

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ACİL TIP ANABİLİM DALI

**NONTRAVMATİK AKUT KARIN AĞRILI OLGULARDA SERUM
OKSİDATİF STRES VE PROLİDAZ ENZİM DÜZEYLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Levent ALBAYRAK

DANIŞMAN
Doç.Dr. Halil KAYA

ŞANLIURFA

2015

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ACİL TIP ANABİLİM DALI

**NONTRAVMATİK AKUT KARIN AĞRILI OLGULARDA SERUM
OKSİDATİF STRES VE PROLİDAZ ENZİM DÜZEYLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Levent ALBAYRAK

DANIŞMAN
Doç. Dr. Halil KAYA

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinatörlüğü (HÜBAK) tarafından 13048 numaralı proje ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA

2015

TEŞEKKÜR

Acil Tıp uzmanlık eğitimim ve tez yazımı süresince yardımını ve desteğini esirgemeyen saygıdeğer hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Halil Kaya'ya, değerli hocalarım Doç. Dr. Mehmet Tahir Gökdemir'e, Yard. Doç. Dr. Hasan Büyükaslan'a, uzmanlık eğitimim boyunca bilgi, birikim ve deneyimlerinden faydalandığım, eğitimimde çok büyük emeği bulunan bilgi ve tecrübeleri ile örnek olan, her konuda yardım ve desteğini hissettiğim, Doç. Dr. Özgür Söğüt'e, minnet ve şükranlarımı sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım aynı yükü paylaştığım, araştırma görevlisi doktor arkadaşlarım, Dr. Fatih Güngörmez, Dr. Ahmet Can Deniz, Dr. Veysel Avcı, Dr. Ramazan Giden ve Dr. İbrahim Halil Cebe'ye, acil servis hemşirelerimize, tüm acil servis personelimize, değerli dekanımıza, hastane başhekimimize, diğer tüm kademelerindeki hastane personellerine, asistanlığa başlarken bizi karşılayan tüm samimiyetleriyle her türlü idari işimize koşturan başta Murat Alkan ve Tevrat Zeray olmak üzere tüm dekanlık personeline, her zaman her koşulda yanımda olduklarını hissettiren ve bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi olan sevgili annem ve babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr.Levent Albayrak

İÇİNDEKİLER

SAYFA NO

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
ŞEKİLLER LİSTESİ	V
TABLolar LİSTESİ	VI
KISALTMALAR ve SİMGELER	VII
ÖZET	VIII
ABSTRACT	X
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Karın Ağrısı Nedenleri	2
2.1.1. Karın içi hastalıklar	2
2.1.2. Karın dışı hastalıklar	4
2.1.3. Metabolik hastalıklar	4
2.1.4. Psikolojik kökenli ağrılar	4
2.2. Akut Karın Ağrısı Nedenleri	4
2.2.1. Gerçek akut karın hastalıkları	5
2.2.1. Gerçek akut karın hastalıkları	5
2.2.3. Karın Ağrısında Tanı	5
2.2.4. Laboratuvar Testleri	6
2.2.5. Görüntüleme Tetkikleri ve Girişimsel Tetkikler	6
2.3. Oksidatif Stres Parametreleri ve Prolidaz	7
2.3.1. Serbest Radikaller	8
2.3.2. Başlıca Serbest Radikal Üretim Kaynakları	13
2.3.3. Endojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları	13

2.3.4. Ekzojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları	16
2.3.5. Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri	17
2.3.6. Serbest Radikallerin Lipitlere Etkileri	17
2.3.7. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri	18
2.3.8. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri	19
2.3.9. Serbest Radikallerin DNA'ya Etkileri	19
2.4. Antioksidan Savunma Sistemleri	21
2.5. Enzimatik Antioksidanlar	22
2.5.1. Süperoksit Dismutaz	22
2.5.2. Katalaz	22
2.5.3. Glutasyon Peroksidaz	22
2.5.4. Glutation-S-Transferaz	24
2.5.5. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz	24
2.6. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	25
2.7. Total Oksidan Seviye	25
2.8. Total Antioksidan Seviye	25
2.9. Oksidatif Stres İndeksi	26
2.10. Prolidaz	26
2.10.1. Prolidazın Tanımı	26
2.10.2. Prolidazın Yapısı	27
2.10.3. İnsan Prolidazının Primer Yapısı ve Gen Lokalizasyonu	27
2.10.4. Prolidazın İzoenzimleri	28
2.10.5. Prolidaz İnhibitörleri ve Aktivatörleri	29
2.11. Prolin	29

2.11.1. Prolinin Yapısal Özellikleri	29
2.11.2. Prolinin Biyolojik Önemi	30
2.12. Kollajen	31
2.12.1. Prolidazın Kollajen Yapım ve Yıkımında Önemi	31
3. MATERYAL VE METOD, YÖNTEM	35
3.1. Çalışma Grubu	35
3.1.1. Olguya Dahil Edilme Kriterleri	35
3.1.2. Olgu Daraltma Kriterleri	35
3.1.2.1. İşlem	36
3.1.3. Total Antioksidan Seviye	36
3.1.3.1 Reaktiflerin hazırlanması	36
3.1.4. Total Oksidan Seviye	37
3.1.4.1. Reaktiflerin hazırlanması	37
3.1.5. Oksidatif Stres İndeksi	38
3.1.6. Prolidaz Aktivitesi	38
3.1.6.1. Ölçüm yöntemi	39
3.1.6.2. İşlem	40
3.1.6.3. Prolidaz Aktivitesinin Hesaplanması	41
3.1.6.4. Prolidaz aktivite düzeyi	41
3.2. İstatistiksel Analiz	41
4. BULGULAR	42
5. TARTIŞMA	49
6. SONUÇ	54
KAYNAK	55

ŞEKİLLER LİSTESİ

SAYFA NO

Şekil-1: Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri	17
Şekil-2: Prolin ve Diğer Bir Amino Asidin Yapısal Görünümü	29
Şekil-3: Prolin Krebs ve Üre Döngüleriyle Metabolik Bağlantısı	31
Şekil-4: Kollojen Yıkımında Prolidaz ve Prolinazın Yeri	33
Şekil-5: Hasta ve Kontrol gruplarının TAS düzeylerinin ortalamaları	45
Şekil-6: Hasta ve Kontrol gruplarının TOS düzeylerinin ortalamaları	45
Şekil-7: Hasta ve Kontrol gruplarının OSİ düzeylerinin ortalamaları	46
Şekil-8: Hasta ve Kontrol gruplarının Prolidaz Enzim aktivitesinin ortalamaları	48

TABLO LİSTESİ**SAYFA NO**

Tablo-1: Oksijen türevi bileşikler	8
Tablo-2: Fagositlerin ürettiği reaktif oksidan ürünler	15
Tablo-3: İnsan Prolidaz I ve Prolidaz II İzoenzimlerinin Doku Dağılımları	28
Tablo-4: Çalışmalar Sırasında Kullanılan Kimyasal Maddeler	38
Tablo-5: Prolidaz Düzeyi Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler	40
Tablo-6: Prolidaz Düzeyi Ölçümünde Kullanılan Ayıraçlar	40
Tablo-7: Hasta Grupları ve Kontrol gruplarının demografik özellikleri	42
Tablo-8: Hasta ve Kontrol grupları arasındaki Oksidatif Stres ve Prolidaz Enzimi Düzeyleri	43
Tablo-9: Hasta ve Kontrol grupları arasındaki Oksidatif Stres ve Prolidaz Enzimi Düzeyleri	44
Tablo-10: Hasta ve Kontrol gruplarının Korelatif İlişkilerini gösteren tablo	48

KISALTMALAR ve SİMGELER

AA	: Akut Apandisit
AAA	: Ailevi Akdeniz Ateşi
ABTS	: azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonik asit
CGMP	: Siklik Guanozin Monofosfat
CRP	: C Reaktif protein
DEAE	: Dietilaminetil
DNA	: Deoksiribonükleik asit
ERCP	: Endoskopik Retrograd Kolanjiyo Pankreatografi
GC	: Guanilat Siklaz
GSH	: Glutatyon
NOS	: Nitrik Asit Sentaz
NSKA	: Non spesifik Karın ağrısı
OSI	: Oksidatif stres indeksi
PLGSH-Px	: Fosfolipid hidroperoksid glutatyon peroksidaz
PUFA	: Çoklu Doymamış Yağ Asidi
RNA	: Ribonükleik Asit
ROS	: Reaktif oksijen radikali
SOD	: Super oksit dismutaz
SPSS	: Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi
TAS	: Total antioksidan kapasite
TDKA	: Travma dışı karın ağrısı
TOS	: Total oksidant seviye

ÖZET

Nontravmatik Akut Karın Ağrılı Olgularda Serum Oksidatif Stres ve Prolidaz Enzim Düzeylerinin Araştırılması

Dr.Levent ALBAYRAK

Acil Tıp Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi

Amaç: Akut karın ağrısının tanı ve ayırıcı tanısında tek başına kullanılabilecek biyokimyasal parametrelerin belirsizliği önemli klinik sorunların başında gelmektedir. Bu çalışma ile nontravmatik karın ağrısı (NTKA) ile başvuran hastalarda nonspesifik karın ağrısı (NSKA) ve cerrahi nedenli karın ağrısının ayırımında serum oksidatif stres parametrelerinin ve prolidaz enzim aktivitesinin belirleyici bir değeri olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmaya Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Servisine 10 Nisan 2013 ile 5 Mart 2014 tarihleri arasındaki yaklaşık on iki aylık sürede başvuran travma dışı karın ağrılı 100 hasta alındı. Öncelikle 100 kişilik sağlıklı erişkinlerden kontrol grubu oluşturuldu. Hasta ve kontrol grupları karşılaştırıldı. Daha sonra hasta grubu 33'ü cerrahi, 34'ü medikal, 33'ü NSKA olmak üzere 3 gruba ayrıldı ve 34 kişilik kontrol grubu 100 kişilik sağlıklı erişkinler arasından seçilerek oluşturuldu. Gruplardan alınan venöz kan örneklerinden çalışma sonunda Prolidaz, TAS, TOS düzeyleri ölçüldü. OSİ; TOS, TAS'a oranlanarak bulundu. İstatistiksel analizler SPSS 11,5 istatistik programı ile değerlendirildi. $P<0,05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular: TAS yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak fark görülmedi ($p>0,05$). Prolidaz ve TOS seviyeleri cerrahi grubunda en yüksek bulundu. TOS değerleri açısından Cerrahi grup ile Medikal Grup, NSKA grubu ve Kontrol grubu arasında anlamlı

fark bulundu. P değerleri sırasıyla; ($p<0,050$), ($p<0,001$), ($p<0,001$). TOS değerleri açısından Medikal grup ile NSKA Grubu ve Kontrol Grubu arasında anlamlı fark bulundu. P değerleri sırasıyla; ($p<0,010$), ($p<0,001$). TOS değerleri açısından NSKA grubu ile Kontrol Grubu arasında fark bulunamadı ($p>0,05$). OSİ değerleri açısından, Cerrahi grup ile Medikal Grup arasında fark bulunamadı ($p>0,05$). OSİ değerleri açısından Cerrahi grup ile NSKA Grubu, Kontrol Grubu arasında anlamlı fark vardı. P değerleri sırasıyla ($p<0,010$), ($p<0,010$) dır. OSİ değerleri açısından Medikal grup ile NSKA Grubu ve Kontrol Grubu arasında anlamlı fark bulundu. P değerleri sırasıyla ($p<0,010$), ($p<0,010$). OSİ değerleri açısından NSKA grubu ile Kontrol Grubu arasında fark bulunamadı ($p>0,05$). Prolidaz değerleri açısından, Cerrahi grup ile Medikal Grup, NSKA Grubu arasında anlamlı fark bulundu. P değerleri sırasıyla ($p<0,001$), ($p<0,001$). Prolidaz değerleri açısından Medikal grup ile NSKA Grubu ve Kontrol Grubu arasında anlamlı fark bulundu. P değerleri sırasıyla ($p<0,010$) ($p<0,010$). Prolidaz değerleri açısından NSKA grubu ile Kontrol Grubu arasında anlamlı fark bulunamadı.

Sonuç: Bildiğimiz kadarıyla çalışmamız ile literatürde ilk defa olarak NSKA'lı olgularda oksidatif parametreler ve prolidaz enzim düzeyleri birlikte çalışılmıştır. Bu çalışma ile nonspesifik karın ağrısı ve cerrahi nedenli karın ağrısının ayırımında serum oksidatif stres parametrelerinin ve prolidaz enzim aktivitesinin belirleyici bir değeri olabileceği düşünüldü. Çalışmamızın sonucuna göre bu hasta gruplarına tanı koymak için geçen zaman kısaltılabilir, hastalara istenen gereksiz tetkik sayısı azaltılabilir ve maliyet düşürülebilir, hastaların acilde kalma süreleri azaltılabilir, hastaların uygun tedavisi hızlı bir şekilde başlanabilir. NTKA'a yaklaşımda çalışmamız ve yapılacak benzeri çalışmaların sonuçlarına göre başvuru kılavuzları hazırlanabilir. Bu konuda daha ileri çalışmalara gereksinim vardır.

Anahtar kelimeler: Travma dışı karın ağrısı, nonspesifik karın ağrısı, prolidaz, oksidatif stres, acil servis

ABSTRACT

Investigation of Serum Oxidative Stress and Prolidase Enzyme Levels in Cases with Acute Nontraumatic Abdominal Pain

Levent ALBAYRAK, MD

Specialty Thesis, Department of Emergency Medicine

Objectives: The uncertainty of biochemical parameters that can be used alone in emergency departments for diagnosis and differential diagnosis of acute abdominal pain is one of the major clinical problem. For this reason this study will be held to investigate whether there is a value of prolidase enzyme activity and serum oxidative stress parameters in determining separation of patients with nonspecific abdominal pain (NSAP) and nontraumatic acute abdominal pain that requires surgery in emergency departments.

Materials and Methods: 100 Patients with non traumatic abdominal pain who admitted to Harran University School of Medicine Emergency Clinic between 10 April 2013 and 5 March 2014 were enrolled as patients group and the 100 healthy cases were enrolled as control group to the study. Patient group divided into 3 groups as surgically treated patients (Group A , surgical group with 33 patients), medically treated patients (Group B , medical group with 34 patients) and patients with nonspecific abdominal pain (Group C, NSAP group with 33 patients). Venous blood samples were obtained from subjects and plasma prolidase activity, total antioxidant capacity (TAC), total oxidative status (TOS) and oxidative stress index (OSI) were measured at the end of the study. Independent samples t-test, chi-square test were used for statistical analysis.

Results: There was no statistically significant difference in TAC levels between groups ($p>0,05$). Highest prolidase and TOS levels observed in surgery group. There was significant difference in TOS levels between surgery group, medical group and NSAP group; ($p<0,050$), ($p<0,001$), ($p<0,001$). There was significant difference in TOS levels between medical group

and NSAP group ; ($p < 0,010$), ($p < 0,001$). There was no statistically significant difference in TOS levels between NSAP group and control group ($p > 0,05$). There was no statistically significant difference in OSI levels between surgery and medical groups ($p > 0,05$). There was significant difference in OSI levels between Surgery group, NSAP group and control group; ($p < 0,010$) ($p < 0,010$). There was significant difference in OSI levels between medical group , NSAP group and control group; ($p < 0,010$), ($p < 0,010$). There was no statistically significant difference in OSI levels between NSAP group and control group ($p > 0,05$). There was significant difference in prolidase levels between surgery group, medical group and NSAP group; ($p < 0,001$), ($p < 0,001$). There was significant difference in Prolidase levels between medical group, NSAP group and control group; ($p < 0,010$) ($p < 0,010$). There was no statistically significant difference in prolidase levels between NSAP group and control group ($p > 0,05$).

Conclusion: This study reveals that may be there is a value of prolidase enzyme activity and serum oxidative stress parameters in determining separation of patients with NSAP and nontraumatic acute abdominal pain that requires emergent surgical treatment. In the light of these findings, it is possible to conclude that the patients who needs early surgery may be diagnosed faster, time can be shortened to diagnose those patients, number of unnecessary tests can be reduced, costs can be reduced, appropriate treatment of those patients can be started quickly and those patients waiting time in emergency services can be reduced dramatically. According to the results of similar studies in the future, reference guidelines for nontraumatic abdominal pain can be prepared. However, we believe that further controlled studies with larger study population are needed to verify this conclusions.

Key words: Non traumatic acute abdominal pain, nonspecific abdominal pain, prolidase, oxidative stress, emergency service

1. GİRİŞ

Karın ağrısı, hemen herkesin yaşamı boyunca en az bir kez karşılaştığı bir durum olup acil servislere başvuran hastaların en sık şikayetlerinden birisidir. Acil servise başvuran hastaların % 5-10'unda karın ağrısı vardır. Bir haftadan daha az süregelen ve hekime başvurduğunda tanısı konulmamış karın ağrısı olan hasta akut karın sendromlu hasta olarak tanımlanır. Karın ağrısı ile başvuran hastaların bazılarında akut apandisit, peptik ülser perforasyonu, abdominal aort anevrizma rüptürü gibi çok ciddi patolojiler olabileceği gibi, birçok hastada da dispepsi, gastroenterit, gastrit gibi daha önemsiz problemler ağrıyı oluşturmuş olabilir. Genel olarak bakıldığında karın ağrısı şikayeti olan hastaların yaklaşık % 20-25'ini hastaneye acil yatış gerektiren cerrahi hastalar oluştururken, % 35-40'ını yapılan tüm tetkiklere rağmen hiç bir patolojinin bulunmadığı, bilinen karın ağrısı formlarına uymayan, çoğu kez izlem altında tutulurken ağrıları kendiliğinden geçen NSKA'lı hastalar oluşturur (1) (2).

Akut karın ağrısı ile acil servise başvuran hastaların hızlı bir şekilde değerlendirilip, ayırıcı tanısının yapılması büyük önem arz eder. Acil cerrahi ihtiyacı olanların belirlenmesi, acil cerrahi ihtiyacı olmayanların ise takip süreleri acil hekimleri için çeşitli zorluklar barındırır. Literatürde karın ağrısının en sık nedenlerinden biri olan akut apandisit (AA) tanısında kullanılmak üzere oksidatif stres ve prolidaz gibi bazı biyokimyasal belirteçlerin kullanılabileceği bildirilmiştir (3) (4).

Acil servislerde akut karın ağrısının tanı ve ayırıcı tanısında tek başına kullanılabilecek biyokimyasal parametrelerin belirsizliği önemli klinik sorunların başında gelmektedir. Bu nedenle yapılacak olan bu çalışma ile acil serviste NTKA ile başvuran hastalarda NSKA ve cerrahi nedenli karın ağrısının ayırımında serum oksidatif stres parametrelerinin ve prolidaz enzim aktivitesinin belirleyici bir değeri olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Akut karın ağrısı; bir haftadan daha az süreden beri var olan, nontravmatik nedenlere bağlı gelişen, nedeni bilinmeyen, karın içi veya karın dışı organları ilgilendiren hastalıkların seyri sırasında ortaya çıkan bir semptomdur. Akut karın ağrısı cerrahi veya medikal bir acilin habercisidir. Karın ağrısı acil polikliniklere geliş nedenleri arasında 6. sırada yer alır ve tüm medikal acillerin de 4. nedenidir (2). Acil polikliniklere başvuran hastaların %5-10'unda karın ağrısı şikayeti bulunmaktadır (1).

Akut karın ağrısının tanı ve tedavisi tüm teknolojik gelişmelere rağmen hala önemli klinik sorunların başında gelmektedir. Tanıda anamnez, fizik muayene, laboratuvar ve görüntüleme yöntemlerinden yararlanılmakla birlikte akut karın ağrısının tanısında sorunlar devam etmektedir. Acil polikliniklere çok sayıda hasta karın ağrısı ile başvurmakta, bunların akut karın ağrısı olarak belirlenmesi ve acil cerrahi gerektiren karın ağrısı olup olmadığının ortaya konması, ayırıcı tanıların yapılması çok sayıda laboratuvar ve görüntüleme yöntemleri kullanılmasına rağmen zor olmaktadır. Bir araştırmada görüntüleme ve laboratuvar yöntemlerindeki gelişmelere rağmen akut karın ağrısı olgularının büyük bir kısmı NSKA olarak değerlendirilmekte, kesin tanı konulamamaktadır (5).

Yine ülkemizde bir araştırmada karınağrısı şikayeti ile hastaneye başvuran hastaların , semptom ve fizik muayene bulgularına göre konulan tanı ile kesin tanı uyumu %64,1, tetkik ve müşahede sonucu elde edilen ikinci tanı ile kesin tanı uyum oranı %93,4 olarak tespit edilmiştir (6).

2.1. Karın Ağrısı Nedenleri

Karın ağrısı nedenleri dört grup altında toplanmaktadır (7).

