

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**OBEZ KİŞİLERDE AKUPUNKTURUN OKSİDAN STRES ÜZERİNE
ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ

Şebnem Setenay MİT

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Cemal ÇEVİK

Ankara
Ekim 2011

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**OBEZ KİŞİLERDE AKUPUNKTURUN OKSİDAN STRES ÜZERİNE
ETKİSİ**

Doktora tezi

Şebnem Setenay MİT

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Cemal ÇEVİK

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
01/2009-16 proje numarası ile desteklenmiştir.

Ankara
Ekim 2011

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı Doktora Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi :25/10/2011
Tez Konusu:Obez kişilerde akupunkturun oksidan stres üzerine etkisi

İmza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı
Prof. Dr. Hatice PAŞAOĞLU

İmza
Prof. Dr. Cemal CEVİK
Gazi Üniversitesi

İmza
Prof. Dr. Ayşe BİLGİHAN
Gazi Üniversitesi

İmza
Prof. Dr. Serenay ELGÜN ÜLKAR
Ankara Üniversitesi

İmza
Doç. Dr. Çiğdem ÖZER
Gazi Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	i
İçindekiler	ii
Resimler	v
Grafikler	v
Tablolar	vi
Kısaltmalar	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Akupunktur.....	2
2.1.1. Akupunkturun etki mekanizmaları	2
2.1.1.1. Analjezik Etki:	2
2.1.1.2. Sedatif ve Psikolojik Etki	5
2.1.1.3. Motor İyileştirici Etki	5
2.1.1.4. İmmüniteyi Artırıcı Etki	5
2.1.1.5. Homeostatik Etki.....	6
2.1.2. Akupunkturun kullanımı	6
2.1.3. Akupunktur ve oksidatif stres	9
2.2. Obesite	9
2.2.1 Obesitenin tanımı.....	9
2.2.2. Obesitenin sınıflandırılması	9
2.2.3. Obesite ve oksidan stres.....	11
2.3. Serbest Radikaller	13
2.3.1. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri.....	14
2.3.1.1. Süperoksit radikali	15
2.3.1.2. Hidrojen peroksit.....	17
2.3.1.3. Hidroksil radikali.....	18
2.3.1.4. Singlet Oksijen	19
2.3.2. Serbest radikallerin kaynakları	19

2.3.2.1. Biyolojik kaynaklar	19
2.3.2.2. Hücre içi kaynaklar	20
2.3.3. Hücrelerde Serbest Oksijen Radikallerinin Etkileri.....	22
2.3.3.1. Serbest radikallerin lipid yapılarına etkileri.....	23
2.3.3.2. Serbest radikallerin proteinler üzerine etkileri	25
2.3.3.3. Serbest radikallerin nükleik asit ve DNA üzerine etkileri	26
2.3.3.4. Serbest radikallerin karbonhidratlara etkileri	27
2.3.4. Serbest radikallerin insan sağlığına etkileri.....	27
2.4. Antioksidan sistemler	29
2.4.1. Antioksidanlar	31
2.4.1.1. Primer Antioksidan Savunma Sistemleri:	31
2.4.1.2. Sekonder Antioksidan Savunma Sistemleri:	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM	37
3.1. Kullanılan Gereçler	37
3.1.1. Çalışmaya Dâhil Edilen Hastalar	37
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Araçlar.....	38
3.1.3. Serum MDA analizi	38
3.1.4. Serum AOPP analizi	40
3.1.5. Serum Super Oksid Dismutaz Analizi	41
3.1.6. Serum Glutasyon Peroksidaz (GPx) Analizi:	43
3.2. İstatistiksel değerlendirme	44
4. BULGULAR.....	45
4.1. Gruplar Arası Ağırlık Düzeyleri	45
4.2. Serum MDA düzeyleri	46
4.3. Serum AOPP düzeyleri	47
4.4. Serum SOD değerleri	48
4.5. Serum GPx düzeyleri	49
4.6. Gruplar arası korelasyon	50
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇ.....	58
7. ÖZET	59

8. SUMMARY	60
9. KAYNAKLAR	61
10. TEŞEKKÜR.....	75
11. ÖZGEÇMİŞ.....	76
ETİK KURUL ONAYI.....	78

RESİMLER

Resim 1: Kapı kontrol teorisi	3
Resim 2: Nöral-opiat teori	4
Resim 3: Obezlerde oksidatif stres ve hastalıklar	11
Resim 4: Lipid peroksidasyonu	12
Resim 5: Yüksek metabolik yüke bağlı lipid peroksidasyonu	12
Resim 6: Serbest radikallerin lipid yapılarına etkileri.....	23
Resim 7: Antioksidan mekanizma.....	32

GRAFİKLER

Grafik 1: Serum MDA Standart Grafiği.....	39
Grafik 2: Serum AOPP standart grafiği	40
Grafik 3: Doğrusal linalize hızdan tespit edilen serum SOD aktivitesi (U/mL).....	42
Grafik 4: Serum GPx aktivitesi	44
Grafik 5: Gruplara ait beden ağırlığı değişimi	45
Grafik 6: Gruplara ait serum MDA değişimi	46
Grafik 7: Gruplara ait serum AOPP değişimi	47
Grafik 8: Gruplara ait serum SOD değişimi.....	48
Grafik 9: Gruplara ait serum GPx değişimi	49

TABLULAR

Tablo 1: Vücut kitle indeksi değerlendirmesi.....	10
Tablo 2: Süper oksit dismutaz enzim deneyi	41
Tablo 3: Çalışma gruplarının serum MDA, AOPP, SOD, GPx sonuçları(ortalama \pm standart hata)	50

KISALTMALAR

DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
SOD	Süper Oksit Dismutaz
MDA	Malondialdehit
AOPP	İleri düzey protein oksidasyon ürünleri
GPx	Glutasyon peroksidaz
LPO	Lipid peroksidaz
VKİ	Vücut kitle indeksi
PCOS	Polikistik over sendromu
TNFα	Tümör nekroz faktör
GSH	Glutasyon
AÖ	Akupunktur öncesi
AS	Akupunktur sonrası

1. GİRİŞ

Obesiteye bağlı metabolik sendromda oksidan stresin önemli bir patojenik mekanizma olduğu düşünölmektedir.¹Metabolik sendromla birlikte ateroskleroz, hiperglisemi, dislipidemi ve hipertansiyon gibi bir çok risk faktörü bir arada olabilir. Ayrıca oksidan stresin kanser, kardiyovasküler hastalık veya diabetes mellitus gibi çeşitli hastalıkların patogenezinde kritik bir rol oynadığı gösterilmiştir.²

Oksidan stres serbest radikal üretimi aşırı arttığı zaman ya da koruyucu antioksidan mekanizmalar yetersiz kaldığı zaman ortaya çıkar.³Oksidatif stres sonucunda protein, lipid, nükleik asit ve enzimlerin yapı ve fonksiyonları bozulmaktadır.⁴Çeşitli çalışmalarda obez olgularda DNA hasarının arttığı, antioksidan kapasitenin azaldığı gösterilmiştir.^{5,6}Sonuçta obesite; vücudun kronik olarak oksidatif strese maruz kalmasıdır.⁷

Akupunktur terapötik bir amaçla spesifik noktalara iğne batırma tekniğidir. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2003 yılında yayınladığı akupunktur tedavi endikasyonları listesinde obesite de yer almaktadır. Akupunktur uygulandığında plasmada yükselen beta endorfinin lipid metabolizmasını etkilediği gösterilmiştir.^{8,9}Shafshak diz osteoartriti olan hastalarda uygulanan elektroakupunkturun ağırlık kaybına neden olduğunu göstermiştir.¹⁰

Bizim çalışmamızda akupunktur uygulaması yapılan obez kişilerde oluşun ağırlık kaybı ve akupunkturun Süperoksid Dismutaz (SOD), Glutasyon Peroksidaz (GPx), Malondialdehid (MDA) ve İleri Düzey Protein Oksidasyon Ürünleri (AOPP) bileşikleri üzerine etkisi incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

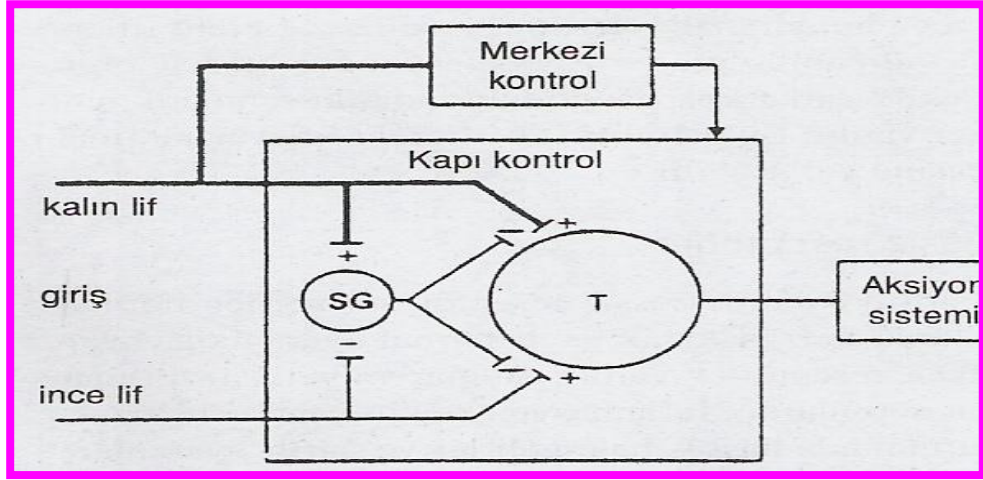
2.1. Akupunktur

Geleneksel Çin Tıbbına göre sağlık vücudun “dengeli durum”da tutulmasıyla elde edilir. Geleneksel Çin Tıbbında vücut iki zıt ve ayrılmaz kuvvetin hassas dengesi olarak görünür: Yin ve yang. Yin soğluğu, yavaşlığı ve pasifliği temsil eder. Yang sıcaklığı, heyecanı ve aktifliği temsil eder. Hastalık yin ve yang’ın internal dengesizliğine bağlıdır. Bu dengesizlik çiyi’nin (vital enerji) meridyen olarak bilinen yollarda blokajına yol açar. Geleneksel Çin tıbbına göre meridyenlerle ilişkili olan belirli noktalara akupunktur uygulayarak çiy akışındaki blokaj açılabilir. Bir çok kaynak meridyenleri en az 2000 akupunktur noktasının ağ gibi birleşmesiyle oluşmuş 12 çift + 2 tek ana kanal olarak tanımlar.^{11,12}

2.1.1. Akupunkturun etki mekanizmaları

2.1.1.1. Analjezik Etki:

1965 yılında Melzack ve Wall “kapı kontrol” teorisini ortaya atmıştır. Bu teoriye göre küçük çaplı sinir lifleri ağrı uyarısını bir kapı mekanizması üzerinden taşıırken büyük çaplı lifler küçüklerin taşıdığı ağrı sinyalini inhibe etmek üzere aynı kapıdan geçer¹³.

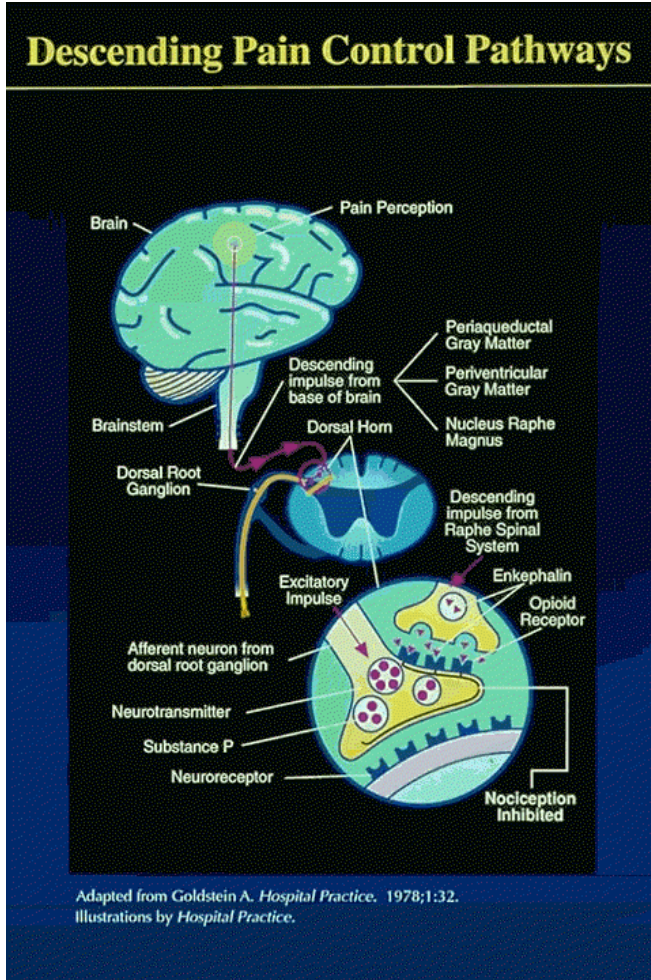


Resim 1: Kapı kontrol teorisi

Kapının açık veya kapalı olmasına göre beyin aldığı ağrı stimülasyonuna yanıt olarak çeşitli nörokimyasallar salgılar. Bu nedenle beyin sapı veya serebral korteksteki ilgili alanları veya kasdaki sinirleri stimüle etmek amacıyla ağrı bölgesinin periferi uyarılarak ağrı sinyalleri engellenebilir ¹¹.

Nöral opiat teori ise opioidlerin etkilerini de kapsayan kapı kontrol teorisinin biraz daha gelişmiş şeklidir. Opioidler opioit reseptörlere bağlanan bir grup endojen kimyasallardır ve spinal kordun substantia gelatinosa parçasındaki sinir aktivitesini ve ağrı geçişini engeller.

Kaslardaki periferel sinirlerin stimülasyonu Santral Sinir Sistemine impuls gönderir ve hipotalamo hipofizer akstan endorfinlerin salınımını uyarır. Serebrospinal sıvıdaki endorfinlerin artmasına bağlı olarak sinir kas kavşağında veya sinir uçlarında da endorfinler artarak oluşan analjezik etkiyle ağrı duyusunu etkilediği düşünülmektedir ^{14,15}.



Resim 2: Nöral-opiat teori

Endorfinlerin opiat antagonisti olan Naloksan akupunkturun analjezik etkisini göstermek üzere kullanılmıştır. Akupunkturdan önce Naloksan verilmesinin akupunkturun etkisini yok ettiği gösterilmiştir ¹³. Bu buluş endorfinlerin etkilerinin opiat reseptörleri üzerinden olduğunu gösterir. Bir endorfin türü olan beta endorfinin salınımı ACTH salınımıyla bağlantılıdır. ACTH adrenal korteks üzerinden kortizol salgılatır. Akupunkturun antienflamatuvar etkisinin bir kısmı kortizolle bağlantılı olabilir. ACTH ve kortizol madde bağımlılığı ve madde yoksunluğunda önemlidir. Madde bağımlılarında ACTH ve kortizol düzeyi abstinensde yüksektir. Akupunktur bu kimyasalların salınımını azaltarak bağımlılıkta etkili olabilir.

2.1.1.2. Sedatif ve Psikolojik Etki

Akupunktur tedavisinin aynı zamanda sedatif etkileri de bulunmaktadır. Sedatif etkisi depresyon, insomnia, bağımlılık gibi kompleks durumlarda diğer tekniklerle kombine olarak kullanılabilir ¹⁶⁻¹⁸. Sedatif etki dopamin, serotonin gibi beyindeki bazı kimyasalların değişmesi sonucudur ¹⁹⁻²¹.

Sempatoadrenal sistemin hiperaktivasyonu ile oluştuğuna inanılan anksiyete, endorfinlerle giderilebilir. Sempatoadrenal sistemin tonusu akupunktur tarafından inhibe edilip, endorfin salgılatılarak anksiyete durumu giderilebilir ²¹.

2.1.1.3. Motor İyileştirici Etki

Çeşitli sebeplerle felçli hale gelen hastaların akupunktur tedavisinden sonra iyileşebildiği görülmüştür ²¹.

2.1.1.4. İmmüniteyi Artırıcı Etki

Akupunktur hastalıklara karşı vücut direncini artırır. Lökositlerin sayılarında, opsoninlerin, kininlerin ve antikorların ise seviyelerinde değişiklik yapar. İmmün aktivitenin düzenlenmesini sağlar ²¹.

Akupunkturun özellikle T-Lenfositlere etkisi üzerinde çalışmalar yapılmış ve lenfositlerden interferon salınımını artırıcı etkisinin olduğu bulunmuştur. Lökosit sayısı akupunktur tatbikinden üç saat sonra artar. Bu artış 24 saat devam eder. Karaciğere ait retiküler endotelial sistem hücrelerinde de fagositik aktivitede artış görülür. Kalın Bağırsak-4

(L1-4) ve Mide-36 (St-36) noktalarının uyarılması ile T-helper hücrelerinin sayısında artış görülmektedir ²¹.

2.1.1.5. Homeostatik Etki

Otonom sinir sistemi iç organların çalışmalarını sürekli ve otomatik olarak kontrol eder. Bu kontrol ise sempatik ve parasempatik sinirler aracılığı ile sağlanmaktadır. Akupunkturla da hem sempatik hem de parasempatik etki oluşturulur. Kalp hızı, kan basıncı, üriner atılım, solunum, ısı, endokrin sistem akupunkturla etkilenebilir. Derideki özel noktalar uyarılınca özel sinirler uyarılır. Bunlar aracılığı ile elektriksel impulslar spinal korda ve beyin alt merkezine ve buradan da hastalıklı alana gider. Sonuçta akupunktur otonom sinir sistemi üzerinden, homeostazi sağlar, su ve elektrolit dengesini düzenler, damar sistemini düzene sokarak hipo ve hipertansiyonu normotansiyona çevirir. Kan şekerini ve kalp atışını düzenler, terlemeyi ve vücut ısısını ayarlar, idrar ve gaita atılımını düzene sokar ²¹.

