

**T.C.**

**TURGUT ÖZAL ÜNİVERSİTESİ**

**TIP FAKÜLTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİMDALI**

**OBEZ HASTALARDA EKSHALE SOLUNUM HAVASINDA  
OKSİDATİF STRES BELİRTEÇLERİ VE İNFLAMASYON  
MARKERLARININ İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Ayşe Sırma Karakaş Turan**

**Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Tuğrul Çelik**



**Ankara-2013**



**T.C.**

**TURGUT ÖZAL ÜNİVERSİTESİ**

**TIP FAKÜLTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİMDALI**

**OBEZ HASTALARDA EKSHALE SOLUNUM HAVASINDA  
OKSİDATİF STRES BELİRTEÇLERİ VE İNFLAMASYON  
MARKERLARININ İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Ayşe Sırma Karakaş Turan**

**TEZ DANIŞMANI**

**Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Tuğrul Çelik**



**Ankara-2013**

Bu yüksek lisans tezi Fatih Üniversitesi tarafından P53011220\_G (2466) proje numarası ile desteklenmiştir.



T.C.  
TURGUT ÖZAL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOKİMYA  
ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI  
( Tez Savunması Tutanağı )

ÖĞRENCİ

ADI VE SOYADI	: AYŞE SIRMA KARAKAŞ TURAN
NUMARASI	: 530111003
DERS YILI	: 2012-2013
PROGRAM	: <input checked="" type="checkbox"/> TEZLİ YÜKSEK LİSANS <input type="checkbox"/> DOKTORA
ENSTİTÜ KAYIT TARİHİ	: 09/02/2012 <b>Dönemi</b> 2011 - 2012 <input type="checkbox"/> Güz <input checked="" type="checkbox"/> Bahar
TEZ BAŞLIĞI	: Obez hastalarda ekshale solunum havasında oksidatif stres ve inflamasyon markerlerinin incelenmesi

TEZ SAVUNMASININ

Tarihi: 25/06/2013 Saati: 14.00 Yeri: 1.Kat Toplantı Salonu

SINAV TUTANAĞI:

Jürimiz Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği'nin 18. maddesi uyarınca Belirtilen tarih, yer ve saatte toplanmıştır. Yukarıda adı geçen öğrencinin tezini incelemiş ve yapılan sözlü sınav sonunda **OYBİRLİĞİ / OYÇOKLUĞU** ile aşağıdaki kararı almıştır.

KABUL  RED  DÜZELTME

Tez Sınavı Jürisi Unvanı, Adı Soyadı	İmza
Yrd.Doç.Dr. H.Tuğrul ÇELİK	
Prof.Dr. M.Ramazan YİĞİTOĞLU	
Prof.Dr. Ferah ARMUTÇU (Fatih Üniversitesi)	
Doç.Dr. Hüsamettin ERDAMAR	
Yrd.Doç.Dr.Mehmet NAMUSLU	

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

 ...../...../201.... Prof.Dr.Ramazan YİĞİTOĞLU ANABİLİM DALI BAŞKANI	 ...../...../201.... Prof.Dr.Mehmet GÜNDÜZ ENSTİTÜ MÜDÜRÜ
---	--

ENSTİTÜ YÖNETİM KURULU KARARI

TARİH : ...../...../201.....

KARAR NO :

Yukarıda adı geçen öğrenci Sınav Tutanağında belirtildiği üzere mezun olması

UYGUNDUR  UYGUN DEĞİLDİR

- \*Adayın Tezinin Red olması halinde, jüri üyelerinin kişisel raporları sınav tutanağına eklenecektir.
- \*\* "OY ÇOKLUĞU" ile karar alındığında, farklı görüşte olan jüri üyeleri gerekçe yazmalıdır.

## TEŞEKKÜR

Obezite dünyada giderek daha fazla sayıda insanı etkileyen önemli bir morbidite nedenidir. Hareketsiz hayat tarzının benimsenmesi ve beslenme alışkanlığında değişme gibi çevresel etkenler yanında, kalıtımla gelen bazı özellikler de rol oynamaktadır. Obez bireylerdeki fazla yağlanma; kardiyovasküler sistem, solunum sistemi, hormonal sistem, sindirim sistemi gibi sistemleri etkileyen birçok önemli rahatsızlığa zemin hazırladığı gibi oksidatif strese artışa sebep olur.

Obezlerde akciğer fonksiyonları ve inflamatuvar belirteçler hakkında yapılan çok az çalışma vardır. Bu nedenle bu çalışmada obez kişilerde solunum havasındaki bazı oksidatif stres markerlarının (MDA, NO, TNF- $\alpha$ , SOD, 8-IP) kontrol grubu ile karşılaştırılması hedeflenmiştir.

Çalışmamda bilgi ve deneyimini benden hiç esirgemeyen tez danışmanım Yrd.Doç.Dr. H.Tuğrul ÇELİK' e, desteğe ihtiyacım olduğumda tecrübesiyle yanımda olan Doç.Dr.Hüsamettin ERDAMAR'a, manevi desteklerini daima üzerimde hissettiğim Prof.Dr.Ferah ARMUTÇU ve Prof.Dr.M.Ramazan YİĞİTOĞLU'na sonsuz saygı ve şükranlarımı sunuyorum.

## ÖZET

### **Obez hastalarda ekshale solunum havasında oksidatif stres beliteçleri ve inflamasyon markerlarının incelenmesi.**

Bu çalışmaya aşırı kilolu ve obez olan 18-60 yaş arası 50 hasta, 32 kontrol grubu dahil edildi. Hastalar DSÖ'nün belirlediği BMI obezite sınırlarına göre sınıflandırıldı. BMI'deki artışa göre OS ve inflamasyon markerları düzeylerinin değişimleri incelendi. Çalışmaya sigara içen, Tip 2 DM ve/veya astım tanısı almış olan, son bir ay içerisinde üst ve alt solunum yolu enfeksiyonu geçiren hastalar dahil edilmedi.

OS ürünlerinden 8-IP tayini için EIA yöntemi ile ELISA kitinde okuma yapıldı. MDA tayini için TBA ile reaksiyonu sonucu oluşan rengin absorbans değerleri ölçüldü. KO enzimi aracılığı ile SOD aktivitesi spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. NO düzeyi Griess yöntemi ile çalışıldı ELISA kitinde okundu. TNF- $\alpha$  ölçümü solid faz sandviç ELISA yöntemi ile ölçüldü.

8-IP'in solunum havasında yapılan ölçümlerinde bütün gruplar arasında artış olduğu ve istatistiksel olarak anlam içerdiğini gözlemledik. Kontrol( $10.49 \pm 4.74$ ), aşırı kilolu ( $12.10 \pm 9.15$ ), obez ( $16.12 \pm 12.04$ ), morbit obez ( $17.17 \pm 10.13$ ). (Kontrol-aşırı kilolu ( $p < 0.05$ ), kontrol-obez ( $p < 0.05$ ), kontrol-morbit obez ( $p < 0.05$ ).)

Bu çalışmada NO ölçümü için serum ve YSH'da  $NO_2^-$  ve  $NO_3^-$  miktarları ölçüldü. YSH  $NO_2^-$  ölçümünde istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış gözlemlendi. Kontrol ( $1.82 \pm 0.71$ ), aşırı kilolu ( $2.78 \pm 0.82$ ), obez ( $3.51 \pm 1.38$ ), morbit obez ( $3.33 \pm 1.46$ ). (Kontrol-aşırı kilolu ( $p < 0.001$ ), kontrol-obez ( $p < 0.001$ ), kontrol-morbit obez ( $p < 0.001$ ).) Serum  $NO_2^-$  düzeyleri arasında ise artış gözlemlendi fakat sadece istatistiksel olarak kontrol-aşırı kilolu ( $p < 0.05$ ) arasında anlamlı fark bulundu.

Bu sonuçlar bizlere obez hastaların solunum örneklerinde incelediğimiz 8-IP'nin YSH'da OS'in iyi bir göstergesi olduğunu göstermiştir. Yine sonuçlarımız  $NO_2^-$ 'in YSH uygulamalarında inflamasyonu belirlemede kullanılabilir bir parametre olduğunu ortaya koymuştur.

**Anahtar Sözcükler:** Obezite, Oksidatif Stres, 8-İzoprostan, Nitrik Oksit, Malondialdehit, TNF- $\alpha$ , Süperoksit Dismutaz

## ABSTRACT

### **Analysis of oxidative stress and inflammation markers in the exhaled breath condensate of obese patients.**

Fifty overweight and obese patients aged between 18-60 years and thirty-two control participants were included in this study. Patients were classified according to the limits of BMI obesity determined by the WHO. Alterations in the levels of OS (oxidative stress) and inflammation markers were evaluated according to the increase in BMI. Smokers, patients diagnosed with type 2 DM (diabetes mellitus) and / or asthma, and patients who have had upper and lower respiratory tract infections in the previous month were excluded from the study.

To determine the 8-Izoprostane (8-IP) OS product, an ELISA kit was performed by the EIA method. Absorbance values of the color formed by the reaction with TBA were measured for MDA determination. SOD activity was measured by spectrophotometric method via KO enzyme. NO level was measured by the Griess method, and determined by an ELISA kit. Measurement of TNF- $\alpha$  was done by solid-phase sandwich ELISA method.

We observed an statistically significant increase among all groups for 8-Izoprostane respiratory levels in Control ( $10:49 \pm 4.74$ ), overweight ( $10.12 \pm 9.15$ ), obese ( $12.16 \pm 4.12$ ), morbid obese ( $17:17 \pm 10:13$ ). (Control-overweight ( $p < 0.05$ ), control-obese ( $p < 0.05$ ), control-morbid obese ( $p < 0.05$ ).

In this study, serum and  $\text{NO}_2^-$  and  $\text{NO}_3^-$  in EBC were measured for NO activity. A statistically significant increase was observed in the measurement of EBC  $\text{NO}_2^-$ . Control ( $1.82 \pm 0.71$ ), overweight ( $2.78 \pm 0.82$ ), obese ( $3:51 \pm 1:38$ ), morbid obese ( $3.33 \pm 1.46$ ). (Control-overweight ( $p < 0.01$ ), control-obese ( $p < 0.01$ ), control-morbid obese ( $p < 0.01$ .) An increase was observed among serum  $\text{NO}_2$  levels and a statistically significant difference was found only for control-overweight ( $p < 0.05$ ).

These results indicated that 8-IP might be a good indicator of OS in YSH as practiced in obese patients' respiratory samples. Also, the results proved  $\text{NO}_2^-$  might be a useful parameter to determine the inflammation in YSH applications.

**Key Words:** Obesity, Oxidative Stress, 8-Isoprostan, Nitric Oxide, Malondialdehyde, TNF- $\alpha$ , Superoxide Dismutase



## SİMGELER VE KISALTMALAR

- 8-IP: 8-İzoprostan
- ACh: Asetilkolin
- ADP: Adenozin Difosfat
- AP-1: Aktive protein-1
- BMI: Body Mass Index
- BH<sub>4</sub>: Tetrahidrobiopterin
- CRP: C-reaktif protein
- cGMP: Siklik Guanozin Monofosfat
- DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü
- EBC: Ekshale Solunum Havası
- EDTA : Etilen DaiminTetraaasetik Asit
- FAD: Flavin Adenin Dinükleotid
- FMN: Flavin Mononükleotid
- GABA:  $\gamma$ - Amino Bütirik Asit
- GSH: Glutasyon
- GSH-Px: Glutasyon Peroksidaz
- HD: Hemodiyaliz
- HT: Hipertansiyon
- HOCl : Hipoklorik Asit
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Hidrojen Peroksit
- IL: Interlökin
- IR: İnsülin Direnci
- IFN: İnterferon
- iNOS: İnduklenebilir NOS

eNOS: Endotelial NOS

cNOS: constitutive NOS

KF: Kistik Fibrozis

KAT: Katalaz

KO: Ksantin Oksidaz

LPL: Lipoprotein Lipaz

LTB4: Lökotrien B4

LTE4: Lökotrien E4

MDA: Malondialdehit

MS: Metabolik Sendrom

NADPH: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat

NO: Nitrik Oksit

NOS: Nitrik Oksit Sentaz

$\text{NO}_2^-$ : Nitrit

$\text{NO}_3^-$ : Nitrat

NF- $\kappa$ B : Nükleer Faktör Kappa-B

NBT: Nitro Blue Tetrazolium

OS: Oksidatif Stres

OSAS: Obstruktif Uyku Apne Sendromu

$\bullet\text{O}_2^-$ : Süperoksit

$\bullet\text{HO}^-$ : Hidroksil Radikali

$\text{O}_2\downarrow\uparrow$ : Singlet Oksijen

$\bullet\text{OONO}$ : Peroksinitrit

PGE2: Prostaglandin E2

PGD2: Prostaglandin D2

PUFA: Poliansature yağ asitleri

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

RNS: Reaktif Nitrojen Türleri

SOD: Süperoksit Dismutaz

TBA: Tiobarbütirikasit

Tip 2 DM: Tip 2 Diyabetes Mellitus

TBARS: Tiobarbütirikasit Reaktif Maddeler

TEP: Tetraetoksipropan

TNF: Tümör Nekroz Faktör

TURDEP: Türkiye Diyabet Epidemiyolojisi Araştırması

YSH: Yoğunlaştırılmış Solunum Havası

## TABLolar

Tablo 1- YSH'de bakılan farklı pulmoner hastalıklarda inflamatuvar mediatörler

Tablo 2- DSÖ' nün vücut kitle indeksine göre obezite sınıflandırması

Tablo 3- OS ve antioksidan belirteçleri

Tablo 4- Çalışma gruplarındaki birey sayıları

Tablo 5- Kontrol ve obezite gruplarının YSH 8-IP değerleri

Tablo 6- Kontrol ve obezite gruplarının serum ve YSH NO<sub>2</sub> değerleri

Tablo 7- Kontrol ve obezite gruplarının serum ve YSH TNF- $\alpha$  değerleri

Tablo 8- Kontrol ve obezite gruplarının serum ve YSH MDA değerleri

Tablo 9- Kontrol ve obezite gruplarının serum ve YSH SOD değerleri

## ŞEKİLLER

Şekil 1- Nitrik oksit sentezi

Şekil 2- ROS'nin oluşumu ve antioksidan etkileşim

Şekil 3- Serbest radikallerin hücre içi yapılara etkileri

Şekil 4- Serbest oksijen radikallerinin sinyal transdüksiyonuna etkileri

Şekil 5- 8-İzoprostan oluşumu

Şekil 6- Hava yolunda inflamasyon sonrası ROS'nin detoksifikasyonunun varsayılan etki şeması

## İÇİNDEKİLER

Teşekkür	i
Özet	ii
Abstract	iii
Simgeler ve Kısaltmalar	v
Tablolar	viii
Şekiller	viii
İçindekiler	ix
1. Giriş ve Amaç	1
2. Genel Bilgiler	2
2.1. Yoğunlaştırılmış Solunum Hava Kondensatı (YSH)	3
2.2. Obezite	4
2.2.1. Obezitenin Tanımı	4
2.2.2. Obezitenin Sınıflandırılması	5
2.2.3. Obezite Tipleri	6
2.3. Serbest Radikaller	7
2.3.1. Reaktif Oksijen Türleri	8
2.3.2. Nitrik Oksit Radikali	9
2.3.2.1. Reaktif Nitrojen Türleri	10
2.4. Oksidatif Stres	12
2.4.1. Oksidatif Stres Kaynakları	13
2.4.2. Oksidatif Stres Belirteçleri	15
2.5. Hücrelerde Serbest Oksijen Radikallerinin Etkileri	17
2.5.1. Serbest Radikallerin Lipit Yapılara Etkileri	18
2.5.1.1. Malondialdehit Oluşumu	19
2.5.1.2. 8-İzoprostan Oluşumu	20
2.5.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri	21
2.5.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asitlere Etkileri	22
2.5.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri	22
2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri	23
2.6.1. Süperoksit Dismutaz	25

2.6.2. Katalaz (KAT)	25
2.6.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)	26
2.6.4. Glutasyon Redüktaz	26
2.6.5. Glutasyon-S-Transferazlar (GST)	27
2.6.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz	28
2.7. Obezite ve Oksidatif Stres	28
2.8. İnflamasyona İmmun Yanıt	28
2.8.1. Sitokinler	29
2.8.1.1. TNF-Alfa	30
2.8.1.2. İnterlökinler	31
2.8.1.3. C-Reaktif Protein	32
2.9. Oksidatif Stres ve İnflamasyon İlişkisi	33
3. Materyal ve Metod	36
3.1. Çalışma Grubu	36
3.2. Yoğunlaştırılmış Nefes Havaının Toplanması	37
3.3. Biyokimyasal Ölçümler	38
3.3.1. SOD Aktivitesinin Ölçümü	38
3.3.2. MDA Düzeyi Ölçümü	39
3.3.3. TNF- $\alpha$ Düzeyi Ölçümü	39
3.3.4. NO Düzeyi Ölçümü	41
3.3.5. 8-İzoprostan Düzeyi Ölçümü	42
3.3.6. İstatistiksel Hesaplamalar	43
4. Bulgular	44
5. Tartışma	47
6. Kaynaklar	51

## GİRİŞ VE AMAÇ

Obezite, dünyada olduğu gibi ülkemizde de giderek yaygınlaşmaktadır. Obezite, neden olduğu hastalıklar ve toplumsal sorunlar ile birlikte, kronik, ilerleyici, mortalitesi ve morbiditesi yüksek bir halk sağlığı sorunu olarak görülmektedir. Özellikle gelişmiş ülkelerde olmak üzere tüm dünyada artan obezite insidansı sağlık sorunları arasında ön sıralara yükselmekte ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından en riskli on hastalıktan biri olarak kabul edilmektedir (1). Obezite ile ilişkili tıbbi durumlar, insülin direnci (IR) ve Tip 2 diyabetes mellitus (Tip 2 DM), hipertansiyon (HT), hiperlipidemi, uyku apnesi, kardiyovasküler hastalıklar, inme, safra kesesi hastalığı, hiperürisemi, gut, osteoartrit ile erkeklerde kolon, rektum, prostat ve kadınlarda endometriyum, meme ve safra kesesi gibi kanser tiplerini içerir (2).

Obeziteyle birlikte organizmada; hücrede aşırı miktarda reaktif oksijen radikali oluşması olarak tanımlanan oksidatif stresin (OS) arttığı bilinmektedir. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) dahil olduğu serbest radikaller, dış yörüngelerinde bulunan bir veya birden fazla paylaşılmamış elektrondan dolayı stabil olmayan, oldukça reaktif, çok kısa yarı ömürlü maddelerdir. Bu nedenle de, hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederek yapılarının bozulmasına neden olurlar (3). Vücutta normal fizyolojik koşullarda, ROS üretimi ve antioksidan savunma sistemleri denge halindedir. Bazen bu denge ROS lehine bozularak, insan vücudunda sürekli ve düşük seviyede bir oksidatif hasar oluşmasına neden olur (4). Obezlerde yapılan çalışmalarda OS belirteçlerinin yükseldiği ve antioksidan savunma enzimlerinde azalma olduğu gösterilmiştir (5). Bu nedenle obezitenin vücutta inflamasyon ve kronik OS durumu oluşturduğu belirtilmektedir (6, 7).

Bu çalışmada, beslenme ve diyetetik polikliniğine aşırı kilo artışı ile başvuran obez hastalarda obezite şiddetine göre serum ve solunum havasında OS belirteçleri ve inflamasyon markerlerini incelemeyi hedefledik.

## GENEL BİLGİLER

### 2.1. YOĞUNLAŞTIRILMIŞ SOLUNUM HAVA KONDENSATI (YSH)

YSH soğutulan nefes havasının toplanmasıdır. YSH toplanması; havayolu fonksiyonu veya inflamasyonunu değiştirmez ve küçük çocuklarda dahi kolaylıkla uygulanabilir (8). YSH, havayolu inflamasyonunun ve oksidatif stres ürünlerinin bir kaynağıdır.

Çoğu çalışmada havayolu inflamasyonu bronkoalveolar lavaj sıvısı, bronşiyal biyopsi (9, 10) ve balgam indüksiyonu (11) gibi tekniklerle gösterilmiştir. Akciğerden ziyade sistemik inflamasyonu gösteren inflamatuvar mediatörler plazma ve idrarda ölçülmüştür. Oysaki inflamatuvar belirteçlerin yoğunlaştırılmış nefes havasında ölçülmesi tamamen noninvaziftir ve solunum yollarındaki inflamasyonu yansıtır (12, 13). Verilen nefes havasının her mililitresinde 0.1 - 4 damla su buharı bulunur. Bu damlalar 0.09 - 3 mm çapındadırlar ve havayolu yüzeyindeki sıvıdan elde edilirler. Bu da akciğerlerdeki fizyolojik ve inflamatuvar durumların noninvazif olarak gösterilmesini sağlar (14).