2.1.1.Karın içi hastalıklar

A) Pariyetal periton inflamasyonu

1. Yaygın peritonit

a. **Primer bakteriyel enfeksiyon (Primer peritonit);** pnömokok, streptokok ve E.colinin neden olduğu peritonitler.

b. **Bakteriyel kontaminasyon;** apendiks ve kolon perforasyonu sonucu gelişen peritonitler.

c. **Kimyasal peritonit**; duoedenum ülser perforasyonu ve over kist rüptürü sonucu gelişen peritonitler.

2. **Lokalize peritonit**; akut apandisit, kolesistit, terminal ileit, pankreatit.

3. **Mezenterin gerilmesi** (tümoral nedenler) .

B) Lümenli organların gerilmesine neden olan mekanik tıkanmalar

1. **İnce veya kalın barsak tıkanmaları**; kolon tümörü, brid, volvulus, invajinasyon.

2. **Safra yollarında tıkanma**; safra taşları, darlıklar, tümörler.

3. **Üreter tıkanmaları**; taş, kıvrılma, dıştan tümoral bası.

4. **Uterus tıkanması**; tümör, doğum eylemi.

C) Solid organların kapsülünün ani gerilmesi

1. **Karaciğer kapsülü**; hepatit, hızlı büyüyen tümörler.

2. **Dalak kapsülü**; akut splenomegali, kapsül içi kanama, apse, kist, tümör.

3. **Böbrek kapsülü**; pyelonefrit, kapsül içi kanama, apse, üreter tıkanması.

D- Akut iskemi: Mezenterik tromboembolizm, splenik tromboembolizm, hepatik enfarktüs veya toksik hepatit, safra kesesi, dalak, over kisti, testis veya appendiksin hızlı torsiyonu, damar yırtılması (anevrizma, mezenterik apopleksi) , orak hücreli anemidir.

2.1.2. Karın dışı hastalıklar

A- Göğüs içi organların hastalıkları: Pnömoni, pulmoner embolizm, pnömotoraks, akut miyokart enfarktüsü, miyokardit, anjina pektoris, özefagus rüptürü, ösefajial spazmıdır.

B- Nörolojik ve iskelet/kas sistemi hastalıkları: Omurilik hastalıkları (tümör, tabes dorsalis, bası). İnfeksiyöz veya mekanik radikülopati herpes zoster, postherpetik nevralji, Neuropatiye nevraljiye neden olan kaburga kırıkları. Alt kıkırdak kaburga kırığı veya çıkığı, miyofasyal ağrı sendromları, karın duvarı kaslarına travma, polimiyozittir.

2.1.3. Metabolik hastalıklar

A. Ekstresek nedenler: Örümcek ısırıkları, kurşun ve diğer ağır metal zehirlenmeleridir.

B. İntrensek nedenler: Üremi, porfiri, diabetes mellitus komplikasyonu olan diyabetik ketoasidoz, alerjik hastalıklardır.

2.1.4. Psikolojik kökenli ağrılar

İrritabl barsak sendromu, anksiyete, depresyon, hipokondriyak tablolarıdır.

2.2. Akut Karın Ağrısı Nedenleri

Akut karın ağrısı nedenleri dört grup altında toplanmaktadır (8).

2.2.1. Gerçek akut karın hastalıkları

Cerrahi patolojiler: Akut apandisit, kolesistit, peptik ülser perforasyonu, akut mekanik intestinal obstrüksiyon, boğulmuş fitiklar, ince ve kalın bağırsak perforasyonu, mezenter arter ve ven oklüzyonu, meckel divertikülüti, nekrotizan pankreatit, anevrizma rüptürleri, ektopik gebelik rüptürü, over kist ve tümör torsiyonu, boerhaave sendromudur.

2.2.2. Akut karını taklit eden hastalıklar

Medikal patolojiler: Akut gastrit, gastroenterit, akut ülser hecmesi, akut hepatit, budd chiari sendromu, biliyer kolik, renal kolik, üriner sistem enfeksiyonları, mezenter lenf adenit, primer peritonit, ailevi Akdeniz ateşi (AAA), tüberküloz peritonit, pelviperitonit, addison krizi, diyabetik ketoasidoz, akut hiperlipoproteinemi, akut intermitent porfiri, üremi, akut salpenjit, dismenore, endometriozis, mittelschmerz, sistemik lupus eritamatozus, poliarteritis nodoza, orak hücreli anemi krizi, akut lösemi, kurşun ve narkotik zehirlenmesi, tabes dorsalis, herpes zoster, karın duvarı hematomu, henoch schönlein pururasıdır.

Karın Dışı Patolojiler: Bazal pnömoni, plörezi, spontan pnömotoraks, miyokard iskemisi, ampiyem, perikardit, akciğer enfarktüsü, kaburga kırıkları, testis torsiyonudur.

2.2.3. Karın Ağrısında Tanı

Karın ağrısı ile kliniğe başvuran hastada öncelikle tanımlanması gereken bu ağrının akut karın ağrısı olup olmadığıdır. Daha sonra ise akut karın ağrısının acil cerrahi gerektiren

bir karın ağrısı olup olmadığının saptanması gerekir. Bu ayırıcı tanı yapılana kadar akut karın ağrılarında erken tanıyı önlemesi ve bulguları ortadan kaldırması nedeniyle analjezik kullanılmaması önerilmektedir.

Son dönemde yapılan çalışmalarda karın ağrısı şikayeti olan hastalarda narkotik analjezik kullanımının tanı ve tedaviyi etkilemediği, gerektiğinde narkotik analjezik kullanılabileceği belirtilmektedir (9) (10). Bir haftadan daha kısa süredir var olan ve daha önce hasta tarafından hissedilmemiş farklılıktaki karın ağrısı aksi ispat edilene kadar akut karın ağrısı olarak kabul edilmelidir (11) (8).

Akut karın ile gelen vakaların 2/3'ünde öykü ve fizik muayene ile tanı konabilmektedir. Destekleyici laboratuvar ve radyolojik tetkikler, birçok cerrahi durumun tanısı, ameliyat gerektirmeyen birçok medikal durumun ekarte edilmesi ve preoperatif hazırlıklara yardım açısından gereklidir. Akut karın ağrıları için patognomonik bir semptom, laboratuvar veya radyolojik bulgu yoktur (8).

AA tanısı ile ameliyat edilen hastaların % 10-20'sinde apendiks normal olarak bulunmuştur. Yanlış tanı en sık %20-30 oranında 20 yaş altı çocuklar ile doğurganlık dönemindeki kadınlar ve yaşlılarda görülmektedir (12).

Bazı laboratuvar tetkiklerinin güvenilirliği ve elde edilebilirliği her hastanede farklı olduğundan dolayı hekim tanıya gitmek için laboratuvar yöntemlerinin risklerini, maliyet ve zorluğunu mutlaka göz önünde bulundurmalıdır. Test sonuçları hastanın içinde bulunduğu klinik durumuna göre değerlendirilmelidir. Akut karın tanısını koymak her zaman kolay değildir. Akut karın ağrısı ile acil polikliniklerine müracaat eden hastaların yarısında ağrıların akut karınla ilgili olmayıp gastroenterit veya menstrual rahatsızlıklar gibi sebeplere dayandığı tespit edilmiştir. En yaygın akut karın nedeni akut apandisit, akut kolesistit, mekanik intestinal obstrüksiyon, perfore ülser ve divertikülit gibi durumlardır (8) (13).

2.2.4. Laboratuvar Testleri

Rutin hematolojik testleri kapsar. Diğer testler semptom ve belirtiler doğrultusunda planlanmalıdır.

1. Kan Testleri: Hemoglobin, hematokrit ve beyaz küre sayımları, serum bilirubin, alkalin fosfataz, ALT, AST, albumin ve globülin, CRP, sedimantasyon hızı, β -HCG oldukça

iyi bilgiler verir. Eğer hasta, anamnezinde muhtemel bir hematolojik bozukluk hikayesi veriyorsa pıhtılaşma testleri, trombosit sayımı, protrombin zamanı ve parsiyel tromboplastin zamanı, periferik yayma yapılmalıdır (11) (14).

2. İdrar Tetkiki: Rutin olarak alınmalıdır.

3. Gaita Analizi: Rutin tetkikler arasında değildir (15).

2.2.5. Görüntüleme Tetkikleri ve Girişimsel Tetkikler

Postero anterior akciğer grafisi, direkt karın grafileri, ultrasonografi (USG), bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans, anjiyografi, kontrastlı radyolojik çalışmalar, endoskopik girişimler, parasentez, tanısal laparoskopi tanı amaçlı kullanılabilir.

2.3. Oksidatif Stres Parametreleri ve Prolidaz

Hücrelerin normal fonksiyonları sırasında açığa çıkan ve bu hücrelerin doğal antioksidan sistemleriyle yok edilen serbest oksijen radikalleri, vücutta oksidatif bir denge halindedirler. Serbest radikal oluşum hızı antioksidan sistemin yok etme gücünü aştığında, denge bozulur ve serbest radikallere bağlı oksidatif stres ortaya çıkar (16).

Vücudumuzda önemli birçok dokunun yapısında yer alan kollajenin metabolik döngüsünde prolidaz spesifik bir enzim olduğu için önemi büyüktür. Kollajenin yıkımında ve prolinin kollajen yapımı döngüsüne yeniden katılımında prolidaz aktif görev almaktadır. Kollajen sadece pek çok organ ve dokunun değil aynı zamanda ekstrasellüler matriksin de yapısal bir bileşeni olması nedeniyle pek çok organ, doku ve hücre patolojisinde de etkilenmektedir (17).

2.3.1. Serbest Radikaller

Bilindiği gibi atomların çekirdekleri etrafında dönen elektronlar, belirli enerji düzeylerinde, birbirine zıt momentli çiftler şeklinde bulunmaya eğilimlidirler. En dış yörüngede bulunan elektron çiftinin dengesi, yörüngeye bir elektron girmesi ya da çıkmasıyla bozulursa, momenti dengelenmemiş bu tek elektron; atoma (ya da moleküle) büyük bir aktiflik kazandırır. En dış yörüngede eşlenmemiş bir elektronu bulunan molekül ya da molekül gruplarına “radikal” adı verilmektedir ve molekülün kimyasal simgesinin sağ üst köşesine konan nokta veya çizgiyle gösterilir ($R\cdot$ $R\cdot$) (18) (19).

Reaktif Oksijen Türleri: Oksijen, 8 atom numaralı, doğada dioksijen (O_2) olarak bulunan kararsız bir elementtir. Bu kararsız konumu, enerji düzeylerinde bulunan

elektronlarının yapısıyla ilişkilidir. Oksijen molekülündeki, aynı yönde dönen iki elektrona sahip 2P son orbitali önemlidir. Bu orbitallerden herhangi birindeki elektron, bir orbitali bırakıp diğerine geçtiğinde veya farklı yönde döndüğünde “singlet oksijen” oluşur. Orbitallerden birine ters dönüşlü iki elektron veya ikisine ters dönüşlü iki elektron daha gelirse “oksijen radikali” elde edilir (20).

Tablo-1: Oksijen türevi bileşikler

Radikaller	Radikal Olmayanlar
Hidroksil (HO·)	Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)
Alkoksil (RO·)	Singlet Oksijen (O ₂ ^{↑↓})
Peroksil (ROO·)	Ozon (O ₃)
Superoksit (O ₂ ·)	Hipoklorid (HOCl)
Nitrik oksit (NO·)	Lipit hidroperoksit (LOOH)
Azot dioksit (NO ₂ ·)	Peroksinitrit (ONOO·)

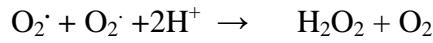
Oluşan radikal eşleşmemiş tek elektronu nedeniyle çok dengesizdir ve hızla ortamdan kaybolur. Bu yüzden bu radikaller tek elektronlarını bir başka moleküle verebilir (redüksiyon) ya da bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilirler (oksidasyon). Sonuçta nonradikal yapıyı radikal şekle dönüştürebilirler (18) (21).

Süperoksit Radikalleri (O₂^{·-}): Süperoksit radikalleri (O₂^{·-}), hücrelerde redükte elektron taşıyıcılarının otooksidasyonu ile üretilmektedirler. Süperoksit oluşumu; elektron taşıyıcısının redoks durumuna ve ortamdaki oksijen derişimine bağlıdır. Zayıf bir oksidan olan süperoksit radikalinin kendi başına önemli hücre hasarlarına yol açması mümkün görülmemektedir. Ancak süperoksit radikalleri oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonları başlatabilir. Bu reaksiyonların en önemlilerinden biri Haber-Weiss reaksiyonudur. Bu reaksiyonda O₂ ve H₂O₂ demir varlığında etkileşerek oldukça reaktif olan HO· radikalleri oluşmaktadır. Üretilen bu OH, radikalleri oldukça reaktif olup DNA gibi yapılarla reaksiyonlara girerek önemli hasarlara yol açabilmektedir (22) (23).



O_2^- radikalleri, hücre içi demir depolarından demiri serbest hale getirir. Serbest hale geçen demir iyonu Haber-Weiss gibi radikal üreten reaksiyonlarda veya diğer serbest radikal aracılıklı hücre hasarında rol oynayabilir. Süperoksit radikalleri çok kısa bir yarı ömre sahip olup dismutasyon reaksiyonu ile H_2O_2 ve oksijen üretirler. Dismutasyon reaksiyonu spontan olarak meydana gelmekte ve reaksiyon süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile katalizlenmektedir.

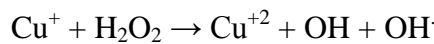
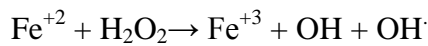
SOD



Hidroksil Radikalleri (HO^\cdot): Hidroksil radikali (HO^\cdot), biyolojik sistemlerde bulunan en güçlü serbest radikaldir. Dokular radyasyona maruz kaldıklarında, enerjinin çoğu hücre içindeki su tarafından absorblanır ve radyasyon oksijen-hidrojen arasında kovalent bağa neden olur. Sonuçta şekildegörüldüğü gibi iki radikal meydana gelir. Bu radikallerden biri hidrojen (H^\cdot) ve diğeri ise hidroksil radikaldir (OH^\cdot).

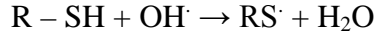


Hidrojen peroksitin (H_2O_2) Fe^{+2} veya Cu^{+2} ile reaksiyona girmesiyle de OH^\cdot oluşmaktadır. H_2O_2 toksisitesinin büyük çoğunluğunun temelinde bu oluşan OH^\cdot olduğu düşünülmektedir. Bu reaksiyon ilk defa 1894 yılında Fenton tarafından gözlenmiş ve günümüzde de Fenton reaksiyonu olarak bilinmektedir.

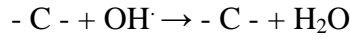


OH^\cdot radikalleri başta lipit, protein ve nükleik asitler (DNA ve RNA) olmak üzere hemen hemen bütün hücrel moleküllerle reaksiyona girebilmektedirler. OH^\cdot , DNA'da bulunan deoksiriboz molekülüne etki ederek çeşitli ürünler oluşturduğu ve bu oluşan ürünlerin bazılarının mutajenik oldukları görülmüştür. Yine OH^\cdot aromatik halkaya katılma özelliği gösterdiklerinden DNA ve RNA'da bulunan pürin ve pirimidin bazlarına katılarak radikal oluşumuna neden olurlar. Örneğin, timine katılarak timin-radikalini oluşturur ve bu radikal

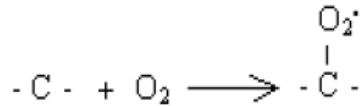
oksijenle reaksiyona girerek son derece reaktif olan timin peroksil radikaline dönüşmektedir. Bu gibi bir dizi reaksiyona katılabilen OH[·], DNA'nın baz ve şekerlerinde ciddi hasarlar oluşturarak DNA iplik kırılmalarına neden olurlar. Hasar çok kapsamlı olursa hücrel koruyucu sistemler tarafından tamir edilemeyebilir ve bunun sonucunda mutasyonlar ve hücre ölümleri meydana gelir (23) (24). DNA'nın pürin ve pirimidin bazları ile etkileşmenin yanı sıra tiol grubu içeren biyolojik moleküllerden H atomu da koparabilmektedir.



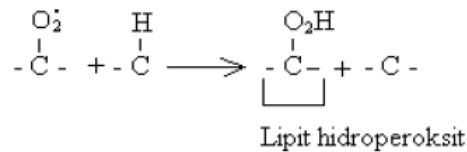
Sonuçta oluşan sülfür radikalleri ilginç kimyasal özelliklere sahiptir. Sülfür radikalleri, O₂ ile kombine olabilir ve oksisülfür radikallerini oluşturur. RSO₂[·] ve RSO[·] gibi bunların birçoğu da biyolojik moleküllerde hasara neden olurlar. OH[·]'ın sebep olduğu en iyi karakterize edilmiş olan biyolojik hasar lipid peroksidasyon olayıdır. OH[·] membran fosfolipidlerinin doymamış yağ asit yan zincirlerine hücum eder. Bu özellikle araşidonik asit gibi doymamış yağ asit yan zincirlerinden -C atomunun birinden H atomunun çıkartılması ve su oluşumu şeklinde gerçekleşir.



Bu reaksiyon sonunda membranda -C - radikali kalır. Bu -C - radikali oksijen ile kombine olarak peroksil radikalini oluşturur.



Peroksil radikaller Peroksil radikaller reaktiftir ve yakınındaki doymamış yağ asitlerinin yan zincirlerine saldırır;

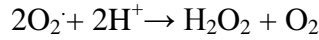


Böylece OH[·], yüzlerce yağ asitlerinin yan zincirlerini lipit hidroperoksitlere dönüştürür. Membranda lipit hidroperoksitlerinin birikimi membran fonksiyonunu bozar.

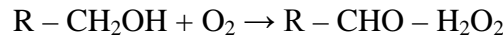
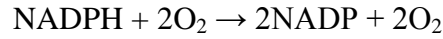
Peroksil radikaller ve sitotoksik aldehitler, membran proteinlerinde ciddi bir hasara neden olurlar ve membrana bağılı bazı enzimleri ve reseptörleri inaktive ederler (21) (25) (26) (27).

Hidrojen Peroksit (H₂O₂): Hidrojen peroksit eşleşmemiş elektrona sahip olmadığından aslında bir radikal değildir. Süperoksit anyonunun (O₂⁻) hidrojenle yaptığı reaksiyona dismutasyon reaksiyonu adı verilir ve dismutasyon hızı asidik pH değerlerinde hızlanır (21) (28).

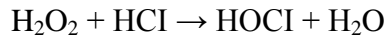
Reaksiyon şu şekilde ifade edilir;



Bazı enzimler ya tekli (NADPH oksidaz) ya da çiftli (Glukoz oksidaz) elektron eklenmesini katalize ederek O₂⁻ veya H₂O₂ oluşmasını sağlarlar.



Hipoklorik Asit (HOCl): Hipokloröz asit de radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri (ROS) içinde yer almaktadır. Fagositik hücrelerin bakterileri öldürülmesinde önemli rol oynarlar. Aktive olan nötrofiller, monositler makrofajlar ve eozinofiller süperoksit radikallerini (O₂⁻) üretirler. Radikal üretimi fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde büyük önem arz etmektedir. Özellikle nötrofiller miyeloperoksidaz enzimleri aracılığıyla önce O₂⁻'ni oluştururlar ve daha sonra dismutasyonuyla hidrojen peroksiti klorür iyonuyla birleştirerek güçlü bir anti bakteriyel ajan olan HOCl'i meydana getirirler.



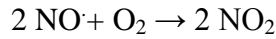
Singlet O₂ (O₂^{↑1}): Yapısında eşleşmemiş elektronu bulunmadığından serbest radikal değil ancak serbest radikal reaksiyonlarını başlattıklarından serbest radikal sınıfına dahil edilmiştir. Singlet O₂ oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi neticesi oluşabileceği gibi süperoksit radikalinin dismutasyonu ve hidrojen peroksitin Hipoklorid ile reaksiyonu sonucunda da oluşabilir. Vücutta deri ve retina gibi gün ışığına maruz kalan bölgelerde sıkça olduğu tespit edilmiştir. Serbest oksijen radikallerinin etkisiyle peroksil radikalleri (ROO⁻), alkoksil radikalleri(RO⁻) karbon merkezli radikaller (R⁻) veya tiol radikalleri (RS⁻) oluşur. Bu radikaller oksijenle tekrar reaksiyona girerek yeni serbest radikaller üretirler (29).

Reaktif Nitrojen Türleri (NO, NO₂, NO⁺, NO⁻): Lipofilik özellikte olup, oksijensiz ortamda oldukça stabildir (30).

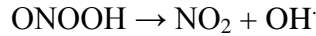
Düşük konsantrasyonlarda iken, ortamda oksijen varlığında dahi stabilitesini koruyabilen NO, bilinen en düşük molekül ağırlıklı, biyoaktif memeli hücresi sekresyon ürünüdür (31) (32).

Diğer radikallerden farklı olarak düşük dozlarda toksik değildir ve çok önemli fizyolojik işlevleri gerçekleştirir (30). NO[•], bir atom azot ile bir atom oksijenin çiftleşmemiş elektron vererek birleşmesinden meydana gelmiştir ve bu yüzden radikal tanımına uymaktadır (33).

