

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**FEMUR VE TİBİA KIRIKLARINDA PROLİDAZ
ENZİM AKTİVİTESİ VE OKSİDATİF STRES
İNDEKSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Selma AĞLAMIŞ

**Danışman
Prof.Dr. Nurten AKSOY**

ŞANLIURFA / 2011

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**FEMUR VE TİBİA KIRIKLARINDA PROLİDAZ
ENZİM AKTİVİTESİ VE OKSİDATİF STRES
İNDEKSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Selma AĞLAMIŞ

**Danışman
Prof.Dr. Nurten AKSOY**


Bu tez, Harran Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı tarafından 1125 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA / 2011

HARRAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Selma AĞLAMİŞ'in hazırladığı "Femur Ve Tibia Kırıklarında Prolidaz Enzim Aktivitesi Ve Oksidatif Stres İndeksinin Değerlendirilmesi" konulu çalışma, 16/09/2011 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek Biyokimya Anabilim Dalında **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Abdürrahim KOCYİĞİT
Harran Üniversitesi
BAŞKAN

Yrd. Doç. Dr. M. Akif ALTAY
Harran Üniversitesi
ÜYE




Yrd. Doç. Dr. Şahbettin SELEK
Harran Üniversitesi
ÜYE

07.10/2011

ONAY
Prof. Dr. Nurten AKSOY
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, hoşgörü ve sabırla her konuda beni destekleyen tez danışmanım değerli hocam sayın Prof.Dr. Nurten AKSOY'a,

Eğitim ve tez çalışmama bilgi birikimleri ile katkıda bulunan değerli hocalarım Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Abdurrahim KOÇYİĞİT'e, Yard. Doç. Dr. Şahbette SELEK ve Öğretim Görevlisi Hakim ÇELİK'e, Yard. Doç. Dr. Mehmet Akif ALTAY'a, çalışmalarım boyunca bilimsel, maddi, manevi ve sosyal desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli arkadaşım Öğretim Görevlisi Abdullah TAŞKIN'a en içten dileklerle teşekkürü bir borç bilirim.

Bu yolda ilk adımı atmamda katkısı olan ve hiçbir zaman manevi desteğini eksik etmeyen değerli arkadaşım Sedat POLAT'a, dostluk, arkadaşlık ve dayanışma içinde, özveri ve iyi niyetle birlikte çalıştığımız, Araştırma Görevlileri Selçuk AKIN, Murat ÜSTÜNEL, Hasan BİLİNÇ ve Harran Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi tüm biyokimya laboratuvarı çalışanlarına sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Desteklerini her zaman yanımda hissettiğim, ortamda olmasalar dahi beni varlıkları ile cesaretlendiren, mutlu eden, tüm acılarımı ve sevinçlerimi paylaştığım, bugüne kadar karşılaştığım en sevilmeye layık insanlar arasında olan başta kızkardeşim Zeynep AĞLAMIŞ'a ve sevgili aileme sonsuz teşekkür ediyorum.

Bilim sonsuz bir yolculuk gibidir... Bu yolda yürürken; Bazen "Su" olmak lazım, Sessiz sakin.! Bazen "Sel" olmak lazım , öfkeli ve hırçın.! Bazen "Mum" alevi olmak lazım, sabırla tükenmeyi bekleyen..!

Selma AĞLAMIŞ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
TABLolar DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	viii
KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Femur Ve Tibia Fraktürü (Kırığı)	3
2.1.1. Femur Ve Tibianın Yapısal Özellikleri.....	4
2.1.1.1. Anatomi.....	4
2.1.1.2. Nörovasküler Yapıları.....	6
2.1.2. Femur Ve Tibia Kırığında Etyoloji	6
2.1.3. Femur ve Tibia Kırığında Tanı	7
2.1.3.1. Bulgu ve semptomlar	7
2.1.3.2. Radyografik değerlendirme.....	8
2.1.4. Femur ve Tibia Kırığında Sınıflandırma.....	8
2.1.4.1. AO/ASIF tibia sınıflandırması	8
2.1.4.2. AO/OTA Morfoloji Femur Sınıflandırması	9
2.1.5. Femur Ve Tibia Kırığında Tedavi.....	10
2.1.5.1. Konservatif Tedavi.....	11
2.1.5.2. Traksiyon	11
2.1.5.3. Cerrahi Tedavi.....	12
2.1.6. Femur ve Tibia Kırığında Komplikasyonlar	12
2.1.6.1. Derin Ven Trombozu	12
2.1.6.2. Enfeksiyon	12
2.1.6.3. Dekübitis Yaraları	12
2.1.6.4. Kısıklık	13

2.1.6.5. Kaynamama.....	13
2.2. Prolidaz	13
2.2.1. Prolidazın Tanımı.....	13
2.2.2. Prolin	13
2.2.3. Prolidazın Yapısı.....	16
2.2.4. Prolidazın İzoenzimleri	16
2.2.5. Prolidaz İnhibitörleri ve Aktivatörleri.....	17
2.2.6. Prolidazın Kollajen Yapım ve Yıkımında Önemi.....	17
2.2.7. Prolidaz'ın Hastalıklarla İlişkisi.....	20
2.3. OKSİDAN-ANTIÖKSİDAN DENGE	20
2.3.1. Serbest radikaller.....	21
2.3.1.1. Başlıca serbest radikal üretim kaynakları	22
2.3.1.2.Reaktif oksijen türleri.....	26
2.3.1.3.Reaktif Nitrojen Türleri (NO, NO ₂ , NO ⁺ , NO ⁻).....	30
2.3.1.4.Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri	31
2.3.2. Antioksidan Savunma Sistemleri	35
2.3.2.1. Enzimatik Antioksidanlar	36
2.3.2.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	40
2.3.3. Total oksidatif status/seviye (TOS).....	43
2.3.4. Total antioksidan status/seviye (TAS)	44
2.3.5. Oksidatif stres indeksi (OSI)	44
3) MATERYAL VE METOD.....	45
3.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması	45
3.2. Kullanılan Araç Gereçler	45
3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	46
3.4.Toplam Antioksidan Status (TAS) Düzeyi Ölçümü	46
3.5. Toplam Oksidan Status (TOS) Düzeyi Ölçümü.....	47
3.6 Oksidatif Stres İndeksi Hesaplanması.....	47
3.7. Prolidaz Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi.....	47
3.7.1. Serum Prolidaz Aktivitesi Ölçüm Yöntemi (Optimize Chinard Metodu).....	48
3.7.2. Prolidaz Aktivitesi Ölçümünde Kullanılan Ayraçlar	48
3.7.3. Prolidaz Aktivitesinin Hesaplanması	49
3.8. İstatistiksel Analiz.....	50
4) BULGULAR.....	51
5) TARTIŞMA ve SONUÇ.....	59
KAYNAKLAR	67

EKLER.....	86
ÖZGEÇMİŞ	87

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Fagositlerin ürettiği reaktif oksidan ürünler	24
Tablo 2. Oksijen türevi bileşikler	27
Tablo 3. Tibia Hasta ve Tibia Kontrol gruplarının Demografik ve Karakteristik bilgilerinin Karşılaştırılması	51
Tablo 4. Femur Hasta ve Femur Kontrol gruplarının Demografik ve Karakteristik bilgilerinin Karşılaştırılması	51
Tablo 5. Tibia kırığı hastaları ve kontrol grubunun oksidan – antioksidan ve Prolidaz Enzim aktiviteleri	52
Tablo 6. Femur kırığı hastaları ve kontrol grubunun oksidan – antioksidan ve Prolidaz Enzim aktiviteleri	53
Tablo 7. Tibia preop grubunda Prolidaz, Total Antioksidan Seviye, Total Oksidan Seviye ve OSI arasındaki korelasyon tablosu	53
Tablo 8. Tibia post-op grubunda Prolidaz, Total Antioksidan Seviye, Total Oksidan Seviye ve OSI arasındaki korelasyon tablosu,	53
Tablo 9. Tibia kontrol grubunda Prolidaz, Total Antioksidan Seviye, Total Oksidan Seviye ve OSI arasındaki korelasyon tablosu,	54
Tablo 10. Femur pre-op grubunda Prolidaz, Total Antioksidan Seviye, Total Oksidan Seviye ve OSI arasındaki korelasyon tablosu,	54
Tablo 11. Femur post-op grubunda Prolidaz, Total Antioksidan Seviye, Total Oksidan Seviye ve OSI arasındaki korelasyon tablosu,	54
Tablo 12. Femur kontrol grubunda Prolidaz, Total Antioksidan Seviye, Total Oksidan Seviye ve OSI arasındaki korelasyon tablosu,	54

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Femurun Anatomik Yapısı.....	5
Şekil 2. Tibianın Anatomik Yapısı	5
Şekil 3. Tibia proksimal bölge kırıklarının AO/ASIF sınıflandırması	9
Şekil 4. AO/OTA Morfoloji Femur Sınıflandırması.....	10
Şekil 5. Prolin ve diğer amino asidin genel yapısal görünümü.....	14
Şekil 6. Prolinin metabolik yollarla bağlantısı	16
Şekil 7. Kollajen yıkımında prolidaz ve prolinazın yeri	18
Şekil 8. Serbest Oksijen Radikalinde Hücre Hasarı	31
Şekil 9. Normal Metabolizma	32
Şekil 10. Glutatyon Redüktaz	39
Şekil 11. Oksidatif Stres.....	43
Şekil 12. Tibia kırığı preop ve postop hastaları ile tibia kontrol grubunda Total Oksidatif Stres kapasitesi arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları.....	55
Şekil 13. Tibia kırığı preop ve postop hastaları ile tibia kontrol grubunda Total Antioksidan Seviye seviyesi arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları	55
Şekil 14. Tibia kırığı preop ve postop hastaları ile tibia kontrol grubunda Oksidatif Stres İndeksi arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları.....	56
Şekil 15. Tibia kırığı preop ve postop hastaları ile tibia kontrol grubunda Prolidaz Enzim Aktivitesi arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları	56
Şekil 16. Femur kırığı preop ve postop hastaları ile femur kontrol grubunda Total Oksidatif Stres arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları.....	57
Şekil 17. Femur kırığı preop ve postop hastaları ile femur kontrol grubunda Total Antioksidan Seviye arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları	57
Şekil 18. Femur kırığı preop ve postop hastaları ile femur kontrol grubunda Oksidatif Stres indeksi arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları	58
Şekil 19. Femur kırığı preop ve postop hastaları ile femur kontrol grubunda Prolidaz Enzim Aktivitesi arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları	58

ÖZET

Son yüzyıldaki tüm bilimsel alanlarda gözlenen gelişme ve ilerlemelerin sonucu olarak, insanların yaşam süreleri uzamış ve sosyal standartlarında artma meydana gelmiştir. İleri yaş insan grubunda kemik kalitesinin azalmasına bağlı olarak, femur kırığı daha basit travmalarla ortaya çıkabilmektedir.

Büyük ağırlık taşıyan eklemi ilgilendiren tibia üst uç kırıkları ise sıklıkla fonksiyonel bozuklukla sonuçlanan ciddi hasarlanmalara yol açmaktadır. Normal diz fonksiyonunu korumak için eklem bütünlüğünü devam ettirmek, normal mekanik aksı korumak, eklem stabilitesi ve tam hareket aralığını sağlamak gerekir.

Prolidaz enzimi (EC 3.4.13.9), protein katabolizmasının son basamaklarında açığa çıkan C-terminalinde prolin ve hidroksiprolin amino asitleri ihtiva eden dipeptidlerin (X-proline or X-Hydroxyproline) yıkımından sorumludur. Prolidaz enzimi ile açığa çıkan prolin ve hidroksiprolin amino asitleri, kollajen dokusunun yaklaşık %25'ini oluşturmakta ve bağ dokusunun devamlılığının sağlanması için gerekmektedir.

Oksidatif stres; vücudumuzda mevcut oksidatif-antioksidatif dengenin oksidanlar lehine bozulması sonucu meydana gelen patolojik durumdur. Oksidatif stresin toplam değeri; total oksidatif status/seviye (TOS) olarak ifade edilir. Bu fenomen, aşırı reaktif oksijen ve/veya nitrojen türlerinin üretimi veya antioksidan tampon mekanizmasının eksikliği sonucu oluşur. Normal koşullarda organizma, endojen ve eksojen serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan savunma sistemine sahiptir ve total antioksidan kapasite veya seviye (TAK, TAS) olarak ifade edilir.

Hasta ve kontrol grubumuzun kanlarının toplam oksidatif ve antioksidatif durumları tam otomatik kolorimetrik EREL yöntemiyle, prolidaz aktiviteleri modifiye Chinard metodu kullanılarak manuel olarak ölçüldü. İstatistiksel analizler SPSS Versiyon 11.5 (SPSS Inc. Chicago USA) bilgisayar programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Grupların ortalamaları arasındaki farkın önemi One-Way ANOVA testi ile karşılaştırılmıştır. Ayrıca parametreler arası korelasyon Pearson korelasyon testi ile yapılmıştır.

Bulgularımız ışığında, femur preop dönemde prolidaz enzim aktivitesi azalmışken, tibia preop-postop ve femur postop hasta grubunda prolidaz enzim aktivitesinde anlamlı artış görülmüştür. Hasta grubunda kontrol grubuna göre oksidatif stres indeksi anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Hasta grubunda görülen artışın etiyopatogenezinde kırığın rol oynayabileceğini söylemek mümkün gözükmemektedir.

Anahtar Kelimeler: Oksidatif stres, antioksidan enzim, prolidaz enzim aktivitesi, femur kırığı, tibia kırığı.

ABSTRACT

As a result of progress and developments observed in all scientific fields in the last century, life time duration of humankind became longer and their social standards has been improved. In the group of people having advanced age femoral fractures can occur because of simple traumas due to the reduction in bone quality.

Fractures in the upper end of the weight-bearing joint, tibia often results in serious damages which leads to functional disorder. In order to maintain normal function of knee, the integrity of the knee joint and normal mechanical axis should be maintained, joint stability, and full range of motion should be provided.

Prolidase enzyme (EC 3.4.13.9) has a responsibility in destruction of dipeptides (X-proline or X-Hydroxyproline), which contains proline and hydroxyproline in its C-terminal which is being formed in the last steps of protein catabolism. Proline and hydroxyproline amino acids which are released by Prolidase enzyme, constitutes approximately 25% of the collagen tissue and they are essential for continuity of connective tissue.

Oxidative stress is a pathological condition which is caused by degradation of oxidative-antioxidative balance of the body in favor of oxidants. The total value of oxidative stress can be expressed as total oxidative status (TOS). This phenomenon is the result of production of extremely reactive oxygen and/or nitrogen types or lack of the antioxidant buffer mechanism. Under normal circumstances, the organism has a complex antioxidant defense system which fights against oxidative stress which is caused by endogen and exogen free radicals, this defense system can be determined by total antioxidant capacity or status parameters (TAC or TAS).

TOS and TAS levels of patients' and control groups were determined by fully automatic colorimetric EREL method and prolidase enzyme activity by modified Chinard method manually. Statistical analyses was carried out using a computer program (SPSS version 11.5 which is a product of SPSS Inc., Chicago USA). The importance of mean difference between groups has been compared by applying "One-Way ANOVA" test. The correlation analyses were performed with Pearson correlation test.

According to our results, a significant increase has been detected in enzyme activity of Prolidase in the patients' group. Oxidative Stress Index (OSI) was found significantly higher in the patients' group compared with the control group. It is possible to say the fracture plays a role in the etiopathogenesis of this increase in the patients' group.

Keywords: Oxidative stress, antioxidant enzyme, prolidaz enzyme activity, femoral fracture, tibia fracture.

KISALTMALAR

AO/ASIF	: The Association for the Study of Internal Fixation
ATP	: Adenozin Trifosfat
BMI	: Body Mass Index/ Beden kütle indeksi
DNA	: Deoksiribonükleik asit
ETZ	: Elektron transport sistemi
GSH	: Glutasyon
Gly-pro	: Glisil-prolin
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HOCL	:Hipoklorid
kDa	: Kilodalton
LOOH	: Lipid hidroperoksit
LOO [•]	: Lipid peroksit radikali
MRI	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MDA	: Malondialdehit
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NO ₂	: Nitrik oksit
NO ₂ ⁻	: Nitrit
NO ₃ ⁻	: Nitrat
OSI	: Oksidatif stres indeksi
O ₂	: Oksijen
O ₂ ^{↑↓}	: Singlet Oksijen
O ₃	: Ozon
ONOO [•]	: Peroksinitrit
O ₂ ⁻	: Süperoksit radikali
OH [•]	: Hidroksil radikali

RNA	: Ribonükleik asit
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
TAK/TAS	: Total antioksidan kapasite veya seviye
TOS	: Total oksitatif status/seviye
XOD	: Ksantin oksidaz
XDH	: Ksantin dehidrogenaz
Fe ⁺²	: Demir
Co ⁺²	: Kobalt
Ni ⁺²	: Nikel
Cu ⁺²	: Bakır
Zn ⁺²	: Çinko
Ag ⁺¹	: Gümüş

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Son yüzyıldaki tüm bilimsel alanlarda gözlenen gelişme ve ilerlemelerin sonucu olarak, insanların yaşam süreleri uzamış ve sosyal standartlarında artma meydana gelmiştir. İleri yaş insan grubunda kemik kalitesinin azalmasına bağlı olarak, femur kırığı daha basit travmalarla ortaya çıkabilmektedir.

Büyük ağırlık taşıyan eklemi ilgilendiren tibia üst uç kırıkları ise sıklıkla fonksiyonel bozuklukla sonuçlanan ciddi hasarlanmalara yol açmaktadır. Normal diz fonksiyonunu korumak için eklem bütünlüğünü devam ettirmek, normal mekanik aksı korumak, eklem stabilitesi ve tam hareket aralığını sağlamak gerekir. Tibia plato kırığı tüm vücut ağırlığını taşıyan alt ekstremitede bulunması, eklem içi bir kırık olması, dolayısı ile sadece kemik yapıyı değil eklem kıkırdağı, menisküsler, bağlar gibi yapıları da ilgilendirmesi ve ileride gelişebilecek dejeneratif osteoartrit riski nedeni ile büyük önem taşımaktadır. Böyle bir kırıkta amaç eklem hareketlerinin tekrar kazanılması, ağrısız ve stabil bir diz eklemine tekrar elde edilmesidir.

Prolidaz enzimi (EC 3.4.13.9) protein katabolizmasında son basamakta oluşan prolin ve hidroksprolini C-terminalinde bulunduran dipeptidlerin (X-Prolin veya X-Hidroksprolin) yıkımında görevlidir. Bu enzimin aktivitesinin eksikliği durumu, oldukça nadir karşılaşılan otozomal resesif geçişli kalıtsal bir hastalığa yol açmaktadır. Hastalığın semptomları çok değişken olup kronik tekrarlayan enfeksiyonlar, mental retardasyon, splenomegali ve cilt lezyonları görülebilmektedir. Prolidaz enzimi ile açığa çıkan prolin ve hidroksprolin amino asitleri, kollajen dokusunun yaklaşık %25'ini oluşturmakta ve bağ dokusunun devamlılığının sağlanması için ise gereklidirler. Prolidaz enzimi; intestinal mukoza, böbrek, karaciğer, beyin, kalp, uterus, timus, eritrositler, lökositler, fibroblastlar ve plazma gibi pekçok dokuda bulunmaktadır. Geniş doku dağılımı olması prolidaz enzim aktivitesindeki değişimlerin pek çok hastalığın gelişiminde ve sonucunda önem

kazanabileceğini düşündürmektedir. Prolidaz, kollajen metabolizmasında, matriks yeniden-yapılanmasında ve hücre büyümesinde önemli rol oynar.

