

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA (TIP) ANABİLİM DALI



**ORAK HÜCRE ANEMİLİ HASTALARDA İLERİ GLİKASYON SON
ÜRÜNLERİNİN (ADVANCED GLYCATION END PRODUCTS)
(AGEs), SERUM DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ VE KRİZ
PATOGENEZİ İLE İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bağdagül EMLİK

Danışman

Doç. Dr. Oğuzhan ÖZCAN

HATAY-2019

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA (TIP) ANABİLİM DALI

**ORAK HÜCRE ANEMİLİ HASTALARDA İLERİ GLİKASYON SON
ÜRÜNLERİNİN (ADVANCED GLYCATION END PRODUCTS)
(AGEs), SERUM DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ VE KRİZ
PATOGENEZİ İLE İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Bağdagül EMLİK

Danışman

Doç. Dr. Oğuzhan ÖZCAN

Bu tez, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
18YL021 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

HATAY-2019

TEŞEKKÜR

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki Yüksek Lisans eğitimim boyunca bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici olan saygı değer hocam, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Abdullah ARPACI'ya teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans eğitimime başladığım günden bu yana bilimsel ve sosyal anlamda bana destek olan, tez çalışmasının her aşamasında değerli katkı ve eleştirileri ile yol gösteren, büyük bir sabırla beni motive eden ve sağladığı destekle hayatıma kattığı önemi asla unutmayacağım danışmanım Doç. Dr. Oğuzhan ÖZCAN'a sonsuz teşekkür ederim.

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Hematoloji Bölümü, Doç. Dr. Gül İLHAN'a numune toplama çalışması ve bilimsel katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında maddi ve manevi olarak desteklerini esirgemeyen, her koşulda bana saygı ve güven duyan aileme, özellikle bugüne kadar ki bütün başarılarımın en büyük destekçisi olan annem Hatice ve babam Mustafa EMLİK'e çok teşekkür ederim.

Bağdagül EMLİK

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
TEŞEKKÜR.....	III
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
ÇİZELGELER DİZİNİ	VIII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	IX
ÖZET	XII
ABSTRACT.....	XIII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Orak Hücre Anemisi	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Prevelans ve Coğrafi Dağılım	3
2.1.3. Patofizyolojisi	4
2.1.4. Klinik Bulgular	5
2.1.5. Tanı	10
2.1.6. Tedavi.....	11
2.2. Serbest Radikaller Tanımı, Oluşum Şekilleri ve Sınıflandırılması.....	12
2.2.1. Reaktif Oksijen Türleri	13
2.3. Oksidatif Stres Tanımı ve Hücrel Yapılar Üzerine Etkisi	15
2.3.1. Oksidatif Stresin Proteinler Üzerine Etkisi	15
2.3.2. Oksidatif Stresin DNA Üzerine Etkisi	16
2.3.3. Oksidatif Stresin Membran Lipitleri Üzerine Etkisi	17
2.3.4. Oksidatif Stresin Karbonhidratlar Üzerine Etkisi	18

2.4. Oksidatif Stres ve Orak Hücre Anemisi.....	18
2.5. Antioksidanlar	19
2.5.1.Endojen Antioksidanlar.....	19
2.5.2. Eksojen Antioksidanlar	21
2.6. İleri Glikasyon Son Ürünleri (AGEs)	21
2.6.1. AGE'lerin Oluşum Mekanizması.....	22
2.6.2. AGE Etki Mekanizması	24
2.6.3. AGE Reseptörleri.....	24
2.6.4 AGE Oluşumunu İnhibe Eden Maddeler	27
3. GEREÇ ve YÖNTEM	29
3.1. Araştırma Yöntemi.....	29
3.2. Numunelerin Toplanması ve Hazırlanması.....	29
3.3. Kullanılan Kimyasal Malzeme ve Cihazlar	29
3.4. Biyokimyasal Analizler.....	30
3.4.1. Malondialdehid Miktarının Spektrofotometrik Ölçümü	30
3.4.2. İleri Oksidasyon Protein Ürünleri Spektrofotometrik Ölçümü.....	32
3.4.3.Total Antioksidan Status ve Total Oksidan Status Spektrofotometrik Ölçümü	33
3.4.4. Rutin Biyokimyasal Analizler.....	34
3.5. TNF-Alfa, IL-6, AGE, sRAGE Düzeylerinin Elisa Yöntemi ile Ölçümü	34
3.5.1. TNF-Alfa Tayini:	34
3.5.2. IL-6 Tayini:	34
3.5.3. AGE Tayini	35
3.5.4. SRAGE Tayini	35
3.6. İstatiksel Analiz.....	35
4. BULGULAR.....	37

4.1. Grupların Yaş Dağılımı.....	37
4.2.MDA Standart Grafiği ve Grupların Serum MDA Düzeylerinin Karşılaştırılması	37
4.3.AOPP Standart Grafiği ve Grupların Serum AOPP Miktarlarının Karşılaştırılması	38
4.4.Grupların Serum TAS-TOS Konsantrasyonları, OSİ Değerleri ve Karşılaştırılması	39
4.5. Grupların Serum TNF- α ve IL-6 Düzeyleri ve Karşılaştırılması.....	42
4.6. Grupların Serum AGE Düzeyleri ve Karşılaştırılması	44
4.7. Grupların Serum sRAGE Düzeyleri ve Karşılaştırılması	45
4.8. Grupların Albümin Miktarı ve Karşılaştırılması.....	46
4.9. Grupların Serum Glukoz ve Total Protein Miktarları	47
5. TARTIŞMA	49
6. SONUÇ.....	55
7. KAYNAKLAR	56
ÖZGEÇMİŞ	62

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Hemoglobin S'in coğrafi dağılımı.....	4
Şekil 2.2. Hemoglobin S molekülündeki baz değişimi.....	4
Şekil 2.3. Orak hücre anemili bir çocukta ağrılı şişmiş parmaklar.....	6
Şekil 2.4. Malondialdehit yapısı.....	18
Şekil 2.5. Proteinlerin glikasyonu ve AGE oluşumu.....	23
Şekil 2.6. Karbonil bileşikler ve AGE oluşumu.....	23
Şekil 2.7. RAGE sinyal iletim yolları.....	26
Şekil 2.8. RAGE izoformları.....	27
Şekil 3.1. MDA'nın TBA ile reaksiyonu ve oluşan renkli MDA-TBA kompleksinin yapısı.....	31
Şekil 4.1. MDA Standart grafiği.....	37
Şekil 4.2. Grupların serum MDA miktarlarının karşılaştırılması.....	38
Şekil 4.3. AOPP Standart grafiği.....	38
Şekil 4.4. Grupların serum AOPP miktarlarının karşılaştırılması.....	39
Şekil 4.5. Grupların serum TAS konsantrasyonu karşılaştırılması.....	40
Şekil 4.6. Grupların serum TOS konsantrasyonu karşılaştırılması.....	41
Şekil 4.7. Grupların serum OSİ değeri karşılaştırılması.....	42
Şekil 4.8. Grupların serum TNF- α düzeylerinin karşılaştırılması.....	43
Şekil 4.9. Grupların serum IL-6 düzeylerinin karşılaştırılması.....	44
Şekil 4.10. Grupların serum AGE düzeylerinin karşılaştırılması.....	45
Şekil 4.11. Grupların serum sRAGE düzeylerinin karşılaştırılması.....	46
Şekil 4.12. Grupların serum Albumin miktarı karşılaştırılması.....	47
Şekil 4.13. TNF- α -IL-6 korelasyon analizi.....	48

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Reaktif oksijen türleri.....	13
Çizelge 2.2. Nonenzimatik antioksidanlar.....	21
Çizelge 2.3. RAGE ligandları ve klinik önemi.....	25
Çizelge 3.1. Kullanılan kimyasal malzemeler.....	30
Çizelge 3.2. MDA stok standart çözeltisinden farklı konsantrasyonlarda çözelti hazırlama.....	32
Çizelge 3.3. AOPP standartları.....	33
Çizelge 4.1. Grupların yaş dağılımı.....	37
Çizelge 4.2. Grupların serum MDA miktarları.....	37
Çizelge 4.3. Grupların serum AOPP düzeyi.....	39
Çizelge 4.4. Grupların serum TAS konsantrasyonu.....	40
Çizelge 4.5. Grupların serum TOS konsantrasyonu.....	40
Çizelge 4.6. Grupların serum OSI değeri.....	41
Çizelge 4.7. Grupların serum TNF- α düzeyi.....	42
Çizelge 4.8. Grupların serum IL-6 düzeyi.....	43
Çizelge 4.9. Grupların serum AGE düzeyi.....	44
Çizelge 4.10. Grupların serum sRAGE düzeyi.....	45
Çizelge 4.11. Grupların serum Albumin miktarı.....	46
Çizelge 4.12. Grupların serum Glukoz miktarı.....	47
Çizelge 4.13. Grupların serum Total Protein miktarı.....	47

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

- ACS:** Akut göğüs sendromu
- AFGP:** Alkil formil glikozil pirol
- AGEs:** İleri glikasyon son ürünleri
- ALI:** Arginin lizin imidazol
- AOPP:** İleri oksidasyon son ürünleri
- AU:** Arbitrary unit
- CAR:** Kimerik antijen reseptörü
- CAT:** Katalaz
- CEL:** N-karboksietil lizin
- CML:** N-karboksimetil lizin
- ELİSA:** Enzim bağlı immunosorbent test
- ECM:** Ekstraselüler matriks
- EC SOD:** Ekstrasellüler süperoksit dismutaz
- HU:** Hidroksiüre
- HOCl:** Hipokloröz asit
- HPLC:** Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
- H₂O₂:** Hidrojen peroksit
- IL-6:** İnterlökin-6
- GOLD:** Glioksalizin dimer
- GPx:** Glutatyon peroksidaz

GR: Glutatyon redüktaz

GST: Glutatyon S-transferaz

KI: Potasyum iyodür

MCV: Ortalama eritrosit hacmi

MCHC: Ortalama hemoglobin yoğunluğu miktarı

MDA: Malondialdehit

Mit-STO: Mitokondriyal sitokrom oksidaz

Mn: Mangan

MOLD: Metilglioksal lizin dimer

NO: Nitrik oksit

NOS: Nitrik oksit sentaz

NSAİİ: Nonsteroid antiinflamatuvar ilaç

OHA: Orak hücre anemisi

OHH: Orak hücre hastalığı

OSİ: Oksidatif stres indeksi

PBS: Fosfat tampon salin

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu

PRBC: Paketlenmiş kırmızı kan hücreleri

RAGE: İleri glikasyon son ürünü reseptör

RDW: Kırmızı hücre dağılım genişliği

RNA: Ribonükleik asit

ROS: Reaktif oksijen türleri

Se-GPX: Selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz

SOD: Süperoksit dismutaz

sRAGE: İleri glikasyon son ürünleri çözünebilir reseptör

TAS: Total antioksidan status

TBA: Tiyobarbitürik asit

TCA: Trikloroasetik asit

TGF: Dönüştürücü büyüme faktörü

TNF- α : Tümör nekroz faktör alfa

TOS: Total oksidan status

UGT: Üridin difosfoglükuronozil transferaz

VOC: Vazooklüzif kriz

ÖZET

Orak Hücre Anemili Hastalarda İleri Glikasyon Son Ürünlerinin (Advanced Glycation end Products) (AGEs) Serum Düzeylerinin Belirlenmesi ve Kriz Patogenezi İle İlişkisinin İncelenmesi

Orak hücre anemisi (OHA) dünyada en sık görülen hemoglobinopatilerden biridir. Orak hemoglobin, β -globin zincirinin altıncı amino asit pozisyonunda glutamik asit yerine valin geçmesi sonucunda oluşur. Oksidatif stres, OHA'nın önemli bir özelliğidir ve orak hücre anemi hastalarında hemoliz patofizyolojisi, vazooklüzyon ve organ hasarı oluşumunda önemli bir rol oynar. İleri glikasyon son ürünleri (AGEs) hücre içindeki protein yapıların ve karbohidratların Maillard reaksiyonu ile non-enzimatik olarak oluşurlar. OHA hastalarında hücre içinde artan reaktif oksijen türleri (ROS) dokularda AGE'lerin aşırı miktarda üretimi ve birikimine neden olur. Biz bu çalışmada orak hücre anemili yetişkin hastalarda krizli ve krizsiz dönemlerde serum AGE düzeylerinin belirlenmesi, kriz patogenezindeki olası rollerini ve diğer oksidatif stres parametreleri (MDA, AOPP, TAS ve TOS, TNF- α ve IL-6) ile ilişkilerinin araştırılmasını amaçladık.

Bu amaçla 30 adet krizli, 30 adet krizsiz orak hücre anemi hastaları ve 30 adet sağlıklı kontrol grubu çalışmaya dahil edildi. Hastalardan başvuru sırasında biyokimya tüpüne açlık kan örnekleri alındı. Örnekler santrifüj edilerek süpernatantları ayrıldı ve -80° C'de saklandı. Serum MDA, AOPP, TAS ve TOS düzeyleri spektrofotometrik olarak ve IL-6, TNF- α , AGE ve sRAGE düzeyleri ise ELİSA yöntemi ile ölçülmüştür. Veriler istatistiksel olarak analiz edildi ve tartışıldı.

OHA hastalarında hem krizli hemde krizsiz orak hücre anemi grubunda serum MDA, AGE ve IL-6 parametreleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek iken, sRAGE düzeyi düşük bulundu ($p < 0,016$). Bunun dışında krizli orak hücre anemi grubunda serum TNF- α , MDA, TOS degerleri ile hesaplanmış OSİ değerleri hem kontrol grubu hem de krizsiz orak hücre anemi grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0,016$). Ek olarak TAS parametresi krizli orak hücre anemi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek iken, AOPP düzeyi ise krizsiz orak hücre anemi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0,016$). Ayrıca TOS'un TAS ($r = 0,291$, $p = 0,032$) ve OSİ ($r = 0,833$, $p < 0,001$) ile ve TNF- α 'nın IL-6 ($r = 0,325$, $p = 0,011$) ile arasında zayıf pozitif korelasyon mevcuttu.

Buna göre sistemik oksidasyon ve inflamasyon belirteçleri yanında AGE ve sRAGE düzeylerinin orak hücre anemisinde hastalık patogenezi ile ilişkili olduğunu ve orak hücre anemisi olan hastalarda bir biyomarker olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelime: Orak hücre anemisi, oksidatif stres, ileri glikasyon son ürünleri

ABSTRACT

Determination of Serum Levels of Advanced Glycation End Products (AGEs) in Patients with Sickle Cell Anemia and Investigation of Relationship with Crisis Pathogenesis

Sickle cell anemia (SCA) is one of the most common hemoglobinopathies in the world. Sickle hemoglobin results from a substitution of glutamic acid to valine at the sixth amino acid position of the β -globin chain. Oxidative stress is an important feature of SCA and plays an important role in the pathophysiology of hemolysis, vaso-occlusion and organ damage in sickle cell anemia patients. Advanced glycation end products (AGEs) are the result of non-enzymatic reaction of protein structures and carbohydrates in the cell with Maillard reaction. Increased reactive oxygen species (ROS) within the cell in patients with SCA causes excessive production and accumulation of AGEs in tissues. In this study, we aimed to determine the serum levels of AGE in adult patients with sickle cell anemia. We also aimed to determine the possible role of AGE in crisis pathogenesis and their relationship with other oxidative stress parameters (MDA, AOPP, TAS, TOS, TNF- α and IL-6).

For this purpose, 30 patients with crisis, 30 sickle cell anemia without crisis and 30 healthy controls were included in the study. Fasting blood samples were taken from the patients to the biochemistry tube. After centrifugation the supernatants were separated and stored at -80°C . Serum MDA, AOPP, TAS ve TOS levels were measured spectrophotometrically, IL-6, TNF- α , AGE and sRAGE levels were measured by ELISA. The data were analyzed statistically and discussed.

As a result, the serum MDA, AGE and IL-6 parameters were significantly higher in patients with SCA than in the control group, but the sRAGE level was found to be lower ($p<0,016$) in SCA patients. In addition, serum TNF- α , MDA, TOS levels and calculated OSI values were significantly higher in the sickle cell patient with crisis group than patients without crisis and the control group ($p<0,016$). In addition, serum TAS levels were found to be significantly higher in SCA with crisis compared to the control group. Serum AOPP levels were found to be significantly higher in SCA patients without crisis than the control group ($p<0,016$). In addition, there was a low positive correlation between TOS with TAS ($r=0,291$, $p=0,032$) and OSI ($r=0,833$, $p<0,001$) and TNF- α with IL-6 levels ($r=0,325$, $p=0,011$).

In conclusion, together with systemic oxidative and inflammatory parameters serum AGE levels are higher and sRAGE levels are lower in patients with SCA. There is a relationship between these parameters and SCA pathogenesis. Therefore both of them can be used as biochemical markers in patients with SCA.

Key words: Sickle cell anemia, oxidative stress, advanced glycation end products

1. GİRİŞ

Orak hücre anemi (OHA), dünya nüfusunun yaklaşık % 5'ini etkileyen kalıtsal bir kan hastalığıdır. Bu hastalık beta globin zincirinin altıncı aminoasit pozisyonunda glutamik asitin valin ile yer değiştirmesine neden olan tek bir nokta mutasyonundan kaynaklanan bir hemoglobinopati sınıfıdır (Queiroz ve Lima 2013). Bu mutasyon normal HbA yapısını bozarak anormal hemoglobin (HbS) üretimine yol açar (Chirico ve Pialoux 211).

Orak hücre anemi patogenezi, deoksijenlenmiş HbS'nin polimerizasyonundan kaynaklanır (Stuart ve Nagel 2004). Bu polimer oluşumu normal bikonkav disk şeklini sert, düzensiz şekilli, dengesiz bir hücreye dönüştürür ve böylece intravasküler hemolizin hemoglobini plazmaya salmasına neden olur. Tekrarlanan bu polimerizasyon kan hücresi adezyonu, vazo-oklüzyon ve iskemi-reperfüzyon hasarına neden olur (Belcher ve ark. 2010).

Oksidatif stres, oksidanlar ve antioksidanlar arasında artan oksidan üretimi veya azaltılmış antioksidanlara bağlı olarak oluşan dengesizliğin sonucudur (Jeney ve ark. 2002, Kato ve ark. 2009). Reaktif oksijen türleri (ROS) bir terminal elektron alıcısı (oksidan) olarak oksijen gerektiren hücre içi katabolizmanın bir sonucu olarak üretilir (Halliwell ve Gutteridge 1984). Orak hücre anemide oksidatif stres artar ve orak hücre anemi ile ilişkili mikrovasküler disfonksiyonun patofizyolojisi, vazo-oklüzyon ve organ hasarı gelişiminde önemli bir rol oynayabilir (Aslan ve ark. 2001, Morris ve ark. 2008). Orak hücre anemideki yüksek reaktif oksijen türlerinin üretim hızı, invaziv olmayan hemoliz, iskemi-reperfüzyon hasarı ve kronik inflamasyon gibi faktörlerden kaynaklanır (Hebbel ve ark.1988, Akohoue ve ark. 2007).

Orak hücre anemide artmış olan ileri glikasyon son ürünleri (AGEs), Maillard reaksiyonundaki proteinlerin, lipidlerin ve nükleik asitlerin enzimatik olmayan glikasyonu ve oksidasyonu ile üretilir ve bunların üretimi oksidatif stres ile güçlü şekilde ilişkilidir (Ahmed 2005). AGE'lerin organ hasarına ve hastalık şiddetine katkıda bulunabilecek çeşitli patolojik mekanizmalarla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Goldin ve ark. 2006). AGE'lerin endotel hücreleri ve makrofajlar dahil olmak üzere farklı hücrelerde eksprese edilen ileri glikasyon son ürünü reseptörü (RAGE) ile etkileşimi, pro-enflamatuar

sitokinler, oksidanların üretimi ve ekspresyonunu artırır (Brett ve ark. 1993, Pertynska-Marczewska ve ark. 2004).

Çözünür RAGE formları (sRAGE) dolaşımında bulunur. sRAGE, RAGE'nin sitozolik ve transmembran alanları olmayan ekstrasellüler alana karşılık gelir (Safwat ve Kenny 2018). N-terminali 'V' tipi alan dahil edildiğinden, sRAGE, RAGE ile aynı ligand bağlama özgünlüğüne sahiptir ve pro-enflamatuar ligandları bağlayarak bunların membran RAGE'ye ulaşmasını önleyici etki gösterir (Lefebvre ve ark. 2009).

Birçok çalışmada orak hücre anemi hastalarında oksidatif stres ve enflamasyon belirteçleri araştırılmıştır ancak orak hücre anemili yetişkin hastalarda krizli ve krizsiz dönemlerde oksidatif stres ve enflamasyon belirteçleri ile ileri glikasyon son ürünü olan AGE ve onun reseptörü sRAGE'yi birlikte ele alan bir çalışma mevcut değildir.

Bu çalışmada yetişkin orak hücre anemili krizli ve krizsiz hastalar ile sağlıklı kontrollerden alınan kan örneklerinde oksidatif stres ve enflamasyon ile ileri glikasyon son ürünleri (AGEs) ve reseptörü (sRAGE)'nin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla sistemik oksidatif stres belirteci olarak serum MDA, AOPP, TAS, TOS ve OSİ parametleri, enflamasyon belirteci olarak TNF- α ve IL-6, ileri glikasyon son ürünleri olarak da AGE ve reseptörü sRAGE ölçülerek karşılaştırılmıştır. Bu çalışma ile orak hücre anemi hastalarında AGE'nin kriz patogenezindeki olası rolleri aydınlatılmak istenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Orak Hücre Anemisi

2.1.1. Tanım

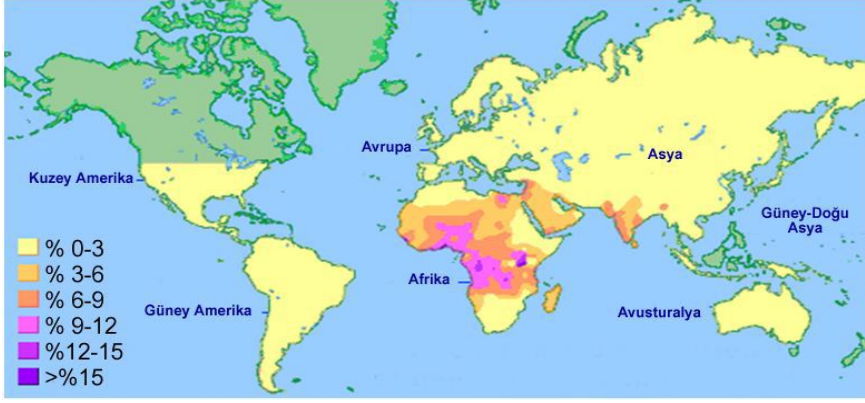
Orak hücre anemisi ya da diğer adıyla orak hücre hastalığı (OHH) dünyadaki en yaygın hemotolojik bozukluklardan biri olup sadece eritronda ifade edilen tek bir gen içerisinde nokta mutasyonuna neden olan kalıtsal bir kan hastalığıdır (Hermann ve ark. 2016, Rees ve ark. 2011).

İlk olarak Herrick tarafından 1910 yılında pulmoner semptomlarla başvuru yapan bir diş hekimliği öğrencisinde görülmüş ve Herrick, bu hastanın eritrositlerinin kendine özgü görünümünü tanımlamak için “orak şekilli” terimini ortaya koymuştur (Frenette ve Atweh 2007).

2.1.2. Prevelans ve Coğrafi Dağılım

Orak hücre hastalığının “Plasmodium falciparum” enfeksiyonundan korunmak için bir mutasyon olarak ortaya çıktığı düşünülmekte olup orak hemoglobinopatilerin dünya üzerindeki dağılımını malaryaya karşı sağladığı direnç ve sonradan yaşanan göçler etkilemektedir.

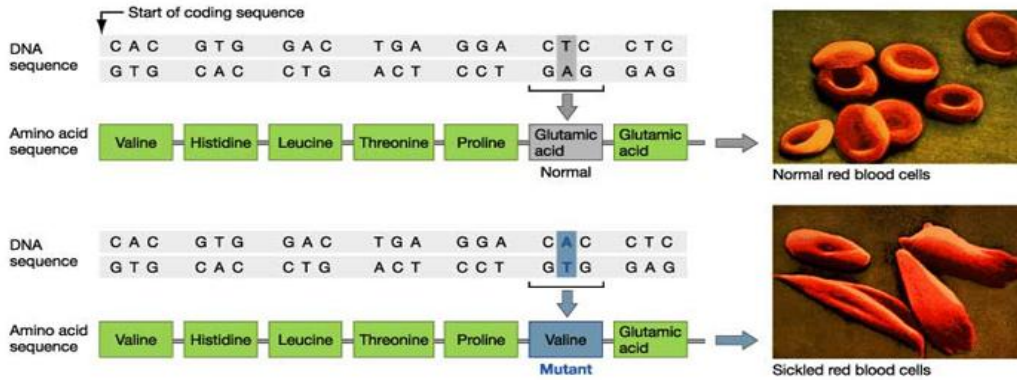
En çok Sahra-altı Afrika bölgesinde görülmekle birlikte ülkemizde içinde yer aldığı Akdeniz bölgesi, Amerika, Hindistan ve Arap Yarımadası'nda da oldukça yaygındır (Driscoll 2007). Hemoglobinopatiler ile ilgili ülkemizde yapılan ilk çalışma 1950’li yıllarda, M. Aksoy tarafından Çukurova bölgesinde yaşayan Eti Türklerinde yapılmıştır (Söylemez-Gökyer ve Kayaaltı 2016). OHA hasta sayısı Türkiye genelinde yaklaşık 1200 kişi civarında olup, HbS sıklık oranı ise % 0,03’tür. Bu oran bölgeden bölgeye değişiklik göstermekle birlikte OHA’nın en sık yoğunlaştığı yer ülkemizin güneyinde bulunan Çukurova bölgesidir ve orak hücre sıklığı % 10’dur. Hatay’da ise bu oran % 8’dir (Arcasoy 2003, Söylemez-Gökyer ve Kayaaltı 2016).