Bu lipofilik serbest radikal damar endotel hücrelerinde Nitrik Oksid Sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla L-arjininden sentezlenir. NOS'ın birçok izoformu tanımlanmıştır. NO'in yarıömrü 10–20 saniyedir. Kolayca düz kasa geçerek Guanilat Siklaz (GC) enziminin “hem” demirine bağlanır ve siklik guanozin monofosfat (cGMP) sentezini uyarıp damar gevşemesini uyarır. Sentezlenen NO[•], aynı zamanda tiyol gruplarını S-nitrozilasyona uğratarak protein ve reseptör fonksiyonlarını da değiştirir. NO, Fe-S kümelerine afinite gösterdiği için bu grupları içeren akonitaz enzimine de bağlanır. Bu enzim hücre içi demir trafiğini kontrol eder. NO, akonitaz enzimine mRNA bağlanmasını artırır ve enzimin aktivitesini düşürür. NO[•] metabolize olurken moleküler oksijen ile bağlanıp nitrojen dioksidi (NO₂) oluşturur:



NO'in ROS'leri ile reaksiyon vererek güçlü bir oksidan olan peroksinitriti (ONOOH) oluşturduğu ve bunun da ileri de kompozisyonla OH[•] radikalinin oluşumuna yol açtığı ifade edilmektedir:



OH[•] ise biyolojik olarak yıkıcı bir moleküldür. Ayrıca, peroksinitrit de tirozin gibifenolik amino asitleri nitrolayarak toksik nitro- türevlerini (nitrotirozin) oluşturmaktadır. Sonuç olarak NO, endotel hücre disfonksiyonu ve buna bağlı ateroskleroz, hipertansiyon ve diabetes mellitus gibi bazı önemli hastalıklarda rol oynayabilmektedir (34).

2.3.2. Başlıca Serbest Radikal Üretim Kaynakları

Serbest radikaller organizmada normal olarak meydana gelen oksidasyon veredüksiyon reaksiyonları sırasında oluştuğu gibi çeşitli dış kaynaklı etkilerle de oluşabilir. Hücre organellerinin her biri farklı miktarda radikal oluşumuna sebep olurlar. Bunların yanı sıra radyasyon, stres ve ksenobiyotikler aktive olmuş fagositlerde serbest radikal üretimini arttırmırlar. Sitokrom P-450, sitokrom b5, ksantin oksidaz, triptofan dioksijenaz, lipooksijenaz, prostoglandin sentetaz, hemoglobın, flavoproteinler, lipit peroksidasyonu, oksidatif stres yapan iskemi, travma ve intoksikasyon gibi durumlar, mitokondrial elektron transport sistemi (ETZ), moleküler otooksidasyonu yapan tiol, hidrokinon, katekolamin, flavin ve antibiyotik gibi moleküllerin hepsi hücresele serbest radikalleri oluştururlar (30) (35).

Serbest radikal oluşturan kaynaklar endojen ve ekzojen olmak üzere iki gruba ayrılabilir.

2.3.3. Endojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları

Normal olarak metabolizmada, bazı biyokimyasal olayların çeşitli basamaklarında serbest radikaller oluşmaktadır. Her ne kadar serbest radikal yapısına sahip maddelerin organizmaya zarar verme potansiyelleri varsa da, bazı metabolik olayların ilerleyebilmesi için bunların oluşması kaçınılmazdır.

1. Mitokondriyal Elektron Transport Sistemi: Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin % 1–5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanır. Buradaki radikal yapımının nedeni NADH dehidrogenaz ve koenzim Q gibi elektron taşıyıcılardan oksijene elektron kaçığının olmasıdır. Fizyolojik olarak reaktif oksijen türlerinin temel kaynağı normal oksijen metabolizmasıdır. Dolayısıyla fizyolojik koşullar altında mitokondriyal elektron transport sistemi serbest radikal üretiminin en önemli kısmını oluşturmaktadır (36).

2. Endoplazmik Retikulum: Endoplazmik retikulumda bulunan sitokrom P–450 moleküler oksijeni kullanarak birçok substratı oksitler. Oksijen molekülünün bir atomu substrata bağlanır, diğer atomu ise su oluşturur. Bu reaksiyon monoooksijenaz veya karışık fonksiyonlu oksidaz reaksiyonu olarak adlandırılır. Kimyasal ajanların serbest radikal oluşturmadaki en önemli mekanizmaları, mikrozomal sitokrom P–450 sistemi ile aktivasyonudur. Bu sistem, molekülleri indirgeyerek veya oksitleyerek serbest radikal

oluşturur. Son durumda bir elektron eksikliği vardır ve elektrofilik bileşik oluşur. Oluşan bu elektrofilik ürün bir nükleofil ile reaksiyona girer. Bu elektrofilik bileşiği çeken en önemli bileşik sistein kalıntıları üzerindeki tiyol (-SH) grubudur. Tiyol grubu ise pek çok endojen makromolekülde (DNA, RNA, enzimler gibi) bulunduğu için reaktif ara ürünler bu moleküllerle kovalent bağlanarak toksisite gösterebilirler (37).

3. Redoks Döngüsü: Ksenobiyotiklerden serbest radikal oluşumu sadece mikrozomal reaksiyonlarla olmamaktadır. Menadion, parakuat, dikuat, nitrofurantoin, gibi bileşikler alternatif bir redoks siklusuna girerler. Bu bileşikler, ilave bir çiftlenmemiş elektron kazanma eğilimindedirler. Bu ajanlardan oluşan radikaller, tekrar ana bileşiğe dönüşmek için kolayca oksijenle oksitlenir süperoksit radikalini oluştururlar (38). Oluşan ksenobiyotik ve süperoksit radikalleri intrasellüler ferritin depolarından demiri serbest hale getirirler. Sitozole salınan demir, serbest radikaller arasında en reaktif olan ve dolayısıyla daha yıkıcı olan hidroksil radikali gibi ikincil radikallerin oluştuğu fenton reaksiyonunda katalitik rol oynar (23).

4. Araşidonik Asit Metabolizması: Hücre membranlarında prostaglandin için en önemli doymamış yağ asidi prekürsörü araşidonik asittir. Fagositik hücrelerin uyarılması, fosfolipaz ve protein kinazın aktivasyonu, plazma membranlarında araşidonik asidin salınımına yol açar. Araşidonik asidin siklooksijenaz tarafından katalizlenen oksidasyonu prostaglandinleri, lipooksijenaz tarafından katalizlenen oksidasyonu ise lökotrienleri verir ve bu tepkimeler sırasında serbest radikaller oluşur. Araşidonik asit oksidasyonu başlatılmış bir serbest radikal reaksiyonudur. Siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerinin her ikisi de aktiviteleri için peroksitlere ihtiyaç duyarlar. Siklooksijenaz aktivitesi daha sonra prostaglandinlerin sentezi için de gerekli olan endoperoksitlerin oluşumuyla sonuçlanır. Öte yandan lipooksijenaz, lipid peroksitleri üzerinden lökotrienlerin oluşumunu katalize eder (39).

Aynı zamanda bazı ksenobiyotiklerden bu esnada reaktif ara ürünler oluşmaktadır. Bu ara ürünler hedef yapılarla etkileşerek toksisite gösterirler.

5. Fagositoz: Radyasyon, stres ve ksenobiyotikler aktive olmuş fagositlerde serbest radikal üretimini arttırmırlar. Aktive fagositler intrasellüler radikal oluşumuna neden olurlar (Tablo 2). Aktive olmuş fagositlerde üretilen serbest radikaller patojenlerle savaşta önemli rol oynar.

Tablo-2: Fagositlerin ürettiği reaktif oksidan ürünler

Trombositler	Hidrojen peroksit, süperoksit, hidroksil
Nötrofiller	Hidrojen peroksit, süperoksit, hipoklorid
Eozinofiller	Hidrojen peroksit, süperoksit, hidroksil, hipoklorid
Makrofajlar	Hidrojen peroksit, süperoksit, hidroksil, hipoklorid, nitrik oksit

Monositler, makrofajlar (kupfer hücreleri, alveolar makrofajlar) gibi fagositik hücreler, nötrofiller, eozinofiller, bazofiller gibi granülositler, immunojenik veya özel bir uyararla uyarıldıktan sonra lizozomlarını dışarı vermeye başlarlar. Reaktif oksijen oluşumu yanı sıra, mitokondri dışındaki oksijen üretiminde bir patlama (respiratory burst) olur. Fagosite edilmiş patojenler oksidan ajanlar tarafından öldürülür. Solunum yolu ile patlamamın amacı oksidan ajanlar sağlamaktır. Oluşan oksidan ajanlar patojenleri öldürmenin yanı sıra miyeloperoksidaz sistemine de etki eder. Hidrojen peroksit ve hipoklorid kombinasyonu miyeloperoksidaz sistemine etkiyerek de güçlü bir antimikrobiyal aktivite gösterir. Bu radikaller memeli bakteri ve parazitlerine karşı sitotoksik etkiye sahip oksidan ajanlardır. Membran peroksidasyonu, membran proteinlerinin dekarboksilasyonu ve/veya oksidasyonuna yol açıp membran bütünlüğünü bozabilir ve DNA'yı okside ederek parçalayabilir. Fagositik kaynaklı oksidan ajanlar; oto-toksik, immunosupresif ve mutajenik etki oluşturabilirler (39).

6. Oto-oksidasyon: Doku bileşenlerinin çoğu moleküler oksijenin varlığında kimyasal olarak stabil değildirler ve metabolik şartlar altında az ya da çok oto-okside olurlar. Kolayca oto-okside olabilen bu bileşenler doku ve hücrelerin son derece önemli komponentleridirler (40) (41). Bunlar arasında, hemoglobin, hormonlar, tiyoller, doymamış membran lipitleri sayılabilir. Bütün oto-oksidasyonlar sırasında serbest radikal intermediateleri kadar aktive oksijentürleri de üretilir. Böylece oto-oksidasyonlar vücudun radikal kaynaklarına katkıda bulunurlar.

7. Oksidan Enzimlerin Reaksiyonları: Aerobik organizmalarda oksijenin katıldığı birçok reaksiyonda oksijenin tek değerlikli indirgenmesiyle süperoksit anyonu meydana gelebilir. Glikojen oksidaz, XOD, NADPH oksidaz, NADH oksidaz, diamin oksidaz, urat oksidaz gibi enzimler bunlardan bazılarıdır. Üzerinde en çok çalışılan ksantin oksidaz (XOD) aslında ksantin dehidrogenaz (XDH) olarak sentezlenmekte ve dokularda yaygın olarak bulunmaktadır. Bu enzim elektronlarını moleküler oksijene değil NAD'ye verir ve süperoksit

anyon radikali oluşturmaz. Fakat XOD sülfidril oksidasyonu ya da sınırlı proteolizis ile dehidrogenaz formunda oksidaz formuna dönüşebilir. XOD moleküler oksijeni kullanarak H_2O_2 ve O_2 oluşturmaktadır (42).

2.3.4. Ekzojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları

1-Hava kirliliği: Havadaki azot dioksit ve kükürt dioksit gazları

2-Sigara dumanı: Sigara içenlerde veya dumanına maruz kalanlarda düşük dansiteli lipoprotein (LDL)'lerin oksidasyona duyarlılığının arttığı buna bağlı olarak antioksidan kapasitenin azaldığı görülmüştür.

3-Kimyasal maddeler: Çözücüler, pestisitler, anestezikler, aromatik hidrokarbonlar, asbest

4-Antineoplastik ilaçlar: Nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin

5-Glutation tüketen ilaçlar: Asetaminofen, kokain

6-Radyasyon: Radyasyon su molekülüne etki ederek hidroksil radikali oluşturmaktadır.

7-Stres: Stres sonrası lipit peroksit düzeyleri artar, protein ve DNA hasarı oluşur.

8-Alkol: Alkol hepatotoksik etkisi nedeniyle karaciğerde serbest radikal oluşumunu arttırarak lipit peroksidasyonuna neden olur.

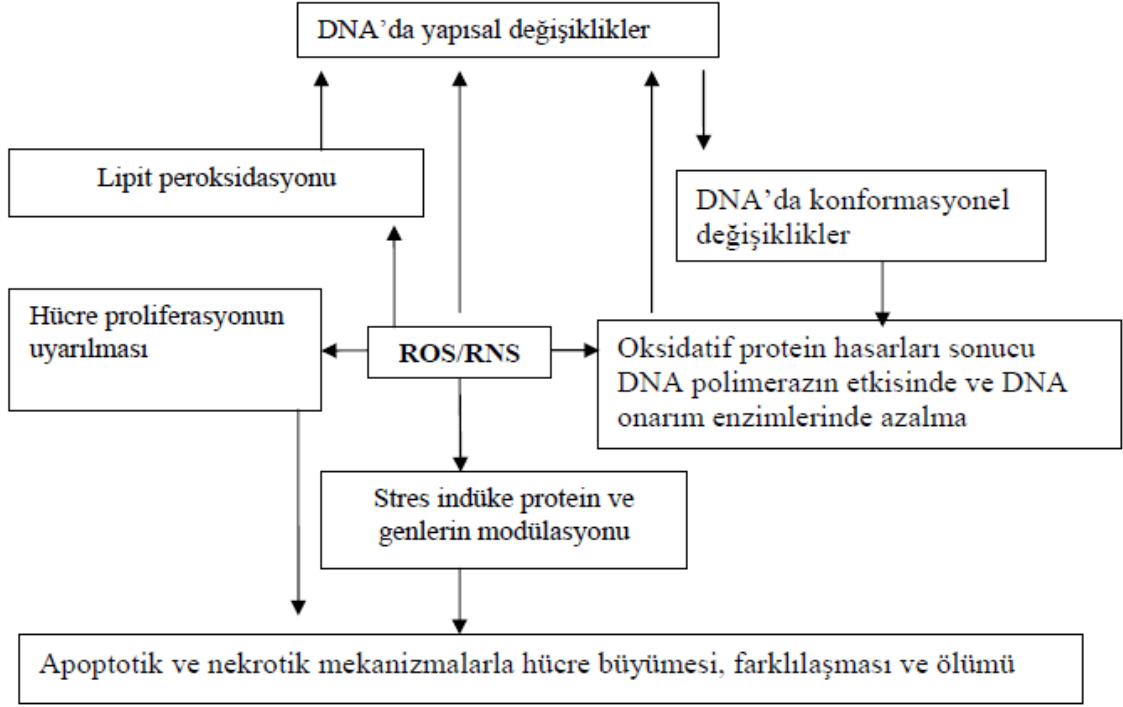
9-Çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA): Yapılarındaki ift bağlardan dolayı kolayca otooksidasyona uğramaktadırlar. Bundan dolayı çoklu doymamış yağ asitlerini fazla tüketen canlılarda lipit peroksidasyonu artmakta ve antioksidan rezervleri azalmaktadır.

10-Yüksek kalorili diyet: Yüksek kalorili gıdaların biyolojik moleküllerde daha fazla oksidatif hasar oluşturduğu gözlenmiştir.

11-Aşırı demir ve bakır alınması: Metal iyonları biyolojik sistemlerde serbest radikal ve metal-oksijen kompleksleri üretmek için süperoksit anyonları ve hidrojen peroksit ile reaksiyona girmektedir. Sonuçta oksidatif DNA hasarı oluşmaktadır (43).

2.3.5. Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri

Serbest radikaller DNA, lipitler, proteinler ve enzimler gibi pek çok biyomolekül üzerinde etkilidirler (44)

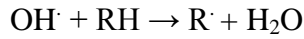
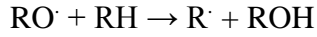
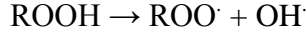
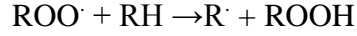
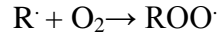


Şekil-1: Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri

2.3.6. Serbest Radikallerin Lipitlere Etkileri

Serbest radikallerin en önemli etkisi lipitler üzerine yaptığı etkidir ki bu lipit peroksidasyonu olarak adlandırılır. Lipit peroksidasyonu doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerle etkileşmesi sonucu doymamış yağ asidindeki metilen grubundan bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Biyolojik sistemlerde bu radikalin süperoksit anyon radikali ile hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir. Süperoksit anyon radikali hidroksil radikaline dönüşmektedir. Benzer şekilde hidrojen peroksidin de hidroksil radikaline dönüştüğü bilinmektedir. Bu nedenle lipit peroksidasyonunu başlıca hidroksil radikali başlatmaktadır. Hidrojen atomunun koparılmasıyla oluşan serbest yağ asidi radikali moleküler oksijen ile reaksiyona girerek peroksit radikalini oluşturur. Oluşan peroksit radikali yüksek reaksiyon yeteneğine sahip olup başka bir yağ asidi molekülü ile yeni bir hidroperoksit ve yeni bir yağ asidi radikali oluşturacak şekilde reaksiyona girer. Oluşan bu yağ asidi radikali

yeniden oksijen ile birleşir ve RH'dan yeniden bir hidrojen atomunun ayrılmasını sağlar. Bu başlayan zincir reaksiyonu oluşan yeni radikallerin etkisiyle devamlı olarak artan bir hızda devam eder (45).



Birçok olayda bu şekilde oluşan lipid peroksiti $RO\cdot$ ve $OH\cdot$ verecek şekilde parçalanır ve bu oluşan radikaller hemen substrat ile reaksiyona girerek yeni zincir reaksiyonlarını başlatacak olan $R\cdot$ radikallerini oluştururlar. Böylece oluşan bir radikal sürekli olarak yeni radikallerin oluşmasına neden olur (46) (47).

Lipit peroksitleri hücre zarlarının önemli bir komponentidir ve Fe, Cu gibi geçiş metallerinin varlığında alkoksi ve peroksi radikallerini verirler. Bu nedenle Fe veya Cu tuzları lipid peroksidasyonunun hızını arttırmırlar. Sonuçta hücre zarının akışkanlığını ve permabilitesini azaltarak zar bütünlüğünün bozulmasına yol açarlar. Lizozomal membranların tahribi hidrolitik enzimlerin salınmasına ve intrasellüler sindirime neden olur. Biriken hidroperoksitler direkt olarak toksik etki göstermenin yanı sıra duyarlı aminoasit kalıntılarını (methionin, histin, stein, lizin) okside eder veya zincir polimerizasyon reaksiyonlarıyla enzimleri inaktive edebilirler (39) (48) (49).

2.3.7. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Serbest radikallerin proteinlere etkisi proteinlerin aminoasit içeriğine göre değişir. Protein molekülleri üzerindeki sülfhidril veya amino gruplarıyla serbest radikallerin etkileşmesi sonucu proteinlerde oluşan yapısal değişiklikler üçe ayrılır:

- 1) Amino asitlerin modifikasyonu,
- 2) Proteinlerin fragmantasyonu,
- 3) Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalarıdır (50).

Aromatik aminoasitlerde (fenilalanin, tirozin, triptofan) doymamış yapılar olduğundan oksidatif ataklara çok hassastırlar. Sülfürlü amino asitler olan sistein ve sistin de serbest radikal atağına hassas amino asitlerdir. Proteinin temel yapısındaki değişme, antijenitesindeki değişmeye ve proteolize hassasiyete yol açabilir. Radikaller, membran proteinleri ile reaksiyona girebilirler ve enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına neden olabilirler (51).

2.3.8. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelirler. Bunlar diyabet ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıklar gibi patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar (51). İnflamatuvar eklem hastalıklarında synovial sıvıya geçen PML'lerden extrasellüler sıvıya salınan H_2O_2 ve O_2 buradaki mukopolisakkarit olan hyalüronik asidi parçalarlar. Gözün vitröz sıvısında bol miktarda hyalüronik asit bulunur. Bununda oksidatif hasarı katarakt oluşumuna katkıda bulunur (52).

2.3.9. Serbest Radikallerin DNA'ya Etkileri

Serbest radikallerin, DNA atakları mutasyonlara ve hücre ölümlerine yol açmaktadır. Hidroksil radikali bazlarla ve deoksiribozlarla kolayca reaksiyona girer. Hidrojen peroksit ise membranlardan kolayca geçebileceğinden hücre çekirdeğindeki DNA'ya ulaşır ve hücre disfonksiyonuna hatta ölümüne yol açar (53). Bu nedenle DNA kolay zarar görebilen bir moleküldür. ROS ve RNS ile DNA hasarlarının çok az bir kısmı doğal olarak meydana gelmektedir (38). DNA hasarlarının oluşumunda yer alan endojen reaksiyonlar oksidasyon, metilasyon, depürinasyon ve deaminasyon reaksiyonlarıdır. Nitrik oksit veya nitrojen dioksit (NO_2), peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$), dinitrojen trioksit (N_2O_3) ve nitrik asit (HNO_3) gibi reaktif ürünleri, nitrozasyon ve deaminasyon reaksiyonları ile mutajenik aktivite gösterirler. Farklı ROS farklı yollardan DNA hasarlarına neden olurlar (39) (40). Örneğin O_2 ve H_2O_2 hiçbir zaman bazlarla reaksiyona girmezken OH^{\cdot} DNA'daki dört bazdan herhangi birine bağlanarak farklı reaktif ürünlerin oluşmasına yol açmaktadır (41). Singlet oksijen ise guanine spesifik bağlanarak hasar oluşturur (18) (19).