1980'lerde, Sovyetler Birliğinde araştırmacılar YSH çalışmalarına başlamışlardır. Çıkarılan hava görünmeyen sıvı kaybının temel mekanizmasıdır. Bu metodun meslek hastalıklarının ve akciğer hastalıklarının araştırılmasını kolaylaştırdığına dair uluslararası yayınlanmış çok sayıda makale vardır. Bu ilgi YSH'nin, akciğerin biyokimyasal komponentlerini ve inflamatuvar ürünlerini noninvazif olarak değerlendirilmesini sağlamaktan kaynaklanmaktadır.

Toplama için gerekli süre 10 dakika veya daha uzundur, çünkü örnek toplayıcı duvarına yeterli sıvı birikene kadar tutulur (15).

Bu işlem için kullanılan iki standart metod vardır:

#### I. ECoScreen (Hoechberg, Almanya):

Soğuk hava değişiminden modifiye edilen bir elektrikli buzdolabı sistemidir. Solunum fonksiyon laboratuvarları için tasarlanmıştır. Uzun kolunun olması hastanın karşısına bir sandalyeye oturup, soğutulmuş bir çembere üflemesine izin verir. Toplama zamanı sırasında cihaz (-10 C°) soğuk bir sıcaklık sağlar. Kolay taşınabilir değildir.



## II. RTüp (Charlottesville, VA, USA):

Bu cihazda örnek toplama zamanı daha kısadır ve cihaz taşınabilir. Kullanıldıktan sonra atılabilir bir polipropilen toplama çemberinin etrafında alüminyum soğutucu bir boru vardır. Alet, tükürük kontaminasyonunu engeller. Filtre kullanılması enfeksiyöz partiküllerin taşınmasını engeller (16).

YSH ile volüm, pH, hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), sodyum (Na), potasyum (K), kalsiyum (Ca), klorür ( $Cl^-$ ), nitrit ( $NO_2^-$ ), nitrat ( $NO_3^-$ ), elektrolitler, eser elementler, sistenil-lökotrienler, lökotrien B4 (LTB4), lökotrien E4 (LTE4), Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), Prostaglandin D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>)-methoxime, thromboxane B<sub>2</sub>, 8-izoprostan (8-IP), Interlökin-6 (IL-6), aldehydler (malondialdehid (MDA), hekzanal, heptanal, nonanal), 3-nitrotirozin, nitrozotioller, glutatyon (GSH), vitronektin, endotelin-1 ve fosfolipidler çalışılmıştır (17).

Tablo 1. YSH’de bakılan farklı pulmoner hastalıklarda inflamatuvar mediatörler (16)

Pulmoner hastalık	Mediatör
Kronik obstruktif pulmoner hastalık	$H_2O_2$ , 8-IP, serotonin, sitokinler IL-1, TNF- $\alpha$
Astım	$H_2O_2$ , 8-IP, Tiobarbütirikasit Reaktif maddeler (TBARS), Nitrotrosin, Lökotrienler, pH
Kronik bronşit	Lökotrienler
Bronşektazi	$H_2O_2$
Kistik Fibrozis	$H_2O_2$ , 8-IP, İL-8, $NO_2^-$
Akut Respiratuvar Distress Sendrom (ARDS)	$H_2O_2$ , 8-IP, PGE <sub>2</sub>

## 2.2. OBEZİTE

### 2.2.1 Obezitenin Tanımı

Obezite, genel olarak fazla kiloluluk olarak bilinmekle birlikte DSÖ tarafından obezitenin tanımı: “Sağlığı bozacak ölçüde yağ dokularında anormal veya aşırı miktarda yağ birikimidir.” şeklinde yapılmıştır. Diğer bir deyişle obezite, vücut yağ oranının artması ve buna bağlı olarak davranış, endokrin, metabolik değişikliklerle karakterize kompleks, multifaktöryel bir hastalıktır. Obezite, besinlerle alınan enerji miktarının, metabolizma ve fiziksel aktivite ile tüketilen enerji miktarını aştığı böylece vücuttaki yağ kitlesinin yağsız vücut kitlesine oranla arttığı durumlarda ortaya çıkar. Obez bireylerdeki fazla yağlanma, kardiyovasküler sistem, solunum sistemi, hormonal sistem, sindirim sistemi gibi sistemleri etkileyen birçok önemli hastalığa zemin hazırlar. Obezitenin HT, tip 2 DM, dislipidemi, kalp damar hastalıkları ve belirli tipteki (kolon, meme, safra kesesi) kanserlere yakalanma risklerini artırdığı gösterilmiştir (2).

Epidemiyolojik veriler ülkemizde 1998’de yapılan TURDEP-I (Türkiye Diyabet Epidemiyolojisi Araştırması) çalışmasının sonuçlarına göre kadınlarda %30, erkeklerde %13, genelde ise %22.3 düzeylerinde obezite prevalansı tespit edilmiştir (18). 2010’da tamamlanan TURDEP-II çalışmasının sonuçlarına göre ise Türkiye’de obezite sıklığı %32’dir ve 1998’de yapılan TURDEP-I’e göre, 12 yılda obezite sıklığı %44 artmıştır. Daha önce erkeklerin %17, kadınların %30’u obez iken, erkeklerdeki obezite oranlarının kadınlara yakın olduğu görülmüştür. Genel olarak erişkin yaşlardaki Türk toplumunun 2/3’ü fazla kilolu veya obezdir. TURDEP-I’de şişmanlık oranı %22 iken şimdi %32 olarak bulunmuştur. Yani %44’lük bir artış gerçekleşmiştir. Obezitenin en önemli risk faktörlerini, fiziksel aktivitede azalma, beslenme alışkanlıkları, yaş, cinsiyet (kadın), eğitim düzeyi, evlilik, doğum sayısı ve genetik oluşturmaktadır (2).

### 2.2.2. Obezitenin Sınıflandırılması

Obezitenin gelişiminden sadece aşırı yağ alımı sorumlu değildir, protein ve karbonhidratlarla alınan fazla kalorilerin yağ dokusu olarak depolanması da önemlidir. Günümüzde obezitenin artmasında aşırı yağlı, fazla kalorili yiyecek ve içeceklerin oluşturduğu sağlıksız beslenme ilk neden olarak yer almaktadır. Diğer önemli faktör ise teknolojik gelişmelerin sağladığı kolaylıklar nedeniyle günlük aktivitelerde harcanan enerji miktarının azalmasıdır.

Body Mass Index (BMI), “Quetelet İndex” obezitenin değerlendirilmesi için kullanılan en pratik ve en kabul gören metottur. 1835 yılında, Qutelet tarafından tanımlanan bu indeks, ölçülen ağırlığın (kg) boyun (m) karesine oranıdır. (BMI= ağırlık (kg) / boy<sup>2</sup>(m<sup>2</sup>) ). DSÖ, obeziteyi BMI'nin 30 ve üzerinde olması olarak tanımlanmaktadır. DSÖ'nün, BMI'ne göre obezite sınıflandırması Tablo 2’de verilmiştir (19).

Tablo 2- DSÖ'nün BMI'ne Göre Obezite Sınıflandırması

Grup	BMI
Zayıf	<18.5
Normal	18.5- 24.99
Kilolu	25- 29.99
İlımlı Obez(sınıf 1)	30- 34.99
Aşırı Obez (sınıf 2)	35- 39.99
Morbit Obez (sınıf 3)	40≤

Obezitenin ikincil nedenleri daha nadir görülse de leptin yetersizliği, hipotiroidi, Cushing Sendromu, büyüme hormonu eksikliği ve hipotalamik hasar göz önünde bulundurulmalıdır. Obeziteye neden olabilen ilaçlar arasında antipsikotikler, antidepresanlar, lityum, antiepileptikler, insülin, sülfonilüreler, oral kontraseptifler ve kortikosteroidler sayılabilir (20).

### 2.2.3.Obezite Tipleri

Obezite komplikasyonlarının ortaya çıkması ile vücutta yağ dağılımı arasında bir ilişki vardır. Yapılan çalışmalarda vücuttaki yağ birikiminin vücudun farklı iki bölgesinde olduğu gösterilmiştir. İlk kez 1940’larda Jean Vaque obezitede vücudun üst kısmında yağ toplanmasının daha zararlı etkileri olduğunu ve “erkek tipi” yağlanmanın, yani göbek çevresinde yağ toplanmasının DM, ateroskleroz, gut ve urat taşlarına yol açtığına dikkat çekmiştir (21). Vücuttaki yağ birikimine göre iki tip obezite tanımlanmıştır:

**1-Jinoid tip obezite:** Gluteal ve femur üzerinde yağ toplanması jinoid tip, kadın tipi, periferik tip, armut tipi veya femoral obezite denilmektedir (22). Bu obezite tipi hiperplastik yani yağ hücre sayısı artışı ile birlikte olan obezitedir. Jinoid obezite ile venöz dolaşım bozuklukları arasında anlamlı bir ilişki varken, obeziteden kaynaklanan diğer komplikasyonlar ile arasında herhangi bir anlamlılık yoktur (23).

**2-Android tip obezite:** Göbeklenme batın bölgesinde yağ toplanmasıdır. Android tip, erkek tipi, santral, abdominal, sentripedal, elma tipi veya viseral obezite olarak adlandırılır. Android obezitede yağ hücreleri büyümüştür. Yani hipertrofik bir obezite tipidir (22).

Subkutan depolardan daha çok, özellikle viseral depolar olmak üzere, abdominal yağ ile obezitenin metabolik komplikasyonları arasında güçlü bir ilişki vardır. Viseral yağ dokusu depolarındaki adipozitin hassas lipolitik bir etkisi vardır. Lipolitik hassas adipozit ile genişlemiş yağ depoları sonucunda portal ve sistemik dolaşımdaki plazma serbest yağ asitleri konsantrasyonu yükselmiş olabilir. Bu durum periferde insülin duyarsızlığını doğurabilir. Yapılan çalışmalar, portal dolaşımdaki yüksek konsantrasyonlu yağ asitlerinin hepatik insülin alımını inhibe ettiği ve periferik hiperinsülinemiye doğuracağını göstermektedir. Bu dönüşüm insülinin reseptör düzeyindeki periferik duyarlılığını azaltmaktadır (24).

### 2.3. SERBEST RADİKALLER

Oksijen bütün canlılar için vazgeçilmez bir element olup, organik molekülerin temel yapısal atomlarından birisidir. Aerobik canlıların enerji metabolizmasındaki rolü nedeniyle oksijen, hayati bir öneme sahiptir. Yaşamları için oksijene ihtiyaç duyan canlılarda da oksijenin yer aldığı biyokimyasal tepkimelerde bazı toksik ürünler ortaya çıkmaktadır. Oksijenin canlılardaki toksik etkileri başlıca iki tür mekanizma ile gerçekleşmektedir ( 25-27).

1. Oksijen bazı enzimleri inhibe ederek toksisite oluşturabilir. Bu mekanizmaya örnek olarak oksijenin, glutamat dekarboksilaz enzimini inhibe ederek beyinde  $\gamma$ - Amino Bütirik Asit (GABA) düzeyini düşürmesi gösterilmektedir (26).

2. Oksijenin asıl toksik etkisi “oksijen radikalleri” olarak adlandırılan ve oksijenin vücuttaki metabolizması sırasında oluşan reaktif türlerden kaynaklandığı bildirilmektedir. En dış yörüngede eşlenmemiş elektron bulunan molekül ya da molekül gruplarına “radikal” adı verilmektedir. Radikaller stabil olmayan kararsız bileşiklerdir (26). Serbest radikaller, dış yörüngelerinde bir veya birden fazla paylaşılmamış (eşleşmemiş) elektron taşıyan atom veya moleküllerdir. Paylaşılmamış elektrondan dolayı stabil olmayan, oldukça reaktif, çok kısa yarı ömürlü maddelerdir. Hücrenin tüm bileşenleri ile kolayca etkileşebilme özelliğine sahiptirler (28).

Serbest radikallerin biyolojik ortamlardaki türleri Reaktif Oksijen Türleri (Reactive Oxygene species - ROS) ve Reaktif Nitrojen Türleri (Reactive Nitrogene Species - RNS)'dir. ROS oksijen radikallerini ve radikal olmayan reaktif oksijen türevlerini kapsayan genel bir terimdir. Aynı şekilde RNS'ler de, fizyolojik önemi olan serbest radikal türleridir (29, 30). Yüksek konsantrasyonlarda serbest radikaller ve radikal türevi, radikal olmayan reaktif türler canlı organizmalar için tehlikelidir ve tüm hücre yapılarına hasar verir. Bununla birlikte, düşük konsantrasyonlarda nitrik oksit ( $\cdot\text{NO}$ ), süperoksit anyonu ( $\cdot\text{O}_2^-$ ) ve ROS sinyal iletiminde düzenleyici mediatör olarak önemli rol oynarlar. ROS'ların aracılık yaptığı birçok cevap, aslında hücreleri OS'e karşı korur, redoks homeostazını yeniden oluştururlar (31).

### 2.3.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

Oksijen, insan hayatı için hem temel hem de toksik bir elementtir. Serbest radikallerin temel kaynağı moleküler oksijendir. Oksijen molekülü reaktif olmamasına rağmen diğer radikallerle reaksiyona girme özelliğine sahiptir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere “oksidan moleküller” veya ROS denir.

ROS endojen olarak vücutta sentezlenen metabolik yan ürünlerdir. Vücutta normal veya patolojik olarak serbest radikaller üretilir. Bu ürünler hemen sentez edildikleri yerde detoksifiye edilmezler ise zararlı etkilerini oluştururlar (32).

ROS birçok kompleks hastalığın (HT, DM, ateroskleroz, metabolik sendrom gibi) patogenezinde yer almaktadır (32, 33). Serbest radikaller membran enzimlerine ve reseptörlerine kovalent bağlanarak onların antijenik özelliğini ve taşıma fonksiyonunu bozar, poliansatüre yağ asidi/protein oranını değiştirirler. Serbest radikal oluşumu lipid peroksidasyonu ile başlar ve zar yapısında yer alan doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olur. Lipid peroksidasyonuna bağlı olarak organellerde fonksiyon bozukluğu oluşur, lizozomal fragilite artışı ile mikrozomal enzimlerde değişiklikler oluşur ve sonuçta hücre ölümü gerçekleşir. ROS özellikle hücre zarında hasara yol açarak lipid geçirgenliğini artırır ve lipoproteinlerin kana geçişine neden olur. Bu durum monosit ve makrofajların damar duvarına geçişini arttırarak aterogenezi hızlandırır. ROS damar düz kas hücrelerinin büyüme ve çoğalmasını uyarır, kovalent bağları etkileyerek protein, nükleik asit ve lipidlerin yapı ve fonksiyonlarını bozar (34, 35). Organizmada pek çok türde ROS oluşabilir. ROS'ların düzeyi, yaşlanma süreci ile paralel bir artış gösterir. Glukoz gibi maddeler ROS'ları oluşturacak şekilde proteinlerle reaksiyona girerler (36).

ROS, normal hücre metabolizmasında oksijen içeren pek çok biyokimyasal indirgenme reaksiyonları sonucunda oluşabilmektedir (37- 39). Bu işlemde oksijen, elektron transport zincirinde basamaklar halinde suya indirgenmektedir. İndirgenme sonucunda her bir basamakta serbest oksijen radikalleri açığa çıkmaktadır(37, 39, 41).

Vücutta oluşturulan radikaller her zaman tehlikeli kimyasal türler olarak değerlendirilmemelidir. Oksijenin biyokimyasal tepkimelerde kullanılması için

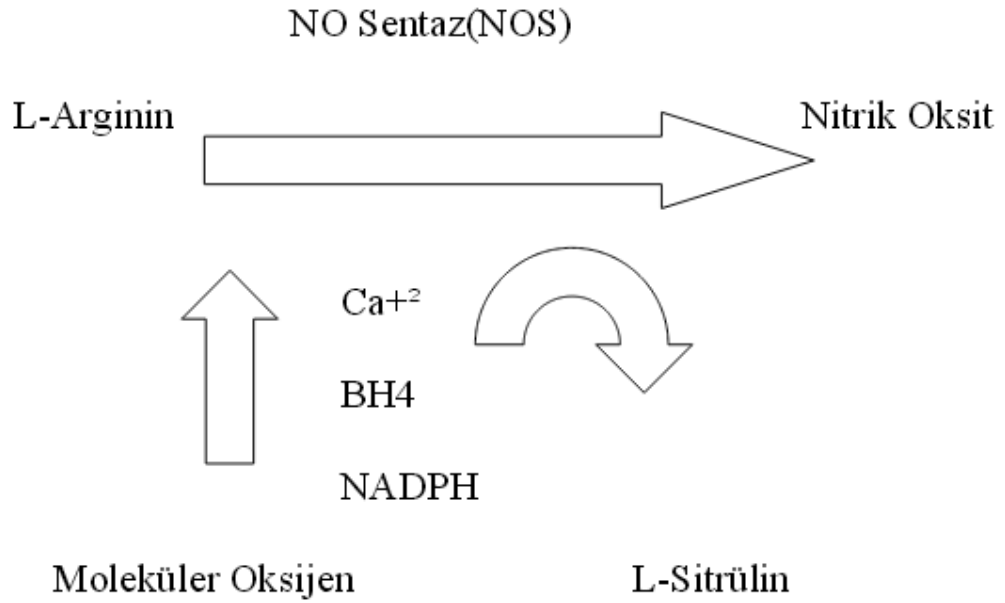
reaktif formlarına çevrilmesi zorunludur. Örneğin, steroid yapıdaki çok sayıda bileşiklerin ve biyolojik aktif moleküllerin sentezi ve oksidaz ve hidroksilaz enzimlerinin ve sitotoksik etkilere sahip hücrelerin fonksiyonları için radikal yapımı olmazsa olmaz bir koşuldur (40). En önemli oksijen radikalleri şunlardır (39, 40).

1.  $\bullet\text{O}_2^-$  (Süperoksit )
2.  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Hidrojen peroksit)
3.  $\bullet\text{HO}^-$  (Hidroksil radikali)
4.  $\text{O}_2\downarrow\uparrow$  (Singlet oksijen)

### 2.3.2. Nitrik Oksit Radikali ( $\bullet\text{NO}$ )

1979 yılında endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) olarak isimlendirilen ve vasküler düz kas hücrelerinde relaksasyon yaptığı gösterilen molekülün, 1987 yılında yapılan çalışmalarda NO ile aynı madde olduğu anlaşılmıştır. Moleküler yapısının küçük olması, lipofilik özellikte olması ve etkisinin kısa süreli olması nedeniyle NO ideal bir intraselüler ve transselüler mesajcı molekül olduğu anlaşılmıştır (10).  $\bullet\text{NO}$ , Nitrik Oksit Sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla L-argininden sentezlenmektedir (Şekil 1). NO dayanıksız bir moleküldür ve kısa sürede daha stabil ve inaktif yapıdaki  $\text{NO}_2^-$  (nitrit) ve  $\text{NO}_3^-$ 'a (nitrat) dönüşmektedir. Bunlar NO gibi gaz fazında olmayıp sıvı fazda olduğundan biyolojik sıvılarda NO yapımının göstergesi olarak kullanılabilirler.

Biyokimyasal olaylar sonucu kalsiyum kanallarının açılarak, kalsiyumun hücre içerisine girmesi sağlanmakta, kalsiyum kalmoduline, bu kompleks de NOS'a bağlanarak enzimi aktive etmektedir. Kalsiyum-kalmodulin kompleksi, NOS'ın yapısında bulunan flavoproteinlere NADPH'dan ve heme flavinlerden elektron transferini kolaylaştırmaktadır. Reaksiyon sonrasında L-argininden  $\bullet\text{NO}$  ve sitrullin sentezlenmekte olup, bu reaksiyonda oksijen ve NADPH kosubstrat, tetrahidrobiopterin ( $\text{BH}_4$ ), flavin adenin nükleotid (FAD) ve flavin mononükleotid (FMN) ise koenzim olarak rol oynamaktadırlar (11, 12).



Şekil 1- Nitrik oksit sentezi (41)

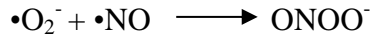
NO'in üst solunum yollarında antiviral ve bakteriyostatik aktivitesi nedeniyle, mikroorganizmalara karşı birincil savunmayı oluşturduğu vurgulanmıştır (42, 43). Yine NO'in üst solunum yolları mukozasında silya aktivitesini hızlandırdığı belirtilmiştir (44).