Şekil 2.1. Hemoglobin S'in coğrafi dağılımı (<http://www.unc.edu/cell/files/extensions/mystery/mystery.html#RedBloodCellsandHemoglobin>)

2.1.3. Patofizyolojisi

Orak hücre anemisi, 11. kromozom üzerinde bulunan beta globin genindeki bir nokta mutasyonuyla üretilen tek gen bozukluğudur. Bu mutasyon 6. aminoasit pozisyonundaki glutamik asitin valinle yer değiştirmesine ve normal HbA'nın yapısını bozarak mutant HbS oluşumuna neden olur (Gizi ve ark. 2011).



Şekil 2.2. Hemoglobin S molekülündeki baz değişimi (https://tyrosine.umdj.edu/wiki/index.php/Beta_Hemoglobin_and_Disease)

Otozomal resesif geçiş gösteren bu hastalıkta orak hücre mutasyonu homozigot ve heterozigot durumda olabilir. Orak hücre hastalığı, hemoglobin (Hb) varyantları olan SS, SC, S-beta talasemi, SO Arab, SD ve diğer nadir S-Hb genotiplerini içerir. En yaygın ve şiddetli form ise patolojik orak hemoglobin tetramerin ($\alpha_2 \beta S_2$, HbS) oluşumuna izin veren her iki ebeveynin de βS kalıtımına sahip olduğu homozigot durumdaki HbSS (orak hücre anemisi)'dir (Hussain ve ark. 2011, Driscoll 2007).

İki α -globin alt birimi ve iki mutant β -globin alt biriminin birleşmesiyle oluşan HbS'in polimerizasyonu oldukça dinamik bir olaydır. SS kırmızı hücreleri kısmen oksijensiz hale getirildiğinde, deoksijene hemoglobin S molekülleri polimerizasyona neden olur. Bu polimerizasyon eritrositlerin orak şekline dönüştürülmesi, liflerin büyümesi ve hizalanmasıyla sonuçlanır. Düşük oksijenli ortamlarda, elastik olmayan anormal bir şekle sahip olan eritrositler normal oksijen basıncı yeniden oluşturulduğunda eski şekillerine dönemezler. Dolayısıyla bozulmuş RBC'ler dar kılcal kan damarlarından geçemez ve damarların tıkanmasına neden olur. Bu olay ise orak hücre hastalığına sahip birçok insanda ağrılı krizlere neden olur (Mansour ve ark. 2015, Gizi ve ark. 2011).

2.1.4. Klinik Bulgular

Orak hücre anemisi, dokularda iskemiye yol açan vazooklüzif krizler ve şiddetli hemolitik anemiyle kendini gösterir (Hoffbrand ve ark. 2011). HbS'li çocuklar doğumda anemili değildirler ve yaşamlarının ilk haftalarında eritrositlerdeki yüksek fetal hemoglobin (HbF) düzeyi ile korunurlar. OHA'nin klinik bulguları HbF seviyesinin azalmasıyla, hematolojik bulguları ise 10-12 hafta ve bir yaş arasında ortaya çıkar (McMahon 2006, Kaushansky ve ark. 2006). Hastaların ortalama hemoglobin seviyeleri 6-8 g/dl arasında olmasına rağmen, düşük hemoglobin seviyesi iyi tolere edilir. Orak hücre hastalarında artmış adezyon ve vasküler endotelial hasar nedeniyle dolaşımda artan nötrofillere bağlı olarak lökositoz görülebilir. Kriz dışı stabil dönemde ortalama lökosit sayısı 12.000-15.000/mm³ olup 6.000 ile 20.000/mm³ aralığında bildirilmiştir (Çiftçi-Kocaçya 2015). Klinik bulgular orak hücre krizleri ile akut ve kronik komplikasyonlara bağlı olarak ortaya çıkar (McMahon 2006).

2.1.4.1. Akut Komplikasyonlar

2.1.4.1.1. Vazooklüzif Kriz

Vazooklüzif (ağrılı) krizler (VOC), orak hücre hastalığının en yaygın olan komplikasyonudur. Akut ağrının patofizyolojik ana sebebi olan mikrovasküler tıkanıklık iskemi ve hipoksiye yol açarak doku ve damarlarda iltihaplanmaya neden olur, iltihaplı mediatörler serbest kalır ve nosiseptörleri aktive eder. Reperfüzyon ise inflamasyonu ve sonuçta ortaya çıkan ağrıyı yoğunlaştırır. Aktive endotelial hücreler tarafından üretilen

tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) ve interlökin-6 (IL-6) gibi inflamatuvar sitokinler, vazooklüzyon'da önemli bir rol oynarlar (Mansour ve ark. 2015).

TNF- α , endotelial hücre ve lökositlerin aktivasyonu, makrofajların uyarılması, inflamatuvar hücrelerin alınması ve kemotaksisinde rol oynayan çok çeşitli özelliklere sahip bir sitokindir. TNF- α , adezyon moleküllerinin endotelial hücreleri tarafından ekspresyonu uyarır ve akut faz proteinlerinin sentezinde rol oynar. (Lutty ve ark. 2001, Laurentino ve ark. 2014).

IL-6, pleiotroik aktiviteye sahip bir sitokindir. Hepatositlerde CRP, serum amiloid A, fibrinojen ve hepsidin gibi akut faz proteinlerinin sentezini indükler. Albümin üretimini ise inhibe eder. IL-6 ayrıca antikor üretiminin ve efektör T-hücresi gelişiminin uyarılmasıyla edinilmiş bağışıklık sistemi üzerinde önemli bir rol oynar (Tanaka ve ark. 2014).

Hastalar, vücudun herhangi bir yerinde şiddetli zayıflatıcı ağrıdan şikayet ederler, ancak tipik olarak ağrı uzun kemiklerde, göğüs, sırt, pelvis ve karındadır. En ciddi vazooklüzif kriz, tüm hastaların % 7'sinde inmeye neden olan beyin veya omuriliktedir. Semptomlar, altı aya kadar erken dönemde ellerde, ayaklarda ağrı ve şişlik ile başlayabilir (Sedrak ve Kondamudi 2018, Mansour ve ark. 2015).



Şekil 2.3. Orak hücre anemili bir çocukta ağrılı şişmiş parmaklar (Mansour ve ark. 2015)

2.1.4.1.2. Akut Göğüs Sendromu

Ateş, göğüs ağrısı, öksürük, nefes darlığı, taşipne, solunum yetmezliği gibi semptomlarla karakterize olan akut göğüs sendromu (ACS) orak hücre anemi hastalarının yaklaşık % 40'ını etkilemektedir (Steinberg 2004, Lonergan ve ark. 2001). Vazooklüzif krizden sonra hastaneye yatışların en sık sebebi ve ölüme neden olan en yaygın ikinci komplikasyondur (Çiftçi-Kokaçya 2015). Enfeksiyon, özellikle komünite pnömonisi,

oraklaşma, yağ-kemik iliği embolisi ve pulmoner emboli akut göğüs sendromunun etiyolojileri arasında yer almaktadır. Yaş, cinsiyet, gebelik, aseptik nekroz, analjezikler, akut anemiye yol açan olaylar, soğuk hava, genotip, yüksek beyaz küre sayısı ve hemoglobin düzeyinin yüksek olması akut göğüs sendromu için risk faktörleridir (Ballas 2000).

2.1.4.1.3. Serebravasküler Olaylar

Orak hücre hastalarının % 25'inde görülen nörolojik komplikasyonlar, HbSC hastalığı, S- β talasemi gibi diğer orak hücre sendromlarına göre orak hücre anemisinde daha yaygındır (Powars ve ark. 1978). Çocuklarda serebral enfarktüs daha sık görülürken, yetişkinlerde intraserebral hemoraji daha sık görülmektedir. Çocuklarda inme risk faktörleri arasında bakteriyel menenjit, aile öyküsü, şiddetli akut göğüs sendromu, akut anemik epizodlar, tekrarlayan nöbet atakları, bozulmuş bilişsel beceriler, α -gen delesyon eksikliği ve CAR β s-haplotipi yer alır (Powars 2000, Adams ve ark. 1992).

2.1.4.1.4. Splenik Sekestrasyon Krizi

Orak hücre hastalarında ölüm nedenlerinden biri olan akut splenik sekestrasyon krizleri hemoglobin ve hemotokrit düzeylerindeki ani düşüş ve çok miktarda kanın dalakta toplanmasıyla karakterizedir. Bu kriz genellikle küçük çocuklarda, ciddi enfeksiyonlarla birlikte görülmektedir. Yetişkinlerde ise tekrarlanan atak dönemlerinde dalak atrofik hale gelir ve buna bağlı olarak karaciğerde sekestrasyon meydana gelebilir. Bu da şiddetli karın ağrısı, karaciğerin hızlı büyümesi ve hemoglobin konsantrasyonunda düşüşe neden olur (Brozovic ve Davies 1987).

2.1.4.1.5. Aplastik Kriz

Aplastik kriz, kemik iliğindeki olgunlaşmamış kan hücrelerinin parvovirüs B19 ile enfeksiyonundan kaynaklanır (Okpala 2004). Bu kriz doğrudan eritropoezi etkiler. Hastalık durumunda retikülosit sayımları düşer ve kırmızı hücrelerin hızlı devirleri hemoglobin düşüşüne neden olur (Alagbe ve ark. 2013).

2.1.4.1.6. Priapizm

Priapizm, penisin istenmeyen ağrılı ve sürekli ereksiyonu olarak tanımlanmaktadır. İskemik priapizm, tekrarlayan priapizm ve noniskemik priapizm olmak üzere üç tip priapizm vardır. İskemik ve tekrarlayan priapizmler OHA'de görülen tiplerdir. % 50 oranında tekrarlama olasılığı vardır. Priapizmde korpus kavernosum oraklaşan hücrelerle tıkanmış, glans penis ve korpus spongiosum ise korunmuştur (Akinbami ve ark. 2018, Çiftçi-Kokaçya 2015).

2.1.4.2. Kronik Komplikasyonlar

2.1.4.2.1. Büyüme ve Gelişme

OHA'li çocukların doğumda kilo ve boyları normal iken 2 yaşından sonra büyüme geriliği görülmektedir. Büyümedeki bu gerilik cinsiyet farkı gözetmeksizin boydan çok kiloyu etkilemektedir. Gelişme geriliği ve puberte gecikmesi OHA'deki sık bulgulardandır. Erişkin dönemde boy normale yakın iken kilo bakımından geri kalırlar (Çiftçi-Kokaçya 2015).

2.1.4.2.2. Kardiyovasküler Sistem

Orak hücre hastalığı, dilate kardiyomiyopati, ventriküler hipertrofi, kardiyak aşırı demir yükü, disritmiler, pulmoner hipertansiyon, miyokard enfarktüsü ve ani ölüm gibi kardiyak anormallikler ile ilişkilidir (Adewoyin 2014). Pulmoner hipertansiyon (PHTN) orak hücre hastalığına sahip yetişkin hastaların, özellikle de homozigot genotipe sahip olanların yaklaşık % 10'unu etkiler. Orak hücre hastalığı ile ilişkili pulmoner hipertansiyon hastalarının yaklaşık yarısı, prekapiller pulmoner hipertansiyona sahiptir (Gordeuk ve ark. 2016).

2.1.4.2.3. Genitoüriner Sistem

Orak hücre anemisi, hipostenüriden son dönem böbrek yetmezliğine kadar uzanan birçok renal komplikasyonları içerir. Renal medullada hipoksik, asidik ve hipertonic ortam, vasa recta da RBC'nin oraklaşmasına neden olur ve böbrek medulla, hipostenüri ve hematüri enfarktüsüne yol açar (Ballas 2002). OHA'de en sık görülen renal anomali hipostenüridir ve yaşla birlikte ilerler.

Hipostenüri serbest suyun zorunlu kaybıyla sonuçlanır ve yeterli sıvı alımı sağlanamadığında kanın ozmolalitesini artırır (Diggs 1984). Papiller nekroz makroskopik veya mikroskopik hematüri oluşumuna neden olur ve böbreğin yoğunlaştırma yeteneğinin bozulmasına yol açar. Hematüri orak hücre hastalarının % 3 ile % 4'ünde ve erkeklerde daha sık görülür. Genellikle tek taraflı olup, hastaların % 80'inde sol böbrek kaynaklıdır (Sheinman 2009).

2.1.4.2.4. Hemotobiliyer ve Gastrointestinal Sistem

Orak hücre hastalarında kronik hiperbilirubinemi, kolelitiazis ve safra kesesi hastalığı yaygındır. Hastaların en az üçte ikisinde hepatomegali ve % 75'inde ise kolelitiazis vardır. Kolelitiazisi olan hastaların yaklaşık % 90'ı, profilaktik olarak veya bir akut calculus kolesistit atağından sonra kolesistektomiye maruz kalır (Haber Kern ve ark. 1997). Hiperbilirubinemiye yönelik genetik bir temel, bilirubin glukuronizasyonunu katalize eden enzim olan UDP-glukoronil transferaz 1 (UGT 1A) mutasyonlarına aittir (Passon ve ark. 2001). Orak hücre aneminin karaciğere olan etkileri arasında proksimal sinüzoidal dilatasyonlu intrasinüzoidal hastalıklar, eritrofagositozlu Kupffer hücre hiperplazisi ve hemosideroz yer almaktadır (Malowany ve Butany 2012).

2.1.4.2.5. Kemik ve Eklem Hastalığı

Orak hücre anemide ortopedik problemler bebeklik döneminde başlar. Kemik ve eklemler genellikle vazooklüzif epizodların yeridir. Kronik enfarktüsler ortaya çıkabilir ve omurga anormallikleri orak hücre hastalığının karakteristiğidir. Kemik iliği hiperplazisi, büyüme bozukluklarına ve osteopeniye neden olabilir. Avasküler nekroz en çok femur başı, humerus başı ve vertebralarda görülür ve ağırlık taşıyan eklemlerde kronik ağrıya neden olur (Claster ve Vichinsky 2003).

2.1.4.2.6. Bacak Ülseri

Bacak ülserleri deri altı yağ, ince deri ve azalmış kan akışı olan, özellikle de ayak bileklerinin medial veya lateral yüzeylerindeki ülserlerdir. Travma, enfeksiyon ve inflamasyonun tümü, orak hücre anemide alt ekstremitte ülserasyonlarının potansiyel nedenleri olarak öne sürülmüştür. Orta veya büyük şiddetli olabilirler. Önem derecesi

derinlik veya süreye bağlı olabilir. Bacak ülserleri ağırlıdır ve aylar, yıllar boyunca yavaş yavaş iyileşme eğilimi gösterirler (Minniti ve ark 2010).

2.1.4.2.7. Göz

Göz komplikasyonları orak hücre anemide yaygındır ve çoğunlukla retinayı etkilemektedir. Vazooklüzif krizlerin bir sonucu olarak, periferik retinal iskemi meydana gelir. Yeni kan damarları proliferatif orak retinopatisi olarak bilinen arteriyovenöz geçitlere daha yakındır. Bu yeni damarlar kolayca kanama yapabilir. Kanama ise retina dekolmanı ve körlüğe neden olabilir (Downes ve ark. 2005, Fadugbagbe ve ark. 2010).

2.1.4.2.8. Gebelik

Orak hücre hastalığında gebelik anne ve bebek için yüksek risk taşır. Hastaların gebelik süresince takibi morbitide ve mortaliteyi önemli ölçüde azaltır. Plensentada oksijen yetersizliği eritrositlerin oraklaşması, venöz göllenme ve enfarkta yol açar. Gebelik boyunca hematüri, ağır anemi, piyelonefrit ve tromboflebit görülebilir. Gebeliğin üçüncü trimester ve post-partum döneminde akciğer, böbrek, merkezi sinir sistemi enfeksiyonları, toksemi, endometrit ve kalp yetmezliği riski genel topluma göre daha yüksektir (Aygün 2014).

2.1.4.2.9. Enfeksiyon

Orak hücre anemisinde ölümlerin en fazla nedeni enfeksiyonlardır ve 5 yaşın altındaki çocuklarda enfeksiyon riski daha fazladır. Orak hücre hastaları fonksiyonel hiposplenizme sahiptir. Bu onları kapsüllü organizmalar tarafından enfeksiyona daha duyarlı hale getirir. Gram negatif organizmaların neden olduğu sepsis, osteomyelitle birlikte yaygındır (Gaston ve ark 1986). Asidoz, hipoksi ve dehidratasyonun eşlik ettiği bu enfeksiyonlar, orak hücre krizlerini tetikleyebilir. Streptococos pneumonia, Salmonella, Hemafilus influenza tip b, Klebsiella, Escherichia coli gibi mikroorganizmalar sık görülen enfeksiyon etmenleridir (Di Nuzzo ve Foncesa 2004).

2.1.5. Tanı

Orak hücre anemide prenatal tanı fetal dönemde birinci trimesterde yapılan koryonik biyopsi veya ikinci trimesterde yapılan amniyosentez ile elde edilen fetal DNA

kullanılarak orak hücre mutasyonunun moleküler analizi ile yapılabilir. Prenatal tanı ayrıca polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) kullanılarak gebelik döneminde bebeğin homozigot olup olmadığı konusunda bilgi verir (Driscoll 2007).

Tanı yöntemleri olarak laboratuvarda izoelektrik odaklama, hemoglobin elektroforezi, yüksek performanslı sıvı kromatografisi veya DNA analizi kullanılır. Orak hücre anemide tanı genellikle çocukluk döneminde konur. Özellikle çift heterozigot (Hb S β , Hb SC...) durumda olan hastalar puberte başlayana kadar bulgu vermezler (Ulusal Tanı Kılavuzu 2011). Irk, aile öyküsü, tekrarlayan krizler, yorgunluk, halsizlik, safra kesesi taşları, tekrarlayan enfeksiyonlar ve kan transfüzyonlarının olması OHA'yi akla getirmelidir (Çiftçi-Kokaçya 2015).

Hemoglobin elektroforezi, anormal hemoglobin tiplerinin varlığını teşhis etmek için kullanılan en değerli yöntemdir. Hemoglobin S ve hemoglobin SC orak hücre hastalarında tespit edilen en yaygın iki formdur. Ayrıştırılamayan bantlarda asit ve alkali elektroforezi yapılarak tanı konur. Hastaların Hb düzeyleri genellikle 5-11 g/dl arasındadır. Ortalama eritrosit volümü (MCV), ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) düzeyi normal, kırmızı küre dağılım genişliği (RDW) artmış, normokrom normositer bir anemi vardır. Periferik yaymada ise oraklaşmış eritrositler, ovalositler, target hücreleri ve puro şeklinde hücreler görülür (Ulusal Tanı Kılavuzu 2011).

2.1.6. Tedavi

Orak hücre anemi tedavisi, sağlık bakımı ve komplikasyonların yönetimi olarak iki kategoride düşünülebilir. Sağlık bakımının amacı, risk faktörlerini ve erken komplikasyon belirtilerini taramak ve tanımlamaktır. Kan transfüzyonu belirtilmedikçe genel yönetim destekleyici olmalıdır. Tedavinin amacı oraklaşmaya neden olabilecek eritrositlerin, dehidratasyon, hipoksi ve asidozun oluşumunu önlemektir (Mansour ve ark. 2015). Orak hücre anemide vazooklüzif kriz yönetimi ağrının hızlı değerlendirmesi, analjezik tedavisinin erken başlaması ve semptomların giderilmesine kadar hidrasyonun sağlanmasından oluşur. Hafif ağırlı hastaların çoğu için, asetaminofen veya Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) yeterli olabilir, ancak orta ve şiddetli ağrı için NSAİİ'lerle birlikte veya olmadan opiatlarda kullanılır (Sedrak ve Kondamudi 2018).

Orak hücre hastalığı ile doğan çocuklar yaşamları boyunca 1 mg doz folik asit almaktadırlar. Ayrıca 0-5 yaş arasındaki orak hücre hastaları pnömokok enfeksiyonuna yatkınlık nedenleriyle günlük olarak penisilin almak zorundadırlar (Sedrak ve Kondamudi 2018).

Orak hücre anemide aplastik krizler, splenik sekestrasyon krizleri ve ACS gibi hastalığın akut belirtilerini tedavi etmek için geçiçi transfüzyon tedavisi kullanılır. Aynı zamanda transfüzyon inmeyi önlemek için kronik olarak kullanılabilir. Transfüzyon hayat kurtarıcı olmasına rağmen aşırı demir yüklenmesi, alloimmunizasyon ve potansiyel enfeksiyon komplikasyonlarıyla da ilişkilidir (Driscoll 2007).

Basit PRBC transfüzyonu, aplastik krizler, splenik sekestrasyon, ACS ve ameliyat öncesinde kullanılmaktadır. Kronik transfüzyon tedavisi ise klinik inme, pozitif TCD bulguları ve pulmoner hipertansiyonu olan hastalarda HbS'yi % 30'un altında tutmak için kullanılır. Kronik transfüzyon alan orak hücre hastaları, genellikle 1 yıllık transfüzyondan sonra aşırı demir yükü yaşamaktadır. Böyle durumda desferoksamin veya yeni oral demir şelatörü olan deferasiroks ile şelasyon tedavisi yapılmalıdır. Aşırı demir yüklenmesinin tedavi edilmediği durumlarda kardiyomiyopati, siroz, diabetes mellitus ve erken ölüm meydana gelir (Driscoll 2007).

Hidroksiüre (HU), kronik miyelojenöz lösemi ve polisitemi vera'yı tedavi etmek için kullanılır. Hidroksiüre, HbF'yi artırır. Böylece ağırlı krizlerin ve akut göğüs sendromunun oluşumunu ve transfüzyon gereksinimini azaltmaktadır. Dozu değişkendir. Bazı hastalara eritropoietin ile birlikte verildiğinde daha etkilidir. Bununla birlikte, hidroksiüre nötropeni ve trombositopeniye neden olabilir. Ayrıca hidroksiüre bir tetrojendir ve gebelik döneminde kadınlara verilmemelidir (Mansour ve ark. 2015).

Ateşle başvuran hastalarda idrar yolu enfeksiyonu (İYE) şüphesi olduğu durumlarda geniş spektrumlu antibiyotik tedavisi kullanılır. Hematopoetik kök hücre transplantasyonu orak hücre hastalığının tedavisi için büyük bir umut vermektedir (Sedrak ve Kondamudi 2018).

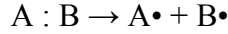
2.2. Serbest Radikaller Tanımı, Oluşum Şekilleri ve Sınıflandırılması

Serbest radikaller en dış kabukta bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip molekülerdir. Yapılarında bulunan eşlenmemiş elektronlardan dolayı oldukça kararsız ve diğer maddelerle reaksiyona girerek kararlı olma eğilimindedirler.

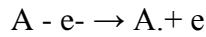
Serbest radikaller endojen ve eksojen kaynaklardan elde edilir. Endojen serbest radikallerin üretimi için en önemli yer mitokondridir. UV radyasyonları ve çeşitli kimyasal maddeler ise eksojen serbest radikal kaynaklarıdır (Karabulut ve Gülay 2016)

Serbest radikaller başlıca 3 yolla meydana gelmektedir;

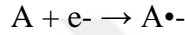
1. Kovalent bağlı bir molekülün, iki elektrondan herbirinin tek olarak bir atom üzerinde kalarak homolitik bağ kırılması



2. Bir molekülün elektron kaybına uğraması sonucu



3. Bir moleküle tek bir elektron eklenmesi sonucu



Serbest radikaller nitrojen ve oksijen kaynaklıdır. Bunlardan süperoksit, hidroksil, peroksil, lipid peroksil ve alkoksil radikalleri reaktif oksijen türleri olarak adlandırılırken, nitrik oksit ve nitrojen dioksit reaktif nitrojen türlerini oluşturur.

Reaktif oksijen türleri oksijen merkezli radikaller ve oksijen merkezli olmayan radikaller (non-radikaller) olarak sınıflandırılabilir.

Çizelge 2.1. Reaktif Oksijen Türleri

Radikaller	Non-Radikaller
Süperoksit radikal (O_2^-)	Hidrojen peroksit ($H_2 O_2$)
Hidroksil radikal (OH^-)	Lipit hidroperoksit (LOOH)
Alkoksil radikal ($RO\cdot$)	Hipoklorik asit (HOCl)
Peroksil radikal ($ROO\cdot$)	Singlet oksijen (1O_2)
Nitrik Oksit radikal ($NO\bullet$)	

2.2.1. Reaktif Oksijen Türleri

2.2.1.1. Süperoksit Radikali

Süperoksit anyonu, mitokondriyal elektron taşıma sistemlerinde oluşan ilk serbest radikaldir. Mitokondri, oksijeni suya indirgeyip 4 elektron zincir reaksiyonunu kullanarak enerji üretir ve mitokondrinin zincir reaksiyonundan kaçan elektronların bir kısmı doğrudan oksijen ile reaksiyona girerek süperoksit anyonlarını oluşturur. Süperoksit anyonu, canlı sistemlerde hidrojen peroksit, hidroksil radikali veya tekli oksijen ($2\cdot O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2 O_2 + O_2$) gibi diğer reaktif oksijen türlerinin oluşumunda önemli bir rol oynar.

