

**T.C.  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**



**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ HASTANESİ ÇOCUK  
HEMATOLOJİ BÖLÜMÜNDE TROMBOSİTOZ TESPİT  
EDİLEN HASTALARDA OKSİDAN VE ANTIOKSİDAN  
DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ**

**Dr. Fatma Nur DEMİRKOL**

**Uzmanlık Tezi**

**TEZ DANIŞMANI**

**DOÇ. DR. MERYEM ALBAYRAK**

**KIRIKKALE**

**2016**

**T.C.  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ HASTANESİ ÇOCUK  
HEMATOLOJİ BÖLÜMÜNE TROMBOSİTOZ TESPİT EDİLEN  
HASTALARDA OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN DÜZEYİNİN  
BELİRLENMESİ**

**Dr. Fatma Nur DEMİRKOL**

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI  
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
DOÇ. DR. MERYEM ALBAYRAK**

**Bu tez, Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon**

**Birimi**

**Tarafından 2015/78 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**KIRIKKALE**

**2016**

**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ**

**TIP FAKÜLTESİ**

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı uzmanlık programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

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

Prof. Dr. Didem ALİEFENDİOĞLU

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları

Anabilim Dalı Başkanı

Jüri Başkanı

Doç. Dr. Meryem ALBAYRAK  
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları  
Anabilim Dalı  
Üye

Doç. Dr. Zühre KAYA  
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları  
Anabilim Dalı  
Üye

## TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesinden son aşamasına kadar değerli vakitlerini ayırıp bir anne şefkatiyle yol gösteren, destek ve yardımını esirgemeyen, akademik kariyerime başladığım günden beri bilgi ve tecrübesiyle mesleki gelişimime katkıda bulunan, Tez Danışmanım saygıdeğer hocam Doç. Dr. Meryem ALBAYRAK'a sonsuz teşekkür ederim.

Olumlu ve yapıcı eleştirileriyle beni yönlendiren, deneyimi ve bilgi birikimiyle hem mesleki hem de hayata dair kendisinden çok şey öğrendiğim değerli hocam Prof. Dr. Didem ALİEFENDİOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım. Yine, eğitimimde bilgi birikimleri ile hastaya ve hastalığa yaklaşım yönünden örnek aldığım, her daim yanımda olan kliniğimizin kıymetli Hoca'ları Sayın Prof. Dr. F. Selda Bülbül' e, Prof. Dr. Yavuz Gürer'e, Prof. Dr. Fulya Gülerman' a, Prof. Dr. Ayça Törel Ergür' e, Prof. Dr. Banu Acar' a, Yrd. Doç. Dr. Cihat Şanlı' ya, Yrd. Doç. Dr. Nilüfer Güzoğlu' na, Yrd. Doç. Dr. Dilek Azkur'a, Yrd. Doç. Dr. Ayşegül Alpcan' a teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin her aşamasında büyük destek olan, yardımını esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı' nda öğretim görevlisi değerli hocam Prof. Dr. Üçler Kısa' ya teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimimde klinik deneyimlerinden çok şeyler öğrendiğim yan dal asistanı Uzman Dr. Burcu Güven' e, Uzm. Dr. Sevinç Odabaşı Güneş' e ve Uzm. Dr. Salih Davutoğlu' na, beraber acısıyla tatlısıyla her şeyi paylaştığımız çok sevgili Uzm. Dr. Ayşe Tandırcıoğlu, Dr. Nagehan Kara, Dr. Gözde Aydın, Dr. Sevgi Doğan' a ve tüm asistan arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım, Asistanlık dönemi boyunca yardımlarını hiç esirgemeyen başta kliniğimizin sorumlu hemşiresi Elif Ateş olmak üzere tüm hemşirelerimize teşekkürlerimi sunarım.

Bu günlere gelmemde büyük emeği olan, zor günlerimde sevgisi ve şefkati ile hep yanımda olan canım anneme, canım babama ve canım ablalarıma, yardımını hiç esirgemeyen canım kayınvalideme, her zaman yanımda olan canım Eşim' e, gözbebeğim Kızım' a ve biricik Oğlum' a teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Fatma Nur Demirkol

KIRIKKALE



## ÖZET

**Demirkol FN., Kırıkkale Üniversitesi Hastanesi Çocuk Hematoloji bölümünde trombositoz tespit edilen hastalarda oksidan ve antioksidan düzeyinin belirlenmesi, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Kırıkkale 2016.**

**Amaç:** Bu çalışmada, Kırıkkale Üniversitesi Hastanesi Çocuk Hematoloji bölümünde trombositoz tespit edilen çocuklarda oksidan ve antioksidan moleküllerin düzeyinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Ocak 2016- Mayıs 2016 tarihleri arasında Kırıkkale Üniversitesi Hastanesi Çocuk Hematoloji bölümünde trombositoz tespit edilen çocuklardan tam kan sayımı, C- reaktif protein (CRP), *oksidan* olarak malondialdehit (MDA), total oksidan seviye (TOS), *antioksidan* olarak superoksit dismutaz (SOD), paraoksonaz 1 (PON1), arilesteraz (ARES), glutatyon peroksidaz (GPx), total antioksidan kapasite (TAK) düzeylerine bakıldı. Oksidatif stres indeksi hesaplandı. Verilerin analizi, istatistiksel yazılım paketi SPSS 22.0 Mining (IBM Corporation, Armonk, New York, United States) programı kullanılarak yapıldı.

**Bulgular:** Çalışmamızda trombositoz grubunun %51,2'si kız, %48,8'i erkeklerden kontrol grubunun %59,5'i kız, %40,5'i erkeklerden oluşmaktadır. Trombositoz grubunun yaş ortalaması  $40,86 \pm 45,60$  ay, kontrol grubunun yaş ortalaması  $85,17 \pm 50,40$  ay bulundu. Trombositoz grubunda oksidan olan MDA ve TOS ortalama değerleri kontrol grubuna göre daha yüksek iken ( $p > 0.05$ ) ve antioksidan SOD hariç ( $p > 0.05$ ), diğer antioksidan enzimler olan GPx ( $p > 0.05$ ), PON 1 ( $p < 0.05$ ) ve arilesteraz ( $p < 0.05$ ) ortalama düzeyleri düşük tespit edildi. Oksidatif stresin belirlenmesinde kullanılan oksidatif stres indeksi (OSÍ) trombositozlu grupta kontrol grubuna göre yüksek saptandı ( $p < 0.05$ ).

**Sonuç:** Çalışmamızda toplam oksidan durumu gösteren TOS trombositoz grubunda daha yüksek düzeyde iken toplam antioksidan düzeyi gösteren TAK kontrol grubuna göre daha düşük saptandı ( $p < 0,05$ ). Bu durum, trombositoz grubunda oksidan ve antioksidan sistemin dengesinin bozulduğunu, oksidan yükün daha fazla olduğu göstermiştir. Trombositozun nedeni ve patolojik sonuçlarında bozulan oksidan-antioksidan dengenin rol oynadığı düşünülmektedir. Oksidatif yükün fazla olması

nedeniyle organizmada gerekleŒen dengeleyici mekanizmalarla oksidan moleküllerin yok edilmesi için antioksidan moleküllerin tüketildiği ve buna bağlı olarak antioksidanların düzeyinin azaldığını düşündürmüŒtür.

**Anahtar kelimeler:** Trombositoz, oksidan, antioksidan



## **ABSTRACT**

**Demirkol FN., Determination Of Oxidant And Antioxidant Levels In Patients Applied To Department Of Pediatric Haematology Of Kirikkale University Hospital Because Of Thrombocytosis, Kirikkale University Faculty Of Medicine Department Of Pediatrics. Dissertation, Kirikkale 2016**

**Purpose:** In this study, it was aimed to determine the levels of oxidant and antioxidant molecules in children who were diagnosed with thrombocytosis in the Department of Pediatric Haematology of Kirikkale University Hospital.

### **Method:**

The complete blood count, C-reactive protein (CRP), malondialdehyde as oxidant (MDA), total oxidant level (TOL), superoxide dismutase (SOD) as antioxidant, paraoxonase 1(PON1), arylesterase (ARES), glutathione peroxidase (GPx) and total antioxidant capacity (TAC) levels of the children who were diagnosed with thrombocytosis in the Department of Pediatric Haematology of Kirikkale University Hospital between the dates of January 2016 and May 2016 were measured. The oxidative stress index was calculated. Analysis of the data was performed using the SPSS 22.0 Mining statistical software package (IBM Corporation, Armonk, New York, United States).

**Results:** In our study, 51.2% of the thrombocytosis group was composed of females and 48.8% of males and 59.5% of the control group was composed of females and 40.5% of males. The mean age of the thrombocytosis group was  $40.86 \pm 45.60$  months and the mean age of the control group was  $85.17 \pm 50.40$  months. The mean values of oxidant MDA and antioxidant SOD levels in the thrombocytosis groups was higher compared to the control group ( $p > 0.05$ ), while the mean values of oxidant TOS ( $p > 0.05$ ) and antioxidant TAK ( $p < 0.05$ ), GPx ( $p > 0.05$ ), SOD ( $p > 0.05$ ), PON 1 ( $p < 0.05$ ) and arylesterase ( $p < 0.05$ ) levels were found to be low. Oxidative stress index (OSI) used in determination of oxidative stress was determined to be higher in the thrombocytosis group compared to the control group ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** In our study, TOS, which shows total oxidant status, was higher in the thrombocytosis group, while TAK, which shows total antioxidant level, was found to be lower compared to the control group ( $p < 0,05$ ). This suggests that oxidant and



antioxidant system balance in the thrombocytosis group is impaired and oxidant load is higher. Oxidant - antioxidant balance is thought to play a role in the pathogenesis and pathological results of thrombocytosis. It is considered that the antioxidant molecules were consumed to destroy oxidant molecules through the stabilizing mechanisms that occur in the organism because of the excessive oxidative stress, and the level of antioxidants is decreased accordingly

**Keywords:** Thrombocytosis, Oxidant, Antioxidant



## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI .....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	viii
KISALTIMA VE SİMGELER.....	x
TABLolar .....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	xii
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
<b>2.1. TROMBOSİTLER VE TROMBOSİTOZ.....</b>	<b>3</b>
2.1.1.Tanım ve Sınıflandırma .....	5
2.1.2. Epidemiyoloji .....	10
2.1.3.Tanı .....	12
2.1.4.Klinik Özellikler .....	13
2.1.5.Prognoz.....	14
2.1.6. Tedavi .....	15
<b>2.2.Oksidanlar ve Oksidasyon .....</b>	<b>17</b>
2.2.1 Reaktif Oksijen Türleri .....	18
2.2.2. Serbest Radikaller .....	20
<b>2.3. Lipid Peroksidasyonu.....</b>	<b>22</b>
<b>2.4. Antioksidanlar .....</b>	<b>24</b>
2.4.1. Enzim Olan Antioksidanlar.....	25
2.4.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD): .....	25
2.4.1.2. Katalaz .....	26
2.4.1.3. Glutasyon Peroksidaz .....	26
2.4.1.4. Glutasyon Redüktaz .....	27
2.4.1.5. Sitokrom Oksidaz .....	27
2.4.1.6. Glutasyon Transferaz .....	27
2.4.1.7. Arilesteraz ve Paraoksonaz .....	27

2.4.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar .....	29
2.4.2.1. E Vitamini .....	29
2.4.2.2. C Vitamini .....	30
2.4.2.3. Karotenoidler .....	31
2.4.2.4. Flavonoidler .....	33
2.4.2.5. Glutatyon (GSH) .....	33
2.4.2.6. Melatonin .....	34
2.4.2.7. Ubikinonlar .....	34
2.4.2.8. Diğer Antioksidanlar .....	34
<b>2.5 Trombosit hücresindeki oksidan ve antioksidan reaksiyonlar .....</b>	<b>35</b>
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM .....</b>	<b>40</b>
<b>3.1. Çalışma Gruplarının Seçimi .....</b>	<b>40</b>
3.1.1. Trombositoz Grubunun Seçimi .....	40
3.1.2. Kontrol Grubu .....	40
3.1.3. Araç-Gereçler ve Laboratuvar Yöntemleri .....	41
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>44</b>
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>54</b>
<b>6. SONUÇ .....</b>	<b>60</b>
<b>KAYNAKLAR: .....</b>	<b>61</b>

## KISALTMA VE SİMGELER

- $\alpha$** : Alfa  
 **$\beta$** : Beta  
**ARES**: Arilesteraz  
**ATP**: Adenozintrifosfat  
**AU**: Arbitrary Unit  
**CAT**: Katalaz  
**cGs**: Gama Glutamil Transpeptidaz  
**cGcs**: Gama Glutamil Sisteinil Sentetaz  
**Cp**: Seruloplazmin  
**DNA**: Deoksiribonükleik asit  
**EDTA**: Etilen diamin tetraasetik asit  
**FAD**: Flavin adenin dinükleotid  
**GS**: Glutasyon sentaz  
**GSH**: Redükte glutasyon  
**GSH-Rd**: Glutasyon redüktaz  
**GPxe**: Ekstrasellüler glutasyon peroksidaz  
**GSH-Px**: Glutasyon peroksidaz  
**GSSG**: Okside glutasyon  
**G6PD**: Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz  
**GST**: Glutasyon S transferaz  
**Hb**: Hemoglobin  
**Hct**: Hematokrit  
**IgG**: İmmunglobin G  
**ITP**: İmmun trombositopenik purpura  
**MCV**: Ortalama eritrosit hacmi  
**MCH**: Ortalama eritrosit hemoglobini  
**MCHC**: Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu  
**MDA**: Malondialdehit  
**MRP**: Multidrug resistans protein  
**NADPH**: Redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfat  
**OSI**: Oksidatif stres indeksi  
**PUFA**: Çoklu doymamış yağ asitleri  
**PV**: Polisitemia vera  
**RBC**: Eritrosit  
**ROS**: Reaktif oksijen türleri  
**SOD**: Süperoksit dismutaz  
**MnSOD**: Manganez süperoksit dismutaz  
**ECSOD**: Ekstrasellüler süperoksit dismutaz  
**CuZnSOD**: Bakır-çinko süperoksit dismutaz  
**TAK**: Total antioksidan kapasite  
**TBARS**: Thiobarbituric Acid Reactive Substances  
**TOS**: Total oksidan düzey

## **TABLULAR**

Tablo 1: Trombosit artışına neden olan hastalıklar

Tablo 2: Esansiyel ve Sekonder Trombositoz Faktörleri

Tablo 3: Organizmada bulunan temel antioksidan savunma sistemleri

Tablo 4: Trombositoz ve kontrol grubunun demografik verileri

Tablo 5: Trombositoz ve kontrol grubunun yaş verileri

Tablo 6: Trombositoz ve kontrol grubunun oksidan-antioksidan parametrelerinin karşılaştırılması

Tablo 7: Trombositoz ve kontrol grubunda oksidan-antioksidan parametre korelasyon analizi

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Megakaryositten trombosit oluşumu

Şekil 2: Trombosit hücre yapısı

Şekil 3: Megakaryopoez artışı ve trombositoz

Şekil 4: İnflamasyon ve enfeksiyonda trombositoz

Şekil 5: AMR aracılı trombopoez kontrolü

Şekil 6: Lipid peroksidasyonu

Şekil 7: Glutasyon Peroksidaz

Şekil 8: Paraoksonaz enziminin üç boyutlu görünümü

Şekil 9: E vitamini biyokimyasal zinciri

Şekil 10: C vitamini biyokimyasal zinciri

Şekil 11: Karotenoidlerin biyokimyasal zinciri

Şekil 12: Flavonoidlerin biyokimyasal zinciri

Şekil 13: Glutasyonların biyokimyasal zinciri

Şekil 14: Trombosit hücre içi sinyal mekanizması

Şekil 15: Oksidatif streste trombosit hücresinde gerçekleşen reaksiyonlar

Şekil 16: Reaktif oksijen ve nitrojen ürünlerin oluşumu ve trombosit hücresinde gerçekleşen reaksiyonlar

Şekil 17: Trombositoz ve kontrol grubunda trombosit sayılarının karşılaştırılması

Şekil 18: Trombositoz ve kontrol grubunda TAK düzeyinin karşılaştırılması

Şekil 19: Trombositoz ve kontrol grubunda PON düzeyinin karşılaştırılması

Şekil 20: Trombositoz ve kontrol grubunda ARES düzeyinin karşılaştırılması

Şekil 21: Trombositoz ve kontrol grubu arasında oksidatif stres indeksi (OSİ) değerinin karşılaştırılması

Şekil 22: Trombositoz ve kontrol grubunda MDA düzeyi ile trombosit sayısı arasındaki korelasyon

Şekil 23: Trombositoz ve kontrol grubunda TOS düzeyi ile trombosit sayısı arasındaki korelasyon

Şekil 24: Trombositoz ve kontrol grubunda SOD düzeyi ile trombosit sayısı arasındaki korelasyon

Şekil 25: Trombositoz ve kontrol grubunda GPx düzeyi ile trombosit sayısı arasındaki korelasyon

Şekil 26: Trombositoz ve kontrol grubunda TAK düzeyi ile trombosit sayısı arasındaki korelasyon

Şekil 27: Trombositoz ve kontrol grubunda PON düzeyi ile trombosit sayısı arasındaki korelasyon

Şekil 28: Trombositoz ve kontrol ve grubunda ARES düzeyi ile trombosit sayısı arasındaki korelasyon



## 1.GİRİŞ ve AMAÇ

Hücre ve dokuların yapısal bütünlüğünün korunması ve fonksiyonlarını yapabilmesi için oksidan ve antioksidan sistem denge halinde olmalıdır. Oksidatif moleküllerin üretimi ve eliminasyonu arasındaki dengesizlik sonucunda pek çok patolojik olay ve hastalık ortaya çıkabilir. Oksidatif stres “oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine kayması ve hücre hasarına yol açması” olarak tanımlanır (1). Oksidatif stresin, hücre hasarı sonucu birçok hastalığa neden olduğu bilinmektedir. Literatürde ülseratif kolit (2), iskemi/reperfüzyon hasarı, ateroskleroz (3), yaşlanma, diyabetes mellitus (4), çeşitli kanser türleri, romatoid artrit ve multiple skleroz gibi otoimmün hastalıklar, astım, yaşlanmaya bağlı maküler hastalıklar ve katarakt (3,5) gibi hastalıklarda serbest oksijen radikallerinin düzeyinin arttığı belirtilmiştir (6, 7, 8).

Oksidan ve antioksidan dengenin değişmesi durumunda tüm hücrelerde olduğu gibi trombosit hücrelerinde de etkilenme olur. Oksidan moleküllerin artması trombosit ömrü ve trombüs oluşumunu etkilerken, vasküler tonusta değişikliklere, anjiogeneze ve aterotrombotik hastalık gelişimine neden olmaktadır. Oksidan stresin arttığı durumlarda trombositlerin fizyolojisi değişmekte, trombositoz veya trombositopeni gibi patolojik sonuçlar ortaya çıkmaktadır

Çocuklarda görülen trombositoz sıklıkla altta yatan başka bir hastalık nedeniyle ortaya çıkan laboratuvar bulgusudur. Çocukluk çağında saptanan trombositozun en sık nedeni enfeksiyonlardır (9). İnflamasyon, demir eksikliği anemisi, hemolitik anemi, splenektomi, yanık, malignite ve travma gibi doku hasarına neden olan durumlar da trombositozu neden olmaktadır (10). Bu hastalıklarda dolaşımdaki sitokinlerin uyarısıyla karaciğerde trombopoetin üretimini artırır, megakaryopoez ve trombosit yapımı uyarılır (11). Oksidan stresin arttığı durumlarda trombosit hücrelerinin fizyolojisi değişmekte, trombositoz ve trombositopeni gibi patolojik sonuçlar ortaya çıkmaktadır. Oksidan ve antioksidan dengenin değişmesi durumunda sadece trombosit ömrü ve trombüs oluşumu etkilenmez. Bu dengenin değişmesi durumunda vasküler tonusta bozulma, anjiogenezis, inflamasyon, aterotrombotik hastalıklara yatkınlık gelişebilir.



Bu çalışmada Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Hematoloji ve Onkoloji polikliğinde trombositoz tespit edilen çocuklar değerlendirildi. **Oksidan olarak** malondialdehit, total oksidan düzeyi ve **antioksidan olarak** glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, arilesteraz, paroksonaz 1, total antioksidan kapasite düzeyleri ölçüldü, oksijen stres indeksi hesaplandı.

Literatürde çocuk yaş grubunda trombositozda oksidan/antioksidan denge çalışılmamıştır.

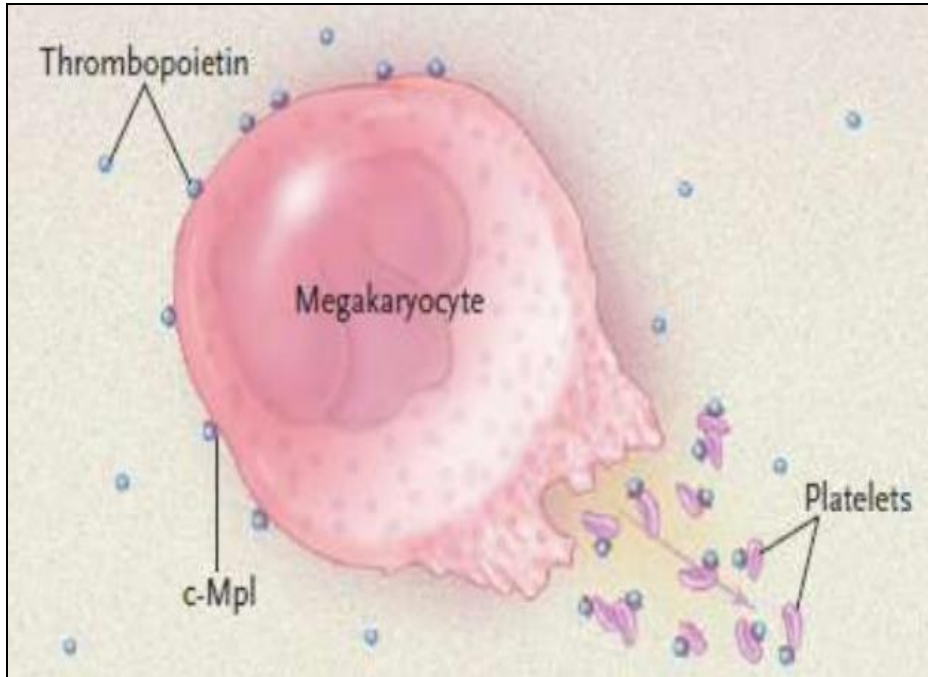
Çalışmada amacımız çocukluk yaş grubunda trombositozda oksidan ve antioksidan molekülerin düzeylerini belirleyerek oksidan/antioksidan dengenin hangi yönde değiştiğini tespit etmektir.



## 2.GENEL BİLGİLER

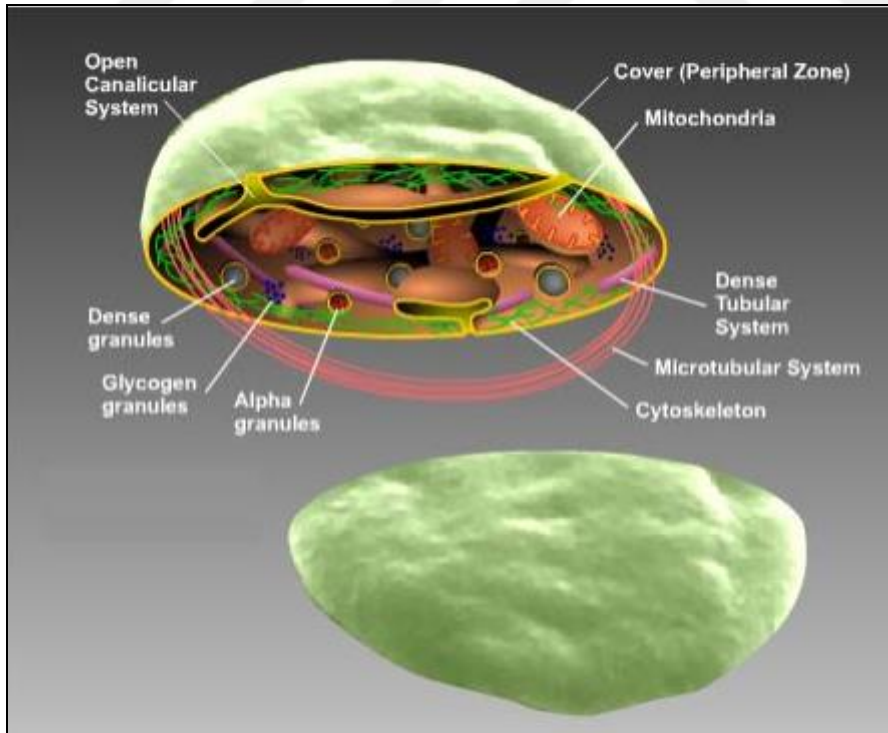
### 2.1. TROMBOSİTLER VE TROMBOSİTOZ

Trombositler hemostatik tıkaç oluşumunda, angiogeneziste, damar tonusunun regülasyonunda, inflamasyonda rol oynayan kan hücrelerdir. Trombositler kemik iliğindeki megakaryositlerin parçalanmasıyla oluşur (Şekil 1). Trombosit sayısı  $150.000/\mu\text{L}$ - $450.000/\mu\text{L}$  değerleri arasındadır(12). Yenidoğan döneminden itibaren yaşam boyunca sabit değerde olan tek kan hücresidir. Bir megakaryosit hücresinden 1000-5000 adet trombosit, bir günde  $35.000$ - $50.000/\mu\text{L}$  trombosit üretimi olur. Trombositlerin ortalama yaşam süreleri 7-10 gündür. Trombositlerin üçte biri dalakta, üçte ikisi kan dolaşımında bulunur. Trombositler  $1$ - $4 \mu\text{m}$  çapında, gri-mavi sitoplazmalı, çekirdeksiz, granül içeren hücrelerdir. Ortalama trombosit volümü (MPV) ise  $8,9 \pm 1,5 \mu\text{m}^3$  değerindedir. Karaciğerde üretilen trombopoetin (TPO) başta olmak üzere GM-CSF, IL-1, IL-3, IL-4, IL-6, IL-7, IL-11, TNF trombosit üretimini kontrol eder(13). IL-6 reaktif trombositozda büyük rol oynayan hem proinflamatuvar hem de anti inflamatuvar özelliği olan sitokindir (12). Trombositozda IL-6 megakaryopoezi uyararak direk etki, hepatik TPO üretimini arttırarak indirekt etki gösterir (14,15).