### 2.3.2.1. Reaktif Nitrojen Türleri (RNS)

•NO diğer önemli bir radikaldir. Paylaşılmamış elektronu, nitrojen ve oksijen atomu arasında delokalizedir. •NO, bir radikal olmakla birlikte reaktivitesi nispeten düşüktür, verdiği hasar, girdiği reaksiyonlar sonucunda üretilen  $N_2O_3$ ,  $NO_2^-$ ,  $NO_3^-$ , HONO ve •OONO (peroksinitrit) gibi maddelerin etkisiyle oluşur. •NO'in biyolojik ortamda oksijen, oksihemoglobin, oksimyoglobin, •O<sub>2</sub><sup>-</sup>, sitokrom c, guanilatsiklaz ile SH- ve NH<sub>2</sub>- içeren bileşenlerle reaksiyona girer. •NO'nun kas gevşetici etkisi, çözünebilir guanilatsiklazın aktive olarak siklik Guanozin Monofosfat (cGMP) oluşturmasıyla meydana gelir (45).



Ayrıca  $\bullet\text{NO}$ , peroksinitrite de ( $\text{ONOO}^-$ ) dönüşmektedir,  $\text{ONOO}^-$  doku harabiyetine yol açan kuvvetli bir oksidandır (11, 13).  $\text{ONOO}^-$ ,  $\bullet\text{O}_2^-$  ve  $\bullet\text{NO}$  radikallerinin birleşmesiyle meydana gelir.



$\text{ONOO}^-$ ,  $\bullet\text{NO}$  fizyolojik ve toksik rollerini düzenler ve protein fonksiyonlarını değiştirir (46). NOS enziminin inhibisyonu ile NO sentezi engellenebilmektedir. Bu enzimin hücrelerde bazal düzeyde bulunan ‘yapısal-constitutif NOS’(cNOS) ve biokimyasal uyarılardan sonra yapılabi aktivasyon kazanan ‘‘induklenebilir NOS’’(iNOS) olmak üzere iki izotipi bulunmaktadır.

cNOS’un ‘‘endotelial NOS’’ (eNOS) ve ‘‘neuronal NOS’’(nNOS) olmak üzere iki izotipi bulunmaktadır. cNOS, vasküler endotel tarafından sürekli olarak fizyolojik düzeyde salgılanmaktadır. cNOS’un  $\text{Ca}^{++}$  ve kalmoduline bağımlı olarak çalıştığı gösterilmiştir (14). Asetilkolin (ACh), Adenozin difosfat (ADP) gibi uyarılar  $\text{Ca}^{+2}$  mobilizasyonuna sebep olmakta ve hücre membranına bağılı bulunan enzimi aktive etmektedirler (11, 14). cNOS aktivitesinin artmasıyla pek çok dokuda; endotel, serebellum, akciğerlerde yer alan makrofajlar, nötrofiller, mast hücreleri, nonadrenerjik ve nonkolinerjik inhibitör nöronlar, fibroblastlar, düz kas hücreleri, endotel ve epitel hücreleri NO üretmekte ve özellikle endotele bağımlı bir vasorelaksasyon ve bronkodilatasyona yol açmaktadır (15-17). NO pulmoner vasküler direnci ve pulmoner arter basıncını ve oksijenasyonu artırmaktadır (47-49).

NO’in inflamatuvar ve otoimmün hastalıklarda doku hasarına katıldığına dair kanıtlar vardır (49, 50). NO lokal olarak sentezlenen süperoksit reaksiyona girerek reaktif süperoksit oluşmasına yol açmakta, bu da doku hasarına neden olmaktadır (14). iNOS inflame dokuda ekprese olmaktadır ve hastalık aktivitesi ile iNOS ekspresyonu arasında korelasyon bulunmaktadır (51)

Aktive makrofajlardan ve endotel hücrelerinden salınan NO’in hedef hücrede yaptığı hasar invitro olarak gösterilmiş, aynı zamanda NO’in yüksek dozları hücre ölümünün nekrotik ve apoptoik yolları tetiklediği gösterilmiştir (47, 52). Ayrıca hayvan modellerinde inflamasyon iNOS inhibitörleri ile suprese edilebilmektedir (12, 53, 54). Ancak NO’in rolünün bu kadar basit olmadığı, inflamatuvar ve otoimmün hastalıklarda Th1/Th2 dengesinde önemli regülatör görevlere sahip olduğu düşünülmektedir (52-55). Ayrıca, günümüzde selektif iNOS inhibitörlerinin

linik kullanım için geliştirilmesine çalışılmaktadır (10-13). NO immun defansta potent sitotoksik efektör bir molekül olarak davranmaktadır. Makrofajlar, tümör hücreleri ve mikroorganizmalara karşı sitotoksik ve sitostatik etkilerini NO aracılığıyla yapmaktadırlar (56, 57). Ayrıca NO serbest oksijen radikallerinin indüklediği hasarı da modüle etmektedir (53, 57, 58). Sentezlenen NO hedef hücreye diffüze olmakta, burada “mitokondrial solunum zinciri” enzimleri ve “nükleer DNA sentezi” enzimleri gibi, mitokondride fonksiyon gören ve hücre proliferasyonunda görev alan pek çok enzimin yapısında bulunan metaller ile reaksiyona girerek fonksiyonlarını inhibe etmekte böylece krebs siklusunu ve mitokondriyal fonksiyonları bozmaktadır.

Özetle; NO'in hücre nekrozu ve apoptozisi için hedefleri hücre nükleusu ve mitokondriyal DNA'dır (12, 14, 52, 54). NO akut ve kronik inflamasyonda önemli rol oynamaktadır (59). NOS inhibitörleri ile tedavinin farelerde akut inflamasyonun şiddetini azalttığı gösterilmiştir (60, 61). Öte yandan L-arginin inflamasyonu artırmaktadır (48, 52). Sepsiste çok yüksek miktarda NO üretilmekte, bu nedenle septik olgularda plazma  $\text{NO}_3^-$  düzeyi yükselmektedir (52, 62). NO lökositlerin endotele adherensini artırmakta, makrofajların yanı sıra lenfositlerin ve polimorf nüveli lökositlerin tümünde NOS aktivitesi olduğundan lökosit fonksiyonları için efektör ve regülatör rol oynamaktadır. NO'in interlökin-2 (IL-2) ve interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) gen ekspresyonunu suprese ettiği, interlökin-4 (IL-4) üretimini artırdığı bilinmektedir (63). Bütün bunlar NO'in yalnızca bir efektör molekül olmadığını, aynı zamanda biyolojik sıvılardaki diğer efektör moleküllerin aktivitelerininide düzenleyen çok yönlü bir molekül olduğunuda göstermektedir (55).

#### **2.4. OKSİDATİF STRES (OS)**

OS, prooksidan bileşiklerin oluşumuyla birlikte, yetersiz antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengenin oksidan bileşiklerin lehine artması sonucu ortaya çıkan doku hasarı olarak tanımlanmaktadır (64). Prooksidanlar reaktif ürünler olup, RNS ve ROS olarak iki gruba ayrılırlar (65).

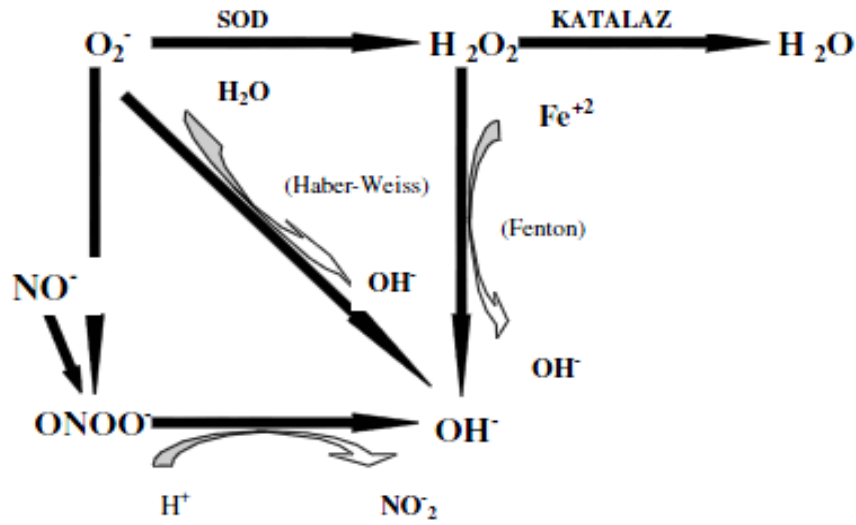
Oksidatif bileşiklerin oluşumu, fizyolojik şartlarda inflamasyon ve doku tamiri sürecinde önemli bir basamaktır. Bu oluşum doku iyileşmesi ve yeniden oluşumuna katkısı yanında malign hücelere ve vücuda giren mikroorganizmalara karşı savunma mekanizmasının önemli bir kısmını oluşturmaktadır. OS; ateroskleroz, HT, nörodejeneratif değişiklikler, yaşlanma ve malignite gelişmesi ile ilişkisi bulunmuştur. Diğer taraftan, uygunsuz veya uyumsuz bir şekilde oksidatif süreç başlamasına, hücre ve doku hasarına neden olan üremi gibi bir takım kronik patolojik durumlar da söz konusu olabilir (66).

#### 2.4.1. Oksidatif Stres Kaynakları

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> veya hipoklorik asit (HOCl) gibi ROS ve •O<sub>2</sub><sup>-</sup>, •OH<sup>-</sup> ve •NO gibi serbest radikallerin in vivo olarak oluştuğu kabul edilmektedir (67). Ancak OS varlığını yalnızca ROS ile açıklamak yeterli değildir. OS, antioksidan savunma mekanizmasının zayıflaması ile birlikte, ROS'un oluşumu ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengesizlik sonucunda ortaya çıkar. ROS'nin oluşumu ile antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki denge; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), NOS ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi bazı enzimlere bağlı olarak gerçekleşir. Bu denge, kırılğan olduğu gibi aynı zamanda çevresel olaylarla da sıkı bir ilişki içerisinde (68).

Mitokondriyal solunum zinciri, vücuttaki en güçlü hücresel oksidan kaynağı olarak görünmekte ve oksidatif süreç belirgin olarak mitokondrielerde gerçekleşmektedir. Mitokondriyal SOD enzimi, insan oksijen metabolizmasının %90'ından sorumludur. Bu enzim oksijen ile reaksiyona girerek, dört adet elektron transferini sağlayıp, sonuç olarak iki molekül su oluşumuna neden olur. Bu karmaşık enzim, herbiri bir elektron içeren dört redoks merkezine sahiptir. Dört redoks merkezinin tamamı indirgendiği zaman, daha sonraki dört elektronun oksijen molekülüne transferi bir takım ara basamaklar sonucunda gerçekleşir. Böylece, aradaki reaktif oksijenlerin oluşumu sınırlanır. Bununla birlikte, %1-2 oranında küçük bir kısım serbest radikallerin oluşumuna neden olan ara basamaklardan geçer. Bu problemin çözümüne yönelik olarak; oluşan ara ROS'nin, hücrelerin hayati yapı

taşlarına ve hücre fonksiyonuna yönelik oksidatif hasarını ortadan kaldırmak amacıyla yağda ve suda çözünebilen serbest radikal temizleyicileri ve enzim sistemleri gibi çok sayıda hücre içi antioksidan sistemler vardır (69). Fagositler vücudun savunmasını sağlamak amacıyla yüksek düzeylerde oksijen tüketimi gerçekleştirirler. Fagosit oksidan üretim sistemi, ROS'nin oluşumu yoluyla ortaya çıkan tek değerlikli moleküler oksijenin indirgenmesine bağlıdır. Tek değerlikli moleküler oksijen oluşumunu izleyerek, hem polimorfonükleer nötrofillerin hem de monosit-makrofajların aktivasyonu gerçekleşir ve oksijen tüketimi artar. Buna “solunumsal yanma” (respiratory burst) denir. Fagositlerin gerçekleştirdiği bu solunumsal yanmada, NADPH oksidaz, SOD, NOS ve myeloperoksidaz kullanılarak yabancı mikroorganizmaları ortadan kaldırmak amacıyla, sırasıyla  $\bullet\text{O}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , NO ve HOCl oluşturulur. NADPH oksidaz enzim sistemi, hücresel membranlara bağlanarak oksijeni  $\bullet\text{O}_2^-$  indirger.  $\bullet\text{O}_2^-$ , ileri derecede kararsız bir anyondur. Bir kez  $\bullet\text{O}_2^-$  oluştuğunda SOD aktivasyonu ile  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'e çevrilir.  $\text{H}_2\text{O}_2$ , yeterli KAT varlığında  $\text{H}_2\text{O}$  ve  $\text{O}_2$  gibi zararsız bileşiklere çevrilir.  $\text{H}_2\text{O}_2$  oluşur oluşmaz  $\text{H}_2\text{O}$ 'ya dönüşür. Hem  $\bullet\text{O}_2^-$  hem de  $\text{H}_2\text{O}_2$  daha güçlü oksidanların açığa çıkmasında önemli rol oynarlar.  $\text{O}_2^-$ , daha etkili ROS'ni oluşturmak için NO ile etkilesime girer (nitrozatif stres). Bu sırada,  $\text{H}_2\text{O}_2$  hücre içi demir ile tepkimeye girerek  $\bullet\text{OH}^-$  oluşturur.  $\bullet\text{OH}^-$ , hücre membranındaki lipitlerin indirgenmesine, proteinlerin toplanmasına ve DNA hasara uğramasına neden olur.  $\text{H}_2\text{O}_2$ , klorlanmış oksidanların üretiminde, myeloperoksidaz substratı olarak rol alır. Myeloperoksidaz  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'yi HOCl'e çevirir. Bu lipitleri, proteoglikanları ve diğer membranöz veya hücre içi içerikleri, kısmen de tiol grubu içeren membran proteinlerini oksid etme yeteneğinde olan güçlü bir bileşiktir. Ek olarak, endojen aminlerle, kloraminleri oluşturmak amacıyla tepkimeye girebilir. ROS, proinflamatuvar sitokinlerle, oksidan oluşumunu artırmak amacı ile birlikte salınırlar (70, 71).



Şekil 2- ROS'nin oluşumu ve antioksidan etkileşim (71)

#### 2.4.2. Oksidatif Stres Belirteçleri

Oksidanlar, yarı ömürleri saniyeler olan ve yüksek derecede tepkime veren reaktif bileşiklerdir. Bu nedenle, in vivo olarak değerlendirilmeleri uygun değildir. Aksine, oksiradikaller tarafından modifiye edilen lipitler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitlerin yarı ömürleri saatlerden haftalara kadar değişen bir uzama gösterir. Bu durum, OS'in değerlendirilmesinde, bunların değerli belirteçler olmasına olanak sağlamaktadır (72). OS ve antioksidan belirteçleri tablo 3'de gösterilmiştir.

Lipit peroksidasyonunda; doymamış yağ açıl kısımlarının peroksil radikal bağımlı zincirleme reaksiyonlarıyla, kararsız hidroperoksitler oluşur. Akrolein, malonildialdehid gibi aldehidler, 4-hidroksinonenal veya TBARS, F2-izoprostanlar gibi küçük ve kararlı bileşiklere dönüşürler.

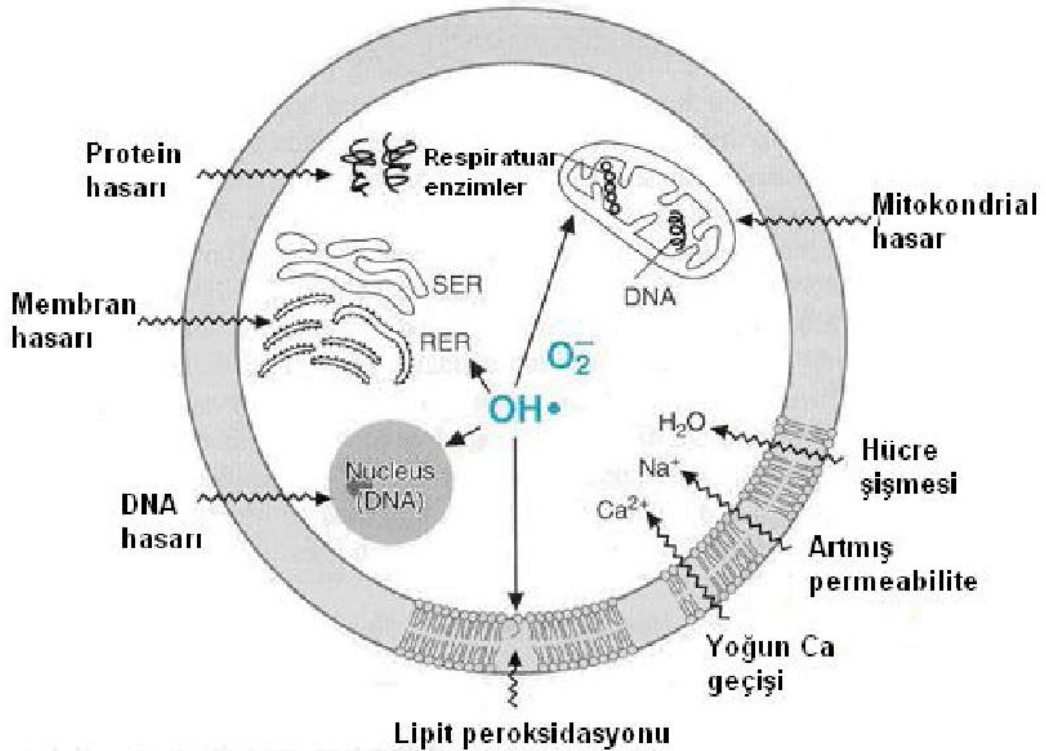
Tablo 3- OS ve antioksidan belirteçleri (73)

<b>OKSİDATİF STRES BELİRTEÇLERİ</b>	<b>ANTIOKSİDAN BELİRTEÇLERİ</b>
<b>Lipit peroksidasyonu</b>	<b>Enzimatik</b>
Akrolein	Süperoksit dismutaz
Malondialdehit	Katalaz
4-hidroksinenal	Glutasyon peroksidaz
TBARS	<b>Enzimatik olmayan</b>
F <sub>2</sub> -izoprostanlar	Glutasyon
İleri lipit oksidasyon ürünleri	Vitamin E
<b>Protein oksidasyonu</b>	Vitamin C
İleri protein oksidasyon ürünleri	Ferritin
Karbonhidrat oksidasyonu	Transferrin
İleri glikasyon son ürünleri	Albumin
Nükleik asit oksidasyonu	
8-hidroksi-2-deoksiguanozin	

F<sub>2</sub>-izoprostanlar, araşidonik asit oksidasyonunun birincil ürünleridir. In vivo olarak, hücre membran fosfolipidlerinin serbest radikallerce etkilenmesinin dengeli bir belirteci olarak ortaya çıkabilirler (74). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda; F<sub>2</sub>-izoprostanların, aynı yaş ve cinsiyette olan normal bireylerle kıyaslandığında, hemodiyaliz (HD) hastalarında 2-4 kat daha yüksek düzeylerde olduğu gözlenmiştir. Aynı zamanda C-reaktif proteinle de (CRP) sıkı bir ilişkisinin olduğu ortaya konmuştur (75). Bu ailenin uç reaktif elektrofollerinden bir diğeri ise araşidonik asitin serbest radikaller tarafından oksidasyonu sonucunda oluşan izolevoglândinlerdir. Bunlar F<sub>2</sub>-izoprostanlar gibi plazmada bulunmazlar. İleri derecede reaktif olduklarından proteinlere bağılı olarak taşınırlar (69). Ayrıca, ileri lipit oksidasyon son ürünlerindeki artış, okside düşük yoğunluklu lipoproteine (ok-LDL) karşı gelişen özgün antikorların varlığı, artmış OS'in gösterilmesi için yararlı belirteçler olarak gösterilebilir (74).