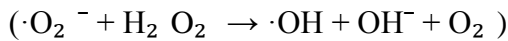
Süperoksit anyonu aynı zamanda nitrik oksit (NO) ile reaksiyona girerek hidroksil radikali ve nitrik dioksit ($\text{ONOO}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{OH} + \cdot\text{NO}_2$) gibi toksik bileşikler oluşturabilen peroksinitrit (ONOO^-) oluşturabilir (Sisein 2014).

2.2.1.2. Hidroksil radikali

$\cdot\text{OH}$, hidroksit iyonunun nötr şeklidir. Yarılanma ömrü yaklaşık 10^{-9} saniye olan hidroksil radikali oldukça yüksek reaktiviteye sahiptir ve reaktif oksijen türlerinin en güçlüsüdür. Biyomoleküller ile daha güçlü reaksiyona girebilir ve biyolojik sistemlere diğer reaktif oksijen türlerinden daha fazla zarar verebilir. Hidrojen peroksit geçiş metalleri varlığında indirgenerek OH^- 'e dönüştürülür. Bu dönüşüm olayına “Fenton reaksiyonu” adı verilir. Hidrojen peroksitin, süperoksit radikali ile reaksiyona girmesi sonucu hidroksil radikali oluşur. Bu reaksiyona ise “Haber-Weiss reaksiyonu” denir (Özcan ve ark. 2015). Bu radikaller karbon merkezli organik radikaller, tiyol radikalleri ve organik peroksitler gibi yeni radikaller oluşturarak hücre hasarına neden olur (Sezer ve Keskin 2014).

2.2.1.3. Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit, süperoksidin etrafındaki moleküllerden bir elektron veya moleküler oksijenin etrafındaki moleküllerden iki elektron almasıyla oluşan peroksitin iki proton ile birleşmesi sonucu oluşur.



Serbest radikal olmamasına rağmen (Fe^{2+}) geçiş metali ile tepkimeye girerek serbest radikal üretmektedir. Hidrojen peroksit, süperoksit dismutaz enzimleri tarafından enzimatik olmayan ve katalize edilen dismutasyon süperoksit radikaliyle in vivo üretilir. Hidrojen peroksit, yağda çözünür bir radikal olduğundan dolayı oluştuğu yerden uzakta olmasına rağmen Fe^{2+} içeren hücrel membranlarda dahi hasar oluşturabilir (Sezer ve Keskin 2014, Halliwell ve ark. 2000).

2.2.1.4. Nitrik oksit

Nitrik oksit, biyolojik dokularda, nitrür oksid sentazlar (NOS) ile üretilir. Bunlar, argininin beş elektron oksidatif reaksiyonu ile sitrinine metabolize olur (Ghafourifar ve Cadenas 2005). $\text{NO}\cdot$ nörotransmisyon, kan basıncı regülasyonu, savunma mekanizmaları, düz kas gevşemesi ve immün regülasyonu dahil olmak üzere çok çeşitli fizyolojik

süreçlerde önemli bir oksidatif biyolojik sinyal molekülü olarak işlev gören oldukça reaktif bir radikaldir (Bergendi ve ark. 1999). Bununla birlikte, hem sulu hem de lipid ortam içinde çözünebildiği için, sitoplazmayı ve plazma zarlarını kolayca dağıtır. NO• merkezi sinir sisteminde nöronal iletimin yanı sıra sinaptik plastisite üzerine de etkileri vardır. Hücre dışı ortamda, NO• nitrat ve nitrit anyonlarını oluşturmak için oksijen ve su ile reaksiyona girer (Sisein 2014).

2.2.1.5. Peroksinitrit

NO ve süperoksit anyonunun reaksiyonu sonucu peroksinitrit oluşabilir. Peroksinitrit, bir sitotoksik türüdür ve doku yaralanmasına neden olur. Düşük dansiteli lipoproteinleri oksitler (Halliwell 1997). Peroksinitrit, iltihap bölgelerinde oluşan önemli bir dokuya zarar veren tür olarak görünmektedir. Çeşitli nörodejeneratif bozukluklar ve çeşitli böbrek hastalıklarında rol oynar. Aynı zamanda doğrudan protein ve DNA baz oksidasyonuna ve “hidroksil radikal” benzeri oksidan olarak etki yapan modifikasyona neden olabilir. Peroksinitritin bir biyolojik oksidan olarak önemi, hücre membranları boyunca yüksek yayılabilirliğinden kaynaklanır (Knight 1999).

2.3. Oksidatif Stres Tanımı ve Hücresel Yapılar Üzerine Etkisi

Oksidatif stres, hücresel metabolizma sırasında açığa çıkan süperoksit radikali, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin artması ve bunları detoksifiye edici antioksidanların yetersiz kalması sonucu oksidatif dengenin bozulması olarak adlandırılır (Özcan ve ark. 2015). Oksidatif dengedeki bu değişime bağlı olarak, hücre içi proteinlerde yapı ve fonksiyonel bozukluklar, hücre membranı ve DNA’da yapısal hasar meydana gelir (Sies 1991).

2.3.1. Oksidatif Stresin Proteinler Üzerine Etkisi

Proteinlerin serbest radikallerin oluşturduğu hasardan ne kadar etkileneceği aminoasit dizilimine bağlıdır. ROS peptid zincirinin parçalanması, proteinlerin elektrik yükünün değiştirilmesi, proteinlerin çapraz bağlanması ve spesifik aminoasitlerin oksidasyonuna neden olabilir. Reaktif oksijen türleri yapısında sülfür grubu bulunan ve doymamış bağ yapısına sahip moleküller ile daha yüksek reaktiviteye sahiptir. Bu nedenle yapısında sistein, metiyonin, fenilalanin, triptofan, tirozin, histidin gibi aminoasitleri içeren

proteinler serbest radikal hasarından daha çok etkilenirler ve reaktiviteleri bu aminoasitlere bağlı olan gliseraldehid-3-fosfat dehidrogenaz ve glutatyon redüktaz gibi enzimler serbest radikallerden oldukça kolay etkilenecek şekilde olurlar. (Kavas 1989, Birben ve ark. 2012). Proteinlerin oksidatif modifikasyonu, oksidatif stresin sonucu olarak, vasküler sistemin patolojik koşullarına yol açan, geri döndürülemez bir işlemdir. İleri oksidasyon protein ürünleri (AOPP) ve C=O, proteinlerin oksidatif modifikasyonunun iyi bilinen biyomarkerlarıdır (Grysczynska ve ark. 2017). Protein yan zincirlerinde özellikle arjinin, lizin ve treonin gibi aminoasitlerin okside olması sonucunda karbonil (CO) grupları oluşur. Ayrıca protein karbonil türevleri, α -amidasyon yolu ile ya da glutamil yan zincirlerinin oksidasyonu ile proteinlerin oksidatif bölünmesi sonucunda üretilebilir. Bu da N terminal aminoasidin bir ketoasil türevi tarafından bloke edildiği bir peptidin oluşmasına yol açar (Dalle Donne ve ark. 2003). Protein oksidasyonunun en yaygın belirteci olan protein karbonil türevleri hastalıklar sonucu oluşan oksidatif stresi değerlendirmek için kullanılır (Özcan ve ark. 2015).

AOPP, ditirozin içeren çapraz bağlı protein ürünleri olarak tanımlanır (Kayalı ve Çakatay 2004). AOPP, kloramin ve hipokloröz asit (HOCl) gibi klorlu oksidanların plazma proteinleri ile reaksiyonundan oluşur. AOPP en çok plazma albüminlerinden ve yüksek moleküler ile düşük molekül ağırlıklı (monomerik albümin formu) arasında ayırt edilen üremik plazmanın kromatografik analizinden elde edilir. İleri oksidasyon protein ürünleri, ditirozin, pentosidin ve karbonil içeren protein ürünlerini (reaktif C=O) içerir (Colombo ve ark. 2017, Capeillere-Blandin ve ark. 2004). Oksidatif strese bağlı olarak protein ve enzimlerde yapısal değişiklikler ve fonksiyon bozukları meydana gelir (Dalle Donne ve ark. 2003).

2.3.2. Oksidatif Stresin DNA Üzerine Etkisi

Serbest radikaller DNA'nın yapısında mutasyona, karsinogeneze ve hücre ölümüne neden olabilir. DNA'nın reaktif oksijen türleri veya reaktif nitrojen türleri ile etkileşimi sonucu oksidatif hasar oluşur. OH⁻ ve H gibi serbest radikaller DNA'yı kolaylıkla hasara uğratabilir. Bu serbest radikaller DNA ile reaksiyona girerek, şeker kısmından hidrojen atomlarının katıp ve ilavesine neden olabilir. Özellikle pirimidinin C4-C5 çift bağı ve pürinler hidroksil radikalının saldırılarına karşı oldukça hassastır. Pirimidinlerin hidroksil radikali ile saldırıları sonucunda hidantoin, üre kalıntısı, timin glikol, 5-

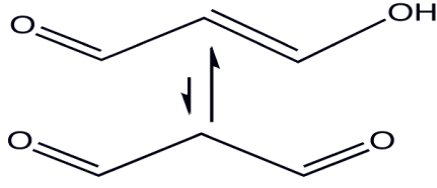
hidroksideoksisitidin ve 5-hidroksideoksiüridin gibi oksitleyici pirimidin hasar ürünleri oluşur. Pürinlerin hidroksil radikali ile saldırıları sonucunda ise 8-hidroksideoksiguanozin, 8-hidroksidoksiladenosin formamidopirimidin ürünleri oluşur. 8-hidroksideoksiguanozin karsinogenizde rol oynar ve oksidatif DNA hasarı için güvenilir bir biyobelirteçtir (Devasagayam ve ark. 2004, Halliwell ve Aruoma 1993).

2.3.3. Oksidatif Stresin Membran Lipitleri Üzerine Etkisi

Serbest radikal hasarından en fazla etkilenen biyomolekül hücre içi organellerin membranlarında yer alan lipitlerdir. Hücre membranında yer alan yağ asitlerinin doymamış bağları ve kolesterol, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girer ve peroksidasyon ürünlerini oluşturur. Lipit peroksidasyonu sırasında çok sayıda toksik yan ürünler oluşur. Oluşan bu yan ürünler ikinci haberciler gibi davranır ve üretildiği bölgeden uzak bir alanda etkilerini gösterir. Lipit peroksidasyonunun neden olduğu hasar, hücrenin işleyişi için oldukça zararlıdır (Devasagayam ve ark. 2003).

Lipit peroksidasyonu, serbest radikal aracılı bir süreçtir. Bir metilen grubundan (CH_2) bir hidrojen atomununun uzaklaştırılması ve karbon atomunda ($\bullet\text{CH}$) eşlenmemiş bir elektron oluşmasıyla sonuçlanır. Elde edilen karbon radikali, moleküllerin yeniden düzenlemesiyle konjuge dien'e sabitlenir. Bu karbon radikali daha sonra oksijen molekülü ile reaksiyona girer ve lipit peroksil radikalini ($\text{LOO}\bullet$) oluşturur (Devasagayam ve ark. 2004). Bu peroksil radikalleri diğer yağ asitlerinden hidrojen kopararak zincirleme peroksidasyon reaksiyonlarını başlatır. Lipit peroksidasyonu sonucunda oluşan lipit peroksitler son ürünler olan Malondialdehit (MDA), 4-Hidroksinonenal (HNE) ve hegzanal isimli aldehitlere dönüşür. Ortama zincir kırıcı bir antioksidan eklendiğinde membranlarda gerçekleşen zincirleme peroksidasyon reaksiyonları durur. Peroksil radikalleri antioksidanlar olmadığında aralarında çapraz kovalent bağ oluşturur ve membran proteinlerinin hareketliliğini kısıtlar. Biyolojik membranlarda oluşan peroksidasyon membran akışkanlığının azalmasına, membranların faz özelliklerinin değişmesine ve elektrik direncinin azalmasına neden olur. Sonuçta hücre hasarı veya hücre ölümü meydana gelir (Yoshikawa ve ark. 2000, Catala 2006).

2.3.3.1. Malondialdehit



Şekil 2.4. Malondialdehit Yapısı (<https://www.revolvy.com/page/Autoxidation?>)

Doğal olarak oluşan lipit peroksidasyon son ürünü olan malondialdehit oksidatif hasarın bir indikatörüdür. Üç veya daha fazla sayıda çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşur. Membran bileşiklerinin çapraz bağlanmasına neden olan malondialdehit, toksik etkilidir. Enzim aktivitesinin değişimi ve iyon geçirgenliği gibi olumsuz sonuçlara neden olur. Bu özelliği nedeniyle DNA'daki nitrojen bazlar ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojeniktir (Placer ve ark. 1990, Tekeli 2012).

2.3.4. Oksidatif Stresin Karbonhidratlar Üzerine Etkisi

Serbest radikaller karbonhidratlarda, polisakkarit depolimerizasyonu ve monosakkarit otooksidasyonuna neden olur. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucunda süperoksitler ve okzoaldehitler ortaya çıkar ve okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanma özelliğinden dolayı antimitotik etki gösterirler (Ceballos ve ark. 1992). Aynı zamanda hidroksil gibi serbest radikaller karbonhidratlarla reaksiyona girerek karbon atomlarının birinden rastgele bir hidrojen atomu uzaklaştırarak karbon merkezli radikal üretirler. Bunlar hyaluronik asit gibi önemli moleküllerde zincir kırılmalarına neden olur (Devasagayam ve ark. 2004). Karbonhidratların proteinlere bağlanması glikasyona neden olur. Bunun sonucunda ise ileri glikasyon son ürünleri oluşur.

2.4. Oksidatif Stres ve Orak Hücre Anemisi

Oksidatif stres orak hücre anemide artar. Orak hücre anemide ROS oranının artması intravasküler hemoliz, iskemi-reperfüzyon hasarı ve kronik inflamasyon gibi faktörlerden kaynaklanmaktadır ve orak hücre anemi ile ilişkili mikrovasküler disfonksiyon, vazooklüzyon ve organ hasarı ile sonuçlanır (Aslan ve ark. 2001, Akohoue ve ark. 2007).

Orak hücre hastalarında oksidatif stres kaynakları;

1. Oksidatif reaksiyonlar üzerinde katalitik etki gösteren serbest hemoglobin düzeylerinin artması
2. Karakteristik tekrarlayan iske-mi-reperfüzyon hasarı
3. Kronik proinflatuar durum
4. Orak hemoglobinin (HbS) yüksek otooksidasyonu

Orak hücre hastalığında ileri glikasyon son ürünleri artmıştır. Maillard reaksiyonunda enzimatik olmayan glikozasyon ve proteinlerin oksidasyonu ile üretilen AGE'ler oksidatif stres ile güçlü ilişkiye sahiptir (Nur ve ark. 2011).

2.5. Antioksidanlar

Organizmada reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engellemek, bunların ortaya çıkardığı hasarı önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere görev yapan savunma sistemlerine antioksidanlar denir (Şener ve Yeğen 2009). Antioksidanlar radikal süpürücü, hidrojen verici, elektron verici, peroksit parçalayıcı, tekli oksijen söndürücü, enzim inhibitörü, sinerjik ve metal şelatlayıcı maddeler olarak görev yaparlar (Lobo ve ark. 2010). Antioksidanlar, hücre içi ve hücre dışı veya endojen ve eksojen olmak üzere iki gruba ayrılır. Endojen ve eksojen antioksidanlar, oksidan/antioksidan dengesini sağlamak için vücudu serbest radikallerden korur ve serbest radikalleri etkisiz hale getirmek için kullanılırlar (Sen ve Chakraborty 2011).

2.5.1. Endojen Antioksidanlar

Endojen kaynaklı olan bu antioksidanlar, enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar olmak üzere iki gruba ayrılır.

2.5.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

Katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon S-transferaz (GST) ve mitokondriyal sitokrom oksidaz (Mit-STO) gibi enzimler oksidasyona karşı savunmada görev yapan enzimatik etkili antioksidanlardır.

2.5.1.1.1. Süperoksit Dismutaz

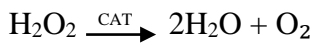
Reaktif oksijen türlerine karşı savunmada ilk görev alan antioksidandır. Süperoksit dismutaz, süper oksit radikalini hidrojen peroksit ve moleküler oksijene katalizleyen antioksidan enzimdir. Oluşan hidrojen peroksit daha sonra ortamdan GPx ya da CAT ile uzaklaştırılır (Young ve Woodside 2001).



SOD'un insanlarda üç formu vardır. Hücrelerde en yaygın süperoksit dismutaz formu olan bakır (Cu) ve çinko (Zn) içeren süperoksit dismutaz (Cu/Zn SOD) sitozolde, mangan (Mn) süperoksit dismutaz mitokondride ve bakır ile çinkonun enzimatik aktivitesi için gerekli olan ekstrasellüler süperoksit dismutaz (EC SOD) ise hücre dışı sıvılarda bulunur (Sen ve Chakraborty 2011).

2.5.1.1.2. Katalaz

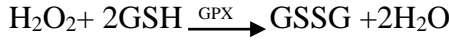
Katalaz, dört protein alt birimlerinden oluşur. Alt birimlerinin her birinde bir NADPH molekülü ve bir hem grubu bulunur. Esas olarak peroksizomlar gibi hücre içi organellerde, az miktarda ise endoplazmik retikulum ve mitokondride bulunur. Katalaz, hidrojen peroksidin su ve oksijene ayrışmasından sorumlu olan enzimdir ve 1-10 mM arasındaki konsantrasyonlarda aminotriazol tarafından inhibe edilir (Gagne 2014, Limon ve Gonsebatt 2009).



2.5.1.1.3. Glutasyon Peroksidaz

Glutasyon peroksit hücrelerin sitoplazmasında bulunur. Hidrojen peroksidin neden olduğu oksidatif hasara karşı hücreleri koruyarak, H_2O_2 'den OH^- 'nin oluşumunu engeller. Elektron kaynağı olarak glutasyonu (GSH) kullanan glutasyon peroksidaz H_2O_2 'yi ve organik hidroperoksitleri metabolize eden bir enzimdir. Selenyum bağımlı (Se-GPx) ve selenyum bağımsız (GST) olmak üzere iki tipi mevcuttur. Se-GPx, H_2O_2 ve organik hiperoksitlere karşı etkiliyken GST ise sadece organik hiperoksitlerin metabolize edilmesinde görev alır. Bu reaksiyonlar sırasında GSH hidrojen verici olarak görev yaptığından dolayı hidroperoksitler ve H_2O_2 indigenirken GSH okside formu GSSG'ye

dönüşür. Okside glutatyon ise NASDPH bağımlı glutatyon redüktaz varlığında tekrar GSH'a indirgenir (Şener ve Yeğen 2009, Karabulut ve Gülay 2016)



2.5.1.2. Nonenzimatik Antioksidanlar

Çizelge 2.2. Nonenzimatik Antioksidanlar

Glutatyon: GPx'in katalitik etkisiyle lipid peroksitleri ve H ₂ O ₂ 'yi detoksifiye eder ya da singlet oksijen (¹ O ₂) ve hidrosil radikalini (OH ⁻) temizler.
Melatonin: Hidrosil radikallerini (OH ⁻) temizler ve SOD, CAT, GPx ve GR içeren antioksidan enzimleri uyarır.
Ürik asit: Hidrosil, singlet oksijen, süperoksit, peroksinitrit anyonu, peroksinitrik asiti etkisizleştirir ve geçiş metallerini şelatlar.
Bilirubin: Süperoksit radikali (O ₂ ⁻) ve hidrosil radikali (OH ⁻) toplayıcısıdır.
Albumin: LOOH ve HOCl toplayıcısıdır.
Koenzim Q 10: Serbest radikalleri temizler, lipid ve protein peroksidasyonunu baskılar.
Selenyum: GPx aktivitesini artırarak ROS oluşumunu baskılar.
α-lipoik asit: Hidrosil, peroksinitrit anyonu, singlet oksijen ve hipokloröz asiti temizler.
Transferrin: Dolaşımdaki serbest demiri bağlar.
Seruloplazmin: Bakır iyonlarını bağlar. Ferröz demiri (Fe ⁺²) ferrik demire (Fe ⁺³) yükseltgeyerek hidrosil radikali oluşumunu inhibe eder.

2.5.2. Eksojen Antioksidanlar

Eksojen kaynaklı antioksidanlar, α-tokoferol, β-karoten, askorbik asit ve folik asit gibi vitamin eksojen antioksidanlar ve trolox-C, desfereoksamin, albümin, mannitol, oksipürinol ve ebselen gibi ilaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır.

2.6. İleri Glikasyon Son Ürünleri (AGEs)

İleri glikasyon son ürünleri ilk kez 1912 yılında Louis Camille Maillard tarafından "esmerleşme reaksiyonu" olarak tanımlanmıştır. AGE; lipidler, proteinler ve nükleik asitlerin serbest amino grupları ile indirgeyici şekerlerin karbonil grupları arasında enzimatik olmayan glikasyon sonucu oluşan heterojen bileşiktir (Parmaksız 2011). Bu reaksiyon karmaşık aşamalarda yavaş yavaş ilerleyerek moleküler düzeyde değişiklikler meydana getirmektedir.

AGE'ler, esmerleşme gösteren, flüoresans üreten ve protein çapraz bağlanmasına neden olan kompleks heterojen moleküllerdir (Demirel ve Yıldırım 2017).

Halen birçok AGE'nin yapısı bilinmemektedir ve oluşumlarının altında yatan mekanizmalar belirsizliğini korumaktadır (Demirel ve Yıldırım 2017). Fakat bazı AGE'nin yapısı yapılan çalışmalar sonucunda belirlenmiştir. Bilinen AGE'ler arasında N-karboksimetil lizin (CML), N-karboksietil lizin (CEL), pentosidin, metilglioksal lizin dimeri (MOLD), glioksalizin dimer (GOLD), Alkil formil glikozil pirolleri (AFGP), Arginin-lizin imidazol (ALI) ve pirralin yer almaktadır (Nowotny ve ark. 2015).

AGE'ler kimyasal özelliklerine göre 3'e ayrılır;

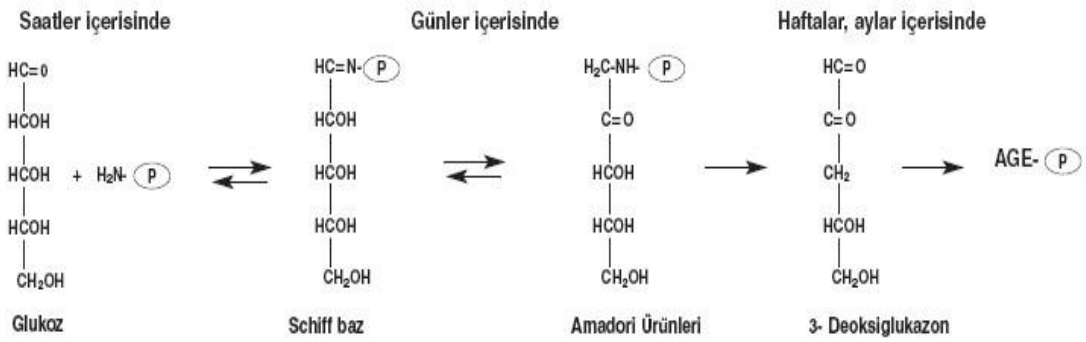
1. Pentosidin gibi floresan çapraz bağlı AGE'ler,
2. Metilglioksal lizin dimeri ve Arginin-lizin imidazol gibi non-floresans çapraz bağlı AGE'ler,
3. N-karboksimetil lizin ve pirralin gibi çapraz bağ yapmayan AGE'ler (Ahmed 2004).

Fizyolojik koşullar altında oluşan AGEs, hücre dokularındaki matriste birikir. AGE'nin ömrü oluştuğu proteinin ömrüne bağlı olarak belirlenir ve uzun ömürlü proteinler AGE oluşumuna daha yatkındır. Kısa ömürlü AGEs ise proteinin ömrü bittiğinde böbreklerden süzülerek organizmadan dışarı atılır (Kılınç 2011, Verzijl ve ark. 2000). AGE'nin gelişimi birçok hastalığın patofizyolojisinde önemli rol oynar.