Şekil 1: Megakaryositten trombosit oluşumu.

Trombositlerin fonksiyonlarını sürdürmesinde trombositlerde bulunan granüller ve organeller önemli rol oynar. Trombositlerde yoğun cisimcikler (dense bodies), alfa granüller ve lizozomlar bulunmaktadır (Şekil-2). Alfa granül membranında P seletin, glikoprotein 2b/3a, granül membran protein 33, trombosit endotelial hücre adhezyon molekülü 1 (PECAM 1), glikoprotein 1b, 5, 9 ve osteonektin bulunur (16). Alfa granüllerde pıhtılaşma faktörlerinden faktör I, faktör V, faktör VIII, trombosit faktör 4 (PF4), beta tromboglobulin (BTG), heparin nötralizan protein, trombospondin, Von Willebrand Faktör (VWF), trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF), TGF  $\beta$ , endotelial hücre büyüme faktörü, EGF, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi anjiogenik faktörler ve plazminojen aktivatör inhibitörü ve  $\alpha$ -2 plazmin inhibitörü gibi fibrinolitik inhibitörler bulunur. Yoğun cisimciklerin membranında P seletin ve granülofizinin yer alır. Yoğun cisimciklerde adenin nükleotidleri, guanin nükleotidleri, fosfoinozitol fosfat, kalsiyum ve magnezyum bulunur (17).



**Şekil 2: Trombositin hücre yapısı**

### 2.1.1.Tanım ve Sınıflandırma

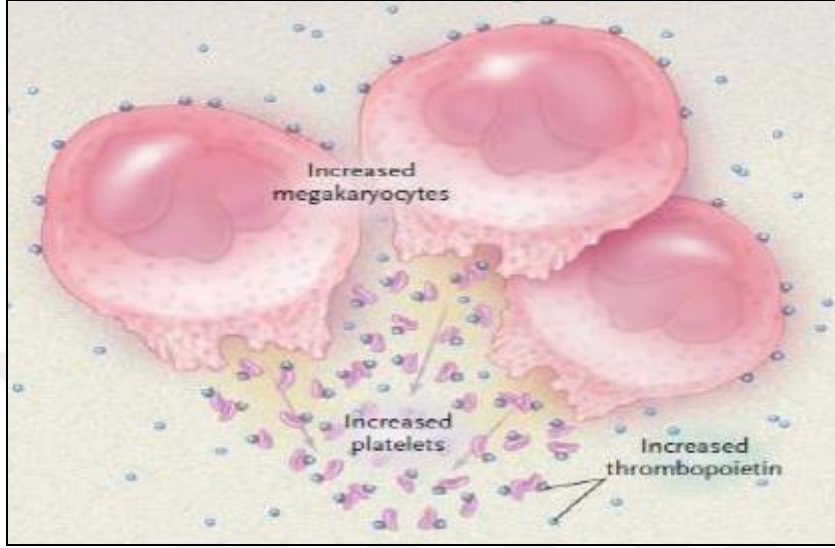
Tüm yaş gruplarında; sağlıklı bireylerde trombosit sayısı 150.000-450.000/ $\mu$ L değerleri arasındadır. Bu değer üzerinde ise **trombositoz** olarak adlandırılır (12, 18).

Hematopoetik hücrelerin monoklonal/poliklonal anormalliklerine veya trombopoietindeki (TPO) anormalliklere bağlı olarak primer trombositoz meydana gelir. Çeşitli hastalıklar nedeni ile megakaryositten trombosit aşırı yapımına bağlı olarak sekonder trombositoz meydana gelir.

Esansiyel veya primer trombositoz megakaryositlerin devamlı çoğalımı sonucu trombosit sayısında belirgin artış ile karakterize, kronik miyeloproliferatif hastalıktır (19,20). İlk defa 1930'larda tanımlanmıştır. Çocuklarda çok nadir olup erişkinlere göre altmış kat daha az görülür. İnsidansı 1/10.000.000'dir. Miyeloproliferatif hastalık birçok özelliği, özellikle bir veya daha fazla kan hücresi dizisinin "klonal" aşırı üretimi özelliğini paylaşan bir grup hastalığı anlatmak için kullanılan bir terimdir. Tüm klonal hastalıklar tek bir hücredeki bir veya daha fazla DNA değişikliği (mutasyon) ile başlar. Kemik iliği ve kanda bulunan hücreler bu tek mutant hücrenin ürünüdür. Diğer miyeloproliferatif hastalıklar polisitemia vera ve idiyoPATİK miyelofibrozistir. ET'nin etkileri kontrol edilemeyen kan hücresi özellikle trombosit üretiminden kaynaklanmaktadır. Hastalık; kırmızı küre, beyaz küre ve trombosit oluşturma kapasitesine sahip kök hücrelerin değişmesiyle bu üç hücre dizisinin herhangi biri veya birkaçı etkilenebilir. ET'de kemik iliğindeki megakaryositlerden aşırı trombosit üretimi olur ve dolaşıma aşırı miktarda trombosit geçer (21).

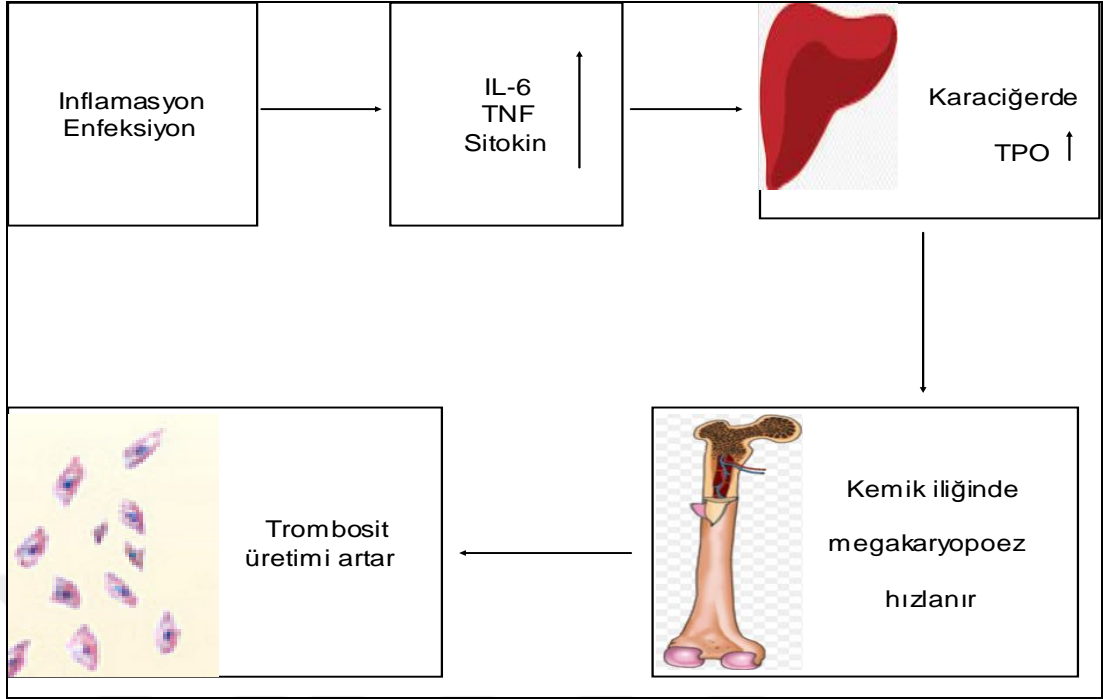
ET'nin sebebi tam olarak anlaşılamamıştır. ET hastalarının yaklaşık yarısında kan hücrelerinde JAK2 (Janus kinaz 2) geninde mutasyon vardır. Hastada mutasyon olup olmaması hastalığın yapısını veya seyrini etkilememektedir. ET hastalarında JAK2 mutasyonlarının gerçek rolünü saptamak ve diğer mutasyonları tanımlamak için araştırmalar yürütülmektedir. Her yıl için tahmin edilen yeni vaka sayısı 100.000 kişide 0.1 - 2.4 arasındadır. ET zaman zaman çocuklarda da ortaya çıkar, fakat çoğunlukla erişkin dönemde tanı konur. ET genellikle yaşam beklentisini kısaltmaz. Beyin veya kalp gibi hayati organları etkileyen ciddi bir komplikasyon olan trombozu önlemek veya tedavi etmek için tıbbi gözetim gereklidir. Trombosit sayısı

çok fazla olduğunda, trombositler normal fonksiyonlarını gösteremeyebilir ve kan damarlarında “trombüs” olarak bilinen tıkanıklığa ve daha nadir olarak kanama problemlerine neden olabilirler (12).

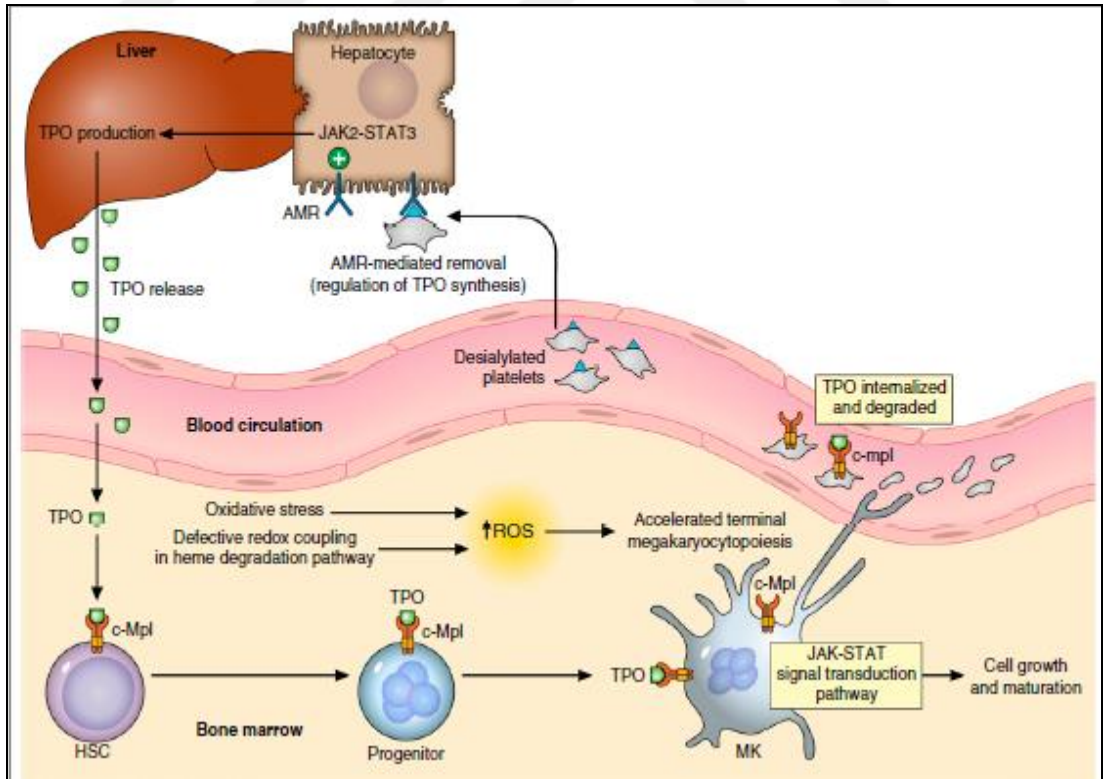


**Şekil 3: Megakaryopoez artışı ve trombositoz**

“Sekonder trombositoz” enfeksiyon, inflamatuvar hastalık, splenektomi veya demir eksikliği anemisi gibi hastalıklara reaksiyon olarak gelişen trombosit sayısının normal değerinden daha yüksek olduğu durumdur. Sekonder trombositoz, miyeloproliferatif bir hastalık değildir. Enfeksiyon, inflamasyonda, malignitede sitokinlerin düzeyi artarak karaciğerde trombopoetin üretimini artırır. Böylece megakaryopoez uyarılarak trombosit üretimi artar (22).



Şekil 4: İnflamasyon ve enfeksiyonda trombositoz



Şekil 5: AMR aracılı trombopoez kontrolü

Trombositler yaşlandıkça membranında bulunan siyalik asitini kaybederler. Sialik asitini kaybeden trombositler hepatosit hücresindeki (Hep G2 hücresi) Ashwell-Morell reseptörüne bağlanır (23). Ashwell-Morell reseptörü (AMR), ASGPR1 ve ASGPR2 alt birimlerinden oluşan transmembran yerleşimli glikoproteindir (24,25,26). AMR, JAK2 STAT3' ü etkileyerek hepatik TPO gen transkripsiyonunu ve translasyonunu indükleyerek trombosit üretimi hızlanır (27, 28).

Wu ve arkadaşları, BLVRB<sup>S111L</sup> alelindeki mutasyonun trombositoz gelişmesinde yeni bir mekanizma olarak göstermişlerdir (23). BLVRB<sup>S111L</sup> alelindeki mutasyon biliverdin IX $\beta$  redüktaz enziminin NADPH' a bağlanarak gerçekleşen reaksiyonu etkileyerek, heme yolunun bozulmasına, redoks reaksiyonlarının yetersiz kalmasına, reaktif oksijen ürünlerin artmasına ve sonuçta trombositozu neden olur.

**Tablo 1: Trombosit artışına neden olan hastalıklar :**

1. Enfeksiyon -Viral - Bakteriyel - Mycobakteriyel - Fungal	5. Malignensi - Lenfoma -Nöroblastom -Histiyositozis -Kronik myeloid lösemi -Karsinoma (kolon, akciğer)
2. İnflamatuar hastalıklar /Otoimmün Hastalıklar - Kawasaki Hastalığı - Romatoid Artrit - HSP - PAN - İnflamatuar barsak hastalıkları - Ankilozan spondilit - Sarkoidoz -Akut romatizmal ateş	-Willm's tümörü -Hepatoblastoma -Lösemi -Polistemi vera 6. Postsplenektomi, hiposplenizm, aspleni(anatomik/fonksiyonel)
3. Hematolojik Hastalıklar - Demir eksikliği anemisi - Hemolitik anemi, kan kaybı - Akut hemoraji, kanama - Vitamin E eksikliği - Rebound trombositosis	7. Travma -Cerrahi -Fraktür -Yanık 8.Elektrik şoku 9.Myelodisplastik Hastalıklar -5q sendromu -Sideroblastik anemi
4. İlaça bağlı -Vinca alkaloidleri -Kortikosteroidler -Adrenalin	10.Ceffey's Sendromu 11.Nefrotik sendrom 12.Stres indüklediği katabolizma 13.Egzersiz 14.Tromboflebit 15.Sarkoidoz 16.Serebrovasküler Hastalık 17.İdiyopatik



**Tablo 2: Esansiyel ve Sekonder Trombositoz Faktörleri**

<b>Klinik ve Laboratuvar Bulguları</b>		
	<b>Esansiyel Trombositoz</b>	<b>Sekonder Trombositoz</b>
Parmak/serebrovasküler iskemi	Karakteristik	Yok
Tromboemboli/Hemoraji	Sık	Nadir
Splenomegali	Var (%80)	Yok
Trombosit sayısı (/ $\mu$ L)	>1.000.000	<1.000.000
Kanama zamanı	Uzamış	Normal
Trombosit morfoloji ve Fonksiyonu	Büyük, displastik formda Hiperploidi	Normal
Lökosit sayısı	Artmış	Normal
<b>Trombokinetik Özellikler</b>		
	<b>Esansiyel Trombositoz</b>	<b>Sekonder Trombositoz</b>
Toplam megakaryosit kitlesi	Çok artmış	Hafif artmış
Megakaryosit sayısı	Artmış	Artmış
Megakaryosit hacmi	Azalmış	Azalmış
Trombosit döngüsü ve üretim hızı	Artmış	Artmış
Trombosit kitlesi	Artmış	Artmış
Trombosit yaşam süresi	Normal/Hafif azalmış	Normal

### 2.1.2. Epidemiyoloji

Esansiyel trombositoz; etyolojisi tam olarak bilinmeyen, pluripotent hematopoietik kök hücredeki bozukluk nedeni ile oluşan, klinik olarak açıklanabilir bir neden olmaksızın trombosit sayısındaki belirgin artış ile karakterize klonal bir hastalıktır (29). Tahmin edilen yıllık insidansı yaklaşık 2,5/100.000 dir (30). Daha

çok yaşlı hastalarda görülür. Ortalama tanı yaşı yaklaşık 5.-6. dekattır. Kadınlarda erkeklere göre iki kat fazla görülür (31).

Ailesel otozomal dominant trombositozda TPO veya c-Mpl genlerindeki aktive edici mutasyonlar TPO ilişkili trombositozu neden olmaktadır. Trombopoetin (TPO) ve trombopoetin reseptörünün (c-Mpl) ET patogeneziğine katkısı gösterilebilmiş değildir (32). Bir başka deyişle ailesel olgular dışındaki trombositoz olgularında TPO ve c-MPL mutasyonlarının rolü olduğuna dair bulgu yoktur. Trombositoz hastalarında serum TPO seviyeleri beklenmedik şekilde normal veya yüksek izlenmiştir (32). Bu nedenle reaktif trombositoz olgularından ayırıcı tanıda kullanılacak bir parametre değildir. JAK2 mutasyonu trombositozlu hastaların %50'sinde bulunur (33). Kromozomal anormallik olguların %5,3'ünde görülmüştür. 1q, 20q, 21q anormallikleri görülebilir ancak bunlar trombositozu spesifik değildir (33)

ET'nin sebebi tam olarak anlaşılamamıştır. ET hastalarının yaklaşık yarısında kan hücrelerinde JAK2 (Janus kinaz 2) geninde mutasyon vardır. Hastada mutasyon olup olmaması hastalığın yapısını veya seyrini etkilememektedir. ET hastalarında JAK2 mutasyonlarının gerçek rolünü saptamak ve diğer mutasyonları tanımlamak için araştırmalar yürütülmektedir. Her yıl için tahmin edilen yeni vaka sayısı 100.000 kişide 0.1 - 2.4 arasındadır

Sekonder (reaktif) trombositoz en sık 0-2 yaş arası dönemde görülür. Reaktif trombositozun insidansı hastanede tedavi gören çocuk hastaların yaklaşık %6-15'dir. Doğumda bebeklerin %13'ünde trombosit sayısı 500.000/ $\mu$ L'nin üzerindedir. Yenidoğan döneminde trombositoz insidansı %36'dır. Bunların birçoğu düşük doğum ağırlıklı ve/veya enfeksiyonu olan yenidoğanlardır. 6-11 aylık bebeklerde sekonder trombositoz insidansı %13 olarak bulunmuştur. Trombositozun görülme sıklığı yaşla birlikte düşerek 11-15 yaş arasında %0.6'ya kadar geriler (16). Yenidoğan döneminde trombositozun sık görülmesi fizyolojik nedenlerden kaynaklanabilir. Bu dönemde kemik iliğinde TPO gen ifadenmesi ve dolaşımdaki TPO düzeyi çocuk ve erişkinlerden daha yüksektir (8,17). Megakaryositik öncül hücrelerin TPO'ya duyarlılığı da yenidoğan döneminde fazladır (34). Bu durumlar miyeloproliferatif hastalık değildir.

Trombosit değerine göre hafif, orta, ağır, aşırı olmak üzere trombositoz derecelendirilir. %72-86 oranında en sık hafif trombositoz görülür. Trombosit sayısı 500.000-700.000/ $\mu$ L aralığındadır, Orta trombositozda trombosit sayısı 700.000-900.000/ $\mu$ L, ağır trombositozda trombosit sayısı 900.000-1.000.000/ $\mu$ L, aşırı trombositozda trombosit sayısı 1.000.000/ $\mu$ L' nun üzerindedir (35).

Sekonder (reaktif) trombositozun en sık nedeni %37-78 oranında akut ve kronik bakteriyel / viral enfeksiyonlardır. Enfeksiyonlardan da en sık %60-80 oranında solunum sistemi, enfeksiyonları görülür. Diğerleri ise sırasıyla gastrointestinal ve üriner sistem enfeksiyonlarıdır (9).

Ishiguro ve arkadaşlarının çalışmasında enfeksiyonu olan reaktif trombositozlu olguların TPO düzeyi incelenmiş. İlk hafta trombosit sayısının normal değerde olduğunu, TPO konsantrasyonunun ise  $4\pm 2$  günde en yüksek değere ulaştığını ve sonrasında kademeli olarak TPO konsantrasyonunun azaldığını tespit etmişlerdir. Yine aynı çalışmada trombosit sayısının en yüksek olduğu ikinci ve üçüncü haftada ise TPO konsantrasyonunun normal değerine ulaştığı görülmüştür. TPO konsantrasyonunun artmasıyla CRP, IL-6, sedimantasyon hızı, fibrinojen ve von Willebrand Faktör düzeylerinin arttığını, TPO' nun akut faz reaktanlarının düzeyiyle korele olduğunu belirtmişlerdir (36).

Splenektomi yapılan olguların 75–85%' inde reaktif trombositoz, trombositozlu olguların 19%' unda aşırı trombositoz geliştiği bildirilmiştir (37,38). Splenektomi sonrası ortaya çıkan trombositoz ve trombosit agregasyonunun artışı nedeniyle hayati tehdit oluşturabilecek arteriyel ve venöz trombozlar görülebilir. Bu nedenle komplikasyonları önlemek amacıyla olguların izlemine göre antiagregan ilaçlar tedavi (aspirin, hidrosiüre, anangrelid vb.) eklenebilir (39, 40).

### **2.1.3.Tanı**

Trombosit sayısı “tam kan sayımı” (hemogram) olarak adlandırılan test ile tespiti yapılır. Semptomu olmayan hastaların periyodik sağlık muayenesinde yapılan testlerle, emboli veya kanama öyküsü olan, splenomegali tespit edilen hastaların testlerinde trombosit sayısında artış olduğunu görülebilir (29,33).

ET tanısı tek başına laboratuvar testleriyle doğrulanamaz. Hastada trombosit sayısının yüksek olmasına neden olan diğer durumları dışlamak için daha ileri muayene ve testler gereklidir.

ET tanı kriterleri:

- Zaman içinde süreklilik gösteren yüksek trombosit sayısı (450.000/ml'nin üstünde)
  - Yüksek trombosit sayısını açıklayacak başka belirgin bir sebep olmaması
  - Normalin biraz altında kan hemoglobin konsantrasyonu (hafif anemi) ve normalin biraz üstünde beyaz küre sayısı (özellikle bir beyaz küre tipi olan nötrofiller)
    - Normal eritrosit hücre kütlesi (erkeklerde 36 ml/kg, kızlarda 32 ml/kg)
    - Kemik iliğinde fibrozis olmaması
    - Kemik iliğindeki demirin normal boyanması
    - Philadelphia kromozomun olmaması
    - Anormal trombosit fonksiyon testleri.
    - Trombosit artışına neden olan diğer klonal kan hastalıklarına ait bulguların olmaması

Tanı için kemik iliğinin değerlendirilmesi mutlaka gerekli değilse, tanıyı doğrulamak amacıyla genellikle yapılır. ET hastasının kemik iliğinde megakaryositlerde belirgin artış ve trombosit kitleleri görülür (29,30,32,18,).

#### **2.1.4.Klinik Özellikler**

Trombositoz hastalarının çoğu asemptomatik olup rutin kan tetkiklerinde trombositoz saptanabilir. Trombositozu olan hastaların bir kısmında ise semptom olarak baş ağrısı, baş dönmesi, senkop, atipik göğüs ağrısı, akral pareteziler, livedo retikularis, eritromelalji, görme bozukluklar ve trombohemorajik komplikasyonlar görülebilir (41). ET için spesifik bir semptom veya bulgu yoktur. Hastaların yaklaşık üçte birinde mikrovasküler oklüzyonlar meydana gelir.

ET'de yaşam beklentisini tromboz ve daha az oranda hemorajiyi içeren hemostatik komplikasyonlar etkilemektedir. Eritroid seri normale yakındır ve kemik iliği fibrozisi minimal düzeydedir. Akut lösemiye dönüşme potansiyeli %5 civarındadır. Tromboembolik ve hemorajik komplikasyonlar primer trombositozlarda daha sık görülür (30).

Parmaklarda akrosiyanoz, nekroz ve gangren görülebilir. Tıpkı PV'da olduğu gibi eritromelalji sık görülen bir bulgudur. Migren, geçici iskemik ataklar ve atipik göğüs ağrıları gözlenebilir (33,34).

Hastaların yaklaşık dörtte birinde izlem süresince büyük damar trombozları görülmektedir. Büyük damar trombozları daha çok alt ekstremitelerde görülür. Daha nadir olarak koroner arter, renal ve mezenterik arter tutulumları da görülebilir. %4 oranında Budd-Chiari sendromu görülmektedir (32). Trombohemorajik komplikasyona bağlı olarak hastalarda baş ağrısı, geçici iskemik ataklar, görme bozuklukları ve nöbet gibi nörolojik bulgular gözlenebilir.

Trombosit işlev bozukluğu, edinsel vWF eksikliği ve tedavi için kullanılan ilaçların bir sonucu olarak özellikle gastrointestinal sistem, acil ve mukozalarda boyutu büyük olmayan kanamalar görülebilir (37). ET' de majör kanama sıklığı %5' tir. ET'nin en önemli fizik muayene bulgusu ise %25-48 oranında saptanan ET' de hepatomegali ve lenfadenopati nadir bulgulardır. ET' de parmak uçlarında renk değişikliği, eritromelalji ve gangrenler cilt bulgusu olarak görülebilir.

