilk defa 1894 yılında Fenton tarafından gözlenmiş ve günümüzde de Fenton reaksiyonu olarak bilinmektedir.

$Fe^{+2} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{+3} + OH + OH•$

$Cu^{+} + H2O2 \rightarrow Cu^{+2} + OH + OH•$

Hidroksil radikalleri başta lipit, protein ve nükleik asitler (DNA ve RNA) olmak üzere hemen hemen bütün hücresel moleküllerle reaksiyona girebilmektedirler. Hidroksil radikalleri DNA'da bulunan deoksiriboz molekülüne etki ederek çeşitli ürünler oluşturduğu ve bu oluşan ürünlerin bazılarının mutojenik oldukları görülmüştür. Yine hidroksil radikalleri aromatik halkaya katılma özelliği gösterdiklerinden DNA ve ribonükleik asit (RNA)'da bulunan pürin ve pirimidin bazlarına katılarak radikal oluşumuna neden olurlar. Örneğin: Timine katılarak timin radikalini oluşturur ve bu radikal oksijenle reaksiyona girerek son derece reaktif olan timin peroksil radikaline dönüşmektedir. Bu gibi bir dizi reaksiyona katılabilen hidroksil radikalleri DNA'nın baz ve şekerlerinde ciddi hasarlar oluşturarak DNA iplik kırılmalarına neden olurlar. Hasar çok kapsamlı olursa hücresel koruyucu sistemler tarafından tamir edilemeyebilir ve bunun sonucunda mutasyonlar ve hücre ölümleri meydana gelir (Dizdaroğlu M. Kluwer 1999, Wetberg AB and ark. 1985).

Deoksiribonükleik asitin pürin ve pirimidin bazları ile etkileşmenin yanı sıra tiol grubu içeren biyolojik moleküllerden H atomu da koparabilmektedir.

R- SH + OH• → RS• + H_2O

Sonuçta oluşan sülfür radikalleri ilginç kimyasal özelliklere sahiptir. Sülfür radikalleri, O_2 ile kombine olabilir ve oksi-sülfür radikallerini oluşturur. $RSO•_2$ ve RSO• gibi bunların birçoğu da biyolojik moleküllerde hasara neden olurlar.

Hidroksil radikalinin sebep olduğu en iyi karakterize edilmiş olan biyolojik hasar lipit peroksidasyon olayıdır. Hidroksil radikali membran fosfolipitlerinin doymamış yağ asit yan

zincirlerine hücum eder. Bu özellikle araşidonik asit gibi doymamış yağ asit yan zincirlerinden -C- atomunun birinden H atomunun çıkartılması ve su oluşumu şeklinde gerçekleşir.

$-CH_2- + OH\bullet \rightarrow -CH\bullet- + H_2O$

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

$-CH\bullet- + O_2 \rightarrow -CHO\bullet_2-$

Peroksil radikalleri reaktiftir ve yakınındaki doymamış yağ asitlerinin yan zincirlerine saldırır;

$-CHO\bullet_2^- + -CH_2^- \rightarrow -CHO_2H^- + -CH\bullet^-$

Lipit hidroperoksit

Böylece hidroksil radikalleri, yüzlerce yağ asitlerinin yan zincirlerini lipit hidroperoksitlere dönüştürür. Membranda lipit hidroperoksitlerinin birikimi membran fonksiyonunu bozar. Peroksil radikaller ve sitotoksik aldehitler, membran proteinlerinde ciddi bir hasara neden olurlar ve membrana bağlı bazı enzimleri ve reseptörleri inaktive ederler (Tappel AL ve Dillard JC. 1981, Halliwell B ve Gutteridge JMC. 1984).

2.4.1.3. Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya $O_2\bullet^-$'nin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü iki hidrojen atomu ile birleşerek H_2O_2'yi meydana getirir (Akkuş İ. 1995).

$O_2 + 2e^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$

$O_2\bullet^- + e^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$

Ancak, biyolojik sistemlerde H_2O_2'nin asıl üretimi $O_2\bullet^-$'nin dismutasyonu ile olmaktadır. Bu dismutasyon spontan olarak veya süperoksit dismutaz (SOD) enzimi aracılığıyla katalizle olabilir:

$$2O_2\bullet^- + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

Hidrojen peroksit gerçekte bir serbest radikal türü olmamasına rağmen; serbest elektron içermesi, serbest hidroksil radikali oluşturabilmesi ve hücresel membranlara kolaylıkla girebilmesi nedeniyle önem kazanmaktadır. H_2O_2, geçiş metal iyonlarının varlığında kolayca parçalanarak en reaktif ve en toksik oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmaktadır. H_2O_2; $OH\bullet$ üretmek suretiyle canlı sistemlerde önemli hasarlara sebep

olduğu için, H_2O_2 akümülasyonunun kontrolü hücreler için biyolojik olarak önemlidir (Akkuş İ. 1995, Mccord JM. 2000).

Süperoksit dismutaz aktivitesi sonucu ortaya çıkan H_2O_2; katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimleri ile su ve oksijene dönüştürülür:

$$H_2O_2 \xrightarrow{CAT} H_2O + O_2$$

$$H_2O^{\,2} + GSH \xrightarrow{GPx} 2\,H_2O + GSSG$$

2.4.1.4. Singlet O_2 ($1O_2$)

Yapısında eşleşmemiş elektronu bulunmadığından serbest radikal değil ancak serbest radikal reaksiyonlarını başlattıklarından serbest radikal sınıfına dahil edilmiştir. Singlet O_2, oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi neticesi oluşabileceği gibi süperoksit radikalinin dismutasyonu ve hidrojen peroksidin hipoklorit ile reaksiyonu sonucunda da oluşabilir. Vücutta deri ve retina gibi gün ışığına maruz kalan bölgelerde sıkça oluştuğu tespit edilmiştir. Serbest oksijen radikallerinin etkisiyle peroksil radikalleri (ROO), alkoksil radikalleri (RO) karbon merkezli radikaller (R) veya tiol radikalleri (RS) oluşur. Bu radikaller oksijenle tekrar reaksiyona girerek yeni serbest radikaller üretirler (Gutteridge JMC.1995).

2.4.1.5. Hidroperoksil radikali (HO_2•)

Hidroperoksil radikali (HO_2•), süperoksit radikalinin protonlanmasıyla oluşur. Süperoksitten daha güçlü bir oksidandır. Biyolojik membranları kolay geçebilmesi ve yağ asitleriyle direkt etkileşime girebilmesi önemlidir (Gutteridge JMC.1995).

2.4.1.6. Hipokloröz asit (HOCl)

Aktif nötrofillerde oluşan güçlü bir oksidandır. Nötrofil sitoplazmasında bulunan "hem" içeren bir enzim olan myeloperoksidaz etkisi ile H_2O_2 ve klorür iyonlarından HOCl oluşur (Gutteridge JMC.1995).

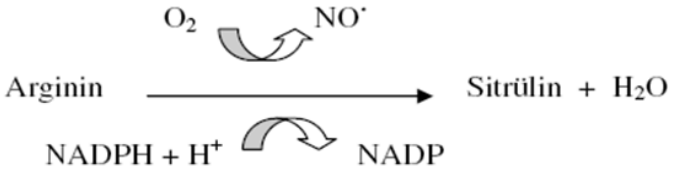
$$H_2O_2 + Cl^- + H^+ \rightarrow HOCl + H_2O$$

Hipokloröz asit Fe^{+2} bağımlı ve Fe^{+2} bağımsız bir reaksiyon ile hidroksil radikali oluşumunu arttırabilir.

$$HOCl + O_2^- \xrightarrow{Fe^{+2}} OH\bullet + Cl\bullet + O_2$$

2.4.1.7. Nitrik oksit (NO)

Memeli hücrelerinde NO başlıca NO-Sentaz (NOS)'ın aktivitesi sonucu sentezlenir. NOS, oksijeni kullanarak L-arjinin amino asitinden sitrüllin ve NO'yu oluşturur. Bu olay, NADPH, flavin mononükleotit (FMN), flavin adenin dinükleotit (FAD), tetrahidrobiopterin (BH4) ve kofaktör olarak bir tiyol donörüne ihtiyaç duyar (Mayer B ve Hemmens B. 1997).



Yarılanma ömrü, moleküler oksijen ile hızlı reaksiyonundan dolayı atmosferik şartlar altında oldukça kısadır. Kan basıncı, guanilat siklaz aktivitesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Nötrofiller tarafından üretilen süperoksit anyon radikalinin oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Utsumi K and ark 1999). NO'in aşırı üretimi toksik etkili olabilir. NO'in kimyasal olarak aktivitesi yüksek değildir ancak belli şartlar altında oldukça toksik ürünler oluşturabilir. NO ve süperoksitin reaksiyona girmesiyle peroksinitrit meydana gelir. Peroksinitrit, direkt olarak proteinleri hasara uğratır ve OH•, azot dioksit (NO_2•) ve nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi toksik ürünlere dönüşür (Halliwell B.1994).

2.4.2. Başlıca serbest radikal üretim kaynakları

Serbest radikaller organizmada normal olarak meydana gelen oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları sırasında oluştuğu gibi çeşitli dış kaynaklı faktörlerin etkisiyle de oluşabilir. Hücre organellerinin her biri farklı miktarda radikal oluşumuna sebep olurlar. Bunların yanısıra radyasyon, stres ve ksenobiyotikler aktive olmuş fagositlerde serbest radikal üretimini arttırırlar. Sitokrom P–450, sitokrom b5, ksantin oksidaz, triptofan dioksijenaz, lipooksijenaz, prostoglandin sentetaz, hemoglobin, flavoproteinler, lipit peroksidasyonu, oksidatif stres yapan iskemi, travma ve intoksikasyon gibi durumlar, mitokondrial elektron

transport sistemi (ETS), moleküler otooksidasyon yapan tiol, hidrokinon, katekolamin, flavin ve antibiyotik gibi moleküllerin hepsi hücresel serbest radikalleri oluştururlar (Canbaş A.1983, Moncada S. and 1991).

2.4.2.1. Endojen serbest radikal oluşum mekanizmaları

2.4.2.1.1. Mitokondrial elektron transport sistemi

Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin %1–5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanır. Buradaki radikal yapımının nedeni NADH dehidrojenaz ve koenzim Q gibi elektron taşıyıcılardan oksijene elektron kaçağının olmasıdır. Fizyolojik olarak reaktif oksijen türlerinin temel kaynağı normal oksijen metabolizmasıdır. Dolayısıyla fizyolojik koşullar altında mitokondrial elektron transport sistemi serbest radikal üretiminin en önemli kısmını oluşturmaktadır (Sies H ve De Groot H. 1992).

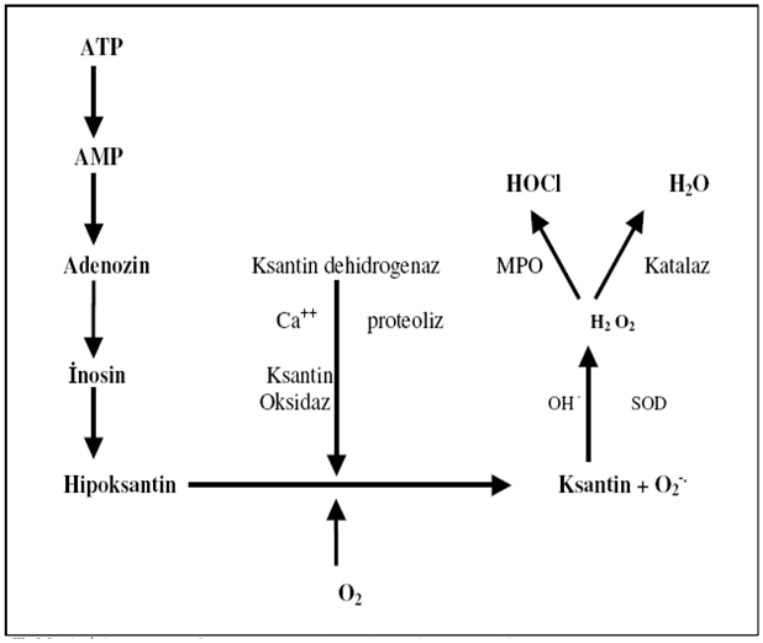
2.4.2.1.2. Araşidonik asit kaskatı

Araşidonik asit siklooksijenaz ve lipooksijenaz ile metabolize olarak prostoglandin, prostosiklin, tromboksan ve lökotrienleri içeren çeşitli vazoaktif ürünleri oluşturur. Siklooksijenaz, iki molekül oksijenin doymamış yağ asidine katılmasını katalizler ve prostoglandin G (PGG) oluşturur. PGG hızla prostoglandin H (PGH)' ye okside olur, bu sırada süperoksit radikali oluşur. Lipooksijenaz yoluyla da OH• radikalleri oluşabilir (lkeda J. 1993, Greenstock C.L. 1993).

2.4.2.1.3. Ksantin oksidaz (XO)

Ksantin oksidaz, memeli dokularında bulunan, birçok endojen ve eksojen kaynaklı substratın oksidasyonuna katılan bir enzimdir. Organizmada pürin bazlarının son oksidasyonu ve demirin gastrointestinal sistemden emiliminde rol oynar.

Bu enzim, sağlıklı hücrelerde oksidize nikotinamid dinükleotid (NAD^+) bağımlı dehidrogenaz (XDH, D formu) halinde bulunur. Enzimin bu formu pürinlerin oksidasyonu sırasında elektron alıcısı olarak moleküler oksijen yerine NAD^+ kullanır ve reaktif serbest oksijen radikali üretmez. İskemi sırasında XDH, oksidan üreten XO (D den O ya dönüşüm) formuna dönüşür (Şekil 5), (Mc Cord .1985).



Şekil 5: XD-XO'a dönüşümü ve serbest oksijen radikallerinin oluşumu (Bıshop ML ve Janet LP.1996).

İskemi sürecinde, hücre içindeki ATP, hipoksantin ve ksantine dönüşerek hücresel enerji miktarında azalmaya neden olur. Hipoksantin ve ksantin, XO için iyi birer substrattırlar. Reperfüzyonun başlaması ile ortama katılan moleküler oksijen, iskemik süreçte birikmiş olan hipoksantin ve ksantin, XO aracılığı ile reaksiyona girerek, $O_2\bullet^-$ ve H_2O_2 açığa çıkarır.

XDH'dan XO'a dönüşüm 2 yolla gerçekleşir:

1. XDH'ın tiol gruplarının oksidasyonu ile geri dönüşümlü olarak.

2. İskemi sırasında artan hücre içi kalsiyum ile aktive olan proteaz ile enzimin bir kısmının proteolizi sonucu geri dönüşümsüz olarak.

İskeminin yol açtığı D den O ya dönüşüm farklı organlarda farklı hızlarda gerçekleşir. Bağırsak ve karaciğerde bu dönüşüm, çok kısa süreli iskemilerde bile olabilirken, iskelet kası ve deride daha uzun süreler gerektirir. Oluşan XO miktarı iskemi süresi ile doğru orantılıdır; iskemi süresi arttıkça oluşan XO miktarı da artar (Parks DA ve Granger DN. 1986).

Ksantin oksidaz enziminin, meme epitel hücrelerinde kapiller endotel hücrelerinde yoğunlaştığı, kapiller endotel hücrelerindeki XO aktivitesinin aynı dokudaki diğer hücrelerden 100 kat fazla olduğu tespit edilmiştir (Jarasch ED and ark. 1986). XO' ın bu lokalizasyonu, iskemi-reperfüzyon hasarı için ayrı bir önem taşımaktadır.

Reperfüzyonun başlaması ile endotel hücreleri moleküler oksijen ile ilk temas eden hücreler olur. Bundan dolayı kapiller endotel hücreleri, reperfüzyon hasarından ilk etkilenen hücrelerdir. Bu neden ile serbest oksijen radikallerinin ana üretim merkezi olmaları

muhtemeldir. Kapiller endotel hücrelerinin hasarı bir kemotaktik stimulus halini alır (Grisham MB and ark. 1988).

2.4.2.1.4. Endoplazmik retikulum

Endoplazmik retikulumda buluna sitokrom P–450 moleküler oksijeni kullanarak birçok substratı oksitler. Oksijen molekülünün bir atomu substrata bağlanır, diğer atomu ise su oluşturur. Bu reaksiyon monooksijenaz veya karışık fonksiyonlu oksidaz reaksiyonu olarak adlandırılır. Kimyasal ajanların serbest radikal oluşturmadaki en önemli mekanizmaları, mikrozomal sitokrom P–450 sistemi ile aktivasyonudur. Bu sistem, molekülleri indirgeyerek veya oksitleyerek serbest radikal oluşturur. Son durumda bir elektron eksikliği vardır ve elektrofilik bileşik oluşur. Oluşan bu elektofilik ürün bir nükleofil ile reaksiyona girer. Bu elektrofilik bileşiği çeken en önemli bileşik sistein kalıntıları üzerindeki tiyol (-SH) grubudur. Tiyol grubu ise pek çok endojen makromolekülde (DNA, RNA, enzimler gibi) bulunduğu için reaktif ara ürünler bu moleküllerle kovalent bağlanarak toksisite gösterebilirler (Halliwell B. 1991).

2.4.2.1.5. Peroksizom

Çok uzun zincirli yağ asitlerinin yıkılmasından sorumlu organeller olan peroksizomlar, amino asid oksidaz, ürat oksidaz gibi oksidan enzimlerce zengindirler ve güçlü H_2O_2 kaynağı olarak kabul edilirler (Reilly PM. and 1991).

2.4.2.1.6. Plazma Membranı

Membranlarda bulunan doymamış yağ asitleri ve proteinler serbest radikal hasarına açıktır. Serbest radikallerin başlattığı lipit peroksidasyonu; transmembran iyon gradientinin bozulmasına, sekretuvar fonksiyon kayıplarına ve hücresel metabolik olayların inhibisyonuna yol açar (Reilly PM and 1991).

2.4.2.1.7. Otooksidasyon

Tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler, tetrahidropterinlerin oto oksidasyonu sonucunda radikal oluşabilir (Reilly PM and 1991).

2.4.2.1.8. Redoks Döngüsü

Ksenobiyotiklerden serbest radikal oluşumu sadece mikrozomal reaksiyonlarla olmamaktadır. Menadion, parakuat, dikuat, nitrofurantoin, gibi bileşikler alternatif bir redoks siklusuna girerler. Bu bileşikler, ilave bir çiftlenmemiş elektron kazanma eğilimindedirler. Bu ajanlardan oluşan radikaller, tekrar ana bileşiğe dönüşmek için kolayca oksijenle oksitlenir ve süperoksit radikalini oluştururlar (Mead J. 1984). Oluşan ksenobiyotik ve süperoksit radikalleri intrasellüler ferritin depolarından demiri serbest hale getirirler. Sitozole salınan demir, serbest radikaller arasında en reaktif olan ve dolayısıyla daha yıkıcı olan hidroksil radikali gibi ikincil radikallerin oluştuğu Fenton reaksiyonunda katalitik rol oynar (Dizdaroğlu M. 1999).

2.4.2.1.9. Fagositoz

Radyasyon, stres ve ksenobiyotikler aktive olmuş fagositlerde serbest radikal üretimini arttırırlar. Aktive fagositler intrasellüler radikal oluşumuna neden olurlar Aktive olmuş fagositlerde üretilen serbest radikaller patojenlerle savaşta önemli rol oynar (Tablo III), (Natarajan V. 1995).

Tablo 3: Fagositlerin ürettiği reaktif oksidan ürünler

Trombositler	H_2O_2, $O_2^{\cdot}$, $OH^{\cdot}$
Nötrofiller	H_2O_2, $O_2^{\cdot}$, $OH^{\cdot}$, HOCl
Eozinofiller	H_2O_2, $O_2^{\cdot}$, $OH^{\cdot}$, HOCl,
Makrofajlar	H_2O_2, $O_2^{\cdot}$, $OH^{\cdot}$, HOCl, $NO^{\cdot}$

Kan monositleri, doku makrofajları (kupfer hücreleri, alveolar makrofajlar) gibi fagositik hücreler ve nötrofiller, eozinofiller, bazofiller gibi granülositler immunojenik veya özel bir uyaranla uyarıldıktan sonra lizozomlarını dışarı vermeye başlarlar. Reaktif oksijen oluşumunun yanısıra, mitokondri dışındaki oksijen üretiminde bir patlama (respiratory brust) olur. Fagosite edilmiş, patojenler oksidan ajanlar tarafından öldürülür. Solunum yolu ile patlamanın amacı oksidan ajanlar sağlamaktır. Oluşan oksidan ajanlar patojenleri öldürmenin yanısıra myeloperoksidaz sistemine de etki eder. Hidrojen peroksit ve hipoklorit kombinasyonu myeloperoksidaz sistemini etkiyerek de güçlü bir antimikrobiyal aktivite gösterir. Bu radikaller memeli bakteri ve parazitlerine karşı sitotoksik etkiye sahip oksidan

ajanlardır. Membran peroksidasyonu, membran proteinlerinin dekarboksilasyonu ve/veya oksidasyonuna yol açıp membran bütünlüğünü bozabilir ve DNA'yı okside ederek parçalayabilir. Fagositik kaynaklı oksidan ajanlar; ototoksik, immunosupresif ve mutojenik etki oluşturabilirler (Natarajan V. 1995).

2.4.2.2. Eksojen serbest radikal oluşum mekanizması

Serbest radikaller, eksojen nedenlerle de oluşabilir. Radyasyon, sigara dumanı, zehirli gazlar, bazı ilaçlar, kanserojen maddeler ve pestisitler en önemli eksojen serbest radikal üretim kaynakları olarak bilinirler (Ball S. and ark. 1986).

2.4.3. Serbest radikallerin etkileri

Serbest radikaller, hücrelerin lipit, protein, DNA ve karbonhidratlar gibi tüm önemli bileşiklerine etkilediği bilinmektedir (Gutteridge J.M.C. 1995, Kehrer J.P. ve Smith C.V. 1994). Bu etkilerden ilki hücre membranında gözlenir. Hücre zarında bulunan kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipit peroksidasyonu olarak bilinir, çok zararlıdır ve geri dönüşümsüzdür (Akkuş İ. 1995, Gutteridge J.M.C. 1995, Kehrer J.P. ve Smith C.V. 1994).

Proteinlerin serbest radikal hasarından etkilenmesi ise aminoasit kompozisyonuna bağımlılık gösterir. Doymamış bağ veya sülfür içeren amino asitler serbest radikaller için önemli birer hedef oluşturarak sülfür ve karbon merkezli radikallerin oluşumuna neden olurlar. Özellikle hem proteinleri serbest radikaller için önemli birer hedef oluşturmaktadır. (Akkuş İ. 1995, Kehrer J.P. ve Smith C.V. 1994).

2.4.3.1. Hücre içi etkileri

2.4.3.1.1. Lipit peroksidasyonu

Serbest radikal hasarının esas süreci lipit peroksidasyonu olarak kabul edilmektedir. SOR, özellikle hidroksil radikali pek çok organik bileşiğin doymamış bağlarına saldırarak etkisini göstermektedir. Biyolojik zarlar hücreleri ve hücre organellerini çevreleyen, lipit ve proteinlerden oluşan yapılardır. Çift tabaka fosfolipit arasına gömülü halde bulunan proteinler

enzim, reseptör, taşıyıcı molekül olarak pek çok hücresel işlevde yer almaktadır. Biyolojik zarlar büyük miktarlarda yan bağlı çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) içerirler ve serbest radikal hasarına karşı çok hassastırlar. Hücre zarının işlevlerini gerçekleştirebilmesi akışkanlığına bağlıdır. Akışkanlık ise büyük ölçüde PUFA varlığıyla sağlanmaktadır. PUFA'ların hasarında zarın akışkanlığının da azaldığı gösterilmiştir (Halliwell B ve Gutteridge JMC. 1999).

Zara yapışık poliansatüre yağ asitleri özellikle hidroksil radikali tarafından saldırıya uğrar ve yağ asidi yan zincirinden (L-H) bir hidrojen atomunun uzaklaşması ile lipit peroksidasyonu başlar.

$L\text{-}H + OH\bullet \rightarrow L\bullet + H_2O$

Böylece bir yağ asidi zinciri radikal (L•) özellik kazanır. Lipit radikallerinin moleküler oksijenle reaksiyona girmesi sonucu lipit peroksil radikali ($L\text{-}O_2\bullet$) meydana gelir.

$L\bullet + O_2 \rightarrow L\text{-}O_2\bullet$

Lipit peroksil radikali çok reaktiftir, zar proteinleri ve zardaki komşu yağ asidi zincirleri ile reaksiyona girerek lipit peroksitlerini ve lipit radikalini oluşturur.

$L\text{-}O_2\bullet + L\text{-}H \rightarrow L\text{-}O_2H + L\bullet$

Oluşan serbest radikaller zincir reaksiyonu şeklinde yeni serbest radikaller oluştururlar (Halliwell B ve Gutteridge JMC. 1999).

Lipit peroksidasyonunun başlaması ile olaylar; çoğu yağ molekülünün zarda oldukça hareketli bir planda bulunması ve zincirleme reaksiyonların başlangıç yönünde oluşan önemli değişiklikler nedeniyle geniş bir hal alabilir. Lipit peroksidasyonu zarın yapısında ve barındırdığı enzimlerde aşağıdaki hasarları oluşturur:

Zarın akışkanlığını değiştirerek iyon pompalarını ve reseptörlerin bağlanmasını etkileyebilir (Van der Vliet A ve Bast A 1992).

Zar lipitlerinin hidrolizi fosfolipaz A_2'i uyarabilir, bu da reseptör fonksiyonlarını etkiler (Van der Vliet A ve Bast A 1992).

Artan zar geçirgenliği nedeniyle kalsiyum homeostazisi değişebilir ve ATPazların kalsiyumu tutması azalabilir (Van der Vliet A ve Bast A 1992).

Sonunda plazma membranının bütünlüğünün kaybıyla hücre ölümü ve doku nekrozu gerçekleşebilmektedir. Zincirleme serbest radikal reaksiyonları sırasında ortamda demir ve bakır gibi metal iyonları bulunmadığında ortaya çıkan lipit hidroperoksit ve ürünleri oldukça kararlı bileşiklerdir. Metal iyonları ve onların kompleksleri lipit hidroperoksitleri parçalayarak lipit peroksidasyonu oluşturmaktadır (Halliwell B ve Gutteridge JMC 1999).

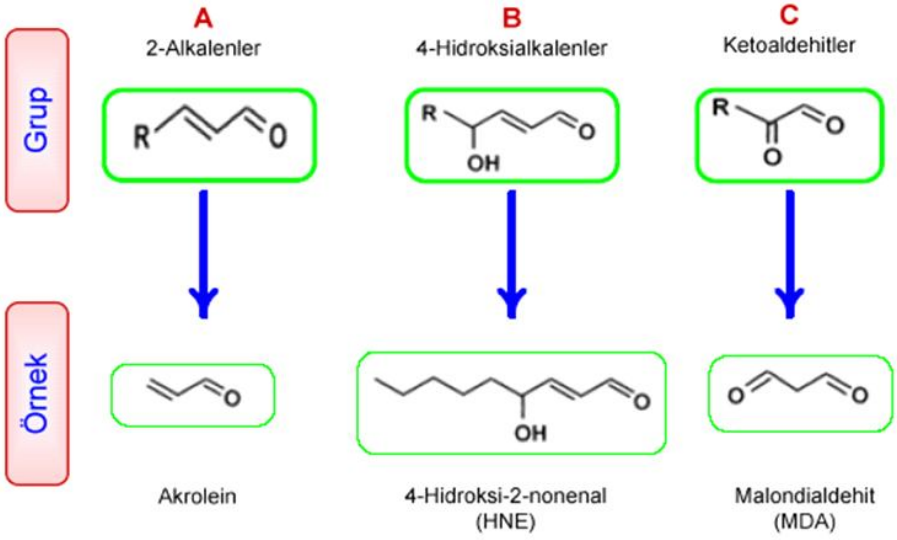
$L\text{-}O_2H + Fe^{+3} \rightarrow L\text{-}O_2\bullet + H^+ + Fe^{+2}$

Lipit peroksidasyonu, lipit peroksitlerinin malondialdehit (MDA) ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesiyle sona erer (Halliwell B ve Gutteridge JMC 1999).

Malondialdehit ölçümü lipit peroksidasyonunun göstergesi olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu bileşiğin miktarının saptanmasında tiyobarbitürik asit ile reaksiyona giren maddelerin (TBARS) ölçümü yapılmaktadır. Bu oldukça nonspesifik olmasına rağmen MDA tespitinde sıklıkla kullanılmaktadır (Urso M.L ve Clarkson PM. 2003).

Peroksidasyon sonucu oluşan reaktif aldehitler serbest radikallere göre daha stabildirler ve hücre içinde veya hücreden dışarıya çıkarak daha uzaktaki bölgelerdeki proteinlerin serbest amino grupları, fosfolipitler ve nükleik asitlerle reaksiyona girebilir. Bunun sonucunda molekül içi ve moleküller arası 1-amino–3-imino propen (AIP) köprüleri kurabilir ve biyolojik moleküllerde yapısal modifikasyonlar oluşturabilir (Şekil 6), (Uchida K.2000).

Üç karbonlu bir ketoaldehit olan MDA, normal metabolik şartlarda, önce asetat veya malonata kadar okside olur, daha sonra kreps siklusu ile CO_2'e indirgenerek atılır. Fakat aşırı lipit peroksidasyonunda MDA konsantrasyonu artar ve dokulara hasar verir (Uchida K. 2003).



Şekil 6: Lipit peroksidasyonu ile oluşan aldehitler (Uchida K.2000).

2.4.3.1.2. Nükleik asitler üzerine etkileri

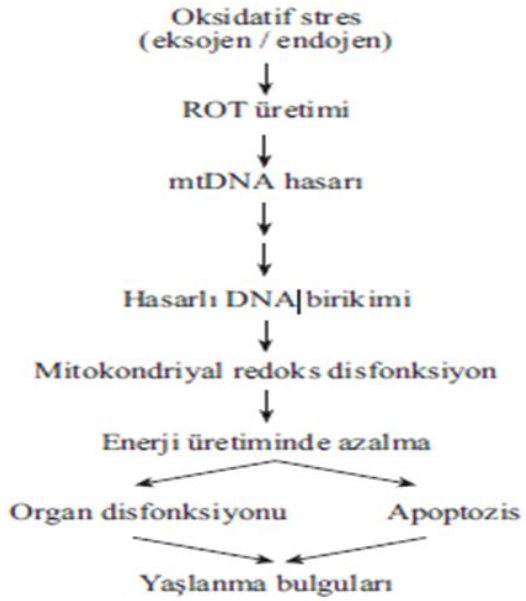
Serbest radikallerin hücre çekirdeğinde ve DNA'da etkileri genotoksik ve mutojenik değişikliklere yol açar. DNA'nın nükleik asitleri ile reaksiyona giren serbest radikaller, DNA dizininde çatlaklar meydana getirerek bu hücrelerin kanser hücrelerine dönüşmesine neden

olurlar. Oksidatif DNA hasarı, büyük ölçüde yaşlanma ve kanser gelişimine katkıda bulunur (Kaynak K. 2002, Kolanjiappan K and ark. 2003).

2.4.3.1.2.1. Mitokondriyal Dna'da oksidatif hasar ve yaşlanma

Mitokondriyal DNA'da (mtDNA) oksidatif hasar ve bu hasara bağlı mutasyonların yaşlanma sürecinde önemli olduğu ve mitokondrilerin yaşlanmada anahtar rol oynadıkları Miquel ve ark. tarafından 1980'de açıklanmıştır (Miquel J. ve ark. 1980). Günümüze dek yapılmış olan araştırmalar fizyolojik yaşlanma, prematür yaşlanma semptomları; Alzheimer hastalığı, diyabet, kalp yetersizliği, sağırlık, optik sinir dejenerasyonu, birçok ilerleyici kas hastalığı ve kanser gibi yaşlanma ile sıklıkları artan hastalıkların mutasyona uğramış DNA içeren disfonksiyonel mitokondrilerin varlığı ile ilgili olduğunu ortaya koymuştur (Wallace DC. 1997, Burçak G. ve Andican G. 2004, Martin GM. ve Oshima J. 2000).

Oksidatif hasara bağlı mutasyonel yük artarken koruyucu ve onarıcı proteinlerin azalması/hasarlanması mitokondrilerin hasar ve mutasyona yatkınlığını arttırır ve hücresel yaşlanmayı hızlandırır (Luft R. 1995).



Şekil 7: Mitokondriyel ROM, Oksidatif mtDNA Hasarı ve Yaşlanma (Öğüt S. ve Atay E 2012).

Canlılarda yaşamsal önemi olan, oksijenin bazı ara bileşiklerinin de bulunduğu serbest radikaller hücresel düzeyde toksik etki gösterirler. Mitokondri iç zarı oksidatif fosforilasyondan ötürü, ROT'lerin büyük ölçüde üretildiği yerdir. Normal metabolizma

ürünleri olan ROT'ler, DNA'da çeşitli bozulmalara, özellikle kopmalara yol açar. Mitokondri DNA'sında, normal durumdakinden farklı olarak ortaya çıkan oksitlenmiş bazların, çekirdek DNA'sındakinlerden 16 kat daha fazla olduğu bulunmuştur. Bu durum, ROT'lerinin, mtDNA'da çok sayıda hasar meydana getirebileceğini göstermektedir.

2.4.3.1.3. Proteinlere etkileri

Serbest radikallerin çift bağ ve tiyol içeren moleküllerle reaktivitesinin yüksek olmasından dolayı; triptofan, trozin, fenilalanin, histidin, metionin ve sistein aminoasitleri serbest radikal hasarına duyarlıdır. Yapısında veya katalitik aktivitesinde bu aminoasitler yer alan enzimler radikal etkisi ile inhibe olurlar. Ayrıca radikal etkisi ile sitoplazmik ve membran proteinlerinde çapraz bağlanmalar ve agregat oluşumu görülür Normalde modifikasyonlara dirençli olan prolin, lizin gibi aminoasitler, $O_2^{\cdot}$, H_2O_2 ve $OH^{\cdot}$ radikallerinin etkisi ile nonenzimatik olarak hidroksilasyona uğrayabilirler (Baykal Y ve Kocabalkan F. 2000).

2.4.3.1.4. Karbonhidratlara etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu H_2O_2 ve okzoaldehitler oluşur. Okzoaldehitler, DNA, ribonükleik asit ve proteinlere bağlanabilir ve çapraz bağ oluşturabilirler. Bağ dokusunun önemli bir mukopolisakkaridi olan hyalüronik asidin serbest radikallerle etkileşerek bağ dokusunun durağanlığının bozulmasına ve sıvının akışkanlığının kaybına neden olur (Baykal Y ve Kocabalkan F.2000).

2.4.3.2. Hücre dışı etkiler

2.4.3.2.1. Kemotaksi

Serbest radikaller, endotel hücrelerinden kemotaktik faktör ya da proinflamatuar moleküller olarak adlandırılan histamin, platelet aktive edici faktör (PAF), lökotrein B4 (LTB4) salınımına yol açarlar. Bu kemotaktik faktörlerin etkisi, dolaşımdaki lökositlerin patoloji bölgesinde yoğunlaşmalarını ve endotel ile ilişkilerinin artmasını sağlamaktır (Kavas GÖ. 1989).

2.4.3.2.2. Rolling

Normal koşullarda dolaşımdaki lökositler, damar endoteli ile nadiren temasta bulunurlar. Endotelin, İ/R ile oluşan radikaller tarafından uyarılması sonucu lökositler ve özellikle de nötrofiller, kendi etraflarında yuvarlanmaya başlarlar. Yuvarlanma olayını, aynı gruptan üç molekül yönlendirir. Bunlar lökositlerde bulunan L-selektin, endotel hücrelerinde yer alan P ve E selektindir. L-selektin, lökositlerin çoğunda bulunmakla beraber en yoğun olarak bulunduğu grup nötrofillerdir. L selektin, aktive olmamış nötrofillerin uyarılmış endotel hücrelerindeki P ve E selektinlerle birleşip ilk rolling olayının başlamasından sorumludur. L, P ve E selektinlerin etkileşimi sonucu lökositlerde yuvarlanma olayı gerçekleşir (Carlos TM ve Harlan JM 1994).