2.6.1. AGE'lerin Oluşum Mekanizması

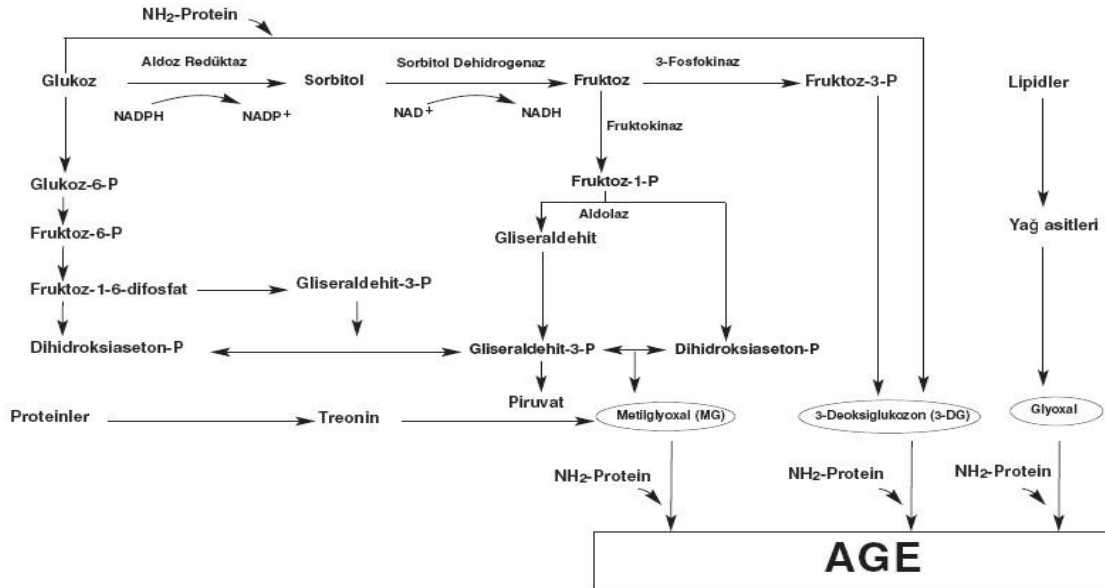
Proteinlerin yapım yıkım hızı, hiperglisemi derecesi ve çevresel oksidan miktar ve yaygınlığı AGE oluşumunu etkileyen faktörler arasında yer alır. AGE'lerin oluşumu haftalar süren ve daha çok uzun ömürlü proteinleri etkileyen bir süreçtir. Proteinlerdeki arginin, histidin ve lizin gibi bazı aminoasitler glikasyona daha duyarlıdır (Goldin ve ark. 2006). İlk olarak AGE'ler besin kimyasında kullanılmış ve diyabetik hastalarda 1968 yılında HbA1c'nin tespiti ile araştırılmaya başlanmıştır (Yamagishi ve ark. 2008). Galaktoz, fruktoz ve riboz'un hemoglobin ile reaksiyonu glukoza göre daha hızlıdır. Protein glikasyonu, serbest bir amino grubu ile bir şekerin karbonil grubu arasında Schiff bazı oluşumuyla başlar. Schiff bazı oluşumu kandaki glukoz konsantrasyonuna bağlı, tersine çevrilebilir bir olaydır ve saatler

içerisinde gerçekleşir (Prasad ve ark. 2013). Oluşan kararsız Schiff bazı günler içerisinde daha kararlı bir ketoamine veya amadori ürünlerine dönüşür. Amadori ürünlerinin oluşumu geri dönüşümsüzdür ve reorganizasyonu sırasında, α -dikarboniller veya oksoaldehidler olarak adlandırılan yüksek derecede reaktif ara karbonil grupları içinde biriken 3-deoksiglukozon ve metilglioksal bulunur (Suzuki ve ark. 1999). Bu birikim karbonil stres olarak adlandırılır. Oluşan Amadori ürünlerinden sonra haftalar veya aylar boyunca glukoz derişiminden bağımsız olarak dehidrasyon, yoğunlaşma ve parçalanma reaksiyonlarıyla AGE oluşmaktadır (Solis Calero ve ark. 2015).



Şekil 2.5. Proteinlerin glikasyonu ve AGE oluşumu (Parmaksız 2011)

AGE oluşumunda bir diğer önemli mekanizma polyol yolağıdır. Diyabete bağı olarak oluşan yüksek miktarda glukozun bir miktarı önce sorbitole dönüşür, sonrasında ise AGE ürünü olan 3-deoksiglukozona dönüşür ve AGE oluşur (Parmaksız 2011).



Şekil 2.6. Karbonil bileşikler ve AGE oluşumu (Parmaksız 2011)

İleri glikasyon son ürünleri, endojen oluşumları dışında tütün ürünleri veya besinlerle ekzojen olarak da oluşabilmektedir. Ekzojen olarak oluşan AGE'ler besinlerin içerdiği karbonhidrat, lipit ve protein içeriğinden etkilenirler (Yılmaz ve Karabudak 2017). Besin kaynaklı AGE'ler oksidatif stresi indükler, protein-protein çapraz bağlarını aktive eder, antioksidan kaynakları baskılar ve sitokinleri artırır. Ayrıca besin kaynaklı AGE'ler dokuda birikmeden kanda serbestçe dolaşabilir. Besinlerin pişirilme şekli ve süresi AGE seviyesine etki etmektedir. Besinlerin yüksek derecede pişirilmesi AGE seviyesini artırırken, düşük derecede ve kısa süreli pişirilmesi ise AGE seviyesini azaltmaktadır (Demirel ve Yıldırım 2017).

2.6.2. AGE Etki Mekanizması

Organizmada biriken AGEs toksik etkiye neden olmaktadır. AGE'ler hücre içi ve hücre dışı etkilere sahiptir. Ekstrasellüler matriks'te, AGE'ler lipidler, kollajen, laminin, elastin ve vitronektin dahil olmak üzere farklı moleküller üzerinde oluştururlar. ECM molekülleri üzerinde oluşan AGE'ler matriksin oluşumunu değiştirir ve sertliğini artırır. Ayrıca AGE'ler ECM üretiminin artmasına neden olarak hücre büyümesini uyarmak için dönüştürücü büyüme faktörü (TGF)- β reseptörünü aktive eder (Neeper ve ark. 1992). İleri glikasyon son ürünleri organizmanın kimyasal, fiziksel ve metabolizmasının yapısını değiştirir ve organizmadaki dokulara çapraz bağlanır (Raj ve ark. 2000). Subendotelium üzerindeki AGE'ler tek tabakalı bir endotel hücre boyunca monosit göçünü indüklerken, bazal membranlarda yer alan AGE'ler ise monosit göçünü inhibe ederek orada "apoptaksis" denilen olayı indükler (Edelstein ve Brownlee 1992, Iwashima ve ark. 2000).

2.6.3. AGE Reseptörleri

İleri glikasyon son ürünleri başlıca; RAGE, çöpcü reseptörler (Class A, CD36, class B tip 1, LOX-1, FEEL-1, FEEL-2), AGE-R1 (oligosakkaril transferaz-48), AGE-R2 (80 K-H fosfoprotein) ve AGE-R3 (Galektin-3) adlı reseptörlere bağlanır. Bu reseptörler doku veya dolaşımda bulunan AGE'yi bağlayarak hücre içine alırlar ve ortamdan temizlerler. Reseptörler arasında en çok RAGE incelenmiştir (Parmaksız 2011, Demirel ve Yıldırım 2017).

RAGE immüoglobulin süper ailesine ait bir transmembran proteindir ve multi-ligandlarla etkileşime girme yeteneğine sahiptir (Neeper ve ark 1992). RAGE başlıca düz kas hücresi, mononükleer fagositler, endotel hücresi ve astrositlerde bulunur. Bunun dışında normal damar ve dokularda da çok az eksprese edilir (Ahmed 2004). Yüksek mobilite grubu protein B1 (HMGB-1), S100 kalsiyum bağlayıcı protein, amiloid-y-protein, Mac-1 ve fosfoditilserin ligandlar arasında yer alır. RAGE ve ligandları arasındaki etkileşim inflamasyon, proliferasyon, apoptoz, otofaji ve migrasyon da dahil olmak üzere çeşitli hücrel süreçleri aktive eder (Sugaya ve ark. 1994).

Çizelge 2.3. RAGE ligandları ve klinik önemi

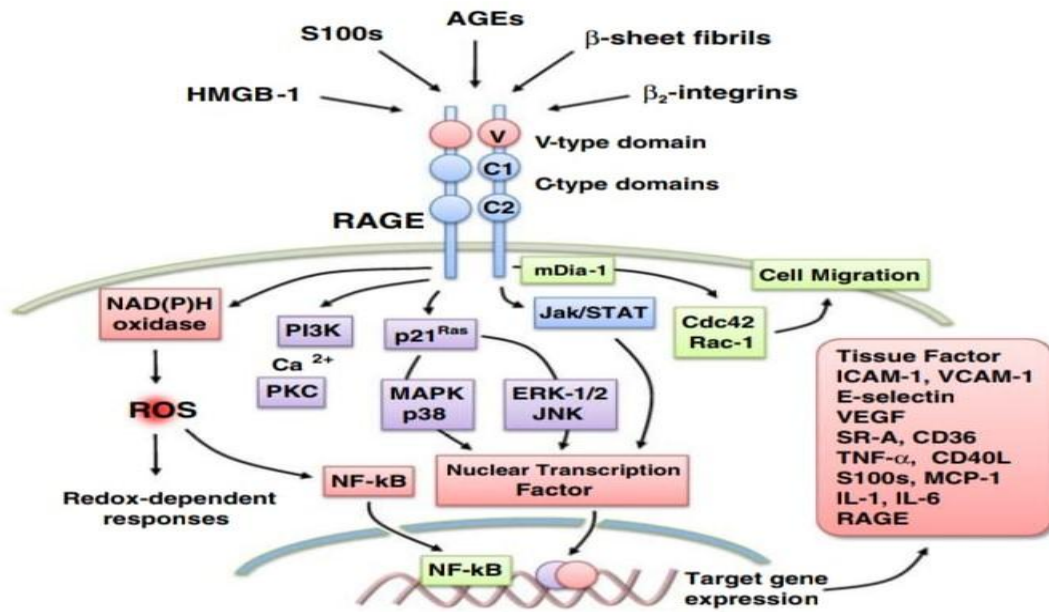
RAGE ligandları	Klinik Önemi
AGE	Diabetik ve üremik komplikasyon, aterotromboz, yaşlanma
S100/calgranulins	Enflamatuar yanıt: romatoid artrit, inflamatuvar barsak hastalığı, multipl skleroz, aterotromboz.
HMGB-1	Merkezi sinir sisteminin ontogenezi, Tümör invazyonu, anjiyogenez ve metastaz.
β -sheet fibrils	Yanlış katlanmış protein birikimi: Alzheimer hastalığı, amiloidoz
β 2-integrin Mac-1	Lökosit adezyonu: inflamatuvar yanıt

(Vazzana ve ark. 2009).

RAGE'nin ligand birleşmesi, hücreye özgü sinyalleme tetikler, bu da reaktif oksijen türlerinin (ROS) daha fazla üretilmesine ve transkripsiyon faktörü NF-kB aktivasyonuna yol açar (Vazzana ve ark. 2009). Bu, pro-inflamatuar mediatörlerin, adhezyon moleküllerinin ve işlevsiz hücre fenotipinin sürekli olarak artmasına neden olur.

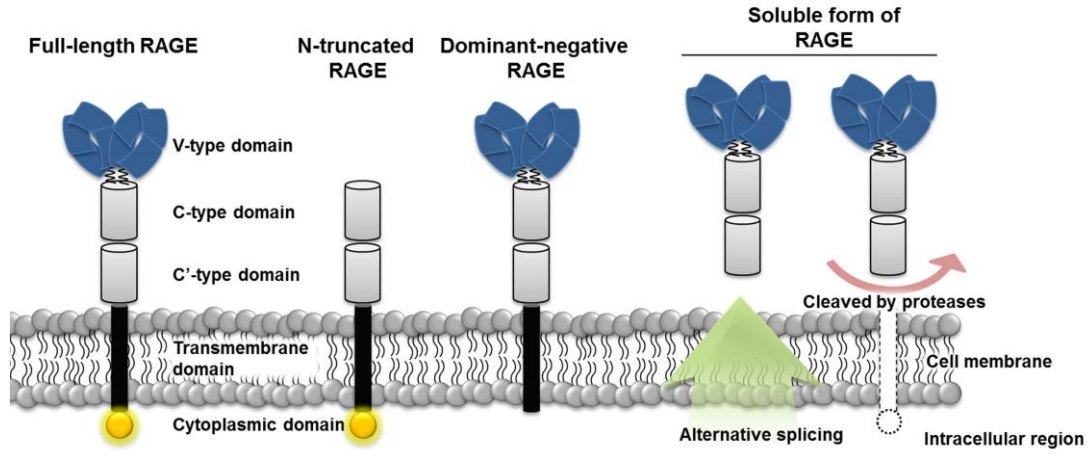
İnsan RAGE'si, kromozom 6'daki majör doku-uyum kompleksi (MHC) sınıf III bölgesinde bulunan bir gen tarafından kodlanmaktadır (Sugaya ve ark. 1994). Olgun RAGE, hücre dışı, transmembran ve sitozolik bölgelerden oluşan üç ana bölümden oluşmaktadır. Hücre dışı bölge, bir V tipi ve iki C tipi alandan oluşur. AGE'lerin büyük kısmı V alanına bağlanır. V tipi alan, çoklu RAGE ligandları etkileşiminden sorumludur. C tipi alan ise V tipi alanın stabilitesinden sorumludur. Transmembran bölge, RAGE'yi hücrel membrana tutturur ve hücre içine sitozolik alan yoluyla transdüksiyonu bildirir. Transmembran bölgeyi yüksek yüklü 43 aminoasit'lik sitozolik kuyruk takip eder. Sitozolik kuyruk RAGE kaynaklı intrasellüler sinyal için kritiktir (Gonzalez ve ark. 2013, Neeper ve ark. 1992).

RAGE aktivasyonu, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH)- oksidaz (NOX) aktive ederek, süperoksit dismutaz, katalaz ve diğer yolakların aktivitesini azaltır ve dolaylı olarak GSH ve askorbik asit gibi hücrel antioksidan savunmalarını azaltarak oksidatif stresi doğrudan indükleyebilir (Bierhaus ve ark. 2005, Loughlin ve Artlett 2010). Endotel hücre yüzeyi üzerinde RAGE'ye bağlanan AGE'ler, NAD(P)H oksidazı uyaran ROS, p21 RAS ve MAPK'leri artıran bir sinyalleşme kaskadı oluşturur. Ayrıca ligand-RAGE etkileşimi p38 MAPK ve Rac/Cdc ile sinyalleşmeyi uyarabilir. RAGE sinyalleşmesinin temel hedefi NF- κ B'dir. Nükleusta translokasyona uğrayan NF- κ B, endotelin-1, ICAM-1, E-selectin ve doku faktörü dahil olmak üzere bir dizi farklı proteinin transkripsiyonunu artırır. RAGE için AGE ve ligandlar HMGB-1 ve S100 calgranulins gibi inflamatuvar yolları tetikler. AGE, NOS'un azalmış aktivitesi ve NO'u söndürerek NO mevcudiyetini azaltabilir (Prasad ve ark. 2013).



Şekil 2.7. RAGE sinyal iletim yolları (Vazzana ve ark. 2009)

RAGE'nin 3 farklı izoformu vardır. N-kesilmiş RAGE, dominant-negatif RAGE ve çözünebilir RAGE (sRAGE)'dir. N-kesikli izoform, bir V alanına sahip olmadığından ligandlarla etkileşime giremez. Dominant-negatif formda, sitozolik kuyruk yoktur bu yüzden sinyalleri hücreye iletmez (Hudson ve ark. 2008).



Şekil 2.8. RAGE izoformları (Vazzana ve ark. 2009)

sRAGE, RAGE'nin kandaki çözülmüş formudur. Proteolitik bölünme yolu ile tam boy RAGE'den veya alternatif ekleme ile oluşur ve salgılanır. Alternatif ekleme ile oluşan RAGE'ye esRAGE denir. esRAGE'nin transmembran etki alanı yoktur ve sRAGE düzeyinden 2-5 kat daha düşük düzeye sahiptir. sRAGE'nin, çözünür AGE'lere bağlanmak, temizlemek ve hücre yüzündeki RAGE'lere bağlanacak olan ligandları inhibe etmek gibi görevi vardır. sRAGE, AGE-RAGE etkileşiminin aktive olmasını engelleyen ve kanda dolaşan RAGE ligandlarını nötralize etmek ve gidermekle sorumludur. Aynı zamanda sRAGE, köprü benzeri reseptörler ve çöpcü reseptörler gibi diğer RAGE-ligand reseptörlerinin aktivitesini de etkileyebilir (Kusunoki ve ark. 1999, Kojima ve ark. 2004).

Bir başka hücre yüzey reseptör grubu olan AGE-R1, AGE-R2 ve AGE-R3, AGE'lerin endositozunu ve degradasyonunu düzenler. Böylece RAGE'nin etkilerini ortadan kaldırır (Vlassara 2001). Ayrıca AGE-R1, RAGE sinyalleme inhibisyonu yoluyla AGE'ler ile indüklenen oksidatif stresi ortadan kaldırır (Lu ve ark. 2004, Cai ve ark. 2008).

2.6.4 AGE Oluşumunu İnhibe Eden Maddeler

AGE'lerin oluşumunu inhibe edebilen maddelerin yanı sıra, oluşturulmuş AGE'leri veya sinyallemelerini antagonize eden maddeleri ayırt edebilen maddeler tanımlanmıştır (Elosta ve ark. 2012).

Aminoguanidin, AGE'lerin oluşumunu sınırlayan ilk maddelerden biridir. Aminoguanidin, nükleofilik bir hidrazindir. Anti-AGE özellikler, karbonil ara bileşikleri gibi erken glikasyon ürünlerinin tutulmasından kaynaklanır. Glikasyonun daha ileri aşamalarında

hiçbir etkisi yoktur (Edelstein ve Brownlee 1992). Doğal olarak oluşan bir vitamin B6 izoformu olan piridoksamın, reaktif karbonil ara maddelerini yakalar ve AGE oluşumunun Amadori sonrası aşamalarını inhibe eder (Voziyon ve Hudson 2005).

OPB-9195, aminoguanidin ile aynı mekanizmaya sahip bir tiyazolidin türevidir ve aminoguanidinden daha etkili dikarbonil bileşiklerini tutar. TGF- β ve VEGF ekspresyonunu azaltarak glomerüler sklerozu, glomerülde AGE birikim ve albuminüriyi azalttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Parmaksız 2011).

LR-9, LR-74, LR-90, AGE oluşum ve glikasyonunu inhibe eden aromatik bileşiklerdir. Aminoguanidinden daha etkili olan bu bileşikler birden fazla evrede etkilerini gösteren glikasyon inhibitörleridir. Ayrıca LR-9 ve LR-74 cilt kollajenindeki CML miktarı ve LDL oksidasyonunu azaltır (Schalkwijk 2007).

Dimetil-3-fenaltiyazolyum klorür (ALT-711), Phenyl-thiazolium-bromide (PTB), TRC4186, N-fenasiltiyazolyum ve N-fenasil-4,5 dimetiltiyazolyum Maillard reaksiyon çapraz bağlarını tanıyabilen ve bozabilen kimyasal AGE kırıcılarıdır. ALT-711, RAGE ekspresyonunda renal CML birikim ve TGF- β salınımını azaltır (Parmaksız 2011).

PTB, çapraz bağ kırıcılar arasında ilk denenen bileşiktir ve AGE birikimini azaltır. TRC4186 bir kloroid tuzudur ve kardiyak disfonksiyon gelişimini yavaşlatır ve renal disfonksiyon şiddetini azaltır (Parmaksız 2011, Cheng ve ark. 2007).

Aspirin, indometazin, D-penisilamin, ibuprofen, desferoksamin, flavonoidler ve piaglitazon AGE oluşumunu inhibe eder. Piaglitazon, tiyazolidinedion türevidir ve dikarbonil bileşikleri tutar ve metal şelasyonu yapar (Goova ve ark. 2000, Peyroux ve Sternberg 2006).

sRAGE, inflamatuvar hücrelerin migrasyonunu artırır. IL-6, TNF- α ve matriks metalloproteinaz 2-3-9 (MMP) gibi sitokinlerin salınımını azaltır. Ayrıca sRAGE, vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1), dönüştürücü büyüme faktörü (TGF- β), fibronektin ve tip IV kollajen ekspresyonunu azaltır ve damarda AGE birikimini inhibe ederek aterosklerozu baskılar (Goova ve ark. 2000, Peyroux ve Sternberg 2006).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Araştırma Yöntemi

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Hematoloji polikliniğine başvuran, 30 adet orak hücre anemisi olan krizsiz hasta, 30 adet kriz döneminde başvuran orak hücre anemili hasta ve 30 adet sağlıklı kontrol grubu olmak üzere toplamda 90 yetişkin birey çalışmaya dahil edildi. Hasta grubu seçilirken, çocuklar (18 yaş altı), hamileler, emziren anneler, geçirilmiş kalp krizi öyküsü, hipertansiyonu, enfeksiyonu ve orak hücre anemi dışında hastalık öyküsü olanlar ile son 3 ayda kan transfüzyonu alanlar çalışma dışı bırakıldı. Kontrol grubu ise muayene sonucunda herhangi bir kronik hastalığı olmayan 18 yaş ve üzeri tamamen sağlıklı bireylerden seçildi. Çalışmamız, Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak düzenlenmiş olup çalışma protokolü için Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Etik Kurulu onayı alındı (Karar no:13 14/02/2017). Çalışmaya dahil olan bireylerden aydınlatılmış onam formu alındı ve hastaların yaş, cinsiyet gibi demografik verileri kaydedildi.

3.2. Numunelerin Toplanması ve Hazırlanması

Orak hücre anemisi olan krizsiz hasta, kriz döneminde başvuran hasta ve kontrol grubundan 10 cc'lik antikoagülsüz biyokimya tüplerine kan alındı. Biyokimya kanları 3500 devirde 10 dakika santrifüj edildikten sonra serumları ayrılıp biyokimyasal analizler için çalışma gününe kadar -80°C'de saklandı.

3.3. Kullanılan Kimyasal Malzeme ve Cihazlar

Bu tez çalışmasında Thermo Scientific/MultiscanGo (Finlandiya) UV cihazı, Abbot Architect C-8000 (Amerika) otoanalizör, NÜVE THERM ST 402 (Türkiye) su banyosu, Thermo Scientific (Finlandiya) yıkama cihazı, Su OVEN ST 120 (Türkiye) etüv, Thermo Scientific SL16R (Almanya) santrifüj cihazı, ELGA Purelab Option (İngiltere) distile su cihazı kullanılmıştır.

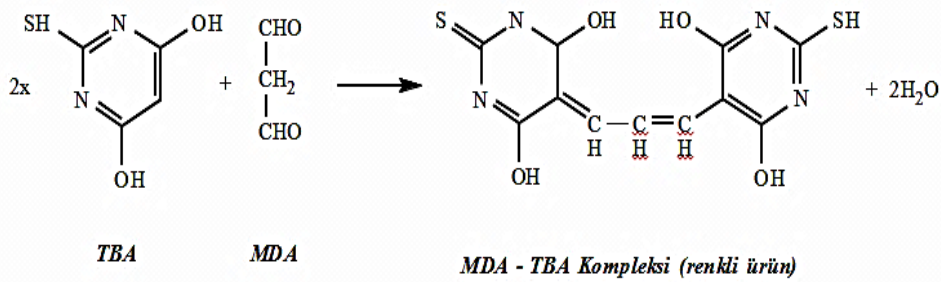
Çizelge 3.1. Kullanılan kimyasal malzemeler

Kimyasal	Kod
Trikloroasetikasit (TCA)	<i>SIGMA-ALDRICH 101920800</i>
Tiyobarbitürikasit (TBA)	<i>ACROS ORGANICS 114960050</i>
1,1,3,3-tetramethoxypropane	<i>ACROS ORGANICS 156731000</i>
Potasyum İodid (KI)	<i>ATABAY AT043-S10</i>
Chloromine-T	<i>ACROS ORGANICS 227850250</i>
Asetik Asit	<i>SIGMA-ALDRICH 64-19-7</i>
NaH ₂ PO ₄ * 2H ₂ O	<i>MERCK 106345</i>
Na ₂ HPO ₄ * 12H ₂ O	<i>MERCK 1066579</i>

3.4. Biyokimyasal Analizler

3.4.1. Malondialdehit Miktarının Spektrofotometrik Ölçümü

Malondialdehit ölçümü Hammode ve Arkadaşları'nın modifiye ettiği, çift kaynatma esasına dayalı yöntem kullanılarak çalışıldı. İlk kaynatmada Trikloro Asetik Asit (TCA) kullanılarak proteinlere bağlı MDA'nın serbestleşmesi için proteinler çöktürülür, ikinci kaynatmada sıcak ve asidik ortamda total MDA, Tiyobarbitürik Asit (TBA) ile reaksiyona girer ve renkli kompleks oluşturur. Oluşan renkli kompleks, 532 nm dalga boyunda MDA konsantrasyonuyla doğru olarak absorbans verir (Hammode ve ark. 1995).



Şekil 3.1. MDA'nın TBA ile reaksiyonu ve oluşan renkli MDA-TBA kompleksinin yapısı

Kullanılan reaktifler:

TCA'nın hazırlanması

% 10'luk trikloroasetikasit (TCA)'dan 10 gram alındı ve 100 ml distile suya tamamlandı.

TBA'nın hazırlanması

% 0,675'lik tiyobarbitürik asit (TBA)'dan 0,675 gram alındı ve 100 ml distile suya tamamlandı.

Deneyin Yapılışı

MDA ölçümü yapmadan önce vidalı cam tüplere grup isim ve numaraları silinmeyecek şekilde yazıldı; tüpler 90°C benmaride 15 dakika inkübasyona maruz kalacağı için su buharı nedeniyle üzerindeki yazılar silinebilir.