2.1.2. Akupunkturun kullanımı

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ilk defa akupunktur için 1979 yılında Çin'de düzenlenen akupunktur sempozyumunda akupunkturla tedavi edilebilecek hastalıklar konusunda bir liste oluşturdu. 1996'da İtalya'da akupunktur konusunda tekrar bir toplantı düzenlendi. Son olarak 2003 yılında akupunkturun etkinliği konusunda klinik kanıtlara dayanan yeni bir rapor oluşturuldu.²⁰ Bu rapora göre endikasyonlar dört grupta toplandı.

a) Tedavisinde akupunkturun etkinliği klinik olarak kanıtlanmış durumlar

- Respiratuar→ Alerjik rinit
- Gastrointestinal→ Bilier kolik, dizanteri, peptik ülser, akut ve kr.gastrit
- Ağrı→Fasial, baş, diz, bel, boyun, dental, temporomandibular, postoperatif, romtoid artrit, siyatik, burkulma, tenisçi dirseği
- Jinekolojik,renal→ Renal kolik, primer dismenore
- Kardiyovasküler→ Hipertansiyon, hipotansiyon, inme
- Genel→ Radyoterapi ve/veya kemoterapinin yan etkileri, lökopeni, bulantı, kusma

b) Daha fazla kanıta ihtiyaç duyulan durumlar

- Respiratuar→ Astma, boğmaca öksürüğü, entübasyon sonrası
- KBB,göz,ağız→ Göz ağrısı, epistaksis, herpes zoster, Meniere, boğaz ağrısı, Sjögren sendromu
- Gastrointestinal→Kolesistit, kolelithiasis, ülseratif kolit, hepatit B taşıyıcılığı
- Nörolojik→ Fibromyalji, demans, Bell's palsy
- Ağrı→ Kanser ağrısı, abdominal ağrı, kulak ağrısı, spinal ağrı
- Cilt→ Akne vulgaris, neurodermatitis, pruritus
- Renal, jinekolojik→ Kadın ve erkek infertilitesi, erkek seksüel fonksiyon bozuklukları, PCO, PMS, alt üriner sistem enfeksiyonu
- Kardiyovasküler→ Hiperlipidemi, tromboanjitit ağrısı, Reynauds send

- Genel→ Obesite, alkol, tütün ve diğer madde bağımlılığı, NIDDM, insomnia, laktasyon bozukluğu,

c) Etkinliği konusunda sınırlı kanıt olan durumlar

- Chloasma
- Choroidpathy
- Renk körlüğü
- Sağırılık
- Hypophrenia
- Irritabl kolon sendromu
- Spinal cord hasarında nörojenik mesane
- Küçük hava yolu obstruksiyonu

d) Uzman bir uygulayıcı tarafından özel durumlarda uygulanan tedaviler

- KOAH' da nefes darlığı
- Koma
- İnfantlarda konvulsiyon
- Koroner kalp hastalığı
- İnfant ve çocuklarda diare
- Çocuklarda viral ensefalit
- Paralizi

2.1.3. Akupunktur ve oksidatif stres

Akupunkturun oksidatif stresi antogonize ettiği bir çok çalışmada gösterilmiştir. Bacak zerindeki ST-40 (Fenglong) noktasına uygulanan elektroakupunktur tedavisi hiperlipemik ratlarda dalak, akciğer ve karaciğer dokularında SOD aktivitesini arttırmış, MDA düzeyini dşrmştir.²² Deneysel beyin iskemisi oluşturulan ratlarda uygulanan moxa tedavisinin beyindeki SOD aktivitesini belirgin olarak düşürdüğü, MDA seviyesini de azalttığı gösterilmiştir.²³ Renal arter stenozuna bağlı hipertansiyonu olan ratlarda ST-36, P-6, SP-6 ve KID-1 noktasına uygulanan akupunktur tedavisinin tansiyonu düşürdüğü ve SOD ve lipid peroksidaz (LPO) seviyelerini arttırdığı gözlenmiştir.²⁴

2.2. Obesite

2.2.1 Obesitenin tanımı

Obesite vücutta normalden fazla yağ dokusu bulunması ile karakterize bir hastalıktır. Vücut ağırlığındaki fazlalığın koroner kalp hastalıkları, diabetes mellitus, inme, uyku apnesi, osteoartrit ve sosyal izolasyon gibi durumlarla ilişkisi kanıtlanmıştır.²⁵ Kiloyu düzenlemede insanın genetik yapısı, hayat tarzı ve alışkanlıkları etkilidir. Günümüzde obesitenin artmasının en önemli nedeni aşırı yağlı, fazla kalorili yiyeceklerin tercih edilmesi ve hareketsiz yaşam tarzıdır.

2.2.2. Obesitenin sınıflandırılması

Dünya Sağlık rgt'nün (DSÖ) sınıflandırmasına göre obesite vücut kitle indeksinin (VKİ) 30 ve üzerinde olmasıdır.

$$VKİ = \frac{\text{vücut ağırlığı(Kg)}}{\text{Boy uzunluğu(m)}^2}$$

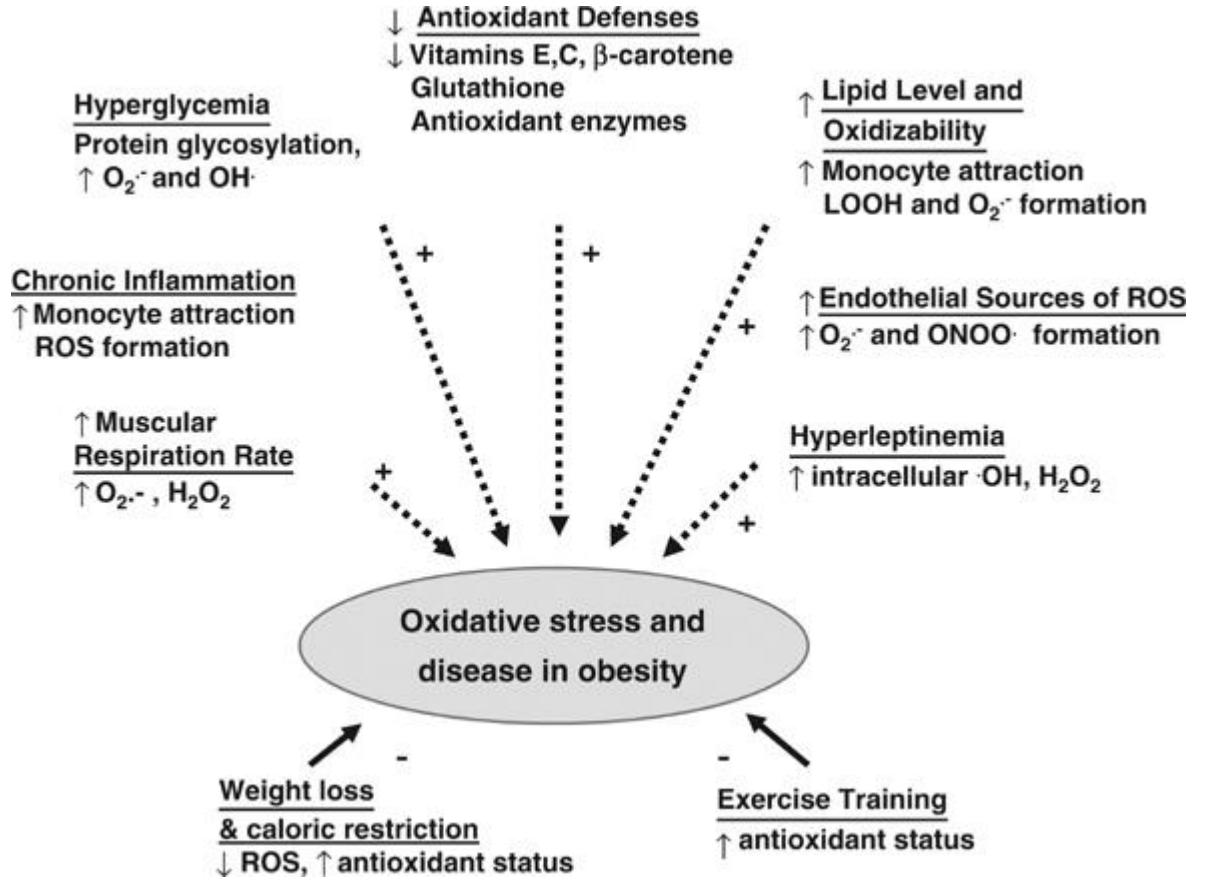
Tablo 1: Vücut kitle indeksi değerlendirilmesi

Grup	Vki
Zayıf	<18.5
Normal	18,5 - 24.9
Kilolu	25 - 29,9
Obez	≥ 30
Sınıf 1	30.0 - 34.9
Sınıf 2	35,0 – 39,9
Sınıf 3 (Morbid)	≥40

Obesitenin değerlendirilmesinde vücut yağ oranı da bir diğer değerlendirme kriteridir. Bu oran kadınlarda %20-30, erkeklerde %12-20'dir. Pratik olarak obesite vücut yağ oranının erkekte %25, kadında ise %35'in üzerinde olmasıdır.²⁶

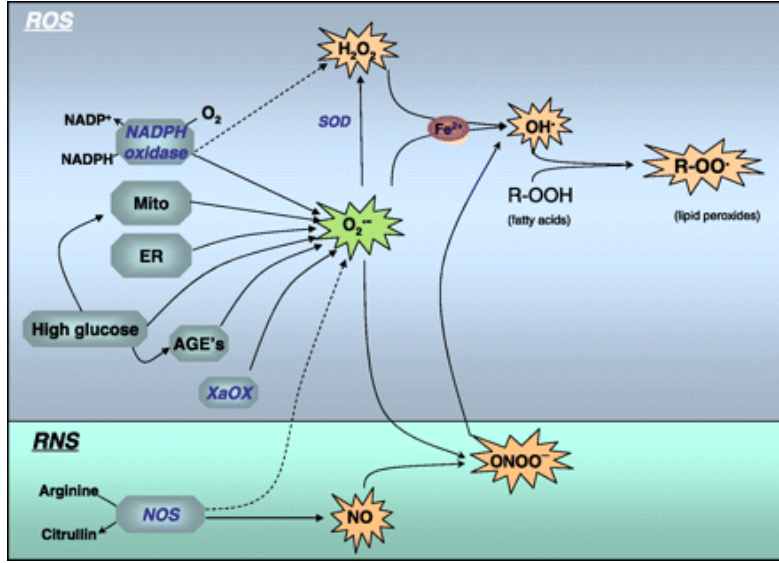
Obesiteyi değerlendirmek için bir başka kriter bel/kalça oranıdır. Erkeklerde 0,95, kadınlarda 0,8 üzerindeki değerler obesiteyi gösterir. Bel çevresi ölçümü de son zamanlarda kilolu kişilerin metabolik sendroma gidişlerini tespit etmede kullanılmaktadır. Tek başına erkeklerde 102 cm, kadınlarda 88 cm'i geçtiği zaman metabolik sendrom için yüksek risk göstergesidir.²⁷

2.2.3. Obesite ve oksidan stres



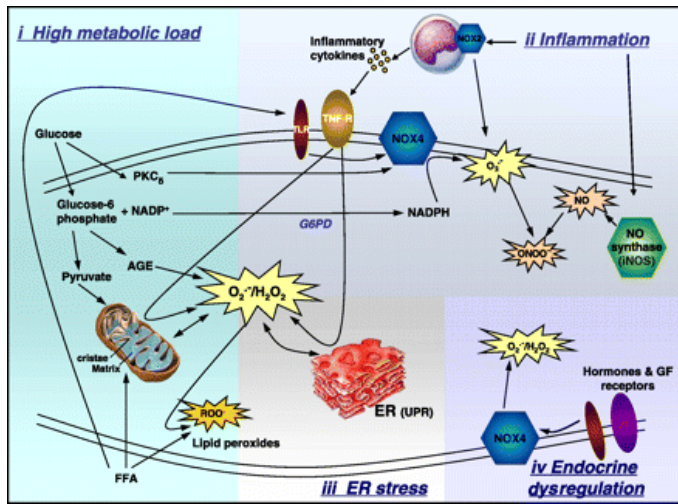
Resim 3: Obezlerde oksidatif stres ve hastalıklar

Obesite ile birlikte mortalite, kardiovasküler hastalıklar, kanser, diabet, safra kesesi hastalıklarında artış görülür.^{28,29,30,31} Vücut kitle endeksi 35-50 arasında olduğunda bu riskler 2-8 kat artar.³² Ratlarda yapılan çalışmalarda obesitenin myokardial oksidatif stresi³³ ve lipid peroksidasyonunu³⁴ arttırdığı görülmüştür. Obesitenin myokard üzerindeki mekanik ve metabolik yükü artırması sonucu myokardın oksijen tüketimi artar. Bunun sonucunda da artmış mitokondrial respirasyona bağlı olarak süperoksit, hidroksi radikal ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin üretimi artar.³⁵



Resim 4: Lipid peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonuna yol açacak bir diğer mekanizma ise artmış vücut kütlesinin yaptığı basıncın oluşturduğu ilerleyici ve kümülatif hücre hasarıdır. Hücre hasarı sitokinlerin özellikle de reaktif oksijen türlerini üreten TNF alfa'nın salınımına ve sonuçta lipid peroksidasyonuna neden olur.³⁶



Resim 5: Yüksek metabolik yüke bağlı lipid peroksidasyonu

Çalışma grubumuzdaki hiperlipidemik diyet alışkanlığı da bir diğer sebep olabilir. Yağ asitlerindeki çift bağlar oksidasyon reaksiyonlarına zayıftır ve lipid peroksidasyonuna sebep olabilir.

AOPP bileşikleri oksijene bağlı protein hasarını göstermede güvenilir belirteçlerdir. 57 çocuk ve adolesan üzerinde yapılan bir çalışmada obesite grubunda AOPP seviyeleri kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek bulunmuştur.³⁷ Makroanjiopatisi olan diabetik obeslerde AOPP seviyeleri belirgin olarak yüksektir.³⁸ Polikistik over sendromlu (PCOS) kadınlarda da hem MDA hem de AOPP seviyelerinin belirgin olarak yüksek olduğu gösterilmiştir.³⁹

2.3. Serbest Radikaller

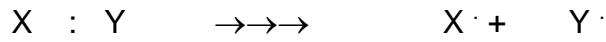
Serbest radikaller en dış yörüngelerinde bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron taşıyan, bu nedenle diğer organik ve inorganik moleküllerle reaksiyona girebilme yeteneğine sahip, yüksek oranda reaktif, bu özellikleri dolayısıyla da kısa ömürlü bileşiklerdir.⁴⁰

Fe^{+3} , Cu^{+2} , Mn^{+2} ve Mo^{+2} gibi geçiş metalleri de ortaklanmamış elektronlara sahip oldukları halde serbest radikal olarak kabul edilmezler, ancak serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar⁴¹

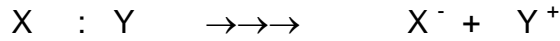
Toksik serbest radikaller, normal bir metabolizmanın devamı ve hücrede enerji üretimi için gerekli olan birçok reaksiyon sırasında üretilebilmektedir^{42,43}. Serbest radikaller organizmada normal metabolizma sonucu ortaya çıkabildiği gibi; ısı, ışık ve radyasyon gibi çeşitli dış kaynakların etkisi ile de ortaya çıkabilmektedir⁴⁴.

Bir serbest radikal 3 yolla ortaya çıkabilir^{43,45,46,47}

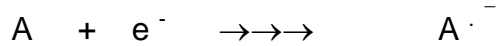
1.Kovalent bağ taşıyan normal bir molekülün homolitik yıkımı sonucu oluşurlar (Bölünme sonrası her bir parçada ortak elektronlardan biri kalır).



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı ya da bir molekülün heterolitik olarak bölünmesi ile oluşurlar. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron atomlardan birisinde kalır.



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile oluşurlar.



Serbest radikaller en fazla elektron transferi ile oluşurlar.Pozitif veya negatif yüklü ya da nötr olabilirler. ^{43,45}

2.3.1. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri

Oksijen biyolojik sistemlerde serbest radikallerin en önemli kaynağıdır. Reaktif oksijen türleri sadece serbest oksijen radikallerini içermez, oksijen radikali üretiminde yer alan radikal olmayan oksijen türevlerini de kapsar. ⁴⁶

Radikal olan oksijen türevleri:

Hidroksil radikal (HO·)

Superoksit radikal (O₂^{·-})

Peroksil radikal (ROO·)

Alkoksil radikal (RO·)

Nitrik oksit radikal (NO·)

Radikal olmayan oksijen türevleri:

Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Singlet oksijen (O₂)

Ozon (O₃)

Hipoklorid asit (HOCl)

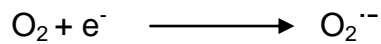
Lipid hidroperoksit (LOOH)

Peroksinitrit (ONOO·)⁽⁴⁷⁾

Biyolojik sistemlerde bulunan en önemli reaktif oksijen metabolitleri süperoksit (O₂^{·-}), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve hidroksil radikal (OH·) dir.

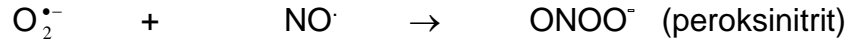
2.3.1.1. Süperoksit radikali

Oksijene tek bir elektron transferi süperoksit serbest radikal anyonunu oluşturur. Süperoksit radikali, bir eşlenmemiş elektron içerdiğinden ne çok fazla reaktif, ne de güçlü oksidandır.



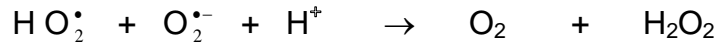
Oluşan süperoksit radikali, dış yörüngesinde çiftleşmemiş elektron içerdiğinden; hem bir radikal, hem de protondan daha fazla elektron içerdiğinden anyondur. Hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metallerini indirgeyici özelliğinden dolayı önemli kabul edilmektedir.⁴³

Süperoksitin, fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ile birleşmesi sonucu reaktif bir oksijen türü olan peroksinitrit meydana gelir ve NO'nin normal etkisi inhibe edilir.

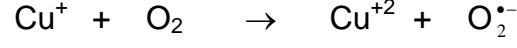
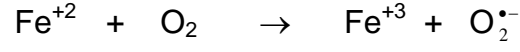


Peroksinitritler, doğrudan proteinleri etkileyerek azot dioksit (NO₂), hidroksi radikali ve nitronyum iyonu (NO₂⁺) gibi toksik ürünler oluşturabilirler.

Süperoksit, düşük pH değerlerinde daha reaktif olup, protonlanarak fizyolojik pH'da %1'den az olan perhidroksil radikalini (HO₂[•]) oluşturur. Bu radikalın, süperoksit ile dismutasyon reaksiyonuna girmesi sonucu, oksijen ile hidrojen peroksit (H₂O₂) oluşur⁴³.