Oksidatif stres; vücudumuzda mevcut oksidatif-antioksidatif dengenin oksidanlar lehine bozulması sonucu meydana gelen patolojik durumdur. Oksidatif stresin toplam değeri; total oksidatif 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 lipit, protein ve DNA (Deoksiribonükleik asit) gibi biyomoleküllerine zarar verir. Damar endoteli de bu durumdan kısmen etkilenmektedir. Normal koşullarda organizma, endojen ve eksojen serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan savunma sistemine sahiptir ve total antioksidan kapasite veya seviye (TAK, TAS) parametreleri ile tespit edilebilir.

Bu çalışmamızda femur ve tibia kırığı olgularında prolidaz enzim aktivitesini, TAS ve TOS değerleri ile oksidatif stres indeksini (OSİ) değerlendireceğiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Femur Ve Tibia Fraktürü (Kırığı)

Femur kırıkları daha çok 65 yaş üstü insanlarda görülür. Ortalama yaş 66-76 yılları arasındadır (27-30).

Değişik serilerde, kadınlarda erkeklere oranla 2 ile 8 kat daha fazla görüldüğü bildirilmiştir. Kadınlarda sık görülmesinin nedenleri arasında metabolik kemik hastalıklarına daha sık maruz kalmaları, pelvis yapısının daha geniş ve femur boyun-cisim açısının daha dar olması, daha uzun yaşamaları gösterilmiştir. Kemik mineral yoğunluğu 0,6gr/cm altında olan kadınların % 16.6' sında, intertrokanterik kırık oluşmaktadır. Femur boyun kırıklarından 4 kat daha sık görülmektedirler (15-20).

Femur vücudun en büyük ve alt ekstremitenin major yük taşıyan kemiği olması nedeniyle kırıkları önemli morbiditeye sebep olmaktadır. Ayrıca sıklıkla yüksek enerjili travmaya bağlı olarak geliştiği için ek yaralanmalarla birlikte görülme olasılığı fazladır. Dolayısıyla izole femur cisim kırıklarında bile mortalite yüksektir (4).

Tibia uzun kemikler içinde en sık kırılan kemiktir. Fakat bu kırıkların genelde basit kırık olması ve iyileşmeye meyillerinin fazla olması nedeniyle fazla önemslenmemektedir (158).

Büyük ağırlık taşıyan eklemi ilgilendiren tibia üst uç kırıkları, sıklıkla fonksiyonel bozuklukla sonuçlanan ciddi hasarlanmalardır. Proksimal tibia kırıkları iki alt başlıkta incelenebilir: eklemi ilgilendiren ve eklemi ilgilendirmeyen. Eklemi ilgilendiren kırıklar, tibia platosunun veya tibia kondilerinin kırıklarıdır, dizin hizalanmasını, stabilitesini ve hareketini etkiler. Eklemi ilgilendirmeyen tibia proksimal metafiz veya cisim kırıkları, dizin hizalanmasını, stabiliteyi ve gücü etkiler (159).

Tibia plato kırıklarının hasar spektrumu öylesine geniştir ki, her durumda başarılı olduğu kanıtlanmış bir tedavi yöntemi yoktur. Birçok yazar, özellikle yaşlılarda, düşük enerjili tibia plato kırıkları için, cerrahi olmayan ve cerrahi tedavi yöntemlerinin her ikisinin de kullanımıyla yeterli sonuçlar bildirmiştir. Diğer yandan, fizyolojik olarak genç hastalardaki orta ve yüksek enerji travmalarının sonucu olarak görülen tibia plato kırıkları genellikle cerrahi tedavi edilir (106,161).

2.1.1. Femur Ve Tibiannın Yapısal Özellikleri

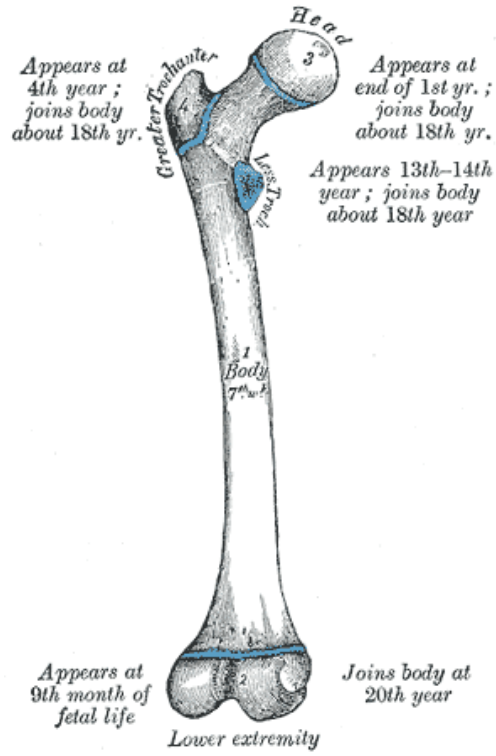
2.1.1.1. Anatomi

Femur vücuttaki en uzun ve en kalın kemiktir. Uzunluğu vücut uzunluğunun dörtte biri kadardır. Femur diafizi geniş bir medüller kavitesi olan kompakt silindirik yapıdadır. Uçlara doğru kompakt yapı incelik ve kavite trabeküler kemik ile dolmaya başlar (4,8).

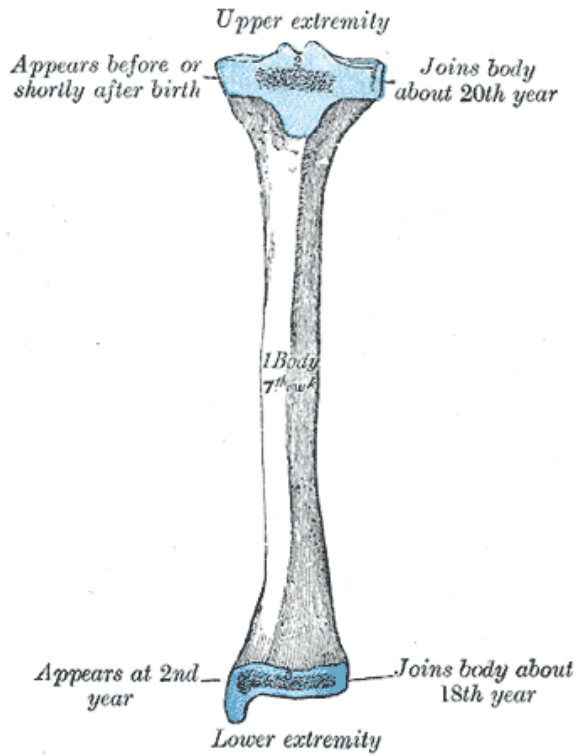
Distal femur, tibia ile eklem teşkil eden kondillerden oluşmaktadır. Tibia ve fibula diz ekleminde itibaren vertikal planda uzandığından femurun oblik yapısı, ayakta durma ve yürüme esnasında, ayağı vücut ağırlığı çizgisinde bulundurur (9).

Femur ayakta iken oblik görünümündedir. Uzun eksenini yukarıdan aşağıya ve dışyandan içyana doğrudur. Ayrıca konveksliği öne bakan hafif bir eğrilik gösterir. Kalça ve diz eklemleri arasında bulunur ve vücut hareketlerinin en önemli kısmını oluşturur. Femuru proksimal, cisim ve distal bölge olarak inceleyebiliriz.

Tibia, lateral taraftan bilek eklemini tamamlayan fibula ile birlikte kas tutunmasına hizmet eder ve vücudün ana ağırlık taşıyan kemiğidir. Ağırlığın % 85'ini taşır. Tibia cisminin üst ucu genişleyerek lateral ve medial kondilleri oluşturur. Proksimal eklem yüzeyi önden arkaya ve aşağıya doğru yaklaşık 10 derece eğimlidir. Platolar arasında, medial ve lateral tibial çıkıntıları birleştiren, menisküsler ve çapraz bağların tutunma bölgelerine sahip olan interkondiler eminensiya yerleşir. Subkondiler bölgedeki iki kemik çıkıntı, bağlar için tutunma noktalarını oluşturur (162).



Şekil 1. Femurun Anatomik Yapısı



Şekil 2. Tibianın Anatomik Yapısı

2.1.1.2. Nörovasküler Yapıları

Femurun kan dolaşımı tüm uzun kemiklerde olduğu gibi periostal, metafizial ve endosteal yolla gerçekleşir. Femoral arter; arteria iliaca eksternanın ligamentum inguinalis altından geçerek femoral üçgene girmesiyle bu ismi alır. Femoral üçgenin içinde verdiği en önemli dal A. Profunda femoristir ve inguinal ligamentin yaklaşık 4 cm altında dışa doğru ayrılır. A. Profunda femoris; femoral arterin önce dış, sonra arkasında biraz indikten sonra m. adduktor longusun arkasından uyluğun arka lojuna geçer, harmstring kaslarının derininde aşağıya doğru iner, burada 3-4 adet perforan dalını verir. En önemli iki dalı ise femoral üçgende verdiği a.sirkumfleksia femoris medialis ve lateralistir (8,12).Anterior grup kaslar femoral sinirden, posterior grup kaslar siyatik sinirden, adduktor grubu kaslar ise obturator sinirden innerve olurlar (11,12,14).

Tibia, cerrahi açıdan bacak dört kompartmana ayrılmıştır. Kompartman, kemik ve fasia gibi, belirli yapıları içeren dirençli sert sınırlarla tanımlanmaktadır. Anterior kompartman, tibia tarafından medialde, interosseaz zar tarafından posterorda, fibula tarafından sınırlandırılmıştır. Ayak bileği ve başparmak ekstansiyonundan sorumludur. Lateral kompartman longus kasları ve peroneal sinirin yüzeysel dalını içerir, bileğin fleksiyonundan ve ayağın eversiyonundan sorumludur. Yüzeysel posterior kompartman, popliteus kaslarını ve sural siniri içerir, ayak ve ayak bileğinin fleksiyonundan sorumludur. Derin posterior kompartmanı, flexor digitorum longus kaslarını, peroneal arterleri ve tibial siniri içerir (162).

2.1.2. Femur Ve Tibia Kırığında Etyoloji

Klasik olarak büyük trokanter ile küçük trokanter arasındaki bölgede meydana gelen kırıklar, intertrokanterik femur kırıkları olarak adlandırılırlar (16,17).

Femur ve tibia kırıkları direkt ve/veya indirekt kuvvetlerin etkisi sonucu oluşurlar (162). Direkt kuvvetler basit düşme veya yüksekte düşme sonucu ya femur aksı boyunca etkileyerek ya da büyük trokanter üzerine doğrudan etki yaparak kırığa sebebiyet verirler (16).

İndirekt kuvvetler, m. iliopsoas'ın küçük trokanter veya abduktor kasların büyük tronkanter üzerine uyguladıkları ani çekme kuvvetleri etkisinde ya da uyuk abduksiyonda iken düşme sonucu kansellöz yapıdaki bölgenin proksimal ve distal kortikal bölgeler arasında ezilmesine sebebiyet verirler (16,17,31).

Kemiğin dayanıklılığını azaltan tümör, metabolik hastalıklar, osteoporoz gibi faktörler düşük enerjili travmalarla femur ve tibia kırığı oluşmasına neden olurlar. Döndürücü kuvvetler spiral, bükücü kuvvetler kısa oblik, çekici kuvvetler transvers kırık hattı oluşturur (32).

En sık rastlanan sebepler sırasıyla; trafik kazası, yüksekte düşme, ateşli silah yaralanmaları ve iş kazalarıdır. Trafik kazası sıklığı Winquist'in serisinde %79, Ege'nin serisinde %56, Thorasen'in serisinde %82'dir (10,33-35).

Kırıkların %75'inden fazlası yaşlılarda yürüme veya ayakta durma esnasında görülen basit düşmeler sonucu meydana gelir (16,31).

2.1.3. Femur ve Tibia Kırığında Tanı

2.1.3.1. Bulgu ve semptomlar

Birçok hasta evde kayma veya basit düşme tarif ettiklerinden baş dönmesi, geçici bilinç kaybı sorgulanmalıdır. Önceden kalça ağrısının varlığı patolojik bir lezyonu veya artriti düşündürülebilir. Ek olarak hastada diğer ekstremitelerinde ve omurgasında ağrı ve patoloji bu bölge kırıklarında birlikte olma olasılığı (%7-15) göz önünde bulundurularak araştırılmalıdır (16,17).

Aynı taraflı kalça kırığı veya dislokasyonu pelvik ağrı yapar. Pelvik halka lokal hassasiyet açısından muayene edilmeli ve eklem seviyesinin palpasyonu sırasında lokalize duyarlılık ve ödem, yumuşak doku travmasını düşündürür (38).

Lieurance'ın çalışmasında izole femur kırıklı 53 hastadan 21'inde kan transfüzyonu ihtiyacı doğmuştur (42).

Tibia kırıklarının tanısı, kemik cilt altında olduğundan çok rahat bir şekilde konulabilir. Oluşan bulgular ağrı, fonksiyon kaybı, deformite, anormal hareket ve

krepatasyondur. Fizik muayene esnasında cilt yaralarının olup olmadığı dikkatli bir şekilde değerlendirilmelidir (163,164).

2.1.3.2. Radyografik değerlendirme

Direkt radyografi genellikle tanı için yeterlidir. Tüm femur ile beraber kalça ve diz eklemi de mutlaka görüntülenmelidir (39,40).

Lateral radyografinin acil özelliği olmamasına karşın hasta radyografi masasında iken ilk değerlendirme için çekilmesi kolaylık yaratır. Mediolateral projeksiyon (Launstein ve Hickey Metodu) kırık kalçada uygulamak zor olabilir. Bu durumda axiolateral projeksiyon uygulanabilir (Danelius-Miller modifikasyonu) veya hasta traksiyon masasında iken lateral radyografi çekilebilir (41).

Kırık şüphesi ve kliniği mevcutsa yaralanmadan 48 saat sonra technetium 99m kemik sintigrafisi ile tanı konabilir (24).

Yaralanmadan 3 gün sonra kemik sintigrafisinin % 100 pozitif olduğu gösterilmiştir. Günümüzde MRI (Manyetik Rezonans Görüntüleme) ile kemik sintigrafisinden çok daha kısa sürelerde ve tekrara gerek kalmadan tanıya ulaşılabilmektedir (16,17).

2.1.4. Femur ve Tibia Kırığında Sınıflandırma

Femur ve Tibia için birçok sınıflandırma yapılmıştır. Bunlar arasında kullanılan AO/ASIF grup (The Association for the Study of Internal Fixation) sınıflandırması şunlardır:

2.1.4.1. AO/ASIF tibia sınıflandırması

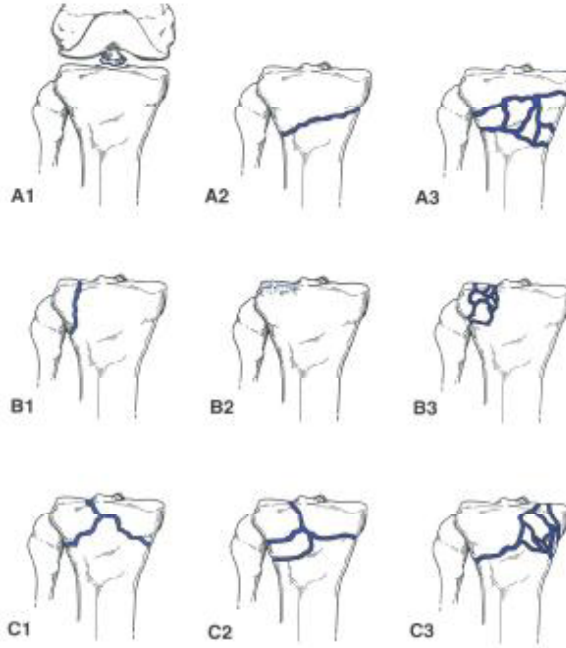
Tip A: Metafiz kırıkları olup eklem dışı izlenmektedir.

Tip B: Kısmi eklem içi kırıklar olup, metafiz ve diafiz ile ilişkisi bozulmaz

B1: Eklem yüzüne kısmi uzanan split (tam ayrılma veya yarılma) kırıktır. Dış veya iç kondillerde marjinal, sagittal, ön ve arka yerleşimli olabilir.

B2: Saf çökme ile izlenen kısmi eklem kırığıdır. Lateralde total çökme (bir parça halinde veya mozaik şeklinde), lateralde sınırlı çökme (periferik, ön ve arkada) ve medialde periferik, merkezi, önde ve arkada çökme şeklinde olabilir.

B3: Split ve çökmenin izlendiği kısmi eklem kırığıdır. Bunlar ön ve arka dış kondilde çökmeler, iç kondilde öne çökme ve arkaya çökmeler şeklindedir (165).



Şekil 3. Tibia proksimal bölge kırıklarının AO/ASIF sınıflandırması (165)

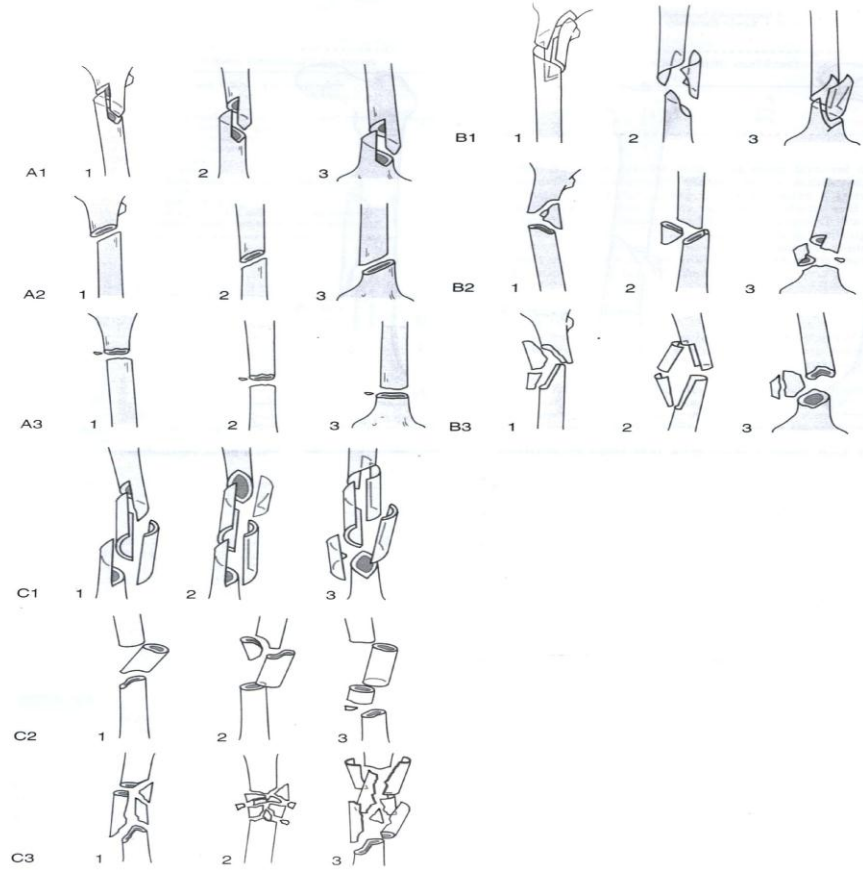
2.1.4.2. AO/OTA Morfoloji Femur Sınıflandırması

Kırık tipi ve lokalizasyonunu baz alır. Bütün AO sınıflandırmalarında olduğu gibi femur kırıkları da 27 farklı subgruba ayrılmıştır. Sınıflandırma AP ve Lateral grafiler ışığında yapılır.