1. MDA ölçümü için kör tüpüne 500 µl distile su, numune tüpüne ise 500 µl numune eklendi.
2. Daha sonra üzerine önceden hazırlanmış TCA çözeltisinden her numuneye 2500 µl eklendi ve vorteksledi. Vorteksleme sonrası hemen ağzı vidalandı ve daha önce hazırlanmış 90°C benmariye yerleştirildi ve 15 dakika inkübasyon yapıldı.
3. İnkübasyon sonrası tüpler soğuk suyla soğutuldu. Tüpler soğuduktan sonra kapaklar çıkartıldı ve tüplerin ağzı parafilmlelenerek 3000 g'de 10 dakika +4°C'de santrifüj edildi.
4. Santrifüj bittikten hemen sonra tüpler sarsmadan çıkartılıp parafilmleler çıkartıldı.
5. Daha sonra herbir numune için hazırlanmış diğer vidalı tüplere ekstrakt edilen tüplerden çökeleğe dokunmadan süpernatant kısmından 2 ml pipetlenip aktarıldı.
6. Daha sonra bütün tüplere 1'er ml daha önceden hazırlanmış TBA'dan eklendi.
7. Ekleme sonrası hemen vortekslenip tekrar 90°C'deki benmariye yerleştirildi ve 15 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sırasında numunelerin hafif turuncu; inkübasyon sonrasında ise yavruağzı rengine döndüğü gözlemlendi.
8. İnkübasyon sonrası tüpler benmariden çıkarılıp soğutuldu.
9. Son olarak herbir tüpten 300 µl alınıp platedeki kuyucuklara pipetlendi ve ölçüm için, Thermo Scientific/MultiscanGo UV cihazı kullanılarak 532 nm dalga boyunda okuma yapıldı.

Standart Eğri Çizimi

MDA stok standardından (1,1,3,3 tetramethoksiopropan) 10 µl alındı ve 100 ml'ye distile su ile tamamlanarak günlük standart çözelti hazırlandı. Standart eğri çizimi için hazırlanan günlük standart çözeltiden distile su ile 1/80, 1/40, 1/20, 1/10, 1/8 oranlarında seyreltme yapılarak 7.5, 15, 30, 60, 75 nmol/ml derişimde çalışma standartları oluşturuldu.

Çizelge 3.2. MDA stok standart çözeltisinden farklı konsantrasyonlarda çözelti hazırlama

Dilüsyon	1/80	1/40	1/20	1/10	1/8
Konsantrasyon	7.6 nmol/ml	15 nmol/ml	30 nmol/ml	60 nmol/ml	75 nmol/ml
Stok Çözelti	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
dH2O	7900 µl	3900 µl	1900 µl	900 µl	700 µl
Toplam Hacim	8000 µl	4000 µl	2000 µl	1000 µl	800 µl

3.4.2. İleri Oksidasyon Protein Ürünleri Spektrofotometrik Ölçümü

İleri oksidasyon protein ürünleri ölçümü Witko-Sarsat ve arkadaşlarının tanımladığı yarı otomatize yöntem kullanılarak çalışıldı. AOPP oluşumu hipokloröz asit ve kloraminler gibi klorine oksidanların oluşumu ile indüklenmektedir. AOPP ölçümünde konsantrasyon klorine oksaidanlara bağlı olarak değişir. Bu ilişki nedeniyle ölçümde standart olarak Chloramine-T kullanıldı (Sarsat ve ark. 1996).

Kullanılan Reaktifler

Potasyum İyodür (KI) Çözeltisinin Hazırlanması

1.16 M KI hazırlanması: 19,256 gram KI alındı ve 100 ml distile suya tamamlandı.

Tampon Hazırlanması

PBS (20 mM, pH:7.4) hazırlanması: NaH_2PO_4 kimyasalının molekül ağırlığı 136,09 g/mol' dür. Bu kimyasaldan 2,7218 gram tartıldı ve 1000 ml distile suya tamamlandı. $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ kimyasalının molekül ağırlığı 358,14 g/mol'dür. Bu kimyasaldan 7,1628 gram tartıldı ve 1000 ml distile suya tamamlandı. Hazırlanan NaH_2PO_4 solusyonundan 413 ml, NaH_2PO_4 solusyonundan 587 ml alınıp karıştırıldı ve istenilen pH'ta hazırlandı.

AOPP Standartlarının Hazırlanması

Ölçümde standart olarak Chloramine-T kullanıldı.

Chloramine-T hazırlanması: 1 milimol Chloramine-T için, $\text{C}_7\text{H}_7\text{ClNO}_2\text{S} \cdot \text{Na}_3(\text{H}_2\text{O})$ kimyasalından 0,281 gram tartıldı ve 1000 ml distile suya ile tamamlandı. Daha sonra 1/10 oranından seyreltilerek 100 µmol/L konsantrasyonunda ana standart 1 çözeltisi elde edildi.

Chloramine-T ana standart çözeltisi (standart 1:100 $\mu\text{mol/L}$) 5 noktalı lineer kalibrasyon eğrisi oluşturabilmek için; distile su ile seyreltilerek 50, 25, 12.5, 6.25 $\mu\text{mol/L}$ konsantrasyonlarda Chloramine-T standartları hazırlandı. Blank olarak sadece distile su kullanıldı.

Çizelge 3.3. AOPP standartları

Blank : Distile su	0 $\mu\text{mol/L}$
Standart 1: Chloromine-T Solüsyonu	100 $\mu\text{mol/L}$
Standart 2: Chloromine-T Solüsyonu	50 $\mu\text{mol/L}$
Standart 3: Chloromine-T Solüsyonu	25 $\mu\text{mol/L}$
Standart 4: Chloromine-T Solüsyonu	12,5 $\mu\text{mol/L}$
Standart 5: Chloromine-T Solüsyonu	6,25 $\mu\text{mol/L}$

Deneyin Yapılışı

AOPP ölçümü öncesinde kullanılacak reaktifler hazırlandı ve örnekler oda ısısına getirildi.

1. Örnekler hazırlanmış tampon çözeltisi ile 1/5 oranında seyreltildi.
2. Plate üzerinde blank, standart ve örneklerin yeri tanımlandı.
3. Blank için 200 μl distile su, standartlar için hazırlanan hacimlerde 200 μl chloramine-T ve seyreltilmiş örneklerden 200 μl alındı ve kuyucuklara sırasıyla pipetlendi.
4. Daha sonra tüm kuyucuklara 20 μl asetik asit ve 10 μl hazırlanmış KI çözeltisinden eklendi.
5. Ölçüm için, Thermo Scientific/MultiscanGo UV cihazı kullanıldı ve 340 nm dalga boyunda okuma yapıldı.

3.4.3. Total Antioksidan Status ve Total Oksidan Status Spektrofotometrik Ölçümü

Total Antioksidan Status (TAS) ve Total Oksidan Status (TOS) spektrofotometrik ölçümü Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez Biyokimya Laboratuvarında Abbot Architect C-8000 marka otoanalizörde yapılmıştır.

Total Antioksidan Status (TAS): Total antioksidan kapasite Erel tarafından geliştirilmiş Rel Assay marka kit (Rel Assay Kit Diagnostics, Türkiye) kullanılarak ölçüldü. E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kalibratör olarak kullanıldı. Sonuçlar mmol Trolox equiv./lt şeklinde ifade edildi (Erel 2004).

Total Oksidan Status (TOS): Total oksidan kapasite Erel tarafından geliştirilmiş Rel Assay marka kit (Rel Assay Kit Diagnostics, Türkiye) kullanılarak ölçüldü. Hidrojen peroksit kalibratör olarak kullanıldı. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equiv./lt şeklinde ifade edildi (Erel 2005).

Oksidatif Stres İndeksi (OSİ): Total oksidan kapasitenin total antioksidan kapasitesine oranının yüzde derecesi olarak ifade edilen OSİ hesaplanırken, TAS sonucu gösterimindeki mmol değeri TOS sonucu gösterimindeki μmol birimine dönüştürüldü. Sonuçlar “arbitrary unit” (AU) olarak ifade edildi ve aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı (Erel 2005).

$$\text{OSİ} = \frac{\text{TOS, } \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ equiv./lt}}{\text{TAS, mmol Trolox equiv./lt} \times 10}$$

3.4.4. Rutin Biyokimyasal Analizler

Glukoz (heksokinaz yöntemi), Total protein (Biüret yöntemi) ve Albumin (Brom crozel green yöntemi) parametleri ölçümü Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez Biyokimya Laboratuvarında Abbot Architect C-8000 marka otoanalizörde ticari kitler kullanılarak yapıldı. Sonuçlar glukoz mg/dl, total protein ve albumin g/dl olarak ifade edildi.

3.5. TNF-Alfa, IL-6, AGE, sRAGE Düzeylerinin Elisa Yöntemi ile Ölçümü

3.5.1. TNF-Alfa Tayini:

TNF-Alfa tayini için sandviç ELİSA yöntemi ile çalışan (Diasource TNF- α -ELİSA Kit, Cat. No.: KAP1751) marka ticari kit kullanıldı. Ölçüm için, Thermo Scientific/MultiscanGo UV cihazı kullanıldı ve plakalardaki optik dansite (OD) 650 nm’ye karşı 450 nm’de okuma yapılarak değerlendirildi. Konsantrasyonlar 4P-logic kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplandı. Sonuç pg/ml olarak ifade edildi. Analiz aralığı 7-518 pg/ml ve hassasiyet 0,7 pg/ml’dir. Presizyon, intra-assay CV < 6,6 %, inter-assay CV < 4,5 % tir.

3.5.2. IL-6 Tayini:

IL-6 tayini için sandviç ELİSA yöntemi ile çalışan (Diasource IL-6 Kit, Cat. No.: KAP1261) marka ticari kit kullanıldı. Ölçüm için, Thermo Scientific/MultiscanGo UV cihazı kullanıldı ve plakalardaki optik dansite (OD) 650 nm’ye karşı 450 nm’de okuma yapılarak değerlendirildi. Konsantrasyonlar 4P-logic kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplandı.

Sonuç pg/ml olarak ifade edildi. Analiz aralığı 23,3-2560 pg/ml ve hassasiyet 2 pg/ml'dir. Presizyon, intra-assay CV< 4,2 %, inter-assay CV< 4,4 % tir.

3.5.3. AGE Tayini

AGE tayini için sandviç ELİSA yöntemi ile çalışan (Cloud-Clone Corp. Advanced Glycation End Product (AGE), Cat. No.: CEB353Ge) marka ticari kit kullanıldı. Ölçüm için, Thermo Scientific/MultiscanGo UV cihazı kullanıldı ve plakalardaki optik dansite (OD) 450 nm'de okuma yapılarak değerlendirildi. Konsantrasyonlar 4P-logic kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplandı. Sonuç ng/ml olarak ifade edildi. Analiz aralığı 98,8-8000 ng/ml ve hassasiyet 33,8 ng/ml'dir. Presizyon, intra-assay CV< 5,3 %, inter-assay CV< 5,5 % tir.

3.5.4. sRAGE Tayini

sRAGE tayini için sandviç ELİSA yöntemi ile çalışan (BioVendor Human sRAGE, Cat. No.: RD191116200R) marka ticari kit kullanıldı. Ölçüm için, Thermo Scientific/MultiscanGo UV cihazı kullanıldı ve plakalardaki optik dansite (OD) 630 nm'ye karşı 450 nm'de okuma yapılarak değerlendirildi. Konsantrasyonlar 4P-logic kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplandı. Sonuç pg/ml olarak ifade edildi. Analiz aralığı 50-3200 pg/ml ve hassasiyet 19,2 pg/ml'dir. Presizyon, intra-assay CV= 4,0 %, inter-assay CV=7,2 % tir.

3.6. İstatiksel Analiz

Grupların istatiksel olarak tanımlanmasında grup sayısı (N), Ortalama (Mean), Standard Sapma (SD), Ortanca (Median), 25.percentil ve 75.percentil değerleri verilmiştir. Ayrıca grupların normal dağılım gösterip göstermediğini belirlemek için Kolmogorov-Smirnov normalite testi kullanıldı. $p<0,05$ değerinden küçük olan gruplar normal dağılım göstermemektedir.

Grupların karşılaştırılmasında, normal dağılıma uyan gruplar için Tek-yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) testi $p<0,05$ düzeyinde değerlendirildi. Anlamlı farklılık gösteren grupları karşılaştırmak için Bonferroni düzeltmeli Post-hoc analizi yapıldı.

Normal dağılıma uymayan gruplar için ise Tek-yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) testinin karşılığı olan Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Gruplar arasında anlamlı fark $p<0,05$ düzeyinde değerlendirildi. Fark çıkan grupların ikili karşılaştırılması için Bonferroni

düzeltilmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı. Farklılık görülen parametrelerde gruplar box-whisker grafisi ile gösterildi.

Normal dağılıma uyan gruplar arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinde Pearson Korelasyon Analizi kullanıldı. Normal dağılıma uymayan gruplar kıyaslanırken non-parametrik korelasyon analizi olan Spearman korelasyon kullanıldı. Gruplar arasında anlamlı ilişki $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi. İstatistiksel analiz için MedCalc (versiyon 15.8) istatistik programı kullanıldı.



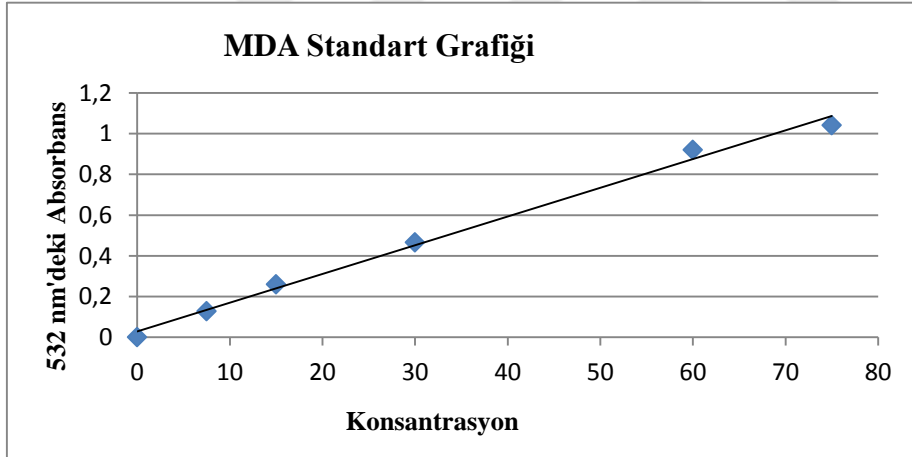
4. BULGULAR

4.1. Grupların Yaş Dağılımı

Çizelge 4.1. Grupların Yaş Dağılımı

Grupların Yaş Dağılımı					
	Mean± SD	Median	25.P	75.P	p Değeri
Kontrol (1)	28,4±7,44	26,5	22	35	p=0,0587
Krizli Orak Hücre Anemi (2)	28,3±8,35	26	21	35	p=0,0639
Krizsiz Orak Hücre Anemi (3)	28,4±6,79	28,5	22	34	p>0,10

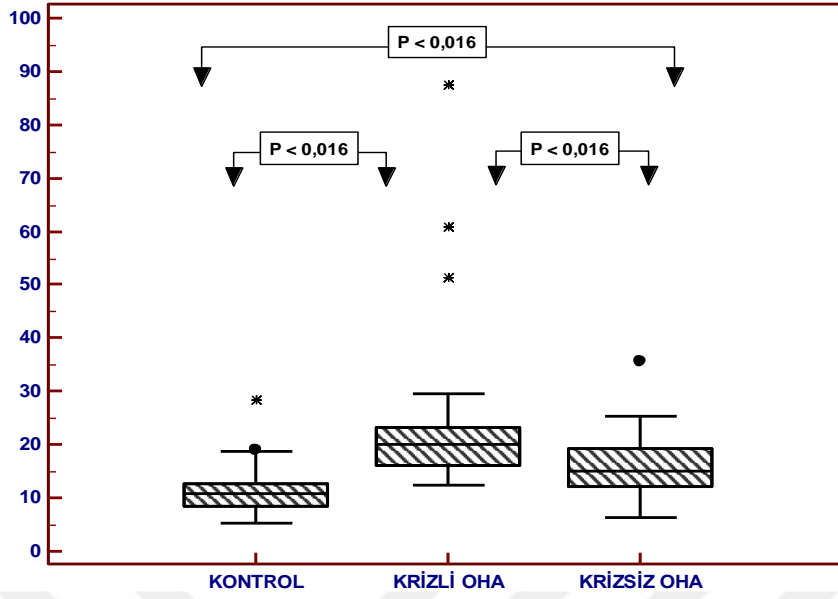
4.2. MDA Standart Grafiği ve Grupların Serum MDA Düzeylerinin Karşılaştırılması



Şekil 4.1. MDA Standart Grafiği. Regresyon denklemi $y=0,0141x+0,0279$ $R^2 = 0,9941$

Çizelge 4.2. Grupların Serum MDA Miktarları

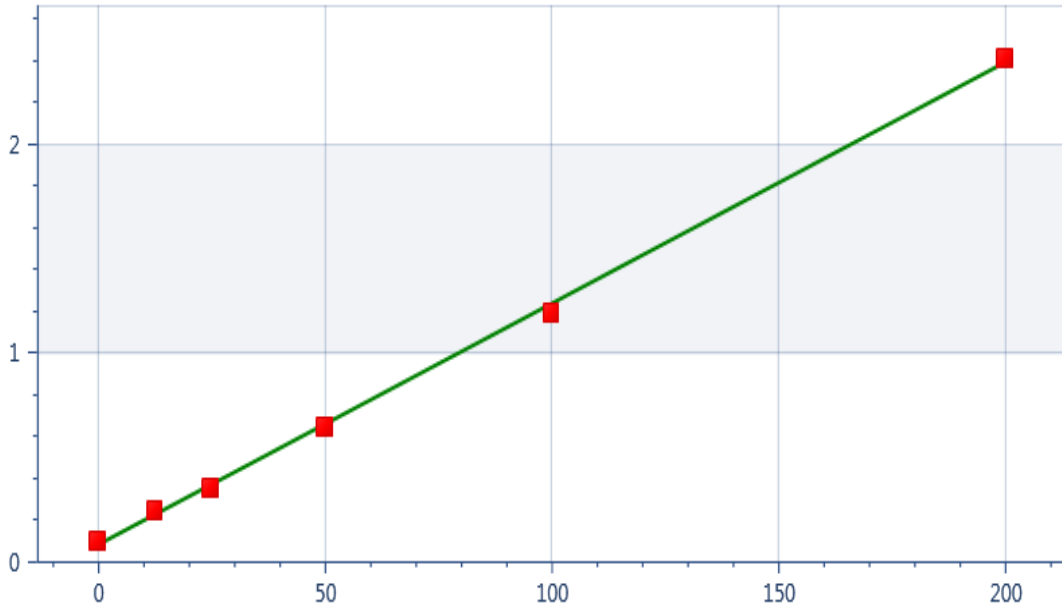
Grupların Serum MDA Miktarı (nmol/mg protein)					
	Mean± SD	Median	25.P	75.P	p Değeri
Kontrol (1)	11,8±4,98	10,7	8,4	12,6	p<0,016
Krizli Orak Hücre Anemi (2)	23,9±15,8	20	16,1	23,1	
Krizsiz Orak Hücre Anemi (3)	16,1±6,42	14,9	12	19,1	



Şekil 4.2. Grupların Serum MDA Miktarlarının Karşılaştırılması. □, ● istatistiksel modelde dışlanan değerler

Serum MDA düzeyi hem krizli ve krizsiz orak hücre anemi grubunda kontrol grubuna göre hemde krizli orak hücre anemi grubunda krizsiz orak hücre anemi grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

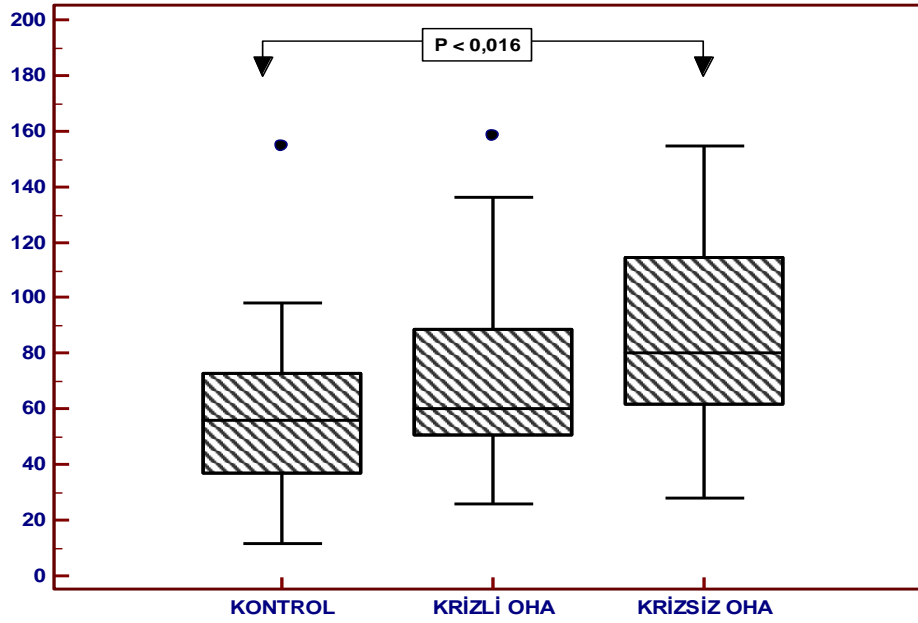
4.3.AOPP Standart Grafiği ve Grupların Serum AOPP Miktarlarının Karşılaştırılması



Şekil 4.3. AOPP Standart Grafiği. x eksenini 340 nm'deki absorbans, y eksenini konsantrasyonu göstermektedir. Regresyon denklemi $y = 0,0115274x + 0,0884057$ $R^2: 0,999$

Çizelge 4.3. Grupların Serum AOPP Düzeyi

Grupların Serum AOPP Düzeyi						
	Mean± SD	Median	25.P	75.P	p Değeri	
Kontrol (1)	58±29,2	55,9	37,2	72,8	p<0,016	1&3 1&2, 2&3 N.S
Krizli Orak Hücre Anemi (2)	71,1±33,6	60,3	50,9	88,4		
Krizsiz Orak Hücre Anemi (3)	86,3±36,4	80,2	61,9	114,4		



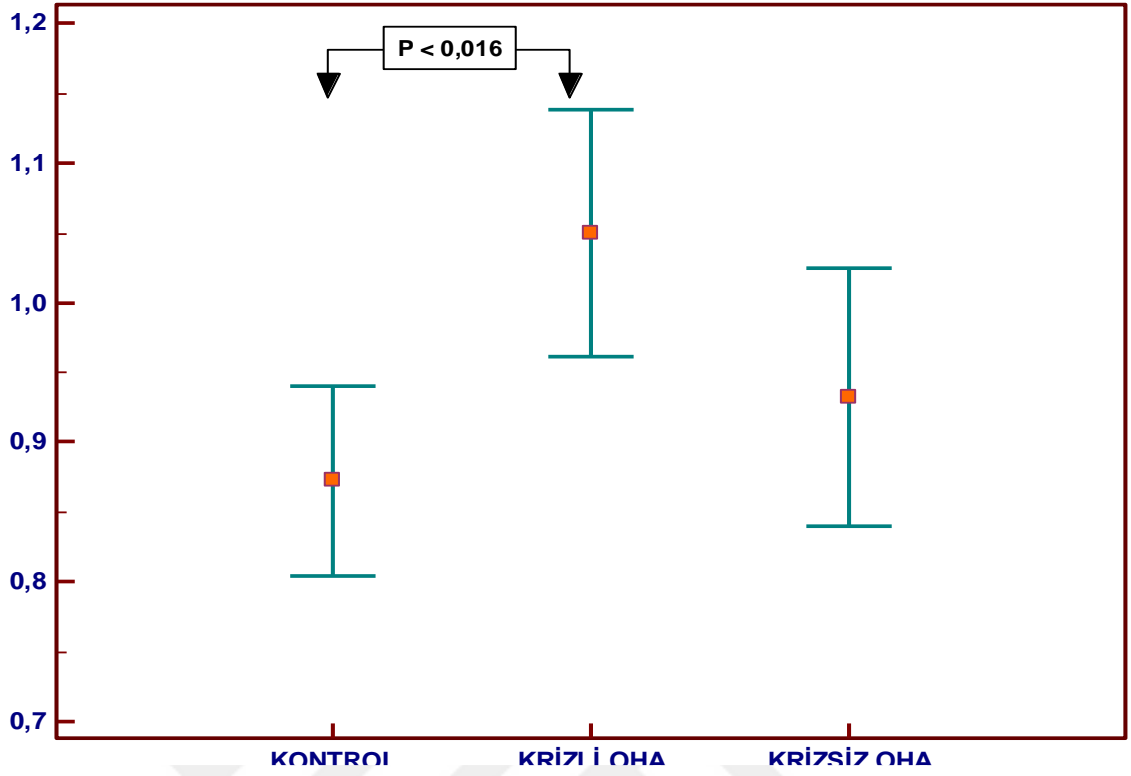
Şekil 4.4. Grupların Serum AOPP Miktarlarının Karşılaştırılması. ●, istatistiksel modelde dışlanan değerler

Krizsiz orak hücre anemi grubunda serum AOPP düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