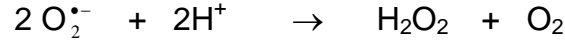


Ferröz demir (Fe⁺²) ve kupröz bakır (Cu⁺), ferrik demir (Fe⁺³) ve kuprik bakır (Cu⁺²) karşılaştırıldığında hidrojen peroksit karşı daha reaktiftirler. İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu da süperoksit oluşturabilir.



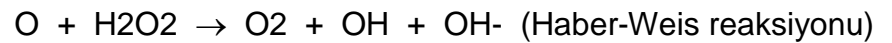
2.3.1.2. Hidrojen peroksit

Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü iki hidrojen atomu ile birleşerek hidrojen peroksidi meydana getirir. Hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçebilen, uzun ömürlü bir oksidandır. Ancak biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi süperoksidin dismutasyonu ile olur.



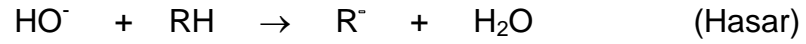
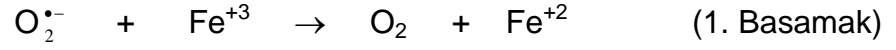
Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer. Çünkü Fe veya diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu sonucu, süperoksit radikalinin varlığında Haber-Weis reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir⁴⁸.

Hidrojen peroksit oldukça hareketli olup membranları kolayca geçebilir. Çok güçlü sitotoksindir. Endotel hücrelerine zarar verir.

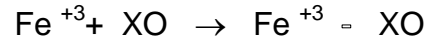
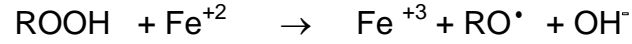


Fenton reaksiyonu iki basamakta gerçekleşir. Birinci basamak süperoksidin, ferrik (Fe^{+3}) ya da kuprik (Cu^{+2}) iyonlarını redükte etmesidir. İkinci basamak ise; redükte metal iyonlarının hidrojen peroksit

ile reaksiyona girerek, hidroksil radikalini oluşturmasıdır (Fenton Reaksiyonu)⁴³.

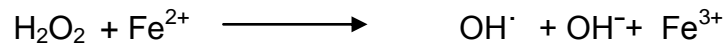


Fe^{+2} 'nin Fe^{+3} 'e asidik ortamda oksidasyonu ferröz iyon oksidasyonu olarak bilinir.

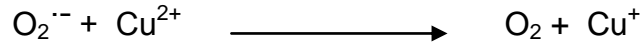
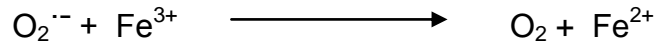


2.3.1.3. Hidroksil radikali

Hidrojen peroksit radikal olmamakla birlikte reaktif oksijen kategorisinde bulunur ve geçişli metallerle reaksiyona girerek, daha güçlü oksidanları (hidroksil radikali gibi) oluşturur. ⁽⁴⁹⁾



Hidroksil radikalinin meydana gelmesi için kesinlikle demir ve bakır gibi metallerin indirgenmiş şekillerine ihtiyaç vardır. Bunlar Fe^{+3} ve Cu^{+2} nın aşağıdaki reaksiyonlarda gösterildiğı şekilde superoksit radikali ile indirgenmesinden oluşur.



2.3.1.4. Singlet Oksijen

Singlet oksijen yapı olarak serbest radikal değildir, fakat zararlı bir oksijen bileşimidir. Normal oksijene göre bazı farklılıklarından dolayı, çok kolay reaksiyonlara girebilir. Singlet oksijende ortaklanmamış iki elektron aynı orbitalde ve spinleri birbirine zıttır. Elektronlarının bu durumundan dolayı, kimyasal maddelerle kolayca etkileşir. Bu oksijen türü diğer oksijen radikallerinden daha uzun ömürlüdür. ⁽⁵⁰⁾

Serbest oksijen radikalleri, çoğunlukla oluşan ilk ürünlerdir. Diğer radikaller karbon merkezli radikaller olup (R \cdot); okside edici bir radikalin (ör:OH \cdot) lipid, nükleik asit, karbohidrat ya da protein gibi bir biyolojik moleküle saldırısı ile meydana gelir. Bunlar oksijenle çok çabuk bir şekilde reaksiyona girerek bir sonraki aşama olan peroksil (ROO \cdot) oluşmasına neden olur. Oluşan bu peroksil radikalleri alkoksil radikalleri (RO \cdot) oluşumunda görev alırlar. Sülfür atomları da serbest radikaller için (ör: glutasyon oksidasyonunda) merkez olabilirler(RS \cdot). Son olarak belli yabancı bileşikler, pürin ve pürimidin bazıları da serbest radikal ürünlerinin oluşumuna neden olabilmektedir⁴⁶.

2.3.2. Serbest radikallerin kaynakları

2.3.2.1. Biyolojik kaynaklar

Biyolojik sistemlerin normal mekanizmaları sırasında ve organizmada yabancı maddelerin (donorubisin, adriamisin gibi

antineoplastik ajanlar, kinoid gruplara bağlanan antibiyotikler) metabolize edilmesi sırasında da serbest radikaller ortaya çıkmaktadır. Elektromanyetik (x ışını ya da γ ışını) ve partikül radyasyonlar (elektron, proton, nötron, α ve β partikülleri) H_2O gibi hücrenel komponentlere enerjilerini transfer ederek primer radikalleri oluştururlar.

Aktifleşmiş fagositler de serbest radikal üreten başka bir mekanizmadır. Bunlar mikrobiyositlerdir ve geri dönüşümsüz olarak doku hasarına yol açarlar. Hava kirliliğine neden olan maddeler, hiperoksi, sigara içimi, solventler, anestezi maddeler de hücrede serbest radikal hasarı meydana getirirler.^{43,51}

2.3.2.2. Hücre içi kaynaklar

Mitokondrial Elektron Transportu: Elektron transport zincirinde yer alan pek çok bileşik (NAD, FAD, koenzim Q) oksijen ile tepkimeye girerek $O_2^{\cdot\cdot}$ salınımına neden olmaktadır. Normal koşullarda hücrenin savunma sistemleri ile $O_2^{\cdot\cdot}$ yok edilir. Mitokondri sitokrom oksidaz sistemiyle oksijeni suya indirgeyerek detoksifiye etmektedir. Ancak oksidan stres durumunda savunma sistemleri yetersiz kalır ve mitokondride hasar meydana gelir.^{52,53} Travma, İskemi, enfeksiyonlar, hemoraji ve allerjik durumlarda mitokondrilerdeki oksidatif fosforilasyon dengesi bozulur ve elektron transport sisteminden elektron kaçakları daha fazla olur ve oksidan moleküller artar.⁵⁴

Peroksizomlar: Peroksidazlar hücrenel H_2O_2 'in önemli kaynaklarıdır. D-aminoasit oksidaz, urat oksidaz, L-hidroksil asit oksidaz ve yağ asiti açıl-KoA oksidaz, H_2O_2 üreten peroksizomal enzimlerdir. Peroksizomal oksidazların meydana getirdiği H_2O_2 'in çoğunu, peroksizomal katalaz enzimi metabolize eder.^{43,55}

Endoplazmik Retikulum ve Nükleer Membran Elektron Transport Sistemi: Hücre içi membranlar sitokrom P₄₅₀ ve sitokrom b₅ içerirler. Membran sitokromları bir elektron transferi ile doğrudan O₂⁻ ya da peroksi sitokrom komplekslerinin dissosiyasyonu ile H₂O₂ oluşturabilir. Nükleer membran ve endoplazmik retikulum tarafından üretilen serbest radikaller hem intraorganel hem de sitozolik reaksiyonlara katılabilirler. Nükleer membran kaynaklı serbest radikaller, hücre çekirdeğinde DNA ile reaksiyona girmektedir.

Çözünabilir Enzim ve Proteinler: Birçok enzim katalitik reaksiyonları sırasında serbest radikal meydana getirirler. Ksantin oksidaz bu enzimler içinde en çok çalışılmış olanıdır. İnsan ksantin oksidazı in vivo şartlarda NAD⁺ 'ye bağlı dehidrogenaz olup, serbest radikal oluşturmaz. Safleştirme ya da in vivo olarak iskemi sırasında, ksantin oksidazın proteolitik modifikasyonu, enzimi dehidrogenaz formundan O₂⁻ üreten oksidaz formuna dönüştürür. Aldehit oksidaz, aminoasit oksidaz, triptofan dioksijenaz ve homoprotein dehidrogenaz da serbest radikal oluşturur.^{43,55}

Küçük Moleküllerin Otoksidasyonu: Değişken miktardaki çözünabilir hücre içi komponentler nötral sıvı ortamda oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarına katılırlar ve kantitatif olarak hücre içi serbest radikal üretimde rol oynarlar. Bu moleküller tioller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinlerdir. Bu moleküller tarafından ortaya çıkan primer radikal, süperoksit radikalidir.^{43,55}

Plazma Membranları: Serbest radikallerin önemli bir biyolojik kaynağı da fagositik hücre plazma membranının NADPH oksidaza bağlı serbest radikal üretimidir. Fagositik hücrelerin uyarılması fosfolipaz ve protein kinazın aktivasyonuna ve plazma membranında araşidonik asidin

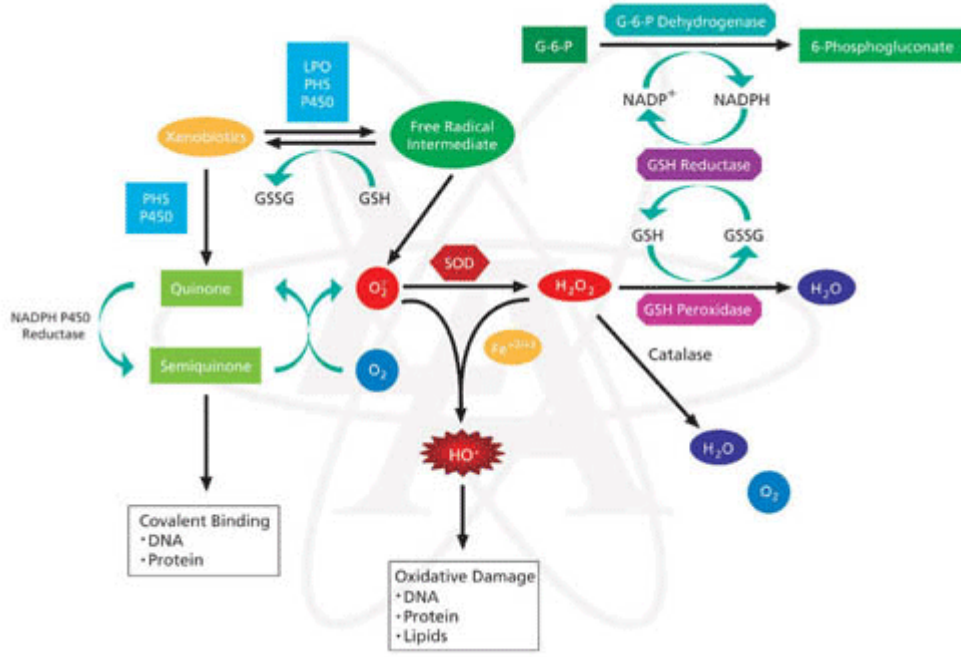
salınımına yol açar. Araşidonik asidin enzimatik oksidasyonu da çeşitli serbest radikal ara ürünler meydana gelir. Mikrozomal ve plazma membranı tarafından radikal üretiminin önemli enzimleri olan lipoksijenaz ve siklooksijenaz aktivitesi, serbest radikaller için önemli kaynaktır.^{43,50,55}

2.3.3. Hücrelerde Serbest Oksijen Radikallerinin Etkileri

Serbest radikal reaksiyonları, normal koşullarda bağışıklık sistemi hücrelerinden nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizması için gerekli olsa da, serbest radikallerin fazla üretimi doku hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır.

Serbest radikaller hücre içinde antioksidan kapasiteyi asan yüksek konsantrasyonlarda oluştukları zaman; başta lipitler olmak üzere, protein, DNA, karbonhidratlar ve enzimler olmak üzere bir çok molekülle reaksiyona girerler. Bu reaksiyonlar sonucunda enzimlerin normal fonksiyonlarını, aerobik solunumu, kapiller permeabilityyi bozup hücrenin potasyum kaybını artırır. Hücre içindeki birçok litik enzimi aktif hale getirirler, bazı savunma sistemlerini inaktive ederler. Trombosit agregasyonunu artırır, dokularda fagosit toplanmasını kolaylaştırır⁵⁶

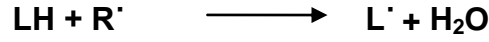
2.3.3.1. Serbest radikallerin lipid yapılara etkileri



Resim 6: Serbest radikallerin lipid yapılara etkileri

Oksijen metabolitleri lipid ve protein gibi hücre komponentlerine ataklar yaparak oksidatif harabiyete neden olurlar. Biyomembranlar ve subsellüler organeller bu oksidatif ataklara membran fosfolipidlerindeki doymamış yağ asitlerinin varlığı dolayısıyla duyarlıdırlar. Hücrelerin membranları, okside edici radikallerin en çok affinite gösterdiği yer olan poliansature yağ asitlerinden (PUFA) zengin bölgelerdir. PUFA'ların oksidatif yıkılımı "lipid peroksidasyon" olarak bilinmektedir. Lipid peroksidasyonu çok zararlı bir reaksiyondur; çünkü kendi kendini devam ettiren bir zincir reaksiyonu şeklinde devam eder.

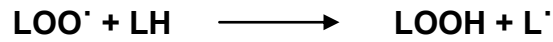
Lipid peroksidasyonu, reaktif oksidan (**R'**) ve yağ asidinin (**LH**) ilişkisi ile başlar ve lipid radikali (**L'**) oluşur. Oksidan, lipid molekülünden bir hidrojen atomu çıkarır ve böylece üzerinde çiftleşmemiş elektrona sahip karbon atomu bulunduran alkil radikali meydana gelir.



L^{\bullet} radikali, hızla moleküler oksijen ile reaksiyona girerek peroksil radikalini (LOO^{\bullet}) oluşturur.



Peroksi radikali, komşu yağ asiti ile reaksiyona girer. Lipid hidroperoksit (LOOH) ve yeni bir alkil radikali oluşturur.^{25,73}



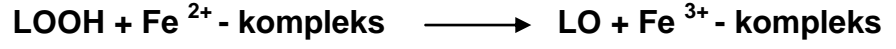
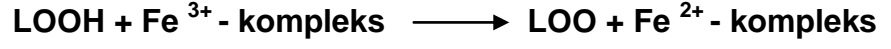
Bu reaksiyon lipid peroksidasyon zincirini devam ettiren reaksiyondur. Eğer zincir sonlanması olmazsa tek bir başlatıcı olay, bütün polidoymamış yağ asitlerini lipid hidroperoksitlerine çevirebilir.

Lipid hidroperoksitler ise daha şiddetli radikal özelliği olan sitotoksik aldehitlere çevrilirler.

$\text{LOOH} \longrightarrow \text{LO}^{\bullet}, \text{LOO}^{\bullet}$, aldehitler, hidrokarbon gazları, epoksitler, alkoller

Aldehitler biyolojik olarak aktif olup, hücrenin diğer kısımlarına giderek biyokimyasal lezyonu yayar ve hasar oluştururlar.⁷⁴

Lipid hidroperoksitler stabil olabilirler fakat demir ve demir kompleksleri ile reaksiyona girerlerse zincir reaksiyon yeniden başlayabilir.



Hücre membranı gibi mitokondrial ve mikrozomal membranlarında fosfolipidlerin de doymamış yağ asitlerinin fazla miktarda bulunması nedeniyle lipid peroksidasyonuna karşı duyarlı oldukları bildirilmektedir. Lipid peroksidasyon hasarı, membran yapı ve fonksiyonunda bozuklukla sonuçlanabilen bir olaydır. Lizozomal membranların tahribi, hidrolitik enzimlerin salınması ve hücre içi sindirimle sonuçlanabilir. Biriken hidroperoksitler doğrudan toksiktir ve duyarlı aminoasit kalıntılarını okside eder ya da zincir polimerizasyon reaksiyonları yolu ile enzimleri inaktive edebilirler. Malondialdehit (MDA) bir lipid peroksidasyon ürünüdür. MDA'nın proteinlerle, RNA, DNA ve fosfolipidlerle ilişkisi hem plazma membranları hem de hücre içi harabiyete neden olabilir. Malondialdehit, membran formasyonunu ve membran tabakasındaki aminofosfolipid organizasyonunu bozar. MDA ayrıca düşük dansiteli lipoproteinleri modifiye ederek, metabolik yolunu değiştirir ve mutajen olarak etki eder.⁵⁷

2.3.3.2. Serbest radikallerin proteinler üzerine etkileri

Proteinler; oksidan veya diğer serbest radikallerin özellikle daha hassas olan amino asitlerle etkilesime girmesi sonucunda doğrudan zarar görebilirler. Protein fonksiyonu için kritik olan yapısal aminoasitler sistein, sistin, histidin, metionin, triptofan, tirozin ataklara karşı daha hassastırlar. Süperoksidin bu amino asitlerle daha sınırlı bir reaktivitesi vardır. Sistein, histidin, triptofan ve tirozin ile yavaş reaksiyon verir. Diğer radikaller bu aminoasitleri daha hızlı oksitleyebilirler.⁵⁷ Peroksil radikalleri ve hidroksil radikalleri gibi serbest radikal türleri veya hipoklorit ve hidrojen

peroksit gibi aktif oksijen türlerinin yol açtığı protein hasarı; amino asit oksidasyonu, deaminasyon ve dekarboksilasyon gibi mekanizmalarla meydana gelir. Bazı aminoasit rezidüleri oksidatif saldırıya karşı daha hassastır, proteinlerin serbest radikal üreten sistemlere maruz kaldığında, amino asit yan zincirlerinin değişikliğe uğraması sonucunda tersiyer yapısal değişiklikler meydana gelir⁵⁸.

İleri düzey protein oksidasyonu (AOPP) ilk kez 1996' da Witko-Sarsat ve ark. tarafından üremik hastalarda tanımlanmıştır. AOPP, vücutta oluşan kloronize oksidanların proteinlerle aktivasyonu ile oluşur.

