

T. C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**BEHÇET HASTALARINDA N-ASETİLSİSTEİNİN BAZI  
OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNE ETKİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. SEVAL KAYA

KAYSERİ-2008



T. C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**BEHÇET HASTALARINDA N-ASETİLSİSTEİNİN BAZI  
OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNE ETKİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. SEVAL KAYA

Danışman

Prof. Dr. KADER KÖSE

KAYSERİ-2008

# İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR .....	i
ŞEKİL ve TABLO LİSTESİ .....	ii
ÖZET .....	iii
ABSTRACT .....	iv
1. GİRİŞ ve AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. BEHÇET HASTALIĞI .....	3
2.1.1. Epidemiyoloji .....	3
2.1.2. Etyoloji ve Patogenez .....	4
2.1.3. Tanı Kriterleri .....	5
2.1.4. Laboratuvar Bulguları .....	7
2.1.5. Tedavi .....	7
2.2. SERBEST RADİKALLER .....	8
2.2.1. Serbest Oksijen Radikalleri .....	8
2.3. ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ .....	10
2.4. N-ASETİLSİSTEİN .....	11
2.4.1. Kimyasal Yapı ve Özellikleri .....	11
2.4.2. Farmakokinetik ve Metabolizma .....	12
2.4.3. Etki Mekanizması .....	13
2.4.4. Endikasyon .....	14
2.4.5. Yan Etki ve Toksikite .....	14
2.5. OKSİDATİF STRES .....	14
2.5.1. Lipid Peroksidasyonu .....	15
2.5.2. Protein Oksidasyonu .....	16
2.5.2.1. Okside Proteinlerin Birikimi .....	18
2.5.2.2. Oksidatif Protein Modifikasyonunun Biyokimyasal Sonuçları .....	20
2.6. OKSİDATİF STRESİ GÖSTEREN BAZI PLAZMA PARAMETRELERİ .....	20
2.6.1. Miyeloperoksidaz .....	21
2.6.2. Total Lipid Hidroperoksit .....	23
2.6.3. Pirrolize Proteinler .....	25
2.6.4. Protein Karbonil Bileşikleri .....	26
2.6.5. Proteinlerin İleri Oksidasyon Ürünleri .....	29
2.6.6. Neopterin .....	29
2.6.7. İskemik Modifiye Albümin .....	31
2.6.8. Serbest Tiyol Grupları .....	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	34
4. BULGULAR .....	50
5. TARTIŞMA .....	61
6. SONUÇLAR .....	78
7. KAYNAKLAR .....	79
8. EKLER .....	88
9. TEZ ONAY SAYFASI .....	93

## KISALTMALAR

AMİ	: Akut miyokard infarktüsü
AOPP	: İleri oksidasyon protein ürünleri
CBC	: Tam kan sayımı
CRP	: C-reaktif protein
CV	: Değişme katsayısı
DMAB	: Dimetilaminobenzaldehit
DNP	: Dinitrofenilhidrazin
DTNB	: Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit)
DTT	: Ditiyotireitol
ESR	: Eritrosit sedimentasyon hızı
GSH	: Redükte glutatyon
4-HNE	: 4-hidroksi nonenal
HO·	: Hidroksil
HO <sub>2</sub> ·	: Hidroperoksi
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen peroksit
HOCl	: Hipoklorik asit
HSA	: İnsan serum albümini
HSP	: Isı şok proteini
HSV	: Herpes simplex virüsü
İMA	: İskemi modifiye albümin
ISG	: International Study Group
<i>iv</i>	: İntravenöz
MDA	: Malondialdehit
MPO	: Miyeloperoksidaz
NAC	: N-Asetilsistein
NO·	: Nitrik oksit
O <sub>2</sub>	: Moleküler oksijen
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	: Singlet oksijen
O <sub>2</sub> ·	: Süperoksit
ONOO <sup>-</sup>	: Peroksinitrit
PCC	: Protein karbonil bileşikleri
R·	: Lipid radikali
RH	: Doymamış yağ asidi
RO·	: Alkoksil radikali
ROO·	: Lipid peroksi radikali
ROOH	: Lipid hidroperoksit
SH	: Serbest tiyol
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
-S-S-	: Disülfid
TNF	: Tümör nekrozis faktör

## ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1: Sistein ve NAC'ın Kimyasal Yapıları .....	11
Şekil 2: NAC Metabolizması .....	13
Şekil 3: Lipid Peroksidasyonu ve Ürünleri .....	15
Şekil 4: Protein İskeletinin Oksidasyonu .....	17
Şekil 5: Peptid Bağlarının Kırılması .....	17
Şekil 6: Okside Protein Düzeyini Belirleyen Faktörler .....	19
Şekil 7: Solunum Patlaması ve Aktif Nötrofil Kaynaklı Oksidanlar.....	21
Şekil 8: MPO Kaynaklı Antimikrobiyal Sistem Ürünleri .....	23
Şekil 9: Organizmada Dihidropiridin ve Pirrolize Protein Oluşumu .....	25
Şekil 10: 4,5-Epoksiheptenal ile Pirrol Amino Asitlerinin Oluşumu.....	26
Şekil 11: PCC Oluşum Mekanizmaları .....	27
Şekil 12: Neopterinin Kimyasal Yapısı .....	30
Şekil 13: Albüminin Moleküler Yapısı ve Bağlama Bölgeleri.....	31
Şekil 14: Kloramin T Standart Grafiği .....	43
Şekil 15: Hiperbolik Neopterin Standart Grafiği.....	45
Şekil 16: Doğrusal Neopterin Standart Grafiği .....	45
Şekil 17: Albümin Standart Grafiği.....	47
Şekil 18: Standart Serinin Serbest Kobalt Yüzdesi .....	47
Şekil 19: Glutatyon Standart Grafiği .....	49

## TABLO LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 1: Behçet Hastalığı Tanısında Kullanılan ISG Kriterleri.....	6
Tablo 2: Hücrelerde SOR Oluşturan Sistemler.....	9
Tablo 3: Antioksidanların Sınıflandırılması.....	10
Tablo 4: Behçet Hastalarının Klinik Bulguları .....	35
Tablo 5: Hasta ve Kontrol Gruplarının Yaş ve Cinsiyet Durumu.....	51
Tablo 6: Behçet Hastalarının Yaş Gruplarına Göre Dağılımı.....	51
Tablo 7: Behçet Hastalarında Hastalık Süresi .....	52
Tablo 8: Behçet Hastalarında Klinik Bulguların Dağılımı.....	52
Tablo 9: Çalışma Gruplarının Rutin Analiz Bulguları.....	53
Tablo 10: Çalışma Gruplarının CBC Değerleri .....	53
Tablo 11: Çalışma Gruplarının MPO Aktiviteleri .....	54
Tablo 12: Çalışma Gruplarının Total Lipid Hidroperoksit Seviyeleri.....	55
Tablo 13: Çalışma Gruplarının Pirrolize Protein Seviyeleri .....	56
Tablo 14: Çalışma Gruplarının PCC Seviyeleri.....	56
Tablo 15: Çalışma Gruplarının AOPP Seviyeleri .....	57
Tablo 16: Çalışma Gruplarının Neopterin Seviyeleri .....	58
Tablo 17: Çalışma Gruplarının İskemi Modifiye Albümin Seviyeleri .....	59
Tablo 18: Çalışma Gruplarının Plazma Tiyol Seviyeleri.....	59

## BEHÇET HASTALARINDA N-ASETİLSİSTEİNİN BAZI OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNE ETKİSİ

### ÖZET

**Amaç:** Etiyolojisi bilinmeyen Behçet hastalığında, aşırı miktarda üretilen serbest oksijen radikalleri (SOR)'nin; biyomoleküllerle etkileşimi sonucu oluşan peroksidatif doku hasarının, patogenez ile ilişkili olabileceği görüşü, giderek önem kazanmakta ve hatta aşırı SOR üretimi nedeniyle oksidan-antioksidan sistemler arasındaki dengenin bozulduğuna (oksidatif stres) dikkat çekilmektedir. Behçet hastalarında, protein oksidasyonuna bağlı oksidatif stresin ortaya konulması, klinik bakımdan önem taşıyabilir ve hatta yeni tedavi yöntemlerinin gelişmesine öncülük yapabilir.

Bu çalışma, Behçet hastalığının patolojisinde oksidatif stresin ortaya konulması ve standart tedavi protokolüne eklenen güçlü bir antioksidan olan N-asetilsistein (NAC)'in protein oksidasyonu üzerine etkisini incelemek amacıyla planlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Kırk Behçet hastası ve 20 sağlıklı gönüllü (kontrol) çalışmaya alındı. NAC (2 x 600 mg/gün NAC) ve Plasebo (2 x 600 mg/gün plasebo) olmak üzere rastgele 2 gruba ayrılan Behçet hastalarına bir aylık tedavi protokolü uygulandı. NAC ve Plasebo gruplarından, tedavi öncesi ve sonrası olmak üzere, toplam iki kez; kontrollerden sadece bir kez kan alındı. Serum/plazma örneklerinde, miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ile total lipid hidroperoksit, protein karbonil bileşikleri (PCC), pirrolize protein, proteinlerin ileri oksidasyon ürünleri (AOPP), neopterin, iskemik modifiye albümin (İMA) ve tiyol düzeyleri ölçüldü.

**Bulgular:** Tedavi öncesi, ölçülen tüm parametreler bakımından NAC ve Plasebo grupları arasında istatistiki bir fark olmadığı görüldü. Kontrolle karşılaştırıldığında; tüm Behçet hastalarında tedavi öncesi yüksek bulunan MPO aktivitesi, total lipid peroksit, PCC, pirrolize protein, AOPP, neopterin ve İMA düzeylerinin, tedavinin sonunda Plasebo grubunda değişmediği; buna karşılık NAC grubunda anlamlı şekilde azaldığı belirlendi. Tedavi öncesi düşük olan tiyol düzeyleri, NAC tedavisiyle önemli ölçüde artarken plasebo verilen grupta değişmedi.

**Sonuç:** Yüksek MPO aktivitesiyle yansıtıldığı gibi, Behçet hastalığında aktif nötrofiller tarafından aşırı SOR üretiminin, yüksek serum/plazma PCC, AOPP, pirrolize protein, İMA, total lipid hidroperoksit ve düşük serbest tiyol seviyeleriyle yansıtıldığı gibi, protein oksidasyonuna neden olduğu ve ayrıca, güçlü bir antioksidan olan ve ciddi bir yan etkisi olmayan NAC'ın, Behçet hastalığını da içine alan oksidatif stresle ilişkili birçok hastalığın tedavi protokolüne eklenebileceği söylenebilir.

**Anahtar kelimeler:** Behçet hastalığı, N-asetilsistein, oksidatif stres, protein oksidasyonu

## THE EFFECT OF N-ACETYLCYSTEINE ON OXIDATIVE STRESS PARAMETERS IN BEHÇET'S PATIENTS

### ABSTRACT

**Aim:** In spite of unknown etiology, there is growing evidence supporting the peroxidative tissue damage, followed by an enhanced production of reactive oxygen species (ROS) reacted with biomolecules, may be related to the pathogenesis of Behçet's disease and even it is attracted that the balance between oxidant/antioxidant systems (oxidative stress) is destroyed. The existence of oxidative stress depending on protein oxidation in patients with Behçet's disease may have clinically great importance and also may be a leadership for development of novel treatment protocols.

This study was planned in order to investigate the existence of oxidative stress in the pathogenesis of Behçet's disease and also the effects of N-acetylcysteine, a powerful antioxidant, added to standard treatment protocol, on protein oxidation.

**Materials and methods:** A total of 40 Behçet's patients and 20 healthy volunteers (controls) were included in the study. One-month treatment protocol was applied to Behçet's patients randomly divided into two groups as NAC (2x600 mg NAC/day) and Placebo (2x600 mg placebo/day). Blood was obtained from NAC and Placebo groups at the beginning and at the end of the study, and from controls once. Myeloperoxidase (MPO) activity, and total lipid hydroperoxides, pyrrolized protein, protein carbonyl compounds (PCC), advanced oxidation protein products (AOPP), neopterin, ischemic modified albumin (IMA) and thiol levels were determined in serum/plasma specimens.

**Results:** Before beginning therapy, there was no statistically difference between the levels of parameters studied on NAC and Placebo groups. When compared to controls, MPO activity, total lipid hydroperoxides, pyrrolized protein, PCC, AOPP, neopterin and IMA levels found to be higher in both patient groups before treatment, were not changed in Placebo group; but significantly decreased in NAC group after one-month treatment. Thiol levels that were low before treatment increased significantly after NAC therapy; but there was no change in group that given placebo.

**Conclusion:** It may be suggested that enhanced production of ROS by activated neutrophils, reflected as higher MPO activities in Behçet's disease may lead to protein oxidation, reflected as higher levels of PCC, total lipid hydroperoxides, pyrrolized protein, AOPP, neopterin, IMA and lower thiol levels; in addition, NAC, a powerful antioxidant and has no adverse effects, may be added to the treatment protocols of several diseases related to oxidative stress, including Behçet's disease.

**Key Words:** Behçet's disease, N-acetylcysteine, oxidative stress, protein oxidation

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Behçet hastalığı, birçok organı tutabilen, vaskülit ile karakterize, kronik seyirli multisistemik bir hastalıktır (1). Hastalığın etiyolojisi kesin olarak bilinmemekle beraber, serbest oksijen radikalleri (SOR) ve bilhassa bu radikallerle indüklenen peroksidatif doku hasarının, patogenez ile ilişkili olabileceği görüşü, gün geçtikçe önem kazanmakta ve hatta, aşırı SOR üretimi nedeniyle oksidan-antioksidan sistemler arasındaki dengenin bozulduğuna (oksidatif stres) da dikkat çekilmektedir (2-4).

Son yıllara kadar, Behçet hastalarında *in vivo* oksidatif stresin varlığı, malondialdehit (MDA) gibi lipid peroksidasyonu yıkım ürünlerinin ya da enzimatik/nonenzimatik antioksidanların ölçümüne dayanarak gösterilmiştir (5-7). Diğer taraftan, lipidlerle karşılaştırıldığında, proteinlerin oksidanlar için başlıca hedef olduğu; oksidatif protein hasarının daha kalıcı ve daha sitotoksik olduğu bilinmektedir (8). Behçet hastalarında, oksidanlarla indüklenen protein hasarını kantitatif olarak belirleyen klinik çalışmalar sınırlı sayıda olmakla beraber, giderek önem kazanmaktadır (9). Bu nedenle, Behçet hastalığının fizyopatolojisinde protein oksidasyonuna bağlı olarak gelişen oksidatif stresin ortaya konulması, klinik bakımdan büyük önem taşıyabilir ve hatta yeni tedavi yöntemlerinin gelişmesine öncülük yapabilir.



Redükte glutatyon (GSH) prekürsörü olan N-asetilsistein (NAC) , yıllardır mukolitik ajan olarak solunum sistemi hastalıklarında kullanılmaktadır . Daha da önemlisi, son yıllarda NAC'ın güçlü bir antioksidan olduğunu gösteren birçok klinik ve deneysel çalışma yapılmakta; fizyopatolojisinde oksidatif stresin rol aldığı çeşitli kanser tiplerinde, hemodiyaliz ve kalp hastalarının tedavisinde, NAC'ın etkili olduğu bildirilmektedir (10).

Bu çalışmada, Behçet hastalığında, oksidatif stresin varlığını; artmış nötrofil aktivasyonu, protein oksidasyon ürünleri ve azalmış antioksidan aktivite üzerinden göstermek amacıyla; tedavileri sürdürülen Behçet hastalarının serum/plazmasında miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi, total lipid peroksid, protein karbonil bileşikleri (PCC), pirrolize protein, ileri oksidasyon protein ürünleri (AOPP), neopterin, iskemi modifiye albümin (İMA) ve serbest tiyol seviyeleri tayin edilecek ve hastaların mevcut tedavi protokolüne ilave edilen NAC'ın, oksidatif stresle ilişkili bu parametreler üzerindeki etkisi araştırılacaktır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. BEHÇET HASTALIĞI**

Behçet hastalığı, birçok organı tutabilen, vaskülit ile karakterize, kronik seyirli multisistemik bir hastalıktır (1). İlk defa 1937 yılında Türk Dermatolog Dr. Hulusi Behçet (11) tarafından “üveit, oral ve genital ülserasyonlardan oluşan bir triad” olarak tanımlanmıştır. Yıllar içerisinde, artiküler, vasküler, gastrointestinal, renal, nörolojik ve pulmoner sistemleri de tutabildiği gösterilen Behçet hastalığı; günümüzde multisistemik bir hastalık olarak kabul edilmektedir (12).

Behçet hastalığı, birbirini izleyen “nüks ve remisyon” dönemleri halinde seyreder. Hastalığın başında oldukça sık tekrarlayan atakların, yaş ilerledikçe azaldığı ve remisyon dönemlerinin uzadığı gözlenir (13).

#### **2.1.1. Epidemiyoloji**

Behçet hastalığı, Dünya'nın her tarafında görülmesine rağmen; tarihi İpek Yolu üzerinde, Orta ve Doğu Asya ülkelerinde, özellikle Türkiye, Japonya ve Kore ile Doğu Akdeniz ülkelerinde daha sık; Kuzey Avrupa, Amerika ve İngiltere'de daha az görülmektedir (14). Prevalans, Avrupa'da 1/300.000; Asya'da 13,5-30/100.000; Japonya'da 1/10.000 ve Türkiye'de 2-42/10.000'dir (12).

Hastalık, her yaşta görülebilse de, olağan başlangıcı sıklıkla 20-40 yaşlar arasındadır. Çocukluk çağında ve 50 yaş ve üzerinde daha nadir görülür (13).

Behçet hastalığı, her iki cinste de görülmele beraber; erkeklerde daha yaygındır. Hastalığın cinse göre sıklığı (erkek/kadın oranı), İpek Yolu üzerindeki ülkelerde 2-10:1 olarak belirlenmiştir (12, 15).

Hastalığın şiddeti de bölgeden bölgeye değişebilmektedir. Şöyle ki; Amerika ve İngiltere'ye göre, Doğu Akdeniz ve Asya ülkelerinde ve özellikle genç erkeklerde, hastalık körlüğe yol açabilecek şiddette görülmektedir (12).

### 2.1.2. Etiyoloji ve Patogenez

Hastalığın etiyojisi tam olarak bilinmemekle beraber; genetik faktörler, immünolojik bozukluklar, ısı şok proteini (HSP) gibi otoantijenler, inflamatuvar mediatörler, enfeksiyöz ajanlar, çevresel faktörler ve oksidatif stres gibi pek çok faktör üzerinde durulmakta ve bu faktörlerin kombinasyonu yoluyla hastalığın ortaya çıktığı görüşü, gün geçtikçe önem kazanmaktadır (12).

**Genetik faktörler:** Major histokompatibilite kompleks bölgesindeki genlerden sadece HLA-B51'in, Behçet hastalığının patogenezinde etkili olduğu bildirilmiştir (15,16).

**İmmün Sistem:** Behçet hastalığında gözlenen immünolojik değişikliklerin önemi tam olarak açıklanamasa da, diğer otoimmün hastalıklarda olduğu gibi, Behçet hastalarında da yüksek düzeyde bulunan tümör nekrozis faktör (TNF), interlökinler (IL-1, -2, -4, -6, -10, -12, vb), solubl IL-2 reseptörü gibi bir çok mediatörün, hastalığın patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir (16). Hastalarda yükseldiği gözlenen IgA ve IgM düzeyleri de, patogenezde nötrofil hiperfonksiyonuna yol açan poliklonal B hücre aktivasyonunun rol aldığını desteklemektedir (15).

**Enfeksiyöz ajanlar:** Herpes simplex virüsü (HSV), parvovirüs B19, *Helicobacter pylori*, streptokokal mikroorganizmalar, hepatit A, B, C, E gibi enfeksiyöz ajanların hastalıkla ilişkili olduğu öne sürülmektedir (12,14,15).

Bugün, Behçet hastalığında HSV'nin yeri, direkt olarak hastalığı oluşturmaktan çok, T hücre regülasyonuna olan etkisi ile açıklanmaktadır. Şöyle ki, HSP'lerin HSV ve çeşitli streptokokal mikroorganizmalar arasında ortak antijenik bir payda oluşturduğu öne sürülmektedir (13). Travma, sıcaklık, UVB, hipoksi, aşırı soğuk, sitotoksik prostaglandinler ve benzeri stres faktörlerinin varlığında, hücreyi korumak amacıyla salgılanan immün reaktif proteinler olan HSP'lerin (12), yapısal benzerlik nedeniyle, streptokok HSP antikorlarıyla çapraz bağlanmalar yaptığı ve streptokokal HSP'ye olan immün yanıtın, zamanla hücrenin HSP'lerine yönelebileceği ve böylece patolojik değişikliklerin başlayabileceği öne sürülmektedir (13).

Bugün üzerinde en çok durulan hipotez, hastalığın viral, bakteriyel veya diğer bir antijenle tetiklenen ve genetik olarak hastalığa yatkınlık gösteren kişilerde ortaya çıkan otoimmün bir reaksiyon olduğu yönündedir (17).

Son 20-30 yıl içerisinde de, etiolojisiye yönelik çalışmaların büyük kısmı, nötrofiller üzerinde yoğunlaşmış bulunmaktadır: Kemotaksi, fagositoz, serbest oksijen radikalleri (SOR)'nin üretimi gibi artmış nötrofil fonksiyonları; aktif T lenfositleri ile nötrofil fonksiyonları arasındaki ilişki; nötrofil antioksidan savunma sistemleri, dikkat çeken araştırma konuları arasındadır (2-5,18). Aktif T lenfositler tarafından proinflamatuvar ve/veya inflamatuvar sitokinler üretilmekte ve muhtemelen makrofaj ve nötrofillerin aktivasyonu yoluyla oluşan doku hasarı, mukokutanöz bulgular ve sistemik tutulumlardan sorumlu tutulmaktadır (12).

### **2.1.3. Tanı Kriterleri**

Birçok sistemi etkileyen hastalığın, heterojen görünümde olması ve hastalığa özgü bir laboratuvar testinin bulunmaması nedeniyle; Behçet hastalığında tanı, klinik özelliklere dayanarak konulmaktadır (1,13,14).

Behçet hastalığı için, yıllar içerisinde beş farklı araştırma grubu tarafından tanımlanan farklı tanı kriterlerinin kullanılması, çeşitli merkezlerde yapılan çalışmaların ya da ortak araştırmaların farklı değerlendirilmesine neden olmuştur. Fakat 1990 yılında, bir araya gelen araştırma grupları, Uluslararası Çalışma Grubu (International Study Group; ISG)'nu oluşturmuşlar ve günümüzde Behçet hastalığı için yaygın olarak kullanılan Tanı Kriterleri'ni belirlemişlerdir (Tablo 1). Bu kriterlere göre, oral aftöz ülserlere ek olarak, diğer dört klinik bulgudan en az ikisinin daha hastada bulunması durumunda, Behçet hastalığı tanısı konulmaktadır (19).

**Oral ülserler:** Hastalığın ilk belirtisidir. Hemen hemen her hastada bulunan, 1-3 cm çapında, ağrılı, tabanında sarı fibrin içeren lezyonlardır. Genellikle ayda bir veya birkaç kez tekrar ederler ve bir hafta içinde skar bırakmadan iyileşirler. (13).

**Genital Ülserler:** Hastaların % 72-94'ünde görülen lezyonlar, papülopüstül veya papül şeklinde başlayıp, zımba deliği görünümünde ülserler oluştururlar. Oral ülserlere benzemekle beraber, daha büyük ve derindirler; iyileşirken skar bırakırlar (14).

**Tablo 1.** Behçet Hastalığı Tanısında Kullanılan ISG Kriterleri (19)

• Oral Ülserasyon	Kesin olması gereken bulgudur. Bir yıl içinde en az üç kez tekrarlayan minör aftöz, major aftöz ya da herpetiform ülserler şeklinde üç grup ülserasyon gözlenir.
• Genital Ülserasyon	Skar dokusu bırakabilen, tekrarlayan aftöz ülserlerdir.
• Göz Lezyonları	Anterior ya da posterior üveit; vitröz sıvıda hücrelerin varlığı ya da retinal vaskülit şeklinde görülür.
• Deri Lezyonları	
• Eritema nodozum	Öncelikle alt ekstremitelerde olmak üzere; yüz, boyun ve kalçalarda hafif kabarıklık ve hassas bir sertlik şeklinde görülür.
• Akneiform nodüller	Sırt ve yüzde görülen lezyonlardır.
• Papülopüstüler lezyon	Çoğunlukla alt ve üst ekstremelerde lokalize olup, yüz, boyun ve göğüs bölgesinde de görülür.
• Pozitif Paterji Testi	Paterji reaksiyonu, intradermal fizyolojik serum (ya da herhangi bir stimulan) enjeksiyonunu izleyen 24-48 saat içinde, uygulama yerinde eritem ya da püstül oluşumu şeklinde tanımlanmaktadır.

**Göz Lezyonları:** Hastaların % 29-100'ünde belirlenen lezyonlar (17), kadınlara göre erkeklerde daha sık (% 70-90'ın üstünde) ve daha ciddi seyirlidir (12). Behçet hastalığında morbiditenin başlıca nedeni göz tutulumudur. Gözde en sık posterior uveit görülür. Ayrıca bulanık görme, episklerit, ağrı, fotofobi olabilir, hipopiyonlu iridosiklit gelişebilir ve olay tam körlüğe kadar ilerleyebilir (12-14).

**Deri Lezyonları:** Hastaların % 80'inde, eritema nodozum benzeri lezyonlar, apseler, papülopüstüler deri döküntüleri, akne benzeri lezyonlar, nekrotizan vaskülitte görülen palpabl purpurik döküntüler ve paterji reaksiyonu sonucu gelişen lezyonlar gibi kombine deri bulgularına rastlanmaktadır (14,16,17).

Behçet hastalığı tanı kriterleri (Tablo 1) olarak bildirilen klinik bulguların dışında, hastalarda görülebilen diğer klinik özellikler, minör semptomlar başlığı altında toplanabilir (19):

- Arteriyel oklüzyon ve/veya anevrizmalar
- Santral sinir sistemi tutulumu
- Gastrointestinal ülserasyonlar
- Subkutan tromboflebit
- Derin ven trombozu
- Epididimit
- Artralji
- Artrit

**Damar Bulguları:** Behçet hastalığında ana lezyon vaskülit olduğundan, arter veya ven olarak her boyuttaki damar tutulumu, olguların % 9-25'inde görülebilir. Ven tutulumu, daha yaygındır. Tromboflebit, erkeklerde daha sık görülür (13).

**Eklemler Bulguları:** Behçet hastalığında % 50 oranında noneroziv ve enflamatuvar tipte artrit görülür. Diz ve ayak bileğinin yanı sıra küçük eklemlerde de artrit görülebilir (12,14).

**Nörolojik Bulgular:** Hastaların yaklaşık % 1-5'inde merkezi sinir sistemi tutulumu gözlenir. Hemipleji, kranial sinir felçleri, vaskülitte bağlı periferik sinir tutulumu ve meningoensefalit en sık gözlenen nörolojik bulgulardır (13).

ISG (19)'ye göre, yeterli görülme sıklığına sahip olmayan bu minör semptomlar, birer tanı kriteri olarak değil, tanıya yardımcı faktörler olarak değerlendirilmelidir.

Klinik bulgular içerisinde, artrit, tromboflebit, follikülit ve göz tutulumu, erkeklerde; eritema nodozum ise kadınlarda daha sık görülmektedir (12). Özellikle göz, merkezi sinir sistemi ve büyük damar tutulumları ile gastrointestinal sistem perforasyonları, prognozun kötü olduğunu gösterir. (12,16).

#### **2.1.4. Laboratuvar Bulguları**

Behçet hastalığına özgü bir laboratuvar bulgusu yoktur. Bununla beraber, hastalığın aktif dönemlerinde, nonspesifik enflamasyon *marker*'ı olarak kabul edilen lökositoz; yüksek eritrosit sedimentasyon hızı (ESR); C-reaktif protein (CRP) ve alfa-2 globulin düzeylerinde artış; ayrıca kriyoglobulinemi, hafif derecede kronik anemi ve eozinofili de görülebilir (13,14).

Romatoid faktör gibi oto-antikörler, anti-nükleer antikör ve anti-nötrofil sitoplazmik antikörler genellikle negatiftir. HLA tiplmesi ise teşhis için kullanışlı değildir (14).

#### **2.1.5. Tedavi**

Behçet hastalığının etiyolojisi kesin olarak bilinmediğinden, standart bir tedavi şekli de bulunmamaktadır. Tedavi, semptomatik ve deneyseldir. Tedavide primer amaç, semptomları kontrol altına almak, inflamatuvar hücrelerin aktivitelerini/sayılarını azaltarak inflamasyonu baskılamak ve hedef organ hasarını önlemektir (20).

Günümüze kadar, konvansiyonel tedavi olarak kortikosteroidler, kolşisin, interferon, metotreksat ve siklosporin A gibi immünosupresif ilaçlar ile azotiyopürin gibi sitotoksik ajanlar, tek başlarına veya kombine edilerek kullanılmış ve her bir tedavi protokolü için etkili veya etkisiz olduğunu ileri süren bir çok çalışma yayımlanmıştır (1,20). Buna karşılık, vitamin E gibi antioksidanların tedavide kullanımına yönelik çalışmalar, hem yeni hem de sınırlı sayıdadır (21).

## 2.2 SERBEST RADİKALLER

Serbest radikaller, dış orbitallerinde bir ya da daha çok sayıda eşleşmemiş elektrona sahip, yüklü veya yüksüz, organik ya da inorganik yapıda atomlar veya moleküllerdir (22). Kararsız yapıları nedeniyle kısa ömürlü ve çok reaktif olan radikaller; amino asitler, proteinler, serbest yağ asitleri, lipidler, karbohidratlar ve nükleotidler gibi tüm hücre bileşenleriyle etkileşebilirler (22-24).

Kararlı bir molekülden serbest radikal oluşumu, üç ana reaksiyon başlığı altında toplanabilir (25):

- Homolitik parçalanma ( $X:Y \rightarrow X\cdot + Y\cdot$ )
- Elektron kaybı ( $XY \rightarrow X\cdot^- + Y^+$ )
- Elektron kazancı ( $X + e^- \rightarrow X^-$ )

Serbest radikaller, aerobik canlılarda normal metabolik olaylar sırasında ortaya çıkabildikleri gibi, dış etkenlere bağlı olarak da oluşabilirler. Diyet, ilaçlar, radyasyon, sigara dumanı ve hava kirliliği gibi çevresel faktörler, ya direkt olarak ya da intraselüler metabolizma ve detoksifikasyon sırasında radikallere dönüşerek, intraselüler SOR düzeyini etkilemektedirler (23,25).

Biyolojik sistemlerde en çok bulunan radikaller, iki tane eşleşmemiş elektrona sahip olan moleküler oksijen ( $O_2$ ) ve triplet oksijen ( $^3O_2$ )'dir (25). Moleküler oksijenden türeyen radikallerin yanı sıra; organizmada karbon, nitrojen ve kükürt merkezli radikaller de oluşmakta ve hatta biyomoleküllerin çoğu, serbest radikallerle elektron alışverişi yaparak veya zincirleme reaksiyonlara katılarak, yeni radikal oluşumuna yol açabilirler (24).

### 2.2.1. Serbest Oksijen Radikalleri

Moleküler oksijen, aerobik canlılar için hayati öneme sahiptir; çünkü bir çok metabolik olayda terminal elektron akseptörü olarak görev yapmaktadır. Diğer taraftan, fizyolojik şartlarda gerçekleşen pek çok hücrel aktivite, SOR oluşumuna yol açmaktadır. SOR terimi, oksijenin radikal olan ve olmayan tüm türevlerini kapsayacak şekilde kullanılmaktadır (22, 26):

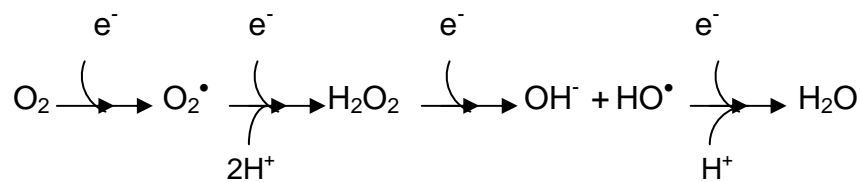
<b>Radikal türevler</b>	<b>Radikal olmayan türevler</b>
• Süperoksit ( $O_2\cdot^-$ )	• Singlet oksijen ( $^1O_2$ )
• Hidroksil ( $HO\cdot$ )	• Ozon ( $O_3$ )
• Hidroperoksi ( $HO_2\cdot$ )	• Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )
• Peroksi ( $ROO\cdot$ )	• Lipid hidroperoksit ( $ROOH$ )
• Alkoksi ( $RO\cdot$ )	• Hipoklorik asit ( $HOCl$ )
• Nitrik oksit ( $NO\cdot$ )	• Peroksinitrit ( $ONOO^-$ )

SOR oluşumu, hücreden hücreye değişmekle beraber; en çok nötrofil, monosit ve makrofajlarda ve hücrelerin tüm fraksiyonlarında gerçekleşir. Memeli hücrelerinde SOR oluşturan sistemler, Tablo 2’de gösterilmiştir (22).

**Tablo 2.** Hücrelerde SOR Oluşturan Sistemler

Kaynak	Kofaktör	Lokalizasyon	Metabolik olay	SOR
ETZ proteinleri ·NADH-koenz. Q redüktaz ·Sitokrom b-c <sub>1</sub> kompleksi ·Sitokrom oksidaz	FMN, FeS FeS, Fe-hem Fe/Cu, Fe-hem	Mitokondri	Mitokondriyel solunum	O <sub>2</sub> <sup>·-</sup>
Sitokrom P450 sistemi ·Çeşitli izoenzimler ve NADPH-CYP 450 redüktaz	Fe-hem, FAD, FMN	Endoplazmik retikulum	Ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu	O <sub>2</sub> <sup>·-</sup> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Oksidazlar ·NAD(P)H-oksidadazlar ·Glukoz oksidaz ·Aldehit oksidaz ·Glikolat oksidaz ·Ksantin oksidaz ·Monoamin oksidaz	FAD, Sit b Cu Mo FMN Fe FAD, FMN	Membran Sitoplazma Sitoplazma Peroksizom Sitoplazma Mitokondri	Fagositoz Glukonik asit oluşumu Karbhidrat metabolizması Oksalat oluşumu Ürat oluşumu Katekolamin inaktivasyonu	O <sub>2</sub> <sup>·-</sup> O <sub>2</sub> <sup>·-</sup> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> O <sub>2</sub> <sup>·-</sup> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> O <sub>2</sub> <sup>·-</sup> O <sub>2</sub> <sup>·-</sup> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Peroksidazlar ·Miyeloperoksidaz (MPO)	Fe-hem	Nötrofilden salgılanır	Solunum patlaması	HOCl, <sup>1</sup> O <sub>2</sub>
Dioksijenazlar ·Triptofan 2,3 dioksijenaz	Fe-hem	Sitoplazma	N-formilkinürenin oluşumu	O <sub>2</sub> <sup>·-</sup>
Lipooksijenazlar (LOX) ·5-LOX	Fe	Sitoplazma	Lökotrien sentezi	O <sub>2</sub> <sup>·-</sup>
Sikloooksijenazlar (COX) ·COX-1	Fe-hem	Sitoplazma	Prostaglandin sentezi	O <sub>2</sub> <sup>·-</sup>
Nitrik oksit sentazlar (NOS) ·nNOS (I) ·iNOS (II) ·eNOS (III)	FMN, FAD, Fe-hem, Tetrahidrobiyo- pterin (BH <sub>4</sub> )	Sitoplazma	NO sentezi	NO <sup>·</sup> , O <sub>2</sub> <sup>·-</sup>

Fizyolojik şartlarda, intraselüler SOR üretimi, başlıca mitokondrilerdeki elektron transport zinciri yoluyla gerçekleşir. Moleküler oksijenin, tek elektron geçişiyle suya redüklenmesi, çeşitli radikallerin oluşumuyla sonuçlanır. Moleküler oksijen, tek elektron kazandığında O<sub>2</sub><sup>·-</sup> radikallerine dönüşmekte, bu radikalın dismutasyonu ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşmakta ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’nin daha ileri redüksiyonu, HO<sup>·</sup> radikalının oluşumuyla sonuçlanmaktadır (23):





Hücrelerde üretilen  $O_2^{\cdot}$ ,  $H_2O_2$  ve  $NO^{\cdot}$  gibi radikaller, daha ileri etkileşimlerle son derece reaktif ve çok daha toksik oksidanlar da oluşturabilmektedir:  $O_2^{\cdot}$  ve  $H_2O_2$ 'den Fe/Cu gibi metallerin varlığında, Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonlarıyla  $HO^{\cdot}$  oluşumu;  $O_2^{\cdot}$  ve  $NO^{\cdot}$ 'dan peroksinitrit oluşumu;  $O_2^{\cdot}$  ve  $H_2O_2$ 'den  $Cl^{\cdot}$  varlığında  $HOCl$  oluşumu gibi. Ayrıca, aktif hidroksil radikalleri, etkileştiği biyomoleküllerden peroksi, alkoksi ve alkil peroksi gibi daha az reaktif yeni radikaller de oluşturabilmektedir (23).