4.4. Grupların Serum TAS-TOS Konsantrasyonları, OSİ Değerleri ve Karşılaştırılması

Çizelge 4.4. Grupların Serum TAS Konsantrasyonu

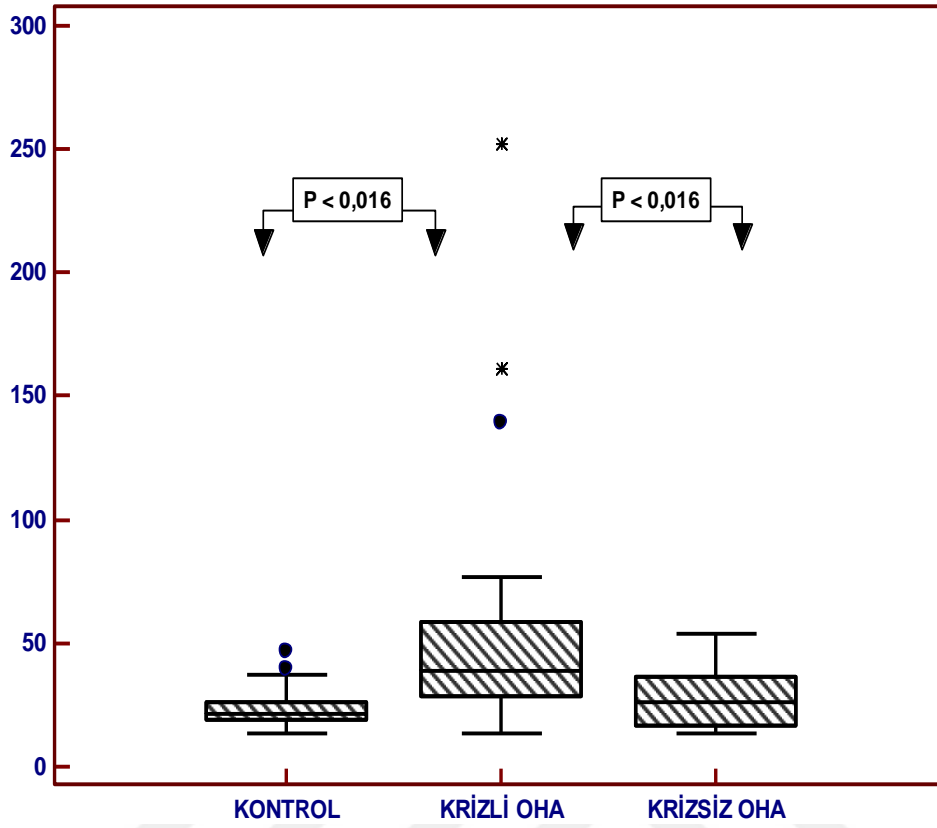
Grupların Serum TAS Konsantrasyonu (mmol/L)						
	Mean± SD	Median	25.P	75.P	p Değeri	
Kontrol (1)	0,87±0,18	0,86	0,77	0,96	p<0,016	1&2 1&3, 2&3 N.S
Krizli Orak Hücre Anemi (2)	1,04±0,2	1,06	0,81	1,22		
Krizsiz Orak Hücre Anemi (3)	0,93±0,2	0,98	0,76	1,1		



Şekil 4.5. Grupların Serum TAS Konsantrasyonu Karşılaştırılması

Çizelge 4.5. Grupların Serum TOS Konsantrasyonu

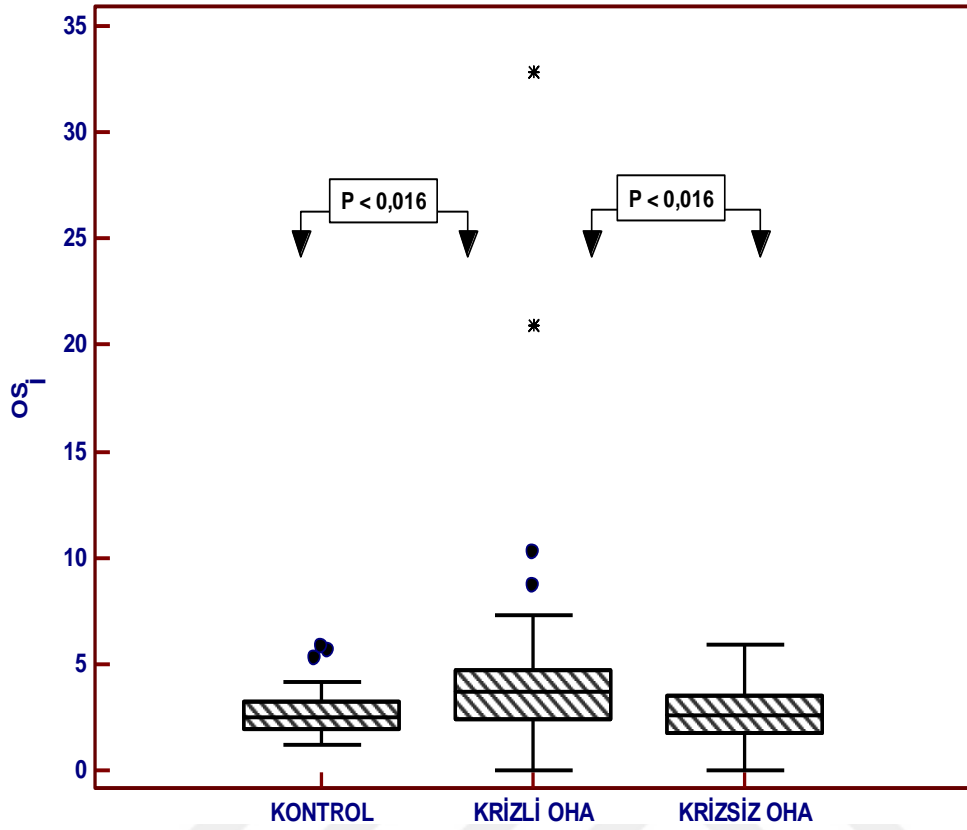
Grupların Serum TOS Konsantrasyonu (umol/L)						
	Mean± SD	Median	25.P	75.P	p Değeri	
Kontrol (1)	23,2±7,79	21,5	18,7	26,2	1&2, 2&3	1&3
Krizli Orak Hücre Anemi (2)	54,7±51	38,3	28,6	58,8	p<0,016	N.S
Krizsiz Orak Hücre Anemi (3)	27,2±11,1	26,3	16,9	36,4		



Şekil 4.6. Grupların serum TOS Konsantrasyonu Karşılaştırılması. □,● istatistiksel modelde dışlanan değerler

Çizelge 4.6. Grupların Serum OSİ Değeri

Grupların Serum OSİ Değeri						
	Mean± SD	Median	25.P	75.P	p Değeri	
Kontrol (1)	2,82±1,21	2,51	1,95	3,26	1&2, 2&3 p<0,016	1&3 N.S
Krizli Orak Hücre Anemi (2)	5,34±6,47	3,64	2,41	4,72		
Krizsiz Orak Hücre Anemi (3)	2,61±1,45	2,57	1,73	3,51		



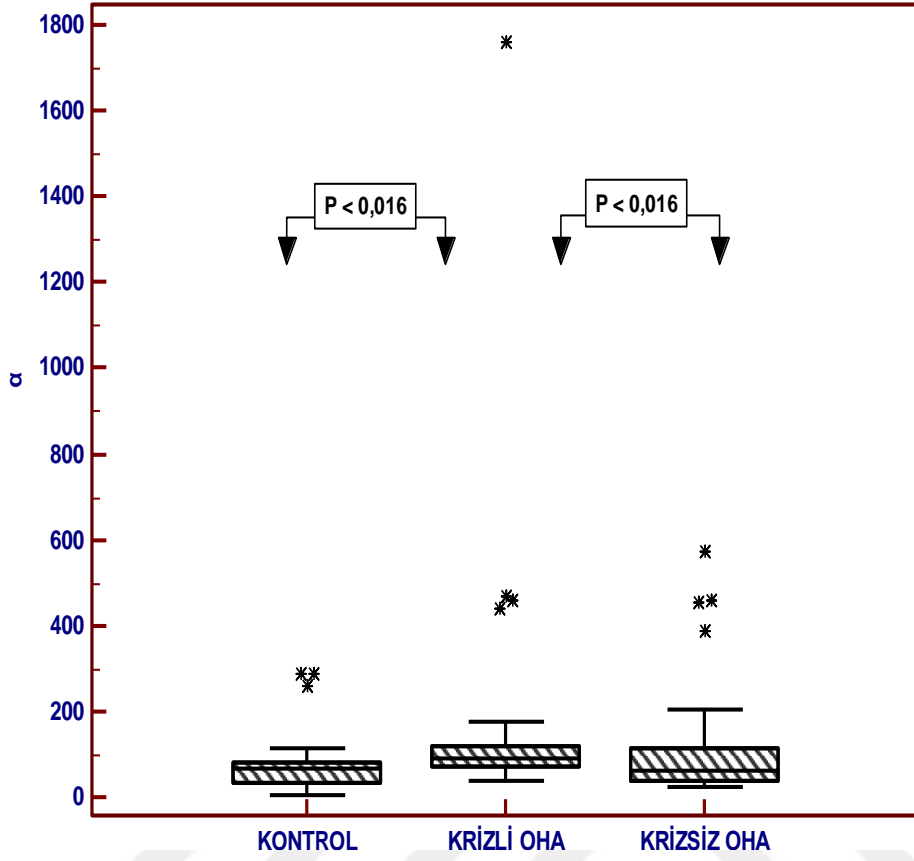
Şekil 4.7. Grupların serum OSİ Değeri Karşılaştırılması. □,● istatistiksel modelde dışlanan değerler

Krizli orak hücre anemi grubunda TOS ve OSİ değerleri hem krizsiz orak hücre anemi grubuna hemde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

4.5. Grupların Serum TNF- α ve IL-6 Düzeyleri ve Karşılaştırılması

Çizelge 4.7. Grupların Serum TNF- α Düzeyi

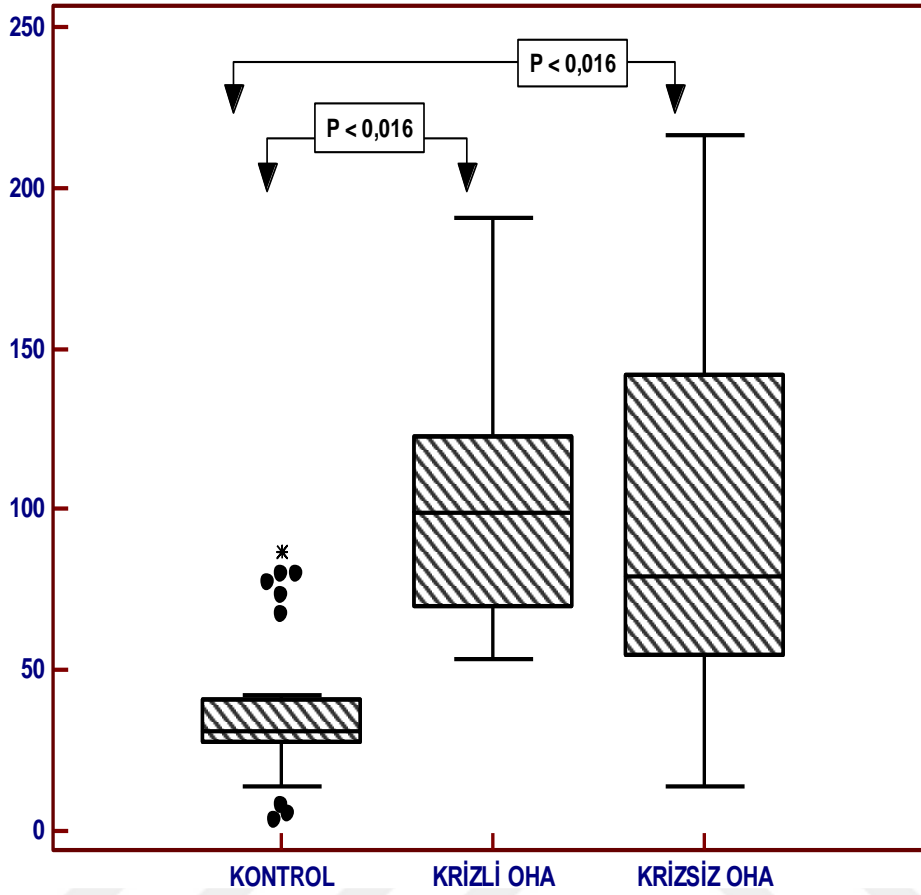
Grupların Serum TNF- α Düzeyi (pg/mL)						
	Mean \pm SD	Median	25.P	75.P	p Değeri	
Kontrol (1)	80 \pm 76,3	67	31,4	80,8	1&2, 2&3 p<0,016	1&3 N.S
Krizli Orak Hücre Anemi (2)	182 \pm 319	92,4	69,7	117,4		
Krizsiz Orak Hücre Anemi (3)	120 \pm 147	63,4	37,3	116		



Şekil 4.8. Grupların serum TNF- α Düzeylerinin Karşılaştırılması. □, istatistiksel modelde dışlanan değerler.

Çizelge 4.8. Grupların Serum IL-6 Düzeyi

Grupların Serum IL-6 Düzeyi (pg/mL)						
	Mean± SD	Median	25.P	75.P	p Değeri	
Kontrol (1)	37±23,4	31	28	41	1&2, 1&3 p<0,016	2&3 N.S
Krizli Orak Hücre Anemi (2)	99,4±33,7	99,1	69,8	122,5		
Krizsiz Orak Hücre Anemi (3)	93,5±54,4	79,3	54,7	141,8		



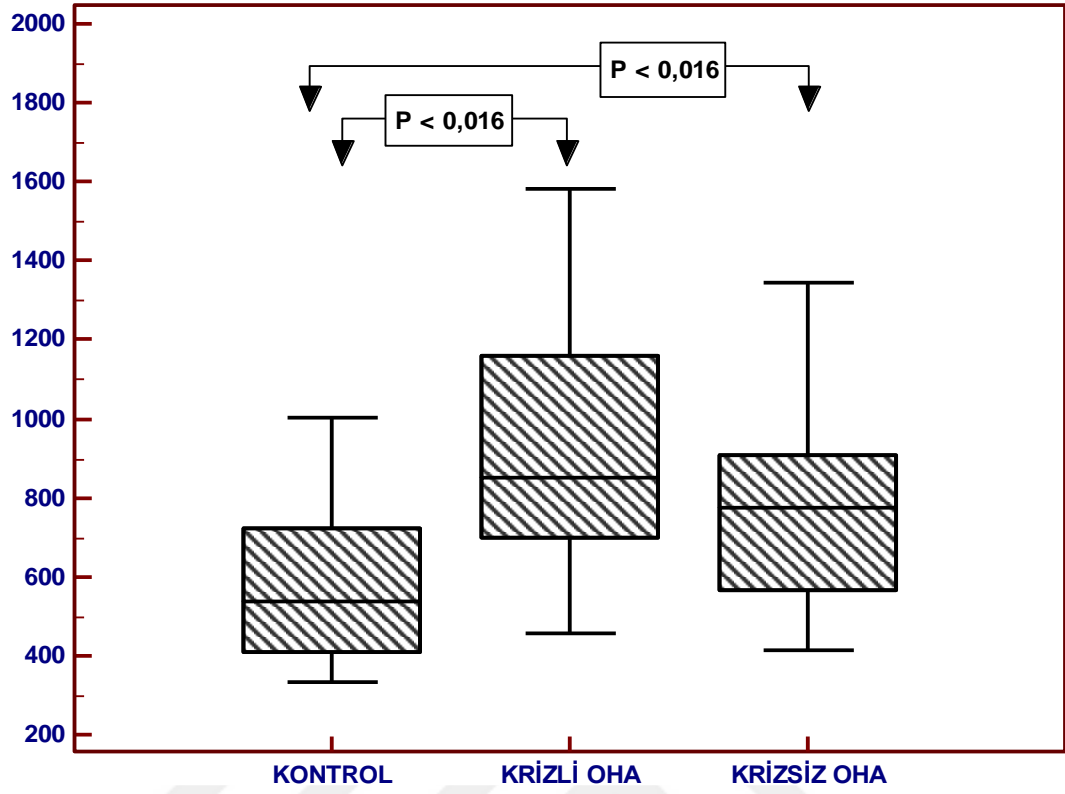
Şekil 4.9. Grupların Serum IL-6 Düzeylerinin Karşılaştırılması. □, ● istatistiksel modelde dışlanan değerler

Serum IL-6 düzeyi krizli ve krizsiz orak hücre anemi grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

4.6. Grupların Serum AGE Düzeyleri ve Karşılaştırılması

Çizelge 4.9. Grupların Serum AGE Düzeyi

Grupların Serum AGE Düzeyi (ng/mL)						
	Mean± SD	Median	25.P	75.P	p Değeri	
Kontrol (1)	592±224,9	535	408	723	p<0,016	2&3 N.S
Krizli Orak Hücre Anemi (2)	918±282	850	699	1158		
Krizsiz Orak Hücre Anemi (3)	769±228	776	564	907		



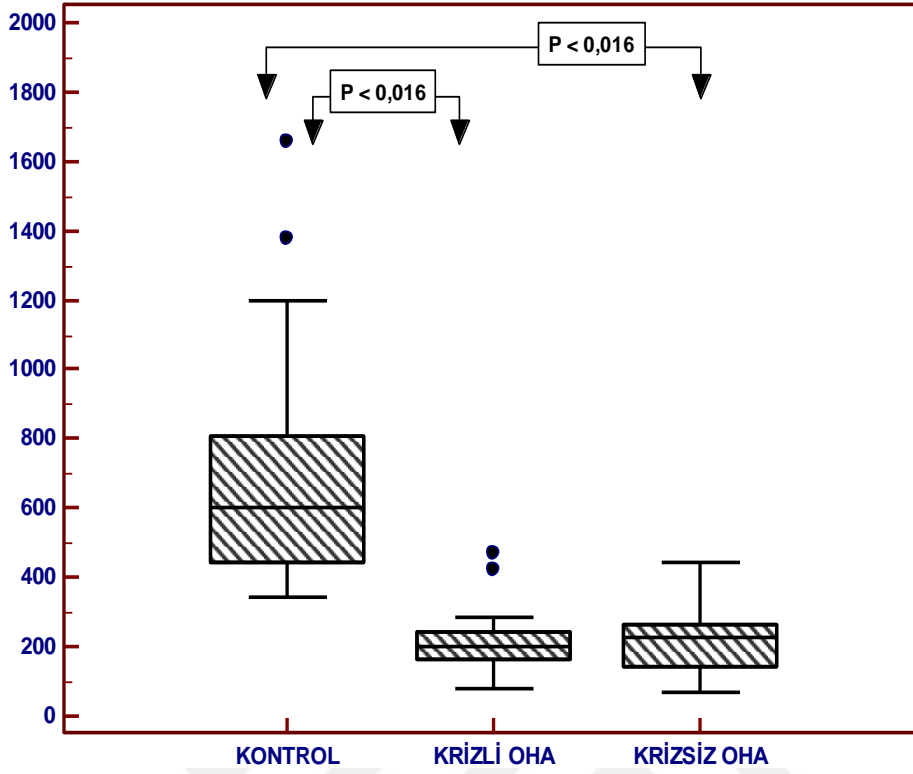
Şekil 4.10. Grupların Serum AGE Düzeylerinin Karşılaştırılması

Serum AGE düzeyi krizli ve krizsiz orak hücre anemi grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

4.7. Grupların Serum sRAGE Düzeyleri ve Karşılaştırılması

Çizelge 4.10. Grupların Serum sRAGE Düzeyi

Grupların Serum sRAGE Düzeyi (pg/mL)						
	Mean± SD	Median	25.P	75.P	p Değeri	
Kontrol (1)	682±327	602	444,6	809,8	1&2, 1&3 p<0,016	2&3 N.S
Krizli Orak Hücre Anemi (2)	210±82	200	165	241,6		
Krizsiz Orak Hücre Anemi (3)	211±90	225	142	263		



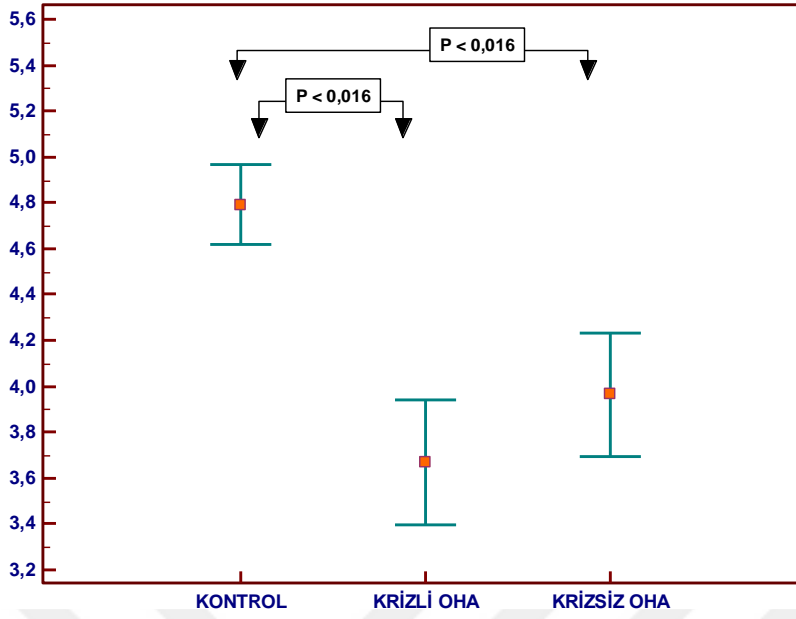
Şekil 4.11. Grupların Serum sRAGE Düzeylerinin Karşılaştırılması. •, istatistiksel modelde dışlanan değerler.

Serum sRAGE düzeyi krizli ve krizsiz orak hücre anemi grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur.

4.8. Grupların Albümin Miktarı ve Karşılaştırılması

Çizelge 4.11. Grupların Serum Albumin Miktarı

Grupların Serum Albumin Miktarı (g/dL)						
	Mean± SD	Median	25.P	75.P	p Değeri	
Kontrol (1)	4,79±0,46	4,72	4,5	5,13	1&2, 1&3 p<0,016	2&3 N.S
Krizli Orak Hücre Anemi (2)	3,66±0,73	3,66	3,3	4,2		
Krizsiz Orak Hücre Anemi (3)	3,96±0,72	4,12	3,6	4,5		



Şekil 4.12. Grupların Serum Albumin Miktarı Karşılaştırılması

Serum albumin miktarı krizli ve krizsiz orak hücre anemi grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur.

4.9. Grupların Serum Glukoz ve Total Protein Miktarları

Çizelge 4.12. Grupların Serum Glukoz Miktarı

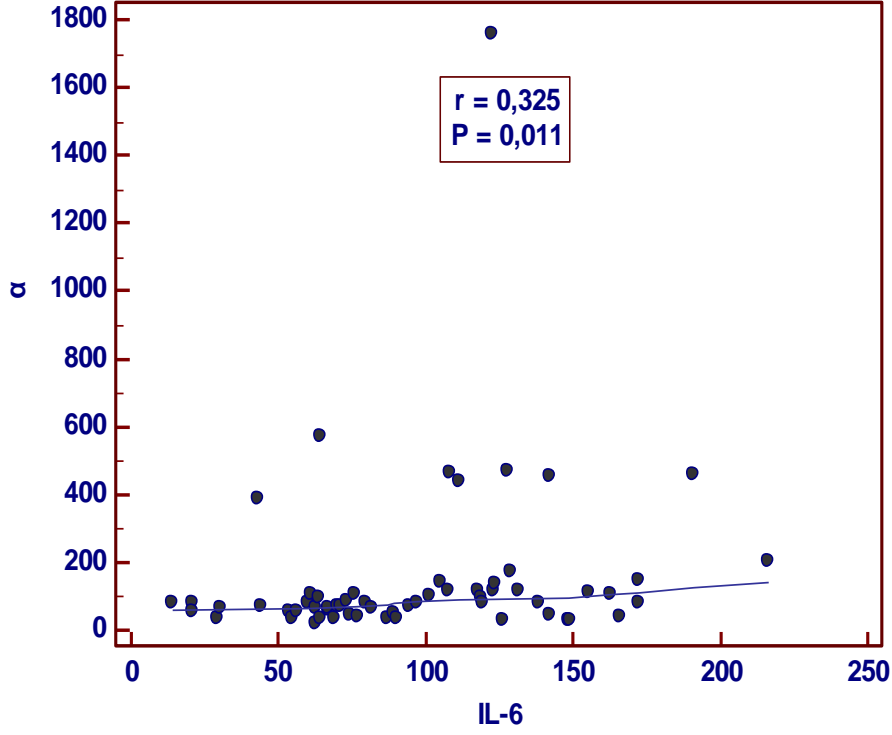
Grupların Serum Glukoz Miktarı (mg/dL)					
	Mean± SD	Median	25.P	75.P	p Değeri
Kontrol (1)	87,3±14,5	86,5	79	92	p<0,05
Krizli Orak Hücre Anemi (2)	93,3±15,7	92,9	84,1	99	
Krizsiz Orak Hücre Anemi (3)	86,2±9,8	85,6	80	90	

Çizelge 4.13. Grupların Serum Total Protein Miktarı

Grupların Serum Total Protein Miktarı (g/dL)					
	Mean± SD	Median	25.P	75.P	p Değeri
Kontrol (1)	6,96±0,69	6,89	6,5	7,3	p>0,10
Krizli Orak Hücre Anemi (2)	6,73±0,9	6,6	6,1	7,4	
Krizsiz Orak Hücre Anemi (3)	6,99±1,1	7,25	6,3	7,8	

Serum glukoz ve total protein miktarı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır.

Gruplar arası ilişkiyi karşılaştırmak amacıyla korelasyon analizi yapıldı. TAS-TOS ($r=0,291$ ve $p=0,032$), TOS-OSİ ($r=0,833$ ve $p<0,001$) ve TNF- α -IL-6 ($r=0,325$ ve $p=0,011$) parametreleri arasında pozitif korelasyon bulunmuştur.



