

T.C.  
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DERİN VEN TROMBOZUNDA ASİMETRİK  
DİMETİLARJİNİN VE OKSİDATİF STRESİN ÖNEMİ**

Dr. Meral EKİM  
TEMEL TIP BİLİMLERİ BÖLÜMÜ  
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. M. Ramazan ŞEKEROĞLU

VAN-2012

Bu araştırma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından 2010-SBE-D 114 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

T.C.  
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DERİN VEN TROMBOZUNDA ASİMETRİK  
DİMETİLARJİNİN VE OKSİDATİF STRESİN ÖNEMİ**

Dr. Meral EKİM  
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ

Prof. Dr. M. Ramazan ŞEKEROĞLU  
Jüri Başkanı

Üye

Üye

Üye

Üye

TEZ KABUL TARİHİ  
29/08/2012

## TEŞEKKÜR

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalı'nda doktora eğitimim süresince yüksek tecrübe ve bilgileriyle bana yol göstermiş olan saygıdeğer danışman hocam sayın Prof. Dr. M. Ramazan Şekeroğlu'na destek ve katkılarından dolayı çok teşekkür ederim. Ayrıca eğitimim sırasında değerli bilgilerinden faydalandığım Biyokimya Ana Bilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Haluk Dülger ve Yrd. Doç. Dr. Rağıp Balahoroğlu'na, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Halil Özkol'a, Fen Fakültesi İstatistik Bölümü Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Eray Çelik'e teşekkürü bir borç bilirim. Laboratuvar çalışmalarında yardımlarından dolayı laboratuvarında çalışan tüm personele ve çalışmamızı destekleyen Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca eşim Prof. Dr. Hasan Ekim'e desteği ve her türlü yardıma için çok teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

|   |      |
|---|------|
| Kabul ve Onay .....   | II   |
| Teşekkür .....  | III  |
| İçindekiler .....   | IV   |
| Simgeler ve Kısaltmalar .....   | VI   |
| Tablolar Listesi .....  | VIII |
| Şekiller Listesi .....  | IX   |
| 1. GİRİŞ .....  | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER .....   | 3    |
| 2.1. Alt Ekstremitte Venöz Sistem Anatomisi .....   | 3    |
| 2.2. Derin Ven Trombozu .....   | 5    |
| 2.2.1. Derin ven trombozunda epidemiyoloji .....  | 5    |
| 2.2.2. Derin ven trombozunda tan› .....   | 6    |
| 2.2.3. Derin ven trombozunda etiyoloji ve fizyopatoloji .....                             | 9    |
| 2.2.4. Derin ven trombozunda risk faktörleri .....  | 17   |
| 2.2.5. Derin ven trombozunda profilaksi .....   | 18   |
| 2.3. Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Sistemi .....                                 | 19   |
| 2.3.1. Oksidatif stres .....  | 19   |
| 2.3.1.1. Serbest radikaller .....   | 20   |
| 2.3.1.2. Serbest radikal oluşturan başlıca mekanizmalar .....                             | 22   |
| 2.3.1.3. Biyolojik sistemlerde oluşan serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri ..... | 24   |
| 2.3.1.4. Reaktif oksijen türlerinin organizmada meydana getirdiği hasarlar .....          | 29   |
| 2.3.2. Antioksidan savunma sistemleri .....   | 33   |
| 2.3.2.1. Enzimatik antioksidan savunma sistemleri .....                                   | 33   |
| 2.3.2.2. Enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri .....                           | 36   |
| 2.3.4. Normal endotelin yap›s› ve fonksiyonu .....  | 38   |
| 2.3.5. Endotel disfonksiyonu .....  | 40   |
| 2.3.6. Asimetrik dimetilarjinin .....   | 44   |
| 2.3.6.1. Asimetrik dimetilarjinin ve endotelial disfonksiyon .....                        | 51   |

|   |    |
|---|----|
| 2.3.6.2. Asimetrik dimetilarjinin ve oksidatif stres .....      | 51 |
| 2.3.7. Homosistein .....  | 53 |
| 2.3.7.1. Venöz tromboemboli ve homosistein .....                | 55 |
| 2.3.7.2. Asimetrik dimetilarjinin ve hiperhomosisteinemi .....  | 57 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM .....  | 59 |
| 3.1. Gereçler .....   | 59 |
| 3.1.1. Vaka seçimi .....  | 59 |
| 3.1.2. Kan örneklerinin alınması ve hazırlanması .....          | 59 |
| 3.1.3. Kullanılan cihazlar .....                                | 59 |
| 3.2. Yöntem .....   | 60 |
| 3.2.1. Parametrelerin çalışılmasında kullanılan yöntemler ..... | 60 |
| 3.2.1.1. Katalaz (CAT) tayini .....                             | 60 |
| 3.2.1.2. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) tayini .....             | 61 |
| 3.2.1.3. Asimetrik Dimetilarjinin (ADMA) tayini .....           | 62 |
| 3.2.1.4. Homosistein tayini .....                               | 63 |
| 3.2.1.5. Malondialdehid (MDA) tayini .....                      | 64 |
| 3.2.1.6. Vitamin B <sub>6</sub> tayini .....                    | 65 |
| 3.2.1.7. Vitamin B <sub>12</sub> tayini .....                   | 66 |
| 3.2.1.8. Folik asit tayini .....                                | 66 |
| 3.3. İstatistiksel Analiz .....                                 | 67 |
| 4. BULGULAR .....   | 68 |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....                                      | 70 |
| 6. ÖZET .....   | 80 |
| 7. SUMMARY .....  | 81 |
| 8. KAYNAKLAR .....  | 82 |
| 9. ÖZGEÇMİŞ .....   | 94 |

## SİMGELER VE KISALTMALAR

- VTE: Venöz tromboemboli  
DVT: Derin ven trombozu  
PE: Pulmoner emboli  
PTE: Pulmoner tromboemboli  
PHT: Pulmoner hipertnsiyon  
ADMA: Asimetrik dimetilarjinin  
PRMT: Protein arjinin metil transferaz  
DDAH: Dimetilarginine dimetilaminohidrolaz  
OS: Oksidatif stres  
ROS veya ROT: Reaktif oksijen maddeleri veya reaktif oksijen türleri  
SOR: Serbest oksijen radikali  
HOCl: Hipoklöröz asit  
KAT: Katalaz  
LOOH: Lipithidroperoksit  
MDA: Malondialdehid  
GSH-Px: Glutasyon peroksidaz  
MPO: Myeloperoksidaz  
Mg: Miligram  
μmol: Mikromol  
NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat  
NAD: Nikotinamid adenin dinükleotid  
O<sub>2</sub><sup>-</sup>: Süperoksit anyonu  
<sup>1</sup>O<sub>2</sub>: Singlet oksijen  
OH<sup>·</sup>: Hidroksil radikali  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Hidrojen peroksit  
HOCl: Hipokloröz asit  
eNOS: Endotelyal nitrik oksit sentaz  
v: Vena  
m: Musculus  
a: Arterial

TF: Doku faktörü

d-PA: Doku plazminojen aktivatörleri

PAI: Plazminojen aktivatör inhibitörleri

AT III: Antitrombin III

APC: Aktive protein C

PS: Protein S

NO: Nitrik oksit

NOS: Nitrik oksit sentaz

ED: Endotelyal disfonksiyon

## TABLULAR LİSTESİ

|   |    |
|---|----|
| <b>Tablo 1.</b> Derin ven trombozunda tanısında Wells klinik skorlaması .....                                 | 7  |
| <b>Tablo 2.</b> Endotel hasarı yapan faktörler .....  | 11 |
| <b>Tablo 3.</b> Hiperkoagülopatiler .....   | 14 |
| <b>Tablo 4.</b> Venöz tromboemboli risk faktörleri .....  | 18 |
| <b>Tablo 5.</b> Plazma asimetrik dimetilargininin düzeylerinin yüksek olarak saptandığı klinik durumlar ..... | 50 |
| <b>Tablo 6.</b> Kontrol ve hasta grubuna ait bulgular .....   | 68 |
| <b>Tablo 7.</b> Kontrol grubuna ait parametreler arasındaki korelasyon .....                                  | 69 |
| <b>Tablo 8.</b> Hasta grubuna ait parametreler arasındaki korelasyon .....                                    | 69 |



## ŞEKİLLER LİSTESİ

|  |    |
|--|----|
| Şekil 1. Yüzeyel, derin ve perforan venlerin birbirleriyle olan ilişkileri ve kas kontraksiyonu sırasında kanın akışına göre kapakçıkların pozisyonu ..... | 4  |
| Şekil 2. Oksidatif stres .....   | 20 |
| Şekil 3. Reaktif oksijen türlerinin üretimi .....  | 21 |
| Şekil 4. Metiltarjininlerin üretilmesi ve metabolizması .....  | 46 |
| Şekil 5. Asimetrik dimetiltarjininin biyokimyasal yolu .....   | 49 |
| Şekil 6. Homosistein metabolizması .....   | 55 |
| Şekil 7. Homosisteinin neden olduğu endotel disfonksiyon ve asimetrik dimetiltarjininin olası rolü .....   | 58 |
| Şekil 8. Asimetrik dimetiltarjinin için örnek kromatogram .....  | 63 |
| Şekil 9. Homosistein kalibrasyon standartına ait örnek kromatogram .....   | 64 |
| Şekil 10. Malondialdehit kalibrasyon standartına ait örnek kromatogram .....   | 65 |
| Şekil 11. Vit B <sub>6</sub> kalibrasyon standartına ait örnek kromatogram .....   | 66 |

## 1. GİRİŞ

Venöz tromboembolizm (VTE) derin ven trombozu (DVT) ve pulmoner embolizmi (PE) kapsayan bir hastalıktır. Daha yaygın bir klinik tablo gösteren DVT, genellikle baldırın derin venlerinde ortaya çıkar ve proksimale doğru yayılabilir. PE ise daha ciddi seyrederek ve genellikle alt ekstremité venlerinden kopan bir trombüsün pulmoner arteriyel sisteme embolize olmasıyla oluşur. Etkin profilaksiye rağmen, VTE insidansı 1980'den beri anlamlı olarak değişmemiştir. Etiyolojisinde venöz staz, endotel hasarı ve hiperkoagübiliteden oluşan Virchow triadının bütün basamakları ayrı ayrı önem taşımaktadır. Ama ana etken hemostatik dengenin bozulmasıdır.

Normal fizyolojik koşullarda vücutta oksidan sistem ve antioksidan savunma sistemi bir denge içerisindedir. Ancak, bazı patolojik durumlarda oksidan sistemi oluşturan reaktif oksijen türleri (ROT) artış gösterebilir. İşte bu durumda “oksidatif stres” olarak isimlendirilen ve hücre ve doku fonksiyonları üzerine zararlı etkiler oluşturan bir durum oluşur. Oksidatif stresin vücutta oluşturduğu patolojilerden biri de “endotelial disfonksiyon ya da endotelial hasar”dır. Endotelial disfonksiyona yalnız vasküler hastalığın bir mediatörü değil aynı zamanda kardiyovasküler olayların riski hakkında bilgi sağlayan değerli bir marker olarak bakılmalıdır. Nitrik oksit (NO) vasküler endotelden endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) enzimi ile L-arjinden sentezlenir. NO vasküler hemostazisin korunmasında çok önemli görevlere sahiptir. ROT ya transkripsiyonel mekanizmalar vasıtasıyla ya da tetrahidriopterin kofaktörünün redoks durumunu değiştirerek eNOS'u direkt olarak etkileyebilir. Bu gibi pek çok etkiyle NO sentez ve yayılımını ayarlama oksidatif stresin rolü göz önünde tutulmalıdır (Dudzinski ve ark., 2006). NOS enziminin kompetitif inhibitörü olan ve arjinin rezidülerinden sentezlenen metilarjininlerden biri asimetrik dimetilarjindir (ADMA). ADMA S-adenozil metiyonin-bağımlı protein-arjinin N metiltransferaz (PRMT) gibi redoks-bağımlı enzimler tarafından sentezlenir. Ayrıca, ADMA'nın yayılımından sorumlu enzim dimetilarjinin dimetil-aminohidrolaz (DDAH) redoks-sensitiftir ve onun aktivitesi artmış oksidatif stres durumlarının varlığında azalır. Bundan dolayı, ADMA sentezi artmış oksidatif stres (OS) durumlarında artar (Antoniades ve ark., 2009).

Çalışmamızın DVT’de ADMA düzeyleri ile ilgili sınırlı sayıda yapılmış araştırmalara katkı sağlaması ve özellikle DVT’nin ADMA ve oksidatif stres ile ilişkisi araştırılarak olası mekanizmanın aydınlatılmasına fırsat sağlaması amaçlanmıştır. Ayrıca oksidatif stresin DVT patofizyolojisindeki öneminin bilinmesi, hastalığın oluşmadan önce hücresel düzeyde tanınmasına veya antioksidan yaklaşımların klinik uygulamada yer almasına imkân verecektir. Bu çalışma sonunda ortaya çıkacak sonuçların DVT profilaksisinde ve tedavisinde bilimsel yenilikler getirmesi hedeflenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

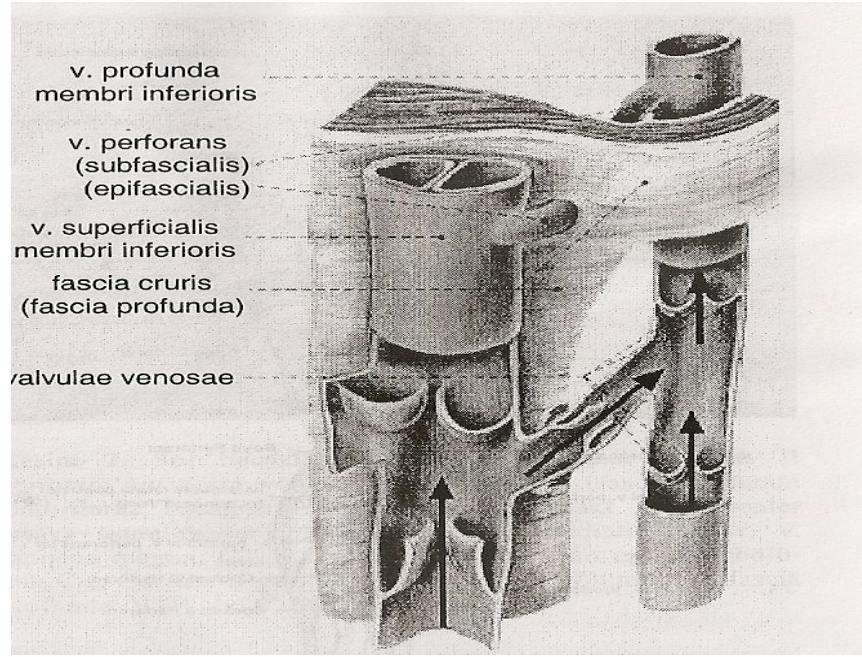
### 2.1. Alt Ekstremitte Venöz Sistem Anatomisi

Alt ekstremitenin venleri yüzeysel (vena superficialis), derin (vena profunda) ve perforan (vena perforans) olmak üzere üç gruptan oluşur (Şekil 1). Yüzeysel venler hemen deri tabakasının altında ve yüzeysel fasianın iki yaprağı arasında bulunur. Derin venler ise arterlere eşlik eden venler olup fasyanın (fasya profunda) ve kasların derininde seyrederek. Perforan venler derin fasyaya delip geçerek yüzeysel ve derin ven sistemlerini birbirine bağlarlar (Tağıl, 2003). Bu venler doğrudan bağlantı sağladıkları gibi musculus/soleal venöz sinüsler yoluyla dolaylı bağlantı da sağlarlar.

Her üç grup venede de kapakçık (valvül) bulunur. Derin ve yüzeysel sistemleri birleştiren venlerdeki kapakçıklar içe doğru yönelmiştir ve böylece venöz kan akımı, biküspid kapakçıkların (valvula venosa) yönlendirmesi ile yüzeysel venlerden derin venlere doğru olur. Yalnızca ayak sırtındaki yüzeysel venler ayrıcalık taşır; buradaki perforan venlerde kapakçık bulunmadığından (Yıldırım, 2007), venöz kan akımı derin venlerden yüzeysel venlere doğrudur. Valvüller derin ve distal venlerde; ayrıca alt ekstremitede de üst ekstremitedekine göre daha fazladır. DVT gelişen hastalarda oluşan trombüs vücudun normal fibrinolitik mekanizmalarıyla eritilebilir. Ancak, bu fibrinolizis olayı esnasında soğan zarı gibi ince olan ven kapakları da hasar görebilir. Kapak fonksiyonu bozulunca kronik venöz yetmezlik tablosu ve ona bağlı komplikasyonların oluşması kaçınılmazdır.

Alt ekstremitenin yüzeysel ve derin ven sistemleri, birbirleriyle ilişki içindedir. yüzeysel ve derin venöz sistemler perforan (delici) venler aracılığı ile bağlantı kurar. V.saphena magna ve v. saphena yüzeysel venlerdir. Alt ekstremitenin derin venleri, arterlere eşlik eden ve çok sayıda valvül içeren venlerdir. V. tibialis posterior, v. planteris lateralis ve v. planteris medialis'in birleşimiyle oluşur. Dizin arkasında v. tibialis anterior ile birleşerek v. popliteayı yaparlar (Dere, 1990). V. poplitea a.(arteria) poplitea'nın yüzeyselinden ve arkasından mediale doğru geçerek hiatus adductorius'a girer. V.saphena parva, vv. genicularis ve vv. surales'in bir kısmında drenaj ederler. Hiatus adductorius'tan geçtikten sonra v. poplitea'nın adı v. femoralis superficialis olur.

Uyluğun proksimalinde v. profunda femoris ile birleşerek ana femoral veni oluşturur ve ligamentum inguinale seviyesinden itibaren v. iliaca externa ismini alır. V. iliaca eksterna yukarıya doğru yükselir ve articulatio sacro-iliaca hizasında v.iliaca interna ile birleşerek ana iliyak veni oluşturur.



**Şekil 1.** Yüzeysel, derin ve perforan venlerin birbirleriyle olan ilişkileri ve kas kontraksiyonu sırasında kanın akışına göre kapakçıkların pozisyonu (Köpf-Maier, 2000).

## 2.2. Derin Ven Trombozu

Derin ven trombozu klasik olarak alt ekstremitte ve üst ekstremitte derin venlerinin trombüsü olarak tanımlanabilir. Sadece baldır venleri tutulmuş ise distal DVT, popliteal ven ve proksimalindeki venlerin tutulumu ise proksimal DVT olarak tanımlanır. Semptomatik hastaların sadece %20'sinde izole baldır ven trombozu tespit edilir. Bunlarda ancak %20-30'u proksimal venöz sisteme doğru ilerler (Scarvelis ve Wells, 2006). DVT tedavi edilmeyip doğal gidişatına bırakılırsa, ölümcül bir komplikasyon olan PE ve uzun dönemde ise hastayı mağdur eden postflebitik sendrom ve pulmoner hipertansiyon gelişimine neden olabilir (Arcelus ve ark., 2003). Erken dönem çalışmalarda DVT ve pulmoner tromboembolizm (PTE) ayrı birer antite olarak ele alınmış olsa da, son zamanlardaki epidemiyolojik çalışmaların önemli bir kısmında PTE ve DVT tek bir klinikopatolojik antite olarak da kabul edilerek ele alınmıştır (Metintaş, 2002).

İlk venöz tromboz 1644'te Schenk tarafından inferior vena kava da oklüzyon olarak bildirilmiştir. Wisenam 1676'da PTE'yi, Hunter ise flebotrombozu tanımlamıştır. Ancak bunların arasındaki ilişkiyi ilk fark eden 1846'da Virchow olmuştur. Homans 1934'te alt ekstremitte derin venlerinde tromboz insidansının yüksekliğini fark ederek, stazın bu venlerde tromboz gelişmesinde önemli bir faktör olduğunu belirtmiştir. Herparinin de 1937 yılında klinik uygulamaya girmesiyle DVT ve komplikasyonların tedavisinde bir dönüm noktası olmuştur (Balcı ve Hazinedaroğlu, 2003).

### 2.2.1. Derin ven trombozunda epidemiyoloji

Venöz tromboembolizm öldürebilir olduğu gibi önlenabilir de bir hastalıktır. VTE klinikte DVT ve PE şeklinde karşımıza çıkar. VTE özellikle cerrahi ve travma hastalarında mortalite ve morbiditeyi etkileyen önemli bir nedendir (Sarçgül ve Tanyeli, 2007; Kepenekçi ve ark., 2003). VTE başlığı altında ilk karşımıza çıkan DVT'yi önemli bir hastalık yapan en büyük sebep kendi kliniğinden çok yol açtığı komplikasyonlardır. Anamnez ve fizik muayeneye dayanarak konulan DVT tanısı %50 oranında gerçeği yansıtabilmektedir. Bu yüzden tanıda biyokimyasal ve radyolojik tetkikler önemli rol oynar. Klinik tanının güvenilirliğinin düşük olması nedeniyle ileri görüntüleme yöntemleri gerekmesi insidansın standart toplum taramalarıyla kolaylıkla saptanmasını

engellemektedir. Son zamanlarda tamamlanan 5 yıl süreli retrospektif bir çalışmanın sonuçlarına göre hastanede yapılan bütün otopsilerin %10'unda ölüm nedeni PE'dir ve otopsilerin %83'ünde DVT bulunmuştur. Demek ki gerçek VTE insidansı klinik olarak tanı koyduğumuzdan çok daha yüksektir. Yurtdışında yapılan istatistiksel epidemiyolojik çalışmalarda yıllık DVT sıklığı yılda 100 bin kişinin 160'unda, PE'nin ise 100 bin kişinin 60'unda görüldüğü bildirilmiştir. Bu istatistikler son 20 yıldır ortaya çıkan tedavi ve korunma yöntemlerine rağmen fazla değişmemiştir (Kurtoğlu ve ark., 2006). Ülkemizde VTE insidansı ile ilgili yapılmış yaygın bir araştırma yoktur. Buna karşılık uluslararası literatürden yapılan projeksiyonla yıllık hasta sayısının yaklaşık 41.000 olduğu tahmin edilebilir. 2015 yılında 40 yaşın altındaki ülke nüfusunda önemli bir değişiklik olması beklenmiyorken, 40 yaşın üzerindeki nüfusta %17'lik bir artış öngörülmektedir. Buna göre 2015 yılında VTE olgularının %13 artması beklenmektedir (Arseven ve ark., 2010).

### **2.2.2. Derin ven trombozunda tanı**

Klinik olarak DVT tanısı almış olan hastalarda yapılan flebografik çalışmalarda, hastaların ancak %46-62'sinin venlerinde trombus bulunmuştur. Semptomlar ve bulgular az olduğunda, tanı hataları %80'lere kadar çıkmaktadır. Klinik olarak tanıdaki zorlukların birçok nedeni bulunmaktadır. Bunun ilk nedenlerinden birisi, şikayetlerin belirsizliği, hikayenin zayıflığı ve semptomların spesifik olmayışıdır. Fizik muayene bulguları da çok sili olursa diğer patolojik durumları taklit edebilir. Ayrıca palpasyon ile arterlerden farklı olarak derin venlerden bilgi alabilmek imkânsızdır. Palpasyonla ancak yüzeysel venlerdeki tıkanıklıklar anlaşılabilir.

**Klinik Değerlendirilme:** İyi bir klinik değerlendirme hastadaki semptom ve bulguların dikkatlice incelenmesi ve venöz tromboz için risk faktörlerinin ortaya konmasını içerir. İyi bir anamnez alınmalı, muhtemel risk faktörleri yanında, hastanın ve ailesinin hikâyesi dikkatle sorgulanmalı, sonrasında hastanın semptomları ve muayene bulguları ayırıcı tanılarda göz önüne alınarak değerlendirilmelidir (Wells ve ark., 1995; Kepenekçi ve ark., 2003). Semptom ve bulguların hiç birinin DVT'ye özel olmadığı ve DVT'nin klinik tablosunun pek çok hastalıkla kolaylıkla karışabileceği ve kesin olarak DVT tanısı konulmuş hastaların sadece %40-50'sinin semptomatik olduğu

unutulmamalıdır. DVT'nin kliniği hiçbir bulgunun olmadığı sessiz durumdan venöz gangrene kadar geniş bir perspektifte olabilir. DVT'de en çok görülen semptom ve bulgular; ağrı, şişlik ve derin venler boyunca hassasiyettir.

DVT şüphesi olan olgularda klinik değerlendirme ile olasılık tespiti için değişik skorlama sistemleri yapılmıştır. Bunun içinde en popüler olanı ve aynı zamanda en kolay uygulananı Wells skorlamasıdır. Sekiz tane parametreye birer puan verilmiş, hasta mevcut bulgular ile DVT dışında başka bir hastalık ihtimalinin fazla olması durumunda ise -2 puan ile değerlendirilmiştir. Bu modele göre toplam puan 3 ve üzerindeyse DVT tanısı için yüksek, 1-2 arasında ise orta, 1'den küçükse zayıf bir olasılık söz konusudur (Anands, 1998; Kurtoğlu, 2005; Uncu, 2008) (Tablo 1).

Tablo 1. Derin ven trombozu tanısında Wells klinik skorlaması

| Risk Faktörleri/Bulgular :  | Puan |
|---|------|
| Aktif malignite (tedavi devam eden veya son altı ayda tedavi gören) | 1    |
| İmmobilizasyon (paralizi veya ekstremitenin atele alınması)         | 1    |
| Son 1 ayda major cerrahi veya 3 günden uzun süre yatak istirahatı   | 1    |
| Derin venler üzerinde lokalize hassasiyet                           | 1    |
| Tüm bacakta şişlik  | 1    |
| Baldır çapında karşı tarafa oranla 3cm.den fazla fark               | 1    |
| Gode bakan ödem   | 1    |
| Variköz olmayan belirgin yüzeyel venler                             | 1    |
| DVT dışında başka bir hastalık ihtimalinin fazla olması             | -2   |

Klinik olarak DVT şüphesi olduğunda D-dimer bakılır ve 500µg/L'nin altında ise, DVT tanısından uzaklaşılır. Bu değer üzerinde ise, kesin tanı için venöz doppler incelemesi yapılır. Doppler incelemesi DVT'yi doğrulamıyor, fakat semptom ve klinik bulgular kuvvetle DVT'yi düşündürüyor ise flebografi yapılır. Fakat unutulmamalıdır ki, laboratuvar ve radyolojik tüm yardımcı incelemelere rağmen kesin tanı konamayan %2 oranında DVT hastası vardır (Uncu, 2008).

**Doppler Ultrasonografi:** Ultrasonografi (USG) son yıllarda DVT şüphesi olan hastaların değerlendirilmesinde standart görüntüleme yöntemi olarak kabul görmektedir.



Günümüzde USG uzman kişilerce uygulandığında sağladığı etkin sonuçları, kolay ulaşılabilirliği, uygulamanın kolay olması, hastaya herhangi bir zarar verilmemesi, iyonizan radyasyon kullanılmaması ve non-invaziv olması gibi özellikleri ile venografinin, çeşitli nükleer tıp yöntemlerinin ve empedans pletismografi gibi klasik incelemelerin yerini almıştır. USG venöz tıkanıklık, valvüler yetersizlik ve perforan venler hakkında fikir verir. Fakat baldır venleri için hassasiyeti azdır ve baldır venlerinde kısmi tıkanıklıklar fark edilmeyebilir.

USG pelvik kitle, şiddetli konjestif kalp yetmezliği, hamilelik ve yaygın asit durumlarında yanlış pozitif sonuç verebilir. Venlerin anatomik varyasyonlarında da ven yanlış değerlendirilebilir. İnternal iliak ve profunda femoris için hassas değildir (Kural, 2002; Özdemir, 2008). Rekli doppler ultrasonografinin (RDUS) venografi ile karşılaştırıldığında üstün olduğu bazı durumlar vardır. Safen bileşikteki ve profunda femoris venindeki trombüse daha kolay tanınır. Soleus ve gastrokinemus venlerindeki problemler de RDUS ile daha iyi tanınır.

**Konvensiyonel Venografi (Flebografi):** Alt ekstremitte venöz tromboz olgularında bir zamanlar altın standart olarak kabul edilen bu yöntem, günümüzde ultrasonografi ve özellikle renkli doppler görüntülemenin yaygın olarak kullanılmasıyla popülaritesini kaybetmiştir, sadece bazı seçilmiş olgularda kullanılmaktadır. Venografinin en önemli avantajı venöz anatomisinin ve patolojilerin dökümantasyonunun başarılı olmasıdır. İyonizan radyasyon içermesi, invaziv bir yöntem olması ve kontrast madde kullanımı gereksinimi (özellikle böbrek hastalığı olan olgularda sorun teşkil etmektedir) konvensiyonel venografinin önemli dezavantajları arasında yer almaktadır. Bununla birlikte USG'nin negatif olduğu ve yüksek risk taşıyan olgularda, posttrombotik değişikliklerden şüphelenilen olgularda venografi gerekebilir (Fraser ve Anderson, 2004; Mihmanlı ve Kantarcı, 2007 ).

**D-Dimer plazma konsantrasyonu:** D-Dimer fibrinolizis sırasında oluşan fibrin yıkım ürünlerinden birisidir. Fibrin oluşumunun ve yıkım reaksiyonlarının spesifik belirteci olan D-dimer intravasküler pıhtının indirek belirtecidir. Akut DVT'de D-Dimer konsantrasyonu artarken, normal konsantrasyon akut DVT olmadığında beklenmeli fakat koagülasyon sistemini aktive eden diğer durumlarda artmış konsantrasyon olabileceği unutulmamalıdır. Sağlıklı bireylerde nadiren artan D-dimer, fibrin

oluşumunun ve yıkımının arttığı enfeksiyon, kanser, gebelik, operasyon, kalp ve böbrek yetmezliği, akut koroner sendrom, orak hücre krizlerinde, dissemine intravasküler koagülasyon ve arteriyel hastalıklarda da artmaktadır. Günümüzde kantitatif D-dimer ölçüm yöntemleri yüksek oranda spesifik olmakla birlikte venöz tromboz tanısına çok spesifik değildir. Kantitatif D-dimer sonuçlarının yüksek negatifliğinin prediktif değere sahip olduğu bilinmekte rutinde venöz tromboz tanısını dışlamada kullanılmaktadır ancak tanı koymada etkinliği tartışmalıdır. D-dimer testi distal venöz trombozdan daha fazla olmak üzere proksimal derin ven trombozu için spesifiktir (Uncu ve Güçtekin, 2008). Ayrıca postoperatif tromboz riski olan olgularda profilaksi gerekliliğini saptamak için günümüzde kullanılmaktadır (Kurtoğlu ve ark., 2006).

### **2.2.3. Derin ven trombozunda etiyoloji ve fizyopatolojisi**

Venöz tromboemboli etyolojisinde rol oynayan faktörlerin birçoğu uzun yıllardır bilinmektedir. 1862 yılında Alman bilim adamı Rudolf Virchow VTE etyolojisini açıklayan Virchow triadı olarak isimlendirilen venöz staz, hiperkoagülasyon ve endotel hasarını tanımlamıştır. Bu triad venöz tromboembolinin üç ana sebebi olarak bilinir ve geçerliliğini hala korumaktadır (Heijboer ve ark., 1990; Kurtoğlu ve Öztürk, 2008). Ancak bu mekanizmaların tamamen normal olduğu durumlarda da tromboz gelişebilir (Baykal ve ark., 1999). Bu durum bize venöz tromboembolinin patogenezinin görüldüğünden daha karmaşık ve hem herediter (kalıtsal) hem akkiz (edinsel) risk faktörlerinin etkili olduğu bir hastalık olduğunu gösterir (Kepenekçi ve ark., 2003; Kurtoğlu ve Öztürk, 2008).

**Derin ven trombozunda fizyopatoloji:** Hemostaziste rol alan mekanizmaların arasındaki dengenin bozulması arteriyel ve venöz sistemde trombozise yol açmaktadır. Venöz sistem içerisinde trombüs gelişimine neden olan mekanizmalarla, arteriyel sistem içerisinde trombüs gelişimine neden olan mekanizmalar birbirinden farklıdır. Benzer şekilde bu farklı sistemler içerisinde oluşan trombüslerin içeriğinin de birbirinden farklı olduğu düşünülmektedir. Lümeninden geçen akımın azaldığı ya da hiç akım olmayan arterler içerisinde oluşan trombüs iç içe geçmiş fibrin ve eritrositlerden oluşmuşken, venöz sistem içerisinde oluşan trombüs laminar tarzda uzanır. Bunun baş kısmını

trombositler ve fibrin ağı oluştururken, kuyruk kısmı fibrin ve eritrositlerden oluşur (Balcı ve Hazinederoğlu, 2003).

Günümüzde arteriyel sistem trombozisinde de geçerli olan Virchow triad›, bilgi birikimi arttıkça özellikle de hiperkoagülopati ve endotel değişiklikleri konusunda genişleyerek güncelliğini koruyacaktır. Endotelyal zedelenme, lokal kan akımını ve/veya koagülibiteyi etkileyebildiği gibi, anormal kan akım› da endotelyal zedelenmeye neden olabilir. Görüldüğü gibi bu faktörler birbirinden bağımsız olarak rol oynayabildiği gibi, birlikte trombüs oluşumuna da yol açabilirler. Bunların yanında fibrinolitik mekanizmalarda defekt ya da inhibisyon olmas› trombozis riskini artırır. Venöz trombozis patogenezinin tam olarak anlaşılabilmesi, etkin tedavi seçeneklerinin değerlendirilebilmesi açısından da önemlidir. Venöz trombozis hakkında uzun yıllar merak edilen konu, neden özellikle yatağa bağıml› hastalarda ve özellikle alt ekstremitelerin derin venlerinde ortaya çıktığıdır. Venöz trombozis lokal bir olay mıdır, yoksa sistemik bir hastalığın lokal bulgusu mudur? Bu sorulara cevap verebilmek için damar duvarı, staz, pıhtılaşma faktörleri ve inhibitörleri ile fibrinolitik sistemin etkileri gözden geçirilmelidir (Anadol ve Tatlıcıoğlu, 2000).