Tip A: kırıklar basit kırıklardır. A1 spiral kırıkları, A2 oblik kırıkları ve A3 transvers kırıkları içerir.

Tip B: kırıklar wedge kırıklardır. B1 spiral kama, B2 bending wedge ve B3 fragmanlı wedge kırıkları içerir.

Tip C: kırıklar kompleks kırıklardır. C1 bütün kompleks spiral kırıkları, C2 segmenter kırıkları ve C3 parçalı kırıkları içerir (49).



Şekil 4. AO/OTA Morfoloji Femur Sınıflandırması.(49)

2.1.5. Femur Ve Tibia Kırığında Tedavi

Kemik iyileşmesi dört fazda meydana gelir. İnflamasyon fazı 1-3 gün sürer. Ağrı, ödem ve sıcaklıkla karakterizedir. Bu faz kartilajöz elemanların görülmesi ile sona erer. Yumuşak callus fazı fibröz veya kartilajöz doku tarafından klinik kaynamanın gerçekleştiği zamana denk gelir. Histolojik olarak kapiller gelişim ve kondroblastlar görülür. Sert callus fazı bu fibröskartilajöz kaynamanın fibroosseöz kaynama ile yer değiştirdiği fazdır. Klinik olarak 3-4 ayda meydana gelir. Remodelling fazı kaynamanın başladığı zaman başlar ve kemik normale dönene kadar devam eder. Medüller kanalın restorasyonunu içerir. Histolojik olarak fibröz dokunun yerini kemiğin lamellar dokusu almıştır. Aylar veya yıllar sürebilir. Kemik iyileşmesini etkileyen faktörler (32):

- a. Yaş
- b. Nutrisyonel durum
- c. Hormonal faktörler
- d. Hastalıklar (Diabet, anemi, nöropati)
- e. Vitaminler (A, C, D, K)
- f. İlaçlar (Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, Faktör 13, kalsiyum kanal blokerleri)
- g. Diğer maddeler (Nikotin, alkol)
- h. Kırığın tipi ve lokalizasyonu

2.1.5.1. Konservatif Tedavi

Sadece kırığın kaynaması isteniyorsa konservatif tedavi yeterli olmaktadır. Son yıllarda antibiyotik kullanımıyla enfeksiyon riskinin azaltılması, ameliyathane şartlarının geliştirilmesi ve gelişmiş implantların kullanıma girmesi ile konservatif tedavi geri plana itilmiştir. İntertrokanterik kırıkta konservatif tedavinin rölatif endikasyonları; ağrısı az olan yatağa bağımlı akli dengesi bozuk hastalar, eski kırıklı hastalar, terminal dönem hastalığı olan hastalar veya stabil olmayan sağlık sorunları olan hastalardır (59).

En önemli handikapı uzun hastanede kalış ve evde bakım sürelerine sebep olmasıdır. Okul çağı çocuklarında ve adöloşanlarda bu uzamış kısıtlılık döneminin, çocuk ve ailesi üzerinde olumsuz psikososyal etkileri söz konusudur (60,61).

2.1.5.2. Traksiyon

Cilt traksiyonunun, major dezavantajı kırık redüksiyonu sağlamasındaki yetersizliğidir, çünkü cilt traksiyonunda ağırlığı fazla arttırma şansı yoktur. Bir diğer dezavantajı ise direk cilde uygulandığı için oluşabilecek cilt nekrozudur. Yetişkinde ise iskelet traksiyonu uygulama imkânı yok ise ağrı azaltma amaçlı ve acil immobilizasyon veya nakil durumlarında kullanılır. Yapıştırıcı bantların uyluk üst kısımlarına dek uzatılarak dairesel sarılması şeklinde uygulanır (10, 62).

2.1.5.3. Cerrahi Tedavi

Cerrahi tedavinin amacı kırık parçalarını stabil olarak redükte ettikten sonra, mekanik olarak güçlü, iyi yerleştirilmiş bir implant ile tespit etmektir. Çoğunluğunu yaşlı hastaların oluşturduğu bu tip kırıklarda cerrahi tedavi sonrası erken hareket önem taşımaktadır (55,63,64). Kırığın implant ile tespitinin yeterliliğini değerlendiren Kaufer (65) ve arkadaşlarının bildirdiği etkenler birçok yazar tarafından kabul görmüştür:

Bu etkenler;

1. Kemiğin kalitesi
2. Kırığın şekli
3. Kırık redüksiyonunun kalitesi
4. İmplantın tipi
5. İmplantın yerleştirilmesi

2.1.6.Femur ve Tibia Kırığında Komplikasyonlar

2.1.6.1. Derin Ven Trombozu

Geriatrik hasta grubunda oldukça sık rastlanan bir komplikasyondur. Venografi ile kanıtlanmış derin ven trombozu oranları %40-%90 arasındadır (16,54).

Klinik olarak farkedilebilen derin ven trombozu insidansı ise %2 olarak bildirilmiştir. Pulmoner emboli insidansı ise %3 olarak bildirilmiştir (51).

2.1.6.2. Enfeksiyon

Ameliyat sonrası yara enfeksiyon oranları %0,15 ile %16,9 arasında değişmektedir (16-18,50,52,53). Profilaktik antibiotik uygulanan serilerde enfeksiyon oranları düşük olarak bulunmuştur (50).

2.1.6.3. Dekübitis Yaraları

Kalça kırığı nedeni ile yatırılan hastaların %20'sinde cilt ülserleri gelişmektedir (53,55).Topuk, sakrum ve kalçalar en sık etkilenen bölgelerdir. Bu hastalarda ölüm oranları da yüksek olarak bildirilmiştir.

2.1.6.4. Kısalık

Daha çok varus pozisyonundan kaynaklanmaktadır. Genellikle klinik önemi olmayan degerlerde görülür. Değişik serilerde ortalama 1 cm den, 2 cm ye dek bildirilmiştir (16,55).

2.1.6.5. Kaynamama

Nonunion insidansı intertrokanterik kırıklarda %1-2 olarak bildirilmektedir (16,17,47,56,58). Özellikle, kalkar femoralenin çok parçalı olduğu kırıklarda ve kemik beslenmesini bozacak derecede yoğun cerrahi girişimler sonrası risk fazladır. Genellikle tedaviden 1-5 yıl içinde ortaya çıkar.

2.2. Prolidaz

2.2.1. Prolidazın Tanımı

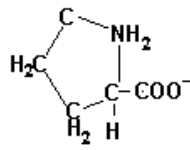
Prolidaz hidrolazlar sınıfına ait bir enzimdir (149,150). Uluslararası sınıflandırmaya göre; EC 3.4.13.9 sınıfında yer alır. Hidrolazlar çeşitli bağların hidrolizini kataliz ederler. Bu bağlar; C-O, C-N, C-C ve fosforik anhidrit bağına da içeren bazı bazlardır. Prolidaz enzimi karboksil terminal pozisyonundaki prolin veya hidroksiprolin 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 (151,152). Enzim yaklaşık 70 yıl önce bulunmasına rağmen önemi 35 yıl önce eksikliği çalışmaları yapıldığında anlaşılmıştır (153).

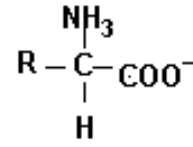
2.2.2. Prolin

Prolin esansiyel olmayan bir imino asittir. Glutamatın halka yapısındaki bir türevidir. Prolin sentezinde glutamatın γ -karboksi grubunun ATP (Adenozin Trifosfat) ile tepkimeye katılması sonucu γ - glutamifosfat oluşmaktadır. Bunun NADPH (Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat) ile indirgenmesi sonucu oluşan

glutamat γ -semialdehit sonra kendiliğinden c-prolin-5-karboksilat oluşturmak üzere halkalaşmakta ve bu yapı indirgenerek prolini oluşturmaktadır. Prolin katabolizmasında prolin oksidaz ile prolinden oluşan c-prolin 5-karboksilat, glutamat γ -semialdehit ile ornitine transamine olabilmekte veya glutamata oksitlenmektedir. Prolinin diğer amino asitlerden farkı R grubunun hem amino grubu hemde α karbon grubuna bağlı olarak siklik bir yapıya yol açmasıdır.



Prolin



Amino Asit

Şekil 5. Prolin ve diğer amino asidin genel yapısal görünümü

Benzersiz yapısal özellikten dolayı prolin bir peptit sekansına girdiği zaman önemli konformasyonel özellikler gösterir. Bu aminoasidin siklik yapısı polipeptit omurganın yapısal yönlerine temel sınırlamalar getirmektedir. Prolin siklik yapısının sonucu olarak hiçbir fonksiyonel grup içermez ki bu durum da hidrojen bağına veya peptit bir bağı rezonans stabilizasyonuna katılmayı engeller bu nedenle prolin, α helix veya β tabakalı sekonder yapılarına uyumlu olmayan tek amino asittir. Kemik, tendon ve destekleyici membran dokularının ana bileşeni olan kollajen, prolinin yapısal özelliklerine belirgin bir şekilde bağlıdır .Prolinin siklik yapısı α karbon ve nitrojenin bir peptit bağındaki rotasyon açısını sınırlamaktadır ki normal olarak bitişik amino asitlerin reel grupları arasındaki siterik engelleme veya elektrostatik repulsiyona bağlıdır.

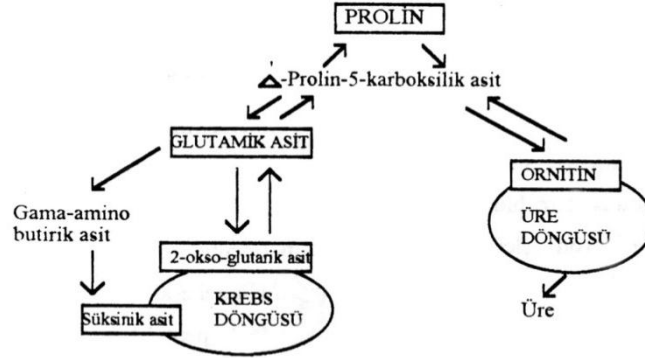
Prolin potansiyel bir yapı kırıcı olan ve peptit zincirlerinin yönünü değiştirme eğilimine sahip, peptit zincir içine sabit bir eğim takdim eder. Proteinlerin yüzeyindeki ters bir dönüş veya saç tokası eğimi şeklinde önemli yapısal olayın proteinler içindeki en önemli sonucu prolin tarafından oluşturulmasıdır. Prolin ve hidroksiprolin, kollajen yapısında yer alan en önemli amino asitlerdir. Prolin türevleri olan 3-hidroksiprolin ve 4-hidroksiprolin karışık fonksiyonlu oksijenazlar kullanılarak polipeptit zincirinde bulunan prolin kalıntılarından elde edilmektedir.

Hidroksiprolinin hidroksiprolin oksidaz ile parçalanması sonucunda glioksalat ve piruvat oluşmaktadır.

Prolin, biyolojik olarak aktif peptitlerin enzimatik degradasyonuna karşı korunmasını sağlamaktadır. Bu durum peptit veya protein prekursorlerinin post transyasyonel modifikasyonlarının regulasyonunda açıkça bellidir. Polipeptit zincirinin içinde yerleşik olan prolin amino asitleri, zincirlerin enzimatik süreci öncesinde modifikasyon bölümünde bulunur ve polipeptit zincirinin hassasiyetini proteolizle sınırlayan yapısal unsurlar olarak hareket eder. Bu durum peptitlerin post-translasyonel modifikasyonunda görev alan ekzopeptidazların özelliği ile ilişkili araştırmalarda gösterilmiştir. Pek çok biyolojik olarak aktif peptitlerin amino ucuna yakın yerlerde ortaya çıkan prolin gözlemiyle desteklenmektedir.

Prolin ve hidroksiprolin prolidino halkasındaki azot atomuna bir hidrojen atomunun girmesi ile oluşmaktadır. Bunlar genelde imino asit ismiyle adlandırılır. L-prolin amino asitlerin hücre dışı havuzunun temel bileşenidir. Bunu sadece glutamin ve alanin amino asitleri takip eder. Hidroksiprolin öncelikle vücut sıvılarında oligopeptitlerde bulunmaktadır. İnsanlarda hidroksiprolinin yapısı 4-hidroksi -L-prolin şeklindedir ve vücut sıvılarında daha az bulunur. Protein yapısında bulunan hidroksiprolin peptide bağlı prolinin hidroksillenmesi ile oluşmaktadır.

Prolin ayrıca Krebs ve Üre döngüleriyle metabolik olarak bağlantılıdır. c -prolin-5- karboksilik asit prolin metabolizmasında iki döngüyü birbirine bağlayan bir pozisyonudur. Prolinin karbon zincirinden Krebs döngüsüne geçisi, tüm dokularda bilinen klasik yoldan 2-oksaglutarik asit metabolizması ile olur (154).



Şekil 6. Prolinin metabolik yollarla bağlantısı (Scriver 1978)

2.2.3. Prolidazın Yapısı

Prolidaz enzimi dimer yapıda olup ve ancak bu şekilde katalitik aktivite gösterir. Glikoprotein yapısındadır ve ağırlık olarak %5 karbonhidrat içermektedir. Enziminin aktif merkezinde tiyol grubu yer alır ve bu grup bloke edilirse aktivite düşer. Doğal enzim için optimum Ph:7,6-7,8'dir ve izoelektronik nokta pH:4,4-4,5 olarak saptanmış olup bu değer yapıdaki asidik amino asitlerin varlığını belirtmektedir (155,156).

2.2.4. Prolidazın İzoenzimleri

Deri fibroblast kültürlerinden ve normal insan eritrositlerinden ayrıştırılan prolidazın 2 formunun olduğu görülmüştür. Bunlar prolidaz I ve prolidaz II olarak isimlendirilmiştir. Bu iki izoenzim substrat spesifitesi ile bazı kimyasal özellikler bakımından farklılıklar gösterirler.

Prolidaz I'in molekül ağırlığı 112 kDa olup ve birbirini tamamlayan eşit molekül ağırlığında 2 subuniteden oluşur (56kDa) ve tüm insan dokularında bulunur.

Prolidaz II 'nin ise molekül ağırlığının 185 kDa'dur ve birbirine eş iki subuniteden (95 kDa) oluşmuştur. Prolidaz II'nin gly-pro dipeptidine karşı düşük bir aktivite gösterirken en yüksek aktiviteyi met-pro dipeptidine karşı gösterdiği saptanmıştır. Prolidaz II plazmada bulunmamaktadır (157).

2.2.5. Prolidaz İnhibitörleri ve Aktivatörleri

Yapılan çalışmalarda enzimin aktivasyonu için gerekli olan Mn^{+2} iyonu yerine başka metal iyonlarının ilavesi ile inhibisyon olduğu gözlenmiştir. Domuz böbrek prolidazı üzerinde yapılan çalışmalarda 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 $10^{-3} \times 10^{-4}$ M aralığındaki konsantrasyonlarda glutatyon kullanıldığında optimal stabilizasyon ve aktivite sağlandığı, ancak glutatyonun yüksek konsantrasyonunun inhibisyona sebep olduğu bulunmuştur (157).

2.2.6. Prolidazın Kollajen Yapım ve Yıkımında Önemi

Kollajenler, hayvansal bağ dokunun temel bileşeni olup vücutta en fazla bulunan proteinlerdir. Bağ doku iskeletinin yapısını oluşturan kollajen, inflamasyon 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 preprokollajen 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, Gli-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 kollajenin üçlü heliks yapısının dayanıklılığını sağlamada önemlidir. Kollajenin yarı ömrü 50-300 gündür. Bu ömür; gelişme, büyüme, doku yapımı ve yara iyileşmesi gibi durumlarda uzar. Kollajenlerin yıkımı genellikle nötral pH'da aktif olan pek çok matriks metalloproteinazlarının (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 endotelyal hücrelerden latent proenzim formunda salınırlar ve

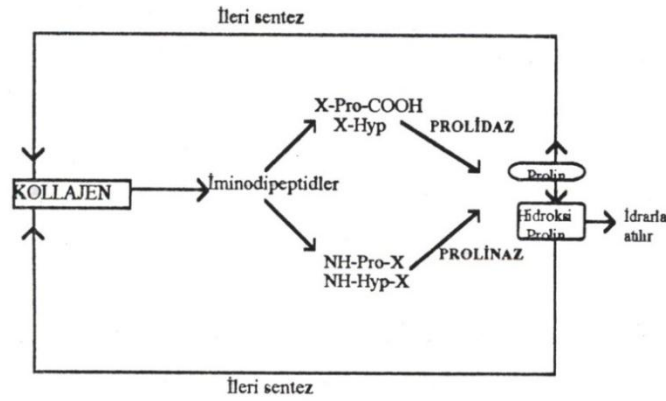
plazminle aktivasyonu takiben çapraz bağlı kollajeni parçalayarak dipeptitlere ayırırlar. Bu dipeptitler de prolidaz, prolinaz ve diğer dipeptidazlar tarafından serbest aminoasitlere parçalanırlar(110).

Prolidazın bütün biyolojik fonksiyonunun prolin döngüsüyle beraber kollajen dejenerasyon ürünleri ve diğer Xaa-Pro dipeptidlerin metabolizması olduğuna inanılmaktadır. Prolidaz, C-terminalinde amino asidi prolin veya hidroksiprolin olan dipeptidleri hücre içinde hidroliz eder. Prolin yeniden döngüye girer ve yeni protein sentezinde kullanılırken hidroksiprolin idrarla atılmaktadır (110).

Kollajen yapısındaki amino asitlerin yaklaşık %25'ini prolin ve hidroksiprolin oluşturduğundan, prolidaz kollajen yıkımında önemli rol oynamaktadır (110).

Prolidaz, hücre içi protein yıkımının son basamağında, özellikle yüksek miktarda prolin içeren prekollajenin yıkımı aşamasında rol oynamaktadır (97,98).

Enzim için substrat kaynağı kollajen olup iminopeptidler kollajenin yıkımının son basamağında ortaya çıkmaktadır. Kollajen yıkımında prolidaz ve prolinazın yeri aşağıdaki şekilde görülmektedir (Şekil- 7).



Şekil 7. Kollajen yıkımında prolidaz ve prolinazın yeri (Myara ve Myara 1984) (110)

Prolidaz, beslenme ile alınan proteinlerden ve vücuttaki depo kollajeninden imino asitlerin geri kazanılmasında önemli rol oynar (110).

Prolidaz, C-ucunda prolin veya hidroksiprolinin imino azotunu içeren peptid bağı bulunduran bileşiklerin hızla hidrolizini katalizleyen tek enzim olduğu için spesifitesi yüksektir (110).