Şekil 4.13. TNF- α -IL-6 Korelasyon Analizi

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında yetişkin orak hücre anemili krizli ve krizsiz hastalar ile sağlıklı kontrollerden alınan kan örneklerinde oksidatif stres ve enflamasyon ile ileri glikasyon son ürünlerini ve reseptörlerini incelemeyi amaçladık. Bu amaçla sistemik oksidatif stres belirteci olarak serum MDA, AOPP, TAS, TOS ve OSİ parametreleri, enflamasyon belirteci olarak TNF- α ve IL-6, ileri glikasyon son ürünleri olarak da AGE ve reseptörü sRAGE ölçülerek karşılaştırılmıştır. Literatürde yetişkin orak hücre anemi hastalarında oksidatif stres parametreleri ile ileri glikasyon son ürünü olan AGE ve reseptörü sRAGE'yi birlikte ele alan bir çalışma mevcut olmadığından bu konuda yapılan ilk çalışmadır.

Çalışma sonucunda OHA hastalarında hem krizli hemde krizsiz orak hücre anemi grubunda serum MDA, AGE ve IL-6 parametreleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek iken, sRAGE düzeyi düşük bulunmuştur. Ayrıca krizli orak hücre anemi grubunda serum TNF- α , MDA, TOS, OSİ değerleri hem kontrol grubuna hem de krizsiz orak hücre anemi grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Ek olarak TAS parametresi krizli orak hücre anemi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek iken, AOPP düzeyi ise krizsiz orak hücre anemi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Bu çalışmada ayrıca parametreler arası korelasyon incelenmiştir. TOS'un TAS ve OSİ ile TNF- α 'nın IL-6 ile arasında düşük pozitif korelasyon görülmektedir.

Orak hücre anemisi hemoglobin sentezinde kalıtsal bir bozukluk olup, ağrı krizlerine ve çoklu organ hasarına neden olan yüksek morbidite ve mortalite gösteren önemli bir hastalıktır (Baliga ve ark. 2018). Birçok hastalığın patogeneğinde önemli bir role sahip olan oksidatif stres, orak hücre hastalarında hemoliz, damar tıkanıklığı ve organ hasarının patofizyolojisinde önemli bir role sahiptir. Oksidatif reaksiyon ürünleri ve reaktif oksijen türleri hastalık şiddetinin potansiyel belirteçidir (Nur ve ark. 2011). Reaktif oksijen türlerindeki artış lipit peroksidasyonuna yol açar ve lipit peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit oluşumuna neden olur (Esterbauer ve ark. 1991, Catalá 2006).

Literatürde orak hücre anemili hastaların MDA düzeyinin, kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu gösteren çalışmalar mevcuttur (Baliga ve ark. 2018, Bhoi ve ark. 2014). Bununla birlikte Elias ve ark. (2010) yapmış oldukları çalışmada krizli ve krizsiz orak hücre anemisi olan tüm hastaların MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığını göstermiştir. Bizim çalışmamızda da lipit peroksidasyonun göstergesi olarak krizli ve krizsiz orak hücre anemili hastalar ve kontrol grubunda MDA düzeyi ölçümü yapıldı. Önceki çalışmalarla uyumlu olarak, MDA düzeylerinin krizli orak hücre anemi hastalarında (MDA: 23,9±15,8 nmol/mg protein) hem krizsiz (MDA: 16,1±6,42 nmol/mg protein) hem de kontrol grubuna (MDA: 11,8±4,98 nmol/mg protein) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p<0,016$) arttığı saptanmıştır (Çizelge 4.2.). Ayrıca bu çalışmada krizsiz gruptaki MDA düzeyleri de kontrol gruptan yüksekti ($p<0,016$). MDA, hücredeki membranöz yapılarda bulunan lipit ve türevlerinin oksidasyonu sonucunda ortaya çıkar ve oksidatif hasarın indirek bir göstergesidir (Okorie ve ark. 2018). Buna göre krizli grupta daha belirgin olmak üzere tüm orak hücre hastalarının serumlarında yüksek bulunması MDA'nın bu hasta grubunda hasarın şiddetini öngörmede biyokimyasal bir markır olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada ayrıca serum AOPP düzeyleri de incelenmiş ve AOPP seviyesi krizsiz orak hücre anemi grubunda (AOPP: 86,3±36,4 $\mu\text{mol/L}$ Chloramine-T equivalents) kontrol grubuna (AOPP: 58±29,2 $\mu\text{mol/L}$ Chloramine-T equivalents) göre anlamlı derecede ($p<0,016$) yüksek olduğu saptanmıştır. (Çizelge 4.3.). Ancak krizli ile krizsiz hasta grubu arasında fark mevcut değildi. Literatürde orak hücre anemi hastalarında yapılan çalışmalarda orak hücre anemisi olan çocukların, sağlıklı kontrollere kıyasla AOPP seviyelerinin arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Möckesch ve ark. 2017, Chirico ve ark. 2012). AOPP'ler, MDA'dan farklı olarak proteinler üzerindeki oksidatif hasarın indirek bir göstergesi olup, myeloperoksidaz tarafından üretilen klorlu oksidanlarla albüminden oluşturulan plazma bileşikleridir. Bu artışın bir nedeni, OHA'da artan serbest radikaller sonucunda bozulan oksidatif denge ve ortaya çıkan oksidatif stresin proteinler üzerinde hasara yol açması olabilir.

Çalışmamızda yukarıdaki parametreler yanında oksidatif dengeyi, oksidatif stres ve anti oksidan kapasite şeklinde birlikte ele alan ve sistemik olarak değerlendirmeye olanak tanıyan serum TAS ve TOS ölçümleri yapılmış ve OSİ değerleri hesaplanmıştır. Literatürde, orak hücre anemi grubunun total antioksidan durumunun kontrol grubuna göre anlamlı

derecede daha düşük antioksidan kapasiteye sahip olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Olutogun ve ark. 2018, El-Ghamrawy ve ark. 2014). Bunun dışında serum total antioksidan durumun kriz durumdaki orak hücre hastalarında, krizsiz durumdaki orak hücre hastalarına göre anlamlı derecede düşük olduğu gözlenmiştir (Al-Naama ve ark. 2016, Fasola ve ark. 2014). El-Ghamrawy ve ark. (2014) yapmış olduğu çalışmada ise total antioksidan durum ile artmış vazooklüzif kriz sıklığı arasında bir ilişki olmadığını göstermiştir. Ek olarak total oksidan seviyenin ölçüldüğü daha önceki bazı çalışmalarda, orak hücre anemili bireylerde TOS'un kontrol grubuna göre daha yüksek seviyede olduğu gösterilmiştir (Erel 2005, El-Ghamrawny ve ark. 2014). Benzer şekilde Adegoke ve ark. (2018) yapmış olduğu bir çalışmada orak hücre anemili çocukların kontrol grubuna göre daha yüksek TOS değerlerine sahip oldukları vurgulanmıştır. Ayrıca bu çalışmanın diğer bir temel bulgusu da, vazooklüzif kriz sıklığı, artan toplam oksidan seviye ile artma eğilimi göstermektedir. Çalışmamızda TAS değerleri krizli orak hücre anemi hastalarında (TAS: 1,04±0,2 mmol/L) kontrol grubuna (TAS: 0,87±0,18 mmol/L) göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p<0,016). (Çizelge 4.4). TAS seviyesi genel olarak sistemik antioksidan kapasiteyi gösteren bir testtir. Buna göre krizli hastalardaki TAS yüksekliğinin OHA'lı hastalarda kompensasyon amaçlı antioksidan kapasitedeki artışla ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. Literatürde bazı başka çalışmalarda buna benzer şekilde hipoksiye adaptif yanıtının yüksek olduğu gösterilmiştir (Mansour ve ark. 2015). Bununla birlikte TOS değerlerini krizli grupta (TOS: 54,7±51 umol/L) kontrol gruba (TOS: 23,2±7,79 umol/L) göre istatistiksel derecede artmış olarak saptadık (p<0,016). Üstelik bu artış krizli grupta krizsiz gruba (TOS: 27,2±11,1 umol/L) göre de daha yüksekti (p<0,016). (Çizelge 4.5.). Bu artışı sistemik hipoksi ile karakterize OHA hastaları için beklenen bir bulgu olup krizli grupta daha yüksek olması TOS'un hastalığın şiddeti ile de ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu sonuç önceki çalışmalarla paralellik göstermektedir. Sistemik oksidatif dengenin hem TOS hem de TAS'daki değişimleri göz önüne alarak değerlendiren OSİ değerleri ise bu yönüyle daha güvenli bir yorumlama imkanı sunar. Krizli orak hücre anemisindeki OSİ değerleri (OSİ: 5,34±6,47) hem kontrol gruba (OSİ: 2,82±1,21) hem de krizsiz gruba (OSİ: 2,61±1,45) göre anlamlı derecede (p<0,016) yüksekti. (Çizelge 4.6.).

Buna göre OSİ yüksekliğindeki artışın TAS seviyesindeki artışa rağmen TOS seviyesindeki artışın daha belirgin olmasından dolayı olduğu söylenebilir. Diğer bir ifade ile

krizli grupta kompensasyon amaçlı TAS artışına rağmen TOS yüksekliği daha belirgin olup oksidatif denge, oksidatif hasar yönünde bozulmuştur.

Oksidatif stres ile ilişkili olarak hem akut hem de kronik inflamasyonun orak hücre anemisinin patofizyolojisinde giderek daha fazla rol oynadığı kabul edilmektedir. Vazooklüzif kriz, orak hücre anemisi olan hastaların yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen önemli morbiditeye neden olan yaygın bir komplikasyondur. Vazooklüzyona bağlı doku hasarı, ağrılı uyarıların ve ağrı algısının iletilmesini başlatan çeşitli inflamatuvar mediatörleri serbest bırakır. Mikrosirkülasyon ve enfeksiyonların ortaya çıkması, sitokin ve akut faz proteinlerinin üretimini uyaran önemli faktörlerden olduğu bilinmektedir. Orak hücre anemide sitokinler, vasküler endotelyumda kırmızı-hücre yapışkanlığının indüklenmesi, endotele nötrofil yapışkanlığının indüklenmesi, vasküler intimal hiperplazinin gelişimi, trombosit aktivasyonu ve vasküler endotelial aktivasyonu patogenezinde çeşitli mekanizmalarla ilişkili gibi görülmektedir. Ayrıca sitokinlerin hemopoezisin düzenlenmesi ve bağışıklık fonksiyonlarının inhibisyonunda da rol oynadığı düşünülmektedir (Makis ve ark. 2000). Sitokinler içerisinde ise TNF- α , makrofaj işlevinin birçok yönünü düzenleyen güçlü bir pro-inflamatuvar ajandır. Travma ve enfeksiyona maruz kaldıktan sonra hızla yayıldığı ve iltihaplı dokuda en bol bulunan erken mediyatörlerden biri olduğu gösterilmiştir (Parameswaran ve Patial 2010). Diğer taraftan önemli başka bir sitokin olan IL-6, doku yaralanması ve enfeksiyonlara karşı cevap olarak ani ve geçici olarak üretildiği bilinmektedir. Akut faz yanıtları, hematopoez ve bağışıklık reaksiyonlarının uyarılması yoluyla konakçı savunmaya katkıda bulunur (Tanaka ve ark. 2014). Literatürde orak hücre anemi hastalarında yapılan çalışmalar proinflamatuvar durumun göstergesi olan TNF- α seviyesinin orak hücre anemi hastalarında krizli ve krizsiz dönemde, kontrol grubu hastalarına göre anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermiştir (Sarray ve ark. 2015, Tavakkoli ve ark. 2004). Bir başka çalışmada ise orak hücre hastalarının kriz sırasındaki seviyeleri krizsiz duruma göre kıyasla anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır (Qari ve ark. 2011). Yapılan başka bir çalışmada ise orak hücre anemi hastalarının krizli dönemde hem TNF- α hem de IL-6 seviyelerinin krizsiz döneme göre daha yüksek olduğu göstermiştir (Pathare ve ark. 2004). Taylor ve ark. (1996) yapmış olduğu başka bir çalışmada orak hücre anemili hastalarda serum IL-6 düzeyinin orak hücre hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermiştir. Bunun dışında TNF- α ve IL-6 seviyelerinin kontrol ve hasta grubu arasında farklılık olmadığını gösteren çalışma da

yer almaktadır (Gonzalez ve ark. 1998). Çalışmamızda krizli orak hücre anemi grubunda (TNF- α : 182 \pm 319 pg/mL) serum TNF- α düzeyi hem krizsiz orak hücre anemi (TNF- α : 120 \pm 147 pg/mL) grubuna hemde kontrol grubuna (TNF- α : 80 \pm 76,3 pg/mL) göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p<0,016). Ayrıca serum IL-6 düzeyinin hem krizli orak hücre anemi (IL: 99,4 \pm 33,7 pg/mL) hemde krizsiz orak hücre anemi (IL-6: 93,5 \pm 54,4 pg/mL) grubunda kontrol grubuna (IL-6: 37 \pm 23,4 pg/mL) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığını saptadık (p<0,016). Ancak krizli ve krizsiz orak hücre anemi grupları arasında fark mevcut değildi. Sistemik oksidatif stres artışına eşlik eden inflamasyon artışı önceki çalışmalarla uyumlu olup beklenen bir bulgudur.

Çalışmamızda önceki çalışmalardan farklı olarak AGE ve onun çözünebilir reseptör formu olan sRAGE reseptörü incelenmiştir. AGE'nin dokulardaki birikimi, diyabet, ateroskleroz, yaşlanma ve Alzheimer hastalığının mikrovasküler patolojilerinde yer almaktadır (King ve Browlee 1996, Brownlee 2000, Baynes 2001, Picklo ve ark. 2002, Peppia ve ark. 2004). AGE'ler, Maillard reaksiyonundaki protein ve karbonhidratların enzimatik olmayan reaksiyonu sonucunda hücrelerin içinde oluşan heterojen bir bileşik grubudur. Reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi veya azalan antioksidan durum nedeniyle oluşan oksidatif stres, AGE sentezini ve doku birikimini artırır. Somjee ve ark. (2004) AGE'lerin orak hücre aneminin vasküler patolojisinde rol oynayabileceği hipotezini test etmek amacıyla krizli ve krizsiz orak hücre anemi hastalarda plazma ve RBC AGE düzeylerini sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırmışlar. Plazma AGE düzeylerini krizli ve krizsiz orak hücre anemi hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek, RBC AGE düzeylerini ise krizli ve krizsiz orak hücre anemi hastalarda kontrol gruba göre anlamlı derecede düşük olarak saptamışlardır. Bunun dışında RBC AGE birikim hızını incelemişler ve RBC AGE birikim hızının orak hücre anemili hastalarda kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğunu ancak krizli orak hücre anemisi ve krizsiz orak hücre anemi hastaları arasında fark olmadığını göstermişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada AGE'lerin pentosidin ve CML plazma seviyelerinin, krizsiz orak hücre anemi hastalarında, sağlıklı kontrol grubuna kıyasla, ağırlı kriz sırasında daha fazla artış olmaksızın, daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir (Nur ve ark. 2010). Diaw ve ark. (2015) yapmış olduğu çalışmada sağlıklı kontrol, tip 2 diyabet hastaları, orak hücre hastaları ve hem tip 2 diyabet hemde orak hücre hastalarında AGE seviyesini incelemiş ve diyabetli iki grubun, kontrol ve orak hücre anemili bireylere kıyasla

daha yüksek AGE seviyelerine sahip olduğunu göstermiştir. Ek olarak hem tip 2 diyabeti hem de orak hücre anemi hastalığı olan grubun AGE seviyelerini tip 2 diyabetli hastalara göre daha yüksek olduğunda belirtmişlerdir. Her iki çalışmada da sRAGE düzeyleri değerlendirilmemiştir. Bizim çalışmamızda serum AGE seviyesi krizli (AGE: 918±282 ng/mL) ve krizsiz (AGE: 769±228 ng/mL) orak hücre anemi grubunda kontrol grubuna (AGE: 592±224,9 ng/mL) kıyasla anlamlı derecede yüksek çıkmıştır ($p<0,016$) ve önceki çalışmalarla paralellik göstermektedir.

Bununla birlikte bu çalışmada sRAGE düzeyleri de değerlendirildi. RAGE'nin çözünebilir formu olan sRAGE dolaşımında bulunur. sRAGE sitozolik ve transmembran bölgeleri olmayan RAGE ekstrasellüler alanına karşılık gelir. Literatürde hastalıkların sRAGE seviyelerini birçok bozuklukta oksidatif strese bağlayan kanıtlar mevcuttur. Safwat ve Kenny (2018) orak hücre anemi hastalarında serum sRAGE seviyesini inceleyen ilk çalışmayı yapmışlardır. sRAGE düzeylerinin orak hücre anemi vasküler patolojisinde rol oynayabileceğini test etmişler ve sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında orak hücre anemi hastalarının sRAGE seviyesinin anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermişlerdir. sRAGE seviyesindeki bu artışın nedeni serum AGE'lerin seviyelerindeki artışa bağlı olarak MMP-9'un ekspresyonu ve üretiminin indüklenmesidir. Ayrıca, AGE'nin RAGE ile etkileşimi ROS'un artışı ile sonuçlanır. Artan ROS MMP'lerin ekspresyonunu ve aktivitesini artırarak RAGE çözülmesini tetikler ve sonuçta serumda sRAGE seviyesi yükselir (Prasad 2006, Siwik ve ark. 2001). Bunun dışında literatürde sRAGE düzeyinin kontrol gruba göre anlamlı derecede azaldığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Mokbel ve ark. (2011) romatoid artrit hastalarında yapmış oldukları çalışmada hasta grubun sRAGE düzeyini kontrol gruba göre anlamlı olarak düşük bulmuşlardır. Glasnovic ve ark. (2014) ise multi skleroz hastalarının beyin omurilik sıvısında sRAGE düzeyini incelemişler ve multi skleroz hasta grubunda sRAGE düzeyini kontrol gruba göre anlamlı olarak düşük bulmuşlardır. Bu düşüklüğü sRAGE'nin çözünebilir bir reseptör olması nedeniyle enflamatuvar durumda ligandı ile bağlanıp retikuloendotelial sistemden uzaklaştırılıyor olmasına bağlamışlardır. Bizim çalışmamızda serum sRAGE düzeyi krizli (sRAGE: 210±82 pg/mL) ve krizsiz (sRAGE: 211±90 pg/mL) orak hücre anemi grubunda kontrol grubuna (sRAGE: 682±327 pg/mL) göre anlamlı derecede ($p<0,016$) düşük bulunmuştur. Bu düşüşün sRAGE'nin OHA'lı hastalarda artan AGE ile bağlanması ve dolaşımdan uzaklaştırılıyor olması ile ilişkili olduğunu düşünmekteyiz.

6. SONUÇ

Sonuçta OHA hastalarında krizli orak hücre anemi grubunda hem antioksidan kapasitenin göstergesi olan TAS hem de sistemik oksidatif stresin göstergesi olan TOS düzeyleri yükselmiş ancak TOS yüksekliği daha belirgin olduğundan oksidatif denge bozulmuştur.

OSi değerleri krizli grupta hem krizsiz hem de kontrol gruba göre yüksek olduğundan hastalığın şiddeti ile de ilişkilendirilebilir.

Bunu destekler nitelikte lipit peroksidasyon ürünü olan serum MDA düzeyleri ile protein oksidasyonunun göstergesi olan AOPP düzeyleri artmıştır. Ancak MDA krizli grupta krizsiz ve kontrole göre daha yüksek olduğundan hastalık şiddeti ile ilişkilidir.

Sistemik inflamatuvar yanıtın mediyatörleri olan TNF- α ve IL-6 düzeyleri de OHA'lı hastalarda artmış olarak bulunmuş olup TNF- α aynı zamanda krizli grupta krizsiz gruba göre daha yüksek olup hastalık şiddeti ile ilişkilidir.

OHA'lı hastalarda AGE seviyesinde yükseliş ve sRAGE seviyesindeki düşüş saptanmıştır. Ancak krizli ve krizsiz grup arasında fark yoktur.

Buna göre sistemik oksidasyon ve inflamasyon belirteçleri yanında AGE ve sRAGE düzeylerinin orak hücre anemisinde hastalık patogenezi ile ilişkili olduğunu ve orak hücre anemisi olan hastalarda bir biyomarker olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Bu çalışmada AGE düzeylerinin OHA'lı hastaların serumları yanında eritrositlerinde de ölçülmemiş olması bir kısıtlılık olarak öne çıkmaktadır. Eritrosit içi AGE ve serum sRAGE düzeyleri ile hastalık patogenezi arasındaki ilişkiyi araştıran daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. **Adams R, Mckie V, Nichols FT, Carl E, Zhang DL ve ark.** The use of transcranial ultrasonography to predict stroke in sickle cell disease. *The New England Journal of Medicine*, **1992**, 326:605-610.
2. **Adegoke SA, Smith OS, Akinlosotu MA.** Total oxidant status of children with sickle cell anemia: Correlation with rate of pain episodes and haematological incidences. *Pediatric Hematology Oncology Journal*, **2018**, 3(3):70-73.
3. **Adewoyin AS.** Management of Sickle Cell Disease: A Review for Physician Education in Nigeria (Sub-Saharan Africa). *Hindawi Anemia*, **2014**, 21:1-21.
4. **Ahmed N.** Advanced glycation endproducts-role in pathology of diabetic complications. *Elsevier*, **2004**, 67:3-21.
5. **Akinbami A, Uche E, Dosunmu A.** Priapism in Sickle-cell Disease: Emergency Room Intervention. *Annals of Tropical Pathology Journal*, **2018**, 21:5-10.
6. **Akohoue SA, Shankar S, Milne GL, Morrow J, Chen KY ve ark.** Energy expenditure, inflammation, and oxidative stress in steady-state adolescents with sickle cell anemia. *Pediatric Research*, **2007**, 61:233-238.
7. **Alagbe EE, Susu AA, Dosunmu AO.** Sickle Cell Disease (SCD) Management: A Theoretical Review. *International Journal of Research and Reviews in Applied Sciences*, **2013**, 16(3): 483-500.
8. **Al-Naama LM, Hassan MK, Mehdi JK.** Association of erythrocytes antioxidant enzymes and their cofactors with markers of oxidative stress in patients with sickle cell anemia. *Qatar Medical Journal*, **2016**, 2015(2):14.
9. **Arcasoy A.** Dünya’da ve Türkiye’de Talasemi ve Hemoglobinopatiler. Hemoglobinopati ve Talasemi Önlem-Tedavi. *Ulusal Hemoglobinopati Konseyi Sağlık Bakanlığı*, **2003**, 2: 11-19.
10. **Aslan M, Ryan TM, Adler B, Townes TM, Parks DA ve ark.** Oxygen radical inhibition of nitric oxide-dependent vascular function in sickle cell disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **2001**, 98(26):15215-15220.
11. **Aygün B.** Orak Hücreli Anemi: Fiziopatogenez ve Klinik Bulgular. *Türk Hematoloji Derneği HematoLog*, **2014**, 4(1):66-78.
12. **Ballas SK.** Acute chest syndrome in sickle cell anemia. *Journal of Intensive Care Medicine*, **2000**, 15:123-125.
13. **Ballas SK.** Sickle Cell Anaemia Progress in Pathogenesis and Treatment. *Adis International Limited*, **2002**, 62(8):1143-1172.
14. **Baliga S, Chaudhary M, Bhat S, Bhansali P, Agrawal A ve ark.** Estimation of malondialdehyde levels in serum and saliva of children affected with sickle cell anemia. *Journal of the Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, **2018**, 36(1):43-47.
15. **Baynes JW.** The role of AGEs in aging: causation or correlation. *Experimental Gerontology*, **2001**, 36:1527-1537.
16. **Belcher JD, Beckman J, Balla G, Balla J, Vercelloti G.** Heme degradation and vascular injury. *Antioxid. Redox Signal*, **2010**, 12:233-248.
17. **Bergendi L, Benes L, Durackova Z, Ferencik M.** Chemistry, physiology and pathology of free radicals. *Life Science*, **1999**, 65:1865-1874.
18. **Bhoi S, Goel AK, Dhingra A, Mishra PK.** Oxidative Stress in Sickle Cell Disease- A Tertiary Hospital Experience in Western Odisha. *International Journal of Medical Science and Public Health*, **2014**, 3(8):970-973.
19. **Bierhaus A, Humpert PM, Morcos M, Wendt T, Chavakis T ve ark.** Understanding RAGE, the receptor for advanced glycation end products. *Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany)*, **2005**, 83(11):876-886.
20. **Birben E, Şahiner UM, Saçkesen C, Erzurum S, Kalaycı Ö.** Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organization Journal*, **2012**, 5:9-19.
21. **Brett J, Schmidt AM, Yan SD, Zou YS, Weidman E ve ark.** Survey of the distribution of a newly characterized receptor for advanced glycation end products in tissues. *American Journal Pathology*, **1993**, 143:1699-1712.
22. **Brozovic M, Davies S.** Management of sickle cell disease. *Postgraduate Medical Journal*, **1987**, 63:605-609.
23. **Brownlee M.** Negative consequences of glycation. *Metabolism*, **2000**, 49:9-13.