**Endotel hasarı (damar duvar değişiklikleri):** Endotel hasar› durumunda, normal endotelden salınarak vazodilatasyon oluşmasını sağlayan NO ve PGI<sub>2</sub> gibi maddeler salınamaz ve vazokonstriksiyon oluşur. Yaralı endotelin altından açığa çıkan subendotelyal kollojen aynı zamanda trombosit aktivasyonunu başlatarak vazokonstrükte olan damar›n daha da daralmasına, yani tromboze olmasına neden olur (Kurtoğlu, 2005; Kurtoğlu ve ark., 2006, Öztürk, 2008). Ven duvar›n›n künt veya penetran travma ile hasar görmesi veya ameliyet sırasında direk hasar görmesi trombüs oluşumuna yol açar. Ameliyat sonrası gelişen VTE'nin araştırılmasında en sık hasar gören venlerin ameliyat alan›ndan uzakta yer alan venler olduğu görülmüştür. Bu olayı açıklamak amacıyla yapılan deneysel çalışmalarda ameliyat bölgesinde oluşan doku hasarı ile histamin ve bradikinin gibi maddelerin açığa çıktığı bu maddelerin venlerde endotel hasarı geliştirdiği gözlenmiştir (Kurtoğlu ve Öztürk, 2000). Vasküler yaralanma, direkt endotelden veya bölgeye gelen aktive monositlerden doku faktörü salınmasına neden olur. Yaralanmayla beraber kan›n subendotelyal tabakaya temas› trombosit adezyonu ve agregasyonu ile sonuçlanır. Koagülasyonun aktivasyonuna ek

olarak doku hasar›, fibrinolizinde bask›lanmas›na yol açar. Bu olaya inflamatuvar sitokinlerin endotelden plazminojen aktivatör inhibitörü-1 sentezini uyarmalar› neden olur. İnflamatuvar sitokinlerin (IL-1, TNF $\alpha$ ) endoteli uyarmas›yla, bu hücreler kontrakte olarak, subendotelyal tabakayı açığa çıkartırlar. Buna Von Willebrand, trombosit aktive edici faktör ve P-selektin salınımı eşlik eder. Endotelin aktivasyonu in vitro olarak lökosit adezyon molekülleri (ICAM,VCAM, E-selektin), sitokinler (IL-1, IL-6, IL-8) monosit kemoatraktan protein ve koagülasyonu başlatan esas molekül olan doku faktörü kodlayan genlerin transkripsiyonunu başlatır (Balcı ve Hazinedaroğlu, 2003).

Anormal hemostazise yol açarak venöz sistemde de trombozise eğilim oluşturan klinik durumlar (ör: antitrombin III, protein C ve S eksikliği gibi genetik anormalliklerde), maligniteler ve otoantikorlar da endotel hücrelerinde hasara neden olurlar (Işıksoy, 2002). Her hangi bir nedenle gelişen endotel hasarı, trombosit aktivasyonuna ve koagülasyona yol açabilir. Vasküler endotelde hasara yol açabilen faktörler Tablo 2’de belirtilmiştir (Balcı ve Hazinedaroğlu, 2003).

Tablo 2. Endotel hasar› yapan faktörler

|                                     |
|-------------------------------------|
| Anoksi                              |
| Mekanik gerilme                     |
| Serbest oksijen radikalleri         |
| Komplemen ve Lökositler             |
| Antikorlar ve sensitize lenfositler |
| İmmun-kompleks                      |
| Endotoksin                          |
| Sitokinler (IL-1, TNF $\alpha$ )    |
| Serotonin ve histamin               |
| Trombin                             |

IL; interlökin, TNF; Tümör Nekrozis Faktör (Balcı ve Hazinederoğlu, 2003)

**Staz:** Staz veya alt ekstremitenin derin venlerinde kan ak›m›n›n bozulmas›, belki de venöz trombozun tetiğini çeken en önemli olaylardan biridir (Anadol ve Tatlıcıoğlu, 2000). Ancak tek başına trombogenez için yeterli sebep değildir. Buna rağmen çoğu

vakada venöz trombüsün venöz akımın yavaş olduğu baldır venlerinde veya venöz pakelerde geliştiği gözlenmiştir. Çoğu trombüsün gelişmesinde anahtar olay trombosit agregasyonu ve fibrin formasyonuna yol açan trombin oluşmasıdır. Venöz trombozun oluşumunu açıklayan iki teori vardır:

1. Stazın olduğu yerde trombin bir enzim olarak ortaya çıkar, bunun sonucunda da trombosit agregasyonu ve fibrin birikimi olur. Bu teoride, trombogeneziste tetiği çeken faktörün damar duvar hasarı değil, trombin enzimi ve onun prekürsörleri olduğu düşünülür.

2. Damar duvarı hasarı subendotelyal kollojenin açığa çıkmasına ve trombosit adezyonuna yol açar. Otopsi bulguları, damar duvarı hasarının venöz trombozis patogeneğinde çok önemli rol oynamadığını gösterse de, endotel hücre kültürlerinde yapılan çalışmalar, trombin konsantrasyonunun düşük olması halinde de endotel hasarı bulgularına rastlanmıştır (Anadol ve Tatlıcıoğlu, 2000).

Thomas ve ark. (1982) tavşanlarda yaptıkları bir çalışmada, trombinin sağlam endoteli zedelediği, venöz trombozun ven duvarında trombinin neden olduğu bir hasar sonucunda değil, trombinin trombositler ve fibrinojen üzerine direk etkisiyle oluştuğu sonucuna varmışlardır. Malone'nin (1977) yaptığı çalışmada azalmış kan akımı veya stazın metabolik kayıplar nedeniyle venöz endotelde hasara yol açtığı bildirilmiştir. Lökositler ve trombositler fagositik ve onarıcı özellikleriyle bu hasarlı endotele yapışırlar. Stewart ve ark. (1974) tıkalı bir venin komşuluğundaki dokulara deneysel olarak cerrahi bir travma uyguladığında, ven duvarına lökosit invazyonu olduğunu, bunun da subendotelyal yüzeyle karşılaştıkları için endotelde dökülmeye sebep olduğunu göstermişlerdir. Bu araştırmacılar, venöz endotelde lökositlere bağlı olarak gelişen bu hasarın insanlarda derin ven trombozuna hazırlayıcı bir faktör olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Kapak diplerinde yavaş türbülant akım lokal staz alanları oluşturur ve bu bölgelerde oluşan trombüs ilerleyerek VTE ve PE'ye yol açar (Alaçayır ve Tüzüner, 2000; Kurtoğlu ve Öztürk, 2008). Trombüsün alt ekstremitelerde operasyon sonrasında veya hemen sonrasında başlıyor olması, intravasküler koagülasyondan sorumlu faktörlerin maksimum etkilerini o bölgede ve tam o anda gösterdiklerini düşündürmektedir

(Anadol ve Tatlıcıoğlu, 2000). Yavaşlamış venöz kan akımı durumunda, bir yandan hipoksi oluşarak ven duvarından kana plazminojen aktivatörleri devamlı salgılanır, diğer yandan staz olan bölgede hemokonsantrasyon ve venöz intima ile teması devam eder ve dolayısı ile harcanmaya bağlı plazminojen aktivatör yetmezliği olur; fibrinolitik aktivite azalır ve tromboza eğilim artar (Kurtoğlu ve ark., 2006).

Venöz staza yol açan risk faktörleri: Cerrahi, obezite, paralizisi, konjestif kalp yetersizliği, kor pulmonale, uzun süreli immobilizasyon (uzun süreli yolculuklar, her türlü yolculukta 2,5 saatin üzerinde hareketsizlik), gebelik, akut myokart infarktüsü, geçirilmiş VTE hikâyesi, ileri yaş olarak sayılabilir (Kurtoğlu ve Öztürk, 2008). Venöz staza neden olan faktörler olarak immobilitate, artmış venöz basınç, artmış kan viskozitesi ve venöz dilatasyon da sayılabilir (Balçık ve ark., 2003). Venöz stazın klinikte sık rastlanılan bir nedeni santral venöz basınç artışıdır. Bu durum kalp yetmezliği hastalarında DVT prevalansının yüksek olmasına açıklayabilir.

**Hiperkoagülabilitate:** Kanın içinde pıhtılaşma mekanizması olarak bilinen bir sistem bulunur. Pıhtılaşma mekanizmasının birinci görevi akan kanı damar içinde tutmak ve bir diğer fonksiyonu pıhtı oluşturarak kanamayı durdurmaktır. Normal koşullar altında kanın pıhtılaşma fonksiyonu baskın değildir (Çelebi, 2004). Hemostazda endotel, trombositler, koagülasyon faktörleri, plazmin, koagülasyon ve fibrinolizin inhibitörleri ve hemorajik faktörler belirli roller oynamakta ve bir denge içinde bulunmaktadır. Hemostazda bu dengenin doğal antikoagülanların eksikliği veya fibrinoliz defekti nedeniyle bozulması hiperkoagülabilitateye yol açabilmektedir. Tromboz riskinin artması veya pıhtılaşmaya eğilim trombofili olarak da bilinmektedir (Sucak ve Haznedar, 2000). Tekrarlayan trombüs öyküsü bulunanlar, 45 yaşından önce tromboz geçirmiş olanlar, atipik bölgelerde tromboz belirlenenler (batın içi) ve tekrarlayan abortus hikâyesi bulunanlar koagülasyon artışı (hiperkoagülabilitate) açısından incelenmelidir. DVT hastasının aile sorgulaması da ayrıca çok önemlidir. Ailesinde DVT hikâyesi tespit edilen hastalarda hiperkoagülabilitate sorgulaması ve incelemesi zorunlu olur (Uncu, 2008). Kişinin tromboza eğilim derecesi, gerek oluşmuş bir VTE'nin tedavisinde gerekse VTE'den korunma algoritmasında bizi yönlendirmektedir. Konunun daha iyi anlaşılması için trombofiliyi herediter ve edinsel trombofili alt başlıkları ile inceleyeceğiz (Tablo3).

Tablo 3. Hiperkoagülopatiler

| Hereditör | Sık  | Nadir  |
|-----------|--|--|
|           | -Faktör V Leiden mutasyonu<br>-Protrombin gen mutasyonu<br>(G20210A)   | -Antitrombin III eksikliği<br>-Protein C eksikliği<br>-Protein S eksikliği<br>-Disfibrinojenemi<br>-Yüksek pıhtılaşma faktörleri<br>(VIII, IX, XI) |
| Edinsel   | Sık  | Nadir  |
|           | İleri yaş<br>Cerrahi ve travma<br>İmmobilizasyon<br>Geçirilmiş venöz tromboz<br>Antifosfolipid sendromu<br>Myeloproliferatif hastalıklar<br>Trousseau Sendromu |  |

(Genç, 2008)

**Kalıtsal trombofili:** Pıhtılaşma sistemini kontrol altında tutan doğal mekanizmaların bozukluğudur ve çoğunlukla venöz sistemde, nadiren de arteriyel sistemde tromboza eğilimi artırır. İlk olarak 1965’de antitrombin III eksikliğinin tarif edilmesi ile saptanan kalıtsal trombofili nedenleri arasında günümüze kadar birçok mutasyon tipi daha eklenmiştir. Ancak gene de bilinen bu mutasyon tipleri ile spontan VTE vakalarının ancak % 50-55 kadarı açıklanabilmektedir (Kurtoğlu ve ark., 2006). Yapılan çalışmalarda en sık kalıtsal risk faktörü faktör V Leiden mutasyonudur (%0-24,3), ardından protrombin gen mutasyonu (G20210A) gelir (%0-14,2) (Arseven ve ark., 2010). Aşağıda sayılan kalıtsal trombofili durumları toplumda az görülse de VTE’li hastaların %25-50’inde bu genetik metabolik durumların bulunduğu bildirilmiştir (Ulukent ve Acun, 2003). Ayrıca kalıtsal trombofili faktörlerinin toplumdaki prevalans bölgesel farklar göstermektedir. Günümüzde yeni belirlenen gen değişimlerinin ve bu genler arası etkileşimlerin tromboz oluşumundaki rolünün

aydınlatılmasına çalışılmaktadır. Hemen her yaşta görülebilen ve multifaktöryal bir hastalık ve önemli bir sağlık problemi olan tromboembolik hastalıkların patogenezinin yönelik yapılan gen değişimi incelemelerinin yeni koruyucu tedavi yöntemlerinin ortaya çıkmasında önemli katkısının olabileceği düşünülmektedir. Ancak bu genetik yatkınlıkların patogenezdaki rolü, bu mutasyonların kimde ne şekilde taranması gerektiği ve bu kalıtsal hastalıklara sahip bireylerin ne şekilde izlenmesi net değildir (Öner ve ark., 2003). Yine de, günümüz pratiğinde yapılan araştırmalar sonucunda görülmüştür ki, her spontan VTE vakasında bu genetik mutasyonların araştırılması ve ona göre tedavinin planlanması gerekmektedir (Kurtoğlu ve ark., 2006). Kalıtsal trombofili nedenlerini kısaca irdelersek:

**Aktive protein C direnci (Faktör V Leiden [ G1691A] mutasyonu):** Dahlback 1993'te klinik hiperkoagubilitesi olanlarda APC eklenmesi sonucu aktive parsiyel tromboplastin zamanının uzamadığını fark etmiştir. APC rezistansı olarak adlandırılan bu durumun daha sonra Faktör V geninde basit bir nokta mutasyon ( 1691 nukleotid pozisyonunda guanin yerine adenin geçmesi ile yani CGA'dan CAA'ya dönüşüm) ile homozigot veya heterozigot FVL veya FVQ506 olarak isimlendirilen yeni bir proteinin sentezinin neden olduğu bildirilmiştir. Bu anormal proteinde arjinin ile yer değiştirmiş bir glutamin vardır (Joffe ve Goldhaber, 2002; Öner ve ark., 2003; Demirel ve ark., 2003; Kalkanlı, 2001). Böylece normalde önemli bir koagülasyon faktörü olan Faktör V'in prokoagülan etkinliği APC tarafından baskılanamaz.

Heterozigot faktör V Leiden polimorfizmi tüm venöz tromboz vakalarının %10'nundan, ailevi tromboz vakalarının %50'sinden sorumludur (Uncu ve Güçtekin, 2008). Birçok çalışmada DVT geçiren olgularda, mutasyon taşıyanlarda, taşımayanlara oranla tekrarlama riskinin 2,4-4,1 kat fazla olduğu tespit edilmiştir. Aile fertlerinin test ile değerlendirilmesinin gerekliliği tartışmalı olsa da, Noboa ve ark. (2008) FVL'li olguların yakınlıklarının %7-12'sinde, FVL mutasyonu taşımayan venöz trombozlu olguların yakınlıklarında ise %2-3'ünde venöz trombozun bulunduğunu bildirmişlerdir. Ailevi artmış koagülasyon yatkınlığı düşünüldüğünde olgularda yaşam boyu tekrarlayan ve hayati tehlike içeren VTE riski bulunur (Ata ve ark., 2009). Yine kazanılmış APC rezistans fenomenini gebelik, oral kontroseptifler, yüksek faktör VIII düzeyleri ve lupus antikoagülanlar sonucunda görülmektedir.



**Protrombin G20210A:** DVT hastalarında hiperkoagübiliteye sebep olan risk faktörleri arasında rastlanma sıklığına göre ikinci sırada, %6 oranı ile protrombin G20210A gelir (Uncu, 2008). Protrombin G20210A mutasyonu 1996 yılında trombotik epizodları olan ailelerdeki aday genlerin araştırılması esnasında bulunmuştur. Bu çalışmada olguların %1'inde 3'-untranslated bölgesinde 20210A pozisyonunda bir nükleotidde değişiklik (guanin yerini adenin almıştır; G→A) saptandı. Bu oran 10 sağlıklı bireyde 1 bulunmuştur (Öner ve ark., 2003; Çelebi, 2004). Protrombinin trombozu nasıl tetiklediği anlaşılmamakla birlikte, in vivo ve in vitro çalışmalar trombin ve fazla fibrin oluşumu ile olabileceğini göstermektedir (Uncu ve Güçtekin, 2008). Beyaz ırkta protrombin ve Faktör V Leiden mutasyonunun yüksek frekansta görülmesi nedeni ile kombine halde bulunması nadir değildir. Yapılan çalışmalar ile semptomatik Faktör V Leiden taşıyıcılarının %1-10'nunda mutant protrombin geni de taşıdığını ortaya koymuştur. Neden bu iki faktörün, özellikle de coğrafi dağılımları farklıken, beklenenden daha sık birlikte olduğu bilinmemektedir (Öner ve ark., 2003). Başlıca klinik bulgusu VTE'dir. Ayrıca, arteriyel trombozla birlikte olabilir. Arteriyel tromboz, myokard infarktüsü (MI), serebral arter ve periferik arter tıkaçıcı hastalığına da yol açabilir.

**Antitrombin III eksikliği:** Antitrombin (AT) III, aktive olan pıhtılaşma faktörlerinin en önemli fizyolojik inhibitörüdür. Faktör Xa, Faktör IXa, Faktör XIa, Faktör XII ve Faktör II (Trombin) ile inaktif kompleksler yapar (Uncu ve Güçtekin, 2008; Sucak ve Haznedar, 2000). AT-III, Faktör VIIa-doku faktörü kompleksinin ayrılmasını hızlandırarak Faktör VIIa'nın fizyolojik inhibisyonunda da önemli rol oynar (Baykal ve ark., 1999). Heparininde trombin inhibisyonu yapabilmesi için ortamda muhakkak AT III'e ihtiyacı vardır. Aslında heparin AT III'ün bir kofaktörüdür ve AT III olmadan trombin inhibisyonu sağlayamaz. AT III eksikliği konjenital ya da edinsel olabilir. Eksikliği veya fonksiyonel anormalliyi ise tromboemboli için riski arttırmıştır.

**Protein C eksikliği:** Vitamin K'ya bağımlı bir koagülasyon inhibitörüdür. Trombinin endotel reseptörü trombomodüline bağlanması ile aktifleşir. Aktive protein C (APC), faktör Va ve faktör VIIIa'yı inaktive eder. Geçiş otozomal dominanttır. Genel popülasyonda sıklığı 1/500-1/700 arasındadır. Çalışmalarda PC geninde yaklaşık 160 farklı mutasyon sebebiyle protein C'nin yokluğu veya defektif sentezi olduğu

gösterilmiştir. Heterozigot protein C eksikliği sıklıkla DVT ve daha az sıklıkla PE, tromboflebit ve arteriyal tromboz ile ilişkili iken, bazı heterozigot protein C eksiklikleri asemptomatik olabilir (Uncu ve Güçtekin, 2008). Homozigot tipi hayatla bağdaşmaz ve yenidoğan döneminde purpura fulminansa neden olur. Tromboz sonrası akut dönemde, karaciğer yetersizliğinde, oral antikoagülan kullananlarda, yaygın damar içi pıhtılaşmasında ve antifosfolipid sendromunda edinsel olarak da düşük bulunabilir (Kurtoğlu ve ark., 2006).

**Protein S eksikliği:** Protein S (PS), protein C'nin kofaktörüdür. Bu şekilde antikoagülan etki gösterir. APC'nin antikoagülan etkisini kofaktör aktivite 2-3 kat artırır (Uncu ve Güçtekin, 2008). Bunun dışında protein C bağımsız prokoagülan enzim komplekslerini inhibe eden bir etkiye sahip görünmektedir. Vitamin K bağımlı bir koagülasyon inhibitörü olan protein S, karaciğerde, endotel hücrelerinde ve megakaryositlerde yapılan bir glikoproteindir (Sucak ve Haznedar, 2000). PS geninin ailevi aktarım şekli otozomal dominanttır. Toplumda PS eksikliğinin prevalansı %0,03-0,13 arasındadır. Trombofilisi olan ailelerde ise %6'ya ulaştığı bilinmektedir (Öner ve ark., 2003). 45 yaşın altındaki DVT'de % 10'nunun nedeni protein S eksikliğidir. Protein S eksikliğini AT III ve protein C eksikliğinden ayıran temel özellik arteriyal trombozlara da bir yatkınlık sağlamasıdır. Ayrıca, kazanılmış protein S eksikliği DIC, Tip I ve Tip II diabetes mellitus, gebelik, oral kontraseptif kullanımı, karaciğer yetmezliği ve esansiyel trombositemi durumunda görülebilir (Sucak ve Haznedar, 2000).

#### **2.2.4. Derin ven trombozunda risk faktörleri**

DVT risk açısından kalıtsal ve kazanılmış risk faktörleri arasındaki çoklu etkileşimlerden kaynaklanan kompleks bir hastalıktır (Balcı ve ark., 2003). VTE olgularının %75'inde damar içi pıhtılaşmaya yol açan damar endotel hasarı, hiperkoagübilite veya staz gibi faktörlerden en az birine neden olabilen edinsel ve/veya kalıtsal risk faktörleri saptanır (Bayrak ve ark., 2009). Kalıtsal risk faktörü taşıyan trombozlu hastaların %50'sine cerrahi, uzamış yatak istirahati, gebelik veya oral kontraseptif kullanımı gibi kazanılmış risk faktörlerinden biri eşlik etmektedir. Bazı hastalar birden fazla kazanılmış veya kalıtsal risk faktörü taşıyabilirler. Bu durumda

VTE riski ve fatal komplikasyonlar belirgin olarak artar. Herhangi bir risk faktörünün saptanmadığı idiyopatik VTE olgularında nüks olasılığı kazanılmış ve/veya kalıtsal faktör saptananlara göre daha yüksektir (Arseven O ve ark., 2010) (Tablo 4).

Tablo 4. Venöz tromboemboli risk faktörleri

| Genetik risk faktörleri                       | Kazanılmış risk faktörleri                               |
|---|--|
| Antitrombin III eksikliği                     | İleri yaş (>40)  |
| Protein C eksikliği                           | Şişmanlık (>20)  |
| Protein S eksikliği                           | İmmobilizasyon   |
| Aktive protein C rezistans› (Faktör V Leiden) | Uzun süreli seyahat                                      |
| Protrombin G20210A mutasyonu                  | Major cerrahi (pelvik, abdominal, diz, kalça replasman›) |
| Hiperhomosistinemi                            |  |
| Faktör VIII artışı                            | Nefrotik sendrom   |
| Konjenital disfibrijonem                      | Kanser   |
| Antikardiyolipin antikoru                     | Konjestif kalp yetmezliği                                |
| Plazminojen eksikliği                         | Myokard infaktüsü  |
| Faktör VII eksikliği                          | Oral kontraseptif tedavisi                               |
| Faktör IX artışı                              | Santral venöz kateter                                    |
|   | Gebelik/lohusalık  |
|   | Travma   |
|   | Kemoterapi   |

(Arseven O ve ark., 2010; Turpie A GG ve ark., 2002)

### 2.2.5. Derin ven trombozunda profilaksi

Derin ven trombozunda profilaksi, erken tanı ve uygun tedavi tartışılmaz bir öneme sahiptir. Çünkü erken tanı ve tedavi uygulanmayan hastaların ancak çok küçük bir grubu sonraki yaşamlarını sorunsuz olarak sürdürebilmektedirler. Büyük çoğunluk ise ya posttrombofobitik sendrom ya da PE gibi DVT'nin çok ciddi komplikasyonlarıyla yaşamlarını sürdürürler. Kısacası bir kez DVT oluştuğunda bu hastalık kişiye ya tekrarlayarak ya da komplikasyonlarıyla yıllar boyu huzursuz bir yaşam getirebilmektedir. Ancak tüm bu kötümser tabloya karşın bu hastalığın oluşumunu

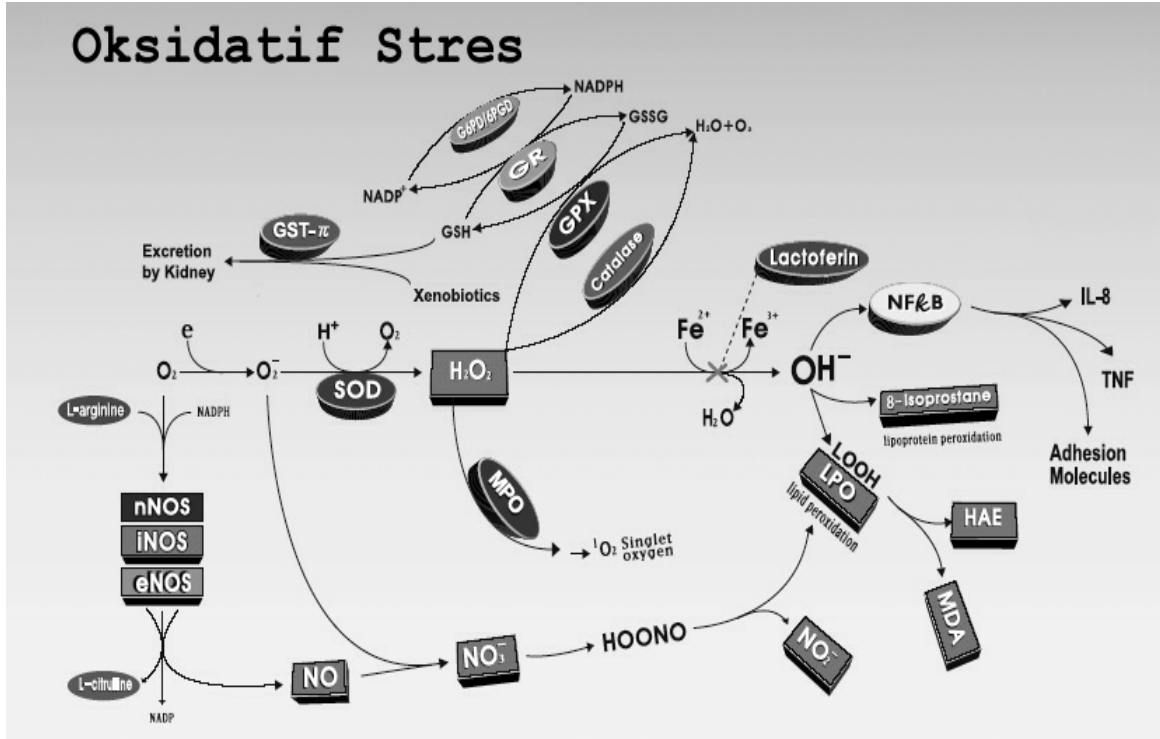
engellemek, engelleyemesek bile erken tan› ve uygun tedaviyle hastay› olas› komplikasyonlardan kurtarmak mümkündür (Gökgöz, 2000).

Proflaksi için risk değerlendirmesi doğru şekilde yapılmalıdır. Uygulanacak ideal farmakolojik proflaksi; etkisini hızlı olarak göstermeli, etkisi hızlı olarak sonlanabilmeli, non toksik olmalı, minimum yan etki göstermeli, doza bağlı etki tahmin edilebilir olmalı, monitorizasyona ihtiyaç duyuyor olmamalı, kolay uygulanabilir olmalı ve ucuz olmalıdır. Mekanik yöntemler mutlaka uygun risk gruplarında farmakolojik tedavi (heparin) ile kombine edilmelidir. Sadece mekanik yöntemlere dayanan profilaksi etkin olamaz (Ekim, 2010). Erken mobilizasyon uygun hastalarda mutlaka teşvik edilmelidir. Proflaksi süresi hastaların risk grubuna göre mutlaka yeterli olmalıdır (Ulukent ve ark., 2003).

### **2.3. Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Sistemi**

#### **2.3.1. Oksidatif stres**

Hücrenel yaşamanın sürekliliği, karmaşık biyokimyasal olayların denge içinde yürümesine bağlıdır. Bu dengeyi bozacak yönde ortaya çıkan endojen ve/veya ekzojen kaynaklı faktörler hücre hasarına yol açarlar. Bunlar içinde oksidatif stres farklı patolojik durumların ortaya çıkması nedeniyle gittikçe önem kazanmakta ve araştırmacıları bu yönde araştırma yapmaya yöneltmektedir (Aksoy, 2002). Normal fizyolojik koşullarda, aerobik metabolizmanın sonucu olarak super oksit anyonu ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hidroksil radikali ( $HO^•$ ), hipokloröz asit (HOCl) ve lipid radikalleri gibi oksidan ürünler oluşur (Şekil 2). Aynı zamanda, reaktif oksijen türleri (ROT) dediğimiz bu moleküller, antioksidan (oksidan hasarı nötralize edici ve böylece önleyici) savunma sistemi tarafından dengelenirler. Patolojik durumlarda ise, ROT'un rölatif bir fazlalığı mevcut olabilir. Bu dengenin oksidasyon lehine saptması "oksidatif stres" olarak adlandırılır. Bu oksidan moleküller, hücre ve doku fonksiyonları üzerine zararlı etkilere neden olurlar (Storz ve Imaly, 1999; Madamanchi ve ark., 2005; Önder ve Barutçuoğlu, 2007).



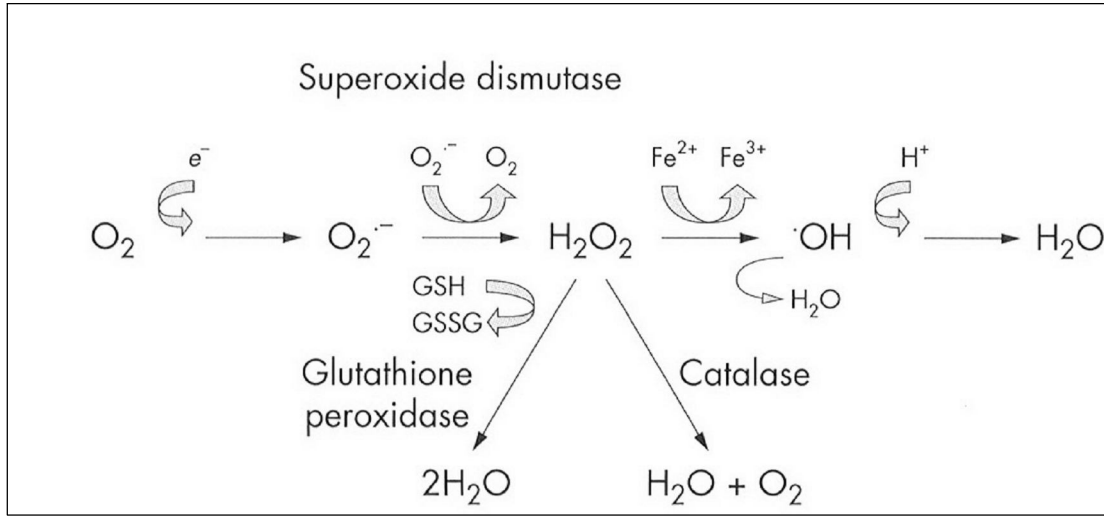
Şekil 2. Oksidatif stres (Altan ve ark., 2006)

Aynı zamanda son çalışmalar göstermiştir ki, bu oksidanların etkisi reaktif nitrojen ara maddeleri (NO), peroksinitrit (HOONO) ve nitrosotiyoller (RSNO) tarafından oluşturulan hasar ile bütünüyle bağlantılıdır (Storz ve Imały, 1999).

### 2.3.1.1. Serbest radikaller

**Tarihçesi:** Serbest radikallerin toksik ajanlar olduğu düşüncesi ilk defa Rebecca Gershan ve ark. tarafından 1954 yılında ortaya atılmıştır. Mitokondrial solunum zincirinin, hücredeki oksijen radikallerinin esas kaynağı olduğu ve tüketilen oksijenin yaklaşık %1-4'lük kısmının serbest radikallere dönüştüğü ise ancak 1988 yılında kesinlik kazanmıştır. NO'nin 1987 yılında keşfi ve aynı yıl "*endothelium-derived relaxing factor (EDRF)*"ün gerçekte NO olduğunun saptanmasıyla, serbest radikallerinin toksik etkilerinin ötesinde hücredeki sinyal transdüksiyon olayında ikincil haberci olarak da rol oynadığı görüşü araştırmacılar arasında kesinlik kazanmıştır (Çakatay ve Kayal, 2006).

**Tanım:** Serbest radikaller için birçok tanım yapılmasına rağmen otoritelerin üzerinde birleştiği tanımsa; bir serbest radikalın moleküler ya da atomik yörüngesinde bulunan ve genelde çok reaktif olan bir veya daha fazla eşleşmemiş (çiftleşmemiş) elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanır (Altan ve ark., 2006; Irmak, 2008) (Şekil 3).



**Şekil 3.** Reaktif oksijen türlerinin üretimi.

Moleküler oksijen ( $O_2$ ), bozulmuş bir elektron ( $e^-$ ) ile superoksit anyonunu ( $O_2^{\cdot-}$ ) şekillendirmek için reaksiyona girer. Süperoksit süperoksit dismutaz enzimi tarafından hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) dönüştürülür. Hidrojen peroksit epeyce reaktif hidroksil radikali ( $\cdot OH$ ) spontan olarak dönüşüme uğrar. Alternatif olarak, o ya glutatyon peoksidaz ya da katalaz vasıtasıyla su ve oksijene detoksifiye olabilir. (GSH, indirgenmiş glutatyon; GSSG, yükseltgenmiş glutatyon) (Nedeljkovic ve ark., 2003)

Organik veya inorganik molekül olabilen serbest radikaller, pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötr halde bulunabilirler. Bu eşleşmemiş elektron serbest radikallere büyük bir reaktivlik kazandırarak protein, lipid, DNA ve nükleotid koenzimler gibi birçok biyolojik materyale zarar vermelerine neden olmaktadır. Bu zararın yaşanmayı teşvik ettiği ve ayrıca kalp-damar hastalıkları, çeşitli kanser türleri, katarakt, bağışıklık sisteminde zayıflama, sinir sistemi dejeneratif hastalıkları gibi pek çok hastalığa neden olduğuna dair bilgiler bulunmaktadır (Koca ve Karadeniz, 2003; Tümay, 2010).