Hastalarda anemi görülebilir ancak genellikle hemoglobin değeri normaldir. Nötrofilik lökositoz görülür. Lökosit formülünde sola kayma, eozinofili ve bazofili sıklıkla görülür. Dev trombositler gözlenebilir (34). Lökosit alkalen fosfataz (LAP) skoru normal veya yüksektir. LDH ve ürik asit yüksek olma eğilimindedir. Belirgin trombositozu olan olgularda psödohiperkalemi görülebilir. Protrombin ve parsiyel tromboplastin zamanı normaldir, ancak uzamış kanama zamanı ve bozulmuş trombosit agregasyonu gibi trombosit fonksiyonu anormallikleri görülebilir (34).

Kemik iliği hiperselülerdir ve belirgin megakaryosit artışı dikkat çekicidir. Artmış ploidiye sahip dev megakaryositler kümeleşmiş olarak görülür. Sıklıkla eritroid ve granülositer dizi hiperplaziye eşlik eder. Hafif düzeyde fibrozis görülebilir. Kemik iliğinde fibrozisin belirgin olması ET aleyhine bir bulgudur. Demir skoru yüksektir (25).

### **2.1.5.Prognoz**

ET'li olguların genelde sağkalım süreleri, normal nüfusa yakındır (34). Bir çalışmada, ET'li olgularda ölüm nedenleri arasında tromboz %26, kanama 1%, lösemi %8 olarak bulunmuştur. Erken pre-fibrotik miyelofibrozdaki ayırım prognoz için önemlidir. Tromboz insidansı daha önce tromboz geçirmemiş olan olgularda yılda 1,7%, daha önce tromboz geçirmiş olgularda ise 13,4% olarak bildirilmiştir. Bir diğer çalışmada ise arterial tromboz riski olarak yaş >60, önceden tromboz, kardiovasküler risk faktörleri (sigara, hipertansiyon, diabet), lökositoz (>11 x 10<sup>9</sup>/L),

ve JAK2-V617F pozitif olması bildirilmiştir (42). Trombosit sayısının artış düzeyinin trombotik komplikasyon riski ile korelasyonu gösterilmemiştir. Trombosit sayısı  $>1,500 \times 10^9/L$  olan olgularda hemorajik komplikasyon riski artabileceği belirtilmiş olsa da yeni bir çalışmada ET'li olgularda kanama riski artışı önceden kanama öyküsü olanlarda ve aspirin kullanımı ile ilişkili olarak bulunmuştur (41,33).

Reaktif trombositozu olan hastalarda altta yatan önemli hastalık (postsplenektomi, protein C eksikliği, diyabetes mellitus vb.) olmazsa trombotik veya hemorajik komplikasyonlar görülmez (38).

### 2.1.6. Tedavi

Tedavinin amacı ET'ye bağlı semptomları kontrol etmek, trombo-hemorajik komplikasyonları önlemek ve tedaviye bağlı lösemi riskini minimum düzeyde tutmaktır. Anti-trombosit tedavi (aspirin) ve miyelosupresif tedavi seçenekleri vardır. Trombosit aferezi ender olarak acil hayatı tehdit edici trombo-hemorajik komplikasyonlar esnasında endikedir (35,12).

Tedavi kararı hastanın pıhtılaşma veya kanama komplikasyonları açısından taşıdığı riske göre belirlenir. Trombosit sayısı artışı dışında hiçbir hastalık belirtisi olmayan bazı hastalarda komplikasyon riski düşük olabilir. Düşük risk taşıyan hastalar, özellikle başka kardiyovasküler risk faktörü taşımayan genç hastalara sadece periyodik medikal tarama yapılabilir. Daha önce kanama veya pıhtılaşma epizodları olan veya bu tür komplikasyonlar açısından yüksek risk altında olan hastalarda yüksek trombosit sayısını düşürmek için kemoterapi kullanabilirler (12,42).

**İlaç tedavisi:** ET tedavisinde en sık kullanılan ilaçlar hidroksiürea, anagrelid ve interferon alfa'dır (12).

**Hidroksiürea** ET tedavisinin başlangıcında kullanılabilen miyelosupresif bir ilaçtır. Hidroksiürea trombosit sayısını birkaç hafta içinde düşürür. Hidroksiüreanın uzun süreli tedavi sonrasında akut lösemi gelişimi riskini artırdığını gösteren bazı bulgular mevcuttur. Hidroksiürea genellikle genç hastalar veya semptomsuz hastaların tedavisinde kullanılmaz (12,42).

**Anagrelid** birçok hastada trombosit oluşumunu etkin şekilde azaltan non-sitotoksik ilaçtır. Lösemi riskinde artışa neden olmaz. Hidroksiürea gibi diğer tedavilere alternatif olarak kullanılabilir. Anagrelidin sıvı retansiyonu, kalp ve kan

basıncı problemleri, baş ağrıları, sersemlik, bulantı ve diyare gibi yan etkileri ortaya çıkabilir.

**İnterferon** alfa ET hastalarında trombosit sayısını düşüren bir diğer tedavidir. Ancak, birçok hastada kullanılmaz, çünkü diğer ET tedavilerine kıyasla uygulaması daha zordur (enjeksiyonla verilir), diğer birçok tedavi seçeneğinden daha pahalıdır ve ciddi yan etkilere neden olabilir. Bazı hastalarda orta derecede grip benzeri semptomlar, konfüzyon, depresyon veya diğer komplikasyonlar gelişebilir (43).

Düşük-doz aspirin tekrarlayan pıhtılaşma komplikasyonları olan hastalarda etkili olabilir. Kanama riskini de artırabilir. Bu nedenle bugün için ET tedavisinde aspirin kullanımı tartışmalıdır. Bununla birlikte, gebe hastalar, düşük, fetal büyüme geriliği, prematüre doğum ve diğer komplikasyonlara dair riskleri azaltmak için düşük doz aspirinle tedavi edilebilirler. Annede veya yenidoğanda herhangi bir kanama komplikasyonu riskini azaltmak için doğumdan en az bir hafta önce aspirin kesilmelidir.

Trombositoferez hastanın kanından trombositleri ayıran, ardından plazma ve eritrositleri hastaya geri veren bir işlemdir. Trombosit sayısının çok yüksek olduğu, hızla indirilmesi gereken akut pıhtılaşma komplikasyonları gibi acil durumlarda kullanılır. Trombositoferez işlemi ile trombosit sayısının düşürücü etki geçicidir.

Miyelosupresif tedavi endikasyonu olan genç hastalarda interferon-alfa ile lösemi riski olmadığı için tedavide tercih edilir. Pegylated-interferon haftada bir doz olarak uygulanabilir ve haftada üç defa verilen interferon-alfa 2b'e göre genelde daha iyi tolere edilir (44). Major bir trombotik komplikasyon yüzünden yüksek tromboz riski olan, JAK2-V617F pozitif genç hastalarda randomize çalışmaların sonuçlarına bakarak genelde HU tercih edilebilir. Miyeloproliferatif Kanserler Konsorsiumu yüksek risk olgularda HU ve interferon'u karşılaştıran bir çalışma yürütmektedir. Semptomatik, yüksek riskli ET'si olan ve gebe kalma ihtimali olan genç kadınlarda veya gebelik esnasında miyelosupresyon endikasyonu varsa interferon-alfa tercih edilir. Gebelikte anagrelide kullanılmamalıdır. HU özellikle ilk trimestr'de teratojenik olabilir (12,42,43,44).

## 2.2.Oksidanlar ve Oksidasyon

Oksidatif stres hücrenel veya bireysel düzeyde oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki dengenin bozulmasıdır (45). Oksidatif hasar ise bu denge bozukluğunun bir sonucudur.

Oksidan ajanlar hedef molekülleri okside edebilen moleküllerdir. Oksidasyon üç farklı yolla gerçekleşir:

1. Molekülden hidrojen çıkarılması
2. Molekülden elektron çıkarılması
3. Moleküle oksijen eklenmesi

Oksidan ajanlar molekülleri direkt ve indirekt olarak hasarlayabilirler. Aerobik koşullarda yaşayan tüm hücreler çeşitli dış ve iç kaynaklardan köken alan çok sayıda oksidanlara sürekli olarak maruz kalırlar. Sağlıklı bireylerde serbest radikaller ile enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlar arasında bir denge vardır. Eritrositler oksidatif reaksiyonlara diğer hücrelere göre daha açıktır. Eritrositlerin sürekli olarak yüksek oksijene maruz kalmaları, hemoglobinin oksidasyona açık olması ve bir oksidaz/peroksidaz gibi davranabilmesi eritrositleri oksidatif ortama açık hale getirir. Eritrositler hasarlı komponentlerini yeniden sentez ederek onarma yeteneğinden yoksun olması nedeniyle 120 günlük yaşam süreleri boyunca antioksidanlara bağımlıdırlar (46).

Oksidanlar ayrıca apopitozis ve inflamasyon gibi ana kaskadların kontrolünde yer alan endojen sinyal molekülleri olarak da görev alırlar (47). Biyolojik sistemlerdeki en önemli oksidanlar çoğunlukla reaktif oksijen ürünleri olarak bilinirler. Nitrojen ve sülfürden türeyen reaktif nitrojen/sülfür molekülleri de mevcuttur. Bu moleküllerin bazıları (hidroksil radikali) büyük reaktivite gösterirler. Diğerlerinin biyolojik önemi ise hidroksil radikale kolayca dönüşebilmelerinden kaynaklanır. Bu durum özellikle demir varlığında gerçekleşir.

Oksidatif Stresin Rol Oynadığı Düşünülen Süreçler:

- Nörodejeneratif süreçler
- Katarakt
- Sistemik amiloidoz
- Müsküler distrofiler
- Romatoid artrit



- Respiratuar distres sendromu
- Kardiyovasküler hastalıklar
- Ateroskleroz
- Diyabetes mellitus
- Multipl skleroz
- Yaşlanma
- Gastrik ülser
- Sigara içimiyle ilişkili hastalıklar (48,49)

### 2.2.1 Reaktif Oksijen Türleri

Oksijenin indirgenme sürecinin tam olarak tamamlanamamasıyla veya elektron düzeninde oluşan değişikliklerle reaktif oksijen türleri oluşur. Bunlar; süperoksitradikali ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidroksil radikali ( $OH^{\cdot}$ ), yüksek derecede reaktivite gösteren ancak radikal olmayan hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), singlet oksijen, hipoklorik asit ( $HOCl$ ), peroksinitrit ( $ONOO^{\cdot}$ ), hidroperoksil ( $HO_2^{\cdot}$ ), lipid hidroperoksit ( $LOOH$ ), nitrik oksit ( $NO^{\cdot}$ ) ve nitrojen dioksittir ( $NO_2^{\cdot}$ ) (50,51).

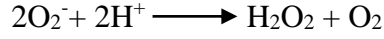
Moleküler oksijen, dış yörüngesinde eşlenmemiş iki elektron içerdiği için bir radikal olarak tanımlanır. Bu iki elektron paralel iki farklı spinde bulunur. Oksijen kararlı duruma geçmek için suya dönüşmek amacıyla elektron almak ister. Oksijen molekülündeki elektronların dağılımı spinin uyumlu bir elektron çifti almasına engeldir. Bu sebeple elektronları teker teker alır ve süperoksit anyon radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ) meydana gelir (45).

$O_2$ : 16 proton, 16 elektrona sahip nötr bir radikal

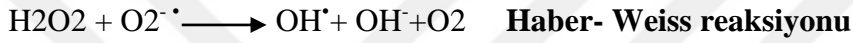
$O_2$ : 16 proton, 17 elektronu olan negatif yüklü süperoksit anyon radikaldır.

Süperoksit anyon radikali başlıca elektron transport zincirindeki kaçak elektronlardan kaynaklanır (40). Ayrıca NADPH'nin NADPH oksidaz tarafından oksitlenmesiyle, ksantin ve hipoksantin'in ksantin oksidaz ile oksitlenmesiyle, geçiş metalleri varlığında hemoglobin, flavinler ve monoaminlerin otooksidasyonu ile moleküler oksijenin P450 sisteminde tek elektronla indirgenmesiyle moleküler oksijenden oluşabilir (46,48, 49).

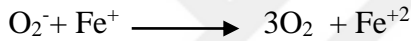
Eğer moleküler oksijene 2 elektron eklenirse hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) oluşur. Biyolojik sistemlerde bu genellikle süperoksit dismutaz enziminin katalizlediği yahut kendiliğinden gerçekleşen 2 süperoksit molekülünün girdiği reaksiyonla gerçekleşir.



Bu reaksiyon dismutasyon reaksiyonudur. Burada iki süperoksit anyon radikalinden biri yükseltgeyici biri indirgeyici olarak görev yapar. Sitokrom P-450, D-amino asit oksidaz, asetil koenzim A oksidaz ve ürik asit oksidaz enzimlerinde moleküler oksijene 2 elektron taşınmasına yol açarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşumu sağlanır. Hidrojen peroksit bir radikal değildir ancak kararsız bir yapıdır. Geçiş metalleri (ferröz demir, kuprik bakır gibi) hidrojen peroksitine bir elektron vererek hidroksil radikali oluşturma kapasitesine sahiptirler (52).



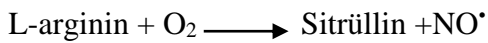
Reaksiyon kendiliğinden gerçekleşebilirse de geçiş metalleri ortamda mevcutsa daha hızlı olur.



Hidroksil radikalın yarı ömrü çok kısadır ancak su dahil girdiği her ortamda bulunan moleküllerle tepkimeye girer.

Singlet oksijen de bir diradikaldir, moleküler oksijende eşleşmemiş ancak paralel spinlerde bulunan elektronların spinlerinin anti paralel duruma gelmesiyle daha kararsız bir yapı meydana gelir.

Nitrik oksit azot monoksit veya nitrojen monoksit olarak da adlandırılır. Bazı bir aminoasit olan L-arginini ve moleküler oksijeni kullanan, nitrik oksit sentaz adı verilen enzim ailesi yardımıyla sentezlenir (51).



Nitrik oksit sentazın üç ana izoformu vardır.

1. Tip I NOS (N<sub>os</sub>): Nöronlarda (beyin, non adrenerejik non kolinerjik periferik sinirler) ve diğer bazı dokularda (akciğer, pankreas, mide, uterus) bulunur.

2. Tip II NOS (i NOS): İmmunolojik uyarılan sonucu indüklenen ve neredeyse tüm çekirdekli hücrelerde bulunur.

3. Tip III NOS (eNOS): Endotel hücrelerinde bulunur. eNOS ve nNOS beraber yapısal NOS (cNOS) olarak da adlandırılırlar (52).

NO ve NO<sub>2</sub> iki nitrojen serbest radikalidir. NO eşlenmemiş bir elektron içerdiği için oksijen, süperoksit radikalleri, demir, bakır, kobalt, manganez gibi geçiş metalleriyle hızla reaksiyona girmektedir. Çok kısa yarı ömre sahip olması oksijen ve süperoksitle girdiği reaksiyona bağlanmaktadır. Nitrik oksit radikali süperoksit radikali veya hidrojen peroksitle ile reaksiyona girerek onlardan daha oksidan bir ajan olan peroksinitriti (ONOO<sup>-</sup>) meydana getirir (53). Peroksinitrit bir serbest radikal değildir ancak reaktif bir moleküldür. Peroksinitritin protonlanması sonucu peroksinitröz asit (ONOOH) oluşur; bu molekül de güçlü bir oksidandır.

### 2.2.2. Serbest Radikaller

Atom veya moleküllerdeki elektronlar çekirdeğin etrafında orbital olarak tanımlanan bölgelerde hareket ederler. Her yörüngede birbirine zıt yönde hareket eden en fazla iki elektron bulunur. Bir atom veya molekül dış orbitallerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış (eşleşmemiş) elektron bulunduruyorsa “serbest radikal (SR)” olarak tanımlanır. Bu tip moleküller, ortaklanmamış elektronları nedeniyle oldukça reaktiflerdir (3). En basit serbest radikal bir elektron ve bir protonu olan hidrojen atomudur. Serbest radikallerde eşleşmemiş elektron, atom veya molekülün üst kısmına konulan bir nokta ile belirtilir.

Oksidan veya redüktan olarak görev yapabilirler. Lipid peroksidasyonuna yol açarlar. Süperoksit (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hidroksil (OH<sup>\*</sup>), peroksil (LOO<sup>\*</sup>), alkoksil (LO<sup>\*</sup>), hidroperoksil (HOO<sup>\*</sup>), nitrik oksit (NO<sup>\*</sup>) ve nitrojen dioksit (NO<sub>2</sub><sup>\*</sup>) radikalleri örnek olarak verilebilir (54).

Serbest radikallerin oluşma yolları:

1. Bir molekülün kovalent bağının molekülün her bir parçasında eşlenmiş elektronlardan biri kalacak şekilde ayrılması
2. Bir molekülden bir elektron kaybı yahut kovalent bağdaki iki elektronun atomlardan birinde kalacak biçimde ayrılması
3. Bir moleküle tek bir elektron eklenmesi şeklindedir (53).

Biyolojik ortamlarda en çok görülen moleküle bir elektron eklenmesi şeklindedir.

### Serbest radikallerin proteinlere etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı çoklu doymamış yağ asitlerinden daha az hassastır, ancak proteinin aminoasit içeriğine göre radikalik hasardan etkilenme

derecesi değişir. Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin gibi doymamış bağ içeren ve metiyonin, sistein gibi kükürt bulunduran aminoasitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenir (54). Bunun sonucunda karbon merkezli organik radikaller ve sülfür radikalleri oluşur. Bu reaksiyonlar sonucu albümin ve immunoglobulin G (IgG) gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin tersiyer yapısı bozulur. Hemoglobinin ferro demiri (Fe+2) süperoksit ve diğer oksitleyici ajanlarla oksitlenmeye duyarlı olup, bunun sonucunda oksijen taşımayan methemoglobin oluşur (4).

#### **Serbest radikallerin nükleik asitlere ve DNA'ya etkileri**

DNA serbest radikallerden kolay etkilenen bir hedeftir. İyonize edici radyasyonla oluşan radikaller, DNA'yı etkileyerek hücre mutasyonuna ve ölümüne yol açabilirler. Aktive olmuş nötrofillerden salınan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> membranlardan kolayca geçebildiği için hücre çekirdeğine kadar ulaşır. Burada oluşan hidroksil radikali dört DNA bazıyla kolayca reaksiyona girerek baz modifikasyonlarına yol açar (55,5). DNA hasarı onarılmazsa hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yolaçabilir.

#### **Serbest radikallerin karbonhidratlara etkisi**

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerinde polisakkarit depolimerizasyonu ve özellikle monosakkarit otooksidasyonu gibi etkileri vardır. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu meydana gelen süperoksitler ve okzalaldehitler diyabet ve sigara içimi ile ilgili patolojik olaylarda rol oynar. Okzalaldehitler ayrıca DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylece kanser ve yaşlanma olaylarında da rol oynarlar (56).

Bağ dokunun önemli bir mukopolisakkaridi olan hiyalüronik asit sinoviyal sıvıda bol miktarda bulunmaktadır. Romatoid artrit gibi enflamatuar eklem hastalıklarında hiyalüronik asidin oluşan serbest radikal tarafından parçalandığı gösterilmiştir (4).

Organizmada metabolik reaksiyonlar sonucunda serbest radikal üretimi gerçekleşir. Açığa çıkan serbest radikaller antioksidan moleküller ile nötralize edilir. Ancak bazen serbest radikallere metabolize olan toksinler, aşırı oksijen konsantrasyonuna maruz kalma, fagositik aktivasyondaki düzensizlikler, malnütrisyon sonucu diyetle antioksidan etkili bileşiklerin yetersiz alımı gibi sebeplerle hücrede daha fazla reaktif oksijen türleri oluşabilir. Hücresel savunma

mekanizmaları vasıtasıyla ortadan kaldırıldandan daha fazla reaktif oksijen ürünleri oluştuğunda “oksidatif stres” durumu ortaya çıkar.

### 2.3. Lipid Peroksidasyonu

Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki ve gıdalardaki kolesterol ve yağ asitleri serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikaller etkisi ile oksidatif yıkımı nonenzimatik lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve zincir reaksiyonu şeklinde ilerler (57).

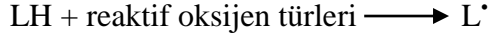
Lipid peroksidasyonu organizmada oluşan serbest radikallerin özellikle  $\text{OH}^\bullet$ 'in, membran yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerindeki (PUFA) konjuge çift bağlardan bir H atomu çıkarmasıyla başlar (radikalik reaksiyonun başlama aşaması). Bunun sonucunda yağ asidi zinciri bir lipid radikali ( $\text{L}^\bullet$ ) niteliği kazanır. Molekül içi bir düzenlenme ile daha kararlı olan konjuge dienler oluşur. Aerobik şartlarda, konjuge dienin moleküler oksijenle birleşmesi sonucu lipid peroksil radikalleri ( $\text{LOO}^\bullet$ ) oluşur.  $\text{LOO}^\bullet$  oluşumu önemlidir, çünkü membran yapısındaki diğer çoklu doymamış yağ asitlerini etkileyerek, yeni lipid radikallerinin ( $\text{L}^\bullet$ ) oluşumuna yol açar. Kendisi de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid peroksitlere ( $\text{LOOH}$ ) dönüşür. Ayrıca membran proteinlerine de saldırabilir. Böylece reaksiyon otokatalitik olarak devam eder. Bu lipid peroksidasyonunun ilerleme aşamasıdır (50).

Lipid peroksidasyonu lipid peroksidlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklerine yıkılması ile sona erer (sonlanma basamağı). Yıkıldıklarında, çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur. Bu bileşikler hücre düzeyinde metabolize edilir veya ilk atak bölgesinden hücreye difüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu; lipid peroksidasyon seviyesinin belirteci olarak kabul edilen malondialdehit (MDA) oluşur. Lipid peroksidasyonu, membran yapısına direkt ve oluşturduğu reaktif aldehitlerle diğer hücre bileşenlerine indirek olarak zarar veren geri dönüşümsüz bir olaydır (58).

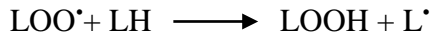
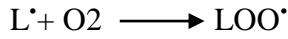
MDA düzeyi lipid peroksidasyonun derecesiyle korelasyon gösterir. Aldehitlerin ömrü uzun olması nedeniyle hücre hasarının hızlıca yayılmasına neden

olurlar. Membrandaki yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu kısa zincirli yağ asitleri oluşur. Membrandaki proteinlerin oksidasyonu ile membran permeabilitesi artar, membran akışkanlığı azalır (59). MDA, nükleusa difüze olur, DNA'nın nitrojen bazlarıyla reaksiyona girerek DNA yapısını bozar. MDA mutajenik, genotoksik ve karsinojenik özelliindedir (60).

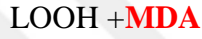
Başlama:



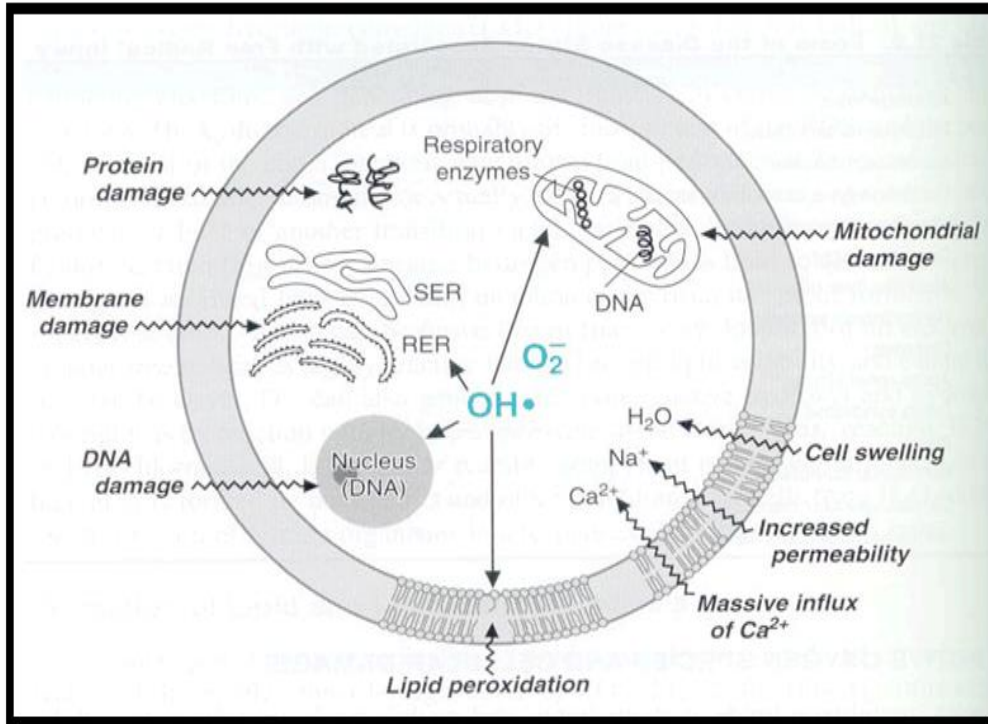
İlerleme:



Yıkım:



Sonlanma:



Şekil 6- Lipid peroksidasyonu

## 2.4. Antioksidanlar

Organizmada serbest radikallerin oluşumunu ve bunların neden olduğu hasarı önlemek için savunma mekanizması bulunur. Bu mekanizmalar “antioksidan savunma sistemleri” veya kısaca “antioksidanlar” olarak bilinirler. Antioksidanlar serbest radikalleri nötralize etmek için karşılıklı etkileşim halinde olan endergonik ve ekzergonik kaynaklı, çok çeşitli bileşiklerdir. Bu bileşikler gıda kökenli antioksidanlar (C vitamini, E vitamini, karotenoidler, lipoik asit gibi), antioksidan enzimler (SOD, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz gibi), metal bağlayıcı proteinler (ferritin, albümin, laktoferrin, seruloplasmin gibi) ve bitkilerde yaygın şekilde bulunan çeşitli antioksidan fitonutrientlerdir (61,62).