Hidroksil radikali pürin bazları ile C_4 , C_5 ve C_8 pozisyonlarından reaksiyona girerek sırasıyla $C_4 - OH^{\cdot}$, $C_5 - OH^{\cdot}$, ve $C_8 - OH^{\cdot}$ pürin radikalleri oluşmaktadır (21). $C_4 - OH^{\cdot}$ ve $C_5 - OH^{\cdot}$ pürin radikalleri dehidrasyona uğrayarak okside pürin radikallerini oluştururlar. $C_8 - OH^{\cdot}$ pürin radikallerinin bir elektronlarının oksidasyonu ve bir elektronlarının redüksiyonu ile sırasıyla 8-hidroksipürinler (7,8-dihidroksi-8-oxo-pürinler) ve formamido-pirimidinler

oluşur. Her ikisi de hem oksijenli hem de oksijensiz ortamlarda meydana gelebilmektedir (19). İndirgeyici ajanlar formamido-pirimidinlerin oluşumunu arttırırken 8-OH-pirimidinlerin oluşması için oksijenli ortam uygun görülmektedir. 8-OH-guanin çok yaygın olarak meydana gelen bir baz hasar ürünü olduğundan oksidatif DNA hasarlarının ölçülmesinde hasar indeksi olarak ölçülmektedir. Çoğu zaman 8-hidroksideoksiguanozin (8-OH-dGua) nükleoziti şeklinde ölçülmektedir (23).

Timinin alil radikalının oksidasyonu ile 5-hidroksimetil urasil ve 5-formil urasil oluşmaktadır. Dehidrasyon ve deaminasyon reaksiyonlarına yalnızca sitozin katılabilmektedir. Böylece sitozin; glikol dehidrasyonla urasil, glikol deaminasyon ile 5-hidroksi urasil (5-OH-Ura), dehidrasyon ve deaminasyon ile de 5-hidroksisitozini (5-OH-Cyt) vermektedir. Hidroksil radikali fraksiyonunun DNA'daki şeker grubu ile etkileşmesi, beş karbon atomunun herhangi birinden bir H atomunun çıkarılmasıyla olmaktadır (18). Şeker radikalleri birçok farklı reaksiyonla meydana gelmektedir. Oksijensiz sistemlerde C₄ merkezli radikaller parçalanmaya uğrarlar ve DNA zincirleri kırılarak sağlam baz ve değişikliğe uğramış şeker serbest kalır. C₁ merkezli radikallerin oksidasyonu ile şeker laktonu oluşumu ve sağlam bazın salınımı gerçekleşir. Oksijen yokluğunda, baz radikalleri kendilerine komşu olan şeker grubundan H atomu alarak şeker radikallerini oluştururlar ve sonuçta zincir kırılmalarına neden olurlar. Oksijenli sistemlerde karbon merkezli şeker radikale moleküler oksijenin eklenmesi sonucu peroksil radikalleri oluşmaktadır. Şeker peroksil radikallerinin en karakteristik özelliği karbon-karbon bağı kırarak alkali bölge oluşturmalarıdır. C₅ merkezli peroksil radikali oksil radikale dönüştürülerek parçalanma ile DNA zincirinin kırılmasına, sağlam bazın ve değişmiş şekerin serbest kalmasına yol açmaktadır (54). DNA'daki değişikliğe uğramış şeker grupları DNA zincirinden salınabilir yada fosfat bağlarıyla DNA'ya bağlı kalabilir. Baz ve şeker radikallerinin reaksiyonları; değişik modifiye baz ve şekerler, kontrolsüz baz dizilimi, zincir kırılmaları ve DNA-protein çapraz bağlarını meydana getirirler. Oksidatif DNA hasarları da denilen bu tip hasarlar mutagenezise, kanserogenezise ve yaşlanmaya yol açmaktadır (24) (55).

2.4. Antioksidan Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta “antioksidan savunma sistemleri veya antioksidanlar” adı verilen birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bütün hücreler, güçlü savunma sistemlerinin varlığı ile oksidatif strese karşı savaşmaktadırlar. Savunma sisteminde öncelikle enzim sistemi ve serbest radikal

tutucuları etkili olmaktadır. Eğer serbest radikaller nötrale edilmezlerse vücutta ciddi hasarlara neden olabilirler. Normalde ortaya çıkan oksidan maddeler antioksidan sistem tarafından elimine edilir iken oksidan maddelerdeki aşırı artış ya da anti oksidanlardaki değişik şekillerdeki azalma oksidatif stres ile sonuçlanır. Artan oksidatif maddeler (ROS) hücrel proteinlere lipitlere DNA'ya zarar verebilir. Geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz yapısal fonksiyonel değişikliklere sebep olabilir. Dahası eksitasyon - kontraksiyon bileşkesindeki proteinlere ve sarkomerlere hasar vererek direkt kontraktıl fonksiyonları da etkileyebilir (56) (57) (58).

Bu hasarlar genel olarak şöyle sıralanabilir. Hücre membran bütünlüğünün bozulması, membran lipit ve proteinlerinin denatürasyonu, nükleik asitlerin (DNA/RNA) mutasyonu, immün sistemin supresyonudur. Organizmada oksidan ürünlere karşı savunma üç şekilde gerçekleşmektedir; Serbest radikal reaksiyonlarının sonlandırılması, serbest radikal reaksiyonlarının sınırlandırılması, oluşan serbest radikallerin detoksifikasyonudur. Antioksidanların başlıca etki mekanizmaları ise şöyledir;

1.Toplayıcı etki: Serbest oksijen radikallerini tutma veya daha zayıf bir moleküle çevirme işlemidir. Antioksidan enzimler bu tip etki gösterirler.

2.Bastırıcı etki: Serbest oksijen radikallerine bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya in aktif hale dönüştürme işlemidir. A vitamini ve flavanoidler bu tip etki gösterirler.

3.Zincir kırıcı etki: Serbest oksijen radikallerinin zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleme işlemidir. Hemoglobin, seruloplazmin, E vitamini ve mineraller bu tip etki gösterirler.

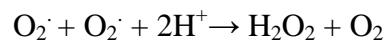
4.Onarıcı etki: Serbest oksijen radikallerinin yapmış olduğu hasarı tamir etme işlemidir (59).

2.5. Enzimatik Antioksidanlar

2.5.1.Süperoksit Dismutaz

SOD süperoksit anyonunun hidrojen perokside dismutasyonunu katalizler.

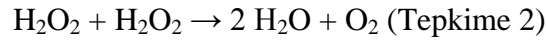
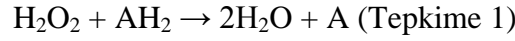
SOD



SOD, glutatyon peroksidaz ve katalaz oksijen radikalleriyle oluşan hasara karşı başlıca enzimatik savunma mekanizmalarıdır. SOD ile O₂ 'nin dismutasyonu ile H₂O₂ çıkarılması hücre için biyolojik avantaj sağlar. Hücreden H₂O₂ çıkarılması için SOD; katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri ile birlikte çalışır (60) (61).

2.5.2. Katalaz

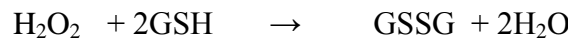
Katalaz yapısında hem grubu içerdiğinden bir hemoprotein olarak kabul edilmiştir (62). Kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek ve mukoz membranda yüksek miktarda bulunmaktadır. H₂O₂ oluşum hızının düşük olduğu durumlarda peroksidatif tepkimeyle (tepkime 1) veya H₂O₂ oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda ise katalitik tepkimeyle (tepkime 2) hidrojen peroksiti suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırır.



2.5.3. Glutatyon Peroksidaz

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px), hidrojen peroksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. Tetramerik ve 4 selenyum atomu ihtiva eden sitozolik bir enzimdir. Birbirine kenetli enzim sistemi GSH-Px ve GSH-Rd glutatyon harcayarak H₂O₂ 'nin redüksiyonunu katalizler (62).

GSH-PX

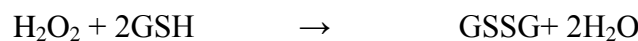


GSH-PX



Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGSH-Px) da molekül ağırlığı 20.000 dalton olan, monomerik selenyum atomu ihtiva eden sitozolik bir enzimdir. Membran fosfolipid hidroperoksitlerini, alkollere indirger.

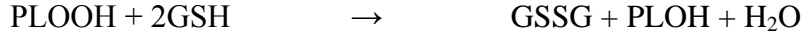
PLGSH-Px



PLGSH-Px



PLGSH-Px



Membrana bağılı en önemli antioksidan olan vitamin E yetersiz olduğu zaman PLGSHPx membranın peroksidasyona karşı korunmasını sağlar. Hidroperoksitlerin redükte olması ile meydana gelen GSSG, glutatyon redüktazın katalizlediği reaksiyon ile tekrar GSH'a dönüşür.

Glutatyon Redüktaz



GSH-Px'in, fagositik hücrelerde önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmelerini engeller. Eritrositlerde de GSH-Px oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar.

2.5.4. Glutation-S-Transferaz

Glutation-S-Transferaz (GST)'lar antioksidan aktivitelerine ilave olarak çok önemli başka biyokimyasal fonksiyonlara da sahiptirler. Son zamanlara kadar GST'lar katalizledikleri reaksiyona göre sınıflandırılmaktaydılar. Daha sonra yapılan çalışmalar bu enzimlerin söz konusu reaksiyonların herhangi birine özgül olmadığını, iç içe geçmiş substrat özgüllüğüne sahip olduğunu ortaya koymuş ve bunlar 'glutatyon-S-transferaz' lar adı altında toplanmıştır. Günümüzde ise türe bağımsız bir sınıflama yapıldığında GST'lar geleneksel olarak üç sitozolik bir de mikrozomal olmak üzere dört ana gruba ayrılırlar. Başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksidleri olmak üzere lipit peroksidlerine karşı GST'lar Se-bağımsız GSH peroksidaz aktivitesi göstererek bir defans mekanizması oluştururlar (63).

GST

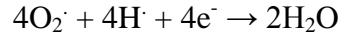


Homodimerik veya heterodimerik enzimler olan GST'ların, araştırılan tüm canlı türlerinde bulunması bunların hayati öneminin göstergesidir. Bu enzimler katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahiptirler. Hem detoksifikasyon yaparlar hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. Katalitik olarak; yabancı maddeleri glutatyon (GSH)'daki sisteine ait -SH grubu ile bağlayarak onların elektrofilik bölgelerini nötralize ederler ve

ürünün daha fazla suda çözünür hale gelmesini sağlarlar. Oluşan bu GSH konjugatları böylece organizmadan atılabilir veya daha ileri metabolize olurlar. Bu yol, GST'ların kanserojen, mutajen ve diğer zararlı kimyasalların hücre içi detoksifikasyonunda rolleri olduğunu gösterir. Metabolize edilmeyen lipofilik - hidrofobik pek çok bileşiği bağlamaları ise bu enzimler için depo ve taşıma rolü üstlendiğini gösterir. Birçok pigment (bilirubin, hematin, brom sülfattalein, indosiyanın green v.s), kolik asitler, steroid hormonlar, polisiklik aromatik hidrokarbonlar bu proteinler tarafından bağlanıp taşınabilmektedirler.

2.5.5.Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz, aşağıdaki reaksiyonla süper oksiti detoksifiye eden enzimdir.



Bu reaksiyon, fizyolojik şartlarda sürekli cereyan eden normal bir reaksiyon olup bu yolla yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve bol miktarda enerji üretimi sağlanır. Ancak, süperoksit üretimi çoğu zaman bu enzimin kapasitesini aşar. Bu durumda diğer antioksidan enzimler devreye girerek süperoksidin zararlı etkilerine engel olurlar.

2.6. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

C vitamini (askorbik asit), A vitamini (Beta karoten), E vitamini (α -tokoferol), polifenoller , flavanoidler, transferin, laktoferrin, seruloplazmin, albümin, ürik asit, bilirubin, melatonin, glutatyon (GSH) yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), ferritin, mannitol, ubikinon (koenzimQ), allopurinol, oksipurinol, sistein, asetilsistein, haptoglobin, adenzin, hemopeksin, lipoik asit, histidin, selenyum ve sitokinlerdir.

2.7. Total Oksidan Seviye (TOS)

Oksidatif stres; vücudumuzda mevcut oksidatif - antioksidatif dengenin oksidanlar lehine bozulması sonucu meydana gelen patolojik durumdur. Oksidatif stresin toplam değeri; total oksidatif stres veya total oksidan status, seviye (TOS) olarak ifade edilir. Bu fenomen, aşırı reaktif oksijen ve/veya nitrojen türlerinin üretimi veya antioksidan tampon mekanizmasının eksikliği sonucu oluşur. Reaktif oksijen ve nitrojen ürünleri toksiktir ve hücrenin lipid, protein ve DNA gibi biyomoleküllerine zarar verir. Damar endoteli de bu durumdan kısmen etkilenmektedir.

2.8. Total Antioksidan Seviye (TAS)

Total antioksidan kapasite (TAK)'yi gösterir. Normal koşullarda organizma, endojen ve ekzojen serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Vücutta oluşan oksidan durumların tamponize edilmesinde kan çok önemli bir rol oynamaktadır. Kan, antioksidanların tüm vücuda dağıtılmasını sağlar (64).

TAS'a en büyük katkı plazmada bulunan antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada serbest demiri toplayan transferrin ve seruloplazmin gibi proteinler yanında serbest radikalleri kaptan zincir kırıcı antioksidanlar da bulunmaktadır. Albümin, ürik asit ve askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan kapasitenin % 85'inden fazlasını oluşturur. Bu fark kanda bilirubin, indirgenmiş glutation (GSH), flavanoidler, alfa-tokoferol ve beta-karoten gibi antioksidan maddelerin miktarının albümin, ürik asit ve askorbik asit miktarından az olmasından kaynaklanmaktadır. Plazmada antioksidanlar etkileşim içindedir. Bu etkileşimden dolayı bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir antioksidan etki oluşmaktadır. Bu sinerjik etkiye örnek olarak; glutatyonun askorbatı, askorbatın da tokoferolü yeniden aktifleştirmesi verilebilir. Total antioksidan seviyesinin ölçümü, antioksidanların tek tek seviyelerinin ölçümünden daha değerli bilgiler verir. Bu yüzden kanın antioksidan düzeyi durumunu saptamada bireysel antioksidanlardan ziyade bunların toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan kapasite ölçümü yaygınlaşmaktadır (16) (65) (66).

2.9. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Total peroksitlerin, total antioksidanlara bölünmesiyle elde edilen oransal bir indekstir. OSİ'nin yüksek olması oksidatif stresin arttığını gösterir (67) (68).

$$\text{Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)} = \frac{\text{Total Oksidan Seviye (TOS)}}{\text{Total Antioksidan Seviye (TAS)}} \times 10^{-1}$$

2.10. Prolidaz

2.10.1. Prolidazın Tanımı

Prolidaz hidrolazlar sınıfına ait, Mn^{+2} ile aktive olan bir metalloenzimdir (69) (70). Hidrolazlar çeşitli bağların hidrolizini kataliz ederler. Bu bağlar; C-O, C-N, C-C ve fosforik anhidrit bağını da içeren bazı bazlardır. Prolidaz enzimi karboksil terminal pozisyonundaki

prolin veya hidroksprolin içeren dipeptitlerin hidrolizini katalizler. Prolidaz, domuz intestinal mukoza artıklarında aminopeptidaz ve karboksipeptidaz aktivitelerinin araştırılması sırasında keşfedilmiştir. Prolidaz, bir alt grup olarak saflaştırılmış, domuz böbreği ve domuz, sığır ince bağırsağından elde edilmiştir. 1937 yılında Bergmann ve Fruton glisil-prolin'in önceden bilinen peptidazlardan farklı, intestinal mukozal bir enzim tarafından hidroliz edildiğini saptamışlardır. O tarihten itibaren prolidaz adı verilen bu enzimin pek çok memeli dokusunda varlığı gösterilmiştir. Enzim yaklaşık 70 yıl önce bulunmasına rağmen önemi 35 yıl önce eksikliği ile ilgili çalışmaları yapıldığında anlaşılmıştır (71) (72) (73).

2.10.2. Prolidazın Yapısı

Prolidaz enzimi birçok memeli dokusunda ve mikroorganizmalarda dağılım gösterir. Doğal, sitoplazmik, homodimerik bir metallo enzimdir. Mn^{+2} prolidaz enzimi aktivitesini 5-10 kat arttırmaktadır. Mn^{+2} 'a ek olarak enzimin maksimum aktivitesi için aktif merkezinde arjinin ve anyonik amino asit artıklarının olması gerekir (74). Proteazlar hep monomer yapıda olmasına rağmen tüm prolidazlar dimer yapı gösterirler ve ancak bu şekilde katalitik aktivite gösterirler (75). Prolidaz glikoprotein yapısındadır ve ağırlık olarak %5 karbonhidrat içermektedir. Prolidazın saptanan sekonder yapısında α -heliks (%33), β -tabakalı (%41) ve 30 potansiyel beta bağlantı bölgelerine eşit bir şekilde dağılmış hidrofobik ve hidrofilik alanlar bulunmaktadır. Enzimin primer sırası bilinen proteinlere benzemez fakat bazı sıraları (% 29'dan fazlası) F1-ATP az'ın α ve β subünitelerinin sırasına benzerlik göstermektedir (74) (76).

Prolidaz enziminin aktif merkezinde tiyol grubu yer alır ve bu grup bloke edilirse aktivite düşer. Bu da sisteinin enzimin aktivitesi için gerekli olduğunu gösterir. Doğal enzim için optimum pH: 7,6-7,8'dir ve izoelektirik nokta pH: 4,4 - 4,5 olarak saptanmış olup bu değer yapıdaki asidik amino asitlerin varlığını belirtmektedir (74).

Enzimin karakteristiği araştırıldığında Dietilaminitil (DEAE), selüloz dizi kromatografisinde prolidazın iki pik verdiği görülür. Bai Hu 1992 yılında yapmış olduğu çalışmada prolidazda her monomer için iki aktif bölgenin olduğunu saptamış ve enzimin duruma bağlı olarak bu iki aktif bölgenin substrat spesifikliği ve Mn^{+2} ile preinkübasyon ortamındaki aktivasyon bakımından da farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur (75).

2.10.3. İnsan Prolidazının Primer Yapısı ve Gen Lokalizasyonu

Prolidaz geni sembolü PEPD'dir ve insanda 19 numaralı kromozomun kısa kolunda lokalizedir (19p 13,2 bölgesi). İnsan cDNA 'sı 1482 baz çiftinin okunmasıyla oluşur bu da 493 amino aside karşılık gelmektedir (76).

Enzimin komplementer DNA klonları insan karaciğeri ve plental cDNA bankalarında izole edilmiştir. Prolidazın nükleotit sırası saptanmıştır. Enzim amino asit olarak X-Ala-Ala-Ala sırası ile başlamaktadır (77). Prolidaz geni (PEPD) polimorfik allelleri içerir, bu aktiviteyi engellemez ve nadir alleller prolidaz eksikliğine neden olmaktadır (74).

Amino asit sırasının saptanması ve gen lokalizasyonu, enzimin eksikliğinin sebep olduğu kalıtsal hastalığın temelini anlaşılması bakımından önemlidir. Prolidazın genomik sırası oldukça geniştir. En az 130 KB ve 15 ekson içermektedir. Ekson intron bağlantılarındaki tüm konformasyonlar GT/AG kuralına uymaktadır. Kodlama sırası genomik sıranın % 2 'sinden oluşur (74).

2.10.4. Prolidazın İzoenzimleri

Dietilaminoetil selüloz dizi kromatografisi (DEAE) ile deri fibroblast kültürüleri ve normal insan eritrositlerinden ayrıştırılan prolidazın 2 formunun olduğu görülmüştür (78).

Bunlar prolidaz I ve prolidaz II olarak isimlendirilmiştir. Bu iki izoenzim substrat spesifitesi ile bazı kimyasal özellikler bakımından farklılıklar gösterirler (79). Bu iki izoenzimi ilk izole eden Butterworth ve Priestman olmuştur (1985). Sonra Myara ve arkadaşları 1987 ve 1989 yılında (80) (81), Ohhashi ve arkadaşları ise 1990 yılında izoenzimleri izole etmeyi başarmışlardır. İzoenzimlerin molekül ağırlıkları saptanmış ve prolidaz I'in molekül ağırlığının 112 kDa olduğu ve birbirini tamamlayan eşit molekül ağırlığında 2 subüniteden oluştuğu (56 kDa) bulunmuştur (79).