### 2.3. ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Organizmalar, SOR oluşumunu ve SOR'un yol açtığı hücre hasarını önlemek için, birçok savunma mekanizması geliştirmişlerdir. Bu "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar", SOR'un lipidler, proteinler, nükleik asitler gibi hedef biyomoleküller üzerindeki zararlı etkilerini ortadan kaldırmakta ve böylece patolojik bir durum oluşmamaktadır (27, 28).

Antioksidanlar, endojen (doğal) ve ekzojen kaynaklı olmak üzere iki ana gruba ayrılabilir gibi, enzim ve enzim olmayanlar şeklinde yapılarına göre; çözünürlük özelliklerine ve organizmadaki dağılımlarına göre de sınıflandırılabilirler (Tablo 3) (27-29).

**Tablo 3.** Antioksidanların Sınıflandırılması

ENDOJEN ANTIOKSİDANLAR	
I. ENZİMLER	II. ENZİM OLMAYANLAR
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Süperoksit dismutaz (SOD)</li> <li>• Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)</li> <li>• Glutasyon redüktaz (GSSG-Rd)</li> <li>• Glukoz 6-P dehidrogenaz (G6PD)</li> <li>• Katalaz (CAT)</li> <li>• Seruloplazmin</li> <li>• Glutasyon-S-transferaz</li> <li>• Tiyoredoksin redüktaz (TR)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lipid fazda çözünenler: <math>\alpha</math>- tokoferol, <math>\beta</math>-karoten</li> <li>• Sıvı faz (sitozol, kan plazması) da çözünenler: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Askorbik asit</li> <li>• Glutasyon (GSH)</li> <li>• Ürat</li> <li>• Sistein</li> <li>• Bilirubin</li> <li>• Bazı metal iyonları (<math>Mg^{2+}</math>, <math>Mn^{2+}</math>, <math>Zn^{2+}</math>)</li> </ul> </li> <li>• Albümin</li> <li>• Hemoglobin</li> <li>• Miyoglobin</li> <li>• Transferrin</li> <li>• Laktoferrin</li> <li>• Ferritin</li> <li>• Lipoik asit</li> </ul>
EKZOJEN ANTIOKSİDANLAR	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Demir redoks döngüsünün inhibitörleri</li> <li>• Rekombinant antioksidan enzimler (r-SOD)</li> <li>• Ksantin oksidaz inhibitörleri</li> <li>• NADPH-oksidad inhibitörleri</li> <li>• NOS inhibitörleri</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• N-Asetilsistein (NAC)</li> <li>• Melatonin (MEL)</li> <li>• Demir şelatörleri (Desferroksamin)</li> <li>• Barbitüratlar</li> <li>• Lokal anestezikler</li> </ul>

Enzim olan ve olmayan antioksidan savunma sistemleri arasındaki ilişkiler, çok güçlüdür. Örneğin, GSH, GSH-Px, GSSG-Rd ve G6PD birlikte, serbest radikallere karşı hücrenin en önemli savunma aracı olan glutasyon redoks siklusunu oluştururlar (26, 28).

Oksidatif sürecin herhangi bir aşamasına katılabilen antioksidanları, etki mekanizmalarına göre de sınıflandırmak mümkündür (28-30):

- *Geçiş metal iyonlarını bağlayabilen ya da oksidasyonla etkisizleştiren antioksidanlar.* Seruloplazmin, transferrin, laktoferrin, albümin, ferritin ve desferroksamin gibi demir şelatörleri, bu grup içinde önemli yer tutmaktadır.
- *Otokatalitik olarak yayılan serbest radikal zincir reaksiyonlarını kırabilen antioksidanlar.* Bu grup içerisinde tokoferoller, aromatik aminler, fenoller sayılabilir.
- *Oksidatif hasara uğrayan hücre bileşenlerini onarabilen antioksidanlar.* Bu grupta askorbat, tokoferol, GSH ve bazı DNA onarım enzimleri sayılabilir.
- *Serbest radikalleri tutabilen (scavenging), aktivitelerini bastırabilen (quenching) ya da inaktif formlara dönüştürebilen antioksidanlar.* Genellikle enzimatik antioksidanlar ile üratlar, serbest tiyol bileşikleri, α-tokoferol ve askorbat bu grup içinde yer almaktadır.

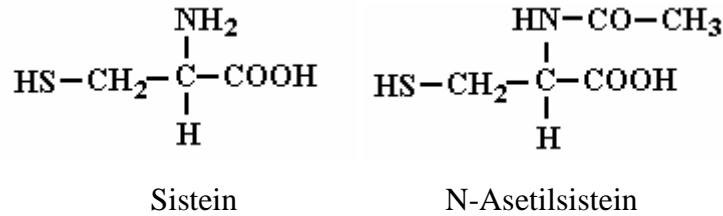
Etki mekanizmasına dayanan bu sınıflandırma, antioksidanların multifonksiyonel olduğunu göstermesi bakımından önem taşımaktadır (28).

## 2.4. N-ASETİLSİSTEİN

N-Asetilsistein (NAC), yaklaşık 50 yıldır solunum sistemi hastalıklarında mukolitik ajan olarak kullanılan bir amino asittir (31,32). Yıllar içerisinde oksidatif stresle ilişkili ya da GSH gereksiniminin arttığı durumlarda, etkili olduğu gözlenen NAC'ın bir antioksidan olarak kullanımı, giderek yaygınlaşmaktadır (10).

### 2.4.1. Kimyasal Yapı ve Özellikleri

Serbest tiyol (SH) grubu içeren NAC, Şekil 1'de görüldüğü gibi; L-sistein amino asidinin N-asetil türevidir. Beyaz renkte bir tiyol bileşiği olan NAC'ın kapalı formülü "C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>S" ve molekül ağırlığı 163.2 g/mol dür (33).



**Şekil 1.** Sistein ve NAC'ın Kimyasal Yapıları

Sisteinin L-izomerinden türeyen L-NAC, biyokimyasal olarak aktiftir ve organizmada tiyol grupları için önemli bir kaynak oluşturur. D-NAC ise, sistein ve GSH'a metabolize olamadığı için, inaktif izomer olarak kabul edilir (10, 32).

NAC, sistein türevi olmasına rağmen, sahip olduğu asetil grubundan dolayı, sisteine göre suda daha çok çözünür ve daha az toksiktir; ayrıca, dimerizasyon ve oksidasyona daha az meyillidir (10).

#### **2.4.2. Farmakokinetik ve Metabolizma**

NAC'ın absorpsiyonu, organizmada dağılımı, metabolizması ve organizmadan atılımı; uygulama şekline bağlı olarak değişebilmektedir. NAC, organizmaya oral, intravenöz (*iv*) ve topikal (ör: aerosol) yoldan verilebilir. NAC, topikal olarak kullanıldığında; sistein ya da GSH miktarlarında sistemik bir artış olmadığı kanıtlanmıştır. Plazma düzeyi *iv* uygulamayla hızla yükselen NAC'ın, bazı yan etkilere yol açabileceği görülmüştür. Bu nedenle, NAC'ın oral kullanımı tercih edilmektedir (10).

**Absorpsiyon:** Oral alımı takiben, düşük mide pH'sında nötr hale gelen NAC, hızla emilir ve hemen hemen tamamı bağırsaklardan absorblanır. Radyoaktif işaretlenmiş NAC'ın, oral alımdan sonra, sadece % 3'ünün feçesle atıldığı gösterilmiştir (31).

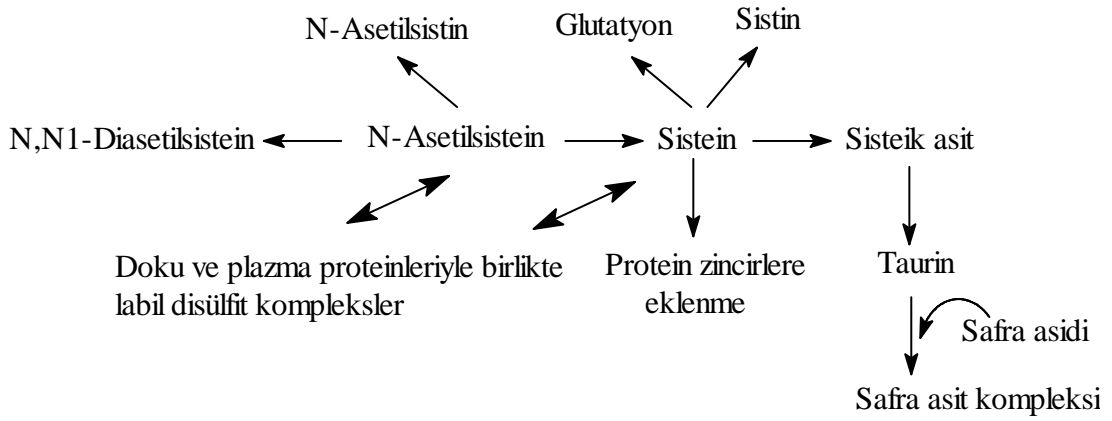
Oral alınan NAC, bir saat içerisinde maksimum kan ve plazma konsantrasyonlarına ulaşır ve hatta alımı takiben 10-12 saat sonra bile, plazmada tespit edilebilir (31). NAC, plazmada farklı formlarda bulunabilmektedir. Total NAC'ın 1/3'ü, serbest olarak bulunmakta; geri kalanı ise N,N1-diasetilsistein olarak veya düşük molekül ağırlıklı plazma proteinlerine disülfid bağıyla konjüge olarak bulunmaktadır. Serbest ve proteinlere bağlı NAC arasında dinamik bir denge vardır (33).

**Metabolizma:** Oral alınan NAC, ince bağırsak ve karaciğerde yüksek oranda ilk geçiş metabolizmasına uğrar (10). Portal dolaşım ile karaciğere gelen NAC'ın çok az bir kısmı değişmeden kalır ve NAC, başta sistein ve inorganik sülfid olmak üzere çeşitli metabolitlere dönüştürülür. Sisteinin az bir kısmı da safra asitleriyle ekstrete edilen taurine dönüşmektedir (Şekil 2) (31, 33).

**Biyoyararlanım:** Oral yoldan alınan ve hiçbir değişikliğe uğramayan NAC'ın biyoyararlanımı, % 4-10 olarak bulunmuştur. Düşük biyoyararlanım, NAC'ın intestinal lümen ve mukoza hücrelerinde deasetile edilmesine ve proteinlere disülfid bağıyla konjüge olmasına bağlanmaktadır (33).

Vücuttaki dağılım hacmi 0.33 L/kg ve renal klirensi 0.21 L/saat/kg olan serbest NAC'ın plazma yarılanma ömrü, 2.27 saattir (34).

**Atılım:** NAC, başlıca inorganik sülfat şeklinde idrarla atılır (33). Radyoaktif olarak işaretlenmiş ve oral yoldan alınan NAC'ın 24 saatlik idrarda geri kazanılabilirliği, % 13-38 olarak bulunmuştur (31).

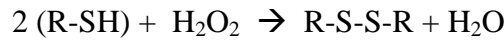


**Şekil 2.** NAC Metabolizması (33)

### 2.4.3. Etki Mekanizması

Oral alınan NAC'ın organizmada başlıca etkisi, ekstraselüler sistin ve sistein düzeylerini artırması ve organizma için serbest tiyol kaynağı oluşturmaktır (31). *In vivo* ve *in vitro* çalışmalarla, NAC'ın GSH biyosentezini artırdığı gösterilmiştir. *In vivo* NAC, eritrosit, karaciğer ve akciğer hücrelerinde hem intraselüler GSH düzeylerini artırmakta ve hem de GSH depolarını yenilemektedir (10). NAC, GSH sentezini uyararak glutatyon-S-transferaz aktivitesini de artırmakta ve böylece GSH-bağımlı detoksifikasyon mekanizmalarına katkı sağlamaktadır (31).

Serbest tiyol grupları, SOR'a karşı savunmada esansiyel kabul edilmektedir (35). NAC'ın antioksidan etkisi, GSH prekürsörü olmasının yan sıra, direkt olarak serbest radikalleri toplayabilme özelliğine de bağlanmaktadır (10, 35). Oksidanlara maruz kalan NAC, sahip olduğu serbest tiyol gruplarıyla disülfid bağı oluşturarak; direkt olarak antioksidan etki göstermektedir (33):



HOCl için güçlü bir toplayıcı olan NAC, HO<sup>•</sup> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimini de azaltmaktadır. Sürekli olarak % 100 oksijene maruz bırakılan hayvan modelleri üzerinde, NAC'ın akciğerleri koruduğu gösterilmiştir (35).

Diğer taraftan, NAC'ın mukolitik etkisi, yapısında bulunan serbest tiyol grubuyla, balgamın mukoprotein moleküllerindeki disülfid (-S-S-) köprülerini kırmasına bağlı olarak açıklanmaktadır (33).

NAC'ın metabolik aktivitesinden büyük oranda serbest tiyol grubu sorumlu olmasına rağmen; amin grubuna bağlı asetil ünitesi de, NAC'ı oksidasyona karşı daha stabil ve dirençli hale getirmektedir (33).

#### **2.4.4. Endikasyon**

NAC'ın tedavi amacıyla kullanıldığı hastalıklar arasında, akut respiratuvar distres sendromu, fibröz alveolitis, pulmoner ödeme neden olan toksik materyallerin inhalasyonu, kronik bronşit, kistik fibrozis gibi solunum sistemi hastalıkları; HIV enfeksiyonu; akciğer, deri, baş-boyun, meme ve karaciğer gibi bazı kanser tipleri; angina pectoris ve akut miyokard infarktüsü (AMİ) gibi kardiovasküler hastalıklar sayılabilir (10,32).

Ayrıca, asetaminofen zehirlenmesinde yaklaşık 20 yıldır yeterli GSH düzeylerini sağlamak amacıyla, *iv* infüzyon/injeksiyon veya oral yoldan antidot olarak kullanılmaktadır. Zehirlenmede hedef organ karaciğer ve hasara neden olan metabolit N-asetil-p-benzokinonemin'dir. Bu toksik metabolit GSH ile detoksifiye edildiğinden; aşırı doz asetaminofen alınımı, kısa sürede GSH depolarını boşaltmakta ve toksik metabolitin detoksifikasyonu yapılamamaktadır (10).

#### **2.4.5. Yan Etki ve Toksikite**

Fareler için oral letal doz, 7888 mg/kg'ın üzerindedir. Hayvanlarda yapılan fertilité çalışmalarında, 250 mg/kg dozda herhangi bir yan etkiye rastlanmamış ve hatta 2000 mg/kg dozlarda bile teratojenik etki gözlenmemiştir. Aynı durum, laktasyon dönemi için de geçerlidir. NAC'ın gebelik sürecinde güvenle kullanılabileceği deneysel çalışmalarla gösterilmiş olsa da, yeterli sayıda klinik çalışma olmadığı için, hamilelikte NAC kullanımı henüz netlik kazanmamıştır (31).

Mukolitik ajan olarak 3x600 mg ve asetaminofen zehirlenmelerinde 140 mg/kg dozlarında oral olarak kullanılan NAC'ın yan etki sayısı ve şiddeti, yok denilebilecek kadar azdır. Bununla beraber, nadiren de olsa hastalarda bulantı, kusma, stomatit, rinore ve ateş yapabilir. Oral kullanımın güvenilirliğinin tersine; *iv* uygulanan NAC ile anafloktoid reaksiyonlar, kaşıntı, bronkospazm ve hipotansiyon görülebilir (31). Emilimi etkileyen aktif kömür dışında, NAC'ın herhangi bir ilaçla etkileşimi de bildirilmemiştir (31).

#### **2.5. OKSİDATİF STRES**

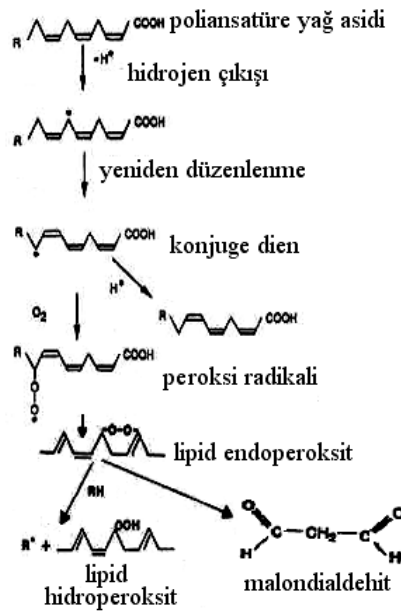
SOR'un oluşum hızı ile tüketim hızı, dengede olduğu sürece, organizmanın SOR'a karşı biyolojik bütünlüğünü koruyabilmesi mümkündür (24). Prooksidan ve antioksidan sistemler arasındaki dengenin, prooksidanlar lehine bozulması olarak tanımlanan oksidatif stres (29), ateroskleroz, kronik böbrek yetmezliği, diyabet, respiratuvar distres sendrom, romatoid artrit, sepsis ve Alzheimer hastalığı gibi birçok patolojik durumda, hatta yaşlılıkta ortaya çıkmaktadır (23, 36).

SOR'un aşırı miktarda üretildiği ya da antioksidan mekanizmaların yetersiz kaldığı durumlarda; oksidatif stresin varlığı, SOR ile etkileşen nükleik asit, polisakkarit, lipid ve proteinler gibi temel hücre bileşenlerinden oluşan toksik bileşiklerin, hücre ve dokularda birikmesiyle yansıtılmakta ve hücre fonksiyonlarında SOR'a bağlı değişiklikler gözlenmektedir (23, 36). Oksidatif stres, hücre ve dokularda sadece yapısal hasara yol açmakla kalmayıp, hücre fonksiyonlarını da bozmakta; hatta oksidatif hücre hasarı, nekroz ya da apoptoz ile sonuçlanabilmektedir (24, 37).

Oksidatif stresle oluşan başlıca doku hasarları arasında lipid peroksidasyonu, membran fonksiyonlarının bozulması, protein oksidasyonu, mukopolisakkaritlerin yıkımı, monosit ve makrofajlardan proinflamatuvar sitokinlerin salınımı ve DNA yapısının bozulması gibi oksidatif modifikasyonlar sayılabilir (24, 37).

### 2.5.1. Lipid Peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonu, doymamış yağ asitlerinin, başta HO<sup>•</sup> olmak üzere SOR tarafından oksitlenerek aldehit, peroksit gibi ürünlere yıkılmasını içeren reaksiyonlar dizisidir (38, 39). Yüksek oranda fosfolipid içeren biyomembranlar ve subselüler organeller, peroksidasyonun başlıca hedefleridir. Başlama, yayılma ve sonlanma şeklinde üç aşamada gerçekleşen peroksidasyon reaksiyonları, bir kere başladıktan sonra, otokatalitik olarak yayılmakta ve yüzlerce yağ asidi zinciri, lipid hidroperoksitlerine çevrilebilmektedir (Şekil 3) (22, 38).



Şekil 3. Lipid Peroksidasyonu ve Ürünleri

Başlama aşamasında, serbest radikallerin doymamış yağ asidi (RH) zincirinden bir hidrojen atomu ayırmasıyla oluşan karbon merkezli lipid radikali (R<sup>•</sup>); O<sub>2</sub>'nin varlığında, lipid peroksi radikali (ROO<sup>•</sup>)'ne dönüşür (22, 26). ROO<sup>•</sup>'nun doymamış

başka bir yağ asidinden H atomunu uzaklaştırması, peroksidasyona yol açar ve yeni oluşan lipid radikali (R<sup>·</sup>), O<sub>2</sub> ile etkileştiğinde, zincirleme reaksiyonlar devam eder. Lipid hidroperoksit (ROOH)'ler, kolayca lipid alkoksi radikali (RO<sup>·</sup>)'ne dönüşebilir ve zincirleme yayılım sonucunda, tek bir radikalden birçok RO<sup>·</sup> ve ROOH meydana gelebilir. Bu zincir reaksiyonları, iki radikal üründen nonradikal bir ürün oluşuncaya veya bu radikaller antioksidanlarla ortadan kaldırılıncaya kadar devam eder (26).

Lipid peroksidasyonu sırasında açığa çıkan ürünler, "primer" ve "sekonder" olmak üzere iki grupta toplanabilirler (40):

Lipid Peroksidasyonu Ürünleri	
Primer	Sekonder
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Konjuge Dienler</li> <li>• Lipid Peroksitler</li> <li>• Lipid Hidroperoksitler</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alkanlar (pentan, etan)</li> <li>• Aldehitler               <ul style="list-style-type: none"> <li>· Malondialdehit (MDA)</li> <li>· n-aldehitler</li> <li>· <math>\alpha,\beta</math>-doymamış aldehitler:                   <ul style="list-style-type: none"> <li>4-hidroksi nonenal (4-HNE)</li> <li>4-hidroksi-2-alkenal</li> <li>4,5-epoksi-2-alkenal</li> </ul> </li> </ul> </li> <li>• F<sub>2</sub>-izoprostanlar:               <ul style="list-style-type: none"> <li>8-izoprostan (8-epi-PGF<sub>2<math>\alpha</math></sub>)</li> </ul> </li> </ul>

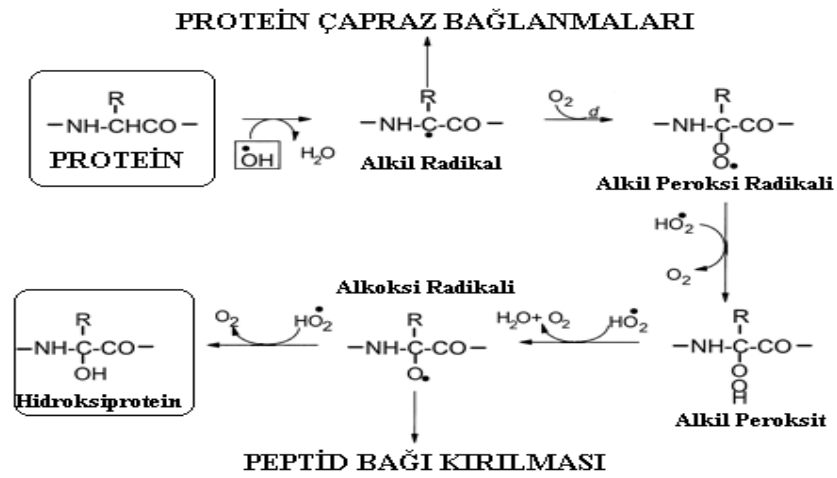
Bu primer ve sekonder yıkım ürünlerinin hepsi de, SOR'a benzer şekilde, hücre yapısı ve fonksiyonunu bozabilir. Örneğin, membranın lipid-protein bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmasına neden olan MDA, membranın iyon transportu, deformabilite, enzim aktivitesi, permeabilite, akışkanlık gibi özelliklerini değiştirebilmekte; ayrıca nükleer membrandan kolayca diffüze olabildiğinden, DNA yapısında mutasyonlara neden olmaktadır (28, 38).

### 2.5.2. Protein Oksidasyonu

Oksidatif stres sürecinde proteinlerin irreversibl ve nonenzimatik olarak modifiye edildikleri bilinmektedir (8, 41). Proteinlerin kovalent modifikasyonu olarak tanımlanan protein oksidasyonu, SOR veya sekonder oksidatif stres ürünleri ile tetiklenebilir. Lipid peroksidasyonuna benzer şekilde gerçekleşen protein-radikal zincir reaksiyonları, proteinlerin oksidatif modifikasyonuna neden olmaktadır (30, 37). Paraquat, asetaminofen gibi ksenobiyotikler, sigara, Fe<sup>2+</sup> ve Cu<sup>+</sup> gibi geçiş metalleri, UV radyasyon, aktif nötrofiller, ozon ve oksido-redüktazlar, protein oksidasyonuna yol açabilmektedir (37, 42). Hepsinin de ortak hedefi, proteinlerin yan zincirleri veya peptid bağları olduğundan (42), proteinlerin oksidatif hasarı, dört farklı şekilde gerçekleşebilir (8, 30):

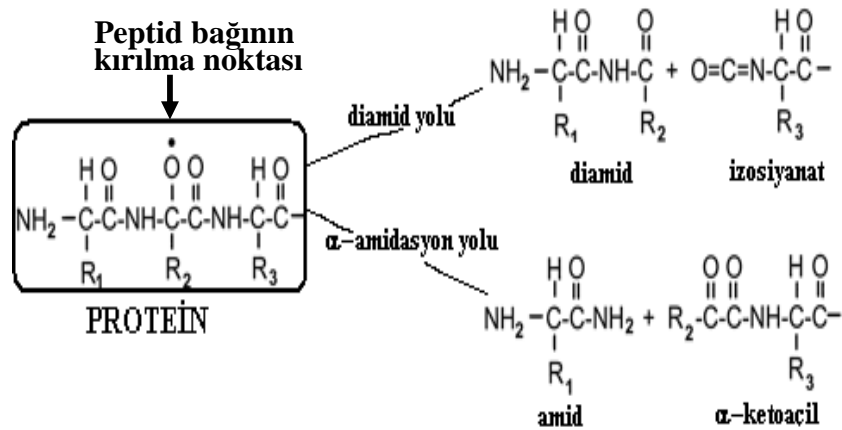
- Protein iskeletinin oksidasyonu
- Peptid bağlarının kırılması
- Amino asit yan zincirlerinin oksidasyonu
- Kovalent çapraz bağlanma reaksiyonları

•**Protein iskeletinin oksidasyonu:** Oksidatif atak, SOR'un, protein iskeletini oluşturan  $\alpha$ -karbonlardan hidrojen atomunu çıkarmasıyla başlar ve karbon merkezli (alkil) radikal oluşur.  $O_2$  ile reaksiyona giren alkil radikal, sırasıyla alkil peroksi, alkil peroksit ve alkoksi radikalleri ile hidroksiprotein türevlerini oluşturmakta ve daha sonra bu radikallerin her biri aynı ve/veya farklı proteinlerin amino asit artıklarıyla yeni karbon merkezli radikaller oluşturabilmektedir (Şekil 4) (8, 30).



Şekil 4. Protein İskeletinin Oksidasyonu

•**Peptid Bağlarının Kırılması:** Protein üzerinde oluşan alkoksi radikali, aynı zamanda peptid bağının kırılma noktasını da belirlemektedir. Peptid bağı, diamid ve  $\alpha$ -amidasyon olarak adlandırılan iki mekanizma ile kırılmakta ve N-terminalinde izosiyanat ve  $\alpha$ -keto açıl türevi bulunan yeni küçük peptidler oluşmaktadır (Şekil 5) (8, 30):



Şekil 5. Peptid Bağlarının Kırılması



•**Amino Asit Yan Zincirlerinin Oksidasyonu:** Protein yapısında bulunan amino asitlerin yan zincirleri oksidasyona uğradıklarında, yapısal özelliklerine göre farklı ürünler oluşturabilirler (37):

Yan Zincir	SOR ile oluşan ürünler
•Alifatik zincirler	Hidroperoksitler, peroksi radikalleri ve karbonil bileşikleri
•Heteroatom içeren zincirler	Serin/treonin oksidasyonu; karbonil grubu içeren ürünler Sistein oksidasyonu; disülfidler ve sisteik asit Metiyonin oksidasyonu; metiyonin-sülfik asit
•Aromatik zincirler	Fenilalanin, tirozin, triptofan ve histidin yapısında aromatik halka oksidasyonu

Amino asitler içerisinde, sistein ve metiyonin, hemen hemen tüm SOR türlerine karşı duyarlı amino asitlerdir. Sisteinil ve metiyonil yan zincirlerinden oluşan disülfid ve sisteik asit ile metiyonin sülfoksit gibi oksidasyon ürünlerinin en önemli özelliği, organizmada onarılabilen tek modifikasyon örnekleri olmalarıdır (30, 41).

•**Çapraz Bağlanma Reaksiyonları:** Protein ya da polipeptid zincirleri arasındaki etkileşimler, çapraz bağlanma reaksiyonlarının ön koşuludur. Kovalent çapraz bağlanma reaksiyonlarına katılan serbest amin grubu, genellikle protein yapısında bulunan lizil-C-NH<sub>2</sub>'dir (30, 41). Histidin imidazol grubu da karbonil bileşikleriyle *Schiff* bazı oluşturabilmektedir (41).

SOR'un etkisiyle aynı ya da farklı protein molekülleri arasında meydana gelen çapraz bağlanmalar, aşağıda verilen mekanizmalarla oluşabilir (30):

- Çapraz disülfid bağlarını oluşturmak üzere, sistein-tiyol gruplarının oksidasyonu.
- Lipidlerden türeyen MDA, 4-HNE gibi aldehitlerin karbonil gruplarının aynı ya da farklı protein zincirinde bulunan serbest amin gruplarıyla *Schiff* bazı oluşturması.
- Proteinin serbest amin grubuyla glikozile bir proteinin karbonil grubunun etkileşimi
- Amino asit yan zincirlerinin oksidasyonu ile oluşan karbonil gruplarının başka bir proteinin serbest amin grubu ile etkileşimi.
- Karbon merkezli radikaller aracılığıyla, -aynı ya da farklı iki- polipeptidin amino asit artıkları arasında kovalent karbon-karbon bağlarının oluşumu.
- İki tirozil radikalinin birleşimi

#### 2.5.2.1. Okside Proteinlerin Birikimi

Tiyol içeren yan zincir ürünlerinin redüksiyonu dışında, oksidatif hasar gören proteinlerin; endojen proteazlar tarafından yıkılmaları gerekir (41). Oksidatif hasarın şiddeti, proteinlerin metabolik sonlarını belirlemede başlıca faktördür. Örneğin, hafif derecede bir oksidasyon, proteinlerin hidrofilitik özelliğini artırmakta ve proteinleri,

proteolitik atağa karşı daha duyarlı kılmaktadır. İleri derecede okside olan ve böylece hidrofobik özellik kazanan proteinler ise, proteazlara karşı daha dirençli hale gelirler (41, 42). Endojen proteazlara örnek olarak katepsin C, kalpain, tripsin ve 20 S proteozom verilebilir (41).

Proteolitik yıkıma dirençli okside proteinlerin yanı sıra; endojen proteazların çapraz bağlı ya da glikozile protein konjugatları tarafından inhibisyonu, okside proteinlerin organizmada birikimine yol açmaktadır (41). Bu nedenle, hücrelerdeki okside protein düzeylerinin, protein oksidasyon hızı ile proteolitik yıkım hızı arasındaki dengeye bağlı olduğu ve dengenin bozulmasıyla, okside proteinlerin organizmada birikmeye başladığı söylenebilir (43).

Proteinlerin oksidasyonuna ve degradasyonuna yol açan çok yönlü metabolik olaylar, kendi içlerinde alt başlıklar altında sıralanabilir (30, 41):

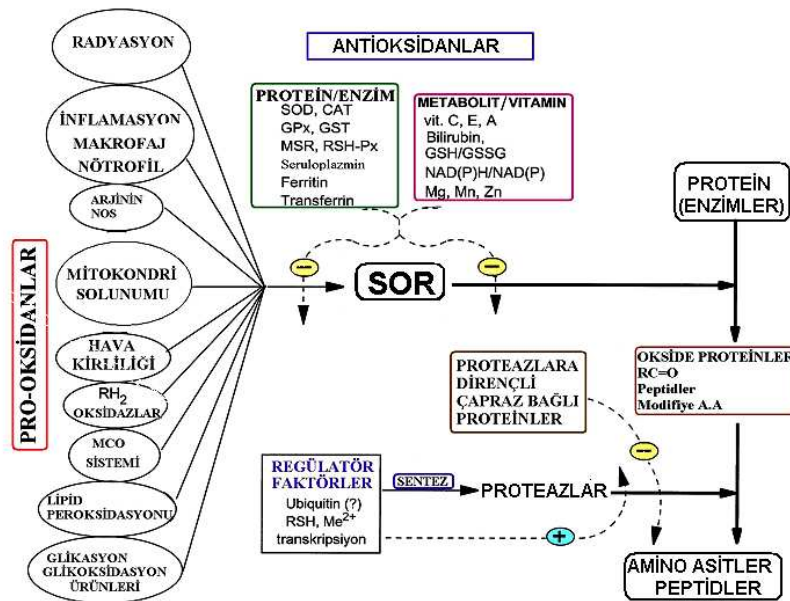
### Oksidasyona yol açan olaylar

- SOR üretimi
- Oksijen gerilimi
- NAD(P)H/NAD(P)<sup>+</sup> oranı
- Redoks aktif Fe ve Cu iyonlarının sağlanabilirliği
- İntraselüler redoks potansiyeli
- Antioksidanların varlığı, sentez/yıkımlarının kontrolü

### Degradasyon hızını etkileyen faktörler

- Çapraz bağlı proteinlerin varlığı
- Proteazların substrat ve allosterik modülatörlerinin miktarı
- Endojen proteaz inhibitörlerinin miktarı

İşte tüm bu faktörler arasındaki denge, hücrelerdeki okside protein düzeylerini belirleyecektir (Şekil 6) (8).