2.4.3.2.3. Adhezyon

Serbest radikaller, nötrofil ve endotel hücrelerinden selektin moleküllerinin yanı sıra adhezyon moleküllerinin de açığa çıkmasını sağlar. CD11/CD18, lökosit integrini olarak bilinir ve nötrofiller tarafından daha çok salınan, adhezyon yönlendiren bir moleküldür. Adhezyon olayı yalnızca lökositler arasında gerçekleşen bir olay değildir. Endotel hücrelerinin de bu olayda rolü büyüktür. ICAM–1, endotel hücreleri tarafından salınır ve lökosit integrini CD11/CD18'in karşılığıdır. ICAM-1'in salınımı, İ/R patogenezinde iskemi sonrası nötrofil-endotel hücresi adhezyonunun moleküler düzeyde en önemli belirleyicisidir. CD11/CD18 ve ICAM-1'in reaksiyona girmesi, endotel hücresine yapışan nötrofillerden, iskemik dokuya direk radikal transferini hızlandırır. Bu geçiş, kapiller düzeyde endotel hücrelerinin arasının açılarak damarın bariyer yapısını yitirmesine, oluşan aralıklardan nötrofillerin dokuya kaçması şeklinde gerçekleşir (Horgan MJ ve Ge M, 1991).

2.4.3.2.4. Antiadhezyon molekülleri inhibisyonu

Serbest oksijen radikalleri, NO'i inhibe ederler. NO, kararsız bir nitrat bileşimidir. Damarlarda gevşemeye sebep olması, ilk tespit edilen fonksiyonu olmakla beraber organizmada birçok biyolojik olayda görev alır. Kas, deri, bağırsak ve kalp gibi birçok organ sisteminde var olduğu bilinmektedir. Endotel hücreleri, lökositler gibi pek çok hücreden salınabilir. NO, lökositin endotele adhezyonunu önleyen en önemli endojen moleküldür. Ancak NO salınımı, reperfüzyon hasarı sürecinde ortaya çıkan süperoksitin, endotel hücrelerine etkisi ile inhibe olur (Lefer DJ ve Scalia R,1997).

Adhezyondan sonra özellikle nötrofiller endotel hücrelerinin arasından diapedez ile dokuya geçerek burada birikirler ve aktif oksijen (respiratuvar patlama), proteolitik enzim ve inflamatuvar sitokinlerle doku hasarını başlatırlar (Most D ve Hoyt J,1996).

2.4.4. Reaktif oksijen türleri ve yaşlılık

Yaşlanma ile birlikte metabolizmada çok sayıda geri dönüşümsüz değişiklikler oluşmaktadır. Bunların en önemlilerinden birisi de metabolizma sırasında oluşan reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinin DNA, RNA, lipitler ve proteinlerde hasara yol açacak ürünlerinin birikmesidir (Bejma J. ve Ji L. 1997, Çakatay U. ve ark. 2000). Yaşlanmayla redoks dengesi zaman içinde birikimsel olarak hasara uğramakta ve metabolizmada daha çok serbest radikal oluşmaktadır (Radak Z. ve ark. 2005).

50'li yaşlardan itibaren ROT yapımı belirgin şekilde artmaktadır. Hücrede oksijenin %90'ı oksidatif fosforilasyonun merkezi olan mitokondrilerde tüketilir. Bunların %2'si ROT adını alan ürünlere dönüşür. ROT DNA, protein, lipidler ve tüm yapılardaki moleküllere saldırır. DNA molekül oksidasyonu ile genetik messenger DNA hasarı, hücre bölünmesinin durması, kontrolsuz büyüme-malignensi oluşumu, lipid peroksidasyonu ile hücre membran hasarı, ateroskleroz hızlanması gerçekleşir (Cankurtaran M.).

Artmış oksidatif stresin yaşlanmada gelişen oksidatif protein hasarındaki rolü güncel olarak ilgi konusudur. Oksidatif protein hasarı sonucunda protein yapısında meydana gelen değişiklikler; agregasyon ile fragmentasyonda artış, sekonder ve tersiyer yapının değişikliğe uğraması olarak sıralanabilir. Bu değişiklikler sonucunda proteolize yatkınlık ve normal fonksiyonda azalma meydana gelir (Butterfield DA. ve ark. 1998, Çakatay U. ve ark. 1998).

Yaşın ilerlemesi ile birlikte çizgili kasta, kalp kasında, diyaframda ve beyinde de mitokondriyal DNA serbest oksijen radikal hasarı gelişir. Mitokondriyal solunum hasarları sadece dokularda değil Parkinson, Alzheimer ve diğer yaşla artan hareket bozukluklarında da artmaktadır. Ancak kalori kısıtlamasıyla bu hasarın azaldığı gösterilmiştir (Kurt N. 2008).Serbest radikallerin, yaşlanma sürecine etkili oldukları varsayıldığında en azından teorik olarak oksidatif reaksiyonları durduran veya yavaşlatan diyet uygulamalarıyla yaşam süresinin uzatılması mümkündür. Günümüze kadar yapılan çalışmaların birçoğunda diyet ilavelerinin ortalama yaşam süresini arttırdığı, ayrıca antioksidanlarla tedavi edilen hayvanların daha az kilo, lipofuskin ve tümör oluşumuna, genetik olarak da duyarlı ırklarda otoimmun hastalıklarda azalmaya meyilli oldukları saptanmıştır (Sacher GA. 1977).

ROT' lerin düzeyi, yaşlanma süreci ile paralel bir artış gösterir. Yaşlanma ile protein karboksilasyonunun artışı ve katalize edici tüm enzimlerin azalmasının bu dengesizlikte önemli rolleri vardır (Çavdar C. ve ark. 1997).Yaşlı hayvanlarda mitokondrilerin ürettiği ROT miktarı, gençlere oranla daha yüksektir. Reaktif oksijen türevlerinin, DNA'da, hem şeker fosfat iskeleti üzerinde kırma yada koparma hem de bazlar üzerinde nokta mutasyonları biçiminde etkileri vardır (Demirsoy A. 1998).

2.5. Antioksidanlar

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizmaları geliştirilmiştir. Bunlar antioksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak bilinir. Antioksidanlar, peroksidasyonu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Antioksidanlar dört şekilde etki ederler:

1. Toplayıcı etki: Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma ve çok daha zayıf bir moleküle çevirme işlemidir.

2. Bastırıcı etki: Serbest oksijen radikallari ile etkileşip, onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan veya inaktif şekle dönüştüren olaydır.

3. Onarıcı etki: Peroksidasyon zincirini tamir ederek etki gösterir.

4. Zincir kırıcı etki: Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak, peroksidasyon zincirini kırıp etkisiz hale getirir.

Antioksidanlar doğal (endojen kaynaklı) ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olarak iki gruba ayrılır. Kendi içinde de enzim olan ve enzim olmayanlar olarak ayrılırlar. Melatonin endojen kaynaklı enzim olmayan bir antioksidandır (Tan DX. ve ark. 1988).

Hücreler serbest radikalleri detoksifiye eden antioksidan savunma sistemlerine sahiptirler. Aerobik organizmalar bu savunma sistemleri tarafından oksidatif değişikliklere karşı korunmaktadırlar. Antioksidan maddelere; E vitamini, C vitamini, süperoksit dismütaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimleri ve C vitamini, E vitamini, sistein, ürik asit ve glutatyon gibi enzimatik olmayan serbest radikal temizleyicileri örnek olarak verilebilir. Fakat antioksidan sistemler tam olarak etkili olmadığı için ve ilerleyen yaşla birlikte antioksidan savunma mekanizmaları yetersiz kaldığı için oluşan hasarlar birikmekte ve yaşlanmaya yol açmaktadır (Weindruch R. 1996, Pollack M. ve Leeuwenburgh C. 1999).

Yaşla birlikte, oksidan ve antioksidanlar arasındaki dengede bir düzensizlik oluşmaktadır. Çünkü yaşla birlikte antioksidanların miktarları önemli derecede azalır.

Örneğin ratlarla yapılan çalışmalarda iskelet kasları ve karaciğer gibi dokularda C vitamini miktarının önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (Pollack M. ve Leeuwenburgh C. 1999). Oksidanların neden olduğu oksidatif stres, antioksidan savunmalar azaldığında veya oksidatif reaksiyonların antioksidan reaksiyonlardan daha fazla olduğunda açığa çıkar (Buettner GR. 1993). Yaşlanma sürecinde artan serbest radikal üretimi ile birlikte antioksidan savunma sistemindeki azalmanın, önemli etken faktörler oldukları kabul edilmektedir (Wickens AP. 2001). Yine de bazı hayvan grupların da antioksidan enzimlerin yaşlanmayı geciktirdiğine dair bilgiler bulunmaktadır.

Ayrıca bazı canlı gruplarıyla yapılan çalışmalar, antioksidan terapinin oksidatif stresin yol açtığı kanser ve bazı dejeneratif bozuklukları önleyerek yaşam süresini uzattığını göstermiştir. Mitokondrial DNA hasarını önleyen antioksidan sistemin güçlenmesi ile farelerde yaşamın ortalama 5,5 ay uzaması büyük bir gelişme olarak görülmektedir (Kara İ. ve Müdüroğlu A. 2008).

2.5.1. Antioksidan enzimler

2.5.1.1. Enzimatik antioksidanlar

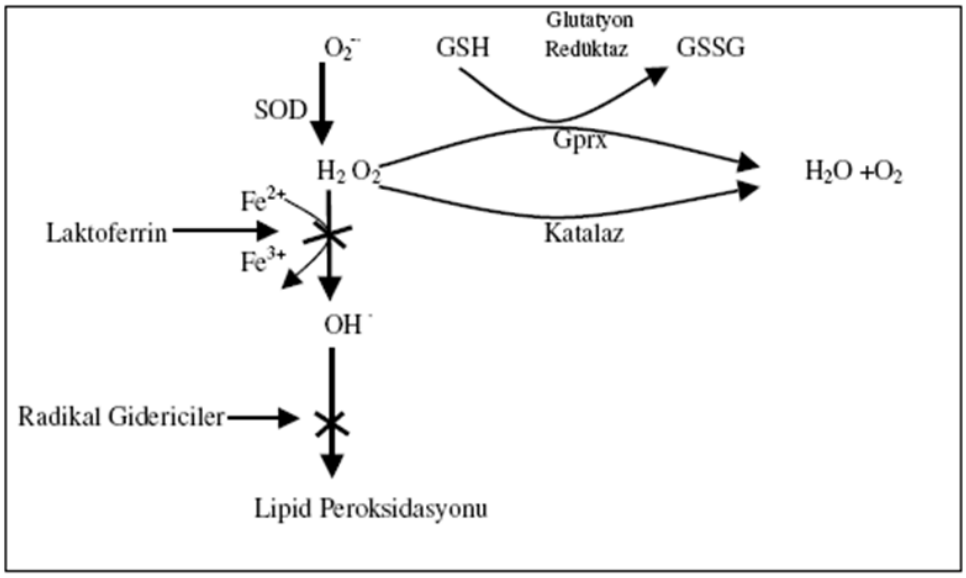
2.5.1.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (SOD), bir metalloenzimdir. Oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunur. İlk defa 1968 yılında Mc Cord ve Fridovich tarafından tanımlanan süperoksit dismutaz enzimi süperoksitin, hidrojenperoksit ve moleküler oksijene dönüşümünde görev alır. Reaksiyonun formülasyonu, şu şekildedir: (McCord JM, Fridovich I. 1969).

$$2O_2\bullet^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

Süperoksit dismutaz, bu reaksiyonda hem oksidan hemde redüktan olarak hareket eder. Oksijen radikalleriyle oluşan hasara karşı SOD, katalaz ve glutatyon enzim sistemiyle birlikte çalışan bir savunma mekanizmasıdır (Çizelge 4). Böylece oluşan hidrojen peroksit, katalaz veya glutatyon peroksidaz enzimleri tarafından su ve oksijene indirgenmektedir. Peroksit radikalinin dismutasyonu ile oluşan H_2O_2 doku için biyolojik avantaj sağlar.

Tablo 4: Antioksidan savunma mekanizması (Karabiga M. 2006).



Süperoksit dismutazın bu reaksiyonu oksidatif strese karşı ilk savunma olarak da adlandırılır. Çünkü $O_2^{\bullet -}$, zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücresel kompartmanlardaki $O_2^{\bullet -}$ düzeyleri kontrol altında tutulur. Bütün canlılardaki SOD, kofaktör olarak içerdiği metal iyonuna göre dört izoenzim halinde sınıflandırılabilir (Mates JM ve Sanchez-Jimenez F. 1999, Whittaker M ve Whittaker JW. 1998).

1) Cu-Zn SOD: Bakır ve çinko iyonlarını içeren dimerik tiptir ve sitoplazmada bulunur. Siyanit, bu izoformun işlevini baskılar. Hücrede en fazla miktarda bulunan izomerdir.

2) Mn SOD: Mangan iyonu içeren tetramerik tiptir ve mitokondriyonda bulunur. Siyanit tarafından bloke edilmez.

3) Fe-SOD: Bazı bakterilerde saptanmıştır.

4) Ni-SOD: Bazı bakterilerde bulunur. Aminoasit kompozisyonu diğer izoenzimlerden farklıdır.

5) Hücre Dışı SOD: Bu izoform, hücre zarındaki kollajene bağlanarak nötrofil ve diğer hücrelerden salınan süperoksitleri kontrol eder. Enzimin fizyolojik işlevi, oksijeni katabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Bu yolla, lipit peroksidasyonu engellenmiş olur (Niwa Y. ve ark. 1990).

SOD'un etkinliği, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda daha fazladır ve doku kısmi oksijen basıncı (PO_2) artışına paralel olarak artar. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranlarda süperoksit üretimi olmasına rağmen, hücre içi süperoksit seviyeleri düşük tutulur. SOD'un hücre dışı etkinliğiyse oldukça düşüktür (Lunec J. ve Blake

D. 1990). SOD, fagosite edilmiş bakterilerin hücre içi ortamda öldürülmesinde de rol oynar. Bundan dolayı, SOD granülosit işlevi için çok önemli bir enzimdir. Ayrıca lenfositlerde, granülositlerden daha fazla miktarda SOD bulunmaktadır (Kobayaski Y. ve ark. 1977).

2.5.1.1.2. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)

Glutatyon peroksidaz, hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu olan enzimdir. Hücre zarındaki fosfolipit hidroperoksitlerini alkole indirger (Spallholz JE. 1990). Tetramerik yapıdadır ve dört selenyum atomu içerir. Sitoplazmada ve mitokondriyonda bulunabilir (Blanco-Coronado JL. ve ark. 1992).

GSH-Px'in fagositoz yapan hücrelerde önemli işlevleri vardır. Sitozolde yerleşik GSH-Px, aşağıdaki reaksiyonları katalizleyerek, hidrojen peroksidin ve organik hidroperoksitlerin (ROOH) indirgenmesini sağlar:

$H_2O_2 + 2GSH \rightarrow GSSG + 2H_2O$

$ROOH + 2GSH \rightarrow GSSG + ROH + H_2O$

Glutatyon peroksidazın iki substratı vardır. Substratlarından biri olan peroksitler alkole indirgenirken, diğer substrat olan GSH yükseltgenir. Oluşan yükseltgenmiş glutatyon (GSSG), glutatyon redüktaz enziminin katalizlediği bir başka reaksiyon ile tekrar indirgenmiş (GSH) glutatyona dönüşür:

$GSSG + NADPH + H^+ \rightarrow 2GSH + NADP^+$

Yapısı ve fonksiyonları çok yakın zamanda aydınlatılabilmiş olan bir diğer GSH-Px, "fosfolipit-hidroperoksit glutatyon peroksidaz" enzimidir. Bu enzim de selenyum içerir. Ancak monomerik yapıdadır. Zar yapısındaki fosfolipit hidroperoksitlerini, alkollere indirgeyerek, özellikle E vitamininin yetersiz olduğu durumlarda peroksidasyona karşı korunma sağlar (Valko M. ve ark. 2006, Drevet JR. 2006).

$PL\text{-}OOH + 2GSH \rightarrow GSSG + PL\text{-}OH + H_2O$

Diğer antioksidanlarla birlikte, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositoz yapan hücrelerin zarar görmelerini engeller. Eritrositlerde, oksidasyona yol açan strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-Px'in enzim etkinliğindeki azalma, hidrojen peroksitin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar. Aynı zamanda bu enzim, lipit peroksitlerinin indirgenmesini de katalizlemektedir (Rambabu JP. Ve Rao MB. 1994). Hücre zarına bağlı en önemli bağlı antioksidan olan E vitamini miktarı az olduğu zaman, hücre zarının peroksidasyona karşı korunmasını sağlar (Spallholz JE. 1990).

2.5.1.1.3. Glutatyon redüktaz (GR)

Glutatyon redüktaz, bir flavin enzimidir ve koenzimi NADPH ve prostetik grubu FAD'dır. Hem sitozol hem de mitokondride bulunmaktadır. Okside glutatyon hücreyi antioksidanlara karşı koruyamaz. Hücre, elektron kaynağı olarak NADPH'ı kullanan glutatyon redüktazın katalizlediği bir reaksiyon ile indirgenmiş glutatyonu tekrar oluşturur. NADPH, hidrojen peroksidin indirgenmesinde indirekt olarak elektronları sağlar. Oluşan NAD^+ ise Glukoz 6-fosfat dehidrojenaz enzimi yardımıyla NADPH' a dönüştürülür (Paglia DE ve Valentine WN. 1967).

$$GSSG + NADPH + H^+ \xrightarrow{GR} 2GSH + NADP^+$$

2.5.1.1.4. Glutatyon-S-Transferaz (GST)

Glutatyon-S-transferazlar, hücresel detoksifikasyon ve transporttan sorumlu iki protein alt birimden oluşan multifonksiyonel protein ailesidir. Genel olarak üç sitozolik ve bir de mikrozomal olmak üzere dört ana gruba ayrılır. GST ailesi hepatositlerdeki başlıca detoksifiye edici sistemdir. Ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda önemli rol oynamaktadırlar. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipit hidroperoksitlere karşı GST'ler, selenyumdan bağımsız GPx aktivitesi gösterirler (Shidhu P. 2004).

$$ROOH + 2GSH \xrightarrow{GST} GSSG + ROH + H_2O$$

Glutatyon-S-transferazlar, glutatyonun reaktif metabolitlerle konjugasyonunu sağlayarak organizmadan uzaklaşmasını sağlamaktadır (Liebert J and ark 2005).

2.5.1.1.5. Katalaz (CAT)

Katalaz 60 kDa ağırlığında 4 aynı yapıda tetrahedral subunitler içeren hem enzimidir. 240 kDa molekül ağırlığında her molekülde 4 adet ferriprotoporfirin içerir. Katalaz, hidrojen peroksidi oksijen ve suya parçalayan reaksiyonu katalizler (Mates JM ve Sanchez-Jimenez F.).

$$2H_2O_2 \xrightarrow{CAT} 2H_2O + O_2$$

Katalaz, peroksizomlarda yerleşmiş olup kan, kemik iliği, mukoz membranlar, karaciğer ve böbrekte yüksek miktarlarda bulunmaktadır.

Katalaz düşük hızlarda hidrojen peroksidin oluştuğu durumlarda veya ortamda yüksek miktarda elektron alıcısı bulunduğunda peroksidatif tepkime ile su oluşturur.

$H_2O_2 + AH_2 \rightarrow 2H_2O + A$

Hidrojen peroksit oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda ise katalitik tepkimeyle hidrojen peroksidi suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırmaktadır (Sözmen E.Y. and ark. 2002).

$H_2O_2 + H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$

2.5.1.2. Enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri

2.5.1.2.1. E ve C vitamini

Yağda çözünen vitaminler içerisinde önemli yere sahip vitamin E, özellikle membran ve lipoproteinlerin bileşenleri üzerinde zincir kırıcı antioksidan etkiye sahiptir. Alfatokoferol vitamin E türevleri içerisinde en aktif bileşik olup, zincir reaksiyonları ile ilişkili peroksil radikalini temizleyerek lipit peroksidasyonunu engeller (Steinberg D. 2000).

Yapısındaki fenolik hidroksil grubuna sahip aromatik halka bu moleküle antioksidan özellik kazandırır (Halliwell B. 1996). Bununla birlikte alfatokoferol singlet oksijen, alkoksil radikali, peroksinitrit, nitrojen dioksit, ozon ve süperoksit radikalleri ile de tepkimeye girer. Lipit radikalleri ile tepkimesi sonucu oluşan alfatokoferol radikalinin, peroksil radikaline göre membranların yağ asidi zincirlerine karşı reaktivitesi çok düşük olup, askorbik asit başta olmak üzere diğer molekül veya mekanizmalar tarafından alfatokoferola dönüştürülür (Wang X ve Quinn PJ. 1999).

Askorbik asit veya vitamin C glikoz metabolizmasından gelen, suda çözünen vitaminler grubundandır. Prolin, lizin ve dopamin alfa hidroksilaz enzimlerinin kofaktörü olup, bu amino asitlerin hidroksilasyonunda ve kollojen fibrillerin sentezinde gereklidir. Askorbik asidin (Vitamin C) bir elektron oksidasyonu sonucu monodehidro askorbil radikali oluşurken, reaksiyona girdiği radikali de etkisiz hale getirerek serbest radikallerin organizmaya verdiği zararı engeller. Askorbik asidin radikalik formu ise glutatyon sistemi tarafından askorbik aside yeniden dönüştürülür (Mendiratta S and ark. 1998).

2.5.1.2.2. Karotenoidler

Karotenoidler (β-karoten, Likopen, Zeaksantin, Lutein, Violaksantin), genelde sarı ve turuncu renkli bileşikler olup bazı bakteriler ve alglerde, çoğu zaman ise bitkilerde bulunan pigmentlerdir. İnsan ve hayvanlar karotenoid biyosentezini gerçekleştiremedikleri için bu bileşikleri diyetle alırlar. Karotenoidler organizmada, triplet uyarıcıların zararlı etkilerini baskılama, singlet oksijeni baskılama ve bazı oksijen radikallerini temizleme gibi koruyucu etkilere sahiptir. Bununla birlikte karotenoidler, lipit membranlara lokalize olarak membranların oksidatif strese karşı hassasiyetini azaltır (Gruszecki WI ve Strzalka K.2005).

2.5.1.2.3. Glutatyon (GSH)

Glutatyon, glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptit olup antioksidan ve indirgeyici bir ajandır. Organizmada temel olarak; peroksidaz aracılı peroksitlerin katabolize edilmesi, hücresel tiyol ve redoks potansiyelinin düzenlenmesi, bir nörötransmitter veya immünofarmakolojik tiyol görevi üstlenerek endokrin ve immün sistem arasındaki interaksiyonu sağlaması, redoksa duyarlı transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunu artırarak strese cevabın aktivasyonu gibi görevler üstlenir (Droge K, and ark.1994, Haddad JJ and ark. 2000).

2.5.1.2.4. Ürik asit (Ürat)

Ürik asit, ksantin oksidazın oksipürünleri (ksantin, hipoksantin gibi) oksitlemesi ile oluşur. İnsan ve gelişmiş primatlarda pürin metabolizmasının son ürünüdür. Ürat, fizyolojik koşullarda singlet oksijen, hipoklorit ve hidroksil radikali gibi reaktif bileşikleri baskılar fakat süperoksit radikali ile doğrudan reaksiyona girmez, peroksit kaynaklı lipit peroksidasyonuna karşı korur, bu da ürik asidin antioksidan etkilerinin olduğunun göstergesidir (Becker BF and ark 1991).

2.5.1.2.5. Melatonin

En zararlı radikallerden OH• ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır. Melatoninin bir diğer önemli özelliği lipofilik olmasıdır. Böylece hücrenin bütün organellerine ve hücre çekirdeğine ulaşabildiği gibi kan-beyin engelini de kolayca geçer. Bu nedenlerle çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterir. Melatoninin çok yüksek dozlarda ve uzun süre kullanımında bile toksik etkisi gözlenmemiştir. Ayrıca, bazı

antioksidanlar gibi pro-oksidan aktivitesi de yoktur. Deoksiribonükleik asit hasarının melatonin tarafından çok etkili bir şekilde inhibe edildiği gösterilmiştir. Yaşlanma ile birlikte melatonin üretimi azalır. Bu durumun yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların patogenezinde önemli olabileceği düşünülmektedir (Leon J and ark. 2004, Deland R and ark. 1993).

2.5.1.3. Antioksidan korunma ve yaşam süresi arasındaki ilişki

Organizmalar reaktif oksijen türlerine karşı enzimatik [süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT)] ve enzimatik olmayan (glutatyon [GSH], E, A ve C vitaminleri, ürik asit, albümin, seruloplazmin, bilurubin vb.) kompleks antioksidan savunma sistemleri geliştirmişlerdir.

Normalde serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemleri arasında bir denge vardır. Fakat çeşitli nedenlerle serbest radikallerinin miktarı antioksidan savunma sistemlerinin kapasitesini aşarsa hücrelerin lipit, protein ve DNA gibi bileşenlerinde oksidatif

hasara neden olurlar. Oksidatif hasar başladıktan sonra telafi edilmezse, zamanla artar ve atheroskleroz, diabet, alzhaimer, koroner kalp hastalıkları ve kanser gibi yaşlanmayla ilgili birçok hastalığın patogenezinde rol oynayabilir (Kim JW. ve ark. 2002).

2.6. Melatonin

Melatoninin sirkadyen ve mevsimsel ritimlerin, immün fonksiyonun, retinal fizyolojinin, tümör inhibisyonunun, uykunun düzenlenmesi gibi fonksiyonlarının yanısıra serbest radikal toplayıcı ve antioksidan etkileri olduğu bilinmektedir (Reiter RJ. 2003).

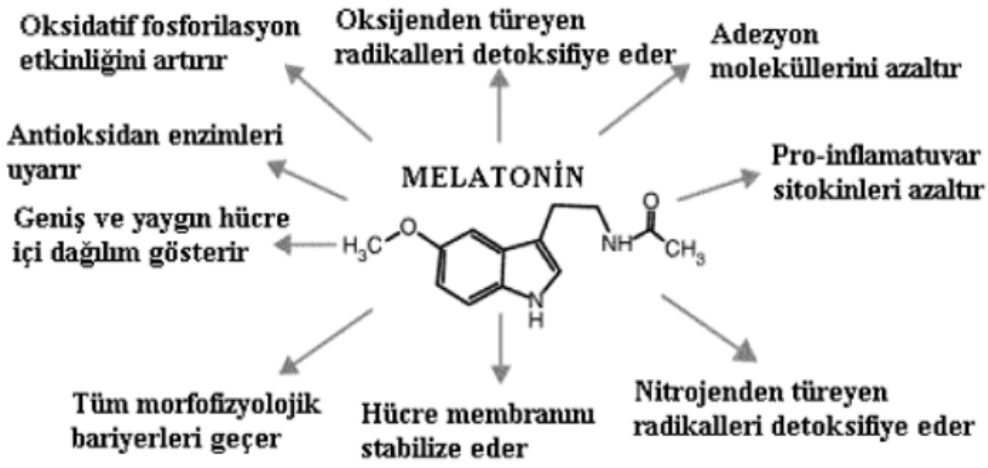
Melatoninin beyinde oksidatif hasara karşı oldukça koruyucu olduğu kanıtlanmıştır. Organizmadaki oksidatif hasarın % 50'sinin hidroksil radikalinden kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Hidroksil radikali çok reaktif olup, üretildiği yerin çevresindeki molekülleri ayırt etmeden zarar verir. Melatoninin çeşitli teknikler kullanılarak in vivo ve in vitro oldukça toksik hidroksil radikalinin toplayıcısı olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle melatoninin etkisi önemlidir. Diğer antioksidanların çoğundan daha büyük hızla toplayıcı etki gösterir (Matuszak Z. ve ark. 1997).

Melatonin hidroksil radikalini detoksifiye etmekle beraber, esansiyal nöronal molekülleri bozan diğer reaktif oksijen ara ürünlerini de nötralize etmektedir. $ONOO^-$ ve prekürsör moleküllerinden NO'ide toplayıcı etki gösterdiği rapor edilmiştir (Cagnoli CM. ve

ark. 1995). $1O_2$'inin toksisitesini de engellediği gösterilmiştir (Gilad E. ve ark. 1997). Lipid peroksidasyonu, zincir reaksiyonları nedeniyle diğer serbest radikal hasarlarından daha dramatik olup özellikle yıkıcıdır. Melatonin peroksil radikalini (LOO^-) detoksifiye edebilmesi nedeniyle zincir kırıcı antioksidan olarak da fonksiyon yapabilir. Majör zincir kırıcı antioksidan vitamin E'dir. Melatoninin Vitamin E'ye göre belirgin bir avantajı kan beyin bariyerini kolayca geçmesidir (Pappolla MA. ve ark. 2000).

Melatonin direkt toplayıcı etkisinin yanısıra, birkaç önemli antioksidanı aktive ederek indirekt bir antioksidan olarak da etki eder. Bu enzimler radikal prekürsörlerini ve reaktif oksijen ara ürünlerini toksik olmayan ürünlere dönüştürerek serbest radikal hasarına karşı korur. Beyinde majör antioksidan enzimler süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve glukoz 6-fosfat dehidrogenazdır. Farmakolojik ve fizyolojik melatonin seviyelerinin her ikisinin de bu antioksidanların mRNA seviyelerini ya da aktivitelerini uyardığı gösterilmiştir (Kotler M. ve ark. 1998, Barlow-Walden LR. ve ark. 1995).Glutatyon peroksidaz, peroksinitrit redüktaz gibi de fonksiyon gördüğünden, sadece intraselüler alandan toksik hidroperoksidi ve hidrojen peroksidi çıkarmakla kalmaz, yüksek derecede reaktif $ONOO^-$'yı azaltır (Sies H. ve ark. 1997). Melatoninin fizyolojik seviyelerinin nitrik oksit sentazı inhibe ederek NO oluşumunu azalttığı da gösterilmiştir (Bettahi I. ve ark. 1996).

Beynin deneysel oksidatif hasar modellerinde, melatoninin hasarı azaltmada belirgin olarak efektif olduğu gösterilmiştir. İn vivo olarak eksitotoksisite, iskemireperfüzyon, travmatik beyin hasarı, hiperoksi, porfirik nöropati ve Parkinson modellerinde, melatoninin serbest radikal mekanizması ile oluşan makromolekülerhasarı azalttığı, in vitro olarak amiloid β'nın indüklediği lipid peroksidasyonunu azaltmada efektif olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, oksidatif strese maruz kalan nöronlarda nöron kaybının muhtemel mekanizması olan apoptozu azaltır (Pappolla MA. ve ark. 2000).



Şekil 8: Melatoninin antioksidan özellikleri (Reiter RJ. 2003)

Serbest radikaller beyin dokusunda önemli hasarlara yol açmaktadırlar. Büyük olasılıkla en önemli neden O_2‘ nin yüksek oranlarda kullanımı, antioksidan savunmanın yetersizliği ve beynin yüksek miktarlarda, kolayca oksitlenebilen yağ asitleri içermesidir. Bu oksidatif hasarlar çeşitli nörodejeneratif bozukluklara neden olmaktadır. Santral sinir sistemi hastalıkları son derece karmaşık patolojiye sahiptir. Melatonin çeşitli basamaklarda bu olaylarla ilgilidir. Bunlar şöyle sıralanabilir;

1) Melatoninin vücutta üretimi yaşla birlikte azalmakta ve bu da yaşla birlikte nörodejenaratif bozuklukların artmasına neden olmaktadır.

2) Melatonin kan-beyin bariyerini hızla geçmekte ve dışardan uygulandığında beyinde yüksek konsantrasyonlara ulaşabilmektedir.

3) Melatonin serbest radikal yakalayıcısı ve antioksidandır. Nörolojik hastalıklarda oksidatif hasarı azalttığı ve nörolojik fonksiyonları koruduğu ispatlanmıştır.

4) Hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, yetersiz beslenmede, melatonin eksikliğinin ortaya çıktığını ve dolayısıyla yaşlanma sürecinin hızlandığını ortaya koymuştur (Reiter R.J. 1998).

2.6.1. Tanımı

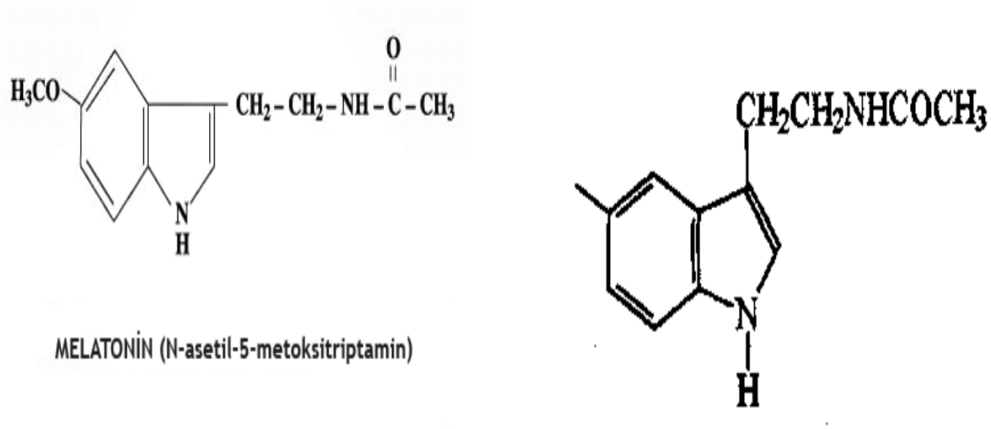
İlk kez 1958 yılında Aaron Lerner ve ark tarafından keşfedilen melatoninin bu dönemde tanımı “melanophorecontracting hormon” olarak yapılmış ve kurbağa derisindeki melanoforların beyaz görünüşüne neden olduğu için ve serotoninden türediği için bu isim verilmiştir (Turgut M. ve ark. 2002).

Triptofan metabolizmasının bir ürünü olan melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin), memelilerde pineal bez, retina, gastrointestinal kanalda ve çeşitli periferik organ ve dokularda sentezlenir. Melatoninin molekül ağırlığı 232 olup hem lipit hem de suda çözünmektedir. Amfofilik yapısı ve küçük moleküllü olması nedeniyle organizmada yaygın dağılım gösterir, hücresel kompartmanlara kolayca girer. Buna rağmen yağdaki çözünürlüğü daha fazladır. Melatoninin tüm memeli türlerindeki pineal bezden hareketle ölçülen kan konsantrasyonu gece, gün boyuncaki konsantrasyonundan 5 ila 15 kere daha fazla bulunmuştur (Poeggeler B. ve ark. 1991).

Melatonin sekresyonunun endojen ritmi suprakiazmatik nukleus tarafından düzenlenir ve karanlık aydınlık siklüsü ile sürdürülür. Melatonin diğer hormonların regülasyonunu ve organizmanın sirkadyen ritmini düzenler. Güçlü antioksidan özelliği olan bu doğal bileşik in vitro ve in vivo güçlü bir sitostatik ajandır. Melatoninin etkinliği oküler hastalıklarda, diyabette, romatoid artritte, fibromyaljide, kronik yogrunluk sendromunda, enfeksiyon hastalıklarında, nörolojik hastalıklarda, uyku bozukluklarında, yaşlanmada ve depresyonda gösterilmiştir (Göksel Şener 2010).

İnsanlarda pineal bez 5 mm uzunluğunda, 1-4 mm kalınlığında ve 100 mg civarındadır. Temel olarak nöroglial hücreler ve melatonin üreten pinealosit hücreleri olmak üzere iki tip hücre içerir (Reiter RJ. 2000). 40 sene öncesine kadar pineal bez total olarak fonksiyonu olmayan bir organ olarak düşünülürken, şu anda pineal bezin ana sekretuar ürünü olan melatoninin organizmadaki tüm hücrelerin fizyolojisine etkisi olabileceği düşünülmektedir. Son çalışmalar melatoninin çok eski bir molekül olduğunu ve alglerden insanlara kadar tüm hayvanlarda bulunduğunu göstermiştir.

Melatoninin, oksijen temelli metabolizmanın gelişimiyle beraber 2.5-3 milyon yıl öncesinden evrim geçirdiği düşünülmektedir (Reiter RJ. 2000).