## 2.5. HÜCRELERDE SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİNİN ETKİLERİ

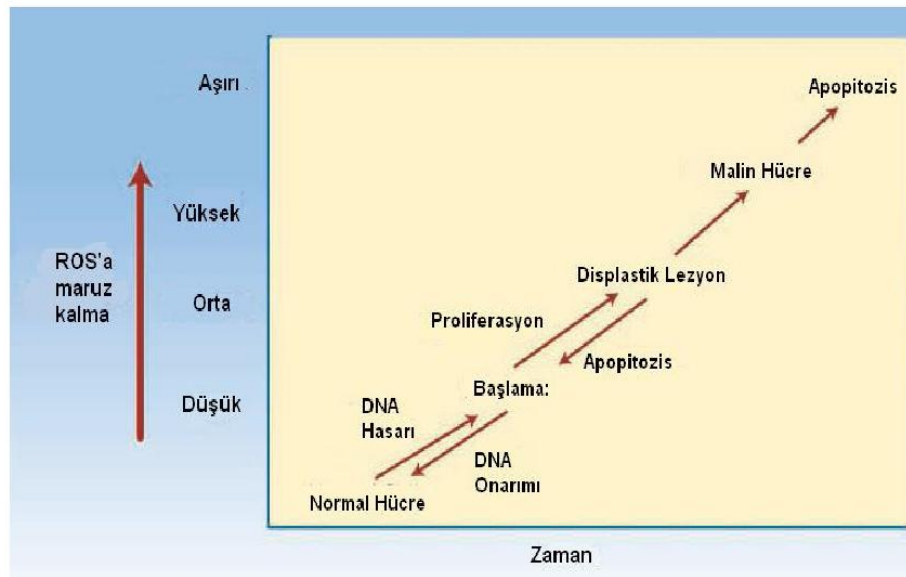
Serbest radikal reaksiyonları, normal koşullarda bağışıklık sistemi hücrelerinden nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizması için gerekli olsa da, serbest radikallerin fazla üretimi doku hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır. Serbest radikaller hücre içinde antioksidan kapasiteyi aşan yüksek konsantrasyonlarda oluştuğları zaman; başta lipitler olmak üzere, protein, DNA, karbonhidratlar ve enzimler olmak üzere birçok molekülle reaksiyona girerler (76). Bu reaksiyonlar sonucunda enzimlerin normal fonksiyonlarını, aerobik solunumu, kapiller permeabiliteyi bozup hücrenin potasyum kaybını artırır. Hücre içindeki birçok litik enzimi aktif hale getirirler, bazı savunma sistemlerini inaktive ederler (Şekil 3). Trombosit agregasyonunu artırır, dokularda fagosit toplanmasını kolaylaştırır (77). Son yıllarda yapılan çalışmalar, serbest oksijen radikallerinin ve lipit peroksidasyonunun artmasının birçok hastalığın patogenezinde rol oynadığını göstermektedir.



Şekil 3- Serbest radikallerin hücre içi yapılara etkileri (77)

Serbest radikaller damar endotel hücrelerinde hasar yaparak vasküler hastalıklara neden olur (78). Esansiyel HT'nun patofizyolojisinde bazı OS parametrelerinin yüksek olduğu ve kan basıncı yüksekliği ile kuvvetli bir ilişkisi olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (79, 80). Miyokard enfarktüsü, bazı nörolojik hastalıklar, astım, DM, romatoid artrit, kanser ve obezite dahil birçok hastalığın OS ile ilişkisi gösterilmiştir (81). Ayrıca, hiperglisemi nedeniyle meydana gelen OS retinopatiye neden olabilir (82). Serbest radikallerin ayrıca yaşlanmada da rolü vardır (83).

Serbest oksijen radikallerinin sinyal transdüksiyonu ile apoptozis, proliferasyon, transformasyon ve farklılaşma gibi çeşitli hücresel olaylar etkilemektedir (84) (Şekil 4).



Şekil 4- Serbest oksijen radikallerinin sinyal transdüksiyonuna etkileri (85)

### 2.5.1. Serbest Radikallerin Lipit Yapılara Etkileri

Biyolojik moleküllerin tümü, serbest radikaller tarafından etkilenirken, en fazla zararı lipidler görmektedir. Lipid peroksidasyonu, çoklu doymamış yağ asitlerinin (poliansature yağ asitleri-PUFA) radikaller ile oksidasyonu sonucu başlar ve kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonları şeklinde devam eder. Yani tüm



biyomoleküller içinde serbest radikallerden en fazla etkilenen yapı, lipitlerdir. Membranlarda bulunan kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle çok çabuk reaksiyona girerler. Zincirleme reaksiyonlar sonucunda hidroperoksitler oluşmaktadır. Hidroperoksitler de daha zararlı radikal özelliği olan türlere, özellikle aldehitlere çevrilirler. Bu bileşikler, oluştukları yerden diffüze olup hücrenin diğer kısımlarında hasar oluşturabilmektedirler. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür (38, 86, 87).

#### 2.5.1.1. Malondialdehit (MDA) Oluşumu

Linolenik ve araşidonik asit gibi ikiden daha fazla çift bağ içeren PUFA peroksidasyonu sırasında, tiobarbutirik asit (TBA) ile ölçülebilen MDA oluşmaktadır. MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik veya kantitatif bir belirleyicisi değildir. Fakat lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon göstermektedir. Yağ asitlerinin peroksidasyonundan oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Bu da iyon geçirgenliğinin, enzim aktivitesinin ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerinin değişimiyle sonuçlanır. MDA bu özelliği nedeniyle DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojeniktir (86, 87).

İnflamasyonda oluşan  $\cdot\text{OH}^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  gibi ROS hücre zarındaki PUFA'ni hasara uğratar (67). Hasarlı hücre zarı lipidleri ve lipid peroksidasyonunun son ürünleri, hücrelerin hatta dokuların canlılığı için risk oluşturur. Biyolojik sistemlerde oksidanlarca lipid hidroperoksidasyonu ile hücre zarı yüzeyindeki okside yağ asitleri ve poliunsatüre lipidlerin yıkılması sonucunda aldehidler oluşur. MDA'da bu sırada oluşan bir çeşit aldehittir ve dokular, bronkoalveolar lavaj sıvısı ve serum gibi vücut sıvılarında reaktif oksijen maddelerinin oluşturduğu lipid peroksidasyonunun dolaylı bir göstergesidir. Biyolojik ortamlarda MDA serbest, proteinler, nükleik asitle gibi makromoleküllerin SH- ve  $\text{NH}_2$ - gruplarına bağlı olarak bulunur. Biyolojik örneklerde çok küçük miktarlarda serbest MDA bulunur. Bundan dolayı, genellikle total (serbest ve bağlı) MDA değerlendirilir. DNA ve proteinlerle etkileşimi

potansiyel olarak mutajenik ve kanserojenik olduğunu gösterilmiştir. Biyolojik örneklerde MDA'nın esas kaynağı iki veya daha fazla metilenle çift bağı kesilen poliansature yağ asitleri peroksidasyonudur (57).

#### 2.5.1.2. 8-İzoprostan (8-IP) Oluşumu

İzoprostan hücre membranı fosfolipidlerinden fosfolipaz A2 tarafından üretilen araşidonik asit üzerindeki OS'in etkisi ile oluşan formudur (Şekil-6). İn vivo olarak lipit peroksidasyonunun OS ürünüdür. 8-IP seviyesi sabah saatlerinde, akşam saatlerine göre belirgin yüksek tespit edilir. 8-IP OS hava yolu mukozasında artmış OS'in kantitatif ölçümünde kullanılabilir (49). Yapılan çalışmalarda 8-IP konsantrasyonu YSH ile plazma da benzer olarak bulunmuştur. Plazmada sistemik OS'e cevap olarak, YSH'de lokal havayollarında lipit peroksidasyon sonucu daha belirgin olarak ölçülmüştür.

OS hücre membranında lipit peroksidasyonuna ve izoprostanlar olarak adlandırılan yeni bir grup prostanooidlerin oluşumuna yol açar (47). 8-IP PGF2 $\alpha$ 'nın en iyi bilinen izomerdir, serbest radikallerin katalizasyonu sonucu araşidonik asit peroksidasyonundan, siklooksijenazdan bağımsız olarak oluşur (49). İzoprostan kimyasal olarak stabildir, in-vivo oluşur, lipit peroksidasyonu için spesifiktir, antioksidanların klinik farmakolojisini tanımlamak için kullanılır (57). 8-IP baskın olarak non-enzimatik reaksiyon ile araşidonik asitten oksidatif metabolizma tarafından üretilir. 8-IP'in küçük bir miktarı ise siklooksijenaz yolağında meydana gelir. 8-IP ölçümü OS'in güvenilir bir belirteci olabilir (59).



gelmektedir. Ayrıca bu yapısal değişiklikler, proteinin proteolize daha duyarlı hale gelmesine neden olmaktadır. Serbest radikaller, membran proteinleri ile de reaksiyona girerek enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarını bozabilirler (87, 88).

Proteinler; oksidan veya diğer serbest radikallerin özellikle daha hassas olan aminoasitlerle etkileşime girmesi sonucunda doğrudan zarar görebilirler. Protein fonksiyonu için kritik olan yapısal bazı aminoasitler, radikal hasarına karşı oldukça duyarlıdır. Peroksil radikalleri ve hidroksil radikalleri gibi serbest radikal türleri veya hipoklorit ve  $H_2O_2$  gibi aktif oksijen türlerinin yol açtığı protein hasarı; aminoasit oksidasyonu, deaminasyon ve dekarboksilasyon gibi mekanizmalarla meydana gelir. Bazı aminoasit rezidüleri oksidatif saldırıya karşı daha hassastır, proteinlerin serbest radikal üreten sistemlere maruz kaldığında, aminoasit yan zincirlerinin değişikliğe uğraması sonucunda tersiyer yapısal değişiklikler meydana gelir (89).

### **2.5.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asitlere Etkileri**

ROS, DNA çift sarmalının ayrılmasına veya nükleik asit-baz değişimlerine neden olabilir. Bu da kromozomal mutasyonlar ve sitotoksosite ile sonuçlanır.  $\bullet HO^-$ , deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girerek değişikliklere yol açar.  $H_2O_2$  membranları kolayca geçerek hücre çekirdeğinde DNA hasarına, sonuçta hücre disfonksiyonu ve hücre ölümüne neden olur (106).  $\bullet HO^-$  DNA'nın yakınında meydana gelirse pürin ve pirimidin bazlarında mutasyonlara neden olur.  $O_2^-$ 'in nükleik asitlerle tepkimeye girme yeteneği daha sınırlıdır.  $\bullet O_2^-$  ise güçlü bir oksitleyici olduğundan, guanin gibi yüksek elektron yoğunluklu bölgeler içeren moleküllerle daha kolay reaksiyona girer (88, 90).

### **2.5.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri**

ROS'un karbonhidratlar üzerine de etkileri vardır. Glukoz, mannoz ve deoksi şekerler otooksidasyona uğrayarak,  $\bullet O_2^-$  ve  $H_2O_2$ 'i meydana getirirler.

Monosakkaritlerin otooksidasyonu, çeşitli hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynamaktadır. Diyabet ve komplikasyonlarının gelişimi, koroner kalp hastalığı, HT, göz hastalıkları, kanser gibi pek çok sistemik durumda ve yaşlılık sürecinde serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan mekanizmaların yetersiz olduğu gösterilmiştir (38, 88).

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu  $H_2O_2$  ve okzoaldehitler meydana gelmektedir. Enflamatuvar eklem hastalıklarında sinovial sıvıya geçen lökositlerden ekstrasellüler sıvıya salınan  $H_2O_2$  ve  $O_2$ , buradaki mukopolisakkarit olan hyalüronik asidi parçalamaktadır. Gözün vitröz sıvısında bol miktarda hyalüronik asit bulunduğundan, bunun oksidatif hasarı katarakt oluşumuna katkıda bulunmaktadır (40).

## 2.6. ANTIOKSIDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Vücutta ROS'nin düzeylerini kontrol altında tutmak ve oluşturabilecekleri hasarları engellemek için birçok savunma mekanizmaları bulunmaktadır (101, 102).

Serbest radikalleri metabolize eden, serbest radikal oluşumunu önleyen veya serbest radikallerin temizlenmesini arttıran bu maddelere “antioksidan” maddeler denilmektedir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ya da ROS'ni toplayarak OS ürünlerini inhibe etmektedirler. ROS'nin zararlı etkilerinden korunmak amacıyla, hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidan sistemler mevcuttur ve serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesinde rol oynarlar.

Enzimatik yolla antioksidan savunmada anahtar görevi üstlenen enzimler SOD, KAT, GSH-Px'dir. SOD,  $\bullet O_2^-$ 'nin  $H_2O_2$ 'ye dönüşümünü hızlandırarak ilk basamak antioksidan savunmasını meydana getirir. KAT,  $H_2O_2$ 'yi suya indirger. Selenyum içeren GSH-Px tüm organik lipit peroksitleri indirger. Bunu yaparken hem  $H_2O_2$ 'ye hem de önemli bir hücre içi hidrojen vericisi olan glutatyona (GSH) ihtiyaç duyar (74, 91).

Antioksidanlar ayrıca primer, sekonder ve tersiyer olarak da sınıflandırılmaktadır. Yeni serbest radikal formasyonunu önleyen antioksidanlar primer antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır. Örnek olarak SOD, GSH-Px, metal

bağlayan proteinler, ferritin, seruloplazmin, demir, hemopeksin, haptoglobulin gösterilebilir. Bazıları ise metal iyonları ile reaksiyona girebilecek olan peroksitleri yok ederek serbest radikallerin oluşumunu önlemektedirler (92).

Sekonder antioksidanlar, zincir kırıcı reaksiyon ile serbest radikalleri uzaklaştırmaktadırlar. Bilirubin, E vitamini, C vitamini,  $\beta$ -karoten, ürik asit,  $\alpha$ -tokoferol ve albumin gibi maddeler bu sınıfta yer almaktadırlar. Askorbik asit suda erimekte, radikal toplayıcı olarak rol almakta ve E vitamininin etkisini arttırmaktadır. Ürik asit ksantin oksidazı inhibe ederek serbest radikal oluşumunu azaltmaktadır (92). Tersiyer antioksidanlar, serbest radikaller tarafından hasar gören biyomolekülleri onarırlar. DNA'yı onaran enzimler bu grupta yer almaktadırlar (92, 93).

Enzim olmayanlar ise, bilirubin, albumin, ürik asit,  $\alpha$ -tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir. Bunlar oksijen radikallerine karşı ilk savunma sistemini oluşturmaktadırlar (38, 94, 95, 96). Enzimatik olmayan antioksidanlar arasında en önemlisi glutatyondur. Glutatyon,  $H_2O_2$ ,  $\bullet OH$  ve  $Cl^-$  içeren oksidanları temizlemekle görevli bir bileşiktir. İndirgenmiş glutatyonun, oksidize glutatyona oranı OS'in bir belirteçidir. Diğer enzimatik olmayan antioksidanlar ise, Vitamin E ve C'dir. Vitamin E yağda çözünebilir ve düşük düzeyde tepkime veren radikal tokoferoksil oluşturarak hücre zarını lipid peroksidasyonuna karşı koruyan ilk savunma hattıdır. Diğer önemli görevi ise, LDL'yi oksidasyondan korumaktır. E vitamini vücuttan selenyum kaybını da önler. Vitamin C, doğrudan  $\bullet O_2^-$  ve  $\bullet OH$  radikallerini yakalayarak ortadan kaldırır. Aynı zamanda, vitamin E'nin radikal formunun düzelmesini de sağlar. Flavenoidler de (birincil vitamin A ve öncül bileşimi olan beta karoten) yağda çözünebilir antioksidanlardır ve vitamin E gibi lipid membranlarını oksidatif hasara karşı korurlar. Selenyumda GSH-Px'in bir yapıtaşı olduğundan antioksidan olarak değerlendirilebilir. Ferritin, transferin ve albumin gibi inflamatuvar proteinler enzimatik olmayan antioksidan etkilerle iletide rol alan metal iyonlarını biriktirirler. Eritrositlerde intakt hemoglobin, SOD, KAT, GSH-Px içerdiklerinden antioksidan deposu olarak değerlendirilebilirler (74, 91).

### 2.6.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD, yapısında bakır, çinko ve manganez bulunan bir metalloenzimdir. Oksijeni metabolize eden tüm hücrelerde bulunan SOD ve GSH-PX enzimleri serbest oksijen radikal toksisitesine karşı önemli defans mekanizmalarını oluştururlar. SOD, GSH-Px ve KAT gibi enzimler serbest radikallerin oluşmasını ve lipid peroksidasyonunun başlamasını önleyen enzimlerdir. Vücutta üretilen bir serbest radikal olan  $O_2^-$  anyonu SOD tarafından  $H_2O_2$ 'e çevrilir.  $H_2O_2$ 'in kendisi serbest radikal olmadığı halde  $\cdot OH$  radikali üretimine yol açtığından toksik etki gösterir.  $H_2O_2$ , KAT ve GSH-Px tarafından temizlenir. Bu enzimler, enzimatik antioksidan savunma sistemini oluştururlar (97, 98).

SOD, substrat olarak serbest oksijen radikallerini kullanan ve  $\cdot O_2^-$ 'i  $H_2O_2$ 'e çeviren bir metalloenzimdir. Bu reaksiyon "OS'e karşı ilk savunma hattı" olarak da adlandırılmaktadır. Çünkü  $\cdot O_2^-$  zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki  $\cdot O_2^-$  düzeyleri kontrol altında tutulmaktadır. Lösemi, iskemi, hepatit, müsküler distrofi, respiratuar distres sendromu, böbrek yetersizliği, Fankoni anemisi, akciğer enfeksiyonları ve motor nöron hastalıkları gibi serbest radikal açığa çıkaran olaylarda ve hastalıklarda koruyucu rol oynadığı düşünülmektedir (38, 40, 94, 99)

Aynı zamanda SOD, lipid peroksidasyonunu da inhibe etmektedir. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır. SOD'ın ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür (38).

### 2.6.2. Katalaz (KAT)

KAT enzimi peroksizomlarda lokalizedir. SOD'ın oluşturduğu  $H_2O_2$ 'i KAT peroksidazlarla beraber oksijen ve suya parçalar. GSH-PX'in  $H_2O_2$ 'e karşı  $K_m$ 'i KAT'a göre daha düşüktür. Yani düşük konsantrasyonlarda  $H_2O_2$ 'i GSH-PX parçalar, yüksek konsantrasyonlarda ise KAT aktivite kazanır.

KAT yapısında protoporfirin-IX, Fe (Hem) grubu içerir. Kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek ve müköz membranda yüksek miktarda bulunmaktadır. KAT hücreyi kendi respiratuar patlamasına karşı koruyarak hizmet etmektedir (40, 93)

### **2.6.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)**

GSH-Px, doğal bir antioksidandır. GSH-Px organik peroksitleri GSH ile elimine eder. GSH-Px, pek çok hücrede sitozollerde bulunan bir enzimdir. Sitozol ve mitokondrilerde SOD tarafından oluşturulan  $H_2O_2$  ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırmaktadır. Ancak kapasitesi sınırlıdır. Düşük  $H_2O_2$  konsantrasyonunda çalışmaktadır. Kofaktör olarak selenyum elementini kullanır (38, 40, 99) GSH yükseltirken  $H_2O_2$ 'i de suya çevirir ve böylece membran lipidlerini ve hemoglobini oksidan strese karşı korur. GSH-Px, E vitamini yetersiz olursa membranı peroksidasyona karşı korur. Eritrositlerde en kuvvetli antioksidandır.  $H_2O_2$  ve organik peroksitlerin indirgenmesiyle oksitlenen glutasyon, glutasyon redüktaz enzimi ve başlıca pentoz fosfat yolundan sağlanan NADPH yardımıyla indirgenerek reaksiyonların devamını sağlar (38).

GSH-Px fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu, fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GSH-Px oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar. Yapılan çalışmalarda kord kanında GSH-Px ve total antioksidan düşüklüğü olan bebeklerde DNA hasarının yüksek olduğu gösterilmiş ve doğumda oksijen radikallerinin oluşumunun arttığı ifade edilmiştir (38, 98, 100).

### **2.6.4. Glutasyon Redüktaz**

Yükseltgenmiş (okside) glutasyonu indirgenmiş hale çevirir. GSH indirgenme reaksiyonu sırasında sıklıkla elektronlar NADPH'dan FAD'e transfer edilir. Daha



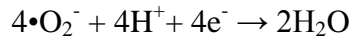
sonra GSH'ın iki sisteini arasında bulunan disülfid köprüsüne transfer edilmek suretiyle GSSG aktarılmış olur (31). GSH-Px tarafından H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve diğer lipid peroksitlerin yükseltgenmesi sırasında glutatyon, okside glutatyona dönüşmektedir. Oksidasyona uğramış bu yapıyı tekrar kullanmak için GSH'a dönüştüren enzim glutatyon redüktazdır (38).