Lipidlerin yanı sıra protein, DNA ve karbonhidrat gibi okside olabilen diğer tüm bileşikleri de içeren diğer bir tanım “okside olabilen substratlara kıyasla düşük konsantrasyonlarda bulunan ve substratların oksidasyonunu önleyen veya geciktiren maddeler” şeklindedir (63). Antioksidanların oksidatif reaksiyonlara etkisi farklı şekillerde olabilir (56,64):

a) ROS oluşmasını engelleyen sistemler: Demir ve bakır iyonlarını bağlayan metal şelatörleri, mitokondride doğal olarak oluşan reaktif oksijen ürünleri indirgeyen mitokondriyal sitokrom oksidaz gibi.

b) ROS’ları yakalayıp nötralize eden antioksidanlar: Flavonoidler,  $\alpha$ - tokoferol, askorbik asit, metiyonin, ürik asit,  $\beta$ -karoten, indirgenmiş glutatyon, mukus gibi. Bu tür antioksidanlar radikalik zincir reaksiyonunun başlamasını inhibe eder veya zincir reaksiyonunun ilerlemesine engel olarak radikalik reaksiyonu sona erdirirler.

c) **Oluşan radikalleri detoksifiye eden sistemleri:** ROS’ları daha az toksik ürünlere dönüştüren enzim sistemleridir. Süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutatyon-S-transferaz ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz.

### **Antioksidanların sınıflandırılması**

Antioksidanların sınıflandırılması çeşitlilik göstermektedir. Doğal (endojen kaynaklı) ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olarak sınıflandırılabilirdiği (4) gibi enzim ve enzim olmayan antioksidanlar (63, 65) şeklinde sınıflandırmalar da mevcuttur. Vücudumuzdaki antioksidan savunma sistemleri; enzimler, metal iyonlarını bağlayan proteinler, suda ve yağda çözünen radikal tutucularıdır (5).

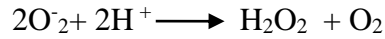
**Tablo 3: Organizmada bulunan temel antioksidan savunma sistemleri**

Enzimler	Radikal Yağda çözünenler	Tutucular Suda çözünenler	Metal iyonlarını bağlayan proteinler
Süperoksit dismutaz	E vitamini	C vitamini	Ferritin (Fe)
Katalaz	β- karoten	Glutasyon	Transferin (Fe)
Glutasyon peroksidaz	Bilirubin	Ürikasit	Laktoferrin (Fe)
Glutasyon redüktaz	Ubikinon	Sistein	Albümin (Cu)
Glutatson S transferaz	Flavonoidler	Mannitol	Seruloplazmin (Cu)
Glukoz-6-fosfat	Melatonin		Miyogloblin (Fe)
	Lipoik asit		

#### 2.4.1. Enzim Olan Antioksidanlar

##### 2.4.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD):

Serbest radikallere karşı organizmadaki ilk savunma süperoksit dismutaz enzimiyle gerçekleşir. Enzimin fonksiyonu, oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının zararlı etkilerinden korumaktadır. Süperoksidin daha az toksik olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye dönüşümünü katalizler. SOD enziminin bakır-çinko, mangan ve demir içeren üç tip izoenzimi bulunur. Bakır ve çinko içeren Cu-Zn-SOD sitoplazmada, mangan içeren Mn-SOD mitokondride aktivite gösterir. Cu-Zn-SOD ve Mn-SOD aynı mekanizma üzerinden etki gösterirler ancak Mn-SOD pH 7 nin üzerinde aktivitesini kaybederken Cu-Zn-SOD un aktivitesi pH 5.5-10 aralığında değişmez. Ayrıca demir içeren formu ökaryotlarda bulunmaz (66).



Bu reaksiyon SOD enziminin süperoksit anyon radikallerinden birini kullanarak diğerini yükseltmesi esasına dayanır. Enzim hücre yapılarını süperoksitin hasarlayıcı etkilerine karşı koruma amaçlı çalışmaktadır. Bu reaksiyon SOD enzimi tarafından katalizlendiğinde kendiliğinden oluşmasına kıyasla yaklaşık 4000 kat hızlı olur. SOD enzimi antioksidan savunmada oldukça önemli bir

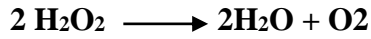


enzimdir. Oksijen kullanımı yüksek olan dokularda SOD aktivitesi fazladır ancak ekstrasellüler sıvılarda aktivitesi oldukça düşüktür (66,67).

#### 2.4.1.2. Katalaz

Hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene çevrildiği reaksiyonu katalizleyen, hücre içinde peroksizomlarda yerleşmiş bir hemoproteindir. Dört tane hem grubu içerir. Katalazın görevi SOD'a benzerdir. İki hidrojen peroksit molekülünü kullanarak diğerini oksitler.

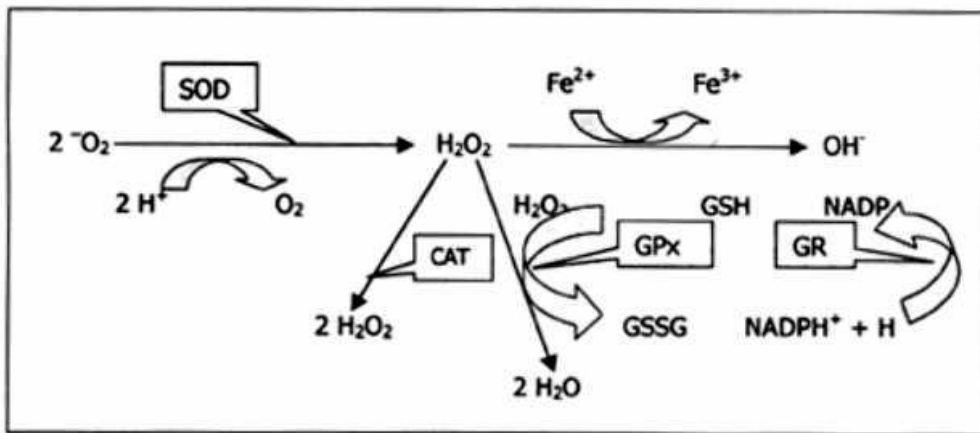
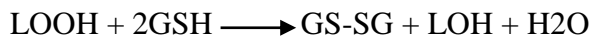
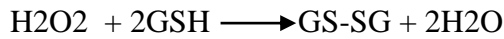
Reaksiyon: (65, 68).



Bu reaksiyon hidrojen peroksit konsantrasyonları yükseldiğinde önem kazanırken düşük hidrojen peroksit konsantrasyonlarında diğer peroksidazlar hidroperoksitlerin daha az reaktif olan alkollere ve suya parçalanmasını katalizler. Kan, böbrek, karaciğerde ve ayrıca müköz membranlarda bulunur. Granümatöz hücreleri solunumsal patlamaya karşı korur (69).

#### 2.4.1.3. Glutasyon Peroksidaz

Glutasyon peroksidaz bir hidroperoksidazdır. Hidroperoksidazların substratı hidrojen peroksit veya organik peroksitlerdir. Glutasyon peroksidaz sitoplazmada yerleşik bir enzimdir. Tetramer yapılıdır. Aktif bölgesinde dört adet selenyum bulunur. Lipid peroksidasyonunu engelleyerek membran lipitlerini ve hemoglobini peroksitler aracılığıyla oluşabilecek oksidasyona karşı korur (68). Rol aldığı reaksiyonlar aşağıdaki şekildedir.

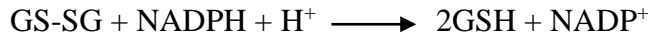


Şekil 7: Glutasyon Peroksidaz

GSH-Px in iki substratından biri olan peroksitler alkole indirgenirken diğer substrat olan glutatyon (GSH) yükseltgenir. Ortaya çıkan yükseltgenmiş glutatyon (GSSG) glutatyon redüktaz enzimi ile katalizlenen başka bir reaksiyon ile tekrar indirgenmiş glutatyona çevrilir.

#### **2.4.1.4. Glutatyon Redüktaz**

GSH-Red prostetik grubu flavin adenin dinükleotid (FAD) olan, dimerik yapıda sitozol ve mitokondride bulunan bir enzimdir (5). NADPH varlığında oksitlenmiş glutatyonun indirgenme reaksiyonunu katalizler.



#### **2.4.1.5. Sitokrom Oksidaz**

Sitokrom oksidaz mitokondrideki elektron taşıma zincirinin son basamağında yer alan, süperoksit anyonunun suya dönüştüğü reaksiyonu katalizleyen enzimdir.

#### **2.4.1.6. Glutatyon Transferaz**

Lipid peroksitlerine karşı selenyumdan bağımsız glutatyon peroksidaz aktivitesi göstermektedir.



#### **2.4.1.7. Arilesteraz ve Paraoksonaz**

Paraoksonaz (PON1), hem arilesteraz (E.C. 3.1.1.2) hem de paraoksonaz (E.C.3.1.8.1) aktivitesine sahip, glikoprotein yapısında olan kalsiyum bağımlı bir ester hidrolazdır.

İnsan serumundan saflaştırılan PON1, minimum 43000 dalton ağırlığında, 354 amino asitten oluşan bir glikoproteindir. Ağırlığının %15.8'ini oluşturan karbohidrat üniteleri, 4 farklı konumda proteine bağlı olarak bulunur. PON1'in aminoasit bileşimi incelendiğinde, lösin içeriğinin yüksek olmasına karşılık, "kringle" yapısına sahip olacak kadar sistein içermediği görülür. Bununla beraber, 42, 284 ve 353. konumlarda yer alan sistein artıklarının, PON1'in yapısal ve fonksiyonel özelliklerine katkıda bulunduğu söylenebilir. Protein yapısında bulunan tek disülfid bağı, polipeptid zincirinin siklik yapıda olmasına neden olmaktadır (68).

Paraoksonaz (yüksek dansiteli lipoproteine (HDL) bağlı karaciğerde ve serumda bulunan lipofilik bir antioksidandır. PON enzimi düşük dansiteli lipoproteini (LDL) oksidasyondan koruyarak ve aromatik karboksilik asit esterlerini hidroliz ederek antioksidan özellik gösterir. Birçok çalışmada da paroksonaz enziminin LDL'nin oksidasyonunu azalttığı gösterilmiştir (69). Yaşa ve cinsiyete

göre aktivitesinde değişiklik göstermez. Ayrıca proinflatuar molekülerin salınımını sınırlayarak antiinflatuvar özelliği de vardır.

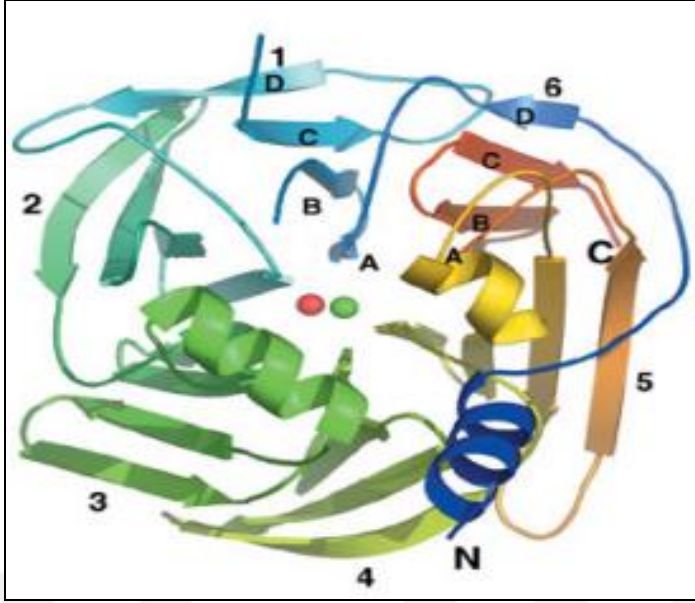
KC'de sentezlenen ve dolaşıma verilen PON1'in HDL yapısında yer aldığı bilinmektedir. PON1, hidrofobik N-terminal bölgesi aracılığıyla HDL lipidlerine kolayca bağlanabilmektedir. PON1'i bağlayan HDL alt birimleri, Apolipoprotein A1(Apo A1) ve Apo 23 J (klusterin) proteinlerini de içerdiğinden, Apo A1 ve Apo J'nin bağlanmada rol oynayabileceği düşünölmektedir. PON1'in yapısında 6 yapraklı beta tabakası bulunur. Her bir yaprak da 4 beta tabakası içerir. Enzimin merkez kısmında yapı ve katalitik aktivitesinin korunması için gerekli olan iki kalsiyum atomu vardır. Bunlardan bir tanesi yapısal kalsiyum olup, yapıdan uzaklaştırılması geri dönüşümsüz denatürasyona neden olmaktadır. Diğeri ise katalitik etkinlikte görev alan kalsiyumdur. Bu kalsiyum iyonu bir su molekülü ile fosfat iyonunun oksijeni ile etkileşmektedir (65,67).

PON1 tarafından hidrolize edilen bileşikler olan organofosfatlar (paraokson ve diazokson), sinir gazı ajanları (somon ve sarin) ve aromatik esterler (fenilasetat) PON1'in non-fizyolojik substratları olduğu bildirilmiştir. Parokson (O, O-dietil-O-p-nitrofenil fosfat), paroksonazın ve aril esteraz aktivitesini ölçmede en sık kullanılan substrattır (68,69).

Fenil asetat ise sadece arilesteraz aktivitesini ölçmede kullanılan bir substrattır. PON1 polimorfik dağılımı nedeniyle aynı substrata karşı farklı aktivite gösterir.

PON1 lipoprotein kaynaklı fosfolipid peroksitlerinde ve kolesterol ester peroksitlerinde bulunan O ve P arasındaki ester bağını hidroliz ettiği gösterilmiştir. Okside olmuş lipoproteinler ve kolesterol esterlerinin HDL bağımlı PON1 için fizyolojik substrat olduğu düşünölmektedir. İnsan arteriyel duvar hücre kültürlerinde yapılan bir çalışmada PON1'in okside 1-palmitil-2-araşidonoil-sn-glisero-3-fosforilkolin üzerindeki fosfolipid türlerini hidroliz ettiği, böylece HDL'nin LDL'yi oksidasyondan koruyucu etkisinin paraokson hidroliz kapasitesinden bağımsız olduğu görölmüştür

Paraoksonaz aktivitesi çevresel faktörlerden etkilenebilmekte ve popölasyonlara göre farklılık göstermektedir (70,71,47). Literatür taraması sırasında, farklı ölkelerde ve çeşitli hastalıklarda serum PON1 aktivitelerinin araştırıldığı görölmektedir (69,72,73,74,75).

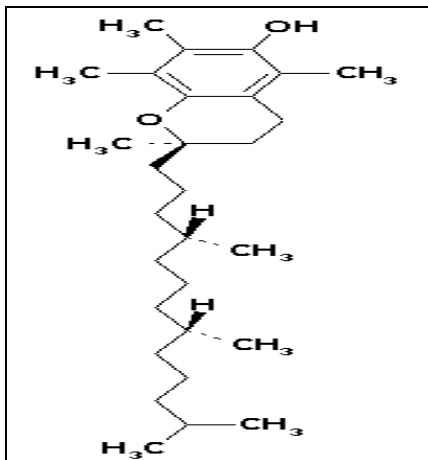


Şekil 8: Paraoksonaz enziminin üç boyutlu görünümü

## 2.4.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar

### 2.4.2.1. E Vitamini

Yalnızca bitkilerde sentezlenen tokoferol ve tokotrienollerin bir karışımıdır. Yağda çözünürler. Alfa tokoferol içlerinde en yüksek antioksidan güce sahip olanlarıdır. Bitkisel yağlar ve tohumlar E vitamininden zengindir. İnsanda diyetel yağlarla birlikte ince bağırsağın proksimalinden emilir. Yağda çözünen en güçlü antioksidandır. ÇDYA den türeyen lipid hidroperoksitlerin oluşumunu önler. Düşük yoğunluklu lipoteini (LDL) oksidasyona karşı korur, peroksinitritten türeyen serbest radikalleri temizler. Ayrıca özellikle ortamda C vitamini yoksa pro-oksidan özellik gösterebileceğine dair kanıtlar da mevcuttur ancak fizyolojik koşullarda bu durumun nasıl gerçekleştiği netlik kazanmamıştır (76).



Şekil 9: E vitamini biyokimyasal zinciri

#### 2.4.2.2. C Vitamini

C vitamini suda çözünen bir vitamindir. Organizmada birçok bileşik için indirgeyici ajan olarak görev yapar. Güçlü indirgeyici özelliği olması nedeniyle aynı zamanda güçlü bir antioksidandır.

Askorbat, singlet oksijeni, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, hipoklorit, süperoksit, hidroksil ve peroksil radikallerini tutar. Sıvı fazdaki tüm peroksil radikallerini plazma lipidlerine difüze olmadan tutar ve bu şekilde lipid peroksidasyonunun başlamasını engeller. Membranlarda oluşan  $\alpha$ -tokoferol radikali ile reaksiyona girerek  $\alpha$ -tokoferolün rejenerasyonunu sağlar (3,4,5). C vitamininin fagositoz için de önemli olduğu gösterilmiştir. C vitamini aktive nötrofillerin sebep olduğu peroksidasyona karşı plazma lipidlerini korur ve güçlü bir hipoklorat gidericisidir (Seven ve Candan, 1996). Çalışmalarda bazı gıdalarda ve sigara dumanında bulunan nitrozaminleri inaktive ederek, antitümörjenik rolü olduğu gösterilmiştir (77,78).

Askorbik asidin yüksek konsantrasyonlarda antioksidan aktivitesinin yanında, düşük konsantrasyonlarda prooksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Geçiş metalleri varlığında demiri indirgeyerek Fenton reaksiyonu ile OH radikali oluşumuna neden olur. Sağlıklı organizmada geçiş metal iyonları proteinlere bağlı bulduklarından, bu durum in vivo koşullarda çok sınırlıdır ve askorbik asidin antioksidan özelliği prooksidan özelliğinden daha baskındır (5).

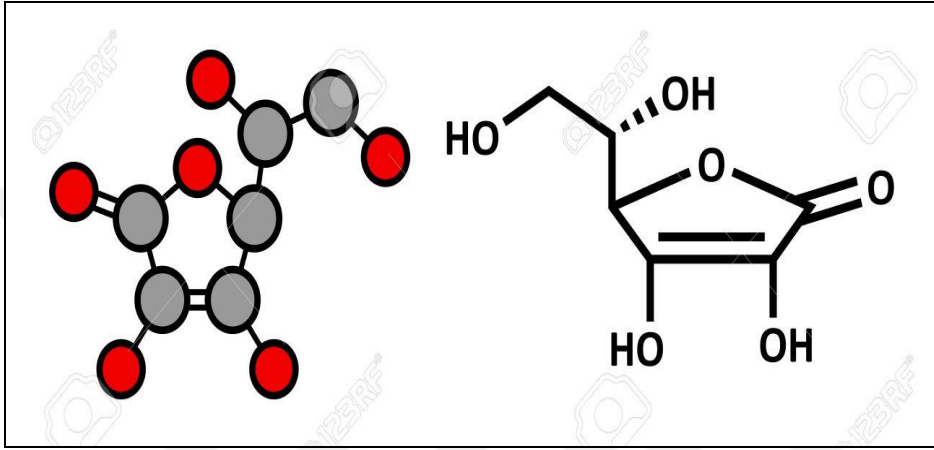
$\alpha$ -tokoferol: Doğada yaygın olarak bulunan E vitamini ailesinin ana bileşenidir. Antioksidan aktivitesi yapısındaki fenolik hidroksil grubuna sahip aromatik halkadan kaynaklanır (4). Lipofilik özelliğinden dolayı lipid peroksidasyonuna karşı hücre membranlarının ve plazma lipoproteinlerinin en önemli zincir kırıcı antioksidanıdır. Peroksil radikallerini gidererek lipid peroksidasyonunu inhibe eder.

$\alpha$ -tokoferol radikali ( $\alpha T^{\bullet}$ ) nispeten stabil ve reaktivitesi az olan bir radikaldir. Glukuronik asit ile konjugasyona uğrayıp safra ile atılabilir. Okside olduktan sonra veya atılmadan önce askorbik asit ve glutatyon tarafından yeniden indirgenebilir. Böylece rejenere edilmiş olur.

In vivo ve in vitro çalışmalar  $\alpha$ -tokoferol ile glutatyon peroksidazın serbest radikallere karşı birbirini tamamlayıcı etkisi olduğunu göstermiştir. GSH-Px oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırırken,  $\alpha$ -tokoferol peroksitlerin oluşumunu engeller (4).

Son yıllarda aterosklerozun gelişiminde lipid peroksidasyonunun özellikle de LDL peroksidasyonunun etkili ve kritik bir rol oynadığı bildirilmektedir.  $\alpha$ -tokoferol

alımıyla koroner kalp hastalıkları riskinin azaldığı deneysel olarak gösterilmiştir (79,80).  $\alpha$ -tokoferol nitritlerin nitrozaminlere dönüşümünü engelleyerek, antikarsinojen etki gösterir, iskemi/reperfüzyon ile ilişkili peroksidatif hasarı önlemede etkilidir, immüniteyi artırır, eritrosit membranının stabilitesi için esansiyeldir.  $\alpha$ -tokoferol selenyumun organizmadan kaybını önleyerek ve onu aktif halde tutarak selenyum metabolizmasında da önemli rol oynar (81,82,83,84).



**Şekil 10: C vitamini biyokimyasal zinciri**

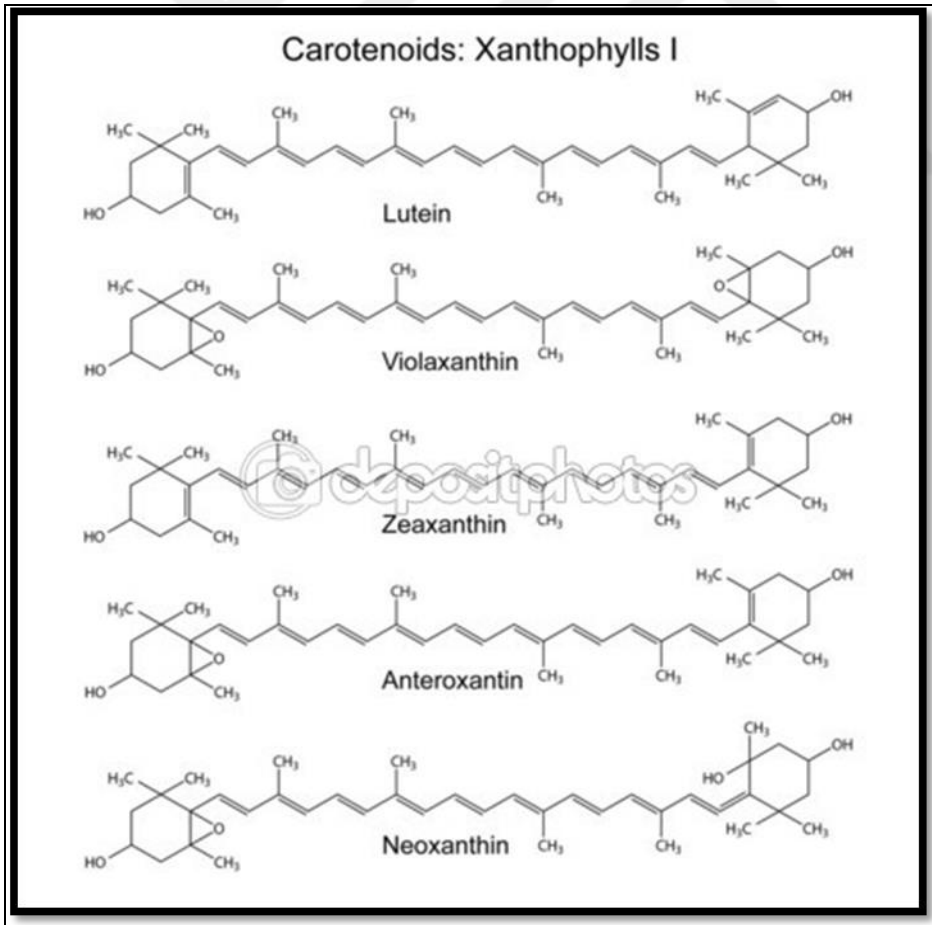
#### 2.4.2.3. Karotenoidler

Karotenoidler bitkilerde, diğer fotosentetik organizmalarda ayrıca non-fotosentetik bakteriler ve mayalarda sentezlenebilen tetraterpenoidlerdir (85). Çoğu karotenoidler değişen tek ve çift bağ içeren merkezi bir karbon zinciri ve buna bağlı farklı siklik ve asiklik gruplardan oluşmuştur. Temel biyokimyasal fonksiyonları renklerinden de sorumlu olan geniş konjuge çift bağ sistemiyle belirlenir (86). İnsanlar ve hayvanlar denovo karotenoid sentez edemezler ve bu gereksinimi diyetten karşılarlar. Kimyasal yapılarına göre karotenler ve ksantofiller olarak sınıflandırılırlar (87).  $\beta$ -karoten,  $\alpha$ -karoten ve likopen karoten grubunun temel elemanlarıdır. Bu grup yalnızca karbon ve hidrojen atomu içeren karotenoidlerden oluşmaktadır. Ksantofiller ise en az bir adet oksijen atomu taşırlar.

Karotenoidler provitamin A ve non-provitamin A bileşiklerine ayrılabilirler. Batı diyetindeki temel pro vitamin A karotenoidi provitamin A dır A vitamini büyüme, embriyonel gelişim ve görme fonksiyonu için esansiyeldir. Karotenoidler, singlet oksijen ve peroksil radikalini temizlerler. Ayrıca serbest radikal ve singlet oksijen oluşumuna yol açan eksite molekülleri inaktive ederler (88).