Şekil 9: Melatoninin moleküler yapısı

2.6.2. Tarihçe

Melatonin beyindeki pineal bezde sentezlenip salıverilen ve organizmanın sirkadiyen ritmini düzenleyen önemli bir hormondur. İlk kez 1917 yılında sığır pineal bez Carey Pratt McCord ve Floyd Pierpont Allen tarafından farkedilmiştir. Kimyasal olarak tanımı ve izolasyonu ise 1958 yılında dermatoloji profesörü Aaron B. Lerner tarafınan gerçekleştirilmiştir (de Bodinat ve ark. 2010).

Pineal bezin bilimsel önemi 14. yüzyıla kadar uzanır. Ünlü Fransız filozofu Rene Descartes pineal bezi vücut ile çevre arasındaki iletişimi kontrol eden "ruhun sandalyesi" olarak tanımlamıştır. Yirminci yüzyılın ortalarında pineal bezden salıverilen melatoninin keşfi ve uyku-uyanıklık gibi önemi bir işlev ile ilişkisinin ortaya konması Descartes'ı doğrulamıştır (Lopez-Munoz ve ark. 2011).

Pineal gland ile ilgili gelişmeler üç büyük döneme ayrılabilir. Birinci dönem; İ.Ö. 3. yüzyıl civarında Herophilus tarafından pineal glandın bulunmasıyla başlar. Gallen insan pineal glandını çam ağacının tepesine benzettiği Latince kökenli "conarium" kelimesini kullanmıştır. Bu kelime pineal sinirleri tanımlamak için "nervi conarii" olarak kullanılmıştır. Pineal kelimesi Latince'de çam ağacı kozalağı anlamına gelen "pinea" kelimesinden gelmiştir. Vesalius (1514-1564) pineal glandın topografik yapısını dikkatlice incelemiştir. İkinci dönem; Kolliker, memelilerin pineal bezinde sinir liflerinin varlığını gözlemlemiştir (1850). Cajal, fare pineal bezinde demet yapan sinir liflerini bulmuş ve sempatik orjinli olduğunu iddia etmiştir (1904). Üçüncü dönem son 50 yılı kapsar. En önemli gelişme Lerner ve arkadaşlarının pineal ekstrelerde bulunan, amfibienlere verildiğinde cilt renginin açılmasına neden olan potansiyel pineal hormonu izole etmeleridir. Lerner bu maddeyi Yunanca'da siyah anlamına gelen "melas" ve iş anlamına gelen "tosos" kelimelerini birleştirerek "melatonin" olarak isimlendirmiştir (Çam A. ve Erdoğan M.F. 2003).

2.6.3. Epifiz bezinin (pineal gland) yapısı

Epifiz bezi küçük, tek bir beyin uzantısıdır. Pineal gland, posterior komissür ve dorsal habenular komissür arasında, üçüncü ventrikülün posterior duvarına yapışıktır. Boyutu ve pozisyonu türler içinde dahi faklılık gösterir. Epifiz bezinin vücut ağırlığına oranı, diğer türler ile karşılaştırıldığında insanda küçük bir orana sahiptir. Arteriyel beslenme, posterior choroidal arterler yoluyla olur, venöz dolaşım ise internal serebral venler yoluyla sağlanır. Çoğunlukla süperior servikal gangliondan sempatik innervasyonu vardır (Arendt J. 1995).

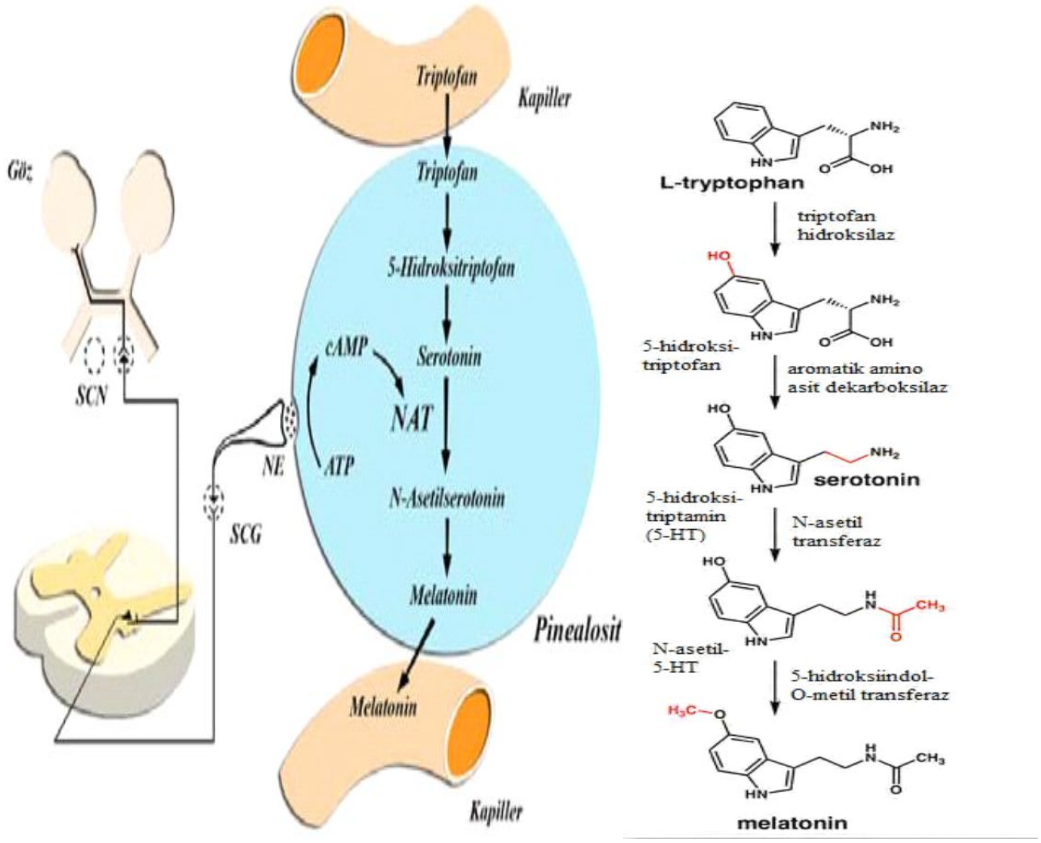
Epifiz bezi memelilerde sekretuar, balıklarda ve amfibienlerde fotoreseptif, sürüngenlerde ve kuşlarda ise hem fotoreseptif hem de sekretuar fonksiyonları üstlenmiş bir organdır. Temel hücresi pineolosittir. İnsanlar dahil bazı türlerde kalsifiye olması fonksiyonunu azaltmaz (Arendt J. 1995).

Bir çalışmada 332 çocuğun beyin magnetik rezonans (MR) görüntüleri değerlendirilmiş ve 332 çocuktan sadece 277'sinde (%83) pineal bezi tanımlanabilmiştir. Tanımlanabilen bezlerden, pineal bezin transaksiyel çapının ortalama büyüklüğünün yaşa bağlı olarak değişmediği ve 277 pineal bezden 74'ünün (%26.7) kist içerdiği saptanmıştır. Pineal kistin yaş gruplarına göre dağılımının eşit olduğu ve pineal bezlerin 10'unda (%3.6) birden fazla kist olduğu gözlenmiştir (Schmidt F. ve ark. 1995).Pineolosit hem paranöron hem de APUD (amin prekürsörlerini alan ve dekarboksile eden) hücre serisine ait özellikler taşır. Pineolositler yoğun çekirdeklidirler; granüler ve agranüler veziküller içeren aktif sekretuar oluşumlara sahiptirler. Salgıladıkları esas hormon melatonin (5-metoksi-N-asetiltriptamin)'dir (Arendt J. 1995).

2.6.4. Melatonin sentez ve metabolizması

Melatonin, melatonin hidroksilaz enzimi yardımı ile primer olarak karaciğerde hızlı bir şekilde en önemli metaboliti olan 6-hidroksi melatonine dönüştürülür. Bir seri reaksiyon sonrasında kimyasal ortamın durumuna göre sulfat ya da glukuronide konjuge olur. İdrarda 6-hidroksimelatonin sülfat metabolit seviyesi pineal fonksiyonu gösteren önemli bir indekstir. Melatonin tahminen tüm hücrelerde 3-hidroksi melatonine dönüştürülür ve benzer şekilde idrarda ölçülebilir, kişinin karşılaştığı oksidatif stresle orantılıdır (Cavallo A., Ristchel WA. 2003, Tan DX. ve ark. 1998).

Melatonin biyosentezinde başlangıç maddesi, pineal bez tarafından plazmadan alınan ve esansiyel bir aminoasid olup dışarıdan besinlerle alınması gereken "triptofan"dır. Triptofan, triptofan-5-hidroksilaz enzimi tarafından 5-hidroksitriptofana (5-HTP), 5-HTP ise aromatik aminoasit dekarboksilaz ile serotonine, serotonin N-asetil transferaz (NAT) ile N-asetilserotonine ve N-asetilserotonin ise hidroksiindol-O-metiltransferaz enzimi ile melatonine dönüştürülür. Melatonin salgılanmasında hız kısıtlayıcı enzim N-asetil transferaz (NAT)'dir. Karanlıkta superior servikal gangliyon (SCG)'den kalkan uyarılar, cAMP yolağı ile N-asetil transferaz (NAT) aktivasyonuna neden olur ve melatonin üretimi artar .



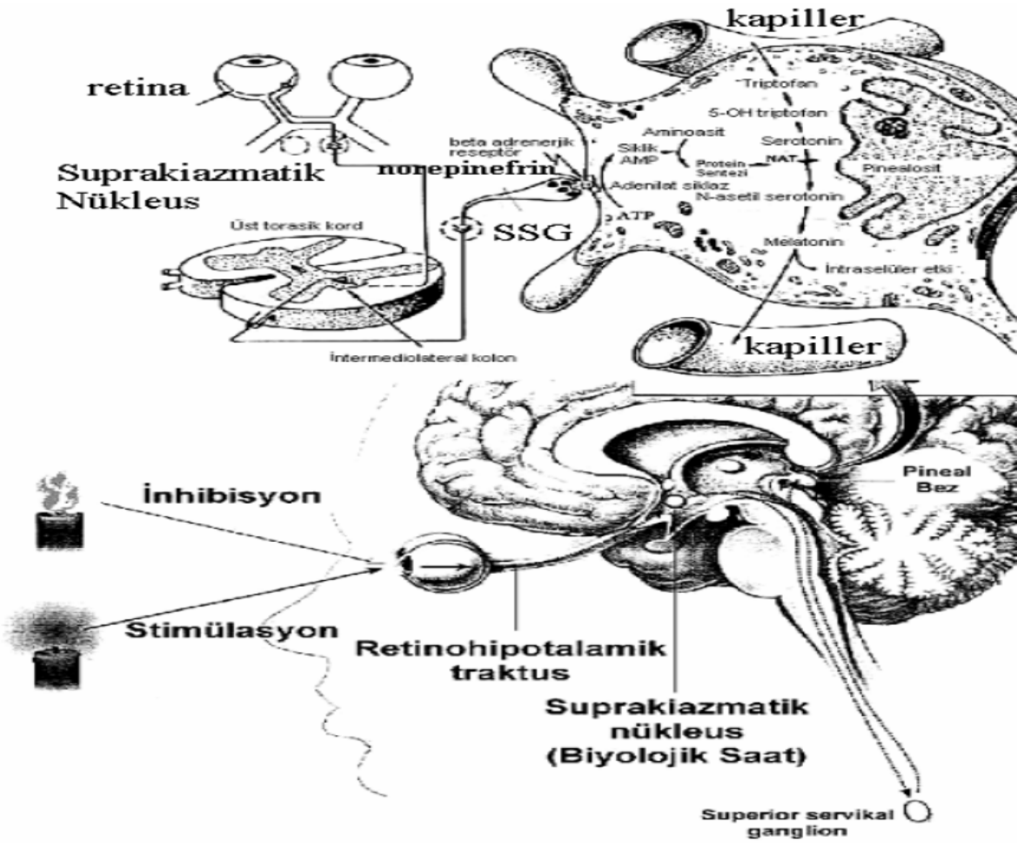
Şekil 10: Melatoninin pinealositlerde sentezi ve salgılanması (Topal T. ve ark. 2009).

Pineal bezde üretilen melatonin depolanmadan hızlı bir şekilde komşu kapiller damarlara geçer. Bu özelliği lipidlerin, proteinlerin ve DNA'nın korunmasında oldukça etkilidir. Dolaşımdaki melatonin konsantrasyonu pineal bezdeki melatonin üretimini yansıtır. (Brzezinski A. ve ark. 1997).

Melatonin, plazmada proteinlere bağlıdır. Karaciğerde metabolize olur ve başlıca metaboliti 6-Hidroksimelatoninsülfat (6-HMS)'dır. İnsanlarda ekzojen melatoninin kısa bir metabolik yarı ömrü (20-60 dk.), büyük bir hepatik geçiş etkisi vardır (Lane AE. ve Moss HB. 1985).

Bir çalışmada deneklere endojen olarak melatonin verilerek serum ve tükürükteki melatonin düzeyleri ile idrardaki 6-HMS düzeyi ölçülmüş; puberte öncesi çağdaki çocukların melatonini yetişkinlere göre daha hızlı metabolize ettikleri saptanmıştır. Tüm çalışma genelinde serum ve tükürük melatonin değerleri arasındaki arasındaki oranın denekler arasında 55 kata varan değişiklikler sergilediği gözlemlenmiştir (Cavallo A. ve Ristchel WA. 1996).

Melatonin biyosentezi fotoperiyodik çevre tarafından düzenlenir. Retinada ışığa cevap veren, fotopigment içeren özelleşmiş nöronlar mevcuttur(Cavallo A. ve Ristchel WA. 2003). Retinadan optik sinir içinde çıkan nöronalimpuls ön hipotalamustaki suprachiasmatik çekirdeğe (SCN) ulaşır. SCN'den spinal kordun üst torasik bölgesindeki intermediolateral hücre kolonuna iner ve spinal kordan superior servikal gangliona preganglionik sempatik sinirlerle taşınır, buradan çıkan postganglionik sempatik sinirler pineal bezde sonlanır. Bu yolla aydınlık-karanlık bilgisi pineal beze ulaşır, böylece melatonin sentez döngüsü belirlenir. Karanlıkla birlikte postganglionik sempatik sinirler noradrenalin salınımı yapar. Noradrenalin baskın olarak beta 1 adrenerjik reseptörlere (az miktarda alfa 1'e) bağlanarak hücre içinde depolanmış olan serotonin ve N-asetil transferazı (NAT) açığa çıkarır. Melatonin, serotoninden sırasıyla NAT ve 5-hidroksiindol-Ometiltranferaz (5-HIOM) enzimlerinin katalizlediği asetilasyon reaksiyonları ile sentezlenir. NAT aktivitesi, osilatuar melatonin sentezini düzenleyen, spesifik cAMP-bağımlı transkripsiyon faktörlerince kontrol edilir. (Cavallo A. ve Ristchel WA. 2003, Beyer CE. ve ark. 1998) Kısa süreli bir ışığa maruz kalındığında sempatik aktive inhibe olur, NAT aktivitesi ve melatonin miktarı hızla azalır (Mollaoğlu H. ve Özgüner MF. 2005).



Şekil 11: Pineal bezde melatonin sentezinin retinal kontrolü (Yazıcı C. ve Köse K. 2004).

Deride; pigment granüllerin değişiminden ve dokuların güneşin zararlı radyasyonuna karşı korunmasından sorumlu olan melatonin, gastrointestnal kanalda enterokromofin hücrelerde sentezlenmekte ve post-prandial olarak dolaşıma salıverilmektedir. Nitekim melatoninin postprandiyal plazma düzeyindeki artışlar öğün sonrası hipnotik etkisiyle ilişkisi doğrulamaktadır. Safrada sentezlenen melatonin ise okside kolesterol türevlerine ve safra asitine karşı safra yollarının mukozasını ve epitelini oksidatif hasara karşı kormaktadır (Konturek SJ. ve ark. 2007).

Pineal bezde üretilen melatoninin miktarı genetik olarak belirlenmiştir, kişinin salınım döngüsü oldukça sabittir. Aynı yaştaki bireyler arasında melatonin konsantrasyonundaki gece pikleri değişkenlik gösterir. Bazı kişiler hayatları boyunca diğerlerine göre daha fazla melatonin üretir ama bu farklılığın önemi halen tam olarak bilinmemektedir (Cavallo A. ve Ristchel WA. 2003).

Serum melatonin konsantrasyonu yaş ile de değişiklik gösterir. Örnegin; doğumda miktarı çok az iken, doğumdan hemen sonra yükselmeye başlar. 1-3 yaş arasında pik yapar, salınım paterninin sirkadien ritme dönüştüğü puberte ve yetişkin döneme kadar miktarı kademeli şekilde düşer. 20'li yaşlardan sonra ise yaşla beraber yavaş bir düşüş başlar. İleri yaşlarda pineal bezin sentezleme yeteneğindeki azalma pineolosit membranındaki beta adrenerjik reseptörlerin azalması, pineal bez içindeki sentetik yolda gerileme ve SCN'den gelen sinyalde progresif olarak zayıflama gibi çeşitli faktörlerle ilişkili olabilir (Beyer CE. ve ark. 1998).

Melatonin sentezinin sadece pineal bezde olmadıgı söylenebilir. Pineal bezin çıkarılması ile dolasımdaki melatonin düzeyleri azalmakta ancak tamamen yok olmamaktadır (Manev H. ve ark. 1996). Diffuz nöroendokrin sisteminin bir kısmı olan APUD (Amine Precursor Uptake and Decarboxylation) hücrelerinde, gastrointestinal kanaldaki enterokromaffin (EC) hücrelerinde küçümsenmeyecek düzeyde melatonin sentezi olmaktadır (Bubenik GA. ve Pang SF. 1994). Ayrıca solunum yolları, karaciger, böbrek, adrenal bezler, timus, tiroit, plasenta, mast hücreleri gibi nöroendokrin karakterde olmayan hücrelerde ve natural killer (NK) hücreler ile eozinofilik lökositlerde de melatonin sentezi tespit edilmistir (Kvetnoy I. ve ark. 1997). Bununla birlikte, yapılan çalısmalarda SCN (Suprakiyazmatik nükleus)'un da Melatonin sentezleme yetenegine sahip oldugu ama pineal bezdeki gibi önemli bir sirkadiyan ritme sahip olmadıgı gösterilmistir (Hamada T. ve ark. 1999).

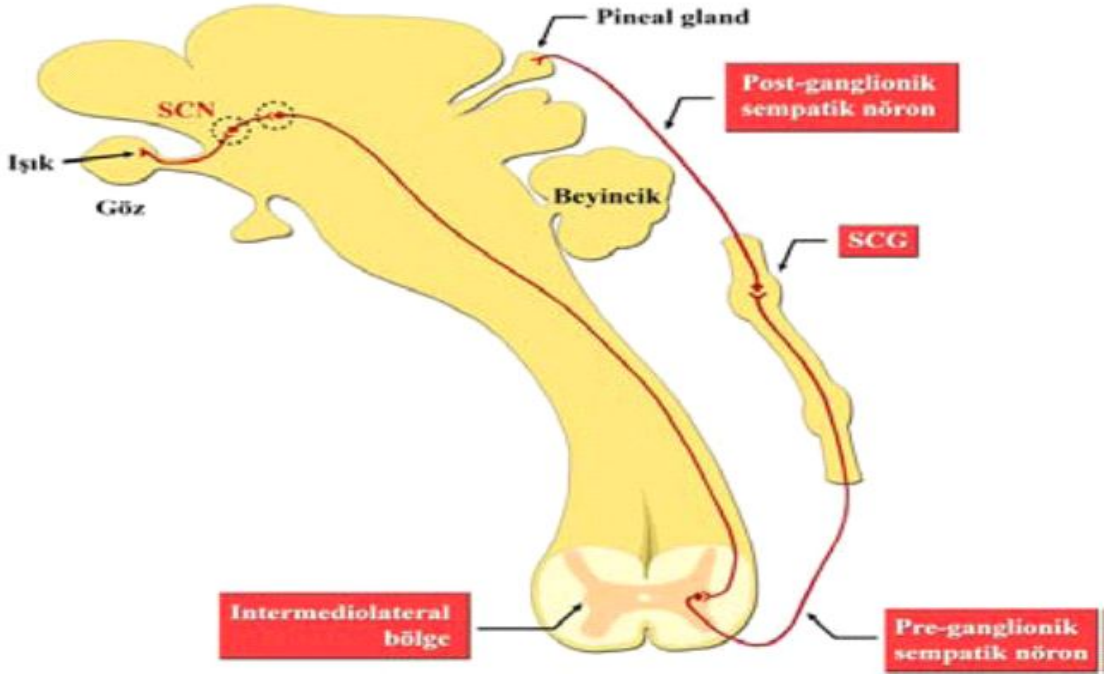
2.6.4.1. Melatonin sentezinin aydınlık-karanlık döngüsü ile ilişkisi

Melatonin salgılanma hızını belirleyen önemli faktörlerden birisi, çevrenin aydınlık veya karanlık olmasıdır. Aydınlıkta hiperpolarize olan retinal hücreler, karanlıkla beraber depolarize olarak, pineal bezde melatonin sentezini başlatırlar (Vanecek J. 1998). İnsanda melatonin sekresyonu gece 2 ile 3 arasında pik yapar ve giderek düşüş gösterir. Gündüz melatonin konsantrasyonu gece ölçülen değerin yirmide biri civarındadır. Melatonin plazma konsantrasyonu gündüz 0-20 pg/ml iken, gece 50-200 pg/ml düzeyine yükselmektedir. Bir günde 30 mg melatonin üretilmektedir ve bunun % 80'i gece sentez edilmektedir (Mollaoğlu H. ve Özgüner MF. 2005).

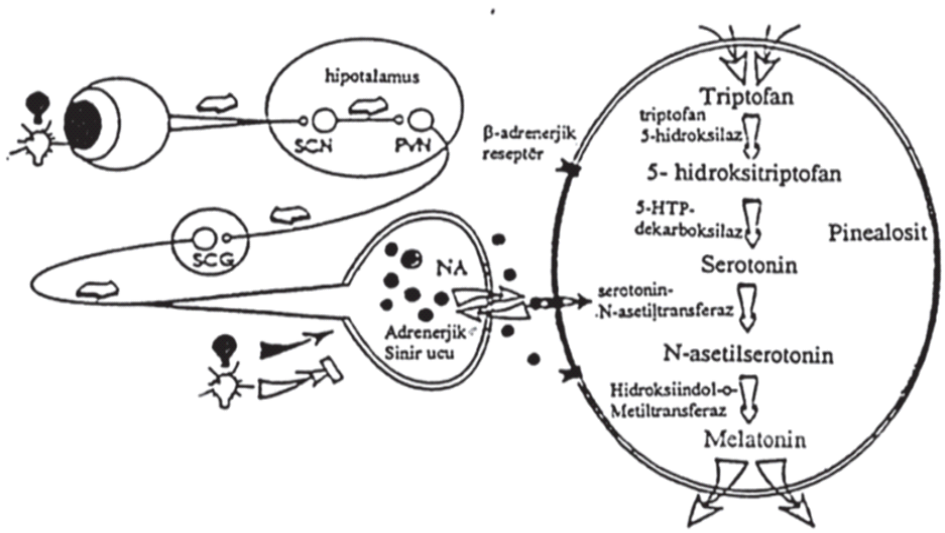
Nöronlarda ve pineal bezdeki bu döngü insanda melatonin metabolizmasını hızlandırır ve aynı zamanda melatoninin gün içi ritme bağlı olarak sentez ve salıverilmesini oluşturur (Reiter RJ. 1991).Başka bir araştırmaya göre gece 20.00-23.00 arası yükselen melatonin düzeyi 01.00-05.00 arası doruk değerlere ulaşır ve gündüz düşer. Sağlıklı kişilerde plazma melatonin düzeyi gündüz 0-20 pg/ml, gece 20-200 pg/ml (ortalama 60-70 pg/ml) dir. Bir günde yaklaşık 30 mg (%80'i gece) melatonin üretilir (Göksel Şener 2010).

Diğer endokrin organlardan farklı olarak, pineal bez melatonini sentezlendikten sonra depolamaz, melatonin pineolositlerden hızlı bir şekilde bez içindeki kapiller damarlara ve üçüncü ventrikül aracılığıyla beyin omurilik sıvısına (BOS)'a geçer (Reiter RJ. 2003).

Daha açmak istersek ışık retina ve suprakiazmatik nukleus (SCN) üzerinden superior servikal gangliyonu (SCG)'yi inhibe eder. Bu nedenle aydınlık periyod boyunca superior servikal gangliyon (SCG) pineal bezi uyaramaz. Karanlıkta retinal inhibisyon kalkar ve superior servikal gangliyon (SCG) adrenerjik yolak üzerinden pineal bezi uyarır. Bu uyarı karanlık periyod boyunca pineal bezden melatonin salgılanmasına neden olur (Topal T. ve ark 2009).

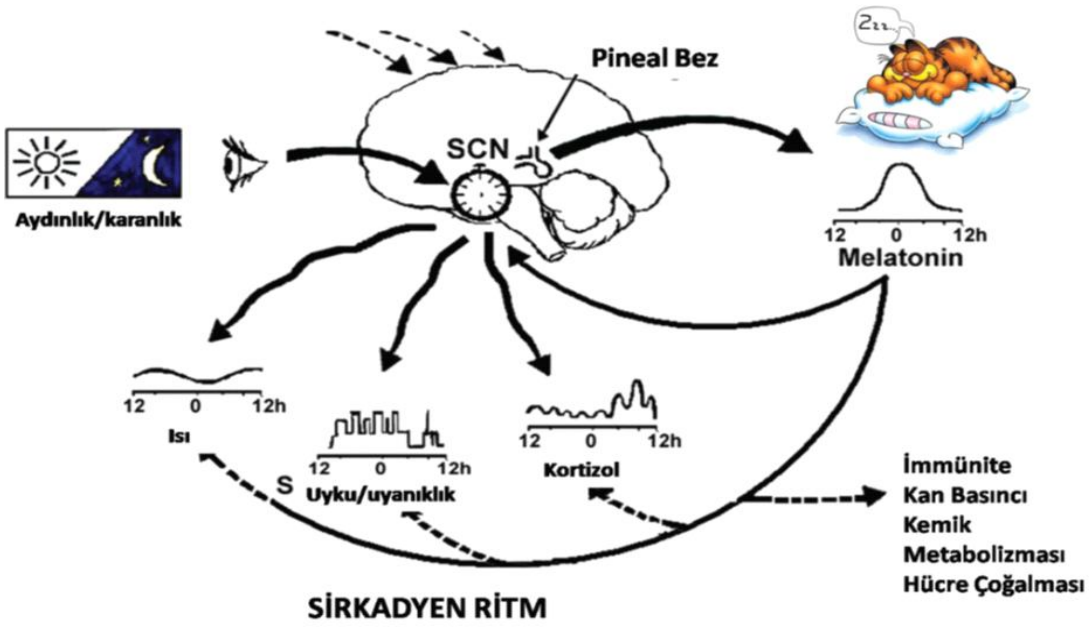


Şekil 12: Melatoninin pineal bezden aydınlık-karanlık döngüsüne göre salgılanma (Topal T. ve ark 2009)



Şekil 13: Karanlık/ aydınlık uyarı ile melatonin sentezinin düzenlenmesi (Bülbüller N. ve ark 2005).

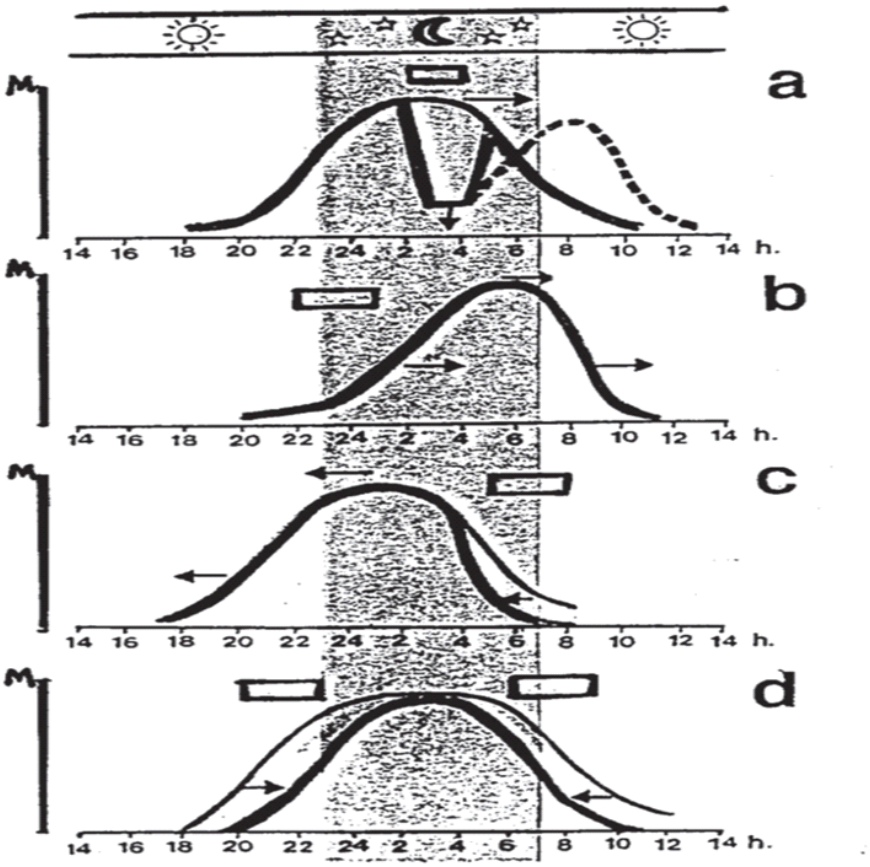
Mevsimsel fonksiyonların günün uzunluğu ile ilişkilendirilmesine fotoperiyodizm denir. İnsanda pekçok biyokimyasal, fizyolojik ve davranışsal değişkenlerde olduğu gibi plazmadaki melatonin düzeyleri de 24 saatlik periyod içinde düzenli iniş çıkışlar gösterir. Bu sirkadiyen ritm hipotalamusda SCN'deki santral pacemaker'lar tarafından kontrol edilir ve ritmin başlıca ayarlayıcısı dış ortamdaki aydınlık/karanlık siklusudur (Şekil 14). Gece ışığa maruz kalındığında pineal fonksiyonlar akut olarak baskılanır (Ferguson SA. ve ark. 2010).



Şekil 14: Melatoninin ritm düzenleyici rolü (Şener G. 2010)

İlk çalışmalar sadece parlak ışığın (gün ışığı) insanda melatonin düzeyini baskıladığını bildirirken son bulgular yapay ışığın (karanlık periyottaki aydınlatma sistemi) da benzer etkiyi gösterdiği ileri sürülmüştür. İnsanlarda geceleri melatonin salgısını baskılayacak doz 2500 lux.'tür ve en etkilisi yeşil ışıktır. (Şener G. 2010)

Işık algılaması "0" olan kör kişilerde melatonin sekresyonu 24 saat içinde serbest olarak dağılım göstermektedir (Reiter RJ. 2002). Gece oluşturulan yapay aydınlık melatonin sentez ve salgılanmasını akut olarak baskılarken (Şekil 15a), akşam karanlığın başlamasıyla birlikte uygulanan ışık gece 02.00-04.00 arası görülen plazma melatonin konsantrasyon pikinde kaymaya buna karşılık sabah henüz hava ağarmadan ışık uygulama ise bu konsantrasyon pikinin erken belirmesine neden olur (Şekil 15b, c). Sabah ve akşam saatleri maruz kalınan aydınlık ise fazda daralmaya neden olur (Şekil 15d) (Claustrat B. ve ark. 1988).



Şekil 15: Parlak ışığın (□) melatonin salıverilmesine etkileri. a) Salıverilmenin inhibisyonu b) Faz kayması. c) Erken faz) Faz daralması (Claustrat B. ve ark. 1988).

2.6.4.2. Melatonin sentezinin nöral kontrolü

Melatonin çalışmaları insan beyninde melatoninin başlıca birikim yerlerinin SKN ve pitüiter bezin pars-tüberalisi olduğunu göstermiştir. İşaretlenmiş melatonin ile yapılan bir in vitro otoradiografi çalışması melatonin reseptörlerinin dağılımının türe spesifik olduğunu ve yalnızca hipofizer pars tüberalisin, bütün fotoperiyodik türlerde I-melatonin bağlanması için tutarlı bir yerleşim yeri olduğunu göstermiştir (Weaver DR. ve ark. 1993). Bu bulgu, pars tüberalisin melatoninin endokrin sistem üzerine etkilerinin iletilmesinde major bir rol oynadığını düşündürmektedir. cAMP üretiminin inhibisyonu melatonin reseptörlerinin genel bir özelliği olabilir. İn vitro fizyolojik dozlarda melatonin, cAMP üretimini zamana ve doza bağlı bir şekilde inhibe eder (Morgan PJ. ve Williams LM. 1989).

Melatonin reseptörleri; Mel-1a, Mel-1b ve Mel-1c olmak üzere üç tiptir. Mel-1a reseptör geni insan kromozomunda 4q35.1 lokalizasyonunda kodlanmıştır. Ekspresyonu SCN ve pars tuberaliste sınırlıdır. Sirkadian ve reprodüktif etkilerinin bu reseptör aracılığı ile gerçekleştiği düşünülür. Mel-1b reseptör geni insan kromozomunda 11q21-22 bölgesinde

kodlanmıştır. Beyin ve retinada eksprese olur ve her iki bölgede de dopaminerjik fonksiyonlar ileilişkili olduğu düşünülür. Mel-1c geni ise insanda saptanmamıştır. İn vivo ve in vitro olarak 6- ve 2- bölgelerinden halojenlenmiş melatoninler iyi agonistlerdir. Melatoninin bu güne kadar saptanabilmiş spesifik bir antagonisti yoktur (Sugden D. ve Chong NWS. 1991).

2.6.5. H ormonun farmakokinetiği

Suda kısmen ve lipidlerde yüksek oranda çözünen melatonin dolaşıma salıverildiğinde dokulara ve hücrelere kolaylıkla girebilmektedir. Jelatin kapsüller ya da tablet şeklinde oral olarak uygulanan melatonin insanda yaklaşık 60 dakikada pik plazma düzeyine ulaşır. Yarılanma ömrü ise 3 ve 45 dakikadır. Oral uygulamada ilk geçiş etkisine maruz kalır. Melatonin esas olarak karaciğerde ilk olarak hızla 6-hidroksidopamine, sonra bir dizi reaksiyon ile N-asetil-5-metoksi-6-hidroksitriptamin'e ve daha sonra da sülfat veya glukronid ile konjuge olarak 6-sülfatoksimelatonin'e (veya 6-hidroksimelatonin sülfat) dönüşür ve idrar ile atılır. İdrarda %1 oranında değişmemiş şekli bulunmaktadır (Tan DX. ve ark.2007). Son yıllarda tükürük melatonin düzeyi de pineal fonksiyonların bir göstergesi olarak kabul edilebildiğini bilmekteyiz (Touitou Y. ve ark. 2009).

2.6.6. Melatonin reseptörleri ve etki metabolizması

Melatoninin organizma üzerinde çeşitli etkileri vardır, bu etkilerinin bir kısmı reseptör aracılı iken diğerleri reseptörden bağımsızdır. Bilinen melatonin reseptörleri yedi transmembran domain'e sahip olup, G-proteinle eşleşmiş reseptör ailesindendir. İki tane reseptör tanımlanmıştır; MT1 ve MT2. MT1 yüksek afiniteli iken, MT2 düşük afinitelidir (MT1a, MT1b, MT1c, MT2) . Pek çok dokuda melatonin reseptörü mevcut iken en yoğun. SCN ve pars tüberalis üzerindedir. Membran melatonin reseptör farmakolojisi halen incelenmektedir (Reiter RJ. 2003).

Melatonin kolaylıkla hücre içine girebilir. Sitozolde kalmoduline bağlandığı ve insan lökositlerinde farmakolojik olarak nükleer bağlanma bölgeleri veya reseptörleri karakterize edilmiştir. Sitozolde, membranda ve nükleusta direkt serbest radikal toplayıcı ve indirekt antioksidan etkisinin reseptöre ihtiyacı olmadığı gösterilmiştir(Reiter RJ. 2003).