Şekil 6. Okside Protein Düzeyini Belirleyen Faktörler (8)

### 2.5.2.2. Oksidatif Protein Modifikasyonunun Biyokimyasal Sonuçları

Toksik hasarın en büyük hedefi olan protein inaktivasyonu, metabolizmayı olumsuz yönde etkileyecektir. Protein oksidasyonunun metabolik sonuçlarına aşağıdaki örnekler verilebilir (41):

- Spesifik enzim aktivitesinde artma/azalma (sürekli aktif/inaktif formların oluşması)
- Protein fonksiyon kaybı (fibrinojen/fibrin pıhtısı)
- Proteaz inhibitör aktivitesinin kaybı (  $\alpha$ -1-antitripsin,  $\alpha$ -2-makroglobulin gibi)
- Protein agregasyonu (IgG, LDL, amiloid protein)
- Artmış /azalmış proteolitik atak
- Anormal hücresele LDL alımı
- Artmış immünojenite (HNE veya akrolein-LDL gibi)

Sonuç olarak oksidasyon, o proteinde biyolojik aktivite kaybına yol açsa da; okside proteinlerin birikimi, biyomoleküllerin katalitik ve yapısal bütünlüğünün bozulmasına ve/veya metabolik düzenleyici yolların kesintiye uğramasına neden olduğundan, tüm hücre fonksiyonlarının bozulmasına yol açmaktadır (37, 41).

### 2.6. OKSİDATİF STRESİ GÖSTEREN BAZI PLAZMA PARAMETRELERİ

SOR'un yol açtığı oksidatif hasar, protein, lipid ve nükleik asit gibi biyomolekülleri etkilediğinden; oksidatif stresin gösterilmesinde, bu biyomoleküllerin oksidatif ürünlerine yönelik testler kullanılmaktadır (40). Örneğin, lipid peroksidasyonunu yansıtan MDA ölçümü, sıklıkla yapılırsa da; MDA'nın yarı ömrünün kısalığı, stabil olmayışı, düşük spesifite ve sensitivitesi olan yöntemlerin kullanılması, sonuçların güvenilirliğini etkilemektedir. Bu nedenle, oksidatif stresin gösterilmesinde, lipid türevleri yerine, daha stabil ve uzun ömürlü olan protein oksidasyon ürünlerinin kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır (40,43).

Diğer taraftan, DNA, lipid ya da protein ürünlerinin belirlenmesinde, oksidatif hasara yol açan SOR'un türü de önemli rol oynamaktadır. Örneğin, organizmada sadece miyeloperoksidaz (MPO) reaksiyonuyla oluşturulan ve SOR türleri içerisinde, en reaktif ve en toksik ajan olan HOCl (44) için, başlıca hedefin proteinler olduğu; lipid ya da DNA gibi biyomolekülleri çok az modifiye edebildiği bildirilmektedir (45). Bu nedenle, SOR türevi olarak başlıca HOCl'nin üretildiği durumlarda, protein oksidasyon ürünleri kullanılmalıdır (43).

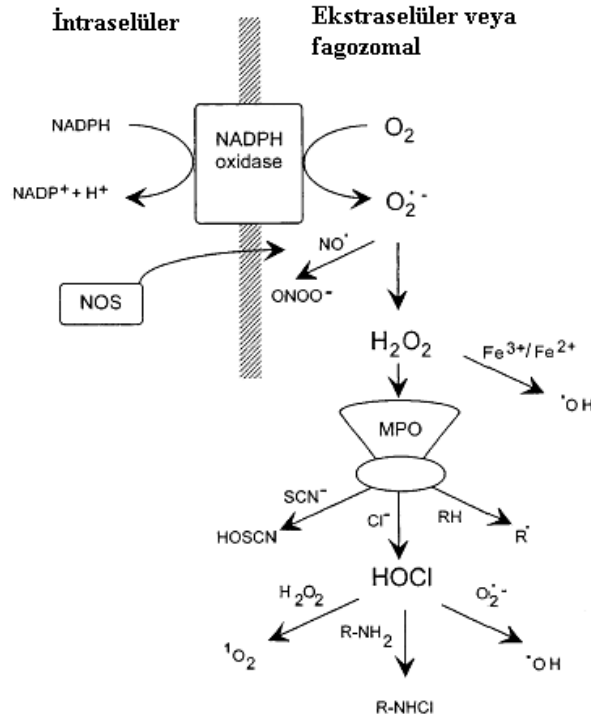
Protein oksidasyon ürünleri arasında, protein karbonil bileşikler (PCC) (46); 3-nitrotirozin, klorotirozin gibi yan zincir oksidasyon ürünleri (8); ditirozin, pirrolize protein (47), protein ileri oksidasyon ürünleri (advanced oxidation protein products; AOPP) gibi çapraz bağlanma ürünleri (48) ve iskemi modifiye albümin (İMA) (49) sayılabilir.

### 2.6.1. Miyeloperoksidaz

MPO (E.C. 1.11.1.7), nötrofil ve monositlerin primer (azurofil) granüllerinde bulunan lizozomal bir enzimdir (45, 50). MPO, 17. kromozomun uzun kolunda q12-24 segmentinde lokalize, 11 intron ve 12 exondan oluşan tek bir gen tarafından oluşturulur (51). Total nötrofil proteinlerinin % 5'ini oluşturan MPO,  $\alpha_2\beta_2$  yapısında tetramerik, katyonik bir hemoproteindir; molekül başına iki demir atomu taşımaktadır (44). MPO'nun organizmadaki başlıca fonksiyonu, solunum patlaması sırasında, antimikrobiyal ajanları oluşturmasıdır (44).

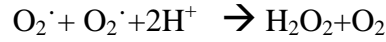
**Solunum patlaması:** Konak savunmasında ve aynı zamanda enflamatuvar doku hasarında merkezi bir role sahip olan nötrofiller (52), organizmadaki profesyonel fagositlerdendir. Fagositlerin kritik fonksiyonlarından biri de mikroorganizmaların öldürülmesidir (45).

Nötrofil gibi fagositoz için özelleşmiş bir hücre, fagosite ettiği cisimi solunum patlaması (respiratory burst) adı verilen bir dizi reaksiyonla etkisiz hale getirmektedir (51). Nötrofiller, fagositoza cevap olarak oksijen tüketimlerini artırır ve sonuçta oksijen alınımı,  $O_2^-$  ve  $H_2O_2$  üretimi ile pentoz monofosfat döngüsünün hızı artar. Fagositoz sırasında meydana gelen bu değişikliklerin hepsine birden solunum patlaması denilmektedir (Şekil 7). Solunum patlaması, bu nedenle organizmada SOR oluşturan başlıca yollardan biridir (45).

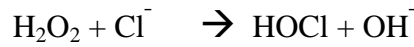


Şekil 7. Solunum Patlaması ve Aktif Nötrofil Kaynaklı Oksidanlar

NADPH oksidaz olarak bilinen enzim kompleksi tarafından gerçekleştirilen solunum patlaması sırasında tüketilen oksijenin hepsi, NADPH'dan aktarılan elektronlarla süperoksit radikale indirgenmekte ve O<sub>2</sub>'nin spontan dismutasyonu ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşmaktadır. Nötrofiller tarafından üretilen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin çoğu, aktif nötrofillerden salınan MPO tarafından tüketilmektedir. MPO, fagozomlarda veya hücre dışında, halidler (Cl<sup>-</sup>, I<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>)'in biriyle, özellikle klor iyonlarıyla, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'den HOCl oluşturmaktadır (Şekil 7) (45):



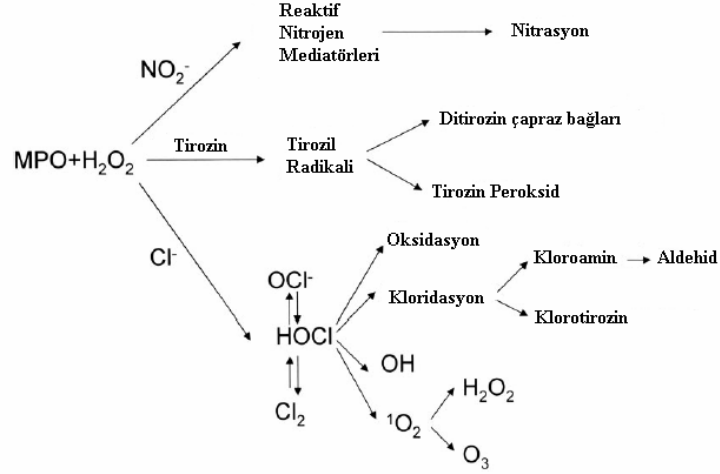
MPO



MPO'nun antimikrobiyal aktivitesi, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve Cl<sup>-</sup>, I<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup> gibi bir halidin varlığına bağlıdır. Halidler içerisinde en etkili iyodür olmasına rağmen; klor iyonları, nötrofillerde yüksek konsantrasyonda bulunur. Halidlerin oksidasyonu ile oluşan HOCl gibi kuvvetli oksidan ajanlar, mikroorganizmaları halojenasyon ve oksidasyon yoluyla etkisiz hale getirmektedirler (44, 45).

Organizmada HOCl üretimini katalizleyen tek enzim olan MPO, bir taraftan HOCl üretimiyle mikrobisid aktivite gösterirken; diğer taraftan enflamasyon alanında doku hasarına da neden olmaktadır. MPO, enzim inaktivasyonu, tirozil rezidülerinin ve çapraz bağlı proteinlerin oluşumu, amino asit oksidasyonu ve lipidlerin kloridasyonu ile doku hasarına katkıda bulunmaktadır. Çünkü MPO-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-halid sistemiyle oluşan HOCl, kloramin, klorin, HO·, <sup>1</sup>O<sub>2</sub> ve ozon gibi toksik ajanlar, hücrenin dışına da salınmakta ve sağlıklı dokularda hasara neden olarak pek çok hastalığın patogeneğinde rol oynamaktadır (Şekil 8) (50,51). Örneğin, çok güçlü bir oksidan olan hipoklorik asitin başlıca hedef biyomolekülleri, aminler, amino asitler, tiyoller, nükleotidler ve hemoproteinlerdir (52). Yüksek reaktivitesinden dolayı hedef biyomolekülleri ile etkileşen HOCl, kloraminler olarak adlandırılan ve proteinleri oksitleyebilen uzun ömürlü oksidanların üretilmesine katkıda bulunmaktadır (48).

Halidlerin yokluğunda MPO, peroksidaz gibi davranarak, çeşitli bileşiklerin oksidasyonunu katalizleyebilmektedir (48). MPO ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, klor yokluğunda direkt olarak tirozini okside ederek tirozil radikalini ve ditirozin çapraz bağlarını ya da süperoksit ile reaksiyona girerek tirozin peroksiti oluşturur (Şekil 8) (51).



**Şekil 8.** MPO Kaynaklı Antimikrobiyal Sistem Ürünleri

### 2.6.2. Total Lipid Hidroperoksit

Hidroperoksitler, doymamış lipidlerin peroksidasyonu sırasında oluşan ilk stabil ürünlerdir (53). Şekil 3'te görüldüğü gibi, peroksidasyon sırasında çift bağların yeniden düzenlenmesiyle oluşan konjuge dienler,  $O_2$  varlığında peroksi radikallerine dönüşürler. Peroksi radikalleri de başka bir peroksi radikaliyle birleşebileceği gibi membran proteinleriyle de etkileşebilir ya da yakındaki doymamış bir yağ asidinden bir H atomu çıkararak lipid hidroperoksitlerine dönüşebilirler (39).

ROOH oluşumuyla her seferinde yeni bir karbon merkezli radikal de oluşmakta ve bu yeni lipid radikali,  $O_2$  ile yeni bir peroksi radikali oluşturabilmektedir. Böylece, tek bir substrat radikal, çok sayıda yağ asidi zincirinin lipid hidroperoksitlerine dönüşmesine yol açmakta ve yayılma aşamasının uzunluğu, ortamdaki  $O_2$  konsantrasyonu ve zincir kırıcı antioksidanların miktarı gibi bir çok faktöre bağlı olarak değişmektedir (Şekil 3) (26,39).

Lipid hidroperoksitler, oldukça stabil olmakla beraber; yüksek sıcaklıkta ya da geçiş metal iyonlarına maruz kaldıklarında parçalanabilirler. Lipid hidroperoksitlerin dekompozisyonu, hidrokarbon gazları (etan, pentan) ve aldehytler (MDA, 4-HNE) gibi sekonder peroksidasyon ürünlerinin kompleks bir karışımını oluşturur (24, 38).

Lipid peroksidasyonunun başka bir kompleks özelliği de, yağ asidinden ayrılan ilk hidrojen atomunun konumudur. Hidrojen atomunun ayrılması, zincir üzerindeki bir çok farklı noktada gerçekleşebileceğinden; farklı peroksidasyon ürünlerinin oluşumuna yol açacaktır. Örneğin, araşidonik asitin peroksidasyonu ile altı farklı hidroperoksitin yanı sıra, siklik peroksitler ve izoprostanlar gibi diğer ürünler de oluşmaktadır (39).

Ayrıca, çift bağların sayısı, yağ asidinin peroksidasyona olan duyarlılığını belirlemektedir. Çoklu doymamış yağ asitleri, SOR ile çok kolay etkileşip lipid hidroperoksitlerine oksitlenebilirken; doymuş ya da tekli doymamış yağ asitleri, peroksidasyona daha dirençlidir. Ardışık çift bağların varlığı, komşu C-H arasındaki bağ enerjisini azaltır. Bu nedenle, çift bağ sayısı ne kadar fazlaysa, H atomunun zincirden çıkarılması da o kadar kolaydır; bu özellik, çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyona neden çok duyarlı olduklarını açıklamaktadır (54).

Yağ asitlerinin peroksidasyonu, sadece SOR aracılı yollarla değil; enzimatik olarak da katalizlenebilir (22, 38). Enzimatik lipid peroksidasyonu, O<sub>2</sub>'nin ya da SOR'un enzimin aktif merkezine girmesiyle oluşan lipid hidroperoksitlerin üretimini tanımlar. Siklooksijenaz ve lipoksijenaz, çeşitli yağ asidi substratlarının peroksidasyonunu katalizlediklerinde, enzimatik lipid peroksidasyonu gerçekleşmiş olur. Enzimatik lipid peroksidasyonu ile üretilen hidroperoksit ve endoperoksitler, stereospesifiktirler ve stabil aktif bileşiklere çevrildiklerinde önemli biyolojik fonksiyonlara sahiptirler. Her iki enzim de 20 C'lu çoklu doymamış yağ asitlerinden biyolojik olarak aktif eikozanoid ailesinin oluşumundan sorumludurlar; örneğin, siklooksijenaz ile araşidonattan prostaglandinlerin oluşumu gibi (54).

Plazmada bulunan hidroperoksitlerin en az % 65'inin LDL'de; % 11'inin HDL'de ve % 17'sinin VLDL'de biriktiği, deneysel olarak gösterilmiştir (53).

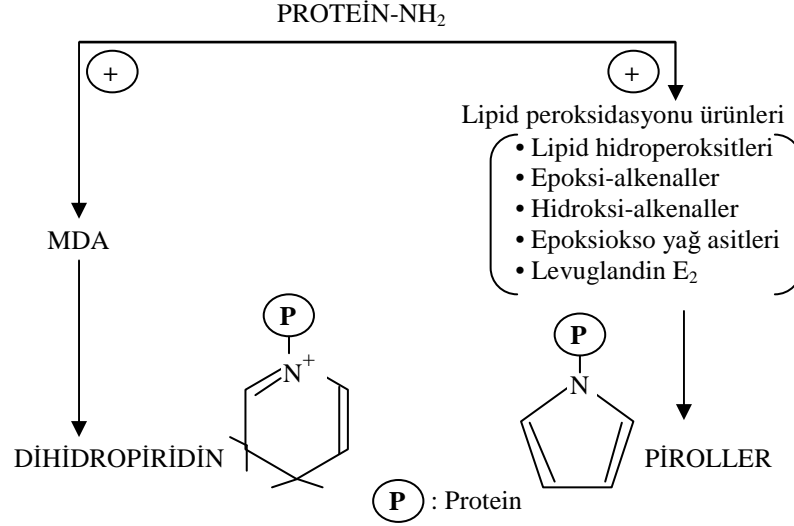
Biyolojik sıvılarda bulunan lipid hidroperoksitlerin ölçümünde kullanılan yöntemler, "total ve bireysel" olmak üzere iki başlık altında toplanabilirler. Total hidroperoksitler, başlıca kolorimetrik, enzimatik ve kemilüminesans yöntemlerle; fosfolipid, kolesteril esteri gibi bireysel hidroperoksit sınıfları ise HPLC-kemilüminesans tekniklerle tayin edilebilirler (22, 53).

Total lipid hidroperoksitlerin tayininde kullanılan kolorimetrik yöntemlerden biri de, ksilenol oranj (XO) içinde ferröz iyonun oksidasyonu (ferrous oxidation in xylenol orange; FOX)'dur (55). Fe<sup>+2</sup>-XO kompleksinin potansiyeli, ilk defa 70'li yıllarda Gupta (56) tarafından H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> için tanımlanmış; yöntemin daha geniş çapta sulu (FOX 1) ve lipid (FOX 2) fazda bulunan hidroperoksitlere uygulanması, Wollf ve arkadaşları (53, 55) tarafından geliştirilmiştir.

FOX 2 yöntemiyle, plazmada bulunan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, HO<sub>2</sub>' , ROOH, ROO' , RO' , RO'H gibi her çeşit hidroperoksiti total olarak tayin etmek mümkündür (55).

### 2.6.3. Pirrolize Proteinler

Lipid peroksidasyonunun toksisitesi, peroksidasyon sırasında üretilen  $\alpha,\beta$ -doymamış ve/veya dikarbonilik aldehitlere bağlanabilir (57). Lipid peroksidasyon ürünlerinden; MDA gibi dikarbonilik aldehitler ile 4-HNE, 4-hidroksi-2-alkenal ve 4,5-epoksi-2-alkenal gibi  $\alpha,\beta$ -doymamış aldehitlerin genel özelliği; proteinlerin reaktif gruplarını modifiye ederek, proteinler üzerinde okside lipid/amino asit reaksiyon ürünü (oxidized lipid/amino acid reaction product; OLAARP) olarak adlandırılan birtakım değişikliklere yol açmalarıdır. OLAARP oluşumu, proteinlerin varlığında, lipid peroksidasyonunun nihai sonucu olarak kabul edilmektedir (58). İmmünojenik yöntemlerle tanımlanan çok sayıda OLAARP içerisinde (59), dihidropiridinler ve pirroller gibi sadece birkaçı, kimyasal-spektrofotometrik yöntemlerle tayin edilebilecek stabiliteye sahiptirler (Şekil 9) (47).



Şekil 9. Organizmada Dihidropiridin ve Pirrolize Protein Oluşumu

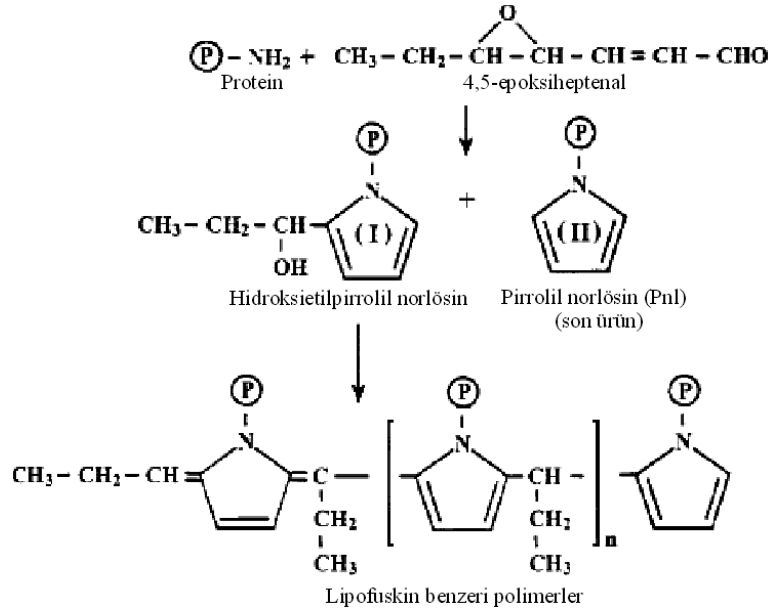
*In vitro* şartlarda pirrolize proteinler, lipid hidroperoksitleri, hidroksi-alkenal, epoksi-alkenal ve lipid peroksidasyonunun diğer sekonder ürünlerinin varlığında veya Fe<sup>+3</sup>/askorbat oksidasyonu ile oluşmaktadır. Bu *in vitro* ortamların hepsinde, albümin ve globülinler gibi plazma proteinlerinin pirrolizasyonu gerçekleşebilir (47).

Organizmada pirrollerin üretimi, dihidropiridinlere göre daha yaygındır (Şekil 9). Protein yapısındaki bazı lizil artıkları, pirrol-amino asitlere dönüşür ki; bu modifikasyon farklı protein yapıları için spesifiktir ve proteindeki lizil sayısına bağlıdır. Plazma albümini, globülinlere göre, daha çok lizil (871 tane) içerdiğinden; en fazla pirrol oluşumu, albümin üzerinde gerçekleşir (47).

Proteinlerin üzerinde oluşan pirrol-amino asitleri, 2 tiptir (Şekil 10):

- I. Hidroksialkilpirrol türevleri
- II. Pirrol türevleri





**Şekil 10.** 4,5-Epoksiheptenal ile Pirrol Amino Asitlerinin Oluşumu

Daha dayanıksız olan hidroksietilpirrolil norlösün gibi hidroksialkil pirrol türevleri (I), intra/inter moleküller halinde spontan olarak polimerleşerek lipofuskin benzer polimer yapıları oluştururlar. Diğer taraftan, pirrolil norlösün (Pnl) gibi pirrol türevleri (II), stabil bir son üründür ve HPLC ile tayin edilebilir (Şekil 10) (47).

Oksidatif stresi takiben, proteinlerin serbest amino gruplarıyla lipid peroksidasyon ürünlerinin reaksiyonu sonucu, doğal ve yaygın şekilde oluşan pirrolize proteinlerin, hücrelerin veya organizmanın maruz kaldığı stresin gösterilmesinde bir "marker" olarak kullanılabilceği öne sürülmektedir (60).

Pirrolizasyonun belirlenmesi için, Ehrlich reaktifi (dimetilaminobenzaldehit; DMAB) ile pirrol tayini yapılabilir. Çünkü sadece pirroller, DMAB ile etkileşebileceğinden; oluşan Ehrlich reaksiyon ürünleri, ortamda bulunan pirrollerin varlığını gösterecektir. Başka bir ifadeyle, pirrolize proteinler, Ehrlich reaktifiyle aynı spektrofotometrik ürünleri vermektedir. Plazmada, Ehrlich reaktifiyle başlıca albümin ve globulinlerin pirrol içeriği tayin edilmektedir (47).

#### 2.6.4. Protein Karbonil Bileşikleri

Amino asit, karbohidrat ve lipidlerin oksidasyonu ile oluşan ve yapılarında aldehit ya da keton grubu bulunan karbonil türevleri; hep birlikte, reaktif karbonil bileşikleri (reactive carbonyl compounds; RCC) olarak adlandırılırlar (61).

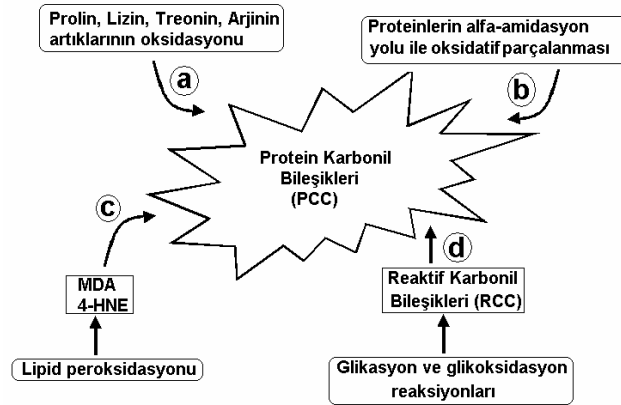
Organizmada RCC tanımına uyan pek çok bileşik vardır. RCC'lere örnek olarak, glukoz ve benzeri şekerler, 3-deoksiglukozon (3-DG), gliksal (GO), metilgliksal (MGO), MDA ve 4-HNE verilebilir (43).

Bazı RCC'ler sadece karbohidrat veya sadece lipid kaynaklı olabilirken; bazıları da hem karbohidrat ve hem de lipidlerden türeyebilirler. Ayrıca GO, 4-HNE, MDA gibi bazıları, oksijen varlığında oluşurken; 3-DG, MGO gibi bazılarının oluşum mekanizması, O<sub>2</sub>'ye bağımlı değildir (61).

Son derece reaktif olan RCC'ler, başta proteinler olmak üzere, fosfolipid ve nükleik asitler gibi biyomoleküllerin fonksiyonel gruplarıyla etkileşerek modifiye yapılar oluşturabilirler. Organizmada RCC oluşum hızı ile RCC yıkım ya da atılım hızı arasındaki dengenin bozulmasına bağlı olarak; RCC seviyelerinin artması ve RCC'lerin biyomoleküllere yaptığı toksik etkilerin tümü, "karbonil stres" olarak adlandırılmaktadır (43).

Oksidatif stresin, proteinleri modifiye ettiği bilinmektedir. Oksidatif stresin yanı sıra karbonil stres de, başka bir ifadeyle, SOR ve RCC'ler, proteinlerle irreversibl ve nonenzimatik olarak etkileşerek, protein karbonil bileşikleri (protein carbonyl compounds; PCC) denilen modifiye protein yapılarını oluştururlar (46).

Proteinler üzerinde karbonil bileşiklerinin oluşumu, kısaca protein karbonilasyonu, direkt ve indirekt oksidatif modifikasyonlarla gerçekleşebilir (Şekil 11) (42):



Şekil 11. PCC Oluşum Mekanizmaları

#### Direkt PCC Oluşum Mekanizmaları

•*Polipeptid yan zincirinin oksidasyonu*: Protein yapısındaki prolil, lizil, arjinil ve treonil yan zincirlerinin, başta alkoksi ve peroksi radikalleri olmak üzere, SOR ile oksidasyonu, protein üzerinde karbonil (aldehit/keton) gruplarını oluşturabilir (a).

•*Alfa-amidasyon yolu*: SOR atağı ile peptid bağlarının kırılması (alfa-amidasyon yolu; Şekil 5) sonucunda, N-terminalinde alfa-keto-açıl türevi bulunan yeni küçük peptidler oluşmaktadır. Protein yapısındaki glutamil, aspartil ya da prolil yan zincirlerinin oksidasyonu yoluyla da peptid bağları kırılabilmekte ve böylece peptid zincirleri üzerinde, alfa-amidasyon yolunda olduğu gibi, alfa-keto-açıl türevleri oluşmaktadır (b).

### İndirekt PCC Oluşum Mekanizmaları

•*Lipoksidasyon*: Lipid peroksidasyonu sırasında oluşan ve RCC içeren MDA, 4-HNE, akrolein gibi peroksidasyon son ürünleri, polipeptid zincirindeki lizil ( $\epsilon$ -NH<sub>2</sub>), histidil (imidazol) ve sisteinil (SH) aracılığıyla, proteinlerle reaksiyona girdiklerinde nonenzimatik irreversibl modifikasyonlara neden olurlar (c).

•*Glikasyon ve Glikoksidasyon*: Redükte şekerler ve onların oksidasyon ürünlerinden glikasyon ve glikoksidasyon reaksiyonlarıyla oluşan ketoamin, ketoaldehit ve deoksiozon gibi karbonil bileşikleri, polipeptid zincirindeki lizil ( $\epsilon$ -NH<sub>2</sub>) ile reaksiyona girerler (d).

Glikasyon; başta glukoz olmak üzere, redükte şekerlerin, nonenzimatik olarak kovalent bağlarla, proteinlerin amino gruplarına bağlanması (Maillard reaksiyonu) ve glikoksidasyon; redükten şekerlere ilaveten şekerlerin oksidasyon ürünleri tarafından protein amino gruplarının modifikasyonu olarak tanımlanabilir. Burada önemli olan nokta, glikasyon reaksiyonlarının nonoksidatif ve nonenzimatik reaksiyonlarla gerçekleşmesi; glikoksidasyon sürecinde ise SOR aracılı oksidatif reaksiyonların da rol oynuyorsa olmasıdır (61).

Bu etkileşimler, irreversibl ileri glikasyon/lipoksidasyon son ürünleri (advanced glycation/lipoxidation end-products; AGE/ALE) olarak adlandırılan pentozidin ve karboksimetillizin (CML) gibi AGE veya MDA-lizin, 4-HNE-protein ve akrolein-protein kompleksi gibi ALE oluşumuyla sonuçlanır (61).

Protein karbonilasyonu, irreversibl bir oksidatif protein modifikasyonu olduğundan, onarılamayan karbonillenmiş proteinler; ya proteolitik olarak yıkılırlar ya da hasarlı-modifiye protein yapıları şeklinde, organizmada birikirler (43).

Proteinlerdeki karbonil grubunun miktarı ile oksidatif stres kaynaklı protein hasarı arasında çok yüksek bir korelasyon bulunduğu; biyolojik örneklerde PCC düzeylerinin tayini, oksidatif protein hasarının derecesini belirlemede iyi bir gösterge olarak kabul edilmektedir (46).

PCC, karbonil gruplarına spesifik 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH) varlığında, dayanıklı hidrazon türevlerine dönüşebilmektedir. Hidrazon oluşumunun kantitatif tayini, spektrofotometrik yöntemlerle yapılabildiğinden, plazma ve/veya doku PCC ölçümü, basit ve ucuz bir oksidatif stres parametresi olarak kullanılmaktadır (46).

### 2.6.5. Proteinlerin İleri Oksidasyon Ürünleri

Yüksek derecede okside proteinler olarak, ilk kez Witko-Sarsat ve ark (48) tarafından üremik hastaların plazmasında tanımlanan AOPP; protein oksidasyonunun son çapraz bağlanma ürünleri olarak kabul edilmekte ve bir oksidatif stres parametresi olarak kullanılabilmesi öne sürülmektedir.

Kimyasal yapısı halen araştırılmakta olan AOPP'nin, kendi klirensini de önleyebilen yüksek bir molekül ağırlığına sahip olduğu; yüksek oranda disülfid köprüleri ve/veya tirozin çapraz bağlanmalarını içeren albümin agregatlarından oluştuğu; hem saflaştırılmış hem de plazmada bulunan albüminden farklı olduğu; kromatografik ve elektroforetik tekniklerle gösterilmiş (62) ve oksidatif modifikasyona uğrayan albüminin son çapraz bağlanma ürünleri, AOPP olarak tanımlanmıştır (48).

AOPP'nin *in vitro* şartlarda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'den çok, HOCl gibi klorlu oksidanlara maruz kalan saf albümin veya plazma örneklerinde oluştuğu belirlendiğinden; *in vivo* olarak aktif nötrofillerce üretilen klorlu oksidanların plazma AOPP oluşumundan sorumlu olabilecekleri düşünülmektedir. Fagositik hücrelerde oluşturulan HOCl, kloramin (RNH-Cl)'leri oluşturmak üzere endojen amin (R-NH)'ler ile reaksiyona girmekte ve kloraminlerle okside olan proteinler üzerinde AOPP oluşmaktadır (62).

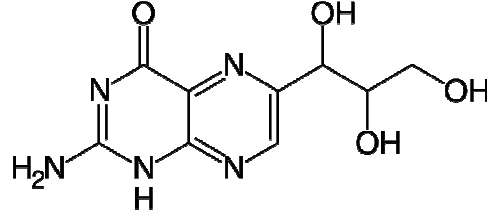
AOPP'nin 340 nm'de pik veren düşük ve yüksek molekül ağırlığına sahip iki formda bulunduğu ve her ikisinin de albüminden kaynaklandığı bildirilmektedir (48). Yüksek molekül ağırlıklı AOPP, disülfid köprüleri ve/veya ditirozin çapraz bağlanmalarla modifiye olmuş albüminden; düşük molekül ağırlıklı AOPP ise monomerik formdaki albüminden kaynaklanmaktadır (62).

Üremik hastaların plazmasında, AOPP ile nötrofil sayısı ve neopterin düzeyleri arasında bulunan pozitif ilişki; AOPP'nin monosit aktivasyonu ile oluşabileceğini göstermektedir. Ayrıca, mononükleer fagositleri bizzat aktive eden AOPP'nin proenflamatuvar mediatörler gibi davrandıkları da öne sürülmektedir (63).

Plazma AOPP düzeylerini spektrofotometrik bir yöntemle tayin etmek mümkündür. PCC ile karşılaştırıldığında, çok daha kolay olan AOPP tayininin diğer bir avantajı da, MDA gibi lipid peroksidasyonu son ürünlerinden bağımsız olmasıdır (40).

### 2.6.6. Neopterin

Pteridin ailesine mensup olan neopterin [2-amino-4-hidroksi-6-(D-eritro-1',2',3'-trihidroksipropil)-pteridin]; monosit, makrofaj ve dentritik hücrelerde üretilen bir sitokindir (Şekil 12) (64).

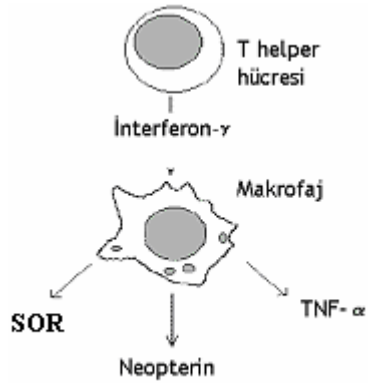


Şekil 12. Neopterinin Kimyasal Yapısı

Neopterin, ilk önce böcek ve küçük vertebralıların bir pigmenti olarak tanımlanmış, daha sonra arıların larvalarında da bulunmuştur; insanlarda ise ilk defa 1967 yılında idrardan izole edilmiştir (64).

Neopterin sentezi, guanozin trifosfat (GTP)'in tetrahidrobiopterin (BH<sub>4</sub>)'e dönüşümü ile yakın ilişkilidir. GTP, ardışık üç enzimatik reaksiyonla sırasıyla 7,8-dihidro-neopterintrifosfat (NH<sub>2</sub>TP) ve 6-piruvol-tetrahidrobiopterin ara ürünleri üzerinden, (BH<sub>4</sub>)'e dönüşmektedir. BH<sub>4</sub> sentezi sırasında oluşan bu ara ürünlerin hidrolizi de neopterin oluşumuyla sonuçlanmaktadır (64, 65).

Neopterin sentezinin en güçlü uyarıcı, T lenfosit Tip 1 ve naturel killer hücrelerinden salınan  $\gamma$ -interferondur. Neopterin, bu nedenle hücreler aracı immünitenin sensitif bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (64, 65).



$\gamma$ -interferonun yanı sıra  $\alpha$ - ve  $\beta$ -interferonların da, ancak daha yüksek konsantrasyonlarda, neopterin üretimini uyarabileceği bildirilmiştir (64, 65). TNF- $\alpha$  ise, tek başına değil, ancak  $\gamma$ -interferon ile birlikte neopterin üretimini uyarabilir. Ayrıca, T helper 1 hücrelerinde bakteriyel pirojen ve toksinlerin de neopterin sentezini uyardıkları gösterilmiştir (65).

$\gamma$ -interferon, uyarıcı etkisini sentezin ilk enzimatik basamağında göstermekte ve böylece ortamda biriken NH<sub>2</sub>TP, fosfatazlar aracılığıyla neopterin ve dihidroneopterin (NH<sub>2</sub>)'e dönüştürülmektedir (64, 65).

Nöroendokrin doku ve lenfositlerde, GTP'den ilk basamakta oluşan NH<sub>2</sub>TP, serotonin ve katekolamin sentezi için esansiyel kabul edilir; çünkü metabolize olduğu BH<sub>4</sub>, bu hormonların sentezinde elektron vericisi olarak görev almaktadır. Monosit ve makrofajlarda ise, NH<sub>2</sub>TP'nin BH<sub>4</sub>'e dönüşümünü katalizleyen enzim aktiviteleri düşük olduğundan; hücrelerde biriken NH<sub>2</sub>TP, hidrolizle dihidroneopterin (NH<sub>2</sub>) veya neopterine dönüşmektedir (64).