Singlet oksijenin temizlenmesi fiziksel veya kimyasal etkisizleştirme şeklinde gerçekleşebilir. Fiziksel temizleme eksitasyon enerjisinin singlet oksijenden karotenoide aktarımı ile olur. Sonuçta, bazal durumda oksijen ile uyarılmış durumda karotenoid meydana gelir. Uyarılmış karotenoid ile ortamdaki çözücü arasında enerji bazal durumda olan karotenoid ve termal enerji oluşturmak üzere düzenlenir. Böylece karotenoid intakt kalmış olur ve yeni singlet oksijenleri temizleyebilir.  $\beta$ -karoten ve diğer karotenoidler en etkin doğal singlet oksijen temizleyicileridir. Ayrıca peroksil radikalini de temizlerler ve lipid peroksidasyonuna karşı koruma sağlarlar. Özel bazı durumlarda pro-oksidan olarak davrandıkları da bilinmektedir. Ancak bunun yüksek dozlarda suplementasyon durumlarında gerçekleştiği düşünülmektedir.

E vitamini, C vitamini ve  $\beta$ -karoten tek başlarına gösterdikleri antioksidan aktivite ile karşılaştırıldığında özellikle reaktif nitrojen türlerini toplamada kooperatif sinerjistik etkiler gösterirler (87).



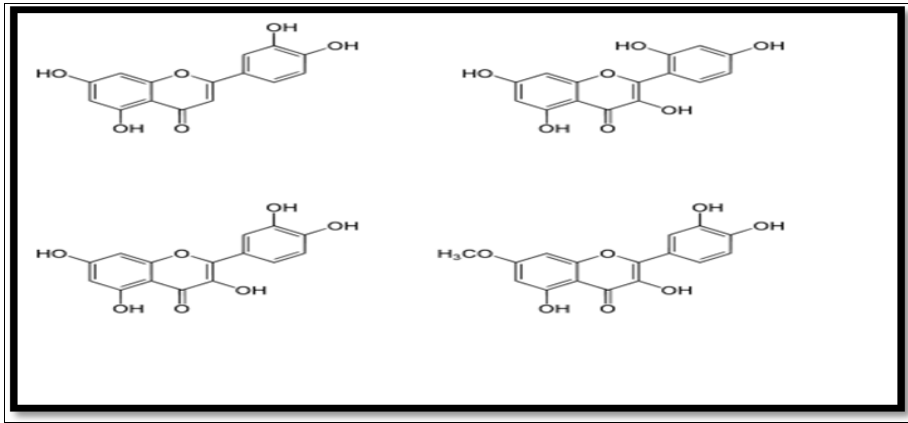
**Şekil 11: Karotenoidlerin biyokimyasal zinciri**

#### 2.4.2.4. Flavonoidler

Doğada bulunan düşük molekül ağırlıklı fenollerdir. Heterosiklik piron veya piron halkası yardımıyla birleşmiş iki benzen halkasından oluşurlar. Yapılarında meydana gelen küçük değişiklikler fonksiyonlarında büyük farklarla sonuçlanır. Merkezi C halkasının oksidasyon durumuna göre sınıflandırılırlar. Buna göre antosiyaninler, flavononlar, flavanoller, flavonoller meydana gelir.

Hidroksil gruplarının sayısı ve spesifik pozisyonları ve yan grupların doğası flavonoidlerin antioksidan, anti inflamatuvar, sitotoksik, anti mutajenik etkilerini in vitro ve in vivo olarak belirler (89).

Anti oksidan etkileri yapısal özellikleriyle ilgilidir. Hidrojen verici antioksidan özellikleri B halkasında orto dihidroksi grubu varlığına, C halkası 2,3 konumundaki doymamış yapıya ve karbonil grubuna bağlıdır. Bunun dışında katekol (ortodihidroksi grubu) grubu varlığına bağlı geçiş metali şelasyonu yapabilme özellikleri mevcuttur. İnce bağırsak, karaciğer ve kolondaki metabolizasyonları sonucu metabolik modifikasyonlara uğrayarak ana bileşiklerden farklı anti oksidan aktivite potansiyeline sahip bileşikler oluştururlar. Bu potansiyel genellikle ana metabolitlerine göre daha düşüktür.



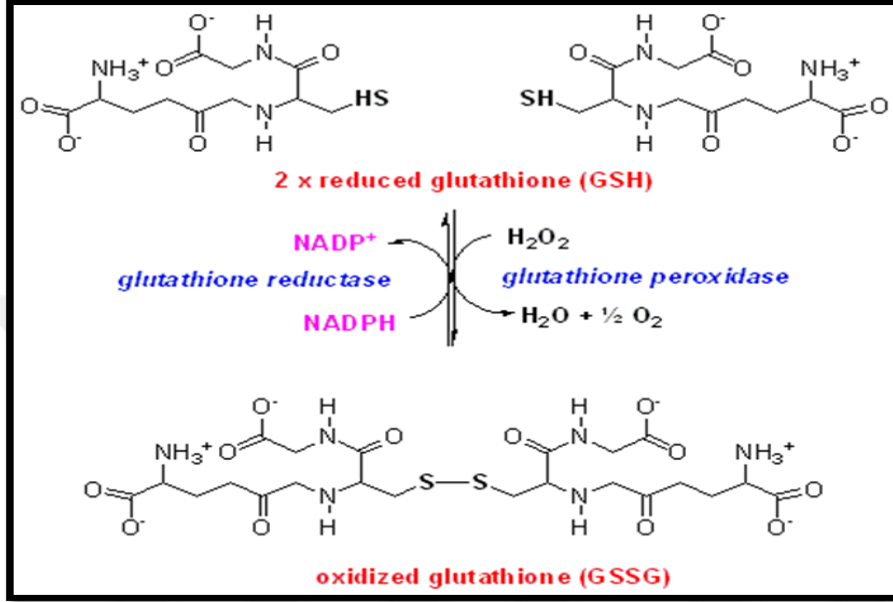
Şekil 12: Flavonoidlerin biyokimyasal zinciri

#### 2.4.2.5. Glutatyon (GSH)

Organizmanın tüm hücrelerinde bulunan glutamikasitsistein–glisinden oluşan bir tripeptidtir. Aminoasitlerin hücre içine taşınması görevinden başka, çeşitli metabolik fonksiyonları vardır (7). Suda çözünen önemli bir antioksidandır.  $H_2O_2$ , disülfidler, askorbat ve serbest radikalleri indirgeyebilir ve böylece hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Özellikle eritrosit membranını  $H_2O_2$ 'den, lökositleri fagositozda



üretilen oksidan maddelerden ve lens proteinlerini oksidatif hasardan korur. Glutasyon eritrositlerde hemoglobinin ve diğer proteinlerin tiyol gruplarını (-SH) indirgenmiş halde tutarak onları oksidasyona karşı korur. Böylece hemoglobinin methemoglobine dönüşümünü, fonksiyonel protein ve enzimlerin de inaktivasyonunu engeller (7).



**Şekil 13: Glutasyonların biyokimyasal zinciri**

#### 2.4.2.6. Melatonin

En potent radikallerden olan hidroksil radikalini ortadan kaldırabilen güçlü bir antioksidandır. Lipofilik özellik gösterir. Melatonin immünite, uyku, üreme ve sirkadien ritmin (yaz-kış, uzun gün-kısa gün, aydınlık-karanlık döngüsünün) düzenlenmesi gibi birçok biyolojik fonksiyonda rol oynayan bir hormondur (69). Literatürde ilk kez antioksidan etkili olarak 1991'de yer almış ve daha sonra in vitro ve in vivo çalışmalarla desteklenmiştir. OH<sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>-</sup>, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, HOCl<sup>-</sup>, NO<sup>-</sup>, ONOO<sup>-</sup> gibi serbest radikalleri detoksifiye ettiği bilinmektedir. Hem suda hem yağda çözünme özelliği gösteren güçlü bir antioksidandır (69).

#### 2.4.2.7. Ubikinonlar

Ubikinon 10 (Koenzim Q) insanlarda bulunan temel ubikinondur. Elektron taşıma zincirinde görev alır, E vitamininin rejenerasyonunu sağlar.

#### 2.4.2.8. Diğer Antioksidanlar

Bilirubin, serüloplazmin, albumin, ferritin, ürik asit, mannitol, transferin, hemopeksin, haptoglobin, arjinin, sitrüllin, glisin, taurin, polifenollerdir.

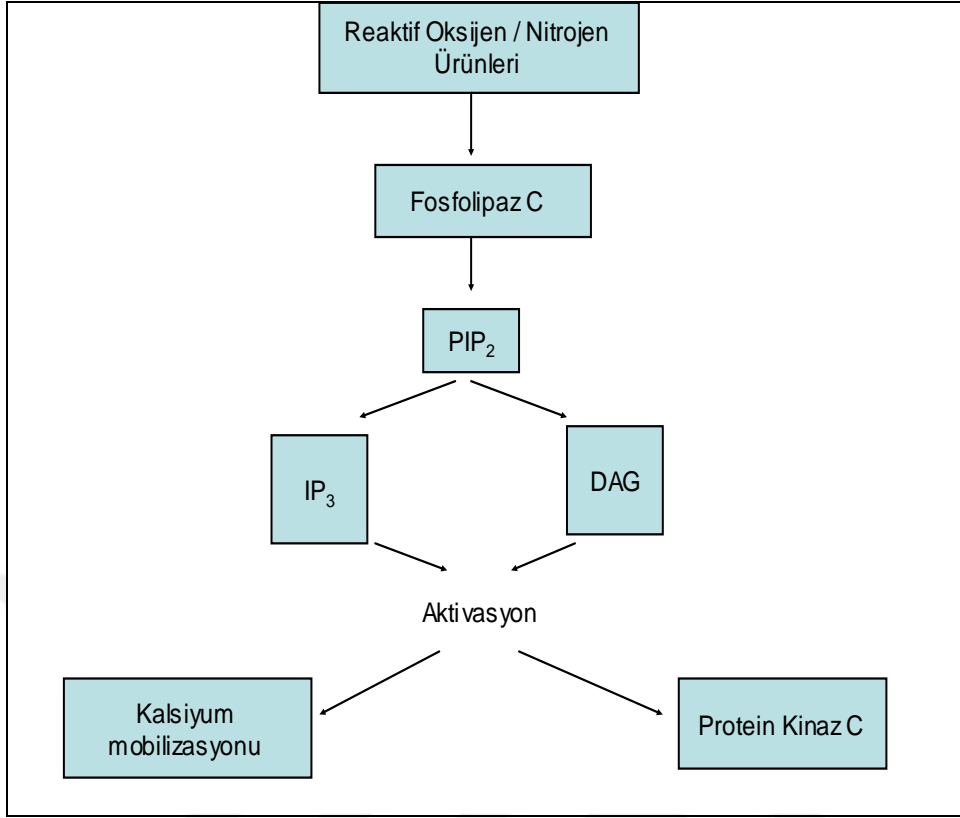
## 2.5 Trombosit hücresindeki oksidan ve antioksidan reaksiyonlar

Organizmada oksidan ve antioksidan moleküllerin düzeylerinin değişmesi hücrenin kaderini belirler. Reaktif oksijen ve nitrojen ürünleri hücre çoğalması, anjiyogenez, bağışıklık sistemi, programlanmış hücre ölümü ve yaşlanma gibi biyolojik olaylarda önemli rol oynar.

Trombositler primer hemostazın bilinen en önemli hücresidir. Oksidan stresin arttığı durumlarda trombosit hücrelerinin fizyolojisi de değişmektedir. Oksidan stresin arttığı durumlarda trombositoz ve trombositopeni gibi patolojik sonuçlar ortaya çıkabilir. Oksidan ve antioksidan dengenin değişmesi durumunda sadece trombosit ömrü ve trombüs oluşumu etkilenmez. Bu dengenin değişmesi durumunda vasküler tonusta disregülasyon, anjiogenezis, inflamasyon, aterotrombotik hastalıklara yatkınlık gelişebilir.

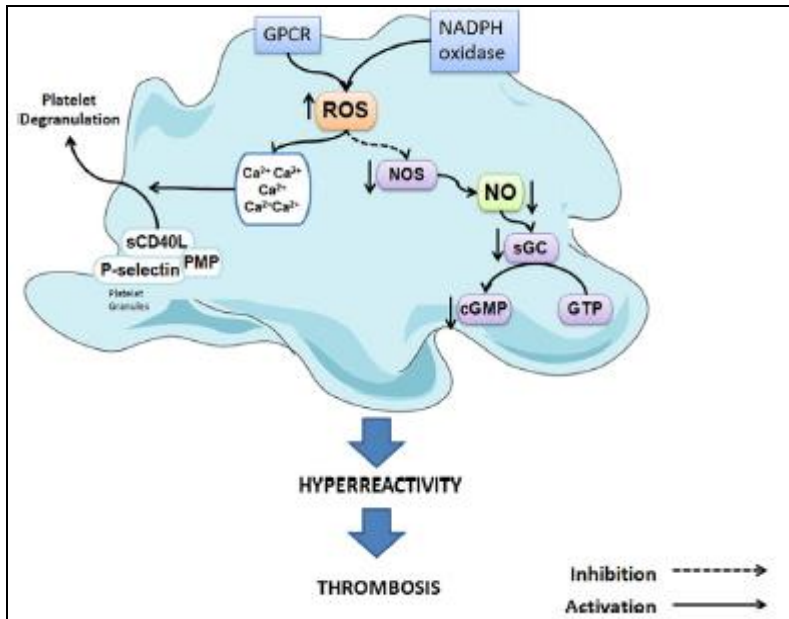
Hastalık halinde veya endotelial disfonksiyonu olan durumlarda oksidan moleküllerin düzeyi artar. Oksidan moleküller trombositleri aktive ederek trombositlerin adezyonuna ve agregasyonuna neden olup trombüs gelişir.

Kalsiyum iyonu trombosit aktivasyonu, sekresyonu ve agregasyonu için önemlidir. Trombositlerin kalsiyum kaynağı dense (yoğun) cisimcikler ve lizozom / lizozoma bağlı organellerdir. Oksidan stresin artmasıyla fosfolipaz C aktive olur ve kalsiyum mobilizasyonu hızlanır (90) (Şekil13). Kalsiyum salınımı ile aktin sitoskeletonunun reorganizasyonu, integrin aktivasyonu ve granül salınımı gerçekleşir (91,92). Diğer taraftan serbest oksijen ve nitrojen radikallerinin düzeyinin artmasıyla e NOS 'u baskılayarak nitrik oksit oluşumunu azaltır ve trombüs gelişimine neden olur (Şekil 14).



**Şekil 14: Trombosit hücre içi sinyal mekanizması**

PIP<sub>2</sub>: Fosfatidil inositol bifosfat    IP<sub>3</sub>: İnositol trifosfat    DAG : Diaçil gliserol  
 Serbest radikaller fosfolipaz C enziminin aktivasyonunu artırır. PIP<sub>2</sub>, IP<sub>3</sub> ve DAG 'e hidrolize olur ve kalsiyum mobilizasyonu hızlanır.

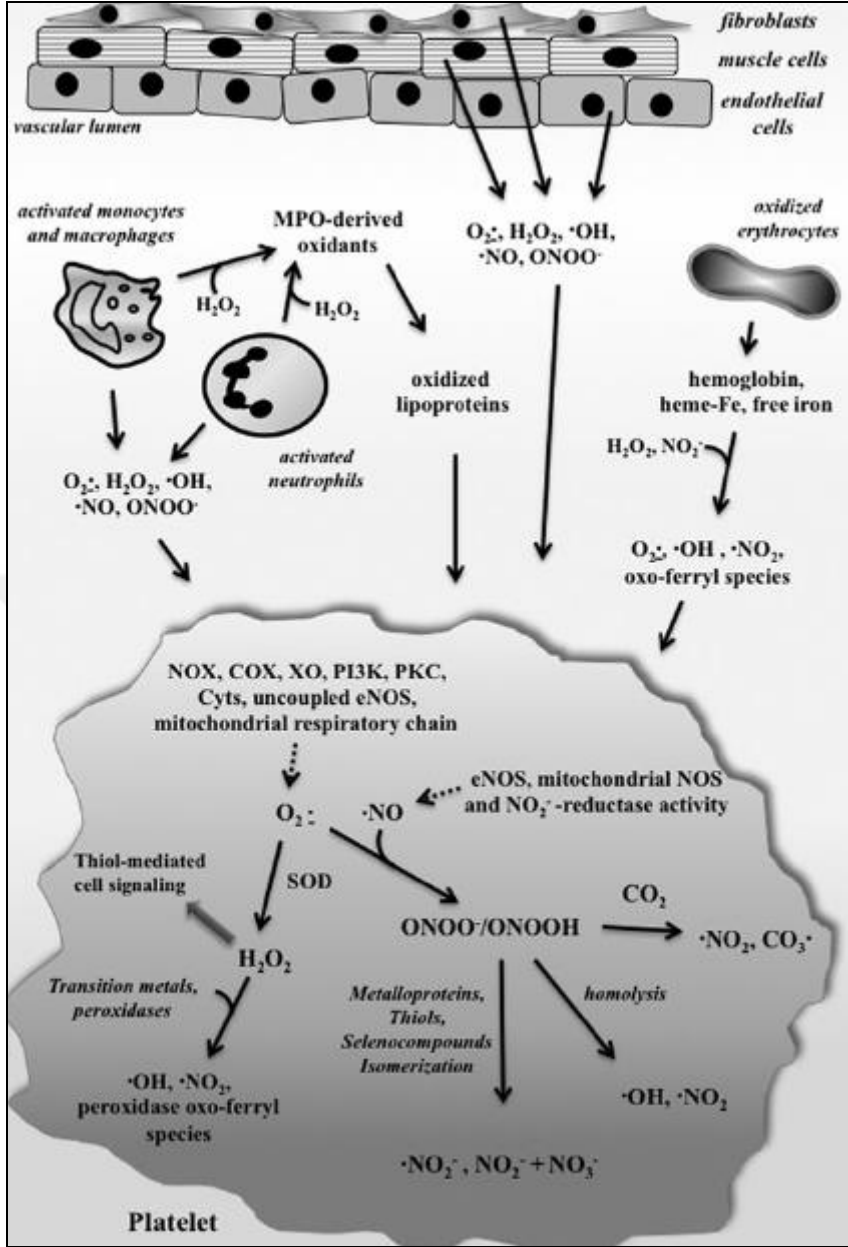


**Şekil 15: Oksidatif strese trombosit hücresinde gerçekleşen reaksiyonlar**

NADH/NAD<sup>+</sup> ve NADPH/NADP<sup>+</sup> redoks potansiyeline sahip olup redoks bağımlı reaksiyonlarda görev alır. NADH/NAD<sup>+</sup> ve NADPH/NADP<sup>+</sup> farklı fonksiyonlara sahiptir. NADH/NAD<sup>+</sup> mitokondriyal solunum zincirine elektron transferini sağlayarak ATP üretiminde, NADPH/NADP<sup>+</sup> ise primer olarak biyosentez ve detoksifikasyon reaksiyonlarında görev alır. Özellikle NADPH glutatyon/glutatyon disülfid (GSH/GSSG) ve Trx/Trx disülfid redoks sistemini regüle eder (93,94,95).

NAD bağımlı enzim ailesi olan sirtüinlerin, protein deasetilasyonunu katalizlediği, enerji ve redoks durumunda duyarlılık değişikliği yaptığı gösterilmiştir. Mitokondride bulunan sirtüin 3 süperoksit dismutaz enzimi gibi bazı enzimleri deasetile veya aktive etmesiyle serbest radikal düzeylerinin kontrolünde önemli rol oynadığı bilinmektedir (96,97).

Trombositlerde NADPH oksidaz enziminin membran (gp91<sup>phox</sup>, p22<sup>phox</sup>) ve sitoplazmik (p47<sup>phox</sup>, gp67<sup>phox</sup>, p40<sup>phox</sup>) alt grupları nanomolar konsantrasyonda süperoksit anyonu üretir (98,99,100). Süperoksit anyon oluşumuna neden olan diğer enzimler siklooksijenaz (COX), kasitin oksidaz (XO), fosfotidilinozitol 3 kinaz, protein kinaz C (PKC)' dir (98,99). Trombosit içerisinde üretilen süperoksit anyonu süperoksit dismutaz enzimi ile hidrojen peroksite dönüştürülür (101). Hidrojen peroksinitritten de fenton reaksiyonu ile güçlü oksidan özelliğe sahip hidroksil radikali, nitrojen dioksit radikali ve peroksidaz hem halkası merkezli oluşan oxo-feril türleri gibi yüksek reaktif bileşikler meydana gelir. Diğer taraftan NO etkili biçimde süperoksit için SOD enzimi ile yarışır ve bunun sonucunda oldukça reaktif molekül olan peroksinitrit oluşur. Bu reaksiyonlarda oluşan hidrojen peroksit düzeyi peroksinitritten üç kat daha fazladır (98, 99,101)Özellikle eNOS aktivitesi ile NO<sub>2</sub> hızlıca NO ile reaksiyona girer ve dinitrojen trioksit oluşur ki bu da hedef bileşiklerin nitrasyonuna neden olur (Şekil-15)



**Şekil 16: Reaktif oksijen ve nitrojen ürünlerin oluşumu ve trombosit hücrelerinde gerçekleşen reaksiyonlar**

Dolaşımda bulunan antioksidanlar süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon S-transferaz, peroksiredoksin, hem-oksijenaz, glukoz 6 fosfat dehidrogenazdan kaynaklanan glutatyon ve NADPH, askorbat, alfa tokoferol, ürik asittir (99,102).

Antioksidanlar direkt ya da indirekt olarak trombositlerde üretilen serbest oksijen ve nitrojen radikallerini üç yolla etkiler.

1. Okside ürünleri temizleyerek
2. Trombosit içi antioksidan havuzunu yenileyerek
3. Trombosit içi oksidan hasarı tamir ederek

Süperoksit dismutaz ve katalaz enzimleri trombin ile indüklenen P-selektin ekspresyonunu ve integrin alfa IIb 3 beta aktivasyonunu inhibe eder. Ayrıca katalaz enzimi hidrojen peroksit ile ilişkili sepsiste bakteriyel lipopolisakkaritlerin neden olduğu trombosit disfonksiyonunu önlemede etkilidir (102).

Çalışmalarda askorbatın süperoksit anyonunu ve gama-tokoferol süperoksit anyonu bağımlı trombosit agregasyonunu ve 5-hidroksitriptamin salınımını azalttığı, ekstraselüler glutatyon peroksidazın ise plasma NO konsantrasyonunu arttırdığı ve platelet agregasyonundan koruduğu gösterilmiştir (98,99). Trombosit hücrelerinde bulunan SOD, katalaz ve selenosistein içeren glutatyon peroksidaz enzimlerinin de içinde bulunduğu bazı yollar sadece serbest radikallerin sitotoksik etkisini önlemekle kalmayıp aynı zamanda trombositlerdeki redoks sensitif yolun sinyalini de düzenlerler. Süperoksit dismutaz enzimi ile süperoksit anyonu hidrojen peroksite dönüşerek endojen nitrik oksit bioaktivitesini artırır. Bu reaksiyon ile tromboz oluşumunu önlenir.

Son zamanlarda GSH/GSSH oranının platelet agregasyonunun regülasyonu ile çok yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir (98,103). Plasma GSH konsantrasyonu (10–25  $\mu$ M) düşüktür. Plazmada GSH/GSSH oranı 4:1 iken trombositte bu oran 13:1'dir(103). Glutatyon trombosit membran enzimi olan disülfit izomeraz aktivasyonunu kontrol etmektedir (103). PDI aktif alanda ditiol ile disülfid arasındaki denge serbest tiol bağlantılı reseptör alfa2b-beta3 integrin üzerinden trombosit agregasyonunda tetik rol oynar. GSH'ın trombosit aktivitesinde anahtar rolü membran PDI bağımlı flavoproteinler ve GSSG redüktaz aktivitesinin keşfedilmesi ile ortaya çıkmıştır. Kosubstrat olarak glutatyonu kullanan glutatyon peroksidaz enzimi; S nitrosothiolden NO salınımını katalizler, okside trombositlerdeki lipid peroksidasyonunu azaltmasıyla hücrel redoksu dengeler. Bunun dışında glutatyon peroksidaz katalaz enzimi gibi hidrojen peroksiti suya indirgeyerek oksidan hasarı sınırlar (101,103).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Çalışma Gruplarının Seçimi

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Hematoloji ve Onkoloji Polikliniği'ne Ocak 2016 ile Mayıs 2016 tarihleri arasında başvuran 1 ay ile 18 yaş arası çocuklar çalışmaya alındı. Normal trombosit aralığı 150.000-450.000/  $\mu$ L olarak alındı (12). Trombosit sayısı 150.000/  $\mu$ L ve altında trombositopeni, **450.000/  $\mu$ L ve üzerinde *trombositoz*** olarak tanımlandı. Trombositoz ve kontrol grubu olarak iki grup çalışmaya alındı. Grupların belirlenmesi aşağıdaki gibi yapılmıştır:

##### 3.1.1. Trombositoz Grubunun Seçimi

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hematoloji ve Onkoloji Polikliniği'ne başvuran trombosit değeri 450.000/ $\mu$ L ve üzeri olan 43 çocuk trombositoz grubu olarak belirlendi.

##### **Araştırmaya dahil edilme kriterleri:**

- 1ay -18 yaş arasında olmak
- >450.000/ $\mu$ L trombosit sayısı olan hastalar
- Esansiyel trombositozu olmayan hastalar
- Sorumlu velisi tarafından çalışmaya katılması için onam verilmesi

##### **Araştırmaya dahil edilmeme kriterleri:**

- 1 ay altı, 18 yaş üstü olma
- <150.000  $\mu$ L trombosit sayısı olan hastalar
- Primer trombositoz tanısı almış hastalar
- Kronik hastalığı olanlar, demir eksikliği anemisi olanlar
- Sorumlu velisi tarafından onam verilmeyenler

Olguların anamnezi alındı, fizik muayeneleri yapıldı ve kaydedildi. 13 yaş altı olguların velisi tarafından, 13 yaş üstü olguların kendisinden ve velisi tarafından onamları alındı.