Melatonin agonisti 2-[I125]iodomelatonin ile yapılan radyoreseptor tayinler ve invitro kantitatif otoradyografi çalışmalarında beyinde ve insan dahil olmak üzere bazı vertebralı türlerde periferik dokularda melatonin reseptörlerinin bulunduğunu ve bu reseptörlerin G-

proteinleri ile kenetli olduğu belirtilmiştir. Melatoninin ML1 ve ML2 olarak bilinen farklı farmakolojik familyalara ait membran bağımlı iki tip reseptörü tanımlanmıştır. Güçlü melatonin agonisti 2-[125I]iodomelatonin kullanılarak yapılan incelemelerde tavuk ve tavşan retinasında ML1 reseptörlerinin yüksek afiniteli (Kd~75pM) reseptörler olduğu, buna karşılık ML2 reseptörlerinin aynı melatonin agonistlerine düşük afinite gösterdiği kanıtlanmıştır (Reiter RJ. 1991, Jahovic N. ve ark. 2003).

Melatonin 1 reseptörlerinin 3 alt tipi vardır. Mel1a (Bu reseptörler MT1 reseptörleri olarak da isimlendirilmiştir; Kd; 20-40 pM), Mel1b(MT2 reseptörleri; Kd; 160 pM), Mel1c (MT3 reseptörleri; Kd;20-60 pM) (Dubocovich ML. ve ark. 1997).ML1 reseptörleri serebellum, hipokampus dahil olmak üzere nöral yerleşim göstermektedir. Ayrıca SCN, hipotalamus, talamus, preoptik alan, retinanın pleksiform tabakası ve serebral korteksin pek çok bölgesinde ML1 reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir(Reppert SM. ve ark. 1996). Nöronal olmayan ML1 reseptörleri, serebral ve caudal arterlerde, hipofizeal pars tuberaliste, ovaryum, böbrek ve ince barsaklarda bulunmuştur (Reppert SM. ve ark. 1996).ML1 reseptörleri renal fonksiyon, uyku, sirkadiyen ritm, üreme ve serebral arter kontraktilitesinden sorumludur. Bu reseptörler memeli retinasında Ca^{+2}-bağımlı dopamin salıverilmesi ve retinal fotopigment disklerinin fagositozu gibi ışığa bağımlı olaylarda rol oynar. ML1 reseptör aktivasyonu (GI proteinleri aracılığı ile) adenilat siklaz inhibisyonu ile 3'5' c-AMP düzeyinde düşmeye neden olur. Ayrıca sadece ML1 reseptörlerinin, fosfolipaz aktivasyonu aracılığı ile araşidonat salıverilmesini stimüle ettiği gösterilmiştir (Song Y. ve ark. 1997).

Düşük afiniteli ML2 reseptörlerinin de G-proteinleri ile kenetli olduğu ve sinyal iletiminde ML1 reseptörlerine benzer davranışta bulunduğu ileri sürülmektedir. Ancak ML1'lerden farklı olarak ML2 reseptörlerinin aktivasyonunun fosfoinozitid (PI) hidrolizi ile kenetli olduğu ve selektif ML2 antagonisti uygulanımının bu hidrolizi geri çevirdiği belirtilmiştir (Dubovich ML. 1995).

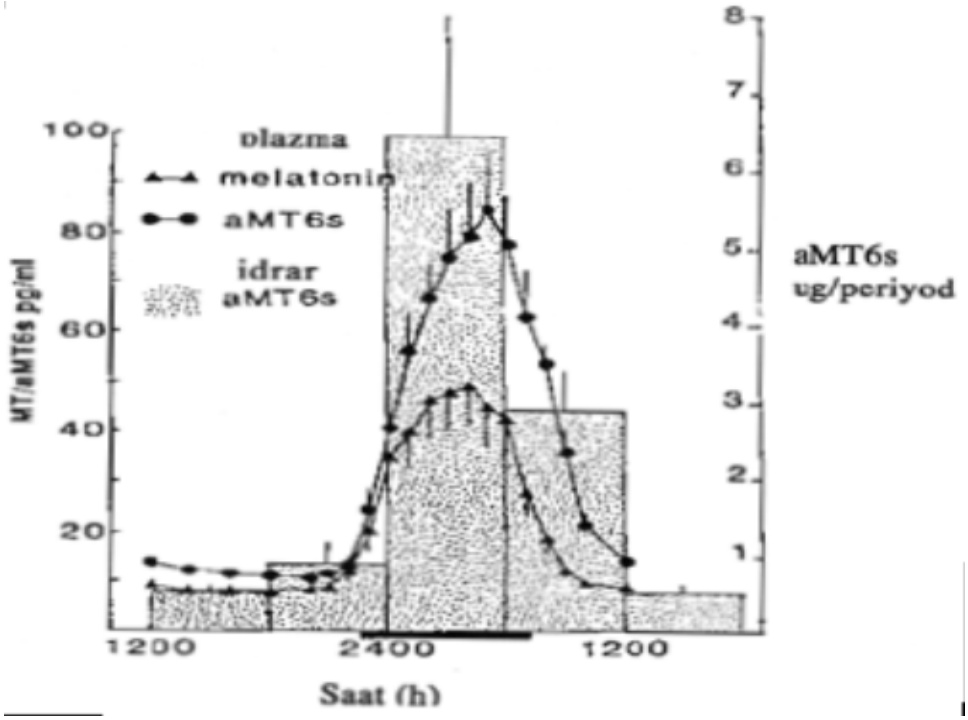
İlginç olarak güçlü a1-adrenerjik antagonist prazosin ML2 reseptörlerine yüksek afinite göstermekte ve melatonin ile oluşan fosfoinositol hidrolizini etkili bir şekilde azaltmaktadır. Ancak non-selektif α-adrenerjik antagonisti fentolamin ve nispeten selektif olmayan serotonin antagonisti metizerjid, melatonin ile oluşan fosfoinozitol hidrolizine etkisiz bulunmuştur. (Beyer CE. ve ark. 1998).

Ayrıca melatonin, MSS'de etkilerini G proteinlerine bağlı membran reseptörleri olan MT1 ve MT2 reseptörleri üzerinden oluşturur (Maldonado ve ark. 2009).

2.6.7. İnsanda melatonin üretimi

Normal insanlarda melatonin gece salgılanır. Ölen kişilerde yapılan postmortem çalışmalarda melatonin düzeyinin gece daha yüksek olduğu ortaya çıkmıştır. Yetişkinlerde ortalama plazma melatonin seviyesi 60-70pg/ml ve başlıca metaboliti olan 6-HMS'nin maksimum plazma konsantrasyonu 80-100pg/ml arasındadır. Plazma melatonin konsantrasyonun gece saat 02:00 ile 04:00 arasında pik değerlerine ulaşır. Erişkinde sekresyon genelde saat 21:00-22:00 arası başlar, saat 07:00-09:00 arası sona erer. 6-HMS'nin ortaya çıkış ve pik düzeye ulaşma zamanı bu sürelerden 1-2 saat, sabah düşüşü ise 3-4 saat geç olur. İnsanda 6-HMS'nin %70-80'i gece idrarında (24:00-08:00) atılır (Arendt J. 1988).

Normal insan melatonin ritminin en karakteristik özelliği normal bireylerde günlük ve haftalık olarak tekrarlanabilir olmasıdır. Birey içerisinde değişmezliğe rağmen bireyler arasında ritmin amplitüdü açısından çok büyük bir değişkenlik vardır(Arendt J. 1988).



Şekil 16: Genç yetişkinlerde plazma melatonin(MT) ve 6-sulfatoksimelatonin (aMT6s) konsantrasyonu ile birlikte 24 saatlik üriner aMT6s atılımı(Çam A. ve Erdoğan M.F. 2003).

2.6.8. Melatonin yaşlanma üzerine etkileri

İnsanda fetüste melatonin sentezine ilişkin bir bulgu yoktur ancak koyunlarda yapılan çalışmada fetüste herhangi bir aktiviteye rastlanmamıştır. Melatonin anneden fetusa ve süt yoluyla yenidoğana geçebilir ve dolayısıyla fetus ve yeni doğanda sirkadyen ritm bu yolla

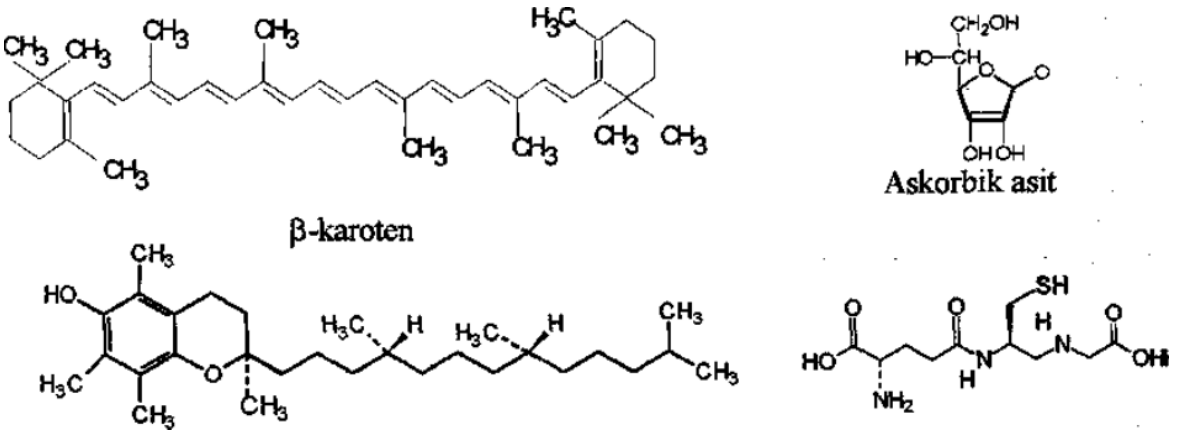
oluşur (Waldhauser F. ve ark. 1984). Doğumdan kısa süre sonra ise vücut sıvılarında çok az melatonin ya da 6-HMS(6-Hidroksimelatoninsülfat) ölçülebilmektedir. Melatonin ritmi hayatın 6-8. haftasında ortaya çıkmaktadır (Gupta DD. ve ark. 1983). Melatoninin plazma konsantrasyonu ilerleyen yaşla hızlı artar ve ortalama 3-5 yaş civarında pike ulaşır (Waldhauser F. ve ark. 1984). Artış gece daha yüksek olur ve puberteden önce belirgin bir düşüş olur. 35-40 yaşlarına kadar bu değerler değişmeden kalır ve ileri yaşlarda düşüş gösterir (Iguchi M. ve ark. 1982).

2.6.9. Melatonin antioksidan etkileri

Metabolizmanın biyokimyasal işleyişinde oksidasyon ara ürünleri ve dolayısıyla oksidatif stres oluşumu kaçınılmazdır. Bununla beraber metabolizma, bu kaçınılmaz oksidatif strese karşı etkin antioksidan savunma sistemlerine sahiptir. Son yapılan çalışmalar, bu endojen antioksidan maddelerden en güçlüsünün melatonin olduğunu göstermiştir (Reiter RJ. 1996).

Serbest oksijen radikaller olusturmak suretiyle kansere sebep olan safrol'ün DNA üzerindeki hasarının melatonin tarafından çok etkili bir sekilde inhibe edildiği bilinmektedir. Melatoninin lipofilik yapıda olması sayesinde hemen hemen hücrenin bütün organellerine ve hücre çekirdegine ulaşabilmekte hatta kan-beyin bariyeri gibi bariyerleri de kolayca geçebilmektedir. Böylece çok geniş bir yayılımda antioksidan aktivite göstermektedir(Ateş Alagöz Z. ve Süzen S. 2001).

Organizmada serbest radikallerin toksisitesi direk serbest radikal yakalayıcı kimyasal maddeler ya da indirek olarak antioksidanlar tarafından engellenebilir. Direk radikal yakalayıcıları $\propto$ -tokoferol (Vitamin-E), askorbik asit (Vitamin-C),β -karoten ve glutatyon (GSH) (şekil 18) dur. İndirek antioksidan olarak etkiyen enzimler, serbest radikalleri ya da onların reaktif ara ürünlerini zararsız ürünlere metabolize ederek etki göstermektedir. Bu enzimler süperoksid dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GSH-R) ve katalaz (CAT)dır (Halliwell B. 1994).



Şekil 17: β -karoten, Askorbik asit,α-tokoferol (Vit E),Glutatyon(Ateş Alagöz Z. ve Süzen S. 2001).

Melatonin hidroksil ve peroksil radikallerinin güçlü bir süpürücüsüdür. Melatoninin hidroksil (•OH) radikalini nötralize etme özelliği glutatyondan 5 kat, mannitolden 15 kat, peroksit radikalini giderme özelliğinin ise E vitamininden 2 kat daha güçlü olduğu ispatlanmıştır. Ancak melatoninin peroksil radikali üzerine olan etkisi tartışmalıdır. Şöyle ki bazı araştırıcılar melatoninin, peroksil radikaline karşı süpürücü etkisinin E vitamininden daha düşük olduğunu dolayısı ile lipoperoksil radikaline karşı daha az nötralize edici etkisinin bulunduğunu belirtmişlerdir (Pieri C. ve ark. 1994, Escames G. ve ark. 1997, Escames G. ve ark. 2000).Direkt süperoksit ($O_2•^-$) anyon radikalini yakalayıcılığı yönünden melatonin düşük yeteneğe sahip görünmektedir. Ancak melatoninin süperoksitin ($O_2•^-$) dismutasyonunda önemli bir rol oynayan süperoksit dismutaz (SOD) enzimi için hücre içi mRNA'yı arttırdığı ileri sürülmektedir (Kotler M. ve ark. 1998).

Bazı çalışmalarda melatoninin antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkisinin reseptör aracılı olmadığı ve bu etkilerin fizyolojik konsantrasyonların üzerinde oluştuğu bildirilmektedir (Reiter RJ. ve Maestroni JM. 1999, Reiter RJ. ve ark. 2008, Reiter RJ. ve ark. 2009).

Melatonin inflamasyon reaksiyonları sırasında makrofajların aktivasyonu ile oluşan ve toksik bir oksijen türevi olan hipokloröz asit(HOCl)'e karşı da süpürücü etki göstermektedir. Ancak melatoninin H_2O_2 ve O_2^- radikalleri üzerine direkt süpürücü etkisi zayıftır. Melatoninin H_2O_2 ile reaksiyonu sonucu N-asetil-N2- formil-5-metoksi knüramin (AFMK) oluştuğu, AFMK nın ise katalazla N1-asetil-5-metoksi knüramine dönüştürüldüğü ve antioksidan etkiye sahip bu metabolitlerin melatoninin süpürücü etkisini artırdığı bildirilmiştir (Reiter RJ. ve ark. 2007).

Melatonin, hidroperoksitleri metabolize eden GSH-Px enzimini aktive ederek, O_2^- radikalini H_2O_2'ye kataliz eden SOD aktivitesini artırarak, oksidatif stres esnasında katalaz

aktivitesindeki azalmayı önleyerek ve NO oluşumundan sorumlu nitrik oksit sentaz (NOS) enzimini inhibe ederek, dolaylı olarak antioksidan etki göstermektedir (Reiter RJ. ve ark. 2009, Reiter RJ. ve ark. 2000, Reiter RJ. ve ark. 2009).

Antioksidan savunma sistemi ile ilişkili diğer bir enzim olan sitokrom P450, ksenobiyotik metabolizması aracılığı ile serbest radikal oluşumunu artırır. Melatoninin P450 aktivitesini azaltarak serbest radikal oluşumunu ve dolayısı ile oksidatif hasarı azalttığı gösterilmiştir (Reiter RJ. ve ark. 2000, Reiter RJ. ve ark. 2009).

Çeşitli inflamasyon modellerinde (yanık hasarı, sepsis, iskemi/ reperfüzyon gibi) nötrofil aktivasyonunun dokularda neden olduğu oksidan hasarları melatonin anlamlı olarak geri çevirmiştir (Şener G. ve ark. 2002, Şener G, Sehirli AO. Ve ark. 2002, Şener G. ve ark. 2003, Şener G. ve ark.2005, Kaçmaz A. ve ark. 2005).

Tablo 5:Bazı biyolojik oluşumlar üzerine melatoninin etkilerini açıklayan mekanizmalar (Yazıcı C. ve Köse K. 2004).

Biyolojik Oluşum	Mel'in Etkisi	Etki Mekanizması	Kaynak
Uyku	Hipnotik etki ve uykuya eğilimin artması (Uykuya dalış hızı ile uyku süre ve kalitesinin artması)	- Hipotermik etki (farmakolojik dozlarda) - Limbik sistem üzerinde reseptör aracılı etki	Plasebo kontrollü klinik araştırmalar
Sirkadien ritm	- Sirkadien ritmlerin kontrolü - Aydınlık-karanlık siklusunun düzenlenmesi	- Gözlerden ve suprakiazmatik nükleustan gelen nöral uyarılara cevap olarak MEL salınımı - Nöral ve periferal dokularda reseptör aracılı etkiler - Termoregülasyon	Işığın ve aydınlık-karanlık siklusunun MEL salınımına etkisini araştıran çalışmalar
Duygudurum	- Mevsimsel affektif bozukluk ve depresyon gibi siklik duygudurum hastalıkları üzerine düzenleyici etki	-Bilinmiyor (Fakat,tedavide kullanılan tüm antidepresanlar MEL üretimini arttırmaktadır)	MEL salınımı ile ilgili karşılaştırmalı klinik araştırmalar ve duygudurum bozukluklarında fototerapi çalışmaları
İmmünite	- Artmış immün yanıt	- T-helper lenfositler tarafından interlökin yapımının artması - Granülosit ve makrofajlarda,artmış koloni uyarıcı faktörün üretimi ile kemik iliği hücrelerinin apoptozisten korunması	İnsanlarda birkaç kontrolsüz araştırma
Kanser	- Antiproliferatif etkiler	- Direkt antiproliferatif etki (antimitotik aktivite) - İmmünomodülatör etki (immün yanıtın artmasıyla tümör büyümesinin baskılanması) - Antioksidan etki	Hayvanlar ve insanlarda neoplastik hücrelerle ve hücre soylarıyla *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar; birkaç kontrolsüz araştırma
Seksüel olgunlaşma ve üreme	- Antigonadal, anovulatuvar etkiler	- Hipotalamik-hipofizer gonadal eksenin baskılanması (serumda düşük LH ve yüksek prolaktin seviyeleri) - Seks steroidlerinin üretimi üzerine düzenleyici etki	MEL salınımı ile ilgili karşılaştırmalı klinik çalışmalar
Yaşlanma	- Hücre hasarının önlenmesi ve diğer koruyucu etkiler	- Antioksidan etki	Hayvanlarda *in vivo* ve *in vitro* araştırmalar

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Gereç

3.1.1. Vaka seçimi

Çalışma, Tıbbi Biyokimya ve Nöroloji Anabilim Dalı'nda yapıldı. Çalışma için Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Etik Kurulu'ndan onay alındı. Çalışmamıza; Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji polikliniğine başvuran, klinik olarak Parkinson hastalığı tanısı konulmuş, 55-75 yaş aralığında 19 tane hastalardan ve Parkinson hastalığı ve herhangi bir nörodejeneratif hastalığı olmayan, hasta popülasyonu ile aynı yaş grubunda olan kontrol grubundan çalışmaya dahil olmak isteyen kadın ve erkek bireylerden seçilmiştir.

Çalışmaya dahil edilmeden önce, hasta ve ihtiyaç duyulduğunda yakını çalışma konusunda bilgilendirilip, gönüllü bilgilendirilme formu doldurularak onayları alındı. Ayrıntılı nörolojik muayene nöroloji hekim tarafından yapıldı.

Bilimsel durum değerlendirilmesinde Parkinson hasta grubunda Hoehn&Yahr (H&Y) değerlendirme skalaları ile hastalık klinik olarak derecelendirilmiştir.

Bu çalışmanın deney kısmı, ÜSKİM'de gerçekleştirildi.

3.1.2. Numunelerin alınışı ve hazırlanması

Hasta ve gönüllülerden sabah 10:00' da ve akşam 22:00 'de olmak üzere iki kez venöz kan alınmıştır. Bireylerden sabah ve akşam 4 ml düz kan örneği alınmıştır. Serumda Süperoksit Dismutaz (SOD), Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) enzim aktiviteleri, Malondialdehid (MDA) düzeyleri ve melatonin düzeyleri ölçülmüştür. 4 ml sarı jelli tüpe alınan örnekler 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek üstte kalan serum kısmı alındı. Tüm numuneler analiz yapılıncaya kadar -70º'de dondurularak saklandı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Biyokimyasal analizler

3.2.1.1. Malondialdehit düzeyinin tayini (Mda)

Malondialdehit düzeyi Ohkawa yöntemiyle saptanmıştır. Aerobik şartlarda pH:3.4'de tiyobarbitürik asit (TBA) ile örneğin 90-95°C'de inkübasyonu sonucu oluşan lipit peroksidayonun sekonder ürünü olan MDA'nın TBA ile pembe renkli kompleks oluşturma esasına dayanır. Oluşan renk şiddeti ortamdaki MDA konsantrasyonu ile doğru orantılıdır; 532 nm'de spektrofotometrik olarak değerlendirilir. Çalışmamızda MDA düzeyleri sonuçları nmol olarak verildi.

Ayıraçlar

1. %8.1'lik SDS

Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) 8.1 g

Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

2. %20'lik Asetik Asit (HAc)

Asetik asit 20 ml

Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

3. %0.8' lik Tiyobarbitürik asit (TBA) (Günlük)

Tiyobarbitürik asit 0.8 g

Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

Doymuş NaOH ile pH: 3.5'e ayarlanır.

4. n-Butanol/Piridin (nBu/Pri) Çözeltisi (14/1)

n-Butanol 14 ml

Piridin 1ml

5. Stok Standart

1.1.3.3 tetramethoksipropan (yoğunluk= 0.99 g/ml)

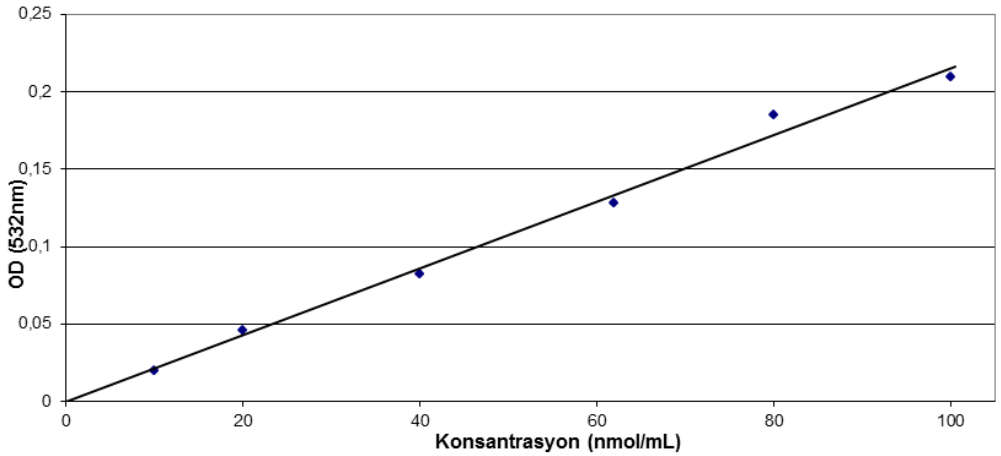
Standart Eğri Çizimi

Stok standarttan 6.6 µl alınıp 100 ml'ye saf su ile tamamlanarak günlük standart hazırlanır. 10, 20, 40, 60, 80 ve 100 nmol/ml konsantrasyonunda çalışma standartları hazırlanır. Ayıraçlar tüplere aşağıda belirtildiği şekilde ilave edilir.

Tablo 6: MDA standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı

Tüp No.	0	1	2	3	4	5	6
Konsantrasyon(nmol/ml)	0	100	80	60	40	20	10
Standart (ml)	-	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
%8.1 SDS (ml)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
%20 HAc (ml)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
%0.8 TBA (ml)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Saf su (ml)	0.8	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
Vortekslenir, 95 °C'de 30 dakika inkübe edilir, soğutulur							
Saf su (ml)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
n-Bu/Pri (ml)	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0

Tüpler n-butanol/pridin ilavesinden sonra vorteks edilir. Daha sonra 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir, üsteki organik kısım alınıp 532 nm'de absorbans okunur. Standart eğri grafiği çizilir. Şekil 18' da MDA standart eğrisi verilmiştir.



Şekil 18: Malondialdehit standart eğrisi

Yöntem

Örnek çalışması için yukarıda bahsedildiği gibi hazırlanan belirli hacimde serum alınır. Serumda MDA tayini için aşağıda Tablo 7' de belirtildiği gibi tüplere ayıraçlar konur.

Tablo 7: Serumda MDA düzeyinin tayini için tüplerin hazırlanışı

	Kör (ml)	Std (ml)	Örnek (ml)
Standart (60 nmol/ml)	-	0.1 ml	-
Süpernatant	-	-	0.1 ml
SDS	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
Asetik Asit	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml
TBA	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml
Saf su	0.8 ml	0.7 ml	0.7 ml
Vorteksle karıştırılır.60 dk 90 C°'de inkübe edildikten sonra musluk suyu altında soğutulur.			
Saf su	1 ml	1 ml	1 ml
n-Bu/Pi	5 ml	5 ml	5 ml

Çözeltiler vortekslenir. Daha sonra 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir, üstteki organik kısım alınarak 532 nm'de absorbans okunur. Sonuç standart eğrisinden veya günlük standarttan değerlendirilir.

Hesaplama:

MDA Düzeyi (nmol/mg)= MDA Değeri (nmol/ml)

3.2.1.2. Süperoksit dismutaz (SOD) tayini

Süperoksit dismutaz, oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan toksik süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırır. Bu yöntem, ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak oluşturulan süperoksit radikallerinin, 2-[4-iyodofenil]-3-[4-nitrofenol]-5-feniltetrazoliyum klorid (piyodonitrotetra zoliyum viyolet: INT) ile meydana getirdiği kırmızı renkli formazan boyasının 505 nm dalga boyunda verdiği optik dansitenin (OD) okunması esasına dayanmaktadır. Örnekte bulunan SOD, süperoksit radikallerini ortamdan uzaklaştırarak 2 numaralı formazan reaksiyonunu inhibe eder. Sonuçta oluşan kırmızı rengin OD'si SOD yokluğunda oluşan renge göre azalır, buaradaki farkın belirlenmesiyle de SOD aktivitesi ölçülür (Fridovich I: Superoxide dismutase 1974).

Ayıraçlar

Elde edilen serum örnekleri kolorimetrik olarak ransod kiti (Randox, United Kingdom) kullanılarak ölçüldü. Kullanılan bu kitteki tüm prosedürlere uyuldu.

Ölçüm sonuçlar U/L.olarak ifade edildi.

Tüpler tekrar karıştırıldıktan 30 saniye sonra 37ºC'de, 505 nm dalga boyunda havaya karşı başlangıç absorbans(A1) okunur. 3 dakika sonra absorbans (A2) tekrar okunur.

Hesaplama

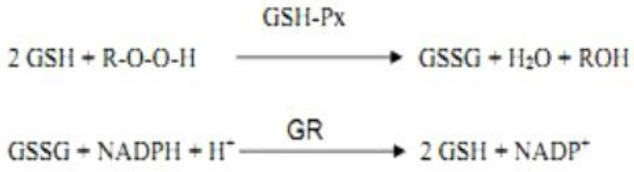
Çalışma körü SOD içermediği için inhibisyona uğramamış reaksiyon olarak kabul edilir ve değeri %100 olarak alınır. Tüm standartlar için % inhibisyon değeri bunlara ait çalışma körüyle oranlanarak hesaplama yapılır.

ΔA/dak. standart =A2-A1 / 3 dakika

% inhibisyon standart = 100 - $\frac{\Delta A/dak.\ standart \times 100}{\Delta A\ çalışma\ körü}$

3.2.1.3. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) tayini

Glutatyon Peroksidaz, hidrojen peroksit tarafından redükte glutatyonun (GSH) okside glutatyona(GSSG) yükseltgenmesini kataliz eder. Hidrojen peroksit t-butil hidroperoksitin ortamda GPx'in oluşturduğu GSSG, glutatyon redüktaz (GR) ve NADPH yardımıyla GSH'ye indirgenir. GPx aktivitesi, NADPH'in $NADP^+$'ye yükseltgenmesi sırasındaki absorbans farkının 340 nm'de okunmasıyla ölçülür (Beutler E: Red Cell Metabolism 1975).



Ayıraçlar

Elde edilen serum örnekleri kolorimetrik olarak ransel kiti (Randox, United Kingdom) kullanılarak ölçüldü. Kullanılan bu kitteki tüm prosedürlere uyuldu.

1 cm ışık yollu kuvartz küvetlerde, 37 ºC'de, 340 nm dalga boyunda 2,5 dakikada (30,120) oluşan tepkimenin absorbans değişikliği farklı zaman aralıklarında izlenir. Ölçüm sonuçları U/L olarak ifade edildi.

Hesaplama

$$\text{GSH-Px Aktivitesi (Ü/ml)} = \frac{\Delta OD/\ dak}{6{,}22} \times \frac{V_{Toplam}}{V_{Örnek}}$$

ΔOD = Optik Dansite Değişimi

6,22 = 1 mM NADPH'nin 1 cm'lik ışık yolunda verdiği OD değeri

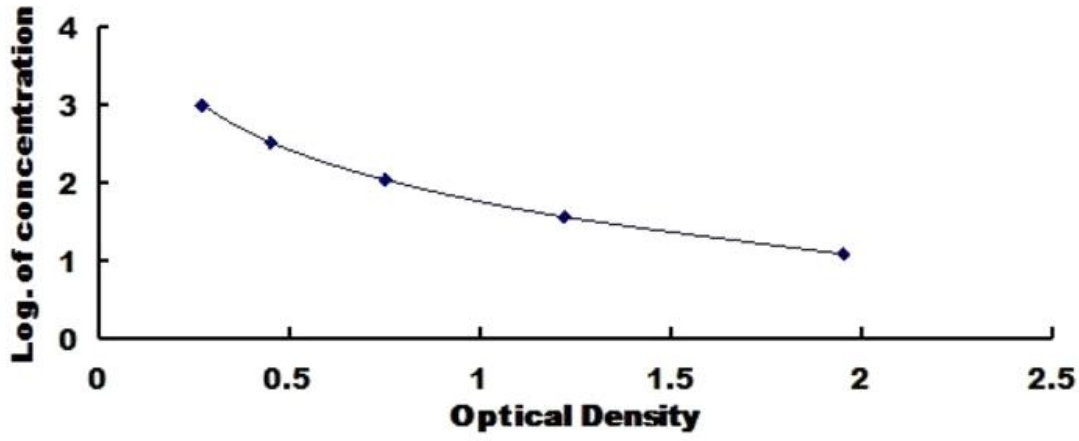
V Toplam = Toplam hacim

V Örnek = Örnek hacmi

3.2.1.4. Melatonin tayini

Melatonin analizi için Cloud Clone Corp. Firmasının eliza kitinin içinde bulunan kimyasallar kullanılmıştır.

Serum melatonin düzeyi ELİZA yöntemi ile çalışıldı. Kullanılan ticari kitin prosedüründeki esaslara uyuldu. Kit, yarışmalı enzim inhibisyonu prensibine dayalıdır. Spesifik melatonin monoklonal antikoru mikropleyte önceden kaplanmış halde bulunmaktadır. Bu önceden kaplanmış spesifik melatonin antikoru ile biotin ile işaretlenmiş melatonin ve işaretlenmemiş melatonin (standart veya örnekler) yarışmalı inhibisyon reaksiyonu vermektedir. İnkübasyondan sonra bu bağlı olmayan çift yıkanıp uzaklaştırıldı. Daha sonra HRP (avidin) her bir mikropleyt kuyucuğuna eklendi ve bekletildi. HRP bağlı yapıların miktarı örnekteki melatonin konsantrasyonu ile ters orantılıdır. Substrat solüsyonu eklendikten sonra yoğunluğa bağlı renk gelişmesi örnekteki melatonin konsantrasyonu ile ters orantılıdır. Her bir standart kontrol ve örnek okumalarının ortalaması alındı. y ekseninde melatonin logarikmik konsantrasyonu değerleri ile x ekseninde absorbans değerleri olacak şekilde standart eğrisi oluşturuldu. x ekseninde bulunan standart değerlerine karşı y ekseninde standart konsantrasyonu değerleri grafiğe geçirildi ve standart eğrisi aşağıdaki gibi oluşturuldu. Sonuçlar pg/ml olarak ifade edildi.



Şekil 19: Melatonin standart eğrisi

3.3. İstatistik

İstatiksel analizin yapılmasında SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 17.0 kullanıldı. Sonuçlarımız ortalama ± standart sapma şeklinde verildi. Biyokimyasal verilerimizin değerlendirilmesinde gruplara göre cinsiyet dağılımı için Ki-kare testi, hasta ve kontrol grupları arasındaki yaş dağılımı için t testi, sabah ve akşam alınan örneklerde ölçülen değerler arasındaki farkın karşılaştırılmasında için iki eş arasındaki farkın önemlilik testi-Nonparametrik-Wilcoxon testi kullanıldı. Korelasyon analizi için Spearman testi kullanıld. Bu değerlendirmelerde $p<0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Hasta ve kontrol gruplarında ölçülen değerler arasındaki farkın karşılaştırılmasında Nonparametrik İndependent t testi kullanıldı. Bu değerlendirmelerde $p<0.001$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Analiz Sonuçları

Yaş dağılımı için kullanılan t testi sonucuna göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$)

Cinsiyet dağılımı için kullanılan Ki-kare testi sonucuna göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

Nonparametrik-Wilcoxon testi sonuçlarına göre ise göre;

-Hasta grubu melatonin değerleri sabah ve akşam gruplarında karşılaştırıldığında; sabah grubunda akşama göre artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Kontrol grubu melatonin değerleri sabah ve akşam gruplarında karşılaştırıldığında; sabah grubunda akşama göre azalış gözlenmiştir. Fakat bu azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştur ($p>0,05$).

-Hasta grubu mda değerleri sabah ve akşam gruplarında karşılaştırıldığında; sabah grubunda akşama göre azalış gözlenmiştir. Fakat bu azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştur ($p>0,05$). Kontrol grubu Mda değerleri sabah ve akşam gruplarında karşılaştırıldığında; sabah grubunda akşama göre artış gözlenmiştir. Fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştur ($p>0,05$).

-Hasta grubu gsh-px değerleri sabah ve akşam gruplarında karşılaştırıldığında; sabah grubunda akşama göre artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Kontrol grubu gsh-px değerleri sabah ve akşam gruplarında karşılaştırıldığında; sabah grubunda akşama göre artış gözlenmiştir. Fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştur ($p>0,05$).

-Hasta grubu sod değerleri sabah ve akşam gruplarında karşılaştırıldığında; sabah grubunda akşama göre artış gözlenmiştir. Fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştur ($p>0,05$). Kontrol grubu sod değerleri sabah ve akşam gruplarında karşılaştırıldığında; sabah grubunda akşama göre artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p>0,05$).

Korelasyon analizi için kullanılan Spearman testi sonuçlarına göre;

-Hasta grubu sabah melatonin değerleri ile mda ,gsh-px ve sod değerleri karşılaştırıldığında; istatistiksel olarak anlamlı karelasyon bulunamamıştır (herbiri için $p>0,05$). Kontrol grubu sabah melatonin değerleri ile mda ,gsh-px ve sod değerleri

karşılaştırıldığında; istatistiksel olarak anlamlı karelasyon bulunamamıştır (herbiri için p>0,05).

-Hasta grubu akşam melatonin değerleri ile mda ,gsh-px ve sod değerleri karşılaştırıldığında; yalnız melatonin ve gsh-px arasında zayıf pozitif korelasyon vardır. Fakat istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır (herbiri için p>0,05).

-Kontrol grubu akşam melatonin değerleri ile mda ,gsh-px ve sod değerleri karşılaştırıldığında; istatistiksel olarak anlamlı karelasyon bulunamamıştır (herbiri için p>0,05).

Nonparametrik İndependent T testi sonucuna göre;

-Hasta grubu sabah melatonin, gsh-px, sod ve mda değerleri karşılaştırıldığında; yalnızca sod değerinde anlamlı fark gözlenmiştir (p<0,001). Kontrol grubu sabah melatonin, gsh-px, sod ve mda değerleri karşılaştırıldığında; anlamlı fark gözlenmemiştir (p>0,001).