Neopterin, sadece T helper aracılı immün sistemin bir göstergesi değil, konak savunmasında da fizyolojik ve biyokimyasal fonksiyonları olan bir sitokindir (65).

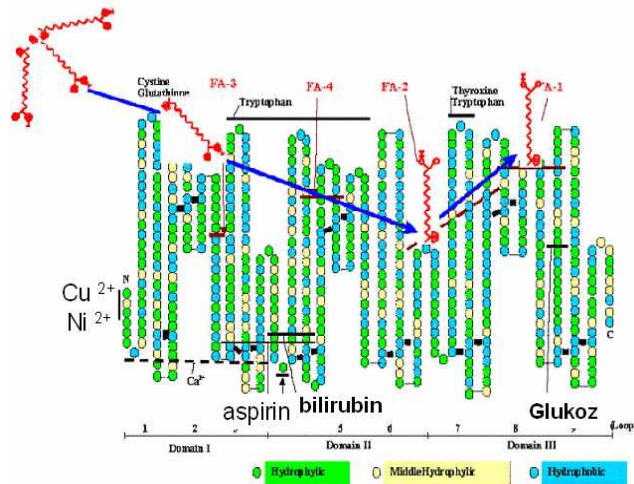
Neopterinin etki mekanizması, temelde SOR ile etkileşim ve artmış oksidatif stres üzerinden açıklanmaktadır. Şöyle ki, neopterinin invaziv patojenlere karşı oluşan SOR'un sitotoksik etkilerini arttırarak savunmada rol oynadığı; uygun hücrel çevre içinde, selüler redoks durumunu artırdığı gösterilmiştir. Böylece neopterin,  $\gamma$ -interferonun uyardığı monosit, makrofaj ve muhtemelen monositten köken alan dentritik hücrelerde, ekstraselüler sitotoksik savunma mekanizmalarının oluşmasına katkıda bulunmaktadır (65).

Monosit aktivasyonunun göstergesi olan neopterin düzeyleri, romatoid artrit, tiroidit, Tip 1 diyabet gibi oto immün hastalıklarda, ülseratif kolit, sarkoidoz gibi klinik durumlarda artmakta; birçok malignensi, hematolojik tümörler, pediatrik kanserlerde ise hem yüksek hem de kötü prognozla paralellik göstermektedir. İmmünsüpresif ilaç kullanan kişilerde ise neopterin düzeyleri azalmaktadır (64).

### 2.6.7. İskemik Modifiye Albümin

İnsanlarda kan plazmasının başlıca proteini olan albümin, basit yapılı polar bir proteindir; fizyolojik pH'da negatif yüklü olarak bulunmaktadır. Plazmadaki yüksek konsantrasyonu ve polaritesi nedeniyle albümin, çeşitli ligandları bağlama, depolama ve taşıma kapasitesine sahiptir (49).

HPLC ve NMR gibi yöntemlerle, albüminin N-terminal bölgesinde Co (II), Ni (II) ve özellikle Cu (II) bağlayabilen spesifik bir sekansa sahip olduğu gösterilmiştir (49). N-terminal oktapeptit ( $H_2N$ -Asp-Ala-His-Lys-Ser-Glu-Val-Ala), özellikle ilk üç amino asit artığı (Asp-Ala-His),  $Co^{2+}$  iyonlarını çok güçlü şekilde bağlamaktadır. Histidil artığı ise, özellikle bakırın bağlanmasından sorumludur (Şekil 13) (66).



Şekil 13. Albüminin Moleküler Yapısı ve Bağlama Bölgeleri

Ancak, N-terminaldeki herhangi bir modifikasyon, örneğin; amino asit delesyonları ya da N-asetilasyon, kobaltın albümine bağlanmasını tamamen önlemektedir (66).

Son 20 yıl içerisinde *in vivo* olarak kardiyak iskemi, hipoksi, asidoz, serbest radikal hasarı, oksidatif stres (özellikle protein oksidasyonu) veya Fe/Cu iyonlarına maruz kalma durumlarında, metal bağlama kapasitesinin azaldığı gösterilen albümin, İMA olarak adlandırılmıştır (49).

Dokulara yeterli oksijen sağlanamadığında, anaerobik selüler metabolizma, laktat üretimine yol açmakta, bu da iskemiyle birlikte görülen asidoz ile sonuçlanmaktadır. İskeminin ardından pH'nın düşmesiyle, intraselüler depolarda veya proteinlere bağlı olarak bulunan Cu ve Fe iyonları salınmakta ve bu aktif redoks iyonları, Fenton reaksiyonu yoluyla, SOR üretimine ve oksidatif hasara neden olmaktadır (67).

Albümin, hipoksik kapiller damarlarda kobalta olan afinitesini kaybetmektedir. Reversibl olabileceği düşünülen bu değişikliğin mekanizması tam açıklanamasa da; albüminin diğer bölgeleriyle kıyaslandığında, N-terminal bölgenin bozulmaya daha meyilli olabileceği düşünülmektedir (66).

Diğer taraftan, iskemi sonrası reperfüzyona maruz kalan dokularda; bakır, demir ve serbest radikal varlığında, albümin bağlama kapasitesinde gözlenen azalma, bizzat iskemiyle oluşan değişiklikten daha fazladır (49).

Klinik olarak, ilk önce acil doktorlarının pratikleriyle keşfedilen İMA'nın, 1992'de AMİ ve unstabil anjinada yükseldiği belirlenmiş ve serum/plazma İMA düzeylerini belirlemek amacıyla, 2001'de kobaltın albümin-N-terminal bölgesine bağlanmasını esas alan ve albümin kobalt bağlama (ACB®) testi olarak adlandırılan yeni bir biyokimyasal test de geliştirilmiştir (49, 67).

### **2.6.8. Serbest Tiyol Grupları**

Plazmada; aktif fagositik hücrelerden, okside bileşiklerden, vasküler endotelden ve bazı enzimatik reaksiyonlardan kaynaklanan  $O_2^{\cdot -}$ ,  $H_2O_2$  ve HOCl gibi SOR türevleri bulunabilmektedir. Buna karşılık, intraselüler ortamın başlıca antioksidanlarından olan katalaz, plazmada ya hiç yoktur ya da çok düşük düzeydedir. Benzer şekilde, SOD ve GSH-Px aktiviteleri de plazmada nispeten düşüktür (27).

Plazmanın başlıca antioksidanları arasında, vitamin E, seruloplazmin, transferin ve tiyol bileşikleri yer almaktadırlar (27, 68). İntraselüler antioksidanlar olarak da rol oynayan tiyol bileşikleri içerisinde en önemlisi, içerdiği sistein nedeniyle, GSH'dır (29). Hücrelerden kan dolaşımına salınan GSH'nın büyük kısmı eritrositlerde toplandığından; plazma GSH düzeyleri nispeten düşüktür (28).

Diğer taraftan, plazmada bulunan antioksidanlar içerisinde, tiyol gruplarının en yüksek konsantrasyona sahip olması; protein düzeylerinin yüksek olmasıyla açıklanmaktadır. Çünkü plazmada bulunan tiyol gruplarının başlıca kaynağı; GSH'nın yanı sıra, başta albümin olmak üzere protein yapılarında bulunan sistein ve metiyonin amino asitleridir (29).

Plazmada en çok bulunan protein olan albüminin yapısında 34. konumda bulunan sistein artığı (cys 34), plazmanın başlıca serbest tiyol grubunu oluşturur ve plazmada bulunan başlıca ekstrasellüler antioksidandır (69).

Tiyol bileşiklerinin selektif olarak HOCl ve kloraminleri yakaladığı bilinmektedir (22). Bu nedenle plazmada HOCl'yi yakalayan en önemli antioksidanın tiyol olduğu söylenebilir. Plazmada, askorbik asit gibi diğer antioksidanlarla karşılaştırıldığında; albüminin içerdiği serbest tiyol grupları nedeniyle, HOCl'ye karşı yaklaşık 10 kat daha büyük antioksidan kapasiteye sahip olduğu gösterilmiştir (70).

Serbest tiyol grubu içeren bileşikler, radikallerle direkt veya indirekt reaksiyona girerek ya da protein üzerindeki serbest tiyol gruplarıyla reversibl bağlar oluşturarak, proteinlerin oksidatif hasara uğramalarını önleyebilmektedirler. Tiyol gruplarının oksiasitler gibi diğer okside türlere ya da disülfidlere dönüşmesi; proteinlerin radikal aracılı oksidasyonu sırasında, en önce gözlenen olaylardan biridir. Protein yapısındaki amino asitlerin çoğu, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında, küçük değişiklikler geçirirken; tiyol grupları tüketilmekte ve protein üzerinde sülfid türevleri oluşmakta; böylece proteinde yapısal değişiklikler meydana gelmektedir (41).

Tiyol grubu oksidasyonu, aynı zamanda protein oksidasyonunun göstergesi olarak da düşünülebilir. Albüminin sisteinilasyonu (cys 34'e disülfid bağı ile sistein eklenmesi) veya nitrozilasyonu (cys 34'e NO grubunun bağlanması), albüminin oksidan tamponlama kapasitesini önemli ölçüde düşürmektedir (69).

Plazmada total peroksi radikal yakalama sürecinde ilk olarak tiyoller tüketildiğinden (68); plazma tiyol düzeylerinin tayini, proteinlerin SOR aracılı oksidasyondan ne denli etkilendiklerini göstermesi bakımından önem taşımaktadır (41).



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenen (Proje no: TT-05-20) ve Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanan (05 04 2005 tarih, 04 toplantı sayılı, karar no: 05-160) bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında yapıldı.

#### 3.1. GEREÇ

Biyokimyasal ölçümlerde, analitik saflıkta ve/veya HPLC kalitesinde, Sigma (St Louis. MO. USA), Merck (Darmstadt. Germany), Aldrich, Acros ve Fluka marka kimyasal maddeler kullanıldı.

Çalışma sırasında saf su cihazları (MINIpure, EASYpure® RF. Barnstead), soğutmalı santrifüj (Sigma 3K 30), spektrofotometre (Shimadzu UV-1601), pHmetre (Hanna HI 9321, Beckman-41, WTW-330İ/SET), hassas terazi (Sartorius; AND GR), su banyosu (Köttermann), etüv (Dedeoğlu), derin dondurucu (Bosch GSD29620), manyetik karıştırıcı (Nüve, Labor Brand Hotplate Stirrer), buzdolabı (Arçelik), vorteks (Elektromag. velp scientifica 2x<sup>3</sup>), kronometre, sonikatör (Virtis), otomatik pipetler (Socorex, Nichipet EX, Genex Gamma), balon jojeler, ependorf, polipropilen ve cam tüpler, beher, mezür, baget ve cam pipetler kullanıldı.

Kullanılan pipet, tüp, mezür, beher, balon joje gibi cam malzemeler ve polipropilen tüpler, % 20 nitrik asit içinde 24 saat bekletildikten sonra, sırasıyla Tip II ve Tip I saf su ile 3 kez yıkanarak demineralize edildi (71). Ölçümlerde kullanılan çözelti ve tamponlar, Tip I saf su ile hazırlanarak çalışma süresince soğuk odada saklandı. Dayanıklılığı kısa süreli olan çözeltiler ise çalışma sırasında hazırlanarak kullanıldı.

### 3.2. ÇALIŞMA GRUBU

**Hasta Grubu:** Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalında, Behçet hastalığı tanısı ile takip ve tedavileri sürdürülen hastalar, çalışmaya alındı.

Behçet hastalığı tanısı, ISG (19)'nin önerdiği tanı kriterleri (Tablo 1)'ne göre konuldu. Tekrarlayan oral aftlara ek olarak, genital ülser, oküler lezyonlar, dermal lezyonlar (eritema nodosum, papülopüstüler lezyon ya da akneiform nodüller) veya pozitif paterji testi bulgularından, en az ikisini daha gösteren hastalar, Behçet hastası olarak tanımlandı. Behçet hastalarının klinik bulguları Tablo 4'te verildi.

**Tablo 4.** Behçet Hastalarının Klinik Bulguları

No	Yaş (Yıl)	Cin.	Hastalık Süresi (ay)	Oral Aft	Genital Ülser	Göz Lezyonu	Papülopüstüler Lezyon	Eritema Nodosum	Akneiform Nodüller	Paterji Testi
1	18	K	60	+	+			+	+	+
2	21	K	12	+	+	+		+		
3	34	K	24	+	+	+		+		
4	44	K	48	+	+	+		+		
5	47	K	12	+	+		+			
6	31	K	18	+	+			+		
7	48	K	60	+	+			+		+
8	36	E	96	+	+					
9	26	E	36	+	+		+	+		
10	37	E	84	+	+		+			
11	46	K	12	+	+			+		+
12	26	K	120	+	+	+		+	+	
13	52	E	78	+	+					
14	45	K	84	+	+		+			+
15	23	K	60	+	+					+
16	25	K	3	+	+			+		
17	27	K	60	+	+					
18	44	K	252	+	+			+		+
19	45	E	216	+	+		+			
20	42	K	36	+	+	+	+			
21	37	K	12	+		+				+
22	16	K	2	+	+			+	+	
23	42	K	48	+	+			+		
24	25	K	24	+	+		+	+		
25	21	E	3	+	+	+	+		+	
26	36	K	12	+	+			+		
27	48	E	264	+	+	+		+		
28	31	E	96	+	+					
29	17	E	12	+	+	+				+
30	36	K	1	+	+		+			
31	31	E	48	+	+	+	+			+
32	29	K	12	+	+		+			
33	38	E	24	+	+					+
34	48	K	12	+	+	+	+			
35	30	E	36	+	+	+	+	+		
36	44	E	132	+	+		+	+		
37	37	K	48	+	+			+	+	+
38	48	K	1	+	+					
39	44	E	24	+	+	+				
40	51	K	204	+	+		+	+		

E: Erkek K: Kadın

Çalışmaya başlamadan önce klinik ve laboratuvar yönünden değerlendirilen hastalarda tam kan sayımı (CBC), glukoz, kan üre azotu (BUN), kreatinin, alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST), total protein ve albümin gibi rutin biyokimya analizleri yapıldı. Diyabet, kronik respiratuvar yetmezlik, akut enfeksiyon, malign tümör ve hepatit gibi sistemik hastalığı bulunan hastalar, çalışma dışında bırakıldı.

Hastalık süresi, Behçet hastalığıyla ilişkili ilk semptomun görülmesinden itibaren, çalışma zamanına kadar geçen süre olarak kabul edildi. Hastalık süreleri bir ila 264 ay arasında değişen, 16-52 yaşları arasında, 26'sı kadın ve 14'ü erkek olmak üzere, toplam 40 hasta, çalışmaya alındı (Tablo 4).

Benzer tedavi protokolü (kolşisin ve/veya azotiyopürin içeren preparatlar)'ne sahip olan Behçet hastaları, her grupta 20 hasta olacak şekilde, rasgele iki gruba ayrıldı:

**NAC Grubu:** Bu gruptaki hastalara, aldıkları klasik tedaviye ek olarak, dört hafta süreyle, 2x600 mg/gün dozunda NAC uygulandı. NAC preparatı olarak, Asist® kullanıldı. 200 mg NAC içeren kapsüller, 3x2/gün şeklinde oral olarak hastalara verildi.

**Plasebo Grubu:** Bu gruptaki hastalara, aldıkları klasik tedaviye ek olarak, dört hafta süreyle, 2x600 mg/gün dozunda plasebo verildi. Bilim İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş. tarafından hazırlanan plasebo kapsüller, Asist® ile aynı ambalaj, şekil, renk ve büyüklükte idi. Plasebo kapsüller, 3x2/gün şeklinde oral olarak hastalara uygulandı.

**Kontrol Grubu:** Rutin laboratuvar sonuçları normal sınırlar içerisinde bulunan; herhangi bir sistemik hastalığı olmayan; vitamin ve/veya mineral preparatları dahil, son bir aydır hiçbir ilaç kullanmayan sağlıklı kişiler arasından, Behçet hastalarının yaş ve cinsiyet dağılımına benzer şekilde seçilen 20 gönüllü (12 kadın, 8 erkek), kontrol grubu olarak çalışma kapsamına alındı.

Çalışma sırasında, NAC ve plasebo grubunu oluşturan hastalardan, tedavi öncesi ve sonrası olmak üzere toplam iki kez; kontrol grubunu oluşturan sağlıklı gönüllülerden sadece bir kez kan alındı. Yapılacak biyokimyasal ölçümlere uygun şekilde, kan örnekleri antikoagülanlı (EDTA/heparin) ve düz tüplerde toplandı.

Antikoagülanlı ve antikoagülanlı tüpler, 30 dakika (dk) içerisinde, 4°C'de 2000 g'de 10 dk santrifüj edildi. Ayrılan plazma ve serum örneklerinin bir kısmı, aynı gün rutin analizlerde kullanıldı; geri kalanı, alikotlar halinde ependorf tüplerde -70°C'de dondurularak saklandı.

### 3.3. YÖNTEM

Çalışma gruplarına ait tam kan, plazma ve serum örneklerinde yapılan analizler.

- Rutin Analizler
- Biyokimyasal çalışma

olmak üzere iki başlık altında toplandı.

#### 3.3.1. Rutin Analizler

Çalışma gruplarından elde edilen tam kan örneklerinde, aynı gün CBC ve sedimentasyon (erythrocyte sedimentation rate; ESR); serum örneklerinde C-reaktif protein (CRP), glukoz, BUN, kreatinin, ALT, AST, total protein ve albümin gibi rutin analizler yapıldı.

- CBC (hemoglobin ve hematokrit ölçümü, eritrosit ve lökosit sayısı) için Sysmex marka otoanalizörler kullanıldı.
- ESR, Therma cihazında nefelometrik yöntemle ölçüldü.
- CRP, Dade Behring Dimension AR<sup>X</sup> marka otoanalizörde çalışıldı.
- Diğer rutin analizler, Beckman Coulter Synchron LX20 otoanalizörlerinde uygun ticari kitler kullanılarak yapıldı.

#### 3.3.2. Biyokimyasal Çalışma

Çalışma gününe kadar alikotlar halinde dondurularak saklanan heparinli plazma örneklerinde, MPO aktivitesi (72) ile total lipid peroksit (53) ve tiyol (70) düzeyleri tayin edildi. EDTA'lı plazma örnekleri, AOPP tayininde kullanıldı (48). Serum örneklerinde de PCC (46), pirrolize protein (47), İMA (49) ve neopterin seviyeleri ölçüldü.

Ayrıca, çalışmada kullanılan yöntemlerin tekrarlanabilirliğini belirlemek amacıyla; rutin biyokimya sonuçlarına göre, sağlıklı olduğu kabul edilen kişilerden alınan kan örnekleriyle serum ve plazma havuzları oluşturuldu. Bu havuzlarda yönteme uygun ölçümler yapılarak, değişme katsayısı (CV) değerleri hesaplandı.

##### 3.3.2.1. Miyeloperoksidaz Aktivitesi Tayini

Plazmada MPO aktivitesi, Bradley ve ark (72) tarafından geliştirilen metot ile tayin edildi.

Metodun prensibi, O-dianisidin (peroksidaz substratı)'in, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında, MPO tarafından oksitlenerek sarı-turuncu renkli bir ürün oluşturması ve bu oksidasyon reaksiyonunun, spektrofotometrede 460 nm dalga boyunda, zamana bağlı OD artışı şeklinde izlenmesi esasına dayanır (72).

## Çözeltiler

- 50 mM Potasyum fosfat tamponu, pH 6.0
- % 16.7 mg O-dianisidin dihidroklorid (Tampon içinde günlük hazırlanır)
- % 0.0005 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> substratı (O- dianisidin içeren tampon içinde günlük hazırlanır)

## Çalışma

	Numune	Kontrol
% 0.0005 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> substratı	2.9 ml	2.9 ml
Saf su	-	0.1 ml
Plazma	0.1 ml	-

Pipetleme işlemlerinden hemen sonra, numune ve kontrol tüplerindeki OD artışı, saf su körüne karşı, 25°C’de ve 460 nm dalga boyunda, 10 dk izlendi.

## Hesaplama

Numune ve kontrol tüpleri için,  $\Delta OD/dk$  değerleri hesaplandı ve numune  $\Delta OD/dk$  değerlerinden kontrol değeri çıkarılarak, net  $\Delta OD/dk$  değerleri bulundu.

Bir ünite MPO, standart deney şartlarında, dakikada bir mikromol O-dianisidin oksidasyonunu katalizleyen enzim miktarı (Ü/L;  $\mu\text{mol O-dianisidin/dk/L}$ ) olarak tanımlandı (72).

Okside O-dianisidin molar ekstinksiyon katsayısı ( $1.13 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) kullanılarak, plazma örneklerinin net  $\Delta OD/dk$  değerlerinden, ünite birimine geçildi.

$$\text{Ü/L} = \frac{\text{net } \Delta OD/dk}{\epsilon} \times \frac{\text{total hacim (ml)}}{\text{plazma hacmi (ml)}} \times 10^6 \frac{\mu\text{mol}}{\text{mol}}$$

$$\text{Ü/L} = \frac{\text{net } \Delta OD/dk}{1.13 \times 10^4} \times \frac{3.0}{0.1} \times 10^6$$

$$\text{Ü/L} = \text{net } \Delta OD/dk \times 2564.8$$

Plazma örneklerinde tayin edilen MPO aktivitesi, bir litre plazma başına verildi (Ü/L).

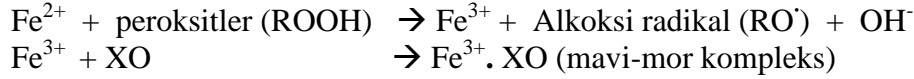
MPO tayininde kullanılan metodun CV değeri, % 3.25 olarak bulundu.

	Ölçüm sayısı	X $\pm$ SD	CV (%)
MPO (Ü/L)	12	78.37 $\pm$ 2.55	3.25

### 3.3.2.2. Total Lipid Hidroperoksit Tayini

Plazmada lipid hidroperoksit tayini, Nourooz-Zadeh (53) tarafından geliştirilen FOX yöntemine göre yapıldı.

Metodun prensibi, asidik ortamda peroksitler tarafından oluşturulan ferrik ( $Fe^{3+}$ ) iyonun, ksilenol oranj (XO) ile verdiği mavi-mor renkli kompleksin renk şiddetinin, spektrofotometrik olarak 560 nm dalga boyunda ölçülmesi esasına dayanır (53):



### Çözeltiler

- FOX Reaktifi
  - 250  $\mu$ M  $Fe(NH_4)_2SO_4$
  - 100  $\mu$ M Ksilenol oranj
  - 25 mM  $H_2SO_4$
  - 4 mM Butillenmiş hidroksi-toluen (BHT)
  - % 90 (v/v) Metanol
- 10 mM Tris-karboksietil-fosfin (TCEP)

### Çalışma

	Numune	Numune körü
Plazma	90 $\mu$ l	90 $\mu$ l
10 mM TCEP	-	10 $\mu$ l
Saf su	10 $\mu$ l	-

Tüplerin ağzı kapatılarak karıştırıldı ve 20-25°C'de çalkalamalı su banyosunda 30 dk inkübe edildi.

FOX reaktifi 900  $\mu$ l 900  $\mu$ l

Tüplerin ağzı kapatılarak karıştırıldı ve 20-25°C'de 60 dk inkübe edildi.

Tüpler 10.000 g'de 10 dk santrifüjlendi, süpernatantların OD'si 560 nm'de saf su körüne karşı okundu.

### Hesaplama

Numune OD: Total peroksitlerin oluşturduğu rengin şiddeti.

Numune körü OD: Lipit peroksit dışındaki peroksitler ve  $Fe^{3+}$  gibi diğer interferans maddelerin verdiği rengin şiddeti.

Numune OD değerlerinden kontrol OD'leri çıkarılarak  $\Delta OD$  değerleri bulundu.

$Fe^{3+}\cdot XO$  kompleksinin molar ekstinksiyon katsayısı ( $4.31 \times 10^4 M^{-1} cm^{-1}$ ) ve dilüsyon faktörü kullanılarak, plazma örneklerinin  $\Delta OD/dk$  değerlerinden, total lipid peroksit düzeyleri hesaplandı ve bir litre plazma başına mikromol olarak verildi ( $\mu mol/L$ ).

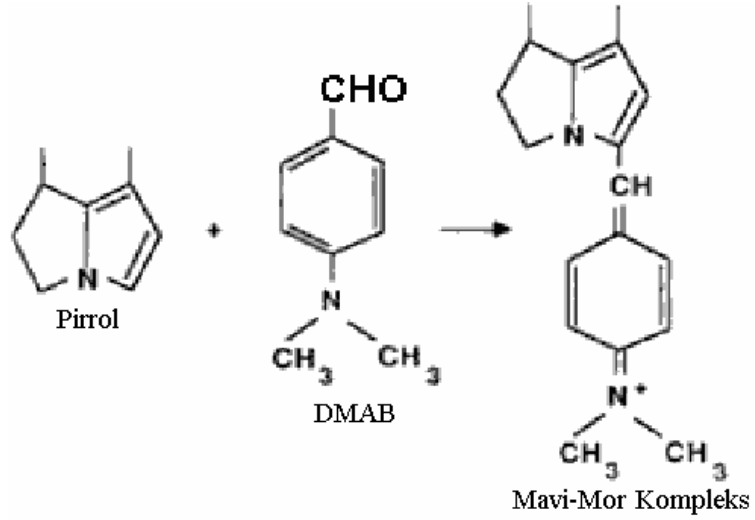
Total lipid peroksit tayininde kullanılan metodun CV değeri, % 3.9 olarak bulundu.

	Ölçüm sayısı	X $\pm$ SD	CV (%)
Lipid peroksit ( $\mu mol/L$ )	12	17.88 $\pm$ 0.69	3.9

### 3.3.2.3. Pirrolize Protein Tayini

Serum pirrolize protein seviyeleri, Ehrlich reaktifinin kullanıldığı, Hidalgo ve ark (47) tarafından geliştirilen ve Martinez-Cruz ve ark (60) tarafından modifiye edilen metoda göre tayin edildi.

Metodun prensibi, pirrolize proteinlerin, asidik ortamda ve yüksek sıcaklıkta, DMAB ile etkileşimi sonucu oluşan mavi-mor renkli Ehrlich reaksiyon ürünlerinin renk şiddetinin, 570 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır (47,60):



### Çözeltiler

- Ehrlich reaktifi (% 2 DMAB içerir)
- % 30 TCA
- Serum fizyolojik
- 6 M Guanidin HCl, pH 2.3

### Çalışma

	Numune
Serum	0.5 ml
Saf su	2.0 ml
Tüplerin ağzı kapatılarak 30 sn vorteksle karıştırıldı.	
% 30 TCA	0.5 ml
Buz üzerinde 10 dk presipite edilen tüpler, 10.000 g'de 10 dk santrifüjlendi ve süpernatantlar döküldü.	
Serum fizyolojik	1.0 ml
Protein pelletleri, sonikasyondan sonra vorteksle parçalanıp 5 dk santrifüjlendi; serum fizyolojik ile yıkama işlemi 2 kez tekrarlandı.	
6 M Guanidin HCl	2.5 ml

Tüpler, çalkalamalı su banyosunda 37°C’de 20-30 dk inkübe edildi ve çözünmeyen materyal santrifüjle uzaklaştırılıp süpernatantlar alındı.

Çalışmaya süpernatantlar ile devam edildi.

	<b>Numune</b>	<b>Kontrol</b>
Süpernatant	1.0 ml	1.0 ml
Ehrlich reaktifi	0.2 ml	-
Saf su	-	0.2 ml

Çalkalamalı su banyosunda, 60°C’de 60 dk inkübe edilen tüplerin OD’si, guanidin HCl körüne karşı, spektrofotometrede 570 nm dalga boyunda okundu. Ayrıca, geri kalan süpernatantlarda 280 nm’de protein tayini yapıldı.

### Hesaplama

Numune OD değerlerinden kontrol OD’leri çıkarılarak  $\Delta OD$  değerleri bulundu. Pnl’nin DMAB ile oluşturduğu Ehrlich reaksiyon ürününün molar ekstinksiyon katsayısı ( $35.000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) ve dilüsyon faktörü kullanılarak, pirrolize protein düzeyleri hesaplandı (47). Serum pirrolize protein değerleri, mg protein başına verildi (nmol/mg protein).

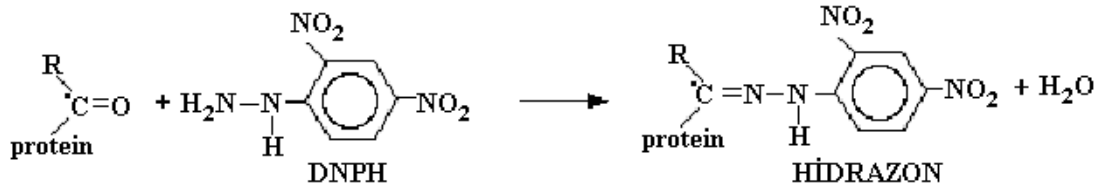
Pirrolize protein tayininde kullanılan metodun CV değeri, % 2.29 olarak bulundu.

	Ölçüm sayısı	X $\pm$ SD	CV (%)
Pirrolize protein (nmol/mg protein )	12	0.98 $\pm$ 0.02	2.29

### 3.3.2.4. Protein Karbonil Bileşikleri Tayini

Serumda PCC seviyeleri, Reznick ve Packer (46) tarafından geliştirilen metod kullanılarak tayin edildi.

Metodun prensibi, reaksiyon denkleminde görüldüğü gibi, protein-karbonil (aldehit. keton) gruplarının 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH) ile oluşturdukları hidrazonların renk şiddetinin 360 nm’de ölçülmesi esasına dayanır (46):



### Çözeltiler

- 2.5 M HCl
  - 10 mM DNPH (2.5 M HCl içinde hazırlandı)
- % 20 TCA
- % 10 TCA
- Etanol/Etil asetat karışımı (1:1; v/v)
- 6 M Guanidin HCl, pH 2.3



## Çalışma

	Numune	Kontrol
<i>Serum</i>	0.2 ml	0.2 ml
10 mM DNPH	0.8 ml	-
2.5 M HCl	-	0.8 ml
Karanlıkta, 25°C'de, çalkalamalı su banyosunda 60 dk inkübe edildi.		
% 20 TCA	1.0 ml	1.0 ml
Buz içerisinde 10 dk inkübasyonu takiben 11.000 g'de 5 dk santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.		
% 10 TCA	1.0 ml	1.0 ml
Protein pelletleri, sonikasyondan sonra vorteksle parçalanıp santrifüjlendi; yıkama işlemi 2 kez tekrarlandı.		
Etanol/Etil asetat (1:1; v/v)	1.0 ml	1.0 ml
Protein pelletleri, sonikasyondan sonra vortekslenerek parçalandı ve 10 dk inkübasyonu takiben santrifüj edildi; yıkama işlemi 3 kez tekrarlandı.		
6 M Guanidin HCl	1.0 ml	1.0 ml
Çalkalamalı su banyosunda 37°C'de 15 dk inkübe edilen tüplerdeki çözünmeyen materyal santrifüjle uzaklaştırıldı ve saf su körüne karşı süpernatantların OD'si 360 nm'de okundu.		
Ayrıca, kontrol tüplerinde 280 nm'de protein tayini yapıldı.		

## Hesaplama

Numune ve kontrol tüplerinin absorbansları kullanılarak  $\Delta OD$  değerleri bulundu. DNPH'nin molar ekstinksiyon katsayısı ( $22000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) kullanılarak hesaplanan serum PCC düzeyleri, mg protein başına verildi (nmol/mg protein).

PCC tayininde kullanılan metodun CV değeri, % 4.34 olarak bulundu.

	Ölçüm sayısı	X $\pm$ SD	CV (%)
PCC (nmol/mg protein)	12	0.84 $\pm$ 0.04	4.34

### 3.3.2.5. AOPP Tayini

Plazma AOPP düzeyleri, Witko-Sarsat ve ark (48) tarafından geliştirilen metot ile tayin edildi.

Metodun prensibi, plazmadaki uzun ömürlü klorlu oksidanlar ile proteinlerin çapraz bağlama ürünlerinin, potasyum iyodürü oksitlemesi ve açığa çıkan triiyodid iyonunun, 340 nm'de ölçülmesi esasına dayanır (48).

## Çözeltiler

- 0.015 M PBS, pH 7.4
- Glasiyal asetik asit
- 1.16 M Potasyum iyodür (KI)
- 0.1 mM Kloramin T (stok standart)

## Çalışma

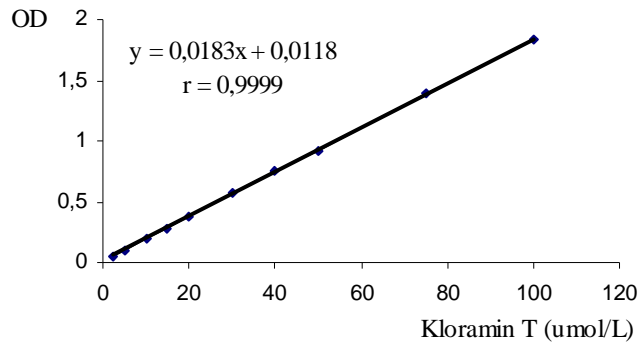
	Numune	Kontrol	Kör
0.015 M PBS	0.8 ml	0.85 ml	1.0 ml
Plazma	0.2 ml	0.2 ml	-
Asetik asit	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml
Tüpler, çalkalamalı su banyosunda, 25°C'de 2 dk inkübe edildi.			
1.16 M KI	0.05 ml	-	0.05 ml
KI ilavesinden hemen sonra, numune ve kontrol tüplerinin OD'leri, reaktif körüne karşı 340 nm'de okundu.			

## Hesaplama

Numune ve kontrol tüplerinin absorbansları kullanılarak  $\Delta OD$  değerleri bulundu. Kloramin T ile hazırlanan standart grafik yardımıyla, plazma örneklerinin  $\Delta OD$  değerlerinden AOPP seviyelerine geçildi ve dilüsyon faktörüyle çarpılarak gerçek plazma değerleri bulundu.

## Standart Serinin Hazırlanması

Stok Kloramin T (0.1 mM) çözeltisi, saf su ile uygun şekilde dilüe edilerek, 2.5; 5.0; 10; 15; 20; 30; 40; 50; 75 ve 100  $\mu\text{mol/L}$  konsantrasyonlarında standart seri hazırlandı. Ölçüm sırasında, PBS ve plazma yerine, her standarttan 1.0 ml alarak, numune gibi çalışıldı. Kloramin T konsantrasyonuna karşılık gelen OD değerleriyle standart grafik çizildi (Şekil 14).



Şekil 14. Kloramin T Standart Grafiği

Plazma AOPP konsantrasyonları, litrede mikromol kloramin T ekivalanı ( $\mu\text{mol/L}$ ) olarak verildi.

AOPP ölçümünde kullanılan metodun CV değeri, % 4.06 olarak bulundu.

	Ölçüm sayısı	X $\pm$ SD	CV (%)
AOPP ( $\mu\text{mol/L}$ )	12	25.57 $\pm$ 1.04	4.06

### 3.3.2.6. Neopterin Tayini

Serum neopterin seviyeleri, Demeditec marka ELISA (solid phase enzyme-linked immunosorbent assay) kiti (Katalog No:DE07567102) ile ölçüldü.