##### 3.1.2. Kontrol Grubu

Kontrol grubu; akut üst solunum yolu enfeksiyonu (akut tonsillit, akut sinüzit) kliniği ile Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları

Anabilim Dalı Çocuk Hematoloji ve Onkoloji Polikliniğine'ne başvuran trombosit sayısı 150.000-450.000/ $\mu$ L arasında olan, demir eksikliği anemisi ve kronik hastalığı olmayan 42 çocuk kontrol grubu olarak alındı.

Olguların anamnezi alındı, fizik muayeneleri yapıldı ve kaydedildi. 13 yaş altı olguların velisi tarafından, 13 yaş üstü olguların kendisinden ve velisi tarafından onamları alındı.

Olgulardan sabah aç karnına alınan kan örnekleri santrifüj edildikten sonra ELISA ve hemogram cihazında çalışıldı. Hastaların serum örneklerinden tam kan sayımı, C- reaktif protein (CRP), oksidan düzeyi gösteren malondialdehit (MDA), total oksidan seviye (TOS), antioksidan düzeyi gösteren superoksit dismutaz (SOD), paraoksonaz 1 (PON1), arilesteraz (ARES), glutasyon peroksidaz (GSH-Px), total antioksidan kapasite (TAK) çalışıldı. Kırıkkale Üniversitesi Etik Kurul onayı alındı (18/3).

### **3.1.3. Araç-Gereçler ve Laboratuvar Yöntemleri**

Trombositoz ve kontrol grubunda periferik yayma değerlendirildi, trombosit sayıları doğrulandı. Trombositoz ve kontrol grubundaki olgulardan periferik venöz kandan ortalama toplam 4 cc kan örneği alındı. Paraoksonaz 1, arilesteraz, malondialdehit, süperoksit dismutaz, total antioksidan kapasite, total oksidan düzey ve C-reaktif protein bakılması için 2,5 cc kan ise sarı kapaklı (13x100'lük 5 mL. BD Vacutainer plastik SST jelli tüp) tüpe ve glutasyon peroksidaz düzeyinin tespiti için EDTA'lı tüpe 1.5 cc venöz kan alındı. EDTA'lı tüp hemogram cihazında, jelli tüp biyokimya cihazında çalışıldı.

Hastalardan alınan kan numuneleri on dakika 5000 rpm'de santrifüj edildi. Elde edilen serum ve plazmalar çalışma yapıncaya kadar ependorf tüpüne alınarak -80<sup>0</sup> C 'de bekletildi.

TAK/TOS kitleri; Rel Assay Diagnostik (Gaziantep, Türkiye) orijinal kitleri kullanıldı. Kan numunelerin enzim düzeyleri kitlerin kılavuzdaki uygulama bilgilerine göre kolorimetrik yöntem ile ölçüldü. Ölçümün birimleri TAK için mmol Trolox Equivalent/L (mmoltroloxequiv./L), TOS için  $\mu$ mol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Equivalent/ L ( $\mu$ mol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>equiv./L)' dir.

Serum PON 1 ve arilesteraz enzim düzeylerinin tespiti için Rel Assay Diagnostik (Gaziantep, Türkiye) orijinal kitleri kullanılarak çalışıldı. Paroksonaz 1



düzeıi için substrat olarak dietil p-nitrofenil fosfat, arilesteraz düzeıi için substrat olarak fenil asetat kullanıldı, kitlerin kullanım klavuzlarına göre ölçüm yapıldı. Ölçümün birimleri PON 1 için U/l, arilesteraz enzimi için kU/l' dir.

Serum superoksit dismutaz enzim düzeyinin tespiti için (Cayman Chemical Company (USA) firmasının orijinal kitleri kullanıldı, ELISA (Enzyme linked immuno sorbent assay) yöntemi ile çalışılarak enzim düzeyinin ölçümü yapıldı. Ölçümün birimi U/mL' dir.

Plazma glutasyon peroksidaz enzim düzeyi için (Cayman Chemical Company, USA) ve malondialdehit düzeyi için TBARS Assay Kit (Cayman Chemical Company, USA) ticari kitleri kullanıldı. Kullanım klavuzundaki bilgilere göre ölçüm yapıldı. Ölçümün birimi nmol/min/mL' dir.

Lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeyleri Yogi tarafından modifiye edilen Armstrong ve AL- Awqdi' nin yöntemi ile çalışıldı (104). Malondialdehit düzey ölçüm birimi mmol/mL' dir.

Olguların TAK değeri mmol/L' ye çevrildi, aşağıda belirtilen formül ile OSI değeri hesaplandı.

$$\text{OSI (Arbitrary Unit)} = \frac{\text{TOS } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ equivalent /L})}{\text{TAK } (\mu\text{mol Trolox equivalent/L})} \times 100$$

### **İstatistiksel Analiz**

Değişkenlerin analizinde SPSS 22.0 Mining (IBM Corporation, Armonk, New York, United States) programı kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile varyans homojenliği Levene testi ile değerlendirildi. Bağımsız iki grubun nicel verilere göre birbiri ile karşılaştırılmasında Independent-Samples T testi Bootstrap sonuçlarıyla birlikte kullanılırken Mann-Whitney U testi Monte Carlo simülasyon tekniği ile kullanıldı. Bağımsız çoklu grupların nicel verilere göre birbiriyle karşılaştırılmasında parametrik yöntemlerden One-WayAnova testi kullanılırken nonparametrik testlerden Kruskal-Wallis H Testi Monte Carlo simülasyon tekniği sonuçları ile kullanılmış olup Post Hoc analizler için Dunn's Test kullanıldı. Değişkenlerin birbiriyle olan korelasyonlarını incelemek için Kendall'stau-b testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin birbiri ile karşılaştırılmasında ise PearsonChi-Square testi Monte Carlo Simülasyon tekniği ile test edildi. Nicel

değişkenler tablolarda ortalama  $\pm$  std.(standart sapma) ve medyan  $\pm$  IQR(InterquartileRange), kategorik değişkenler ise n(%) olarak gösterildi. Değişkenler %95 güven düzeyinde incelenmiş olup p değeri 0,05 ten küçük anlamlı kabul edildi.



#### 4. BULGULAR

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Hematoloji ve Onkoloji Polikliniği'ne başvuran çocuklarda trombositoz tespit edilen 43 olguda ve 42 kontrol olguda oksidan ve antioksidan düzey ölçüldü. Trombositoz ve kontrol grupları karşılaştırıldı.

Çalışmaya alınan trombositoz grubunun %51.2' si kız, %48.8' i erkek, kontrol grubunun %59.5'u kız, %40.5'u erkek idi. (Tablo 4) Trombositoz grubunun ortalama yaşı  $40,86 \pm 45,60$  ay, kontrol grubunun yaş ortalaması  $85,17 \pm 50,40$  ay olarak bulundu (Tablo 5). Trombositoz grubunda ortalama trombosit sayısı  $526.000 \pm 115.000 \text{ mm}^3$ , kontrol grubunda ortalama trombosit sayısı  $283.000 \pm 86000/\text{mm}^3$  olarak saptandı. İstatiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ( $p < 0.001$ ). (Şekil 1).

Oksidan durumu gösteren malondialdehit ve TOS düzeyi trombositoz grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte daha yüksekti ( $p > 0.05$ ) (Tablo-6). Trombositoz grubunda oksidatif stres indeksi (OSİ) kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ) (Tablo 6, Şekil 21).

Trombositoz ve kontrol grubunda antioksidan düzeyi gösteren belirteçlerden süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi açısından iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ( $p > 0,05$ ) (Tablo 6). Antioksidan durumu gösteren total antioksidan kapasite (TAK), paraoksonaz (PON) ve arilesteraz (ARES) aktivitesi trombositoz grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı daha düşük bulundu (sırasıyla;  $p = 0.024$ ,  $p = 0.040$ ,  $p = 0.043$ ). (Tablo 3, Şekil 18, Şekil 19, Şekil 20)

Grupların demografik verileri Tablo 4’de özetlenmiştir.

CİNSİYET	Trombositoz grubu	Kontrol grubu	Toplam	P DEĞERİ
	n(%)	n(%)	n(%)	p<0,05
Kız	22 (51.2)	25 (59.5)	47 (55,3)	0,515
Erkek	21 (48.8)	17 (40.5)	38 (44,7)	

**Tablo 4: Trombositoz ve kontrol grubunun demografik verileri**  
PearsonChi-Square Test(Exact)

	Trombositoz grubu	Kontrol grubu	P değeri
	Ortalama±SS.	Ortalama±SS.	p<0,05
Yaş (ay)	40,86±45,60	85,17±50,40	0,001

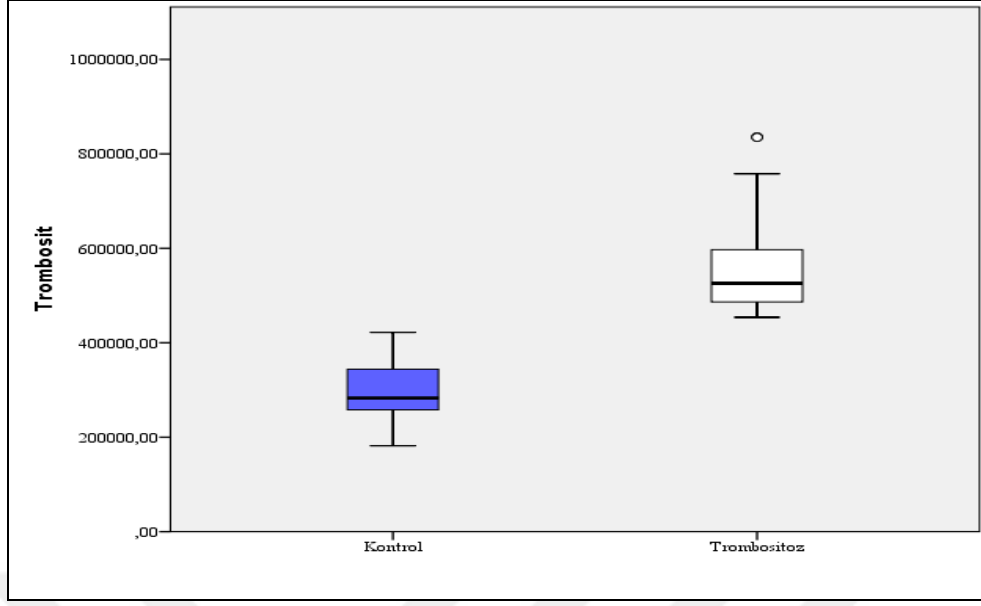
**Tablo 5: Trombositoz ve kontrol grubunun yaş verileri**  
Independent T Test(Bootstrap)  
SS:Standart sapma

	<b>Trombositoz grubu</b>	<b>Kontrol grubu</b>	<b>P değeri</b>
			p<0,05
<b><i>OKSİDAN</i></b>	<b>Median±IQR</b>	<b>Median±IQR</b>	
<b>MDA(mmol/mL)</b>	6,82±7,30	5,63±1,94	0,255
<b>TOS (µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Equiv./L)</b>	15,03±10,76	14,20±5,86	0,378
<b><i>ANTIOKSİDAN</i></b>	<b>Median±IQR</b>	<b>Median±IQR</b>	
<b>SOD(U/mL)</b>	0,16±0,10	0,15±0,04	0,067
<b>GSH-Px (nmol/min/mL)</b>	44,57±17,19	44,89±17,83	0,739
<b>TAK(mmoltroloxequiv./L)</b>	1,33±0,35	1,42±0,33	<b>0,024</b>
<b>PON (U/l)</b>	191±171	299±264	<b>0,040</b>
<b>ARES(kU/l)</b>	1.253±217	1.334±127	<b>0,043</b>
<b>OSI (Arbitrary Unit)</b>	1,21±0,74	1,00±0,64	<b>0,040</b>

**Tablo 6: Trombositoz ve kontrol grubunun oksidan-antioksidan parametrelerin ve oksidatif stres indeksinin karşılaştırılması**

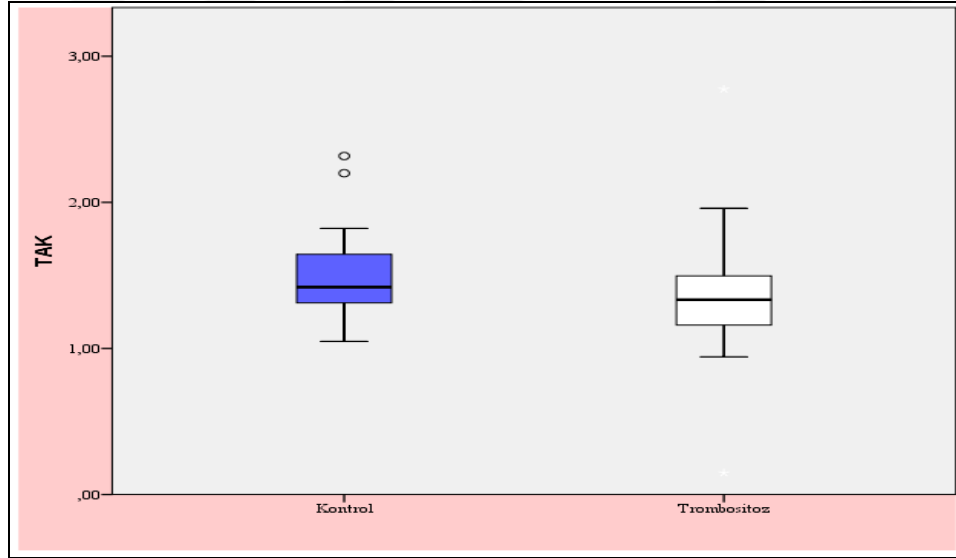
Mann Whitney U Test (Monte Carlo)

IQR: Interquartilerange



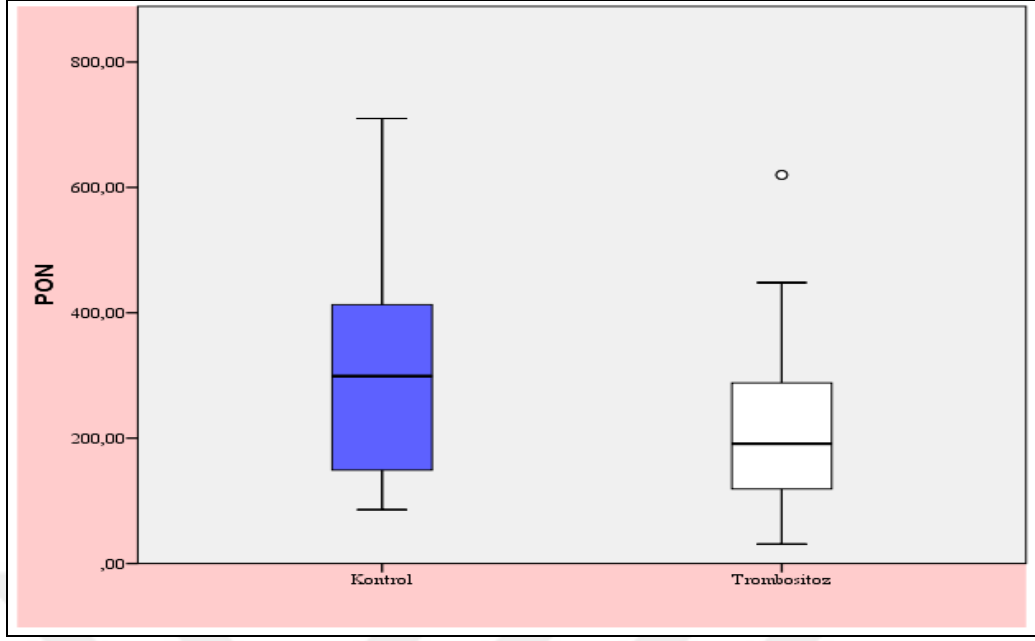
**Şekil 17: Trombositoz ve kontrol grubunda trombosit sayılarının karşılaştırılması**

Trombositoz grubunda ortalama trombosit sayısı  $526.000 \pm 115.000 \text{ mm}^3$ , kontrol grubunda ortalama trombosit sayısı  $283.000 \pm 86.000/\text{mm}^3$  olarak saptandı. İstatiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ( $p < 0.001$ ).



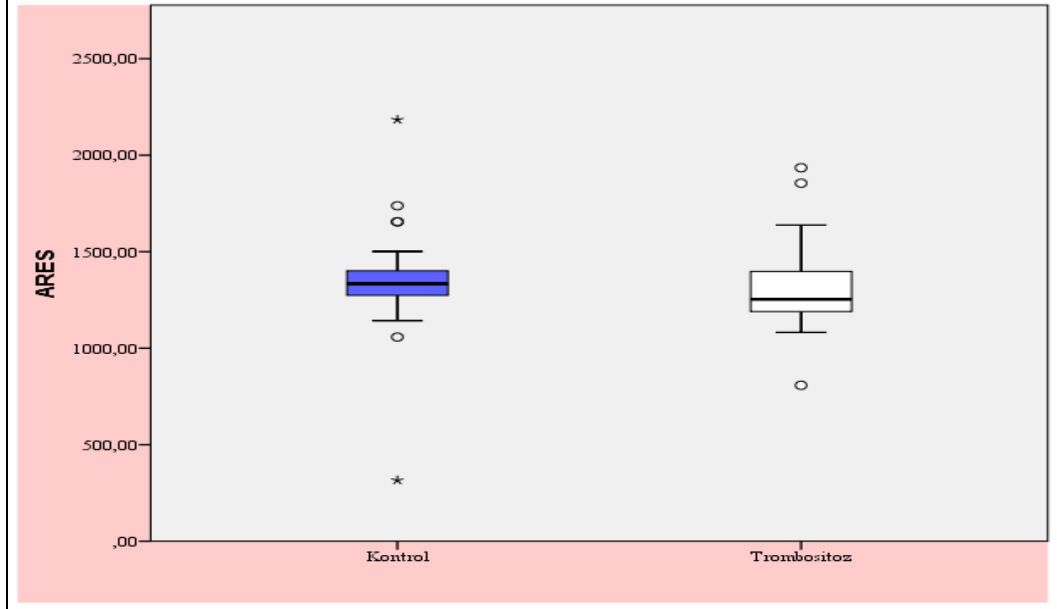
**Şekil 18. Trombositoz ve kontrol grubunda TAK düzeyinin karşılaştırılması**

Trombositoz grubunun ortalama TAK düzeyi  $1,33 \pm 0,35 \text{ mmol troloxequiv./L}$ , kontrol grubunun ortalama TAK düzeyi  $1,42 \pm 0,33 \text{ mmol troloxequiv./L}$  idi. İstatiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ( $p < 0.05$ ).



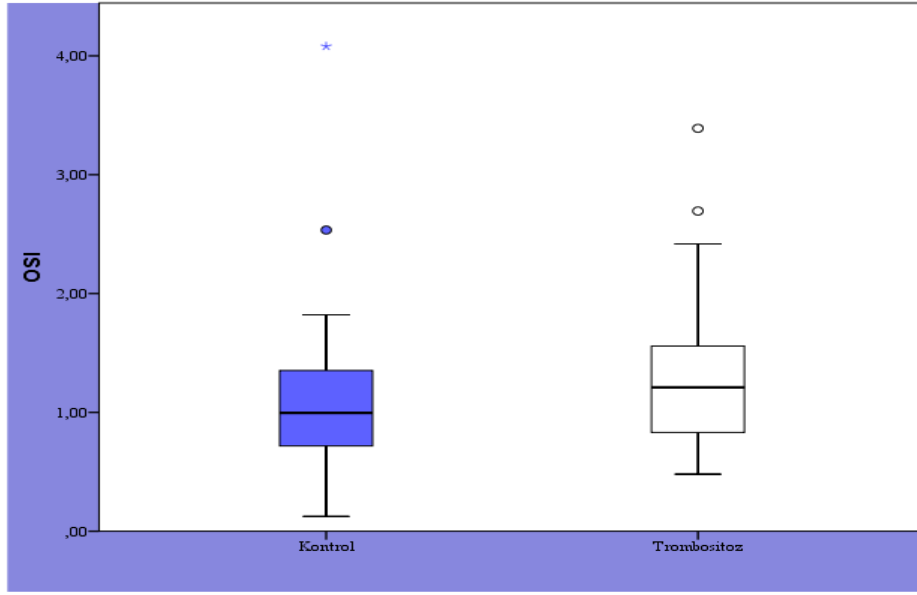
**Şekil 19: Trombositoz ve kontrol grubunda PON düzeyinin karşılaştırılması**

Trombositoz grubunda ortalama PON düzeyi  $191 \pm 171$  U/l, kontrol grubunun ortalama PON düzeyi  $299 \pm 264$  U/l olarak bulundu. İstatiksel değerlendirmede farkın anlamlı olduğu görüldü ( $p < 0.005$ ).



**Şekil 20: Trombositoz ve kontrol grubunda ARES düzeyinin karşılaştırılması**

Trombositoz grubunda ortalama ARES düzeyi  $1.253 \pm 217$  kU/l, kontrol grubunun ortalama ARES düzeyi  $1.334 \pm 127$  kU/l olarak bulundu. İstatiksel değerlendirmede farkın anlamlı olduğu görüldü ( $p < 0.05$ ).



**Şekil 21: Trombositoz ve kontrol grubu arasında oksidatif stres indeksi (OSİ) değerinin karşılaştırılması**

Trombositoz grubunun OSI değeri ortalama  $1,21 \pm 0,74$  AU, kontrol grubunun ortalama OSI değeri  $1,00 \pm 0,64$  AU olarak saptandı. İstatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ( $p < 0,05$ ).

Trombositoz ve kontrol gruplarında trombosit sayısı ile MDA arasında istatistiksel anlamlı olmayan negatif korelasyon (Şekil 22), TOS ile trombosit sayısı arasında anlamlı olmayan pozitif korelasyon saptandı (Şekil 23).

Trombositoz ve kontrol gruplarında SOD enzim düzeyi ile trombosit sayısı arasında anlamlı korelasyon saptanmadı (Şekil 24). Trombositoz ve kontrol gruplarında trombosit sayısı ile TAK ve PON düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı olmayan negatif korelasyon saptandı (sırasıyla Şekil 26, Şekil 27).

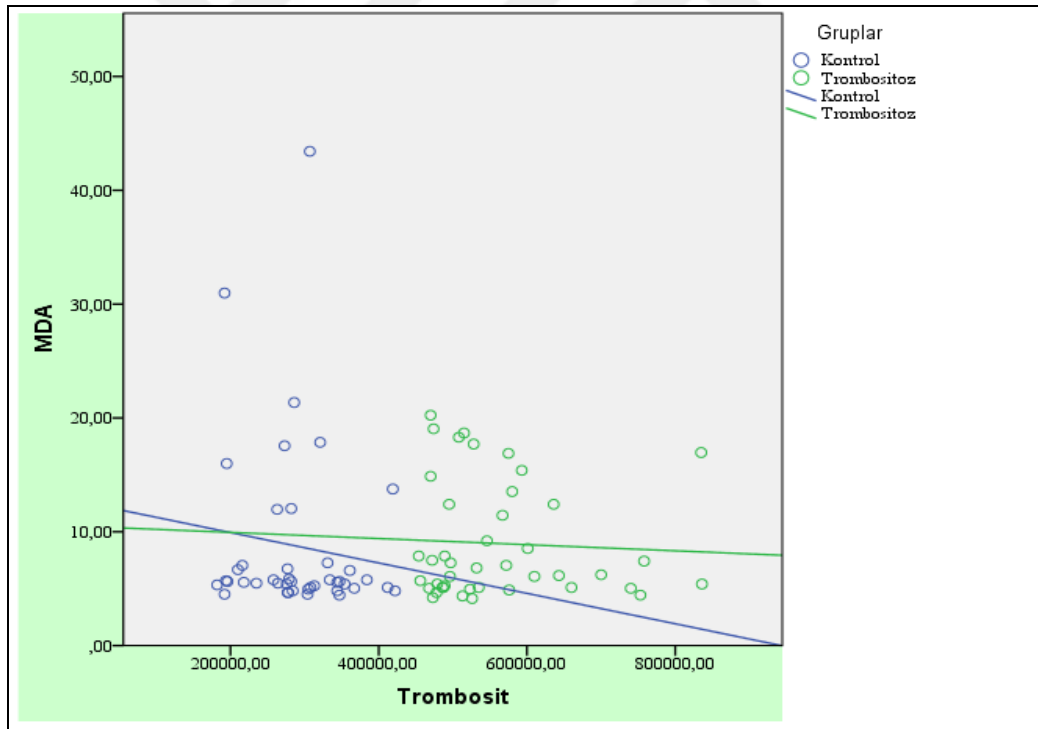
Trombositoz grubunda GSH-Px ile trombosit sayısı arasında anlamlı olmayan pozitif korelasyon, kontrol grubunda anlamlı olmayan negatif korelasyon olduğu görüldü (Şekil 25). Trombositoz grubunda ARES enzim düzeyi ile trombosit sayısı arasında anlamlı olmayan pozitif korelasyon, kontrol grubunda anlamlı olmayan negatif korelasyon saptandı (Şekil 28). Trombositoz ve kontrol grubunda oksidan-antioksidan parametre korelasyon analizi Tablo 7' de özetlenmiştir.