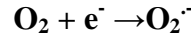
Biyolojik sistemlerde, serbest radikallerin başlıca kaynağı moleküler oksijen olup, oldukça dayanıksız ve aynı zamanda reaktiftir. Bu yüzden serbest radikal

denilince serbest oksijen radikalleri, daha genel bir tabirle reaktif oksijen türleri (ROT) akla gelmektedir. Elektron transferi, enerji üretimi, bağışıklıkla ilgili nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizmalarının devamı için gerekli olsa da, serbest radikallerin fazla üretimi doku hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır.

### 2.3.1.2. Serbest radikal oluşturan başlıca mekanizmalar

Serbest Radikallerin fizyolojik koşullar altında oluşturulduğu pek çok mekanizma ve metabolik yol vardır. Bunlar:

1. Mitokondriyal elektron transport zinciri (ETZ): Normal elektron akışı esnasında en son oluşan ürün su (H<sub>2</sub>O) dur. Hâlbuki elektronların elektron transport zincirinden (ETZ) kaçıp moleküler oksijenle direkt olarak reaksiyona girmesi durumunda superoksit radikalini (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) oluşturur.



ETZ tarafından elektronların %98'inden daha fazlasının transferi ATP'nin üretimi ile ilgilidir. Sadece %1-2'si O<sub>2</sub><sup>•-</sup> oluşturmak için dışarı sızar. Süperoksit radikallerinin üretimi ve salınımı iç mitokondri membranından sitozolik tarafa doğru olur ve bu mangan SOD (MnSOD/SOD<sub>2</sub>) tarafından temizlenir. Ancak, patofizyolojik durumlarda mitokondriyal oksidatif fosforilasyon esnasında, artmış O<sub>2</sub><sup>•-</sup> üretimine yol açan eşleşmemiş ETZ olabilir (Madamanchi ve ark., 2004). Mitokondriyal DNA birkaç faktörden dolayı oksidatif hasara yatkındır. Bunlar mitokondriyal iç membranda ROT üretim kaynakları ile MtDNA'nın yakınlığı, histon-benzeri proteinlerin koruyuculuğunun eksikliği ve zayıf DNA hasar-tamir aktivitesini içerir (Clayton, 1984). MtDNA hasarı, sonuç olarak azalmış MtDNA transkripsiyonuna neden olur ve sonuçta fonksiyon kaybı oluşur (Wallace, 1999).

2. Mikrozomal ETZ: Endoplazmik retikulumda özellikle ksenobiyotiklerin ve diğer endojen maddelerin metabolizması esnasında yan ürün olarak serbest radikaller üretilir. Burada elektronların kaçak yaptığı en önemli yapı NADPH sitokrom-P<sub>450</sub> redüktaz enzimidir.

3. Karma fonksiyonlu oksidazlar; amino asit oksidaz, sitokrom oksidaz, monoamin oksidazlar, ksantin oksidaz en önemlileridir. Bunlardan özellikle ksantin oksidaz bazı özel durumlarda fazla miktarda  $O_2^{\cdot-}$  üretir.

**Ksantin oksidaz (XOD):** Canlı sistemde ROT oluşturan başlıca enzimatik kaynaklardan birisidir. XOD, purin metabolizmasında bir ara bileşik olan hipoksantini önce ksantine daha sonra da ürik aside okside ederken  $NAD^+$  ye elektron transferini gerçekleştiren bir dehidrogenaz enzimi olmasına karşın, dokuda belli stres koşulları altında (hipoksik şartlarda) tiyol gruplarını okside eden ve proteolizise neden olan bir oksidaz enzimine dönüşür. XOD'in faaliyeti sonucunda süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit radikalleri oluşmaktadır (Madamanchi ve ark., 2005).

4. Solunum patlaması: Nötrofiller fagositoz esnasında, membran ve sitoplazmalarında bulundukları NADPH oksidaz ve myeloperoksidaz enzimleri ile hem serbest oksijen radikalleri hem de aşırı okside edici ajanları üreterek karşılaştıkları virus, bakteri, mantar gibi ajan patojenleri yok ederler. Bu işlemler esnasında hem ana hem de ara ürün olarak bol miktarda ROT oluşur. Damar yatağında ROT'ların temel biyokimyasal kaynağı özellikle de süperoksitlerin, membran ilişkili nikotin amid dinükleotid (fosfat) (NADH/NADPH) oksidaz enzim kompleksi olduğu görülür. Bu sistem bir elektron donörü olarak NADPH'yi kullanarak, moleküler oksijenin süperoksidi üretmek için indirgenmesini katalizler.



Canlı sistemde güçlü oksidan kaynaklardan birisi de, hidrojen peroksit tarafından klorid iyonlarının oksidasyonu yoluyla hipoklorik asit üretimini katalizleyen “nötrofilik myeloperoksidaz” enzimidir. Bu reaksiyonun toksisitesi savunma sisteminde bakterilerin öldürülmesine katkıda bulunur (Koca ve Karadeniz, 2003).

5. Prostaglandinlerin sentezi: Prostaglandinlerin sentez edildiği lipooksijenaz ve siklooksijenaz ana metabolik yollarında farklı basamaklarda ROT üretilir. Bunların dışında ayrıca bazı küçük moleküllerin oto-oksidasyonu (tiyoller, katekolaminler, hidrokinonlar, flavinler, antibiyotikler gibi) ROT oluşumuna katkıda bulunmaktadır.



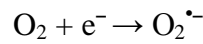
6. Son olarak bireylerin maruz kaldığı bazı eksojen ajanlar da vucutta ROT oluşumuna sebep olmaktadır. Bunlar (stres, radyasyon, antineoplastik ajanlar, ksenobiyotikler, bağışıklık yapan bazı maddeler, hiperoksi, pestisitler, aromatik hidrokarbonlar, anastezik maddeler, sigara dumanı vb.) serbest radikallerin eksojen kaynakları olarak adlandırılmaktadır (Ames ve ark., 1993).

**Hücrede serbest radikallerin oluşum yerleri:** Serbest radikaller vücut dışından gelebileceği gibi, insan metabolizmasının doğal bir sonucu olarak da oluşabilmektedir. Serbest radikal üretim alanı sitozol içindeki alanlar kadar mitokondri, lizozomlar, peroksizomlar ve nükleer, endoplazmik retikül ve plazma membranları dahil tüm sellüler bileşenleri de kapsar (Machuga ve Bendich, 1987).

### **2.3.1.3. Biyolojik sistemlerde oluşan serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri**

Organizmada  $O_2^-$  ve  $HO^•$  gibi oksijen serbest radikallerinin dışında  $H_2O_2$  ve HOCL gibi radikal olmayan, bununla birlikte serbest radikal yapabilme potansiyeline sahip zararlı oksijen türleri de oluşmaktadır. Bu nedenle, bu molekülleri de içine alan ROT ifadesini kullanmak daha cazip olabilir.

**Süperoksit Radikali ( $O_2^-$ ):** Süperoksit radikali hemen hemen tüm aerobik hücrelerde, moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur:

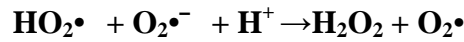
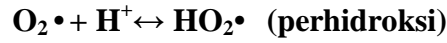


Endojen oksijen radikallerinin en büyük kaynağı olan süperoksit radikali hem oksitleyici, hem de redükleyici özelliğe sahiptir. Süperoksit radikali, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonları indirgemesi nedeniyle çok önemlidir (Bilge, 2010). Süperoksit radikali mitokondriyal ETZ'de redükte  $NADH$ 'nin okside  $NAD^+$ 'ye okside olması ile üretilir. Ayrıca pek çok oksidaz tarafından da üretilir. Yine nötrofil ve makrofaj gibi fagositik hücreler tarafından özellikle bakteriyel enfeksiyonlarda bakterinin öldürülmesi için oksijen bağımlı mekanizmalar myeloperoksidaz (MPO) sistemini ve oksijen türevi serbest radikallerin üretimini sağlarlar (Champe ve ark., 2007). İndirgenmiş flavinler (ör. Ksantin oksidazda bulunan)

moleküler oksijen tarafından tek değerli olarak yeniden okside edildiğinde  $O_2^{\bullet-}$  oluşur (Murray ve ark., 2004).



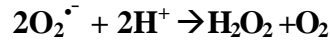
Kendisi bir serbest radikal olmakla birlikte, direk olarak fazla zarar veremez. Bu radikal anyonunun asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksit genel olarak anyon şeklinde tanımlandığı halde, ortamın pH'sına bağlı olarak protonlanarak katyon haline dönüşebilir. Bu durumda perhidroksi radikali ( $HO_2^{\bullet}$ ) ismini alır. Süperoksit radikali ile perhidroksi radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri okside olur diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda moleküler oksijen ve hidrojen peroksit meydana gelir (Irmak, 2008).



Ya da

Süperoksit radikalının üretimi ile aynı zamanda diğeri daha reaktif ara maddeler  $O_2^{\bullet-}$ 'nin spontan veya enzimatik olarak katalizlenmiş dismutasyonu ile (Lum ve Roebuck, 2001) çevresindeki moleküllerden iki elektron alarak oluşan peroksite, iki proton ile ( $H^+$ ) birleşmesi sonucu hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )'i meydana getirebilir.

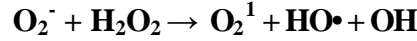
### SOD



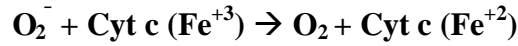
Bu enzim (SOD; süperoksit dismutaz) süperoksit anyonunun ( $O_2^{\bullet-}$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve oksijen dönüşümünü katalize ederek bu radikallerin etkisini azaltmaktadır. Bu olayda SOD enziminin aktif bölgesini oluşturan Zn önemli bir mineraldir (Koca ve Karadeniz, 2003). Görüldüğü kadarıyla, süperoksit dismutazın işlevi, aerobik organizmaları süperoksit potansiyel zararlı etkilerine karşı korumaktır. Enzim hücrenin pek çok farklı bölmelerinde bulunur. Sitosolik enzim, birbirine benzer iki alt birimden oluşmuş olup bunların her biri, bir ekivalan  $Cu^{+2}$  ve  $Zn^{+2}$  içerirken mitokondriyal enzim, bakterilerde bulunan enzime benzer şekilde  $Mn^{+2}$  içerir. Dismutaz bütün temel aerobik dokularda bulunur (Kumar ve ark., 2004).

Ya da

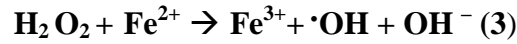
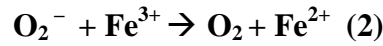
Hidrojen peroksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali (HO•) ve yanında singlet oksijeni (O<sub>2</sub><sup>1</sup>)'i meydana getirebilir (Irmak, 2008).



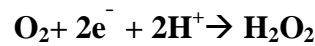
Superoksit okside olmuş sitokrom c'yi indirgeyebilir:



Ayrıca transisyon metallerin varlığında (ör: Fe<sup>+3</sup>), demir katalizleyen Haber-Weis reaksiyonu tarafından Fe<sup>+3</sup>, Fe<sup>+2</sup>'ye indirgenir (2), indirgenmiş ferri demir H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile reaksiyonu vasıtasıyla yüksek derecede reaktif hidroksil radikali (•OH) üretmek için reaksiyona girer (3).



**Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>):** Doğal oksijen molekülü başka bir molekülden iki elektron almışsa peroksit, peroksit molekülü iki H molekülü ile birleşirse H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> meydana gelir.

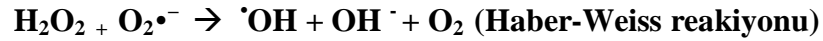


H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, süperoksitin SOD ile dismutasyonu sonucu veya doğal olarak üretilmektedir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> aslında radikal değildir. Fakat üretildiği bölgede kalan süperoksitin aksine membranlar geçen, sitozole difüze olan ve uzun ömürlü bir oksidan olarak bilinir. Bu nedenle süperoksitin ulaşamadığı membranla korunan bölgelere kolaylıkla ulaşabilir ve burada süperoksitle kolaylıkla reaksiyona girerek en reaktif ve zararlı radikal olan •OH'ı oluşturmak için kolaylıkla yıkılabilir.

Glukoz oksidaz ve D-aminoasit oksidaz içeren enzimler de hidrojen peroksit üretimine sebep olabilir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mitokondriyal membranlar, peroksizomal membranlar ve plazma membranından difüzyon ile kolayca geçip birçok bileşiği yavaş yavaş okside

edebilir. Uzun ömürlü bir oksidan olarak mutajen ve karsinojen etki gösterir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> serbest radikallerin neden olduğu hücrel değişiklerde kritik bir öneme sahiptir.

**Hidroksil radikali (·OH):** Geçiş metallerrinin varlığında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin indirgenmesiyle meydana gelen çok reaktif bir radikaldir. Bu reaksiyon ilk kez Fenton tarafından tanımlandığı için Fenton reaksiyonu olarak isimlendirilmektedir. ·OH radikali, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 'nin süperoksit radikali ile reaksiyona girmesi sonucunda da açığa çıkar. Bu reaksiyona ise Haber-Weiss Reaksiyonu adı verilmektedir.



Tek atom halinde ve bir elektronu eksik olan oksijen ile H<sup>+</sup> 'nin birleşmesinden oluşur. Gama radyasyonuna maruz kalan dokularda hidroksil radikali oluşabilir. Alınan enerji hücre suyu tarafından absorbe edilir ve sudaki oksijen-hidrojen kovalent bağının parçalanmasına sebep olur. Böylelikle hidrojen ve oksijen üzerinde dış orbitalde tek elektron kalır ve iki radikal oluşur (Cherubini, 2005).



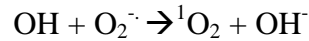
**Singlet Oksijen (¹O<sub>2</sub>):** Enerji absorpsiyonu ile oksijenin paylaşılmamış dış elektronlar spinlerini değiştirebilirler. Oksijenin bu şekilde uyarılmış durumunda dış iki elektron ayrı ayrı veya aynı orbitali işgal edebilirler. Oksijenin uyarılmış bu iki formuna singlet oksijen (¹O<sub>2</sub>) denir.

İnvivo da singlet oksijen üretimine neden olan başlıca önemli tepkimeler şunlardır:

- 1) Süperoksit radikali üretilen ortamda kendiliğinden dismutasyon ile

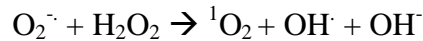


- 2) O<sub>2</sub><sup>·-</sup> ile OH<sup>·</sup> 'nin etkileşmesi ile

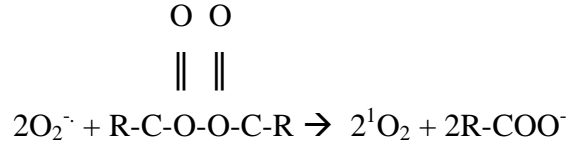


- 2) Haber-Weiss tepkimesi ile

Metal

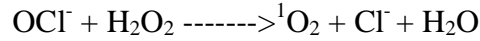


- 3) Süperoksit radikallerinin diaçilperoksitlerle tepkimesinde



4) Fagositoz yapan hücrelerde fagositoz sırasında  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve halojen bağımıli miyeloperoksidaz enzimi ile

Miyeloperoksidaz



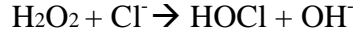
Yukarıdaki tepkimelerde görüldüğü gibi singlet oksijen ve hidroksil radikallerinin üretimi tümüyle ortamda  $\text{O}_2^{\cdot -}$  ve  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'in birikmesine bağlıdır. Bu iki bileşiğin anında uzaklaştırılmadığı durumlarda, iki molekülün birbirine rastlaması  $^1\text{O}_2$  ve  $\text{OH}^{\cdot}$  üretimi için kâfidir (Yılmaz, 2006).

**Nitrik oksit ( $\text{NO}^{\cdot}$ ):** Dış yörüngesinde tek elektron içeren, üstün kimyasal aktiviteye sahip, renksiz, suda çözülebilen lipofilik bir gazdır. Serbest radikal olan  $\text{NO}^{\cdot}$ 'in yarılanma ömrü kısadır ve hızla nitrit ve nitrate dönüşür. Bu yüzden serumda nitrit ve nitrat düzeyleri  $\text{NO}$  oluşumunun indeksleri olarak in vitro ve in vivo kullanılabilir (Nathan ve Xie, 1994). Nitrik oksit sentaz (NOSs) ve endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) belli patolojik durumlarda  $\text{O}_2^{\cdot -}$ 'nin potansiyel kaynağı olabilir. Eğer kofaktör olarak kullanılan  $\text{BH}_4$  ya da L-arginin azalır ise, eNOS eşleşmiş bir durumdan (ki o  $\text{NO}$  üretir) eşleşmemiş bir duruma (ki o  $\text{O}_2^{\cdot -}$  üretir) döner. Çünkü elektronlar  $\text{O}_2^{\cdot -}$  oluşturmak için hemden oksijene gelip onu indirgerler. Artmış vasküler  $\text{O}_2^{\cdot -}$  üretiminin  $\text{NO}$  ile etkileşimi sonucu ortaya çıkan peroksinitrit endotelyum-bağımlı vasküler relaksasyonu değiştirmekle kalmaz, aynı zamanda  $\text{BH}_4$ 'ü okside edebilir. Bu da  $\text{BH}_4$ 'ün bir eksikliğine neden olur (Madamanchi ve ark., 2004). Peroksinitrit,  $\text{BH}_4$  oksidasyonu vasıtasıyla veya direk olarak enzime saldırarak ayrı k eNOS'a yol açabilir (Sydow ve Münzel, 2003). Peroksinitrit birçok biyolojik materyali direkt olarak etkilemesinin yanı sıra proteinlerdeki tirozini nitratlaştırarak bazı hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynamaktadır (Bilge, 2010).

$\text{NO}^{\cdot}$ 'in fizyolojik şartlarda süperoksit radikaliyle birleşmesi oldukça sınırlıdır. Çünkü oluşan süperoksit radikali, hücrede yüksek konsantrasyonda bulunan SOD

tarafından rahatlıkla ortadan kaldırılabilir. Patolojik şartlarda (oksidatif stres gibi) ise hem NO hem de süperoksit sentezi artmakta, oluşan süperoksit, SOD enzimi tarafından yeterli olarak yok edilemediği için peroksinitrit radikali oluşmaktadır. Ayrıca, NO süperoksit radikalının vasküler üretimini azaltarak LDL oksidasyonunun bir inhibitörü gibi davranır. Arjinin ve ADMA NOS'ın hücreye giriş yolunu etkileyerek NO üretim hızında dolaylı yoldan etki oluşturur (Erdem ve Ünlü, 2009).

**Hipokloröz Asit (HOCl):** HOCl radikal olmadığı halde ROT'lar arasında yer almaktadır. HOCl fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde önemli rol oynar. Aktive edilen monositler, nötrofiller, eozinofiller ve tüm makrofajlar  $O_2^{\bullet}$  üretirler. Radikal üretimi fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde çok önemlidir. Özellikle nötrofiller içerdikleri miyeloperoksidaz enzimi aracılığıyla  $O_2^{\bullet}$ 'nin dismutasyonu ile oluşan  $H_2O_2$  molekülünü klorür iyonu ile birleştirerek güçlü bir antibakterial ajan olan HOCl'e dönüştürür (Yılmaz, 2006)



#### 2.3.1.4. Reaktif oksijen türlerinin organizmada meydana getirdiği hasarlar

Reaktif serbest radikaller, lipitler, proteinler, nükleik asitler ve karbohidratlar gibi hücresel bileşenlere zarar verirler. Serbest radikaller çok kısa ömürlü oldukları için oksidatif hasar serbest radikal ara basamakları içeren zincir reaksiyonları tarafından gerçekleşir. Düzgün çalışan bir metabolizmada mitokondriyal sitokrom sistemi, sitozoldaki organelleri oksidanların zararlı etkilerinden korur. Bu sistemin yetersiz kaldığı durumlarda doğal enzimler devreye girer. Enzimlerce etkisiz hale getirilemeyen oksidanlar ilk olarak hücre membranındaki lipitleri etkileyerek "lipid peroksidasyonu"nu başlatır. Serbest oksijen radikallerinin tahripkâr etkilerinden en fazla etkilenen hücre elemanları membran lipitleridir. Serbest oksijen radikallerinin lipid peroksidasyonuna sebep olarak sitotoksik etki gösterdiği düşünülmektedir (Gökçınar ve ark, 2006).

**Serbest radikallerin membran lipitleri üzerine etkileri (lipid peroksidasyonu):** Lipid peroksidasyonu, serbest radikaller tarafından başlatılan ve membran yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) oksidasyonuna neden olan, membran lipid yapısını değiştirerek hücre yapı ve fonksiyonlarının bozulmasına

yol açan kimyasal bir olaydır (Cheeseman, 1993). Serbest radikal aracılıklı yağ asidi oksidasyonunun önemi oldukça dikkat çekmiştir. Aktif oksijen türlerinin üretimi lipid peroksidasyonuna yol açabilir ve hücre molekül ve yapılarının ciddi hasarına katılan reaktif ürünlerin oluşumuna yol açabilir (Şekeroğlu ve ark., 2000). Tüm biyolojik zarlar, poliansatüre yağ asitleri ile amfipatik lipidler ve zar proteinlerinin birleşmesinden oluşur. Lipid peroksidasyonu, PUFA'nın radikaller ile oksidasyonu sonucu başlayan ve otokatalitik zincir reaksiyonları şeklinde uzayan, lipid peroksitlerinin aldehit türevleri, hidrokarbon radikalleri ve uçucu bazı ürünlere çevrilmesi şeklinde sonlanan süreçtir (Tekkes, 2006). Poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonu, özellikle C<sub>20:4</sub> ve C<sub>22:6</sub>, serbest radikal ara maddeleriyle aşırı lokal savunma mekanizmalarının üretildiği, hücre hasarının çoğu tiplerinin bir özelliğidir (Slater, 1984).

Peroksidasyon zincirinin başlangıcı, herhangi bir radikalın (daha çok OH<sup>•</sup>) membrandaki çoklu doymamış yağ asitlerinin -CH<sub>2</sub> - grubundan bir H atomunu koparmasıyla ortaya çıkar (L<sup>•</sup>). H atomu tek elektron içerdiğinden, geriye karbon üzerinde paylaşılmamış bir elektron -CH- kalır. Yağ asidinde, çift bağa komşu olan karbon atomunda C-H bağı zayıflar, bu durumda H'nin kopması kolaylaşır. Bundan dolayı, membran lipidlerinin, doymamış yağ asidi yan zincirleri peroksidasyona daha hassastır. Metil gruplarında bir yağ molekülünü ayrılması ile yağ asidi yan zincirleri, karbon merkezli bir radikale dönüşür. Oluşan karbon merkezli radikal, moleküler düzenlemeye uğrayarak konjuge dien oluşur. Bu molekül oksijenle birleşerek peroksil radikalini oluşturur. Peroksil radikali de ortamdaki başka yağ asidinden hidrojen atomunu ayırır, böylece zincirleme reaksiyon başlar (Slater, 1984).

Lipid peroksidasyonunun zincirleme reaksiyonunu 3 aşamada gösterirsek;

|                      |   |
|----------------------|---|
| <b>1. Başlangıç:</b> | $Fe^{+2}+LOOH \rightarrow Fe^{+3}+LO^{\bullet}+OH$                |
|                      | $LO^{\bullet}+LH \rightarrow LOH+L^{\bullet}$                     |
| <b>2. İlerleme:</b>  | $L^{\bullet}+O_2 \rightarrow LOO^{\bullet}$                       |
| <b>3. Sonlanma:</b>  | $LOO^{\bullet}+LH \rightarrow LOOH+L^{\bullet}$                   |
|                      | $LOOH \rightarrow LO^{\bullet}, LOO^{\bullet}, \text{Aldehitler}$ |

Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan lipid hidroperoksitlerinin yıkımı, geçiş metalleri iyon katalizini gerektirir (Akkuş, 1995; Sarıbal, 2006).

Bu otokatalitik reaksiyonlar sonucunda aldehid, etan ve pentan gibi ürünler oluşur. Aldehidler bilinen en toksik ürünlerdir. Üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiyobarbütürik asitle ölçülebilen malondialdehit (MDA) meydana gelir. MDA lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve doku, kan ve vücut sıvılarında ölçülerek lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. İnsanlarda birçok hastalığın etyopatogenezinde serbest oksijen radikallerinin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna bağlı olarak organ ve dokularda açığa çıkan hücre membranı hasarı suçlanmaktadır (Güneş, 2007; Akkuş, 1995). MDA, hücre içinde proteinlerin amino gruplarına, fosfolipidlere veya nükleik asitlere bağlanarak etkisini gösterir. Molekül membran komponentlerine çapraz bağlanarak onların polimerizasyonuna da neden olur. Membran deformasyon yeteneği, iyon transportu, enzim aktivasyonu, hücre yüzeyi agregasyonu gibi intrinsek membran özelliklerini de değiştirir. MDA kolayca nükleusa diffuze olduğundan, DNA'daki nitrojen bağları ile reaksiyona girer. Bu nedenle mutajenik, genotoksik ve karsinojeniktir (Slater, 1984). MDA özellikle karaciğer hücrelerinde, DNA ve proteinlere çapraz bağlanarak büyük hasar vermektedir. Fakat lipid peroksidasyonunun sebep olduğu asıl önemli patolojik problemler, yıkım ürünlerinin DNA'ya bağlanmasıyla meydana gelmektedir.

**Serbest radikallerin proteinler üzerine etkileri:** Serbest radikallere karşı proteinler, lipidlere göre daha az hassastır ve zarar verici etkisi daha az hızla ilerler.



Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme dereceleri amino asit kompozisyonlarına bağlıdır. OH<sup>•</sup> aminoasit modifikasyonlarından sorumlu başlıca radikaldir ve doymamış bağ ve sülfür ihtiva eden moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin, sistein gibi amino grup asitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Proteinler oksidantlara maruz kaldıklarında birçok kovalent değişikliğe uğrar. Protein oksidasyonunda ana mekanizma polipeptid omurgasındaki çeşitli amino grup asitlerin  $\alpha$ -karbon atomlarından hidroksil radikalinin etkisiyle hidrojen atomunun çıkarılması sonucunda başladığı saptanmıştır (Schuessler ve Schilling, 1984). Sitoplazma ve membran proteinleri de okside olduklarında, çapraz bağlanarak dimerleşir ve daha büyük agregatlara dönüşürler. OH<sup>•</sup> ve O<sub>2</sub><sup>•-</sup> radikalleri, oksihemoglobinin methemoglobine dönüşmesine sebep olurlar. Proteinlerdeki in vivo oksidatif hasar, transport proteinleri, enzimleri, reseptör fonksiyonunu ve belki de immün sistemi etkileyebilir. Protein oksidasyonu, protein fonksiyon bozukluğu ve hastalıklar arasındaki ilişkiler büyük ölçüde açıklığa kavuşmamıştır. Bununla birlikte enzimlerin ve yapısal proteinlerin oksidatif modifikasyonlarının hastalıkların etyolojisinde önemli rol oynayabileceği kesinlik kazanmıştır (Çakatay ve Kayalı, 2004).

**Serbest radikallerin DNA üzerine etkileri:** Oksidatif stres sonucunda DNA zincirinde çapraz bağlanma meydana gelir ve bunun sonucunda da genetik bilginin transkripsiyonu değişir. Yüksek konsantrasyonlardaki oksijen serbest radikalleri DNA zincirinin kırılmasına neden olurlar. DNA oksidasyonu mutasyona ve kanserojenik etkiye neden olur (Wei ve Frenkel, 1991).

**Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine etkileri:** Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzaloaldehytler oluşur. Okzaloaldehytler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Glikoz, mannoz ve deoksi şekerlerin fizyolojik şartlarda otooksidasyona uğrayarak süperoksit ve hidrojen peroksit oluşturduğu saptanmıştır (Winrow ve ark., 1993).

### 2.3.2. Antioksidan savunma sistemleri

Çeşitli kaynaklardan gelen serbest radikallere maruz kalma, organizmaların bir dizi savunma mekanizmalarının gelişmesine yol açmıştır. Serbest radikallerin neden olduğu oksidatif strese karşı savunma mekanizmaları: Önleyici mekanizmalar, tamir mekanizmalar, fiziksel mekanizmalar ve antioksidan savunmalardır (Valko ve ark., 2007). Antioksidan savunma sistemleri' veya kısaca 'antioksidanlar' olarak bilinen; serbest radikalleri nötralize eden, serbest radikal hasarları onarmaya yardımcı olan ve vücudun onlardan etkilenmesini minimize eden veya kendini yenilemesini sağlayan maddelerin bir sınıfıdır. Antioksidanlar, endojen kaynaklı (doğal) ve eksojen kaynaklı olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılabilirdiği gibi serbest radikalın meydana gelişini önleyenler ve mevcut olanları etkisiz hale getirenler şeklinde de ikiye ayrılabilirler. Ayrıca enzim olanlar ve olmayanlar şeklinde de sınıflandırılabilirler. Hücrelerin hem sınırlarında hem membranlarında bulunabilirler.

#### 1) Endojen (Doğal) antioksidanlar:

a)Enzimler: Süperoksit dismutaz, Katalaz, Glutasyon peroksidaz, Glutasyon-S-transferaz, mitokondrial sitokrom oksidaz sistemi,

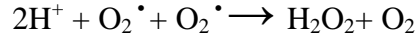
b)Enzim olmayanlar:-Lipid fazda bulunanlar;  $\beta$ -karoten, E vitamini ( $\alpha$ -tokoferol)

-Sıvı fazda bulunanlar (hücre sitozolünde veya kan plazmasında bulunanlar) askorbik asit, sistein, albumin, bilirubin, hemoglobin, glutasyon, melatonin, v.s.

2) Eksojen antioksidanlar: Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol), NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezipler, Ca kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar) (İşnas, 2010).

#### 2.3.2.1. Enzimatik antioksidan savunma sistemleri

**Süperoksit dismutaz (SOD) (EC.1.15.11):** 1969 yılında McCord ve Fridovich tarafından keşfedilen bu metaloenzim, oksijeni metabolize eden tüm hücrelerde bulunur ve süperoksidin hidrojen perokside dismutasyonunu katalize eder.

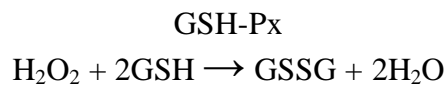


Bu reaksiyon, süperoksit anyonunun pH 11 ve altında oldukça stabil olmasına rağmen, enzim katalizi olmasa bile normal fizyolojik pH değerlerinde oldukça hızlı yürümektedir (Koca ve Karadeniz, 2003). SOD enziminin hepsi metalloprotein yapısında olan 4 izoenzimi bulunmaktadır. İntraselüler izomerlerinden sitozolik SOD bakır ve çinkoya bağlı iken (CuZn-SOD), mitokondriyal SOD manganze bağlıdır (Mn-SOD). Genel olarak hücrede sitozolik SOD daha çoktur ve özellikle hemoglobinin otooksidasyonundan oluşan süperoksiti temizlediği için eritrositlerin en önemli antioksidandır (Ceballas-Picot ve ark., 1992).

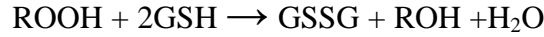
Mitokondrideki solunum zincirinin oksijen radikallerinin en büyük kaynağı olduğu hatırlanırsa Mn-SOD'nin önemli bir antioksidan olduğu görülür. Mn-SOD tümör nekrozis faktörü ve interlökin-1 tarafından uyarılmaktadır. SOD enziminin az bir kısmı da sinoviyal sıvı ve plazma gibi ekstraselüler sıvılarda bulunur.

Bu enzimin fizyolojik fonksiyonu; oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır ve doku pO<sub>2</sub> artışı ile artar. Normal metabolizma esnasında, hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit üretimi olmasına rağmen, bu enzim sayesinde intrasellüler süperoksit düzeyleri düşük tutulur. Enzimin ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür. Reaktif oksijen türlerine karşı antioksidan savunma enzimatik bir yol oluşturmuştur. Yüksek süperoksit üretimine adaptasyonu gösteren SOD artışı ile GSH-Px arasındaki dengesizlik, hücrelerdeki oksidatif stresi işaret eder. Bir başka ifadeyle SOD/GSH-Px oranındaki yükselme oksidatif hasarı ve patolojik olayları başlatabilir (Gaeta, 2002).

**Glutasyon peroksidaz enzimi (EC 1.11.1.9):** GSH-Px enzimi ilk kez 1957 yılında Mills tarafından sığır eritrositlerinden izole edilmiştir. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), hidrojen peroksit ve hidroperoksitlerin indirgenmesinde hayati önem taşır.



### GSH-Px



Okside glutatyon (GSSG), NADPH bağımlı glutatyon redüktaz enzimi ile tekrardan redükte glutatyona (GSH) indirgenir (Halliwell, 2002).