Prolidaz II'nin ise molekül ağırlığının 185 kDa olduğu ve birbirine eş iki subüniteden (95 kDa) oluştuğu gözlenmiştir (82) (83). Prolidaz I tüm insan dokularında bulunur. Yapılan çalışmalarda prolidaz I'in tüm iminodipeptitlerle reaksiyona girmesine rağmen gly-prodi peptidini tercih ettiği bulunmuştur. Cosson ve arkadaşları 1992'de prolidaz II'nin gly-prodi peptidine karşı düşük bir aktivite gösterdiğini ve bu izoenzimin plazmada bulunmadığını kaydederek preinkübasyonun uzaması ile aktivitenin önemli ölçüde düştüğünü göstermişlerdir. Prolidaz II'nin en yüksek aktiviteyi gly-pro yerine met-pro'ya karşı gösterdiği

saptanmıştır (79). Prolidaz I'i in vitro tespit etmek için optimum şartlar; 1Mm MnCl₂ konsantrasyonunda 24 saat 37°C'de preinkübasyon olduğu bildirilmiştir. Ayrıca Mn⁺² konsantrasyonunun yükseltilecek zamanın azaltılabileceğini ya da yüksek preinkübasyon ısı, düşük MnCl₂ konsantrasyonu ve düşük preinkübasyon zamanı kullanılabileceği kaydedilmiştir (84). Cosson ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda prolidaz I ve prolidaz II'yi kromatografik olarak ayırdıktan sonra izoenzimlerin farklı doku dağılımları gösterdiklerini bulmuşlardır (79). Araştırmacılar karaciğer kaynaklı prolidaz II'nin karaciğerde inhibe edildiğini saptamışlardır. Bu inhibisyona ise plazma proteinlerinin sebep olduğunu belirtmişlerdir. Haptoglobulin, α₂ makroglobulin ve α₁ antitripsinin prolidaz II'nin aktivitesinde etkili olmadığı, fakat saf albuminin altı saatlik inkübasyondan sonra aktiviteyi ortadan kaldırdığı görülmüştür. Albuminin bu inhibitör etkisine dayanarak insan plazmasında prolidaz II'nin aktivitesinin olmadığı açıklanmıştır (79) (84)

Tablo-3: İnsan Prolidaz I ve Prolidaz II İzoenzimlerinin Doku Dağılımları

	Prolidaz I (%)	Prolidaz II (%)
Karaciğer	53	47
Böbrek	62	38
İleum	53	47
Jejunum	53	47
Duodenum	42	58
Pankreas	22	78
Mide	42	58
Dalak	52	48
Beyin	36	64
Beyincik	44	56
Kalp	37	63
İskelet kası	34	66
Eritrositler	51	49

2.10.5. Prolidaz İnhibitörleri ve Aktivatörleri

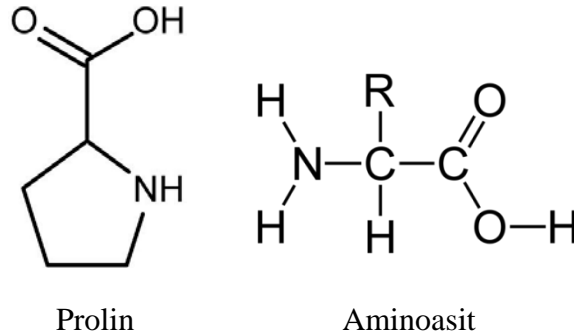
Yapılan çalışmalarda enzimin aktivasyonu için gerekli olan Mn⁺² iyonu yerine başka metal iyonlarının ilavesi ile inhibisyon olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmalar domuz böbrek prolidazı üzerinde 1957 yılında yapılmıştır. Fe⁺², Co⁺², Ni⁺², Cu⁺², Zn⁺², Cd⁺², Ag⁺¹, Hg⁺², Pb⁺² ve Pt⁺⁴ iyonlarının prolidazı inhibe ettiği bulunmuştur. Ortalama 0,001 - 0,0004M aralığındaki konsantrasyonlarda glutasyon kullanıldığında optimal stabilizasyon ve aktivite sağlandığı ancak glutasyonun yüksek konsantrasyonunun inhibisyona sebep olduğu

bulunmuştur. Aynı araştırmacılar iyodoasetamin ve p-kloromerküri benzoatın da enzimi inhibe ettiğine değinmişlerdir (72).

Prolidazın substrat analogu olan asetilprolin ve trans-1,2 siklo penta dikarboksilik asit tarafından kompetatif inhibisyonunda K_i 'in pH'ına bağlı olarak izledikleri yolu araştırdıklarında enzimin fonksiyonel grubu ile substratın pKa: 6,6' da bağlandığını bununla birlikte bu maddelerin inhibisyonunun farklı yollar izlediğini görmüşlerdir (17).

2.11.Prolin

Prolin ve hidroksiprolin prolidino halkasındaki azot atomuna bir hidrojen atomunun girmesi ile oluşmaktadır. Bunlar genelde iminoasit ismiyle adlandırılır. Amino asitlerin iminoasitler sınıfında yer alan esansiyel olmayan glutamatın halka yapısındaki bir türevidir. Bu amino asit diğer amino asitlerden yan zinciri radikal grubunun hem amino grubu hem de α -karbon grubuna bağlı olarak siklik bir yapıya yol açması yönünden farklıdır. Bu anlamda nitrojen atomunun kimyasal modifikasyonu prolin amino asidinin genel polaritesini ve basitliğini etkilemektedir. Dahası bu amino asitin siklik yapısı polipeptid omurganın yapısal yönlerine temel sınırlamalar getirmektedir. Prolin ve diğer bir amino asidin yapısal görünümü şekil 2' de gösterilmiştir.



Şekil-2: Prolin ve Diğer Bir Amino Asidin Yapısal Görünümü

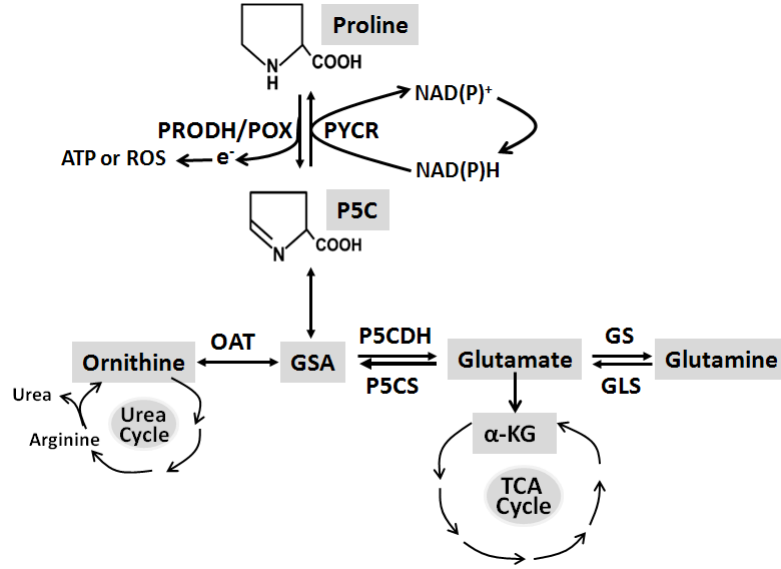
2.11.1. Prolinin Yapısal Özellikleri

Benzersiz yapısal özellikten dolayı prolin bir peptid sekansına girdiği zaman önemli konformasyonel özellikler gözlenir. Bunun siklik yapısı α -karbon ve nitrojenin bir peptid bağındaki rotasyon açısını sınırlamaktadır ki normal olarak bitişik amino asitlerin reel grupları

arasındaki sterik engelleme veya elektrostatik repulsiyona bağlıdır. Prolin potansiyel bir mükerrer yapı kırıcı olan ve peptid zincirlerinin yönünü değiştirme eğilimine sahip peptidzincir içine sabit bir eğim takdim eder. Bu durum proteinlerin sferik veya globüler şekllinden dolayı etkileyici bir faktördür. Proteinlerin yüzeyinde ters bir dönüş veya saç tokası eğimi şeklinde olan bu önemli yapısal olayın proteinler içindeki en önemli sonucu prolin oluşmasıdır. Prolin siklik yapısının ikinci bir sonucu hiçbir fonksiyonel grup içermemesidir ki bu durumda hidrojen bağına veya peptid bir bağın rezonans stabilizasyonuna katılmayı engeller. Bu nedenle prolin α heliks veya β tabakalı sekonder yapılarıyla uyumlu olmayan tek amino asittir. Ancak prolin multiple prolin amino asidinin bir protein içinde birikimli olduğu zaman sol elli bir helikal yapı ortaya koyar. Bu çok yaygın bir durum olmasına rağmen bovin pankreas tripsin inhibitöründe 5-7 amino asitleri için rapor edilmiştir. Prolin yapısal özelliklerine belirgin bir şekilde bağlı olan ikinci bir helikal formasyon da kemik, tendon ve destekleyici membran dokularının ana bileşeni olan kollajendir (85).

2.11.2. Prolinin Biyolojik Önemi

Kollojen yapısında yer alan en önemli amino asitler prolin ve hidroksprolindir. Hidroksprolin hidrojen yapım ve yıkım reaksiyonlarında açığa çıkar. Prolinin oynamış olduğu bir anahtar fizyolojik rol, biyolojik olarak aktif peptidlerin enzimatik degradasyona karşı korunmalarını sağlamaktır. Bu durum peptid veya protein prekürsörlerinin post translasyonel modifikasyonlarının regülasyonunda açıkça bellidir. Polipeptid zincirlerin içinde yerleşik olan prolin amino asitler polipeptid zincirin hassasiyetini proteolizle sınırlayan yapısal unsurlar olarak hareket ederler ve zincirlerin enzimatik süreci öncesinde modifikasyon bölümünde mevcuttur. Bu durum peptidlerin post translasyonel modifikasyonunda görev alan ekzopeptidazların özelliği ile ilişkili araştırmalarda gösterilmiştir ve pek çok biyolojik olarak aktif peptidlerin amino ucuna yakın yerlerde ortaya çıkan prolin gözlemiyle desteklenmektedir (86) (87). Prolin ayrıca krebs ve üre döngüleriyle metabolik olarak bağlantılıdır. Prolin-5-karboksilik asit prolin metabolizmasında iki döngüyü birbirine bağlayan bir pozisyondadır. Prolinin karbon zincirinden krebs döngüsüne geçişi tüm dokularda bilinen klasik yoldan 2-okso-glutarik asit metabolizması ile olur (88). Prolin Krebs ve üre döngüleriyle metabolik bağlantısı ile ilgili şekil 3' te aşağıda gösterilmiştir:



Şekil-3: Prolin Krebs ve Üre Döngüleriyle Metabolik Bağlantısı

2.12. Kollajen

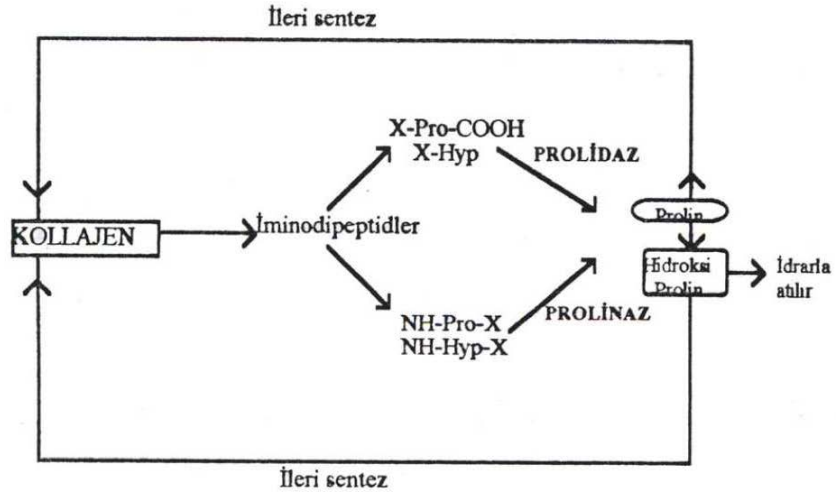
Kollajen; yapısında her beş amino asitten biri prolin veya hidroksiprolin bulunan önemli bir destek proteinimizdir. Kemik, diş, tendon, deri, damarlar gibi birçok dokuda yer almaktadır. Kollajenin primer yapısı polipeptid zincirindeki her üç pozisyondan birinde en küçük amino asit olan glisin bulunması açısından değişiktir. Glisin heliks yapıdaki kollajenin üç zincirinin bir araya geldiği kısıtlı alana sığabilir. Glisin kalıntıları, Gly-X-Y olarak tekrarlayan X'in genellikle prolin olduğu ve Y'nin sıklıkla hidroksiprolin veya hidroksilizin olduğu düzenin parçasıdır. Vücudumuzda önemli birçok dokunun yapısında yer alan kollajenin döngüsünde prolidaz spesifik bir enzim olduğu için önemi büyüktür. Kollajenin yıkımında ve prolinin kollojen yapımı döngüsüne yeniden katılımında prolidaz aktif görev almaktadır.

2.12.1. Prolidazın Kollajen Yapım ve Yıkımında Önemi

Kollajenler, hayvansal bağ dokunun temel bileşeni olup vücutta en fazla bulunan proteinlerdir. Bağ doku iskeletinin yapısını oluşturan kollajen, enflamasyon ve yara iyileşmesinde temel rol oynar. Kollajenin aminoasit kompozisyonu %33 glisin, %20 – 25 prolin ve hidroksiprolin, %5 - 11 lizin ve hidroksilizinden oluşur. Farklı genler tarafından kodlanan en az 15 tip kollajen vardır. Tip I, II, III, V ve XI fibriller kollajen olarak isimlendirilir. Kollajenler birçok dokuda fibroblastlar tarafından sentezlenirler. Ribozomlarda preprokollojen olarak başlayan sentez sitozolde prokollajen şeklinde devam eder ve hücre dışı

alanda tropokollajen ve kollajen oluşumu ile sonlanır. Kollajen molekülleri alfa zincirleri adı verilen, birbiri etrafında üçlü heliks halinde sarılarak ip benzeri yapı oluşturan üç polipeptitten meydana gelir. Polipeptit yapılarının her üç pozisyondan birinde en küçük aminoasit olan glisin bulunur. Glisin heliksin üç zincirinin bir araya geldiği kısıtlı alana sığmaktadır. Glisin kalıntıları, Gly-X-Y olarak tekrarlayan, X'in genelde prolin ve Y'nin hidroksiprolin veya hidroksilizin olduğu zincirin bir parçasıdır. Kollajen diğer birçok proteinde bulunmayan hidroksiprolin ve hidroksilizin içerir. Hidroksiprolin kollojenin üçlü heliks yapısının dayanıklılığını sağlamada önemlidir. Kollojenin yarı ömrü 50 - 300 gündür. Bu ömür; gelişme, büyüme, doku yapımı ve yara iyileşmesi gibi durumlarda uzar. Kollojenlerin yıkımı genellikle nötral pH'da aktif olan pek çok matriks metallo proteinazlarının (kollajenazlar) sinerjistik aktivitesinin bir sonucudur. Bununla birlikte jelatinaz, stromelizinler, polimorf elastaz ve katepsin gibi nonspesifik proteinazlar da bu yıkıma katılırlar. Kollajenazlar; fibroblast, kondrosit, osteoblast ve endotelial hücrelerden latent proenzim formunda salınırlar ve plazminle aktivasyonu takiben çapraz bağlı kollajeni parçalayarak dipeptitlere ayırırlar. Bu dipeptitler de prolidaz, prolinaz ve diğer dipeptidazlar tarafından serbest aminoasitlere parçalanırlar. Prolidazın bütün biyolojik fonksiyonunun prolin döngüsüyle beraber kollajen dejenerasyon ürünleri ve diğer Xaa-Pro dipeptitlerin metabolizması olduğuna inanılmaktadır. Prolidaz, C-terminalinde aminoasidi prolin veya hidroksiprolin olan dipeptitlerin hücre içinde hidroliz eder. Prolin yeniden döngüye girer ve yeni proteinsentezinde kullanılırken hidroksiprolin idrarla atılmaktadır (69) (85). Kollajen yapısındaki aminoasitlerin yaklaşık %25' ini prolin ve hidroksiprolin oluşturduğundan, prolidaz kollajen yıkımında önemli rol oynamaktadır (89).

Prolidaz, hücre içi protein yıkımının son basamağında, özellikle yüksek miktarda prolin içeren prekollajenin yıkımı aşamasında rol oynamaktadır (79) (89).



Şekil-4:Kollajen Yıkımında Prolidaz ve Prolinazın Yeri (90)

Enzim için substrat kaynağı kollajen olup iminopeptidler kollajenin yıkımının son basamağında ortaya çıkmaktadır. Prolidaz, beslenme ile alınan proteinlerden ve vücuttaki depo kollajeninden iminoasitlerin geri kazanılmasında önemli rol oynar (91).

Prolidaz, C-ucunda prolin veya hidroksiprolinin imino azotunu içeren peptid bağı bulunduran bileşiklerin hızla hidrolizini katalizleyen tek enzim olduğu için spesifitesi yüksektir (75).

Prolidaz eksikliği prolinin normal döngüsündeki bozulmayla sonuçlanır. Prolidaz eksikliğinde büyük miktarda hidroksiprolin üre ile dışarı atılır. Prolidaz enzim aktivitesi eritrosit, lökosit ve fibroblastlarda çok düşüktür. Etkilenen hasta bireylerde prolidaz enzim aktivitesi saptanamaz. İminopeptidüri, aynı zamanda raşitizm, hiperparatiroidizm ve paget hastalığı gibi durumlarda da tanımlanır. Fakat İminopeptidüri prolidaz eksikliğinde çok daha yüksektir. Prolidaz eksikliği cilt ve diğer kollajen dokularda anormalliklerle karakterize bir sendromla sonuçlanır. Bu nadir görülen genetik prolidaz eksikliği otozomal resesif olarak geçmektedir. Prolidaz geni başka bir kalıtsal rahatsızlık olan miyotonik distrofi ile ilgili olması açısından önemlidir. Prolidaz enzimi uzun zamandan beri bilinmesine rağmen önemi, son yıllarda eksikliği ile ilgili çalışmalarla iyice anlaşılmıştır (92) (93). Bu yüzden bu konuda az sayıda çalışma bulunmaktadır. Yapılan çalışmaların çoğu da eritrosit prolidazı ile ilgili olup serum prolidazı hakkında çok şey bilinmemektedir. Prolidaz enziminin genetik eksikliğinin sonucunda mental gerilik, tekrarlayan enfeksiyonlar ve deri lezyonları ile karakterize bir klinik tablonun ortaya çıktığı bildirilmiştir (91) (94). Prolidaz eksikliği olan kişilerde prolidaz I aktivitesinin derifibroblast kültüründe ve kan hücrelerinde azaldığı da gösterilmiştir (95).

Fetal büyüme sırasında kollojen turnoverinin yüksek olduğu tahmin edilmektedir. Dismatür bebeklerde prolidaz aktivitesi (amniyotik sıvıda) anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Bu nedenle prolidaz aktivitesinin fetal matürasyonun derecesini gösterdiği düşünülmektedir. Amniyon sıvısında ölçülen prolidaz aktivitesinin fetal matürasyonun ve gelişme geriliğinin bir indikatörü olarak kullanılabilmesi öne sürülmektedir. Ayrıca kollajen metabolizmasında bozuklukla seyreden silikozis hastalığının tedavisinde deprolidaz enziminin kullanılması hedeflenmektedir. Böylece hızla kollajen yıkımı ile seyreden silikozis hastalarında prolidaz enzim aktivitesinin artırılması tedavide faydalı bir yaklaşım olarak düşünülmektedir (96).

3. MATERYAL VE METOD, YÖNTEM

3.1.Çalışma Grubu

Çalışmamıza Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı'nın 04.03.2013 tarihli 3 numaralı oturumu, B.30.2HRÜ.0.20.05.00.050.01.04-70 sayılı kararı ile etik kurul onayı alınmıştır. Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyon Başkanlığı 29.03.2013 tarihli, 69094808-604.01.01/662-0907 sayılı kararı ile de projemize destek kararı almıştır. Çalışmaya Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Servisi'ne 10.04.2013 ile 05.03.2014 tarihleri arasındaki yaklaşık on iki aylık sürede NTKA şikayeti ile başvuran 100 hasta alındı. Sağlıklı erişkinlerden oluşan 100 kişilik kontrol grubu oluşturuldu. Hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırılmaları yapıldıktan sonra, hasta grubu 33'ü cerrahi, 34'ü medikal, 33'ü NSKA grubu olmak üzere 3 gruba ayrıldı. 100 kişilik kontrol grubundan 34 kişilik yeni bir kontrol grubu oluşturuldu ve gruplar birbiriyle karşılaştırıldı. 18 yaş üstünde olan, yedi günden daha kısa süredir karın ağrısı var olan, abdominal operasyon geçirmemiş, kooperasyonu tam olan, çalışmaya katılmayı kabul eden travma dışı karın ağrıları çalışmada değerlendirildi. Hastalar acil tıp asistanları ve sorumlu öğretim üyeleri tarafından değerlendirildi. Hikaye, ayrıntılı fizik muayene ve gerekli laboratuvar testleri yapıldıktan sonra ilgili bölümlerden (genel cerrahi, dahiliye, kadın doğum vb.) konsültasyon istendi. Hastalar takip edilmiş, yatırılmış, opere edilmiş, kendi istekleri ile ayrılmış veya taburcu edilmiştir.