Metodun prensibi, kompetitif olarak antijen-antikor komplekslerinin oluşumuna dayanır. Serum örneklerinde bulunan neopterin (işaretsiz antijen), keçi-anti-tavşan-antikoru ile kaplı striplerin kuyucuklarına bağlanabilmek için, miktarı bilinen ve enzimle işaretli antijen ile yarışır. Bağlanmayan antijen, yıkama işlemiyle ortamdan uzaklaştırılır. Antijen-antikor komplekslerinin enzim substratıyla inkübasyonunu takiben oluşan rengin şiddeti, serumda bulunan neopterin konsantrasyonu ile ters orantılıdır.

#### Çözeltiler

- Neopterin standart seri (0.0; 1.98; 5.93; 11.86; 23.72; 47.43 ve 94.86 nmol/L)
- Kontrol 1 (2.77-4.35 nmol neopterin/L)
- Kontrol 2 (14.23-19.76 nmol neopterin/L)
- Enzim konjugatı (peroksidaz ile işaretli neopterin)
- TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidin dihidroklorid) substrat çözeltisi:
- TMB stop çözeltisi (1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)
- Yıkama (fosfat) tamponu

### Çalışma

	Numune	Kontrol	Standart
Serum	10 $\mu\text{L}$	-	-
Kontrol 1 ve 2	-	10 $\mu\text{L}$	-
Standart seri (1-7)	-	-	10 $\mu\text{L}$
Enzim konjugatı	100 $\mu\text{L}$	100 $\mu\text{L}$	100 $\mu\text{L}$

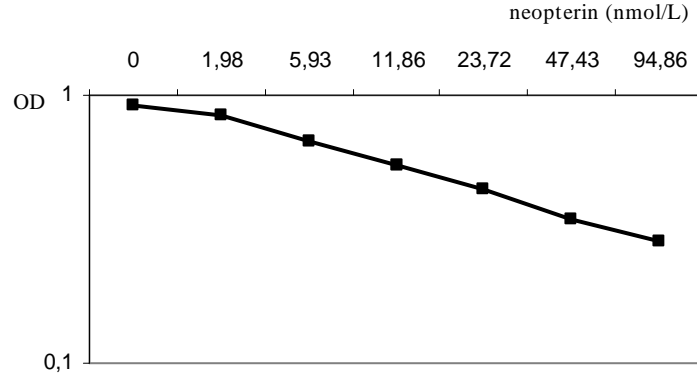
Yapışkan folyo ile kaplanan stripler, oda sıcaklığında ve karanlıkta orbital çalkalayıcı (500 rpm)'da 90 dk inkübe edildi.

İnkübasyonu takiben, her kuyucuk 250  $\mu\text{L}$  yıkama tamponu ile 3 kez yıkandı.

TMB Substrat çözeltisi	150 $\mu\text{L}$	150 $\mu\text{L}$	150 $\mu\text{L}$
Yapışkan folyo ile kaplanan stripler, oda sıcaklığında 10 dk inkübe edildi.			
TMB stop çözeltisi	150 $\mu\text{L}$	150 $\mu\text{L}$	150 $\mu\text{L}$

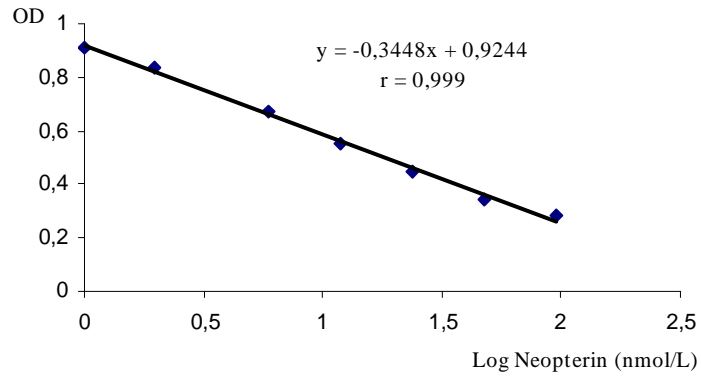
Enzimatik reaksiyon sonucu, striplerdeki kuyucuklarda oluşan rengin şiddeti, 20 dk içinde 450 nm'de okundu.

Değerlendirme, standart grafik üzerinden yapıldı. Standart konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri kullanılarak, hiperbolik neopterin standart grafiği çizildi (Şekil 15)



**Şekil 15.** Hiperbolik Neopterin Standart Grafiği

Standart seriyi oluşturan konsantrasyonların logaritmik değerleri kullanılarak, grafik doğrusal hale getirildi (Şekil 16).



**Şekil 16.** Doğrusal Neopterin Standart Grafiği

Grafik yardımıyla hesaplanan neopterin konsantrasyonları, nmol/L olarak verildi. Kontrol 1 ve 2 değerleri, sırasıyla 3.3 ve 18.1 nmol/L olarak bulundu.

### 3.3.2.7. İskemi Modifiye Albümin Tayini

Serumda İMA seviyeleri, Bar-Or ve ark (49) tarafından geliştirilen metoda göre tayin edildi.

Metodun prensibi, belli miktar ekzojen kobalt Co (II) iyonları ile inkübe edilen serum örneklerinde; albümine bağlanamayan serbest kobaltın ölçümü üzerinden, albümin-bağlama kapasitesinin indirekt olarak belirlenmesi esasına dayanır (49).

Serbest kobaltın ditiyotireitol (DTT) ile verdiği kırmızı-kahve renkli kompleksin renk şiddeti, spektrofotometrede 470 nm dalga boyunda ölçülür. Yüksek renk şiddeti, albümin-bağlama kapasitesinin azaldığını; buna karşılık düşük kobalt düzeyleri, kapasitenin yüksek olduğunu gösterecektir (49).

#### Çözeltiler

- **9.72 mM DTT**
- **4.2 mM Kobalt klorür (CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O)**
- 0.154 M NaCl
- 50 mM Tris-barbital tamponu, pH 8.6

#### Çalışma

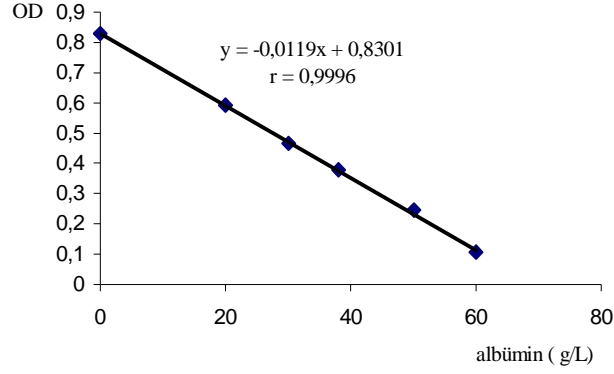
	Numune	Kontrol
Serum	200 µl	200 µl
4.2 mM CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	50 µl	50 µl
50 mM Tris-barbital tamponu	200 µl	200 µl
Tüpler, nazikçe karıştırılıp oda sıcaklığında 10 dk inkübe edildi.		
DTT	50 µl	-
Vorteks ile karıştırılan tüpler, oda sıcaklığında tam 2 dk inkübe edildi.		
0.154 M NaCl	0.8 ml	0.8 ml
Numune ve kontrol tüplerinin OD'leri, saf su körüne karşı, 470 nm'de okundu.		

#### Hesaplama

**Numune ve kontrol tüplerinin absorbanları kullanılarak ΔOD değerleri bulundu.**

İMA birimi, absorban ünitesi olarak tanımlandı (ABS Ü). Değerlendirmede; 0.400' den büyük ABS Ü, iskemi için pozitif ve 0.400'den küçük üniteler, negatif olarak kabul edildi (49).

Ayrıca, serumdaki serbest kobalt yüzdesini hesaplamak amacıyla, albümin miktarı bilinen bir serum havuzu oluşturuldu. Bu havuzdan, hem serum fizyolojik ile yapılan dilüsyonlarla ve hem de uygun miktarlarda insan serum albümini (HSA) eklenmesiyle, konsantrasyonu 0-60 g/L arasında değişen bir standart seri hazırlandı ve serum gibi çalışıldı. Albümin konsantrasyonlarına karşılık gelen OD değerleriyle standart grafik çizildi (Şekil 17).

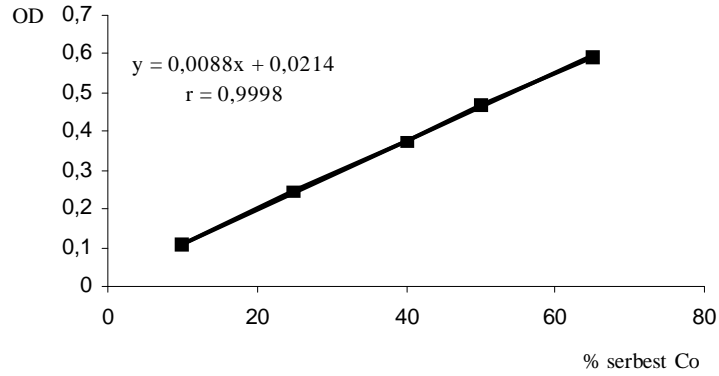


**Şekil 17.** Albümin Standart Grafiği

Albümin içermeyen tüp, “kör” olarak kabul edildi ve aşağıda verilen denklem kullanılarak, standart serinin serbest kobalt yüzdesi (% serbest Co) hesaplandı:

$$\% \text{ Co} = 100 - \left[ \frac{(\text{Kör OD} - \text{standart OD})}{\text{Kör OD}} \times 100 \right]$$

Standart serinin OD değerlerine karşılık gelen serbest kobalt yüzdesi kullanılarak çizilen grafik (Şekil 18) yardımıyla, serum örneklerindeki serbest kobalt yüzdesi hesaplandı.



**Şekil 18.** Standart Serinin Serbest Kobalt Yüzdesi

Çalışma gruplarında ölçülen İMA, hem serum örneklerinin OD değerleri (ABS Ü) ve hem de serbest kobalt yüzdesi (% serbest Co) şeklinde verildi.

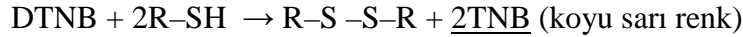
İMA tayininde kullanılan metodun CV’si, birimlerine göre aşağıda gösterildi:

	Ölçüm sayısı	X±SD	CV (%)
İMA (ABS Ü)	14	0.344±0.012	3.47
İMA (% Co)	14	36.73±1.36	3.69

### 3.3.2.8. Tiyol Tayini

Plazma tiyol seviyeleri, Hu ve ark (70) tarafından modifiye edilen metoda göre tayin edildi.

Metodun prensibi, reaksiyon denkleminde görüldüğü gibi, Ellman reaktifi [5.5'-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit); DTNB]'nin, serbest tiyol gruplarıyla redüklenmesi sonucu oluşan koyu sarı renkli 5-tiyol-2-nitrobenzoik asit (TNB)'in renk şiddetinin 412 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır (70):



### Çözeltiler

- 0.1 M Tris-HCl tamponu, pH 8.2 (10 mM EDTA içerir)
- 10 mM DTNB (metanolde hazırlanır)
- 1.0 mM GSH (stok standart)
- Metanol

	<b>Çalışma</b>		
	<b>Kör</b>	<b>Kontrol</b>	<b>Numune</b>
<i>0.1 M Tris-HCl</i>	1.05 ml	1.0 ml	1.0 ml
Metanol	-	0.05 ml	-
Plazma	-	0.05 ml	0.05 ml
10 mM DTNB	0.05 ml	-	0.05 ml

Tüpler, 25°C'de tam 15 dk inkübe edildikten sonra; kontrol ve numune tüplerinin absorbansı, kör tüpüne karşı, 412 nm dalga boyunda ölçüldü

### Hesaplama

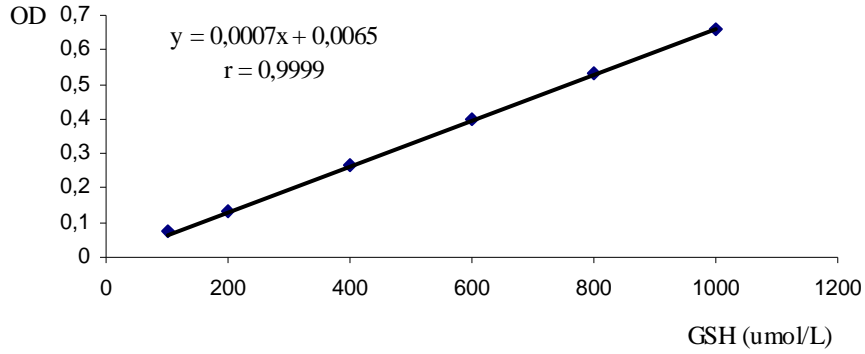
Numune ve kontrol tüplerinin absorbansları kullanılarak  $\Delta\text{OD}$  değerleri hesaplandı. GSH ile hazırlanan standart grafik yardımıyla, plazma örneklerinin  $\Delta\text{OD}$  değerlerinden tiyol seviyelerine geçildi.

### Standart Serinin Hazırlanması

Stok GSH (1.0 mM) çözeltisi, saf su ile uygun şekilde dilüe edilerek, 100;

200; 400; 600; 800 ve 1000  $\mu\text{mol/L}$  konsantrasyonlarında standart seri

hazırlandı ve numune gibi çalışıldı. GSH konsantrasyonlarına karşılık gelen OD değerleriyle standart grafik çizildi (Şekil 19).



**Şekil 19.** Glutatyon Standart Grafiği

Standart grafik üzerinden bulunan plazma tiyol seviyeleri, litrede  $\mu\text{mol}$  tiyol olarak verildi ( $\mu\text{mol/L}$ ).

Tiyol ölçümünde kullanılan metodun CV değeri, % 3.08 olarak bulundu.

	Ölçüm sayısı	$X \pm SD$	CV(%)
Tiyol ( $\mu\text{mol/L}$ )	12	$345.71 \pm 10.66$	3.08

### 3.3.3. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Çalışma gruplarından elde edilen verilerin aritmetik ortalama değerleri arasındaki farklılıklar “SPSS 15.0 for Windows” paket bilgisayar programı kullanılarak, istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Behçet hastalarının total olarak kontrol grubuyla karşılaştırılması, Student “t” testi ile yapıldı; yaş ve cinsiyet karşılaştırmalarında, Mann-Whitney U ve Ki kare testleri de kullanıldı.

Çalışma grupları (Kontrol, NAC ve Plasebo)’nın birbirleriyle karşılaştırılması sırasında ANOVA ve post-ANOVA (Scheffe prosedür) testleri kullanıldı.

NAC ve Plasebo gruplarında, grup içi tedavi öncesi ve sonrası karşılaştırmaları, eşleştirilmiş Student “t” testi ile yapıldı.

Tüm istatistiki karşılaştırmalarda, anlamlılık düzeyi  $p < 0.05$  olarak kabul edildi.



## 4. BULGULAR

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı'nda, Behçet hastalığı tanısı ile takip ve tedavileri sürdürülen toplam 40 kişi, hasta grubu olarak ve sağlıklı gönüllü 20 kişi, kontrol grubu olarak çalışmaya alındı.

Benzer tedavi protokolüne sahip olan Behçet hastaları, NAC ve Plasebo olarak, her grupta 20 hasta olacak şekilde, rastgele 2 gruba ayrıldı. NAC grubundaki hastalara, aldıkları klasik tedaviye ek olarak, dört hafta süreyle, 2x600 mg/gün dozda oral NAC (Asist®) uygulanırken; Plasebo grubunu oluşturan hastalara, aynı süre ve dozda plasebo kapsüller (Bilim İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş.) verildi.

Çalışma sırasında, Behçet hastalarından tedavi öncesi ve sonrası olmak üzere toplam iki kez; kontrol grubunu oluşturan sağlıklı gönüllülerden sadece bir kez alınan kan örnekleri; biyokimyasal ölçümlere uygun şekilde, antikoagülanlı (EDTA/heparin) ve antikoagülanlı tüplerde toplandı.

Çalışma gruplarına ait veriler, Ek Tablo 1-5'te gösterildi. Bu verilerden elde edilen grup ortalama değerleri, hazırlanan tablolar (Tablo 5-18)'de aritmetik ortalama ve standart sapma ( $X \pm SD$ ) şeklinde verildi. Her gruptaki katılımcı sayısı, tablolarda "n" olarak gösterildi. İstatistiksel karşılaştırmalarda anlamlılık düzeyi  $p < 0.05$  olarak kabul edildi.

Çalışma gruplarına ait veriler; klinik bulgular, rutin analiz bulguları ve biyokimyasal çalışma bulguları, şeklinde üç başlık altında toplandı.

#### 4.1. KLİNİK BULGULAR

Behçet hastalığı tanısı ile takip ve tedavileri sürdürülen toplam 40 hastada cinsiyet dağılımı, 14 erkek (% 35) ve 26 kadın (% 65) olarak belirlendi; erkek/kadın (E/K) oranı da 0.53 olarak bulundu.

Yaş dağılımı 16-52 yıl arasında değişen tüm hastaların yaş ortalaması  $35.65 \pm 10.33$  yıl; 17-52 yaş arasında olan erkek hastaların,  $35.71 \pm 10.32$  yıl ve 16-51 yaşlar arasındaki kadın hastaların,  $35.62 \pm 10.54$  yıl olarak hesaplandı.

Kontrol grubunu oluşturan 20 sağlıklı kişinin 8'i (% 40) erkek ve 12'si (% 60) kadındı. E/K oranı 0.66 olarak bulundu. Kontrol grubunun yaş ortalaması, erkeklerde  $41.63 \pm 12.45$  yıl (21-58 yaş arasında); kadınlarda  $33.50 \pm 9.99$  yıl (17-48 yaş arasında) ve grubun tamamında  $36.75 \pm 11.48$  yıl (17-58 yaş arasında) olarak belirlendi. Hasta ve kontrol gruplarının yaş ve cinsiyet durumu, Tablo 5'te gösterildi

**Tablo 5.** Hasta ve Kontrol Gruplarının Yaş ve Cinsiyet Durumu

	TOTAL		ERKEK		KADIN	
	n	Ortalama yaş (yıl)	n	Ortalama yaş (yıl)	n	Ortalama yaş (yıl)
Kontrol	20	$36.75 \pm 11.47$	8	$41.63 \pm 12.45$	12	$33.5 \pm 9.99$
Behçet	40	$35.65 \pm 10.33$	14	$35.71 \pm 10.32$	26	$35.62 \pm 10.54$
NAC	20	$35.85 \pm 10.50$	5	$39.20 \pm 9.83$	15	$34.73 \pm 10.81$
Plasebo	20	$35.45 \pm 10.42$	9	$33.78 \pm 10.63$	11	$36.82 \pm 10.55$

İstatistiki karşılaştırma:

- Total hasta ve kontrol grubu arasında: Student *t* test
- Kadın ve erkek hasta/kontrol arasında: Ki kare test
- Kontrol, NAC ve Plasebo grupları arasında: post-ANOVA test
- Grup içinde: Mann-Whitney U ve Student *t* testleri

Yaş ortalamaları bakımından, erkek ve kadın hastalar arasında, erkek ve kadın kontroller arasında, yine benzer şekilde, hasta ve kontrol grupları (erkek, kadın, total) arasında, istatistiksel farkın olmadığı belirlendi. Çalışma grupları cinsiyete göre karşılaştırıldığında da anlamlı bir fark bulunamadı ( $p > 0.05$ ) (Tablo 5).

Çalışma sırasında hastaların yaş gruplarına göre dağılımı incelendiğinde, hastaların % 95'inin 50 yaşın altındaki gruplarda dağıldığı ve 20-39 yaşlar arasındaki dağılımın % 52.5 olduğu görüldü (Tablo 6).

**Tablo 6.** Behçet Hastalarının Yaş Gruplarına Göre Dağılımı

Yaş Grupları	Erkek	Kadın	Tot al	%
16 – 19	1	2	3	7.5
20 – 29	2	7	9	22.5
30 – 39	6	6	12	30

40 – 49	4	10	14	35
50 – 52	1	1	2	5
16 – 52	14	26	40	100

Tablo 4'teki verilere göre, Behçet hastalarında, hastalık süresinin bir ila 264 ay arasında dağıldığı ve ortalama hastalık süresinin  $59.65 \pm 68.11$  ay olduğu belirlendi (Tablo 7). Ortalama hastalık süresi bakımından, total hasta bazında kadınlar ile erkekler arasında ve NAC ile Plasebo grupları arasında istatistiksel farkın olmadığı görüldü ( $p > 0.05$ ).

**Tablo 7.** Behçet Hastalarında Hastalık Süresi

Hasta	n	Ortalama Hastalık süresi (ay)	Dağılım (ay)
Erkek	14	$82.07 \pm 77.09$	3 - 264
Kadın	26	$47.58 \pm 60.94$	1 - 252
Total	40	$59.65 \pm 68.11$	1 - 264
NAC	20	$68.55 \pm 65.14$	3 - 252
Plasebo	20	$50.75 \pm 71.49$	1 - 264

İstatistiki karşılaştırma: Student *t* testi

ISG kriterlerine göre, Behçet tanısı konulan hastaların klinik bulguları (Tablo 4)'nın dağılımı, Tablo 8'de gösterildi.

**Tablo 8.** Behçet Hastalarında Klinik Bulguların Dağılımı

Klinik Bulgular	Behçet Hastaları			
	NAC	Plasebo	Total	%
Oral ülser	20	20	40	100
Genital ülser	20	19	39	97.5
Göz lezyonu	5	8	13	32.5
Papülopüstüler lezyon	6	9	15	37.5
Eritema nodosum	11	9	20	50
Akneiform nodüller	2	3	5	12.5
Paterji testi	6	5	11	27.5

Tüm hastalarda (%100), oral ülser ve deri lezyonları (papülopüstüler lezyon ve/veya eritema nodosum ve/veya akneiform nodüller) mevcuttu. Hastaların % 97.5'inde genital ülser, % 32.5'inde göz lezyonu belirlendi. Paterji testi, hastaların % 27.5'inde pozitif olarak değerlendirildi (Tablo 8).

## 4.2. RUTİN ANALİZ BULGULARI

Çalışma Gruplarının Rutin analiz bulguları, Tablo 9'da gösterildi.

Kontrol ve hasta gruplarında tayin edilen glukoz, BUN, kreatinin, AST, ALT, total protein, albümin, ESR ve CRP için ayrı ayrı istatistiki karşılaştırma yapıldığında; glukoz, BUN, kreatinin, total protein ve albümin değerleri

bakımından, çalışma grupları arasında ve gruplar içinde fark olmadığı görüldü ( $p > 0.05$ ) (Tablo 9).

**Tablo 9.** Çalışma Gruplarının Rutin Analiz Bulguları

	Kontrol (n: 20)	NAC (n: 20)		PLASEBO (n: 20)	
		tedavi öncesi	tedavi sonrası	tedavi öncesi	tedavi sonrası
Glukoz (mg/dl)	94.8±8.80	96.15±9.79	95.7±5.97	98.4±22.9	94.9±12.9
BUN (mg/dl)	9.95±2.68	10±3.30	10.16±3.27	11.8±2.52	11.32±3.00
Kreatinin (mg/dl)	0.785±0.19	0.73±0.13	0.72±0.21	0.88±0.22	0.81±0.18
AST (IU/L)	13.75±4.21	20.85±6.18*	22.85±7.55*	22.85±6.07*	23.4±8.02*
ALT (IU/L)	14.15±5.43	20.35±8.15*	25.95±16.31*	26.5±12.96*	26.75±13.93*
T protein (g/dl)	7.13±0.32	7.05±0.52	7.04±0.33	7.12±0.40	6.89±0.42
Albümin (g/dl)	4.16±0.21	4.13±0.37	4.07±0.32	4.17±0.27	4.12±0.32
ESR (mm/saat)	8.35±6.25	21.85±18.40*	16.80±14.11*	16.30±9.11*	16.75±10.66*
CRP (mg/L)	3.09±0.98	13.75±16.93*	6.27±5.30*	8.56±9.54*	7.87±13.32

İstatistikî karşılaştırma:

- Kontrol, NAC ve Plasebo grupları arasında: post-ANOVA test (Anlamlı bulgular, \*Kontrol ile Hasta gruplarının karşılaştırması sırasında elde edildi.)
- Grup içinde: Eşleştirilmiş Student *t* test

Tablo 9’da görüldüğü gibi; AST, ALT, ESR ve CRP seviyeleri, kontrol grubuna göre hem tedavi öncesi ve hem de tedavi sonrası hasta gruplarında daha yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ). Hasta gruplarının tedavi öncesi ve sonrası değerleri karşılaştırıldığında: NAC ve Plasebo grupları arasında fark olmadığı görüldü ( $p > 0.05$ ) (Tablo 9).

Hasta grupları, kendi içinde tedavi öncesi ve sonrası olarak karşılaştırıldığında; AST, ALT, ESR ve CRP değerlerinin, her iki grupta da tedavi süresince istatistikî anlamda değişmediği ( $p > 0.05$ ); ancak NAC verilen grupta ESR ve CRP düzeylerinin düşmeye meyilli olduğu belirlendi (Tablo 9).

Çalışma gruplarında tayin edilen CBC sonuçları değerlendirildiğinde, eritrosit ve hematokrit değerlerinin hemoglobine paralel şekilde değiştiği belirlendiğinden; Tablo 10’da lökosit, nötrofil ve monosit sayılarının yanı sıra sadece hemoglobin düzeyleri verildi.

**Tablo 10.** Çalışma Gruplarının CBC Değerleri

	Kontrol (n: 20)	NAC (n: 20)		PLASEBO (n: 20)	
		tedavi öncesi	tedavi sonrası	tedavi öncesi	tedavi sonrası
Hemoglobin (g/dl)	14.62±1.59	13.54±1.80	13.50±1.87	14.43±1.19	14.17±1.42
Lökosit ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	6.45±0.82	7.77±1.80*	7.35±1.52	7.69±2.06*	7.86±2.43*
Nötrofil ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	3.86±0.45	4.86±1.55*	4.87±1.54*	4.93±2.03*	4.98±1.96*
Monosit ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	0.50±0.10	0.60±0.22	0.56±0.21	0.57±0.20	0.52±0.17

İstatistiki karşılaştırma:

- Kontrol, NAC ve Plasebo grupları arasında: post-ANOVA test (Anlamlı bulgular, \*Kontrol ile Hasta gruplarının karşılaştırması sırasında elde edildi.)
- Grup içinde: Eşleştirilmiş Student *t* test

Tablo 10'a göre, hemoglobin ve monosit değerleri bakımından, çalışma grupları arasında ve gruplar içinde fark olmadığı görüldü ( $p > 0.05$ ).

Çalışma grupları, lökosit ve nötrofil sayıları bakımından karşılaştırıldığında; tedaviye başlamadan önce her iki hasta grubunda da kontrole göre yüksek ( $p < 0.05$ ) bulunan değerlerin, çalışma sonunda Plasebo grubunda hala yüksek ( $p < 0.05$ ) olduğu; NAC grubunda ise, istatistiki olarak nötrofil sayılarının değişmediği ( $p < 0.05$ ), fakat lökosit sayılarının kontrol düzeyine ulaştığı ( $p > 0.05$ ) gözlemlendi (Tablo 10).

### 4.3. BİYOKİMYASAL ÇALIŞMA BULGULARI

Çalışma gruplarından elde edilen heparinli plazma örneklerinde, MPO aktivitesi ve total lipid hidroperoksit ile tiyol seviyeleri; EDTA'lı plazma örneklerinde AOPP düzeyleri ve serum örneklerinde, PCC, pirrolize protein, İMA ve neopterin seviyeleri tayin edildi.

Çalışma gruplarının plazma MPO aktiviteleri Tablo 11'de gösterildi.

**Tablo 11.** Çalışma Gruplarının MPO Aktiviteleri

Gruplar	n	MPO (Ü/L)
Kontrol	20	70.67 ± 13.51
NAC		
Tedavi öncesi	20	180.08 ± 47.84*
Tedavi sonrası	20	78.65 ± 24.23 $\diamond$
Plasebo		
Tedavi öncesi	20	178.49 ± 48.99*
Tedavi sonrası	20	179.19 ± 56.53* $\blacklozenge$

İstatistiki karşılaştırma:

- Kontrol, NAC ve Plasebo grupları arasında: post-ANOVA test (Anlamlı bulgular, \*Kontrol grubu ile Hasta gruplarının ve  $\blacklozenge$ NAC ile Plasebo gruplarının karşılaştırması sırasında elde edildi.)
- Grup içinde: Eşleştirilmiş Student *t* test ( $\diamond$ :  $p < 0.05$ )

Tablo 11'de görüldüğü gibi; Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, MPO aktivitesinin tedaviye başlamadan önce her iki hasta grubunda da yüksek olduğu ( $p < 0.05$ ) ve MPO aktivitesi bakımından, NAC ile Plasebo grupları arasında anlamlı bir fark olmadığı ( $p > 0.05$ ) belirlendi.

Tedavi süresini takiben, Plasebo verilen grupta MPO aktivitesinde bir değişiklik gözlenmezken ( $p > 0.05$ ); NAC verilen hastalarda aktivitenin önemli ölçüde azaldığı

( $p < 0.05$ ); bu nedenle, tedavinin sonunda kontrol grubuyla yapılan karşılaştırmalarda, Plasebo grubunda aktivitedeki yüksekliğin sürdüğü ( $p < 0.05$ ); buna karşılık NAC grubunda aktivitenin kontrol değerlerine yaklaştığı ( $p > 0.05$ ) belirlendi (Tablo 11). Çalışma gruplarının plazma total lipid hidroperoksit düzeyleri, Tablo 12’de gösterildi.

**Tablo 12.** Çalışma Gruplarının Total Lipid Hidroperoksit Seviyeleri

Gruplar	n	Lipid Peroksit ( $\mu\text{mol/L}$ )
Kontrol	20	14.49 $\pm$ 3.53
NAC		
Tedavi öncesi	20	20.24 $\pm$ 7.06*
Tedavi sonrası	20	12.46 $\pm$ 3.17 $\diamond$
Plasebo		
Tedavi öncesi	20	22.96 $\pm$ 6.04*
Tedavi sonrası	20	21.35 $\pm$ 7.20* $\blacklozenge$

İstatistikî karşılaştırma:

- Kontrol, NAC ve Plasebo grupları arasında: post-ANOVA test (Anlamlı bulgular, \*Kontrol grubu ile Hasta gruplarının ve  $\blacklozenge$ NAC ile Plasebo gruplarının karşılaştırması sırasında elde edildi.)
- Grup içinde: Eşleştirilmiş Student *t* test ( $\diamond$ :  $p < 0.05$ )

Kontrole göre, tedavi öncesi NAC ve Plasebo gruplarında total lipid hidroperoksit düzeyleri, istatistikî olarak daha yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ). Tedaviyi takiben Plasebo grubunda, kontrol değerlerinden hala yüksek olduğu ( $p < 0.05$ ) gözlenen total lipid hidroperoksit düzeylerinin, NAC grubunda istatistikî olarak kontrol değerleriyle aynı düzeyde olduğu ( $p > 0.05$ ) belirlendi (Tablo 12).

Hasta grupları birbiriyle karşılaştırıldığında; total lipid hidroperoksit düzeyleri bakımından tedavi öncesi NAC ve Plasebo grupları arasında, istatistikî bir fark olmamasına rağmen ( $p > 0.05$ ); tedavi süresinin sonunda, Plasebo grubuna göre NAC grubunda, total lipid hidroperoksit düzeylerinin önemli ölçüde azaldığı ( $p < 0.05$ ) gözlemlendi (Tablo 12).

Tablo 12’ye göre, aynı grup içinde yapılan karşılaştırmalarda; total lipid hidroperoksit düzeyleri, çalışma süresince Plasebo grubunda değişmezken ( $p > 0.05$ ); NAC verilen grupta istatistikî anlamda bir azalma ( $p < 0.05$ ) görüldü.

Çalışma gruplarının serum pirrolize protein düzeyleri Tablo 13’te gösterildi.

Tablo 13’e göre, kontrol grubunun pirrolize protein değerleriyle karşılaştırılan hasta gruplarında; pirrolize protein seviyelerinin çalışmanın başında her iki hasta grubunda da, istatistikî anlamda yüksek olduğu belirlendi ( $p < 0.05$ ).

Çalışmanın sonunda ise, kontrole göre yüksek olan pirrolize protein değerleri, NAC grubunda anlamlı şekilde azalırken ( $p < 0.05$ ); Plasebo grubunda istatistiki anlamda bir değişiklik görülmedi ( $p > 0.05$ ) (Tablo 13).

**Tablo 13. Çalışma Gruplarının Pirrolize Protein Seviyeleri**

<b>Gruplar</b>	<b>n</b>	<b>Pirrolize Protein (nmol/mg protein)</b>
Kontrol	20	1.12 ± 0.15
NAC		
Tedavi öncesi	20	1.81 ± 0.16*
Tedavi sonrası	20	1.05 ± 0.17 $\diamond$
Plasebo		
Tedavi öncesi	20	1.71 ± 0.18*
Tedavi sonrası	20	1.79 ± 0.32 * $\diamond$

İstatistiki karşılaştırma:

- Kontrol, NAC ve Plasebo grupları arasında: post-ANOVA test (Anlamlı bulgular, \*Kontrol grubu ile Hasta gruplarının ve  $\diamond$ NAC ile Plasebo gruplarının karşılaştırması sırasında elde edildi.)
- Grup içinde: Eşleştirilmiş Student *t* test ( $\diamond$ :  $p < 0.05$ )

Birbiriyle karşılaştırılan hasta gruplarının serum pirrolize protein seviyeleri arasında, tedavinin başında istatistiki anlamda bir fark olmamasına rağmen ( $p > 0.05$ ); tedavinin sonunda pirrolize protein seviyeleri arasındaki farkın anlamlı olduğu ve NAC grubu değerlerinin önemli ölçüde azaldığı ( $p < 0.05$ ) tespit edildi (Tablo 13).

Grup içi karşılaştırmalarda; serum pirrolize protein seviyelerinin, tedavi süresince NAC grubunda anlamlı şekilde azaldığı ( $p < 0.05$ ); Plasebo grubunda ise değişmediği ( $p > 0.05$ ) görüldü (Tablo 13).

Çalışma gruplarının serum PCC düzeyleri Tablo 14'te gösterildi. Tablo'da görüldüğü gibi; tedavinin başında kontrol grubuyla karşılaştırılan her iki hasta grubunda da, serum PCC düzeylerinin daha yüksek olduğu tespit edildi ( $p < 0.05$ ). Tedavinin sonunda ise, PCC düzeylerinin NAC grubunda kontrol değerlerine yaklaştığı ( $p > 0.05$ ); fakat Plasebo grubunda kontrolden yüksek olduğu ( $p < 0.05$ ) görüldü.