-Hasta grubu akşam melatonin, gsh-px, sod ve mda değerleri karşılaştırıldığında; yalnızca sod değerinde anlamlı fark gözlenmiştir (p<0,001). Kontrol grubu akşam melatonin, gsh-px, sod ve mda değerleri karşılaştırıldığında; anlamlı fark gözlenmemiştir (p>0,001).

Hasta ve kontrol grubuna ait biyokimyasal parametrlerin karşılaştırılması Tablo VIII'de gösterilmiştir.

Tablo 8: Hasta ve kontrol grubuna ait demografik özelliklerin karşılaştırılması

Cinsiyet (sayı) Kadın Erkek	9 Kadın 10 Erkek
Hastalık süresi (ortalama)	5 yıl (2-10 yıl)
Hoehn Yahr Evrelemesi (ortalama)	2,5 (1-4)
İlaçlar	Rasajilin, Pramipeksol, Levodopa

Tablo 9: Hasta Ve Kontrol Grubuna Ait Biyokimyasal Parametrelerin Karşılaştırılması (ort ± SS)

Parametreler	Hasta Grubu (n=19)	Kontrol Grubu (n=19)	p değerleri
Cinsiyet, %Erkek	52,6	52,6	
Yaş , Yıl	57,5±10,2	60,3±10,9	0,418
MDA (nmol/Ml) sabah	6,09±2,88	5,44±2,21	0,795
akşam	6,11±3,92	4,23±2,70	0,096
SOD(U/L) sabah	24,64±14,91	57,33±33,90	<0,001
akşam	18,72±6,48	34,91±16,80	<0,001
GSH-Px(U/L) …… sabah	0,33±0,05	0,32±0,06	0,311
akşam	0,30±0,03	0,29±0,05	0,583
Melatonin (pg/ml) sabah	9,18±2,21	9,18±2,08	0,931
akşam	8,23±2,18	9,34±1,92	0,109

Kısaltmalar; Malondialdialdehit (MDA), Süperoksit Dismutaz (SOD), Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px).

Hastalara ait byokimyasal parametrelerin sabah ve akşam değerlerinin karşılaştırılması Tablo10'de gösterilmiştir.

Tablo 10: Hastalara ait Biyokimyasal parametrelerin Sabah ve Akşam değerlerinin Karşılaştırılması

Parametreler	Sabah	Akşam	p değeri
MDA (nmol/mL)	6,09±2,88	6,11±3,92	0,586
SOD (U/mL)	24,64±14,91	18,72±6,48	0,246
GSH-Px (U/mL)	0,33±0,05	0,30±0,03	0,049
Melatonin (pg/ml)	9,18±2,21	8,23±2,18	0,036

Kısaltmalar; Malondialdialdehit (MDA), Süperoksit Dismutaz (SOD), Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px).

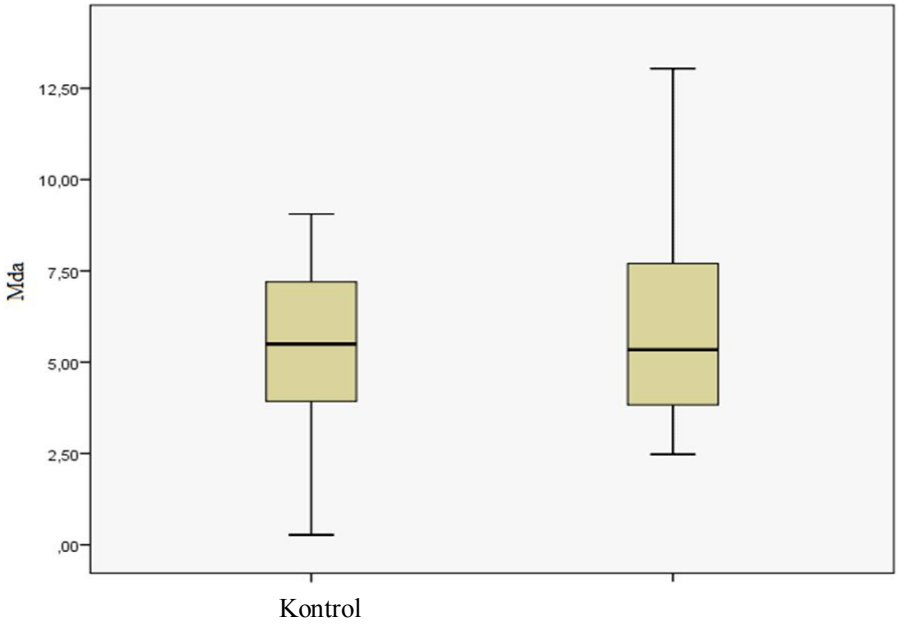
Kontrol grubuna ait byokimyasal parametrelerin sabah ve akşam değerlerinin karşılaştırılması Tablo 11'de gösterilmiştir.

Tablo 11: Kontrol Grubuna Ait Biyokimyasal Parametrelerin Sabah Ve Akşam Değerlerinin Karşılaştırılması

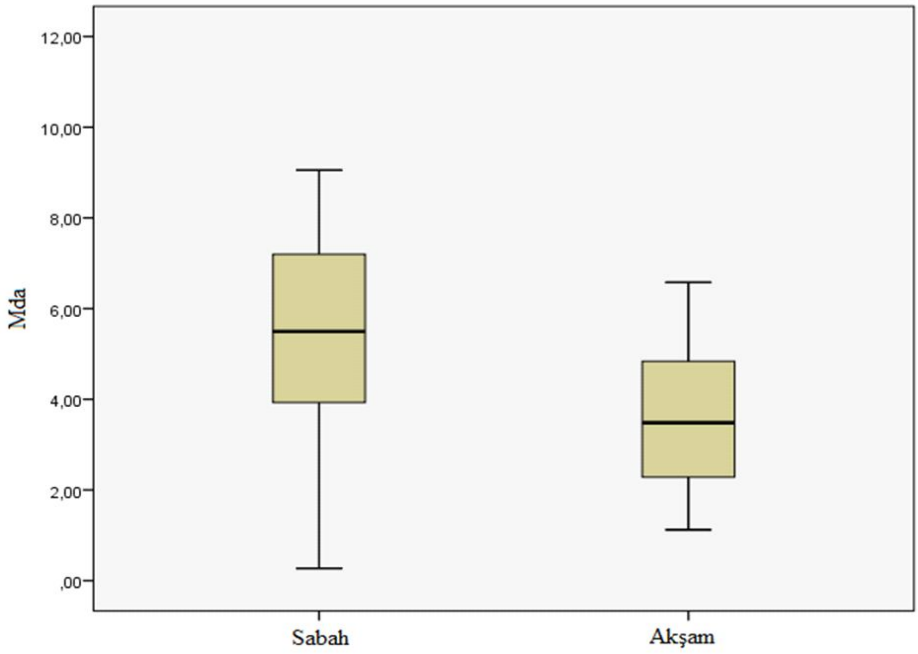
Parametreler	Sabah	Akşam	p değeri
MDA (nmol/mL)	5,44±2,21	4,23±2,70	0,136
SOD (U/mL)	57,33±33,90	34,91±16,80	0,004
GSH-Px (U/mL)	0,32±0,06	0,29±0,05	0,147
Melatonin (pg/ml)	9,18±2,08	9,34±1,92	0,629

Kısaltmalar; Malondialdialdehit (MDA), Süperoksit Dismutaz (SOD), Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px).

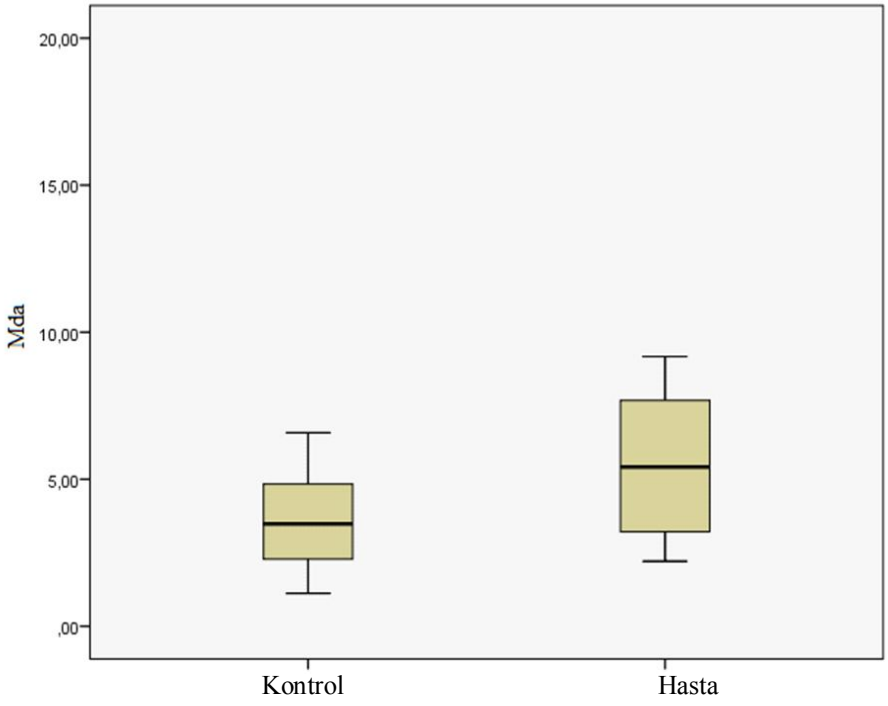
4.1.1. MDA değeri üzerine etkileri



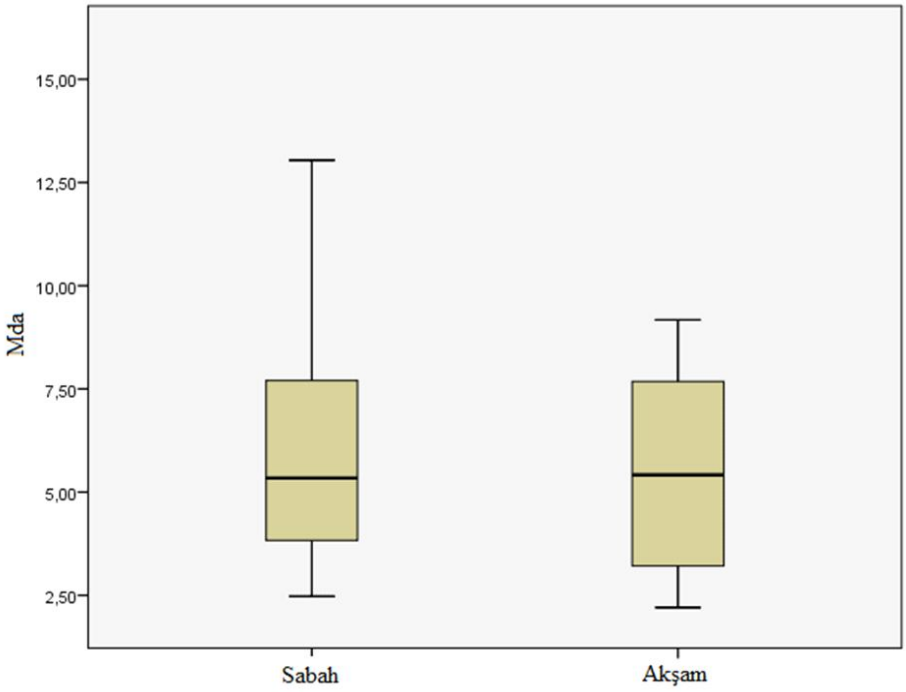
Şekil 20: Hasta-Kontrol Gruplarında Sabah Mda Düzeyleri



Şekil 21: Kontrol Grubunda Sabah-Akşam Mda Düzeyleri

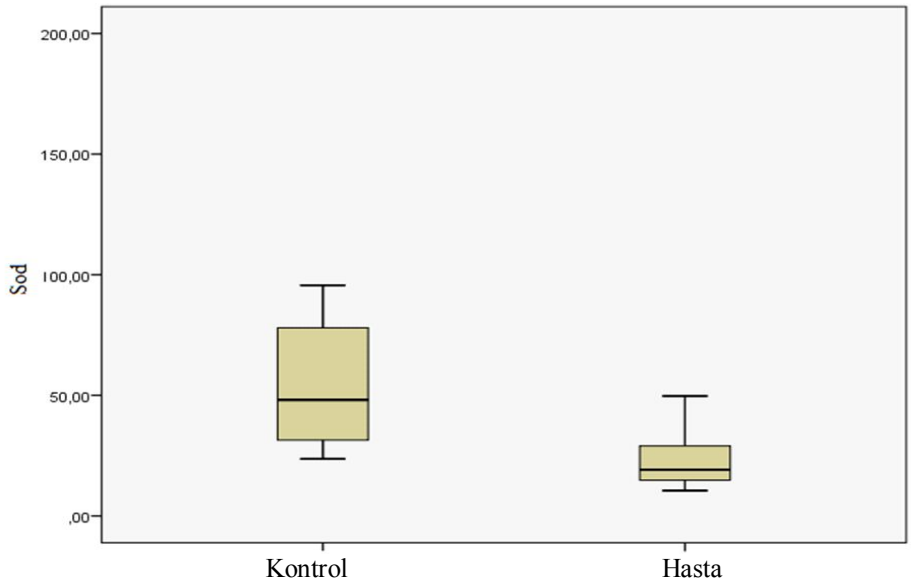


Şekil 22: Hasta-Kontrol Gruplarında Akşam Mda Düzeyleri

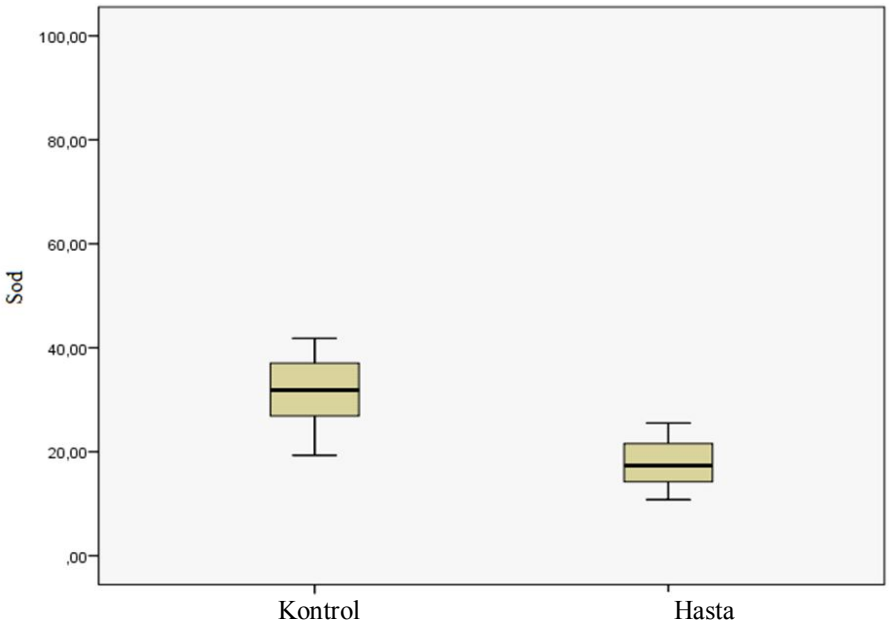


Şekil 23: Hasta Grubunda Sabah-Akşam Mda Düzeyleri

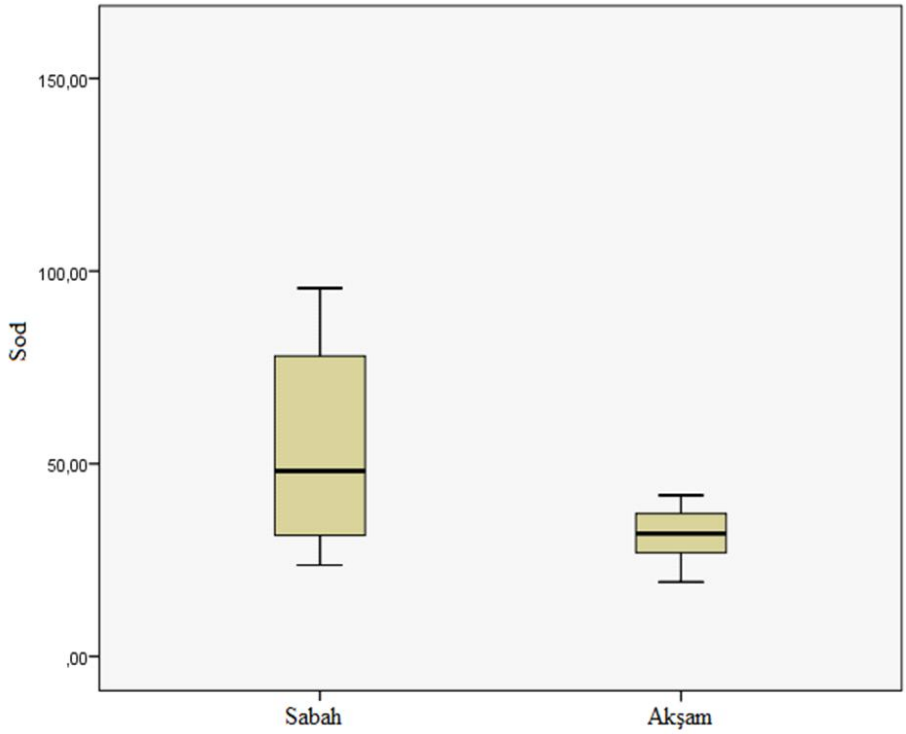
4.1.2. SOD değerleri üzerine etkileri



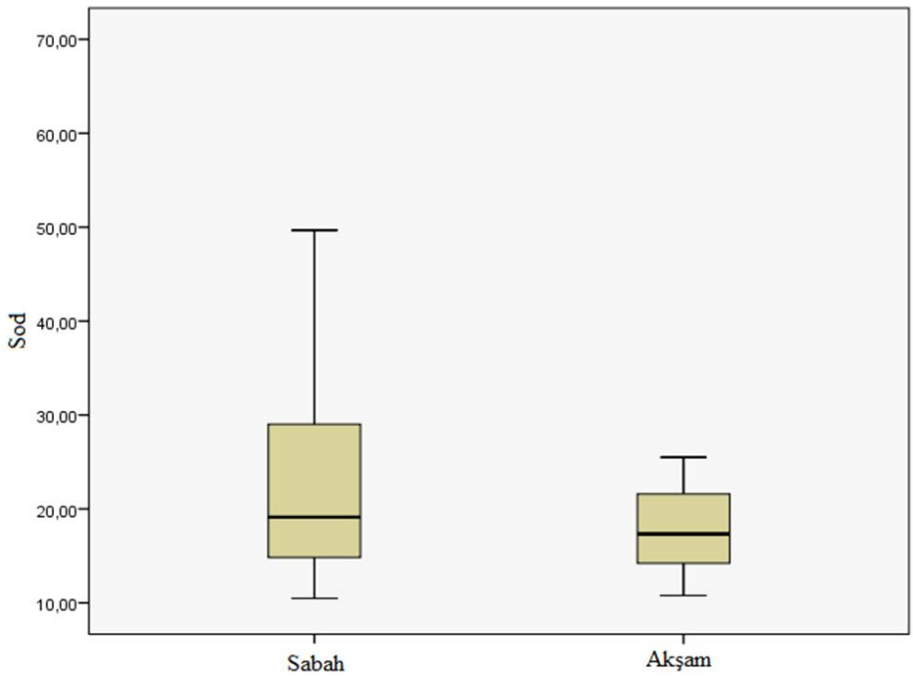
Şekil 24: Hasta-Kontrol Grubunda Sabah Sod Düzeyleri



Şekil 25: Hasta-Kontrol Gruplarında Akşam Sod Düzeyleri

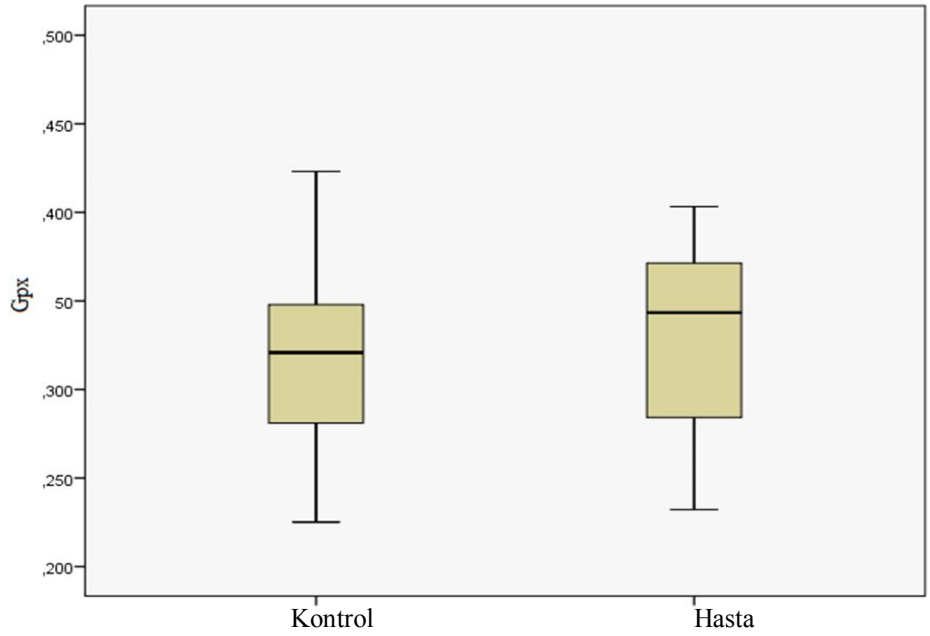


Şekil 26: Kontrol Grubunda Sabah-Akşam Sod Düzeyleri

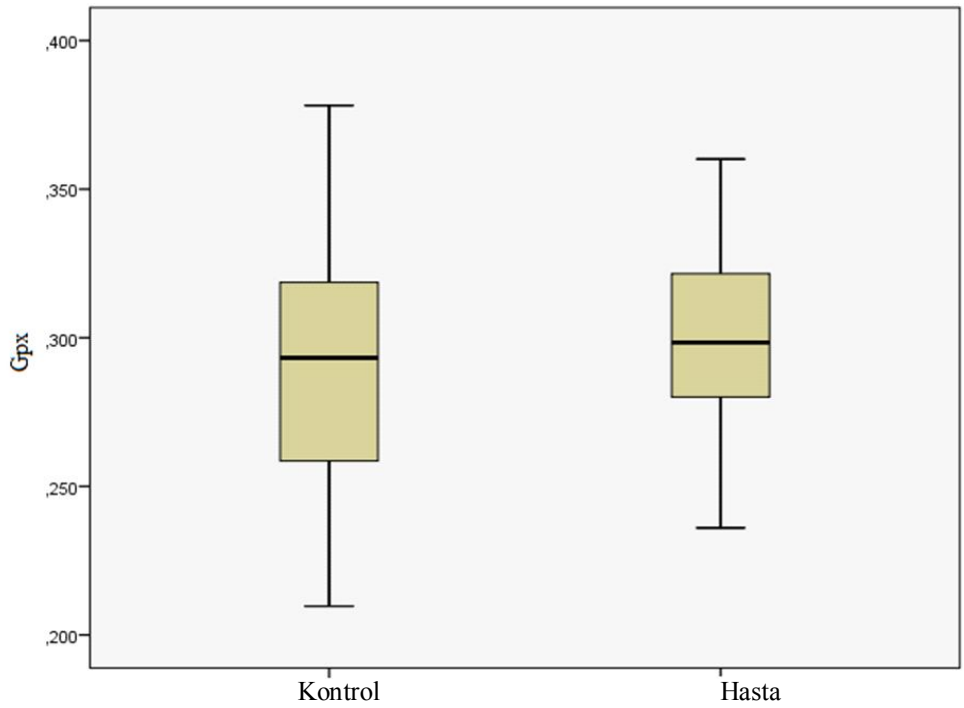


Şekil 27: Hasta Grubunda Sabah-Akşam Sod Düzeyleri

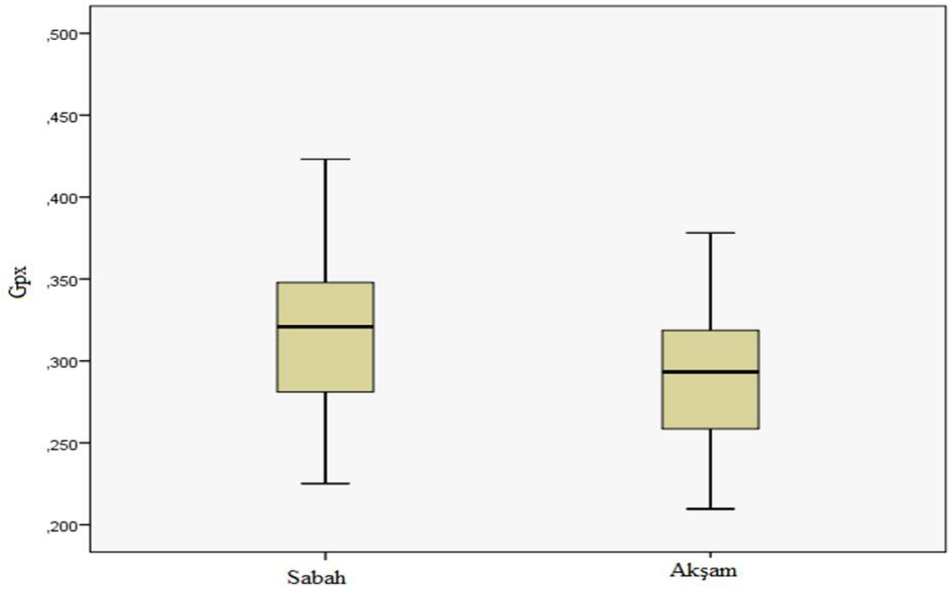
4.1.3. GSH-Px değerleri üzerine etkileri



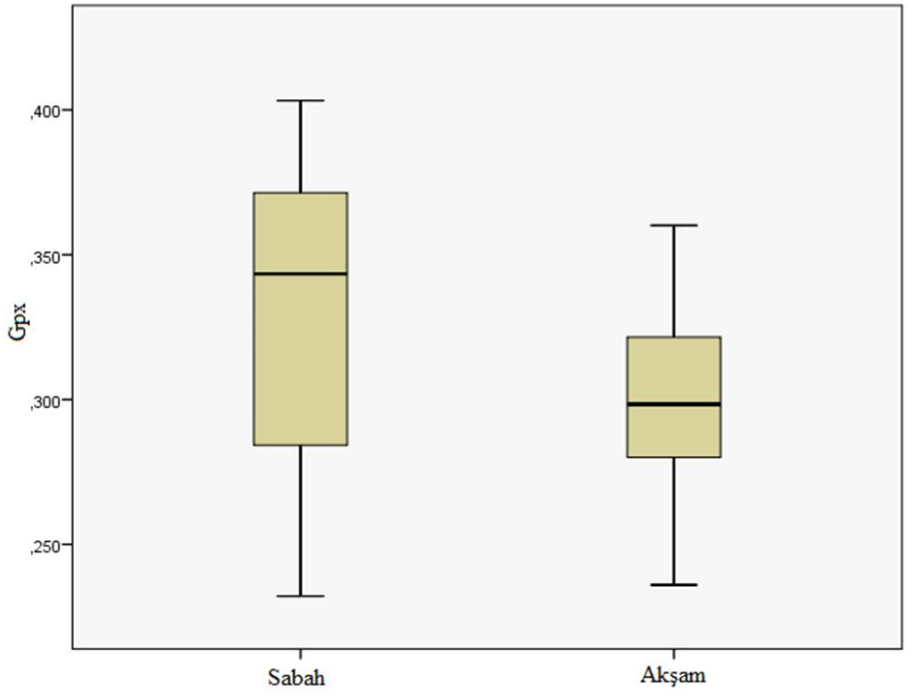
Şekil 28: Hasta-Kontrol Gruplarında Sabah Gsh-px Düzeyleri



Şekil 29: Hasta-Kontrol Gruplarında Akşam Gsh-px Düzeyleri

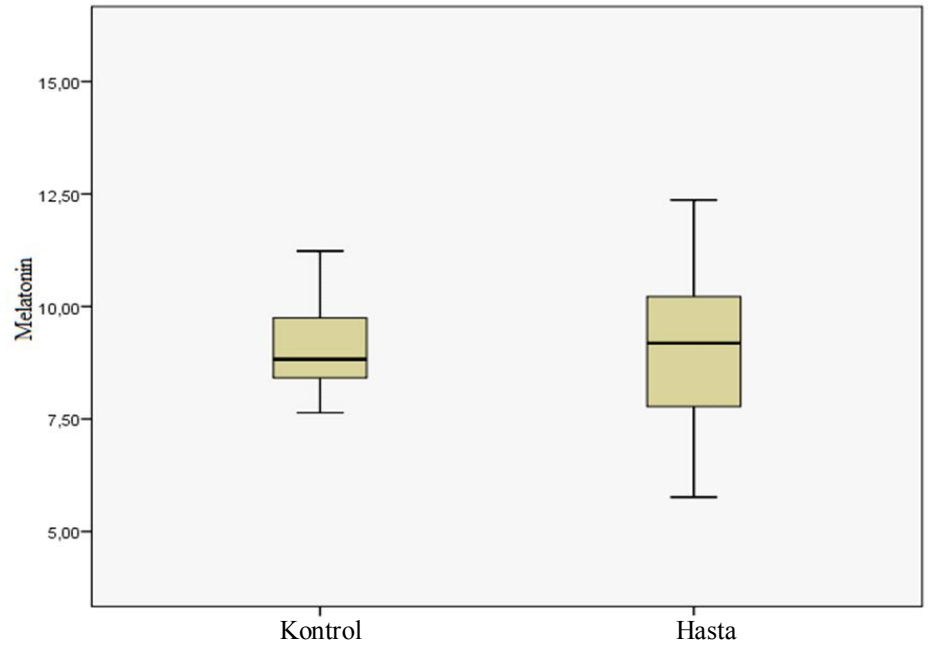


Şekil 30: Kontrol Grubunda Sabah-Akşam Gsh-px Düzeyleri

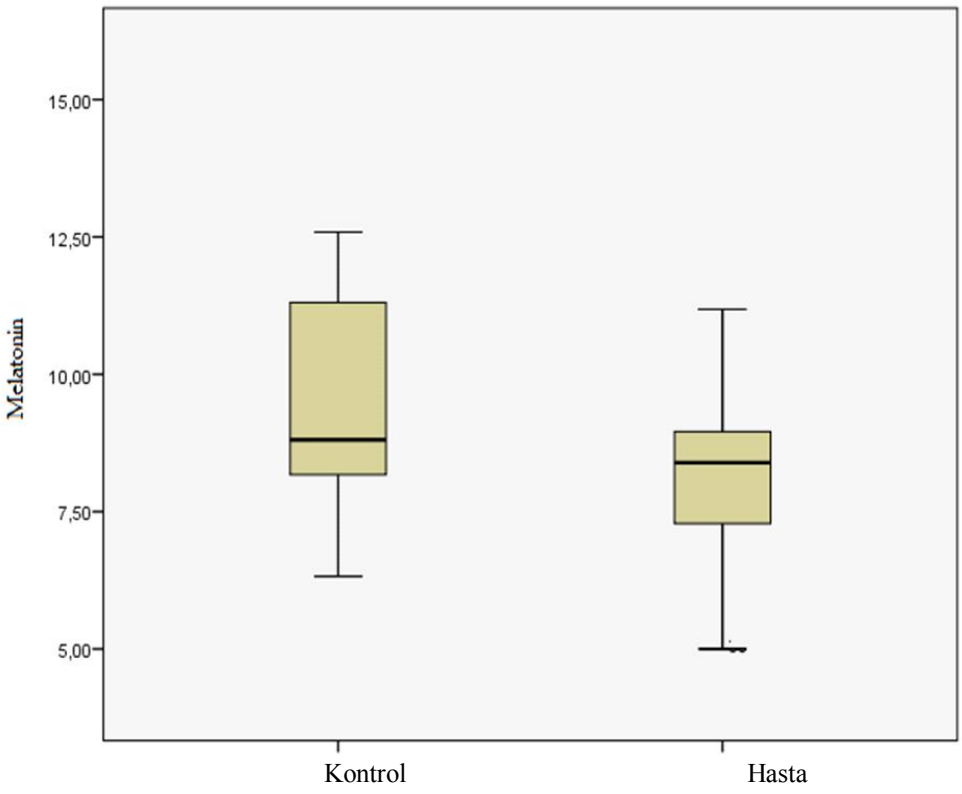


Şekil 31: Hasta Grubunda Sabah-Akşam Gsh-px Düzeyleri

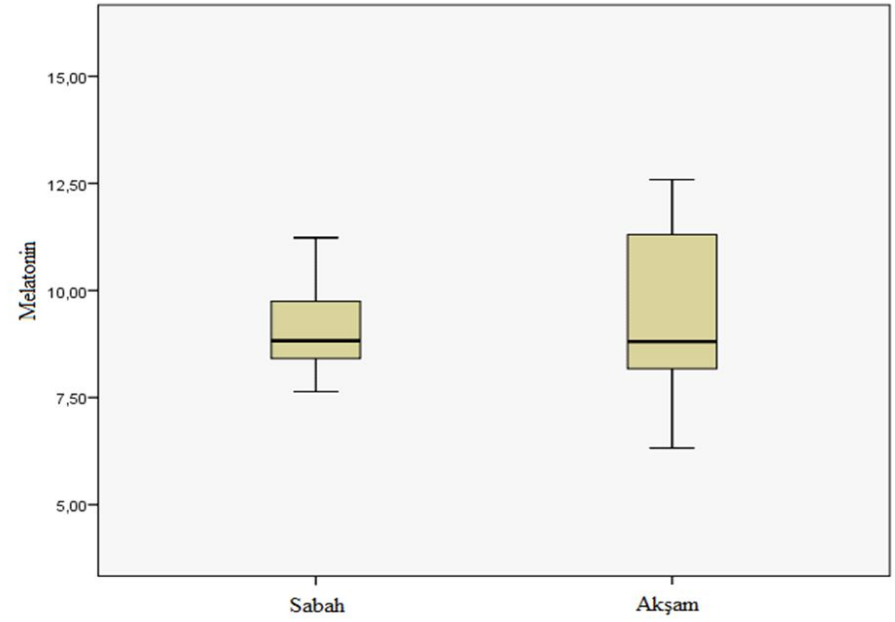
4.1.4. Melatonin değerleri üzerine etkileri



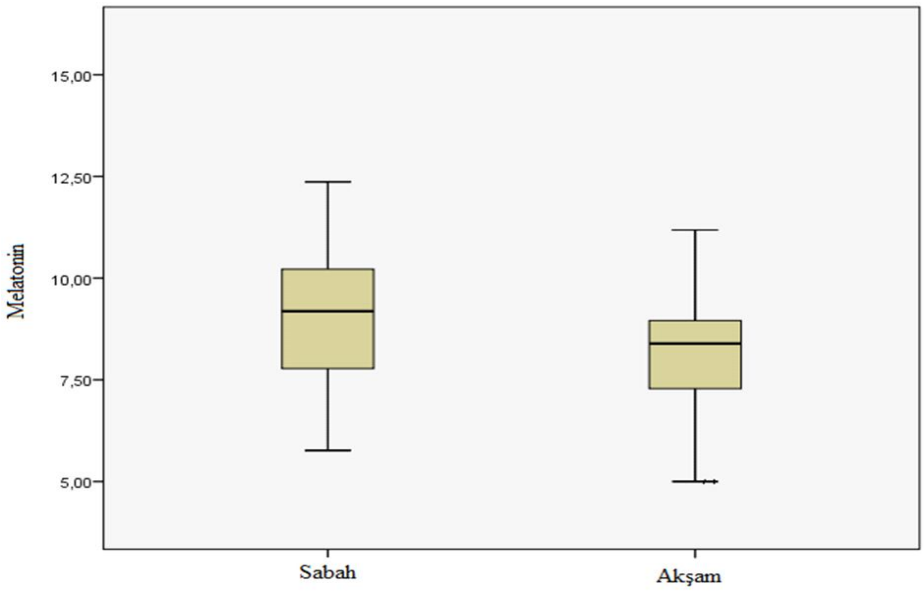
Şekil 32: Hasta- Kontrol Gruplarında Sabah Melatonin Düzeyleri



Şekil 33: Hasta-Kontrol Gruplarında Akşam Melatonin Düzeyleri



Şekil 34: Kontrol Gruplarında Sabah-Akşam Melatonin Düzeyleri



Şekil 35: Hasta Grubunda Sabah-Akşam Melatonin Düzeyleri

5. TARTIŞMA

Serbest radikaller, vücutta metabolizma sırasında meydana gelen son derece etkin kimyasal ürünlerdir. Hücre büyüme ve gelişimi üzerine direkt olarak etkilidirler ve hücre yaşamı üzerine olan bu direkt etkilerinden dolayı damar sertliği, kanser ve romatizmal hastalıklar ve yaşlılık hastalıkları gibi bazı hastalıkların oluşmasında önemli rol oynarlar. Serbest radikal teorisine göre yaşlanmanın en önemli nedenlerinden birisi, yaş ilerledikçe metabolizmada ROT ve RNT oluşumunun artması ve bunların makro moleküllerin modifikasyonuna neden olmasıdır (Bejma J ve Ji L. 1999, Çakatay U. ve Telci A. 2000, Stadtman ER. 2004, Zaobornyj T. ve ark. 2005).