	Trombositoz grubu (n=43)		Kontrol grubu (n=42)	
	r	P	r	P
MDA(mmol/mL)	-0,009	0,933	-0,114	0,293
TOS (µmol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Equiv./L)	0,207	0,51	0,023	0,828
TAK(mmoltroloxequiv./L)	<b>-0,054</b>	<b>0,608</b>	<b>-0,013</b>	<b>0,905</b>
SOD(U/mL)	0,122	0,249	0,111	0,303
GSH-Px (nmol/min/mL)	0,033	0,754	-0,004	0,974
PON (U/l)	-0,092	0,385	-0,097	0,368
ARES(kU/l)	0,077	0,47	-0,131	0,225

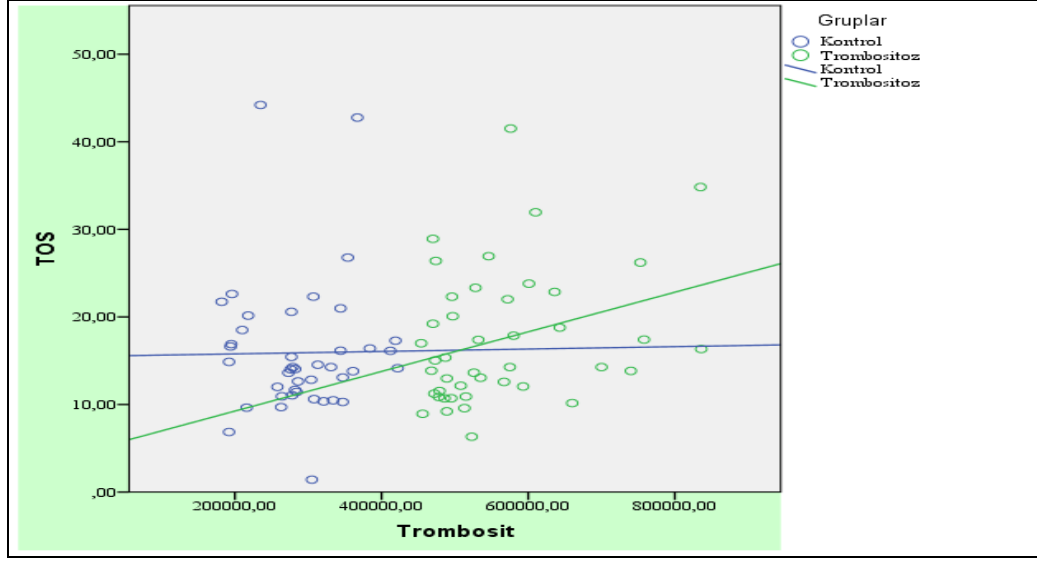
Kendall'stau-b Test - r: Korelasyon Katsayısı

**Tablo 7: Trombositoz ve kontrol grubunda oksidan-antioksidan parametre korelasyon analizi**



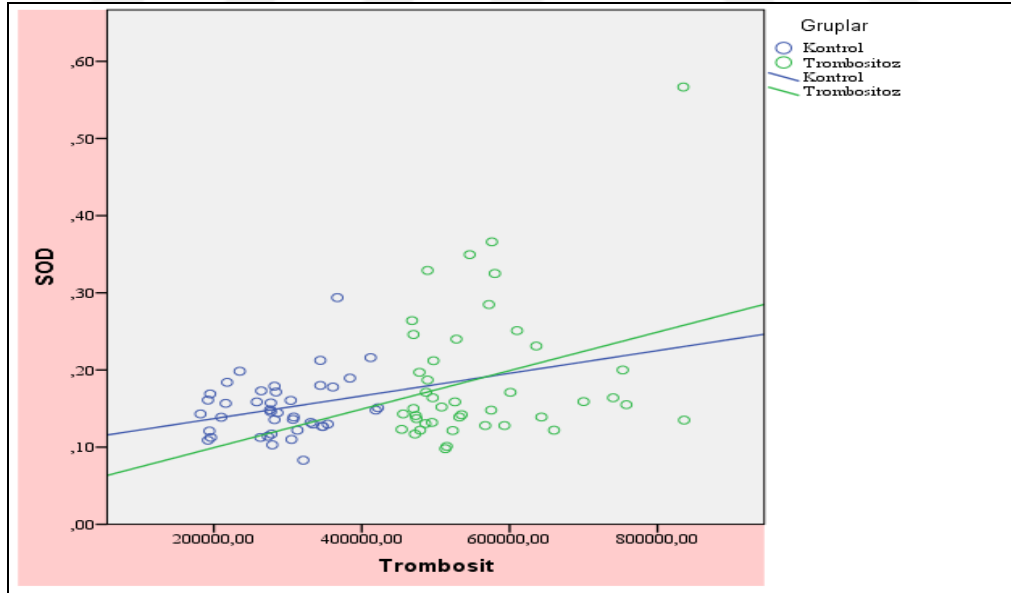
**Şekil 22 : Trombositoz ve kontrol grubunda MDA düzeyi ile trombosit sayısı arasındaki korelasyon**

Trombositoz ve kontrol grubunda MDA düzeyi ile trombosit sayısı arasında anlamlı olmayan negatif korelasyon saptandı.



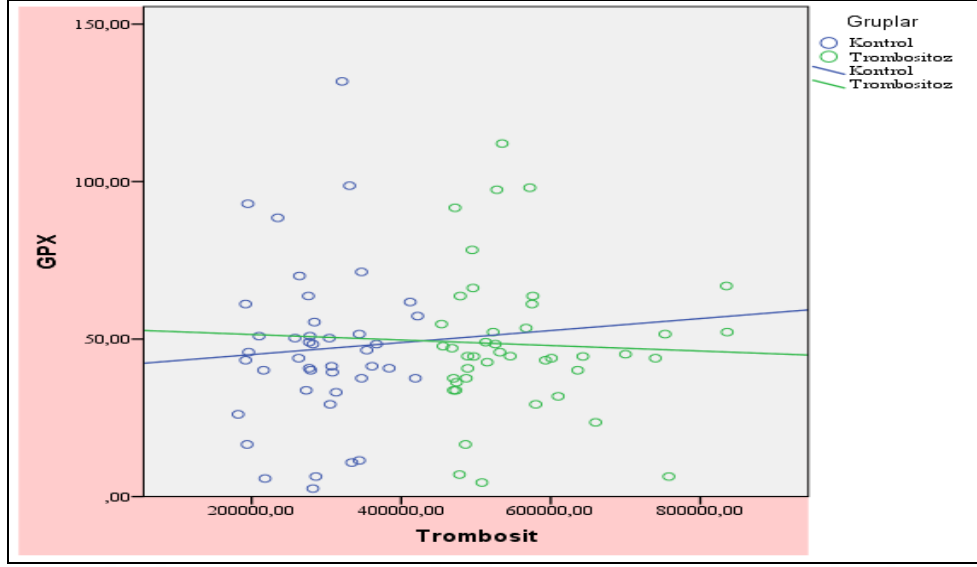
**Şekil 23 Trombositoz ve kontrol grubunda TOS düzeyi ile trombosit sayısı arasındaki korelasyon**

Trombositoz ve kontrol grubunda TOS ile trombosit sayısı arasında anlamlı olmayan pozitif korelasyon saptandı.



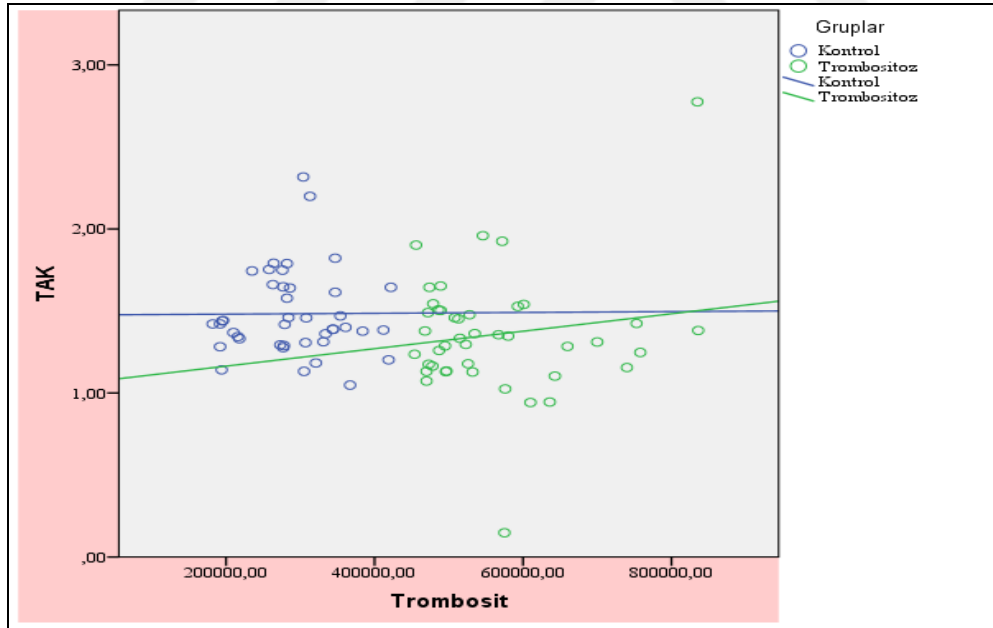
**Şekil 24: Trombositoz ve kontrol grubunda SOD düzeyi ile trombosit sayısı arasındaki korelasyon**

Trombositoz ve kontrol gruplarında SOD düzeyi ile trombosit düzeyi arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.



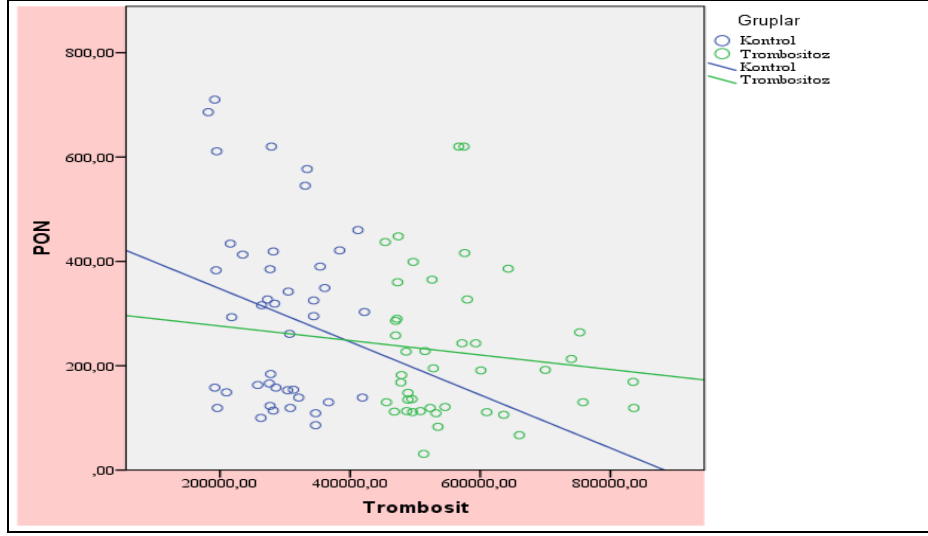
**Şekil 25: Trombositoz ve kontrol grubunda GPx düzeyi ile trombosit sayısı arasındaki korelasyon**

Trombositoz grubunda GPx ile trombosit sayısı arasında anlamlı olmayan pozitif korelasyon, kontrol grubunda anlamlı olmayan negatif korelasyon saptandı.



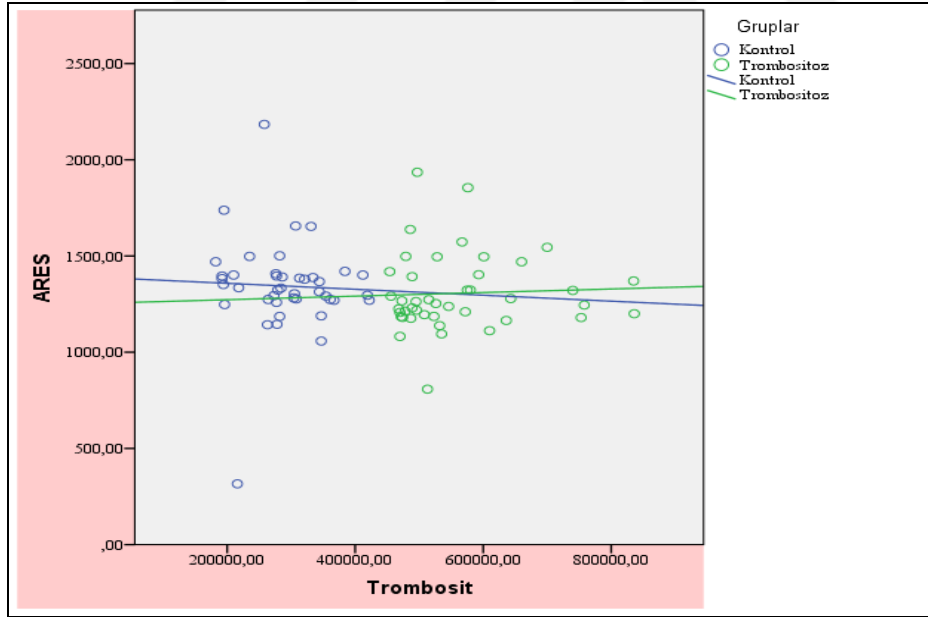
**Şekil 26: Trombositoz ve kontrol grubunda TAK düzeyi ile trombosit sayısı arasındaki korelasyon**

Trombositoz ve kontrol gruplarında TAK ile trombosit düzeyi arasında anlamlı olmayan negatif korelasyon saptandı.



**Şekil 27: Trombositoz ve kontrol grubunda PON düzeyi ile trombosit sayısı arasındaki korelasyon**

Trombositoz ve kontrol grubunda trombosit sayısı ile ve PON düzeyi arasında istatistiksel anlamlı olmayan negatif korelasyon saptandı.



**Şekil 28: Trombositoz ve kontrol ve grubunda ARES düzeyi ile trombosit sayısı arasındaki korelasyon**

Trombositoz grubunda ARES enzim düzeyi ile trombosit sayısı arasında anlamlı olmayan pozitif korelasyon, kontrol grubunda anlamlı olmayan negatif korelasyon saptandı.

## 5. TARTIŞMA

Hücre ve dokuların yapısal bütünlüğünün korunması ve fonksiyonlarını sürdürülebilmesi için oksidan ve antioksidan sistem denge halinde olmalıdır. Reaktif oksijen ve nitrojen ürünlerinin artması, antioksidan moleküllerin azalması sonucu oksidatif denge bozularak pekçok patolojik olay ortaya çıkabilir.

Oksidatif stres “oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine kayması ve hücre hasarına yol açması” olarak tanımlanır (1). Oksidan moleküllerin artması; hücre membranında hasar oluşmasına, hücre içi proteinlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulmasına, hücre DNA’sını etkileyerek hücrenin değişimine ve ölümüne neden olur.

Daha önceki çalışmalarda; ülseratif kolit (2), iskemi / reperfüzyon hasarı ve ateroskleroz (3), yaşlanma, diabetes mellitus (4), çeşitli kanser türleri, romatoid artrit, multiple skleroz gibi otoimmün hastalıklar, astım ve katarakt (3,5) gibi hastalıklarda serbest oksijen radikallerinin arttığı gösterilmiştir (6,7,8). “Serbest oksijen radikalleri hastalıkların nedeni mi, yoksa sonucu mu?” sorusunun cevabı için çalışmalar devam etmektedir.

Oksidan ve antioksidan dengenin bozulması durumunda tüm hücrelerde olduğu gibi trombosit hücrelerinde de etkilenme olur. Oksidan moleküller, trombosit hücrelerinin diferansiyasyonu, proliferasyonu ve apoptozisi dahil birçok hücre fonksiyonu etkiler, trombositlerin fizyolojisini değiştirebilir, trombositoz veya trombositopeni gibi patolojik sonuçlara neden olabilir. Oksidan stresde; trombüs oluşumu tetiklenirken, vasküler tonusta değişiklikler, anjiogenez ve aterotrombotik olaylarda artış görülebilir (90-93).

Wu ve arkadaşların çalışmasında, BLVRB<sup>S11L</sup> alelindeki mutasyon trombositoz gelişmesinde yeni bir mekanizma olarak gösterilmiştir (23). BLVRB<sup>S11L</sup> alelindeki mutasyon biliverdin IX $\beta$  redüktaz enziminin NADPH’a bağlanarak gerçekleştirdiği reaksiyonu etkilemekte, heme yolunun bozulmasına, redoks reaksiyonlarının yetersiz kalmasına, reaktif oksijen ürünlerin artmasına ve sonuçta trombositozu neden olmaktadır. Bu çalışmada trombositoz gelişiminde oksidan ürünlerin rolü vurgulanmıştır.

Çocuklarda görülen trombositoz sıklıkla altta yatan başka bir hastalık nedeniyle ortaya çıkan laboratuvar bulgusudur. Çocukluk çağında saptanan

trombositozun en sık nedeni enfeksiyonlardır. İnflamasyon, demir eksikliği anemisi, hemolitik anemi, splenektomi, yanık, malignite ve travma gibi doku hasarına neden olan durumlar da trombositozu neden olmaktadır (10). Bu hastalıklarda dolaşımda özellikle IL-6 olmak üzere sitokin düzeyleri artar, karaciğerdeki trombopoetin üretimi uyarılır, megakaryopoez ve trombosit yapımı hızlanır (105).

Aynı zamanda altta yatan bu hastalıklar oksidan-antioksidan dengesini oksidan lehine bozmakta ve trombositler üzerinde etkili olmaktadır.

Literatürde çocukluk çağında trombositoz ve oksidan/antioksidan denge durumu daha önce bildirilmemiştir. Çalışmamızda trombositozlu çocuklarda oksidan ve antioksidan moleküllerin düzeyini belirleyerek, oksidan-antioksidan dengenin hangi yönde değiştiğini görmeyi amaçladık.

Oksidan belirteçlerden malondialdehit lipid peroksidasyonunun son ürünüdür. Çalışmamızda malondialdehit düzeyi ve total oksidan stresi gösteren TOS değeri trombositoz grubunda kontrole göre yüksekti ( $p>0.05$ ).

Durmuş ve arkadaşları esansiyel trombositozlu 43 olgunun oksidatif stres düzeyini incelemişler (106). Tanıda ve tedavinin 6. ayında TAK, TOS, MDA düzeyleri ölçülmüş OSI değeri hesaplanmış. Tedavi öncesi bakılan TOS ve MDA düzeyi ve OSI değeri esansiyel trombositoz grubunda yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Hidroksiüre ve düşük doz aspirin ile tedavi sonrası MDA düzeyi ve OSI değerinin düştüğü, TAK düzeyinde artış olduğu saptanmıştır ( $p>0.05$ ). Endotelial hasar sonucu gelişen oksidatif stresin iskemik hasara neden olabileceği ve erken tedavinin koruyuculuğu vurgulanmıştır.

ITP, izole trombositopeninin görüldüğü yaygın otoimmün bir hastalıktır. Jin CQ ve arkadaşları kronik ITP'de MDA ve TOS düzeylerini kontrol grubuna göre yüksek saptamış, otoimmün olaya bağlı trombosit membranındaki hasar sonucu MDA ve TOS'un yükseldiğini belirtmişlerdir (107). Polat ve arkadaşlarının çalışmasında da ITP hastalarında MDA düzeyini kontrol grubuna göre daha yüksek saptamışlardır (108). Trombositlere karşı gelişen antikorların membran lipidlerine bağlanmasıyla lipid peroksidasyonunun arttığı ve MDA düzeyinin yükseldiği belirtilmiş ve oksidan stres artışının bir sonuç olduğu vurgulanmıştır. Zhang B ve arkadaşları akut ve kronik ITP olgularında oksidan stresi incelemiş, kronik ITP olgularında MDA düzeyinin akut ITP grubuna göre daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Kronik

ITP olgularında oksidan stresin devam ettiği ve MDA değerinin yükseldiğini belirtmişlerdir (47).

Trombositler endojen reaktif oksijen ürünleri (ROS) yapabilen hücrelerdir (109,110). İlk defa 1977 yılında Marcus AJ ve arkadaşları tarafından trombositlerin ROS üretebildiği bildirilmiştir (110). Çalışmamızda trombositoz olgularında trombosit sayısının artmasıyla endojen ROS üretiminin hızlanarak, membran lipid peroksidasyonunu artırıp MDA ve TOS düzeyini etkilediğini düşünüyoruz. Trombositozun enfeksiyon gibi lipid peroksidasyonunu artıran nedenlere bağlı gelişmesi de MDA gibi oksidan belirteçlerin artışına neden olacaktır. Çalışmamızda trombositozda oksidan stresin arttığını gözledik ve artan oksidan stresin hem trombositozun sonucu hem de artan trombosit sayısının nedeni olduğunu düşünüyoruz.

Trombositozda oksidan moleküller artarken antioksidan moleküllerin düzeyleri değişkenlik göstermektedir. Organizmada serbest oksijen radikallerin oluşumunu ve bunların neden olduğu hasarı önlemek için “antioksidan savunma sistemleri” bulunur. Antioksidanlar serbest radikalleri nötralize etmek için karşılıklı etkileşim halinde olan hücre içi ve hücre dışı kaynaklı çeşitli bileşiklerdir. Trombosit hücresinde bulunan SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimlerinin içinde bulunduğu bazı yolaklar oksijen radikallerin sitotoksik etkisini önler. SOD enzimi ile süperoksit anyonu hidrojen peroksit'e dönüşerek endojen nitrik oksit bioaktivitesini artırır. Bu reaksiyon ile tromboz oluşumu önlenir. Çalışmamızda trombositoz grubunda SOD düzeyini, kontrol grubuna göre hafif yüksek bulduk ( $p>0.05$ ). Trombositoz grubunda artan trombosit sayısı ve oksidan uyarıya bağlı SOD miktarının arttığını düşünüyoruz.

Laskaj ve arkadaşlarının çalışmasında toplum kökenli pnömöni tanısı alan olgularda SOD, bakır ve çinko düzeylerini incelemişler (111). Tanı anında iki grup arasında SOD enzim düzeyi açısından anlamlı fark saptanmamış. Tedavi sonrası reaktif trombositozu olan grupta SOD düzeyinin diğer gruba göre düşük olduğu belirtilmiş. Laskaj ve arkadaşları trombositlerin tedavi sırasında antioksidan cevabın gelişmesinde aktif rol oynadığını, reaktif trombositozu olan pnömöni olgularında daha fazla oksijen ve nitrojen radikallerinin üretilmesiyle antioksidan rol oynayan SOD enzimin tüketimine bağlı düzeyinin düştüğünü belirtmiştir.

Glutasyon peroksidaz trombositde bulunan antioksidan bir enzimdir (98) Lipid peroksidasyonunu engelleyerek membran lipidlerini ve hemoglobini peroksitler aracılığıyla oluşabilecek oksidasyona karşı korur. GSH/GSSH oranının oksidan durumu iyi gösteren bir belirteç olduğu, trombosit agregasyonunun regülasyonu ile yakından ilişkili olduğu bilinmektedir. Plazma GSH/GSSH oranı 4/1 iken, trombosit hücrelerinde bu oran 13 /1' dir (103).

Zhang B ve arkadaşlarının akut ve kronik ITP hasta gruplarında oksidan durumu gösteren GSH/GSSG oranını incelemişlerdir (47). Kronik ITP hastalarında bu değerin daha düşük olduğunu saptamışlar ve oksidan travmanın devam ettiğini belirtmişlerdir.

Kamhieh- Milz J ve arkadaşları ITP hastalarında yaptıkları çalışmada oksidan olan serum MDA, TOS düzeylerini yüksek ve antioksidan olan serum SOD, GSH-Px, TAK düzeylerini kontrol grubuna göre düşük olduğunu bildirmiştir (112) Artan serbest oksijen radikallerini temizlemek amacıyla antioksidan enzimlerin tüketildiği vurgulanmıştır.

Çalışmamızda GSH-Px enzim düzeyi trombositoz grubunda kontrole göre düşük saptandı ( $p>0.05$ ). Trombositoz hastalarında oksidan stresin ve endojen ROS üretiminin kontrol grubuna göre daha fazla olduğunu, oksidan molekülleri zararsız hale getirmek amacıyla glutasyon peroksidaz enziminin tüketimine bağlı azaldığını düşünmekteyiz.

PON ve ARES trombosit dışında salınan fakat trombositin neden olduğu oksidan olaylarda antioksidan rol oynayan, karaciğer ve serumda bulunan enzimlerdir. PON enzimi düşük dansiteli lipoproteini (LDL) oksidasyondan koruyarak ve aromatik karboksilik asit esterlerini hidroliz ederek antioksidan özellik gösterir (69). Rodrigo L. ve arkadaşları PON enziminin platelet aktive edici faktörü hidroliz ederek inaktive ettiğini ve tromboz riskini azalttığını bildirmişlerdir (113). PON ve ARES proinflamatuvar moleküllerin salınımını sınırlayarak antiinflamatuvar özellikte gösterirler (114)

Oksidan ortam trombosit proteinlerini modifiye eder ve değişen trombosit proteinleri hücre dışı oksidatif stresin indüktörleri / aktivatörleri olarak hareket eder. Trombosit aktivasyonu ve patolojik hiperreaktivitede, hücre içi oksidatif stres ve redoks regülasyonu önemli bir rol oynamaktadır. Obezite, hipertansiyon, insülin



direnci ve metabolik sendrom gibi risk faktörleri ile ilişkili tromboz gelişimini engellemek için, dolaşımdaki hücre dışı ROS temizleyicileri (PON ve ARES gibi) tüketilirken, trombosit içi antioksidan enzimlerin kullanımı da aktif hale gelmektedir.

Çalışmamızda PON1 ve arilesteraz düzeyi trombositoz grubunda kontrole göre düşük bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Trombositozlu hastalarda; oksidan yükün artması ile trombüs oluşumunu önlemek amacıyla PON1 ve arilesterazın düzeyinin tüketime bağlı olarak düştüğünü düşünmekteyiz.

Oksidan / antioksidan denge, oksidan ve antioksidan moleküllerin serum düzeyinin ölçülmesi ile değerlendirilebilir. Oksidan stresi özetleyen TOS (Toplam oksidan statü) ve antioksidan durumu gösteren TAS (Toplam antioksidan statü) oksidan/antioksidan dengeyi gösteren belirteçlerdir.