AOPP'nin biyokimyasal karakteristiği protein oksidasyonunda, çapraz bağlı final oksidasyon ürünü olduğunu düşündürmektedir. MPO kaynaklı kloronize oksidanların oksidasyona uğramış LDL oluşumundaki rolü gösterilmiştir. Oksidatif protein hasarının belirteci olarak görülen AOPP hem in vitro hem in vivo şartlarda bir inflammatuar mediatör kadar etkili bir şekilde monosit aktivasyonunu artırır. Sonuç olarak plazma proteinleri ve kloronize oksidanlar arası reaksiyonla oluşan AOPP, oksidanların zararlı aktiviteleri konusunda yeni bir moleküler temel oluşturmuş ve oksidatif strese proinflammatuar etkili mediyatör gibi davranmış ve immundisregülasyona katkısı olduğu düşünülmüştür.

2.3.3.3. Serbest radikallerin nükleik asit ve DNA üzerine etkileri

Proteinlerdeki gibi DNA'da da hızlı ilerleyen, hasar verici zincir reaksiyonlarının başlama olasılığı daha azdır. Hücre içinde hidroksil radikali deoksiriboz ve bazlarla reaksiyona girerek, DNA şeridinin kırılmasına neden olur. Hidrojen peroksit de membranları kolayca geçerek hücre çekirdeğinde DNA hasarına, sonuçta hücre disfonksiyonu ve hücre

ölümüne neden olur^{59,60} Karsinogenezis, hücre yaşlanması ve hücre ölümüne kadar giden bir seri olay başlar. Beyin de dahil birçok dokuda, yaşlanmayla birlikte oluşan fonksiyon bozuklukları, proteinlerin oksidasyonu ile açıklanmaktadır⁶¹.

2.3.3.4. Serbest radikallerin karbonhidratlara etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler oluşmaktadır. Bunlar diabetes ve sigara içimi bünyesindeki patolojik olaylarla yakın ilişkilidir⁴³.

Glukoz, mannitol ve deoksisukualen hidroksil radikalleri ile reaksiyon verirler. Glikozaminoglikan olan ve sinoviyal sıvının viskozitesinde önemli rol oynayan hyalüronik asit serbest radikallerle etkilenerek bağ dokusunun stabilitesinin bozulmasına ve sıvının viskozitesinin kaybına neden olur.⁵⁷

2.3.4. Serbest radikallerin insan sağlığına etkileri

Birçok önemli biyokimyasal olayda ve hastalıklarda serbest radikallerin rolü saptanmıştır. Normalde doğal antioksidan savunma serbest radikal oluşumunu önler ve hasarın şiddetini azaltır. Ancak serbest radikal oluşumunun hastalığın nedeni mi, yoksa sonucu mu olduğunun ayırımına varmak çok önemlidir⁴⁶.

A) İnflamatuvar İmmün Hasar: İnflamatuvar artrit bu konudaki en ideal örnek gibi görünmektedir. Eklem inflamasyonunda immün kompleksler, bakteriyel ürünler ve kristaller yer almaktadır ki; bunların hepsi önce polimorfonükleer hücre aktivasyonuna, sonra da serbest radikal oluşumuna neden olur. Oksijen radikal saldırısı sinovial sıvıda ve

eklem aralığında bulunan, başta hyaluronik asit olmak üzere, diğer proteoglikanlar ve bir ölçüde kollajen ve elastinin yıkılmasına neden olur^{62,63}.

B) İskemi-Reperfüzyon: Hipoksi-reoksijenizasyon sonrasında oluşan serbest radikallerin, hasarlanmış mitokondri, ksantin oksidaz, araşidonik asit yolakları ya da hasarlı dokuya polimorfonükleer hücre toplanması sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir. Bu durumdan etkilenen organlar kalp, böbrek, beyin, pankreas, kaslar ve gastrointestinal sistemdir⁶⁴.

C) Demir Yüklenmesi: Toksik oksijen radikallerinin oluşumunun başlatılmasında geçiş metalleri, özellikle demir önemli yer tutmaktadır. Hemokromatozisli hastalarda ve transfüzyona bağlı aşırı demir alımında görülen multiorgan disfonksiyonlarının etyopatogenezinde, demire bağlı serbest radikal oluşumunun önemli bir yer tuttuğu görülmüştür^{65,66,67}.

D) Kanser: Radyasyon ve bazı kimyasalların etkisi ile ortaya çıkan reaktif oksijen radikalleri (ROS), karsinogenezin birçok basamağında rol oynamaktadır^{68,69}. İyonize radyasyon sonucu DNA etkilenmekte ve DNA zincirlerinde kırıklar oluşmaktadır⁷⁰. Oksidan stres, aynı zamanda, gen ekspresyonunda da fonksiyonel değişiklikler oluşturmaktadır⁷¹.

E) Eritrositler: Oksidatif stres çalışmalarında eritrositler, üzerinde en erken çalışılan maddelerden biridir. Eritrositlerde bir çok antioksidan savunma sistemi bulunmaktadır. Serbest radikal etkisi sonucu eritrositlerde oluşan hasar, membran hasarı ve hemolize neden olur⁷².

F) Akciğerler: Bir çok ajan, aktive edilmiş oksijen radikali oluşumu aracılığı ile akciğerler üzerinde toksik etki göstermektedir. Polimorfonükleer hücre aktivasyonu ile karakterize (iyonize radyasyon, toksik oksidan gazlar, parakuat, bleomisin gibi kemoterapotik ilaçlar, şok, sepsis, travma v.b.) patolojiler buna örnek olarak gösterilebilir^{73,74,75}.

G) Kalp ve Kardiyovasküler Sistem: Oksijen radikalleri dolaşımdaki lipoproteinlerin kinetiğinde değişiklik oluşturur, endotelial hücre permabilitesini artırır ve lipoproteinlerin makrofajlar tarafından geri alımını bozar⁷⁶. İskemi reperfüzyonun oluşturduğu miyokard hasarında serbest radikallerin rolü açıktır^{77,78}.

H) Böbrek: Polimorfonükler hücrelerden kaynaklanan oksidatif radikallerin, deneysel nefrotoksik nefritin akut fazında görülen akut glomerüller hasar ve proteinürinin etyopatogenezinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir⁷⁹. Aynı zamanda proteolitik yıkılıma son derece duyarlı olan bazal membranda, hipoklorik asit gibi oksidanlar, koruyucu fonksiyonu olan antiproteazları inaktive etmektedir⁸⁰.

I) Gastrointestinal Sistem: Karaciğer hasarında halojenli hidrokarbonlarla alkolün, oksijen radikal hasarı ve lipid peroksidasyon aracılığı ile gösterdikleri etkiler üzerinde çok fazla çalışma vardır⁸¹

2.4. Antioksidan sistemler

Hücrelerde ve ekstrasellüler sıvıda sitotoksik oksijen radikallerini zararsız duruma getirmeye çalışan antioksidan savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar normal biyokimyasal olaylar sırasında az miktarda oluşan radikalleri nötralize edebilir. Ancak hiperoksi, iskemi–reperfüzyon olayı sonrası ya da tütün dumanı, asbest gibi

ksenobiyotiklere maruz kalma ve bu radikalleri bol miktarda oluşturan aktive nötrofiller ile diğer fagositlerin dokuda toplanması gibi durumlarda oksidan/antioksidan denge bozulursa antioksidan mekanizmalar tükenir. Sonuçta hücre zedelenmesi ve hücre ölümüne yol açar.⁸²

Antioksidanlar koruyucu etkilerini dört yolla sürdürürler:

Süpürücü etkililer: Serbest radikal oluşumunu engelleyen, oluşmuş olanları zararsız hale getiren yapılardır. Bunlar esas itibarıyla SOD, GPx gibi bazı enzimler ile ferritin ve seruloplasmin gibi metal bağlayıcı proteinlerdir. SOD oksijen radikalini daha az zararlı peroksit radikaline, GPx hidrojen peroksit ve lipid peroksitleri tamamen zararsız hale dönüştürürler. Ferritin ve seruloplasmin ise hidroksil radikali oluşumunda kullanılan demiri yapılarında taşırlar.

Giderici olanlar: Oksidanlarla reaksiyona girip onlara bir hidrojen aktarıp inaktif hale getiren bileşiklerdir. Betakaroten, askorbat, alfatokoferol, flavonoidler, mannitol ve antosiyanoidinler bu yolla etkili olurlar.

Zincir kırıcı etkililer: Serbest radikallerin başlattığı ve yeni radikallerin oluşturduğu zincirleme reaksiyonları bir yerinde kırarak durduran moleküller olup, bazı vitaminler, ürik asit, bilirubin ve albumin bunlara örnektir.

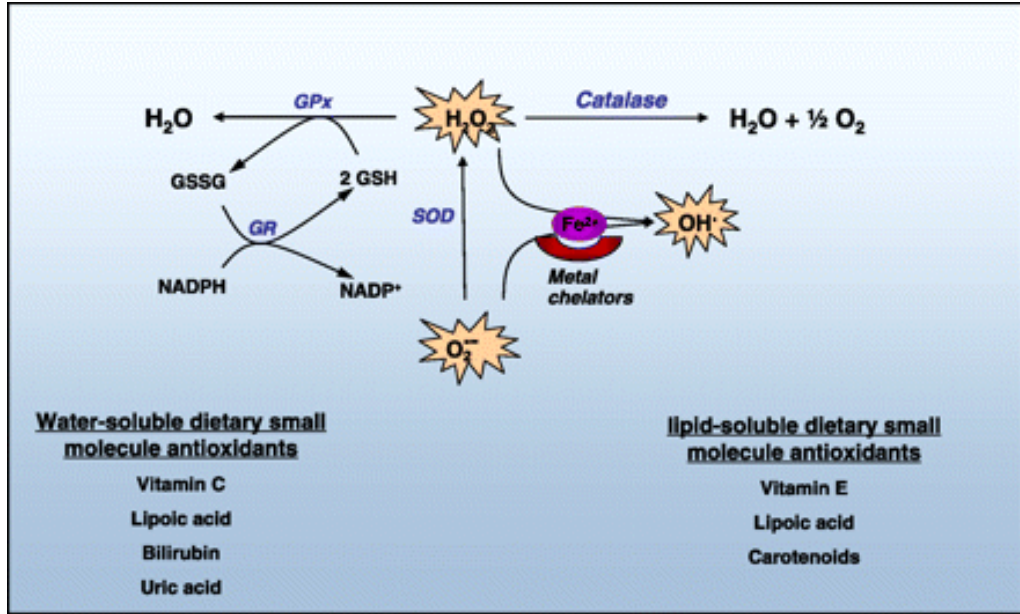
Tamir edici etkili olanlar: DNA tamir enzimleri ve metionin sülfoksid redüktaz enzimi bulunmakta, bunlar oluşan tahribatı onarmayı sağlamaktadır.⁵⁷

2.4.1. Antioksidanlar

Antioksidan savunma sistemleri modifiye edilmiş bir terminoloji ile primer ve sekonder olarak ikiye ayrılır. Primer antioksidan savunma sistemleri arasında katalaz, süperoksid dismutaz, glutatyon peroksidaz ve aynı zamanda askorbik asit, α -tokoferol, GSH, β -karoten ve ürik asit sayılmakta iken, sekonder olanlar içinde proteolitik ve lipolitik enzimlerle DNA tamir sistemleri bulunmaktadır^{83,84}.

2.4.1.1. Primer Antioksidan Savunma Sistemleri:

Enzimatik antioksidan savunma sistemleri, üzerinde çok yaygın olarak çalışılan mekanizmalardır. Küçük moleküller olan β -karoten, ürik asit, glutatyon (GSH), askorbik asit ve α -tokoferol daha çok zincir kırıcı antioksidanlar grubu içinde incelenmektedirler. Bu biyomoleküller serbest radikal tutucu yeteneklerinin yanısıra, antikarsinojenik özelliklerde göstermektedirler. Sitozolik fraksiyonda ekstrasellüler sıvıda ve membran lipidlerinde lokalize olan antioksidanlar, karsinogenezisden sorumlu olan serbest radikal aktivitesini engellediği için, potansiyel antikarsinojen olarak görev alırlar⁸⁵.



Resim 7: Antioksidan mekanizma

A) E Vitamini (α Tokoferol):

E vitamini, hücre membran fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini serbest radikal etkisinden korur. E vitamini, süperoksit ve hidroksil radikallerini, tek oksijenini, lipid peroksi radikallerini ve diğer radikalleri ortadan kaldırır. E vitamini, lipid peroksidasyon reaksiyonlarını kıran (zincir kırıcı) antioksidanlardandır. Bunlar, peroksi (LOO^\cdot) ve alkoksi (LO^\cdot) radikaller ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyon reaksiyonlarının ilerlemesini engeller. E vitamini, lipid radikali ile reaksiyona girerek onu radikal olmayan bir maddeye dönüştürürken, kendisi de, radikal haline gelir⁸⁶.



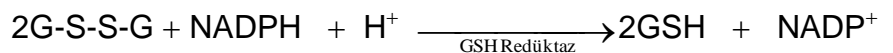
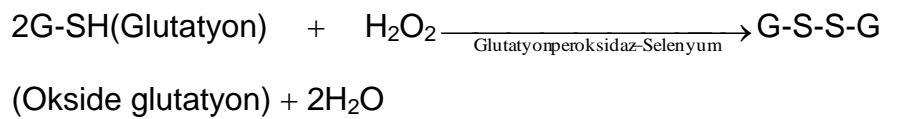
B) Katalaz:

Önleyici antioksidan savunmanın diğer bir formu, reaktif serbest radikal üretmek üzere, geçiş metal iyonları ile reaksiyona giren peroksidlerin uzaklaştırılmasıdır. Bunlar içerisinde hem hidrojen peroksid, hem de lipid peroksidasyon sonucu oluşan lipid hidroperoksidler bulunmaktadır.

Katalaz ve glutatyon peroksidaz bu peroksidleri yıkılıma uğratan enzimlerdir ⁸⁷. Katalaz, hemen hemen tüm memeli hücre tiplerinde var olup, değişik konsantrasyonlarda saptanabilir. Enzim, böbrek ve karaciğer hücrelerinin peroksizomlarında, diğer organlarda ise mikroperoksizom gibi daha küçük hücre organellerinde yerleşim göstermektedir. ⁸⁸ Yukarıda belirtilen lokalizasyonlarda çoğunlukla yerleşim gösteren katalaz, hidrojen peroksitle reaksiyona girerek, antioksidan etkisini gösterir. Katalaz 4 hem grubu içeren bir hemoproteindir. Peroksidaz aktivitesine sahiptir ⁸⁹. Görevinin, oksidaz etkisi ile oluşan hidrojen peroksidin yıkımı olduğu sanılmaktadır. Mikro yapılar veya peroksizomlar, karaciğer dahil, bir çok dokuda bulunur.

C) Glutatyon Peroksidaz:

Glutatyon peroksidaz ise; birçok hücrenin sitozolünde yerleşir ve hem hidrojen peroksitle hem de, eğer bir fosfolipaz aracılığı ile membran fosfolipidlerinden ayrılabilirse, yağ asidi hidroperoksidleri ile etkileşime girmektedir.

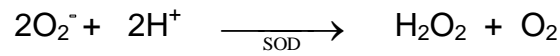


Bu reaksiyon önemlidir çünkü; H₂O₂'nin birikimi, hemoglobinin methemoglobine oksidasyon hızını arttırmasıyla eritrositin yaşam süresini kısaltabilir. Bazı toplumlarda mevcut bulunan bu mutasyon, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz noksanlığı ve bunun sonucu olarak indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotidfosfat (NADPH) üretiminde bozukluğa neden olur. Duyarlı kişiler malaryaya karşı kullanılan bir ilaç olan primakin, aspirin ya da sülfonamidler gibi okside edici maddeler ile karşılaştırıldıklarında ya da fava yedikleri zaman, bu noksanlık, eritrosit hemolizi şeklinde ortaya çıkar⁸⁹.

Glutasyon peroksidaz, hidrojen peroksida ek olarak organik peroksidleri de etkiler. Vitamin E ile birlikte lipid peroksidasyonuna karşı vücut savunmasının bir kısmını oluşturur⁸⁹.

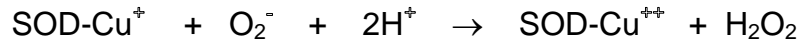
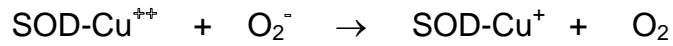
D) Süperoksid Dismutaz (SOD):

Aerobik şartlarda yaşamı sürdürmek için gerekli enzimdir. O₂· radikalinin H₂O₂ 'e dismutasyonunu katalizler ve OH· radikali oluşturmak için ortamda H₂O₂ ile reaksiyona girecek O₂· radikalini ortadan kaldırır⁹⁰.



Bazı reaksiyonlarda süperoksid hem oksidan hem de redüktan olarak hareket eder. Dokularda süperoksidin kimyasal etkisi, serbest radikal zincir reaksiyonları tarafından kuvvetlendirilir. Süperoksid dismutazın görevi; aerobik organizmaları, süperoksidin zararlı etkisine karşı korumaktır⁸⁹. Memeli hücrelerinde SOD'un bakır-çinko (Cu-Zn) ve mangan (Mn) içeren iki tipi vardır. Enzimin Cu-Zn SOD formu sitozolde ve mitokondri iç membranında, Mn formu ise mitokondriyal matrikste ve kısmen de sitoplazmada bulunur⁸⁵.

Süperoksit anyonu, SOD enzimi üzerindeki Cu⁺ ve bir arjininin guanido grubuna bağlanır. Bu bağlanma sonucunda, süperoksitten bir elektron Cu⁺⁺'a transfer olurken, Cu⁺ ve moleküler oksijen meydana gelir. Reaksiyonun devamında H₂O₂ oluşurken, enzim tekrar Cu⁺⁺ formuna döner.



SOD'u tek başına antioksidan ve detoksifiye edici bir enzim olarak kabul etmek aslında pek doğru değildir. SOD'un enzimatik katalizini gerçekleştirdiği reaksiyonun ürünü H₂O₂'dir. Ancak bu reaksiyon, reaktif oksijen radikallerinin detoksifikasyonuna giden enzimatik yolun ilk basamağıdır. İkinci basamakta katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri tarafından, H₂O₂, suya dönüştürülerek detoksifiye edilir⁸⁵.