Prolidaz eksikliği prolinin normal döngüsündeki bozulmayla sonuçlanır. Prolidaz eksikliğinde büyük miktarda hidroksprolin 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. 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 infeksiyonlar ve deri lezyonları ile karakterize bir klinik tablonun ortaya çıktığı bildirilmiştir. Prolidaz eksikliği olan kişilerde prolidaz I aktivitesinin deri fibroblast kültüründe ve kan hücrelerinde azaldığı da gösterilmiştir (110).

Fetal büyüme sırasında kollajen 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 kullanılabileceği öne sürülmektedir. Ayrıca kollajen metabolizmasında bozuklukla seyreden silikozis hastalığının tedavisinde de prolidaz enziminin kullanılması hedeflenmektedir. Böylece hızla kollajen yıkımı ile seyreden silikozis hastalarında prolidaz enzim aktivitesinin artırılması tedavide faydalı bir yaklaşım olarak düşünülmektedir (110).

2.2.7. Prolidaz'ın Hastalıklarla İlişkisi

İlk olarak, insan derisi fibroblastı kültürlerinde prolidaz aktivitesinin hücre yoğunluğuna bağlı olduğu ve hücre yoğunluğu arttığı zaman bu enzimin yükseldiği Myara ve ark. tarafından ortaya konmuştur. Prolidazın katalize ettiği reaksiyon, memelilerde iki önemli fizyolojik fonksiyonda görev yapmaktadır. Birincisi, prolin çevrimini tamamlayan kolajen degradasyonunun son adımını katalize etmektedir. Prolidazın ikinci önemli fizyolojik fonksiyonu da beslenme yoluyla alınan proteinlerin sindirimidir (82)

Prolidaz eksikliği prolinin normal döngüsündeki bozulmayla sonuçlanır. Prolidaz eksikliğinde büyük miktarda prolin ve hidroksprolin üre ile dışarı atılır. İminopeptidler gibi amniyon asitleri bağlar ve sonuç olarak toplam prolin eksikliği oluşur. Etkilenen hasta bireylerde prolidaz enzim aktivitesi saptanamaz. İminopeptidüri, aynı zamanda raşitizm, hiperparatiroidizm ve paget hastalığı gibi durumlarda tanımlanır. Fakat İminopeptidüri prolidaz eksikliğinde çok daha yüksektir. Prolidaz eksikliği cilt ve diğer kollajen dokulardaki anormalliklerle karakterize bir sendromla sonuçlanır. Bu nadir genetik prolidaz eksikliği otozomal resesiftir. Prolidaz enziminin genetik eksikliğinin sonucunda mental gerilik, tekrarlayan infeksiyonlar ve deri lezyonları ile karakterize bir klinik tablonun ortaya çıktığı bildirilmiştir (157).

2.3. OKSİDAN-ANTIOKSİDAN DENGE

Oksidatif stres; prooksidan/antioksidan balansın oksidanların lehine artması olarak tanımlanmaktadır. Reaktif oksijen türleri oldukça güçlü prooksidanlardır (140).

Oksidatif hasarı önlemek için dokular glutatyon peroksidaz, katalaz ve süperoksit dismutaz gibi çok sayıda antioksidan enzim içerirler (167).

Bunun yanı sıra meydana gelebilecek muhtemel peroksidasyonun önlenmesi için oto katalitik zincir reaksiyonlarında yer alan lipit serbest radikallerini tutan maddelerde bulunmaktadır. Transferrin ve seruloplazmin majör koruyucu antioksidanlar olarak işlev görürken, askorbat, ürat, protein sülfhidril, α - tokoferol ve karotenler oksidanların zincirlerini kıran antioksidanlar şeklinde işlev görürler (168).

Serbest radikallerin, DNA atakları mutasyonlara ve hücre ölümlerine yol açmaktadır. Oksidatif DNA hasarları da denilen bu tip hasarlar mutagenezise, kanserogenezise ve yaşlanmaya yol açmaktadır (166).

2.3.1. Serbest radikaller

İnsanın etkin olabilmesi için gerekli olan mekanik enerjinin kaynağı, aslında besinlerin vücudumuzda kimyasal enerjiye dönüşmeleridir (74,75).

Her türlü fiziksel etkinliğin gerçekleşmesi için enerji gereklidir. Efor şiddeti arttıkça, gereksinim duyulan enerji miktarında da artma olur (76).

Kas aktivitesindeki artış, enerji üretimi ve tüketimi dolayısıyla çalışan kasa kan akımını ve oksijen kullanımını önemli derecede artırır (74,77).

En dış yörüngesinde çiftleşmemiş elektron bulunan atom ya da moleküllere **serbest radikal** denir. Serbest radikaller reaktif yapılardır ve tek elektronlarını çiftlemek üzere diğer moleküller ile hızla reaksiyona girmeye, dolayısıyla onların yapılarını değiştirmeye eğilimlidirler. Yeryüzünde hayatın doğuşuna serbest radikallerin neden olduğuna inanılmakla birlikte bu bileşiklerin aynı zamanda hemen hemen tüm canlılarda yaşam süresince oluşan hasarın ve ölümün temel nedeni olarak da kabul edilmektedir (78-80).

İlk defa 1969 yılında Mc Cord ve Fridovich'in yapmış olduğu bir çalışmada Süperoksit Dismutaz (SOD)'ın enzimatik fonksiyonları ve biyolojik sistemlerde Serbest Oksijen Radikalleri (SOR)'nin varlığı gösterilmiştir. Daha sonraki bilimsel çalışmalarda serbest oksijen radikallerinin ve antioksidan enzimlerinin hastalık ve sağlıktaki önemi gösterilmiştir (82).

Organizmanın yaşamı ve bütünlüğü, homeostatik dengenin sürdürülmesine bağlıdır. Homeostazis hem iç hem de dış etkenlerle devamlı tehdit altındadır. Serbest radikallerin yıkıcı etkilerine karşı hücreler ve bir bütün olarak da organizma **antioksidan sistemlere** sahiptir. Bu mekanizmalar serbest oksijen radikallerinin öncül maddelerini safdışı ederek ya da oluşan serbest radikalleri temizleyerek etki etmektedirler (81).

Serbest radikaller yaşam süreleri çok kısa olmasına karşın, yüksek aktiviteleri nedeniyle organizmada yüksek düzeyde tahrip edicidirler. Serbest radikallerin oluşum hızı ile ortadan kaldırılma hızı arasında denge olduğu sürece, organizma bundan etkilenmemektedir. Bu denge bozulduğunda, oksidanların arttığı veya antioksidanların yetersiz kaldığı durumlarda organizma oksidatif strese maruz kalır. Bunun sonucunda, hücrel metabolizma işleyişi bozulur, oluşan moleküler yıkım ile kalp, böbrek, karaciğer, mide, akciğer, beyin gibi birçoğu yaşamsal öneme sahip organlarda doku hasarı meydana gelir (83-86).

2.3.1.1. Başlıca serbest radikal üretim kaynakları

Radyasyon, stres ve ksenobiyotikler aktive olmuş fagositlerde serbest radikal üretimini arttırlar. Sitokrom P-450, sitokrom b5, ksantin oksidaz, triptofan dioksijenaz, lipooksijenaz, prostoglandin sentetaz, hemoglobin, flavoproteinler, lipid peroksidasyonu, oksidatif stress yapan iskemi, travma ve intoksikasyon gibi durumlar, mitokondrial elektron transport sistemi (ETZ), moleküler otooksidasyon yapan tiol, hidrokinon, katekolamin, flavin ve antibiyotik gibi moleküllerin hepsi hücrel serbest radikalleri oluştururlar (89,90).

Serbest radikal oluşturan kaynaklar iki gruba ayrılabilir (86).

1. Endojen serbest radikal oluşum kaynakları
2. Ekzojen serbest radikal oluşum kaynakları

2.3.1.1.1. 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.

a) 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 kaçağının 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 (91).

b) 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 monooksijenaz 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 (92).

c) 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 (93).

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 (94).

d) 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 içinde gerekli olan endoperoksitlerin oluşumuyla sonuçlanır. Öte yandan lipooksijenaz lipit peroksitleri üzerinden lökotrienlerin oluşumunu katalize eder (95).

e) Fagositoz

Radyasyon, stres ve ksenobiyotikler aktive olmuş fagositlerde serbest radikal üretimini arttırırlar. Aktive fagositler intrasellüler radikal oluşumuna neden olurlar (Tablo 1). Aktive olmuş fagositlerde üretilen serbest radikaller patojenlerle savaşta önemli rol oynar.

Tablo 1. Fagositlerin ürettiği reaktif oksidan ürünler

Trombositler	H_2O_2 , $O_2^{\cdot -}$, OH^{\cdot}
Nötrofiller	H_2O_2 , $O_2^{\cdot -}$, OH^{\cdot} , $HOCl$
Eozinofiller	H_2O_2 , $O_2^{\cdot -}$, OH^{\cdot} , $HOCl$
Makrofajlar	H_2O_2 , $O_2^{\cdot -}$, OH^{\cdot} , $HOCl$, NO^{\cdot}

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 oluşumunun yanısıra, mitokondri dışındaki oksijen üretiminde bir patlama (respiratory burst) olur. Fagosite edilmiş, patojenler oksidan ajanlar tarafından öldürülür. Solunum yolu ile patlamanın (respiratory burst) amacı oksidan ajanlar sağlamaktır. Oluşan oksidan ajanlar patojenleri öldürmenin yanısıra myeloperoksidaz sistemine de etki eder. Hidrojen peroksit ve hipoklorit kombinasyonu myeloperoksidaz 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 (95).

f) 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 (96,97). Bunlar arasında, hemoglobin, hormonlar, tiyoller, doymamış membran lipitleri sayılabilir. Bütün oto-oksidasyonlar sırasında serbest radikal intermediyerleri kadar aktive oksijen türleri de üretilir. Böylece oto-oksidasyonlar vücudun radikal kaynaklarına katkıda bulunurlar.

g) Oksidan enzimlerin reaksiyonları

Aerobik organizmalarda oksijenin katıldığı birçok reaksiyonda oksijenin tek değerlikli indirgenmesiyle süperoksid anyonu meydana gelebilir. Glikojen oksidaz, ksantin 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 (98).

2.3.1.1.2. Ekzojen serbest radikal oluşum kaynakları

Serbest radikal oluşumunun ekzojen kaynakları arasında sigara, pestisitler, çözücüler, petrokimya ürünleri, ilaçlar, alkol, güneş ışınları, stres, X-ışınları hatta yiyeceklerde bulunan bazı bileşikler en önemlileridir. Ağır bedensel aktivite de oksijen kullanımındaki artışla beraber radikal oluşumunu artırmaktadır (84,99,100).

Kimyasal ve organik maddelerin yanması ile açığa çıkan özel maddelerin, radikallerin olası kaynakları ve taşıyıcıları olduğu ileri sürülmektedir. Sigara dumanı, akciğerlere alınan başlıca yanmış organik materyaldir. Sigara dumanı gaz fazının, invitro poliansatüre yağ asitlerinin (PUFA) otooksidasyonunu başlattığı gösterilmiştir. Sigara dumanındaki NO_2 'nin ilk formu nitrik oksit, hemoglobinin hem demiri ile oldukça hızlı reaksiyon verir. Böylece eritrositlerde artan methemoglobin konsantrasyonu, bu kan hücrelerini oksidasyona predispoze hale getirir (83).

2.3.1.2.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 (Tablo 2).

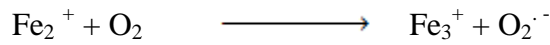
Tablo 2. Oksijen türevi bileşikler

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·)	Lipid hidroperoksit (LOOH)
Azot dioksit (NO ₂ ·)	Peroksinitrit (ONOO·)

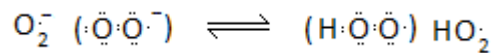
Oluşan radikal eşleşmemiş tek elektronu nedeniyle çok dengesizdir ve hızla ortamdan kaybolur. Bu yüzden bu radikaller tek elektronlarını bir başka moleküle verebilir (redüksiyon) ya da bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilirler (oksidasyon). Sonuçta nonradikal yapıyı radikal şekle dönüştürebilirler (87,88).

2.3.1.2.1. Süperoksit radikalleri (O₂⁻)

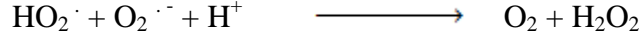
Süperoksit radikali (O₂⁻) hemen tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin (O₂) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu süperoksit radikali meydana getirebilir.



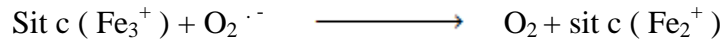
Süperoksit radikali kendisi direkt olarak zarar vermez. Bu radikal anyonun asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksit radikali düşük pH değerlerinde daha reaktiftir, oksidan perhidroksi radikali (HO₂[·]) oluşturmak üzere protonlanır. +H⁺



Süperoksit radikali ile perhidroksi radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri okside olur diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda moleküler oksijen ve hidrojen peroksit meydana gelir.



Süperoksit radikali hem oksitleyici hem indirgeyici özelliğe sahiptir. Örneğin ferrisitokrom c ya da nitroblue tetrazolium ile reaksiyonunda indirgeyici olarak davranarak bir elektron kaybeder ve moleküler oksijene okside olur.



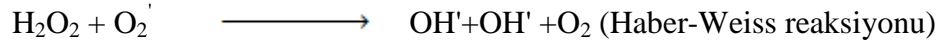
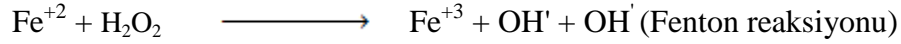
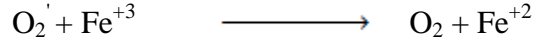
Süperoksit radikali epinefrinin oksidasyonunda oksidan olarak davranarak bir elektron alır ve hidrojen peroksit (H₂O₂) indirgenir.

Süperoksit radikalının fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit (NO[•]) ile birleşmesi sonucu bir reaktif oksijen türü olan peroksinitrit (ONOO⁻) meydana gelir. Peroksinitrit, nitrit (NO₂⁻) ve nitrat (NO₃⁻) oluşturmak üzere metabolize edilir. Peroksinitrit, azot dioksit (NO₂[•]), hidroksil radikali (OH[•]), nitronyum iyonu (NO₂⁺) gibi toksik ürünlere dönüşebilir ki nitrik oksitin (NO[•]) zararlı etkilerinden peroksinitrit sorumludur (101).

2.3.1.2.2. Hidroksil radikalleri (HO)

Hidroksil radikali, biyolojik sistemlerde bulunan en güçlü serbest radikal olarak bilinir. Hidroksil radikalının en güçlü serbest radikal olmasının nedeni hücre nükleusundaki membran bariyerleri kolayca geçmesi ve mutajenik olarak DNA'yı etkilemesidir. Bu nedenle in vivo oluşan bir OH[•] radikali hemen her moleküle saldırır ve oluştuğu yerde de büyük hasara neden olur. Nonradikal biyolojik moleküllerle zincirleme reaksiyonları başlatır (103-105).

Hidroksil radikali, hidrojen peroksitin geçiş metalleri varlığında indirgenmesi ile (Fenton reaksiyonu) oluşan son derece reaktif bir radikaldir. Ayrıca hidrojen peroksitin süperoksit radikali ile reaksiyonu sonucunda da (Haber-Weiss reaksiyonu) meydana gelir. Bu reaksiyon katalizörsüz çok yavaş olduğu halde Fe⁺³ katalizörlüğünde çok hızlı oluşur (103,106).



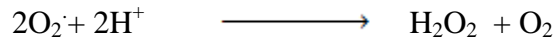
Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda da hidroksil radikali oluşur (103,107). Bir hidroksil radikali, yüzlerce yağ asidini ve yan zincirini lipid hidroperokside çevirebilir. Bu oluşan hidroperoksitler birikerek membran bütünlüğünü bozar ve hücrenin kollabe olmasına neden olur. Ayrıca bu hidroperoksitlerden son ürün olarak toksik ve reaktif olan aldehitler de oluşabilir. Bunlardan en önemlilerden biri de Malondialdehit (MDA)'dır (108).

Hidroksil radikali, organik ve inorganik bileşiklerde elektron transfer tepkimelerine neden olur. Ancak normalde OH' radikali oluşamaz. Çünkü OH' oluşumu için moleküler oksijenin üç değerlikli olarak indirgenmesi gerekir ki, bu oldukça zordur. OH' meydana gelebilmesi için O_2' ve H_2O_2 gereklidir. Bunlarda SOD, CAT veya GSH-Px enzim sistemiyle uzaklaştırılır. Böylece fizyolojik şartlarda fazla miktarda OH' oluşamaz. Bu üç enzim intrasellüler major antioksidanlardır (105,109).

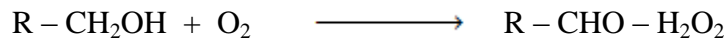
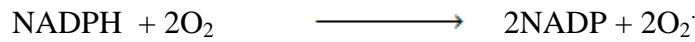
2.3.1.2.3. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit eşleşmemiş elektrona sahip olmadığından aslında bir radikal değildir. Süperoksit anyonunun (O_2') hidrojenle yaptığı reaksiyona dismutasyon reaksiyonu adı verilir ve dismutasyon hızı asidik pH değerlerinde hızlanır (88,102).

Reaksiyon şu şekilde ifade edilir;

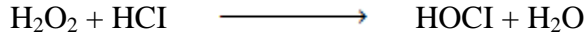


Bazı enzimler ya tekli (NADPH oksidaz) ya da çiftli (Glukoz oksidaz) elektron eklenmesini katalize ederek O_2' veya H_2O_2 oluşmasını sağlarlar.



2.3.1.2.4. 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 ($O_2^{\cdot-}$) üretirler. Radikal üretimi fagositik hücrelerin bakterileri öldürmesinde büyük önem arz etmektedir. Özellikle nötrofiller miyeloperoksidaz enzimleri aracılığıyla önce O_2 'in oluştururlar ve daha sonra dismutasyonu hidrojen peroksiti klorür iyonu ile birleştirerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl'i meydana getirirler. (110)

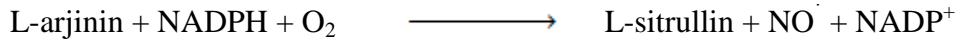


2.3.1.2.5. Singlet O_2 ($O_2^{\uparrow\downarrow}$)

Singlet oksijen eşleşmemiş elektron içermediği için serbest radikal değildir. Bununla birlikte dönme yönlerinin farklılığından dolayı oksijenin yüksek reaktif formudur (111,112). Moleküler oksijende paylaşılmamış iki dış elektron aynı yönde, aynı yörüngelerdedir. Singlet oksijende ise elektron dönme yönleri birbirine zıttır ve oluşturdukları delta veya sigma formuna göre aynı veya ayrı yörüngelerde bulunurlar. Aynı yörüngede ise delta singlet oksijen, ayrı yörüngelerde iseler sigma singlet oksijen formu oluşur. Sigma formu delta formuna göre daha enerjetik olup kolayca delta formuna dönüşebilir (113,114).