**Tablo 14. Çalışma Gruplarının PCC Seviyeleri**

<b>Gruplar</b>	<b>n</b>	<b>PCC (nmol/mg protein)</b>
Kontrol	20	0.929 ± 0.09
NAC		
Tedavi öncesi	20	1.22 ± 0.23*
Tedavi sonrası	20	0.99 ± 0.14 $\diamond$
Plasebo		

Tedavi öncesi	20	1.22 ± 0.24*
Tedavi sonrası	20	1.23 ± 0.25*♦

İstatistiki karşılaştırma:

- Kontrol, NAC ve Plasebo grupları arasında: post-ANOVA test (Anlamlı bulgular, \*Kontrol grubu ile Hasta gruplarının ve ♦NAC ile Plasebo gruplarının karşılaştırması sırasında elde edildi.)
- Grup içinde: Eşleştirilmiş Student *t* test (◇: p<0.05)

Hasta grupları arasında yapılan karşılaştırmalarda; tedavi öncesi aynı düzeyde olduğu (p >0.05) belirlenen serum PCC seviyelerinin, tedavi sonrasında Plasebo'ya göre NAC verilen hastalarda istatistiki olarak önemli ölçüde azaldığı (p< 0.05) bulundu (Tablo 14).

Yapılan grup içi karşılaştırmalarda, serum PCC seviyelerinin, Plasebo grubunda çalışma süresince değişmediği (p >0.05); buna karşılık NAC grubunda önemli ölçüde düştüğü (p< 0.05) belirlendi (Tablo 14).

Çalışma gruplarının plazma AOPP Seviyeleri Tablo 15'te gösterildi.

**Tablo 15. Çalışma Gruplarının AOPP Seviyeleri**

Gruplar	n	AOPP (µmol/L)
Kontrol	20	24.80 ± 3.90
NAC		
Tedavi öncesi	20	35.01 ± 5.84 *
Tedavi sonrası	20	22.42 ± 6.35 ◇
Plasebo		
Tedavi öncesi	20	32.64 ± 10.31 *
Tedavi sonrası	20	29.16 ± 3.76 *♦

İstatistiki karşılaştırma:

- Kontrol, NAC ve Plasebo grupları arasında: post-ANOVA test (Anlamlı bulgular, \*Kontrol grubu ile Hasta gruplarının ve ♦NAC ile Plasebo gruplarının karşılaştırması sırasında elde edildi.)
- Grup içinde: Eşleştirilmiş Student *t* test (◇: p<0.05)

Tablo 15'te görüldüğü gibi; hasta gruplarında plazma AOPP seviyelerinin tedaviden önce, kontrol grubundan daha yüksek olduğu belirlendi (p<0.05). Bir ay süreyle NAC uygulanan grupta, plazma AOPP seviyeleri, istatistiki olarak kontrol düzeyine yaklaşırken (p>0.05); Plasebo verilen grubun AOPP değerleri, tedaviden sonra da kontrol grubundan daha yüksek (p<0.05) bulundu.

Hasta grupları çalışmanın başında karşılaştırıldığında, AOPP değerleri bakımından iki grup arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlendi (p>0.05). Çalışmanın sonunda ise, AOPP değerlerinin Plasebo grubunda daha yüksek olduğu gözlemlendi (p<0.05) (Tablo 15).



Grup içi karşılaştırmalarda; NAC grubunda tedavi öncesi ve sonrası AOPP değerleri arasındaki farkın istatistiki bakımdan anlamlı olduğu ( $p<0.05$ ); Plasebo grubunda ise belirgin bir farkın olmadığı ( $p>0.05$ ) görüldü (Tablo 15).

Çalışma gruplarının serum neopterin düzeyleri Tablo 16’da gösterildi. Tablo’ya göre; Kontrol’le yapılan karşılaştırmada, tedavi öncesi her iki hasta grubunun serum neopterin değerleri daha yüksek bulundu ( $p<0.05$ ). Tedaviyi takiben, Plasebo grubunda neopterin düzeyleri istatistiki olarak aynı yükseklikte devam ederken ( $p<0.05$ ); NAC grubunda neopterin değerlerinin, kontrol grubuyla aynı düzeyde olduğu görüldü ( $p>0.05$ ) (Tablo 16).

**Tablo 16. Çalışma Gruplarının Neopterin Seviyeleri**

Gruplar	n	Neopterin (nmol/L)
Kontrol	20	3.68 ± 1.00
NAC		
Tedavi öncesi	20	8.46 ± 2.59*
Tedavi sonrası	20	3.31 ± 0.97 $\diamond$
Plasebo		
Tedavi öncesi	20	8.22 ± 2.41*
Tedavi sonrası	20	9.09 ± 2.54* $\blacklozenge$

İstatistiki karşılaştırma:

- Kontrol, NAC ve Plasebo grupları arasında: post-ANOVA test (Anlamlı bulgular, \*Kontrol grubu ile Hasta gruplarının ve  $\blacklozenge$ NAC ile Plasebo gruplarının karşılaştırması sırasında elde edildi.)
- Grup içinde: Eşleştirilmiş Student *t* test ( $\diamond$ :  $p<0.05$ )

Neopterin düzeyleri bakımından, çalışmanın başında karşılaştırılan NAC ve Plasebo grupları arasında istatistiki fark olmadığı belirlendi ( $p>0.05$ ). Ancak, çalışmanın sonunda, NAC grubuna göre Plasebo grubunda, serum neopterin düzeylerinin daha yüksek olduğu gözlemlendi ( $p<0.05$ ). (Tablo 16).

Grup içi karşılaştırmalarda; Plasebo grubunun tedavi öncesi ve sonrası neopterin değerleri arasındaki farkın anlamlı olmadığı görüldü ( $p>0.05$ ). Buna karşılık, NAC grubunun neopterin değerlerinde istatistiki anlamda bir azalma tespit edildi ( $p<0.05$ ) (Tablo 16).

Çalışma gruplarının serum İMA değerleri, Tablo 17’de gösterildi. Tablo’daki verilere göre; İMA değerlerinin hasta gruplarında, tedaviye başlamadan önce, kendilerine

karşılık gelen (ABS Ü ve % serbest Co) kontrol grubu değerlerinden, anlamlı şekilde daha yüksek olduğu belirlendi ( $p < 0.05$ ).

Tedavinin sonunda, NAC grubunun İMA değerleri, istatistiki anlamda kontrol grubu değerlerine ulaşırken ( $p > 0.05$ ); Plasebo grubunda, kontrol grubu değerlerine göre daha yüksek düzeylerde bulundu ( $p < 0.05$ ) (Tablo 17).

**Tablo 17. Çalışma Gruplarının İskemi Modifiye Albümin Seviyeleri**

Gruplar	n	İskemi Modifiye Albümin	
		(ABS Ü)	(% serbest Co)
Kontrol	20	0.306 ± 0.038	32.33 ± 4.39
NAC			
Tedavi öncesi	20	0.416 ± 0.058*	44.92 ± 6.58*
Tedavi sonrası	20	0.311 ± 0.034◇	32.87 ± 3.82◇
Plasebo			
Tedavi öncesi	20	0.424 ± 0.039*	45.70 ± 4.45*
Tedavi sonrası	20	0.422 ± 0.037*◆	45.39 ± 4.33*◆

İstatistiki karşılaştırma:

- Kontrol, NAC ve Plasebo grupları arasında: post-ANOVA test (Anlamlı bulgular, \*Kontrol grubu ile Hasta gruplarının ve ◆NAC ile Plasebo gruplarının karşılaştırması sırasında elde edildi.)
- Grup içinde: Eşleştirilmiş student *t* test (◇:  $p < 0.05$ )

NAC ve Plasebo grupları, tedaviye başlamadan önce, birbiriyle istatistiki olarak karşılaştırıldığında; İMA değerleri bakımından, iki grup arasındaki farkın önemli olmadığı belirlendi ( $p > 0.05$ ). Tedavi süresinin sonunda yapılan karşılaştırmada ise, NAC grubunun İMA değerlerinin, Plasebo grubuna göre daha düşük olduğu görüldü ( $p < 0.05$ ) (Tablo 17).

Hasta grupları, kendi içlerinde ayrı ayrı karşılaştırıldığında; İMA değerlerinin Plasebo grubunda, çalışma süresince istatistiki anlamda değişmediği ( $p > 0.05$ ); NAC grubunda ise, tedavinin etkisiyle, İMA değerlerinin önemli ölçüde düştüğü ( $p < 0.05$ ) görüldü (Tablo 17).

Çalışma gruplarının plazmasında tayin edilen tiyol seviyeleri, Tablo 18'de gösterildi.

**Tablo 18. Çalışma Gruplarının Plazma Tiyol Seviyeleri**

Gruplar	n	Tiyol (µmol/L)
Kontrol	20	346.06±42.84
NAC		
Tedavi öncesi	20	218.36 ± 41.23*
Tedavi sonrası	20	294.34 ± 41.67◇

Plasebo	
Tedavi öncesi	20 206.08 ± 30.46*
Tedavi sonrası	20 202.13 ± 40.39*♦

İstatistiki karşılaştırma:

- Kontrol, NAC ve Plasebo grupları arasında: post-ANOVA test (Anlamlı bulgular, \*Kontrol grubu ile Hasta gruplarının ve ♦NAC ile Plasebo gruplarının karşılaştırması sırasında elde edildi.)
- Grup içinde: Eşleştirilmiş Student *t* test (◇:  $p < 0.05$ )

Çalışmanın başında, Kontrol grubuyla karşılaştırılan hasta gruplarında, plazma tiyol düzeyleri istatistiki anlamda daha düşük bulundu ( $p < 0.05$ ). Çalışmanın sonunda, hastalara verilen NAC'ın etkisiyle, tiyol düzeylerinin istatistiki anlamda yükselerek kontrol değerlerine yaklaştığı belirlendi ( $p > 0.05$ ). Diğer taraftan, hastalara verilen plasebonun tiyol değerleri üzerinde etkisi olmadığı ve bu nedenle Plasebo grubunda tiyol düzeylerinin kontrol değerlerinden daha düşük olduğu belirlendi ( $p < 0.05$ ) (Tablo 18).

Tedaviye başlamadan önce, hasta grupları birbiriyle karşılaştırıldığında; NAC ve Plasebo grupları arasında tiyol seviyeleri bakımından istatistiki anlamda bir fark olmadığı görüldü ( $p > 0.05$ ). Tedavinin sonunda, grupların tiyol düzeyleri arasındaki farkın anlamlı olduğu ve NAC grubunda tiyol düzeylerinin önemli ölçüde yükseldiği belirlendi ( $p < 0.05$ ) (Tablo 18).

Grup içi yapılan istatistiki karşılaştırmalarda; düşük bulunan NAC grubu tiyol düzeylerinin, tedaviye cevap olarak yükseldiği ( $p < 0.05$ ); buna karşılık Plasebo grubu tiyol değerlerinin istatistiki anlamda değişmediği ( $p > 0.05$ ) görüldü (Tablo 18).

## 5. TARTIŞMA

Behçet hastalığı, yıllar öncesinden bilinmesine rağmen, ilk defa 1937 yılında Türk Dermatolog Prof. Dr. Hulusi Behçet (11) tarafından, tekrarlayan oral ve genital ülserler ve oküler lezyonlardan oluşan bir triad olarak Dünya literatüründe bildirilmiştir. Yıllar içerisinde, artiküler, vasküler, gastrointestinal, renal, nörolojik ve pulmoner sistemleri de tutabildiği gösterilen Behçet hastalığı; günümüzde multisistemik bir hastalık olarak kabul edilmektedir (1,12).

Behçet hastalığı her yaşta görülmekle beraber; görülme sıklığı 20-40 yaşlar arasında daha yüksek, çocuklarda ve yaşlılarda daha düşüktür (13). Bu çalışmada da, Behçet hastalarında yaş ortalaması yaklaşık 35 yıl olarak bulundu. Ayrıca, hastaların % 95'inin 50 yaşın altındaki gruplarda dağıldığı ve 20-39 yaşlar arasındaki dağılımın % 52.5 olduğu belirlendi. Bu bulgular, Behçet hastalığının sıklıkla görüldüğü yaş kuşağı ile uyumlu olarak değerlendirildi.

Özel bir laboratuvar bulgusu olmayan Behçet hastalığında tanı, hastaların klinik özelliklerine dayanarak konulmaktadır (1,13,14). ISG (19) kriterlerine göre, oral aftöz lezyonların varlığı, Behçet tanısı için, hastada mutlaka olması gereken bir özelliktir.

Son yıllarda yapılan derlemelerde, tanı kriterleri olarak kabul edilen klinik bulguların görülme sıklığı değerlendirildiğinde; en yüksek oranda oral aftların (% 92-100) görüldüğü ve deri lezyonları (% 38-99), genital ülserler (% 72-94) ve oküler atakların (% 29-100), nispeten daha düşük görülme sıklığına sahip olduğu bildirilmektedir

(12-14,16,17). Gürler ve ark (73) da, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Behçet Merkezi'nde 1976-1997 yılları arasında takip ve tedavileri sürdürülen toplam 2147 Behçet hastasında; oral aftların % 100, genital ülserlerin % 88.2, göz lezyonlarının % 28.9, eritema nodosum ve papülopüstüler lezyon gibi deri bulgularının, sırasıyla % 47 ve % 54.2 oranında görüldüğünü bildirmektedir. Bu çalışma kapsamına alınan hastalarda da, aynı klinik bulguların, literatüre benzer bir dağılıma sahip olduğu görülmektedir.

Diğer taraftan, ISG (19) tanı kriterleri arasında bulunan paterji testi, bazı araştırmacılar tarafından Behçet tanısı için spesifik kabul edilmekle beraber (12,14); bazılarına göre testin pozitifliği, coğrafik bölgeler arasında değişkenlik gösterebilmekte (17) ve hatta Davies ve ark (74)'nın çalışmasında, 19 İngiliz Behçet hastasından sadece birinde testin pozitif olduğu bildirilmektedir. Gürler ve ark (73) da, test pozitifliğini % 56.8 olarak bildirmektedirler. Toplam 40 Behçet hastasının % 95'inin 50 yaşın altındaki gruplarda dağıldığı bu çalışmada ise, pozitif paterji testi % 27.5 olarak belirlendi.

Behçet hastalığının etiyolojisi henüz kesin olarak bilinmemekle beraber, çevresel ve genetik faktörler, bakteriyel veya viral enfeksiyonlar, immünolojik bozukluklar, enflamatuvar mediatörler, koagülopati ve otoantijenler gibi pek çok faktör üzerinde durulmakta ve hatta muhtemelen bu faktörlerin kombinasyonu yoluyla hastalığın ortaya çıktığı görüşü, gün geçtikçe önem kazanmaktadır (12-17).

Önder ve Gürer (75), Behçet hastalığında başlıca patolojinin kronik enflamasyon olduğunu; ancak enflamasyona yol açan faktörlerin halen araştırıldığını öne sürmüşlerdir. Diğer taraftan, aşırı SOR üretiminin enflamasyonla ilişkili olduğu ve enflamatuvar hastalıklarda, aktif nötrofiller tarafından aşırı miktarda üretilen SOR'un, doku hasarına yol açtığı bilinmektedir (52).

Son yıllarda Evreklioğlu (12), literatürde Behçet hastalığının etiyopatolojisiyle ilgili çalışmaları değerlendirdiğinde; artmış nötrofil fonksiyonu, endotelial hasarla birlikte gelişen vaskülit ve otoimmün reaksiyonlar şeklinde, en azından üç büyük değişikliğin olduğunu ve bu nedenle immünolojik bozukluklar ile artmış nötrofil fonksiyonlarının, hastalığın etiyopatogenezine dahil edilebileceğini bildirmiştir.

Gerçekten, son 30 yıl içerisinde Behçet hastalığı ile ilgili yapılan çalışmaların büyük kısmı, nötrofiller üzerinde yoğunlaşmış bulunmaktadır: Nötrofil ömrünün kısalması; nötrofil aktivitesiyle hastalık atakları arasındaki ilişki; nötrofillerdeki bazı lizozomal

enzim aktivitelerinde gözlenen değişiklikler; kemotaksi, fagositoz, SOR üretimi gibi artmış nötrofil fonksiyonları; nötrofil antioksidan savunma sistemleri, aktif T lenfositleri ile nötrofil fonksiyonları arasındaki ilişki; dikkat çeken araştırma konuları arasında sayılabilir (2-5,18,75). Hatta, akut enflamatuvar reaksiyonlarla ilişkili olarak, Behçet hastalığında vasküler ve endotel hücre hasarını da kapsayan doku harabiyeti, nötrofil lizozomal enzimlerin ekstraselüler ortama salınmasına (3,75), aktif nötrofiller tarafından aşırı SOR üretilmesine (3,4) ve nötrofillerde SOR tutucu aktivitenin azalmasına (5,18) bağlanmaktadır.

Niwa ve ark (2), aktif dönemde bulunan Behçet hastalarının zimozan ile uyarılan nötrofillerinde SOR üretiminin önemli ölçüde arttığını; bu aktif nötrofillerle inkübe edilen endotel hücrelerinin ve desmozomların bozulduğunu gözleyerek; aşırı SOR üretiminin doku harabiyetine yol açtığını ve ayrıca inkübasyon ortamında bulunan SOD ve katalazın, SOR'a karşı hücreleri koruduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, ortalama beş yıldır benzer tedavi protokolü (kolşisin ve/veya azotiyopürin içeren preparatlar) uygulanan tüm Behçet hastalarında, lökosit ve nötrofil düzeylerinin, referans aralığı içinde de olsa, sağlıklı kişilerden daha yüksek olduğu belirlendi.

Bilindiği gibi, kolşisin ve azotiyopürin, anti-enflamatuvar etkiye sahip terapötik ajanlardır. Kolşisin; hem nötrofil sayısını ve hem de kemotaksi, fagositoz ve lizozomal degranülasyon gibi nötrofil fonksiyonlarını baskılamakta; azotiyopürin de, humoral ve hücrel immüniteyi baskılayarak anti-enflamatuvar etki göstermektedir (14,76). Kolşisin ve azotiyopürinin bu etkilerine rağmen, çalışmaya alınan Behçet hastalarında, lökosit ve nötrofil sayılarının yanı sıra, ESR ve CRP düzeylerinin de hala yüksek bulunması, hastalığın kronik seyirli, enflamatuvar bir hastalık olduğunu göstermesi bakımından önem taşımaktadır ve literatür bilgisi altında enflamasyonun başlıca kaynağının da aşırı SOR üretimine yol açan aktif nötrofiller olduğu öne sürülebilir.

Degranülasyon sırasında, aktif nötrofillerden  $O_2^-$  ve  $H_2O_2$  gibi SOR türevleri ile birlikte laktoferrin, lizozim, elastaz, eozinofil katyonik protein gibi granüler proteinler ve MPO da plazmaya salınmaktadır (50,51).

Nötrofillere spesifik bir enzim olan MPO'nun (45,50), plazmada yüksek düzeyde bulunması, nötrofil degranülasyonunu ve aktivasyonunu gösterecek; başka bir ifadeyle, oksidatif hasar oluşturabilen aktif nötrofillerin varlığını yansıtacaktır.

Gerçekten Üniversitemizde daha önce yapılan çalışmalarda, Behçet hastalarında sağlıklı gönüllülere göre, MPO aktivitesi nötrofillerde düşük (5), buna karşılık plazmada yüksek (6,9) bulunmuş; benzer bulgular, Accardo-Palumbo ve ark (77,78) tarafından da bildirilmiştir. Behçet hastalığında nötrofillerde MPO aktivitesinin düşük ve plazmada yüksek bulunması, şiddetli bir nötrofil aktivasyonu olduğu şeklinde yorumlanmıştır (6).

Bu çalışmada da, literatüre benzer şekilde, tam kan lökosit ve nötrofil sayıları ile birlikte, nötrofil aktivasyonunun dolaylı bir göstergesi kabul edilen plazma MPO aktivitesinin, tüm Behçet hastalarında yükseldiği görüldü. Yüksek plazma MPO değerleri, Behçet hastalarında nötrofillerin aktif olduğunu ve aktif nötrofillerden plazmaya önemli miktarda MPO salındığını göstermesi bakımından önem taşımaktadır. Plazma MPO aktivitesinin, yanı sıra, hastalarda ESR ve CRP'nin de yüksek bulunması, hastalığın aktivasyonu ile nötrofil aktivasyonu arasında bir neden-sonuç ilişkisi olduğunu gösterebilir.

Behçet hastalarında aşırı SOR üretimi ve salınımının yanı sıra, nötrofillerdeki SOR tutucu aktivitenin azaldığını gösteren çalışmalar da vardır (4,5,18). Sağlıklı kişilerle karşılaştırılan Behçet hastalarının nötrofillerinde SOR tutucu aktivitenin hem çok düşük hem de ESR ve CRP seviyeleriyle negatif yönde ilişkili olduğunu belirleyen Pronai ve ark (18), nötrofillerin SOR tutucu aktivitesinde gözlenen azalmanın nötrofiller tarafından aşırı miktarda radikal üretilmesine bağlı olabileceğini vurgulamışlardır. Başka bir çalışmada da Behçet hastalarının çeşitli ajanlarla uyarılan nötrofillerinde, yine benzer şekilde, radikal üretiminin ve salınımının arttığını; buna karşılık SOR tutucu aktivitenin azaldığını ve ikisi arasında güçlü bir negatif ilişki olduğunu gözleyerek; nötrofillerin dokularda daha fazla süperoksit salınımına yol açabileceğini ileri sürmüşlerdir (4).

Üniversitemizde Doğan ve ark (5) tarafından yapılan çalışmada da, Behçet hastalarında nötrofil fonksiyonlarının bozulduğu, solunum patlamasının arttığı, fagositoz sırasında SOR üreten NADPH-oksidad aktivitesinin yükseldiği; buna karşılık SOD, GSH-Px ve katalaz aktivitelerinin azaldığı gözlenerek, nötrofillerdeki

aşırı SOR üretiminin doku harabiyetine yol açtığı kanısına varılmıştır (5). SOD, katalaz ve GSH-Px, SOR'a karşı korunmayı sağlayan, birbirlerini karşılıklı destekleyen antioksidan enzimlerdir. Katalaz ve GSH-Px'in oksidasyonuna neden olan O<sub>2</sub>·, SOD tarafından dismutasyonla H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye dönüşmekte; buna karşılık, SOD'u inhibe edebilen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'de, katalaz ve GSH-Px tarafından suya redüklenmektedir (22, 23). Doğan ve ark (5)'na göre, oksidatif metabolizmanın arttığı nötrofillerde bu üç enzim aktivitesinde de düşüş görülmesi, aşırı SOR üretiminin yol açtığı doku harabiyetini açıklayabilmektedir.

SOR'un aşırı miktarda üretildiği ya da antioksidan mekanizmaların yetersiz kaldığı durumlarda, oksidan-antioksidan sistemler arasındaki dengenin bozulması, oksidatif stres olarak adlandırılır. Oksidatif stresin varlığı, nükleik asitler, proteinler ve lipidler gibi temel hücre komponentlerinin, oksidanlarla etkileşimi sonucu oluşan toksik bileşiklerin birikimiyle yansıtılmakta ve ayrıca oksidanlar, enflamatuvar mediatörler olarak da kabul edilmektedir (29).

Fakat oksidatif stresin ölçümü, hem basit değildir, hem de standardize edilmemiş yöntemler ile yapılmaktadır. Son yıllara kadar, Behçet hastalarında *in vivo* oksidatif stresin varlığı, MDA gibi lipid peroksidasyon ürünlerinin ya da enzimatik/nonenzimatik antioksidanların ölçümüne dayanarak gösterilmiştir. Genellikle Behçet hastalarının plazma (21,79-83) ve eritrositlerinde (80,81) MDA seviyelerinin yüksek olduğu bildirilmektedir. Erdem ve ark (82) hastalığın hem aktif hem de remisyon döneminde plazma MDA seviyelerinin yükseldiğini; buna karşılık Örem ve ark (83), remisyon dönemine göre aktif dönemde bulunan hastalarda peroksidasyonun arttığını bildirmişlerdir. Yarı ömrünün kısalığı, stabil olmayışı, spesifite ve sensitivitesi düşük yöntemlerle ölçülmesi; MDA sonuçlarının güvenilirliğini etkilemektedir (40,43). Diğer taraftan Behçet hastalarında ölçülen antioksidan aktiviteleri ile ilgili bulgular da çelişkilidir. Örneğin, SOD aktivitesi eritrositlerde yüksek (81), düşük (84,85) veya değişmemiş (79) olarak ve serumda yüksek (86) olarak bildirilmiştir. GSH-Px aktivitesi ise plazmada düşük (6) ve eritrositlerde değişmemiş (85) ya da düşük (81,84) olarak saptanmıştır. Bu nedenle, oksidatif stresin gösterilmesinde, MDA ve antioksidan enzim aktivitelerinin yerine, daha stabil ve uzun ömürlü parametrelere olan gereksinim, giderek artmaktadır.

Diğer taraftan, DNA, lipid ya da protein ürünlerinin belirlenmesinde, oksidatif hasara yol açan SOR'un türü de önemlidir. Örneğin, organizmada sadece MPO tarafından,



H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve klor iyonları varlığında oluşturulan hipoklorik asit, hem biyomolekülleri doğrudan oksitleyebilmekte ve hem de uzun ömürlü oksidanlar olarak tanımlanan kloraminlerin oluşumuna yol açmaktadır (22). Kan plazmasında bulunan SOR türleri içerisinde, en reaktif ve en toksik ajan olan HOCl (44) için, başlıca hedefin proteinler olduğu; lipid ya da DNA gibi biyomolekülleri çok az modifiye edebildiği bildirilmektedir (45). Bu nedenle, SOR türevi olarak başlıca HOCl'nin üretildiği durumlarda, oksidatif stresin ortaya konulmasında protein oksidasyon ürünleri kullanılmalıdır (43).

Günümüzde oksidatif stres *marker*'ı olarak, daha stabil ve uzun ömürlü olan protein oksidasyon ürünlerinin kullanımı giderek artmaktadır (40,43). Proteinlerin oksidatif modifikasyonları, hidroksi, peroksi, alkoksi, hidroperoksi, hipoklorik asit ve peroksinitrit gibi SOR türevleri varlığında direkt olarak veya MDA, 4-HNE, akrolein, ketoamin, ketoaldehit ve deoksiozon gibi birçok RCC varlığında indirekt olarak gerçekleşebilir (8,41).

Amino asit, karbohidrat ve lipidler gibi farklı biyomoleküllerden farklı reaksiyonlarla oluşan, kimyasal yapı olarak birbirinden önemli farklılıklar gösteren, tek ortak noktaları yapılarında bir veya daha fazla karbonil grubu taşımak olan MGO, MDA ve 4-HNE gibi çok sayıdaki RCC bileşiğinin organizmada birikmesi ve başta proteinler olmak üzere, fosfolipid, nükleik asit gibi biyomoleküllerin fonksiyonel gruplarıyla etkileşerek modifiye yapılar oluşturması, karbonil stres olarak bilinmektedir (43).

Oksidatif stresin nispeten erken aşamasında oluşan ve MDA, GSSG gibi diğer stres parametrelerine göre, dolaşımında daha uzun süre ve stabil olarak kalabilen PCC (43), güvenilir bir *marker* olarak kabul edilmektedir (43,46). Protein yapısında bulunan amino asitlerin, özellikle prolil, lizil, arjinil ve treonil yan zincirlerinin SOR tarafından oksidasyonu ya da peptid bağlarının oksidatif yıkımı, protein üzerinde karbonil gruplarını oluşturabilir (30,40). PCC oluşumu için diğer bir yol (indirekt) da, sisteil, histidil, lizil amino asitlerinin nükleofilik yan zincirlerinin, lipid ya da karbohidratlardan türeyen RCC ile etkileşimidir (8,30). Bu yol, protein üzerinde CML, pentozidin gibi AGE veya MDA-lizin, 4-HNE-protein gibi ALE oluşumuyla sonuçlanır (61).

Protein karbonilasyonu, irreversibl bir oksidatif protein modifikasyonu olduğundan, onarılamayan karbonillenmiş proteinler; genellikle hasarlı-modifiye protein yapıları

şeklinde, organizmada birikeceklerdir (43). Proteinlerdeki karbonil grubunun miktarı ile oksidatif stres kaynaklı protein hasarı arasında çok yüksek bir korelasyon bulunduğu; biyolojik örneklerde PCC düzeylerinin tayini, oksidatif protein hasarının derecesini belirlemede iyi bir gösterge olarak kabul edilmektedir (46).

Yapılan literatür taramasına göre, sadece iki çalışmada Behçet hastalarında plazma PCC düzeylerinin ölçüldüğü belirlenmiştir. Bekpınar ve ark (79), dokuzunun steroid ve immünosupresif ajan kullandığı toplam 25 hastada, plazma PCC düzeylerinin yükselmeye meyilli olduğunu, fakat istatistiki olarak sağlıklı gönüllülerden farklı olmadığını gözlemişlerdir. Gülbahar ve ark (87) ise, Behçet hastalarında plazma PCC düzeylerini yüksek bulmuşlardır. Literatüre benzer şekilde, bu çalışmada da tüm Behçet hastalarında plazma PCC düzeyleri yüksek bulundu.

Himmelfarb ve ark (88), eşit konsantrasyonda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve HOCl ile inkübe edilen normal plazma örneklerinde, *in vitro* PCC oluşumunun H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile % 6 ve HOCl ile % 712 oranında arttığını göstermişlerdir. Bu nedenle, SOR türevi olarak başlıca HOCl'nin üretildiği durumlarda, PCC oluşumu kaçınılmaz olacaktır. Behçet hastalarında plazma PCC düzeylerinin yüksek bulunması; MPO-HOCl-aracılı oksidasyon reaksiyonlarının, bu hastalarda oksidatif ve karbonil strese yol açan başlıca kaynak olduğunu destekleyen önemli bulgulardır.

Yüksek derecede okside proteinler olarak, ilk defa üremik hastaların plazmasında tanımlanan AOPP, oksidatif stresi göstermede güvenilir bir *marker* olarak kabul edilmektedir (48). Witko-Sarsat ve ark (48) tarafından, AOPP'nin yüksek oranda disülfid köprüleri ve ditirozin türevlerini içeren albümin agregatlarından oluştuğu ve hem saf albüminden hem de kontrol plazma albüminden farklı olduğu; bu nedenle oksidatif modifikasyona uğrayan albüminin son çapraz bağlanma ürünü olduğu bildirilmektedir.

AOPP oluşumunda *in vivo* tek kaynağın, aktif nötrofillerden salınan HOCl ve kloraminler olduğu; HOCl'nin RNH-Cl'leri oluşturmak üzere endojen aminlerle reaksiyona girdiği ve kloraminlerle okside olan proteinler üzerinde AOPP oluştuğu bildirilmekte (62) ve AOPP'nin nötrofil kaynaklı oksidatif hasarın gösterilmesinde, spesifik bir parametre olduğu öne sürülmektedir (48,62).

AOPP oluşumunu açıklamak üzere yapılan *in vitro* çalışmalarda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ya da HOCl ve kloraminler gibi klorlu oksidanların eşit konsantrasyonlarıyla inkübe edilen saf

albümin veya plazma örneklerinde; sadece klorlu oksidanların konsantrasyonuna bağlı olarak, AOPP oluşumunun ve tirozin ile karbonil içeriğinin giderek arttığı gösterilmiştir (48,63).

İzole LDL üzerine  $\text{CuSO}_4$  ve HOCl'nin oksidatif etkilerinin incelendiği bir çalışmada; doğal LDL'ye göre bakırla oksitlenen LDL (Cu-oksLDL)'nin AOPP içeriğinin 5 kat, buna karşılık HOCl ile oksitlenen LDL (HOCl-oksLDL)'nin 100 kat artış gösterdiği; ayrıca HOCl konsantrasyonu arttıkça LDL yapısındaki AOPP düzeyinin de arttığı belirlenmiştir. Aynı çalışmada, yüksek AOPP ve PCC düzeyleri ile gösterildiği gibi, HOCl'nin LDL yapısını değiştirdiği, LDL-apo B proteinini başlıca hedef olarak kabul ettiği ve HOCl-oksLDL kompleksinin makrofaj solunum patlamasını indüklediği de gösterilmiştir (89).

Behçet hastalarında, nötrofil aktivasyonuna bağlı olarak artan MPO-HOCl sisteminin oluşturduğu hasar; literatürde ilk defa Üniversitemizde yapılan Yazıcı ve ark (9)'nın çalışmasında, yüksek plazma AOPP düzeyleriyle gösterilmiştir. Aynı çalışmadaki, plazma AOPP düzeylerinin ESR, CRP ve MPO ile pozitif yönde anlamlı korelasyonlar göstermesi; aktif hastalarda inaktif hastalara göre, plazma AOPP seviyelerinin daha yüksek olması gibi diğer bulgular (9) da, AOPP'nin nötrofil kaynaklı oksidatif hasarın göstergesi olabileceği görüşünü desteklemektedir. Bu çalışmada, aktif ve inaktif şeklinde bir hasta ayrımı olmasa da, Behçet hastalarının hepsinde yüksek plazma MPO aktivitesi ve PCC düzeylerinin yanı sıra, AOPP düzeyleri de yüksek bulundu. Yüksek MPO içeriklerinden dolayı, klorlu oksidanların başlıca kaynağını oluşturan nötrofillerin, Behçet hastalarının plazmasında AOPP oluşumundan sorumlu oldukları düşünülebilir.

Diğer taraftan, MPO aracılı oksidatif modifikasyon sonucunda, karbonil bileşiklerini taşıyan albümin gibi plazma proteinlerinin, aynı zamanda nötrofil aktivasyonunu başlatan proenflamatuvar mediyatörler oldukları ve enflamasyonun şiddetini artırdıkları da bildirilmektedir (90). Örneğin, AOPP'nin nötrofiller ve monositler arasında sitokin benzeri mediyatörler olduğu öne sürülmektedir (62).

Monosit, makrofaj ve dentritik hücrelerde üretilen bir sitokin olan neopterin, hücrel aracılı immünitinin ve monosit aktivasyonunun göstergesi olarak kabul edilmektedir (64,65). Neopterinin konak savunmasındaki rolü, SOR'un sitotoksik etkilerini

arttırmasına bağlanmakta ve monosit ile makrofajlarda ekstraselüler sitotoksik savunma mekanizmalarının oluşmasına katkıda bulunmaktadır (65).

Romatoid artrit, tiroidit, Tip 1 diyabet gibi oto immün hastalıklarda yükseldiği gösterilen neopterin düzeyleri (65), Behçet hastalarında da yüksek bulunmuş (21,91, 92) ve neopterin düzeylerindeki bu artış, Behçet hastalarındaki muhtemel monosit aktivasyonu ile açıklanmıştır (21). Bu çalışmada da, literatürle uyumlu olarak, neopterin düzeylerinin tüm Behçet hastalarında yükseldiği gözlenmiştir.

AOPP'nin nötrofiller ve monositler arasında sitokin benzeri mediyatörler olduğu (62) dikkate alındığında; neopterin düzeylerindeki artış, AOPP ile ilişkilendirilerek açıklanabilir. Şöyle ki; üremik hastalarda, yüksek plazma AOPP düzeyleri ile neopterin arasında pozitif ilişki olduğu gösterilmiştir (48). Buna karşılık *in vitro* şartlarda neopterin ile inkübe edilen normal ve üremik plazmalarda AOPP düzeyinin değişmediği belirlenmiştir. Bu bulgular, üremik hastalarda olduğu gibi, Behçet hastalarında da, *in vivo* nötrofil aktivasyonu sırasında MPO-aracılı oksidasyonla oluşan AOPP'nin, başlıca hedefi olan monositlerde solunum patlamasını ve neopterin sentezini başlatabileceği ve böylece enflamasyonun yayılmasında rol oynayabileceği şeklinde yorumlanabilir.