### 2.6.5. Glutatyon-S-Transferazlar (GST)

Organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda görev almaktadırlar. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipid hidroperoksidlere karşı GST'ler "Selenyum"dan bağımsız aktivite göstermektedirler. Antioksidan aktivitelerine ek olarak başka biyokimyasal fonksiyonlara da sahip olup bilirubin, hem ve bazı kortikosteroidler gibi endojen maddelere geri dönüşümsüz olarak bağlanarak bunların hücre içi transportunda da görev almaktadırlar (38).

### 2.6.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz •O<sub>2</sub><sup>-</sup> suya çevirerek etki göstermektedir.



Bu reaksiyon, fizyolojik şartlarda sürekli cereyan eden normal bir reaksiyon olup bu yolla yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve bol miktarda enerji üretimi sağlanır. Ancak, •O<sub>2</sub><sup>-</sup> üretimi çoğu zaman bu enzimin kapasitesini aşar. Bu durumda diğer antioksidan enzimler devreye girerek •O<sub>2</sub><sup>-</sup> zararlı etkilerine engel olurlar (38).

## 2.7. OBEZİTE VE OKSİDATİF STRES

Obeziteyle birlikte organizmada OS artmaktadır. Artan OS yine bu hastalarda ortaya çıkan doku ve fonksiyon bozukluklarının (endotel disfonksiyonu, artmış platelet agregasyonu, aterogenez vb.) başlıca sebebi olarak öne sürülmüştür (101). Obezitede OS'i arttıran etkenler arasında hiperglisemi, hiperleptinemi, doku lipit düzeylerinin artması, yetersiz antioksidan defans, reaktif oksijen türevi oluşumunun artması ve kronik inflamasyon olarak bildirilmiştir (102).

Framingham Çalışmasında, sigara içme, diyabet ve BMI değerinin bir OS belirteci olan idrarda 8-epi-PGF2 $\alpha$  ölçümleriyle ilişkili olduğu bulunmuştur (103). Metabolik sendrom (MS), Tip 2 diyabet, HT ve dislipidemiye neden olduğu bilinen obeziteyle ilgili çalışmaların birinde OS parametrelerinden olarak bilinen ve obezitede detaylı olarak araştırılmamış olan "nitrotirozin" düzeylerinin obez hastalarda arttığı gösterilmiştir (104). OS'in diğer göstergeleri arasında yer alan MDA, NO, antioksidan enzim, antioksidan vitamin (C, E) düzeylerinin hem obez deney hayvanlarında hem de obez hastalarda değiştiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (105).

Obez olguların plazma lipoproteinlerinde, eritrosit membran lipidlerinde ve çeşitli dokularında lipid peroksidasyonunun arttığı, yapılan çalışmalar sonucu görülmüştür. Bu artışın daha fazla enzimatik (araşidonik asit yolu) ya da nonenzimatik lipid peroksidasyonundan mı kaynaklandığı bilinmemektedir. Lipid peroksidasyonu, hem yaygın vasküler inflamasyon sonucu aktifleşen lipooksijenaz yolu ile prostoglandinlerden, hem de serbest radikaller ve geçiş metallerinin etkisi ile endotelial ve fagositik hücrelerin membranlarında bulunan lipidlerden, nonenzimatik yolla oluşmaktadır. Daha sonra her iki yola ait ürünlerin, karşılıklı olarak birbirlerini aktive ederek, lipid peroksidasyonunu artırdıkları bildirilmiştir (106-108).

## 2.8. İNFLAMASYONA İMMUN YANIT

İnflamasyon canlı dokunun travmaya verdiği yanittir. Hasarlı bölgede kan akımı artar. Bunun sonucunda ısı artışı ve kızarıklık oluşur. Doku içine sıvı sızması

ve hücre sızması sonucu şişme görülür. Enflamasyonun amacı etkenleri yok etmek, etkenleri sınırlamak ve hasarlı dokuları ortadan kaldırmaktır. Sitokinler inflamatuvar cevabın en güçlü mediatörleri olarak görülmektedir. Travmaya ve enfeksiyona karşı gelişen cevabı yöneten ve yara iyileşmesini sağlayan efektör moleküllerdir. Etkilerini özgül hücrelerdeki reseptörlerine bağlanarak ve gen transkripsiyonunda düzenleme yaparak açığa çıkarırlar. Bununla birlikte travma cevabı sırasında sitokinlerin aşırı üretimi hemodinamik dengenin bozulmasına veya metabolik düzensizliklere neden olabilir (109).

### **2.8.1. Sitokinler**

1970'li yıllarda, immun sistemde hücreler arası iletişimi sağlayan immun globulinler dışında başka aktif moleküllerin de olduğu saptanmıştır. Enfeksiyon ve cerrahi travmaya maruz kalan hastalar, büyük oranda sitokin denilen endojen mediatörler tarafından kontrol edilen hemodinamik, metabolik ve immun yanıt değişiklikleri gösterirler. Özelleşmiş dokular tarafından yapılan ve etkilerini esas olarak endokrin sistem üzerinden gösteren klasik hormonal mediatörlerin aksine sitokinler, hasarlanan bölgedeki değişik hücre tipleri ve sistemik immun hücreler tarafından yapılan, glikoprotein ve polipeptit yapıda ajanlardır. Daha önceden yapıp depo edilmemeleri ve asıl olarak parakrin ve otokrin mekanizmalarla etki göstermeleri ile hormonlardan ayrılırlar (110,111). Sitokinler gen transkripsiyonunu düzenleyen intraselüler sinyal yollarının aktivasyonuna yol açan spesifik hücresele reseptörlere bağlanırlar. Bu mekanizma ile sitokinler immun hücre aktivitesi, farklılaşma, çoğalma ve hücrenin yaşam süresini etkilerler (112, 113). Esasen sitokinler enfeksiyon ve hasar alanına inflamatuvar yanıtı yönlendiren ve yara iyileşmesini indukleyen mediatörlerdir. Ancak, ağır bir travma veya sepsis sonrası devamlı, aşırı proinflamatuvar sitokin yanıtı, organ hasarına katkıda bulunarak çoklu organ yetmezliğine yol açabilir (111).

Sitokinler, IL'ler, tümör nekroz faktör (TNF), hemopoetik büyüme faktörleri, IFN'lar ve kimokin ailesi olarak beş grup altında incelenebilirler. Bunlar birçok

hücreden salgılanırlar. Bu hücreler monosit-makrofaj, mezenkimal hücreler, düz kas hücreleri, fibroblastlar, astrositler ve mikroglial hücrelerdir (110, 114).

#### 2.8.1.1.TNF- $\alpha$

TNF- $\alpha$  proinflamatuvar sitokin olup disfonksiyonel endotel gelişimi gibi kardiyovasküler patolojinin başlaması ve ilerlemesinde katkı sağlar (115). İnflamatuvar lökositler ve adipositler başta olmak üzere birçok hücreden salınır. TNF- $\alpha$  endotel hücresinde OS'i indükler, endotelial adezyon moleküllerinin ekspresyonunu regüle eder ve Nükleer faktör kappa-B (NF- $\kappa$ B) ve Aktive protein-1 (AP-1) bağımlı bağımsız yolların ürettiği sitokinlerin üretimini stimüle eder. TNF- $\alpha$ 'nın aracı olduğu vasküler OS'in artışı ve NO biyoyararlanımının azalması, trombozis, vasküler remodeling ve endotel hücre ölümü gibi durumlar endotelial disfonksiyonuna yol açar. Diğer inflamatuvar medyatörler olan IL-6 ve IL-8, E selektin, doku faktörü ve kaspaz TNF- $\alpha$  tarafından indüklenir (116). Artmış ROS üretimi TNF- $\alpha$  aracılı ya da diğer indükleyen faktörler (hipoksi gibi) NF- $\kappa$ B yollu sitokin kaskatını stimüle eder. Bu lökositlerdeki ROS üretim stimülasyonu, adezyon molekülleri ekspresyonu ve ek olarak inflamatuvar sitokinlerin ilavesi fasit bir daire oluşturur.

TNF- $\alpha$  seviyelerinin kas yorgunluğu ile beraberliği olan inflamatuvar hastalıklarda yükseldiğini hayvan deneylerinde göstermişlerdir (117). Örneğin farelere verilen TNF- $\alpha$  sonrası diyaframatik kontraktilite belirgin olarak azalmıştır. Fare diyafram ve bacak kaslarının, TNF- $\alpha$  ile tetanik gücünde %20 oranında azalma gösterilmiştir (47). Bu durum obstruktif uyku apne sendromu (OSAS) hastalarında yükselen TNF- $\alpha$  seviyesinin farenks inspiratuvar kas disfonksiyonuna böylece uyku esnasında apneik episodlara neden olabileceği düşünülmüştür.

Bastard ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada; IL-6, TNF- $\alpha$ , Leptin, CRP ve diğer inflamatuvar belirteçlerin dolaşımdaki konsantrasyonlarını, diyabeti olan ve olmayan obez kadınlarda, sağlıklı zayıf kadınlara kıyasla daha yüksek bulmuşlardır. IL-6, TNF- $\alpha$  ve leptin serum konsantrasyonlarının bu kişilerin BMI değerleri ile

belirgin korelasyon içinde olmaları, bu sitokinlerin dolaşımdaki konsantrasyonlarının kısmen de olsa yağ dokusu üretimini yansıttığını göstermektedir (118).

#### 2.8.1.2. İnterlökinler

Obezite ile ilişkili insülin direncinin bir açıklaması, bazı kişileri diğerlerine göre daha çok insülin dirençli hale getiren faktörlerin yağ dokusunca salınmasıdır. Bu adipozit ürünleri TNF- $\alpha$ , CRP, IL-6, IL-2, leptin, grelin, resistin ve adiponektin'dir. Yağ kitlesi arttıkça insülin direncinin ortaya çıkması ile ilişkin en olası aday faktörler arasında, serbest yağ asitleri, TNF- $\alpha$  ve leptin yer almaktadır (119). İnsülin direnci ile ilişkili olan visceral obeziteli hastalarda, sialik asit, CRP gibi akut faz proteinleri, IL-2 ve IL-6 gibi sitokinlerde artış olur (120).

İnsülin direncinde rol oynayabilecek yağ dokusu sekresyon ürünlerinden biri de IL-6'dır. IL-6 adipozitler, yağ dokusu destek hücrelerindeki içeren bir çok hücre tarafından salgılanır (121, 122). IL-6'nın, yağ dokusu lipoprotein lipaz (LPL) aktivite azalmasına neden olduğu gösterilmiştir (123, 124). Obez kişilerin adipozitlerinde IL-6 sekresyonu artmıştır (125) ve dolaşımdaki bir hormon veya lokal bir ayarlayıcı gibi insülin üzerinde etkisi olabilir. Sitokin yapımı ile obeziteyle ilişkili insülin direnci arasındaki en tutarlı açıklama, yağ dokusu tarafından artmış TNF- $\alpha$  ve IL-6 sekresyonudur. CRP, akut faz inflamatuvar proteindir ve insanlarda IL-6, IL-1 ve TNF- $\alpha$  dengesi sonucu üretilir. CRP serum konsantrasyonunun bazal durumda yağ dokusu IL-6 sekresyonu tarafından düzenlendiği ileri sürülmüştür.

Obezlerde IL-6 düzeylerinin artmış olmasını açıklayabilecek muhtemel mekanizma yağ dokusunun IL-6 üretilip salgılayabilme özelliğine bağlanabilir. Gerçekten de IL-6 yapımı obez bireylerde daha yüksektir (125). Ancak obez bireylerdeki adipozitlerden IL-6 üretiminin mekanizması tam anlaşılamamıştır. Açlık serum IL-6 konsantrasyonları Bastard ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada insülin direnci göstergesi olarak ölçülen tüm parametrelerle (açlık plazma insülini, açlık plazma glukozu, açlık insülin direnç indeksi) ilişkilidir. IL-6 düzeylerinin TNF- $\alpha$  ve leptine göre obeziteye bağlı insülin direnciyle daha sıkı ilişkili olduğu düşünülmüştür (118).

Yudkin ve çalışma arkadaşlarının subkutan yağ dokusu tarafından IL-6 üretiminin arttığını bildirmişlerdir. Obez kentli ve köylü Hintlilerde yaptıkları çalışmada BMI, TNF- $\alpha$ , IL-6 ve leptin düzeylerini ölçmüşler, çalışmada bu sitokinlerin BMI ile pozitif yönde anlamlı ilişkili olduğunu görmüşlerdir. Bugünkü bilgiler IL-6'nın insülin direnci ile ilişkili olan major dolaşım komponenti olduğu yönündedir (126).

### 2.8.1.3. C-Reaktif Protein (CRP)

CRP akut faz proteinlerinin öncüsüdür. Pnömonokların "capsule" antijenine bağlandığı için CRP adını almıştır. CRP hepatositlerde üretilen ve pek çok stimulan sorumlu olan akut faz proteindir. Karaciğer fonksiyonu normal olan kişilerde CRP nin serum düzeyi inflamatuvar aktivasyonu gösteren iyi bir parametredir ve serumdaki konsantrasyonu, IL-6 ve TNF- $\alpha$  seviyeleri ile ilişkilidir (179). CRP yapımı insanda IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$  dengesi sonucu etkilenir. Son zamanlarda serum konsantrasyonunun yağ dokusu IL-6 salgısı ile düzenlendiği düşünülmektedir. Serum IL-6 ve CRP konsantrasyonları arasındaki ilişki bu hipoteze göre doğrusaldır. Sağlıklı kişilerde serum CRP düzeyi 0.5 mg/dl gibi çok düşük konsantrasyonlarda bulunur (127). Inflamasyon, infeksiyon ve travmalara yanıt olarak serum düzeyi artmaktadır (128, 129). Ayrıca sigara içimi, ileri yaş, obezite, plazma trigliserid düzeyi yükselmesi ve çeşitli kardiyovasküler belirteçlerin artışı ile de yükselir (130). Akut hastalıkların seyri sırasında ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde de klinikte CRP kullanılmaktadır. Daha güncel olarak CRP sağlıklı dönemdeyken oluşabilecek hastalık riskini göstermek amacı ile kullanılmaktadır (129). CRP doğal immün sistem üzerinde rol sahibidir, komplemanı aktive eder, Fc reseptörlerine bağlanır ve pek çok patojen için opsonin davranışı sergiler. CRP'nin Fc reseptörlerine bağlanması proinflamatuvar sitokinlerin salınımına neden olur (127). Pek çok çalışma sonucu CRP konsantrasyonunun yükselmesi ileride kardiyovasküler hastalıklarda yüksek bir risk oluşturduğu (129) ve bu çalışmaların bir kısmında CRP ile BMI arasında belirgin bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (131-133). Artmış CRP konsantrasyonları, yağ dokusunda artmış IL-6

yapımına ve bunun salınımına bağlanabilir. IL-6 karaciğerde CRP yapımını uyarıcı bir proinflatuar sitokindir. Obez bireylerde artmış IL-6 konsantrasyonu, artmış serum CRP düzeyleri ile birlikte bulunur (134). Bu ilişki transgenik farelerde CRP yapımı için, IL-6'nın mutlak gerekliliği ile kuvvetlendirilmiştir (128). Bu da IL-6'ya bağlı CRP'nin inflamatuvar olayları etkilediğini gösterir. CRP plazma düzeyinin artmasının kardiyovasküler hastalıklara sebep olduğu bilinmektedir. Bu bulgular kilolu olgularda kardiyovasküler hastalık artışının sebebini açıklayabilir (131, 133). BMI artışı ile CRP düzeyi artışının nedeni tam olarak bilinmemekle beraber çeşitli açıklamalar yapılabilir. İlki; obezlerde kronik hastalık riskinde artış fazladır ve buna bağlı plazma CRP düzeyi yüksek tespit edilebilmektedir. Obezite, inflamatuvar bir komponent olarak tarif edilebilir ve burada gelişen inflamasyona bağlı olarak CRP yükselmektedir (129).

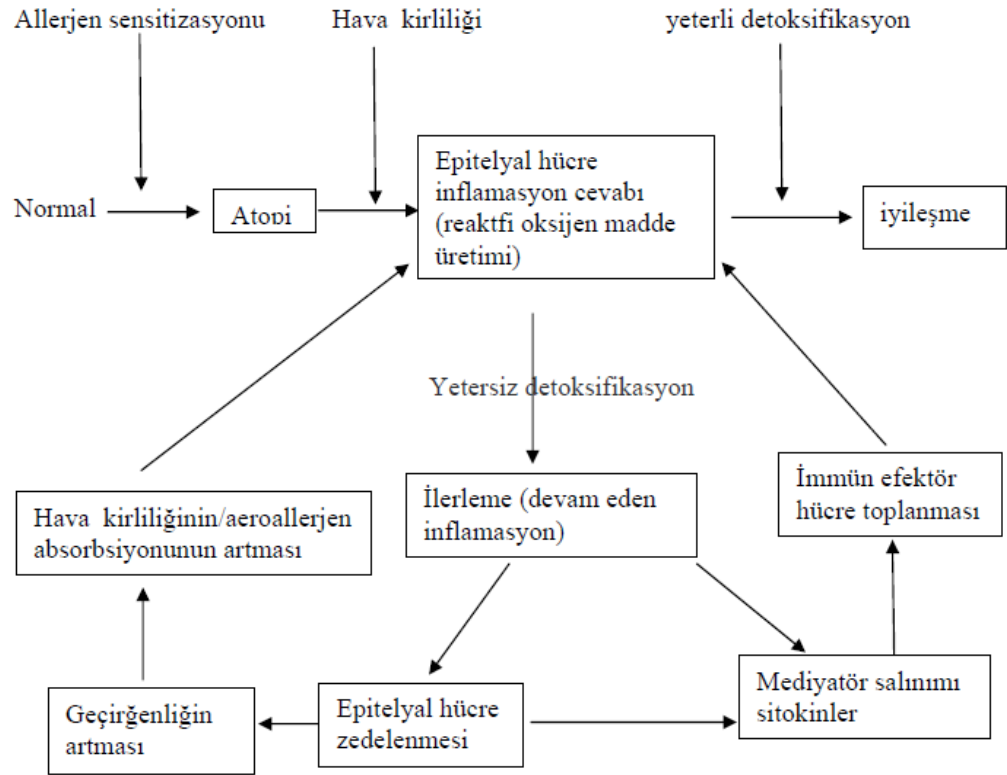
Visser ve arkadaşlarının 17-39 yaş arası genç erişkinlerde artmış BMI değerlerinin artmış CRP konsantrasyonları ile birlikte olduğunu göstermiştir (135). Bu da kilolu ve obez kişilerde düşük dereceli bir sistemik inflamasyonun varlığının göstergesidir. Obezite ile yükselmiş CRP düzeyi arasında belirgin bir ilişki saptanmıştır. Bunun da artmış yağ dokusu tarafından sentez edilen IL-6 düzeyi ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür. IL-6'nın serum konsantrasyonunun yüksek olması CRP seviyesini arttırabilir. BMI'nin artışına paralel olarak artan CRP düzeyinin indirekt olarak IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinlerin serum konsantrasyonlarının artması ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (131). Kilolularda CRP düzeyinin artması morbiditeyi ve mortaliteyi arttıran bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (133).

## 2.9. OKSİDATİF STRES VE İNFLAMASYON

İnflamatuvar hücreler  $\bullet\text{O}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , HOCl ve  $\text{OH}^-$  gibi toksik ROS ile NO gibi RNS oluşturmaktadırlar (66, 69).  $\bullet\text{O}_2^-$  bakteriyel ölüm; NO ise düz kas gevşemesi ile vazodilatasyon ve bronkodilatasyon için gereklidir. Bu ürünlere normal fizyolojik işlevler için gereksinim vardır. Özellikle inflamasyon doku harabiyetine neden olmaya başladıktan sonra ROS, lipid peroksidasyonu, havayolu reaktivitesi ve sekresyonların artması, kemoatraktanların üretilmesi ve vasküler geçirgenliğin

artması gibi astımda görülen patofizyolojik değişikliklerin oluşmasına da katkıda bulunurlar (70).

ROS oluşturduğu toksisiteye karşı vücudun antioksidan savunma mekanizmaları vardır. Oksidan mediatörleri detoksifiye edebilen GSH-Px, SOD, KAT, GSH, vitamin E ve vitamin C'yi içeren antioksidanlar havayolu epitelden ve vasküler endotelden salınmaktadır. Bu antioksidanlar, oksidatif maddeleri detoksifiye ederek organizmayı korur (71, 72, 74). Bu ürünler yeterince detoksifiye edilmediklerinde gerek oksidasyona bağlı harabiyet, gerekse oksidasyon tarafından indüklenen inflamasyon artar. Epitelyal geçirgenlik, aeroallerjen ve havadaki zararlı maddelerin emilimi artar, zedeleneen epitel hücrelerden sitokinlerin salınmasıyla immün efektör hücreler ortama toplanır. Toplanan immün efektör hücreler aracılığıyla ROS üretimi daha da çoğalır ve kısır döngü oluşur (şekil 5) (75).