3.1.1. Olguya Dahil Edilme Kriterleri

Acil servise başvurduğunda tanısı konulmamış ve 1 haftadan daha kısa süreli karın ağrısı şikayeti olan 18 yaş ve üzerindeki erişkin bireyler ile çalışma grubu oluşturuldu. Kontrol grubu olarak ta benzer yaş ve cinsiyet grubuna dahil sağlıklı gönüllü erişkinler çalışmaya dahil edildi.

3.1.2.Olgu Daraltma Kriterleri

18 yaş altı hastalar, travmaya bağlı karın ağrısı şikayeti olan hastalar, kanda alkol tespit edilen veya alkol alım hikayesi olan bireyler, halen geçirilmekte olan aktif somatik ya da psikiyatrik hastalık hikâyesi olan bireyler, son 7 gün içinde herhangi bir nedenle ilaç kullanma hikayesi olan bireyler, uyutucu, uyuşturucu ilaç kullanım öyküsü veya bağımlılığı olan bireyler, gebelik öyküsü olan bireyler, diyabetes mellitus, kontrolsüz hipertansiyon, akciğer hastalığı (kronik obstrüktif akciğer hastalığı, restriktif akciğer hastalığı olan), sigara kullanan, metabolik bozukluk, kronik karaciğer ya da renal yetmezlik saptanan hastalar,

koroner arter hastalığı olan, romatolojik hastalık ve malignitesi olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

3.1.2.1. İşlem

Tüm olgulardan bilgileri dahilinde vakumlu vacutainer tüplere 5 cc kan örnekleri alındı. Kan örnekleri oda ısısında 30 dakika bekletildikten sonra Hettich marka santrifüj cihazında 3000 devir/dakika hızda 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Total antioksidan kapasite (TAS), total oksidan seviye (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSİ) ile prolidaz enzim düzeyi çalışmak amacıyla kanların serumları -80°C’de depolanarak muhafaza edildi. Çalışma yapılacağı zaman tüm serum örnekleri oda ısısına getirildikten sonra serumlar çözülerek biyokimya laboratuvarında manuel olarak modifiye optimize Chinard metodu ile prolidaz enzim düzeyleri ve Abbot Aeroset marka oto analizör cihazında Erel metodu ile total antioksidan kapasite (TAS), total oksidatif durum (TOS) parametreleri çalışıldı.

3.1.3. Total Antioksidan Seviye (TAS)

Total antioksidan seviye Erel yöntemi ile ölçüldü. Bu ölçüm yönteminde 2,2'-azinobis-3-ethyl benzothiazoline-6-sulfonik asit radikali (ABTS radikali) kullanılmaktadır. ABTS radikali, antioksidan konsantrasyonuna ve antioksidan kapasiteye göre mavi ve yeşil rengini kaybetmektedir. Bu renk değişikliği, absorbans değeri 660 nm’de ölçülerek değerlendirme yapılmaktadır. Bu ölçüm metodunun prensibi hidrojen peroksit varlığında ABTS molekülünün, ABTS⁺ molekülüne okside olmasına dayanmaktadır. 30 mmol/L asetat tamponu ve pH: 3,6’da koyu yeşil renkte olan radikalın, asetat tamponu 0,4 mol/L, pH: 5,8 olduğunda rengi açılmaktadır. Renk değişimi ile örnek içindeki antioksidan miktarı arasında ters ilişki bulunmaktadır. Reaksiyon hızı standart yöntem olan Trolox ile kalibre edilmektedir. Birimi Trolox equivalent/L’dir.

3.1.3.1.Reaktiflerin hazırlanması

Reaktif 1: 32,8 gr CH₃COONa’ nın 1000 ml distile su içinde eritilmesi ile 0,4 mol/L asetat tampon solüsyonu (pH: 5,8 olacak şekilde) oluşturuldu. 22,8 ml asetik asit, 1000 ml su ile seyreltilerek, 0,4 mol/L konsantrasyona getirildi. 940 ml sodyum asetat solüsyonu ile 60 ml asetik asit solüsyonu karıştırıldı.

Reaktif 2: 2,46 gr CH₃COONa, 1000 ml distile suda eritilerek 30 mmol/L asetat tampon solüsyonu (pH: 3,6) hazırlandı. 1,705 ml asetik asit 1000 ml distile su ile seyreltilerek, 30 mmol/L konsantrasyonda karışım elde edildi. 75 ml sodyum asetat

solüsyonu, 925 ml asetik asit solüsyonu ile karıştırıldı. PH 3,6 olacak şekilde ayarlandı. Sonra 278 µl H₂O₂ solüsyonu, 1000 ml tampon solüsyonu ile seyreltilerek 2 mmol/L konsantrasyona getirildi. Daha sonra 0,549 gr ABTS radikali, 100 ml hazırlanan solüsyonda eritilerek 10 mmol/L konsantrasyona getirildi. Bir saat oda ısısında bekletildi ve karakteristik ABTS renginin oluşması sağlandı. Spektrofotometrik ayarlardan sonra Aeroset otomatik analizatöre (Abott Aeroset® C8000™ cihazına) uygulandı. Ölçüm formatı aşağıda verilmiştir:

1. reaktif volümü: 200 µl (asetat tamponu 0,4 mmol/L, pH 5,8)

Örnek volümü: 5 µl (serum ya da diğer sıvılar, saf antioksidan solüsyonu)

2. reaktif volümü: 20 µl (2. radikal: 30 mmol/L, pH 3,6 içinde ABTS)

Dalga boyu: 660 nm (ya da 420 ve 740 nm aralığı)

Değerlendirme: İlk ölçüm Reaktif 1 ile Reaktif 2 karışımı anında ve son ölçüm karıştırılmadan 5 dakika sonra kalibrasyon şekli, doğrusala getirildi.

3.1.4. Total Oksidan Seviye (TOS)

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir (16).

3.1.4.1. Reaktiflerin hazırlanması

Reaktif 1: 140 mM'lık NaCl çözeltisi içerisine 25 mM H₂SO₄ çözülerek ana solüsyon hazırlanır. Ana solüsyonda önce % 10 oranında gliserol çözülüp daha sonra total volümde 250 µM xilenol orange çözülerek hazırlanır.

Reaktif 2: Ana solüsyon içerisinde önce 10 mM o-dianisidine dihidrochloride çözülüp sonra 5 mM amonyum ferröz sülfat çözülerek reaktif hazırlanır.

Prensip: Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyona oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xilenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. Birim µmol H₂O₂ Equivalent / L'dir.

3.1.5. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Oksidatif Stres İndeksi (OSİ); Total Oksidan Seviye (TOS) / Total Antioksidan Seviye X 10⁻¹ (TAS) şeklinde bölünerek hesaplandı. Birim AU'dır.

3.1.6. Prolidaz Aktivitesi

Kullanılan araç ve gereçler

- 1- Santrifüj (Hettich Universal 30 RF)
- 2- Spektroflorometre (Shimadzu RF-1501 MODEL, Japon)
- 3- Derin dondurucu (New Brunswick Scientifi, C54285 model)
- 4- Hassas terazi (Sartorius marka 0,0001 g'a duyarlı)
- 5- Dijital pH-metre (Hanna, pH 211 model Japon)
- 6- Otomatik biyokimya analizörü (Aeroset, USA)
- 7- Vorteks (DCA-VF-2)
- 8- Visible spektrofotometre (Jasco V-530 UV / UV3 Spektrofotometre)
- 9- Su banyosu (Nüve BM 402)

Kullanılan kimyasallar

Tablo-4: Çalışmalar Sırasında Kullanılan Kimyasal Maddeler

Madde Adı	Formülü Firma ve Katalog No
L-Prolin	C5 H2NO2 Sigma ®G-3002
Glisil-Prolin	C7 H2N2O3 Sigma®
Magnezyum klorür	MgCl26H2O Riedel ®(IV) hidrat
Glasiyel asetik asit	CH3COOH Merck®541
Ortofosforik asit	H3PO4 Merck®564
Trizma HCl	C4H11NO3HCl Sigma®T-3253
Trizma BASE	C4H11NO3 Sigma®93349
Ninhidrin	C9H6O4 Sigma®N4876
Manganklorür (II) hidrat	MnCl2H2O Merck®
Glutasyon	GSH Merck®5917
Sülfirik asit	H2SO4 Merck®
Sodyum klorür	NaCl Merck®
O-Dianisidin dihidroklorid	C14H16N2O2 2HCl Sigma®
Hidroklorik asit HCl	Merck®
Ferroz amonyum sülfat	Fe(NH4)2(SO4)2 6H2O Merck®
Hidrojen peroksit	H2O2 Merck®
Xylenol orange	C31H32N2O13S Sigma®
Gliserol	CH2OHCHOHCH2OH Merck®

Kullanılan Ayraçlar:

Ön inkübasyon çözeltisi: PH:7'de, 50 mmol/L Tris HCl tamponu içerisinde, 1 mmol/L GSH (glutasyon), 50 mmol/L MnCl₂ çözdürüldü.

Substrat çözeltisi: Ön inkübasyon çözeltisi içerisinde 144 mmol/L glisil-L prolin dipeptidi çözdürüldü. Ancak substrat çözeltisi için pH:7,8 lik tris HCl tampon kullanıldı.

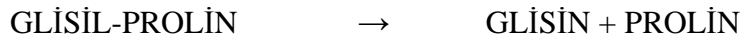
Tepkimeyi durdurma çözeltisi: 1 mL glasiyal asetik asit kullanıldı. Ninhidrin çözeltisi 'Modifiye (Optimize) Chinard Çözeltisi' : 0.5 mol/L'lik ortofosforikasit V içerisinde 3 g/dL olacak şekilde ninhidrin manyetik karıştırıcı ve ısı yardımıyla 70 °C'de eritildi.

Prolin standartı: 5 mg L-prolin bir miktar de iyonize su içerisinde çözdürülüp son hacmi 100 mL ye tamamlandı.

3.1.6.1. Ölçüm yöntemi (Modifiye = Optimize Chinard Metodu)

Substrat olarak glisil-prolin kullanılarak enzim aracılığı ile oluşan prolinin asidik ortamda ısı etkisiyle ninhidrin ile renkli bir bileşik (pembe renk) oluşturma ilkesine dayanarak serum prolidaz düzeyi ölçülür. Rengin şiddeti prolin konsantrasyonuna bağlıdır ve spektrofotometrik olarak ölçülür.

Prolidaz

**Deney 3 basamaktan oluşur:**

1. Enzim aktivasyonu için; numunenin Tris-HCl MnCl₂ ile preinkübasyonu
2. Örnek ile glisil - prolinin inkübasyonu
3. Serbestleşen prolinin spektrofotometrik olarak modifiye (optimize) chinard metodu ile ölçülmesi.

3.1.6.2. İşlem

a-) Yöntemde, 100 uL serum ile 100 uL serum fizyolojik karıştırılıp bu karışımdan 25 uL alınıp, 1 mmol/L GSH ve 50 mmol/L MnCl₂; pH 7 'de 50 mmol/L Tris HCl tampondan oluşan ön inkübasyon solüsyonundan 75 uL alınarak, 37 °C' de 30 dakika inkübe edildi.

b-) Karışımın üzerine 144 mmol/L Gly-pro içeren ön inkübasyon çözeltisinden (pH 7,8) 1 uL eklenerek 37 °C' de 5 dakika inkübe edildi.

c-) Daha sonra inkübasyonlu ve inkübasyonsuz (sıfır zaman) olacak şekilde iki grup tüp hazırlandı. İnkübasyonlu tüplere inkübasyonun sonunda 1 mL glasiyal asetik asit ilave edilerek reaksiyon durduruldu. Sıfır zaman tüplerine ise aynı hacimde preinkübe edilmiş örnek eklenerek 1mL glasiyal asetik asit ilave edilip reaksiyon durduruldu.

d-) İnkübasyonlu ve inkübasyonsuz (sıfır zaman) tüplerin üzerine 300uL Tris HCl tamponu (pH:7,8) ve 1 mL Ninhidrin çözeltisi eklendi

Tablo-5: Prolidaz Düzeyi Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler

Ayraçlar	İnkübasyonlu	İnkübasyonsuz
Serum Fizyolojik (uL)	100	100
Ön inkübasyon çözeltisi	75	75
Substrat (uL)	100	100
Glasiyal asetik asit (mL)	1	1

Tablo-6: Prolidaz Düzeyi Ölçümünde Kullanılan Ayraçlar

Ayraçlar	Kör	Standart	İnkübasyonlu	İnkübasyonsuz
Ön işlemden geçen çözelti toplam hacmi(mL)			1,2	1,2
Glasiyal asetik asit (ml)	1	1	1	1
Tris HCL pH 7,8 (uL)	300	300	300	300
Ninhidrin çözeltisi (modifiye (optimize) chinard çözeltisi) (mL)	1	1	1	1
Standart		1		

e-) Yukarıdaki işlemler uygulandıktan sonra tüplerin ağzı kapatılarak, 90 °C' de su banyosunda 20 dakika bekletildi. Daha sonra buzlu su banyosunda soğutulup beklenmeden 515 nm'deki absorpsiyonları substratın katılmadığı örnek körüne karşı okutuldu. Ölçülen prolin derişimleri standart olarak kullanılan 5 mg/dL'lik L prolin ile karşılaştırılarak hesaplandı.

3.1.6.3. Prolidaz Aktivitesinin Hesaplanması

Prolidaz aktivite düzeyi : $(A-B) \times [S] \times \text{Faktör} : S$

A: İnkübasyon tüpü absorpsiyon değeri

B: Sıfır zaman tüpü absorpsiyon değeri (inkübasyonsuz)

[S] : Standart konsantrasyonu (mmol/L)

S: Standart absorpsiyon değeri

3.1.6.4. Prolidaz aktivite düzeyi

(A-B) x [S] x Faktör : 1 litrede 1 dakikada oluşan S mmol prolin miktarı

Serumda aktivite tanımı: 1µmol substratı 1 dakikada değışikliğe uğratan enzim miktarı olarak yapılmıştır. Birim U/L olarak tanımlanmıştır.

3.2. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS Versiyon 11,5 (Statistical Package for the Social Sciences) bilgisayar programı kullanılarak gerçekleştirildi. Gruplar arasındaki karşılaştırmada student T testi kullanıldı. Grupların ortalamaları arasındaki farkın önemi One-Way ANOVA testi ile karşılaştırıldı. Demografik verilerin istatistiksel analizini yapmak için χ^2 testi (ki-kare testi) kullanıldı. Ayrıca parametreler arası korelasyon, Pearson korelasyon testi ile incelendi. Veriler ortalama ve standart sapma olarak değerlendirildi, $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Hasta grubu kendi içerisinde cerrahi gerektiren hasta grubu, medikal tedavi gerektiren hasta grubu ve NSKA grubu olarak üç ayrı gruba ayrılıp kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Dört gruba ait demografik bulgular tabloda verildi. Gruplar yaş ve cinsiyet açısından benzerdi. Yaş ve cinsiyet parametrelerinde istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde fark görülmedi (hepsi için $p>0,05$). Sonuçlar tablo 8’de verilmiştir.

Tablo-7: Hasta, kontrol grupları arasındaki oksidatif stres ve prolidaz düzeyleri

	Hasta (N=100)	Kontrol (N=100)	<i>p</i>
TAS, mmol trolox Eq./L	1,09 ± 0,21	1,05 ± 0,23	0,211
TOS, µmol H ₂ O ₂ Eq./L	34,37 ± 10,76	25,73 ± 7,59	<0,001
OSİ, Arbitrary Unit	3,40 ± 2,43	2,54 ± 0,90	0,001
PROLİDAZ, U/L	1002,16 ± 268,15	839 ± 148,07	<0,001

Oksidatif Stres ve Prolidaz Enzimi Düzeyleri tablo 7’de verilmiştir. Dört grup, hasta ve kontrol grubu açısından iki gruba indirildiğinde, hasta ve kontrol grupları arasında TAS açısından fark bulunmamıştır (hepsi için $p>0,05$). TOS, OSİ, prolidaz değerlerine bakıldığında ise her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (hepsi için $p<0,05$).

Tablo-8:Hasta grupları ve kontrol gruplarının demografik özellikleri

	Cerrahi (N=33)	Medikal (N=34)	NSKA (N=33)	Kontrol (N=34)	<i>p</i>
Yaş (Yıl)	40,61 ± 18,23	38,95 ± 16,79	38,38 ± 17,96	37,67 ± 13,77	0,837
Cinsiyet (E/K)	11/22	19/15	14/19	18/16	0,188

Hasta grubu kendi içerisinde cerrahi gerektiren hasta grubu, medikal tedavi gerektiren hasta grubu ve NSKA grubu olarak üç ayrı gruba ayrılıp, TAS, TOS, OSİ ve prolidaz düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Sonuçlar tablo 9’da verilmiştir.

TAS değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel açıdan bir fark bulunmamıştır (hepsi için $p>0,05$). TOS değerleri açısından cerrahi grup ile medikal grup arasında anlamlı fark vardır ($p<0,050$). Cerrahi grup ile NSKA grubu arasında anlamlı fark vardır ($p<0,001$). Cerrahi grup ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardır ($p<0,001$). Medikal grup ile NSKA grubu arasında anlamlı fark vardır ($p<0,010$). Medikal grup ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardır ($p<0,001$). NSKA grubu ile kontrol grubu arasında fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

OSİ değerleri açısından, cerrahi grup ile medikal grup arasında fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Cerrahi grup ile NSKA grubu arasında anlamlı fark vardır ($p<0,010$). Cerrahi grup ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardır ($p<0,010$). Medikal grup ile NSKA grubu arasında anlamlı fark vardır ($p<0,010$). Medikal grup ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardır ($p<0,010$). NSKA grubu ile kontrol grubu arasında fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Prolidaz değerleri açısından, cerrahi grup ile medikal grup arasında anlamlı fark vardır ($p<0,001$). Cerrahi grup ile NSKA grubu arasında anlamlı fark vardır ($p<0,001$). Cerrahi grup ile kontrol Grubu arasında anlamlı fark vardır ($p<0,001$). Medikal grup ile NSKA grubu arasında anlamlı fark vardır ($p<0,010$). Medikal grup ile kontrol grubu arasında anlamlı fark vardır ($p<0,010$). NSKA grubu ile kontrol grubu arasında fark bulunmamıştır.

Tablo-9: Hasta ve kontrol grupları arasındaki oksidatif stres ve prolidaz enzimi düzeyleri

	Cerrahi (N=33)	Medikal (N=34)	NSKA (N=33)	Kontrol (N=34)	<i>p</i>
TAS, mmol trolox Eq./L	1,09 ± 0,2	1,07 ± 0,25	1,13 ± 0,16	1,14 ± 0,15	0,419
TOS, µmol H ₂ O ₂ Eq./L	41,05 ± 9,74 ^{a***b***c***}	34,80 ± 10,49 ^{d**e***}	26,94 ± 6,56	24,88 ± 7,57	<0,001
OSİ, Arbitrary Unit	3,84 ± 1,07 ^{b**c**}	3,89 ± 3,99 ^{d**e**}	2,41 ± 0,64	2,18 ± 0,63	0,001
PROLİDAZ, U/L	1206,27 ± 242,63 ^{a***b***c***}	999,80 ± 247,69 ^{d***e**}	871,58 ± 128,74	867,19 ± 106,46	<0,001

Ortalama ± Standart Sapma

*: $p < 0,050$

** : $p < 0,010$

***: $p < 0,001$

a. Cerrahi grup ile Medikal Grup arasında anlamlı fark vardır.

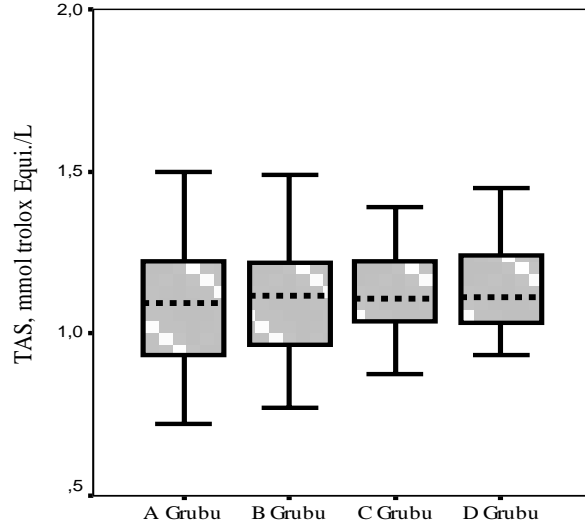
b. Cerrahi grup ile NSKA Grubu arasında anlamlı fark vardır.

c. Cerrahi grup ile Kontrol Grubu arasında anlamlı fark vardır.