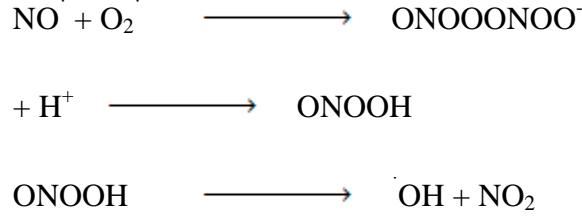
2.3.1.3. Reaktif Nitrojen Türleri (NO , NO_2 , NO^+ , NO^-)

NO enzimatik olarak nitrik oksit sentaz enzimi tarafından L-arjinin'den sentezlenir.

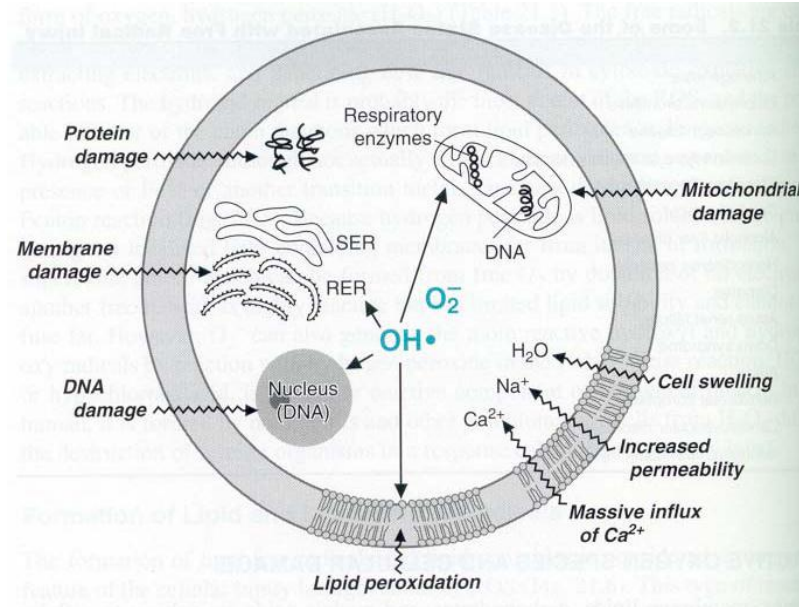


NO eşleşmemiş elektron bulundurmasına rağmen birçok biyomolekül ile kolayca tepkimeye giremez, öte yandan peroksil, alkil gibi diğer serbest radikallerle kolayca tepkimeye girerek daha az reaktif moleküller oluşturur (115).

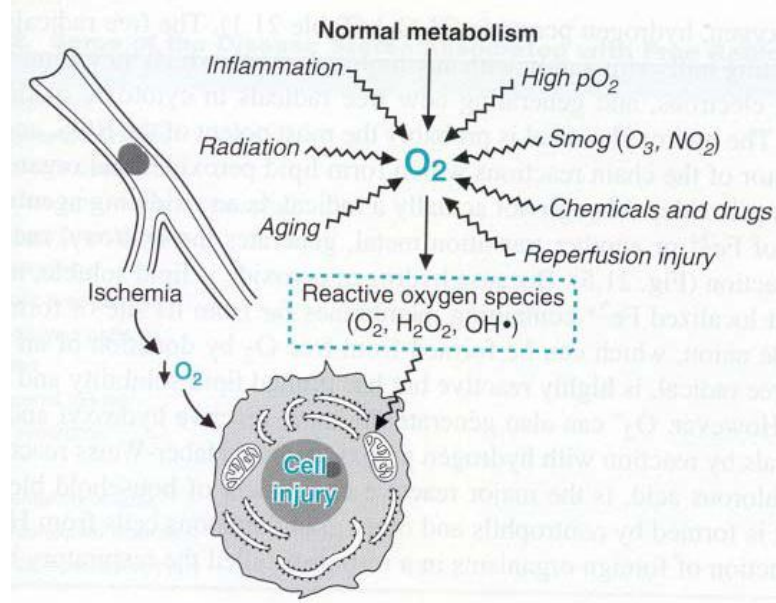
Yüksek miktarlarda O_2^- yapımı NO ile paraleldir ve birbirlerini etkileyerek OH ve NO_2 oluşumuna neden olurlar. Tepkime sırasında ise peroksinitrit ($ONOO^-$) ve peroksinitröz asit ($ONOOH$) ara ürünleri oluşur (115).



2.3.1.4.Serbest Radikallerin Vücuttaki Etkileri



Şekil 8. Serbest Oksijen Radikalinde Hücre Hasarı (101)



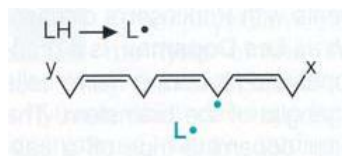
Şekil 9. Normal Metabolizma (101)

2.3.1.4.1. Serbest Radikallerin Lipitlere Etkileri

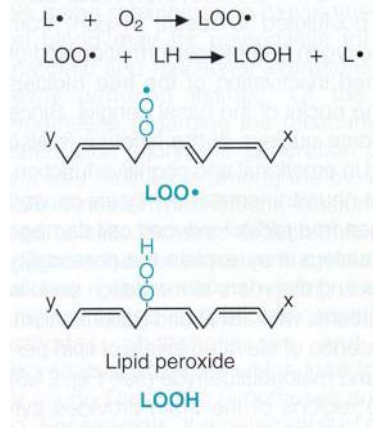
Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar.

Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve oldukça zararlıdır. Hücre membranlarında lipid serbest radikalleri (L•) ve lipid peroksit radikallerinin (LOO•) oluşması, reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu hücre hasarının önemli bir özelliği olarak kabul edilir. Serbest radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna "nonenzimatik lipid peroksidasyonu" denir.

Hücre membranlarında lipid peroksidasyonuna uğrayan başlıca yağ asitleri poliansatüre yağ asitleridir. Lipid peroksidasyonu genellikle yağ asitlerindeki konjuge çift bağlardan bir elektron içeren hidrojen atomlarının çıkarılması ve bunun sonucunda yağ asidi zincirinin bir lipid radikali niteliği kazanmasıyla başlar.

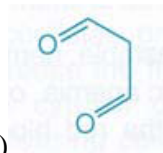


Lipid radikali (L^\bullet) dayanıksız bir bileşiktir ve bir dizi değişikliğe uğrar. Lipid radikallerinin (L^\bullet) moleküler oksijenle (O_2) etkileşmesi sonucu lipid peroksit radikalleri (LOO^\bullet) oluşur. Lipid peroksit radikalleri (LOO^\bullet), membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipidperoksitlerine ($LOOH$) dönüşürler ve böylece olay kendi kendini katalizleyerek devam eder (11).



Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan lipid peroksitlerinin ($LOOH$) yıkılımı geçiş metalleri iyon katalizini gerektirir. Plazma membranı ve subsellüler organel lipid peroksidasyonu serbest radikal kaynaklarının hepsiyle uyarılabilir ve geçiş metallerinin varlığında artar. Lokal olarak hidrojen peroksitten (H_2O_2) Fenton reaksiyonu sonucu hidroksil radikali (OH^\bullet) oluşması zincir reaksiyonunu başlatabilir.

Lipid peroksitleri ($LOOH$) yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malondialdehit (MDA) meydana gelir.



Malondialdehit (MDA)

Malondialdehit (MDA) kanda ve idrarda ortaya çıkar, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü olmamakla beraber lipid

peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde malondialdehit (MDA) ölçülmesi lipid peroksit seviyelerinin indikatörü olarak kullanılır. Nonenzimatik lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve ürettiği reaktif aldehyitlerle indirekt olarak diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece doku hasarına ve birçok hastalığa neden olur (101).

2.3.1.4.2.Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Proteinler, radikallerin etkilerine lipitlere oranla daha az hassastır ve amino asit dizilişlerine bağlı olarak etkilenirler. Özellikle doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle etkileşimi yüksektir. Bu nedenle triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitleri içeren proteinler serbest radikallerden daha kolay etkilenirler. İmmungulobin G ve albumin gibi disülfid bağı fazla olan proteinlerin ise üç boyutlu yapıları bozulur (103,112,116).

2.3.1.4.3.Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri

Monosokkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksit ve okzoaldehitler meydana gelir. Açığa çıkan okzoaldehitler proteinlere bağlanabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki göstererek etki eder ve böylece kanser ve yaşlanmaya neden olabilirler (116).Serbest oksijen radikalleri bağ dokunun önemli bir bileşeni olan hiyalüronik asit gibi karbohidratların parçalanmalarına da yol açabilirler (117).

2.3.1.4.4.Serbest Radikallerin DNA'ya Etkileri

İyonize edici radyasyona maruz kalınması ile oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona neden olurlar. Sitotoksik etki, büyük oranda nükleik asit baz modifikasyonlarından kaynaklanan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer değişikliklere bağlıdır. Hidroksil radikali deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer. Hidrojen peroksit zarlardan kolayca geçip hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücrede fonksiyon bozukluğuna ve hatta hücre ölümüne neden olabilir (116,118).

2.3.2. Antioksidan Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler (101).

Antioksidanlar etkilerini şimdiye kadar tespit edilen altı değişik mekanizma ile gösterirler (119-122). Bu mekanizmalar birbirinden bağımsız veya bir arada işleyebilmektedirler.

1. Oksijen ile reaksiyona girerek ya da onun yerini alarak lokal oksijen konsantrasyonunu azaltırlar.
2. Hidroksil radikali yapısında yer alan hidrojen atomları bağ oluşturabilecek yapıdaki ürünleri temizleyerek peroksidasyonun başlamasını önleyebilirler.
3. Membran lipitlerini direkt etkileyerek peroksit oluşturabilen singlet oksijeni baskılayabilir veya temizleyebilirler (121).
4. Metal iyonlarını bağlamak yoluyla reaktif grupların (OH, ferril ya da Fe /Fe /O₂ kompleksleri gibi) ve/veya lipit peroksitlerden peroksil ve alkoksil radikallerinin oluşumunu önleyebilirler. Membranlarda lipit peroksidasyonunun başlamasına hangi reaktif ürünlerin neden olduğu tartışılmaktadır, ancak hem başlangıç hem de oluşan lipit peroksitlerin dekompozisyonu için transisyonel metal iyonlarına ihtiyaç olduğuna dair genel bir kanı vardır.
5. Peroksitleri, alkol gibi nonradikal ürünlere çevirebilirler. Örneğin; GPx, peroksitleri bu yolla temizleyen bir antioksidandır.
6. Zincir kırabilirler yani; zincir oluşumuna neden olabilen serbest radikallerle reaksiyona girebilirler ve yağ asidi zincirlerinden sürekli hidrojen iyonu salınımını önleyebilirler. Zincir kırıcı antioksidanlar için de fenoller, aromatik aminler ve en yaygın olan a-tokoferol yer almakla birlikte başka lipit solubl zincir kırıcı antioksidanlar da vardır (121).

Lipit peroksidasyonunu yukarıdaki mekanizmalardan ilk dört tanesi ile önleyenler 'Koruyucu Antioksidanlar' olarak kabul edilmektedir. Dördüncü mekanizma ile etki edenler reaksiyon sırasında tüketilmezler. Beşinci mekanizma ile etki eden antioksidanlar ise koruyucu olmakla birlikte reaksiyon sırasında kimyasal

karakterlere göre tüketilebilir veya tüketilemezler. Altıncı mekanizma ile etki eden zincir kırıcı antioksidanlar ise zincir uzama reaksiyonlarına neden olan radikallerle kompleks yaptıklarından kırma reaksiyonu sürecinde tüketilirler. Burada özellikle vurgulanması gereken nokta antioksidanların pek çoğunun tek bir mekanizma üzerinden etki etmediği, birden fazla mekanizma ile asıl etkisini oluşturduğudur. Ek olarak oksidatif hasarın hızlı tamiri ki bu, peroksidize yağ asitlerinin membran lipitleri arasından temizlenmesi şeklinde olur, lipit peroksidasyonunu yavaşlatabilir. Membrandaki yapısal değişiklikler de peroksidabiliteye etki edebilir. Antioksidanlar sadece lipitlerin değil, belki okside olmaları çok daha zararlı olabilen DNA ve proteinlerin de korunmasında etkilidir (103,104,119,121,123-126).

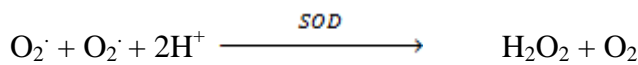
Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler.

1. Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme toplayıcı etkidir. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.
2. Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme bastırıcı etkidir. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.
3. Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki zincir kırıcı etkidir. Hemoglobinin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.
4. Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması onarıcı etkidir. Antioksidanlar, endojen kaynaklı veya eksojen kaynaklı olabilirler. Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar (101).

2.3.2.1. Enzimatik Antioksidanlar

2.3.2.1.1. Süperoksit Dismutaz (E.C.1.15.1.1) (SOD)

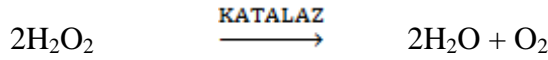
SOD süperoksit anyonunun hidrojen perokside dismutasyonunu katalizler.



SOD, glutatyon peroksidaz ve katalaz oksijen radikalleriyle oluşan hasara karşı başlıca enzimatik savunma mekanizmalarıdır. SOD ile O_2^- 'nin dismutasyonu ile H_2O_2 çıkarılması hücre için biyolojik avantaj sağlar. Hücreden H_2O_2 çıkarılması için SOD; katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri ile birlikte çalışır (127,128).

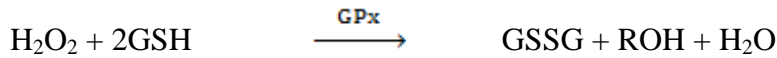
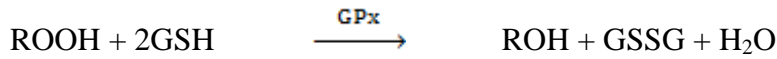
2.3.2.1.2. Katalaz (E.C. 1.11.1.16)

Katalaz (H_2O_2 : H_2O_2) oksidoredüktaz, (EC 1.11.1.6) yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Katalaz esas olarak peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Katalaz hidrojen peroksidi (H_2O_2) suya ve oksijene parçalar. Granulomatöz hücrelerde katalaz, hücreyi kendi solunumsal patlamasına karşı koruma işlevini de görür. Hücrede oluşan hidrojen peroksidi (H_2O_2) hidroksil serbest radikali (OH^*) oluşumunu önlemek için ortadan kaldırır (101).



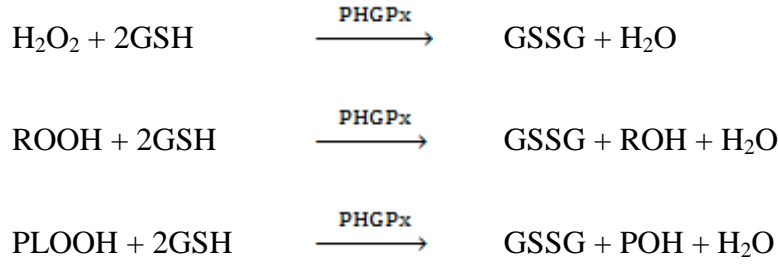
2.3.2.1.3. Glutatyon Peroksidaz (E.C 1.11.1.9)

Selenyum içeren peroksidazlara iyi bir örnek olan glutatyon peroksidaz (EC 1.11.1.19), GSH' ı kullanarak çeşitli hidroperoksitlerin (ROOH ve H_2O_2) redüksiyonunu katalizler ve bu sayede memeli hücrelerini oksidatif hasara karşı korur.



Memelilerde en az beş çeşit GPx izoenzimi bulunmaktadır. Her dokuda bulunmalarına karşın, her izoformun miktarı doku tipine göre değişir. Sitozolik ve mitokondrial glutatyon peroksidaz (GPx1), yağ asidi hidroperoksitlerini ve hidrojen peroksidi GSH kullanarak indirger. GPx1 ve fosfolipit hidroperoksit glutatyon peroksidaz GPx4 (PHGPx) da çoğu dokuda bulunur. GPx4 hem sitozolde hem de membran fraksiyonlarında lokalizedir. PHGPx peroksidize membran ve oksidize lipoproteinlerde oluşan fosfolipit, yağ asidi ve kolesterol hidroperoksitlerini direk

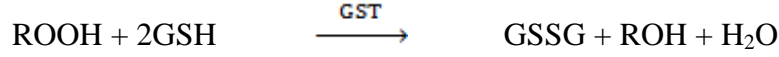
indirgeyebilir (132). GPx1 daha çok eritrosit, böbrek ve karaciğerde bulunurken; GPx4, renal epitel hücre ve testislerde bulunur. Sitozolik GPx2 (GPx-G1) ve ekstraselüler GPx3' e sırasıyla gastrointestinal sistem ve böbrek dışındaki çoğu dokuda az rastlanır. Bu aileye yeni katılan ve fare epidermisinde rastlanan GPx5' in selenyum bağlı olmaması ise ilginçtir.



GPx'in molekül ağırlığı 80.000 Dalton'dur. Dört identik subünitesinin her birinde enzim aktivitesi için esansiyel olan bir selenosistein (Sec) kalıntısı içerir (133). GPx substratını (H_2O_2) katalazla paylaşmasına rağmen, lipid ve diğer organik peroksitlerle etkili şekilde tek başına reaksiyona girer. Glutasyon redoks döngüsü düşük seviyeli oksidatif stres için ana savunma kaynağıdır ama Katalaz şiddetli oksidatif strese karşı korumada daha önemlidir (134). Katalaz' ın H_2O_2 ' ye düşük afinitesinin GPx' den daha düşük olması yüzünden uzun bir süre, hayvan hücrelerinde ve özellikle insan eritrositlerinde H_2O_2 ' nin detoksifikasyonunda esas antioksidan enzimin GPx olduğu düşünülmüştür (86).

2.3.2.1.4. Glutation-S-Transferaz (E.C.2.5.1.18)

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 "glutasyon-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 asid ve lineolat hidroperoksidleri olmak üzere lipid peroksidlerine karşı GST'lar Se-bağımsız GSH peroksidaz aktivitesi göstererek bir defans mekanizması oluştururlar.

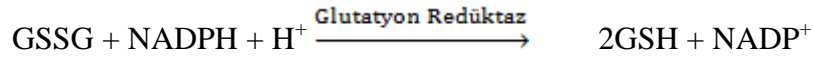


Homodimerik veya heterodimerik enzimler olan GST'lerin, araştırılan tüm canlı türlerinde bulunması bunların hayati öneminin göstergesidir. Bu enzimler katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahiptirler. Hem detoksifikasyon yaparlar hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. 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'lerin 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, bromsülfattalein, indosiyanın gren gibi), kolik asitler, steroid hormonlar, polisilik aromatik hidrokarbonlar bu proteinler tarafından bağlanıp taşınabilmektedirler (110).

2.3.2.1.5. Glutatyon Redüktaz

Glutatyon redüktaz (EC 1.6.4.2) molekül ağırlığı 120000 dalton olan 2 alt birimli bir proteindir (168,169). Hidroperoksitlerin redükte olması esnasında meydana gelen okside glutatyon (GSSG), Glutatyon Redüktaz' ın katalizlediği reaksiyonla tekrar redükte hale (GSH) dönüşür. Reaksiyonun gerçekleşmesi için NADPH' a ihtiyaç vardır (78,129-131).