Şekil 6- Hava yolunda inflamasyon sonrası ROS'nin detoksifikasyonunun varsayılan etki şeması (75)

OS'te artış ve inflamasyon, obez olgularda birlikte gözlenen olaylardır. Her iki durum arasında bir ilişki olduğu yönünde görüşler olduğu gibi bu olayların endotelial bozuklukla da ilişkili oldukları yönünde fikirler bulunmaktadır (136).



İnflamasyon, obez hastalarda sıkça karşılaşılan bir durumdur. Obez olgularda kronik inflamasyona bağlı olarak akut faz proteinlerinde (CRP gibi) ve sitokinlerde (IL-6 gibi) yükseklik tespit edilmiştir (121, 137). Tek bir CRP ölçümlerini baz almış tüm çalışmalar, bu ölçümlerin karotis arterinin intimasında kalınlaşma gibi arterosklerozun ve mortalitenin göstergesi olduğunu ileri sürmüştür (138).

## MATERYAL ve METOD

### 3.1. ÇALIŞMA GRUBU

Çalışmamızda, Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Polikliniğine 2013 Şubat ve Mart ayları içerisinde kilo artışı şikayeti ile başvuran ve BMI 25'den büyük olan obez bireyler dahil edildi.

-Hasta grubu çalışmaya dahil edilme kriterleri:

- BMI 25 ve üstü olması
- Yaş sınırı 18'den büyük 60'dan küçük olan kişiler çalışmaya dahil edildi.

-Dışlama kriterleri:

- Sigara içenler,
- Diyabet tanısı almış,
- Astım tanısı almış olanlar çalışma dışı bırakıldı.

-Kontrol grubunda çalışmaya dahil edilme kriterleri:

- Doktor tanılı astım ve diyabeti olmayan,
- Sigara içmeyen,
- Herhangi bir sistemik hastalığı ve sürekli kullandığı bir ilaç olmayan,
- Son 4 hafta içinde üst/alt solunum yolu enfeksiyonu geçirmemiş sağlıklı yetişkin bireylerden oluşturuldu.
- Çalışmaya katılanlar 4 gruba ayrıldı. (Normal, Aşırı kilolu, Obez, Morbit Obez)

Tablo 4- Çalışma gruplarındaki birey sayıları

Grup	BMI	KİŞİ
Normal	18.5- 24.99	32
Aşırı Kilolu	25- 29.99	21
İlımlı Obez(sınıf 1)	30- 34.99	13
Aşırı Obez (sınıf 2)	35- 39.99	10
Morbit Obez (sınıf 3)	40≤	6

-Çalışmaya katılan bireylerde yapılan ölçümler:

- Solunum fonksiyon testi yapılmadan, anamnezlerine göre astımlı olmayanlar çalışmaya alındı.
- Kontrol ve hasta gruplarının tamamından antekubital bölgesinden düz biyokimya ve EDTA'lı iki tüp içine venöz kan örnekleri alındı. Alınan kandan plazma ve serum kısımları ayrıldı.
- Rutin biyokimya testleri aynı gün içinde çalışıldı. Diğer parametreler için serum örnekleri -80 °C'de çalışılincaya kadar saklandı.
- 50 obez hastadan ve 32 sağlıklı kontrolden 10 dakika süreyle YSH örnekleri (Parma, Turbo Almanya) ile toplandı. Toplanan havanın biriken sıvı kısmı 2 ml'lik ependorflara konularak analiz edilene kadar -80° C'de saklandı.

Çalışmaya başlamadan önce Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Komisyonundan etik onay alındı. Sonra tüm katılımcılara çalışma ile ilgili bilgi verilerek hasta onam formu dolduruldu.

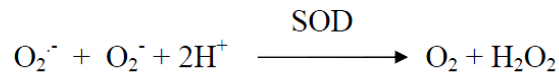
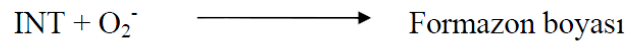
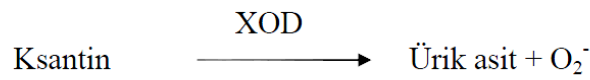
### 3.2. YOĞUNLAŞTIRILMIŞ NEFES HAVASININ TOPLANMASI

Çalışmaya dahil edilen aşırı kilolu ve obez 50 hastadan ve 32 sağlıklı kontrolden Rtüp cihazı ile 10 dakika, burun maşası kullanılmadan yoğunlaştırılmış nefes hava kondensatına normal nefes alıp verme şeklinde üflemleri ile nefesin sıvı volümü toplandı.

### 3.3. BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER

#### 3.3.1. SOD Aktivitesinin Ölçümü

YSH ve serumda SOD aktivitesi Sun ve arkadaşlarının tariflediği metoda göre çalışıldı. Metod Ksantin Oksidaz (KO) enzimi aracılığıyla ksantinden oluşturulan süperoksitin numune SOD enzimi ile ortadan kaldırılması, ortamda kalan süperoksitin ise NBT ile boyanarak renklenmesi esasına dayanır (122).



Reaktifler:

-Reaktif karışımı: 3 mM stok ksantin, 0.6 mM etilen daimin tetraasetikasit (EDTA, Sigma Chemical, USA, Katalog No:18H2622), 150 µM nitro blue tetrazolium (NBT, Sigma-Aldrich, USA, Katalog No:18596KH), 400 mM sodyum karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Merck KGaA, Germany, Katalog No:A683092609), 1 gr/l BSA.

-KO (Roche, USA, 92411748): 2 M amonyum sülfat ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Merck, Germany, Katalog No:A479816) ile dilüe edilerek taze hazırlanır.

-0.8 mM CuCl<sub>2</sub>

Deneyin yapılışı:

50 µl serum ve YSH + 2.9 ml reaktif karışımı + 50 µl KO 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. 1 ml CuCl<sub>2</sub> eklenerek reaksiyon sonlandırıldı. Spektrofotometrede 560 nm dalga boyunda köre karşı absorbans değişimi izlendi. SOD aktivitesi U/l şeklinde verildi.

### 3.3.2.MDA Düzeyi Ölçümü

Lipid peroksidasyon son ürünü MDA düzeyi Uchiyama ve arkadaşlarının 1,1,3,3 - tetraetoksipropan'ın standart olarak kullanıldığı TBA testi ile belirlendi. Test MDA'nın TBA ile girdiği reaksiyon sonucunda oluşan pembe renkli maddenin konsantrasyonunun kolorimetrik olarak ölçülmesi prensibine dayanır (101).

Deneyin prensibi: Yağ asidi peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek, 532 nm'de maksimum absorbans veren renkli bir kompleks oluşturur.

Reaktifler:

-KCl (Merck, Germany, Katalog No:K34333136526): %1.15

-TBA: %0.6

-Fosforik asit (Merck, Germany, Katalog No:K13400363): %1

- n-bütanol (Sigma-Aldrich, USA, Katalog No:2007516)

-Standart: 1,1,3,3 - tetraetoksipropan (TEP, Sigma-Aldrich, USA, Katalog No: 046K1404)

Deneyin yapılışı: 0.5 ml serum ve solunum örnekleri üzerine 2.5 ml % 10'luk TCA eklenerek karıştırıldı. 15 dk kaynatılıp soğutuldu. 5000 devir/dk'da 10 dk santrifuj edildi. 2 ml süpernatant alınıp, üzerine 1 ml % 0.67'lik TBA eklendi. Tüpler vortekslendikten sonra 15 dk kaynatıldı ve hemen soğutuldu. 532 nm'de absorbansları, numune yerine n- bütanol konularak hazırlanan köre karşı okundu. 1,1,3,3-TEP kullanılarak 8360 µmol/l konsantrasyonda stok solüsyonu hazırlandı. Bu solüsyondan uygun konsantrasyonlarda standartlar hazırlanarak, konsantrasyon-absorbans grafiğinden numunelerin MDA konsantrasyonları hesaplandı. MDA düzeyi nmol/ml olarak verildi.

### 3.3.3. TNF- $\alpha$ Düzeyi Ölçümü

Prensip: Serum ve YSH örneklerinde Boster Immunoleader firmasının ürettiği insan TNF- $\alpha$  ELISA Kit'i (Katalog No:EK0525) kullanılarak çalışıldı.

#### Reaktifler:

- İnsan TNF- $\alpha$  standardı (Boster Biological, Katalog no:EK0525), 20 ng
- Anti-human TNF- $\alpha$  antikor kaplı 96 kuyucuklu plate
- Örnek sulandırıcı tampon: 30ml
- Biotinillenmiş anti-human TNF- $\alpha$  antikoru: 130  $\mu$ l, örnek: 1:100
- Antikor sulandırıcı tampon: 12 ml
- ABC kompleksi: 130  $\mu$ l, örnek: 1:100
- ABC sulandırıcı tampon: 12 ml
- TMB renk geliştirici ajan: 10 ml
- TMB durdurucu solüsyonu: 10 ml
- 0.01 M TBS: 1.2 gr Tris+ 8.5 gr NaCl+ 450  $\mu$ l Asetik Asit veya 700  $\mu$ l HCl+ 1000 ml H<sub>2</sub>O
- 0.01 M PBS: 8.5 gr NaCl+ 1.4 gr Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>+ 0.2 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>+ 1000 ml H<sub>2</sub>O

#### Deneyin yapılışı:

Örnekler -80<sup>0</sup>C den çıkartılarak çalışmaya başlamadan önce oda ısısına gelmesi beklendi. Çalışma için gerekli solüsyonların hazırlanması işlemi insan TNF- $\alpha$  ELISA kit prospektüsünde belirtildiği gibi yapıldı.

ELISA plate'nin ilk 7 kuyucuğu sırasıyla 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.3, 15.6 pg/ml TNF- $\alpha$  standardı, 8. kuyucuk kör olacak şekilde, diğer kuyucuklar örnekleri pipetlemek için tasarlandı.

Standartlar ilk yedi kuyucuğa 0.1 ml ve 8. kuyucuğa örnek dilisyon buffer dan eklendi. Örnekler için tasarlanmış olan kuyucuklara 0.1 ml eklendi ve paletin üstü kapatılarak 37<sup>0</sup>C'de 90 dakika etüvde inkübe edildi. Etüvden alınan plate'in içi tamamen döküldü ve kuyucuklardaki sıvının tamamen boşaltılması için plate ters çevrilerek kağıt havlu üzerinde emilmesi sağlandı. Kuyucukların tamamen kurutulmamasına dikkat edildi. Hazırlanmış olan biotinli anti-human TNF-  $\alpha$  solüsyonu her kuyucuğa 0.1 ml olacak şekilde eklendi ve üzeri kapatılarak 37 <sup>0</sup>C'de 60 dakika etüvde inkübasyona bırakıldı. Etüvden çıkarılan plate daha önce hazırlanmış olan 0.01M PBS ile 3 kez her kuyucuk 0.3 ml yıkama solüsyonu olacak şekilde ELISA yıkama cihazı (BioTek, USA 0211-3030 ELX50/8) ile yıkandı. Plate yıkama sonunda ters çevrilerek kâğıt havlu üzerinde içindeki sıvını tamamen boşaltılması için emdirildi. Plate kurumadan daha önceden hazırlanmış ABC çalışma

solüsyonu her bir kuyucuğa 0.1 ml olacak şekilde eklendi ve 37°C 30 dakika etüvde inkübasyona bırakıldı. Dördüncü basamaktaki yıkama işlemi bu defa 5 kez olacak şekilde yıkama yapıldı. Hazırlanmış olan renk geliştirici TBM solüsyonu her kuyucuğa 90 µl eklendi, üzeri kapatılarak ışıktan korumuş bir şekilde 37°C 20-25 dakika etüvde inkübasyona bırakıldı. Renklenmenin sonunda TBM stop solüsyonu 0.1 ml her kuyucuğa eklendi. Renk değişimi ELISA reader (BioTek 0211-3030 ELX808, USA) cihazında 450 nm’de ölçüm yapıldı. Birimi pg/ml olarak verildi.

### 3.3.4. NO Düzeyi Ölçümü

Prensip: Serum ve YSH örneklerinde  $\text{NO}_2^-$  ve  $\text{NO}_3^-$ ’a düzeyi Griess reaksiyonu temeline dayanan diazotizasyon metodu ile ölçülür.

Nitrit ve Nitrat Tayininde Kullanılan Reaktifler ve Cihazlar:

- Vanadyum III Chloride ( $\text{VaCl}_3$ ): 80 mg  $\text{VaCl}_3$  (Merck KGaA, Germany, Katalog No:S5385393010) + 0,8 ml HCl (Merck, Germany, Katalog No: K33384014424) ve 100 ml deiyonize su ile tamamlandı (%8,1 M HCl de)
- Griess Solüsyonu: 0,5 birim sülfanilamide + 0,5 birim N-(1-Naphythyl) ethylenediamine dihydrochloride (NEDD, Merck, Germany, Katalog No: K31845337409)
- Sülfanilamid: 1 gr sülfanilamid+ %5’lik 50 mL HCl
- NEDD: %0,1 olacak şekilde, 50 mg NEDD+ 50 ml deiyonize suda

Standartlar:

- $\text{NaNO}_3$ : 85 mg  $\text{NaNO}_3$ + 10 ml deiyonize suda=100 mM’lık stok  $\text{NaNO}_3$
- $\text{NaNO}_2$ : 69 mg  $\text{NaNO}_2$ + 10 ml deiyonize suda=100 mM’lık stok  $\text{NaNO}_2$
- 96 kuyucuklu ELISA plağı
- ELISA reader
- Etüv
- Mikropipet
- 8’li mikropipet

Standart Hazırlanışı: NO ölçümü için standart sulandırıcı tampon ile standardın seri dilüsyonları yapılarak 8 standart tüp hazırlandı. (10mM, 1mM, 100µM, 50µM, 25 µM, 10µM, 5µM, 1 µM’lık nitrat ve nitrit standartları hazırlandı)

Deneyin Yapılışı: Serum ve YSH örneklerini deproteinize etmek için 1 birim plazma + 2 birim etil alkol eklendi ve +4 °C de 30 dk beklendi. Vortexlenir ve 14000 rpm de 5 dk santrifuj edildi. Plazma örneklerinin deproteinizasyon ve çöktürme işlemlerinden sonra elde edilen üst fazlardan nitrit tayini için 100 µl alınarak her bir örnekten çift tekrar olacak biçimde 96 çukurlu ELISA plağına, aynı hacimde nitrit standart solüsyonları da ayrı çukurlara yerleştirildi. Standart solüsyonlar ve numunelerin üzerine 100 µl Griess solüsyonu (0,5 birim sülfanilamid + 0,5 birim NEDD karışımı) ilave edildi. 37°C etüvde 30 dk bekletildi. 540-550 nm dalga boyunda okunur.

Nitrat ölçümü için diğer bir ELISA plağına standart solüsyonları ve numuneler her birinden çift tekrar olacak biçimde 96 çukurlu ELISA plağına 100 µl kondu. Üzerine  $VaCl_3$  yine 100 µl konur. Daha sonra 100 µl Griess solüsyonu (0,5 birim sülfanilamid + 0,5 birim NEDD karışımı) eklendi. 37 °C etüvde 30 dk bekletildi. 540-550 nm dalga boyunda ELISA okuyucusunda okundu. ELISA okuyucusu tarafından standart solüsyonlara karşılık gelen absorbansların oluşturduğu doğrusal regresyon grafiklerine göre numunelerimiz değerlendirildi. Her iki değer nitrit ve nitrat için hazırlanmış standartlara göre hesaplanır.  $NO_x$  (nitrat standartıyla okunan) değerinden nitrit değeri çıkarılarak nitrat değeri bulunur. Elde edilen absorbans değerleri standart grafikleri yardımı ile konsantrasyonları hesaplandı ve sonuçlar 1/3 dilüsyondan dolayı 3 ile çarpıldı. Birimi : µmol/l olarak verildi.

### 3.3.5. 8-İzoprostan Düzeyi Ölçümü

YSH ve serumda OS'in göstergesi olarak lipid peroksidasyon ürünlerinden nonenzimatik yolla üretilen, stabil kalabilen 8-IP ölçüldü. YSH'de 8-IP (Cayman Chemical, Milan, Italy, Kit No:516351) ELISA ile 50 µl numune kullanılarak ölçüldü (84).

Reaktifler:

- EIA Buffer: 1 şişe konsantre EIA buffer preparat+ 90 ml distile su
- Wash Buffer: 5 ml solüsyon distile su ile 2 l tamamlanır + 1 ml polysorbate 20 ilave edilir.



- 8-IP AChe Tracer: 1 şişe konsantre 8-IP AChe Tracer + 6 ml EIA Buffer
- 8-IP EIA Antiserum: 1 şişe konsantre 8-IP EIA Antiserum + 6 ml EIA Buffer
- Ellman's Reagent: 1 şişe konsantre Ellman's Reagent 20 ml distile su ile çözülür.

#### Standartlar:

100 µl standart pipetlenir ve üzeri 900 µl distile su ile tamamlanır. Elde edilen standardın konsantrasyonu 5ng/ml'dir. Standartların konsantrasyonları 500 pg/ml, 200 pg/ml, 80 pg/ml, 32 pg/ml, 12.8 pg/ml, 5.1 pg/ml, 2 pg/ml, 0.8 pg/ml.

Deneyin Yapılışı: Prosedure göre test plağında reaktifler belirtilen miktarlarda pipetlendi. Pipetlemeden sonra test plağının üzeri kapatıldı ve 4°C'de 18 saat inkübasyona bırakıldı, 18 saat sonunda plak 5 defa hazırlanan yıkama solüsyonu ile yıkandı. Tüm kuyucuklara 200 µl Ellman'ss reagent çözeltisi pipetlendi. TA kuyucuğuna ilaveten 5 µl Tracer pipetlendi. Test plağının üzeri kapatıldı ve oda sıcaklığında orbital shaker üzerinde 120 dakika inkübasyona bırakıldı. Süre bitiminde test plağı 405-420 nm dalga boyunda okundu. Birimi: pg/ml olarak verildi.

### 3.3.6. İstatistiksel Hesaplamalar

Tüm veriler ortalama±standart sapma olarak verildi. İstatistiksel hesaplamalar ve grafiklerin çiziminde SPSS 15 ve Mikrosoft Excel programları kullanıldı. Bulguların değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis testi ile Mann-Whitney U testi kullanıldı.

$p > 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamsız,

$p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak az anlamlı,

$p < 0.01$  istatistiksel olarak anlamlı,

$p < 0.001$  istatistiksel olarak çok anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Tablo 5’te kontrol ve obezite gruplarının ortalama YSH 8-IP değerleri verilmiştir.

Tablo 5- Kontrol ve obezite gruplarının YSH 8-IP değerleri

	<b>Kontrol</b>	<b>Aşırı kilolu</b>	<b>Obez</b>	<b>Morbit obez</b>
<b>YSH 8-IP</b> (pg/ml)	10.49±4.74	12.10±9.15 <sup>a</sup>	16.12±12.04 <sup>b</sup>	17.17±10.13 <sup>c</sup>

(a:  $p < 0.05$  kontrol grubu ile karşılaştırıldığında )

Bu alışmamızda 8-IP’in YSH’de yapılan ölçümlerde kontrol grubu ile obezite grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulundu.

a:Kontrol grubu ile aşırı kilolu grup karşılaştırıldığında  $p < 0.05$

b:Kontrol grubu ile obez grup karşılaştırıldığında  $p < 0.01$

c:Kontrol grubu ile morbit obez grup karşılaştırıldığında  $p < 0.05$

Tablo 6’da kontrol ve obezite gruplarının ortalama serum ve YSH NO<sub>2</sub> değerleri verilmiştir.

Tablo 6- Kontrol ve obezite gruplarının serum ve YSH NO<sub>2</sub> değerleri

	<b>Kontrol</b>	<b>Aşırı kilolu</b>	<b>Obez</b>	<b>Morbit obez</b>
<b>SERUM NO2</b> (µmol/l)	2.84±1.18	3.06±1.10 <sup>a</sup>	3.21±0.72 <sup>NS</sup>	2.85±1.08 <sup>NS</sup>
<b>YSH NO2</b> (µmol/l)	1.82±0.71	2.78±0.82 <sup>b</sup>	3.51±1.38 <sup>b</sup>	3.33±1.46 <sup>b</sup>

a:Kontrol grubu ile aşırılı kilolu grup karşılaştırıldığında  $p < 0.05$

b:Kontrol grubu ile aşırı kilolu, obez, morbit obez grupları karşılaştırıldığında  $p < 0.001$

NS: İstatistiksel olarak anlam içermemektedir.