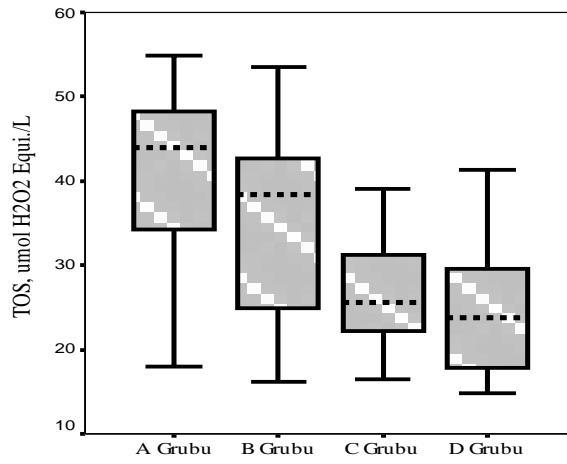
d. Medikal grup ile NSKA Grubu arasında anlamlı fark vardır.

e. Medikal grup ile Kontrol Grubu arasında anlamlı fark vardır.

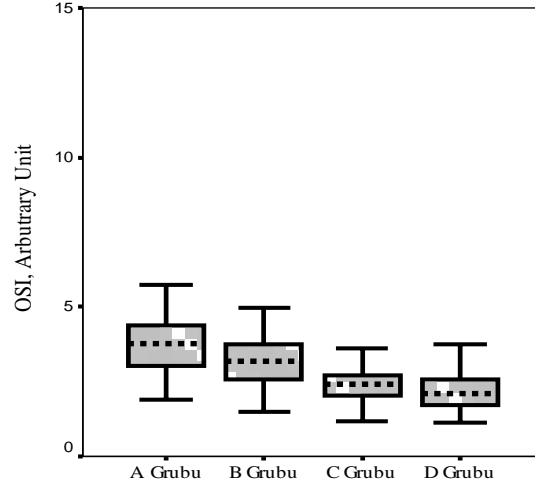
f. NSKA grubu ile Kontrol Grubu arasında anlamlı fark vardır.



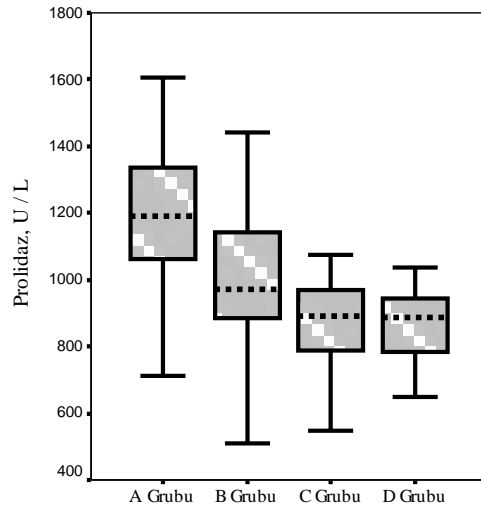
Şekil-5: Hasta ve kontrol gruplarının TAS düzeylerinin ortalamaları ve dağılımları (A grubu cerrahi grup, B grubu medikal grup, C grubu NSKA grubu, D grubu kontrol grubudur).



Şekil-6: Hasta ve kontrol gruplarının TOS düzeylerinin ortalamaları ve dağılımları (A grubu cerrahi grup, B grubu medikal grup, C grubu NSKA grubu, D grubu kontrol grubudur).



Şekil-7: Hasta ve kontrol gruplarının OSİ düzeylerinin ortalamaları ve dağılımları (A grubu cerrahi grup, B grubu medikal grup, C grubu NSKA grubu , D grubu kontrol grubudur).



Şekil-8:Hasta ve kontrol gruplarının prolidaz enzim aktivitesinin ortalamaları ve dağılımları (A grubu cerrahi grup, B grubu medikal grup, C grubu NSKA grubu, D grubu kontrol grubudur.)

Hasta ve kontrol gruplarının TAS, TOS, OSİ, prolidaz, WBC, D-dimer, CRP, CPK, LDH değerleri korelatif ilişki açısından karşılaştırılmış sonuçlar tablo 10'da verilmiştir. TOS düzeyleri ve D-dimer düzeyleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak korele bulunmuştur

(p:0,028, r:0,357). TOS düzeyleri ve CRP düzeyleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak korele bulunmuştur (p: 0,001, r: 0,286). TOS düzeyleri ve LDH düzeyleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak korele bulunmuştur (p: 0,023, r: 0,201) . WBC düzeyleri ve CRP düzeyleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak korele bulunmuştur (p: 0,000, r: 0,408) . WBC düzeyleri ve CPK düzeyleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak korele bulunmuştur (p: 0, 017, r: 0,206). WBC düzeyleri ve LDH düzeyleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak korele bulunmuştur (p: 0,000, r: 0,317).

D-dimer düzeyleri ve CRP düzeyleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak korele bulunmuştur (p: 0,037, r: 0,326). D-dimer düzeyleri ve Albumin düzeyleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak korele bulunmuştur (p: 0,043, r: - 0,318). CRP düzeyleri ve CPK düzeyleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak korele bulunmuştur (p:0,000, r: 0,326). CRP düzeyleri ve LDH düzeyleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak korele bulunmuştur (p: 0,000, r: 0,488).

Tablo-10: Hasta ve Kontrol gruplarının Korolatif İlişkilerini gösteren tablo

		TOS	OSI	PROLIDAZ	WBC	DDIMER	CRP	ALB	CPK	LDH
TAS	<i>r</i>	,157	-,534	-,037	-,124	,060	-,080	-,079	-,062	-,056
	<i>p</i>	,076	,000	,674	,153	,708	,357	,364	,477	,524
TOS	<i>r</i>		,350	,076	,111	,357	,286	-,125	,035	,201
	<i>p</i>		,000	,390	,211	,028	,001	,157	,698	,023
OSI	<i>r</i>			,042	,113	,302	,124	-,051	,122	,067
	<i>p</i>			,635	,203	,065	,163	,563	,168	,452
PROLIDAZ	<i>r</i>				,031	,273	,035	-,023	-,042	,017
	<i>p</i>				,726	,084	,690	,790	,626	,842
WBC	<i>r</i>					,012	,408	-,059	,206	,317
	<i>p</i>					,940	,000	,495	,017	,000
DDIMER	<i>r</i>						,326	-,318	-,094	,280
	<i>p</i>						,037	,043	,558	,077
CRP	<i>r</i>							-,108	,311	,488
	<i>p</i>							,213	,000	,000
ALB	<i>r</i>								-,012	-,056
	<i>p</i>								,889	,519
CPK	<i>r</i>									,437
	<i>p</i>									,000

r: Korelasyon Katsayısı

p: İstatistiksel Önem

5. TARTIŞMA

Akut enflamasyonla seyreden hastalıklarda oksidatif durum değişiklikleri meydana gelmektedir. Yapılan bir çalışmada, akut apandisit, lokalize yumuşak doku apseleri vb. durumlarda antioksidan defans mekanizmalarının bozulduğu gösterilmiştir. Apendiks enflamasyonunda serbest oksijen radikallerinin rolünün gösterilmesinde apendiks ligasyonu sonrasında organizmanın savunma mekanizmalarının rol üstlendiğini, özellikle de katalaz ve glutasyon peroksidaz aktivitelerinin artışı gösterilmiştir. Aynı çalışmada AA hastalarında TOS ve OSİ nin yüksek olduğu saptanmıştır (97). Bu sonuçlar çalışmamızın sonuçlarıyla uyumludur. Çalışmamızda cerrahi ve medikal hasta gruplarında TOS seviyeleri yüksek bulunmuştur. TOS ve OSİ'nin cerrahi hasta grubu ve medikal hasta gruplarında yüksek çıkması da bu hastaların oksidatif strese maruz kaldıklarını göstermektedir. Bilindiği gibi polimorfonükleer lökositler (PMNL) ve makrofajlar fagositoz sırasında bakterileri ortadan kaldırmak ve nekrotize olmuş dokuları temizlemek için serbest oksijen radikallerini kullanırlar (38). Enflamatuvar süreçte patogeneze dahil olması muhtemel olduğu için biz antioksidatif statüsünün bu durumdan ne kadar çok etkilendiğini görmek amacıyla TAS'ı araştırdık. Antioksidan savunmadaki değişiklikler defansif yanıtı bağlı olarak artış veya oksidanlar tarafından nötralizasyona bağlı olarak azalış şeklinde olabilir. Eğer rezervler yeterli ise herhangi bir değişiklik olmayabilir. Çalışmamızda TAS düzeyleri bakımından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlemlenmedi.

Kronik enflamasyon ile giden hastalıklarda prolidaz enzim aktivitesinin değerlendirildiği yapılan az sayıda çalışmada, enzim aktivitesi kollajen yıkımına bağlı olarak yüksek bulunmuştur (98) (99) (100). Pek çok organ ve doku sistemini etkileyebilen enflamasyon durumlarında, oksidatif parametreler gibi, yapısal bir eleman olarak kollajen proteinin yapım ve yıkım döngüsünün de etkilenmesi beklenebilir.

Çalışmamızda cerrahi ve medikal hasta gruplarında prolidaz enziminin ve oksidatif

stres parametrelerinin yüksek çıkması doku hasarının kollajen turnoverını etkileyecek kadar büyük olduğunu göstermektedir. Cerrahi ve medikal hasta gruplarında kollajen metabolizmasının hızlanması bu hastalarda meydana gelen metabolik olaylarda kollajen yapısının bozulması ile ilişkili yapısal bozukluğun meydana geldiğini göstermektedir. Enflamasyonun prolidaz enzim aktivitesinde değişiklik oluşturduğuna işaret eden çalışmalar dikkate alındığında (101) (98) (102); cerrahi ve medikal hasta gruplarında prolidaz artışının bir nedeni de artmış bu enflamatuvar durum olabilir.

Çelik ve arkadaşları siroz hastalarında serum prolidaz aktivitesini kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulmuşlar ve bunun nedenini kollojen turnoverının insan karaciğerinde sirozun gelişimiyle değiştiği ve prolidaz aktivitesinin bu dejeneratif karaciğer hastalığında kollojen metabolizması bozukluklarını yansıtabileceği şeklinde yorumlamışlardır (103).

Myara ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ise serum prolidaz aktivitesinin karaciğer sirozunda arttığı bildirilmiştir. Bu durumu da metabolizmada artmış kollajen sentezinden dolayı olabileceğini belirtmişlerdir (89). Demirbağ ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, sol ventrikül hipertrofisinden bağımsız olarak hipertansiyonun kollajen turnoverını arttırarak serum prolidaz aktivitesini arttırdığı tespit edilmiştir (104).

Aslan ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ise H.Pylori (+) olgularda, H.Pylori (-) olgulara göre serum TAS seviyelerinin belirgin düşük, TOS seviyelerinin, OSİ değerlerinin ve prolidaz aktivitesinin belirgin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Prolidaz aktivitesinin, TOS deki artışla ilişkili olduğunu gösterilmiş ve bu H.Pylori (+) olgularda artmış oksidatif strese bağlı oluşan gastrik mukozal enflamasyonun, hücrelerde kollojen sentezini artırmasıyla ve gastrik fibrozise neden olmasıyla ilişkilendirilmiştir (98).

Kaleli ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da bronşiyal astımda prolidaz aktivitesinin artmış olduğu, bunun respiratuvar bronşiyollerdeki submukozal hücrelerde gelişen enflamasyon ve fibrozise bağlı olduğu tespit edilmiştir (102).

Aksoy ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada diyabetiklerde serum prolidaz

aktivitesinin oldukça düşük olduğu saptanmıştır. Bu durumu diyabetin vasküler komplikasyonlarına bağlamışlardır (105). Oono ve arkadaşları kronik yara iyileşmesinde prolidaz enzim değerininin yaradan alınan sıvı örneklerinde ve blister oluşan hastalıklarda blister içi sıvı örneklerinde arttığını bildirmişlerdir (100). Yıldız ve arkadaşları kronik yaralarda uygulanan hiperbarik oksijen tedavisinde (HBO₂) ise serum ve doku örneklerinde, prolidaz enzim değerleri ölçüldüğünde tedavi sonrasında, tedavi öncesine göre azalma gözlemiştir (106). Chamson ve grubu prolidaz eksikliğinde en önemli değişikliğin kollojen yıkımının hızla artması olduğunu saptamışlardır.

Fibrozis bazı akciğer hastalıklarında ortaya çıkabildiğinden plazma prolidaz aktivitesinin de bazı akciğer hastalıkları ile bağlantılı olması muhtemeldir (107). KOAH hastalarında sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin düzeyde azalmış plazma prolidaz aktivitesi gösterilmiş bunun da azalmış kollojen döngüsünün bir kanıtı olabileceği düşünölmüştür (108).

Serum prolidaz seviyeleri ve oksidatif stres parametreleri, idiopatik dilate kardiyomyopati hastaların teşhisinde kullanılmış ve hastalığın ilerleyen dönemlerinde klinik kötüleştikçe değerlerinde artış gözlenmiştir (109). Prolidaz enzimi ile ilgili çalışmalar son yıllarda artarak devam etmektedir.

Çalışmamızda NTKA'lı hastaların klinik ciddiyeti, hastaların tedavisinde cerrahi ihtiyacın gerekliliği ile prolidaz aktivitesi ve oksidatif stres ile anlamlı bir ilişki gözlendi. Klinik olarak hızlı ve doğru karar verilmesinde, NTKA'lı olguların değerlendirilmesinde prolidaz enzim aktivitesi ve oksidatif stres testlerinden faydalanmak mümkün olabilir. Bu konuda kesin yargıya varmak için daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda gruplar arasında WBC, D-dimer, CRP, Albumin, CPK, LDH ile TAS, TOS, OSİ, prolidaz değerleri arasında korelatif ilişki olup olmadığını da Pearson korelasyon testi kullanarak araştırdık.

Cerrahi hasta grubunun D-dimer sonuçları ile prolidaz ve OSI değerleri arasında pozitif korelasyon gözlemlendi. Yine başka bir çalışmada özellikle cerrahi gerektiren akut karın ağrılı hastaların tanı ve ayırıcı tanısına yönelik D-dimer çalışılmış ve bu biyokimyasal parametrenin tanısı konulmamış akut karın ağrılı hastalarda cerrahi ihtiyacının bir belirleyicisi olabileceği belirtilmiştir (110). Bu sonuçlar bizim çalışmamızla uyumludur.

Çalışmamızda D-dimer düzeyleri ve CRP düzeyleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak korele bulundu. Her iki parametre de akut faz reaktanı olarak kullanılmaktadır. D-dimer düzeyleri ve albumin düzeyleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak negatif korele bulunmuştur. Bu durum da albüminin negatif akut faz reaktanı olması ile açıklanabilir.

TOS düzeyleri ve CRP düzeyleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak korele bulunmuştur. Bu durum CRP'nin kuvvetli bir enfeksiyon göstergesi, akut faz reaktanı olmasına bağlandı. TOS düzeyleri ve LDH düzeyleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak korele bulundu. Bilindiği üzere LDH enzimi aynı zamanda bir doku yıkım göstergesi olarak ön plana çıkmaktadır. Oksidatif stresin artıp doku hasarına yol açtığı durumlarda LDH'ın yükselmesi olağan karşılanmalıdır. WBC düzeyleri ile CRP, CPK, LDH düzeyleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak korele bulunmuştur. Bu durum enfeksiyon ve doku hasarının birlikte görülmesi ile ilişkilendirilebilir.

Acile karın ağrısı ile başvuran hastaların %10'luk kısmına belirgin bir tanı konulamamaktadır. Karın ağrısının sebebi tespit edilebilen gruptan ise ancak %10'u cerrahi gerektirmektedir. Bu nedenlerden dolayı da NTKA'nın acil tedavi gerektirip gerektirmediğinin ve hangilerinin cerrahi tedavi gerektirdiği konusunda laboratuvar parametrelerinin bulunmasına ihtiyaç vardır.

Neden ne olursa olsun NTKA yaklaşımda en ideal yöntem; en kısa sürede, en uygun tetkik ve en etkin maliyet ile doğru tanıya ulaşmak ve uygun tedaviye başlamaktır. Karın ağrısı ile acil polikliniklerine gelen hastaların %30-40'ını yapılan tüm tetkiklere rağmen herhangi bir patolojinin saptanamadığı ve gözlem sırasında şikayetleri kendiliğinden gerileyen nonspesifik karın ağrılı hastalar oluşturur (111) (112) (113). Weiner ve Lukens'in yaptıkları çalışmalara göre ayırıcı tanı yapılamayan nonspesifik karın ağrısı şikayeti ile taburcu olan hastaların % 88'inde karın ağrısı 2-3 hafta içinde hafiflemekte ve geçmektedir (114) (115).

Sürpriz olarak çalışmamızda karşımıza çıkan, oluşturduğumuz NSKA grubunun TOS, OSİ, prolidaz değerleri ile cerrahi ve medikal grupları bu parametreler açısından anlamlı farklılık bulunmuş olmasına rağmen, NSKA grubu arasında ile kontrol grubunun bu değerleri arasında istatistiksel açıdan bir fark gözlemlenmemiş olmasıdır. Bu durum ile NTKA'lı hastaların klinik değerlendirilmesinde TOS, OSİ, prolidaz değerlerine bakarak NSKA hasta grubunun bir kenara ayrılabilceği ve gereksiz tetkik ve acilde kalış süresinin azaltılabileceğini düşünmekteyiz.

Yapılan bir başka çalışmada semptom ve fizik muayene bulgularına göre tanı ile kesin tanı uyumu %72 olarak bulunmuştur. Eğitim hastanelerinde NTKA ile başvuran hastaların başlangıçta asistanlar tarafından değerlendirildiği, bir ön tanı konulduğu, testlerin istendiği, testlerin sonunda son tanının 1/3 oranında değişebildiği belirtilmektedir (116) (117). Acil servis başvurusunda doğru tanı konulan yaşlı hastalarda mortalite % 8 civarında iken; gecikmiş veya hastaneye yattıktan sonra tanı konulan hastalarda mortalite oranı % 19 civarında olduğu belirtilmiştir (118) (119).

Çalışmamızda oksidatif stres ve kollajen yıkımında aktif rolü olan prolidaz enzim aktivitesi cerrahi grupta ve medikal grupta olan hastalarda yüksek bulunmuştur. Prolidaz enzim aktivitesinin, özellikle cerrahi gruptaki hastalarda daha da belirgin olarak yükselmiş olması serum prolidaz aktivitesi ölçümünün, dokulardaki kollajen doku hasarını tespit etmede ve durumun aciliyeti hakkında bilgi edinmek, hastaların cerrahi tedavi ihtiyaçlarını erken belirlemek mortalite ve morbiditeyi azaltmak amacıyla kullanılmasını mümkün kılabilir.

6. SONUÇ

Kliniklere çok sayıda hasta karın ağrısı ile başvurmakta, bunların akut karın ağrısı olarak belirlenmesi ve acil cerrahi gerektiren karın ağrısı olup olmadığının ortaya konması, ayırıcı tanılarının yapılması çok sayıda laboratuvar ve görüntüleme yöntemleri kullanılmasına rağmen zor olmaktadır.