Şekil 10. Glutatyon Redüktaz (101)

2.3.2.1.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

Mitokondriyal sitokrom oksidaz solunum zincirinin son enzimidir ve süperoksidi ($\text{O}_2^{\cdot-}$) detoksifiye eder.



Bu reaksiyon fizyolojik şartlarda sürekli cereyan eden normal bir reaksiyondur, bu yolla yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve bol miktarda enerji üretimi (ATP) sağlanır. Ancak çoğu zaman süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) üretimi mitokondriyal sitokrom oksidaz enziminin kapasitesini aşar ve bu durumda diğer antioksidan enzimler devreye girerek süperoksidin ($O_2^{\cdot-}$) zararlı etkilerine engel olurlar (101).

2.3.2.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

2.3.2.2.1. C Vitamini (Askorbik Asit)

Askorbat, altı karbonlu bir laktondur ve pek çok memeli türünde karaciğerde glukozdan sentezlenir. Ancak insanda askorbik asidin sentezlenmesi için esansiyel olan glukolakton oksidaz enzimi bulunmaz ve bu sebeple sentezi gerçekleşemez. C vitamini elektron donoru ve dolayısıyla indirgeyici ajandır. Bilinen bütün fizyolojik ve biyokimyasal hareketleri elektron donoru olmasından kaynaklanır (135-136).

Vitamin C (askorbik asit) organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak görev yapar. Kollajen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir. Tirozinden epinefrin sentezinin dopamin β -hidroksilaz basamağında görev alır. Tirozin yıkılımında p-hidroksi fenil pirüvatın homogentizata oksidasyonunda rol alır. Safra asitlerinin sentezindeki 7- α -hidroksilaz başlangıç basamağında rol alır. Lizinden karnitin sentezinde rol alır. Demirin emiliminde enzimatik olmayan bir yol ile indirgeyici olarak rol oynar, midede ferri demiri ferro demire indirger. İmmünite ve yara iyileşmesinde etkilidir. Askorbik asit, güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) ve hidroksil radikali (OH^{\cdot}) ile reaksiyona girerek onları ortamdaki temizler. Askorbik asit antioksidan etkisinin yanında oksidan etki de gösterir. Askorbik asit proteine bağlı ferri demiri uzaklaştırarak ya da doğrudan ferri demiri indirgeyerek Fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşmeye ve sonunda hidroksil radikali (OH^{\cdot}) oluşturmaya uygun ferro demire dönüştürür. Bu özelliğinden dolayı vitamin C, serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalisti veya bir prooksidan olarak değerlendirilir. Ancak bu tip etkisinin sadece düşük konsantrasyonlarda görüldüğü, yüksek konsantrasyonlarda güçlü bir antioksidan olarak etki ettiği kaydedilmiştir (101).

2.3.2.2.2. A Vitamini (β -Karoten)

β -karoten yağda çözünen bir antioksidan olarak serbest radikaller biyolojik hedeflerle interaksiyonuna girmeden önce direkt olarak onları yakalayabilir ve aynı zamanda zincir kıran bir antioksidan olarak etki ederek de peroksit radikalleri oluşumunu önler (128,137).

2.3.2.2.3. E Vitamini (α -Tokoferol)

a-Tokoferol yağda çözünen ve zincir-kırıcı bir antioksidandır. En önemli görevi oksijen serbest radikallerinin ataklarına karşı membran lipidlerindeki yağ asitlerini korumaktır. Mitokondri, endoplazmik retikulum ve plazma membran fosfolipitlerinin a-tokoferole karşı çok yüksek affinitesi vardır. Tokoferoller fenolik bir hidrojeni peroksidasyona uğramış bir doymamış yağ asidindeki serbest peroksit radikale aktarırlar (93). Bunun sonucunda serbest radikal zincir reaksiyonları kırılır.



Oluşan serbest a-tokoferol radikali bundan sonra yeni bir serbest peroksit radikaliyle reaksiyona girer. Böylece a-tokoferol kolay reversibl oksidasyona uğramaz. Kroman halkası ve yan zincir şeklindeki serbest olmayan radikal ürününe okside olur. Bu oksidasyon ürünü ikinci konumundaki hidroksil grubu üzerinden glukoronik asit ile konjugasyona uğrayarak safra yoluyla atılır (138).

Tokoferolün antioksidan etkisi yüksek oksijen konsantrasyonlarında etkilidir. Bundan dolayı en yüksek oksijen kısmi basınçlarına maruz kalan lipit yapılarında örneğin eritrosit ve solunum sistemi membranlarında etkileri belirgindir (139-140).

2.3.2.2.4. Polifenoller/Flavanoidler

Fenoller, aromatik halkaya bağı OH grubu içeren etkili antioksidanlardır, çünkü bu bileşiklerden oluşan radikaller, rezonans kararlılığına sahiptir, bu nedenle diğer radikallere göre etkin olmayan radikallerdir (86).

2.3.2.2.5. Transferin ve Laktoferrin

Transferin kanda demir taşıyan bir β -globindir. Laktoferrin ise dolaşımdaki serbest demiri düşük pH'larda bağlar (103,141).

2.3.2.2.6. Seruloplazmin

Seruloplazmin olasılıkla SOD'a benzer mekanizmayla etki gösterir. Ferro demiri (Fe^{2+}) ferri demire (Fe^{3+}) yükseltgeyerek Fenton reaksiyonunu ve böylece hidroksil radikali oluşumunu inhibe eder (101).

2.3.2.2.7. Albümin

Albümin kuvvetli şekilde bakır ve zayıf olarak da demiri bağlar. Yüksek konsantrasyonlarda (40-60 mg/ml) bulunur. Albumine bağı bakır, Fenton reaksiyonuna katılabilir fakat albumin yüzeyinde oluşacak olan OH radikali albumin tarafından temizlenir ve radikalın serbest solüsyona kaçmasına izin vermez. Aynı zamanda myeloperoksidaz türevi bir oksidan olan HOCl'i hızlı bir şekilde temizler (110).

2.3.2.2.8. Ürik Asit

Kuvvetli olarak demir ve bakır bağlar. Pek çok serbest radikali plazmadan temizler. C vitaminin oksidasyonunu engeller (110).

2.3.2.2.9. Bilirubin

Bilirubin süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır (101).

2.3.2.2.10. Melatonin

Kan-beyin bariyerini geçebilen lipofilik etkili güçlü bir antioksidandır. Serbest OH radikalını ortadan kaldıran bilinen antioksidanların en güçlüsü olarak kabul

edilmektedir. Antioksidan etkisi ile kanserin ilerleme ve gelişme safhalarını geciktirir (110).

2.3.2.2.11. Glutation (GSH)

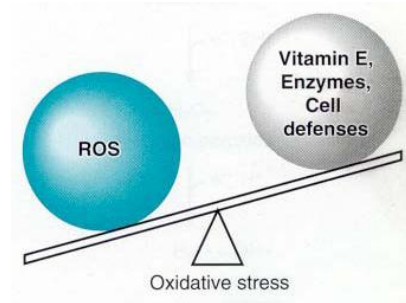
Glutasyon (GSH) karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç olmadan sentezlenebilen bir tripeptittir. Glutasyon (GSH) çok önemli bir antioksidandır, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol alır. Glutasyon (GSH) eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir (101).

2.3.3. Total oksidatif status/seviye (TOS)

Hücrede normal metabolik yollardaki enzimatik reaksiyonlarda enzimlerin aktif yerinde ara ürünler olarak devamlı şekilde serbest radikaller oluştuğunu biliyoruz. Bazen bu serbest radikal ara ürünler enzimlerin aktif yerinden sızmakta, moleküler oksijenle kazara etkileşerek serbest oksijen radikalleri oluşturmaktadırlar.

Hücrede oluşan reaktif oksijen türleri (ROS), "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinen mekanizmalarla ortadan kaldırılırlar.

Ancak bazen hücrel savunma mekanizması vasıtasıyla ortadan kaldırılardan daha fazla reaktif oksijen türleri (ROS) oluşabilir. Organizmada Hücrel savunma mekanizması vasıtasıyla ortadan kaldırılardan daha fazla reaktif oksijen türlerinin (ROS) meydana gelmesi oksidatif stres olarak tanımlanır (101).



Şekil 11. Oksidatif Stres

2.3.4. Total antioksidan status/seviye (TAS)

Total antioksidan kapasite (TAK)'yi gösterir. Normal koşullarda organizma, endojen ve eksojen 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 (146).

TAS/TAK'ye en büyük katkı plazmada bulunan antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada serbest demiri toplayan transferrin ve seruloplazmin gibi proteinler yanında serbest radikalleri kapan 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; glutationun askorbatı, askorbatın da tokoferolü yeniden aktive etmesi 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 (147, 148).

2.3.5. Oksidatif stres indeksi (OSI)

Total peroksitlerin, total antioksidanlara bölünmesiyle elde edilen oransal bir indekstir. OSI'nin yüksek olması oksidatif stresin arttığını gösterir (144,145).

$$OSI = \frac{TOS, \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./ L.}}{TAS, \mu\text{mol trolox Equiv./ L.} \times 10}$$

3) MATERYAL ve METOD

3.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Şanlıurfa ili, Şanlıurfa Eğitim ve Araştırma Hastanesi Ortopedi Servisinde tibia kırığı olan 9 kadın, 11 erkek toplam 20 hastadan ameliyattan 3 gün önce ve ameliyattan 3 gün sonra venöz kan örneği alındı. Aynı şekilde femur kırığı olan hastalardan 11 kadın, 9 erkek toplam 20 hastadan da ameliyattan 3 gün önce ve 3 gün sonra venöz kan örneği alınmıştır. Alınan venöz kanlar Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Biyokimya laboratuvarında 4000 rpm de 5 dakika santrifüj edildi ve serumlar daha sonra çalışılmak üzere -80 derecede depolandı. Hastaların anamnezinde kırık dışında herhangi bir şikayeti olmayan, fizik muayenesinde herhangi bir patoloji saptanmayan, klinik ve laboratuvar tetkiklerinde lokal veya sistemik hastalık tespit edilmeyen, sigara ve alkol gibi alışkanlıkları olmayan 20 erkek ve 20 kadın toplam 40 birey hasta grubu olarak seçildi. Hasta grubunun yaş ortalaması tibia kırığı hastalarının $28,35 \pm 8,39$, femur kırığı hastalarının $67,10 \pm 16,44$ idi.

Kontrol Grubu

Kontrol grubu olarak ise, fizik muayenesinde herhangi bir patoloji saptanmayan, klinik ve laboratuvar tetkiklerinde lokal veya sistemik hastalık tespit edilmeyen, alkol ve sigara kullanmayan, herhangi bir kanser risk faktörü taşımayan toplam 40 kişi kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Tibia kontrol 12 sağlıklı erkek ve 8 sağlıklı kadın yaş ortalaması $30,73 \pm 6,36$ dır. Femur kontrol ise 10 erkek, 10 kadın yaş ortalaması $65,20 \pm 14,40$ dır.

3.2. Kullanılan Araç Gereçler

1. Santrifüj (Hettich Universal 30 RF)
2. Derin dondurucu (New Brunswick Scientifici, C54285 model)

3. Vorteks (Nüve, NM 110 model, Türkiye)
4. Dijital pH-metre (Hanna, pH 211 model, Japon)
5. Hassas Terazi (Sartorius marka)
6. Otomatik Biyokimya Analizörü (Architect c4000, USA)
7. Otomatik Pipetler (Gilson, France)
8. Benmari (Nüve ST 402, Türkiye)
9. Spektrofotometre Küveti

3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

1. Sodyum Asetat (Merck®)
2. Asetik Asit (Merck®)
3. ABTS radikali (Ambresco®)
4. Hidrojen peroksit ((Merck®)
5. Etilen Glykol (Merck®)
6. Potasyum Hekzasiyano ferrat (II) (Merck®)
7. Sodyum Klorür (Merck®)
8. Sülfürik Asit Sodyum Klorür (Merck®)
9. Xylenol Orange (Merck®)
10. D-Sorbitol (Sigma®)
11. 4-Hidroksibenzoik Asit (Sigma®)
12. Ammonium iron(II) sulfate hexahydrate (Merck®)
13. Trizma Hydrochloride (Sigma®)
14. Tris Base (Merck®)
15. Glutasyon (Sigma®)
16. Mangan Klorür (Merck®)
17. Triton X-100 (Sigma®)
18. Glisil Prolin (Gly-Pro) (Sigma®)
19. Glassial Asetik Asit (Merck®)
20. Orthofosforik Asit (Merck®)
21. L-prolin (Sigma®)

3.4. Toplam Antioksidan Status (TAS) Düzeyi Ölçümü

Örneklerin total antioksidan status/seviye (TAS) düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm yöntemi örnekteki tüm antioksidan

moleküllerin renkli ABTS* katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikalın antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılır. Sonuçlar mmol Trolox Equivalent/L olarak ifade edildi (170).

3.5. Toplam Oksidan Status (TOS) Düzeyi Ölçümü

Örneklerin toplam oksidan status/seviye (TOS) düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyonla kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanıldı. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/L olarak ifade edildi (169).

3.6 Oksidatif Stres İndeksi Hesaplanması

Oksidatif Stresin bir göstergesi olarak gösterilen Oksidatif Stres İndeksi (OSI), Toplam Oksidan Status/Seviye (TOS) düzeylerinin Toplam Antioksidan Status/Seviye (TAS) düzeylerine oranının yüzde derecesi olarak ifade edilir. Örneklerin Oksidatif Stres İndeksi (OSI) hesaplanırken TAS düzeyleri 10 ile çarpılarak TOS düzeyleri ile birimler eşitlenir (189). Sonuçlar Arbitrary Units (AU) olarak ifade edildi.

$$\text{OSI} = \frac{\text{TOS, } \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./ L.}}{\text{TAS, } \mu\text{mol trolox Equiv./ L.} \times 10}$$

3.7. Prolidaz Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi

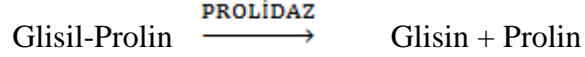
Bu konuda yapılan birçok çalışmada prolidaz enzim aktivitesi ölçümü yöntemi için en sık olarak Chinard tarafından tanımlanan ninhidrin tepkimesi kullanılmıştır (171,172).

Bu tepkime daha sonradan Myara ve arkadaşları tarafından bazı değişiklikler yapılarak optimize edilmiştir (173).

Bu yöntemde MnCl_2 (Mangan klorür) ile 30 dakika ön inkübasyon yapılarak aktive edilen enzim, Gly-pro (Glisil-prolin) substratı ile 30 dakika inkübe edilip, açığa çıkan prolin miktarı ölçülerek enzim aktivitesi hesaplanmıştır (174).

3.7.1. Serum Prolidaz Aktivitesi Ölçüm Yöntemi (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.



Deney 3 basamaktan oluşur:

1. Enzim aktivasyonu için; Numunenin Tris-HCl ve MnCl₂ ile preinkübasyonu
2. Örnek ile glisil - prolinin inkübasyonu
3. Serbestleşen prolinin spektrofotometrik olarak ölçülmesi

3.7.2. Prolidaz Aktivitesi Ölçümünde Kullanılan Ayraçlar

1. Ön inkübasyon çözeltisi: pH:7'de 50 mmol/L Tris HCl tamponu içerisinde, 1 mmol/L GSH, 50 mmol/L MnCl₂ çözdürüldü.
2. Substrat çözeltisi: Öninkübasyon çözeltisi içerisinde 144 mmol/L glisil-prolin dipeptidi çözdürüldü. Ancak substrat çözeltisi için 50 mmol/L pH: 7.8'lik Tris HCl tampon kullanıldı.
3. Tepkimeyi durdurma çözeltisi: Glasiyal asetik asit kullanıldı.
4. Ninhidrin çözeltisi (modifiye (optimize) chinard çözeltisi): 0.5 mol/L'lik ortofosforik asit içerisinde 3 g/dL olacak şekilde ninhidrin manyetik karıştırıcı ve ısı yadımıyla 70 °C'de eritildi.
5. Prolin standardı: 5 mg L-prolin bir miktar deiyonize su içerisinde çözdürülüp son hacmi 100 mL ye tamamlandı.

İşlem

- a) Yöntemde, 100 µL serum ile 100 µL serum fizyolojik karıştırılıp bu karışımdan 25 µL alınıp, 1 mmol/L GSH ve 50 mmol/L MnCl₂ pH 7 'de

50 mmol/L Tris HCl tampondan oluşan ön inkübasyon solüsyonundan 75 µL alınarak 37 °C' de 30 dakika inkübe edildi.

- b) Karışımın üzerine 144 mmol/L Gly-pro içeren substrat çözeltisinden 100 µL eklenerek 37 °C' de 5 dakika inkübe edildi.
- c) Daha sonra inkübasyonsuz (sıfır zaman) tüpleri hazırlandı. İnkübasyonlu tüplere inkübasyonun sonunda 1mL glasiyal asetik asit ilave edilerek reaksiyon durduruldu. İnkübe edilmemiş örnek bulunan sıfır zaman tüplerine de aynı hacimde 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.
- e) Ninhidrin çözeltisinin eklenmesinden sonra tüplerin ağzı kapatılarak 90 °C' de su banyosunda 20 dakika bekletildi. Daha sonra buzlu su banyosunda soğutulup beklenmeden 515 nm'deki absorbanslar substratın katılmadığı örnek körüne karşı okutuldu. Ölçülen prolin derişimleri standart olarak kullanılan 5 mg/dL'lik L-prolin ile karşılaştırılarak hesaplandı. Prolidaz enzim aktivitesi birimi olarak, enzimin Gly-Prolin substratını parçalayarak prolin oluşturduğu basamaktaki 1 dakikada oluşan µmol/L cinsinden prolin olarak tanımlandı (151,175-178).

3.7.3. Prolidaz Aktivitesinin Hesaplanması

$$\text{Prolidaz Enzim Aktivite Düzeyi:} = \frac{(A-B) \times [S]}{S}$$

A: İnkübasyon tüpü absorbans değeri

B: Sıfır zaman tüpü absorbans değeri (inkübasyonsuz)

[S]: Standart konsantrasyonu (µmol/L)

S: Standart absorbans değeri

$$\text{Prolidaz enzim aktivite düzeyi:} = \frac{(A-B) \times [S]}{S} \text{ 1 litrede 1 dakikada oluşan } \mu\text{mol}$$

prolin konsantrasyonu.

Serumda aktivite tanımı: 1 μ mol substratı 1 dakikada değişikliğe uğratan enzim miktarı olarak yapılmıştır. Birim U/L olarak tanımlanmıştır.

3.8. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS Versiyon 11.5 (SPSS Inc. Chicago USA) bilgisayar programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Grupların ortalamaları arasındaki farkın önemi One-Way ANOVA testi ile karşılaştırılmıştır. Ayrıca parametreler arası korelasyon Pearson korelasyon testi ile incelendi.

4) BULGULAR

Demografik ve karakteristik bilgiler Tablo 3 ve 4'de verilmektedir. Tablo 3 ve 4'de hasta ve kontrol gruplarında yaş, ağırlık, cinsiyet ve BMI değerlerinin birbirine yakın olduğu görülmektedir.