Harman (Weber G.F 1994), yaşlanmayla ilgili teorisinde, oksijen kaynaklı serbest radikallerin, aerobik organizmaların hücrelerinde veya hücreler arasında kendiliğinden kimyasal modifikasyonlara neden olduğunu ve biyolojik olarak dejenerasyonun oluştuğunu ileri sürmüştür.

Kardiyolojik hastalıklar, nörolojik hastalıklar, astım, diabetes mellitus, romatoid artrit, kanser ve yaşlılıkta görülen pek çok hastalığın oksidatif stres ile ilişkisi gösterilmiştir (Engin A. ve Altan N. 2000, Özenirler S. ve ark. 1994, Engin A. ve ark. 2003, Yardım-Akaydın S. 2004). Sıçan ve güvercinlerin yaşam süreleri arasındaki farkın mitokondrilerdeki ROM üretimi ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Burçak G. ve Andican G. 2004). Aynı şekilde, yaşa bağlı olarak mitokondrial DNA'daki hasarların artışı da elektron taşıma zincirinin elemanlarında anormalliklere yol açar. Bu birikimlerin sonucu olarak yaş arttıkça beyin, kalp ve iskelet kaslarında ATP üretiminin düştüğü ve buna bağlı olarak pek çok hastalığın ortaya çıktığı da gözlenmiştir (Sohal RS. ve Weindruch R. 1996).

Bu çalışmaların tersine Garcia-Arumi ve ark.(Garcia-Arumi E. ve ark. 1998). lenfositlerle yaptıkları bir çalısmada; yaşlı bireylerin antioksidan savunma mekanizmalarında yaşla azalma görülmediğini, buna karşılık protein karbonil düzeylerindeki artışa bağlı olarak oksidatif protein hasarında artış görüldüğünü bildirmişlerdir

Reaktif oksijen türlerinin birçok nörodejeneratif hasara veya yaslanmaya sekonder olarak biriktiği ve sorumlu olduğu saptanmıştır (Balazs L. ve Leon M. 1994, Lewen A. ve ark. 2000).

Çalışmamızda ise yaşlanmayla ve nörodejeneratif hasar ile birlikte gece serum melatonin seviyesinin düşmesi, zararlı oksijen radikalleri ile oluşturulan hasarın arttığını gösteriyor olabilir.

Görülme sıklığı giderek artan ve hem hasta, hem de çevresi için büyük maddi ve manevi kayıplara neden olan Parkinson hastaları ile nörolojik ve biyokimyasal olarak normal yaşlı kişilerin serumunda, bazı antioksidan parametreler üzerinde çalışmalar mevcuttur. Nöronal dokuda glutatyon peroksidaz aktivitesinin, çok ileri yaşlarda bile pek fazla değişmediğini gösteren çalışmalar mevcuttur. (Russel J. Reiter 1995)

Bizim çalışmamızda da aynı şekilde serum Gsh-px düzeylerinde hem hasta hemde kontrol gruplarında anlamlı fark bulunamadı (P>0,05). Ancak akşam ve sabah gsh-px düzeylerinin her iki grupta da artışın gözlenmiştir. Biz bu artışın sebebini oksidatif hasara bağlı olarak açığa çıkan enzim aktivitesine bağlamaktayız.

Yapılan çalışmalar melatoninin hidroksil (•OH) radikalini, süperoksit anyon (O_2•-) radikalini, peroksil radikalini, singlet oksijeni ($1O_2$), hidrojen peroksiti (H_2O_2), nitrik oksiti (NO) ve hipokloröz asiti (HOCl) nötralize edebildiğini bilinmektedir In vivo çalışmalarda melatoninin, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini arttırdığı, nitrik oksit sentetazın aktivitesini ise azalttığı gösterilmiştir (Tan DX. ve ark. 2003).

Bu çalışmanın aksine kontrol grubunda melatonin seviyesi artarken mda, gsh-px ve sod değerlerinde anlamlı düşüş vardır. Bunun sebebi kontrol grubunda oksidatif hasar söz konusu olmadığından bu durum melatonin düzeylerini olumlu etkilediği düşünülebilir.

Parkinson hastalığında SN hücrelerin progresif ölümü söz konusudur. Yani, serbest radikaller SN nöronlarının destrüksiyonuna neden olan en önemli ajanlardır ve bunun sonucu olarak parkinson hastalığı ortaya çıkmaktadır. Organizmalar, serbest radikallerin yol açtığı oksidatif hasara karşı kendilerini koruyabilmek için, birçok savunma mekanizmasına sahiptirler. Bu mekanizmaların başında SOD, CAT ve GSH-Px enzimleri gelmektedir. Eritrositlerde oksidatif stres oluşumu membranın yapısında bulunan lipidlerin peroksidasyona uğraması, membran bütünlüğünün bozularak eritrositlerin parçalanma riskinin artmasına neden olur (Ianas O. ve ark. 1991, Reiter RJ. ve ark. 2003). Eritrositlerde membran lipidlerinin peroksidasyona uğraması sonucunda ikincil ürün olarak oluşan önemli oksidasyon ürünlerinden birisi de MDA'dır (Reiter RJ. 2003). Bu nedenle bu çalışmada oksidatif hasarın göstergesi olarak MDA düzeyleri değerlendirilmiştir

Bu çalışmada da oksidan hasarın derecesini belirlemek ve kullanılan maddelerin bu hasarı önlemedeki başarısını saptamak amacıyla gruplarımızda oksidatif stres göstergesi MDA düzeyi, oksidatif strese karşı savunma cevabını gösteren SOD ve GSH-Px enzim aktiviteleri düzeylerini çalışıldı.

Bizim çalışmamızda da hasta grubumuzda akşam oksidatif hasara bağlı olarak Mda düzeylerinde anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,05$). Fakat kontrol grubunda azalma vardır. Bu durum bize literatürdeki bilgilerin doğruluğunu kanıtlama imkanı vermiştir. Enzim sistemlerinde de orantılı olarak değişim gözlenmiştir.

Melatonin, hidroperoksitleri metabolize eden GSH-Px enzimini aktive ederek, O_2^- radikalini H_2O_2'ye kataliz eden SOD aktivitesini artırarak, oksidatif stres esnasında katalaz aktivitesindeki azalmayı önleyerek ve NO oluşumundan sorumlu nitrik oksit sentaz (NOS) enzimini inhibe ederek, dolaylı olarak antioksidan etki göstermektedir (Reiter RJ. ve ark. 2009, Reiter RJ. ve ark. 2000, Reiter RJ. ve ark. 2009)

Melatonin üretimi ve salıverilme ritmi birçok psikiyatrik hastalıkta bozulmaktadır (Fanget ve ark. 1989, Macci ve Bruce 2004, Srinivasan ve ark. 2006, Hickie ve Rogers 2011, Lopez-Munoz ve ark. 2011). Öte yandan, sirkadiyen ritmin bozulması ile uyku başlangıcının gecikmesi, kalitesiz uyku, erken ve zamansız uyanma, gün boyu yorgunluk hissi, enerji düşüklüğü ve dikkati toplayamama gibi depresyonun bazı klinik belirtileri arasında güçlü bir ilişki bulunmaktadır (Germain ve Kupfer 2008, Hickie ve Rogers 2011). Bu nedenle beyin melatonin sistemi depresyon için önemli ve güncel bir hedef olmuştur.

İnal ve ark.(İnal ME. ve ark. 2001) lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktivitelerinin yaşlılıkla değişimini araştırmışlardır. Sağlıklı insanların eritrositlerindeki SOD, CAT, Gsh-Px ve plazmadaki MDA seviyesini incelemişlerdir. Bu çalışmada 176 sağlıklı bireyi grup 1 (0,2-1 yaş), grup 2 (2-11 yaş), grup 3 (12-24 yaş), grup 4 (25-40 yaş) ve grup 5 (41-69 yaş) olacak şekilde beş gruba ayırmışlardır. SOD aktivitesi ve yaşlılık arasında negatif bağlantı bulurken, CAT, Gsh-Px aktiviteleri ve MDA seviyesi ile yaşlılık arasında pozitif bağlantılar bulmuşlardır. Sonuç olarak eritrositdeki antioksidan enzim aktivitelerinde yaşla ilgili farklılık bulmuşlardır. Ayrıca, peroksidatif zararın yaşlılık basamaklarında yükseldiğini belirtmişlerdir

Oksidatif hasarı önlemede, melatoninin etkili olduğunu tespit ettik. MDA düzeyi anlamlı olarak düşmüştür ($p<0.05$). Bunun sebebini antioksidan etki gösteren melatonine bağlamaktayız.

In vivo olarak yapılan bir başka çalışmada melatoninin, glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz, SOD ve CAT gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini arttırdığı, nitrik oksit sentetazın aktivitesini ise azalttığı gösterilmiştir (Tan DX. ve ark. 2003).

Ranjana Singh ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kontrol ve hasta grubu Mda düzeylerinde sabah 06:00'dan gece 00:00'a kadar artış gözlenmiştir ancak hasta grubundaki

artış daha anlamlıdır. Sod düzeyinde ise azalış mevcuttur. Bizim çalışmamızda da sabahtan akşama kadar sadece hasta grubunda mda düzeyinde artış gözlenirken sod düzeyindede zalış gözlenmiştir. Buda bize hasta grubumuzdaki hasarın boyutunu göstermektedir. Aynı zamanda oluşan hasara oranla insan vücudunda bir savunma mekanizması geliştiğini göstermektedir (Ranjana Singh ve ark.2004).

Melatonin lipit çözünürlüğünün yüksek olması nedeniyle hücrelere rahatça girebilmektedir. Son çalışmalar melatoninin hücre çekirdeğinde yüksek konsantrasyonda bulunduğunu ve melatonin için spesifik bağlanma noktalarının olduğunu göstermiştir. Melatonin güçlü bir radikal süpürücüsü olduğu gibi, radikaller üzerinde dolaylı etkilere de sahiptir. Oksidatif hasarın rol oynadığı pek çok deneysel modelde melatoninin olumlu etkileri gösterilmiştir. Yaşlanma ile birlikte melatonin üretiminin azalması yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların patogenezinde artan oksidatif hasarın ve melatonin yetersizliğinin önemli rolü olduğunu göstermektedir(Reiter RJ., Calvo JR. ve ark. 2000, Reiter RJ., Tan DX. ve ark. 2000).

Bizim çalışmamızda da aynı şekilde veriler mevcuttur. Biz bu durumun sebebini hasta olan bireylerde oluşan strese bağlı olarak uyku ritmineki bozulmadan dolayı melatonin seviyesinin azalmasına bağlamaktayız

Karanlıkla beraber pineal bezde melatonin konsantrasyonu artar. Diğer endokrin organlardan farklı olarak, pineal bez melatonini sentezlendikten sonra depolamaz, melatonin pineolositlerden hızlı bir şekilde bez içindeki kapiller damarlara ve üçüncü ventrikül aracılığıyla BOS'a geçer (Reiter RJ. 2003).

Bir araştırmaya göre gece 20.00-23.00 arası yükselen melatonin düzeyi 01.00-05.00 arası doruk değerlere ulaşır ve gündüz düşer. Sağlıklı kişilerde plazma melatonin düzeyi gündüz 0-20 pg/ml, gece 20-200 pg/ml (ortalama 60-70 pg/ml) dir (Göksel Şener 2010).

Amerika'da yaklaşık 45 milyon kişi gece uykusuzluğu (uyku mahrumiyeti) çekmektedir. "Uyku mahrumiyeti" gerek neden olduğu hastalıklar gerekse yaşam şartlarını etkileme yönüyle maddi ve manevi anlamda olumsuzluklara sebep olmaktadır. Yapılan pek çok çalışmada bu durumun en önemli nedenlerinden birinin de endojen melatonin sekresyonunun baskılanması olduğu belirtilmiştir (Reiter RJ. ve ark. 1995)

Melatoninin zaman noktaları arasındaki seyahatlerin neden olduğu stresi azalttığını göstermek için yapılan bir çalışmada parlak ışıktan faydalanarak altı zaman noktası boyunca doğuya doğru katedilen mesafe taklit edilmiş ve deneklere beş gün boyunca 10 mg melatonin verilmiştir. Her gün yapılan ankette plasebo grubuna göre melatonin verilen grupta stresin (yorgunluk, asabiyet, şaşkınlık, depresyon ve gerginlik) daha az olduğu saptanmıştır (Kirby

AW. ve ark.1999). Vardiyalı işçilerde plasebo ile karşılaştırıldığında gece çalışılan hafta süresince arzulanan yatma vaktinde verilen melatoninin gece vardiyası işçilerinde, artan uyku ve gün içi uyanıklılığa neden olduğu gösterilmiştir (Folkard S. ve ark.). Geciken uyku evresi uykusuzluğu olan hastalar toplumsal olarak kabul edilen uyku vakti olan gece vakti uyuyamazlar. Bu durum faz ilerlemelerine neden olmak için sabah erken verilen parlak ışıkla başarılı bir şekilde tedavi edilebilir. Akşam verilen melatonin (saat 22:00'de 5mg) uyku zamanını önemli ölçüde öne alır (Dahlitz M. ve ark. 1991). Sonuçta bu ritim bozukluğu için hem melatonin hem de parlak ışık tedavi seçeneği olabileceği belirtilmiştir.(Arendt J. ve Aldhous M. 1988).

İnsanlarda 24 saatlik melatonin sekresyonu karanlık saatlerin daha fazla olduğu kış aylarında yaz aylarına göre daha yüksektir. Melatonin salgılanmasının uyku saatleri ve sirkadiyan ritimle senkronizasyonu açıkça bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda insomniası olan yaşlılarda gece pik değerlerinin insomniası olmayan yaşlılara göre daha düşük olduğu gösterilmiştir. Oral melatonin verilmesi sonrası insomniası olan yaşlı hastalarda uyku bozukluğunda düzelme olduğu görülmüştür. Serum melatonin konsantrasyonundaki artış uykunun başlamasını tetiklemektedir ve uykunun devamlılığı ve kalitesini etkilemektedir. Melatoninin uyku üzerine etkilerinin muhtemelen kronobiyolojik etkiler olduğu ve ayrıca melatoninin damarlarda daraltıcı etkiye bağlı olarak core temperatürü düşürerek uykuyu indüklediği, uykuya dalış süresini kısalttığı ve uyku kalitesini arttırdığı bilinmektedir (Şener G. 2010).

İngiltere'de bir çiftlikte yapılan çalışmada, uyumayı kolaylaştıran özel bir süt geliştirilmiştir. "Night Time Milk" adı verilen sütün içinde diğer sütlere göre iki kat daha fazla melatonin bulunmaktadır. Gün doğmadan önce sağılan genç ineklerin sütünde melatonin seviyesinin yüksek olduğunu tespit eden araştırmacılar, inekleri gün doğmadan önce sağarak uykuya yardımcı nitelikte süt üretmeye başlamışlardır. Söz konusu sütün, vücuttaki mevcut melatonin seviyesini yükselterek uyumaya yardımcı olduğu bildirilmiştir (Anonymous 2004, Veli GÖK ve ark. 2006).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Biz bu çalışmada gece ve gündüz melatonin düzeylerini ölçtük. Kontrol grubumuzda sabah melatonin değerlerinde akşama göre anlamlı olmasa da azalma gözlenmiştir. Hasta grubumuzda ise gece melatonin düzeyinde azalma gözlenmiştir

Yaşlı ve yetişkinlerde, genç yaş gruplarına göre uyku zorluğu belirgin olarak daha sıktır. Uyku-uyanıklık döngüsü, santral olarak kontrol edilen sirkadyen sistemlerden sadece biridir. Yaş ile SKN hücrelerin; elektriksel ve hormonal aktiviteleri ve gen ekspresyonu azalır. Yine; iç vücut ısısı, melatonin ve kortizol seviyesi azalır ve vücudun sirkadyen aktivitesi bozulur. Bu değişiklikler ve uyku bozuklukları, nörodejeneratif hastalıklarda daha belirgindir. Bizim Parkinson hasta grubumuzda serum melatonin düzeyi, benzer yaş grubundaki sağlıklı kontrollerle benzerdi ve genç yetişkinlere göre düşüktü. Sağlıklı yaşlı kontrollerde gündüz-gece seviyeleri arasında fark bulunmadı. Bu da yaşlı popülasyonda, genç yetişkinlikteki gündüz-gece değişkenliğinin azaldığı ve hatta ortadan kalktığını bize düşündürdü. Nitekim yaşla birlikte uyku sorunları ve nörodejeneratif hastalıkların da arttığını bilmekteyiz. Parkinson hastalığı olan grupta ise istatistiksel anlamlı olarak gece melatonin seviyesi düşük bulundu. Biliyoruz ki, Parkinson hastaları normal popülasyona göre daha fazla uyku sorunları görülmektedir. Bunun önemli bir nedeni gece melatonin seviyesinin düşmesi olabilir ve gece melatonin desteği daha kolay uyumalarını sağlayabilir. Melatoninin uykuyu başlatmada önemli bir fonksiyonu olmakla birlikte aynı zamanda önemli bir antioksidandır. Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarda azalması ise, hastalık sürecinde artık koruyuculuğunun yetersiz olduğunun bir işareti olabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Mohammad Athar, Mohamed Abdulla, Sarwat Sultana, Alain Favier, and Ronald Pero: Free Radicals and Trace Elements, The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine, 1993,6:65-73
2. M.Flint Beal: Aging, Energy, and Oksidative Stress in Neurodegenerative Diseases, Ann. Neurol. 1995, 38:357-366
3. Russel J. Reiter: Oksidative processes and antioksidative detense mechanism in the aging brain, FASED J. 1995,9:526-533
4. Cassone MV.:The clocks tell the time. Nature Neuroscience, 2005, 8: 3.
5. Dawn BM, Allan DM, Colleen MS. Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland.(1996).
6. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. W.B. Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania. (1999).
7. Reiter RJ. Oxidative processes and antioxidant defense mechanisms in the aging brain. FASEB J 1995; 9: 526-533.
8. Reiter RJ, Karbownik M, QI W, Tan DX. Melatonin and its relation to the immune system and inflammation. Acad Sci 2000; 917: 376-386.
9. Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. J Biomed Sci 2000; 7: 444-458.
10. Tan D.X, Chen L.D. Poeggeler, B. Manchester, L.C. and Reiter, R.J:Melatonin: A. Potent Endogenous Hydroxyl Radical Scavenger. Endocrine J. 1993, 1, 57-60
11. Örmen M, Fadıloğlu M: Parkinson ve Alzheimer Hastalarında Bazı Antioksidan Parametrelerinin Serumda İncelenmesi. 1997,9:11
12. Ianas O, Olivescu R, Badescu I. Melatonin involvement in oxidative process. Rom J Endocrin 1991, 29: 117-123.
13. Reiter RJ, Tan DX, Mayo JC, Sainz RM, Leon J, Czarnocki Z. Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanisms and pathophysiological implications in human. Acta Biochimica Polonica 2003, 50: 1129-1146.
14. Reiter RJ. Melatonin: clinical relevance. Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism 2003, 17: 273-285
15. Evans P.H: Free radicals in brain metabolism and pathology. British Med. Bull. 1993, 49: 577-587

16. Halliwell B.,Gutteridge J. M.Oxygen radicals and the nervous system. Trends. Neurol. Sci. 1985, 1: 22-26
17. Strange P.G: Brain Biochemistry and brain disorders. Oxford University Pres, London,1996.
18. Weber G. F: The pathophysiology of reactive oxygen intermediates in central nervous system. Med. Hypothes.1994, 43: 223-230
19. Gerlach M, Rieder P, Youdim M.: Molecular mechanisms for neurodegeneration. Ed: Battistin L, Scarlato G., Caraceni T., Ruggieri S. Advances in Neurology Vol 1996, 69, s. 177- 194, Lippincott- Raven Publishers, Philadelphia
20. Beal M.F: Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases. Biochem. Biophys Acta1998, 1366: 211-223
21. Reiter, R.J. "Oxidative damage in the central nervous system: Protection by melatonin",Progress in Neurobiology. 56,359-384 (1998).
22. Beal M.F: Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases. Biochem. Biophys Acta 1366: 211-223, 1998.
23. Schapira A.H.V: Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative disorders. Biochem Biophys Acta 1366: 225-33,1998
24. Turski L, Turski W.A: Towards an understanding of the role of glutamate in neurodegenerative disorders: energy metabolism and neuropathology. Experientia 49: 1064-1072, 1993.
25. Weber G. F: The pathophysiology of reactive oxygen intermediates in central nervous system. Med. Hypothes. 43: 223-230, 1994
26. Gerlach M., Rieder P., Youdim M. B. H: Molecular mechanisms for neurodegeneration.Ed: Battistin L., Scarlato G., Caraceni T., Ruggieri S. Advances in Neurology Vol 69, s. 177-194, Lippincott- Raven Publishers, Philadelphia, 1996.
27. Olenow C.W., Tatton W.G., Jener P.: Mechanisms of cell death in Parkinson's disease. In:Jankovic J.J., Tolosa E., Parkinson's disease and movement disorders. Lippincott Williams &Wilkins, Philadelphia 4th. Edition., 38-59 (2002).
28. Schapira A.H.V.: Neuroprotection and dopamine agonists. In: Koller W.C., (Ed). The new role of dopamine agonists in Parkinson's disease and restless leg syndrome. Neurology 58 (4),Suppl. 1, s9-s18 (2002).
29. Darnell J., Lodish H., Baltimore D.: Molekulare Zellbiologie. Walter de Gruyter, Berlin(1994).

30. Gürer R. İdiopatik Parkinson Hastalığı Etyopatogenezinde Seruloplazminin Yeri Ve Proton Mr Spektroskopi İle Verifikasyonu. Uzmanlık Tezi, Göztepe Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Nöroloji Kliniği, İSTANBUL, 2005.
31. Stahl S.M.: Essential Psychopharmacology. Cambridge University Pres, 2nd. Ed. (2000).
32. Dy M., Vazquez A., Bertoglio J. et al. General aspects of cytokine properties and functions. In: Theze J. (Ed). The cytokine network and immune functions. Oxford University Pres, New York, 1-13 (1999)
33. Fearnley JM, Lees AJ. Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. Brain 1991;114:2283-2301.
34. Calne DB, de la Fuente-Fernández R, Kishore A. Contributions of positron emission tomography to elucidating the pathogenesis of idiopathic parkinsonism and dopa responsive dystonia. J Neural Transm Suppl 1997;50:47-52.
35. Burke RE. Programmed cell death and Parkinson's disease. Mov Disord 1998;13:Suppl 1:17-23.
36. Kösel S, Egensperger R, von Eitzen U, Mehraein P, Graeber MB. On the question of apoptosis in the parkinsonian substantia nigra. Acta Neuropathol (Berl) 1997;93:105-108.
37. Mogi M, Togari A, Kondo T, Mizuno Y, Komure O, Kuno S. ve ark. Caspase activities and tumor necrosis factor receptor r1 (p55) level are elevated in the substantia nigra from parkinsonian brain. J Neural Transm, 2000;107:335-341.
38. Vila M, Jackson-Lewis V, Vukosavic S, Djaldetti R, Liberatore G, Offen D. ve ark. Bax ablation prevents dopaminergic neurodegeneration in the 1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model of parkinson's disease. Proc Natl Acad Sci USA, 2001;98:2837-2842.
39. Andersen JK. Does neuronal loss in Parkinson's disease involve programmed cell death? BioEssays, 2001; 23: 640-646.
40. Eşer İ. Yaşlılıkta Meydana Gelen Fizyolojik Değişiklikler. Ege Üniversitesi Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi 1991; 7:51–57.
41. Rusk HMD: Rehabilitation Medicine. Saint Louis, The CV Moscopy Company. 1971; p 92-188.
42. Ergin K. Yaşlanmayla İlgili Fizyolojik Değişiklikler. Ege Üniversitesi Hemşirelik Yüksek Okulu Dergisi 1992;8:75-82

43. Cluff LR. Problems of the Health-İmpairment Elderly: A Foundations Expenence in Geriatrics. Journal of American Geriatrics Society 1983; 31(11):665-672
44. Belek. İ.Algılanan Sağlıkta Sınıfsal ve Sosyoekonomik Eşitsizlikler. Antalya'da Bir Alan Araştırması Toplum ve Hekim 1998;13:4. 292–299.
45. -Erdoğan. N. Huzurevi Yaşlıları. Sosyoloji Dergisi. Ege Üniversitesi Edebiyat Fakültesi Yayını 1993;4:157-202.
46. Bilir N. Bulaşıcı Olmayan Hastalıkların Kontrolü ve Yaşlılık Sorunları. Halk Sağlığı Temel Bilgiler Kitabı 2006:359-369, Güneş Kitapevi, Ankara
47. Erdinçer DS. Yaşlıda Koruyucu Hekimlik. Klinik Gelişim 2004; 17(2): 16-24
48. U.S. Department of Health and Human Services. Physical Activity and Health: a Report from the Surgeon General. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, 1996.
49. Türkiye yaşlılarının Durumu ve Yaşlanma Ulusal Eylem Programı, e-kitap, 2007, Erişim Tarihi:30.03.2010.
50. Hipkiss QR. Biological aspects of ageing. Psychiatry 2007; 6(12): 476-479.
51. Sohal RS, Orr WC. Is oxidative stress a causal factor in aging? Molecular aspects of aging (ed. Eser K,Martin GM), pp. 1995; 109-127. Wiley, New York.
52. Sohal RS, Weindruch R., Oxidative Stress, caloric restriction and aging. Science, 1996; 273: 59-63.
53. Wallace DC. Mitokondrial DNA in aging and disease. Scientific American,1997; 277 (2): 40-47.
54. Atlı Z., Biyolojik Yaşlanma. Doktora Semineri, 20s. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2001.
55. Halliwell B, Gutteridge JM.,Free radicals in biology and medicine. Second ed, Oxford, Oxford University Pres.1989.
56. Richter C. Role of miotochondrial DNA modifications in degenerative diseases and aging. Current Topics in Bioenergetics, 1994; 17: 1-19.
57. Weindruch R. Caloric restriction an aging. Scientific American1996; 274: 46-52.
58. Lenaz G. Role of mitochondria in oxidative stress and ageing. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics, 1998, 1366: 53-67.
59. Beckman KB, Ames BN. Endogenous oxidative damage of mtDNA. Mutat Res., 1999;424: 51–58.

60. Pollack M, Leeuwenburgh C. Molecular mechanisms of oxidative stress in aging: free radicals, aging, antioxidants and disease. Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise. Part X, 1999; 30: 881-923.
61. Wickens AP. Ageing and the free fadical theory. Respiration Physiology, 2001;128: 379-391.
62. Heilbronn LK, Ravussin E. American Journal of Clinical Nutrition, 2003; 78: 361–9.
63. Sastre J, Pallardo FV, Vina J. The role of mitochondrial oxidative stress in aging. Free Radical Biology and Medicine, 2003; 35 (1): 1-8.
64. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J., Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation, and disease. FASEB J, 2003; 17: 1195-1214.
65. Evans MD, Cooke MS., Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. BioEssays,2004; 26: 533-542.
66. Lippman RD, Lipid peroxidation and metabolism in aging. In: review of biological research in aging. Ed. Rothstein, M. New York, Alan R. Liss,1983; 1: 315–342.
67. Çatalgöl B, Grune T., Oxidized Proteins As A Biomarker Of Oxidative Stress In Aging And Diseases. Türkiye Klinikleri, J. Med. Sci.,2008; 28: 141-145.
68. Engin A, Altan N., Effects of obstructive jaundice on the antioxidative capacity of human red blood cells. Hematologia,2000; 30 (2): 91-96.
69. Özenirler S, Tuncer C, Ongun CÖ, Altan N, Kandilci U., Activity of Superoxide Dismutase in Erythrocyte of Nonalcoholic Chronic Liver Diseases. General Pharmacology, 1994; 25 (7): 1349-51.
70. Engin A, Bozkurt BS, Altan N, Memiş L, Bukan N., Nitric oxide-mediated liver injury in presence of experimental bile duct obstruction. World Journal of Surgery,2003; 27 (3): 253-5.
71. Yardım-Akaydın S, Sepici A, Özkan Y, Torun M, Şimşek B, Sepici V., Oxidation of Uric Acid in Rheumatoid Arthritis: Is Allontoin a Marker of Oxidative Stress? Free Radical Research,2004; 38 (6): 623-628.
72. Burçak G, Andican G., Oksidatif DNA hasarı ve yaşlanma, Cerrahpaşa J Med, 2004; 35: 159-169.
73. Sen CK. Antioxidant And Redox Regulation Of Cellular Signaling: Introduction. Med Sci Sports Exerc 2001;33:368–70.
74. Karabulut B, Kabakçı T. Serbest Radikaller. Akademi 1995; 1:28-35.
75. Fridowich I. The Biology of Oxygen Radicals. Science 1978; 201:875-877.

76. Cheeseman KH, Slater TF. An İntroduction to Free Radical Biochemistry, Free Radicals in Medicine 1993:81- 493.
77. Bejma J ve Ji L. Aging and Acute Exercise Enhance Free Radical Generation in Rat Skeletal Muscles. J. Appl Physiol 1999; 87(1):465-470.
78. Çakatay U., Telci A. Oksidatif Protein Hasarı ve Saptanmasında Kullanılan Marker'lar. Ist Tıp Fac Mecmuası 2000;63:314-317.2
79. Stadtman ER. Role of Oxidant Species in Aging. Curr Med Chem 2004; 11(9),1105–1112.
80. Zaobornyj T, Valdez LB, La Padula P, Costa LE, Boveris A. Nitric Oxide. 2005;13(1):62.
81. Effect of Sustained Hypobaric Hypoxia During Maturation and Aging on Ratmyocardium. II. mtNOS activity. J Appl Physiol 2005;98(6):2370-5.
82. Shigenaga MK, Hagen TM, Ames BN. Oxidative Damage and Mitochondrial Decay in Aging. Proc Natl Acad Sci USA 1994; 91(23):10771–8.
83. Gülbahar Ö. Protein Oksidasyonunun Mekanizması, Önemi ve Yaşlılıkla İlişkisi. Turkish Journal of Geriatrics 2007; 10(1): 43-48.
84. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. 3rd ed. 1999: New York: Oxford,.
85. Atmaca E, Aksoy A. Oksidatif DNA Hasarı ve Kromatografik Yöntemlerle Tespit Edilmesi. YYU Veteriner Fakültesi Dergisi 2009; 20(2): 79-83.
86. Cankurtaran M. Yaşlılık, yaşlanma mekanizmaları, antiaging ve yaşam tarzı değişiklikleri.
87. Öğüt S., Atay E.Yaşlılık ve oksidatif stres. S.D.Ü. Tıp Fak. Derg. 2012: 19(2)/68-74
88. Çakatay U. Telci A., Yılmaz IA., Tekeli, F., Akçay T.,Sivas A. Yaşlanmanın Plazma Oksidatif ProteinHasarına Etkisi. Cerrahpaşa J Medicine 2000; 31(4), 220-223.
89. Radak Z, Chung HY, Goto S. Exercise and Hormesis: Oxidative Stress-related Adaptation for Successful Aging. Biogerontology 2005; 6(1):71–5.
90. Butterfield DA, Koppal T, Howard B, Subramaniam R, Hall N, Hensley K. ve ark. Structural and functional changes in proteins induced by free radical-mediated oxidative stress and protective action of the antioxidants N-tert-butyl-alpha-phenylnitrone and vitamin E. Ann N Y Acad Sci 1998; 854: 448-462.
91. Sacher GA. Life table modification and life prolongation. In: Handbook of the biology of aging. Ed. Finch, C.E., Hayflick, L. New York, Van Nostrand, 1977; 582-638.
92. Demirsoy A. Yaşlanmanın ve ölümün evrimsel öyküsü. Geriatri 1998; 1(1):1-12.

93. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi 1997; 3-4: 92-95.
94. Balazs L, Leon M. Evidence of an Oxidative Challenge in Alzheimer's Brain. Neurochemical Research 1994; 19.1131–7.
95. Lewen A, Matz P, Chan PH. Free radical pathways in CNS injury. Journal of Neurotrauma 2000;17:871-90.
96. Kurt N. Yaşa bağımlı olarak antioksidan enzimlerin süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) aktivitelerinin ve malondialdehit (MDA) seviyelerinin incelenmesi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi 2008; 2.
97. Miquel J, Economos C, Fleming J, Johnson JE. Mitochondrial role in Cell Ageing. Exp Gerontol 1980;15: 575–591.
98. Wallace DC. Mitochondrial DNA in Aging and Disease. Scientific American 1997; 8: 40-47.
99. Burçak G, Andican G. Oksidatif DNA Hasarı ve Yaşlanma. Cerrahpaşa Tıp Dergisi 2004;35(4); 159-169.
100. Martin GM, Oshima J. Lessons from Human Progeroid Syndromes. Nature 2000; 408: 263–266.
101. Luft R. The Development of Mitochondrial Medicine. Proc Natl Acad Sci USA 1994; 91: 3731-3738.
102. Gürgöze SY, Şahin T, Durak MH. Memelilerde ortalama yaşam süresi ve yaşlanma sürecinde serbest radikallerin rolü. İstanbul Üniv. Vet Fak Derg 2007; 33(1): 43-49.
103. Kim JW, No JK, Ikeno Y, Yu BP, Choi JS, Yokozawa T. ve ark. Age-relatedchanges in redox status of rat serum. Arch Gerontol Geriat 2002; 34: 9-17.
104. Tolmasoff JM, Ono T, Cutler RG. Superoxide dismutase: correlation with life span and specific metabolic rate in primate species. Proceding of the National Academy of Science 1980; 77: 2777–2781.
105. Wickens AP. Ageing and the free fadical theory. Respiration Physiology 2001;128:379–391.
106. Sohal RS. Role of oxidative stres and protein oxidation in the aging process. Free Radical Biology and Medicine 2002; 33(1): 37–44.
107. Garcia-Arumi E, Andreu AL, Lopez-Hellin J, Schwartz S. Effect of oxidative stress on lymphocytes from elderly subjects. Clin Sci 1998; 94: 447-452.
108. Ünal ME, Kanbak, G, Sunal E. Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels related to aging. Clinica Chimica Acta 2001;305:75-80.