Akut karın ağrısı ile acil servise başvuran hastaların hızlı bir şekilde değerlendirilip, ayırıcı tanısının yapılması büyük önem arz eder. Acil cerrahi ihtiyacı olanların belirlenmesi, acil cerrahi ihtiyacı olmayanların ise takip süreleri acil hekimleri için çeşitli zorluklar barındırır. Acil servislerde akut karın ağrısının tanı ve ayırıcı tanısında tek başına kullanılacak biyokimyasal parametrelerin belirsizliği önemli klinik sorunların başında gelmektedir. Çalışmamız ile literatürde bildiğimiz kadarıyla ilk defa olarak NTKA'lı olgularda oksidatif parametreler ve prolidaz enzim düzeyleri birlikte çalışılmıştır. Cerrahi tedavi gereken grup, medikal tedavi gereken grup, NSKA hasta gruplarında bu enzim değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı olarak farklılık bulundu. Bu çalışma ile acil serviste NSKA ve cerrahi nedenli karın ağrısının ayırımında serum oksidatif stres parametrelerinin ve prolidaz enzim aktivitesinin belirleyici bir değeri olabileceğini saptandı. NSKA hasta grubu ve kontrol grubu arasında ise TAS, TOS ve OSİ ve prolidaz enzim düzeyleri açısından fark gözlemlenmemiş, istatistiksel olarak anlam bulunmamıştır. Cerrahi tedavi gerektiren grupta TOS ve prolidaz değerleri en yüksek, NSKA hastaların TOS, OSİ ve prolidaz değerlerinin kontrol grubu ile aynı olduğu gözlemlenmiştir. Bu araştırmada elde edilen veriler acil poliklinik ve acil cerrahi hizmeti veren hekimlere daha sağlıklı hizmet vermek için kaynak oluşturabilir. Hekimlere bu grup hastaya yaklaşımda kaynak oluşturabilir. Bu hasta gruplarına tanı koymak için geçen zaman, hastalara gereksiz istenen tetkikler sonucu artan maliyet düşürülebilir, hastaların acilde kalma süreleri azaltılabilir. Hastaların uygun tedaviyi en kısa sürede almaları sağlanabilir. Karın ağrısı nedeniyle araştırılan hastalara tanı aşamasında hangi tetkiklerin isteneceği ve hangi sıra ile isteneceği konusunda halen bir görüş birlikteliği yoktur. Benzeri çalışmaların sayılarının artmasının, başvuru kılavuzlarının hazırlanmasına katkısı olabilir. Bu konuda daha ileri çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Lameris W, Randen A, Dijkdraaf M, Bossuyt P, Stoker J, Boermeester M. Optimization of diagnostic imaging use in patients with acute abdominal pain . Design and Rationale. BMC Emergency Medicine 2007; 7: 9.
2. Graff LG, Robinson D. Abdominal pain and emergency department evaluation. Emerg Med Clin North Am 2001; 19: 123-36.
3. Ozdogan M, Devay AO, Gurer A, Ersoy E, Devay SD, Kulacoglu H, Gundogdu H. Plasma total anti-oxidant capacity correlates inversely with the extent of acute appendicitis, a case control study. World Journal of Emergency Surgery 2006; 1: 1-4.
4. Anlı EB. Akut apandisit olgularında oksidatif stres ve prolidaz enzim aktivitelerinin araştırılması. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, 2009: 35-42.
5. Selman Y, Süha T, Özlem U. Analysis of patients presenting to the emergency department with acute abdominal pain. JAEM 2012; 11: 212-15.
6. Müjgan Ç, Ayşe C, Aylin A, İbrahim A. Acil cerrahi polikliniğine akut karın ağrısı ile başvuran hastaların çok yönlü prospektif değerlendirilmesi. Akademik Acil Tıp Dergisi 2010; 2: 75-82.
7. Bonica JJ. The Management of Pain. 2th ed. New York: Lea Febiger. 1990: 1283-1312.
8. Ertekin C, Güloğlu R, Taviloğlu K. Akut Karın Hastasına Yaklaşım: Acil Cerrahi. Nobel tıp kitabevi; 2009: 257-77.
9. Mchale PM, Lovecchio F. Narcotic analgesia in the acute abdomen a review of prospective trials. Eur J Emerg Med. 2001; 8(2): 131-36.
10. Andrew H, Mark M. Analgesia in undifferentiated abdominal pain. Can J Emerg Med 2007; 9(2): 114-17.
11. Shearman C, Finlayson C, Carter C. Disease of the gastrointestinal tract and liver. 1st ed. London: Churchill Livingstone; 2002: 505-31.
12. Jerry O, Reginal W, Wendell Y, Dirks J. Imaging for suspected apendicitis. American Academy of Family Physicians. 2005; 7: 71-78.
13. Fisher E, Nussbaum S, Chance T, Luchette F. Manifestation of gastrointestinal disease. Schwartz SI. Principles of Surgery. 7th ed. New York. McGrawhill. 1999: 1033-79.
14. Seisenger H, Fordtran S, Way L. Abdominal pain. 4th ed. Philadelphia. WBSaunders Company; 1989: 238-49.

15. Akçay MN, Yıldırğan Mİ, Çapan MY, Çelebi F, Kılıç A, Atamanalp S. CRP'nin akut karın tanısındaki yeri. *Ulusal Travma Dergisi*. 1996; 2 :100-3.
16. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem*. 2004; 37: 112-9.
17. Mock WL, Green PC. Mechanism and inhibition of prolidase. *J Biol Chem*, 1990; 265: 19606-19610.
18. Meister A. Glutathione ascorbate and cell cycle regulation. *FEBBS letters*. 1994: 1-4.
19. Cros CE, Halliwell B, Borish ET. Oxygen radicals and human disease. *J. Annals. Int.Med*. 1997; 107: 526-45.
20. Kılınc K, Kılınc A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp dergisi*. 2002; 33: 110-118.
21. Southorn P, Powis G. Free radical in medicine I. Chemical nature and biological reactions. *J. Mayo Clin*. 1988; 63: 381.
22. Stahl W, Sies H. Reactive oxygen species. *Research Monographs*, 2002: 1-2.
23. Brent JA, Rumack HH. Role of radicals in toxic hepatic injury. *J Clinical Toxicology*. 1993; 49: 481-93.
24. Dizdaroglu M. Chemical determination of free radical induced damage to DNA. *J Free Radical Biology & Medicine*. 1993; 61: 225-42.
25. Wetberg AB, Weitzman SA, Clarck EP. Effects on antioxidants induce: sister chromatid Exchange formation. *J Clin Invest*. 1985; 75: 35-37.
26. Slater TF. Free radical mechanism in tissue injury. *J Biochem*. 1984; 222: 1-15.
27. Sleep J, Wilson D, Simmons, R Gratzer W. Elasticity of the red cell membrane and its relation to hemolytic disorders: An optical tweezers study. *Biophysical Journal*, 1999; 77: 3085-3095.
28. Tappel AL, Dillard JC. Invivo lipid peroxidation measurement via exhaled pentane and protection by vitamin E. *J Federation proceedings*. 1981; 40: 174-178.
29. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkes of tissue damage. *J Clin Chem*. 1995; 42: 18-19.
30. Moncada S, Palmer RMJ, Higs EA: Nitric oxide. *Physiology, patophysiology and pharmacology*. *J Pharmacol Rewiev*. 1991; 43: 109-137.
31. Lancaster J. Nitric oxide, principles and actions. *Academic Press. Inc.California/USA*. 1990.
32. Marletta MA: Nitric oxide synthesis, structure and mechanism. *J Biol Chem*. 1993; 268: 123-125.

33. Myatt L, Rosenfield RB, Eis ALW. Nitro tyrosine residues in placenta: Evidence of peroxinitrite formation and action. *J of Hypertension*. 1996; 28: 488-493.
34. Kılınç A, Kılınç K. Nitrik Oksit Biyolojik Fonksiyonları ve Toksik Etkileri. Palme Yayıncılık, 1. Baskı, Ankara. 2003: 1-68.
35. Halliwell B. Oxygen is poisonous. The nature and medical importance of oxygen radicals. *J. Med Lab Sci*. 1984; 41: 157-162.
36. Canbaş A. Gıda Bilimi ve Teknolojisi. Ziraat Fakültesi Yayını No: 78. Ç.Ü. Adana. 1983.
37. Sies H, De Groot H. Role of reactive oxygen species in toxicity. *J Toxicology*. 1992; 64: 547-551.
38. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems. Source, biochemistry and role in human disease. *The American Journal of Medicine*. 1991; 91: 14-22.
39. Mead J. Free radical mechanisms in lipid peroxidation and prostaglandins. Free radical in molecular biology. *J of Aging and disease*. 1984; 65: 53-66.
40. Notarjan D. Oxidants and signal transduction in vascular endothelium. *J Clin Med*. 1994; 125: 26-37.
41. Reubset FAG, Veerkamp JH, Tirijbels JMF, Momens LA. Total and peroxisomal oxidation of various saturated and unsaturated fatty acid in rat liver. *Lipids J*. 1992; 24: 11-16.
42. Arıcioglu A: Serbest oksijen radikalleri ve hücre hasarı. 1994; 2: 139-242.
43. Stevenson MA, Pollock SS, Coleman CN, Calderwood SK. X- irradiation, phorbol esters and H₂O₂ stimulate mitogen activated protein kinase activity in NIH-3T3 cells through the formation of reactive oxygen intermediates. *J. Cancer Res*. 1994; 54: 12-15.
44. Çakır H. Bel fıtığı olan hastalarda prolidaz aktivitesinin belirlenmesi ve oksidatif stres indeksi ile karşılaştırılması. Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi. Şanlıurfa. 2010.
45. Dotan Y, Lichtenberg D, Pinchuk I. Lipid peroxidation cannot be used as a universal criteria of oxidative stress. *Prog Lipid Res* 2004; 43: 200-27.
46. Ball S, Weindruch R, Walford L. Antioxidants and immun response. *J Free radicals, Aging and Degenerative Diseases*. 1986; 57: 427-56.
47. Niki E. Antioxidants in relation to lipid peroxidation chemistry and physics of lipids. 1987; 44: 227-53.
48. Burton G, Traber M. Antioxidants action of carotenoid. *J Nutr*. 1989; 119: 109-111.
49. Braugher M, Chose L, Pregenter F. Oxidation of ferrous iron during peroxidation of lipid substrates. *J Biochemica and Biohysica Acta*. 1987; 921: 457-64.

50. Ripine JE, Bast A. Oxidative stres in chronic obstructive pulmorary disease. *J of Crit Care Med.* 1997; 156: 341-47.
51. Reznick AZ, Cross CE, Hu ML, Suzuki YJ. Modification of plasma proteins by cigarette smoke as measured by protein carbonyl formation. *J Clin Biochem.* 1992; 286: 607-611.
52. Mccord JM. Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem.* 1993; 26: 351-357.
53. Wu D, Cederbaum AI. Alcohol, oksidative stres and free radical damage. *Alcohol Research & Health.* 2003; 27: 277-284.
54. Dizdaroğlu M. Mechansms of oxidative DNA damage; lesion and their measurement. *Free Radical Biology and Medicine.* 2002: 1102-1115.
55. Cirak B, İnci S, Palaoğlu S. Lipit peroxidation in cerebral tumors. *Clinica ChimicaActa.* 2003; 327: 103-7.
56. Tsutsui H, Kinugawa S, Matsushima S. Oxidative stress and heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2011; 301: 2181-90.
57. Sawyer DB. Oxidative stress in heart failure: what are we missing ? . *Am J Med Sci.* 2011; 342: 120-4.
58. Steinberg SF. Oxidative stress and sarcomeric proteins. *Circ Res.* 2013; 112: 393-405.
59. Seven A, İnci F, Civelek S, Burçak G, İnci E, Korkut N: Larenks kanserli olgularda lipid peroksidasyon ve antioksidan statü göstergelerinin dokuda incelenmesi. *Türk ORL arşivi.* 1998; 36: 33-6.
60. Ceballos L, Triver JM, Nicole A. Age corralated modifications of cupper-zinc super oxide dismutase and glutatione related enzyme activies in human erythrocytes. *J Clin Chem.* 1992; 36: 66-70.
61. Smith EL, Hill RL, Lehmal R: Principle of biochemistry. 7th ed. McBraw Hill inc. USA. 1993: 382-383.
62. Murray RK, Graner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harpers Biochemistry.* 2nd edition. Typo. 1991.
63. Kremer TM, Rinne ML, Xu Y. Protection of pulmonary epithelial cells from oxidative stress by adenine glycosylase. *Respiratory Research.* 2004; 5: 16.
64. Yao JK, Reddy R, Mc Elhinny LG. Reduced status of plasma total antioxidant capacity in schizophrenia. *Schizophr Res;* 1998; 31: 1-8.
65. Ghiselli A, Serafini M, Natella F. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: Critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med.* 2000; 29: 1106-14.
66. Cao G, Prior RL. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clin Chem* 1998; 44: 1309-15.

67. Harma M, Erel O. Oxidative stress in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2005; 192: 656-57.
68. Harma M, Erel O. Measurement of the total antioxidant response in preeclampsia with a novel automated method. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol;* 2005; 118: 47-51.
69. Milligan A, Brown G. Prolidase deficiency: a Case Report and Literature Review. *Brit J.Dermatol.* 1989; 121: 405-9.
70. Dolenga M, Hechtman P. Prolidase deficiency in cultured human fibroblasts. *Biochemical Pathology and Iminodipeptid Enhanced Growth. Pediatr Res.* 1992; 32: 479-82.
71. Davis NC, Smith EL. Purification and some properties of prolidase of swine kidney. *J Biol Chem.* 1957; 244: 261-275.
72. Boright A, Scriver CR. Prolidase Deficiency. *Biochemical Classification of Alleles. Am J Hum Genet.* 1989; 44: 731-40.
73. Alparslan S, Gültepe M. Serum Prolidase Activity, Its value as an indicator of collagen accumulation in chronic liver diseases. *Biyokimya Dergisi.* 1993;18:1-9.
74. Phang JM, Yeh GC, Scriver. Disorders of proline and hydroxyproline metabolism, in the *Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease.* 7th ed. Mc Graw Hill, Montreal, 1995; 1125-41.
75. Mock WL, Zhuang H. Chemical modification locates guanidinylyl and carboxylate groups within the active site of prolidase. *Biochem biophys Res Com.* 1991; 180: 401-6.
76. Endo F, Tanoue A. Primary structure and gene localization of human prolidase. *J BiolChem.* 1989; 264: 4476-81.
77. Endo F, Tanoue A. Structural organization of the gene for human prolidase and demonstration of a partial gene deletion in a patient with prolidase deficiency. *J. BiolChem.* 1989; 265: 11306-11.
78. Dannenberg AL, Garrison RJ, Kannel WB. Incidence of hypertension in the Framingham Study. *Am J Public Health.* 1988; 78: 676-9.
79. Cosson C, Myara I. Only prolidase I activity is present in human plasma. *Int J Biochem.* 1992; 24: 427-32.
80. Myara I, Charpentier C, Lemonnier A. Optimal conditions for prolidase assay by localization of human prolidase. *J Biol Chem,* 1989; 264: 4476-81.
81. Myara I. Effect of long preincubation on the two forms of human erythrocyte prolidase. *Clin Chim Acta.* 1987; 170: 263-70.
82. Cheng TC, DeFrank JJ, Rastogi VK, Alteromonas prolidase for organophosphorus G agent decontamination. *Chem Biol Interact.* 1999; 119-120.

83. Bielawska A, Bielawski K, Chrzanowski K. Prolidase activated prodrug for cancer chemotherapy cytotoxic activity of proline analogue of chlorambucil in breast cancer. *Farmaco*. 2000; 55: 736-41.
84. Myara I, Cosson C, Moatti N, Lemonnier A. Human kidney prolidase purification, preincubation properties and immunological reactivity. *Int. J Biochem*. 1994; 26: 207-14.
85. Radzicka A, Wolfenden R. Analogues of intermediates in the action of pig kidney prolidase. *Biochemistry*. 1991; 30: 4160-64.
86. Persson B, Flinta C, Vonheijne G. A new method for predicting signal sequence cleavage sites. *Nucleic Acids Res*. 1986; 14: 4683-90.
87. Yareğir G. Temel Biyokimya I. 3. Baskı. Çukurova Üniversitesi Tıp fakültesi Yayınları. Adana. 1988: 152-53.
88. Stanbury JB, Scriver CR. Disorder of proline and hydroxyproline metabolism. In the metabolic basis of inherited disease. 4th ed. 1978; 336-361.
89. Myara I. Plasma prolidase activity. A possible index of collagen catabolism in chronic liver disease. *Clin Chem*. 1984; 30: 211-15.
90. Berardesca E, Fidell D. Blood transfusions in the therapy of case of prolidase deficiency. *Brit J Dermatol*. 1992; 126: 193-95.
91. Atara J, Umemura S, Yamamoto Y, Hagiya M, Nohara N. Prolidase deficiency: Its dermatological manifestations and some additional biochemical studies. *Arch Dermatol* 1979; 115:62.
92. Endo F, Matsuda I: Human erythrocyte prolidase and prolidase deficiency. *Pediatr Res*, 1982; 16: 227-31.
93. Kodama H, Ohhashi T. Characteristics and partial purification of prolidase and deficiency. Effect of glycyl proline on the degradation of newly synthesized collagen. *Clin physiol Biochem*. 1989; 7: 128-136.
94. Powell GF, Rasco MA, Maniscalco RM. A prolidase deficiency in man with iminopeptiduria. *Metabolism* 1974; 23: 505.
95. Butterworth J, Priestman DA. Presence in human cells and tissues of two prolidasases and their alteration in prolidase deficiency. *J Inher Metab Dis* 1985; 8: 193.
96. Gürdal F, Genç S, Yalçın Ö, Gültepe M. The presence of prolidase activity in amniotic fluid and its evaluation as a maturity test. *Biol Neonate* 1995; 67: 34.
97. Mehmet O, Ali D, Ahmet G, Eren E, Seda D, Hakan K, Haldun G. Plasma total anti oxidant capacity correlates inversely with the extent of acute appendicitis. *World Journal of Emergency Surgery*. Epub.2006; 1:6 doi:10.1186/1749-7922-1-6 .
99. Söner Y, Gürdöl F, Tuğrul Y, Bekpınar S. Prolidase I activity in liver tissue: effects of ethanol and selenium. *Res Commun Alcohol Subs Abuse* 1995; 16: 125.

100. Oono T, Fujiwara Y, Yoshioka T, Arata J. Prolidase activity in chronic wound and blister fluids. *J Dermatol.* 1997; 24 : 626-29.
101. Altindag O, Erel O, Aksoy N, Selek S, Celik H, Karaoglanoglu M. Increased oxidative stress and its relation with collagen metabolism in knee osteoarthritis. *Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord.* 2013; 6: 29-33.
102. Kaleli S, Akaya A, Akdogan M, Gültekin F. The Effects of different treatments on prolidase and antioxidant enzyme activities in patients with bronchial asthma. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 2006; 22: 35-39.
103. Celik H, Celik N, Kocyigit A, Dikilitas M. The relationship between plasma aluminum content, lymphocyte DNA damage, and oxidative status in persons using aluminum containers and utensils daily. *Clin Biochem.* 2012; 45: 1629-33.
104. Demirbag R, Yıldız A, Gur M, Yilmaz R, Elçi K, Aksoy N. Serum prolidase activity in patients with hypertension and its relation with left ventricular hypertrophy. *Clinical Biochemistry.* 2007; 40: 1020-1025.
105. Horoz M, Aslan M, Bolukbas FF, Bolukbas C, Nazligul Y, Celik H, Aksoy N. Serum prolidase enzyme activity and its relation to histopathological findings in patients with non-alcoholic steato hepatitis. *J Clin Lab Anal.* 2010;24: 207-11.
106. Yıldız Ş, Ay H, Elbüken ME, Caymaz O. Hiperbarik oksijen ile tedavi edilen olgularda prolidaz enzim seviyeleri. *Gülhane Tıp Derg.* 2004; 46 : 144-48.
107. Lenz AG, Hinze-Heyn H, Schneider A. Influence of inflammatory mechanisms on the redox balance in interstitial lung diseases. *Respir Med.* 2004; 98: 737-45.
108. Gencer M, Aksoy N, Dagli E, Uzer E, Aksoy Ş, Selek S, Celik H, Cakir H. *Journal of Clinical Laboratory Analysis.* 2011; 25: 8-13.
109. Yusuf Sezen, Memduh Bas, Halil Altıparmak, Ali Yıldız, Hakan Büyükhatipoğlu, Omer Faruk Dag, Zekeriya Kaya, Nurten Aksoy. Serum prolidase activity in idiopathic and ischemic cardiomyopathy patients. *Journal of Clinical Laboratory Analysis.* 2010; 24: 213-18.
110. Akyıldız H, Akcan A, Oztürk A, Sozuer E, Kucuk C, Yucel A. D-dimer as a predictor of the need for laparotomy in patients with unclear nontraumatic acute abdomen. A preliminary study .2008; 68: 612-7.
111. Stefanidis D, Richardson WS, Chang L, Earle B, Fanelli RD. The role of diagnostic laparoscopy for acute abdominal conditions, an evidence based review. *Surg Endosc.* 2009; 23: 16-23.
112. Bavunoğlu I, Şirin F. Akut cerrahi karını taklit eden cerrahi dışı nedenler. *Türkiye Klinikleri Cerrahi Tıp Bilimleri.* 2005; 10: 30-35.
113. Özgüç H, Çakın N, Duman U. Akut nonspesifik karın ağrılı olguların bir yıllık prognozları, semptom ve bulguların tanısal doğruluğu. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* 2008; 14: 118-24.

114. Weiner JB, Nagurney JT, Brown DF. Duration of symptoms and follow up patterns of patients discharged from the emergency department after presenting with abdominal or flank pain. *Family Practice*. 2004; 21: 314-16.

115. Lukens TW, Emerman C, Effron D. The natural history and clinical findings in undifferentiated abdominal pain. *Ann Emerg Med* 1993; 22: 690-96.

116. Driscoll PA, Vincent CA, Servant CJ. Use of advisers in the diagnosis and management of abdominal pain in accident and emergency departments. *Br J Surg*. 1988;75: 1173-5.

117. Sox CM, Burstin HR, Orav EJ. The effect of supervision of residents on quality of care in five university affiliated emergency departments. *Acad Med* 1998; 73: 776-82.

118. Van Geloven AA, Biesheuvel TH, Luitse JS. Hospital admission of patients aged over 80 with acute abdominal complaints. *Eur J Surg* 2000; 166: 866-71.

119. Kizer KW, Vassar MJ. Emergency department diagnosis of abdominal disorders in the elderly. *Am J Emerg Med* 1998; 16: 357-62.