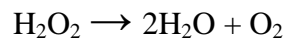
### glutatyon redüktaz



Hücrelerdeki glutatyon redoks döngüsünün, anahtar enzimi glutatyon peroksidaz, substratı ise glutatyondur. GSSG/GSH oranı oksidatif stresin bir başka göstergesi olarak kabul edilmektedir. Örneğin eritrositlerdeki bu oran 1/500 seviyesinde tutulur. Bu dengenin bozulması oksidatif strese yol açarak eritrosit hasarına sebep olabilir. Ayrıca GSH-Px'in selenyum ve E vitamini arasında kuvvetli bir bağ vardır. Oksijen varlığında, doymamış yağ asitlerinin çift bağlarını kıran zincirleme reaksiyonlar oluşur. Bu reaksiyonlar, oluşmuş kimyasal radikaller ortadan kalkmaya kadar sürer. Özellikle GSH-Px enziminin kofaktörü olan selenyum, bu radikallerin ortadan kaldırılmasında önemlidir. Bu yüzden E vitamini ve selenyum eksikliği durumunda, enzimin aktivitesinde azalma meydana gelir.

**Katalaz (EC 1.11.1.6):** Yapısında 4 tane hem grubu bulunan bir hemoprotein olan katalaz, hidrojen peroksiti suya ve oksijene parçalar. Daha çok hücrenin peroksisom ve mitokondrisinde ve daha az olarak da stoplazma ve endoplazmik retikulumda bulunur (Taysi ve ark., 2002).

### Katalaz



Katalazın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit, metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipid peroksitlerine ise etki etmez (Akkuş ve ark., 1995).

**Glutatyon-S-transferaz (E.C.2.5.1.18):** İki protein alt biriminden meydana gelen bir enzim ailesidir. Organizmaya giren yabancı maddelerin biyotransformasyonunda mühim rol oynamaktadır. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine (ROOH) karşı GST'ler Se-bağımsız

glutasyon peroksidaz aktivitesi göstererek bir antioksidan etkinlik oluştururlar (Young ve Woodside, 2001).

### 2.3.2.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar

**C Vitamini:** Kimyasal yap› bak›m›ndan monosakkaritlere benzeyen alt› karbonlu C vitamini, enediol yap›s›nda lakton şekilinde bir asiddir. Hidroksilasyon tepkimeleri için gerekli bir koenzim olan C vitamini portakal, limon, domates, yeşil sebzeler ve patetesde bol miktarda bulunur. Normal metabolizma s›ras›nda ve g›neş işığı, ozon, sigara duman› ve diğer çevresel kirlilikler ile oluşan ve lipid membranlara, proteinlere, h›cresel DNA molek›llerine zarar verebilen reaktif oksijen metabolitlerinin etkilerine karş› C vitamini koruyucu g›rev yapmaktadır. Birçok hidroksilasyon olay›nda indirgeyici ajan olarak g›rev yapan C vitamini, kollajen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu, trozinden epinefrinin sentezinin dopamin-β-hidroksilaz basamağında, tirozin y›k›m›nda p-hidroksi pr›vat›n homogentisata oksidasyonunda, safra asidlerinin sentezindeki 7-α-hidroksilaz başlangıç basamağında ve lizinden karnitin sentezinde rol oynar. Askorbik asit ayn› zamanda g›l› bir antioksidan›r. S›peroksit, hidroksil radikalleri ve singlet oksijen ile kolayca reaksiyona girerek, onları etkisizleştirir (Cathcart, 1985). Bununla birlikte C vitamini hidrojen peroksit varlığında demir veya bak›r iyonlar›yla birlikte reaksiyona girerek oksidan özellik de g›sterebilir (avdar ve ark., 1997). LDL'nin oksidatif modifikasyonunu inhibe ettiğine inanılır. Ancak, çoğu delil vitamin C ilavesinin bir yarar›n›n varlığını desteklemez (Duvall, 2005). Askorbik asit indirgen bir ajan olmasının yanı sıra E vitaminini rejenere etme özelliğine de sahiptir.

**E Vitamini (α-tokoferol):** Dokularda değişik konsantrasyonlarda bulunur. En y›ksek vitamin E konsantrasyonlar›, mitokondri ve mikrozoamlar gibi membrandan zengin h›cre fraksiyonlar›nda bulunur. Myokard membranlar›ndaki miktar› da fazlad›r. E vitaminine antioksidan özellik veren yap›s›nda bulunan fenolik hidroksil grubuna sahip aromatik halkad›r. H›cre membran fosfolipidlerinde bulunan poliansature yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma oluşturarak, superoksit radikalini, hidroksil radikallerini ve lipid peroksitlerini indirger (Yau ve ark., 1994). İn vitro, y›ksek dozlarda LDL kolesterol›n›n oksidatif modifikasyonunu bloke eder, arter

duvarında LDL depolanmasını azaltır, endotelyuma monosit adezyonunu azaltır ve platelet aktivasyonunu inhibe eder (Diaz ve ark., 1997). Zincir olarak bir antioksidan olarak bilinir. Çünkü fonksiyonları, lipid peroksi radikallerini (LOO•) parçalamak ve böylece lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırmaktır.



Bu oksidasyon ürünü glukronik asit ile konjugasyona uğrayarak safra ile atılır. Tokoferolün antioksidan etkisi, yüksek oksijen konsantrasyonlarında geçerlidir.

**Karotenoidler:** A vitamininin metabolik ön maddesi olan karotenoidler antioksidan aktivitelerini serbest radikal reaksiyonlarına katılarak zararlı hidrojen peroksitlerin oluşum hızını azaltmak suretiyle gösterirler. Önemli diet karotenoidlerinden olan β-karoten; sarı ve turuncu sebze ve meyvelerde, likopen; domateste, lutein; brokoli ve yeşil sebzelerde bulunmaktadır (Koca ve Karadeniz, 2003).

### **Enzimatik olmayan diğer antioksidanlar**

**Glutasyon:** Glutasyonun (GSH) hücre, doku ve organ sistemlerinin bütünlüğünün yapısal ve fonksiyonel olarak korunmasında antioksidan bir molekül olarak önemi büyüktür. Glutasyon biyolojik olarak yapısında iki önemli yapıyı (tiyol grubu ve γ-glutamin bağı) bulundurur. GSH homeostazı hücre düzeyinde, biyosentez, oksidasyon, import ve eksport arasındaki dengeyle sağlanırken, doku düzeyinde GSH metabolizması ile ilgili işlemlere ve dokular arasındaki GSH akışına bağlı olarak düzenlenmektedir. Hücresel glutasyon taşınımı, tiyol gruplarını ve α-tokoferol gibi diğer membran bileşiklerini koruyarak hücre membranının oksidan hasara karşı korunmasını sağlamakta, bunun yanı sıra, serbest radikallerle direkt reaksiyonu ile Glutasyon peroksidazlara ve Glutat S-transferazlara substrat olmasıyla bir antioksidan olarak davranmaktadır. Bunun dışında proteinlerdeki –SH gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı muhafaza eder. Böylece, fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller (Aksoy, 2002).

**Melatonin:** Pineal bez tarafından salgılanan melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin) (Tekcan, 2007), 232 molekül ağırlığında bir hormon olup, endokrin

sistemin düzenlenmesi, immun fonksiyonun arttırılması, düz kas tonusunun ayarlanması ve gonadal fonksiyonların baskılanması gibi birçok fizyolojik işlevlerde görev alır. Aynı zamanda melatoninin güçlü bir antioksidan karakterde olduğu ve dokularda lipid peroksidasyon sonucu oluşan oksidatif hasarı önlediği bildirilmiştir. Bu hormon hem yağda hem de suda çözünebilir özelliğe sahiptir ve bu yüzden çekirdek dahil hücrenin her organeline rahatlıkla ulaşabilir. Bu özellik, DNA'nın oksidatif hasara karşı korunmasında, melatonine bir üstünlük sağlamaktadır. Bunun yanı sıra, kan-beyin bariyerini kolaylıkla geçebilen, dolayısıyla beyin dokularında da antioksidan özelliğini gösteren bir hormondur (Kuş ve ark., 2007). Karanlıkta pineal bezden salgılanan, uyku, üreme, sirkadiyen ritim ve immünite gibi pek çok biyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde rol oynayan bir hormondur (Yazıcı ve Köse, 2007; Eşrefoğlu, 2009).

#### **2.3.4. Normal endotel yapısı ve fonksiyonları**

Endotel eskiden sanıldığı gibi dokularla kan arasında bulunan pasif bir bariyer değil, tam aksine sentezlediği ve salgıladığı mediatörlerle vasküler homeostaziste rol oynayan ve vücudun her tarafına yayılmış bir organ niteliğinde olduğu bilinmektedir (Emre ve ark, 2004). Endotelin özgül fonksiyonları şu şekilde sıralanabilir:

1. Vazodilatator veya vazokonstriktor mediatorler salınımı ile vasküler vazomotor tonus kontrolü,
2. Dolaşımdan çevredeki dokulara madde geçişini düzenleyen yarı geçirgen bariyerin devamlılığının sağlanması
3. Çeşitli sitokin ve büyüme faktörlerinin sentezi ve salınımı
4. Arter duvarındaki lipoproteinlerin değişimi ve oksidasyonu
5. Lökosit ve trombositlere nontrombojenik yüzey sağlanması
6. Bazal membran yapısındaki kollojen ve proteokliganlarının devamlılığının sağlanması.

Endotelin sağlıklı insanlarda normal fizyolojinin sürdürülmesinde 3 ana işlevi vardır:

- Vasküler vazomotor regülasyonun devamı
- Lökosit adhezyonunun ve inflamasyonun kontrolü ve denetimi
- Trombozis ve fibrinolizis arasındaki dengenin devamı (Yılmaz, 2004).

Endotel hücreleri morfolojik yapıları ve stratejik anatomik pozisyonları dolayısıyla ile vasküler düz kas hücreleri ile kan dolaşımının komponentleri arasında (platelet, monosit, enzimler, hormonlar) selektif “permeable” bir bariyer oluşturur (Torun ve Bayram, 2004). Bariyer oluşturmada endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantı birimleri ve gerim liflerinin rolü oldukça büyüktür. Ayrıca endotel hücrelerinin kendileri de veziküler transportu regüle ederek bir bariyer oluşturmaktadırlar. Örneğin; iyonlar, şekerler, küçük organik solütler ve aminoasitlerin seçici transport mekanizmaları aracılığıyla endotel hücresi tarafından kontrol edilmesi de bariyer olarak kabul edilmektedir (Emre, 2004).

Normal şartlar altında endotel hücreleri hem kanın pıhtılaşmasını inhibe ederek hem de lümeninde oluşan pıhtının çözülmesini (fibrinolizis) oluşturarak kan akışının sürekli olmasını sağlar. Ancak damar hasarı gerçekleştiğinde proinflamatuvar, prokoagulan ve fibrinolitik mediatörleri eksprese ederek prokoagulan ve protrombotik etkiler gösterirler (Gürel, 2009).

Aynı zamanda önemli bir anti inflamatuvar role de sahip olup damarların iç yüzeyine ve damar dışına inflamatuvar hücrelerin adezyonunu ve migrasyonunu salgıladıkları sitokin ve büyüme faktörleri ile düzenlerler. Bu hücreler salgıladıkları maddelerle düz kasların tonusunu, göçünü ve çoğalmasın uyarır ve lipoproteinlerin modifikasyon sonucu proaterojen moleküllere girişine katkıda bulunurlar. Ayrıca endotel lokalizasyonu itibari ile sinyal oluşumu için önemli bir özelliğe sahip olup çevre dokulara ve hücrelere uyarı iletimi de sağlar. (Baykal ve ark., 1998). Endotelyum aynı zamanda norepinefrin, serotonin, endotelin ve vazopressin gibi humoral, nöronal veya parakrin transmitterlere cevap verir. Endotelyum ve vasküler düz kas üzerinde bu ajanların her biri için bir reseptör vardır (Cooke, 2005).

Endotel, vasküler tonusun düzenlenmesinde salgıladığı maddelerle önemli bir rol üstlenir. Endotel kaynaklı en önemli vazodilatatör madde NO'dur. NO dışında, prostosiklin (PI<sub>2</sub>), endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktör (EDHF) ve C-tip



natriüretik peptid endotelden salınan vazodilatör maddeler iken, anjiyotensinojen, vazokonstriktör prostoglandinler (PGH<sub>2</sub>), endotelin-1 ve tromboksan-A<sub>2</sub> vazokonstriktör maddelerdir (Endemann ve Schiffrin, 2004). NO endotelden sürekli salgılanır, ancak shear stres ve bazı maddelerin (asetilkolin, anjiyotensinII, bradikinin, histamin, adenin nükleotidler, araziğonik asit, serotonin, trombin ve endotelin) endotelial dokudan NO, EDHF ve PI<sub>2</sub> salgılatığı gösterilmektedir (Vanhoutte ve ark., 2009). Vasküler tonusu düzenleyici diğer bir önemli etken süperosid anyonudur. Bu serbest radikallerin kaynağı endotel olabileceği gibi zararlanmış veya inflamasyon bölgesine toplanan inflamatuvar hücrelerde olabilir. Ancak, süperoksit radikallerinin fazlalığında NO ile etkileşime girer ve peroksinitrit oluşumuna ve NO konsantrasyonunda azalmaya neden olur. Ayrıca süperoksit oluşumunun artması PGI<sub>2</sub> sentezini inhibe eder fakat TxA<sub>2</sub> sentezini etkilemez (Özdoğu, 2007).

### **2.3.5. Endotel disfonksiyonu**

Vasküler endotelial hücreler yapısal olarak basit fakat fonksiyonel olarak kompleks bir sistem oluşturur. Endotel hemostasis, fibrinolizis, inflamasyon, kan basıncı, lipoprotein metabolizması ve anjiyogenesis gibi bir dizi süreci düzenler ve bu yolda vasküler sistemin hemostazisinde esansiyel bir rol oynar (Bermudez ark., 2008). Endotelin işlevsel ve morfolojik yapısındaki herhangi bir değişiklik normal fizyolojik süreçlerin kaybına neden olur. Bu durum endotelial disfonksiyon (ED) olarak adlandırılır (Endemann ve Schiffrin, 2004).

ED, yaygın olarak NO biyoaktivitesinin kaybı tarafından sebep olunan endotelial-bağımlı damar relaksasyonunun bozulmasını adlandırmak için kullanılmıştır (Bermudez ve ark., 2008). Disfonksiyon gelişen endotelin bariyer işlevi bozulur, vazoaaktif maddelerin yapımında artma veya azalmaya bağlı olarak vazomasyon bozulur ve protrombotik/prokoagulan aktivite artar ve sonuçta azalmış vazodilatasyona, proinflamatuvar ve protrombotik bir duruma yöneliş olur (Endemann ve Schiffrin, 2004). ED araştırılmasında en çok kullanılan ölçüt endotel bağımlı vazodilatasyondur. Birçok araştırmacıya göre endotel kökenli vasküler tonusun düzenlenmesindeki bozukluk, endotelin diğer fonksiyonlarında da bozulmayı yansıtmaktadır (Kırkpantur ve ark., 2006). ED'da azalmış vazodilatör cevaplara eşlik

eden mekanizmalara azalmış NO üretimi, oksidatif aşırılık, hiperpolarize faktörlerin azalmış üretimi dâhildir. Adezyon moleküllerinin upregülasyonu, makrofaj kemotaktik faktör-1 (Kemoakraktan) gibi kemokinlerin üretimi, plazminojen aktivatör inhibitör-1'in üretimi inflamatuvar cevaba eşlik eder ve protrombotik bir duruma katkı sağlar. Anj II ve endotelin gibi vazoaaktif peptidler; eNOS inhibitörü ADMA'nın birikimi; hiperkolesterolemi; hiperhomosistinemi; değişmiş insülin sinyallemesi ve hiperglisemi bu farklı mekanizmalara da katkıda bulunabilir (Endemann ve Schiffrin, 2004). Endotel hasar oluşunca endotel tabakası fizyolojik fonksiyonlar üzerine uygun olmayan ve anormal uyarılar gönderir. Hiperlipidemi, hiperkolesterolemi, HT, sigara ve diyabet gibi risk faktörleri oluşturan pek çok hastalıkta ED'na rastlanmaktadır. Klinik olarak ED'da vazospazm, lökosit adezyonu, trombosit aktivasyonu, tromboza yatkınlık, pıhtılaşma bozuklukları, prooksidatif değişiklikler ve vasküler inflamasyon meydana gelmektedir (Önder ve Barutçuoğlu, 2007).

### **Endotelyal disfonksiyonun moleküler mekanizmaları:**

#### **NO üretiminin azalması**

TNF- $\alpha$  faktör dahil eNOS ekspresyonunu azaltan faktörler hakkında yaygın delil vardır görünen o ki iNOS ARNm molekülünün 3' bölgesi için düzenleyici proteinlere artan ilgi vasıtasıyla eNOS ARNm'yi stabilize eder. Diğer stimuluslar lipopolisakkarit, hipoksi ve ox-LDL'nin yüksek konsantrasyonları dâhil ARNm denge rediktörleri olarak rapor edilmiştir (Bermutez ve ark., 2008).

#### **eNOS Aktivitesinde Değişim**

##### *intrasellüler BH<sub>4</sub> konsantrasyonlarındaki azalma ve ayrılma Fenomeni*

Memeli hücreler guanozin trifosfat siklohidrolaz I (GTPCHI)'in enzimatik etkisi vasıtasıyla BH<sub>4</sub> üretebilir. Fizyolojik çalışmalar muhtemelen bazı pro-inflamatuvar sitokinlerin (TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ ) artmış ekspresyonu kadar ox-LDL de bir artış vasıtasıyla insülin rezistansı, sigara içimi ve hiperkolesterolemi gibi çeşitli patofizyolojik durumlarda GTPCHI ve BH<sub>4</sub> aktivitesinde önemli bir azalma göstermiştir. İlaven, klinik ve deneysel çalışmalar göstermiştir ki BH<sub>4</sub>'ün akut verilmesi hiperkolesterolemi, aterosklerozis, hipertansiyon ve sigara içme ile ilgili

endotelial disfonksiyonu düzeltir (Bermutez, 2008). BH<sub>4</sub> yokluğunda NOS moleküler oksijene (O<sub>2</sub>) elektron (e<sup>-</sup>) taşıyarak süperoksit (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) üretir (Akçakoyun, 2004). .

#### *Asimetrik dimetilarjinin tarafından eNOS in kompetatif inhibisyonu*

Diğer taraftan, PRMT-1 aktivitesi kapa beta inhibitör kinaz ( $\kappa\beta$ -IK) olarak isimlendirilen bir grup protein kinazın supresyonu tarafından bloke edilebilir,  $\kappa\beta$ -IK kapa-beta inhibitörleri ( $\kappa\beta$ -I) olarak bilinen fosforile bir grup proteindir. Bir kez fosforillenince, stoplazmada  $\kappa\beta$ -nuklear faktör ( $\kappa\beta$ -NF) tutmak mümkün değildir ve ondan sonra nukleus sahasına yerini değiştirmek için serbest olur ve bir transkripsiyon faktörü olarak işlev gösterir. Onun aktivitesinin artmasında sitokinler ile düzenli bir etkileşimi gösterir. Ek olarak, hiperkolesterolemi, hiperglisemi, pro-inflamatuar sitokinler ve hiperhomosistinemi gibi multipl patojenik faktörler hidrolizle ADMA bozulmasından sorumlu bir enzim olan DDAH'n aktivitesini azaltır, bu amnoasidin intrasellüler bir yükselmesine sebep olur. eNOS enziminin fonksiyonu için hücrede özellikle önemli bir yer kaveoladır. Kaveola plazmaya ait membranda özelleşmiş invaginasyonlardır. Ana bileşenleri kolesterol, glikosfingolipidler ve kaveolin olarak isimlendirilen yapısall bir proteindir. Kaveola içinde eNOS'n konumunu kaveolin-1 bağlanması ile enzimatik aktivitesinin inhibisyonunu belirler ve o intrasellüler kalsiyum düzeyleri düşük olduğu zaman kalmodulin ile eNOS etkileşiminde bir blokaja sebep olur. eNOS kaveolin-1 ile inhibisyonunu takiben kalmodulini bağlar ve bununla birlikte kalmodulinle kalsiyumun bağlanması kaveolinin yer değiştirmesine ve eNOS'ın aktivasyonu sonucu NO sentezlemesine neden olur. Aynı zamanda, ox-LDL'nin yüksek düzeyleri kaveolanın kolesterol içeriğinde bir azalmaya sebep olur ve stoplazmada kaveolin-1-eNOS kompleks translokasyonuna ve sonuç olarak onun aktivitesinin inhibisyonuna neden olur.

#### **NO biyoyararlanımında Azalma**

*Arjinaz aktivitesinde artma*

*Oksidatif Stres*

Yeterli NO üretimi varlığında bile, bazı durumlar belli kimyasal içerikler ile etkileşiminin bir sonucu olarak, biyoyararlanımındaki bir azalmadan dolayı biyolojik

belirteçlerine ulaşmasını önler. Endotelial disfonksiyonun ve bir prepatojenik vasküler fenotipin bir mediatörü olarak NO'nin oksidatif inaktivasyonunun rolünü gösteren çok deneysel delil vardır (Bermudez ve ark., 2008). Superoksit iyonu NO ile karşılaştığı zaman hızla reaksiyona girer ve nitrojen oksit oluşur (NOO<sup>-</sup>). Bu reaksiyonun hızı süperoksit dismutaz (SOD) ile olan reaksiyonun hızının üç katıdır. Ayrıca yüksek kolesterol ile beslenen tavşanlarda NOO<sup>-</sup> miktarı artmıştır (Akçakoyun, 2004). OS endotel hasarına neden olarak NO sentezini bozması bakımından önemlidir.

Endotelium-kaynaklı NO aynı zamanda adezyon molekülleri ve kemokinlerin aktivitesi ve ekspresyonunu suprese ederek vasküler inflamasyonu da inhibe eder. NO aynı zamanda vazodilatör stimüle eden protein ve diğer platelet düzenleyici proteinlerin cGMP ile fosforilasyonunu stimüle ederek, trombositlerin adezyon ve agregasyonunu önler. Böylece, endotelium-kaynaklı NO relaksasyonda altta yatan mediyayı sürdüren, istirahat durumunda ve dolaşımdaki kan elementlerinin infiltrasyon veya yapışkanlığını baskılayan, damar koruyucu bir maddedir. NO aktivitesinin kaybı vasküler lezyonların gelişimini hızlandırır. NO aktivitesinin kaybı insan vasküler hastalığının seyrinden erken oluşur. Endotelial vazodilatatör fonksiyonda kusur vasküler olayların öngörücüsüdür. Bundan dolayı, ED'nun mekanizmalarını anlamaya ilgi yoğunlaşmıştır. Ek olarak, NO nitrosotiyolleri oluşturmak için onların sülfidril parçaları ile reaksiyona girerek vasküler proteinleri düzenleyebilir.

NOS yolu bozulmuş olduğu zaman, onun damar koruyucu fonksiyonları kaybolur ve NOS yolu vasküler patofizyolojiye katkıda bulunabilir. NOS yolundaki bozukluklar azalmalar olarak kategorize edilmiştir: Bunlar, NO yarı-ömrü, NO'ye duyarlılık, NOS ekspresyonu veya NOS aktivitesi şeklindedir. Bu mekanizmaların her biri için deneysel delil vardır. NO'nin yarı-ömrü oksidatif stres durumunda azalır (Cooke, 2005). İlâveten, NO damar duvarı ile dolaşan kan elementlerinin etkileşimini inhibe eder. Trombosit agregasyon ve lökosit yapışması endotelium sağlıklı olduğu zaman mümkün değildir. NO sentezinin inhibisyonu baroreseptör sensitivitesinin azalmasına ve devamlı hipertansiyona sebep olur (Jin ve D'Alecy, 1996). Bozulmuş NO biyoyararlanımı endotelial disfonksiyonun gelişimine katkıda bulunabilir ve aterosklerozisin başlangıcında ve ilerlemesinde önemli olduğu düşünülmektedir (Lu ve ark., 2003). NO, endotel yüzeyine monositlerin ve nötrofillerin adhezyonunu inhibe

ederek antiinflamatuvar bir ajan olarak görev yaptığı gibi antioksidan etkide gösterir. NO LDL'nin oksidatif metabolizmasını önleyerek aterosklerotik potansiyel kazanmasını önler. Düzensiz NO-biyosentezi ED'nin gelişimi ve ek vasküler olaylarla ilişkilidir (Valkonen ve Laaksonen, 2004). Çünkü NO en iyi potent endojen vazodilatatördür ve endojen anti-aterosklerotik bir ajan olduğundan, NO sentez veya biyoaktivitesinin bozulması vasküler hastalıkların riskini artırabilir.

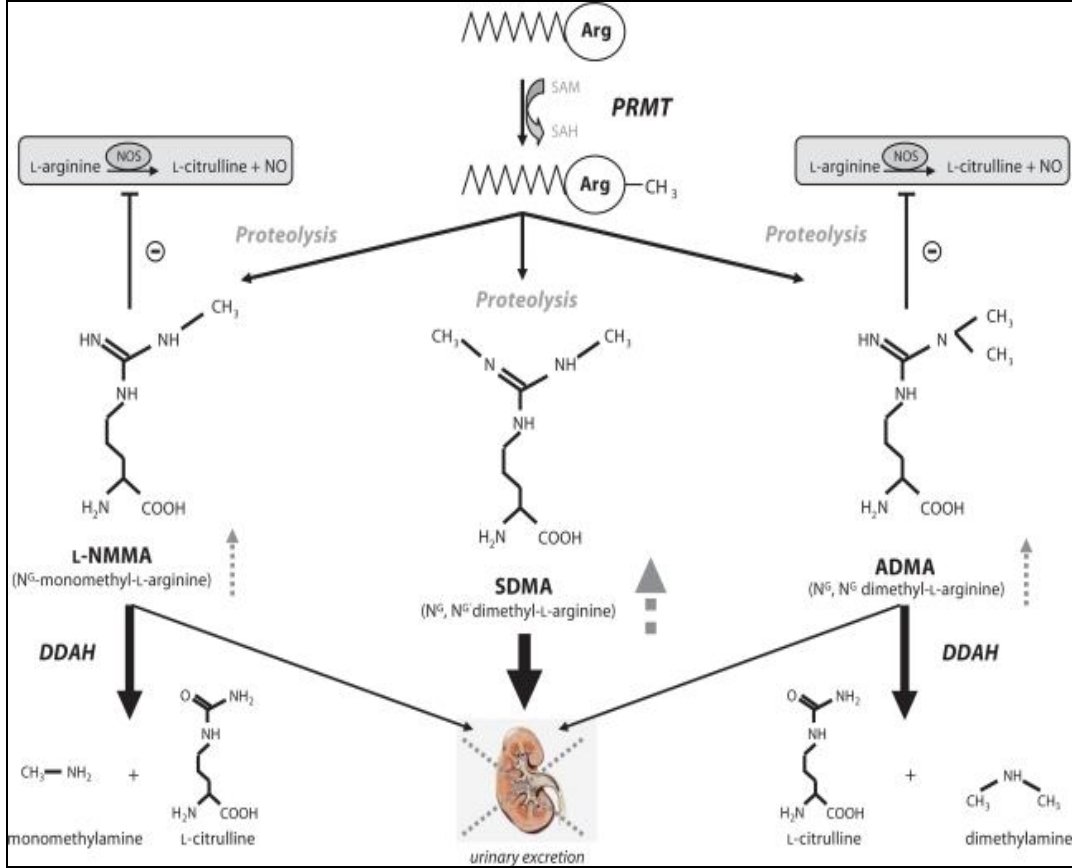
NO'nin çok fazla biyolojik aktivitesi olduğundan, hücre aktivitesi üzerindeki zararlı etkilerini engellemek için doku ve/veya kan konsantrasyonunu dar bir aralıkta tutmak gerekir. Bu da ancak ADMA gibi hücreye özgü, yarışmalı NOS inhibitörleri ile başılır. Son dönemlerdeki deneysel sonuçlar, ADMA'yı metabolize eden DDAH aktivitesinin aktif bölgesinin doğrudan NO tarafından S-nitrosilasyonu ile düzenlendiği olasılığını göstermektedir; yani NO, DDAH, ADMA ve NOS arasında düzenleyici bir geri besleme halkası oluşturmaktadır (Yılmaz ve ark., 2007). Endotelial vazodilatör disfonksiyonun mekanizmaları multifaktöryeldir ve vasküler hastalıkların niteliğine bağlıdır. Endotelial vazodilatatör disfonksiyon artmış vazokonstriktör ve/veya azalmış vazodilatatör etkiden dolayı olabilir. Azalmış vazodilatatör etkinin nedenlerinde, NOS yolunun dengesizlikleri en çok incelenmiştir (Cooke, 2000). Düşük konsantrasyondaki NO'nin hemoglobine bağlanma affinitesi oksijene nazaran oldukça yüksektir. Hemoglobin oksijen formunda ise NO'yi önce nitrite (NO<sub>2</sub>) ardından nitrate (NO<sub>3</sub>) oksitler. Dolayısıyla dolaşımdaki oksijen-hemoglobin NO'nin kuvvetli bir oksidant olup onun etkilerini engelleyen bir inhibitördür (Ercan ve ark., 2003).

### **2.3.6. Asimetrik dimetilarginin**

Pek çok dokuda doğal protein döngüsü sırasında arjinin kalıntılarından oluşan ve plazma, idrar ve dokularda bulunan, arjinine benzeyen bir aminoasittir (Selçuk ve ark., 2008). 1992 yılında Vallance ve arkadaşları da insan plazma ve idrarında endotelial nitrik oksit sentaz'ın (eNOS) endojen inhibitörü olarak, enzime bağlanmak için L-arjinin ile yarışan (Konishi ve ark., 2007), ADMA'nın varlığını tanımlamışlardır. ADMA, çoğunlukla nükleusta bulunan, metillenmiş arjinin rezidüleri içeren polipeptidlerin veya proteinlerin katabolizmasından oluşur ve proteinlerin hidrolizi sonucu serbestleşir (Valkonen ve Laaksonen, 2004). Proteinler bir kez hidrolizlendiği

zaman serbest metilarjininler sitozolde gözüktür (Vallance ve Leiper, 2004). ADMA'nın vasküler hastalıklarla ilişkisi oldukça ilgi çekmiş ve çeşitli vasküler hastalıkların tanısında, prognozun izlenmesinde ve tedavi etkinliğinin değerlendirilmesinde bir belirteç olup olamayacağı konusuna yanıtlar aranmaya çalışılmış ve halen de çalışılmaktadır (Alaçam, 2008).

**ADMA'nın sentezlenmesi:** Hücrenin hayatta kalmasının esansiyel bir komponenti protein degradasyonudur ve bu hücrenin ve plazma arjinin ve metilarjininin major bir kaynağıdır. Metillenmiş arjinin bileşikleri hücre içerisinde başlıca PRMT (protein arjinin metil transferaz) enzimi tarafından sentezlenmektedir. İlk kez Piak ve ark tarafından tanımlanan PRMT'nin başlıca 2 tipi vardır: PRMT I ve II. PRMT I hücrede daha çok çekirdekte bulunurken, PRMT II daha çok sitozolde bulunmaktadır. PRMT I enzimi başlıca histon ve histon-dışı nükleer proteinleri metillerken, PRMT II ise sadece miyelin bazik proteini metillemektedir. Bu enzimler proteinlerin yapısında bulunan arjininlerin guanidino grubundaki azotlara metil grubu eklemektedirler. Tip I guanidino grubundaki azotlardan sadece birini metillerken, tip II ise 2 azotu da metillemektedir (Alaçam, 2008; Erdem ve Ünlü, 2009; Cooke, 2000). Protein arjinin metilasyonu post translasyonel bir modifikasyondur. Protein arjinin metilasyonunun rolü net değildir, fakat bu sürecin RNA bağlanması, transkripsiyonel süreç, DNA tamiri, protein lokalizasyonu, protein-protein etkileşimi, sinyal transdüksiyonu, reseptörlerin desentizasyonu veya tekrar kullanımından sorumlu tutulmaktadır (Vallance ve Leiper, 2004). ADMA ve (N-monometil L-arjinin) L-NMMA sentezi için arjinin rezidülerini metilleyen, protein arjinin metil transferaz tip I (PRMT-I) enzimi gereklidir. Metil grubu vericisi olarak S-adenozil metionin (SAM) kullanılır. PRMT-I kalpte, düz kas hücrelerinde ve endotel hücrelerinde ekspre edilir. Protein arjinin metil transferaz tip II (PRMT-II) ise simetrik dimetilarjininin (SDMA) oluşumunda görevlidir (Işıklar ve Mutaf, 2010). ADMA ile L-NMMA, NOS'un endojen inhibitörüdürler fakat SDMA'nın NO sentezi üzerine direk inhibitör etkisi yoktur (Vallance ve Leiper, 2004).



**Şekil 4.** Metilarjininlerin üretilmesi ve metabolizması (SAM: S-adenozil metiyonin, SAH: S-adenozil homosistein) (Jacobi ve Thaso, 2008)

Metil arjininler (ADMA, SDMA ve L-NMMA) katyonik aminoasit taşıyıcısı olarak bilinen  $y^+$  taşıyıcısı sistemi ile taşınmaktadır.  $y^+$  taşıyıcısı aktivitesini kaveolin bağlı NOS ile aynı yerde gösterir.  $y^+$  taşıyıcısı aktivitesi, metilarjininlerin lokal konsantrasyonların saptamada önemli olabilir. L-arjinde bu taşıma sistemini kullanmaktadır. Metilarjininler, hücre içine transport için birbirleriyle ve arjininle yarışır. Transport sistemi, metilarjininleri hücre içi düzeyleri dolaşımdaki düzeylerinden daha fazla olacak şekilde endotel hücreleri içinde yoğunlaştırır.  $y^+$  taşıyıcısı sisteminde herhangi bir defekt, dolaşımdaki ADMA düzeylerinde artışa neden olur. Bu da NO sentezinde azalmaya sonuçlanır. Çeşitli hastalıkların patogeneğinde  $y^+$  taşıyıcısı sistemi önemli yer tutar (McDonald ve ark., 1997).