E) Askorbik Asit (C Vitamini):

Askorbik asit kuvvetli indirgen aktivitesinden dolayı, güçlü bir antioksidandır. Süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girerek onları ortadan kaldırır. Askorbik Asit ayrıca antiproteazların oksidan maddeler ile inaktive olmasını engeller. Peroksil radikalleri ile direkt reaksiyona girdiği gibi, hidrojen transferi aracılı vitamin E radikali yıkımında da rol almaktadır⁹¹.

Askorbik asid, antioksidan etki yanında, oksidan etki de gösterir. Askorbik asit, SOD dışında, ferri demiri ferro haline çeviren tek hücrel ajandır. Bu yolla elde edilen ferro demir, fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşir⁹¹.

F) Ürik Asit:

Ürik asit en önemli antioksidanlardan biri olup, sıvı fazda peroksil radikallerini, askorbik asitten daha etkili olarak yakalar⁹².

2.4.1.2. Sekonder Antioksidan Savunma Sistemleri:

Protein-peroksil radikallerinin oluşumu; ana-zincir ve yan zincir reaksiyonlarını içeren, karbonil ve amino parçacıklı protein fragmentasyon ürünlerinin oluşumuna yol açan bir dizi basamağın sonucudur. Oksidatif olarak hasarlanmış proteinler, sekonder antioksidan savunma sistemleri kabul edilen proteazlar tarafından uzaklaştırılırlar⁵¹.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Gereçler

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1.1. Çalışmaya Dâhil Edilen Hastalar

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 01/2009-16 proje numarası ile desteklenmiş ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulundan 16 Mart 2009/ 122 no ile izin alınmıştır.

Bu çalışmaya Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Akupunktur Polikliniğine 29.01.2009-07.01.2010 tarihleri arasında başvuran 20-45 yaşlarında, toplam 40 bayan hasta dahil edilmiştir. Bu hastalar; VKİ=30-40 aralığında olan, hipertansiyonu ve diyabeti olmayan, ilaç kullanmayan hastalar olarak seçilmiştir. Hastalar çalışma amaçları ve dayanağı hakkında bilgilendirilip gönüllü olur formu doldurtulup imzalatılmıştır. Hasta gruplarına herhangi bir egzersiz veya diyet verilmemiş ancak nasıl yemeleri gerektiği konusunda bilgilendirilmişlerdir.

Çalışmaya dahil edilen 40 bayan hastanın 20 tanesine akupunktur uygulaması, 20 tanesine ise sham akupunkturu uygulaması yapılmıştır.(Grup 1: Obez + akupunktur, Grup 2: Obez + sham akupunktur)

Akupunktur uygulaması LI4,11, HT7, ST36, ST44,40, SP6 noktaları üzerinden uygulanmıştır. Haftada 2 seans olmak üzere toplam 10 seans uygulama yapılmıştır. Her uygulama süre olarak 20 dk. sürmüştür.

Sham grubunda olan hastalara da aynı akupunktur noktalarına, aynı süre ve seanslarla uygulama yapılmıştır. Ancak iğneler batırılmamış, bantla yapıştırılmıştır. Her iki gruptaki hastalardan uygulama için geldikleri ilk seanslarından önce (akupunktur öncesi - AÖ) ve tüm seansları bittikten sonra (akupunktur sonrası – AS) kan örnekleri alınmıştır. Bu örnekler santrifüj edilerek serumlar ayrılmış ve çalışma gününe kadar -80°C de saklanmıştır. Serumlardan MDA, AOPP, SOD ve GSH Px düzeylerinin ölçümleri yapılmıştır.

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Araçlar

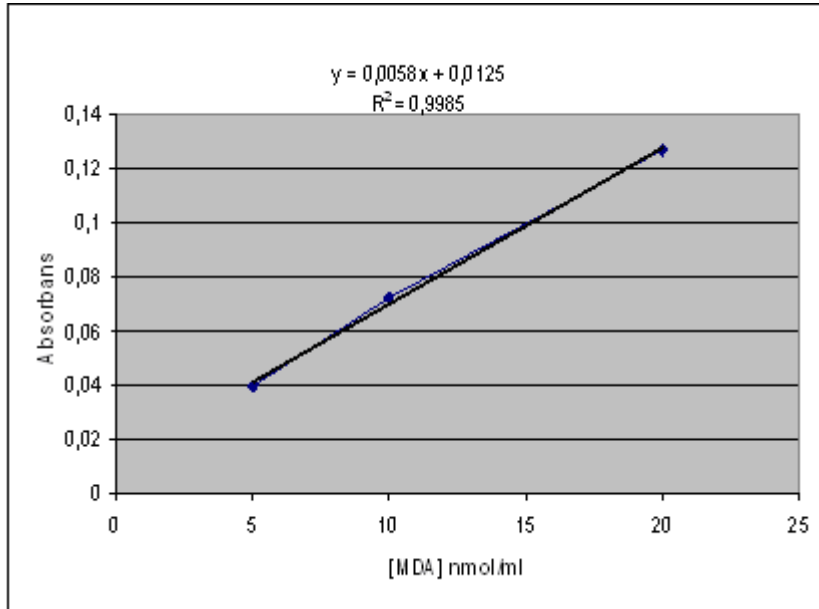
- Santrifüj (Sigma 2-5 Sartorius)
- Hassas terazi (Schimadzu)
- Vortex (Heidolp Reax 2000)
- P^H metre (Jenway)
- Spektrofotometre (Schimadzu, UV 1601)
- Eliza okuyucu ve yıkayıcı (Bio-Tek ELx800, Bio-Tek ELx50).

3.1.3. Serum MDA analizi

Serum MDA düzeyleri Ohkawa ve arkadaşlarının⁹³ yöntemine göre ölçüldü. Bu yöntemde; serum proteinleri sodyum dodesil sülfat (SDS) a bağlanarak daha çözünür hale getirilir ve ortam pH'sı asidik olduğu halde çökmez. Bu durumda örnekte bulunan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile ortam pH'sı 3.5 olduğu şartlarda oluşturduğu komplekse bağlı oluşan kırmızı rengin spektrofotometrik ölçümü yapılır..

Kullanılan Reaktifler: % 8.1 SDS, % 0.8 TBA, % 20 asetik asit (NaOH ile pH=3.5'a ayarlandı), tüm reaktanlar distile su ile hazırlandı. n-butanol/piridin ise (15:1, v/v) oranında kullanıldı.

Deneyin uygulanışı: 50 µl standart veya numune 150 µl distile su ile 200 µl'ye tamamlandıktan sonra 50 µl SDS, 375 µl TBA ve asetik asit eklenmesi sonrasında örnekler 60 dakika 95°C su banyosunda bekletildi. Örneklerin hemen soğutulmasını takiben 250 µl distile su ve 1250 µl n-butanol/piridin eklenerek örnekler 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra pipet ile küvete alınıp üst faz 532 nm.'de n-butanole karşı okundu. MDA konsantrasyonu nmol/ml cinsinden 1,1',3,3' tetraetoksi propan kullanılarak hazırlanan standart grafikten hesaplandı (Grafik 1).

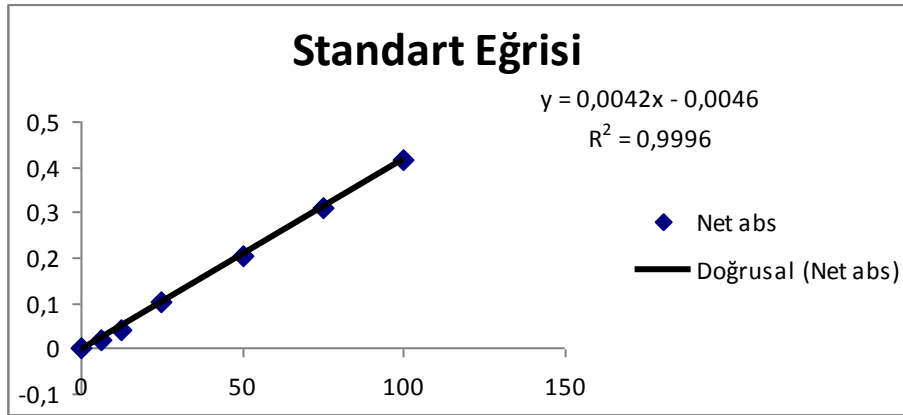


Grafik 1: Serum MDA Standart Grafiği

3.1.4. Serum AOPP analizi

Serum AOPP düzeyleri Witko-Sarsat ve arkadaşlarının tanımladığı spektrofotometrik yöntem⁹⁴ ile ölçülmüştür.

Deneyin uygulanışı: 200 µl serum 1:5 oranında fosfat tamponu (PBS, pH:7.4) ile dilue edildi. Örnekler 10 µl potasyum iyodür (KI, 1.16 M) ve 20 µl asetik asit (%100) eklenerek numuneler vortekslendi ve 340 nm'de kör olarak fosfat tamponuna karşı spektrofotometrik ölçüm yapıldı. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan (0–100 µM) Kloramin T, standart olarak numune gibi çalışıldı. Sonuçlar hazırlanan eğriden hesaplanarak µmol/L olarak verildi (Grafik 2).

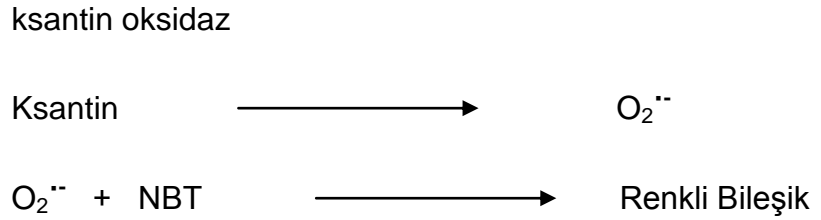


Grafik 2: Serum AOPP standart grafiği

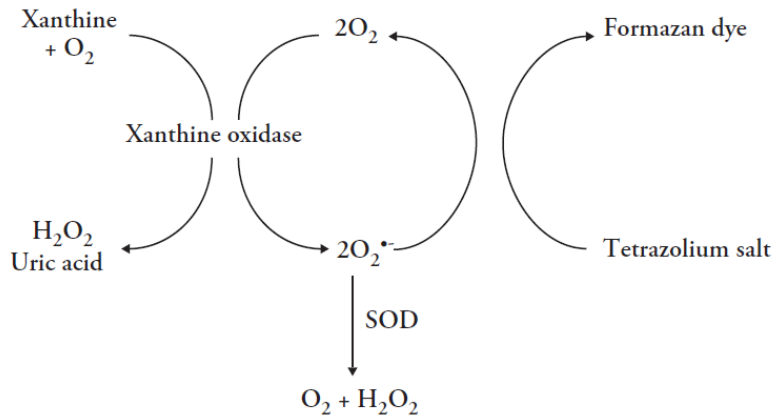
Sonuçlar standart eğriden hesaplanıp dilüsyon faktörü olan 20 ile çarpılarak mmol/mL olarak verilmiştir.

3.1.5. Serum Super Oksid Dismutaz Analizi

Serum SOD aktivitesi, Yi-Sun'un tanımladığı⁹⁵, ksantin ksantin oksidaz ile $O_2^{\cdot-}$ oluşturması ve bunun da NBT ile renkli bir bileşik oluşturarak bu renk şiddetinin spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır. Ortamdaki SOD aktivitesi ne kadar fazla ise $O_2^{\cdot-}$ 'yi ortadan kaldıracacağı için oluşan rengin şiddeti o kadar az olacaktır. % 50 inhibisyonu 1 Ü aktivitenin sağladığı kabul edilir.



Tablo 2: Süper oksit dismutaz enzim deneyi

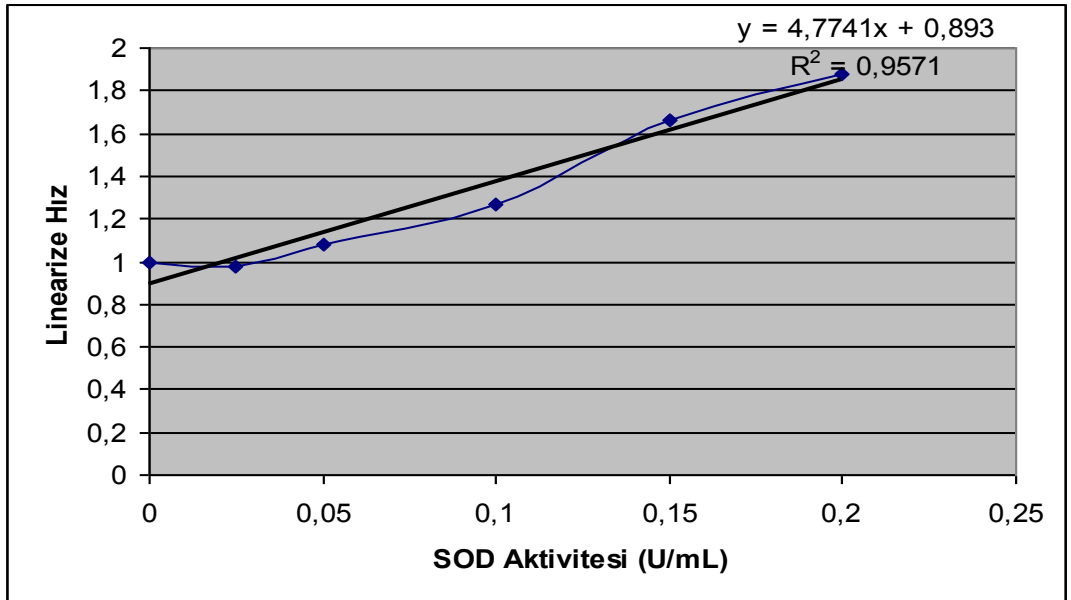


Çalışmada Cayman Super oksit dismutaz kiti kullanılmıştır. Kit prensibi Tablo 2'de gösterilmektedir.

Deneyin uygulanışı: SOD standartları, son SOD aktivitesi 0-0.25 U/mL olacak şekilde stok solusyondan hazırlanır. Belirlenen kuyucuklara 200 µl dilue radikal tayin edici solusyonun eklenmesini takiben 10 µl standartlardan ve örneklerden eklenir. Reaksiyon tüm kuyucuklara hızlı olarak 20 µl dilue ksantin oksidaz eklenmesi ile başlatılır. Oda sıcaklığında 20 dakika inkubasyonu takiben 440-460 nm arasında okuma yapılır. Standartlardan linalize hız hesaplanır. Öncelikle 0 standartının absorbansına diğer standartlar bölünerek son SOD aktivitesi, linalize SOD standart hızından tespit edilir (Grafik 3). Buradan elde edilen denklem her bir numunenin hesabında kullanılır.

Hesap;

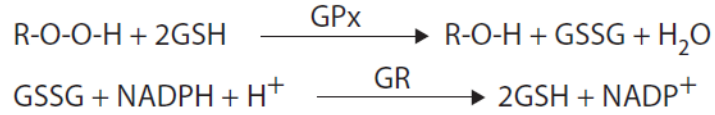
$$\text{SOD (U/ml)} = \left[\left(\frac{\text{sample LR} - \text{y-intercept}}{\text{slope}} \right) \times \frac{0.23 \text{ ml}}{0.01 \text{ ml}} \right] \times \text{sample dilution}$$



Grafik 3: Doğrusal linalize hızdan tespit edilen serum SOD aktivitesi (U/mL)

3.1.6. Serum Glutasyon Peroksidaz (GPx) Analizi:

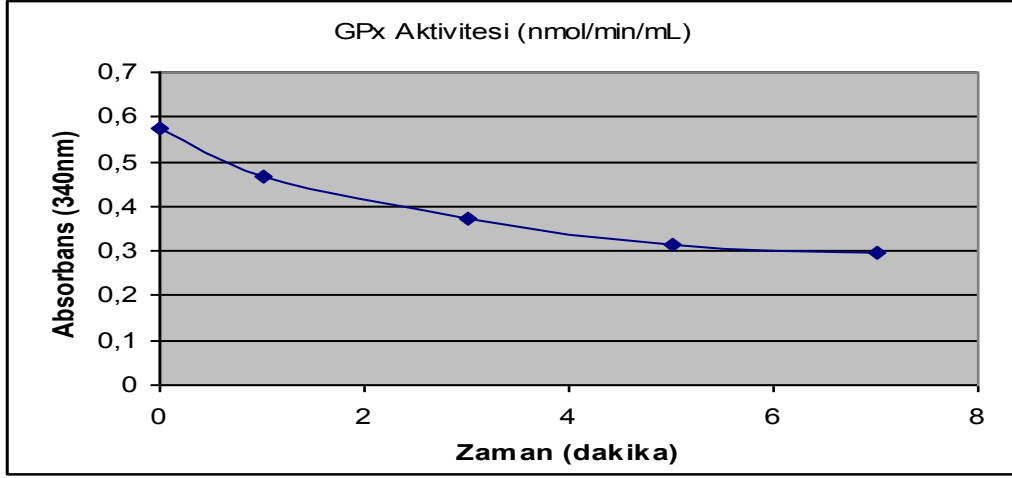
Glutasyon peroksidaz aktivitesi Paglia DE, Valentina ve arkadaşlarının⁹⁶ metoduna göre tayin edilmiştir. Bu çift enzim yöntemi, GPx ile hidrojen peroksitin (H₂O₂) redüksiyonunu ve glutasyon redüktaz ile NADPH'ın NADP'ye oksidasyonunu içermektedir. Enzim aktivitesi 37°C'da NADPH'ın NADP'ye oksidasyonu sonucunda reaksiyon içeriğinin 340 nm'de optik dansitesinde azalma olması ile belirlenir.