NO ölçümü için serum ve YSH'de  $\text{NO}_2^-$  ve  $\text{NO}_3^-$  miktarları ölçüldü. YSH  $\text{NO}_2^-$  ölçümünde kontrol grubu ile obezite grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak çok anlamlı artış tespit edildi ( $p < 0.001$ ). Serum  $\text{NO}_2^-$  düzeylerinde ise artış gözlemlendi fakat sadece istatistiksel olarak kontrol ve aşırı kilolu grup arasında az anlamlı fark bulundu ( $p < 0.05$ ).

Tablo 7'da kontrol ve obezite gruplarının ortalama serum ve YSH TNF- $\alpha$  değerleri verilmiştir.

Tablo 7- Kontrol ve obezite gruplarının serum ve YSH TNF- $\alpha$  değerleri

	<b>Kontrol</b>	<b>Aşırı kilolu</b>	<b>Obez</b>	<b>Morbit obez</b>
<b>SERUM TNF-<math>\alpha</math></b> <b>pg/ml</b>	27.93 $\pm$ 45.91	39.91 $\pm$ 35.11 <sup>NS</sup>	29.69 $\pm$ 27.02 <sup>NS</sup>	15.62 $\pm$ 10.93 <sup>NS</sup>
<b>YSH TNF-<math>\alpha</math></b> <b>pg/ml</b>	17.43 $\pm$ 8.84	21.88 $\pm$ 20.22 <sup>NS</sup>	20.59 $\pm$ 14.90 <sup>NS</sup>	21.66 $\pm$ 11.36 <sup>NS</sup>

(NS: İstatistiksel olarak anlam içermemektedir)

Yaptığımız çalışmada serum TNF- $\alpha$  düzeylerinde anlamlı bir sonuç bulunmamıştır.

Tablo 8'da kontrol ve obezite gruplarının ortalama serum ve YSH MDA değerleri verilmiştir

Tablo 8 - Kontrol ve obezite gruplarının serum ve YSH MDA değerleri

	<b>Kontrol</b>	<b>Aşırı kilolu</b>	<b>Obez</b>	<b>Morbit obez</b>
<b>SERUM MDA</b> <b>(nmol/ml)</b>	8.66 $\pm$ 2.53	9.18 $\pm$ 3.34 <sup>NS</sup>	11.37 $\pm$ 4.01 <sup>NS</sup>	11.36 $\pm$ 2.57 <sup>NS</sup>
<b>YSH MDA</b> <b>(nmol/ml)</b>	1.00 $\pm$ 0.46	1.25 $\pm$ 0.69 <sup>NS</sup>	1.30 $\pm$ 1.40 <sup>NS</sup>	0.86 $\pm$ 0.56 <sup>NS</sup>

(NS: İstatistiksel olarak anlam içermemektedir)

Yaptığımız çalışmada serum MDA düzeylerinde anlamlı bir sonuç bulunmamıştır.

Tablo 9'da kontrol ve obezite gruplarının ortalama serum ve YSH SOD değerleri verilmiştir.

Tablo 9- Kontrol ve obezite gruplarının serum ve YSH SOD değerleri

	<b>Kontrol</b>	<b>Aşırı kilolu</b>	<b>Obez</b>	<b>Morbit obez</b>
<b>SERUM SOD (U/l)</b>	69.42±30.74	116.8±33.69 <sup>NS</sup>	138.38±58.59 <sup>b</sup>	101.74±45.33 <sup>a</sup>
<b>YSH SOD (U/l)</b>	161.78±23.28	159.11±21.05 <sup>NS</sup>	148.34±12.97 <sup>NS</sup>	144.86±11.39 <sup>a</sup>

a:Kontrol grubu ile morbit obez grup karşılaştırıldığında  $p < 0.05$

b:Kontrol grubu ile obez grup karşılaştırıldığında  $p < 0.001$

NS: İstatistiksel olarak anlam içermemektedir

SOD aktivitesi ölçümlerimizde gruplar arasında artış olduğu bulundu. Serumda bakılan SOD aktiviteleri arasında kontrol ve obezite arasında ( $p < 0.001$ ) istatistiksel olarak çok anlamlı fark, kontrol ve morbit obezite grupları arasında ( $p < 0.01$ ) istatistiksel olarak az anlamlı fark, YSH örneklerinde ise sadece kontrol ve morbit obezite grupları arasında anlamlı fark bulundu ( $p < 0.01$ ).

## TARTIŞMA

Bu çalışmada 8-IP, hasta gruplarında artmış şekilde bulundu. Bu sonuçlar da obezite hastalarında OS seviyesini belirlemede YSH'da 8-IP ölçümlerinin kullanılabilceğini göstermektedir. Sonuçlarımız Dut ve arkadaşlarının bulguları ile paralel doğrultudadır (139). Astımlı çocukların yoğunlaştırılmış nefes havasında 8-IP değerlerinin ölçüldüğü çok sayıda çalışma yayınlanmış ve hemen hepsinde kontrol grubuna oranla anlamlı düzeyde artmış 8-IP düzeyleri gösterilmiştir (140-142). Latzin ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada nazal yolla toplanan nefes havasında ölçülen 8-IP düzeylerinin kistik fibrozis (KF) hastalarında çeşitli nedenlere bağlı akut solunum yolu enfeksiyonu tanısı ile izlenen çocukların ayırıcı tanısında kullanılmayacağı ve KF hastalarında solunum fonksiyonları ile korelasyon göstermediği sonucuna varılmıştır (143). Karamanlı'ya göre 8-IP seviyelerinin OSAS hastalarında tedavi öncesi ve sonrası serumda ve YSH'da düzelme istatistiksel olarak anlamlı saptandı ( $p<0.05$ ). Bizim bulgularımıza göre ise 8-IP obez hastalarda iyi bir OS göstergesidir (144).

Çalışmamızda NO düzeyinin belirlenmesi için  $\text{NO}_2^-$  ve  $\text{NO}_3^-$  miktarları ölçülmüştür. Gruplarımızda serum ve YSH  $\text{NO}_3^-$  miktarları arasında bir artış bulunamamıştır.  $\text{NO}_2^-$  miktarları arasında ise artış tespit edilmiştir. YSH  $\text{NO}_2^-$  değerleri, kontrol ve obezite gruplarında karşılaştırıldığında obezite gruplarında anlamlı şekilde artmış olarak bulunmuştur. Silkoff, Karlıdağ ve arkadaşlarının sonuçları ile paralel olan sonuçlarımız inflamasyonun bir göstergesi olan  $\cdot\text{NO}$  BMI artışı ile korelasyon içinde olduğunu ve YSH'de ölçülebildiğini göstermiştir. Karlıdağ ve arkadaşları nazal polipli olgularda NO düzeyini çalışmışlar ve kontrollere göre nazal polipli olgularda NO düzeyinin anlamlı olarak yüksek olduğunu tespit etmişlerdir (145, 146). Silkoff ve arkadaşlarının  $\cdot\text{NO}$  ölçüm teknikleri ile ilgili yaptıkları çalışmada, nazal  $\cdot\text{NO}$  düzeylerinin oral ölçülen  $\cdot\text{NO}$  düzeylerinden belirgin derecede yüksek olduğunu, plato değerleri alındığında ölçülen  $\cdot\text{NO}$  düzeylerinin burun mandalı kullanmadan, hatta nazal solunum yapılırsa dahi

etkilenmediğini, •NO konsantrasyonlarından da aynı şekilde etkilenmediğini göstermişlerdir. Fakat bu çalışmalarında ekspiratuvar akım hızının plato değerlerini etkileyebileceğini belirtmişlerdir (146). Linnane ve arkadaşları ile HO ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda akut alevlenme gösteren KF'li hastalar ile yapılan çalışmalarda, bu hastalara ait balgam, YSH ve bronkoalveolar lavaj sıvısı örneklerinde NO'nun biyolojik sıvılardaki stabil ürünleri olan  $\text{NO}_2^-$  ve  $\text{NO}_3^-$  düzeylerinin artmış olarak bulunduğunu belirtmişlerdir (147,148).

Çalışmamızda OS göstregesi olan MDA literatürdeki diğer çalışmalar ile paralel olarak obezite ile anlamlı şekilde arttığı, BMI artışı ile MDA oluşumunda artış olduğu görülmüştür. Kontrol grubu ile obezite grupları karşılaştırıldığında serum MDA düzeyleri için kontrol ve obezite grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış bulunmuştur. Özaras ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 14 hafif astımlı hastanın MDA düzeyleri kontrol grubundaki 24 sağlıklı kişiyle karşılaştırılmış ve astım hastalarının serum ve bronkoalveolar lavaj sıvılarında MDA düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir (149). Bu çalışmada hasta ve kontrol grubu vaka sayısı azdır ve OS'i belirleyen faktörler ortaya konmamıştır. Alataş ve arkadaşlarının bronş kanserli ve malign plevral mezotelyomalı hastalarda plazma lipid peroksit düzeylerini kontrol olgularına göre anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır (150). Özkan ve arkadaşları akciğer kanserli hastaların MDA düzeylerini kontrol gruplarına göre anlamlı olarak yüksek tespit etmişlerdir (151). Petruzzelli ve arkadaşlarının 37 akciğer kanserli, 13 kontrol grubunu içeren çalışmalarında, son bir aya kadar sigara içen hastalarda akciğer dokusunda MDA düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır (152). Ülkemizde Kaynak tarafından 21 akciğer kanserli 11 kontrol grubundan oluşan araştırmalarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek tespit etmişlerdir. Ancak her iki grup arasında doku ve serum SOD ve glutasyon reduktaz enzim düzeyleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (99) Bu çalışmada serum ve YSH örneklerinde yaptığımız SOD aktivitesi ölçümünde obezite gruplarında, kontrol grubuna göre artış olduğu tesbit edilmiştir. Serumda bakılan SOD aktiviteleri arasında kontrol ve obezite ile kontrol ve morbit obezite hasta grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı artış, YSH örneklerinde ise sadece kontrol ve morbit obezite grupları arasında anlamlı bir artış bulunmuştur. Yani çalışmamızda diğer yapılan birçok çalışmanın aksine obez olgularda SOD

aktivitesinde bir artış tespit edilmiştir. Bu da OS'e maruz kalma sonucu antioksidan savunma sisteminin SOD'u reaktif olarak aktive ettiğini, OS'i baskılamak için SOD miktarında artış olduğunu bizlere göstermiştir. Peskin ve arkadaşlarının akciğer karsinomuna yönelik yaptıkları bir çalışmada sitozolik SOD aktivitesinin normal homolog dokuya oranla 0.1 - 1.2 oranında azaldığını tespit etmişlerdir (139). Oberley ve arkadaşlarının hepatomalı dokuda Cu-Zn SOD düzeyinin normal karaciğer dokusuna oranla azaldığını göstermişlerdir. Lankin ve arkadaşlarının Ehrlich's karsinomada SOD aktivitesinin oldukça anlamlı olarak düştüğünü göstermişlerdir (153). Jaruga ve arkadaşlarının insan akciğer kanseri dokusunda SOD ve KAT aktivitesinde düşüş ve DNA lezyon düzeyinde artış tespit ederek muhtemel kanser sebebinin serbest radikaller olduğunu yayınlamışlardır (154). Joseph ve arkadaşları astımlı hastalarda SOD aktivitesini düşük bulduklarını bildirmişlerdir (155). Tekin ve arkadaşları astımlı hastalarda antioksidan maddelerin düzeyini araştırmışlar, SOD aktivitesini kontrol grubuna göre düşük bulurken, KAT ve GSH-Px düzeylerinde anlamlı bir fark saptayamamışlardır. Bu sonuçları, astımlı hastalarda, azalmış antioksidan düzeylerinin astım patogenezinde katkısı olabilir şeklinde yorumlamışlardır (156).

Çalışmamızda serum ve YSH TNF- $\alpha$  değerleri arasında kontrol ve obezite hasta grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Bastard ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada IL-6, TNF- $\alpha$ , Leptin, CRP ve diğer inflamatuvar belirteçlerin dolaşımdaki konsantrasyonlarını, diyabeti olan ve olmayan obez kadınlarda, sağlıklı zayıf kadınlara kıyasla daha yüksek bulmuşlardır. IL-6 TNF- $\alpha$  ve leptin serum konsantrasyonlarının bu kişilerin BMI değerleri ile belirgin korelasyon içinde olmaları, bu sitokinlerin dolaşımdaki konsantrasyonlarının kısmende olsa yağ dokusu üretimini yansıttığını göstermektedir (118). Caty ve arkadaşlarının barsak mukozal bariyerinin bozulması sonucunda sistemik dolaşıma geçen endotoksinin karaciğer Kupffer hücrelerinden TNF- $\alpha$  üretim ve salınımını artırarak akciğer hasarını oluşturduğunu göstermişlerdir (157). Karamanlı'ya göre TNF- $\alpha$  seviyelerinin OSAS hastalarında tedavi öncesi ve sonrası serumda ve YSH'da düzelme olmuştur. Düzelme YSH'da istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ( $p < 0.001$ ) (144).

Yaptığımız çalışmada solunumla açığa çıkan 8-IP sonuçları arasında koralasyon saptanmıştır. Bu sonuçlar da bizlere obez hastaların solunum örneklerinde incelediğimiz 8-IP'nin YSH'da OS'in iyi bir göstergesi olduğunu göstermiştir. Yine sonuçlarımız NO<sub>2</sub>'in YSH uygulamalarında inflamasyonu belirlemede kullanılabilir bir parametre olduğunu ortaya koymuştur.



## KAYNAKLAR

1. Prevention and management of the global epidemic of obesity. Report of the WHO Consultation on Obesity (Geneva, June,3–5, 1997). Geneva: WHO.
2. Dünya Sağlık Örgütü web sayfası: “What are the health consequences of being overweight? <http://www.who.int/features/qa/49/en/index.html>
3. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007; 39 (1): 44-84.
4. Halliwell B, Cross CE. Oxygen-derived Species: Their relation to human disease and environmental stress. *Environ Health Perspect*, 1994; 102 (10):5-12.
5. Vincent HK, Taylor AG. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes (London)*, 2006; 30 (3): 400-18.
6. Higdon JV, Frei B. Obesity and oxidative stress a direct link to CVD. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003; 23: 365-367.
7. Urakawa H, Katsuki A, Yasuhiro S, Gabbaza EC, Murashima S, Morioka K, et al. Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. *Endocrinol Metab*, 2003; 88: 4673-4676.
8. Hegyi T, Goldie E, Hiatt M. The protective role of bilirubin in oxygen-radical diseases of the preterm infant. *J Perinatol* 1994; 14: 296-300.
9. Asad SF, Singh A, Ahmad A, et al. Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and its metabolic precursor biliverdin: a structure-activity study. *Chem Biol Interact* 2001; 137: 59-74.
10. Nathan C, Xie QW. Regulation of biosynthesis of nitric oxide. *J Biol Chem* 1994;269:13725-13728
11. Richard GK, Salvador M. Nitric oxide Synthase in mammals. *Biochem J* 1994;298:249-258
12. Moncada S, Higgs A. The L-arginin and nitric oxide pathway. *New Eng J Med* 1993;323: 2003-2012

13. Nathan C, Xie QW. Nitric oxide Synthesis: Roles, tolls and controls. *Cell* 1994;78: 915-918
14. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43:109-142
15. Högman M, Frostell CG, Hedenstrom H, Hedenstierna G. Inhalation of nitric oxide modulates adult human bronchial tone. *Am Rev Respir Dis* 1993;148:1474-1478
16. Belvisi MG, Stetton CD, Barnes PJ. Nitric oxide is the endogenous neurotransmitter of bronchodilator nerves in human airways. *Eur J Pharmacol* 1992;210:221-222 61
17. Gaston B, Drazen JM, Jansen A, Sugarbaker DA, Loscalzo J, Richards W, Stamler JS. Relaxation of human bronchial smooth muscle by S-nitrosothiols invitro. *JPharmacol Exp Ther* 1994;268:978-984
18. Satman I, Yilmaz T, Sengül A, Salman S, Salman F, Uygur S, et al. Population-based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the Turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). *Diabetes Care*, 2002; 25(9):1551-6.
19. World Health Organization. Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic, Report of a WHO Consultation. Singapore, WHO; 2004.
20. Bray GA, Ryan DH. Medical Approaches to Treatment of the Obese Patients. In: Mantzoros CS, Editors. Obesity and Diabetes. 1 st Ed. New Jersey: Humana Press, 2006; 457- 469.
21. Vague J: The degree of masculine differentiation of obesities. A factor determining preposition to diabetes, atherosclerosis, gout and uric calculous disease. *Am J Clin Nutr*, 1956; 4:20-34.
22. Lukasky HC: Methods for the assesment of human body composition Tranditional and new. *Am J C LIN Nutr*, 1987; 46: 537-556.
23. Ksesebah AH, et al: Health risks of obesty. *Med Clin North Am*, 1989; 73:111-38.
24. Kissebah A. Central obesity: measurement and metabolic effects. *Diabetes Rev*, 1997; 5: 8-20.
25. Kremer T, Protection of pulmonary epithelial cells from oxidative stree by hMYH adenine glycosylase. *Respiratory Research* 2004; 5: 16.

26. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. Hacettepe Tıp dergisi 2002; 33: 110-8.
27. Jensen SJK, Oxidative stress and free radicals. J Mol Struct 2003; 666: 387- 92.
28. Halliwell B, Gutteridge John MC. Free Radicals in Biology and Medicine. Third Edition. New York: Oxford University Press, 2001; s.22-24.
29. Halliwell Barry. Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology is a Fundamental Theme of Aerobic Life. Plant Physiology, 206; 141: 312-322.
30. Darley-Usmar V, Wiseman H, Halliwell B. Nitric Oxide and Oxygen Radicals: A Question of Balance . FEBS Letters, 1995; (369): 131-135.
31. Dröge W. Free Radicals in the Physiological Control of cell Function. Physiol Rev, 2002; 82: s.48.
32. Halliwell B, Cross CE, Gutteridge JMC. Free radicals, antioxidants and human disease: Where are we now? J Lab Clin Med, 1992; 598-620.
33. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. Br Med Bull, 1993;49(3):481-493.
34. Cheeseman KH. Free radical and antioxidant. Br Med Bull, 1992;12(6): 347-396.
35. Basaga HS. Biochemical aspect of free radical. Are the strongest determinants of plasma antioxidative capacity and serum lipid resistance to oxidation in Finnish men. Atherosclerosis, 1997;130(1-2):223-233.
36. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin Chemistry, 1995;41(12):1819-1828.
37. Jensen SJK, Oxidative stress and free radicals. J Mol Struct 2003; 666: 387-92.
38. Akkus I. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza yayımları. 1995, Konya.
39. Sabatino D, Kosuri S, Remollino A, Shotter B. Cobalamin deficiency presenting with cutaneous hyperpigmentation: a report of two siblings. Pediatr Hematol Oncol 1998; 15: 447-50.
40. Raha S, Robinson BH. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. TIBS 2000; 25: 502-7.
41. Ghalayini IF. Nitric oxide-cyclic GMP pathway with some emphasis on cavernosal contractility. Int J Impot Res.2004; 16: 459-69.