Tablo 3. Tibia Hasta ve Tibia Kontrol gruplarının Demografik ve Karakteristik bilgilerinin Karşılaştırılması

	Tibia (n=20) X± S.D.	Tibia Kontrol(n=20) X ± S.D.	P
Cinsiyet (E/K)	11/9	12/8	0,371
Yaş (Yıl)	28,35 ± 8,39	30,73 ± 6,36	0,227
Ağırlık (Kg)	70,05 ± 10,60	69,00 ± 11,09	0,727
Boy (cm)	168,65 ± 6,41	168,05 ± 7,85	0,769
BMI (kg/m2)	24,74 ± 4,48	24,25 ± 2,88	0,608

X: Ortalama S.D.: Standart deviation

Tablo 4. Femur Hasta ve Femur Kontrol gruplarının Demografik ve Karakteristik bilgilerinin Karşılaştırılması

	Femur (n=20) X± S.D.	Femur Kontrol(n=20) X ± S.D.	P
Cinsiyet (E/K)	9/11	10/10	0,752
Yaş (Yıl)	68,35 ± 13,56	66,20 ± 10,51	0,579
Ağırlık (Kg)	69,10 ± 17,47	73,50 ± 7,24	0,305
Boy (cm)	165,20 ± 8,81	165,40 ± 5,30	0,931
BMI (kg/m2)	25,38 ± 6,42	26,86 ± 2,35	0,342

X: Ortalama S.D.: Standart deviation

Tablo 5'de Tibia kırığı preop ve postop hastalarının ve kontrol grubunun prolidaz enzim aktiviteleri ile oksidan-antioksidan parametrelerini göstermektedir. Tabloda da görüldüğü gibi tibia kırığı hastalarında prolidaz enzim aktivitesi postop hastaları preopa göre yükselmiştir. Ancak postoplu hastalar kontrol grubuna göre düşük derecede anlamlı bulunmuştur. Buna karşın hastaların antioksidan parametreleri olan TAS enzim düzeyi tibia kırığı postop hastalarında preop hastalarına göre düşme görülmüştür. Ancak kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde

düşmüştür. Oksidan parametreleri olan TOS, tibia kırığı hastalarında postop dönemde preop döneme göre yükselmişken, kontrol grubuna göre çok anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Toplam oksidan statusun, toplam antioksidan statusa oranının yüzde ifadesi olarak hesaplanan OSI Tibia kırığı hastalarında postop dönemde preop döneme göre yükselmişken, kontrol grubuna göre çok anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.

Tablo 5. Tibia kırığı hastaları ve kontrol grubunun oksidan – antioksidan ve Prolidaz Enzim aktiviteleri

Testler	Tibia Preop (n=20) Ortalama ± S.D.	Tibia Postop (n=20) Ortalama ± S.D.	Tibia Kontrol Grubu (n=20) Ortalama ± S.D.	P
Prolidaz U/L	724,47 ± 72,63	727,67 ± 126,44 c*	665,01 ± 76,27	0,072
TOS, µmol H ₂ O ₂ Eqv./L	21,21 ± 5,61a**b***	25,56 ± 5,36c***	13,01 ± 1,92	<0,001
TAS, mmol Troloks Eqv./L	0,99 ± 0,16a**	0,85 ± 0,15c**	1,04 ± 0,17	<0,001
OSI, Arbitrary Unit	2,21 ± 0,73a***b***	3,12 ± 0,90c***	1,27 ± 0,23	<0,001

a: Tibia preop ve Tibia postop arasında fark var

b: Tibia preop ve Kontrol arasında fark var

c: Tibia postop ve Kontrol arasında fark var

*** = P<0.001

** = p<0.01

* = p<0.05

Tablo 6 Femur kırığı preop ve postop hastalarının ve kontrol grubunun prolidaz enzim aktiviteleri ile oksidan -antioksidan parametrelerini göstermektedir. Tabloda da görüldüğü gibi femur kırığı hastalarında prolidaz enzim aktivitesi postop hastalarda preopa göre yükselmiştir. Ancak postoplu hastalar kontrol grubuna göre düşük derecede anlamlı bulunmuştur. Buna karşın hastaların antioksidan parametreleri olan TAS enzim düzeyi femur kırığı postop hastalarında preop hastalarına göre düşme görülmüştür. Ancak kontrol grubuna göre de düşmüştür. Oksidan parametreleri olan TOS, femur kırığı hastalarında postop dönemde preop döneme göre yükselmişken, kontrol grubuna göre çok anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Toplam oksidan statusun, toplam antioksidan statusa oranının yüzde ifadesi olarak hesaplanan OSI femur kırığı hastalarında postop dönemde preop döneme göre yükselmişken, kontrol grubuna göre çok anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur.

Tablo 6. Femur kırığı hastaları ve kontrol grubunun oksidan – antioksidan ve Prolidaz Enzim aktiviteleri

Testler	Femur Preop (n=20) Ortalama ± S.D.	Femur Postop (n=20) Ortalama ± S.D.	Femur Kontrol Grubu (n=20) Ortalama ± S.D.	P
Prolidaz U/L	672,72 ± 73,48a*	729,39 ± 88,70	700,69 ± 18,34	0,036
TOS, µmol H ₂ O ₂ Eqv./L	15,92± 2,22a*b**	18,09 ± 3,85c***	12,77 ± 2,82	<0,001
TAS, mmol Troloks Eqv./L	1,02 ± 0,19 a**	0,86 ± 0,14c***	1,07 ± 0,17	0,001
OSI, Arbitrary Unit	1,60 ± 0,33a*** b**	2,16 ± 0,61c***	1,19 ± 0,21	<0,001

a: Femur preop ve Femur postop arasında fark var

b: Femur preop ve Femur kontrol arasında fark var

c: Femur postop ve Femur kontrol arasında fark var

*** = P<0.001

** = p<0.01

* = p<0.05

Tablo 7. Tibia preop grubunda Prolidaz, Total Antioksidan Seviye, Total Oksidan Seviye ve OSI arasındaki korelasyon tablosu

		TAS	PROLiDAZ	OSi
TOS	r	-,196	-,069	,881
	p	,408	,772	,000
TAS	r		,085	-,607
	p		,721	,005
PROLiDAZ	r			-,094
	p			,694

Tablo 8. Tibia post-op grubunda Prolidaz, Total Antioksidan Seviye, Total Oksidan Seviye ve OSI arasındaki korelasyon tablosu,

		TAS	PROLiDAZ	OSi
TOS	r	-,338	-,157	,856
	p	,145	,509	,000
TAS	r		,058	-,742
	p		,809	,000
PROLiDZ	r			-,186
	p			,432

Tablo 9. Tibia kontrol grubunda Prolidaz, Total Antioksidan Seviye, Total Oksidan Seviye ve OSI arasındaki korelasyon tablosu,

		TAS	PROLiDAZ	OSi
TOS	r	,166	,154	,633
	p	,484	,517	,003
TAS	r		,323	-,648
	p		,164	,002
PROLiDAZ	r			-,073
	p			,761

Tablo 10. Femur pre-op grubunda Prolidaz, Total Antioksidan Seviye, Total Oksidan Seviye ve OSI arasındaki korelasyon tablosu,

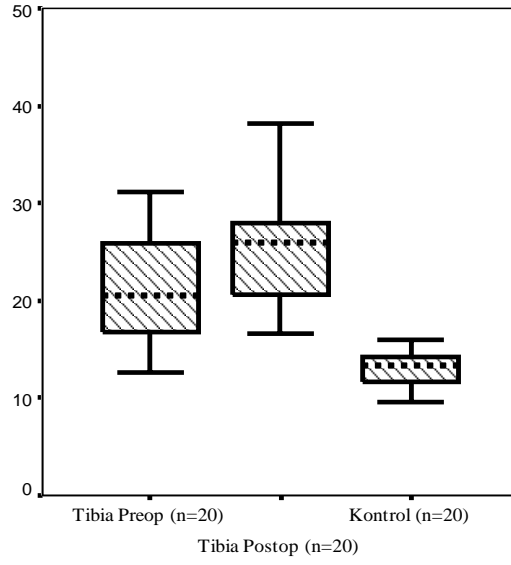
		TAS	PROLiDAZ	OSi
TOS	r	,263	-,082	,473
	p	,263	,731	,035
TAS	r		-,062	-,708
	p		,797	,000
PROLiDAZ	r			,007
	p			,975

Tablo 11. Femur post-op grubunda Prolidaz, Total Antioksidan Seviye, Total Oksidan Seviye ve OSI arasındaki korelasyon tablosu,

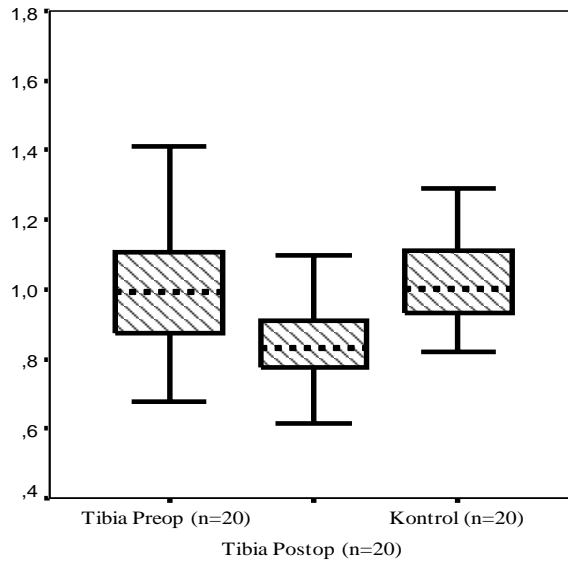
		TAS	PROLiDAZ	OSi
TOS	r	-,120	,334	,812
	p	,614	,150	,000
TAS	r		,345	-,660
	p		,136	,002
PROLiDAZ	r			,002
	p			,994

Tablo 12. Femur kontrol grubunda Prolidaz, Total Antioksidan Seviye, Total Oksidan Seviye ve OSI arasındaki korelasyon tablosu,

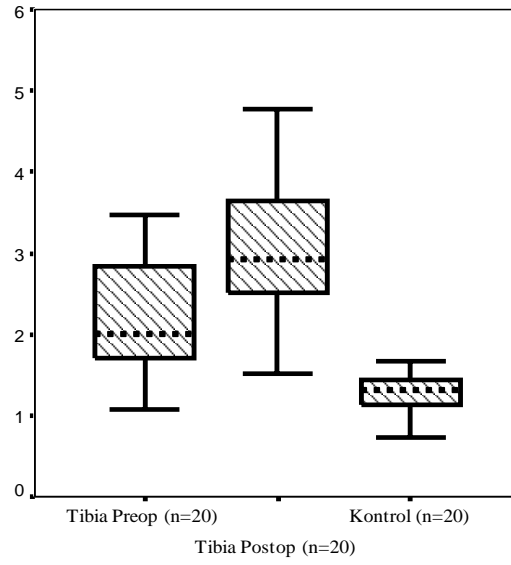
		TAS	PROLiDAZ	OSi
TOS	r	,631	-,037	,652
	p	,003	,878	,002
TAS	r		,104	-,163
	p		,662	,492
PROLiDAZ	r			-,139
	p			,560



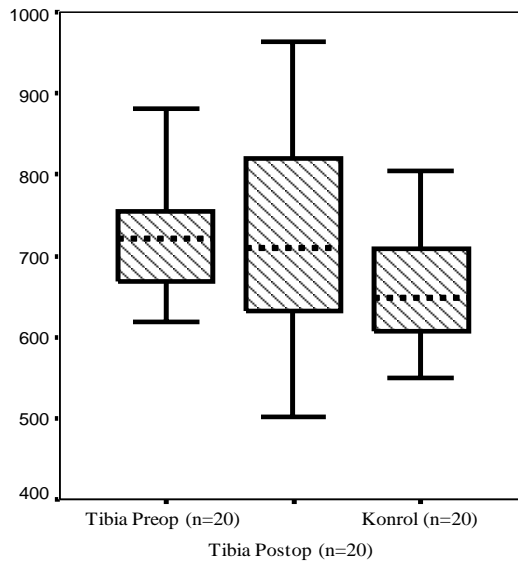
Şekil 12. Tibia kırığı preop ve postop hastaları ile tibia kontrol grubunda Total Oksidatif Stres kapasitesi arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları



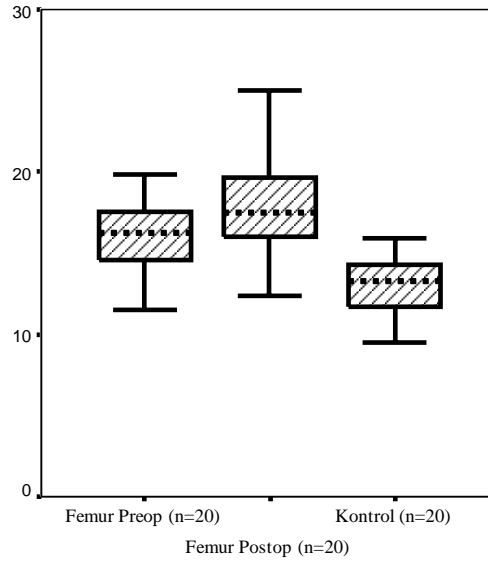
Şekil 13. Tibia kırığı preop ve postop hastaları ile tibia kontrol grubunda Total Antioksidan Seviye seviyesi arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları



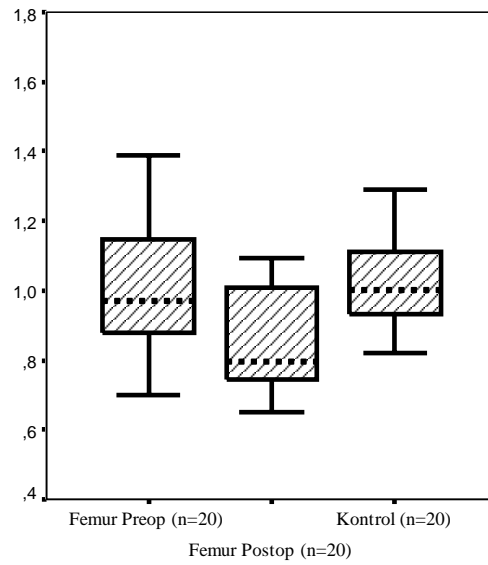
Şekil 14. Tibia kırığı preop ve postop hastaları ile tibia kontrol grubunda Oksidatif Stres İndeksi arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları



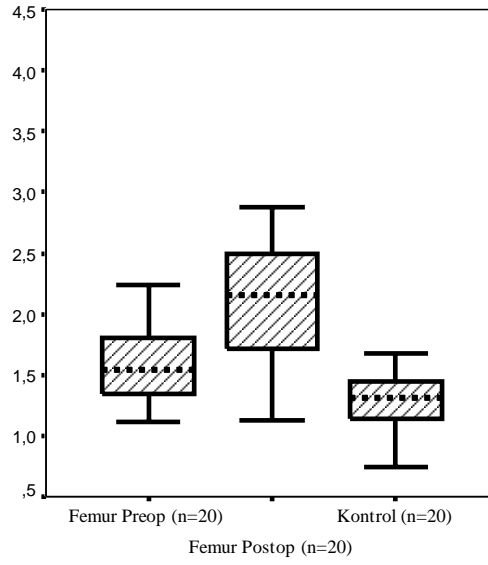
Şekil 15. Tibia kırığı preop ve postop hastaları ile tibia kontrol grubunda Prolidaz Enzim Aktivitesi arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları



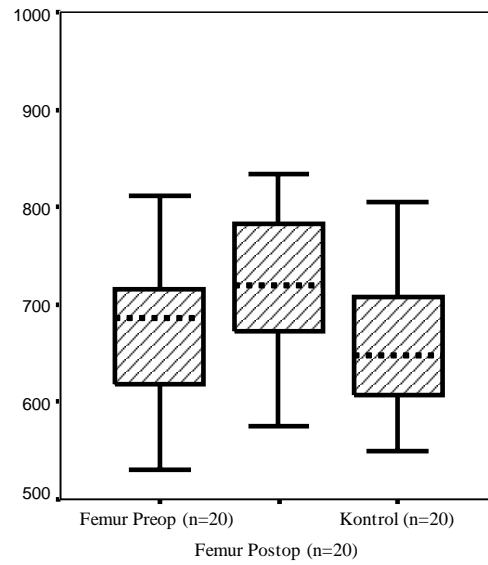
Şekil 16. Femur kırığı preop ve postop hastaları ile femur kontrol grubunda Total Oksidatif Stres arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları



Şekil 17. Femur kırığı preop ve postop hastaları ile femur kontrol grubunda Total Antioksidan Seviye arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları



Şekil 18. Femur kırığı preop ve postop hastaları ile femur kontrol grubunda Oksidatif Stres indeksi arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları



Şekil 19. Femur kırığı preop ve postop hastaları ile femur kontrol grubunda Prolidaz Enzim Aktivitesi arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları

5) TARTIŞMA ve SONUÇ

Son yüzyıldaki tüm bilimsel alanlarda gözlenen gelişme ve ilerlemelerin sonucu olarak, insanların yaşam süreleri uzamış ve sosyal standartlarında artma meydana gelmiştir. İleri yaş insan grubunda kemik kalitesinin azalmasına bağlı olarak, femur kırığı daha basit travmalarla ortaya çıkabilmektedir.

Femur kırıkları daha çok 65 yaş üstü insanlarda görülür. Ortalama yaş 66-76 yılları arasındadır (27-30).

Değişik serilerde, kadınlarda erkeklere oranla 2 ile 8 kat daha fazla görüldüğü bildirilmiştir. Kadınlarda sık görülmesinin nedenleri arasında metabolik kemik hastalıklarına daha sık maruz kalmaları, pelvis yapısının daha geniş ve femur boyun-cisim açısının daha dar olması, daha uzun yaşamaları gösterilmiştir. Kemik mineral yoğunluğu 0,6 gr/cm altında olan kadınların % 16.6' sında, intertrokanterik kırık oluşmaktadır. Femur boyun kırıklarından 4 kat daha sık görülmektedirler (15-20).

Femur vücudun en büyük ve alt ekstremitenin major yük taşıyan kemiği olması nedeniyle kırıkları önemli morbiditeye sebep olmaktadır. Ayrıca sıklıkla yüksek enerjili travmaya bağlı olarak geliştiği için ek yaralanmalarla birlikte görülme olasılığı fazladır. Dolayısıyla izole femur cisim kırıklarında bile mortalite yüksektir (4).

Tibia uzun kemikler içinde en sık kırılan kemiktir. Fakat bu kırıkların genelde basit kırık olması ve iyileşmeye meyillerinin fazla olması nedeniyle fazla önemsenmemektedir (158). Büyük ağırlık taşıyan eklemi ilgilendiren tibia üst uç kırıkları, sıklıkla fonksiyonel bozuklukla sonuçlanan ciddi hasarlanmalardır. Proksimal tibia kırıkları iki alt başlıkta incelenebilir: eklemi ilgilendiren ve eklemi ilgilendirmeyen. Eklemi ilgilendiren kırıklar, tibia platosunun veya tibia kondilerinin kırıklarıdır, dizin hizalanmasını, stabilitesini ve hareketini etkiler. Eklemi

ilgilendirmeyen tibia proksimal metafiz veya cisim kırıkları, dizin hizalanmasını, stabiliteyi ve gücü etkiler (159).