**ADMA'nın vücuttan uzaklaştırılması:** ADMA'nın katabolizmasında 3 önemli yol mevcuttur. Birincisi: ADMA'nın dimetilarginine dimetilaminohidrolaz (DDAH) enzimi tarafından sitrülün ve dimetilaminlere ayrılmasıdır (%90'dan fazlası) (Tran ve

ark., 2003). İkincisi; ADMA'nın değişmeden böbreklerden atılmasıdır (~ %5). Üçüncüsü; dimetilarjinin pruvat aminotransferaz enzimi tarafından (Cable ve ark., 2009)  $\alpha$ -ketoasitlere dönüştürülmesidir (<%5). SDMA neredeyse tamamen renal ekspresyon ile elimine edilmesine rağmen, ADMA ve L-NMMA, kapsamlı bir şekilde metabolize edilir. İV olarak enjekte edilen SDMA'nın %60'ı idrarda geri kazanılırken, İV verilen ADMA'nın sadece %5'i idrarda çıkmıştır (Cooke, 2000). DDAH enzimi stoplazmik lokalizasyonludur ve iki izoformu vardır: Tip I DDAH aktivitesi böbrekte ve beyinde fazlayken, Tip II DDAH aktivitesi ise kalpte, plasentada ve böbrekte oldukça fazla bulunmaktadır (Valkonen ve Laaksonen, 2004). Yani DDAH-I, tipik olarak nöronal NOS'un ekspresyonu olduğu dokularda bulunmakta iken, DDAH II ise eNOS'u içeren dokularda daha fazla bulunmaktadır (Işıklar ve Mutaf, 2010). DDAH enzimini kodlayan genlerde fonksiyonel varyantlar bulunabilir. DDAH enzimlerinin aktivite ve ekspresyonunda ki bu varyasyonlar vasküler olayların riskini artırabilir (Valkonen ve ark., 2005). ADMA metabolizasyonu DDAH enziminin tersiyer yapısındaki aktive sistein tarafından, ADMA molekülünün guanidino bölümü üzerine nükleofilik bir saldırı kapsar. Ayrıca bu sistein NO tarafından oksidasyon ve regülasyona duyarlıdır. İn vivo NO sentezini düzenlemede DDAH aktivitesinin kritik bir rolünü gösteren bazı hayvan ve insan çalışmaları vardır (Valkonen ve ark., 2005). DDAH aktivitesini etkileyen bazı durumlar:

- Endotel hücre kültürlerinde okside-LDL veya TNF- $\alpha$  tarafından indüklenen oksidatif stres, DDAH aktivitesini azaltmaktadır. Bu da ADMA düzeylerini artırmaktadır (Lu ve ark., 2003).
- Homosistein, redoks aracılığı mekanizma ile DDAH aktivitesini azaltarak, ADMA düzeylerinin artmasına neden olur.
- NO'nun aşırı üretimi (indüklenebilir NOS artışına bağlı olabilir), DDAH'ın aktif bölgesindeki sistein rezidülerinin S-nitrolizasyonuna, dolayısıyla DDAH'nin inaktivasyonuna yol açmaktadır. Yani NO, DDAH, ADMA ve NOS arasında düzenleyici bir geri besleme halkası oluşturmaktadır (Yılmaz ve ark., 2007).

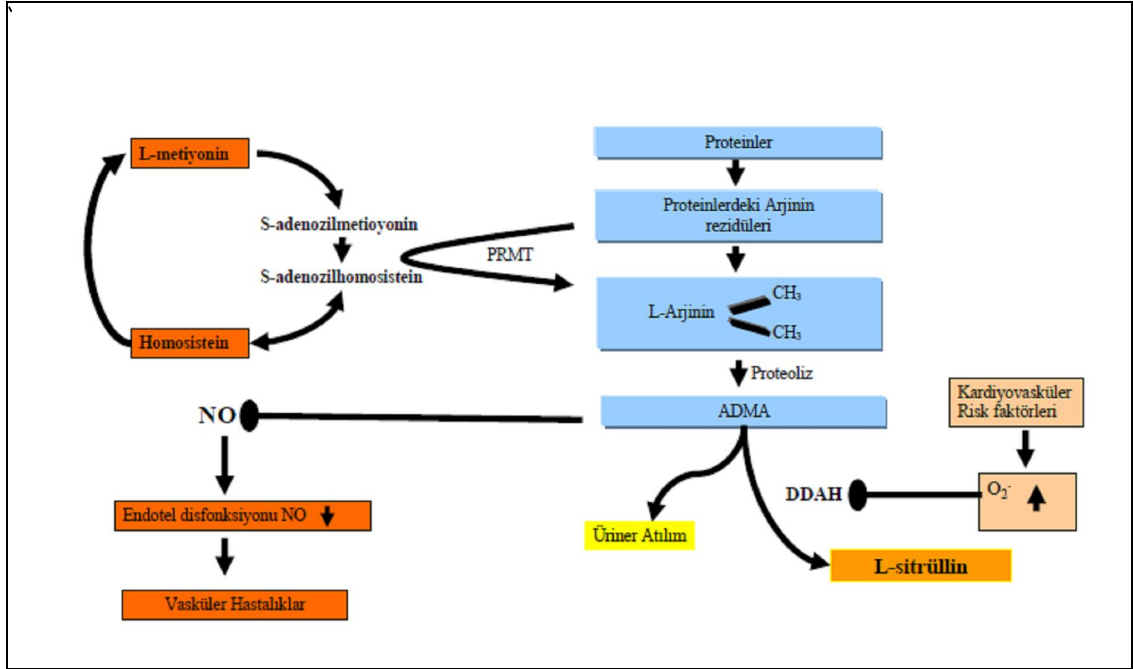


- All-trans-retinoik asit asidin ise, DDAH-II ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Böylece ADMA'yı azaltmak yoluyla endotel hücrelerinde NO sentezini arttırdığı gözlenmiştir.
- Östrojen veya östrojen-progestron tedavisi DDAH aktivitesini artırarak plazma ADMA düzeylerini düşürür (Işıklar ve Mutaf, 2010).
- Yapılan çalışmalarda glukozun kendisinin de DDAH aktivitesini baskılayabileceği sonucuna da varılmıştır (Erdem, 2006).

**Hücre içi ADMA:** ADMA hücre içinde üretilir ve sellüler düzeyleri patofizyoloji ile değişir (Vallance ve Leiper, 2004). Hücre içinde üretilmiş ADMA'nın miktarı proteinlerde arjinin metilasyonunun büyüklüğüne ve protein turnoverinin hızına bağlıdır. (Vallance ve Leiper, 2004). Damar duvarında ADMA oluşum hızı, kısmen de PRMT ekspresyonundaki değişiklikler ile düzenlenmektedir. PRMT-I ekspresyonu aynı zamanda LDL-kolesterol ekspresyonu ile artabilir ve etki, yine, değişmiş ADMA üretimi ile ilişkili gibi görünmektedir

Endotel hücrelerinden ADMA'nın dolaşıma verilmesi ise; arjinin metilasyon oranı, metilenmiş arjinin içeren proteinlerin hidroliz hızı, DDAH tarafından ADMA'nın metabolize edilmiş oranı ve hücrelerden aktif çıkış oranı arasındaki dengeye bağlıdır. Her bir komponentin önemi tam olarak anlaşılmasına rağmen, DDAH'ın metabolik komponenti oldukça yüksektir ve hücre içindeki toplam ADMA seviyelerinin genellikle major belirteci olması muhtemel gibi görünmektedir (Vallance, 2004; Yılmaz ve ark., 2007). ADMA oldukça stabil bir moleküldür ve hücreler arasında rahatça dolaşabilmekte ve etkisini serbest olarak gösterebilmektedir. Mesela damar düz kas hücresinde üretildikten sonra etkinliğini endotel hücresi üzerinde gösterebilir, yani bir hücre tipinde yapılan ADMA diğer bir hücre tipindeki NOS'ı inhibe edebilir. Yine bu etkileşim makrofajlar ve endotel hücrelerinde de kesin olarak gösterilmiştir (Alaçam, 2008; Vallance, 2004). Endotel hücrelerinde PRMT ve DDAH'ın her ikisi de ekspres olur. ADMA birikimi, DDAH inhibisyonuna yol açar. Vasküler sistemde DDAH inhibisyonu, ADMA'nın yüksek düzeyleriyle ilişkili endotel fonksiyon değişikliklerini oluşturur. ADMA NOS'un 3 izoformunu da inhibe etmektedir. Ancak, inhibisyon ortamdaki arjinin düzeyine bağlıdır. ADMA, NO oluşumunu engellemesi yanında

süperoksit anyonlarının oluşumuna da yol açar. Milimolar konsantrasyonlarda metilarjininler, Na-K<sup>+</sup>-ATPaz'ı inhibe edebilirler (Işıklar ve Mutaf, 2010).



Şekil 5. Asimetrik dimetilarjininin biyokimyasal yolu (Valkonen ve Laaksonen, 2004)

Sağlıklı insanlarda, ADMA'nın infüzyonu artmış arteriyel sertlik, azalmış serebral kan akımı, artmış sistemik vasküler rezistans ve azalmış renal kan akımına (Wilson, 2010), kardiyak atımda ve kalp hızında bir düşüşe neden olmuştur, bu değişiklikler vasküler dirençteki değişikliklerden önce gelmiştir (Vallance ve Leiper, 2004).

**Dolaşımdaki ADMA:** Sağlıklı kişilerde plazma ADMA düzeyleri 0,2-1,2 µmol/L arasındadır. Ancak çoğu hastalık durumlarında (~3µmol/L'e varan) (Vallance, 2004) artış göstermektedir (Işıklar ve Mutaf, 2010). Omirilik sıvısı ilgili konsantrasyonlar 0,01-0,07 µmol/L arasındadır (Landim ve ark., 2009). Metilarjininlerin çok düşük konsantrasyonları bile derin etkiler gösterir. DDAH'ın aşırı salgılandığı hayvanlarda, plazma ADMA düzeylerini 0,4-1,0 µmol/L'ye kadar azaltabilir. Plazma ADMA düzeylerinde bu küçük değişiklikler bile damar koruyucudur ve vasküler lezyon fonksiyonuna dirençle ilişkilidir (Wilson ve ark., 2010). Her gün,

260 µmol ADMA metabolize edilir ve 60 µmol ADMA idrarla atılır. ADMA'nın idrarla atılımının tamamen bozulması plazma ADMA düzeylerinde artışa neden olur. Plazmada ADMA seviyeleri pek çok hastalıkta yüksek olarak saptanmıştır (Tablo7). Birkaç prospektif ve kesitsel çalışmada ADMA kardiyovasküler riskin bir belirteci olarak tanımlanmıştır. Kardiyovasküler hastalıkların patogenezinde ADMA'nın rolü ile ilgili artan bilgiler onu yeni tedavi stratejilerinin hedefi haline getirmiştir. Bu stratejiler arasında yüksek ADMA seviyeleri bulunan kişilere L-arginin verilmesi (ADMA'nın yarışmalı inhibitörü), ADMA'yı metabolize eden DDAH enzim aktivitesinin artırılması, DDAH'yı kodlayan genlerin ekspresyonunun artırılması veya ADMA'nın oluşmasından sorumlu protein arginin metil transferaz enzim aktivitesinin baskılanması sayılabilir (Işıklar ve Mutaf, 2010). Yükselmiş ADMA düzeyleri için bir açıklama artmış NO üretiminin bir sonucu olarak DDAH'ın S-nitrozilasyonu olabilir. DDAH'nın aktif sahasındaki reaktif sistein kalıntısı oksidatif veya nitrosatif stres için en hassas yerdir (Valkonen ve Laksonen, 2004).

Tablo 5. Plazma asimetrik dimetilarjinin düzeylerinin yüksek olarak saptandığı klinik durumlar (Işıklar ve Mutaf, 2010)

|                                |
|--------------------------------|
| • Hiperkolesterolemi           |
| • Hipertrigliseridemi          |
| • Hiperhomosistinemi           |
| • Endotel disfonksiyonu        |
| • Ateroskleroz                 |
| • İnsülin direnci              |
| • Tip II diabetes mellitus     |
| • Hipertansiyon                |
| • Preeklamsi                   |
| • Pulmoner hipertansiyon       |
| • Koroner arter hastalığı      |
| • Konjestif kalp yetmezliği    |
| • Periferik arter hastalıkları |
| • Trombotik mikroanjyopati     |
| • Konjestif böbrek yetmezliği  |
| • Şizofreni                    |
| • İnme                         |

### **2.3.6.1. Asimetrik dimetlarjinin ve endotelyal disfonksiyon**

NOS'ın endojen inhibitörü olarak ADMA'nın önemi ilk kez Vallance ve ark. (1992) tarafından son dönem böbrek hastalığı olan kişilerde tanımlanmıştır. Bu hastalarda renal klirensin azalması sonucu artmış plazma ADMA düzeyleri diyaliz ile düşürülerek endotel fonksiyonunda düzelme sağlanmıştır. Daha sonraki çalışmalarda, artmış ADMA düzeyleri ile endotelyal vazodilatör disfonksiyon arasında ilişki birçok kez ortaya konmuştur (Işıklar ve Mutaf, 2010). Endojen NOS inhibitörü ADMA'nın artmış düzeylerinin endotelyal disfonksiyona ve kardiyovasküler hastalıklara katkıda bulunabileceğini gösteren artan kanıtlar vardır ve ADMA endotelyal disfonksiyon için bir risk faktörü kabul edilmektedir (Cooke, 2000). Ancak, endotelyal disfonksiyona yol açan L-arjinin-NO yolunun bozukluğunun mekanizması hala tam olarak belli değildir (Lu ve ark., 2003). Plazma ADMA seviyesindeki yükselmenin mi endotel disfonksiyonuna neden olduğu, yoksa endotel disfonksiyonunun mu ADMA seviyelerini artırdığı kesin olarak bilinmemektedir (Çelik ve ark., 2008). Hiperhomosistinemi, hiperkolesterolemi, sigara kullanımı ve yaşlanma gibi kardiyovasküler risk faktörleri ve koroner ve periferik arter hastalıkları birçok bireyde, NOS inhibitörü ADMA ve N-monometilarjinin endotelyal vasküler disfonksiyondan sorumlu olabilir (Cooke, 2000). ADMA, NOS aktivitesini inhibe ettiğinden dolayı NO düzeylerinde bir azalmaya yol açmakta hem NO sentezinde hem de NO biyoyaralanımında bir azalma endotelyum-bağımlı relaksasyon değişimi ve endotelyal disfonksiyonda erken ve en önemli fenomeni oluşturmaktadır (Bermutez ve ark., 2008).

### **2.3.6.2. Asimetrik dimetilarjinin ve oksidatif stres:**

Çeşitli deneysel hayvan modellerinde ve hastalıklarında artmış ADMA düzeyi, artmış oksidatif stres ve endotel disfonksiyon arasında anlamlı ilişkiler saptanmıştır. Endotel hücre kültürlerinde veya endotelyal disfonksiyonu olan hastalarda artmış ADMA'nın vasküler superoksit düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir. eNOS aktivitesini anlamlı olarak inhibe eden konsantrasyonlarda, oksidatif stres vasküler yatakta ADMA sentezini uyarabilir ve ADMA'nın degradasyonunu inhibe edebilir ve hatta ayrı bir enzim (ayrık eNOS) pozitif bir feedback şeklinde superoksit üretimini daha da arttırabilir. Yükselmiş ADMA konsantrasyonları ve bozulmuş ED'na yol açan ayrı bir eNOS arasında

direk ilişki varlığını düşünmemizi özendirilen pek çok çalışma vardır (Sydow ve Münzel, 2003).

ADMA en azından kösmen ayrık-eNOS'a sebep olarak OS'e katkıda bulunabilir. Bundan dolayı, ADMA vasküler doku içinde sadece bir marker değil, aynı zamanda OS'in bir mediatörüdür. Bu hipotez son bulgularla desteklenir ki, ADMA inkübasyonu aşağı doğru NO sinyalleme yolunun inhibisyonuna, ROS üretiminde bir artma ve izole edilmiş tavşan aortik segmentlerinde ardışık endotelial disfonksiyona yol açar. Yine, OS arjinin metilleyen enzimlerin (PRMT) gen ekspresyonu aktivitesini artırır. Sydow ve Münzel (2003) ADMA yk>m>nda görevli enzim olan DDAH enziminin aktif yerindeki reaktif sistein rezidülerinin (Cys-249) varlığında, süperoksit gibi reaktif oksijen türleri tarafından oksidasyonun yan> sıra S-nitrolizasyon tarafından DDAH'n aktivitesini azaltarak artmış ADMA konsantrasyonuna neden olduğu sonucuna varılmıştır. Süperoksit anyonu gibi oksijen-kaynaklı serbest radikallerin artmış ürünleri ile endotelial disfonksiyon arasında da bağlantı kuracak klinik ve deneysel kanıtlar vardır. Okside LDL kolesterol, inflamatuvar sitokinler, hiperhomosistinemi, hiperglisemi ve infeksiyöz ajanlar gibi çok sayıda patolojik stimuluslar süperoksit oluşumunu artırarak endotelial oksidatif stresin artışına neden olur (Cooke, 2004).

Endotelial disfonksiyona sebep olan yükselmiş ADMA konsantrasyonları ve artmış oksidatif stresin önemini aydınlatmak, ADMA konsantrasyonlarını düşürmek ve olası tedavi seçeneklerini değerlendirmek için ADMA'nın in vivo verilmesi ile ilgili deneyler yararlı olabilir (Sydow ve Münzel, 2003). Son zamanlarda, birkaç çalışma ADMA plazma konsantrasyonları üzerine farklı tedavi müdahalelerinin etkisini gösterdi. Exojen L-Arjinin desteğinin yanında, ACE inhibitörleri, Anj II reseptör, alt-subtip blokeri (AT<sub>2</sub>-reseptör blokeri), statinler, antidiabetikler, antioksidanlar, hormon replasman terapileri,  $\beta$ -blokerler, folik asit ve kombine edilmiş B vitaminleri ile tedavi gösterildi. Yukarıda söz edilen durumlar göstermiştir ki, bu maddeler, süperoksit üretimini azaltabilir, vasküler dokuda oksidatif stresi anlamlı olarak etkileyebilir ve eş zamanlı olarak plazma ADMA konsantrasyonu yükselmiş hastalarda prognozu ve endotelial fonksiyonu düzeltebilir (Sydow ve Münzel, 2003). Ayrıca egzersiz gibi diğer durumlarında ADMA'yı azalttığı düşünülmektedir (Buğdaycı ve Serin, 2005).

ADMA'nın anti anjiyogenik etkileri NO'in prekürsörü olan L-arjininin eklenmesi ile geri döndürülebilir (Arç ve ark., 2009).

### 2.3.7. Homosistein

Homosistein, metiyonin metabolizmasında bir ara ürün olarak oluşan ve (Undas ve ark., 2005) ve insan vücudunda bilinen hiçbir proteinin yapısına katılmayan bir amino asittir. Metiyonin ekzojen (esansiyel) bir amino asit olup diyetle hayvansal gıdalardan alınır ya da homosisteinin remetilasyonu sonucu oluşur. Yapısında sülfidril gurubu bulduran homosisteinden metioninin farkı 4. pozisyondaki kükürt atomuna bir metil gurubu bağlanmasıdır. Metionin ve homosistein birbirlerinin öncülleridir ve birinin yapımı diğerinin yıkımı niteliğindedir. Böylelikle metionin döngüsünü oluştururlar (Kılıç Baygutaalp, 2012). Metionin hem protein sentezi hem de S-adenozilmetionin (SAM) oluşmasını sağlayan bir maddedir. SAM birimlenmesi adenzin-3-fosfat (ATP) ve metionin adenzil transferaz (MAT) aracılığı ile gerçekleşir. SAM'ın metil gurubu DNA metil transferaz aracılığı ile koparılarak, S-adenozil homosistein (SAH) oluşur. Bu molekülde daha sonra adenzin ve homosisteine hidroliz olur (Dikmen, 2004). SAM organizmada başlıca metil gurubu vericisidir. Ayrıca, SAM homosisteinin hangi metabolik yola gideceğinin belirlenmesinde önemli bir düzenleyicidir. SAM miktarı yükselmişse remetilasyon yolunun en önemli enzimi metilen tetrahidrofolat redüktaz enzimi inhibe olur ve transsülfürasyon yoluna yöneltilir (Derici ve Reis, 2002).

Total plazma homosisteininin yaklaşık %80'i disülfid köprüleriyle albümine bağlıdır. Bağlı olmayan homosistein türleri ise başlıca'' Homosistein-sistin''ve'' Homosistein-homosistein'' disülfidleri şeklinde bulunur. Dolaşımdaki tüm homosisteinin yalnızca %1'i serbest homosistein şeklinde bulunur. Total homosistein bütün bu serbest ve bağlı biyokimyasal homosistein türlerinin toplamını tanımlar (Koehler ve ark., 1996). Normal açlık total plazma homosistein konsantrasyonu 5-15 µmol/L olup, 15 µmol/L'den yüksek olmasına hiperhomosistinemi denir. Hiperhomosistinemi hafif (16-30µmol/L), orta (31-100µmol/L) ve ciddi (>100µmol/L) olarak üç grupta tanımlanır (Nygard ve ark., 1995).

**Homosistein Metabolizması:** Homosistein metabolizmasında transsülfürasyon ve remetilasyon olmak üzere başlıca 2 yol vardır.

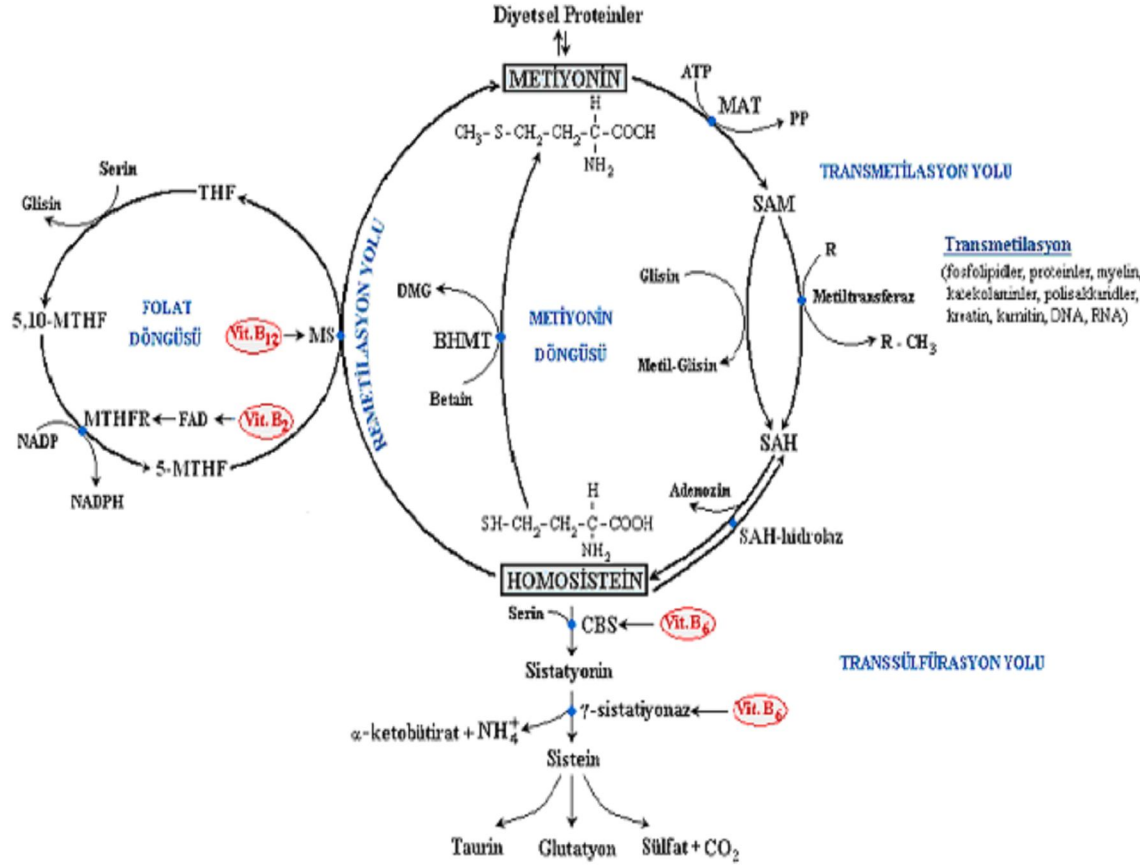
### 1. Homosisteinin remetilasyonu

Metioninin eksik olduğu durumlarda homosisteinden metionin remetilasyon yolu ile iki farklı yoldan iki farklı enzimle sentezlenir. Folat ve vitamin B<sub>12</sub>'den bağımsız olarak çalışan minör bir remetilasyon yolu olan kısa yol, betain homosistein metil transferaz (BHMT) enzimi, metil vericisi olarak betainin metil grubunu, homosisteine aktararak metiyonin oluştururken, kendisi de dimetilglisine dönüşmektedir. Folat ve/veya Vitamin B<sub>12</sub> eksikliğinde bu yol SAM sentezi için gerekli metioninin doku konsantrasyonunu sürdürmektedir. Uzun yolda; 5-metiltetrahydrofolat metil grubu vericisidir ve 5-10 metilentetrahydrofolat, metilentetrahydrofolat redüktaz (MTHFR) enzimi aracılığı ile 5-metiltetrahydrofolata dönüşür. 5-metiltetrahydrofolat'ın bir metil grubu, vitamin B<sub>12</sub> (kobalamin) bağımlı bir enzim olan metionin sentaz (MS) aracılığı ile homosisteine aktararak metionini oluştururken diğer taraftan da tetrahydrofolat oluşur. Daha sonra bu tetrahydrofolat tekrar 5-10 metilentetrahydrofolat'a dönüşür. Bu remetilasyon yolunda folat hem koenzim hem de kofaktör olarak kullanılmakta ve bu olay döngü şeklinde devam etmektedir. Bu metionin döngüsü tüm memeli hücrelerinde görülmektedir. MTHFR, FAD (flavin adenin dinükleotid) bağımlı bir enzimdir. Bu yüzden homosistein metabolizmasında suda çözünen 4 vitamine (folat, vitamin B<sub>2</sub>, vitamin B<sub>6</sub> vitamin B<sub>12</sub>) gereksinim duyulmaktadır. Bu dört vitaminin aktif koenzim formuna dönüşümünde bir harabiyet veya herhangi bir eksikliklerinde hiperhomosistinemi meydana gelmektedir (Kılıç Baygutaalp, 2012).

### 2. Homosisteinin transsülfürasyon yolu

Metionin fazlalığında veya sistein sentezinin gerektiği hallerde sistationin β sentaz'ın (CBS) aktive edilmesi ve remetilasyonun inhibe olması ile homosistein bu kez transsülfürasyon yoluna girer. Bu metabolik yolda homosistein, kofaktör olarak Vitamin B<sub>6</sub>'yı (pidoksin) kullanan CBS enzimi aracılığı ile irreversible olarak sistationine çevrilir. Sistationin ise vitamin B<sub>6</sub> kofaktörlüğünde γ-sistationaz enzimi ile sistein, alfa ketobütirat ve NH<sub>4</sub>'e hidrolize olur. Oluşan sisteinde glutatyonun yapısına girer ve ileriki aşamada sülfata metabolize edilerek heparan, heparan sülfat, dermatan

sülfat gibi glikozaminoglikanların yapısına katılarak idrarla atılır (Kılıç Baygutalp, 2012).



**Şekil 6.** Homosistein metabolizması. [MTHFR: Metilentetrahidrofolat redüktaz, MS: Metiyonin sentetaz, CBS: Sistatyonin β sentaz, BHMT: Betain homosistein metil transferaz, SAM: S-adenozil metiyonin, SAH: S-adenozil homosistein, THF: Tetrahidrofolat, DMG: Dimetilglisin].

### 2.3.7.1. Venöztromboemboli ve homosistein

Hiperhomosistinemi diğer risk faktörlerinin etkilerinden bağımsız bir şekilde koroner, serebral ve periferik ateroskleroz, inme, VTE (Undas, 2005) ve nöral tüp defektleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Memişoğulları ve Akçay, 2004). Yüksek plazma homosistein düzeyi DVT için de bir risk faktörüdür. Yapılan çalışmalarda yüksek homosistein düzeyi ve venöz tromboz arasında ilişki bulunmuş ve bu birliktelik



kadınlarda erkeklerdekine göre daha belirgin olmuştur (Marks, 2000). Hiperhomosistinemi ilk VTE atağı ile gelen hastaların %10'unda saptanmaktadır. Sağlıklı kontrollerle kıyasla bu hastalardaki risk artışı 2,3 olarak saptanmıştır (Atahan ve ark., 2009).

Dentali ve ark. (2007) provoke olmamış DVT'li hastalarda kontrol grubuna göre hiperhomosistinemiye daha yaygın bulmuşlardır. Tam olarak açıklanamamış mekanizmalarla hiperhomosistinemi DVT'ye neden olabilir fakat bu mekanizmalar endotelium üzerine ve koagülasyon kaskadı üzerine etkileri içerebilir. Hiperhomosistinemi kalıtsal veya akiz (edinsel) sebeplerle ortaya çıkabilmektedir. Hastalığın moleküler genetik çalışmasında MTHFR gen mutasyonu hiperhomosistineminin en sık sebebidir. MTHFR gen mutasyonları ve hiperhomosistinemi ile VTE ve gebelik komplikasyonları arasında bir ilişki bulunmamıştır (Anonim, 2011). Hiperhomosistinemi ile ilgili mutasyonların hiçbiri tam olarak tromboz riskinde artış ile ilişkilendirilmediğinden MTHFR ve CBS mutasyonlarının taraması rutinde önerilmez (Öner ve ark., 2003). Hiperhomosistineminin nadir nedenlerinden biri olan himisistinüri, sistatyonin  $\beta$  sentaz enziminin homozigot eksikliği sonucu oluşur. Sonradan ortaya çıkan yüksek homosistein düzeylerinde ise, hastada folat eksikliği, vitamin B<sub>6</sub> ve B<sub>12</sub> eksiklikleri, kronik böbrek yetmezliği, hipotroidi, psöriazis, inflamatuvar bağırsak hastalığı, ilaçlar (metotreksat, L-dopa, tiazidler, siklosporin-A), sigara araştırılabilir. Belirtilen etiyolojik sebep ortadan kaldırılırsa, homosistein düzeyinin normale gelmesi ile tromboz için bir risk faktörü ortadan uzaklaştırılmış olur (Uncu, 2008).

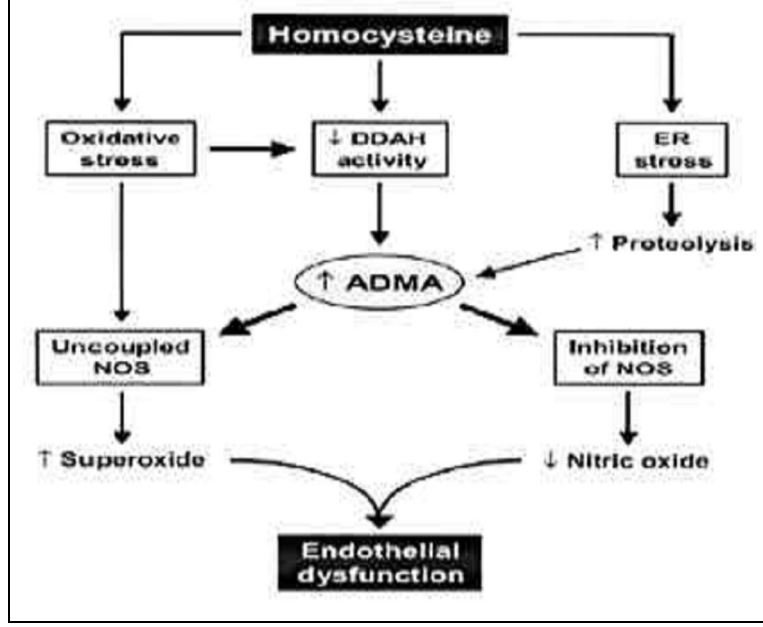
Homosisteinin aterogenez, ateroskleroz ve trombozda oynadığı roller kesin olarak bilinmemesine rağmen, son yıllarda yapılan çalışmalar hiperhomosisteineminin hızla okside olarak süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijenlerin yapımına neden olarak vasküler endotel hücrelerinde hasara yol açabileceği, lipid oksidasyonuna neden olduğu, artmış Faktör V ekspresyonu, protein C inaktivasyonu ile endotelin antikoagülan özelliğini prokoagülana çevirebildiği, in vitro düz kas hücrelerinde proliferasyona neden olabildiği ve kollojen yapımını arttırdıkları, monositlerde doku faktörü yapımını arttırdıkları ve trombositlerde tromboksan sentezini arttırdığı böylelikle vasküler hasara neden olabileceği ileri sürülmektedir. Ayrıca NO

salınım ve/veya etkilerinin azalması hiperhomosistinemide gözlenen trombotik olaylara neden olabilir (Temel ve Özerel, 2002).

Folik asidin, vitamin B<sub>6</sub> ve vitamin B<sub>12</sub> ile birlikte veya tek başına kullanım plazma homosistein seviyesini düşürebildiği ileri sürülmektedir (Dikmen, 2004). Son zamanlarda ülkemizde yapılan bir araştırmanın sonucu plazma homosistein düzeyleri 15 micmol/L'nin üzerinde olanlara folat desteğinin yararlı olacağı düşünülmektedir (Kocabalkan ve ark., 2000).