Oksidatif stres ve özellikle karbonil stres varlığında, organizmada *in vivo* protein oksidasyonunun bir diğer örneği de pirrolize proteinlerin oluşumudur. MDA gibi dikarbonilik aldehitler ile HNE, hidroksi-alkenal ve epoksi-alkenal gibi doymamış aldehitler; proteinler üzerinde OLAARP olarak adlandırılan ve pirrolleri de içine alan bir takım değişikliklere yol açmakta ve OLAARP oluşumu, proteinlerin varlığında, lipid peroksidasyonunun nihai sonucu olarak kabul edilmektedir (58).

*In vitro* şartlarda albümin ve globülinler gibi plazma proteinlerinin, hidroperoksitler ile hidroksi-alkenal, epoksi-alkenal ve diğer sekonder lipid peroksidasyonu ürünleriyle pirrolize olduğu gösterilmiş ve pirrolizasyonun derecesi, proteindeki lizil sayısı ile ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle plazma albümininde globülinlere göre daha çok lizil artışı bulunduğundan; pirrol oluşumu, organizmada en çok albümin üzerinde gerçekleşir (47).

Proteinlerin serbest amino gruplarıyla, özellikle C-NH<sub>2</sub> ile, lipid peroksidasyon ürünlerinin reaksiyonu sonucu, doğal ve yaygın şekilde oluşan pirrolize proteinlerin, hücrelerin veya organizmanın maruz kaldığı stresin gösterilmesinde bir "marker" olarak kullanılabilirliği öne sürülmektedir (60).

Bu çalışmada, Behçet hastalarının plazmasında pirrolize protein düzeyleri yüksek bulundu. Pirrolize protein ile ilgili literatür taraması yapıldığında, Behçet hastalarıyla yapılan bu çalışmanın literatürde ilk ve tek olduğu belirlendi. Diğer taraftan, pirrolize protein düzeylerinin Parkinson (59), Alzheimer (93), renal yetmezlik ve ateroskleroz (94) gibi hastalıklarda yükseldiği belirlendi. Bu hastalıkların hepsinin etiyolojisinde oksidatif stresin rol oynadığı dikkate alındığında, Behçet hastalarında da yükselmiş plazma pirrolize protein düzeylerinin beklenebileceği sonucuna varıldı.

Protein pirrolizasyonu, en çok lipid peroksidasyonu ürünleriyle ilişkilendirildiğinden ve hatta lipid peroksidasyonunun nihai sonucu olarak kabul edildiğinden (58,60); bu çalışmada lipid peroksidasyonunun, primer ürünleri arasında en stabil ilk ürün olan lipid hidroperoksit (53) düzeyleri de tayin edildi ve Behçet hastalarının plazmasında, pirrolize protein düzeylerine benzer şekilde, yüksek bulundu.

Literatürde Behçet hastalarında total lipid hidroperoksit düzeylerini ölçen toplam iki çalışmada da, plazma lipid hidroperoksit düzeyleri yüksek olarak bildirilmiş (95,96) ve bu yüksek düzeylerin Behçet hastalarında lipid peroksidasyonundaki artışa bağlı olduğu öne sürülmüştür (95).

Lipid peroksidasyonunun toksisitesi, peroksidasyon sırasında üretilen  $\alpha,\beta$ -doymamış ve/veya dikarbonilik aldehitlerle ilişkili olarak açıklanmakta (57) ve bu sekonder ürünlerin proteinlerle hem pirroller gibi OLAARP (58) ve hem de AGE ve ALE gibi PCC (42,46) oluşturduğu bilinmektedir. Diğer taraftan, dokularda aşırı miktarda üretilen hidroperoksi radikallerinin, düşük polariteleri nedeniyle membranlardan kolayca diffüze olarak (22) , kan plazmasına salındığı (97) da bilinmektedir.

Lipid peroksidasyonu ürünleri içerisinde en stabil ilk ürün olan lipid hidroperoksitlerinin yüksek düzeyleri, hem SOR-aracılı lipid peroksidasyonunun varlığını göstermesi (39), hem doğrudan pirrolize protein oluşumuna katılması (47) ve hem de OLAARP ve PCC gibi protein üzerindeki modifikasyonları oluşturacak karbonil bileşiklerinin öncülü olması nedeniyle; oksidatif stresin ortaya konulmasında önemli bir parametre olabilir. Gerçekten bu çalışmada, Behçet hastalarında sağlıklı gönüllülere göre, PCC, pirrolize protein ve lipid hidroperoksit düzeylerinin hepsi de, daha yüksek bulundu.

Literatürde, aktif nötrofillerden salınan MPO'nun; başta HOCl olmak üzere,  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  gibi SOR türevlerini üretebildiği (44) ve MPO-aracılı oluşan hipoklorit ve

kloraminlerin lipid hidroperoksit oluşumuna yol açtığı (52) bildirildiği gibi; HOCl için, başlıca hedefin proteinler olduğu; lipid ya da DNA gibi biyomolekülleri çok az modifiye edebildiği de bildirilmektedir (45). Behçet hastalarında, başlıca SOR kaynağı nötrofil aktivasyonu olsa da, herhangi bir şekilde ve herhangi bir SOR türüyle bir kere tetiklenen lipid peroksidasyonunun otokatalitik olarak yayılacağı ve yüzlerce yağ asidi zincirinin lipid hidroperoksitlerine çevrilebileceği de bilinmektedir (22,38).

Albümin, N-terminal bölgesindeki spesifik bir oktapeptid sekansı nedeniyle, Co, Ni ve özellikle Cu gibi metal iyonlarını bağlayabilme özelliğine sahiptir (66). Ancak, kardiyak iskemi, hipoksi, asidoz, serbest radikal hasarı, oksidatif stres (özellikle protein oksidasyonu) veya Fe/Cu iyonlarına maruz kalma durumlarında, metal bağlama kapasitesinin azaldığı gösterilen albümin, İMA olarak adlandırılmakta (49) ve Co-bağlama kapasitesi üzerinden tayin edilen serum/plazma İMA düzeyleri, başta AMİ ve unstabil anjina olmak üzere, kardiyovasküler hastalıklarda diyagnostik bir *marker* olarak kullanılmaktadır (98).

İMA ile ilgili yapılan literatür taramasında, her ne kadar kardiyovasküler hastalıklar çoğunlukta olsa da (49,99); kronik böbrek yetmezliği (100) ve hemodiyaliz (101) hastalarında, intestinal iskemi (102) ve maraton koşucularında (103) da İMA değerlerinin yüksek bulunması; İMA'nın kardiyak *marker* olmasının yanında, oksidatif stres parametresi olarak da kullanılabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmada serumda normal sınırlarda ölçülen total protein ve albümin düzeylerine orta derecede yüksek İMA değerleri eşlik etmektedir. Absorbans ünitesi ve albümin tarafından bağlanamayan kobalt (% serbest Co) olarak gösterilen İMA değerleri, Behçet hastaları için literatürde bir ilk olmakta ve oksidatif stresin yanı sıra, belki de bu hastalardaki potansiyel kardiyovasküler hastalık riskini göstermesi bakımından da önem taşımaktadır.

İntraselüler antioksidanlardan farklı olarak, plazmada bulunan başlıca antioksidanlar, ürik asit, proteinler, tiyoller ve vitaminlerdir (27, 68). Plazmada bulunan serbest tiyolün, başlıca sistein artıkları şeklinde, albümin yapısında lokalize olduğu bilinmektedir (69).

HOCl gibi, *in vivo* şartlarda sadece fagositik hücrelerce oluşturulabilen klorlu oksidanların, özellikle tiyol gruplarını oksitlediği ve bu nedenle plazma albüminini

selektif olarak hedef seçtikleri öne sürülmektedir (70). Tiyol bileşiklerinin de selektif olarak HOCl ve kloraminleri yakaladığı bilinmektedir (22). Eşit konsantrasyonda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve HOCl ile inkübe edilen normal plazma örneklerinde, *in vitro* tiyol seviyelerinin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile %30 ve HOCl ile %97 oranında azaldığı gösterilmiştir (88). Bu nedenle plazmada HOCl'i yakalayan en önemli antioksidanın tiyol olduğu söylenebilir.

Tiyol grubu oksidasyonu, aynı zamanda protein oksidasyonunun göstergesi olarak da düşünülebilir. Oksidatif strese sekonder gelişen tiyol kaybı, Himmelfarb ve ark (88) tarafından “*tiyol stres*” olarak adlandırılmıştır. Bu nedenle organizmada *tiyol stres*'in belirlenmesi, hem antioksidan gücün kaybını hem de protein oksidasyonunun derecesini yansıtacaktır (88).

Behçet hastalarında nötrofillerin (4,5,18) yanı sıra, plazmada da SOR tutucu aktivitenin düşük olduğu ve plazma antioksidan aktivite ile hastalığın şiddeti arasında ters ilişki olduğu bildirilmiştir (4). Üniversitemizde yapılan bir araştırmada, benzer şekilde, Behçet hastalarının plazmasında total antioksidan aktivitenin azaldığı belirlenmiş (104); yine aynı araştırma grubu tarafından yapılan başka bir çalışmada da, Behçet hastalarının plazmasında yüksek seruloplazmin ve bakıra karşılık, plazma transferrin, serbest tiyol ve selenyum seviyeleri ile GSH-Px aktivitesinin azaldığı gözlenerek, Behçet hastalarının plazmasında oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki dengenin bozulduğu sonucuna varılmıştır (6). Yıllar içerisinde Behçet hastalarında yapılan çalışmalarda da, plazma tiyol düzeyleri daima düşük bulunmuştur (9,79,95).

Nötrofil kaynaklı SOR üretiminin, antioksidan savunma sistemini zayıflatması kaçınılmaz olacaktır. Buna uygun şekilde, Behçet hastalarında plazma total antioksidan aktivitenin azaldığını gösteren (96,104) çalışmalarla uyumlu olarak, bu çalışmada da plazma tiyol düzeyleri, Behçet hastalarında düşük bulundu. Tiyol seviyelerindeki azalma, oksidatif stres şartlarında üretilen oksidanlara karşı, tiyolün tüketiliyor olmasına bağlanabilir. Plazmada albümin üzerinde bulunan tiyol gruplarının, plazmanın başlıca antioksidanları arasında yer aldığı (27) düşünülürse; Behçet hastalarında artan SOR üretiminin plazmada ana hedefinin tiyol grupları olacağı söylenebilir.

Bu çalışmada, yüksek PCC, pirrolize protein ve AOPP ile düşük tiyol seviyelerine sahip olan Behçet hastalarında; hem aşırı SOR üretimi ve hem de antioksidan kapasitenin zayıflaması nedeniyle, oksidatif stresin olduğu düşünülebilir. Oksidatif stresin proteinler üzerindeki etkisi irreversibl ve uzun süreli olduğundan, düşük tiyol değerleri, hem protein oksidasyonunun varlığını hem de antioksidan kapasitenin zayıfladığını yansıtabilir.

Behçet hastalığının etiyojisi kesin olarak bilinmediğinden, belirli bir tedavi şekli de yoktur. Bununla beraber, enflamatuvar hücre birikimini önlemek amacıyla, bu hücrelerin aktivitelerini ve/veya sayılarını azaltmaya yönelik tedavi şekilleri üzerinde durulmaktadır (20).

Günümüze kadar, Behçet hastalığı tedavisinde kortikostreoidler, kolşisin, interferon, siklosporin A gibi immünoşüpresifler yaygın olarak kullanılmasına rağmen (1,20); vitamin E (21, 87) ve C (105) gibi antioksidanların tedavide kullanımı, henüz çok yeni yaklaşımlardır. Serbest radikal toplayıcı olarak önerilen ginkgo biloba ekstresi (EGb 761) ile Behçet hastalarında yapılan *in vitro* çalışmada da, eritrositlerde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile indüklenen lipid peroksidasyonunun EGb 761 dozuna bağlı olarak inhibe edildiği gözlenmiştir (106).

Kökçam ve Nazıroğlu (21), altı hafta süreyle vitamin E verilen Behçet hastalarında, yüksek plazma MDA, neopterin, CRP düzeyleri ile düşük eritrosit GSH, katalaz ve GSH-Px aktivitelerinin, vitamin E ile normal düzeylere geldiğini gözlemişlerdir. Gülbahar ve ark (87)'nin çalışmasında da, Behçet hastalarında yüksek bulunan plazma MDA ve PCC düzeylerinin, kolşisin ve/veya vitamin E kullanımıyla düştüğü gözlenmiş ve bu preparatların oksidatif stresi baskılayabileceği öne sürülmüştür. Chambers ve ark (105) da, Behçet hastalarına bir hafta süreyle *iv* uygulanan vitamin C'nin, oksidatif stresin yol açtığı vasküler endotelyel disfonksiyonunu düzelttiğini göstermişlerdir.

Sistein amino asidinin N-asetil türevi olan NAC (33), yıllardır mukolitik ajan olarak solunum sistemi hastalıklarında kullanılmaktadır (31,32). NAC'ın mukolitik etkisi, sahip olduğu serbest tiyol grubuyla, balgamın mukoprotein içeriğindeki disülfid köprülerini kırmasına bağlanmaktadır (33).

Son yıllarda yapılan klinik (34) ve deneysel (107) çalışmalarla, NAC'ın güçlü bir antioksidan olduğu gösterilmiş ve fizyopatolojisinde oksidatif stresin rol aldığı çeşitli



tip kanser (31) ve hemodiyaliz (108) hastalarının tedavi protokollerine NAC da eklenmiştir.

NAC'ın antioksidan etkisi, bir çok farklı mekanizma ile açıklanmaktadır. Hepsinden önemlisi, NAC'ın bir GSH prekürsörü olmasıdır. *In vivo* ve *in vitro* çalışmalarla, GSH biyosentezini artırdığı gösterilen NAC (10); hem intraselüler GSH düzeylerini ve depolarını artırmakta (10) ve hem de ekstraselüler sistin ve sistein düzeylerini artırarak organizma için serbest tiyol kaynağı oluşturmaktadır (31). Martino ve ark (108), bir ay arayla 12 seans süresince *iv* olarak 1.0 ve 2.0 g NAC verilen hemodiyaliz hastalarında kan GSH düzeylerinin yükseldiğini gözlemişlerdir.

GSH prekürsörü olmasının yanı sıra; NAC, direkt olarak  $O_2^{\cdot-}$ ,  $HO^{\cdot}$ ,  $H_2O_2$ ,  $HOCl$  gibi SOR türevlerini toplayabilme özelliğine de sahiptir NAC, yapısında bulunan sisteinin serbest tiyol grupları arasında disülfid bağları oluştururken; maruz kaldığı SOR türevini de redükleyerek etkisiz hale getirmektedir (35).

Bu çalışma, yapılan literatür taramasına göre, *in vivo* olarak NAC'ın Behçet hastalarında kullanıldığı ilk çalışmadır. Plasebo kontrollü olarak yapılan bu çalışmada, tedavi protokolüne bir ay süreyle 2x600 mg oral NAC eklenen hastalarda; NAC kullanımından önce yüksek bulunan plazma MPO, PCC, AOPP, neopterin, total lipid hidroperoksit, pirrolize protein ve İMA düzeylerinin azalarak normale yaklaştığı gözlemlendi. Daha da önemlisi, Behçet hastalarında düşük olarak tayin edilen serbest tiyol düzeylerinin NAC tedavisi sonunda normal seviyelere çıktığı belirlendi. Bu bulguları, Behçet hastalığı ile ilgili literatürle karşılaştırma imkanı olmadığından; oksidatif stresle ilişkili ve NAC kullanılan klinik ve deneysel çalışmalar dikkate alınarak bir karşılaştırma yapıldı.

Organofosfat insektisidlerinden olan fosfamidon (109) ve diazinon (110) ile oksidatif stresin oluşturulduğu ve humoral immünitinin baskılandığı (109) ratlarda; serum MDA (109) /TBARS (110) düzeylerini düşüren, eritrosit GSH ile SOD ve katalaz aktivitelerini (109) ve plazma total antioksidan kapasite ile total tiyol düzeylerini (110) artıran NAC'ın, organofosfatların yol açtığı nörotoksisite ve immünotoksisite ile ilişkili serbest radikal hasarını ve immün disfonksiyonunu önlediği sonucuna varılmıştır (109,110).

Miyokardiyal (107) veya renal iskemi–reperfüzyon (111) hasarı oluşturulan veya hiperglisemik yapılan (112) ratlara *ip/iv* uygulanan NAC'ın, doku TBARS (111) ve

PCC (111,112) düzeyleri ile MPO aktivitesini düşürdüğü ve GSH içeriğini arttırdığı (107) gösterilmiştir. Benzer şekilde, asetik asit ile ülseratif kolit oluşturulan ratların kolon dokularında yükselmiş bulunan MPO ve MDA ile düştüğü belirlenen SOD ve katalaz aktiviteleri ile GSH'ın, *ip* ya da *intrarektal* NAC uygulaması sonucunda normal düzeylere ulaştığı (113); serebral iskemi oluşturulan gerbillerde de yüksek bulunan beyin MDA ile hippocampus MPO aktivitesinin *ip* NAC uygulamasıyla düştüğü (114) belirlenmiştir.

Lazarova ve ark (115), yüksek kardiyovasküler hastalık riskine sahip olan bireylere 20 gün boyunca oral verilen 600 mg NAC'ın, plazma AOPP düzeylerini önemli ölçüde düşürdüğünü gözlemişler; İMA değerlerinde gözlenen azalmanın anlamlı olmamasını da, hasta sayısının az olmasına bağlamışlardır. Sultan-Sharifi ve ark (116) da, NAC verilen akut respiratuvar distres sendromlu hastalarda eritrosit GSH ve plazma total tiyol düzeylerinin yükseldiğini ve plazmanın total antioksidan kapasitesinde artış olduğunu gözlemişlerdir.

Bu deneysel ve klinik çalışmalar topluca değerlendirildiğinde; oksidatif stresle ilişkilendirilen pek çok farklı patolojik durumda; NAC'ın antioksidan etkisi kendini göstermektedir. Bu nedenle, patogenezinde oksidatif stresinde yer aldığı Behçet hastalığında da NAC'ın oksidatif hasara karşı koruyucu ve önleyici etkilerinin görülmesi beklenebilir.

Plazma gibi ekstraselüler ortamlarda, serbest tiyol grupları, SOR'a karşı savunmada esansiyel kabul edilmektedir (27,29). NAC'ın antioksidan etkisi, sahip olduğu serbest tiyol grubuna bağlı olduğuna göre; çeşitli patolojik durumlarda kullanılan NAC, öncelikle doku ve plazmanın tiyol içeriğini destekleyecek ve oksidatif stres şartlarında hızla tüketilen tiyolün belli bir düzeyde tutulmasını sağlayacaktır.

Plazmada MPO kaynaklı başlıca SOR türevinin HOCl olduğu (44) ve HOCl'i yakalayan en önemli antioksidanın tiyol olduğu (70,88) dikkate alındığında; organizmanın tiyol kaynaklarını destekleyen NAC'ın, HOCl'i etkisiz hale getirmesi beklenir. Gerçekten, Aruoma ve ark (35) tarafından yapılan çalışmada, NAC'ın HOCl için güçlü bir toplayıcı olduğu gösterilmiştir. Dahası, Witko-Sarsat ve ark (117), HSA-AOPP ve üremik hastaların plazmasından izole ettikleri AOPP'nin, *in vitro* olarak nötrofil ve monositlerde solunum patlamasını ve NADPH oksidaz ile MPO aktivitelerini artırdıklarını göstermişler ve NAC'ın hem nötrofil hem monosit

aktivasyonunu ve enzim aktivitelerini baskıladığını gözleyerek; hemodiyaliz hastalarında oksidatif stresle ilişkili enflamasyonu önlemede, terapötik ajan olarak NAC kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir.

Ayrıca, NAC'ın nötrofil, monosit, aktivasyonunu engelleyerek iskemi/reperfüzyon patomekanizmasında primer role sahip olduğu da bildirilmiştir (118). Benzer şekilde, sağlıklı gönüllülerle yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmada, NAC'ın solunum patlamasını baskıladığı gösterilmiştir (119). Bu nedenle bu çalışmada, NAC tedavisini takiben PCC, AOPP, pirrolize protein, İMA gibi protein oksidasyonu ürünlerinin normale yakın düzeylerde olması; nötrofil-MPO kaynaklı klorlu oksidanların ve diğer SOR türevlerinin oluşumlarının, NAC varlığında önlendiği şeklinde açıklanabilir.

Diğer taraftan NAC, çok yüksek dozlarda kullanıldığında bile, gayet iyi tolere edilebilen minimum yan etkiye sahip terapötik bir ajandır (31). Bu çalışmada da NAC'ın plazma glukoz düzeylerini, karaciğer ve böbrek fonksiyon testlerini etkilemediği belirlenmiştir. Literatürde ayrıca, gönüllülere oral olarak 30 mg/kg dozda NAC verilmesini takiben 30 dakika içinde plazma serbest sistein ve GSH düzeylerinde artış olmadığı; ancak asetaminofen zehirlenmelerinde olduğu gibi, GSH gereksiniminin arttığı durumlarda, 2.0 g dozda kullanılan NAC'ın plazma sistein ve GSH düzeylerini artırdığı bildirilmektedir (31).

Bu çalışmanın bulguları ve literatür bilgisi birlikte değerlendirildiğinde; literatürde Behçet hastalarında ayrı ayrı MPO, PCC, AOPP, neopterin, total lipid hidroperoksit ve tiyol düzeylerini gösteren çalışmalar olmasına rağmen; bu parametrelerin birlikte değerlendirildiği bu ilk çalışmada, nötrofil aktivasyonu sırasında MPO tarafından üretilen klorlu oksidanların ve diğer SOR türevlerinin, Behçet hastalarında gözlenen artmış oksidatif stresin başlıca kaynağı oldukları düşünülebilir. Behçet hastalarında MPO aktivitesinin nötrofillerde düşük, buna karşılık plazmada yüksek olması; nötrofillerden plazmaya aşırı miktarda MPO salındığı; MPO'nun da plazma PCC, total lipid hidroperoksit düzeylerinin yükselmesine, tiyol düzeylerinin azalmasına ve daha da önemlisi, AOPP oluşumuna yol açtığı düşünülebilir. Diğer taraftan, Behçet hastalarında plazma neopterin düzeylerinin de yüksek bulunması, enflamasyonun yayılmasında, AOPP ile neopterin arasındaki ilişkinin rol oynayabileceği şeklinde yorumlanabilir. İlk defa Behçet hastalarında bu çalışmada tayin edilen plazma pirrolize protein ve İMA düzeyleri de, bu hastalarda oksidatif stresin protein oksidasyonu üzerinden değerlendirilmesinde, literatüre katkıda bulunabilecek önemli

parametreler olarak kabul edilebilir. Ayrıca, Behçet hastalarında NAC'ın kullanıldığı bu ilk çalışma, NAC'ın *tiyol stresi* baskılayarak sağladığı antioksidan gücün gösterilmesi bakımından da önem taşımaktadır. Çalışmanın plasebo kontrollü yapılması, bulguların güvenilirliğini daha da artırmaktadır. Klasik tedavinin yanı sıra hastalara NAC verilmesi, iyileşme süresini kısaltabilir ve remisyon dönemini de uzatabilir; özellikle tedaviye dirençli Behçet hastaları için, alternatif bir tedavi modeli olabilir.

Sonuç olarak, yüksek MPO aktivitesiyle yansıtıldığı gibi, Behçet hastalığında aktif nötrofiller tarafından aşırı SOR üretiminin, yüksek serum/plazma PCC, AOPP, pirrolize protein, İMA ve düşük serbest tiyol seviyeleriyle yansıtıldığı gibi, protein oksidasyonuna neden olduğu ve ayrıca, güçlü bir antioksidan olan ve ciddi bir yan etkisi olmayan NAC'ın, Behçet'i de içine alan oksidatif stresle ilişkili birçok hastalığın tedavi protokolüne eklenebileceği söylenebilir.

## 6. SONUÇLAR

Behçet hastalığında, oksidatif stresin varlığını; artmış nötrofil aktivasyonu, protein oksidasyon ürünleri ve azalmış antioksidan aktivite üzerinden göstermek ve hastaların mevcut tedavi protokolüne ilave edilen NAC'ın, oksidatif stres üzerine olası etkilerini araştırmak amacıyla yapılan bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, aşağıda sıralandı:

- Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; tüm Behçet hastalarında; MPO aktivitesi, total lipid peroksit, PCC, pirrolize protein, AOPP, neopterin ve İMA seviyeleri yüksek, buna karşılık tiyol düzeyleri belirgin bir şekilde düşük bulundu.
- Behçet hastalarından rastgele oluşturulan NAC ve Plasebo grupları birbiriyle karşılaştırıldığında; çalışılan tüm parametreler arasında istatistiki bir farkın olmadığı belirlendi.
- NAC grubunda tedavi sonrasında, MPO aktivitesi, total lipid peroksit, PCC, pirrolize protein, AOPP, neopterin ve İMA seviyeleri anlamlı olarak azalırken; tiyol düzeyleri belirgin bir şekilde yükseldi.
- Plasebo grubunda, tedavi sonrasında ölçülen parametreler bakımından herhangi bir değişiklik gözlenmedi.
- Tedavi sonrasında, NAC grubu kontrol değerlerine yaklaşırken plasebo grubunda bir değişiklik olmadığı gözlemlendi.

## 7. KAYNAKLAR

1. Calamia KT, Kaklamanis PG. Behçet's disease: recent advances in early diagnosis and effective treatment. *Curr Rheumatol Rep* 2008; 10: 349-55.
2. Niwa Y, Miyake S, Sakane T, Shingu M, Yokoyama M. Auto-Oxidative damage in Behçet's disease-endothelial cell damage following the elevated oxygen radicals generated by stimulated neutrophils. *Clin Exp Immunol* 1982; 49:247-55.
3. Niwa Y, Mizushima Y. Neutrophil-potentiating factors released from stimulated lymphocytes; special reference to the increase in neutrophil-potentiating factors from streptococcus-stimulated lymphocytes of patients with Behçet's disease. *Clin Exp Immunol* 1990; 79: 353-60.
4. Pronai L, Ichikawa Y, Nakazawa H, Arimori S. Enhanced superoxide generation and the decreased superoxide scavenging activity of peripheral blood leukocytes in Behçet's disease-effect of colchicine. *Clin Exp Rheumatol* 1991; 9: 227-33.
5. Doğan P, Tanrikulu G, Soyuer Ü, Köse K. Oxidative enzymes of polymorphonuclear leucocytes and plasma fibrinogen, ceruloplasmin and copper levels in Behçet's disease. *Clin Biochem* 1994; 24: 413-18.
6. Köse K, Doğan P, Aşçıoğlu M, Erkiş K, Aşçıoğlu Ö. Oxidative stress and antioxidant defences in plasma of patients with Behçet's Disease. *Tohoku J Exp Med* 1995; 176: 239-48.
7. Köse K, Yazici C, Çambay N, Aşçıoğlu O, Doğan P. Lipid peroxidation and erythrocyte antioxidant enzymes in patients with Behçet's disease. *Tohoku J Exp Med* 2002; 197: 9-16.
8. Berlett BS, Stadtman ER. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *J Biol Chem* 1997; 272: 20313-16.

9. Yazici C, Kose K, Calis M, Demir M, Kirnap M, Ates F. Increased advanced oxidation protein products in Behçet's disease: a new activity marker? *Br J Dermatol* 2004; 151: 105-11.
10. Atkuri KR, Montavani JJ, Herzenberg LA, Herzenberg LA. N-Acetylcysteine-a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency. *Curr Opin Pharmacol* 2007; 7: 355-9.
11. Behçet H. Über rezidivierende aphthose, durch ein virus verursachte geschwure am mund, am auge und an den genitalien. *Dermatol Wochenschr* 1937; 105: 1152-57.
12. Evereklioglu C. Current concepts in the etiology and treatment of Behçet disease. *Surv Ophthalmol* 2005; 50: 297-350.
13. Arca E, Gür AR. Behçet Hastalığı. *T Klin J Med Sci* 2003; 23: 261-68.
14. Marshall SE. Behçet's disease. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2004; 18: 291-311.
15. Borlu M. Behçet hastalığında etyopatogenez. *Sağlık Bilimleri Dergisi* 2007; 16: 63-72.
16. Otaibi LM, Porter SR, Poate TWJ. Behçet's disease: A review. *J Dent Res* 2005; 84: 209-22.
17. Alpsöy E, Zouboulis CC, Ehrlich GE. Mucocutaneous lesions of Behçet's disease. *Yonsei Med J* 2007; 48: 573-85.
18. Pronai L, Ichikawa Y, Nakazawa H, Arimori S. Superoxide scavenging activity of leukocytes in rheumatoid arthritis and Behçet's diseases. *Tokai J Exp Clin Med* 1990; 15: 93-7.
19. International Study Group for Behçet's Disease: Criteria for diagnosis of Behçet's disease. *Lancet* 1990; 335: 1078-80.
20. Gul A. Standard and novel therapeutic approaches to Behçet's disease. *Drugs* 2007; 67: 2013-22.
21. Kökçam İ, Naziroglu M. Effects of vitamin E supplementation on blood antioxidants levels in patients with Behçet's disease. *Clin Biochem* 2002; 35: 633-39.
22. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine* (2<sup>nd</sup> ed). Clarendon Press, Oxford 1996, pp 10-19, 86-130, 196.

23. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izaković M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006; 160: 1-40.
24. Valdez LB, Arnaiz SL, Bustamante J, Alvarez S, Costa LE, Boveris A. Free radical chemistry in biological systems. *Biol Res* 2000; 33: 1-8.
25. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49: 481-93.
26. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819-28.
27. Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys* 1990; 280: 1-8.
28. Rumley AG, Paterson JR. Analytical aspects of antioxidants and free radical activity in clinical biochemistry. *Ann Clin Biochem* 1998; 35: 181-200.
29. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* 1997; 82: 291-5.
30. Stadtman ER, Levine RL. Protein oxidation. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 899: 191-208.
31. Kelly GS. Clinical applications of N-acetylcysteine. *Altern Med Rev* 1998; 3: 114-27.
32. Zafarullah M, Li WQ, Sylvester J, Ahmad M. Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. *Cell Mol Life Sci* 2003; 60: 6-20.
33. Gillissen A, Nowak D. Characterization of N-acetylcysteine and ambroxol in anti-oxidant therapy. *Respir Med* 1998; 92: 609-23.
34. Sochman J. N-Acetylcysteine in acute cardiology: 10 years later what do we know and what would we like to know? *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 1422-8.
35. Aruoma OI, Halliwell B, Hoey BM, Butler J. The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. *Free Radic Biol Med* 1989; 6: 593-7.
36. Pire L, Deby-Dupont G, Lemineur T, Preisser JC. How to keep oxidative stress under control? *Current Nutrition & Food Science* 2007; 3: 222-35.
37. Shacter E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metab Rev* 2000; 32: 307-26.
38. Gutteridge JM, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci* 1990; 15: 129-35.
39. Uchida K. Lipid peroxidation and redox-sensitive signaling pathways. *Curr Atheroscler Rep* 2007; 9: 216-21.
40. Therond P, Bonnefont-Rousselot D, Davit-Spraul A, Conti M, Leqrand A. Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2000; 3: 373-84.
41. Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies Mj. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem J* 1997; 324: 1-18.
42. Stadtman ER. Protein oxidation and aging. *Free Radic Res* 2006; 40: 1250-8.
43. Dalle-Donne I, Giustarini D, Colombo R, Rossi R, Milzani A. Protein carbonylation in human diseases. *Trends Mol Med* 2003; 9: 169-76.



44. Klebanoff SJ. Oxygen metabolism and the toxic properties of phagocytes. *Ann Intern Med* 1980; 93: 480-9.
45. Hampton MB, Kettle AJ, Winterbourn CC. Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase and bacterial killing. *Blood* 1998; 92: 3007-17.
46. Reznick AZ, Packer L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol* 1994; 233: 357-63.
47. Hidalgo FJ, Alaiz M, Zamora R. A Spectrophotometric method for the determination of proteins damaged by oxidized lipids. *Anal Biochem* 1998; 262: 129-36.
48. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillère-Blandin C, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int* 1996; 49: 1304-13.
49. Bar-Or D, Lau E, Winkler JV. A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia-a preliminary report. *J Emerg Med* 2000; 19: 311-5.
50. Guilpain P, Servettaz A, Batteux F, Guillevin L, Mouthon L. Natural and disease associated anti-myeloperoxidase (MPO) autoantibodies. *Autoimmunity Reviews* 2008; 7: 421-5.
51. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: friend and foe *J Leukoc Biol.* 2005; 77: 598-625.
52. Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med* 1989; 320: 365-76.
53. Nourooz-Zadeh J. Ferrous ion oxidation in presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxides in plasma. *Methods Enzymol* 1999; 300: 58-62.
54. Porter NA, Caldwell SE, Mills KA. Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids* 1995; 30: 277-90.
55. Nourooz-Zadeh J, Tajaddini-Sarmadi J, Wolff SP. Measurement of plasma hydroperoxide concentrations by the ferrous oxidation-xylenol orange assay in conjunction with triphenylphosphine. *Anal Biochem* 1994; 220: 403-9.
56. Gupta BL. Microdetermination techniques for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in irradiated solutions. *Microchem J* 1973; 18: 363-74.
57. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 1991; 11: 81-128.
58. Zamora R, Alaiz M, Hidalgo FJ. Feed-back inhibition of oxidative stress by oxidized lipid/amino acid reaction products. *Biochemistry* 1997; 36: 15765-71.
59. Yoritaka A, Hattori N, Uchida K, Tanaka M, Stadtman ER, Mizuno Y. Immunohistochemical detection of 4-hydroxynonenal protein adducts in Parkinson disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 2696-701.
60. Martinez-Cruz F, Guerrero JM, Osuna C. Melatonin prevents the formation of pyrrolized proteins in human plasma induced by hydrogen peroxide. *Neurosci Lett* 2002; 326: 147-50.

61. Lyons TJ. Glycation, carbonyl stress, EAGLEs, and the vascular complications of diabetes. *Semin Vasc Med* 2002; 2: 175-89.
62. Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V. Importance of oxidatively modified proteins in chronic renal failure. *Kidney Int Suppl* 2001; 78: 108-13.
63. Witko-Sarsat V, Gausson V, Descamps-Latscha B. Are advanced oxidation protein products potential uremic toxins? *Kidney Int Suppl* 2003; 84: 11-4.
64. Hamerlinck FF. Neopterin: a review. *Exp Dermatol* 1999; 8: 167-76.
65. Hoffmann G, Schobersberger W. Neopterin: a mediator of the cellular immune system. *Pteridines* 2004; 15: 107-12.
66. Bar-Or D, Curtis G, Rao N, Bampos N, Lau E. Characterization of the Co(2+) and Ni(2+) binding amino-acid residues of the N-terminus of human albumin. An insight into the mechanism of a new assay for myocardial ischemia. *Eur J Biochem* 2001; 268: 42-7.
67. Fagan GJ, Wayment H, Morris DL, Crosby PA. The albumin cobalt binding test: analytical performance of a new automated chemistry assay for the detection of ischemia modified albumin (IMA). *J Clin Ligand Assay* 2002; 25: 178-87.
68. Wayner DD, Burton GW, Ingold KU, Barclay LR, Locke SJ. The relative contributions of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the total peroxyl radical-trapping antioxidant activity of human blood plasma. *Biochim Biophys Acta* 1987; 924: 408-19.
69. Bar-Or D, Bar-Or R, Rael LT, Gardner DK, Slone DS, Craun ML. Heterogeneity and oxidation status of commercial human albumin preparations in clinical use. *Crit Care Med* 2005; 33: 1638-41.
70. Hu ML, Louie S, Cross CE, Motchnik P, Halliwell B. Antioxidant protection against hypochlorous acid in human plasma. *J Lab Clin Med* 1993; 121: 257-62.
71. Aras K, Erşen G. *Klinik Biyokimya*. Ankara. AÜ. Basımevi. 1975: 17-18.
72. Bradley PP, Priebat DA, Christensen RD, Rothstein G. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *J Invest Dermatol* 1982; 78: 206-69.
73. Gürler A, Boyvat A, Türsen Ü. Clinical manifestations of Behçet's disease: an analysis of 2147 patients. *Yonsei Med J* 1997; 38: 423-7.
74. Davies PG, Fordham JN, Dirwan JR. The pathergy test and Behçet's syndrome in Britain. *Ann Rheum Dis* 1984; 43: 70-3.