Serum örnekleri Cayman GPx enzim kiti ile çalışıldı. Kör veya enzimatik reaksiyon oluşmayacak kuyucuklara 120 µl çalışma tamponu ve 50 µl ko-substrat karışımı eklenerek hazırlandı. Pozitif kontrol kuyucukları bovine eritrosit GPx kullanılarak hazırlandı. Aynı miktarda örnek de farklı kuyucuklara eklendi. Reaksiyon 20 µl cumene hidroperoksit ilave edilerek başlatıldı, 5 dakika boyunca 340 nm dalga boyunda numune absorbansı azalması izlendi. Dakikadaki absorbans değişimi hesaplandı. NADPH için molar absorpsiyon katsayısı olan; $\epsilon = 6,22 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ kullanılarak $\Delta A = a_m \cdot \Delta C \cdot l$ formülüne göre dakika başına okside olan NADPH hesaplandı.

$$\Delta A_{340}/\text{min.} = \frac{A_{340}(\text{Time 2}) - A_{340}(\text{Time 1})}{\text{Time 2 (min.)} - \text{Time 1 (min.)}}$$

$$\text{GPx activity} = \frac{\Delta A_{340}/\text{min.}}{0.00373 \text{ M}^{-1}} \times \frac{0.19 \text{ ml}}{0.02 \text{ ml}} \times \text{Sample dilution} = \text{nmol/min/ml}$$



Grafik 4: Serum GPx aktivitesi

3.2. İstatiksel değerlendirme

İstatistiksel hesaplamalar, istatistik paket programı SPSS (Statistical Package for the Social Sciences Program, for windows 11.5) ve Microsoft Excel (for windows XP) programları ile yapılmıştır. Değerlendirmede Anova varyans analizi ve gruplar arasındaki farklılığı tespit etmek için Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Ayrıca gruplar Spearman korelasyon analizine tabi tutulmuştur. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

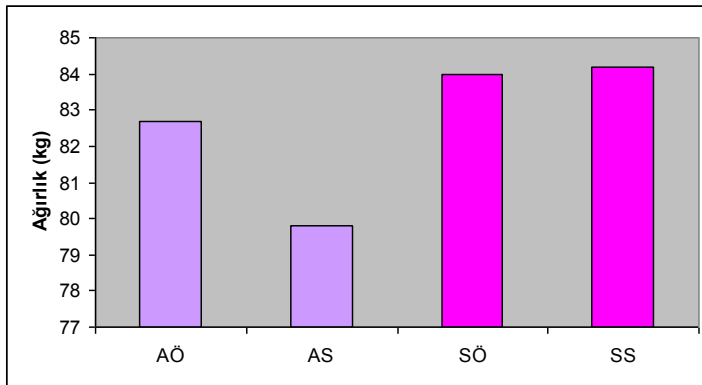
4. BULGULAR

- Sonuçlar tüm tablo ve grafiklerde **ortalama ± standart hata** olarak verilmiştir.
- $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4.1. Gruplar Arası Ağırlık Düzeyleri

Akupunktur uygulanan grupta çalışma öncesi ve sonrası hastaların beden ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edildi. ($p < 0,05$).

Sham akupunkturu öncesi ve sham akupunkturu sonrası hasta grupları arasında kilo kaybı düzeyleri arasında istatistiksel anlam farkı saptanmadı ($p > 0,05$).



Grafik 5: Gruplara ait beden ağırlığı değişimi

A.Ö. → Akupunktur öncesi

A.S. → Akupunktur sonrası

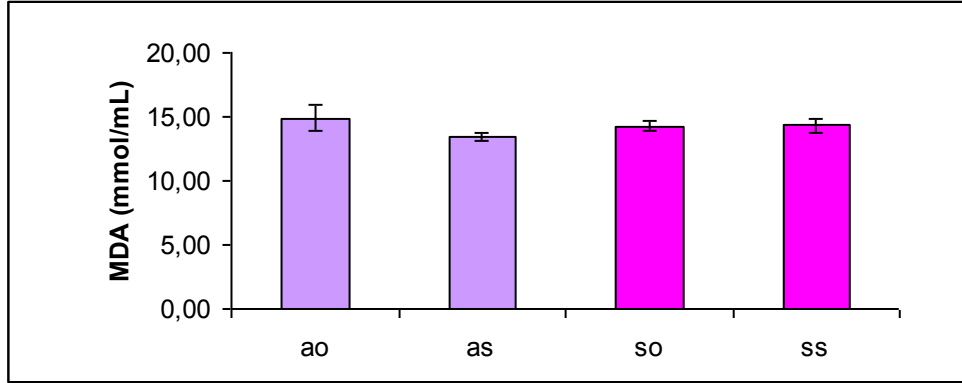
S.Ö. → Sham akupunktur öncesi

S.S. → Sham akupunktur sonrası

4.2. Serum MDA düzeyleri

Gerek akupunktur gerekse sham akupunktur grubunda uygulama öncesi ve sonrası serum MDA düzeyleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi. ($p > 0,05$)

Çalışmada aynı hastaların uygulama öncesi ve sonrası kanları alındığından yüzde değişim düzeyleri de hesaplandı. Buna göre akupunktur uygulaması yapılan grupta (grup 1) başlangıca göre çalışma bitiminde MDA düzeyleri %4.9luk düşme gösterirken sham grubunda (grup 2) % 3.3 luk bir artma gösterdi.

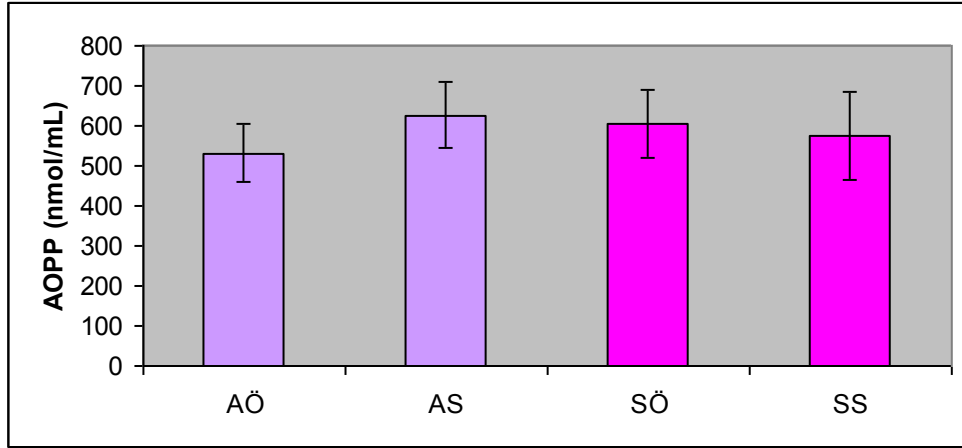


Grafik 6: Gruplara ait serum MDA değişimi

4.3. Serum AOPP düzeyleri

Gerek akupunktur gerekse sham akupunktur grubunda uygulama öncesi ve sonrası serum AOPP düzeyleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi. ($p > 0,05$)

Hastaların uygulama öncesi ve sonrası yüzde değişim düzeyleri de hesaplandığında akupunktur uygulaması yapılan grupta (grup 1) başlangıca göre çalışma bitiminde AOPP düzeylerinde %25'lik artış olurken sham grubunda (grup 2) % 2,4' lük bir artma gösterdi.

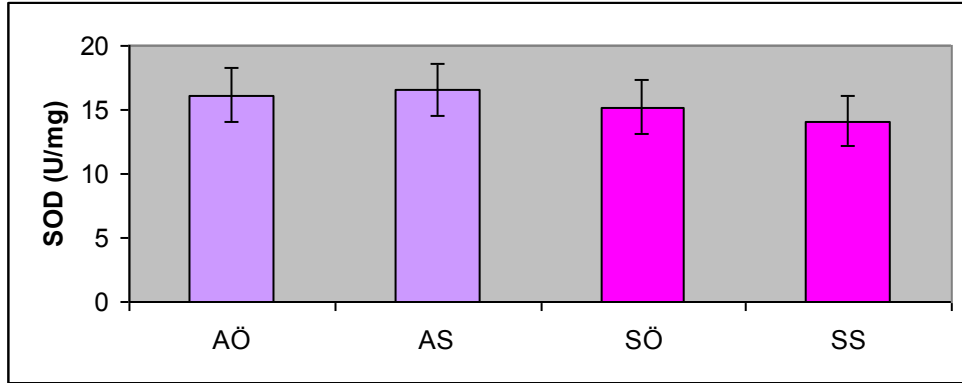


Grafik 7: Gruplara ait serum AOPP değişimi

4.4. Serum SOD değerleri

Akupunktur ve sham akupunktur grubunda uygulama öncesi ve sonrası serum SOD düzeyleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi. ($p > 0,05$)

Hastaların uygulama öncesi ve sonrası yüzde değişim düzeyleri de hesaplandığında akupunktur uygulaması yapılan grupta (grup 1) başlangıca göre çalışma bitiminde SOD düzeylerinde %5,7'lik artış olurken sham grubunda (grup 2) % 6,6'lık bir azalma gözlemlendi.



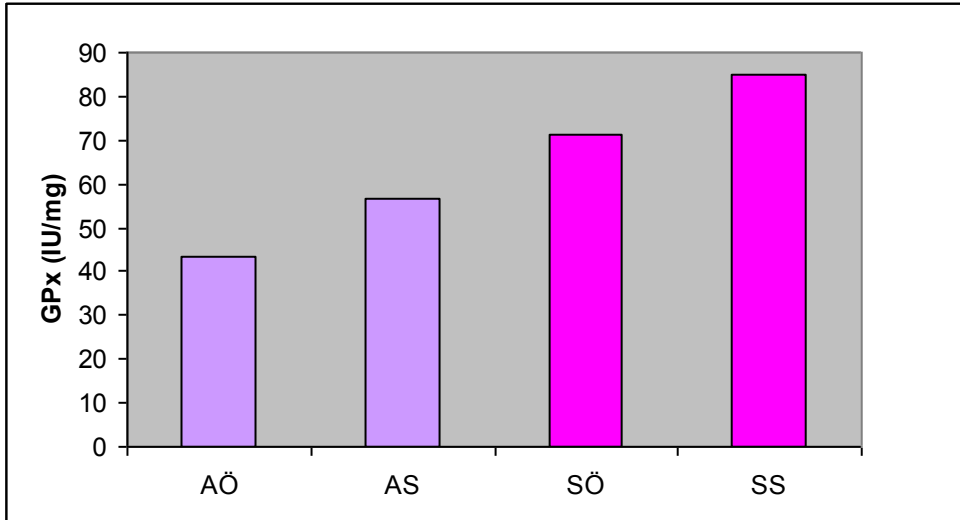
Grafik 8: Graplara ait serum SOD değişimi

4.5. Serum GPx düzeyleri

Akupunktur uygulanan grupta akupunktur öncesi ve sonrası GPx düzeyleri arasında istatistiksel anlam farkı saptanırken ($P<0,05$), sham akupunkturu grubunda seanlardan önce ve sonra GPx düzeyleri arasında istatistiksel anlam farkı saptanmadı ($p>0.05$).

Akupunktur uygulanan hastalarda değişim yüzdesi hesaplandığında akupunktur sonrası GPx düzeylerinde %83,5 'lik artış oldu.

Sham akupunkturu uygulanan grupta değişim yüzdesi hesaplandığında sham akupunkturu sonrası GPx düzeylerinde % 26,9'luk artma oldu.



Grafik 9: Gruplara ait serum GPx değişimi

4.6. Gruplar arası korelasyon

Tüm gruplar arasında MDA, AOPP, SOD ve GPx düzeyleri arasında korelasyon saptanmadı.(Spearman, $p>0,05$)

Tablo 3: Çalışma gruplarının serum MDA, AOPP, SOD, GPx sonuçları(ortalama \pm standart hata)

	MDA	AOPP	SOD	GPx
AÖ	14,8 \pm 0,99	531,5 \pm 72,1	16,2 \pm 2,2	39,3 \pm 5,8
AS	13,4 \pm 0,36	627,3 \pm 83,5	16,6 \pm 1,9	59,1 \pm 4,1
SÖ	14,3 \pm 0,41	604,7 \pm 84,8	15,2 \pm 2,1	71,4 \pm 6,8
SS	14,3 \pm 0,49	574,8 \pm 110,1	14,1 \pm 1,9	84,9 \pm 5,3

5. TARTIŞMA

Obezite, enerji alımı ve enerji harcanması arasındaki bir enerji dengesi sorunu olup vücutta aşırı yağ depolanması sonucu ortaya çıkan bir hastalıktır.⁹⁷

Obezitede, insan vücudunda yağ hücrelerinde depolanan doğal enerji rezervleri ciddi risk oluşturacak düzeyde artarken, mortalite oranlarının artması da karakteristiktir. Yağ dokusu rezervlerindeki bu artış kişinin biyolojik özellikleri, psikolojik yapısı ve çevresel faktörlerin henüz aydınlatılamamış kompleks ilişkisi sonucunda ortaya çıkmaktadır⁹⁸ Obezite varlığında ileri dönemlerde ortaya çıkan komplikasyonların en önemli nedenlerinden biri olarak artmış oksidan stres öne sürülmektedir. Obezlerde endojen antioksidan savunma mekanizmalarındaki yetersizliğin, obeziteye bağlı çeşitli komplikasyonlara katkıda bulunabileceği bildirilmiştir. Kilodaki azalmanın metabolik profili iyileştirmesi obezite tedavisinin esas amacını oluşturmaktadır.⁹⁹Obesite tedavisinde kullanılan metotlardan biri olan akupunkturun oksidatif stres üzerine de etkili olabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur.

Çalışmamız kapsamında yirmişer kişilik iki obez gruptan birine akupunktur tedavisi diğerine de sham akupunktur tedavisi uygulandı. Her iki gruptaki bireylerden her birinden tedavi başlamadan önce ve 10. seans yapıldıktan hemen sonra kan alındı. Alınan kanlarda MDA, AOPP, SOD ve GPx değerleri ölçüldü.

Çalışmamızda akupunktur uygulanan obez hasta grubunda 10 seans sonunda beden ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı azalma bulunurken sham akupunktur uygulanan grupta ağırlık değişimi olmamıştır.

Obesitede artan serbest radikaller, protein, lipid ve nükleik asit gibi hücre bileşenleri ile etkileşerek hücrelerde önemli yapı ve fonksiyon bozukluğuna neden olurlar. Lipid peroksidasyonu, serbest radikaller tarafından başlatılan ve membran yapısındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olaydır. Bu olay bir kez başladıktan sonra otokatalitik zincir reaksiyonları şeklinde yürümektedir⁴⁵. Lipid peroksidasyonuna bağlı doku hasarı lipid peroksidasyon yıkım ürünlerinin ölçümü ile belirlenebilir. Bu ürünlerin en toksik olanı, MDA'dır. İki'den fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin otooksidasyonunda veya eikosanoid sentezinde serbestleşen siklik endoperoksitler MDA'nın asıl kaynağıdır.

Kozka M. ve arkadaşlarının obez hastalarla yaptıkları çalışmada obezlerdeki MDA düzeyleri VKİ normal olan bireylerden anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.¹⁰⁰

68 obez çocukla yapılan bir başka çalışmada obez çocukların MDA düzeyleri normal kilodaki çocuklara göre yüksek bulunmuş ve bu çocukların tedavisinde düşük kalorili diyetle ilaveten yüksek antioksidan içeriği olan gıdalar verilmesi önerilmiştir.¹⁰¹

Obez hastalarda uygulanan akupunktur tedavisi sonrası ölçülen MDA düzeyleri ile ilgili herhangi bir çalışma yoktur. MDA ile ilgili çalışmalar genelde rat çalışmaları olup başka rahatsızlıklarla ilgilidir.

6- Hidroksidopaminle beyin hasarı oluşturularak Parkinson benzeri tablo gösteren ratlarda beyin MDA seviyeleri artıp SOD ve GPx düzeyleri azalırken akupunktur uygulandığında bu tablonun tersine döndüğü görülmüştür.¹⁰²

Nonalkolik yağlı karaciğeri olan ratlarda uygulanan elektroakupunktur sonrası karaciğer MDA ve cytochrome P450 1 A 1 düzeylerinde düşme olurken SOD düzeyleri artmıştır.¹⁰³

Sepsisli ratlarda (n=48) yapılan bir başka çalışmada ST-36 noktasına uygulanan elektroakupunkturun hepatik kan akımını arttırdığı ve lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir.¹⁰⁴

Bizim çalışmamızda 20 sağlıklı obez kadın hastaya akupunktur, 20 sağlıklı obez hastaya ise sham akupunktur uygulanmıştır.Tedaviye başlamadan önce ve on seans sonra her iki hasta grubundan da kan alınmıştır.Yapılan MDA analizinde her iki grupta da anlamlı bir fark saptanmamıştır.Ancak akupunktur uygulaması yapılan grupta (grup 1) başlangıca göre çalışma bitiminde MDA düzeyleri %4.9luk düşme gösterirken sham grubunda (grup 2) % 3.3 luk bir artma gözlenmiştir.

Akupunktur tedavisi uygulanan obez kişilerde iğne batırılması inflamatuvar bir cevaba neden olur.²¹İnflamasyonun gelişiminde meydana gelen lökosit infiltrasyonu ve dokuda lökosit sayısının artışıyla NADPH oksidaz enzimi yoluyla serbest radikal üretimi artar.Sonuç olarak bu süreçte oksidatif stres artabilir.Akupunktur bir denge tedavisidir ve tedaviye devam edildiğinde antioksidan sistemin aktive olduğu ve MDA düzeylerindeki azalmanın buna bağlı olduğunu düşünüyoruz. Bu düşüncemizi destekleyen akupunktur tedavisinin antioksidan sistemi aktive ettiğine dair çalışmalar mevcuttur.^{102,103,104}

Sohet ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, yağlı diyet sonucu obez olan sıçanlarda E vitamini düzeyinin yükseldiği ve bunun karaciğerde ve adipoz dokuda alfa-tokoferol konsantrasyonunu artırarak

lipit peroksidasyona karşı koruma sağladığı, dolayısıyla organlardaki lipit peroksidasyonunun mutlaka diyabet veya obeziteye bağlı bir metabolik bozuklukla ilişkili olması zorunluluğu bulunmadığı öne sürülmüştür¹⁰⁵

Biz de çalışmamız sırasında hastaların diyet alışkanlıklarında herhangi bir değişikliğe gitmedik, hastalara herhangi bir diyet vermedik. MDA düzeylerinde anlamlı bir fark çıkmamasının sebebi hastaların diyet alışkanlıkları olabilir. Akupunktur grubunda ortaya çıkan serum MDA seviyesindeki %4'lük azalma seans sayısının veya hasta sayısının artması ile istatistiksel olarak anlamlı hale gelebilir.