### 2.3.7.2. Asimetrik dimetilarjinin ve hiperhomosistinemi

Hiperhomosistineminin insan plazma ADMA konsantrasyonlarını arttırdığına dair güçlü deliller vardır (Sydow and Münzel, 2003). Homosisteinin fazlalığı, ADMA'da bir artma ile kardiyovasküler riske katkıda bulunabilir, bu da hiperhomosistinemi ve endotelial disfonksiyon arasında önemli bir bağlantı olarak kabul edilir. Bunun yanında homosistein, ADMA sentez yolağındaki metilasyon siklusunun bir parçasıdır. SAM arginin metilasyonunu sağlayan metil donörüdür. Hiperhomosisteinemde proteinler ile arjinin rezidülerinin artmış metilasyonu ADMA birikiminin muhtemel mekanizmalarından (Landim ve ark., 2009). Ayrıca, hiperhomosisteinemde ADMA yükselmesini ADMA'yı metabolize eden DDAH enziminin aktif bölgesindeki sistein kalıntısı ile homosisteinin direk kimyasal reaksiyona girdiği veya oksidatif strese neden olarak DDAH'ı inhibe ettiği in vitro çalışmalarla gösterilmiştir. ADMA, endotelial fonksiyon ve homosistein yakından ilişkili gözükmektedir. Kronik hiperhomosisteinemde ADMA'nın yüksekliği bozulmuş endotelial-relaksasyon ile ilişkiye dayandırılmıştır (Stühlinger ve ark., 2005). Hiperhomosisteinemde endotel bağımlı relaksasyonun bozulması NO'nun biyoyararlanımının azalması sonucunda olmaktadır. Biyoyararlanımının azalması başlıca; üretiminin azalmasından, degradasyonunun artmasından veya nitrozotiyol türevlerinin oluşmasından kaynaklanmaktadır. Homosisteinin NO sentaz aktivitesine etki etmeden, düzeyini azalttığı bulgular mevcutsa da, mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır (Akkiprik ve ark., 2007). Tüm bulgulara rağmen hiperhomosisteineminin ADMA'yı nasıl artırdığının mekanizması tam olarak bilinmemektedir.



**Şekil 7.** Homosisteinin neden olduğu endotel disfonksiyon ve ADMA'nın olası rolü (Dayal ve Lentz, 2005).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Vaka seçimi

Çalışmamız Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi ve Van Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesinde doppler ultrasonografi ve d-dimer ölçümleri ile DVT tanısı konarak yatırılan 35 hastanın kan örneklerinde gerçekleştirildi. Hastaların 21'i kadın (20-62 yaş aralığında, ortalama yaş 40,44) 14'ü ise erkekti (25-64 yaş aralığında, ortalama yaş 50,41). Hastalar DVT dışında hipertansiyon, diyabet, hiperlipidemi gibi kardiyovasküler hikâyesi olmayan ve kardiyovasküler hastalıkla ilgili kronik ilaç kullanmayan şahıslardan oluşturuldu. Kontrol grubu olarak ise, hasta grubu ile yaş, BMI (vücut kitle indeksi) ve cinsiyet yönünden benzer özelliklere sahip 34 gönüllü birey alındı. Bunlarında 20'si kadın (23-60 yaş aralığında, ortalama yaş 40,11), 14'ü erkekti (22-73 yaş aralığında, ortalama yaş 52,26).

##### 3.1.2. Kan örneklerinin alınması ve hazırlanması

Herhangi bir antikoagülan madde içermeyen tüplere yaklaşık olarak 10 cc alınan venöz kan numunesi, 5 dk süreyle 5000 rpm/dk'de santrifüj edildi ve serumları ayrıldı. MDA, KAT, GSH-Px, ADMA, homosistein, vitamin B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> ve folik asit ölçümleri için serumlar -70° C'de derin dondurucuda bekletildi.

##### 3.1.3. Kullanılan cihazlar

Santrifüj cihazı: Alegra 2IR centrifuge Beckman Coulter Seri no:AGD00C002,Germany.

Hormon analizörü: Immulite 2000, DPC, USA

HPLC: Agilent Technologies 1100 Series-Germany

Derin dondurucu: Sanyo Lfc free, Seri no; 70101014, Japan

Spektrofotometre: Jasco, V-530 Seri no; B054460512, Japan

Vorteks: Type 16700 mixer. Seri no:233244

Hassas terazi: Sartorius Basic. Seri no:40.240.953

Ayarlanabilir otomatik pipetler: 20 µL,200 µL,1000 µL Gilson, .France

pH metre: Orion pH metre 420 A Seri no:011076

i-chroma reader: Boditech Med Inc. Seri no: PFRO8H140685, Korea.

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Parametrelerin çalışılmasında kullanılan yöntemler**

#### **3.2.1.1. Katalaz (CAT) tayini**

Serum katalaz aktivitesi Goth'un (1992) kolorimetrik metoduna göre ölçüldü. Bu yöntemde serum H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> substratıyla inkübe edilir ve amonyum molibdat eklenerek reaksiyon durdurulur. Molibdat ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tarafından oluşturulan sarı renkli kompleksin absorbanst> 405 nm'de spektrofotometrede ölçülür.

#### *Reaktifler:*

|   |                  |
|---|------------------|
| 1-Sodyum potasyum fosfat tamponu (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> +Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ) | Sigma 60 mM      |
| 2-Hidrojen peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) (fosfat tamponunda)                              | Sigma 65 µmol/ml |
| 3-Amonyum molibdat (MoO <sub>3</sub> )  | Sigma 32,4 mM    |

Çalışmanın yapılışı: 0,2 ml numune üzerine 1 ml substrat (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) eklenir ve bir dakika 37°C'de inkübe edilir. İnkübasyon sonunda 1 ml amonyum molibdat eklenip reaksiyon durdurularak 405 nm'de kör 3'e karşı absorbanst> ölçülür.

Kör 1: 1 ml substrat + 1 ml amonyum molibdat + 0,2 ml numune

Kör 2: 1 ml substrat + 1 ml amonyum molibdat + 0,2 ml tampon

Kör 3: 1 ml tampon + 1 ml amonyum molibdat + 0,2 ml tampon

Hesaplama:

$$\text{Katalaz aktivitesi (kU/L)} = \frac{\text{Absorbans kör 1} - \text{Absorbans Numune}}{\text{Absorbans kör 2} - \text{Absorbans kör 3}} \times 271$$

KAT aktivitesi kU/L olarak ifade edildi.

### 3.2.1.2. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) tayini

Serum GSH-Px aktivitesi Pleban ve ark.'nın (1982) tanımladığı metoda göre tayin edildi. Bu metotta okside glutasyon (GSSG) oluşum hızı 340 nm dalga boyunda indirgenmiş nikotin amid adenin dinükleotit fosfat'ın (NADPH), NADP'ye oksitlenmesi sonucu karışımın optik dansitesinde azalmanın tayini ile yapılmaktadır.

*Reaktifler:*

- |   |                    |
|---|--------------------|
| 1- Tris tamponu; (C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub> )  | Sigma 50mM, pH 7,6 |
| 2- Di sodyum etilen daimin tetraasetik asit (Na <sub>2</sub> EDTA)  | Sigma 1mM          |
| 3- Redükte glutasyon (C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub> S)                    | Sigma 2 mM         |
| 4- NADPH (C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> N <sub>7</sub> O <sub>17</sub> P <sub>3</sub> Na <sub>4</sub> ) | Sigma 0,2 mM       |
| 5- Sodyum azid (NaN <sub>3</sub> )  | Sigma 4 mM         |
| 6- Glutasyon redüktaz   | Sigma 1000 U/L     |
| 7- Hidrojen Peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )   | Sigma 8,8 mM       |

*Çalışmanın yapılışı;*

50 µl serum üzerine, 950 µl reaksiyon karışımı (50 ml tris tamponunda, 1 mmol Na<sub>2</sub> EDTA, 2 mmol redükte glutasyon, 0,2 mmol NADPH, 4 mmol sodyum azid ve 1000 Ü glutasyon redüktaz olacak şekilde) eklenerek, 5 dakika 37 ° C de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda karışımın üzerine 10 µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklenerek reaksiyon başlatıldı ve 3 dakika boyunca 340 nm de NADPH'daki azalma birer dakika arayla ölçülerek ΔA absorbans değeri hesaplandı. GSH-Px aktivitesi U/L olarak ifade edildi.

### 3.2.1.3. Asimetrik dimetilarginin (ADMA) tayini

ADMA ölçümü Agilent 1100 marka HPLC (High Performance Liquid Chromatography) cihazında Jones ve ark. (2010) ile Wu ve ark.'nın (2008) tarif ettikleri metodun modifiye şekliyle yapıldı. Serumun deproteinizasyonu amacıyla perklorik asit (HClO<sub>4</sub>) çöktürücü olarak kullanıldı. Bu amaçla 100 µl serum üzerine 100 µl çöktürücü reaktif eklendi ve 10 saniye vortekslendi. +4°C'de 10 dakika inkübasyona bırakıldı. 13.000 rpm'de 10 dakika santrifuj edildi. Daha sonra 25 µl süpernatant üzerine 180 µl türevlendirici OPA (O-Fitaldialdehid) reaktifi eklendi. Bu karışımın 20 µl'si HPLC sistemine enjekte edildi ve ADMA miktarlar µmol/L cinsinden ölçüldü.

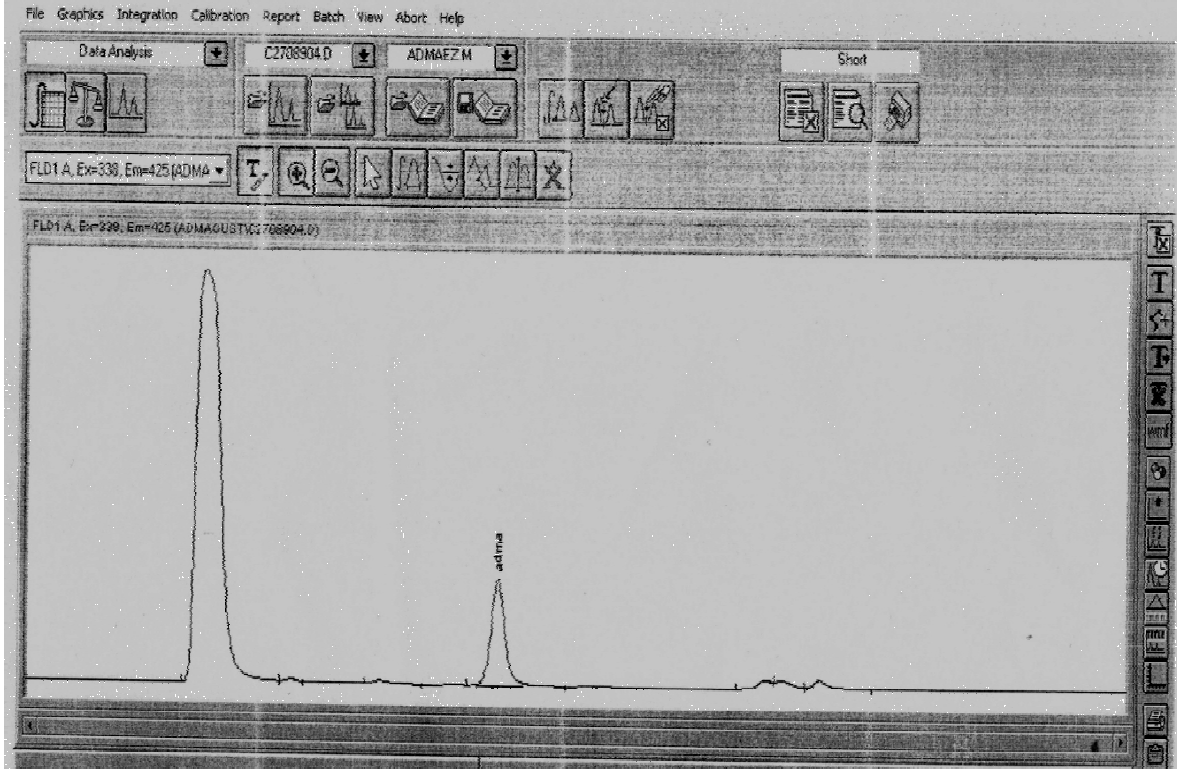
OPA floresan ışık veren bir reaktiftir ve ADMA ile bağlanarak floresan ışık verir. Verilen ışık floresan dedektörle ölçüldü. HPLC kolonu olarak 5µm genişliğinde porlara sahip C18 kolonu (150×4.6mm) kullanıldı. Mobil faz A ve mobil faz B olmak üzere iki çeşit mobil faz hazırlandı. Bu mobil fazların her ikisi de değişik konsantrasyonlarda (sırasıyla 25mM ve 50 mM) fosfat tamponu içermektedir.

Mobil faz akım gradienti cihaza yüklenmiş aşağıdaki programla ayarlandı.

Akış Programı

| Zaman(dk) | Mobil Faz A (%) | Mobil Faz B (%) |
|-----------|-----------------|-----------------|
| 0.01      | 95              | 5               |
| 3         | 88              | 12              |
| 5         | 0               | 100             |
| 10        | 0               | 100             |
| 10.01     | 95              | 5               |
| 15        | 95              | 5               |

Serumdaki analitlerin ayrılması için kolon sıcaklığı 25 °C'ye ayarlandı ve mobil fazın akım hızı 1 ml/dk olarak verildi. ADMA ölçümleri floresans dedektörle yapıldı. Floresan dedektörün eksitasyon dalga boyu 338 nm, emisyon dalga boyu ise 425 nm idi. ADMA konsantrasyonlarının hesaplanması için standart çözeltiler kullanılarak standart grafik çizildi. ADMA ölçümüne ait bir örnek kromatogram Şekil 8'de gösterilmiştir.



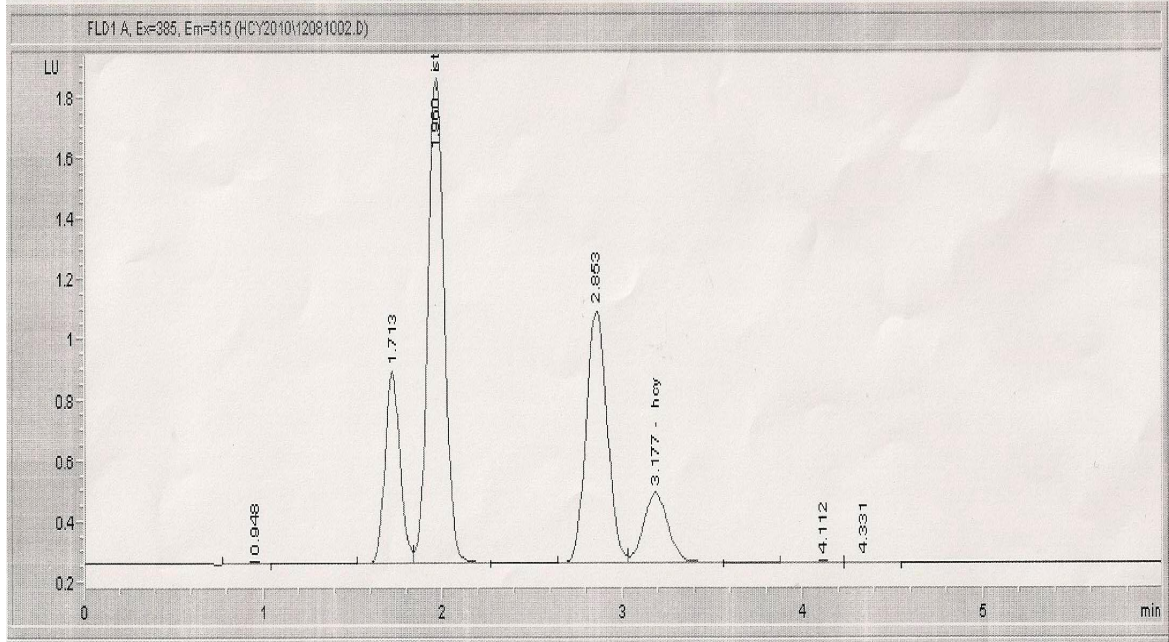
**Şekil 8.** ADMA için örnek kromatogram

#### **3.2.1.4. Homosistein tayini**

Chromsystems marka ticari kolon kullanılarak, Agilent 1100 marka HPLC cihazında tayin edildi. Bu yöntem ile total homosistein düzeyi ölçümü, değişik homosistein formlarındaki disülfid bağlarının sodyum borohidrid ile indirgenmesi, monobrombiman ile ayrıştırılması ve ayrışan homosisteinin HPLC cihazında floreskopik okuma ile ölçülmesi prensibine dayanmaktadır. Bu kitlerde modifiye silikondioksid kartilaj içeren 4.6X125 mm ters faz kolunu bulunmaktadır. Hareketli fazın akış hızı 1,7 ml/dak olarak ayarlandı. Sistemin serum Hcy ölçüm işlemi şu şekilde yapıldı: 100 µL serum, 25 µL internal standart ve 25 µL indirgeyici reaktif [tris(2-carboxyethyl) phosphine (TCEP)] ile karıştırıldı ve 5 dakika oda ısısında (~25 °C) inkübe edildi. Ardından proteinlerin çökmesi için 100 µL çöktürücü solüsyon [trichloroacetic acid (TCA)] eklendi. 30 saniye vortekslenerek 9000xg'de 5-7 dakika santrifüj edildi. Aynı bir reaksiyon tüpüne 100 µL thiol'e özel floresan boya içeren türevlendirici hazırlandı. Bu çözeltiliye, santrifüj edilmiş süpernatandan 50 µL eklendi. 50-55 °C'de 15 dakika inkübe edildi ve hızlı bir şekilde soğutuldu. 20 µL'si HPLC



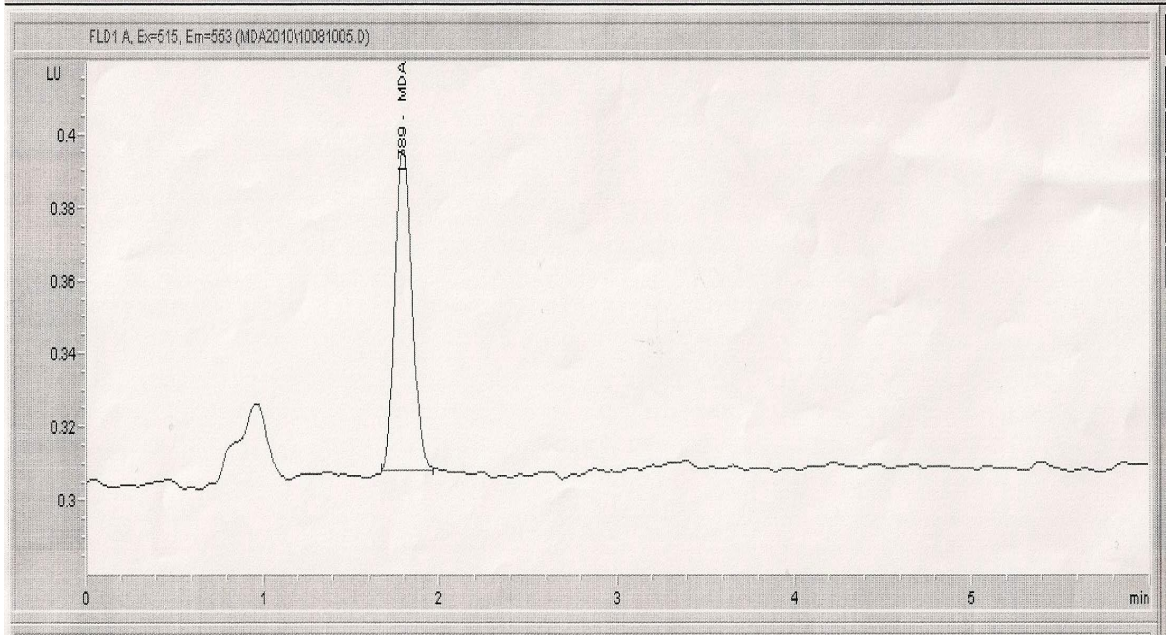
sistemine enjekte edildi. 385 nm eksitasyon-515 nm emisyon dalga boylarında ölçüm yapıldı. Serum örneklerinde serum Hcy düzeyleri  $\mu\text{mol/mL}$  olarak verildi. Hcy için kalibrasyon standartına ait örnek bir kromatogram şekil 9’da gösterilmiştir.



**Şekil 9.** Homosistein kalibrasyon standartına ait örnek kromatogram

### 3.2.1.5. Malondialdehid (MDA) tayini

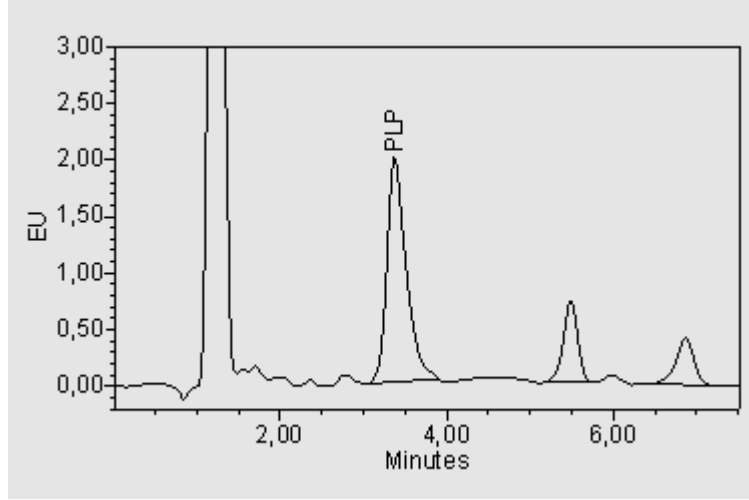
Chromsystems marka ticari kolon kullanılarak, Agilent 1100 marka HPLC cihazında tayin edildi. Serum MDA ölçüm işlemi şu şekilde yapıldı: 100  $\mu\text{L}$  seruma 500  $\mu\text{L}$  çöktürücü reagent eklenerek 10 sn vortekslendi. 5 dakika 13000 rpm’ de santrifüj edildi. Oluşan süpernatandan 500  $\mu\text{L}$  alınarak üzerine 100  $\mu\text{L}$  türevlendirici reaktif eklendi. 95 °C de 60 dakika inkübe edildikten sonra hızlı bir şekilde soğutuldu. 500  $\mu\text{L}$  nötralizasyon tamponu ilave edilerek 20 $\mu\text{L}$  HPLC sistemine enjekte edildi. MDA'nın oluşturduğu floresans, izokratik HPLC sisteminde, spektrofotometrik detektörle 553 nm emisyon ve 515 nm eksitasyon dalga boylarında ölçüldü. Serum örneklerinde MDA düzeyleri  $\mu\text{mol/L}$  olarak verildi. Şekil 10’da MDA kalibrasyon standartına ait örnek kromatogram verilmiştir.



**Şekil 10.** MDA kalibrasyon standartına ait örnek kromatogram

### 3.2.1.6. Vitamin B<sub>6</sub> tayini

Chromsystems marka ticari kolon kullanılarak, Agilent 1100 marka HPLC cihazında tayin edildi. Bu işlem şu şekilde yapılmıştır: 200 µl serum ile 300 µl presipitasyon reaktifi ışık korumalı reaksiyon şişesinde en az 30 saniye vortexlendi. Daha sonra +4 °C de 10 dakika inkube edilip, ardından 5 dakika 13000 rpm'de santrifüj edildi. Yeni bir ışık korumalı reaksiyon flakonuna oluşan supernatantın 250 µl'si koyulup üzerine 250 µl nötralizasyon reaktifi eklendi ve daha sonra 100 µl türevlendirici reaktif (siyanid içeren) eklenip kısa bir süre karıştırıldı. +60°C de 20 dakika (su banyosunda) inkube edildikten sonra soğuk suda (+4°C) 10 dakika soğutuldu ve 2 dakika 13000 rpm'de santrifüj edildi. Supernatant ışık korumalı otosampler flakon içine transfer edildi. 25-50 µl'si HPLC sistemine enjekte edildi. Vit B<sub>6</sub>'nın oluşturduğu floresans, izokratik HPLC sisteminde, spektrofotometrik detektörle 415 nm emisyon ve 320 nm eksitasyon dalga boylarında ölçüldü. Serum örneklerinde vit B<sub>6</sub> düzeyleri µgr/L olarak verildi. Şekil 11'de Vit B<sub>6</sub> kalibrasyon standartına ait örnek kromatogram verilmiştir.



**Şekil 11.** Vit B<sub>6</sub> kalibrasyon standartına ait örnek kromatogram

### 3.2.1.7. Vitamin B12 tayini

Siemens Immulite 2000 cihazında aynı marka kitler kullanılarak çalışıldı. Vitamin B12 ölçüm prensibi, otomatik alkali denatürasyon içeren bir katı faz yarışmalı kemiluminesans enzim immunoassay yöntemidir.

Immulite 2000’de yapılan işlem tek döngülü olup çalışılacak serum, içerisinde dithiothreitol (DTT) ve sodyum hidroksid/potasyum siyanid (NaOH/KCN) bulunan reaksiyon tüpüne eklenir. 30 dakikalık inkübasyon süresinden sonra eklenen örnek, vitamin B12 kaplı polystren boncuk ve hog (domuz) intrinsic faktör (HIF) içeren ikinci bir reaksiyon tüpüne transfer edilir. 30 dakikalık inkübasyon boyunca endojen bağlı proteinlerden salınan vitamin B12, HIF’e bağlanmak için immobil vitamin B12 ile yarışır. Son 30 dakikalık inkübasyonda eklenen alkalen fosfataz işaretli anti-HIF, B12 kaplı boncukların üzerindeki hareketsiz HIF’e bağlanır. Bağlı olmayan enzim konjugatları, yıkanarak santrifüj ile uzaklaştırılır. Substrat eklenir ve klasik immunoassay prosedüre devam edilerek okuma yapılır.

### 3.2.1.8. Folik asit tayini

Siemens Immulite 2000 cihazında aynı marka kitler kullanılarak çalışıldı. Folik asit ölçüm prensibi, yarışmalı kemiluminesant enzim immunoassaydir.

Immulate 2000’de yapılan işlem iki döngülü olup, hasta serumu, plazma ya da askorbik asit içeren tam kanda (eritrositlerdeki folatı ölçmek için) çalışma yapılabilir. Folik asitle işaretlenmiş ligandla birlikte örnek numune ilk olarak bir reaksiyon tüpünde dithiothreitol (DTT) ile reaksiyona sokulur. Daha sonra ise ikinci bir döngüde NaOH/KCN ile reaksiyona sokulur. Çalışılan örnek mürin (sıçan) antifolat bağlı protein antikoru ile kaplı polystyrene boncuk ve folat bağlı protein (FBP) içeren ikinci bir reaksiyon tüpüne transfer edilir. 30 dakikalık inkübasyon sırasında hasta serumunda bağlı proteinlerden salınan folik asit, FBP’ye bağlanabilmek için ligand işaretli folik asit ile yarışır. Boncuklar yıkanır ve alkalen fosfataz işaretli antiligandlar eklenir. Son 30 dakikalık inkübasyon sürecinde alkalen fosfataz işaretli antiligandlar, ilk inkübasyon esnasında boncuklara bağlanan ligand işaretli folata bağlanır. Bağlı olmayan enzim konjugatları yıkılarak santrifüjle uzaklaştırılır. Substrat eklenir ve klasik immunoassay prosedüre devam edilerek okuma yapılır.

### **3.3. İstatistiksel Analiz**

Üzerinde durulan özellikler için tanımlayıcı istatistikler, ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir. Hasta ve kontrol grubuna ilişkin ortalama değerler karşılaştırılırken bağımsız örneklem için t-testi kullanılmıştır. Ayrıca özellikler arasındaki ilişkiyi belirlemede; her grupta ayrı ayrı olmak üzere Pearson korelasyon katsayıları hesaplanmıştır. Hesaplamalar SPSS istatistik paket programında yürütülmüştür.

#### 4. BULGULAR

Kliniğe DVT şüphesi ile gelen hastalarda d-dimer seviyesi 500µgr/L'nin altında olanlar çalışmaya dahil edilmemiştir. Çalışmamızı oluşturan DVT'li hastalar ve kontrol grubuna ait bulgular ve bulguların istatistiksel olarak karşılaştırılması Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. Kontrol ve hasta grubuna ait bulgular

| Parametre           | Birim             | Kontrol grubu<br>(n=34) | Hasta grubu<br>(n=35) | p            |
|---------------------|-------------------|-------------------------|-----------------------|--------------|
| Yaş                 | Yıl               | 46,18±10,39             | 45,42±13,82           | 0,260        |
| VKİ                 | Kg/m <sup>2</sup> | 25,50±4,00              | 25,98±3,35            | 0,590        |
| GSH-Px              | U/L               | 467,49 ± 88,47          | 461,24± 87,88         | 0,769        |
| Katalaz             | kU/L              | 354,38±113,58           | 347,24±106,48         | 0,788        |
| MDA                 | µmol/L            | 0,09±0,05               | 0,13±0,06             | <b>0,005</b> |
| Homosistein         | µmol/ml           | 12,31±4,51              | 15,22±9,26            | 0,100        |
| ADMA                | µmol/L            | 0,37±0,19               | 0,51±0,38             | 0,074        |
| Vit B <sub>6</sub>  | µg/L              | 6,61±4,91               | 3,96±3,00             | <b>0,009</b> |
| Vit B <sub>12</sub> | pg/ml             | 297,09±161,07           | 257,62±163,12         | 0,310        |
| Folik Asit          | ng/ml             | 7,73±9,58               | 4,86±4,00             | 0,100        |

Hasta ve kontrol grupları için karşılaştırılan GSH-Px, katalaz, homosistein, ADMA, vit B<sub>12</sub> ve folik asit parametrelerinde ortalama değerler açısından istatistiki olarak bir farklılık bulunmamıştır (p>0,01). Ancak hasta grubunda MDA seviyesinin artışı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.005). Yine hasta grubunda Vitamin B<sub>6</sub> azalmas› da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (P=0.009).

Tablo 7'de kontrol grubuna ait parametreler arasındaki korelasyonlar ve Tablo 8'de de DVT'li hasta grubuna ait parametreler arasındaki korelasyonlar gösterilmiştir.

Tablo 7. Kontrol grubuna ait parametreler arasındaki korelasyon

|                     | Yaş   | VKİ    | GSH-Px | Katalaz | MDA   | Homosistein | ADMA  | Vit B <sub>6</sub> | Vit B <sub>12</sub> | Folik asit |
|---------------------|-------|--------|--------|---------|-------|-------------|-------|--------------------|---------------------|------------|
| Yaş                 | 1     |        |        |         |       |             |       |                    |                     |            |
| VKİ                 | 0,16  | 1      |        |         |       |             |       |                    |                     |            |
| GSH-Px              | -0,06 | 0,05   | 1      |         |       |             |       |                    |                     |            |
| Katalaz             | 0,23  | 0,01   | 0,09   | 1       |       |             |       |                    |                     |            |
| MDA                 | 0,11  | -0,01  | -0,15  | 0,25    | 1     |             |       |                    |                     |            |
| Homosistein         | 0,008 | -0,22  | -0,18  | 0,02    | 0,11  | 1           |       |                    |                     |            |
| ADMA                | -0,03 | -0,003 | 0,007  | -0,29   | -0,22 | -0,04       | 1     |                    |                     |            |
| Vit B <sub>6</sub>  | -0,26 | 0,072  | 0,13   | -0,16   | 0,22  | -0,23       | -0,09 | 1                  |                     |            |
| Vit B <sub>12</sub> | 0,16  | 0,11   | 0,12   | -0,1    | -0,08 | -0,22       | -0,03 | 0,28               | 1                   |            |
| Folik asit          | -0,13 | -0,22  | 0,06   | -0,1    | -0,16 | -0,1        | 0,1   | -0,03              | -0,12               | 1          |

Tablo 8. Hasta gruba ait parametreler arasındaki korelasyon

|                     | Yaş          | VKİ          | GSH-Px | Katalaz | MDA           | Homosistein | ADMA          | Vit B <sub>6</sub> | Vit B <sub>12</sub> | Folik asit |
|---------------------|--------------|--------------|--------|---------|---------------|-------------|---------------|--------------------|---------------------|------------|
| Yaş                 | 1            |              |        |         |               |             |               |                    |                     |            |
| VKİ                 | <b>0,36*</b> | 1            |        |         |               |             |               |                    |                     |            |
| GSH-Px              | -0,21        | -0,22        | 1      |         |               |             |               |                    |                     |            |
| Katalaz             | 0,3          | 0,3          | -0,05  | 1       |               |             |               |                    |                     |            |
| MDA                 | 0,041        | -0,22        | 0,01   | 0,18    | 1             |             |               |                    |                     |            |
| Homosistein         | 0,05         | <b>0,39*</b> | -0,1   | 0,29    | -0,2          | 1           |               |                    |                     |            |
| ADMA                | 0,03         | -0,12        | 0,23   | -0,14   | 0,21          | -0,21       | 1             |                    |                     |            |
| Vit B <sub>6</sub>  | <b>0,34*</b> | <b>0,35*</b> | 0,12   | 0,3     | -0,01         | 0,03        | -0,23         | 1                  |                     |            |
| Vit B <sub>12</sub> | 0,31         | -0,11        | 0,13   | 0,19    | <b>0,43**</b> | -0,23       | 0,11          | 0,27               | 1                   |            |
| Folik asit          | -0,18        | -0,09        | 0,21   | -0,11   | 0,27          | -0,23       | <b>0,58**</b> | 0,04               | -0,01               | 1          |

\* p < 0,05, \*\* p < 0,01

Tablo 7’de görüldüğü gibi kontrol grubuna ait çalışılan parametreler arasında korelasyon bulunmamıştır. Ancak Tablo 8’de görüldüğü gibi hasta grubuna ait çalışılan parametrelerden yaş ve VKİ, yaş ve vit B<sub>6</sub>, VKİ ve homosistein, VKİ ve Vit B<sub>6</sub> arasında pozitif korelasyon (p<0,05) yine MDA ve Vit B<sub>12</sub>, ADMA ve folik asit arasında da pozitif korelasyon tespit edilmiştir (p<0,01).