75. Önder M, Gürer MA. The multiple faces of Behçet's disease and its aetiological factors. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2001; 15:126-36.
76. Alpsoy E. Behçet hastalığında tedavi. *Türk Dermatoloji Dergisi* 2007; 1: 1-7.
77. Accardo-Palumbo A, Triolo G, Carbone MC, et al. Polymorphonuclear leukocyte myeloperoxidase levels in patients with Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol* 2000; 18: 495-8.
78. Triolo G, Accardo-Palumbo A, Triolo G, Carbone MC, Ferrante A, Giardina E. Enhancement of endothelial cell E-selectin expression by sera from patients with active Behçet's disease: moderate correlation with anti-endothelial cell antibodies and serum myeloperoxidase levels. *Clin Immunol* 1999; 91: 330-7.
79. Bekpınar S, Kilic N, Unlucerci Y, Akdag-Köse A, Azizlerli G, Ozbek-Kir Z. Evaluation of nitrosative and oxidative stress in Behçet disease. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2005; 19: 167-71.
80. Köse K, Yazıcı C, Aşçıoğlu Ö. The evaluation of lipid peroxidation and adenosine deaminase activity in patients with Behçet's disease. *Clin Biochem* 2001; 34: 125-9.
81. Köse K, Yazıcı C, Çambay N, Aşçıoğlu Ö, Doğan P. Lipid peroxidation in patients with Behçet's disease. *EÜ J Health Sci* 2000; 9: 1-8.
82. Erdem T, Akdeniz N, Altuntaş İ, Akçay F. Lipid peroksidation in Behçet's disease in active and remission periods. *Tr J Med Sci* 1999; 29:661-4.
83. Orem A, Efe H, Değer O, Çimşit G, Uydu HA, Vanızor B. Relationship between lipid peroxidation and disease activity in patients with Behçet's disease. *J Dermatol Sci* 1997; 16: 11-6.
84. Sağlam K, Serce AF, Yılmaz MI, et al. Trace elements and antioxidant enzymes in Behçet's disease. *Rheumatol Int* 2002; 22: 93-6.
85. Tüzün A, Aydın A, Turan M. Erythrocyte antioxidant activity and trace element levels in Behçet's disease. *Biol Trace Element Res* 1998; 64: 169-74.
86. Taysi S, Kocer I, Memisogullari R, Kiziltunc A. Serum oxidant/antioxidant status in patients with Behçet's disease. *Clin Lab Sci* 2002;32:377-82.
87. Gulbahar O, Adisen H , Koca C, Aricioglu A, Gulekon A. Changes in serum carbonyl and malondialdehyde levels following colchicine and vitamin E treatment in Behçet's disease. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2007; 29: 521-4.
88. Himmelfarb J, McMonagle E, McMenamin E. Plasma protein thiol oxidation and carbonyl formation in chronic renal failure. *Kidney Int.* 2000; 58: 2571-8.

89. Nguyen-Khoa T, Massy ZA, Witko-Sarsat V, et al. Oxidized low-density lipoprotein induces macrophage respiratory burst via its protein moiety: A novel pathway in atherogenesis? *Biochem Biophys Res Commun* 1999 ; 263: 804-9.
90. Körmöczi GF, Wölfel UM, Rosenkranz AR, Hörl WH, Oberbauer R, Zlabinger GJ. Serum proteins modified by neutrophil-derived oxidants as mediators of neutrophil stimulation. *J Immunol* 2001; 167: 451-60.
91. Durukan AH, Hurmeric V, Akgül EO, Kilic S, Bayraktar MZ. Urinary neopterin levels in uveitis: is it a new activity marker? *Ocul Immunol Inflamm* 2007; 15: 303-8.
92. Köse O, Arca E, Akgül O Erbil K. The levels of serum neopterin in Behçet's disease--objective marker of disease activity. *J Dermatol Sci* 2006; 42: 128-30.
93. Sayre LM, Zelasko DA, Harris PL, Perry G, Salomon RG, Smith MA. 4-Hydroxynonenal-derived advanced lipid peroxidation end products are increased in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 1997; 68: 2092-7.
94. Kaur K, Salomon RG, O'Neil J, Hoff HF. (Carboxyalkyl)pyrroles in human plasma and oxidized low-density lipoproteins. *Chem Res Toxicol* 1997; 10: 1387-96.
95. Işık A, Koca SS, Üstündağ B, Selek S. Decreased total antioxidant response and increased oxidative stress in Behçet's disease. *Tohoku J Exp Med* 2007; 212: 133-41.
96. Orem A, Yandi YE, Vanizor B, Cimşit G, Uydu HA, Malkoç M. The evaluation of autoantibodies against oxidatively modified low-density lipoprotein (LDL), susceptibility of LDL to oxidation, serum lipids and lipid hydroperoxide levels, total antioxidant status, antioxidant enzyme activities, and endothelial dysfunction in patients with Behçet's disease. *Clin Biochem* 2002; 35: 217-24.
97. Kasama T, Kobayashi K, Sekine F, et al. Follow-up study of lipid peroxides, superoxide dismutase and glutathione peroxidase in the synovial membrane, serum and liver of young and old mice with collagen-induced arthritis. *Life Sci* 1988; 43: 1887-96.
98. Aslan D, Apple FS. Ischemia modified albumin measured by the albumin cobalt binding test: a clinical and analytical review. *Lab Med* 2004; 35: 1-5.
99. Anwaruddin S, Januzzi JL, Baggish AL, Lewandrowski EL, Lewandrowski KB. Ischemia-modified albumin improves the usefulness of standard cardiac biomarkers for the diagnosis of myocardial ischemia in the emergency department setting. *Am J Clin Pathol* 2005; 123: 140-5.
100. Cichota LC, Moresco RN, Duarte MM, Silva JE. Evaluation of ischemia-modified albumin in anemia associated to chronic kidney disease. *J Clin Lab Anal* 2008; 22: 1-5.

101. Montagnana M, Lippi G, Tessitore N, et al. Effect of hemodialysis on traditional and innovative cardiac markers. *J Clin Lab Anal* 2008; 22: 59-65.
102. Polk JD, Rael TL, Craun ML, Mains CW, Davis-Merritt D, Bar-Or D, et al. Clinical utility of cobalt-albumin binding assay in the diagnosis of intestinal ischemia. *J Trauma* 2008; 64: 42-5.
103. Apple FS, Quist HE, Otto AP, Mathews WE, Murakami MM. Release characteristics of cardiac biomarkers and ischemia-modified albumin as measured by the albumin cobalt-binding test after a marathon race. *Clin Chem* 2002; 48: 1097-100.
104. Köse K, Doğan P, Aşçıoğlu M, Erkılıç K, Aşçıoğlu Ö. Behçet hastalığında plazmanın antioksidan potansiyeli. *Erciyes Tıp Dergisi* 1993; 15: 350-6.
105. Chambers JC, Haskard DO, Kooner JS: Vascular endothelial function and oxidative stress mechanisms in patients with Behçet's syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 517-20.
106. Köse K, Doğan P, Aşçıoğlu M, Aşçıoğlu Ö. In vitro antioxidant effect of ginkgo biloba extract (EGb 761) on lipoperoxidation induced by hydrogen peroxide in erythrocytes of Behçet's patients. *Jpn J Pharmacol* 1997; 75: 253-8.
107. Abe M, Takiguchi Y, Ichimaru S, Tsuchiya K, Wada K. Comparison of the protective effect of N-acetylcysteine by different treatments on rat myocardial ischemia-reperfusion injury. *J Pharmacol Sci* 2008; 106: 571-7.
108. Martino C, Gianello P, Manfredini P, et al. Antioxidant activity of N-acetylcysteine in patients undergoing haemodialysis. In *Free Radicals, Nitric oxide and Inflammation: Molecular, Biochemical and Clinical Aspects*. Antalya, Turkey, 2001.
109. Suke SG, Ahmed RS, Pathak R, Tripathi AK, Banerjee BD. Attenuation of phosphamidon-induced oxidative stress and immune dysfunction in rats treated with N-acetylcysteine. *Braz J Med Biol Res* 2008; 41: 765-8.
110. Shadnia S, Dasgar M, Taghikhani, Mohammadirad A, Khorasani R, Abdollahi M. Protective effects of tocopherol and N-acetylcysteine on diazinon-induced oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in rats. *Toxicol Mech Methods* 2007; 17: 109-15.
111. Erdogan H, Fadillioglu E, Yagmurca M, Uçar M, Irmak MK. Protein oxidation and lipid peroxidation after renal ischemia-reperfusion injury: protective effects of erdosteine and N-acetylcysteine. *Urol Res* 2006; 34: 41-6.

112. Haber CA, Lam TK, Yu Z, et al. N-acetylcysteine and taurine prevent hyperglycemia-induced insulin resistance in vivo: possible role of oxidative stress. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 285: 744-53.
113. Cetinkaya A, Bulbuloglu E, Kurutas EB, Çiralik H, Kanatrçeken B, Büyükbese MA. Beneficial effects of N-acetylcysteine on acetic acid-induced colitis in rats. *Tohoku J Exp Med* 2005; 206: 131-9.
114. Cuzzocrea S, Mazzon E, Costantino G, et al. Beneficial effects of n-acetylcysteine on ischaemic brain injury. *Br J Pharmacol* 2000; 130: 1219-26.
115. Lazárová M, Stejskal D, Lacnák B, et al. The antioxidant acetylcysteine reduces oxidative stress by decreasing level of AOPPs. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2004; 148: 131-3.
116. Soltan-Sharifi MS, Mojtahedzadeh M, Najafi A, et al. Improvement by N-acetylcysteine of acute respiratory distress syndrome through increasing intracellular glutathione, and extracellular thiol molecules and anti-oxidant power: evidence for underlying toxicological mechanisms. *Hum Exp Toxicol* 2007; 26: 697-703.
117. Witko-Sarsat V, Gausson V, Nguyen A, et al. AOPP-induced activation of human neutrophil and monocyte oxidative metabolism: A potential target for N-acetylcysteine treatment in dialysis patients. *Kidney Int* 2003; 64: 82-91
118. Kharazmi A, Nielsen H, Schiotz PO. N-Acetylcystein inhibits human neutrophil and monocyte chemotaxis and oxidative metabolism. *Int J Immunopharmacol* 1988; 10: 39-46.
119. Sadowska MA, Manuel-y-Keenoy B, Vertongen T, et al. Effect of N-Acetylcysteine on neutrophil activation markers in healthy volunteers: *In vivo* and *in vitro* study. *Pharmacol Res* 2006; 53: 216-25.

**Ek Tablo 1: Kontrol Grubu Değerleri**

	Ad	Cin	Yaş (yıl)	Pirr. Pro.	Neo.	AOPP	Tiyol	MPO	Lipid Per.	PCC	İMA (ABSU)	İMA %Co	AST	ALT	Bun	Kre.	Hg	CRP	ESR	Glu	Alb	T.Pro	Lök	Nöt	Mon.
1	M.S	K	36	1.35	5.6	22.46	359.29	69.8	16.88	0.74	0.280	29.39	12	10	8	0.7	13.6	2.0	5	91	4.2	7.5	5.83	3.55	0.48
2	F.P	K	25	1.07	3.2	24.92	380.71	62.7	14.69	0.76	0.263	27.45	7	6	6	0.5	13.1	3.13	10	83	4	7.2	7.1	3.88	0.6
3	A.B	K	41	1.19	4.8	19.73	335.00	80.4	15.81	0.76	0.314	33.25	19	20	6	0.8	14	3.13	21	87	4.1	6.9	7.54	4.38	0.73
4	M.A	K	27	1.15	5.3	24.37	303.57	76.4	4.64	0.96	0.252	26.20	16	18	9	0.6	13.1	3.17	2	93	4.3	7.6	6.65	2.61	0.53
5	E.A	E	39	1.26	4.6	20.82	400.71	67.6	15.06	0.95	0.346	36.89	15	14	9	0.7	15.9	3.17	8	101	4.3	7.4	7.14	3.86	0.52
6	A.K	E	37	1.02	4.6	18.36	353.57	81.7	17.26	1.04	0.311	32.91	13	8	8	0.7	16.3	3.13	15	99	3.8	6.8	5.64	3.52	0.54
7	H.K	K	28	1.19	2.8	23.28	332.14	78.2	14.79	0.98	0.352	37.57	15	18	6	0.5	12	3.13	2	85	4.1	7.1	5.28	4.21	0.53
8	B.E	E	30	0.93	1.8	30.38	455.00	92.8	7.48	0.88	0.351	37.45	7	9	15	1.1	15.6	3.13	2	90	4.5	7.2	6.47	3.75	0.42
9	S.K	K	36	1.00	3.4	24.10	325.00	79.1	17.55	0.92	0.269	28.14	12	14	10	0.6	13	2.9	7	95	4	7	6.9	3.88	0.51
10	T.K	K	24	1.21	4.6	19.45	313.57	64.5	10.05	0.86	0.312	33.02	10	11	13	0.9	12.5	2.0	5	87	4.2	7.5	8.02	3.9	0.33
11	D.K	K	29	1.20	3.9	28.20	339.86	46.4	13.66	0.96	0.353	37.68	8	8	7	0.7	14	3.17	2	87	4.6	7.4	5.69	4.12	0.41
12	F.N	K	44	1.14	2.9	31.78	335.00	58.7	18.82	0.97	0.260	27.11	12	11	10	1.1	13.8	3.17	2	90	4.1	6.9	4.86	4.38	0.38
13	M.A	E	44	1.30	2.8	29.02	287.86	69.8	16.4	0.88	0.349	37.23	21	13	13	0.8	15.6	2.0	5	105	4.1	7.1	6.38	4.77	0.35
14	G.A	K	17	1.11	2.9	20.82	339.86	65.4	11.86	1.11	0.363	38.82	10	10	14	1.0	13.7	2.5	6	109	3.8	6.5	6.21	3.87	0.56
15	M.E	E	50	1.10	3.1	27.10	302.14	70.7	15.34	0.95	0.317	33.59	21	28	11	0.9	17.8	3.17	7	111	4.2	7.3	6.78	3.56	0.41
16	F.S	K	47	1.16	3	30.11	295.00	63.2	17.81	1.01	0.237	24.50	18	19	12	0.8	14.5	5.2	18	96	4.3	7.1	7.33	4.23	0.49
17	N.S	K	48	1.19	2.6	22.73	373.57	96.7	15.73	0.95	0.297	31.32	17	20	12	0.8	15.3	2.9	12	94	4	6.7	7.08	3.58	0.52
18	A.S	E	21	0.69	3.7	25.46	400.71	76	15.21	0.95	0.320	33.93	12	12	10	0.6	16.7	2.8	5	83	4.2	6.8	5.82	3.86	0.63
19	N.İ	E	58	0.98	4.2	27.10	305.00	73.8	14.69	0.99	0.274	28.70	15	18	9	1.2	16.9	2.0	21	108	4.4	7.7	5.66	3.55	0.5
20	İ.M	E	54	1.09	3.8	25.74	383.57	39.8	15.98	0.95	0.298	31.43	15	16	11	0.7	15	6.0	12	102	4	6.19	6.55	3.72	0.57

**Ek Tablo 2: NAC Grubu Tedavi Öncesi Değerleri**

	Ad	Cin	Yaş (yıl)	Pirr. Pro.	Neo.	AOPP	Tiyol	MPO	Lipid Per.	PCC	İMA (ABSU)	İMA %Co	AST	ALT	Bun	Kre.	Hg	CRP	ESR	Glu	Alb	T.Pro	Lök	Nöt	Mon.
1	Y.Y	K	18	2.04	7	31.48	239.29	143.4	17.53	1.07	0.486	52.80	21	16	8	0.5	13.5	2.98	7	97	4.7	6.9	7.83	4.64	0.85
2	B.E	K	21	1.78	6.7	30.66	229.29	258.8	19.59	1.02	0.430	46.43	12	9	14	0.7	12.5	11	12	86	3	5.5	12.96	9.56	0.75
3	G.B	K	34	1.67	7.4	26.28	150.71	167.2	30.16	1.01	0.392	42.11	16	13	7	0.6	10.8	63.5	19	92	3.8	6.9	8.75	4.44	1.07
4	G.T	K	44	1.77	12.3	40.22	210.71	238.9	16.24	1.49	0.407	43.82	15	19	12	0.7	12.7	54.4	71	77	4.5	7.4	7.18	3.97	0.79
5	S.D	K	47	1.64	11.4	30.66	219.29	203.1	20.24	1.21	0.396	42.57	20	28	11	0.8	12.1	5.69	41	90	4.1	7	6.03	3.32	0.35
6	A.G	K	31	1.50	9.1	39.67	179.29	227	38.41	1.13	0.530	57.80	19	17	6	0.5	11.2	3.13	26	121	4.3	7.4	9.55	5.69	0.88
7	G.T	K	48	1.62	6.6	31.75	236.43	143.4	17.27	1.05	0.508	55.30	18	29	10	0.7	13.7	3.13	7	89	4.1	6.6	6.26	3.63	0.41
8	F.A	E	36	1.73	6.7	36.39	226.43	135.4	20.24	1.14	0.378	40.52	18	21	12	0.8	16.1	3.13	2	96	4.3	7	7.77	4.85	0.6
9	S.A	E	26	1.85	9.3	37.21	266.43	123.4	18.47	1.12	0.356	38.02	20	15	11	0.7	14.2	8.47	19	104	4.2	7	10.43	6.85	0.7
10	M.K	E	37	1.81	16.2	38.31	252.14	167.2	19.08	1.21	0.351	37.45	28	30	19	1	15.7	3.13	10	97	4.3	7.5	7.49	5.07	0.38
11	C.G	K	46	2.09	6.6	19.73	255.00	123.4	20.24	1.96	0.396	42.57	31	37	10	0.8	17.9	6.47	9	106	4	6.9	6.68	3.24	0.41
12	E.K	K	26	1.84	7.4	34.12	239.29	175.2	21.4	1.09	0.391	42.00	18	13	4	0.8	12.3	15.9	54	112	4.1	7.8	7.33	5.15	0.47
13	R.Ş	E	52	1.87	7.9	42.13	249.29	127.4	34.55	1.55	0.422	45.52	21	32	13	0.8	16.3	26.1	7	97	3.9	6.6	9.79	6.4	0.82
14	H.O	K	45	1.81	7.2	37.76	177.86	147.3	12.89	1.32	0.360	38.48	25	26	8	0.8	14.5	7.71	6	95	3.7	6.4	6.44	4.25	0.33
15	E.Y	K	23	1.73	11.2	43.50	185.00	223	11.09	1.21	0.460	49.84	21	12	10	0.6	12.1	10.6	48	98	4.2	7.1	7.66	5.22	0.62
16	N.K	K	25	2.07	8.3	32.30	265.00	175.2	11.6	1.32	0.364	38.93	18	16	7	0.6	12.9	12.9	20	90	4.3	7.2	7.96	4.76	0.53
17	S.B	K	27	1.79	8.1	38.85	149.29	232.9	20.24	1.07	0.444	48.02	18	12	10	0.8	12.6	24.3	25	84	4.4	7.4	7.19	4.8	0.6
18	T.D	K	44	1.79	5.1	42.13	185.00	127.4	20.24	1.16	0.503	54.73	19	30	9	0.7	13.1	3.17	25	94	4	7.2	5.17	3.39	0.41
19	N.D	E	45	1.77	8.3	34.48	162.14	270.8	22.69	1.22	0.321	34.05	40	15	12	1	13.7	6.15	9	101	4.6	7.8	6.42	3.48	0.62
20	M.Ç	K	42	2.05	6.3	32.57	289.28	191.1	12.63	1.06	0.439	47.45	19	17	7	0.7	12.9	3.13	20	97	4.1	7.3	6.58	4.39	0.4



**Ek Tablo 3: NAC Grubu Tedavi Sonrası Değerleri**

	Ad	Cin	Yaş (yıl)	Pirr. Pro.	Neo.	AOPP	Tiyol	MPO	Lipid Per.	PCC	İMA (ABSU)	İMA %Co	AST	ALT	Bun	Kre.	Hg	CRP	ESR	Glu	Alb	T.Pro	Lök	Nöt	Mon.
1	Y.Y	K	18	1.21	4.4	32.57	306.43	55.8	13.15	1.01	0.277	29.05	20	19	8	0.5	10.8	2	15	98	4.1	7.1	9.57	6.78	1.11
2	B.E	K	21	1.03	3.6	21.09	246.43	79.6	8.51	0.92	0.295	31.09	13	8	13	0.7	11.7	10.7	28	97	3.9	7.2	8.98	7.37	0.49
3	G.B	K	34	1.09	3	13.99	323.57	79.6	11.91	1.24	0.325	34.50	16	20	6	0.6	11.6	17.2	18	95	3.6	6.8	8.24	6.03	0.65
4	G.T	K	44	1.17	2.5	21.37	286.50	59.7	17.27	0.74	0.321	34.05	17	29	14	0.7	12.9	2.9	24	104	3.7	6.4	7.93	5.81	0.51
5	S.D	K	47	1.24	5.7	23.01	342.14	104	16.24	0.84	0.383	41.09	34	47	16	0.3	12	3.13	44	94	3.6	6.6	7.43	4.32	0.38
6	A.G	K	31	1.19	2.5	13.99	240.71	51.8	11.91	0.85	0.367	39.27	33	30	10	0.6	12.5	3.13	6	102	4.2	7.2	11	7.24	0.73
7	G.T	K	48	1.34	2.5	23.01	259.29	95.6	11.34	0.86	0.303	32.00	18	19	15	0.8	13.5	3.13	7	87	4.1	6.7	5.22	3.03	0.48
8	F.A	E	36	1.15	3.6	12.08	382.14	59.7	18.56	1.14	0.299	31.55	21	27	13	1	16.9	3.17	2	94	4.5	6.9	7.35	4.86	0.56
9	S.A	E	26	1.30	3.4	18.91	277.86	95.6	11.91	0.95	0.271	28.36	24	14	6	0.8	14.9	3.17	2	87	4.5	7.2	6.19	3.19	0.87
10	M.K	E	37	1.05	2.6	26.83	322.14	67.7	11.91	1.19	0.272	28.48	28	33	15	1.1	15.8	3.13	5	97	3.9	7.7	5.98	3.45	0.41
11	C.G	K	46	1.16	2.9	21.37	257.86	59.7	11.91	1.16	0.288	30.30	35	39	10	0.8	16.6	5.2	5	105	4.2	7	6.96	3.66	0.58
12	E.K	K	26	0.96	2.3	27.10	291.83	99.6	11.09	1.03	0.334	35.52	17	13	6	0.7	12.3	14.5	47	95	4.1	7.7	6.54	4.57	0.5
13	R.Ş	E	52	0.97	5.5	36.12	360.71	71.7	8.51	0.88	0.332	35.30	24	42	13	0.9	16.8	5.07	1	93	4	6.6	8.29	4.85	0.74
14	H.O	K	45	0.91	3.9	33.11	320.71	75.7	11.91	1.07	0.340	36.20	23	27	7	0.7	14	5.2	6	97	4.2	7	6.61	4.32	0.28
15	E.Y	K	23	0.79	2.8	18.09	293.57	75.7	19.08	0.84	0.314	33.25	21	13	8	0.5	12.3	9.6	38	89	3.9	7.2	6.28	3.78	0.44
16	N.K	K	25	0.85	2.8	18.36	276.43	71.7	11.91	0.87	0.269	28.14	15	18	9	0.6	12	4.49	18	102	4.4	6.8	8.93	5.88	0.46
17	S.B	K	27	0.91	3.6	19.73	333.57	147	13.41	1.04	0.282	29.61	18	14	9	0.7	14.2	3.17	18	86	4.5	7.1	7.85	4.9	0.59
18	T.D	K	44	0.79	2.3	24.92	276.43	63.7	7.73	1.12	0.335	35.64	24	78	8	0.7	11.9	3.17	8	95	3.5	7.2	4.79	1.91	0.39
19	N.D	E	45	1.01	2.8	20.27	223.57	111	9.02	1.03	0.338	35.98	40	15	9.2	1.2	14.2	20.1	28	106	4.5	7.1	6.52	7.24	0.76
20	M.Ç	K	42	0.84	3.5	22.46	265.00	47.8	11.91	1.15	0.268	28.02	16	14	8	0.5	13.1	3.17	16	91	4	7.2	6.4	4.12	0.3

**Ek Tablo 4: Plasebo Grubu Tedavi Öncesi Değerleri**

	Ad	Cin	Yaş (yıl)	Pirr. Pro.	Neo.	AOPP	Tiyol	MPO	Lipid Per.	PCC	İMA (ABSU)	İMA %Co	AST	ALT	Bun	Kre.	Hg	CRP	ESR	Glu	Alb	T.Pro	Lök	Nöt	Mon.
1	H.Y	K	37	1.53	8.0	24.37	226.43	111.5	31.45	1.04	0.462	50.07	17	15	11	0.7	14.1	7.81	15	109	4.3	7	8.75	3.63	0.4
2	A.A	K	16	1.59	8.5	35.03	249.71	127.4	22	0.9	0.367	39.27	23	22	8	0.6	13.9	3.17	6	102	4.7	7.5	6.73	5.22	0.46
3	E.A	K	42	1.85	6.7	56.89	177.71	147.3	31.97	1.09	0.342	36.43	33	42	11	0.8	14.6	3.17	10	87	4.2	7.5	8.75	5.44	0.45
4	Z.K	K	25	1.60	7	39.40	255.00	123.4	36.61	1.02	0.404	43.48	21	19	12	0.6	12.3	3.17	10	88	3.8	6.8	7.48	3.75	0.4
5	M.İ	E	21	1.71	7.2	56.89	190.71	191.1	22	1.68	0.426	45.98	23	20	15	1.2	16.1	40.8	12	86	4.1	7.5	5.32	3.36	0.73
6	N.O	K	36	1.45	8.1	31.20	195.71	135.4	28.87	1.31	0.405	43.59	18	17	7	0.7	15.9	23.7	12	84	3.8	6.3	14.5	10.7	0.9
7	M.K	E	48	1.72	6	27.38	179.71	191.1	12.37	1.13	0.451	48.82	27	48	14	1.2	15.5	3.17	13	97	4.7	6.5	7.84	9.56	0.53
8	D.Y	E	31	1.79	5.1	20.55	202.14	159.3	15.73	1.7	0.401	43.14	18	24	12	1.2	15.4	9.23	24	77	4.2	7.3	9.99	5.87	0.58
9	A.K	E	17	1.94	7.9	30.38	179.71	159.3	22.69	1.24	0.461	49.95	26	19	8	1.0	16.2	4.11	8	97	4.3	7.3	5.37	3.5	0.4
10	Z.P	K	36	1.67	14.4	38.31	218.71	159.3	22	1.15	0.410	44.16	34	48	10	0.6	13.8	3.17	12	93	4.2	7.1	6.71	3.81	0.52
11	A.T	E	31	2.04	7.4	35.03	206.71	135.4	22	1.23	0.390	41.89	34	60	10	1.2	15.7	3.17	9	89	4.3	7.4	7.37	4.36	0.46
12	B.K	K	29	1.66	7.7	26.01	229.71	187.2	26.04	1.06	0.380	40.75	21	24	13	0.6	13.5	3.17	22	92	4.4	7.3	6.08	3.35	0.61
13	M.G	E	38	2.13	6.9	27.38	189.71	215	22	1.07	0.476	51.66	15	16	14	0.8	12.8	3.17	11	111	4.3	6.9	7.84	4.32	0.63
14	E.K	K	48	1.59	5.9	23.83	180.71	264.8	22	1.11	0.400	43.02	20	27	15	0.9	13.7	5.15	44	83	3.8	7	9.55	6.85	0.57
15	A.G	E	30	1.57	13.1	35.30	140.71	131.4	22	1.1	0.425	45.86	17	16	15	0.9	15.3	6.92	31	90	3.9	7.5	8.01	4.49	1.11
16	A.K	E	44	1.54	10.7	37.49	242.71	234.9	22	1.75	0.468	50.75	27	29	9	1.2	15.2	4.39	9	91	4.2	7	5.85	3.32	0.52
17	S.A	K	37	1.92	11.4	20.55	22.71	234.9	22	1.36	0.430	46.43	15	15	13	0.8	13.5	4.53	19	98	4.1	7.6	7.66	4.8	0.49
18	E.T	K	48	1.60	8.5	26.01	169.71	219	22	1.06	0.480	52.11	18	15	11	0.9	13.2	7.98	18	187	3.9	6.4	6.29	4.2	0.29
19	M.D	E	44	1.71	7.4	22.46	241.71	163.3	22	1.36	0.419	45.18	22	27	14	1.0	13	10.2	21	93	4.3	6.8	7.09	4.79	0.78
20	R.Ö	K	51	1.62	6.4	38.31	221.71	278.7	11.34	1.1	0.475	51.55	28	27	14	0.8	15	21	20	114	3.8	7.6	6.59	3.21	0.49

**Ek Tablo 5: Plasebo Grubu Tedavi Sonrası Değerleri**

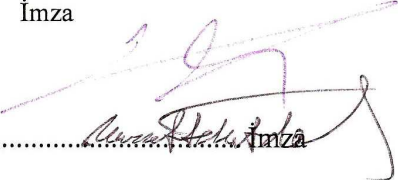
	Ad	Cin	Yaş (yıl)	Pirr. Pro.	Neo.	AOPP	Tiyol	MPO	Lipid Per.	PCC	iMA (ABSU)	İMA %Co	AST	ALT	Bun	Kre.	Hg	CRP	ESR	Glu	Alb	T.Pro	Lök	Nöt	Mon.
1	H.Y	K	37	1.59	6.4	22.46	172.10	215	27.58	1.28	0.408	43.93	16	14	9.5	0.7	14	5.14	13	98	4.8	7.3	6.62	3.37	0.42
2	A.A	K	16	1.49	5.6	28.01	252.10	123.4	20.37	1.07	0.391	41.84	21	22	9	0.6	14.2	3.17	6	91	4.1	6.9	7.86	2.79	0.42
3	E.A	K	42	1.61	13.8	26.28	236.40	179.2	10.57	0.98	0.346	36.67	23	30	9	0.8	13.8	3.17	10	93	4.1	7.2	8.24	6.03	0.35
4	Z.K	K	25	1.52	6.9	26.83	176.40	139.4	23.46	1.03	0.465	50.34	20	22	10	0.5	12.5	3.17	9	89	4.1	6.7	8.1	5.46	0.29
5	M.İ	E	21	1.81	10.0	29.62	185.00	195.1	17.27	1.29	0.451	48.74	26	36	11	1	16.6	3.17	12	92	3.9	6.6	7.16	5.12	0.62
6	N.O	K	36	2.20	13.8	33.39	200.70	151.3	14.95	1.24	0.422	45.40	16	18	7.2	0.6	15.5	21.5	12	80	3.9	6.1	16.3	11.8	0.95
7	M.K	E	48	1.27	11.2	31.26	210.70	91.59	9.02	1.24	0.392	41.95	26	37	15	0.9	16.1	3.17	9	102	4.5	6.8	5.63	7.24	0.55
8	D.Y	E	31	1.70	7.9	38.58	250.70	151.3	21.14	1.9	0.435	46.90	19	19	13	1.2	15.9	3.17	9	83	3.7	6	8.08	5.01	0.51
9	A.K	E	17	1.66	10.0	27.98	245.00	87.6	38.15	1.34	0.437	47.13	13	12	9.7	1.1	16.4	3.17	6	91	4.6	7	5.41	3.53	0.47
10	Z.P	K	36	2.41	10.3	30.71	200.70	207.1	22.17	1.17	0.459	49.66	43	49	8	0.7	13.1	9.46	48	99	4.2	6.1	5.88	3.73	0.44
11	A.T	E	31	1.46	7.9	27.10	229.30	187.2	22.28	1.11	0.364	38.74	42	72	9	1.1	15.1	3.17	10	87	3.5	7.2	7.01	4.07	0.55
12	B.K	K	29	1.52	7.0	28.52	87.86	258.8	21.14	1.34	0.401	42.99	23	26	11	0.8	13.2	3.17	20	93	4.2	7.5	7.54	4.58	0.46
13	M.G	E	38	1.86	6.7	35.08	189.30	219	26.81	1.13	0.385	41.15	24	26	14	0.8	12.1	3.17	10	98	3.9	6.8	9.32	5.79	0.78
14	E.K	K	48	2.19	5.7	28.01	255.00	207.1	22.28	1.21	0.448	48.39	25	27	12	0.6	13.9	3.17	22	91	4.3	7	11	4.46	0.52
15	A.G	E	30	1.90	11.4	23.01	203.60	262.8	22.28	0.81	0.436	47.01	18	19	17	0.9	14.8	3.17	28	96	3.7	7.3	7.91	4.25	0.77
16	A.K	E	44	1.56	9.5	32.02	206.40	286.7	10.83	1.2	0.370	39.43	25	26	9	0.8	15	3.17	10	96	4.4	7.2	5.88	3.59	0.57
17	S.A	K	37	1.60	12.3	29.07	195.00	179.2	34.55	1.78	0.463	50.11	18	15	10	0.8	13.1	3.17	23	91	3.9	7	6.28	4.9	0.47
18	E.T	K	48	2.15	9.43	27.98	200.70	103.5	22.28	1.16	0.476	51.61	14	16	10	0.6	13.1	3.17	20	145	4.2	6.8	7.47	4.46	0.32
19	M.D	E	44	2.10	9.3	27.10	209.30	131.4	22.28	1.21	0.429	46.21	24	19	17	0.9	12.2	12.7	32	93	4.1	7	9.34	5.99	0.46
20	R.Ö	K	51	2.28	6.6	30.16	136.40	207.1	17.53	1.08	0.458	49.54	32	30	16	0.8	12.8	61	26	90	4.3	7.2	6.17	3.37	0.57


TC.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Araştırma Görevlisi Dr. Seval KAYA'ya ait "BEHÇET HASTALARINDA N-ASETİLSİSTEİNİN BAZI OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNE ETKİSİ" adlı çalışma jürimiz tarafından Biyokimya Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih : 01.12.2008

İmza

Prof. Dr. Muzaffer ÜSTDAL (Başkan) ..... İmza

Prof. Dr. Kader Köse (Danışman)..... İmza

Prof. Dr. Serap UTAŞ ..... İmza

Prof. Dr. Sabahattin MUHTAROĞLU ..... İmza

Doç. Dr. Cevat YAZICI ..... İmza