Obez kişilerde AOPP ile ilgili yapılmış çok az çalışma vardır. Koçak ve arkadaşlarının obez kadınlarda yaptığı çalışmada AOPP seviyelerinin prediyabetiklere göre diyabetiklerde belirgin olarak yüksek olduğu ve AOPP'nin obezlerdeki bozulmuş glikoz metabolizmasını izlemede yardımcı olabileceği belirtilmiştir.¹⁰⁶

Atabek ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada insülin rezistansı olan 25, insülin rezistansı olmayan 32 obez çocuk ve adolesan, 20 sağlıklı çocuk ve adolesan ile karşılaştırılmış ve AOPP seviyeleri obez grupta kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek bulunmuştur.³⁷

Bizim çalışmamızda hem akupunktur hem de sham akupunktur grubunda uygulama öncesi ve sonrası serum AOPP düzeyleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi.($p > 0,05$) Hastaların uygulama öncesi ve sonrası yüzde değişim düzeyleri de hesaplandığında akupunktur uygulaması yapılan grupta başlangıca göre çalışma bitiminde AOPP düzeylerinde %25'lik artış olurken, sham grubunda % 2,4' lük bir artma gösterdi.

AOPP, protein oksidasyonunun inflamasyon aşamasını gösteren proinflamatuvar bir belirteçtir.¹⁰⁷

Akupunktur uygulamasında; iğne cilde batırıldığı andan itibaren inflamatuvar bir sürecin başladığı ve fagositik aktivitenin uygulama anından itibaren 12. günde %63 oranında yükseldiği belirtilmektedir. Lökosit sayısının da uygulama sonrasında ilk 30 dakikada azalma gösterirken , 3.saatte %168'e kadar artış gösterdiği belirtilmektedir.²¹

Bizim çalışmamızda AOPP düzeyleri, akupunktur uygulaması yapıldıktan hemen sonra alınan kan örneklerinde çalışılmıştır. Akupunkturun iğne etkisiyle başlattığı inflamasyon sürecinden sonra alınacak kan örneklerinde serum AOPP düzeyinin değişebileceğini düşünmekteyiz.

SOD süperoksit radikallerinin en önemli temizleyicisidir. Bu temizleme sonucu H₂O₂ oluşur. H₂O₂ radikal olarak kabul edilmez fakat en önemli hidroksil kaynağıdır. GPx ve katalaz H₂O₂'nin katalizinde rol alan iki enzimdir.

Yüksek yağlı diyetle beslenerek obezite oluşturulan ratlarda ortaya çıkan endotel disfonksiyonunda azalmış antioksidan savunmanın rolü olduğu düşünülmektedir.¹⁰⁸

Abdominal bölgede yağ birikimi olan 181 sağlıklı kadında yapılan çalışmada serum SOD ve GPx aktivitesinin azaldığı görülmüştür.¹⁰⁹ Çin'de yapılan bir başka çalışmada obez erkeklerde SOD aktivitesinin belirgin olarak azaldığı gösterilmiştir.¹¹⁰

Obez bireyler üzerinde akupunktur uygulamasının SOD üzerine sonuçlarını gösteren herhangi bir çalışma yoktur ve yapılan çalışmalar da tıpkı MDA çalışmaları gibi çoğunlukla başka hastalıklar ile ilgili rat çalışmalarıdır.

Serebral multi enfarktları olan ratlarda akupunktur uygulaması sonucunda hippokampusta CuZnSOD miktarında belirgin olarak artma görülmüştür.¹¹¹

Vasküler demans oluşturulmuş ratlarda uygulanan elektroakupunktur sonucu SOD ve GPx aktivitesinin arttığı ve ratların öğrenme yeteneği ve hafızalarında gelişme olduğu görülmüştür.¹¹²

Bizim yaptığımız çalışmada akupunktur ve sham akupunktur grubunda uygulama öncesi ve sonrası serum SOD düzeyleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi. ($p > 0,05$) Hastaların uygulama öncesi ve sonrası yüzde değişim düzeyleri de hesaplandığında akupunktur uygulaması yapılan grupta başlangıca göre çalışma bitiminde SOD düzeylerinde %5,7'lik artış olurken sham grubunda % 6,6'lık bir azalma gözlemlendi.

Akupunktur uygulanan grupta akupunktur öncesi ve sonrası GPx düzeyleri arasında istatistiksel anlam farkı saptanırken ($P < 0,05$), sham akupunkturu grubunda seanlardan önce ve sonra GPx düzeyleri arasında istatistiksel anlam farkı saptanmadı ($p > 0,05$). Akupunktur uygulanan hastalarda değişim yüzdesi hesaplandığında akupunktur sonrası GPx düzeylerinde %83,5'lik artış oldu. Sham akupunkturu uygulanan grupta değişim yüzdesi hesaplandığında sham akupunkturu sonrası GPx düzeylerinde % 26,9'lük artma oldu.

Sham grubunda SOD ve GPx düzeylerindeki artış sham grubunda MDA daki %4,9'luk artışa bağlı olabilir.Serbest radikallerdeki az miktarda artış normal dokuda antioksidan savunmayı güçlendirir.¹¹³

Hiperlipemik ratlarla yapılan bir çalıřmada ST-40 noktasına uygulanan elektroakupunkturun akciđer, karaciđer, dalak ve pankreasta MDA içeriđi ve SOD aktivitesine etkisi arařtırılmıř; dalak ve akciđerde SOD aktivitesinin belirgin olarak arttıđı, akciđerde MDA'nın dūřtūđū, karaciđerde SOD aktivitesinin hafifçe dūřtūđū ve MDA içeriđinin arttıđı, pankreas dokusunda ise SOD aktivitesi ve MDA içeriđinde deđiřlik olmadıđı grlmūřtur.¹¹⁴Aynı tedavi ile deđiřik dokularda deđiřik yanıtlar alınmıřtır.Biz MDA, AOPP, SOD ve GPx'i serumda çalıřtık.çalıřmaya katılan obez bireylerin yařam tarzlarına çok fazla müdahale etmedik.Dolayısıyla kiřilerin beslenme, spor alışkanlıkları, yařadıkları evre gibi pek çok faktör oksidan stresi etkileyebilir.

Metabolik sendrom ve obezite her zaman rtūřmezler .Obesiteye eřlik eden herhangi bir kronik hastalık mevcut deđilse bu "benign obesite" olarak kabul edilmektedir.^{115 -119} Bizim çalıřmamıza katılan obez bireyler de metabolik sendroma ait dislipidemi, dūřk HDL, glikoz intoleransı veya hipertansiyon gibi metabolik sendroma ait bulguları tařımıyorlardı.

Akupunkturun oksidatif stres üzerindeki etkisini daha iyi değerlendirmek için hipertansiyon, diyabet, vs hastalıkları olan bireylerde geniş kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiğini dūřnmekteyiz.

6. SONUÇ

Çalışmamızda obez hastalarda oksidan stres üzerine akupunkturun etkisini inceledik. Akupunktur ve sham akupunktur uygulanan hastalarda MDA, AOPP ve SOD değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. GPx değerleri ise akupunktur uygulanan grupta seanslardan sonra artmıştır.

Bizim yaptığımız çalışma akupunkturun obezlerde oksidan stres üzerine etkisini insanlarda inceleyen tek çalışmadır. Literatürdeki çalışmalar çoğunlukla ratlar üzerinde ve obezite dışı rahatsızlıklarda uygulanmıştır. Oksidan stres yaşanan çevre, beslenme özellikleri, kişinin kullandığı ilaçlar, vs. bir çok faktör ile ilgilidir. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda koşulları standardize etmek çok zordur. Bu yüzden obezlerde akupunkturun oksidan stres üzerine etkisini anlayabilmek için çok daha detaylı insan ve rat çalışmalarına ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

7. ÖZET

Obez Kişilerde Akupunkturun Oksidatif Stres Üzerine Etkisi

Bu çalışmanın amacı obez kişilerde oksidatif stres üzerine akupunkturun etkisinin değerlendirilmesidir. Kırk kadından oluşan grup ikiye bölünmüştür. Sham akupunktur grubu(n=20), akupunktur grubu(n=20). Akupunktur tedavisi, 20 dakikalık haftada 2 seans toplam 10 seans olacak şekilde ve iğneler uyarılmadan uygulanmıştır..Hasta grubuna diyet listesi verilmemiş ancak nasıl yeneceği konusunda önerilerde bulunulmuştur.Onuncu seanstan sonra serumda lipid peroksidasyonu (MDA), AOPP Düzeyleri, Süperoksid Dismutaz ,Glutatyon Peroksidaz tayin edilmiştir. Akupunktur uygulaması sonucunda bu parametrelerin serum düzeyleri değerlendirilmiştir. Sadece akupunktur uygulanan grupta GPx değerleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde artarken diğer parametrelerde değişiklik olmamıştır. Akupunkturun obez kişilerde oksidatif stres üzerine etkisini araştırmak için daha ileri hayvan ve insan çalışmalarına ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Akupunktur, obezite, MDA, SOD, AOPP, GPX

8. SUMMARY

The Effect Of Acupuncture On The Oxidative Stres In Obese People

The aim of this study is to investigate the effect of acupuncture on the oxidative stres at obese people. Forty female adult divided into two groups; sham acupuncture group(n=20), acupuncture group(n=20).The acupuncture applied 20 minutes/ two times/week and not be stimulated. A diet listing did not given but suggestions about how to eat was made. After the tenth treatment we determined lipid peroxidation (MDA), AOPP levels, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) levels in plasma and compared the levels before and after acupuncture.Only in acupuncture grup GPx levels increased significantly .Other parameters didn't change. To investigate the effect of acupuncture on oxidative stress in obese subjects further animal and human studies are needed.

Key words: Acupuncture, obesity, MDA, SOD, AOPP, GPX

9. KAYNAKLAR

1. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2004;114:1752–1761.
2. Niki E. Free radicals in the 1900's: from in vitro to in vivo. *Free Radic Res* 2000;33:693–704. |
3. Powers SK, DeRuisseau KC, Quindry J, Hamilton KL. Dietary antioxidants and exercise. *J Sports Sci* 2004;22:81–94.
4. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem* 1993; 26: 351-7.
5. Demirbağ R, Yılmaz R, Gür M, Çelik H, Güzel S, Selek S, et al. DNA damage in metabolic syndrome and its association with antioxidative and oxidative measurements. *Int J Clin Pract* 2006; 60: 1187-93.
6. Galili O, Versari D, Sattler KJ, Olson ML, Mannheim D, McConnell JP, et al. Early experimental obesity is associated with coronary endothelial dysfunction and oxidative stress. *Am J Physiol Heart Circ*
7. Higdon JV, Frei B. Obesity and oxidative stress a direct link to CVD. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 365-367.
8. Jean-Baptiste E, Rizack MA. In vitro cyclic AMP-mediated lipolytic activity of endorphins, enkephalins and naloxone. *Life Sci* 1980; 27:135.
9. El-Tayeb KMA, Brubaker PL, Vranic M, Lickley HLA. Betaendorphin modulation of the glucoregulatory effects of repeated epinephrine infusion in normal dogs. *Diabetes* 1985; 34: 1293-300.

10. Shafshak TS. Elektroakupuncture and exercise in body weight reduction and their application in rehabilitating patients with knee osteoarthritis. *Am J Chi Med* 1995;23:15-25.
11. Hopwood V, Lovesey M, Mokone S. *Acupuncture & related techniques in physical therapy*. Elsevier Science Ltd, London UK.; 2003.
12. Ellis N. *Acupuncture in clinical practice. A guide for health professionals*. Stanley Thornes Ltd, Bath UK.; 2000.
13. Stux G, Berman B, Pomeranz B. *Basics of Acupuncture*. 5th Edition ed. Springer London UK.; 2003.
14. Andersson S, Lundeberg T. Acupuncture--from empiricism to science: functional background to acupuncture effects in pain and disease. *Med Hypotheses* 1995; 45(3):271-281.
15. Han JS. Acupuncture and endorphins. *Neurosci Lett* 2004; 361(1-3):258-261.
16. Sok SR, Erlen JA, Kim KB. Effects of acupuncture therapy on insomnia. *Journal of Advanced Nursing* 2003; 44(4):375-384.
17. Cheuk DKL, Wong V. Acupuncture for insomnia. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2005;(3).
18. Smith CA, Hay PPJ. Acupuncture for depression. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2004;(3).
19. Ter RG, Kleijnen J, Knipschild P. A meta-analysis of studies into the effect of acupuncture on addiction. *British Journal of General Practice* 1990; 40(338):379-382.

20. Acupuncture: Review And Analysis Of Reports On Controlled Clinical Trials Geneva: Acupuncture: Review And Analysis Of Reports On Controlled Clinical Trials World Health Organization. URL:<http://hinfo198.tempdomainname.com/medicinedocs/collect/ed mweb/pdf/s4926e/s4926e.pdf>
21. Çevik C. Medikal Akupunktur, Ankara(2001).
22. Zhongguo Zhen Jiu. [Effects of electroacupuncture at Fenglong (ST 40) on SOD and MDA in different organs of the hyperlipemia rat] 2008 Apr;28(4):293-6
23. Hua JS, Li LP, Zhu XM. Effects of moxibustion pretreating on SOD and MDA in the rat of global brain ischemia. J Tradit Chin Med. 2008 Dec;28(4):289-92.
24. Feng GM, Xing DJ, Sun QX Effects of acupuncture on blood pressure, SOD, LPO and five kinds of trace elements to stenosis of renal artery caused hypertension in rats. Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi. 1994 Dec;14(12):739-41.
25. Özarmağan S ve Bozboru A: Obezite ve tedavisi. İstanbul (2002);1-13
26. National Institutes of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute: Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults-in evidence report. Obes Res 1998;6(Suppl 2):51S-209S.
27. World Health Organization Expert Committee: Physical Status: The Use and Interpretation of Anthropometry. WHO Technical Report Series no. 854. Geneva, World Health Organization, 1995.

28. Nagae A, Fujita M, Kawarazaki H, Matsui H, Ando K, Fujita T. Sympathoexcitation by Oxidative Stress in the Brain Mediates Arterial Pressure Elevation in Obesity-Induced Hypertension . *Circulation*. 2009;119:978-986.)
29. US Department of Health and Human Services. The Surgeon General's Report on Nutrition and Health US Department of Health and Human Services: Washington, DC, 1988, Department of Health and Human Services Publication 88-50210.
30. Manson JE, Stampfer MJ, Hennekens CH, Willet WC. Body weight and longevity. A reassessment. *JAMA* 1987; 257: 353-358.
31. Westlund K, Nicolaysen R. Ten year mortality and morbidity related to serum cholesterol. *Scand J Clin Lab Invest* 1972; ((Suppl)) 30: 1-24.
32. Bray GA. Pathophysiology of obesity. *Am J Clin Nutr* 1992; 55: 4885-4945.
33. Vincent HK, Powers SK, Stewart DJ, Shanely RA, Demirel H, Nalto H. Obesity is associated with increased myocardial oxidative stress. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999; 23: 67-74.
34. Dobrian AD, Davies MJ, Prewitt RL, Lauterio TJ. Development of hypertension in a rat model of diet-induced obesity. *Hypertension* 2000; 35: 1009-1015.
35. Turrens JF. Superoxide production by the mitochondrial respiratory chain. *Biosci Rep* 1997; 17: 3-8.
36. Lechleitner M, Koch T, Harold M, Dzien A, Hoppiahler F. Tumour necrosis factor-alpha plasma level in patients with type 1 diabetes mellitus and its association with glycaemic control and cardiovascular risk factors. *J Intern Med* 2000; 248: 67-76.

37. Atabek ME, Keskin M, Yazici C, Kendirci M, Hatipoglu N, Koklu E, Kurtoglu S. Protein oxidation in obesity and insulin resistance Eur J Pediatr. 2006 Nov;165(11):753-6. Epub 2006 May 19.
38. Piwowar A, Knapik-Kordecka M, Warwas M AOPP and its relations with selected markers of oxidative/antioxidative system in type 2 diabetes mellitus. Diabetes Res Clin Pract. 2007 Aug;77(2):188-92. Epub 2007 Mar 1.
39. Kaya C, Erkan AF, Cengiz SD, Dunder I, Demirel OE, Bilgihan A Advanced oxidation protein products are increased in women with polycystic ovary syndrome: relationship with traditional and nontraditional cardiovascular risk factors in patients with polycystic ovary syndrome. Fertil Steril. 2009 Oct;92(4):1372-7. Epub 2008 Oct 31.
40. Craighesd J.E.: Current views on the etiology of insülin dependent diabetes mellitus, N. Engl. J. Med., 299: 1439, (1978).
41. Smith C, Marks Allan D, Lieberman M. Basic Medical Biochemistry. Second Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. s.441.
42. Aebi H. Catalase in vitro. Methods in Enzymology 1984; 105: 121-126
43. Akkuş, İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik etkileri, 1. Baskı, Mimoza yayınları, Konya, (1995).
44. Altan N, Ongun CÖ, Elmalı E, Kılıç N, Yavuz Ö, Çaycı B. Effect of the sulfonylurea glyburide on glutathione and glutathione peroxidase activity in alloxan induced diabetic rat hepatocytes. Gen Pharmac 1994; 25: 875-878

45. Basaga H.S: Biochemical aspects of free radicals. Cell Biol. 68: 989-998, (1990).
46. Cheeseman K.H. , Slater T. F. : An introduction to free radical biochemistry. British Medical Bulletin Vol 49, No 3, pp 481-493, (1993).
47. Yalçın AS. : Antioksidanlar. Klinik Gelişim . 11(1-2):342-346,(1998).
48. Nordberg J, Arner ESJ. Reactive Oxygen Species, Antioxidants, and the Mammalian Thioredoxin System. Free Radical Biology and Medicine. 2001; 31(11): 1287-1312.
49. Kuyvenhoven J.P. , A.E. Meinders.: Oxidative Stress And Diabetes Mellitus Pathogenesis of Long-Term Complications. European Journal of Internal Medicine 10:9-19, (1999).
50. Hallwell B: Oxygen is Poisonous : The Nature And Medical Importance Of Oxygen Radicals. Medical Laboratory Sciences:41 :157-171, (1984)
51. Hallwell B. Reactive Oxygen Species in Living Systems Source, Biochemistry, and Role in Human Disease. The American Journal of Medicine 91(3) :14-22, (1991).
52. Kayaalp, O.:Tıbbi Farmakoloji, 5.Baskı, 24116-48, 2543-70, Feryal matb., Ankara,(1990)
53. Katoh K. : Possible Relevance Of Lipid Peroxidation And Thromboxane Production To The Initiation and/or Evolution of Microangiopathy in Nonhyperlipidemic Type II Diabetes Mellitus. Diabetes Research and Clinical Practice 18:89, (1992).
54. Özdemir G. Reaktif oksijen partikülleri, Roche Bilimsel Eserler Serisi, (1993)

55. Freeman A B, Crapo D J: Biology and Disease: Free Radicals Tissue Injury. *Lab. Invest.* 47(5):421—426, (1982).
56. Bonnefoy M, Drai J, Kostka T. Antioxidants to slow aging, facts and perspectives. *Presse Med.* 2002; 31(25):1174-84.
57. Gedik O.: Diabetes mellitus mezuniyet sonrası eğitim kursu kitabı Hacettepe üni. Yayınları: 7(1997).
58. Rice-Evans C. Free Radicals and Antioxidants in Normal and Pathological Processes. in: Rice-Evans C, Bruckdorfer KR, editors. *Oxidative Stress, Lipoproteins and Cardiovascular Dysfunction.* Cambridge: Portland Press Ltd; 1995. s.1-33.
59. Sheldon M. Reactive Oxygen Species: Toxic Molecules or Spark of Life. *Critical Care* 2006; 10 (1): 208.
60. Harris RA, Crabb DW. Metabolic Interrelations, *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*, (Devlin, T.M., ed), 575-606, 1124-1125
61. Reiter, R.J. : Oxidative processes and antioxidative defence mechanisms in the aging brain, *Faseb J.*, Vol.9, 526-533, (1995).
62. Fantone J.C, Ward P.A. Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte- dependent inflammatory reactions. *Am. J. Pathol.*, 107:397-418, (1982).
63. Chaudrhi G, et. al. Effect of antioxidants on primary alloantigen-induced T cell activation and proliferation. *J. Immunol.*, 137: 2646-52, (1986).
64. McCord JM, Fridovich I. The biology and pathology of oxygen radicals. *Annals of Internal Med.* 89: 122-127, (1978).