Çalışmamızda toplam oksidan durumu gösteren TOS trombositoz grubunda daha yüksek düzeyde iken toplam antioksidan düzeyi gösteren TAK kontrol grubuna göre daha düşük saptandı ( $p < 0,05$ ). Bu durum, trombositoz grubunda oksidan ve antioksidan sistemin dengesinin bozulduğunu, oksidan yükün daha fazla olduğu göstermiştir.

Oksidatif yükün fazla olması nedeniyle organizmada gerçekleşen dengeleyici mekanizmalarla oksidan moleküllerin yok edilmesi için antioksidan moleküllerin tüketildiği ve buna bağlı olarak antioksidanların düzeyinin azaldığını düşündürmüştür.

Elalfy MS ve arkadaşları çocuk ve adolesan İTP'li hastalarda gözlenen yüksek oksidatif stresin kısmen trombositopeninin artmasından sorumlu olabileceğini ve adjuvan antioksidanın (vitamin A, C, E ve selenyum) oksidatif stresli İTP'li hastalar için tamamlayıcı bir tedavi olabileceğini vurgulamışlardır (115).

Çalışmamızda trombositoz grubunda oksidan parametrelerin düzeyinin arttığı antioksidan parametrelerin düzeyinin azaldığını tespit ettik. Oksidan moleküller trombosit hücrelerini aktive ederek trombüs oluşumuna neden olmaktadır. Trombositoz olgularının oksidan ve antioksidan moleküllerin düzeyinin belirlenmesiyle oksidan stresi yüksek saptanan olgulara erken dönemde antiagregan tedavi başlanarak tromboz gelişimi önlenebilir. Trombozu önlemek için trombosit aktivasyonunu engellemek hastaları kanama riskine maruz bırakabilir. Trombozu ve ciddi kanamaları kontrol altına alan, optimal bir denge oluşturan anti-platelet ajanlar

için çalışmalar devam etmektedir. ITP'de tedavide antioksidan (melatonin, vitamin C, A, E...) kullanımının faydası bildirilmiştir (116). Çalışmamızda trombositozda da antioksidan maddelerin tedaviye eklenmesinin tromboz riskini düşüreceğini ve morbidite / mortalitenin azaltılabileceğini düşünüyoruz.



## 6. SONUÇ

1. Çalışmaya alınan trombositoz grubunun %51.2' si kız, %48.8' i erkek, kontrol grubunun %59.5'u kız, %40.5'u erkek idi.

2. Trombositoz grubunda oksidan olan malondialdehit düzeyi kontrol grubuna göre daha yüksek saptandı ancak istatistiksel anlamlı fark saptanmadı.

3. Trombositoz grubunda toplam oksidan durumu gösteren TOS düzeyi kontrol grubuna göre daha yüksek saptandı ancak istatistiksel anlamlı fark saptanmadı.

4. Antioksidan olan SOD düzeyi iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı

5. Trombositoz grubunda antioksidan olan glutatyon peroksidaz enzim düzeyi kontrol grubuna göre daha düşük bulundu ( $p > 0,05$ ).

6. Trombositoz grubunda toplam antioksidan durumu gösteren TAK düzeyi kontrol grubuna göre daha düşük saptandı ( $p < 0,05$ ).

7. Trombositoz grubunda antioksidan olan paraoksonaz 1 düzeyi kontrol grubuna göre daha düşük bulundu ( $P < 0,05$ ).

8. Trombositoz grubunda antioksidan olan arilesteraz enzim düzeyi kontrol grubuna göre daha düşük bulundu ( $p < 0,05$ ).

9. Trombositoz grubunda oksidan düzeyi gösteren oksidatif stres indeksi kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu ( $p < 0,05$ ).

10. Çalışmamızda trombositoz grubunda oksidan parametrelerin düzeyinin arttığı antioksidan parametrelerin düzeyinin azaldığını tespit ettik.

11. Trombositoz olgularının oksidan ve antioksidan moleküllerin düzeyinin belirlenmesiyle oksidan stresi yüksek saptanan olgulara erken dönemde antiagregan tedavi başlanarak tromboz gelişimi önenebilir.

12. Çalışmamızda trombositozda da antioksidan maddelerin tedaviye eklenmesinin tromboz riskini düşüreceğini ve morbidite / mortalitenin azaltılabileceğini düşünüyoruz.

## **KAYNAKLAR:**

1. Fang Y-Z, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition*. 2002; 18: 872-879.
2. Cooper CE, Vollaard NBJ, Choveiri T. Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem Soc Trans*. 2002; 30(2): 280-5.
3. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford: Oxford University Press, 1999
4. Akkuş İ., Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza Yayınları, 1995
5. Halliwell B. Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant in vivo? *Free Radic Res*.1996; 25: 439-54
6. Altan N, Dinçel AS, Koca C. Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. *Türk Biyokimya Dergisi*. 2006;31:51-56
7. Yılmaz K, Kahraman A, Bodur S, et al. Demir Eksikliği Anemisinde Eritrosit Redükte Glutasyon Düzeyleri ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri. *T Klin J Med Sci*. 2004; 24:305-308.
8. Selek S, Aslan M, Horoz M, et al. Oxidative status and serum PON1 activity in beta-thalassemia minor. *Clin Biochem*. 2007; 40: 287-291.
9. Wolach, B., Morag, H., Drucker, M. & Sadan, N.(1990) Thrombocytosis after pneumonia with empyema and other bacterial infections in children. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 9, 718–721.
10. Kilpi T, Anttila M, Kallio MJ, Peltola H. Thrombocytosis and thrombocytopenia in childhood bacterial meningitis. *Pediatr Infect Dis J* 1992;11:456-60.
11. Griesshammer M, Bangerter M, Sauer T, et al. Aetiology and clinical significance of thrombocytosis: analysis of 732 patients with an elevated platelet count. *J of Internal Medicine* 245(3): 295-300, 1999
12. Dame C, Sufor AH, Primary and secondary thrombocytosis in childhood, *Br J Haematol* 2005 Apr;129(2):165-77

13. Sutor, AH. Thrombocytosis. In: Lilleyman JS, Hann IM, Blanchette VS (eds). *Pediatric Hematology*. Churchill Livingstone, London, Dinburgh, New York, Philadelphia, Sydney, Toronto 1999; 455-64.
14. Wolber EM, Jelkmann W. Interleukin-6 increases thrombopoietin production in human hepatoma cells HepG2 and Hep3B. *J Interferon Cytokine Res* 2000; 20:499-506.
15. Wolber EM, Fandrey J, Frackowski U, Jelkmann W. Hepatic thrombopoietin mRNA is increased in acute inflammation. *Thromb Haemost* 2001; 86:1421-4.
16. Schafer AI. Thrombocytosis. *N Eng J Med* 2004; 350:1211-19.
17. Michiels JJ, Kutti J, Stark P et al. Diagnosis, pathogenesis and treatment of the myeloproliferative disorders essential thrombocythemia, polycythemia vera and essential megakaryocytic granulocytic metaplasia and myelofibrosis. *Neth J Med* 1999; 54:46-62.
18. Subramaniam N, Mundkur S, Kini P, Bhaskaranand N, and Aroor S *Clinicohematological Study of Thrombocytosis in Children*, Hindawi Publishing ISRN Hematology Volume 2014.
19. F. Böhm, R, Edge, D.J. Mc Garvey, T.G. Truscott, Beta carotene and alphotocopherol are synergistic antioxidants. *Arch. Biochem, Biophys.* 1992; 297: 184-187.
20. Yılmaz K, Kahraman A, Bodur S, et al. Demir Eksikliği Anemisinde Eritrosit Redükte Glutasyon Düzeyleri ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri. *T Klin J Med Sci.* 2004; 24:305-308.
21. Cortelazzo S, Viero P, Finazzi G, D'Emilio A, Rodeghiero F, Barbui T. Incidence and risk factors for thrombotic complications in a historical cohort of 100 patients with essential thrombocythemia. *J Clin Oncol.* 1990;8:556-562. 106 XXXVIII. Ulusal Hematoloji Kongresi.
22. Komura E, Matsumura T, Kato T, Tahara T, Tsunoda Y, Sawada T. Thrombopoietin in patients with hepatoblastoma. *Stem Cells* 1998; 16:329-33.
23. Wu S, Li Z, Gnatenko DV, Zhang B, Zhao L, Malone L, Markova N, Mantle T, Wadie N.N, Bahou WF. BLVRB redox mutation defines heme degradation in a

metabolic pathway of enhanced thrombopoiesis in humans. *Blood*. 2016;128(5):699-709.

24. Sørensen AL, Rumjantseva V, Nayeb-Hashemi S, Clausen H, Hartwig JH, Wandall HH, Hoffmeister KM. Role of sialic acid for platelet life span: exposure of beta-galactose results in the rapid clearance of platelets from the circulation by asialoglycoprotein receptor-expressing liver macrophages and hepatocytes. *Blood*. 2009 Aug 20;114(8):1645-54. doi: 10.1182/blood-2009-01-199414. Epub 2009 Jun 11.

25. Grewal PK. The Ashwell-Morell receptor. *Methods Enzymol*. 2010;479:223–241. doi: 10.1016/S0076-6879(10)79013-3.

26. Rumjantseva V, Grewal P.K, Wandall H.H, Josefsson E C, Sørensen A L, Larson G, Marth J D , Hartwig JH, Hoffmeister K M. *Nature Medicine* 15, 1273 – 1280. doi: 10.1038/nm.203021.

27. Grozovsky R, Begonja AJ, Liu K, et al. The Ashwell- Morell receptor regulates hepatic thrombopoietin production via JAK2-STAT3 signaling. *Nat Med*. 2015; 21(1):47-54.

28. Grozovsky R, Giannini S, Falet H, Hoffmeister KM. Regulating billions of blood platelets: glycans and beyond. *Blood*. 2015;126(16):1877-1884.

29. Greer, J.P., M.M. Wintrobe, *Wintrobe's clinical hematology*. Vol. 1. 2008: Lippincott Williams & Wilkins.

30. Wolanskyj AP, Schwager SM, McClure RF, Larson DR, Tefferi A. Essential thrombocytopenia beyond the first decade: life expectancy, long-term complication rates, and prognostic factors. *Mayo Clin Proc*. 2006;81:159-166.

31. Pardanani AD, Levine RL, Lasho T, Pikman Y, Mesa RA, Wadleigh M, Steensma DP, Elliott MA, Wolanskyj AP, Hogan WJ, McClure RF, Litzow MR, Gilliland DG, Tefferi A. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood*. 2006 Nov 15;108(10):3472-6. Epub 2006 Jul 25.

32. El-Kassar N, Hetet G, Briere J, Grandchamp B. Clonality analysis of hematopoiesis and thrombopoietin levels in patients with essential thrombocytopenia. *Leuk Lymphoma* 1998; 30:181-188.

33. Wolanskyj AP, Lasho TL, Schwager SM, McClure RF, Wadleigh M, Lee SJ et al. JAK2 mutation in essential thrombocythaemia: clinical associations and long-term prognostic relevance. *Br J Haematol* 2005; 131: 208–213.
34. Tefferi A, Passamonti F. Essential thrombocythemia and pregnancy: observations from recent studies and management recommendations. *Am J Hematol*. 2009;84:629-630.
35. Chiarello P, Magnolia M, Rubino M, Liguori SA, Miniero R. Thrombocytosis in children. *Minerva Pediatr*. 2011 Dec;63(6):507-13.
36. Ishiguro A, Suzuki Y, Mito M et al. Elevation of serum thrombopoietin precedes thrombocytosis in acute infections. *Br J Haematol* 2002; 116:612-8.
37. Khan PN, Nair RJ, Olivares J, Tingle LE, Li Z. Postsplenectomy reactive thrombocytosis. *Proc (Bayl Univ Med Cent)*. 2009 Jan;22(1):9-12.
38. Buss DH, Cashell AW, O'Connor ML, Richards F, Case LD. Occurrence, etiology, and clinical significance of extreme thrombocytosis: a study of 280 cases. *Am J Med*. 1994 Mar;96(3):247-53.
39. Harrison CN, Campbell PJ, Buck G, Wheatley K, East CL, Bareford D, Wilkins BS, van der Walt JD, Reilly JT, Grigg AP, Revell P, Woodcock BE, Green AR; Hydroxyurea compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia. *N Engl J Med*. 2005 Jul 7;353(1):33-45.
40. Storen EC, Tefferi A. Long-term use of anagrelide in young patients with essential thrombocythemia. *Blood*. 2001 Feb 15;97(4):863-6.
41. Finazzi G, Carobbio A, Thiele J, et al. Incidence and risk factors for bleeding in 1104 patients with essential thrombocythemia or prefibrotic myelofibrosis diagnosed according to the 2008 WHO criteria. *Leukemia*. 2012;26:716-719.
42. Harrison CN, Bareford D, Butt N, Campbell P, Conneally E, Drummond M, Erber W, Everington T, Green AR, Hall GW, Hunt BJ, Ludlam CA, Murrin R, Nelson-Piercy C, Radia DH, Reilly JT, Van der Walt J, Wilkins B, McMullin MF; British Committee for Standards in

Haematology. Guideline for investigation and management of adults and children presenting with a thrombocytosis. *Br J Haematol.* 2010 May;149(3):352-75.

43. Vora AJ, Lilleyman JS. Secondary thrombocytosis. *Arch Dis Child* 1993; 68:88-90.

44. Heng JT, Tan AM. Thrombocytosis in childhood. *Singapore Med J* 1998; 39:485-7.

45. Finaud J, Lacond G, Filaire E. Oxidative stress relationship with exercise and training. *Sports Med.* 2006; 36(4): 327-358.

46. Codandabany U. Erythrocyte lipid peroxidation and antioxidants in cigarette smokers. *Cell Biochem Funct.* 2000; 18: 99-102.

47. Zhang B, Zehnder J.L, Oxidative Stress and Immune Thrombocytopenia, *Seminars in Hematology*, Volume 50, Issue 3, July 2013, Pages e1–e4.

48. Sies H. Biochemistry of oxidative stress. *Angew Chem Int Ed Engl.*1986; 25: 1058-1071.

49. McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med.* 2000; 108: 652-659.

50. Gilbert DL. Fifty years of radical ideas. *Ann NY Acad Sci.* 2000; 899: 1-14.

51. Evans P, Halliwell B. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *Br J Nutr.* 2001; 85(S2); S67-S74.

52. Fridovich I. Fundamental aspects of reactive oxygen species, or what's the matter with oxygen? *Ann NY Acad Sci.* 1999; 893: 13-18.

53. Benzie IFF. Evolution of antioxidant defence mechanisms. *Eur J Nutr.* 2000; 39: 53-61.

54. Cross CE, Traber M, Eiserich J, van der Vliet A. Micronutrient antioxidants and smoking. *Br Med Bull.* 1999; 55; 691-704.

55. Esterbauer H, Wiegand G, Puhl H. Lipid peroxidation and its role in atherogenesis. *Br Med Bull.* 1993 ; 49: 566-576.

56. Rice-Evans CA, Miller NS and Paganda G Structure-Antioxidant Activity Relationships of Flavonoids and Phenolic Acids. *Free Radical Biology & Medicine.*1996 (20); 7: 993-956.



57. Alberg AJ, Chen JC, Zhao H, Hoffman SC, Comstock GW, Helzlsouer KJ. Household exposure to passive cigarette smoking and serum micronutrient concentrations. *Am J Clin Nutr* .2000; 72: 1576-82.
58. Mac Nee W. Pulmonary and systemic oxidant/antioxidant imbalance in chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc* .2005;2: 50-6011.
59. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clinical Biochemistry* 1993;26:351-7.
60. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest*. 1982;47:412-426.
61. Leewenburgh C, Hansen PA, Holl oszy Jo. Hydroxyl radical generation during exercise increases mitochondrial protein oxidation and levels of urinary dity rosine. *Free Radic Biol Med* .1999; 27 (1-2): 186-92.
62. Lenaz G. Role o f mitochondria in oxidative stres and ageing. *Biochim Biophys Acta* .1998; 1366(1-2): 53-67.
- 63.. Sjödin B, Hellsten Westing Y. Biochemical mechanism for oxygen free radical form ation during exercise. *Sports Med*. 1990; 10: 236-54.
64. Pryor WA, Church DF, Evans MD, Rice WY, Hayes JR. A comparison of free radical chemistry of tobacco burning cigarettes and cigarettes that only heat tobacco. *Free radicbiol med*. 1990; 8:275-279.
65. Frederiks WM, Bosch KS. The role of xantine oxidase in ischemia/reperfusion damage of rat liver. *Histol Histopathol*. 1995; 10: 111-6.
66. Cao H. Paraoxonase protection of LDL against peroxidation. *J Lipid Res*. 1999.40;133-139.
67. Mackness B. Effect of the human serum paraoxonase 55 and 192 genetic polymorfizms. *Febs Letter* 1998: 423; 57-60.
68. Ekmekçi Ö., Donma O., Ekmekçi H. Paraoksonaz Cerrahpaşa Tıp Dergisi 35(2), 2004.
69. Başkol G., Köse G. Paraoksonaz: Biyokimyasal özellikleri, fonksiyonları ve klinik önemi Erciyes Tıp Dergisi 26 (2) 75-80, 2004.

70. Ayub A, Mackness MI, Arrol S, Mackness B, Patel J, Durrington PN. Serum paraoxonase after myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19:330-335. 19.
71. Mackness MI, Harty D, Bhatnagar D, et al. Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 1991; 86:193-199.
72. Thompson-Gorman SL, Zweier JL. Evaluation of the role of xanthine oxidase in myocardial reperfusion injury. *J Biol Chem*. 1990; 265(12): 6656-63.
73. Gunther MR, Sampath V, Caughey WS. Potential roles of myoglobin autoxidation in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Free Radic Biol Med*.1999; 26(11-12): 1388-95.
74. Dahle LK, Hill EG, Hollmann RT. The thiobarbituric acid reaction and the autoxidations of polyunsaturated fatty acid methyl esters. *Arch Biochem Biophys*. 1962; 98: 253-261.
75. Harel, M., Aharoni, A., Gaidukov, L. et al. Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and anti-atherosclerotic enzymes. *Nat. Struct. Mol. Biol*. 2004; 11, 412–419.
76. Stocker R. The ambivalence of vitamin E in atherogenesis trends. *Biochem sci*.1999; 24: 219-223.
77. Halliwell B. Vitamin C & genomic stability. *Mutat Res*. 2001; 475: 29-35.
78. Arrigoni O, De Tullio MC. Ascorbic Acid: Much more than just an oxidant. *Biochim Biophys Acta*. 2002; 1569: 1-9.
79. Rose RC, Bode AM. Biology of free-radical scavengers- an evaluation of ascorbate. *FASEB J* .1993; 7: 1135-1142.
80. Carr A, Frei B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? *FASEB J* . 1999 ;13: 1007-1024.
81. Lee SH, Oe T, Blair IA. Vitamin C-induced decomposition of lipid hydroperoxides to endogenous genotoxins. *Science*. 2001; 292: 2083-2086.

82. Suh J, Zhu BZ, Frei B. Ascorbate does not act as pro-oxidant toward lipids and proteins in human plasma exposed to redox-active transition metal ions and hydrogen peroxide. *Free Radic Biol Med*. 2003; 34: 1306-1314.
83. Notthrop-Clewes CA, Thurnham DI. Monitoring micronutrients in cigarette smokers. *Clinica Chimica Acta*. 2007; 377:14-38.
84. Chow CK. Vitamin C and cigarette smoke exposure. In: Packer L, Fuchs J, editors. *Vitamin C in health and disease*. New York: Marcel Dekker Inc; 1997. p.413-24.
85. Stahl W, Sies H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids *Biochimica et Biophysica Acta* .2005; 1740:101-107.
86. Britton G. Structure and properties of carotenoids in relation to function. *FASEB J*. 1995; 9:1551-1558.
87. Olson A, Krinsky N.I., Introduction: the colorful fascinating world of the carotenoids: important physiologic modulators. *FASEB J*. 1995; 9:1547-1550.
88. Young A.J, Lowe G.M. Antioxidant properties of carotenoids. *Arch Biochem Biophys*. 2001; 385: 20-27.
89. Böhm F, Edge R, McGarvey D J , Truscott TG ,  $\beta$ -Carotene with vitamins E and C offers synergistic cell protection against NO<sub>x</sub>, *FEBS Letters* Volume 436, Issue 3, 9 October 1998, Pages 387–389.
90. Brown GT and McIntyre TM. Lipopolysaccharide signaling without a nucleus: kinase cascades stimulate platelet shedding of proinflammatory IL-1 $\beta$ -rich microparticles. *J Immunol* 186: 5489–5496, 2011.
91. Bennett JS, Berger BW, and Billings PC. The structure and function of platelet integrins. *J Thromb Haemost* 7: s200–s205, 2009.
92. Bergmeier W and Stefanini L. Novel molecules in calcium signaling in platelets. *JThromb Haemost* 1: 187–190, 2009.
93. Circu ML and Aw TY. Glutathione and apoptosis. *Free Radic Res* 42: 689–706, 2008.
94. Circu ML and Aw TY. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. *Free Radic Biol Med* 48: 749–762, 2010.

95. Ying W. NAD<sup>+</sup> /NADH and NADP<sup>+</sup> /NADPH in cellular functions and cell death: regulation and biological consequences. *Antioxid Redox Signal* 10: 179–206, 2008.
96. Ghosh S, George S, Roy U, Ramachandran D, Kolthur- Seetharam.U. NAD: a master regulator of transcription. *Biochim Biophys Acta* 1799: 681–693, 2010.
97. Yu J, Auwerx J. Protein deacetylation by SIRT1: an emerging key post translational modification in metabolic regulation. *Pharmacol Res* 62: 35–41, 2010.
98. Freedman JE. Oxidative Stress and Platelets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 28: s11–s16, 2008.
99. Krötz F, Sohn H-Y, and Pohl U. Reactive oxygen species: players in the platelet game. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24: 1988–1996, 2004.
100. Krötz F, Sohn HY, Gloe T, Zahler S, Riexinger T, Schiele TM, Becker BF, Theisen K, Klauss V, and Pohl U., NAD(P)H oxidase-dependent platelet superoxide anion release increases platelet recruitment. *Blood* 100: 917–924, 2002.
101. Essex DW. The role of thiols and disulfides in platelet function. *Antioxid Redox Signal* 6: 736–746, 2004.
102. Alexandru N, Popov D, Georgescu A. Intraplatelet oxidative/nitrative stress: inductors, consequences, and control. *Trends Cardiovasc Med* 20: 232–238, 2010.
103. Essex DW. Redox control of platelet function. *Antioxid Redox Signal* 11: 1191–1225, 2009.
104. Armstrong D, al- Awadi F. Lipid peroxidation and retinopathy in streptozotocin-induced diabetes. *Free Radic Biol Med* 1991;11:433-436.
105. Kaser A, Brandacher G, Steurer W, Kaser S, Offner FA, Zoller H, Theurl I, Widder W, Molnar C, Ludwiczek O, Atkins MB, Mier JW, Tilg H. Interleukin-6 stimulates thrombopoiesis through thrombopoietin: role in inflammatory thrombocytosis. *Blood*. 2001 Nov 1;98(9):2720-5.
106. Durmuş A, Mentese A, Yılmaz M, Sumer A, Akalın İ, Topal C, Alver A. Increased oxidative stress in patients with essential thrombocythemia. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 2013;172860-2866.

107. Jin CQ, Dong HX, Cheng PP, Zhou JW, Zheng BY, Liu F. Antioxidant Status and Oxidative Stress in Patients with Chronic ITP. *Scandinavian Journal of Immunology Jun*;77(6):482-7.
108. Polat G, Tamer L, Tanriverdi K, Gurkan E, Baslamisli F, Atik U. Levels of malondialdehyde, glutathione and ascorbic acid in idiopathic thrombocytopaenic purpura. *East Afr Med J* 2002;79:446–9.
109. Clutton P, Miermont A, Freedman JE. Regulation of endogenous reactive oxygen species in platelets can reverse aggregation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004 Jan;24(1):187-92. Epub 2003 Nov 6.
110. Marcus AJ, Silk ST, Safier LB, Ullman HL. Superoxide production and reducing activity in human platelets. *J Clin Invest.* 1977; 59: 149–158.
111. Laskaj R1, Dodig S, Cepelak I, Kuzman I. Superoxide dismutase, copper and zinc concentrations in platelet-rich plasma of pneumoni apatients, *Ann Clin Biochem.* 2009 Mar;46(Pt 2):123-8.
112. Kamhieh-Milz J, Bal G, Sterzer V, Kamhieh-Milz S, Arbach O, Salama A. Reduced antioxidant capacities in platelets from patients with autoimmune thrombocytopenia purpura (ITP), *Platelets.* 2012;23(3):184-94.doi: 10.3109/09537104.2011.610909. Epub 2011 Sep 13.
113. Rodrigo L, Mackness B, Durrington PN, Hernandez A, Mackness MI. Hydrolysis of platelet-activating factor by human serum paraoxonase. *Biochem J* 2001;354(1):1-7.
114. James RW, Deakin SP. The importance of high-density lipoproteins for paraoxonase-1 secretion, stability, and activity. *Free Radic Biol Med* 2004;37:1986-94.
115. Elalfy MS, Elhenawy YI, Deifalla S, Hegazy M, Sabra A, Abdelaziz Y, Oxidant/antioxidant status in children and adolescents with immune thrombocytopenia (ITP) and the role of an adjuvant antioxidant therapy. *Pediatr Blood Cancer.* 2015 May;62(5):830-7. doi: 10.1002/pbc.25434. Epub 2015 Feb 7.
116. Todisco M, Casaccia P, Rossi N. Severe bleeding symptoms in refractory idiopathic thrombocytopenic purpura; a case successfully treated with melatonin. *Am J Ther,* 2003 Mar-Apr;10(2):135-6.