## 5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Derin venlerde tromboz olarak tanımlayabileceğimiz derin ven trombozu (DVT), hiperkoagülabilité, damar duvar› hasar› ve kan ak›m›nda staz olarak bilinen Virchow triadını oluşturan üçlüden herhangi birisinin oluşmasıyla ortaya çıkabilir (Esmon, 2009). Arteriyel ve venöz trombüs gelişimine neden olan mekanizmaların farklılık göstermesi, oluşan trombüslerin içeriğinin de birbirinden farklı olduğunu düşündürmektedir. Öte yandan, hem arteriyel hem de venöz trombüs trombotik süreci son derece etkileyebilecek endotelial yüzey üzerinde oluşur (Lopez ve Chen, 2010).

Venöz tromboembolinin (VTE) patogenezinde virchow triad›ndan, hiperkoagülabilité ve kan stazının yanında endotelial bir dengesizliğin rolünün delilleri gün geçtikçe artarak yerini almaya devam etmektedir. Daha çok arteriyel sistemde tromboz nedeni olan endotel zedelenmesi (Baykal ve ark., 1999) travma, yan›k, alt ekstremite ortopedik cerrahileri, sepsis, varisler ve posttromboflebitik sendromlar gibi durumlarda venöz tromboz oluşumuna da katkıda bulunabilir. Venöz endotelial fonksiyonunun düzenlenmesinde NO santral bir rol oynar, benzer olarak arteriyel fonksiyon içinde aynı şeyi yapar (Gresele ve ark., 2010). Endotel hasar› durumunda, normal endotelden salınarak vazodilatasyon oluşmasını sağlayan NO ve PGI<sub>2</sub> gibi maddeler salınamaz ve vazokonstriksiyon oluşmasına neden olurlar. Otörler arteriollerden ziyade venüllerde trombotik süreçte NO sentazın daha önemli olduğunu bildirmiştir. Arteriollerde değil ama venüllerde NO sentazın inhibisyonunun kendiliğinden trombositlerin agregasyon ve lökosit adezyonuna neden olduğu kaydedilmiştir (Lin ve ark., 2003). Trombotik süreçlerde NO'in rolü üzerine in vivo çalışmalar sınırlıdır. Damar duvar hasarı ile in vivo tromboembolik reaksiyonlar benzer dokunun arterioller ve venülleri arasında değişmektedir. Bununla da NO'in arteriol ve venüler mikrodamarlardaki süreçlere farklı olarak karıştığı varsayılmış›r (Broders ve ark., 1998).

Endotelial patolojik durumlarda vazokonstriktörleri açığa çıkarma ve prokoagülan ve hücre adezyon molekülleri ve sitokinleri ekspresyon etme yeteneği ile hemostazisin çok önemli düzenleyicilerinden biridir. Endotelial tabakada bir bozukluğa neden olan fiziksel (travma gibi) veya fonksiyonel (sepsis gibi) zararlı uyararlar,

endotelyumu lokal kan pıhtılaşma aktivasyonu ve düz kas hücre proliferasyonu, trombosit ve lökosit birikimi lehine protrombotik ve proinflamatuvar bir yüzeye çevirir. Özellikle, lökositlerin aktivasyon ve adezyonunu hızlandıran, hücre adezyon molekülleri (P veya E-selektin, ICAM veya VCAM-1 gibi) artmış yüzey ekspresyonu ile endotelial hücreler, inflamasyonu başlatır, kuvvetlendirir ve trombozise katkıda bulunur (Greselle ve ark., 2010). VCAM-1 ve ICAM-1 dahil, birtakım adezyon moleküllerinin ekspresyonu, ROS bağımlıdır (Taniyama ve Griendling, 2003).

Ayrıca, hasarlı endotelin altından açığa çıkan subendotelial kollojen, aynı zamanda trombosit aktivasyonunu başlatarak vazokonstrikte olan damarın daha da daralmasına, yani tromboze olmasına neden olur (Kurtoğlu, 2005; Kurtoğlu ve ark., 2006). Yine, Closs ve ark. (1997) hipoksiye maruz kalan yüzeyde 30 dk. içinde P-selektinin ekspresiyona başladığını ve aynı zamanda endoteliumun aktivasyonu ile venöz kapakların ven duvarına birleşme yerinde (kulp) trombosit, fibrin ve lökosit depositlerini gözlemlemiş ve bunun muhtemelen tam gelişmiş trombozisin bir prekürsörü olduğunu düşünmüştür.

VTE hızlandırıcı durumlardan biri olan venöz kan stazı, özellikle venöz valv düzeylerinde düşük veya sıfır shear (makaslama) stresli alanlar oluşturabilir. Venöz-tip kan akımı tarafından kullanılan düşük makaslama-stresi endotelium tarafından NO üretimi için esansiyel bir uyarıcıdır. Böylece venöz staz, makaslama-stresini keserek, daha sonra trombozis gelişimini hızlandırır, ilaveten venöz endoteliumun esansiyel antitrombojenik özelliklerinden birini de bozabilir (Greselle ve ark., 2010). Ayrıca, venülerde, trombosit-damar duvar etkileşiminin shear bağımlı olduğu rapor edilmiştir (Broders ve ark., 2001).

Çoğu çalışmada arteriyal sistemde endojen NO salınımının tesiri üzerine odaklanılmış olmasına rağmen, venöz sistemde trombozis araştırmasının sınırlı kaldığı bildirilmiştir (Freedman ve Loscalzo, 2003). Broders ve ark. (1998) tarafından yapılan bir çalışmada, in vivo olarak fare mezenteriyumunun arteriol ve venül duvarının delinmesinden sonra NOS'ın irreversibl inhibitörü olan L-NA (N<sup>w</sup>-L-arjinin) ile inhibisyonun venülerde embolizasyon periyodunda bir uzamaya ve meydana gelmiş embolinin sayısında bir artışa neden olduğu, fakat arteriollerde böyle bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Bu modelde D-arjinin değil ama L-arjinin (endojen NO sentezi



için bir prekürsör) infüzyonunun, venöz embolizasyonda artışı tersine çevirdiği bildirilmiştir (Broders ve ark., 1998). Bu bulgular tromboembolizmi inhibe etmede endojen NO'nin arterollerden ziyade venüllerde daha etkili olduğunu göstermiştir. Arterioller ve venüllerdeki NO'nin farklı etkisinin tromboembolik reaksiyona karışan diğer mediatörler ile NO'nin etkileşiminden de kaynaklanabileceği örneğin superoksit anyonlarının NO'yi inaktive edebileceği ve in vivo arter trombozisi modellerinde trombosit agregasyonuna karışabileceği, ayrıca bir diğer vazodilatatör PGI<sub>2</sub>'nin etkisinin her iki damarda farklı olabileceği de düşünülmüştür. Broders ve ark. (2001) yaptıkları çalışmada venüllerde değil ama arteriollerde, endojen NO ve PG'lerin sinerjik olarak damar duvarı hasarından sonra damarda meydana gelen tromboembolizmi önlediğini bulmuşlardır. Yine Suzuki ve ark. (1995) fare mezenteriyumunda venüllerden ziyade arterlerde daha çok süperoksit üretildiğini göstermişlerdir. Bu da reaktif oksijen türleri (ROT) tarafından NO'nin inaktive edildiğini akla getirebilmektedir. Bu nedenle, endojen trombotik maddelerin rollerinin kavranılması, tromboembolik süreçlerin rol oynadığı klinik hastalıkların mekanizmasının anlaşılmasında büyük önem taşımaktadır.

Effektör hücreler üzerine NO'nin etkisinin (örneğin kan trombositlerinde) arteriol ve venüllerde değişiklik gösterebileceği çünkü her iki damar tipinde damar içi ortamın farklı olduğu bildirilmiştir (Broders ve ark., 1998). Los Lindberg ve ark. (1994), Broder ve ark. (1998)'nin çalışmasıyla çelişen bir çalışmada, NOS inhibitörü L-NA'nın rat kremeaster kasına ilavesinin foto-aktivasyonun neden olduğu trombüs formasyonunu venüllerden ziyade arteriollerde arttığını bulmuşlardır. Bu bulguya göre araştırmacılar fotoaktivasyon sonrası arteriol endotelyumun venüller endotelyuma oranla NO üretimi için daha büyük bir kapasiteye sahip olduğunu düşünmüşlerdir. Bu çelişkili iki bulgu farklı organlar, hatta farklı çaptaki farklı damarların fonksiyonel özelliklerindeki farktan kaynaklanmış olabileceğini düşündürmektedir.

Biz de yaptığımız bu çalışmayla DVT'nin patofizyolojisinde oksidatif stresin rolünü araştırdık. Bu amaçla pek çok hastalığa ve doku hasarına da yol açabilen lipid peroksidasyon ürünü MDA'nın ölçümünü gerçekleştirdik. MDA artmış yağ asiti peroksidasyonunun sistemik dolaşımında düzeyi saptanabilen dolaylı bir göstergesidir. MDA seviyesinin belirlenmesi, dokulardaki lipid peroksidasyonunun ve dolayısıyla oksidatif stresin (OS) hassas göstergelerinden birisidir (Batmaz ve ark., 2011). Son

yıllarda yapılan pek çok çalışma; yaşlanma, koroner kalp hastalıkları ve kanser başta olmak üzere pek çok hastalığın patogeneğinde lipid peroksidasyonunun etkili olduğunu göstermiştir (Yarıktaş ve ark., 2003). OS'in pulmoner emboli (PE) ve DVT'deki etkisini gösteren hayvan çalışmaları yapılmıştır (Anderson ve ark., 1990; Dikshit ve ark., 1989). Ancak oksidatif stresin PE ve DVT'deki varlığını araştırmak amacıyla insanlarda yapılan çalışma çok azdır. Mühl ve ark. (2006), PE'li hastalarda OS'in varlığını, yükselmiş malondialdehit (MDA), ROT ve myeloperoksidaz (MPO) ile düşmüş GSH ve plazma protein sülfidril grupları ile göstermişlerdir. Yine Re ve ark. (1998) yapmış oldukları çalışmada venografi ile teşhisi konulmuş 10 DVT'li hastada MPO, 4-hidroksinonenal (HNE) ve MDA gibi lipoperoksidatif markerlerin plazmaya ait değişikliklerini kontrol grubu ile karşılaştırılarak değerlendirmişlerdir. Bireysel farklılıklara rağmen, ortalama plazma MDA ve HNE düzeylerinde olduğu gibi, ortalama plazma MPO düzeyini de DVT grubunda daha yüksek bulmuşlardır. Re ve ark. (1998) DVT'nin rolünün dışlanamayacağını ancak, sonuçta komorbid hastalıkların (enfeksiyon, travma, kronik böbrek yetmezliği (KBY) ve alkolik karaciğer hastalığı) ya da sessiz pulmoner mikroembolinin de oksidatif strese katılabileceğini düşünmüşlerdir. DVT'nin ve onun inflamatuvar komponentlerinin olaya ne oranda katıldığı bilinmeyeceğini fakat ROT üretiminin, sinsi bir hastalık veya sessiz bir pulmoner mikroembolinin göstergesi olabileceğini bildirmişlerdir.

OS'in pek çok kardiyovasküler hastalığının oluşum ve ilerleme aşamasındaki önemi çalışmalarla ortaya konmuştur. Ancak çalışmamızda DVT'li hasta grubunda kontrol grubuna göre sadece MDA'nın artması, antioksidan savunma mekanizmalarından GSH-Px ve katalazda kontrol grubuna göre anlamlı bir artışın olmayışı düşündürücüdür. Venlerdeki endotelial disfonksiyonun derecesi ve düzeyi, trombüs gelişimine katılan mekanizmalarla ROT'lar arasındaki bağlantı, NO'nin endotelial disfonksiyona ne kadar katıldığı daha detaylı araştırılması gereken konulardır.

VTE ve arteriyal kardiyovasküler olaylar arasındaki ilişkiye olan ilgi de son yıllarda artmıştır. Aterotrombozis ve VTE arasındaki ilişkiyi ilk kez Prandoni ve ark. (2004) karotid arter plaklarının varlığının VTE'nin riskini 2'ye katladığını göstererek bulmuşlardır. Daha sonraki yıllarda da Spencer ve ark. (2008) daha önceden VTE

hikâyesi olan hastalar arasında VTE hikâyesi olmayanlara göre akut myokard infarktüs riskinin 4 kat daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Obesite, hipertansiyon, dislipidemi, diabet, metabolik sendrom ve sigara kullanımı dahil kanıtlanmış kardiyovasküler risk faktörleri aynı zamanda VTE riskini de arttırdı. Bu da aterosklerozlu hastalarda VTE'nin artmış riskini açıklamaya yardımcı olur (Piazza ve Goldhaber, 2010). Yine Migliaci ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada spontan VTE'li hastalarda endotelial fonksiyon bozukluğunu göstermişlerdir ve spontan VTE'nin aterosklerozun artmış riski ile ilişkili bir durum olacağını saptamışlardır. Endotelial fonksiyon bozukluğu muhtemelen ateroskleroz ve VTE için ortak bir arka fon olarak hareket eden primer bir defektin varlığını gösterir. Bizim yaptığımız çalışmada lipid peroksidasyon belirteci MDA'nın yüksek çıkması gelecekte oluşabilecek bir arteriyal kardiyovasküler hastalığın göstergesi de olabilir. Bu nedenle olgularımızın takibi ve bunlar üzerinde ileride yapılacak çalışmalar çok yararlı olacaktır.

Endotelial NOS tarafından L-argininden sentezlenen NO güçlü bir endojen vazodilatatör mediatör olmakla beraber, vasküler tonusu düzenlemeye ek olarak, damar düz kas proliferasyonunu baskılar, trombosit adezyon ve agregasyonunu inhibe eder, lökosit-endotel hücre etkileşimine engel olur (Böger ve ark., 1998). Bozulmuş NO biyosentezi endotelial disfonksiyonun (ED) gelişimiyle ve vasküler olaylarla ilişkilidir. Kompetitif endojen NO sentez inhibitörü ADMA'nın yükselmiş plazma konsantrasyonları ED gelişimi için yeni bir risk faktörüdür ve hem insan hem de hayvan çalışma modellerinde vasküler hastalık henüz klinik olarak belirgin olmadan bile ADMA yüksekliği oluşabilmekte (Böger, 2003), kardiyovasküler mortalite ve hastalıklar için muhtemel bir prediktör olarak kabul edilmektedir (Sydow-Münzel, 2003).

Biz yaptığımız bu çalışmada, herhangi bir kardiyovasküler risk faktörü bulunmayan hastalarda endojen NOS inhibitörü, ADMA'nın dolaşımdaki konsantrasyonunun tromboembolizmden etkilenip etkilenmediğini araştırdık. Hipertansiyon, hiperlipidemi, hiperhomosistemi, koroner arter hastalığı, kronik böbrek yetmezliği, Konjestif kalp yetmezliği gibi pek çok hastalıkta ADMA'nın yükseldiği gösterilmiştir (Sydow ve Münzel, 2003). Bu yüzden hastalığa eşlik eden kardiyovasküler risk faktörleri çalışmamızda ekarte edilmiştir. Ancak ADMA'nın tuz

alımını, insülin direnci, alkol ve düşük karbonhidrat alımı gibi çeşitli metabolik olaylardan ve sigara içiminden etkilendiğini gösteren çalışmalar düşünüldüğünde, bu faktörler bağımsız bir risk markeri olarak ADMA ölçümünün kullanılmasına sınırlama getirmektedir. Yine araştırmacılar, büyüme hormonu eksikliği, kilo kaybı veya gestasyonel diabetes hikâyesinin de ADMA plazma konsantrasyonu ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. (Haider ve ark., 2006; Buğdaycı ve ark., 2005). Araştırmacılar, plazma ADMA düzeyini DVT komplikasyonu olan kronik tromboembolik pulmoner hipertansiyonlu (CTEPH) hastalarda incelemiş ve yüksek bulmuşlardır. ADMA pulmoner vasküler hastalığın şiddeti ile ilişkilidir ve CTEPH'li hastalarda mortalitenin bir prediktörüdür. Hiperbarik hipoksinin neden olduğu pulmoner hipertansiyonda DDAH ekspresyon ve aktivitesinin azaldığı gözlemlenmiştir. Yine en son çalışmalar göstermiştir ki, DDAH I aktivitesinin kaybı NO sinyallemede azalma ve ADMA'nın birikimi için diğer önemli bir yardımcıdır. ADMA'nın NOS ekspresyonunu etkileyip etkilemediği bilinmemesine rağmen, CTEPH'li hastaların vasküler dokularında azalmış eNOS proteini yükselmiş ADMA'nın negatif etkilerini artırabilir (Skara-Sajer ve ark., 2007).

Haider ve ark. (2006) VTE tanısı almış 39 hasta ve 35 kontrol grubunu karşılaştırdığı çalışmada, plazma ADMA, SDMA; L-arjinin ve kreatinin değerlerini incelemişlerdir. Kardiyovasküler risk faktörü ekarte edilmiş VTE'li hastalar ve kontrol grubu arasında ADMA, SDMA ve L-arjinin değerleri arasında anlamlı bir fark bulamadıkları için ADMA konsantrasyonlarının VTE'de değişmediğini, böylece düşük akım durumlarında tromboz oluşumunda ADMA'nın bir risk faktörü belirteci olamayacağını belirtmişlerdir. Ancak konu ile ilgili bundan başka bir çalışma yoktur.

NO'nin kardiyovasküler sistem hemostazisinin düzenlenmesinde; damar genişlemesi, kan trombositlerinin kümeleşmesinin önlenmesi, damar yaralanmalarını takiben damar düz kas hücrelerinin çoğalmalarının engellenmesi ve kalp kası kasılmalarının kontrol edilmesi gibi birçok fizyopatolojik etkileri bulunmaktadır. NO üretimi ve tromboza meyil üzerine korelatif değişikliklerin direk olarak ölçülmemiş olmasına rağmen (Freedman ve Loscalzo, 2003) NO, trombüs oluşumunun kontrolü ve kan akışkanlığının sağlanmasında oldukça önemlidir.

NO'nun hem sentez hem de biyoyararlanımında bozukluklar ED'nun gelişimi ile ilişkilidir. Gönüllü insanlara ve deney hayvanlarına, bir nitrik oksit sentez inhibitörü olan L-NMMA'nın sistemik enjeksiyonlarını takiben arteriyel basınçta bir artış meydana geldiği fakat venöz basınçta bir değişiklik gözlenmediği bildirilmiştir (Bülbül ve Soylu, 2008). Yine LNMMA'nın sağlıklı gönüllülere intravenöz enjeksiyonu insanlarda hızlı bir şekilde trombosit aktivasyonuna neden olmuştur (Schafer ve ark., 2004). Bu yüzden, artmış endojen ADMA üretimi protrombotik durumun oluşturulmasına katkıda bulunabilir. Ancak, vasküler hastalıkların gelişiminde altta yatan risk faktörü tek başına ADMA yüksekliği olmayabilir. Ayrıca yükselmiş plazma ADMA düzeylerinin ED'la ilişkili olduğuna dair pek çok delil de vardır. ED'da değişikliklerden dolayı aynı zamanda ADMA akut vasküler olaylarla da ilişkilidir. Ayrıca, OS ADMA metabolizmasında rol oynayan enzimlerin aktivitelerini değiştirerek ADMA miktarlarında değişime yol açmaktadır. ADMA da en azından kısmen ayrık eNOS'a yol açarak OS'e katkıda bulunmaktadır. PRMT (protein arjinin metil transferaz) aktivitesi reaktif oksijen türleri tarafından artırılır ve ADMA düzeyleri yükselir (Sydow ve Münzel, 2003). ADMA düzeylerindeki bu artış DDAH (dimetilarginine dimetilaminohidrolaz) enzim aktivitesindeki azalmaya da bağlı olabilir. DDAH'ın aktif bölgesinde bulunan sisteinin yükseltgenmesi önemlidir. Bu yükseltgenmeyi yüksek NO üretiminin S-nitrozilasyonu geri dönüşümlü olarak gerçekleştirebilir. Ayrıca DDAH'ın aktif bölgesindeki reaktif sistein kalıntısı OS için de hassas yerdir (Valkonen ve Laaksonen, 2004). Literatüre bakıldığında ADMA'nın sentez ve yıkımında rol oynayan enzimlerin çeşitli hastalıklarda aktivitelerinin değiştiği ve ADMA yüksekliğine neden olduğu görülmektedir. Bu da ileride ADMA yüksekliğinin yanısıra PRMT-I ve DDAH aktivitesini de etkileyen faktörler ve mekanizmalar üzerinde odaklanmamız gerektiğini göstermektedir.

Geniş bir trombotik kitle ile karakterize olan DVT'li olgular sirkülasyondaki ADMA konsantrasyonu üzerine tromboembolizmin etkisini araştırmak için elverişli bir model oluşturduğundan ve son zamanlarda, akut kardiyovasküler olaylarda dolaşımdaki ADMA seviyesinin yükseldiği bildirildiğinden (Deweik, 2006; Erbil ve ark., 2012; Valkonen ve Laaksonen, 2004), bu çalışmayı planladık. Ancak, çalışmamızda DVT'li hasta grubu ve kontrol grubu arasında ADMA değerleri açısından anlamlı bir fark

bulamadık. Bu bulgumuz dolaşımdaki ADMA konsantrasyonu üzerine VTE'nin varlığının herhangi bir etkisi olmadığını düşündürmektedir.

Freedman ve ark. (1996) GSH-Px eksikliğinin NO biyoyararlanımının azalmasına, trombosit hiperreaktivitesine ve ayrıca arteriyal tromboziste bir artışa yol açtığını bulmuşlardır. Venöz trombozisin patofizyolojisinde oksidatif stresin rolünü gösteren bir çalışma (Re ve ark., 1998) olmasına rağmen, literatür taramamızda özellikle GSH-Px'in venöz trombozisle ilişkisini gösteren bir çalışmaya rastlamadık. Çalışmamızda DVT'li hasta grubu ve kontrol grubunda GSH-Px değerleri açısından anlamlı bir fark bulamadık.

Antioksidan savunma sisteminde önemli bir enzim olan katalaz hidrojen peroksidin su ve oksijene ayrışmasını katalizler. Katalazın ayrıntılı biyolojik önemi tam olarak belli değildir (Försterman, 2010). VTE'de katalaz aktivitesini gösteren bir çalışmaya rastlamadık. Bizim yaptığımız çalışmada, hasta ve kontrol grubunda katalaz değerleri açısından anlamlı bir fark bulamadık.

Plazma homosistein düzeylerindeki fizyolojik artışların normal insanlarda vasküler endotelial disfonksiyona neden olduğu bildirilmiştir (Kielstein ve ark., 2005). Hiperhomosisteinin vasküler hasara yol açan mekanizmalar multifaktöryeldir. Endotel hücrelerinde ve damar düz kas hücrelerinde fonksiyonel ve yapısal değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir. Hiperhomosisteinin protrombotik etkisi azalmış NO biyoyararlanımının trombosit agregasyonu ve lökosit adezyonu ile trombozise katkı olabilir. Ayrıca protrombotik mekanizmaya antikoagülan düzenleyici protein trombomodülünin, antikoagülan heparanların veya doku plazminojen aktivatörünün bağlanma sahasının azalmış ekspresyonu gibi endotelial fonksiyonda bazı değişikliklerle katkı sağlayabilir (Khajuria ve Houston, 2000). Ayrıca Yüce ve ark. (2006) homosisteinin lipid peroksidasyon ürünlerini (MDA) artırdığını, plazma ve dokulardaki antioksidan enzim aktivitelerinde ise azaltıcı bir etki gösterdiğini bulmuşlardır. Yüksek plazma homosistein düzeyleri DVT için bağımsız bir risk faktörüdür. Heijer ve ark., (2005) total homosistein miktarında 5µmol/L'lik artışın retrospektif ve prospektif çalışmalarda sırasıyla %60 - %20 venöz tromboz riskini artırdığını göstermişlerdir. Diğer taraftan ılımlı hiperhomosisteinin vasküler hasarın bir markeri veya nedensel bir faktörü olup olmadığı oldukça belirsizdir. Yapılan

çalışmalarda yüksek homosistein düzeyi ve venöz tromboz arasında anlamlı ilişki bulunmuştur (Markis, 2000). Plazmadaki vitamin B<sub>12</sub>, B<sub>6</sub> (pidoksal fosfat) ve özellikle folat düzeyi ile plazma total homosistein arasında zıt bir ilişki tespit edilmiş ve nutrisyonel faktörlerinde enzim defektlerinin yan›nda total homosistein düzeyini etkilediği gösterilmiştir (Temel ve ark., 2002). Yine, DVT’li hastalarda hiperhomosisteineminin vitamin B<sub>12</sub> eksikliğinin yüksek prevalansı ile ilişkili olduğu Omar ve ark., (2007) tarafından gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda DVT’li hasta grubu ve kontrol gurubu aras›nda homosistein düzeyi a›s›ndan anlaml› bir fark bulunmamıştır.

Çalışmamızda vitamin B<sub>12</sub> ve folik asit parametrelerinde de ortalama değerler açısından kontrol grubuna göre istatistiksel olarak bir farklılık bulunmamıştır. Vitamin B<sub>6</sub>’nın ise DVT’li hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlaml› azaldığı gösterilmiştir. Hron ve ark. (2007) düşük plazma vitamin B<sub>6</sub> düzeyinin VTE’nin rekürrensi riskinde artışa yol açıp aamayacağı hipotezini geliştirmişlerdir. İlk kez VTE geçiren 757 hastalık prospektif kohort çalışma serilerinde Vitamin B<sub>6</sub> seviyesi ve VTE rekürrensi arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Yine, Cattano ve ark. (2001) yapt›klar› vaka-kontrol çalışmasında, düşük vitamin B<sub>12</sub> veya folat düzeyli hastalarda VTE riskinde anlamlı bir artış bulamamışlardır. Ancak, Vitamin B<sub>6</sub>’nın koenzim formu pidoksal -5-fosfat›n < 21,7 nmol/L düzeylerinin trombotik riski 2 kattan daha fazla yükselttiğini göstermişlerdir. Bu sonuçlar›n, folat, vitamin B<sub>12</sub> ve homosistein düzeyinden bağıms›z olduğu bildirilmiştir. Zhou ve ark., (2012) venöz trombozis gelişimi üzerine B-grup vitaminlerin homosisteinden bağımsız bir rolünü bildirmişlerdir. Ama konu ile ilişkili araştırma bulguları ile tutarsızlıklar› vard›r. Folik asit ve vitamin B<sub>12</sub>’nin azalmış düzeyleri venöz trombozis (VT) için bağımsız bir risk faktörü olabilir. Diğer taraftan vitamin B<sub>6</sub>’nın düşük düzeyi VT için bağımsız bir risk faktörü olduğunu gösteren kalitatif sistematik bir araştırma vardır. Bizim çalışmamızda da benzer olarak çalışma grubunda kontrol gurubuna göre vitamin B<sub>12</sub> ve folat düzeyleri normal iken vitamin B<sub>6</sub> düzeyi düşük bulunmuştur.

Günümüzde birçok hastalığın patogenezinde izah edilemeyen kısımlar bulunmaktadır. Hastalıklar›n patogenezinin anlamak ve bunlar› tedavi ile ilişkilendirmek, yeni tedavi protokollerinin geliştirilmesi ve hatta hastalıklar meydana gelmeden sağlıklı

kişilerin risk faktörlerinin elimine edilmesi açısından son derece önemlidir. Kardiyovasküler sistem üzerine birçok düzenleyici etkisi olan NO'ı inhibe etmesi sebebi ile ADMA, son zamanlarda üzerinde sık araştırma yapılan moleküllerden biri olmuştur. ADMA'nın başta kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere birçok hastalıkta arttığı ve bazı hastalıkların patogeneğinde önemli olduğu gösterilmiştir. Endotelial disfonksiyona sebep olması ve birçok hastalığın patogeneğinde endotelial disfonksiyonun önemli rol alması, yakın gelecekte de ADMA ve oksidatif stres üzerine araştırmaların devam edeceğine işaret etmektedir. Ayrıca, bulgularımızın klinik uygulamalara katkısının olup olmayacağı prospektif randomize çalışmalarla desteklenmelidir.

Yine DVT'li hasta grubunda kontrol grubuna göre MDA seviyesinin yüksek bulunması, tromboembolizmin oluşmasında MDA'nın oksidatif stresin bir göstergesi olarak kullanılabileceğini düşündürebilir. Venöz tromboemboli risk belirteçlerinin belirlenmesi tüm dünyada olduğu gibi bizim ülkemizde de en önemli ölüm nedenlerinden biri olan pulmoner emboli hastalığına karşı yeni ve etkin koruma ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine yardımcı olabilir. Bunu da gelecekte yapılacak geniş ve kapsamlı çalışmalarla sağlayabiliriz.

Sonuç olarak, MDA düzeyinin DVT'li hastalarda yüksek çıkması, tromboembolizm olayında oksidatif stresin rol oynadığını düşündürmektedir. Fakat oksidatif strese DVT'nin yanında sinsi bir hastalık veya sessiz pulmoner emboli de katkı sağlamış olabilir. Ayrıca, bu çalışmada dolaşımdaki ADMA seviyelerinin DVT'dan etkilenmediği gösterilmiştir. Bu bulgumuz da ADMA'nın DVT oluşumunda bir risk faktörü olarak değerlendirilemeyeceğini göstermektedir.



## 6. ÖZET

**Ekim M, Derin ven trombozunda asimetrik dimetilarjinin ve oksidatif stresin önemi, Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Doktora Tezi, Van, 2012.** Bu çalışma ile derin ven trombozunda (DVT) oksidatif stresin ve kardiyovasküler risk faktörü olarak kabul edilen yeni bir marker olan asimetrik dimetilarjinin (ADMA)'nın rolünün araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla DVT teşhisi konmuş 35 hasta ile yaş, vücut kilo indeksi ve cinsiyet yönünden benzer özellikler taşıyan 34 sağlıklı birey çalışmaya alınmıştır. Bu bireylerden alınan kan örneklerinde serum malondialdehit (MDA), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz, ADMA, homosistein, folik asit, B<sub>6</sub> ve B<sub>12</sub> vitamin düzeyleri ölçüldü. Serum MDA düzeyi DVT'li hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek bulunurken ( $p<0,001$ ), vitamin B<sub>6</sub> düzeyi DVT'li hasta grubunda daha düşüktü ( $p<0,001$ ). Diğer parametreler açısından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ( $p>0,05$ ). Bu çalışmanın sonuçları, DVT'li hastaların sağlıklı kontrollere göre artmış oksidatif strese sahip olduğunu ancak DVT'nin serum ADMA konsantrasyonu üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını göstermiştir.

**Anahtar Sözcükler:** Derin Ven Trombozu, Oksidatif Stres, Asimetrik Dimetilarjinin, Malondialdehit

## 7. SUMMARY

**The importance of asymmetric dimethylarginine and oxidative stress in deep vein thrombosis. Yüzüncü Yıl University, Institute of Health Sciences, PhD Thesis, 2012.** In this study, we aimed to investigate the role of oxidative stress and asymmetric dimethylarginine (ADMA) which is accepted as a new marker of cardiovascular risk factor on the development of deep venous thrombosis (DVT). For this purpose, 35 patients with DVT and 34 healthy subjects were studied. The two groups were similar characteristics in terms of age, body weight index and gender. Blood samples were collected from these individuals, and serum malondialdehyde (MDA), glutathione peroxidase (GSH-Px), catalase, ADMA, homocysteine, folic acid, vitamin B<sub>6</sub> and vitamin B<sub>12</sub> levels were measured. Although serum MDA levels were significantly higher in DVT group than control group ( $p < 0.001$ ), vitamin B<sub>6</sub> levels were lower in study group ( $p < 0.001$ ). There were no statistically significant differences in terms of other parameters between both groups ( $p < 0.05$ ). The results of this study reveal that patients with DVT have increased oxidative stress compared to healthy controls; however, DVT does not show any effect on serum concentrations of ADMA.

**Key Words:** Deep Venous Thrombosis, Oxidative Stress, Asymmetric Dimethylarginine, Malondialdehyde

## 7. KAYNAKLAR

- Ak A ve Oto A (1988). Oksijen serbest radikalleri ve kalp hastalıkları. Türkiye Klinikleri Kardiyoloji, 1, 35-39.
- Akçakoyun M (2004). Koroner arter hastalığı olgularında koroner risk faktörleri ile endotel fonksiyonlar arasındaki ilişki. Uzmanlık tezi, Sağlık Bakanlığı Koşuyolu Kalp Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.
- Akheter MS, Biswas A ve Sawena R (2009). Role of endothelial nitric oxide synthase gene in vascular disease. *EJM*, 14, 46-50.
- Akkiprik M, Çevik D, Özer A ve Emerk K (2007). Homosisteinin insan göbek kordon ven endotel hücre kültüründe enos ve ddah gen ekspresyonları üzerine etkisi. *Marmara Medical Journal*, 20, 144-149.
- Aksoy Y (2002). Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü. *T Klin J Med Sci*, 22, 442-448.
- Alaşam H (2008). Preeklampside asimetric dimetilargininin (adma) ve oksidan/antioksidan sistemin rolü. Uzmanlık tezi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalı, 125s, Ankara.
- Alaşam H, Dikmen ZG ve Doğan P (2010). Asimetric dimetilarginininin (ADMA) metabolizması ve ADMA'nın oksidatif hasar, endotel hasarı ve çeşitli hastalıklarla ilişki. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 41, 75-81.
- Alaşayır İ, Tüzüner A (2000). Akut derin ven trombozu. *Türkiye Klinikleri J of Surgery*, 5, 69-78.
- Altan N, Dinçel AS, Koca C (2006). Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Türk J Biochem*, 31, 51-56.
- Anonim (2011). Kalıtsal trombofili tanısı ve tedavi klavuzu. Ulusal tedavi rehberi, Türk Hematoloji Derneği.
- Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA*, 90, 7915-22.
- Anadol AZ ve Tatlıcıoğlu E (2000). Venöz trombozisin patofizyolojik özellikleri, *Türkiye Klinikleri Journal of Surgery* 5, 65-68.
- Anands SS, Wells PS, Hunt D, Brill-Edwards P, Cook D, Ginsberg JS (1998). Does this patient have deep venous thrombosis? *JAMA*, 279, 1094-1099.
- Anderson RJ, Cambria R, Ker J, Hobson RV (1990). Sustained benefit of temporary limited reperfusion in skeletal muscle following ischaemia. *Surg, Res* 49, 271-5.
- Antoniades C, Shirodaria C, Leeson P, Antonopoulos A, Warrick N, Van-Assche T, Cunnington C, Tousoulis D, Pillai R, Ratnatunga C, Stefanadis C, Channon KM (2009). Association of plasma asymmetrical dimethylarginine (ADMA) with elevated vascular superoxide production and endothelial nitric oxide synthase uncoupling: implications for endothelial function in human atherosclerosis. *European Heart J*, 30, 1142-1150.