65. Halliwell, B., Gutteridge, JMC. : Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. Arch Biochem Biophys., 246: 501-14, (1986).
66. Hirschelmann R, Bekmeier H. Influence of the iron-chelating agent desferrioxamine on two rat inflammation models. Free Radical Res Commun., 2: 125-7, (1986).
67. Dillard CJ, Downey JE. Effect of antioxidants on lipid peroxidation in iron-loaded rats. Lipids. 19: 127-33, (1984).
68. Ames B.N, Cathcart R, et. Al.; Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78: 6858-62, (1981).
69. Troll W. The role of oxygen radicals as a possible mechanism of tumor promotion. Ann Rev Pharmacol Toxicol., 25: 509-28, (1985).
70. Clark IA, Cowden WB. Free radical-induced pathology. Med Res Rev. 1095; 5: 297-332.
71. Morgan RW, et.al. Hydrogen peroxide-inducible proteins in Salmonella typhimurium overlap with heat shock and other stress proteins. Proc Natl Acad Sci U S A. 1986 Nov;83(21):8059-63
72. Rice-Evans C, et. al. Sick cell membranes and oxidative stress. Biochem J., 237:265-9, (1968).
73. Ward PA. Host-defence mechanism for lung injury. J Allergy Clin Immunol., 78: 373-8, (1986).
74. Brigham KL. Role of free radicals in lung injury. Chest., 89: 859-63, (1986).
75. Schrauftatter IU, et. al. Proteases and oxidants in experimental pulmonary inflammatory injury. J. Clin Invest., 73: 1175-84, (1984).

76. Heinecke JW, et.al. Superoxide-mediated modification of low density lipoprotein by arterial smooth muscle cells. *J Clin Invest.* , 77: 757-61, (1986).
77. Jolly SR, et. al. Canine myocardial reperfusion injury: its reduction by the combined administration of superoxide dismutase and catalase. *Circ Res.*, 54: 277-85, (1984).
78. Becker LC, Ambrosio G. Myocardial consequences of reperfusion. *Prog Cardiovasc Dis.*, 30:23-44, (1987).
79. Rehan A, et. al. Evidence for the role of oxygen radicals in acute nephrotoxic nephritis. *Lab Invest.*, 51: 396-403, (1984).
80. Janoff A, et. al. Proteases, antiproteases and oxidants: pathways of tissue injury during inflammation. In: Cotran RS, Kaufman N, Majno G, eds. *Current Topics in inflammation and Infection*. Baltimore: Williams & Wilkins Company, 62, (1982).
81. Comportı M. Lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury. *Lab Invest.*, 53: 599-623, (1985).
82. Kayaalp Oguz. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji Birinci Cilt. Dokuzuncu Baskı. Ankara: Hacettepe TAS; 2000. s.718.
83. Ersoy İ. *Biyokimya*, 2. Baskı, 216-30, Türkiye Klinikleri, Ankara, (1999).
84. Esterbauer H, Zollner H, Schaur RJ. Hydroxyalkenals: cytotoxic products of lipid peroxidation. *ISI Atlas Sci* 1988;1: 311-317
85. Esterbauer H, Schaur RJ. Chemistry and biochemistry of hydroxynonal, malondialdehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 1991;11: 81-128

86. Dillmann WH. Diabetes and thyroid- hormone induced changes in cardiac function and their molecullear basis. *Ann Rev Med* 1989; 40: 373-94
87. Fantone JC, Ward PA. Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte- dependent inflammatory reactions. *Am J Pathol* 1982; 107:397-418
88. Flier JS, Harris M, Hollenberg AN. Leptin, nutrition and the thyroid: the why, the wherefore, and wiring. *J Clin Invest*, 2000 ;105
89. Glazer AN, Packer L. Oxygen radicals in biological systems. *Methods in Enzymology* 1990; 186: 1-86
90. Gutteridge JMC. Biological origin of free radicals and mechanisms of antioxidant protection. *Chem Biol Inter* 1994;91:133-140
91. Haddan F, Masatagu M, Bodell PW. Role of thyroid hormone and insülin in control of cardiac isomyosin expression. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29; 559-569
92. Hafner RP, Nobes CD, McGown AD, Brand MD. Altered relationship between proton motive force and respiration rate in non-phosphorylating liver mitochondria isolated from rats of different thyroid hormone status. *Eur J Biochem* 1988; 178:511-518
93. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95, 351-8.
94. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillère-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, Jungers P, Descamps-Latscha B. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int.* 1996 May;49(5):1304-13.

95. Yi-Sun S, Oberly LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34:497-500.
96. Paglia DE, Valentina WN. Studies on quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70:158-69.
97. Bray GA. Obesity. In: Ziegler EE, Filer LJ, editors. Present knowledge in nutrition. Washington: ILSI; 1996. p.19-32.
98. Palou A, Serra F, Bonet ML, Pico C: Obesity Molecular Bases of a multifactorial problem. *Eur J Nutr*;39,127-44.
99. Colette C, Percheron C, Pares-Herbute N, Michel F, Pham TC, Birillant L, et al. Exchanging carbohydrates for monounsaturated fats in energy-restricted diets: effects on metabolic profile and other cardiovascular risk factors. *Int J Obes Relat Metab Disord*.2003; 27(6): 648-656.
100. Kózka M, Krzyściak W, Pietrzycka A, Stepniewski M Obesity and its influence on reactive oxygen species (ROS) in the blood of patients with varicose veins of the lower limbs. *Przegl Lek*. 2009;66(5):213-7
101. Codoñer-Franch P, Boix-García L, Simó-Jordá R, Del Castillo-Villaescusa C, Maset-Maldonado J, Valls-Bellés V Is obesity associated with oxidative stress in children? *Int J Pediatr Obes*. 2010;5(1):56-63
102. Yu YP, Ju WP, Li ZG, Wang DZ, Wang YC, Xie AM Acupuncture inhibits oxidative stress and rotational behavior in 6-hydroxydopamine lesioned rat. *Brain Res*. 2010 Jun 8;1336:58-65. Epub 2010 Apr 24

103. Feng WQ, Liu QY, Zeng ZH, Zhou LS Influence of electroacupuncture on hepatic cytochrome P450 1 A 1 expression and lipid peroxidation in nonalcoholic fatty liver rats Zhen Ci Yan Jiu. 2009 Apr;34(2):89-92, 119
104. Shi X, Zhang LJ, Bai HY, Bao CM, Hu S, Guan L Effects of electroacupuncture on hepatic blood flow and lipid peroxidation in septic rats Zhongguo Zhen Jiu. 2010 May;30(5):397-400
105. Sohet FM, Neyrinck AM, Dewulf EM, Bindels LB, Portois L, Malaisse WJ, et al. Lipid peroxidation is not a prerequisite for the development of obesity and diabetes in high-fat-fed mice. Br J Nutr. 2009; 23: 1-8.
106. Koçak H, Oner-Iyidoğan Y, Gürdöl F, Oner P, Süzme R, Esin D, İşsever H Advanced oxidation protein products in obese women: its relation to insulin resistance and resistin Clin Exp Med. 2007 Dec;7(4):173-8. Epub 2008 Jan 11
107. Lönnqvist F, Arner P, Nordfors L, Schalling M. Overexpression of the obese (ob) gene in adipose tissue of human obese subjects. Nat Med. 1995 Sep;1(9):950-3
108. Kobayasi R, Akamine EH, Davel AP, Rodrigues MA, Carvalho CR, Rossoni LV Oxidative stress and inflammatory mediators contribute to endothelial dysfunction in high-fat diet-induced obesity in mice J Hypertens. 2010 Oct;28(10):2111-9
109. Xiao X, Lai X, Luo X, Su Y Effect of body fat distribution on plasma lipids and oxidative stress in women aged 35 to 50 years Wei Sheng Yan Jiu. 2008 May;37(3):322-4
110. Shen XP, Zou SB, Wu HJ, Zhang Y Circulating levels of oxidative stress and adipocytokines in obese subjects Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi. 2008 Jul;24(7):721-3

111. Liu CZ, Yu JC, Zhang XZ, Fu WW, Wang T, Han JX Acupuncture prevents cognitive deficits and oxidative stress in cerebral multi-infarction rats. *Neurosci Lett*. 2006 Jan 23;393(1):45-50. Epub 2005 Oct 19
112. Wang L, Tang C, Lai X Effects of electroacupuncture on learning, memory and formation system of free radicals in brain tissues of vascular dementia model rats *J Tradit Chin Med*. 2004 Jun;24(2):140-3
113. Hallwell B. Role of free radicals in the neurodegenerative diseases; therapeutic implications for antioxidant treatment *Drugs Aging* 18(9):685-716 (2001).
114. Xie JP, Li W, Nong Y, Jia JJ, Li XH, Chen X, Gao Y Effects of electroacupuncture at Fenglong (ST 40) on SOD and MDA in different organs of the hyperlipemia rat. *Zhongguo Zhen Jiu*. 2008 Apr;28(4):293-6
115. Uretsky S, Messerli FH, Bangalore S, et al. Obesity paradox in patients with hypertension and coronary artery disease. *American Journal of Medicine*. 2007;120(10):863–870.
116. Aguilar-Salinas CA, García E, Robles L, et al. High adiponectin concentrations are associated with the metabolically healthy obese phenotype. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2008;93(10):4075–4079.
117. Wildman RP, Muntner P, Reynolds K, et al. The obese without cardiometabolic risk factor clustering and the normal weight with cardiometabolic risk factor clustering: prevalence and correlates of 2 phenotypes among the US population (NHANES 1999–2004) *Archives of Internal Medicine*. 2008;168(15):1617–1624.

118. Stefan N, Kantartzis K, Machann J, et al. Identification and characterization of metabolically benign obesity in humans. *Archives of Internal Medicine*. 2008;168(15):1609–1616.
119. Wildman RP. Healthy obesity. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 2009;12(4):438–443.

10. TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince sürekli bilgisinden, deneyimlerinden yararlandığım, bana yol gösteren başta hocam Prof. Dr. Cemal ÇEVİK olmak üzere bir süre danışmanlığımı yürüten ve tez yazımı süresince büyük yardımlarını gördüğüm Prof. Dr. Banu SİVRİ'ye, doktora ve tez süresince benden bilgisini ve yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Ayşe BİLGİHAN'a, Doç. Dr. Aylin SEPİCİ DİNÇER'e, tezimi takip edip beni yönlendiren Doç. Dr. Çiğdem ÖZER'e, çalışmalarımızı beraber yürüttüğümüz çok sevdiğim arkadaşlarım Uzm. Dr. Funda GÜÇEL ve Uzm. Dr. Canan DEMİRTAŞ'a, laboratuvarında her sıkıştığımda bana yardımcı olan Ahmet CUMAOĞLU'na, benden desteklerini esirgemeyen Çınar SEVERCAN ve Yasemin GÜNDÜZTEPE'ye, poliklinikteki yükümü hafifletip tezime konsantre olmamı sağlayan sevgili arkadaşım Dr. Ersel GEÇİOĞLU'na, bütün hayatım boyunca her an yanımda olan, beni sürekli destekleyen anne ve babam Güner- Duran DİNÇER'e, her kaprisimi çeken ama beni desteklemeyi hiç bırakmayan eşim Uğur MİT'e ve zaman zaman ihmal ettiğim hayatımın ışığı kızım Umut Neris'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı : Şebnem Setenay

Soyadı : MİT

Doğum Yeri ve Tarihi : Gaziantep 9.11.1967

Eğitimi :1993 Anadolu Üniversitesi Tıp Fakültesi

1985 Ankara Atatürk Anadolu Lisesi

1978 Namık Kemal İlkokulu

Yabancı Dili : İngilizce

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar: Ankara Akupunktur ve Tamamlayıcı
Tıp Derneği

Bilimsel Etkinlikleri:

Kongre Sunumları

1. Çevik C. , MİT S. Noktüri tedavisinde akupunktur. 4.Uluslararası Katılımlı Ulusal Akupunktur Kongresi, 15-17 Eylül 2006, Antalya, Türkiye
2. MİT S. Sigara bırakma tedavisinde akupunktur. 5. Uluslararası Katılımlı Ulusal Akupunktur Kongresi,, 24-26 Ekim 2008, İstanbul, Türkiye

3. MİT S. Doping ve Akupunktur. 1. Dünya Adli Bilimler ve Spor Kongresi, 28-30 Kasım 2008, Ankara, Türkiye
4. MİT S. Radyoterapi ve kemoterapi uygulamalarında akupunktur. 1. Akupunktur ve Tamamlayıcı Tıp Sempozyumu, 24-26 Ekim 2009, Ankara, Türkiye
5. MİT S. Akupunktur ve insomnia. Akupunkturun iştah hormonları üzerine etkisi. 6. Uluslararası Katılımlı Ulusal Akupunktur Kongresi,, 23-26 Eylül 2010, İstanbul, Türkiye
6. MİT S. Akupunkturun sitokinler üzerine etkisi. 2. Akupunktur ve Tamamlayıcı Tıp Sempozyumu, 23-25 Eylül 2011, Ankara, Türkiye



T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ YEREL ETİK KURULU
RESEARCH ETHICS COMMITTEE OF MEDICAL FACULTY, GAZİ UNIVERSTY
ANKARA-TÜRKİYE
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI
İLAÇ DIŞI KLİNİK ÇALIŞMALAR

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL ADI	"Obez kişilerde iştah hormonları ve oksidan stres üzerine akupunkturun etkisi"				
	SORUMLU ARAŞTIRICI UNVANI, / ADI	Prof.Dr.Cemal Çevik				
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarihi / değişiklik No.su	Dili Türkçe			
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:122	Tarih : 16 Mart 2009				
	Üniversitemiz Tıp Fakültesinde yapılmayı tasarlanan ve yukarıdaki künyede kayıtlı araştırma projesine ait dosya; araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım, yöntemler ve aydınlatılmış onamin yeterliliği yönünden incelenmiş, bütçe dışında uygun olduğuna karar verilmiştir. Etik Kurul kararı; projenin bütçesi BAP tarafından kabul edildiği takdirde yürürlüğe girecek olup, BAP kararının Etik Kurula bildirilmesi gerekmektedir.					
ETİK KURUL BİLGİLERİ						
ÇALIŞMA ESASI	İYİ KLİNİK UYGULAMALAR KILAVUZU, HELSİNKİ BELGESİ, BİYOETİK SÖZLEŞMESİ					
ÜYELER						
Unvanı / Adı / Soyadı Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof.Dr.Necia BUYAN BAŞKAN	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları - Nefroloji	G.Ü.T.F Çocuk Sağ ve Hast.A.D.	K	E	xx	E
Prof. Dr.Firdevs Aktaş ÜYE	Enfeksiyon	G.Ü.T.F Enfeksiyon Hast. A.D.	K	x	H	H
Prof. Dr.Aysel ARICIOĞLU ÜYE	Tıbbi Biyokimya	G.Ü.T.F Tıbbi Biyokimya A.D.	K	x	H	H
Prof.Dr.Fatma ATALAY ÜYE	Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon	G.Ü.T.F Fiziksel Tıp ve Reha.A.D.	K	x	H	X
Prof.Dr.Çağatay ÇİFTER ÜYE	Genel Cerrahi	G.Ü.T.F Genel Cerrahi A.D	E	x	H	H
Prof.Dr.Seyhan ERSAN ÜYE	Farmasötik Kimya Ecz. Fak.	G.Ü.E.F.(Ecz.Fak.) Farmasötik Kimya	K	x	H	H
Prof.Dr.Reha KURUOĞLU ÜYE	Nöroloji	G.Ü.T.F Nöroloji A.D.	E	x	H	H
Doç.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU ÜYE	Tıp Etiği ve Tıp Tarihi	G.Ü.T.F Tıp Etiği ve Tıp tarihi A.D.	K	x	H	X
Doç.Dr.Mehmet Ali Ergün ÜYE	Tıbbi Genetik	G.Ü.T.F Tıbbi Genetik A.D.	E	x	H	H
Doç.Dr.Ayılar POYRAZ ÜYE	Tıbbi Patoloji	G.Ü.T.F Tıbbi Patoloji A.D	K	x	H	H
Doç.Dr.Canan ULUOĞLU ÜYE	Tıbbi Farmakoloji	G.Ü.T.F Tıbbi Farmakoloji A.D.	K	x	H	H
Doç.Dr.Münci YAĞCI ÜYE	İç Hastalıkları - Hematoloji	G.Ü.T.F İç Hastalıkları A.D.	E	x	H	H
Doç.Dr.Birol DEMİREL ÜYE	Adli Tıp	G.Ü.T.F Adli Tıp A.D.	E	x	H	H
Hukuk Müşaviri Adem GELİR ÜYE	Hukuk Müşavirliği	Rektörlük Hukuk Müşavirliği	E	x	H	H

* Araştırma İle İlişki
** Toplantıda Bulunma