24. Cai W, He JC, Zhu L, Chen X, Zheng F ve ark. Oral glycotoxins determine the effects of calorie restriction on oxidant stres, age-related diseases, and lifespan. *The American Journal of Pathology*, **2008**, 173:327-336.
25. Capeillere-Blandin C, Gausson V, Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V. Biochemical and spectrophotometric significance of advanced oxidized protein products. *Biochimica Biomed Research International Biophysica Acta-Moleculer Basis of Disease*, **2004**, 1698(2):91-102.
26. Catala A. An overview of lipid peroxidation with emphasis in outhter segments of photoreceptors and the chemiluminescence assay. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, **2006**, 38:1482-1495.
27. Ceballos-Picot I, Trivler JM, Nicole A, Sinet PM, Thevenin M. Age- Correlated Modifications of Copper-Zinc Superoxide Dismutase and Glutathione- Related Enzyme Activities in Human Erythrocytes. *Clinical Chemistry*, **1992**, 38(1):66-70.
28. Cheng G, Wang LL, Long L, Liu HY, Cui H ve ark. Beneficial effects of C36, a novel breaker of advanced glycation endproducts cross-links, on the cardiovascular system of diabetic rats. *British Journal of Pharmacology*, **2007**, 152:1196-1206.
29. Chirico EN ve Pialoux V. Role of oxidative stres in the pathogenesis of sickle cell disease. *IUBMB Journals*, **2011**, 64(1):66.
30. Claster S, Vichinsky EP. Managing sickle cell disease. *British Medical Journal*, **2003**, 327(7424):1151-1155.
31. Colombo G, Reggiani F, Cucchiari D, Portinaro NM, Giustarini D ve ark. Plasma protein-bound di-tyrosines as biomarkers of oxidative stress in end stage renal disease patients on maitenance haemodialysis. *BBA Clinical*, **2017**, 7:55-63.
32. Çiftçi-Kokaçya M. Orak Hücre Anemili Çocuk ve Adölesan Hastalarda Pulmoner Hipertansiyonun Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana, **2015**.
33. Demirel Y, Yıldırım H. İleri Glikasyon Son Ürünleri ve Böbrek Hastalıkları. *DergiPark*, 2017, 7(10):210-217.
34. Devasagayam TPA, Boloor KK, Ramsarma T. Methods for estimating lipid peroxidation: Analysis of merits and demerits. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, **2003**, 40:300-308.
35. Devasagayam TPA, Tilak JC, Boloor KK, Sane KS, Ghaskadbi SS ve ark. Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prspects. *JAPI*, **2004**, 52:794-804.
36. Diaw M, Pialoux V, Martin C, Samb A, Diop S ve ark. Sickle Cell Trait Worsens Oxidative Stress, Abnormal Blood Rheology, and Vascular Dysfunction in Type Diabetes. *Diabetes Care*, **2015**, 38(11):2120-2127.
37. Diggs LW. The sickle cell trait in relation to the training and assignment of duties in the armed forces. *III. Aviat Space Environ Medical*, 1984, 55:358-364.
38. Di Nuzzo DV, Fonseca SF. Sickle cell disease and infection. *Jornal de pediatria*, 2004, 80(5):347-354.
39. Dalle Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R. Protein carbonly groups as biomarkers of oxidative stres. *Elsevier Science B.V*, **2003**, 329:23-38.
40. Downes SM, Hambleton IR, Chuang EL, Lois N, Serjeant GR ve ark. Incidence and natural history of proliferative sickle cell retinopathy: observations from a cohort study. *Ophthalmology*, **2005**, 112:1869-1875.
41. Driscoll MC. Sickle Cell Disease. *Pediatrics in Review*, **2007**, 28(7):259.
42. Elias DBD, Freitas RM, Gonçalves RP, Magalhães HYF, Sousa JH ve ark. Evaluation of the concentration of malondialdehyde and nitrite in patients with sickle cell anemia treated or not with hydroxyurea. *Einstein São Paulo*, 2010, 8(4):414-420.
43. El-Ghamrawy MK, Hanna WM, Abdel-Salam A, El-Sonbaty MM, Youness ER ve ark. Oxidant-antioxidant status in Egyptian children with sickle cell anemia: a single center based study. *Journal de Pediatria*, **2014**, 90(3): 286-292.
44. Erel Ö. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*, **2004**, 37(4): 277-85.
45. Erel Ö. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, **2005**, 38(12): 1103-11.
46. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radical Biology Medical*, **1991**, 11:81-128.
47. Fadugbagbe AO, Gurgel RQ, Mendonça CQ, Cipolotti R, dos Santos AM ve ark. Ocular manifestations of sickle cell disease. *Annals of tropical paediatrics*, **2010**, 30:19-26.
48. Fasola F, Adedapo k, Anetor J, Kuti M. Total antioxidants status and some hematological values in sickle cell disease patients in steady state. *Journal National Medical Assoc*, **2007**, 99:891-894.
49. Frenette PS, Atweh GF. Sickle cell disease: old discoveries, new concepts, and future promise. *The Journal of Clinical Investigation*, **2007**, 117(4):850-858.

50. Gagne F. Oxidative Stress. *Elsevier Biochemical Ecotoxicology*, **2014**, 6:104-115.
51. Gaston MH, Verter JI, Woods G, Pegelow C, Kelleher J ve ark. Prohylaxis with oral penicilin in children with sickle cell anemia. A randomized trial. *The New England Journal of Medicine*, **1986**, 314(25):1593-1599.
52. Ghafouriar P, Cadenas E. Mitochondrial nitric oxide synthase. *Trends in Pharmacological Sciences*, **2005**, 26: 190-195.
53. Giardino I, Edelstein D, Browlee M. Nonenzymatic glycosylation in vitro and in bovine endothelial cells alters basic fibroblast growth factor activity: A model for intracellular glycosylation in diabetes. *Journal of Clinical Investigation*, **1994**, 94:110-117.
54. Glasnovic A, Cvija H, Stojic M, Tudoric Deno I, Ivcevic S ve ark. Decreased Level of sRAGE in the Cerebrospinal Fluid of Multiple Sclerosis Patients at Clinical Onset. *Neuroimmunomodulation*, **2014**, 21:226-233.
55. Goldin A, Beckman JA, Schmidt AM, Creager MA. Advanced Glycation End Products: Sparking the Development of Diabetic Vascular Injury. *Circulation Journal of the American Heart Association*, **2006**, 114:597-605.
56. Gordeuk VR, Castro OL, Machado RF. Pathophysiology and treatment of pulmonary hypertension in sickle cell disease. *Blood Journal*, **2016**, 127(7): 820-826.
57. Gonzalez EG, Doherty JC, Bergreen EW, Organ G, Telfer M ve ark. Plasma Endothelin-1, Cytokine, and Prostaglandin E₂ Levels in Sickle Cell Disease and Acute Vaso-occlusive Sickle Crisis. *Blood Journal*, **1998**, 92(7):2551-2555.
58. González I, Romero J, Rodriguez BL, Pérez-Castro R, Rojas A. The immunobiology of the receptor of advanced glycation end-products: trends and challenges. *Immunobiology*, **2013**, 218(5):790-797.
59. Goova MT, Kislinger JLT, Bucciarelli WLG, Li J, Ou W ve ark. Blockade of receptors for advanced glycation endproducts restores effective wound healing in diabetic mice. *American Journal of Pathology*, **2001**, 159:513-525.
60. Gryszczynska B, Formanowicz D, BudzyN M, Wanic-Kossowska M, Pawliczak E ve ark. Advanced Oxidation Protein Products and Carbonylated Proteins as Biomarkers of Oxidative Stress in Selected Atherosclerosis- Mediated Diseases. *Hindawi Biomed Research International*, **2017**, 9:1-9.
61. Haberkern CM, Neumayr LD, Orringer EP, Earles AN, Robertson SM ve ark. Cholecystectomy in sickle cell anemia patients: perioperative outcome of 364 cases from the National Preoperative Trasnfusion Study. *Preoperative Transfusion in Sickle Cell Disease Study Group. Blood*, **1997**, 89:1533-1542.
62. Halliwell B. Antioxidants and human disease: a general introduction. *Nutrition Reviews*, **1997**, 55:44-49.
63. Halliwell B, Aruoma OI. DNA and Free Radicals. *Boca Raton Press*, **1993**, 72-80.
64. Halliwell B, Clement MV, Long LH. Hyrogen peroxide in the human body. *FEBS Letters*, **2000**, 486(2000):10-13.
65. Halliwell B ve Gutteridge JM. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. *Lancet*, **1984**, 1:1396-1397.
66. Hammode RA, Khalil MM, Salem A. Lipid peroxidation products in pleural fluid for separation of transudates and exudates. *Clinical Chemistry*, **1995**, 41: 1314-5.
67. Hebbel RP, Morgan WT, Eaton JW, Hedlund BE. Accelerated autoxidation and heme loss due to instability of sickle hemoglobin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **1988**, 85:237-241.
68. Hermann PB, Pianovski MAD, Henneberg R, Nascimento AJ, Leonart MSS. Erythrocyte oxidative stress markers in children with sickle cell disease. *Jornal de Pediatria*, **2016**, 92(4):394-399.
69. Hoffbrand AV, Petit JE ve Moss PAH. Essential Haematology. *Wiley-Blackwell*, **2011**, 454.
70. Hudson BI, Carter AM, Harja E, Kalea AZ, Arriero M ve ark. Identification, classification, and expression of RAGE gene splice variants. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, **2008**, 22:1572-1580.
71. Hussain RY, Lloyd-Puryear MA, Grant AM, Parker CS, Creary MS ve ark. Sickle Cell Disease The Need for a Public Health Agenda. *Published by Elsevier Inc. on behalf of American Journal of Preventive Medicine*, **2011**, 41(6S4):376-383.
72. Iwashima Y, Eto M, Hata A, Kaku K, Horiuchi S ve ark. Advanced glycation end productsinduced gene expression of scavenger receptors in cultured human monocyte-derived macrophages. *Biochemical and Biophysical Researc Communications*, **2000**, 277: 368-380.
73. Jeney V, Balla J, Yachie A, Varga Zi Vercelotti G, Eaton JW ve ark. Pro-oxidant and cytotoxic effects of circulating heme. *Blood*, **2002**, 100:879-887.
74. Karabulut H, Gülay MŞ. Serbest Radikaller. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, Burdur, **2016**, 4(1):50-59.

75. Karabulut H, Gülay MŞ. Antioksidanlar. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, Burdur, 2016, 1(1):66-75.
76. Kato GJ, Hebbel RP, Steinberg MH, Gladwin MT. Vasculopathy in sickle cell disease: Biology, pathophysiology, genetics, translational medicine, and new research directions. *American Journal of Hematology*, 2009, 84:618-625.
77. Kavas G. Serbest Radikaller ve Organizma Üzerine Etkileri. *Türkiye Klinikleri*, 1989, 9(1):1-8.
78. Kayalı R, Çakatay U. Protein Oksidasyonunun Ana Mekanizmaları. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, İstanbul, 2004, 35(2):83-89.
79. Kılınç K. Protein Glikasyonu. *Hacettepe Tıp Dergisi*, Ankara, 2011, 42:95-104.
80. King GL, Brownlee M. The cellular and molecular mechanisms of diabetic complications. *Diabetes*, 1996, 25:255-270.
81. Knight JA. Free radicals, antioxidants, aging, disease. *Washington D.C: AACC Press*, 1999, 21-43.
82. Kojima T, Hitoshi M, Tomonori S, Shunichiro W, Takatomo W ve ark. Human atrial natriuretic polypeptide protect against LV remodeling in patients with AMI - Prospective randomized trial assessed by QGS. *Journal of Cardiac Failure*, 2004, 10:157.
83. Kusunoki S, Hitoshi S, Kaida K, Arita M, Kanazawa I. Monospecific anti- GD1b IgG is required to induce rabbit ataxic neuropathy. *Annals of Neurology*, 1999, 45:400-403
84. Laurentino MR, Filho PAM, Barbosa MC, Bandeira ICJ, Rocha LBS ve ark. Influence of β S-globin haplotypes and hydroxyurea on tumor necrosis factor- α levels in sickle cell anemia. *Revista Brasileira de Hematologia ve Hemoterapia*, 2014, 36(2):121-125.
85. Limon-Pacheco J, Gonshebbatt ME. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutation Research*, 2009, 674(1-2): 137-147.
86. Liu J, Zhao S, Tang J, Li Z, Zhong T ve ark. Advanced glycation end products and lipopolysaccharide synergistically stimulate proinflammatory cytokine/chemokine production in endothelial cells via activation of both mitogen- activated protein kinases and nuclear factor- κ B. *The FEBS Journal*, 2009, 276:4598-4606.
87. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and unctinal foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 2010, 4(8):118-126.
88. Lonergan GF, Cline DB, Abbondanzo SL. Sickle cell Anemia. *Radiological Society of North America*, 2001, 21(4):971-994.
89. Loughlin DT, Artlett CM. Precursor of advanced glycation end products mediates ER-stress-induced caspase-3 activation of human dermal fibroblasts through NAD(P)H oxidase 4. *PLoS One Journal*, 2010, 5:11093.
90. Lu C, He JC, Cai W, Liu H, Zhu L ve ark. Advanced glycation endproduct (AGE) receptor 1 is a negative regulator of the inflammatory response to AGE in mesangial cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101:11767:11772.
91. Luttly GA, Taomoto M, Cao J, McLeod S, Vanderslice P ve ark. Inhibition of TNF- α -induced Sickle RBC Retention in Retina by a VLA-4 Antagonist. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2001, 42(6): 1349-1355.
92. Maillard-Lebevre H, Boulanger E, Daroux M, Gaxatte C, Hudson B ve ark. Soluble receptor for advanced glycation end products: a new biomarker in diagnosis and prognosis of chronic inflammatory diseases. *Rheumatology*, 2009, 48(10):1190-1196.
93. Makis A, Hatzimichael E, Bourantas KL. The role of cytokines in sickle cell disease. *Annals of Hematology*, 2000, 79(8):407-413.
94. Malowany JI, Butany J. Pathology of sickle cell disease. *Elsevier Seminars in Diagnostic Pathology*, 2012, 29(1):49-55.
95. Mansour AK, Yahia S, El-Ashry R, Alwakeel A, Darwish A ve ark. Sickle cell Disease (SCD). *Inherited Hemoglobin Disorders*, 2015, chapter 3, 36-44.
96. McMahon C, Arceci RJ, HI M, Smith OP. Sickle cell disease. *Pediatric Hematology*, 2006, 3:213-230.
97. Minniti CP, Eckman J, Sebastiani P, Steinberg MH, Ballas SK. Leg ulcers in sickle cell disease. *American Journal of Hematology*, 2010, 23:831-833.
98. Mokbel A, Rashid L, Al-Harizy R. Decreased level of soluble receptors of advanced glycated end products (sRAGE) and glycine82serine (G82S) polymorphism in Egyptian patients with RA. *The Egyptian Rheumatologist*, 2011, 33(1):53-60.
99. Morris CR, Suh JH, Hagar W, Larkin S, Bland DA ve ark. Erythrocyte glutamine depletion, altered redox environment, and pulmonary hypertension in sickle cell disease. *Blood*, 2008, 111:402-410.

100. Neeper M, Schmidt AM, Breet J, Yan SD, Wang F ve ark. Cloning and expression of a cell surface reseptör for advanced glycosylation end products of proteins. *Journal of Biological Chemistry*, **1992**, 267:14998-15004.
101. Nowotny K, Jung T, Höhn A, Weber D, Grune T. Advance glycation end products and oxidative stres in type ı diabetes mellitus. *Biomolecules*, **2015**, 5(1):194-222.
102. Nur E, Biemond BJ, Otten HM, Brandjes DP, Schnog JJ ve ark. Oxidative stres in sickle cell disease; pathophysiology and potential implications for disease management. *American Journal Hematology*, **2010**, 86(6):484-489.
103. Nur E, Biemond BJ, Otten HM, Brandjes DP, Schnog JJB. Oxidative stress in sickle cell disease; pathophysiology and potential implications for disease management. *American Journal of Hematology*, **2011**, 86:484-489.
104. Nur E, Brandjes DP, Schnog JJB, Otten HM, Finjvandraat K ve ark. Plasma levels of advanced glycation end products are associated with haemolysis-related organ complications in sickle cell patients. *British Journal of Haematology*, **2010**, 151(1):62-69.
105. Okorie CP, Nwagha T, Ejezie F. Assessment of Some Indicators of Oxidative Stress in Nigerian Sickle Anemic Patients. *Annals of African Medicine*, **2018**, 17(1):11-16.
106. Okpala IE. Sickle cell crisis. *Pratical Management of Haemoglobinopathies*, **2004**, 7:63-71.
107. Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z. Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, **2015**, 6(3):331-336.
108. Parameswaran N, Patial S. Tumor Necrosis Factor- α Signaling in Macrophages. *National Institites of Health Public Access*, **2010**, 20(2):87-103.
109. Parmaksız İ. Diyabet Komplikasyonlarında İleri Glikasyon Son Ürünleri. *Marmara Medical Journal*, **2011**, 24:141-148.
110. Passon RG, Howard TA, Zimmerman SA, Schultz WH, Ware RE. Influence of bilirubin uridine diphosphate-glucuronosyltransferase 1A promoter polymorphisms on serum bilirubin levels and cholelithiasis in children withsickle cell anemia. *Journal of Pediatric Hematology Oncology*, **2001**, 23:448-451.
111. Pathare A, Kindi SA, Alnaqdy AA, Daar S, Knox-Macaulay H ve ark. Cytokine profile off sickle cell disease in Oman. *American Journal of Hematology*, **2004**, 77:323-328.
112. Peppia M, Uribarri J, Vlassara H. The role of advanced glycation end products in the development of atherosclerosis. *Current Diabetes Reports*, 2004, 4:31-36.
113. Pertynska- Marczevska M, Kiriakidis S, Wait R, Beech J, Feldmann M ve ark. Advanced glycation end products upregulate angiogenic and pro-inflammatory cytokine production in human monocyte/macrophages. *Cytokine*, **2004**, 28:35-47.
114. Peyroux J, Sternberg M. Advenced glycation endproducts (AGEs):pharmacological inhibition in diabetes. *Pathologie Biologie Journal*, **2006**, 54:405-419.
115. Picklo MJ, Montine TJ, Amarnath V, Neely MD. Carbonly toxicology and Alzheimer's disease. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **2002**, 184:187-197.
116. Placer CA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (Malondy Dialdehyde) in biochemical systems. *Analytical Biochemistry Journal*, **1990**, 16(2):259.
117. Powars D, Wilson B, Imbus C, Pegelow C, Allen J. The natural history of stroke in sickle cell disease. *American Journal Medicine*, **1978**, 65:461-471.
118. Powars DR. Management of cerebral vasculopathy in children with sickle cell anaemia. *British Journal of Haematoloji*, **2000**, 108:666-678.
119. Prasad K. Soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE)and cardiovascular disease. *International Journal Angiol*, **2006**, 15:57-68.
120. Prasad YD, Sonia S, Balvinder S, Charan CR. Advanced Glycation End Products: Areview. *Scholars Academic Jornal of Biosciences(SAJB)*, **2013**, 1(2):39-45.
121. Rees DC, Gibson JS. Biomarkers in sickle cell disease. *British Journal of Haematology*, **2011**, 156: 433-445.
122. Safwat NA ve Kenny. Soluble receptor for advanced glycation end products as a vasculopathy biomarker in sickle cell disease. *Pediatric Research*, **2018**, 84:869-874.
123. Sarray S, Saleh LR, Lisa Saldanha F, Al-Habboubi HH, Mahdi N ve ark. Serum IL-6, IL-10, and TNF α levels in pediatric sickle cell disease patients during vasoocclusive crisis and steady state condition. *Cytokine ELSEVIER*, **2015**, 72:43-47.
124. Schalkwijk CG. Therapeutic interventions in the glycooxidation pathway. *Immunology, Endocrine & Metabolic Agents in Medicinal Chemistry*, **2007**, 7:57-68.
125. Sedrak A, Kondamudi NP. Sickle Cell Disease. *StatPearls Publishing*, **2018**.

126. **Sen S, Chakraborty R.** The Role of Antioxidants in human Health. *American Chemical Society*, **2011**, 1:1-37.
127. **Sezer K, Keskin M.** Serbest Oksijen Radikallerinin Hastalıklar Patogenezisindeki Rolü. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, Elazığ, **2014**, 28(1):49-56.
128. **Sheiman JI.** Sick cell disease and the kidney. *Nature Clinical Practice Nephrology*, 2009, 5:78-88.
129. **Sies H.** Oxidative stres: from basic research to clinical application. *American Journal Medicine*, **1991**, 91:31-38.
130. **Sisein EA.** Biochemistry of Free Radicals and Antioxidants. *Scholars Academic Journal of Biosciences*, **2014**, 2(2):110-118.
131. **Siwik DA, Pagano PJ, Colucci WS.** Oxidative stress regulates collagen synthesis and matrix metalloproteinase activity in cardiac fibroblasts. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, **2001**, 280: 53-60.
132. **Solis-Calero C, Ortega-Castro J, Frau J, Muñoz F.** Nonenzymatic reactions above phospholipid surfaces of biological membranes: reactivity of phospholipids and their oxidation derivatives. *Oxidative medicine and cellular longevity*, **2015**.
133. **Somjee SS, Warriar RP, Thomson JL, Ory-Ascani J, Hempe JM.** Advanced glycation end-products in sickle cell anemia. *British Journal of Haematology*, **2004**, 128(1): 112-118.
134. **Söylemez-Gökçer D, Kayaaltı Z.** Türkiye’de Orak Hücreli Anemi Dağılımı, Patofizyolojisi ve Demir Toksikitesi. *Marmara Pharmaceutical Journal*, **2016**, 20(2):92-99.
135. **Steinberg MH.** Management of Sick Cell Disease. *The New England of Medicine*, **2004**, 340(13):1021-1030.
136. **Stuart MJ ve Nagel RL.** Sick cell disease. *Lancet*, **2004**, 364:1343-1360.
137. **Sugaya K, Fukagawa T, Matsumoto K, Mita K, Takahashi E ve ark.** Three genes in the human MHC class III region near the junction with the class II: gene for receptor of advanced glycosylation end products, PBX2 homeobox gene and a notch homolog human counterpart of mouse mammary tumor gene int-3. *Genomics*, **1994**, 23(2):408-419.
138. **Suzuki D, Miyata T, Saotome N, Horie K, Inagi R ve ark.** Immunohistochemical evidence for an increased oxidative stress and carbonyl modification of proteins in diabetic glomerular lesions. *Journals of the American Society of Nephrology*, **1999**, 10:822-832.
139. **Şener G, Yeğen BÇ.** İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim Dergisi*, **2009**, 5-13.
140. **Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T.** IL-6 in Inflammation, Immunity, and Disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, **2014**, 6(10):1-16.
141. **Tavakkoli F, Nahavandi M, Wyche MQ, Perlin E.** Plasma Levels of TNF- α in Sick Cell Patients Receiving Hydroxyurea. *Journal Hematology*, **2004**, 9:61-64.
142. **Taylor SC, Shacks SJ, Mitchell RA, Banks A.** Serum interleukin-6 levels in the steady state of sickle cell disease. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, **1996**, 15(12):1061-1064.
143. **Tekeli H.** Karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Karaciğer Hasarında Glutasyon (GSH) ve Glutasyon S-Transferaz (GST) Aktivitesi Üzerine N-Asetil Sisteinin Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, **2012**.
144. **Ulusal Tedavi Kılavuzu.** Orak Hücre Anemisi. *Türk Hematoloji Derneği*, **2011**, 6:55-65.
145. **Vazzana N, Santilli F, Cuccurullo C, Davi G.** Soluble forms of RAGE in internal medicine. *Internal and Emergency Medicine*, **2009**, 4:389-401.
146. **Verzija N, DeGroot J, Thorpe SR, Bank RA, Shaw JN.** Effect of collagen turnover on the accumulation of advanced glycation end products. *Journal of Biological Chemistry*, **2000**, 275:39027-39031.
147. **Vlassara H.** The AGE receptor in the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetes/ Metabolism Research and Reviews*, **2001**, 17:436-443.
148. **Voziyan PA, Hudson BG.** Pyridoxamine: the many virtues of a maillard reaction inhibitor. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **2005**, 1043:807-816.
149. **Yamagishi S, Makamura K, Matsui K, Ueda S, Fukami K ve ark.** Agents that block advanced glycation end product (AGE)-RAGE (receptor for AGEs)-oxidative stress system: a novel therapeutic strategy for diabetic vascular complications. *Expert Opin. Investig. Drugs*, **2008**, 17(7):983-996.
150. **Yoshikawa T, Toyokuni S, Yamamoto Y, Naito Y.** Free Radicals in Chemistry Biology and Medicine. *OICA International*, **2000**, 580.
151. **Young IS, Woodside JV.** Antioxidants in Health and Disease. *Journal of Clinical Pathology*, **2001**, 54(3):176-186.
152. <http://www.unc.edu/cell/files/extensions/myster/mystery.RedBloodCellsandHemoglobin>
153. https://tyrosine.umdj.edu/wiki/index.php/Beta_Hemoglobin_and_Disease.

ÖZGEÇMİŞ

1992 yılında Kahramanmaraş'ta doğdu. 2011 yılında Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Biyokimya Bölümü'nü kazandı ve 2015 yılında Biyokimya Bölümü 3.sü olarak mezun oldu. 2016 yılında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. 2016 yılında Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi Yaşlı Bakımı Bölümü'nü kazandı ve 2018 yılında onur öğrencisi olarak mezun oldu.