Arcelus JI, Caprini JA, Monreal M, Suárez C, González-Fajardo J (2003). The management and outcome of acute venous thromboembolism: A prospective registry including 4011 patients. *J Vas Sur* 38, 916-922.

Arı H, Arı S, Tiryakioğlu O, Huysal K, Koca V ve Bozat T (2009). Koroner kollateral gelişimine plazma asimetrik dimetilarjinin düzeylerinin etkisi. *Türkiye Klinikleri J Cardiyovasc Sci*, 21, 226-32.

Arseven O, Öngen G, Müsellim B ve Okumuş G (2010). Pulmoner tromboembolizm. *Türk Toraks Derneği, Beyaz Kitap*, Ankara, 11-18.

Ata Eren P, Denizli N, Sökmen MH, Erdem S ve Solak M (2009). Venöz trombozlu olgularda faktör v leiden mutasyonu taşıyan risk grubunun araştırılması. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 29, 1430-1434.

Atahan E, Çağlar H, Şarkış C, Uğurlu s (2009). Venöz tromboemboli ve kalıtsal trombofili. *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi*, 17, 302-311.

Atalık KE ve Doğan N (1997). NO ve fizyolojik etkileri. *Genel Tıp Dergisi*, 7, 167-9.

Balcı D ve Hazinedaroğlu S (2003). Dein ven tromboz; epidemiyoloji, risk faktörleri, patogenez, komplikasyonlar. *Türkiye Klinikleri J of Surgery* 2, 81-92.

Kılıç Baygutalp N, (2012). Hiperhomosistinemide metionin ile ilgili metabolitlerin incelenmesi, doktora tezi, Atatürk Üniversitesi, 89s.

Batmaz E, Çakır Edis1 E, Eskiocak E, Hatipoğlu ON, Kaya S (2011). Pulmoner embolide oksidatif stres ürünlerinin tanısal değeri. *Türk Toraks Dergisi*, 12, 100-104.

Baykal Y, Özet G ve Kocabalkan F (1999), Venöz trombozla ilişkili risk faktörleri, *T Klin Tıp Bilimleri*, 19; 236-241.

Bayrak S, Gökalp O ve Gürbüz A (2009), Venöz tromboembolizm epidemiyolojisi ve kliniği. *Fleboloji Dergisi*, 3, 6-8.

Bermudez V, Bermudez F, Acosta A, Anez J, Andara C, Leal E, Cano C, Manuel V, Hernández R, Israili Z (2008). Molecular mechanisms of endothelial dysfunction: from nitric oxide synthesis to ADMA inhibition. *American Journal of Therapeutics*, 15, 326-333.

Bilge M (2010), Hemodiyaliz hastalarında serbest radikallerin organizmaya ve antioksidan savunma sistemleri üzerine etkileri, Yüksek lisans tezi, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Böger RH (2003). The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor. *Cardiovascular Research*, 59, 824-833.

Bülbül A ve Soylu SM (2008). NO'in kalp ve damar sistemi üzerine etkileri. *Vet Hekim Der Derg*, 79,49-54.

Broeders MAW, Tangelder GJ, Slaaf DW, Reneman RS, oude Egbrink MGA (2001). Endogenous nitric oxide and prostoglandins synergistically counteract thromboembolism in arterioles but not in venules. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 21, 163-169.

- Broeders MAW, Tangelder GJ, Slaaf DW, Reneman RS, oude Egbrink MGA (1998). Endogenous nitric oxide protects against thromboembolism in venules but not in arterioles. *Arterioscler Thromb Vasc*, 18, 139-145.
- Cai H and Harrison D (2000). Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stres. *Circ Res*, 87,840-844.
- Caple DG, Celotto AC, Evora PRB ve Schaff HV (2009).Asymmetric dimethylarginine endogenous inhibition of nitric oxide causes differential vasculature effects. *Med Sci Monit*, 15, 248-253.
- Cattaneo M, Lombardi R, Lecchi A, Bucciarelli P, Mannucci PM (2001). Low plasma levels of vitamin B (6) are independently associated with a heightened risk of deep-vein thrombosis. *Circulation* 104,2442-2446.
- Cathcart RF (1985) Vitamin C, the non-toxic, nonrate-limited antioxidant free radical scavenger. *Medical Hypotheses*, 18: 61-77.
- Ceballas-Picot I, Trivier JM, Nicole A and Thevenin, M (1992), Age-correlated modifications of CuZn-SOD and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes. *Clinical Chemistry*, 38, 66-70.
- Champe PC, Harvey RA and Ferrier DR (2007). *Pentoz Fosfat Yolu ve NADPH*. Lippincott Biyokimya, 3.baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- Cherubini A, Ruggiero C, Polidori MC, Mecocci C (2005). Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radical Biology & Medicine*, 39, 841 – 852.
- Cooke JP (2000). Does ADMA cause endothelial dysfunction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20, 2032-7.
- Cooke JP (2004). Asymmetrical dimethylarginine: the über marker. *Circulation*, 109, 1813-8.
- Cooke JP (2005). ADMA; its role in vascular disease. *Vascular Medicine*, 10, 11-17.
- Çakatay U ve Kayal› R (2006). Serbest radikal biyokimyas›n›n tarihsel süreçteki gelişimi. *Cerrahpaşa Tıp dergisi*, 37, 162-167.
- Çakatay U, Kayal› R (2004). Protein oksidasyonunun klinik önemi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 35, 140-149.
- Çavdar C, Sifil A ve Çamsar› T (1997). Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma, *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 3, 92-95.
- Çelebi H (2004). 20 yaşında genç bir erkek tromboz geçirirse? XXXI Ulusal Hematoloji kongresi, IV. Hematoloji ilk basamak kursu.
- Dahlback M, Carlson M, Svenson PJ (1993). Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C, *Proc Natl Acad Sci USA*, 90, 1004-8.
- Demirci Ş (2009). Periton diyalizi ile tedavi edilen hipertansiyona sahip kronik böbrek yetmezlikli hastalarda oksidatif stresin önemi, uzmanlık tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van,72s.

- Demirel C, Kaya C, Sönmezer M, Söylemez F ve Cengiz SD (2003). Tekrarlayan gebelik kayıpları ve derin ven trombozu öyküsü olan bir olguda faktör ve leiden mutasyonu. *T Klin Jineköl Obst*, 13,62-65.
- Dentali F, Ageno W, Romualdi E, Pesavento R, Ghirarduzzi A, Paolo P (2007). Metabolic Syndrome and hyperhomocysteinemia in patients with deep vein thrombosis. *Haematologica*, 92,1293-1294.
- Dere F (1990). *Anatomi*. Adana, 276-277.
- Derici ÜB ve Reis KA (2002). Hiperhomosistinemi ve kronik böbrek yetmezliği. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 1, 129-134.
- Diaz MN, Frei B ve Vita JA (1997). Antioxidants ve atherosclerotic heart disease. *N Engl*, 337,408-416.
- Dikmen M (2004). Homosistein metabolizması ve hastalıklarla ilişkisi. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 24, 645-652.
- Dikshit M, Kumari R, Srimal Rc (1992). Effect of pulmonary thromboembolism on circulating neutrophils in mice. *Thromb Res* 5, 9-14.
- Dominik GH, Robert AB, Reiter M, Minar E, Hron G, Kyrle PA, Mittermayer F and Wolzt M (2006). The cardiovascular risk marker asymmetrical dimethylarginine is not affected by venous thromboembolism. *Translational Research*, 148, 26-29.
- Dudzinski DM, Igarashi J, Greif D ve Michel T (2006). The regulation and pharmacology of endothelial nitric oxide synthase. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol*, 46, 235-76.
- Duvall WL (2005). Endothelial dysfunction ve antioxidants, *The Mount Sinaı Journal of Medicine*, 72, 71-80.
- Raed A. Dweik (2006). The lung in the balance: arginine, methylated arginines, and nitric oxide, *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 292, 15–17.
- Ekim H (2010). Thromboprophylaxis after surgery. *ANZ J Surg*, 80, 944-945.
- Emre M, Özcal I Ve Şan M (2004). Endoteldeki iyon kanalları ve işlevleri, *Erciyes Tıp Dergisi (Erciyes 186 Medical Journal)* 26, 186-193.
- Endeman DH, Schiffrin EL (2004). Endothelial dysfunction. *J Am Soc Nephrol*, 15, 1983-1992.
- Ercan E, Tengiz İ ve Çekmen MB (2003), Kardiyovasküler sistemde nitrik oksit ve nitrik oksit sentaz: fizyolojik ve patofizyolojik özellikleri. *İ.Ü. Kardiyol Enst Derg*, 2, 36-41.
- Erdem S ve Ünlü A (2009). Asimetrik dimetilarjinin ve klinik önemi, *Selçuk Tıp Derg*, 25, 107-115.
- Erdem SS (2006). Kronik obstrüktif akciğer hastalarında serum adma ve nitrik oksit düzeyleri. Uzmanlık tezi, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, 62s.
- Esmon C (2009). Basic mechanisms and pathogenesis of venous thrombosis. *Blood Rev*, 23, 225-229.

- Förstermann U (2010). Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease. *Eur J Physiol*, 459, 923-939.
- Fraser JD and Anderson DR (2004). Venous protocols, techniques, and interpretations of the upper and lower extremities. *Radiol Clin N Am*, 42, 279-96.
- Freedman JE and Loscalzo J (2003). Nitric oxide and its relationship to thrombotic disorders, *J of Thrombosis and Haemostasis*, 1,1183-1188.
- Freedman JE, Loscalzo J, Benoit SE, Valeri CR, Barnard MR, Michelson AD (1996). Decreased platelet inhibition by nitric oxide in two brothers with a history of arterial thrombosis. *J Clin Invest*, 97,979–987.
- Gaeta LM, Tozzi G, Pastore A, Federici G and Piemonte F (2002). Determination of superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in blood of healthy pediatric subject. *Clinica Chimica Acta*, 322, 117-120.
- Genç F A (2008), Venöz tromboembolizm: epidemiyoloji-fizyopatoloji. *Türkiye Klinikleri Journal of General Surgery*, 1, 1-5.
- Goth L (1992): A simple method for determination of serum catalase activation and revision of reference range. *Clin Chim Acta*, 196, 143-152.
- Gökgöz L (2000). Venöz tromboembolizm’de profilaksi. *Türkiye Klinikleri Journal of Surgery*, 2, 103-110.
- Gökþnar Ş, Koray T, Akçiçek E, Göksan T ve Durmaz Y (2006). Algal antioksidanlar, *E.Ü. Su Ürünleri Dergisi*, 23, 85-89.
- Gresele P, Momi S, Migliacci R (2010). Endothelium, venous thromboembolism and ischaemic cardiovascular events. *Thromb Haemost*, 103, 56–61.
- Güneş S (2007). Febril konvülsiyon geçiren çocuklarda eritrosit antioksidan enzim düzeyleri ve lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesi. *Uzmanlık tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı*, 59s.
- Haider DG, Bucek RA, Reiter M, Minar E, Hron G, Kyrle PA, Mittermayer F ve Wolzt M (2009). The cardiovascular risk marker asymmetrical by venous thromboembolism. *Translational research*, 148, 26-29.
- Heijboer H, Brandjes DP, Büller HR, Sturk A, ten Cate JW (1990). Deficiencies of coagulation-inhibiting and fibrinolytic proteins in outpatients with deep-vein thrombosis. *N Engl J Med*, 323: 1512-1516.
- Heijer M, Lewington S and Clarke R (2005). Homocysteine, MTHFR and risk of venous thrombosis: a meta-analysis of published epidemiological studies. *J Thromb Haemostasis*, 3, 292-9.
- Hron G, Lombardi R, Eichinger S, Lecchi A, Kyrle PA, Cattaneo M (2007). Low vitamin B6 levels and the risk of recurrent venous thromboembolism. *Haematologia/the hematology journal*, 92, 1250-1253.
- Hyers TM (1999). Venous thromboembolism. *Am J Respir Crit Care Med*, 159, 1-14.
- Irmak S (2008). Kardiyovasküler sistem hastalıklarında oksidatif stres ve lipid profillerinin incelenmesi. *Yüksek lisans tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Ana Bilim Dalı*, 82s.

- Işıklar ÖÖ ve Mutaf I (2010). Asimetrik dimetlarjinin ve klinik önemi. Türk Klinik Biyokimya Derg, 8, 75-89.
- İşıksoy S (2002). Normal hemostazis ve venöz trombüs oluşumu. Metintaş M (ed) Pulmoner Tromboemboli Kitabı (3. Baskı) ASD Toraks Yayınları, Eskişehir, 43-63.
- İsbir S (2007). Venöz tromboemboli profilaksisi: Güncel klavuz bilgileri. Bozkurt K ve Yıldırım A (editör), Kronik Venöz Yetersizlik. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Komisyonu, Nobel Tıp Kitabevi, 3.Baskı, 57-70.
- İşnas M (2010). Pestisitlerden omethoate'ın su kurbağası'nın (*rana ridibunda*) çeşitli dokularındaki antioksidan savunma sistemleri ve lipit peroksidasyon seviyeleri üzerindeki etkilerinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi.
- Jin J-S and D'Aley LG (1996). Central and peripheral effects of asymmetric dimethylarginine, an endogenous nitric oxide synthetase inhibitör. J of Cardiovascular Pharmacology, 28, 439-446.
- Joffe HV and Goldhaber SZ (2002). Laboratory thrombophilias and venous thromboembolism. Vasculer Medicine, 7, 93-102.
- Jones CE, Darcy CJ, Woodberry T, Anstey NM, McNeil YR (2010). HPLC analysis of asymmetric dimethylarginine, symmetric dimethylarginine, homoarginine and arginine in small plasma volumes using a Gemini-NX column at high pH. Journal of Chromatography B; 878, 8-12.
- Kakatay U ve Kayal R (2006). Serbest radiakal biyokimyasın tarihsel süreçteki gelişimi. Cerrahpaşa Tıp Derg, 162-167.
- Kalkan S (2001). Yöremizde derin ven trombozu olgularında faktör ve leiden mutasyon sıklığı. Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç hastalıkları Anabil Dalı İmmunoloji Bilim Dalı, doktora tezi, Diyarbakır.
- Kepenekçi İ, Celasin H, Mahmoud H (2003). Venöz tromboembolide etyolojiyi nasıl aramalıyız? klinik değerlendirme, laboratuvar ve tanı yöntemleri. Türkiye Klinikleri J of Surgery, 8, 93-98.
- Kılınç A ve Kılınç K (2003). Nitrik oksit biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri. Palme Yayınları.
- Kırpantur A ve Altun B (2006). Endotel disfonksiyonu ve hipertansiyon. Türk Kardiyoloji Dergisi, 9, 2.
- Kielstein JT, Bode-Böger SM, Hesse G, Martens-Lobenhoffer J, Takacs A, Fliser D, Hoepfer MM (2005). Asymmetric dimethylarginine in idiopathic pulmonary arterial hypertension. Arterioscler Thromb Vasc, 25, 1414-1418.
- Khajura A and Houston DS (2000). Induction of monocyte tissue factor expression by homocysteine: a possible mechanism for thrombosis. Blood.96, 996-971.
- Koca N, Karadeniz F (2003). Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. Gıda Mühendisliği Dergisi, 16, 32-37.
- Kocabalkan F, Baykal Y ve Bozoğlu E (2000). Yaşlılarda kardiyovasküler risk faktörü olarak homosistein. Geriatri, 3, 69-73.



- Koehler KM, Romero LJ, Stauber PM et al (1996). Vitamin supplementation and other variables affecting serum homocysteine and methylmalonic acid concentrations in elderly men and women. *J Am Coll Nutr*, 15, 364-76.
- Konishi H, Sydow K, Cooke JP (2007). Dimethylarginine dimethylaminohydrolase promotess endothelial repair after vascular injury. *J of Amirican College of Cardiology*, 49, 1099-1105.
- Köpf-Maier P (2000). *Wolf-Heidegger's atlas of human anatomy*. Karger, Basel.
- Kunsch C Ve Metford RM (1999). Oxidative stres as a regulatory of gene expression in the vasculature. *Circ Res*, 85,753-766.
- Kural T (2002). Derin ven trombozu tanısı. Metintaş Muzaffer (editör). *Pulmoner tromboemboli kitabı*. 3. Baskı, ASD Toraks Yayınları, Metin Ofset Matbaacılık, Eskişehir 87-91.
- Kurtoğlu M (2005). Derin ven trombozu. Ertekin C, Taviloğlu K, Güloğlu R, Kurtoğlu M (ed). *Travma kitabı*. İstanbul Medikal Yayıncılık, İstanbul; 1343-1357.
- Kurtoğlu M ve Öztürk A (2008). Venöz tromboembolizmin proflaksisi, *Türkiye Klinikleri J of General Surgery*, 5,29-38.
- Kurtoğlu M, Yanar H ve Özkan Gürdal S (2006). Venöz tromboemboli tanı, tedavi ve profilaksi. *Türkiye Klinikleri J of Surgical Medical Sciences*, 25, 8-21.
- Landim MBP, Filho AC, Chagas ACP (2009). Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and endothelial dysfunction: implications for atherogenesis. *Clinics*, 64, 471-8.
- Leiper J, Murray-Rust J, McDonald N, Vallance P (2002). S-nitrosylation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase regulates enzyme activity: further interactions between nitric oxide synthase and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99, 13527-32.
- Lin PH, Johnson CK, Pullium JK, Bush RL, Conklin BS, Chen C, and Lumsden AB (2003). L-Arginine improves endothelial vasoreactivity and reduces thrombogenicity after thrombolysis in experimental deep venous thrombosis. *J Vasc Surg*, 38, 1396-403.
- Lopez JA ve Chen J (2009). Pathophysiology of venous thrombosis. *Thrombosis Research*, 123, 30-S34.
- Lu T-M, Ding Y-A, C M-J, Lin S-J (2003). Asymmetric dimethylarginine: a novel risk factor for coronary artery disease. *Clin cardiol*, 26, 458-464.
- Lum H and Roebuck KA (2001). Oxidant stres and endothelial cell dysfunction, *Am J Physiol Cell Physiol*, 280, 719-741.
- Machlin LJ and Bendich A (1987). Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J*, 1, 441-445.
- Madamanchi NR, Vendrov A ve Runge MS (2005). Oxidative stres and vasculer disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 25, 29-38.
- Malone PC (1977). A hypothesis concerning etiology of venous thrombosis. *Med Hypoth*, 3, 189-201.
- Markis M (2000). Hyperhomocysteinemia and thrombosis. *Clin Lab Haematol*, 22, 133-43.

- Matkovics B, Szabo L, Varga IS (1988). Determination of enzyme activities in lipid peroxidation and glutathione pathways. *Laboratoriumi Diagnosztika*, 15, 248–9.
- Memişoğulları R ve Akçay F (2004). Hiperhomosistinemiye biyokimyasal mekanizmalar, *Türk Klinik Biyokimya Derg*, 2, 41-49.
- Metintaş S (2002). Pulmoner tromboemboli. Metintaş Muzaffer (ed ). ASD Toraks Yayınları. 3. Baskı, Eskişehir.
- Mihmanlı İ ve Kantarcı F (2007). Alt ekstremiteler venöz sistem radyolojik değerlendirmesi. Bozkurt A K ve Yıldırım M (ed). Kronik venöz yetmezlik kitabı, 1. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, 47-55.
- Migliacci R, Becattini R, Pesavento R, Davi R, Vedovati MC, Guglielmini G, Falcinelli E, Ciabattini G, Dalla Valle F, Prandoni P, Agnelli G, Gesele P (2007). Endothelial dysfunction in patients with spontaneous venous thromboembolism. *Haematologica*; 92, 812-818.
- Murray RK, Granner KG, Mayes PA and Rodwell VW (2004). Harper biyokimya, biyolojik oksidasyon. Nobel Tıp Kitabevleri, 25. Baskı, İstanbul.
- Mühl D, Füredi R, Cristofari J, Ghosh S, Bogár L, Borsiczki B, Gasz B, Roth E, Lantos J (2006). Evaluation of oxidative stress in the thrombolysis of pulmonary embolism. 22, 221-8.
- Myers D J, Farris D, Hawley A, Wroblewski S, Chapman A, Stoolman L, Knibbs R, Strieter R, Wakefield T (2002). Selectins influence thrombosis in a mouse model of experimental deep venous thrombosis. *J Surg Res*.
- Nathan C, Xie QW (1994). Nitric oxide synthase roles, tolls and controls. *Cell*, 78, 915-18.
- Nedelgoviç ZS, Gokce N and Loscalzo J (2003). Mechanisms of oxidative stress and vascular dysfunction. 79, 195-200.
- Nygard O, Vollset SE, Refsum H, Stensvold I, Tverdal A, Nordrehaug JE, Ueland M, Kvåle G. (1995). Total plasma cysteine and cardiovascular risk profile: the horland homocysteine study. *JAMA*, 274, 1526-33.
- Omar S Ghorbel IB, Feki H, Malek S, Feki M, Houman H, Kaabachi (2007). Hyperhomocystinemia is associated with deep venous thrombosis of the lower extremities in Tunisian patients. *Clinical Biochemistry*, 40, 41-45.
- Önder MR ve Barutçuoğlu B (2007). Endotel. Levent Ofset Basım A.Ş. II. Baskı, İstanbul.
- Öner F, Kaya A, Doğan R ve Numanoğlu N (2003). Venöz tromboembolizmde kalıtsal risk faktörleri. *Tüberküloz ve Torax Dergisi*, 1, 60-69.
- Özdemir H (2008). Venöz tromboz ve radyoloji. *Türkiye Klinikleri J of General Surgery*, 1, 22-28.
- Özdoğu H (2007). İnflamasyonda bir baş aktör: endotel. *Hematoloji* 6. İlk Basamak Kursu, Ankara.

Pieper CF, Rao KM, Currie MS, Haris TB, Chen HJ (2000). Age, functional status and racial differences in plasma d-dimer levels in community-dwelling elderly persons. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 55, 649-57.

Pleban PA, Munyani A, Beachum J (1982). Determination of selenium concentration and glutathione peroxidase activity in plaserythrocytes. *Clinical Chemistry*, 28, 311-316.

Prandoni P, Bilora F, Marchiori A, Bernardi E, Petrobelli F, Lensing AW, Prins MH, Giralomi A (2003). An association between atherosclerosis and venous thrombosis. 348, 1435-1441.

Re G, Lanzarini C, Vaona I, Pazzaglia M, Palareti G, Bassein L, Guarnieri C (1998). Systemically circulating oxidative species in human deep venous thrombosis. *Eur J Emerg Med*, 5, 9-12.

Sarbal D (2006). KOAH patogenezinde hemoreoloji, lipid peroksidasyonu, antioksidan savunma ve eser element düzeyleri arasındaki ilişkilerin saptanması. Yüksek lisans tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 69s.

Sarğul A ve Tanyeli Ö (2007). Derin ven trombozunda güncel tedavi yaklaşımları. *Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg*, 15, 316-321.

Scarvelis D and Wells PS (2006). Diagnosis and treatment of deep-vein thrombosis. *CMAJ* 175, 1087-1092.

Selçuk MT, Selçuk H, Temizhan A, Maden O, Ulupınar H ve ark. (2008). Plazma asimetrik dimetilarginin (ADMA) düzeyi ve L-arginin/ADMA oranının koroner kollateral gelişimi üzerine etkisi. *Türk Kard Dern Arş*, 36, 150-155.

Schafer A, Wiesmann F, Neubauer S, Eigenthaler F, Bauersachs J, Channon KM (2004). Rapid regulation of platelet activation *in vivo* by nitric oxide. *Circulation*. 109,1819-1822.

Skara-Sajer N, Mittermayer F; Panzenboeck A, Bonderman D, Sadushi R, Hitsch R ve ark (2007). Asymmetric dimethylarginine is increased in chronic thromboembolism pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*, 176, 1154-1160.

Slater TF (1984), Free-radical mechanism in tissue injury. *Biochem J*. 222, 1-15.

Spencer FA, Ginsberg JS, Chong A, Alter DA (2008). The relationship between unprovoked venous thromboembolism age and acute myocardial infarction. *J Thromb Haemost* 6: 1507-1513.

Stewart GR, Ritchie WGM, Lynch PE (1974). Venous endothelial damage produced by massive sticking and emigrating of leucocytes. *Am J Pathol*, 74, 507-32.

Storz G and Imaly JA (1999). Oxidative stres. Elsevier Current opinion in Microbiology, 2, 188-194.

Stuhlinger MC, Tsao PS, Her JH, Kimoto M, Balint RF, Cooke JP (2001). Homocysteine impairs the Nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation*, 104, 2569-2575.

Suzuki H, Swei A, Zweifach BW, Schmid-Schönbein GW. *In vivo* evidence for microvascular oxidative stres in spontaneously hypertensive rats: hydroethidine microfluorography. *Hypertension*, 25, 1083-1089.

- Sydow K and Münzel T (2003). ADMA and oxidative stres. *Atherosclerosis Supplements*, 4, 41-51.
- Sydow K, Schwedhelm E, Arakawa N, Bode-Böger SM, Horning B, Frölich JC (2003). ADMA and oxidative stress are responsible for endothelial dysfunction in hyperhomocyst(e)inemia: effects of L-arginine and B-vitamins. *Cardiovasc Res*, 57, 244-52.
- Şekeroğlu MR, Şahin H, Dülger H, Algün E (2000). The Effect of dietary treatment on erythrocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and serum lipid peroxidation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clinical Biochemistry*, 33, 669-674.
- Tağıl SM (2003). Üst ve alt ekstremitte venlerinin anatomisi. *Türkiye Klinikleri J of Surgery*, 8, 73-80.
- Taysi S, Gul M, Sari RA, Akcay F, Bakan N (2002). Oxidant/antioxidant status in serum of patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Chem Lab Med*, 40, 684-688.
- Tekcan M (2007). Oksidatif stres-antioksidanlar ve testis. *İnfertilite*, 131-136.
- Tekkes Y (2006). Streptozotosin ile diabet oluşturulmuş farelerde aspirin ve e vitaminin dokularda lipid peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, 81s.
- Temel İ ve Özerel E (2002). Homosistein metabolizma bozuklukları ve vasküler hastalıklarla ilişkisi. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 9, 149-157.
- Thomas DP, Rosmeny EM, Hillar KF, Hockey D (1982). Resistance of normal endothelium to damage by thrombin. *Br J Haematol*, 51,25-35.
- Torun E ve Bayram E (2004). Endokrin bir organ olarak endotel ve endotelinin hipertansiyondaki rolü. *Erciyes Tıp Dergisi*, 26, 126-13.
- Tran CT, Leiper JM, Vallance P (2003). The DDAH/ADMA/NOS pathway. *Atherosclerosis*, 4, 33-40.
- Turpie A GG, Chin BSP, Lap GYH (2002). Venous thromboembolism: pathophysiology, clinical features, and prevention. *British Medical Journal*, 325, 887-890.
- Turgut M ve Bakan A (1998). Homosistein, vasküler hastalık ve tromboz. *OMÜ Tıp Dergisi*, 15, 340-349.
- Tümay M (2010). Retinitis pigmentosa'da serbest radikallerin rolü. Yüksek lisans tezi, Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı, Mersin.
- Türköz Y ve Özeral E (1997). NO etkileri ve patolojik rolleri. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* 4, 453-461.
- Ulukent SC, Acun Z (2003). Venöz tromboembolizm'de profilaksi: risk grupları, mekanik ve farmakolojik profilaksi. *Türkiye Klinikleri J of Surgery* 8, 99-107.
- Uncu D ve Güçtekin A (2008). Venöz tromboz ve laboratuvar. *Türkiye Klinikleri J of General Surgery*, 1,15-21.

- Uncu H (2008). Derin ven trombozunda hikâye ve klinik değerlendirme. Türkiye Klinikleri J of General Surgery, 1, 6-14.
- Undas A, Brozek J ve Szczeklik A (2005). Homocysteine and thrombosis: from basic science to clinic evidence. Thromb Haemost,694, 907-15.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 39, 44–84.
- Valkonen V-P and Laaksonen R (2004). Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and acute vascular events. Clinica Chimica Acta, 348, 9-17.
- Valkonen VP, Tuomainen TP and Laaksonen R (2005). DDAH gene and cardiovascular risk. Vascular Medicine, 10, 45-48.
- Vallance P ve Leiper J (2004). Cardiovascular biology of the asymmetric dimethylarginine: dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway. Arterioscler thromb vasc biol, 24,1023-1030.
- Vanhoutte PM, Shimokawa H, Tang EH, Feletou M (2009). Endothelial dysfunction and vascular disease. Acta Physiol,196, 193-222.
- Wallace D (1999). Mitochondrial diseases in man and mouse. Science, 283, 1482-1488.
- Wei H and Frenkel K (1991). Cancer. Research, 51, 4443-4449.
- Wells PS, Hørh J, Anderson DR, Lensing AW, Foster G, Kearon C, Weitz J, D'Ovidio R, Cogo A, Prandoni P (1995). Accuracy of clinical assesment of deep-vein thrombosis. Lancet, 345, 1326-30.
- Wilson AM, Shin DS, Weathherby C, Harada RK, Ng MK, Kielstein J and Cooke JP (2010). Asymmetric dimethylarginine correlates with measures of disease severity, major adverse cardiovascular events and all-cause mortality in patients with peripheral arterial disease. Vascular Medicine, 15, 267-274.
- Winow V, Winroyd RG, Morris CJ, Blake DR. (1993). Free radicals in inflammation: Second messengers and mediators of tissue destruction. British Medical Bulletin, 49,506-522.
- Wu G, Meininger CJ (2008). Analysis of citrulline, arginine, and methylarginines using high-performance liquid chromatography. Methods Enzymol, 440, 177-89.
- Yau TM, Weisel RD, Mickle DAG, Burton GW, Ingold KU, Ivanov J, Mohabeer MK, Tumiatı L, Carson S ( 1994). Vitamin E for coronary bypass operations. J Thorac Cardiovasc Surg,108,302-10.
- Yarıktaş M, Fehmi D, Doğru H, Aynalı G, Yönden Z, Delibaş N (2003). Baş-boyun malin tümörlerinde malondialdehit düzeyi ve antioksidan enzim aktiviteleri. 10,65-67.
- Yaycıoğlu A, Arıbal D ve Tatlıcıoğlu E (1978). Cerrahi Damar Hastalıkları. Ankara.
- Yazıcı C ve Köse K (2004). Melatonin, karanlığın anti-oksidan gücü, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 13, 56-65.
- Yıldırım M (2007). Alt Ekstremitte venöz sistem klinik anatomisi. Bozkurt AK, Yıldırım M (eds), Kronik venöz yetersizlik kitabı, 1. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, 9-17.

Yılmaz MI, Eyileten T ve Yenicesu M (2007). Kronik böbrek hastalığında yeni bir oyuncu: asimetrik dimetiltarjinin. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 16, 93-101.

Yılmaz Y (2006). Antioksidan enzim aktivitelerinin (cat ve gsh-px) koroner anjiyoplasti sırasında ve sonrasındaki değişimi ve bu enzim aktivitelerine anjiyoplasti sırasında verilen nazal oksijenin etkisinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, On Dokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı, Samsun, 87s.

Yılmaz MS (2004). Koroner arter hastalığı ciddiyeti ve yaygınlığı ile karotis arter intima-media kalınlığı ve brakial arter endotel fonksiyonu arasındaki ilişki. Uzmanlık tezi, Sağlık Bakanlığı Dr Siyami Ersek Göğüs, Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 86s, İstanbul.

Yüce A ve Aksakal M (2006). Ratlarda homosisteinin oksidan antioksidan sistem ve koroner damarlarda oluşturduğu değişiklikler üzerine melatoninin etkisi. *F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi*, 20, 51-59.

Young IS, Woodside JV (2001). Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol.* 54, 176-186.

Zhou K, Zhao R, Geng Z, Jiang L, Cao Y, Xu D, Liu Y, Huang L, Zhou J (2012), Association between B-group vitamins and venous thrombosis: systematic review and meta-analysis of epidemiological studies. *J Thromb Thrombolysis*, (in press).

## ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Erzincan'da doğdu. 1993 yılında İstanbul Şehremini Lisesi'nden mezun oldu. Yine aynı yıl Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi'ni kazandı. 1999 yılında mezun oldu. 2000 yılında Van Yüksek İhtisas Hastanesi'nde memuriyet hayatına başladı. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisansını yaptı. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda 02.10.2007 tarihinde doktora başladı ve halen devam etmektedir. Evli ve üç çocuk sahibidir.