109. Gutteridge J.M.C.: Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin. Chem. 41: 1819-1828, 1995.
110. Kehrer J.P., Smith C.V.: Free radicals in biology: sources, reactives and roles in etiology of human diseases. Ed: Frei B., Natural Antioxidants in human health and disease, s: 25-62, Academic Pres, San Diego, 1994.
111. Akkuş İ.: Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza Yayınları Konya, 1995.
112. Davies K. J. A: Oxidative stres: The paradox of aerobic life. Biochem. Soc. Symp. 61: 1-31, 1995
113. Reiter R.J. "Oxidative damage in the central nervous system: Protection by melatonin",Progress in Neurobiology. 56,359-384 (1998).
114. Hilker R, Schweitzer K, Coburger S, Ghaemi M, Weisenbach S, Jacobs AH, et al. Nonlinear progression of Parkinson disease as determined by serial positron emission tomographic imaging of striatal fluorodopa F 18 activity. Arch Neurol 2005;62:378-82.
115. Jankovic J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2008;79:368-76.
116. Gasser T. Genetics of Parkinson's disease. J. Neurol, 2001; 248: 833-840.
117. Ahlskog JE. Diagnosis and differential diagnosis of Parkinson's disease and parkinsonism. Parkinsonism Rel Disord, 2001; 7: 63-70.
118. Yaltkaya K, Balkan, S, Oğuz Y. "Nöroloji Ders Notları", 3.Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık, 1998.
119. Karabudak R. Nöroloji, "Geriatri 2", In: Kutsal Gökçe Y, Çakmakçı M, ve Ünal S. eds. Ankara: Hekimler Yayın Birliği, 1997:702-731
120. Keklikoğlu M, Tuzcu M. "The Merck Manual Tanı/Tedavi El Kitabı", 16. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri LTD. Şti ve Yüce Reklam/Yayım/Dağıtım A.Ş., 1995.
121. Conley SC, Kirchner JT. Parkinson hastalığı-titreyen felç. Sendrom 2000; 12(7): 17-24.
122. Bennett DA, Beckett LA, Murray AM, et al. Prevalence of parkinsonian signs and associated mortality in a community population of older people. N Engl J Med 1996;334:71-76.
123. Morens DAM, Davis JW, Grandinetti A, Ross GW, Popper JS, White LR. Epidemiologic observations on Parkinson's disease: incidence and mortality in a prospective study of middleaged men. Neurology 1996;46:1044-1050.
124. Louis ED, Marder K, Cote L, Tang M, Mayeux R. Mortality from Parkinson disease. Arch Neurol 1997;54:260-264.

125. Fearnley JM, Lees AJ. Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. Brain 1991;114:2283-2301.
126. Kish SJ, Shannak K, Hornykiewicz O. Uneven pattern of dopamine loss in the striatum of patients with idiopathic Parkinson's disease: pathophysiologic and clinical implications. N Engl J Med 1988;318:876-880.
127. Uhl GR, Walther D, Mash D, Faucheux B, Javoy-Agid F. Dopamine transporter messenger RNA in Parkinson's disease and control substantia nigra neurons. Ann Neurol 1994;35:494-498.
128. Gai WP, Blessing WW, Blumbergs PC. Ubiquitin-positive degenerating neurites in the brainstem in Parkinson's disease. Brain 1995;118:1447-1459.
129. Bergeron C, Petrunka C, Weyer L, Pollanen MS. Altered neurofilament expression does not contribute to Lewy body formation. Am J Pathol 1996;148:267-272.
130. Trojanowski J, Lee VMY. Phosphorylation of neuronal cytoskeletal proteins in Alzheimer's disease and Lewy body dementias. Ann N Y Acad Sci 1994;747:92-109.
131. Dexter, D.T., Carter, C.J., Wells, F.R., Javoy-Agid ve ark "Basal lipid peroxidation in substantia nigra increased in Parkinson's disease", /. Neurochem. 52, 381-389 (1989).
132. Chan, P., DeLanny, L.E., Irwin, I., Langston, J.W. and DiMonte, D. "Rapid ATP loss caused by l-methyil-4-phenyl-l,2,3,6-tetrahydropyridine in mouse brain", J. Neurochem. 57,348-351(1991).
133. Acuna-Castroviejo D.,Coto-Montes, A., Monti, M.G., Ortiz, G.G. and Reiter, R J. "Melatonin is protective aganist MPTP-induced strial and hippocampal lesions", Life Sci. 60,PL23-PL29(1997)
134. Mayo, J.C., Sainz, R.M., Uria, H., Antolin, I., Esteban, M. M. And Rodriquez, C. "Melatonin prevents apoptosis induced by 6-hydroxydopamine in neuronal cells: implications for Parkinson's disease", J. Pineal Res. 24,179-192 (1998).
135. Rajput AH, Rozdilsky B, Rajput A. Accuracy of clinical diagnosis in parkinsonism a prospective study. Can J Neurol Sci 1991;18:275-278.
136. Hughes AJ, Daniel SE, Blankson S, Lees AJ. A clinicopathologic study of 100 cases of Parkinson's disease. Arch Neurol 1993;50:140-148.
137. Lang AE, Riley DE, Bergeron C. Cortical-basal ganglionic degeneration. In: Calne DB, ed. Neurodegenerative diseases. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994:877-94.
138. Zhang Z-X, Roman GC. Worldwide occurrence of Parkinson's disease: an updated review. Neuroepidemiology 1993;12:195-208.

139. Manyam BV. Paralysis agitans and levodopa in ‘Ayurveda’: ancient Indian medical treatise. Mov. Disord. 1990;5:47-48
140. Rijk MC, Breteler MMB, den Breeijen JH, et al. Dietary antioxidants and Parkinson disease: the Rotterdam Study. Arch Neurol 1997;54:762-765.
141. Tanner CM, Ottman R, Ellenberg JH, et al. Parkinson's disease (PD) concordance in elderly male monozygotic (MZ) and dizygotic (DZ) twins. Neurology 1997;48:Suppl:A333-A333.
142. Semchuk KM, Love EJ, Lee RG. Parkinson's disease: a test of the multifactorial etiologic hypothesis. Neurology 1993;43:1173-1180.
143. Hughes AJ, Daniel SE, Lees AJ. Improved accuracy of clinical diagnosis of Lewy body Parkinson's disease. Neurology 2001;57:1497-1499.
144. Checkoway H, Nelson LM. Epidemiologic approaches to the study of Parkinson's disease etiology. Epidemiology 1999;10:327-336.
145. Tanner CM, Goldman SM. Epidemiology of Parkinson's disease. Neurol Clin 1996;14:317-335.
146. Gorell JM, Rybicki BA, Cole Johnson C,Peterson EL. Occupational metal exposures and the risk of Parkinson's disease. Neuroepidemiology 1999; 18:303-308.
147. -Rajput AH, Stern W, Christ A, Laverty W. Etiology of Parkinson’s disease: environmental factor(s)(abstract). Neurology 1984; 34(suppl 1):207.
148. Ian Kuijk; Sevanian, A.; Handelman, G. J.; Dratz, E. A. TIBS., 1987, 12 , 3134.
149. Ursini F.; Maiorino, M.; Valente, M.; Ferri, L.; Gregolin, C. Biochim Biophys Acta., 1982, 710, 197-211.
150. Halliwell B., Gutteridge J. M. Arch Biochem Biophys., 1990, 280, 1-8.
151. Kanner, J.; German, J. B.; Kinsella, J. E. Crit Rev Food Sci Nutr., 1987, 25, 317-64.
152. Plachta H, Bartnikowska E, Obara A. Lipid peroxides in blood from patients with atherosclerosis of coronary and peripheral arteries. Clin Chim Acta 1992; 211:101-2
153. Oberley LW: Free radicals and diabetes. Free Radical Biol Med 1988; 5: 113-24
154. Sudha K, Rao AV, Rao A. Oxidative stress and antioxidants in epilepsy. Clin Chim Acta 2001; 303:19-24
155. Fantone JC, Ward PA. Role of oxygen derived free radicals and metabolites in leukocyte dependent inflammatory reactions. Am. J. Pathol 1982; 107: 397-418
156. Sundstrom H, Korpela H, Vinikka L, Kauppila A. Serum selenium and GP and plasma lipid peroxides in uterine, ovarian or vulvar cancer and their responses to antioxidant in patients with ovarian cancer. Cancer Lett 1984; 24: 1-10

157. Barber AA, Bernheimer F. Lipid peroxidation its measurement occurrence and significance in animal tissues. Adv Gerontol Res 1967;2: 355-403.
158. Cohen G. Oygen radicals and Parkinson disease. In: Proceedings of Upjohn Symposium, fed Amer Soc Exp Biol (Bethesda MD) 1987. pp. 130-5
159. Youdim MB, Ben-Shacher D. The possible role of iron in the etiopathology of Parkinson's disease. Mov Disord 1993; 8: 1-12
160. Youdim MB, Riederer P. Understanding Parkinson's disease. Sci Am 1997; 1:38-45
161. Weindruch R. Caloric restriction an aging. Scientific American.1996; 274: 46-52.
162. Pollack M, Leeuwenburgh C. Molecular mechanisms of oxidative stress in aging: free radicals, aging, antioxidants and disease. Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise. Part X.1999; 30: 881-923.
163. Wickens AP, Ageing and the free fadical theory. Respiration Physiology, 2001;128: 379-391.
164. Buettner GR, The pecking order of free radicalsand antioxidants: Lipid peroxidation, α-tocopherol, and ascorbate. Arch Biochem Biophys, 1993; 300: 535-543.
165. Kara İ, Müdüroğlu A., Mitokondri Ve Yaşlanma, Turkiye Klinikleri Journal of Cosmetic Dermatology-Special Topics, 2008; 1 (2): 5-8.
166. Tan DX, Manchester LC, Reiter RJ. A novel melatonin metabolite, cyclic 3-hydroxymelatonin: a biomarker of melatonin interaction with hydroxyl radicals. Biochemical and Biophysical Research Communications. 253: 614–620, 1998.
167. Marklund SL. Analysis of Extracellular Superoxide Dismutase in Tissue Homogenates and Extracellular Fluids. Methods Enzymol 1990; 186: 260-65.
168. Halliwell B. Free Radical, Antioxidants and Human Disease: Curiosity, Cause, Consequence. The Lancet 1994; 344: 721-24.
169. Niwa Y, Ishimato K, Kanoh T. Induction of Superoxide Dismutase in Leukocytes by Paraquat: Correlation with Age and Possible Predictor of Longevity. Blood 1990; 76: 835-41.
170. Lunec J, Blake D. Oxygen Free Radicals: Their Relevance to Disease Processes. In: Cohen RD, Lewis B, Albert KGMM. The Metabolic and Molecular Basis of Acquired Disease. London: Balliere Tindall 1990; 189-212.
171. Kobayaski Y, Ishigame Y, Usui T. Superoxide Dismutase Activity of Human Granulocytes and Lymphocytes. The Lancet 1977; 16: 865-66.
172. Fitzgerald SP, Campbell JJ, Lamont JV. The establishment of reference ranges for selenium. The selenoenzyme glutathione peroxidase and the metalloenzyme superoxide

dismutase in blood fractions. The fifth internatioanl symposium on selenium biology and medicine. Tennessee, USA, 1992, pp20-23.

173. Spallholz JE. Selenium and Glutation Peroxidase: Essential Nutritient and Antioxidant Component of the Immun System. Adv Exp Med Biol 1990; 262:145-58.
174. Blanco-Coronado JL, Repetto M, Ginestal RJ, Vicente JR, Yelamos F, Lardelli A. Acute Intoxication by Endosulfan. J Toxicol Clin Toxicol 1992; 30(4):575-83.
175. Rambabu JP, Rao MB. Effect of an Organochlorine and Three Organophosphate Pesticides on Glucose. Glycogen, Lipid and Protein Contens in Tissues of The Frehswater Snail Bellamya Dissimilis. Bull Environ Contam Toxicol 1994; 53(1): 142-48.
176. Pleban PA, Munyani A, Beachum J. Determination of selenium concentration and glutathione peroxidase activity in plasma and erythrocytes. Clin Chem. 1982, 28;311-316.
177. Kavas GÖ: Reaktif oksijen metabolitlerine fizyopatolojik yaklaşım. The Journal of faculty of medicine 1994; 47:579-592.
178. Kurutas EB: Endosulfanın fare eritrosit antioksidan sistemleri ve malondialdehit düzeyleri üzerine etkisi. ÇÜ Tıp Fak. Derg. 2001; 26:14-19
179. Yeo HC, Helbock HJ, Chyu DN, Ames BN. Assay of malondialdehyde in biological fluids by gas chromatography-mass spectrometry. Anal Biochem. 1994, 220;391-396.
180. Liu J, Yeo HC, Doniger SJ, Ames BN. Assay of aldehydes from lipid peroxidation: gas chromatography-mass spectrometry compared with thiobarbituric acid. Anal Biochem. 1997, 245;161-166.
181. Mateos R, Lecumberri E, Ramos S, Goya L, Bravo L. Determination of malondialdehyde (MDA) by high-performance liquid chromatography in serum and liver as a biomarker for oxidative stres. Application to a rat model for hypercholesterolemia and evaluation of the effect of diets rich in phenolic antioxidants from fruits. J Chromatogr B. 2005, 827;76-82.
182. Reiter RJ. Melatonin: clinical relevance. Best Practice & Research Clinical Endocrinology and Metabolism. 17: 273-285, 2003.
183. Matuszak Z, Reszka KJ, Chignell CF. Reaction of melatonin and related indoles with hydroxyl radicals: ESR and spin trapping investigations. Free Radical Biology & Medicine. 23: 367-372, 1997.
184. Cagnoli CM, Atabay C, Kharlamova E, Manev H. Melatonin protects neurons from singlet oxygen-induced apoptosis. J. Pineal Research. 18: 222-226, 1995.

185. Gilad E, Cuzzocrea S, Zingarelli B, Salzman AL, Szabo C. Melatonin is a scavenger of peroxynitrite. Life Sciences. 60: 169-174, 1997.
186. Pappolla MA, Chyan YJ, Poeggeler B. An assessment of the antioxidant and antiamyloidogenic properties of melatonin: implications for Alzheimer's disease. Journal of Neural Transmission. 107: 203-231, 2000.
187. Kotler M, Rodriguez C, Sainz RM, Antolin I, Menendez-Pelaez A. Melatonin increases gene expression for antioxidant enzymes in rat brain cortex. J Pineal Res. 24(2): 83-9, 1998.
188. Barlow-Walden LR, Reiter RJ, Abe M, Pablos MI, Chen LD, Poeggeler B. Melatonin stimulates brain glutathione peroxidase activity. Neurochemistry International. 26: 497-502, 1995.
189. Sies H, Sharov VS, Klotz LO, Briviba K. Glutathione peroxidase protects against peroxynitrite-mediated oxidations. A new function for selenoproteins as peroxynitrite reductase. J Biol Chem. 31:272(44): 27812-7, 1997.
190. Bettahi I, Pozo D, Osuna C, Reiter RJ, Acuna-Castroviejo D, Guerrero JM. Melatonin reduces nitric oxide synthase activity in rat hypothalamus. J Pineal Res. 20(4): 205-10, 1996.
191. Poeggeler, B., Balzer, I., Hardeland, R. and Lerchl, A. "Pineal hormone melatonin oscillates also in the dinoflagellate, Gonyaulax polyedra", Naturwissenschaften 78, 268-269 (1991).
192. Turgut M, Baka M, Yurtseven M. Pineal gland'dan salgılanan bir nörohormon olan melatoninin etkileri. Arsiv.; 11: 453-70. (2002)
193. Göksel Şener. Karanlığın hormonu: Melatonin. Marmara Eczacılık Dergisi 14: 112-120, 2010.
194. Reiter RJ. Melatonin: Lowering the High Price of Free Radicals. News Physiol. Sci. 15:246-250, 2000.
195. Çam A., Erdoğan M.F. Melatonin. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası.(2003),56(2), 103-112
196. de Bodinat C, Guardiola-Lemaitre B, Mocaer E ve ark. Agomelatine, the first melatonergic antidepressant: discovery, characterization and development. Nature Rev Drug Discov. 2010; 9:628-642.
197. Lopez-Munoz F, Molina JD, Rubio G ve ark. An historical view of the pineal gland and mental disorders. J Clin Neurosci.2011; 18:1028-1037.

198. Arendt J. The Pineal Gland: Basic Physiology andClinical Implications. In: DeGROOT LJ, eds. Endocrinology.3rd. ed. Philadelphia: W.B. Saunders,1995: 433-42.
199. Schmidt F, Penka B, Trauner M ve ark. Lack of Pineal Growth During Childhood. J Clin Endocrinol & Metab. 1995; 80(5): 1882-6.
200. Brzezinski A. Melatonin in humans. N Engl J Med 1997; 336: 186-95.
201. Topal T, Öter Ş, Korkmaz A. Melatonin ve kanserle ilişkisi. Genel Tıp Derg 2009; 19(3):137-143.
202. Reiter RJ. Interactions of the pineal hormone melatonin with oxygencentered free radicals: A brief review. Brazilian J Med Biol Res 1993; 26: 1141-55.
203. Lane AE, Moss HB. Pharmacokinetics of melatonin in man: First pass hepatic metabolism. J Clin Endocrinol & Metab. 1985; 61: 1214-6.
204. Cavallo A, Ristchel WA. Pharmacokinetics of Melatoninin Human Sexual Maturation. J Clin Endocrinol& Metab. 1996; 81(5): 1221-5.
205. Reiter RJ. Melatonin: clinical relevance. Best Practice & Research Clinical Endocrinology and Metabolism. 17: 273-285, 2003.
206. Beyer CE, Steketee JD, Saphier D. Antioxidant properties of melatonin-an emerging mystery Biochemical Pharmacology. 56:1265-1272, 1998.
207. Mollaoğlu H, Özgüner MF. Yaşlanma sürecinde melatonin rolü. SDÜ Tıp Fak. Derg.12(3): 52-56, 2005.
208. Yazıcı C, Köse K. Melatonin: Karanlığın antioksidan gücü. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 13(2): 56-65, 2004.
209. Tan DX, Manchester LC, Reiter RJ. A novel melatonin metabolite, cyclic 3-hydroxymelatonin: a biomarker of melatonin interaction with hydroxyl radicals. Biochemical and Biophysical Research Communications. 253: 614–620, 1998.
210. Manev H, Uz T, Kharlamov A, Joo YY. Increased brain damage after stroke or excitotoxic seizures in melatonin-deficient rats. Faseb. 10(13): 1546-51. (1996)
211. Bubenik GA, Pang SF. The role of seratonin and melatonin in gastrointestinal physiology: ontogeny, regulation of food intake and mutual seratonin-melatonin feedback. J.Pineal Res. ; 16: 91-9 (1994)
212. Kvetnoy I, Sandvik AK, Waldum HL. The diffuse neuroendocrine system and extrapineal melatonin. J Mol Endocrinology.; 18: 1-3. (1997)
213. Hamada T, Ootomi M, Horikawa K, Niki T, Wakamatu H, Ishida N. The expression of the melatonin synthesis enzyme: Arylalkylamine N-Acetytransferases in the

suprachiasmatic nucleus of rat brain. Biochem and Biophys Res Commun.; 258: 772-7.(1999)

214. Konturek SJ, Konturek PC, Brzozowska I, Pawlik M, Sliwowski Z, Czeinikiewicz-ve ark. Localization and biological activities of melatonin in intact and diseased gastrointestinal tract (GIT). J Physiol Pharmacol, 58: 381-405, 2007.
215. Mollaoğlu H, Özgüner MF. Yaşlanma sürecinde melatonin rolü. SDÜ Tıp Fak. Derg.12(3): 52-56, 2005.
216. Vanecek J. Cellular mechanisms of melatonin action. Physiol Rev 1998; 78(3): 687-721.
217. Reiter RJ. Neuroendocrine effects of light. Int J Biometeorol,35: 169-175, 1991.
218. Bülbüller N, Doğru O, Umaç H, Gürsu F, Akpolat N. The effects of melatonin and pentoxiphylline on L-arginine induced acute pancreatitis. Ulus Travma Acil Cerrahi Derg. 2005; 11:108-114.
219. Topal T, Öter Ş, Korkmaz A. Melatonin ve kanserle ilişkisi. Genel Tıp Derg 2009; 19(3):137-143
220. Weaver DR, Stehle JH, Stopa EG ve ark. Melatonin Receptors in Human Hypothalamus and Pituitary: Implications for Circadian and Reproductive Responses to Melatonin. J Clin Endocrinol & Metab.1993; 76(2): 295-300.
221. Morgan PJ, Williams LM. Central melatonin receptors; implications for a mode of action. Experientia 1989; 45: 955-65.
222. Sugden D, Chong NWS. Pharmacological identity of 2-(125-I) iodomelatonin binding sites in chicken brain and sheep pars tuberalis. Brain Res. 1991; 539; 151-4.
223. Tan DX, Manchester LC, Terron MP, Flores LJ, Reiter RJ. One molecule, many derivatives: a never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species? J Pineal Res, 42:28-42, 2007.
224. Touitou Y, Auziby A, Camus F, Djeridane Y. Daily profiles of salivary and urinary melatonin and steroids in healthy prepubertal boys. J Pediatr Endocrinol Metab, 22:1009-1015, 2009.
225. Penev PD, Zee PC. Melatonin: a clinical perspective. Ann Neurol 42: 545-553, 1997.
226. Dubocovich ML, Masana MI, Iacob S, Sauri DM Melatonin receptor antagonists that differentiate between the human Mel1a and Mel1b recombinant subtypes are used to assess the pharmacological profile of the rabbit retina ML1 presynaptic heteroreceptor. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol,355: 365–375, 1997.

227. Reppert SM, Weaver DR, Godson C. Melatonin receptors step in to the light: Cloning and classification of subtypes. Trends Pharmacol Sci,17: 100-102, 1996.
228. Song Y, Chan CW, Brown GM, Pang SF, Silverman M. Studies of the renal action of melatonin: Evidence that the effects are mediated by 37 kDa receptors of the Mel1a subtype localized primarily to the basolateral membrane of the proximal tubule. FASEB J, 11: 93-100, 1997.
229. Dubovich ML. Melatonin receptors: Are there multiple subtypes? Tredns Pharmacol Sci, 16: 50-56, 1995.
230. Beyer CE, Steketee JD, Saphier D. Antioxidant properties of melatonin-an emerging mystery. Biochem Pharmacol,56:1265-1272, 1998.
231. Reiter RJ. Neuroendocrine effects of light. Int J Biometeorol,35: 169-175, 1991.
232. Jahovic N, Cevik H, Sehirli AO, Yeğen BC, Sener G. Melatonin prevents methotrexate-induced hepatorenal oxidative injury in rats. J Pineal Res, 34: 282-287, 2003.
233. Çam A.,Erdoğan M.F. Melatonin. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası.(2003),56(2), 103-112
234. Arendt J. Melatonin. Clin Endocrinol 1988; 29: 205-229.
235. Cassone WM. Effects of melatonin on vertebrate circadian systems. Trends Neurosci. 1990; 13: 457-63.
236. Rusak B, Zucker I. Neural regulation of circadian rhythms. Physiol Rev. 1979; 59: 449-526.
237. Arendt J. Mammalian pineal rhythms. Pineal Res Rev. 1985; 3: 161-213.
238. Lewy AJ, Wehr TA, Goodwin FK ve ark. Light supresses melatonin secretion in humans. Science1980; 210: 1267-9.
239. Arendt J. Melatonin. Clin Endocrinol 1988; 29: 205- 229.
240. Nickelsen T, Lang A, Bergau L. The effect of 6-, 9-and 11-hour time shifts on circadian rhythms: Adaptation of sleep parameters and hormonal patterns following the intake of melatonin or placebo. Adv Pineal Res. 1991; 5: 303-6.
241. Kirby AW, Clayton M, Rivera P ve ark. Melatonin and the Reduction or Alleviation of Stress. J. PinealRes. 1999; 27: 78-85.
242. Folkard S, Arendt J, Clark M: Can Melatonin İmprove Shiftworkers Tolerans of the Night Shift? Some Preliminary Findings. Chronobiol Int.
243. Dahlitz M, Alvarez B, Vignau J ve ark. Delayed Sleep Phase Syndrome Response to Melatonin. Lancet 1991; 1: 1121-4.

244. Arendt J, Aldhous M. Synchronisation of a Disturbed Sleep-wake Cycle in a Blind Man by Melatonin Treatment. Lancet 1988; 2: 772-3.
245. Ferguson SA, Rajaratnam SM, Dawson D. Melatonin agonists and insomnia. Expert Rev Neurother, 10: 305-318,2010.
246. Anonymous, 2004, Night Time Milk with melatonin.(New Products) (functionaldairy company), Nutraceuticals World, April.
247. Veli GÖK, Ahmed KAYACIER, Raziye TELLİ. Hayvansal Ve Mikrobiyal Kaynaklı Doğal Antioksidanlar. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi 2006 (2) 35-40
248. Reiter RJ. Potential biological consequences of excessive light exposure: melatonin suppression, DNA damage, cancer and neurodegenerative diseases. Neuro Endocrinol Lett, 23 Suppl 2:9-13, 2002.
249. Claustrat B, Brun J, Geoffriau M, Chazot G. Melatonin:from the hormone to the drug? Restor Neurol Neurosci, 12:151-157, 1998.
250. Lino A, Silvy S, Condorelli L, Rusconi AC. Melatonin and jet lag: treatment schedule. Biol Psychiatry, 34: 587, 1993
251. Fanget F, Claustrat B, Dalery J ve ark. Nocturnal plasma melatonin levels in schizophrenic patients. Biol Psychiatry,1989; 25:499-501.
252. Hickie IB, Rogers NL., Novel melatonin-based therapies: potential advances in the treatment of major depression Lancet,2011; 378:621-631.
253. Maldonado MD, Reiter RJ, Perez-San-Gregorio MA.,Melatonin as a potential therapeutic agent in psychiatric illness. Hum Psychopharmacol, 2009; 24:391-400.
254. Maestroni GJM. The immunoendocrine role of melatonin. J Pineal Res, 19: 149-165, 1995.
255. Wichmann MW, Zelleneger R, DeMaso CM, Ayala A,Chaudry IH. Melatonin administration attenuates depressed immune functions after trauma-hemorrhage. J Surg-Res, 63: 256-262, 1996.
256. Maestroni GJM. T-Helper-2 lymphocytes as a peripheral target of melatonin. J Pineal Res, 18: 84-89, 1995.
257. Reiter RJ, Maestroni JM. Melatonin in relation to the antioxidative defense and immune systems: possible implications for cell and organ transplantation. J Mol Med, 77:36-39, 1999.
258. Reiter RJ, Calvo JR, Karbownik M, QI W, Tan DX. Melatonin and its relation to the immune system and inflammation. Ann N Y Acad Sci, 917: 376-386, 2000.

259. Lissoni P. Is there a role for melatonin in supportive care?. Support Care Cancer. 2002;10:110116.
260. Katzung B.G. 2001. Basic&Clinical Pharmacology, 8th.Ed., New York: McGraw-Hill medical Publishing Division.2001.
261. Veli GÖK, Ahmed KAYACIER, Raziye TELLİ. Hayvansal Ve Mikrobiyal Kaynaklı Doğal Antioksidanlar. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi 2006 (2) 35-40
262. Maldonado MD, Reiter RJ, Perez-San-Gregorio MA. Melatonin as a potential therapeutic agent in psychiatric illness. Hum Psychopharmacol.2009; 24: 391-400.
263. Gupta DD, Riedel L, Frick JH ve ark. Circulating melatonin in children: In relation to puberty, endocrine disorders functional tests and racial origin. Neuroendocrinol Lett. 1983; 5: 63-78.
264. Waldhauser F, Frisch H, Waldhauser M ve ark. Fall in nocturnal serum melatonin during prepuberty and pubescence. Lancet 1984; 1: 362-5.
265. Iguchi M, Kato K, Ibayashi M. Age dependent reductionin serum melatonin concentration in healthy human subjects. J Clin Endocrinol & Metab. 1982; 55: 27-9.
266. Waldhauser F, Weiszenbacher G, Tatzer E ve ark. Alternations in Nocturnal Serum Melatonin Levels in Humans with Growth and Aging. J Clin Endocrinol & Metab. 1988; 66(5): 648-52.
267. Armstrong SM, Redman JR. Melatonin: A Chronobiotic with Anti-Aging Properties? Medical Hypotheses 1991; 34: 300-9. -Gupta DD, Riedel L, Frick JH ve ark. Circulating melatonin in children: In relation to puberty, endocrine disorders functional tests and racial origin. Neuroendocrinol Lett. 1983; 5: 63-78.
268. Waldhauser F, Frisch H, Waldhauser M ve ark. Fall in nocturnal serum melatonin during prepuberty and pubescence. Lancet 1984; 1: 362-5.
269. Iguchi M, Kato K, Ibayashi M. Age dependent reductionin serum melatonin concentration in healthy human subjects. J Clin Endocrinol & Metab. 1982; 55: 27-9.
270. Waldhauser F, Weiszenbacher G, Tatzer E ve ark. Alternations in Nocturnal Serum Melatonin Levels in Humans with Growth and Aging. J Clin Endocrinol & Metab. 1988; 66(5): 648-52.
271. Armstrong SM, Redman JR. Melatonin: A Chronobiotic with Anti-Aging Properties? Medical Hypotheses 1991; 34: 300-9.
272. Lieberman HR, Waldhauser F, Garfield G, et al. Effects of melatonin on human mood and performance. Brain Res 1984; 323: 201-7.

273. Maestroni GJ. The immunoneuroendocrine role of melatonin. J Pineal Res 1993; 14: 1-10.
274. Maestroni GJM, Conti A, Lissoni P. Colony-stimulating activity and hematopoietic rescue from cancer chemotherapy compounds are induced by melatonin via endogenous interleukin 4. Cancer Res 1994; 54: 4740-3.
275. Brzezinski A, Lynch HJ, Seibel MM, et al. The circadian rhythm of plasma melatonin during the normal menstrual cycle and in amenorrhcic women. J Clin Endocrinol Metab 1988; 66: 891-5.
276. Voordouw BCG, Euser R, Verdonk RBR, et al. Melatonin and melatonin progestin combinations alter pituitary ovarian function in women and can inhibit ovulation. J Clin Endocrinol Metab 1992; 74: 108-17.
277. Brzezinski A, Lynch HJ, Seibel MM, et al. Melatonin in human preovulatory follicular fluid. J Clin Endocrinol Metab 1987; 64: 865-7.
278. Yie SM, Niles LP, Younglai EV. Melatonin receptors on human granulosa cell membranes. J Clin Endocrinol Metab 1995; 80: 1747-9.
279. Yazıcı C, Köse K. Melatonin: Karanlığın antioksidan gücü. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 13(2): 56-65, 2004.
280. Halliwell B. "Free radicals and antioxidants: a personal view", Nutr. Rev. 52, 253-265 (1994).
281. Yalçın S. Antioksidanlar, Klinik Gelisim,11,342-6 (1998)
282. Beyer CE, Steketee JD, Saphier D. Antioxidant properties of melatonin-An emerging mystery. Biochem Pharmacol.; 56: 1265-72. (1998)
283. Reiter RJ. Functional diversty of the pineal hormone melatonin: its role as an antioxydant. Exp clin endocrinol 1996; 104: 10-6.
284. Kotler M, Rodriquez C, Sainz RM, Antolin I, Menendez-Pelaez A. Melatonin increases gene expression for antioxidant enzymes in rat brain cortex. J Pineal Res 1998; 24: 83-89.
285. Reiter RJ, Maestroni JM. Melatonin in relation to the antioxidative defense and immune systems: possible implications for cell and organ transplantation. J Mol Med, 77:36-39, 1999.
286. Reiter RJ, Paredes SD, Korkmaz A, Manchester LC, Tan DX. Melatonin in relation to the “strong” and “weak” versions of the free radical theory of aging. Adv Med Sci,53:119-129, 2008.

287. Reiter RJ, Paredes SD, Manchester LC, Tan DX. Reducing oxidative/nitrosative stress: a newly-discovered genre for melatonin. Crit Rev Biochem Mol Biol, 44: 175-200, 2009.
288. Pieri C, Marra M, Moroni F, Recchioni R, Marcheselli F. Melatonin: a peroxyl radical scavenger more effective than vitamin E. Life Sci, 55: 271-276, 1994.
289. Escames G, Guerrero JM, Reiter RJ, Garcia JJ, Munoz- Hoyos A, Ortiz GG, et al. Melatonin and vitamin E limit nitric oxide-induced lipid peroxidation in rat brain homogenates. Neurosci Lett, 230: 147-150, 1997.
290. Reiter RJ, Tan D-X, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. J Biomed Sci, 7: 444-458, 2000.
291. Reiter RJ, Tan DX, Terron MP, Flores LJ, Czarnocki Z. Melatonin and its metabolites: new findings regarding their production and their radical scavenging actions. Acta Biochim Pol, 54: 1-9, 2007.
292. Reiter RJ, Calvo JR, Karbownik M, QI W, Tan DX. Melatonin and its relation to the immune system and inflammation. Ann N Y Acad Sci, 917: 376-386, 2000.
293. Reiter RJ, Tan DX, Erren TC, Fuentes-Broto L, Paredes SD. Light-mediated perturbations of circadian timing and cancer risk: a mechanistic analysis. Integr Cancer Ther, 8:354- 360, 2009.
294. Gilad E, Cuzzocrea S, Zingarelli B, Salzman AL, Szabo C. Melatonin is a scavenger of peroxynitrite. Life Sci, 10: 169-174, 1997.
295. Şener G, Sehirli AO, Keyer-Uysal M, Arbak S, Ersoy Y,Yeğen BC. The protective effect of melatonin on renal ischemia-reperfusion injury in the rat.J Pineal Res, 32: 120-126, 2002.
296. Şener G, Sehirli AO, Satiroğlu H, Keyer-Uysal M, C Yeğen B. Melatonin improves oxidative organ damage in a rat model of thermal injury.Burns, 28: 419-425, 2002.
297. Şener G, Tosun O, Sehirli AO, Kaçmaz A, Arbak S, Ersoy Y. ve ark. Melatonin and N-acetylcysteine have beneficial effects during hepatic ischemia and reperfusion. Life Sci, 72: 2707-2718, 2003.
298. Şener G, Toklu H, Kapucu C, Ercan F, Erkanli G, Kaçmaz A,ve ark. Melatonin protects against oxidative organ injury in a rat model of sepsis. Surg Today, 35: 52-59,2005.
299. Kaçmaz A, User EY, Sehirli AO, Tilki M, Ozkan S, Sener G. Protective effect of melatonin against ischemia/reperfusion-induced oxidative remote organ injury in the rat. Surg Today, 35: 744-750, 2005.

300. Reiter RJ, Carneiro RC, Oh C-S. Melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanisms. Horm Metab Res, 29: 363-372,1997.
301. Reiter RJ, Tan DX, Kim SJ, Wenbo QI. Melatonin as a pharmacological agent against oxidative damage to lipids and DNA. Proc West Pharmacol Soc 1998; 41: 229-36.
302. Beyer CE, Steketee JD, Saphier D. Antioxidant properties of melatonin-an emerging mystery. Biochem Pharmacol 1998; 56: 1265-72.
303. Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. J Biomed Sci 2000; 7: 444-58.
304. Tan DX, Manchester LC, Hardeland R, Lopez-Burillo S, Mayo JC, Sainz RM. Ve ark. Melatonin: a hormone, a tissue factor, an autocoid, a paracoid, and an antioxidant vitamin. J Pineal Res 2003; 34: 75-78.
305. Ateş Alagöz Z., Süzen S. Santral Sinir Sisteminin Oksidatif Hasarı Ve Melatonin Tarafından Korunması. Ankara Ecz. Fak. Derg.30 (3) 47-62 2001
306. Beutler E: Red Cell Metabolism. A manual of biochemical methods. 2nd edition, Grune and Stratton Inc New York; 1975.
307. Fridovich I: Superoxide dismutase. Adv Enzymol.1974; 4: 35-97.
308. Reiter RJ Melchiorri D, Sewerynek E, Poeggeler B, Barlow-Walden L, Chuang J. ve ark. A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. J Pineal Res, 19: 149-165, 1995.
309. Mc Cord. Oxygen-derived Free Radicals in Postischemic Tissue İnjury. P.159–163. Ed. F. H. Epstein. İn (Mechanism of disease), The New England Journal of Medicine. 1985; 17.
310. Horgan MJ, Ge M, et. al. Role of ICAM–1 in neutrophil mediated vascular injury after occlusion and reperfusion. Am J Physiol. 1991; 259: L315-L319.
311. Carlos TM, Harlan JM. Leukocyte endotelial adhesion molecules. Blood. 1994; 84: 2068–2101.
312. Chan K.L. Role of nitric oxide in ischemia and reperfusion injury. Current Medicinal Chemistry-Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents. 2002; 1(1):1–13.
313. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. Oxford, Oxford University 1999.
314. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. Am J Med. 1991; 91: 14S-22S.
315. Dizdaroğlu M. Mechanisms of Oxidative DNA Damage; Lesion and Their Measurement. Kluwer Academic/Plenum Publihers. 1999; 302: 67–87.

316. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya Mimoza Yayınları, 1. Baskı, 1995; 1–84.
317. Mccord JM. The evolution of free radicals and oxidative stres. Am J Med. 2000; 108: 652–659.
318. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. J Clin Chem. 1995; 42: 18–19.
319. Mayer B, Hemmens B. Biosynthesis and action of nitric oxide in mammalian cells. TIBS. 1997; 22: 477–481.
320. Utsumi K, Takehara Y, Inai Y, at. al. Oxygen-dependent regulation of biological functions by nitric oxide. The mitochondrial production of oxygen radicals and cellular aging. Understanding the process of aging ed. by/Cadenas E Packer L 15th. Ed. New York 1999; 60.
321. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? Lancet. 1994; 344: 721–724.
322. Canbaş A. Gıda Bil. Ve Teknolojisi. Ziraat Fakültesi Yayını No: 78 Ç.Ü. Adana 1983.
323. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide, Physiology, patophysiology, and pharmacology. Pharmacol Rev. 1991 Jun; 43(2): 109–42.
324. Sies H, De Groot H. Role of Reactive Oxigen Species in Toxicity. J Toxicology. 1992; 64 (65): 547–51.
325. lkeda J. Lipid Peroxidation Products And Carcinogenesis, 1993; 76: 1235–1240.
326. Greenstock C.L. Radiation and aging: Free radical damage, biological response and possible antioxidant intervention. Med Hypotheses. 1993; 41: 473–482.
327. Bıshop ML, Janet LP. Free radicals in clinical Chemistry: Principles, Procedures, Correlations. Third edition. Philadelphia New York 1996; 765–777.
328. Parks DA, Granger DN. Xanthine oxidase: Biochemistry, distribution, physiology. Acta Physiol Scand (suppl). 1986; 548: 87–99.
329. Jarasch ED, Bruder G, Heid HW. Significance of xanthine oxidase in capillary endothelial cells. Acta Physiol Scand (suppl). 1986; 548: 39–46.
330. Grisham MB, Hernandez LA, Grander DN. Xanthine oxidase and neutrophil infiltration in intestinal ischaemia. Am J Physiol. 1988; 251: G567- G574.
331. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. Am J Surg. 1991; 161(4): 488–503.

332. Lorente L, Aller MA, Arias JL, at. al. Clinical biology of nitric oxide. Br J Surg. 1996; 83(7): 1010–1.
333. Mead J. Free radical mechanisms in lipid peroxidation and prostaglandins. Free radical in moleculer biology. J Aging and disease. 1984; 65(24): 53–66.
334. Natarajan V. Oxidants and signal transduction in vasculer endothelium. J Clin Med. 1995; 125(35): 26–37.
335. Ball S, Weindruch R, Walford L. Antioxidants and immun response. J Free radicals Aging and Dejenerative Diseases. 1986; 427–456.
336. Van der Vliet A, Bast A. Effect of oxidative stress on receptors and signal transmission. Chem Biol Interact. 1992; 85: 95–116. .
337. Urso M.L, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. Toxicology. 2003; 189: 41–54.
338. Uchida K. Role of reactive aldehyde in cardiovasculer diseases, Free Radical Biology and Medicine. 2000; 28: 1685–1696.
339. Uchida K. 4-Hydroxy–2-Nonenal: A product and mediator of oxidative stress, Progr. Lip Res. 2003; 569: 1–26.
340. Kaynak K. Akciğer kanserinde oksidatif hasarın rolü. Solunum. 2002; 4: 468–473.
341. Baykal Y, Kocabalkan F. Serbest radikaller ve hücre hasarı. Sendrom. 2000; 9: 31–9.
342. Kavas GÖ. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. Türkiye klinikleri. 1989; 1: 1–8.
343. Lefer DJ, Scalia R, et. al. Peroxynitrite inhibits leukocyte-endothelial cell eractions and protects against ischaemia-reperfusion injury in rats. J Clin İnvest. 1997; 4: 684–691.
344. Most D, Hoyt J, et. al. Parenchymal cytokine expression precedes clinically observed ischaemia in dorsal flaps in the rat. Plast Reconstr Surg. 1996; 98: 856–861.
345. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase: An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). J Biol Chem. 1969; 244(22): 6049–55.
346. Karabiga M. Aprotinin'in Deneysel Aortik İskemi Reperfüzyon Modelinde Böbrek Hasarı Üzerine Etkisi. T. C. Süleyman Demirel Ü. Tıp Fak. Uzmanlık tezi, Isparta 2006.
347. Mates JM, Sanchez-Jimenez F. Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. Frontiers in Bioscience. 1999; 4: 339–345.
348. Whittaker M, Whittaker JW. A glutamate bridge is essential for dimmer stability and metal selectivity in manganese superoxide dismutase. J Biol Chem. 1998; 273: 22188–22193.

349. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, at. al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem Biol Interact. 2006; 160(1): 1–40.
350. Drevet JR. The antioxidant glutathione peroxidase family and spermatozoa: A complex story. Mol Cell Endocrinol. 2006.
351. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. J Lab Clin Med. 1967; 70 (1): 158–69.
352. Shidhu P. Protective role of zinc in nickel induced hepatotoxicity in rats. Chemico-Biological Interactions. 2004; 150: 199–209.
353. Liebert J, Matlawska I, Bylka W, at. al. Protective effect of aquilegia vulgaris on APAP induced oxidative stress in rats. J Ethnopharm. 2005; 97: 351–358.
354. Sözmen E.Y. Yaşlanma Biyokimyası. Onat T, Emerk K, Sözmen ET (editörler). İnsan Biyokimyası. 1.Baskı, Ankara 2002; 667–672.
355. Steinberg D. Is there a potential therapeutic role for vitamin E or other antioxidants in atherosclerosis? Curr Opin Lipitol. 2000 Dec; 116: 603–7.
356. Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. Annu Rev Nutr. 1996; 16: 33–50.
357. Wang X, Quinn PJ. Vitamin E and it's function in membranes. Prog Lipit Res. 1999 Jul; 384: 309–36.
358. Mendiratta S, Zhi-chao QU, James M. Enzyme Dependent Ascorbate Recycling in Human Erythrocytes: Role of Thioredoxin Reductase, Free Radical Biology and Medicine. 1998 Jul; 252: 221–228.
359. Gruszecki WI, Strzalka K. Carotenoids as modulators of lipit membrane physical properties. Biochim Biophys Acta. 2005 May 30; 17402: 108–15. .
360. Droge K, Schulze-Osthoff S, Mihm D, at. al. Functions of glutathione and glutathione disulfide in immunology and immunopathology. FASEB J. 1994; pp.1131–1138.
361. Haddad JJ, Olver RE, Land SC. Antioxidant/pro-oxidant equilibrium regulates HIF-1İ and NF-İB redox sensitivity. Evidence for inhibition by glutathione oxidation in alveolar epithelial cells. J Biol Chem. 2000; 275 (28): 21130–21139.
362. Becker BF, Reinholz N, Leipert B, at. al. Role of uric acid as an endogenous radical scavenger and antioxidant. Chest. 1991; 100: 176–181.
363. Leon J, Acuna-Castroviejo D, Sainz RM, at. al. Melatonin and mitochondrial function. Life Sci. 2004; 75(7): 765–90.

364. Hardeland R, Reiter RJ, Poeggeler B,at. al. The significance of the metabolism of the neurohormone melatonin: antioxidative protection and formation of bioactive substances. Neurosci Biobehav Rev. 1993; 17(3): 347–57.
365. Ranjana Singh ve ark.. Circadian periodicity of plasma lıpıd peroxides and antı-oxidan enzymes ın pulmonary tuberculosis.Indian Journal of Clinical Biochemistry,2004,19(1) 14-20
366. Magda Tsolaki ve ark. Are Serum Melatonin Levels a Marker for the Diferential Diagnosis of Dementia.German Journal of Psychiatry 2001,24-28
367. Videnovic et al. Circadian Melatonin Rhythm and Excessive Daytime Sleepiness in Parkinson's Disease. JAMA Neurol.2014 April;71(4):463-469

8. ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1: Mitokondri membranı harabiyeti ve farklı uyarılarla oluşan apoptoz.....5
Şekil 2: Apoptoz etki mekanizması.....6
Şekil 3; Panel A: Substantia nigra dopaminerjik nöron sitoplazması içinde Lewy body (hematoxylin–eosin and Luxol fast blue, x100). 13
Şekil 4: Bazı Serbest Radikaller 16
Şekil 5: XD-XO'a dönüşümü ve serbest oksijen radikallerinin oluşumu 25
Şekil 6: Lipit peroksidasyonu ile oluşan aldehitler.....30
Şekil 7: Mitokondriyel ROM, Oksidatif mtDNA Hasarı ve Yaşlanma 31
Şekil 8: Melatoninin antioksidan özellikleri.....44
Şekil 9: Melatoninin moleküler yapısı 45
Şekil 10: Melatoninin pinealositlerde sentezi ve salgılanması 48
Şekil 11: Pineal bezde melatonin sentezinin retinal kontrolü 49
Şekil 12: Melatoninin pineal bezden aydınlık-karanlık döngüsüne göre salgılanma 52
Şekil 13: Karanlık/ aydınlık uyarı ile melatonin sentezinin düzenlenmesi.....52
Şekil 14: Melatoninin ritm düzenleyici rolü.....53
Şekil 15: Parlak ışığın (□) melatonin salıverilmesine etkileri. a) Salıverilmenin inhibisyonu b) Faz kayması. c) Erken faz) Faz daralması.....54
Şekil 16: Genç yetişkinlerde plazma melatonin(MT) ve 6-sulfatoksimelatonin (aMT6s) konsantrasyonu ile birlikte 24 saatlik üriner aMT6s atılımı 57
Şekil 17: β -karoten, Askorbik asit,α-tokoferol (Vit E),Glutatyon 59
Şekil 18: Malondialdehit standart eğrisi.....63
Şekil 19: Melatonin standart eğrisi 66
Şekil 20: Hasta-Kontrol Gruplarında Sabah Mda Düzeyleri.....71
Şekil 21: Kontrol Grubunda Sabah-Akşam Mda Düzeyleri.....72
Şekil 22: Hasta-Kontrol Gruplarında Akşam Mda Düzeyleri 72
Şekil 23: Hasta Grubunda Sabah-Akşam Mda Düzeyleri 73
Şekil 24: Hasta-Kontrol Grubunda Sabah Sod Düzeyleri 73
Şekil 25: Hasta-Kontrol Gruplarında Akşam Sod Düzeyleri 74
Şekil 26: Kontrol Grubunda Sabah-Akşam Sod Düzeyleri.....74

Şekil 27: Hasta Grubunda Sabah-Akşam Sod Düzeyleri 75
Şekil 28: Hasta-Kontrol Gruplarında Sabah Gsh-px Düzeyleri 75
Şekil 29: Hasta-Kontrol Gruplarında Akşam Gsh-px Düzeyleri 76
Şekil 30: Kontrol Grubunda Sabah-Akşam Gsh-px Düzeyleri 76
Şekil 31: Hasta Grubunda Sabah-Akşam Gsh-px Düzeyleri 77
Şekil 32: Hasta- Kontrol Gruplarında Sabah Melatonin Düzeyleri 77
Şekil 33: Hasta-Kontrol Gruplarında Akşam Melatonin Düzeyleri 78
Şekil 34: Kontrol Gruplarında Sabah-Akşam Melatonin Düzeyleri 78
Şekil 35: Hasta Grubunda Sabah-Akşam Melatonin Düzeyleri 79

9. TABLOLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1. Serbest radikaller ve yol açtığı reaksiyonlar 17
Tablo 2. Oksijen türevi bileşikler 18
Tablo 3: Fagositlerin ürettiği reaktif oksidan ürünler.....27
Tablo 4: Antioksidan savunma mekanizması.....37
Tablo 5:Bazı biyolojik oluşumlar üzerine melatoninin etkilerini açıklayan mekanizmalar 60
Tablo 6: MDA standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı.....63
Tablo 7: Serumda MDA düzeyinin tayini için tüplerin hazırlanışı 64
Tablo 8: Hasta ve kontrol grubuna ait demografik özelliklerin karşılaştırılması.....69
Tablo 9: Hasta Ve Kontrol Grubuna Ait Biyokimyasal Parametrelerin Karşılaştırılması (ort ± SS).....70
Tablo 10: Hastalara ait Biyokimyasal parametrelerin Sabah ve Akşam değerlerinin Karşılaştırılması.....70
Tablo 11: Kontrol Grubuna Ait Biyokimyasal Parametrelerin Sabah Ve Akşam Değerlerinin Karşılaştırılması.....71

10.EKLER

Ek1.

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZ ÖNERİSİ BİLDİRİM FORMU

(Form eksiksiz olarak bilgisayar ortamında doldurulmalıdır)

Öğrencinin

Adı ve Soyadı : Gülcan HASKAYA
Numarası : 11SBTB66
Alınma Düzeyi : Yüksek Lisans ☒
Tez Danışmanı : Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN
Ana Bilim Dalı : TIBBİ BİYOKİMYA AD.
Enstitüye Kayıt Tarihi : 05.09.2011

Tez Konusu Başlığı :
Parkinson Hastalığında Oksidatif Stres ve Melatonin Düzeyleri

Tezin Önemi ve Özgün Değeri :

Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin) epifiz bezi tarafından salgılanan doğal bir hormondur. Geçmişte, yoğun araştırmalar yapılarak nörodejeneratif hastalıkların deneysel modellerinde melatoninin yararlı etkileri göstermiştir. Beyin oksidatif hasarı ile ilgili hastalıkların patogenezinde ortak bir bağ olduğu ortaya çıkarılmıştır.

Antioksidan savunma sistemi; serbest radikaller ve ilgili ürünlere dolaylı yoldan etki eden "antioksidan enzimler" ve doğrudan etki eden "melatonin gibi düşük ağırlıklı moleküllerden" oluşmaktadır. Vücutta, serbest radikaller (oksidan maddeler) ile antioksidan savunma sistemi arasında bir denge vardır ve bu dengenin oksidanların lehine bozulması durumuna 'oksidatif stres' denmektedir.

Melatoninin uyku üzerine etkilerinin muhtemelen kronobiyolojik etkiler olduğu ve ayrıca melatoninin damarlarda vazodilatör etkiye bağlı olarak iç ısıyı düşürerek uykuyu indüklediği, uykuya dalış süresini kısalttığı ve uyku kalitesini arttırdığı bilinmektedir. Yaşlanma ile birlikte sinir sistemindeki gerileme fizyolojik yaşlanma ve nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili olup en iyi gösterge hafıza ve kognitif fonksiyonlarda kayıplardır. Serbest radikallerin yaşlanma ile ilişkisi günümüzde en güncel konulardandır.

Beyin dokusunun oksidatif hasara oldukça duyarlı olması, yaşlanma ile birlikte makromoleküllerde oksidatif hasar birikimi ve inflamasyon gelişimi melatonin tedavisinin yaşa bağlı Santral Sinir Sistemi (SSS) fonksiyonlarındaki değişime karşı koruyucu olabileceğini düşündürmüştür.

Parkinson hastalarında uyku bozuklukları sıkça görülür ve bu durum uzun zamandır tanımlanmaktadır. Parkinson hastalığının intrensek patofizyolojisi, uyku bozukluğunun muhtemel ana etmenlerinden biridir. Parkinson hastalığındaki uykusuzluk sıklıkla uykuya dalmada zorluk olarak kendi gösterir ve depresyon ya da anksiyetesi olan Parkinson hastalarında bu durum daha belirgindir. Ayrıca yaşlanma ile birlikte melatonin düzeyi azalmaktadır ve akşam saatlerindeki melatonin düzeylerinin daha fazla olduğu bilinmektedir. Diğer yandan Parkinson hastalarında akşam ve gündüz melatonin düzeyleri ve oksidatif stres parametreleri arasındaki ilişki hiç araştırılmamıştır. Bu konu ile ilgili bir çalışmanın olmaması, bu konuda yapılacak çalışmalara gerekçe teşkil etmektedir.

Çalışmamızda; klinik olarak Parkinson hastalığı tanısı konulmuş hastalardan alınan kan örnekleri ve Parkinson hastalığı bulunmayan kontrol grubu kan örneklerinde, melatonin düzeylerinin değişimini ve oksidatif stres biyomarkerlarının düzeyleri arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçladık.

Parkinson hastalığı, en sık görülen nörodejeneratif hastalıklardan biridir. Parkinson hastalarında melatonin düzeyleri ve oksidatif stres belirteçleri arasındaki ilişki hiç araştırılmamıştır. Bu araştırma sonucunun Parkinson hastalığının tedavisinde melatoninin yerinin belirlenmesinde yararlı olacağını düşünmekteyiz.

Etik Kurul Belgesi	☒ Eklendi	☐ Gerekli Değil
Yasal İzin Belgesi	☒ Eklendi	☐ Gerekli Değil

Y. Lisans Öğrencisi Gülcan HASKAYA	Prof. Dr. Fatma İnanç Tolun	Prof. Dr. Metin KILINÇ
Öğrenci **Adı Soyadı-İmzası**	**Danışman** **Adı Soyadı-İmzası**	**Anabilim Dalı Başkanı** **Adı Soyadı-İmzası**

Not : Bu form anabilim/anasanat dalı başkanlığının görüşlerini de alınarak en geç derslerinin tamamlandığı yarıyıl sonuna kadar hazırlanarak

Ek 2.

T.C. **KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ** **GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR** **BAŞVURU FORMU**	
ARAŞTIRMACI BİLGİLERİ	
SORUMLU ARAŞTIRMACI	
Adı-soyadı	Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN
Adres	KSÜ Tıp Fakültesi Biyokimya AD.
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	
Yardımcı Araştırmacı-1	
Adı-soyadı	Doç. Dr. Deniz TUNCEL
Adres	KSÜ Tıp Fakültesi Nöroloji AD.
Yardımcı Araştırmacı-2	
Adı-soyadı	Yüksek Lisans öğrencisi Gülcan HASKAYA
Adres	KSÜ Tıp Fakültesi Biyokimya AD.
Yardımcı Araştırmacı-3	
Adı-soyadı	Arş.Gör.Dr. Hamza ŞAHİN
Adres	KSÜ Tıp Fakültesi Nöroloji AD.
Yardımcı Araştırmacı-4	
Adı-soyadı	
Adres	
ARAŞTIRMA BİLGİLERİ	
ARAŞTIRMANIN BAŞLIĞI	
Parkinson Hastalığında Oksidatif Stres ve Melatonin Düzeyleri	
ARAŞTIRMANIN YÜRÜTÜLECEĞİ YER	
K.S.Ü Tıp Fakültesi Araştırma Laboratuvarı	
ARAŞTIRMANIN YÜRÜTÜLECEĞİ DİĞER YERLER	
1. ÜSKİM	
2.	
ARAŞTIRMANIN KOORDİNATÖRÜ	
Adı-soyadı	Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN
Adres	KSÜ Tıp Fakültesi Biyokimya AD.
İmza	
ARAŞTIRMANIN SÜRESİ	
12 ay	
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	
	Anket çalışmaları
	Dosya ve görüntü kayıtları gibi retrospektif arşiv taramaları
X	Kan, idrar, doku, radyolojik görüntü gibi biyokimya, mikrobiyoloji, patoloji ve radyoloji koleksiyon materyalleriyle veya rutin muayene tetkik, tahlil ve tedavi işlemleri sırasında elde edilmiş materyalleriyle yapılacak araştırmalar
	Hücre veya doku kültürü çalışmaları
	Gen tedavisi klinik araştırmaları dışında kalan ve tanımlamaya yönelik olarak genetik materyalle yapılacak araştırmalar
	Hemşirelik faaliyetlerinin sınırları içerisinde yapılacak araştırmalar
	Gıda katkı maddeleriyle yapılacak diyet çalışmaları
	Egzersiz gibi vücut fizyolojisi ile ilgili araştırmalar

	Antropometrik ölçümlere dayalı yapılan çalışmalar
	Yaşam alışkanlıklarının değerlendirilmesi araştırmaları
	Diğer (Tanımlayınız):
ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	
X	Yüksek lisans tezi
	Doktora tezi
	Tıpta uzmanlık tezi
	Bireysel araştırma projesi
	Diğer (tanımlayınız):

ARAŞTIRMANIN GEREKÇESİ

Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin) epifiz bezi tarafından salgılanan doğal bir hormondur. Geçmişte, yoğun araştırmalar yapılarak nörodejeneratif hastalıkların deneysel modellerinde melatoninin yararlı etkileri göstermiştir. Beyin oksidatif hasarı ile ilgili hastalıkların patogenezinde ortak bir bağ olduğu ortaya çıkarılmıştır.

Antioksidan savunma sistemi; serbest radikaller ve ilgili ürünlere dolaylı yoldan etki eden "antioksidan enzimler" ve doğrudan etki eden "melatonin gibi düşük ağırlıklı moleküllerden" oluşmaktadır. Vücutta, serbest radikaller (oksidan maddeler) ile antioksidan savunma sistemi arasında bir denge vardır ve bu dengenin oksidanların lehine bozulması durumuna 'oksidatif stres' denmektedir.

Melatoninin uyku üzerine etkilerinin muhtemelen kronobiyolojik etkiler olduğu ve ayrıca melatoninin damarlarda vazodilatör etkiye bağlı olarak iç ısıyı düşürerek uykuyu indüklediği, uykuya dalış süresini kısalttığı ve uyku kalitesini arttırdığı bilinmektedir. Yaşlanma ile birlikte sinir sistemindeki gerileme fizyolojik yaşlanma ve nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili olup en iyi gösterge hafıza ve kognitif fonksiyonlarda kayıplardır. Serbest radikallerin yaşlanma ile ilişkisi günümüzde en güncel konulardandır.

Beyin dokusunun oksidatif hasara oldukça duyarlı olması, yaşlanma ile birlikte makromoleküllerde oksidatif hasar birikimi ve inflamasyon gelişimi melatonin tedavisinin yaşa bağlı Santral Sinir Sistemi (SSS) fonksiyonlarındaki değişime karşı koruyucu olabileceğini düşündürmüştür.

Parkinson hastalarında uyku bozuklukları sıkça görülür ve bu durum uzun zamandır tanımlanmaktadır. Parkinson hastalığının intrensek patofizyolojisi, uyku bozukluğunun muhtemel ana etmenlerinden biridir. Parkinson hastalığındaki uykusuzluk sıklıkla uykuya dalmada zorluk olarak kendi gösterir ve depresyon ya da anksiyetesi olan Parkinson hastalarında bu durum daha belirgindir. Ayrıca yaşlanma ile birlikte melatonin düzeyi azalmaktadır ve akşam saatlerindeki melatonin düzeylerinin daha fazla olduğu bilinmektedir. Diğer yandan Parkinson hastalarında akşam ve gündüz melatonin düzeyleri ve oksidatif stres parametreleri arasındaki ilişki hiç araştırılmamıştır. Bu konu ile ilgili bir çalışmanın olmaması, bu konuda yapılacak çalışmalara gerekçe teşkil etmektedir.

ARAŞTIRMANIN AMACI

Çalışmamızda; klinik olarak Parkinson hastalığı tanısı konulmuş hastalardan alınan kan örnekleri ve Parkinson hastalığı bulunmayan kontrol grubu kan örneklerinde, melatonin düzeylerinin değişimini ve oksidatif stres biyomarkerlarının düzeyleri arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçladık.

ARAŞTIRMANIN MATERYAL VE METODU

Araştırmaya Parkinson hastalığı tanısı konmuş 20 hasta ve kontrol grubu olarak da nörodejeneratif hastalığı olmayan 20 gönüllü birey dahil edilecektir. Hasta ve gönüllülerden

sabah 10:00 da ve akşam 22:00' da olmak üzere iki kez venöz kan alınması planlanmaktadır. Bireylerden sabah 2 ml K-EDTA'lı ve 4 ml düz kan, akşam ise sadece 4 ml düz kan örneği alınacaktır. Tam kan tüpüne alınan kanlardan elde edilen eritrosit pelletlerinde Süperoksit Dismutaz (SOD), Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) enzim aktiviteleri, plazmada ise Malondialdehid (MDA) düzeyleri ölçülecektir. Melatonin düzeyleri için serum örneği kullanılacaktır.
Parkinson hasta grubunda Hoehn&Yahr (H&Y) değerlendirme skalaları ile hastalık klinik olarak derecelendirilecektir. Uyku problemleri ise Pittsburgh uyku kalitesi indeksi ve Epworth uykululuk ölçeği ile değerlendirilecektir.
SOD ve GSH-Px enzim aktiviteleri ile malondialdehit (MDA) seviyelerinin spektrofotometrik yöntemlerle, melatonin düzeylerinin ise ELİSA yöntemi ile ölçülmesi planlanmaktadır.

ARAŞTIRMANIN ÇALIŞMA GRUPLARI (n=40)

1. 20 Hasta Grubu
2. 20 Kontrol Grubu

GÖNÜLLÜLERİN YAŞI

	18 yaş altı (yaş aralığını belirtiniz):
X	18 yaş üstü (yaş aralığını belirtiniz): 55-75 yaş

GÖNÜLLÜLERİN CİNSİYETİ

	Kadın
	Erkek
X	Kadın ve Erkek

GÖNÜLLÜLERİN ÖZELLİKLERİ

X	Sağlıklı gönüllüler
	Hastalar
	Gebeler
	Loğusalar
	Emziren kadınlar
	Kısıtlılar (Tanımlayınız):
	Diğer (Tanımlayınız):

GÖNÜLLÜLERİN ÇALIŞMAYA DÂHİL EDİLME KRİTERLERİ

1. Herhangi bir nörodejeneratif hastalığı olmaması
2.Hasta popülasyonu ile aynı yaş grubunda olması

GÖNÜLLÜLERİN ÇALIŞMAYA DÂHİL EDİLMEME KRİTERLERİ

1.
2.

GÖNÜLLÜLERİN ÇALIŞMADAN ÇIKARILMA KRİTERLERİ

1. Çalışmaya dahil olmak istemeyenler
2.

KLİNİK UÇ-NOKTALAR (ÖLÇÜLECEK DEĞİŞKENLER)

1. Hoehn&Yahr (H&Y) değerlendirme skalası
2. Pittsburgh uyku kalitesi indeksi
3. Epworth uykululuk ölçeği

LABORATUAR UÇ-NOKTALAR (ÖLÇÜLECEK DEĞİŞKENLER)

1. Eritrosit Superoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi
2. Eritrosit Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) enzim aktivitesi
3. Plazma Malondialdehit (MDA) düzeyi
4. Serum Melatonin düzeyi

BEKLENEN FAYDALAR

Parkinson hastalığı, en sık görülen nörodejeneratif hastalıklardan biridir. Parkinson

hastalarında melatonin düzeyleri ve oksidatif stres belirteçleri arasındaki ilişki hiç araştırılmamıştır. Bu araştırma sonucunun Parkinson hastalığının tedavisinde melatoninin yerinin belirlenmesinde yararlı olacağını düşünmekteyiz.

ARAŞTIRMANIN DESTEKLEYİCİSİ

X	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetimi Birimi
	TÜBİTAK
	DPT
	Sorumlu araştırmacı
	Diğer (Tanımlayınız):

TAAHHÜTNAME

Biz, araştırmacılar olarak;

- Başvuruda sağlanan bilgilerin doğru olduğunu;
- Araştırmanın güncel Helsinki Bildirgesi (2008 Ekim Seul)* ve İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzuna ilkelerine uygun olarak gerçekleştirileceğini;
- Bu araştırmanın kapsamındaki gönüllülerden elde edilecek kişisel bilgilerin gizli tutulacağını ve gönüllülere veya kurumlara ekonomik külfet getirilmeyeceğini taahhüt ederiz.

Araştırmacılar	**Adı-soyadı**	**İmza**
1.	Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN	
2.	Doç. Dr. Deniz TUNCEL	
3.	Y.Lisans öğrencisi Gülcan HASKAYA	
4.	Arş. Gör. Dr. Hamza ŞAHİN	
5.		

EKLER

X	Başvuru dilekçesi
X	Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (BGOF) (varsa)
	Araştırma akış şeması (varsa)
	Sigorta (KAREK talep ettiğinde)
	Olgu rapor formu (varsa)
	Anket (varsa)
	Araştırma bütçesi (varsa)
	Araştırmanın destekleyicisi ile imzalanan protokol (varsa)

Ek3.

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	18.01.2013		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	18.01.2013		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐

	Belge Adı		Açıklama
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	☐	
	SİGORTA	☐	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐	
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐	
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	☐	
	İLAN	☐	
	YILLIK BİLDİRİM	☐	
	SONUÇ RAPORU	☐	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐	
	DİĞER:	☐	

KARAR BİLGİLERİ		
	Karar No: 2013/04–5	**Tarih: 07.03.2013**
	Yukarıda bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.	

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI	Prof. Dr. Metin KILINÇ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr. Metin KILINÇ Başkan	Tıbbi Biyokimya	KSÜ Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Mustafa GÜL Üye	Tıbbi Mikrobiyoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Hasan Çetin EKERBİÇER Üye	Halk Sağlığı	KSÜ Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	**AYRILDI**
Doç. Dr. Harun ÇIRALIK Üye	Tıbbi Patoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	**KATILMADI**
Doç. Dr. Yusuf ERGÜN Üye	Tıbbi Farmakoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Tufan MERT Üye	Biyofizik	KSÜ Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	**KATILMADI**
Doç. Dr. Mehmet DAVUTOĞLU Üye	Çocuk Sağ. ve Hast.	KSÜ Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Nimet ŞENOĞLU Üye	Anest. ve Rea.	KSÜ Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Gürkan ACAR Üye	Kardiyoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Vedat BAKAN Üye	Çocuk Cerrahisi	KSÜ Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	**AYRILDI**
Yrd. Doç. Dr. Ramazan KARANFİL Üye	Adli Tıp	KSÜ Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Mehmet Emin DARENDELİ Üye	Avukat	Serbest	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Mustafa CANSARAN Üye	Ziraat Mühendisi	İl Gıda, Tarım ve Hay. Müd.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Turan YILDIZ Üye	Öğretmen	Özel Ali KENGER Anadolu Lisesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

* :Toplantıda Bulunma

Sayfa 2

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Parkinson Hastalığında Oksidatif Stres ve Melatonin Düzeyleri"			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	13			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyokimya			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı			
	DESTEKLEYİCİ	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZI	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	☐		
		Yüksek Doz Araştırması	☐		
		Diğer ise belirtiniz: Kan, idrar, doku, radyolojik görüntü gibi biyokimya, mikrobiyoloji, patoloji ve radyoloji koleksiyon materyalleriyle veya rutin muayene tetkik, tahlil ve tedavi işlemleri sırasında elde edilmiş materyalleriyle yapılacak araştırmalar			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ☒	ULUSAL ☐	ULUSLARARASI ☐

Ek4.

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU
(HASTA İÇİN)

Parkinson hastalığı yavaş ilerleyici beyin hücrelerinde kayıp ile seyreden (nörodejeneratif) bir beyin hastalığıdır. Hastalığın temel belirtileri titreme, sertlik ve hareketlerin yavaşlamasıdır. Hastalık genelde 40 yaşından sonra görülür ve erkeklerde görülme sıklığı biraz daha fazladır. Parkinson hastalarında uyku bozuklukları sıkça görülmektedir. Ayrıca yaşlanma ile birlikte melatonin(beyin tarafından salgılanan hormon) düzeyi azaldığı ve akşam saatlerindeki melatonin düzeylerinin daha fazla olduğu bilinmektedir. Biz, klinik olarak Parkinson tanısı konulmuş hastalardan alınan kan örneklerinde ve hastalık bulunmayan kontrol grubu kan örneklerinde, melatonin düzeylerinin değişimini ve oksidatif stres belirteçlerinin düzeyleri arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçlıyoruz. Araştırmanın ismi "Parkinson Hastalığında Oksidatif Stres ve Melatonin Düzeyleri"dir.

Araştırma yaklaşık 1 yıl sürecektir.

Bu araştırmada sizin için herhangi bir risk ve zarar söz konusu değildir. Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak gönüllülük esasına dayalıdır. Çalışma ile ilgili günün 24 saatinde 0505 817 32 87 nolu telefondan Dr. Hamza Şahin ve 0506 344 37 90 nolu telefondan Gülcan Haskaya ile irtibata geçebileceksiniz.

Araştırmaya Parkinson hastalığı tanısı konmuş siz hastalarımızdan 20 birey dahil edilecektir. Eğer çalışmaya katılmayı kabul ederseniz sizden sabah 10:00'da 6 ml ve akşam 22:00'da 4 ml olmak üzere iki kez enjektörle kolun ön yüzünden kan alınması planlanmaktadır.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden ve kurumunuzdan herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ödeme de yapılmayacaktır.

Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır. Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşılabileceklerdir. Siz de istediğinizde tıbbi bilgilerinize ulaşabileceksiniz.

Gönüllünün Beyanı:(Kendi El Yazısı İle)

Gönüllünün Adı / Soyadı / İmzası/ Tarih

Araştırma Ekibinde Yer Alan Ve Yetkin Bir Araştırmacının Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gerekiyorsa Olur İşlemine Tanık Olan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gerekiyorsa Yasal Temsilcinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Ek 5.

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU
(HASTA OLMAYAN GÖNÜLLÜ İÇİN)

Parkinson hastalığı yavaş ilerleyici beyin hücrelerinde kayıp ile seyreden (nörodejeneratif) bir beyin hastalığıdır. Hastalığın temel belirtileri titreme, sertlik ve hareketlerin yavaşlamasıdır. Hastalık genelde 40 yaşından sonra görülür ve erkeklerde görülme sıklığı biraz daha fazladır. Parkinson hastalarında uyku bozuklukları sıkça görülmektedir. Ayrıca yaşlanma ile birlikte melatonin(beyin tarafından salgılanan hormon) düzeyi azaldığı ve akşam saatlerindeki melatonin düzeylerinin daha fazla olduğu bilinmektedir. Biz, klinik olarak Parkinson tanısı konulmuş hastalardan alınan kan örneklerinde ve hastalık bulunmayan kontrol grubu kan örneklerinde, melatonin düzeylerinin değişimini ve oksidatif stres belirteçlerinin düzeyleri arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçlıyoruz. Araştırmanın ismi "Parkinson Hastalığında Oksidatif Stres ve Melatonin Düzeyleri"dir.

Araştırma yaklaşık 1 yıl sürecektir.

Bu araştırmada sizin için herhangi bir risk ve zarar söz konusu değildir. Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak gönüllülük esasına dayalıdır. Çalışma ile ilgili günün 24 saatinde 0505 817 32 87 nolu telefondan Dr. Hamza Şahin ve 0506 344 37 90 nolu telefondan Gülcan Haskaya ile irtibata geçebileceksiniz.

Araştırmaya gönüllü grubu olarak yavaş ilerleyici beyin hücrelerinde kayıp ile seyreden (nörodejeneratif) hastalığı olmayan 20 birey dahil edilecektir. Eğer çalışmaya katılmayı kabul ederseniz siz gönüllülerden sabah 10:00'da 6 ml ve akşam 22:00'da 4 ml olmak üzere iki kez enjektörle kolun ön yüzünden kan alınması planlanmaktadır.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden ve kurumunuzdan herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ödeme de yapılmayacaktır.

Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır. Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabileceklerdir. Siz de istediğinizde tıbbi bilgilerinize ulaşabileceksiniz.

Gönüllünün Beyanı:(Kendi El Yazısı İle)

Gönüllünün Adı / Soyadı / İmzası/ Tarih

Araştırma Ekibinde Yer Alan Ve Yetkin Bir Araştırmacının Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gerekiyorsa Olur İşlemine Tanık Olan Kişinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

Gerekiyorsa Yasal Temsilcinin Adı / Soyadı / İmzası / Tarih

11. ÖZ GEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Gülcan HASKAYA

Uyruğu : T.C.

Doğum tarihi ve yeri : 02.01.1988 Gaziantep

Medeni hali : Bekar

Telefon : 05063443790

e-posta **:** g.haskaya@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	K.S.Ü. Tıbbi Biyokimya ABD (Kahramanmaraş)	2011-2015 :
Lisans	Selçuk Üniversitesi - Biyoloji Bölümü (Konya)	2006-2011
Lise	Hasan Ali Yücel Lisesi (Gaziantep)	2002-2006

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Mezuniyet Tarihi

Yabancı Diller

İngilizce

İlgi Alanları

Bilim, Kitap Okuma