42. Sanders SP, Siekierski ES, Richards SM, Porter JD, Imani F, Proud D, Rhinovirus infection induces Expression of type 2 nitric oxide synthase in human respiratory epithelial cells in vitro and in vivo. *J. Allergy Clin Immunol* 2001;107(2):235-243.(PMID: 11174188)
43. Arnal JF, Flores P, Rami J, Murriss-Espin M, Bremont F, Pasto I, Aguilla M, Serrano E, Didier A. Nasal nitric oxide concentration in paranasal sinus inflammatory diseases. *Eur Respir J* 1999; 13(2):307-312.(PMID: 10065673)
44. Kim JW, Min YG, Rhee CS, Lee CH, Koh YY, Rhyoo C, Kwon TY, Park SW. Regulation of mucociliary motility by nitric oxide synthase in the human nasal mucosa. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153(2):847-850.(PMID:8564142)
45. Eberhardt, Manfred K.Reactive Oxygen Metabolites. Florida: CRC Pres, 2001.
55. Pryor WA, Houk KN, Foote CS, Fukuto JM, Ignarro LJ, Squadrito GL, et. Al. Free Radical Biology and Medicine: It is a Gas, Man. *AJP-Regul Integr Comp Physiol*, 2006; (291): R491-R511.
46. Pryor WA, Houk KN, Foote CS, Fukuto JM, Ignarro LJ, Squadrito GL, et. Al. Free Radical Biology and Medicine: It is a Gas, Man. *AJP-Regul Integr Comp Physiol*, 2006; (291): R491-R511.
47. Frostell C, Fratacci MD, Wain JC, Jones R, Zapol WM. Inhaled nitric oxide: a selective pulmonary vasodilator reversing hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Circulation* 1991;83:2038-2047
48. Head CA. Nitric oxide and the lung. An overview. *Artif Organs* 1997;21:5-9
49. Grasemann H, Gartig S, Wiesemann HG, Teschler H, Konietzko N, Ratjen F. Effect of L-arginin infusion on airway NO in cystic fibrosis and primary ciliary dyskinesia syndrome. *Eur Respir J* 1999;13:114-118
50. Kristof AS, Goldberg P, Laubach V, Hussain SNA. Role of inducible nitric oxide synthase in endotoxin-induced acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1883-1889
51. Nathan C. Inducible nitric oxide synthase: What difference does it make? *J Clin Invest* 1997; 100: 2417-2423
52. Kolb H, Kolb-Bachofen V. Nitric oxide in autoimmune disease: Cytotoxic or regulatory mediator? *Immunol Today* 1998; 19: 556-561
53. Farrel AJ, Blake DR. Nitric oxide. *Ann Rheum Dis* 1996; 55: 7-20 62

54. Kallio EA, Koskinen PK, Aavik E, Vaali K, Lemstom KB. Role of nitric oxide in experimental obliterative bronchiolitis in the rat. *J Clin Invest* 1997; 100: 2984-2994
55. Taylor-Robinson AW, Liew FY, Severn A, Xu D, McSorley SJ, Garside P, Pardon J, Philips RS. Regulation of the immune response by nitric oxide differentially produced by T helper type 2 cells. *Eur J Immunol* 1994; 24: 980-984
56. Meldrum DR, Shames BD, Meng X, Fullerton DA, McIntyre RC, Grover FL, Harken AH. Nitric oxide downregulates lung macrophage inflammatory cytokine production. *Ann Thorac Surg* 1998; 66: 313-317
57. Weinberger B, Fakhrzadeh L, Heck DE, Laskin JD, Gardner CR, Laskin DL. Inhaled nitric oxide primes lung macrophages to produce reactive oxygen and nitrogen intermediates. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 931-938
58. Jones KL, Bryan TW, Jinkins PA, Simpson KL, Grisham MB, Ovens MW, Milligan SA, Markewitz BA, Robbins RA. Superoxide released from neutrophils causes a reduction in nitric oxide gas. *Am J Physiol* 1998; 275: L1220-L1226
59. Laskin DL, Heck DE, Laskin JD. Role of inflammatory cytokines and nitric oxide in hepatic and pulmonary toxicity. *Toxicology Letters* 1998;102:289-293
60. Park E, Quinn MR, Schuller-Levis GB. Taurine chloramine inhibites nitric oxide production, induction of NOS expression of iNOS mRNA in activated RAW 264.7 cells. *J Leukocyte Biol* 1994; 56: 29-32
61. Mc Call TB, Palmer RMJ, Moncada S. Interleukin-8 inhibits the iduction of nitric oxide synthase in rat peritoneal neutrophils. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 186: 680-685
62. Kobayashi A, Hashimoto S, Kooguchi K, Kitamura Y, Onadera H, Urata Y, Ashihara T. Expression of indicible nitric oxide synthase and inflammatory cytokines in alveolar macrophages of ARDS following sepsis. *Chest* 1998; 113: 1632-1639
63. Krishna MT, Blomberg A, Biscione GL, Kelly F, Sandström T, Frew A, Holgate S. Short term ozone eksposure upregulates P-Selectin in normal human airways. *Am J Resp Crit Care Med* 1997; 155: 1798-1803 63
64. Sies H. Oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* 1997; 82: 291–295
65. Annuk M, Zilmer M, Fellsröm B. Endothelium-dependent vasodilation and oxidative stres in chronic renal failure: Impact on cardiovascular disease. *Kidney Int* 2003; 63 (84); 50-53.

66. Handelman GJ. Evaluation of oxidant stress in dialysis patients. *Blood Purif* 2000; 18(4): 343–349.
67. Halliwell B. The role of oxygen radicals in human disease with particular reference to the vascular system. *Haemostasis* 1993; 23: 118-26.
68. Jan Galle. Oxidative stress in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 2135-37.
69. Himmelfarb J, Stenvinkel P, Ikizler TA, Hakim RM. The elephant in uremia: Oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. *Kidney int.* 2002; Vol 62: 1524-38.
70. Locatelli F, Canaud B, Eckard KU, Stenvinkel P, Wanner C, Zocalli C. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 1272–1280.
71. Descamps-Latscha B, Drüeke T, Witko-Sarsat V. Dialysis-induced oxidative stress: biological aspects, clinical consequences and therapy. *Semin Dial* 2001; 14: 193–199.
72. Pryor WA. Oxy-radicals and related species: their formation, lifetimes and reactions. *Annu Rev Physiol* 1986; 48: 657–667.
73. Canaud B, Cristol JP, Morena M. Imbalance of oxidants and antioxidants in haemodialysis patients. *Blood Purif*, 1999;17:99-106.
74. Canaud B, Cristol JP, Morena M. Imbalance of oxidants and antioxidants in haemodialysis patients. *Blood Purif*, 1999; 17:99-106.
75. İkizler TA, Morrow JD, Roberts LJ. Plasma F2 isoprostane levels are elevated in chronic hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 2002; 58(3): 190-7.
76. Bonnefoy M, Draï J, Kostka T. Antioxidants to slow aging, facts and perspectives. *Presse Med*, 2002; 31(25):1174-84.
77. Iuliano L, Colavita AR, Leo R, Pratico D, Violi F. Oxygen free radicals and platelet activation. *Free Radic Biol Med*, 1997; 22(6): 999-1006.
78. Halliwell B. Free radicals and vascular disease: how much do we know? *BMJ*, 1993; 307(6909):885-6.
79. Rodrigo R, Passalacqua W, Araya J, Guichard C, Bachler J.P. Relationship between oxidative stress and essential hypertension. *Hypertens Res*, 2007; 30: 1159-1167.

80. Kashyap M.K., Yadav V., Sherawat B. S., Jain S., Kumari S., Khullar M., et. al. "Different Antioxidants Status, Total antioxidant Power and Free Radicals in Essential Hypertension" *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2005; 277: 89-99.
81. Dröge W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiol Rev*, 2002; 82: s.48.
82. Yülek F, Or M, Ozogul C, Isik AC, Ari N, Stefek M, Bauer V, Karasu C. Links Effects of stobadine and vitamin E in diabetes-induced retinal abnormalities: involvement of oxidative stress. *Arch Med Res*, 2007;38(5): 503-11.
83. Burçak G, Andican G. Oksidatif DNA Hasarı ve Yaslanma. *Cerrahpasa J Med*, 2004; 35: 159-169.
84. Reilly M.P., Barry P., Lawson J.A., et al. urinary 8-epi-prostaglandin F2 $\alpha$ : An index of oxidant stress in vivo. *Fibrinolysis, Proteolysis* 11, 81-84 (1997)
85. 94. Rahman I. Oxidative stress, chromatin remodeling and gene transcription in inflammation and chronic lung diseases. *J Biochem Mol Biol*, 2003; 36(1): 95-109.
86. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39:44-84
87. Monaghan P, Metcalfe NB, Torres R. Oxidative stress as a mediator of life history trade-offs: mechanisms, measurements and interpretation. *Ecol Lett* 2009;12:75-92
88. Reilly M.P., Barry P., Lawson J.A., et al. urinary 8-epi-prostaglandin F2 $\alpha$ : An index of oxidant stress in vivo. *Fibrinolysis, Proteolysis* 11, 81-84 (1997)
89. Rice-Evans C. Free Radicals and Antioxidants in Normal and Pathological Processes. In: Rice-Evans C, Bruckdorfer KR, editors. *Oxidative Stress, Lipoproteins and Cardiovascular Dysfunction*. Cambridge: Portland Press Ltd; 1995. s.1-33.
90. Battino M, Bullon P, Wilson M, Newman H. Oxidative injury and inflammatory periodontal diseases: the challenge of anti-oxidants to free radicals and reactive oxygen species. *Crit Rev Oral Biol Med* 1999;10:458-476
91. Rigatto C, Singal PK. Oxidative stress in uremia: Impact on cardiac disease in dialysis patients. *Semin Dial* 1999; Vol 12 No 2: 91-96.
92. Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys* 1990; 280: 1-8.

93. Sancar A. DNA excision repair. *Annu Rev Biochem* 1996; 65: 43-81.
94. Scandalios JG. The rise of ROS. *Trends in Biochemical Sciences* 2002; 27:483
95. Gupta P, Narang M, Banerjee BD, et al. Oxidative stress in term small for gestational age neonates born to undernourished mothers: a case control study. *BMC Pediatr* 2004; 4: 14.
96. Buhimschi IA, Buhimschi CS, Pupkin M, et al. Beneficial impact of term labor: nonenzymatic antioxidant reserve in the human fetus. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189: 181-8.
97. Bayraktar M, Kılıç S, Özdemir İ, Aydemir S, Ulu R, The Investigation of Serum Malondialdehyde Levels and Erythrocyte Antioxidant Enzymes in Hypertension Patients. *J Health Sci*, 2005;14(2)76-81.
98. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 1997;6(3-4):92- 95.
99. Yigit A, Yurdakök M. Yeni doğanlarda serbest radikallere bağlı hastalıklar. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 1997; 39: 749-65.
100. McCord JM. Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem*, 1993;26:351-357.
101. Martinet W, Knaapen MW, De Meyer G R, Herman A G, Kockx MM. Elevated Levels of Oxidative DNA Damage and DNA Repair Enzymes in Human Atherosclerotic Plaques. *Circulation*, 2002; 106: 927-932.
102. Vincent HK, Taylor AG. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes (London)*, 2006; 30 (3): 400-18.
103. Keaney JF, Larson MG, RS Vasan, Wilson PWF, Lippinska I, Corey D, et.al. Obesity and Systemic Oxidative Stress Clinical Correlates of Oxidative Stress in the Framingham Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003; 23: 434-439.
104. Bo S, Gambino R, Pagani A, Guidi S, Gentile L, Cassader M, Pagano GF. Relationships between human serum resistin, inflammatory markers and insulin resistance. *Int J Obes*, 2005; 29:1315–1320.
105. Skrha J, Kunesova M, Hilgertova J, Weiserova H, Krizova J, Kotrlikova E. Short-term very low calorie diet reduces oxidative stress in obese type 2 diabetic patients. *Physiol Res*, 2005; 54(1): 33-9.



106. Das K, Chainy GBN. Modulation of rat liver mitochondrial antioxidant defense system by thyroid hormone. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 2001; 1537(1): 1-13.
107. Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and Pathology of Radical mediated Protein Oxidation. *Biochemical Journal* 197; 324(1): 1-18.
108. Dillard CJ, Downey JE, Tappel AL. Effect of antioxidants on lipid peroxidation in iron-loaded rats. *Lipids* 1984; 19(2): 127-33.
109. Sanchez-Conde P, Rodriguez-Lopez JM, Nicolas JL, et al. The comparative abilities of propofol and sevoflurane to modulate inflammation and oxidative stress in the kidney after aortic cross-clamping. *Anesth Analg.* 2008;106:371-8
110. Hall GM, Desborough JP. Interleukin-6 and the metabolic response to surgery. *Br J of Anest* 1992;22: 337-8.
111. Lin E, Calvano SE, Lowry SF et al. Inflammatory Cytokines and cell response in surgery. *Surgery* 2000; 127: 117-26
112. Wu CC, Hwang CR, Liu TJ. Effect and limitations of prolonged intermittent ischemia resection of the cirrhotic liver. *Br J Surg* 1996; 83:121-4.
113. Spink J, Cohen J. Synergy and specificity in induction of gene activity by proinflammatory cytokines; potential therapeutic targets. *Shock* 1997; 7: 405-12.
114. Mosmann T. Cytokines and immune regulation. *Clinical immunology principles and practice.* Mosby 1995; 378-91.
115. Hofmann MA, Lalla E, Lu Y, Gleason MR, Wolf BM, Tanji N, Ferran LJ Jr, Kohl B, Rao V, Kisiel W, Stern DM, Schmidt AM. Hyperhomocysteinemia enhances vascular inflammation and accelerates atherosclerosis in a murine model. *J Clin Invest.* 2001; 107: 675-683.
116. Starkebaum G, Harlan JM. Endothelial cell injury due to copper-catalyzed hydrogen peroxide generation from homocysteine. *J Clin Invest* 1986; 77: 1370-1376.
117. Robbins RA, Barnes PJ, Springall DR, Warren JB, Kwon OJ, Buttery LDK, Wilson AJ, Geller DA, Polak JM. Expression of inducible nitric oxide in human lung epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;203:209-218

118. Bastard JP, Jardel C, Bruckert E, et al. Elevated levels of interleukin-6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 3338-42.
119. Kopelman PG. Medical management of obesity. *Br J Hosp Med* 2007; 68(2): 89- 93.
120. McCarty ME. Interleukin-6 as a central mediator of cardiovascular risk associated with chronic inflammation, smoking, diabetes, and visceral obesity: downregulation with essential fatty acids, ethanol and pentoxifylline. *Med Hypotheses* 1999; 52: 465-7.
121. Herbelin A, Urena P, Nguyen AT, Zingraff J, Descamps Latscha B. Elevated circulating levels of interleukin-6 in patients with chronic renal failure. *Kidney Int* 1991; 39: 954-60.
122. Trugo N, Sardinha F. Cobalamin and cobalamin-binding capacity in human milk. *Nutr Res* 1994; 14: 22-33.
123. Feingold KR, Doerrler W, Dinarello CA, Fiers W, Grunfeld C. Stimulation of lipolysis in cultured fat cells by tumor necrosis factor, interleukin-1 and the 56 interferons is blocked by inhibition of prostaglandin synthesis. *Endocrinology* 1992; 130: 10-6.
124. Greenberg AS, Nordan RP, McIntosh J, Calvo JC, Scow RO, Jablons D. Interleukin-6 reduces lipoprotein lipase activity in adipose tissue of mice in vivo and in 3T3-L1 adipocytes: a possible role for interleukin-6 in cancer cachexia. *Cancer Res* 1992; 52: 4113-6.
125. Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, et al. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 4196-200.
126. Yudkin JS, Yajnik CS, Mohamed-Ali V, Bulmer K. High levels of circulating proinflammatory cytokines and leptin in urban, but not rural Indians. A potential explanation for increased risk of diabetes and coronary heart disease. *Diabetes Care* 1999; 22: 363-4.
127. Gumusdis G, Doganavsargil E. *Klinik Romatoloji* 1999, syf:148.

128. Szalai AJ, van Ginkel FW, Dalrymple SA, Murray R, McGhee JR, Volanakis JE. Testosterone and IL-6 requirements for human C-reactive protein gene expression in transgenic mice. *J Immunol* 1998; 160: 5294-9.
129. Cook DG, Mendall MA, et al. C-reactive protein concentration in children: relationship to adiposity and other cardiovascular risk factors. *Atherosclerosis* 2000; 149:139-50.
130. Haverkete F, Thompson SG, Pyke SD, Gallimore JR, Pepys MB. Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *Lancet* 1997; 349: 462-6.
131. Das UN, Fanrs MD. Is obesity inflammatory condition?. *Nutrition* 2001; 17: 953-66.
132. Earl S, Ford MD. Body mass index, diabetes, and C-reactive protein among U.S. adults. *Diabetes Care* 1999; 22: 1971-7.
133. Mendall MA, Patel P, Ballam M, Strachan D, Nortfield TC. C-reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional study. *BMJ* 1996; 312: 1061-5.
134. Muller G, Ertlj M, Preibisch G. Leptin impairs metabolic actions of insulin in isolated rat adipocytes. *J Biol Chem* 1997; 272: 10585-93.
135. Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA* 1999; 282: 2131-5.
136. Stenvinkel P, Alverstand A. Inflammation in end stage renal disease: sources, consequences and therapy. *Semin dial* 2002; Vol 15 No 5: 329-337.
137. Docci D, Bilancioni R, Buscaroli A, Baldrati L, Capponcini C, Mengozzi S, Turci F, Feletti C. Elevated serum levels of C-reactive protein in hemodialysis patients. *Nephron* 1990; 56:364-7.
138. Stenvinkel P, Heimbürger O, Paulsen F, Diczfalussy U, Wang T, Berglund L, Jogestrand T. Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 1999; 55: 1899-911.
139. Peskin A V, Zbarsky I B, Konstantinov AA. An examination of the superoxide dismutase activity in tumor tissue. *Dokl Akad Nauk SSSR* 1976;229:751-754 *J Natl Cancer Ints* 1978;61:375-379.

140. Kern PA, Subramanian R, Chunling LI, Linda W, Gouri R. Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 280: E745-E751.
141. Stouthard JC, Romjin JA, Van Der Poll T, et al. Endocrinologic and metabolic effects of interleukin-6 in humans. *Am J Physiol* 1995; 268: E813-E819.
142. Kanemaki T, Kitade H, Kaibori M et al. Interleukin-1 beta and interleukin-6, but not tumor necrosis factor alpha, inhibit insulin-stimulated glycogen synthesis in rat hepatocytes. *Hepatology* 1998; 27: 1296-303.
143. Latzin P, Beck J, Griese M, Exhaled nitric oxide in healthy children: variability and a lack of correlation with atopy. *Pediatric Allergy Immunol* 2001;163:1692-722.
144. h.kamanlı
145. Karlidağ T, Ilgan N, aygusuz I, Keles E, Yalcin S, Yildiz M. Roles of free radicals, nitric oxide, and scavenging enzymes in nasal polyp development. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2005; 114(2):122-6.(PMID:11068652)
146. Silkoff PE, McClean PA, Slutsky AS, Furlott G, Hoffstein E, Wakita S, Chapman KR, Szalai JP, Zamel N. Marked flow-dependence of exhaled nitric oxide using a new technique to exclude nasal nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155:260-7
147. Ho LP, Gñnes JA, Greening AP. Nitrite levels in breath condensate of patients with cystic fibrosis is elevated in contrast to exhaled nitric oxide. *Thorax* 1998;53:680-684
148. Linnane SJ, Keatings VM, Costello CM, Moynihan JB, O'Conner CM, Fitzgerald MX, McLoughlin P. Total sputum nitrate plus nitrite is raised during acute pulmonary infection in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 207-21
149. Ozaras R. Changes in malondialdehyde levels in bronchoalveolar fluid and serum by the treatment of asthma with inhaled steroid and beta2-agonist. *Respiratory* 2000;5:289-92
150. Alataş Ö, Metin M, Çolak Ö ve arkadaşlarının Bronş kanseri ve malign plevral mezotelyomada plazma lipid peroksit düzeyleri. Türkiye solunum araştırmaları derneği (TÜSAD), XXII. Ulusal Kongresi, 11-14 Haziran 1995, İstanbul, TP-20

151. Özkan Y, Torun M, Şimşek B. Serum MDA levels in lung cancer. International Congress on Free Radicals in Health and Disease Med Org (Abstract). İstanbul 1995:P-182
152. Petruzelli S, Hietanen E, Bartsch H. Pulmonary lipid in cigarette smokers and lung cancer patients. *Chemosphere* 1990; 98:930-935
153. Lankin UZ, Gurevich SM. Inhibition of peroxidation of lipids and detoxification of lipoperoxides by protective enzymes (SOD, GSH-Px, and GSH reductase) in experimental malignant growth. *Dokl Akad nauk SSSR* 1976;226:705-708
154. Jagura P, Zastawny TH, Skokowski J. Oxidative DNA base damage and antioxidant
155. Joseph BZ, Routes JM, Borish L. Activities of superoxide dismutases and NADPH oxidase in neutrophils obtained from asthmatic and normal donors. *Inflammation* 1993;17: 361-70.
156. Tekin D, Sin BA, Mungan D et al. The antioxidative defense in asthma. *J Asthma* 2000 Feb; 37(1):59-63.
157. Caty MG, Guice KS, Oldham KT, Remick DG, Kunkel SI. Evidence for tumor necrosis factor-induced pulmonary microvascular injury after intestinal ischemia/reperfusion. *Ann Surg*. 1990 Dec;212(6):694-700.