Kollajenler hayvansal dokuların ana bileşiği olup, vücutta en fazla bulunan proteindir. Diğer birçok dokuda olduğu gibi, karaciğerde de fibroblastlar tarafından sentezlenirler. Hepatositler ve presinüzoidal hücrelerin de kollajen oluşuna katıldığı düşünülmektedir. Kollajen, bağ doku iskeletinin temelini sağlar. Birçok hücre bir kollajen matriksin içinde bulunur (179).

Kollajen lifleri kemik, diş, kırık, tendon ve deri gibi doku ve organların destek proteini olup insan vücudunda geniş ölçüde yer alır ki bu da bize kollajenin organizmamızda önemini gösterir (185).

Hücre, kollajen ilişkisi; inflamasyon, hücre hareketi, yara iyileşmesi, trofoblast implantasyonu ve fetal gelişim için temeldir. Kollajenin aminoasit kompozisyonu, %33 glisin, %20-25 prolin ve hidroksprolin, %5-11 lizin ve hidrosilizinden oluşur. Ayrı genlerden oluşturulan en az 24α zincirinden oluşan, 15 tane kollajen vardır. Tip 1,2,3,5 ve 11 fibriler kollajen olarak isimlendirilir. Yetişkinlerdeki kollajenin %85-90'ı tip 1, %8-11'i tip 3, %2-4'ü tip 5 içerir. Kollajen sadece pek çok organ ve dokunun değil aynı zamanda ekstrasellüler matriksin de yapısal bir bileşeni olması nedeniyle birçok organ, doku ve hücre patolojisinden de etkilenmektedir. Ayrıca damarların duvarlarında özellikle media tabakasında, farklı tip damarlarda oranları değişmek üzere, kollajen fibriller bulunmaktadır. Yani damarlarımız büyük ölçüde kollajen doku içermektedir. 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 art arda birkaç reaksiyonla iminodipeptidlere ve bunlar da serbest aminoasitlere ayrılır. Bu aminoasitler genel sistemik aminoasit havuzuna katılmadan tekrar kollajen yapımına girer. Prolin ve hidroksprolinin her biri kollajendeki amino asitlerin % 10'unu oluşturur. Fakat hidroksprolin kollajen sentezine katılmadığından ve polipeptid zincirinin posttranslasyonel modifikasyonu sonucu prolinin hidrosillenmesiyle ortaya çıktığından dolayı kollajendeki amino asitlerin % 20 kadarını prolinin oluşturduğu kabul edilir. Kollajen yıkımının son basamağı prolidaz aracılığı ile

olmaktadır. Prolidaz kollajen sentezi ve hücre gelişiminde rol alan prolinin dönüşümünde önemli rol almaktadır.

Prolidaz beslenme ile alınan proteinlerden ve vücuttaki depo kollajeninden imino asitlerin geri kazanılmasında önemli rol oynar. Prolidaz enzimi (EC 3.4.13.9) - C ucunda protein katabolizmasında son basamakta oluşan prolin veya hidroksiprolinin imino azotunu içeren peptid bağı bulunduran bileşiklerin (X-Prolin veya X-Hidroksiprolin) hızlı hidrolizini katalizleyen tek enzim olduğu için spesifitesi yüksektir. Bu enzimin aktivitesinin eksikliği durumu, oldukça nadir karşılaşılan otozomal resesif geçişli kalıtsal bir hastalığa yol açmaktadır. Prolidaz eksikliği prolinin normal döngüsündeki bozulmayla sonuçlanır. Prolidaz eksikliğinde büyük miktarda prolin ve hidroksiprolin üre ile dışarı atılır. İmino peptidler gibi aminoasitleri bağlar ve sonuç olarak toplam prolin eksikliği oluşur. Prolidaz enzim aktivitesi eritrosit, lökosit ve fibroblastlarda çok düşüktür. Etkilenen hasta bireylerde prolidaz enzim aktivitesi saptanamaz. İmino peptiduri aynı zamanda raşitizm, hiperparatiroidizm ve paget hastalığı gibi durumlarda tanımlanır. Fakat İmino peptidüri prolidaz eksikliğinde çok daha yüksektir. Prolidaz eksikliği cilt ve diğer kollajen dokularındaki anormallik sendromuyla sonuçlanır. Etkilenen bölümler idrara aşırı miktarda imino peptid salgırlar ve bu peptidler prolidaz için substrat olarak görev yaparlar. Prolidaz geni başka bir kalıtsal rahatsızlık olan miyotonik distrofi ile ilgili olması açısından önemlidir. Prolidaz eksikliği kronik deri ülseri, tekrarlanan enfeksiyonlar, mental retardasyon, splenomegali, karakteristik bir yüz görünümü (örneğin zayıf saçlar yassı burun düz alın kalın dudaklar hipertelarizm) gibi çeşitli klinik bulgularla bağlantılıdır. İlk defa 1968 yılında Goadma tarafından tanımlandı. 1974'de Powell ve arkadaşları prolidaz eksikliği olduğunu gösterdi (179).

Prolidaz enzimi ile açığa çıkan prolin ve hidroksiprolin amino asitleri, kollajen dokusunun yaklaşık % 25'ini oluşturmakta ve bağ dokusunun devamlılığının sağlanması için ise gereklidirler . Prolidaz enzimi; intestinal mukoza, böbrek, karaciğer, beyin, kalp, uterus, timus, eritrositler, lökositler, fibroblastlar ve plazma gibi pekçok dokuda bulunmaktadır. Geniş doku dağılımı olması prolidaz enzim

aktivitesindeki değişimlerin pekçok hastalığın gelişiminde ve sonucunda önem kazanabileceğini düşündürmektedir (179).

Prolidaz enzim aktivitesi ölçümü yöntemi için en sık olarak Chinard tarafından tanımlanan ninhidrin tepkimesi kullanılmaktadır (171).

Bu tepkime daha sonradan Myara ve ark. tarafından bazı değişiklikler yapılarak optimize edilmiştir (173). Bu yöntemde $MnCl_2$ ile 24 saat ön inkübasyon yapıp aktive edilen enzim, Gly-Pro substratı ile ($K_m = 2.9$ mM) (180) 30 dakika inkübe edilip, açığa çıkan prolin miktarı ölçülerek enzim aktivitesi hesaplanmaktadır. Bu metotta daha sonra Ömer Özcan ve ark. tarafından optimize edilmiştir. Gerekçeside şu şekilde açıklanmıştır: Prolidaz enzimi aktivitesi ölçümlerinde gözden kaçan, ortamda var olan ve substratın parçalanması ile de açığa çıkan prolin amino asidinin enzimi inhibe etme riskinin varlığıdır. Çünkü prolinin prolidaz enzimini serumda fizyolojik olarak bulunduğu konsantrasyonlarda güçlü bir şekilde inhibe ettiği kanıtlanmıştır (176).

Bu nedenle biz de bu çalışmamızda bu optimize metodu kullanmayı tercih ettik. Prolidaz kollajen yapısındaki prolinin glisil ile yaptığı peptid bağını yıkan tek enzim olmasından dolayı prolidaz aktivitesinin kollajen turnover hızı ile direkt olarak ilişkili olmasını bekleriz (152).

İyidoğan ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda serum prolidaz aktivitesinin klinik laboratuvarlarda kemik yapım ve yıkımının bir göstergesi olabileceğini tespit etmişlerdir (181). Bulgularımız ışığında ise hasta grubunda tibia kırığı hastalarında prolidaz enzim aktivitesinde anlamlı artış görülürken, femur kırığı hastalarında preop dönemde azalırken postop dönemde artış görülmüştür. Zuyderhoulft ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kemik hastalıklarında hiçbir zaman yüksek prolidaz değerine rastlanmadığını belirtmiştir (182). Ancak bulgularımız ışığında, hasta grubunda tibia kırığı hastalarında prolidaz enzim aktivitesinde anlamlı artış görülmüştür. Fakat femur kırığı hastalarında preop dönemde azalırken postop dönemde artış görülmüştür.

Camhson ve arkadaşları prolidaz eksikliği olan hastalarda immunodipeptidüri olduğunu göstermiştir. Chamson ve grubu prolidaz eksikliğinde en önemli değişikliğin kollajen yıkımının hızla artması olduğunu saptamışlardır. Bu olayın gerçekte bağ dokusu hastalığının değil, kollajen biosentezinin azalan prolin havuzu tarafından kısıtlanmasından kaynaklandığını düşünmektedirler (183).

Altındağ ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada dizde osteoartriti olan hastalarda serum prolidaz aktivitesinin kontrol grubuna göre azalmış olduğu tespit edilmiştir (184).

Oksidatif stresin oluşabilmesi için ya serbest radikaller artmalı ya da antioksidan savunma mekanizmaları zayıflamalıdır. Cerrahi girişimler oksidatif strese yol açarlar. Ameliyat öncesi aralarında oksidan stres olarak herhangi bir fark bulunmayan her iki hasta grubunda da, ameliyat sonrasında TAS değerlerinde literatürle uyumlu olarak anlamlı derecede düşme saptanmıştır (187).

Reaktif oksijen metabolitleri yaşlanmadan, nörolojik hastalıklar ve kanser gibi pek çok hastalıktan sorumlu tutulmuştur. Pekçok cerrahi branşta, oluşmuş patolojilerin serbest oksijen radikalleriyle olan ilgileri, antioksidan etkileri olduğu bilinen maddelerin tedavide ya da profilakside kullanılabilirliği, iskemik önkoşullandırma (ischemic preconditioning), kontrollü reperfüzyon ve nötrofil terapisi gibi tedavi stratejileri araştırılmakta ve tartışılmaktadır. Organizma, gelişen oksidatif hasara karşı kendini koruyabilecek antioksidan mekanizmaya da sahiptir. Son yıllarda serbest oksijen radikallerinin doku hasarı üzerindeki etkileri konusunda birçok çalışma yapılmıştır. Romatoid artrit benzeri immünolojik kökenli hastalıklarda aterosklerozda, birçok kanser ve iskemiye bağlı gelişen kardiyak patolojilerde artmış serbest oksijen radikali etkilidir. Normal konsantrasyonlarda hücrelerin birçok fizyolojik fonksiyonuna aracılık eden serbest radikaller, hücrelerin antioksidan sistemleri tarafından inaktive edilir. Süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil radikali, nitrik oksit en önemli serbest radikallerdir. Serbest radikaller ve antioksidan sistemler arasında doğal bir denge vardır. Dengenin serbest radikaller tarafına kayması sonucu hasar ya da hücre ölümü gerçekleşir. Oksijen radikallerinin fazla olduğu etkilerin toplamı oksidatif stres olarak adlandırılır. Kunt ve ark ameliyat öncesinde, ameliyat esnasında ve ameliyat sonrasında aldıkları kan örneklerinde

oksidan miktarını belirlemek için oksidatif stres indeksi ve total peroksit, antioksidan miktarını belirlemek için total antioksidan kapasite miktarlarını ölçmüşlerdir. Ameliyat sonrası ve sonrasında oksidatif stres indeksi, peroksit miktarının anlamlı derecede yükseldiğini ve total antioksidan kapasite' nin anlamlı derecede düştüğü saptamışlardır (187).

Bizim çalışmamızda ise tibia ve femur kırıklarında OSI değeri artmış, TAS değeri azalmıştır. Bu da literatürle uyum göstermektedir. Vücutta meydana gelen kırık oksidatif stresi arttırmaktadır. TOS değeri ise hem tibia hem de femur kırıklarında anlamlı derecede yükselmiştir. Bir kemik kırıldığı zaman kırık bölgesinde arteriyel vazokonstriksiyon gelişmektedir. Bunu takiben geçici bir iskemik periyot, arteriyel vazo-dilatasyon ve kırık bölgesinde reperfüzyonda bir artış olmaktadır (Durak ve ark., 1996; Göktürk, 1997; Gurley ve Roth, 1992; Keskin ve ark., 1999).

Norazlina ve ark. (2002), serbest radikallerin osteoblastlar üzerinde sitotoksik etki gösterdiğini bildirmektedirler. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve etki mekanizmaları kırık iyileşmesi üzerine de olumsuz etkilerinin bulunabileceğini düşündürmektedir (Garrett ve ark., 1990; Koveshnikov ve Pikaliuk, 1993; Turek ve ark., 2003).

Ayrıca ekstremitelerin ortopedik operasyonlarında kanamanın azaltılması, anatomik yapıların detaylı şekilde görünmesi amacıyla sıklıkla turnike uygulamaları yapılmaktadır. Turnike uygulamaları sonrası ve sonrasında dokularda iskemi-reperfüzyon ve serbest oksijen radikalleri oluşmaktadır (Serin ve ark., 1998). Serin ve ark. (1998), ratlarda yaptıkları bir çalışmada, iskemi ve iskemi-reperfüzyon hasarında serbest radikaller ve bu hasara karşı vücutta koruyucu bazı değişikliklerin oluştuğunu ve bu değişikliklerden kan, kemik ve kas dokuları içerisinde en az etkilenen dokunun kas dokusu olduğunu bildirmişlerdir. Kırık iyileşmesi için çok önemli olan başlangıç fazında (ilk beş gün) lökosit, makrofaj ve mast hücreleri gibi inflamatuvar hücreler kırık bölgesine ulaşmaktadır. Polimorfonükleer lökositlerin aktivasyonu ile üretilen serbest oksijen radikallerinin granülasyon dokusunu bozduğu, yara iyileşmesini geciktirdiği bildirilmektedir (Durak ve ark., 1996; Engle ve ark., 1998; Göktürk, 1997; Keskin ve ark., 1999; Seyama, 1993).

Lipid peroksidasyonunun osteoklastları direkt olarak aktive ederek kemik rezorpsiyonunu artırdığı bildirilmektedir (Garrett ve ark., 1990; Key ve ark., 1990; Norazlina ve ark., 2002; Suda, 1991). Avitable ve ark. (1996), antioksidan sistemin düşük aktivitesi ve kemik demineralizasyonu ile serbest radikal düzeyindeki artış arasındaki ilişkiden bahsetmişlerdir. Ima-Nirvana ve ark. (1999), ve Yee ve Ima-Nirvana (1998), E vitamininin antioksidan özelliği nedeniyle kemik rezorpsiyonu ve kaybını azalttığını bildirmişlerdir. Sergeev ve ark. (1987; 1990), besinlerde yetersiz vitamin E bulunan ratlarda kalsiyum emiliminin ve kemiklerdeki kalsiyum depolanmasının azaldığını bildirmişlerdir. Basu ve ark. (2001), Cohen ve Meyer (1993) ve Leveille ve ark. (1997), oksidatif stresin artışıyla kemik dansitesindeki azalma arasında ilişki bulunduğunu bildirmişlerdir. Morton ve ark. (2001), serbest radikal toplayıcısı olan Vitamin C'nin kemik mineral dansitesinde yararlı etkiler gösterdiğini bildirmişlerdir. Göktürk (1997), sıçanlarda yaptığı bir çalışmada serbest oksijen radikallerinin kırık iyileşmesinde önemli rollerinin bulunduğu ve kırık iyileşmesini bozduğunu bildirmiştir. Durak ve ark. (1996), tavşanların kırık hematomu üzerinde yaptıkları bir çalışmada, alfa-tokoferolün kırık hematomunda oluşan serbest oksijen radikalleri üzerinde antioksidan bir etkiye sahip olduğunu ve serbest oksijen radikallerinin kırık iyileşmesi üzerindeki olumsuz etkilerini ortadan kaldırdığını bildirmişlerdir. Xu ve ark. (1995), Vitamin E'nin trabeküler kemik formasyonu-nu stimüle ettiğini, Adam (1997) ve Seifert ve Watkins (1997), ise vitamin E'nin osteoprotektif etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Durmuş ve ark. (2002), köpeklerde deneysel radius kırıklarında, kırık oluşumundan sonraki ilk 7 gün süreyle 20 mg/kg dozunda intramusküler yolla D1-alfa tocop-herol acetat verdikleri bir çalışmada, D1-alfa tocop-herol acetat'ın erken dönemde (ilk 15 günde) kırık iyileşmesini artırıcı etkisini serbest oksijen radikalleri üzerine antioksidan etki göstermesine bağlamışlardır. İncelenen çalışmaların değerlendirilmesi sonucunda kırık oluştuktan hemen sonra (erken dönemde) parenteral olarak verilecek antioksidanların kırık iyileşmesini artırıcı yönde olumlu etkilerinin olacağı kanısına varılmıştır (186) .

Altay ve Ark. yine yapmış olduğu çalışmada Legg-Calve-Perthes (LPCD) hastalarında prolidaz enzim aktivitesi, TOS, OSI düzeyleri yüksek ama TAS düzeyi kontrollerle karşılaştırıldığında daha düşük bulunmuştur. Prolidaz enzimi aktivitesi

olumlu TOS ve OSI düzeyleri ile korele idi. Serum prolidaz enzimi aktivitesi önemli ölçüde LCPD ile ilişkilidir. Bu da çalışmamızla uyumlu bir sonuç göstermektedir (188) .

Serbest radikaller son yıllarda üzerinde en çok durulan ve araştırmaların yoğunlaştığı bir konudur. Serbest radikallerin hücrel kaynakları, rol oynadıkları reaksiyonlar ve serbest radikallere karşı hücrel savunma mekanizmalarının açıklığa kavuşması, bugün bilinmeyen pek çok klinik durumun patogenezisine açıklık getirecektir.

Bizim yaptığımız çalışmada hasta grupları arasında da baktığımızda tibia kırığı hastalarında femur kırığı hastalarına göre TOS, OSI, prolidaz enzim seviyesi önemli derecede artmışken, TAS düzeyinde de önemli derecede düşüş görülmektedir. Bu bulgularımız bize prolidazdaki artışın sebebi tibia bölgesindeki kollejenöz yapıların etkilenmiş olmasına bağlı olabilir. OSI deki artışın sebebini ise kırığın hem bölgesel tahribatı hem de vücutta oluşturduğu genel oksidatif hasarla ilgili olabileceğini gösterebilir. Ya da yaş faktörü ve buna bağlı oksidatif strese artmış duyarlılık ta etkili olabilir. Çünkü tibia hastaları daha genç yaş grubunu oluşturmaktadır. Bu konuda daha geniş çaplı araştırmalar yapılabilir.

Sonuç olarak bu çalışmada oksidatif stres ve kollajen yıkımında aktif rolü olan prolidaz enzim aktivitesi tibia kırık hastalarında yüksek bulunmuştur. Fakat femur kırığı preop hastalarında düşük bulunmuştur. OSI değeri ise hem femur hem de tibia kırığı hastalarında yüksek bulunmuştur. Buna göre hem tibia kırığı hem de femur kırıklarının oksidatif strese yol açtığını kesinlikle söyleyebiliriz. Fakat kollajen doku harabiyetine yol açtıklarını söyleyebilmemiz için daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- 1) Kurtulmuş, Tuhan, Femur Trokanterik Bölge Kırıklarında Pfn (Proksimal Femoral Nail) Uygulamalarımız Ve Sonuçları, Uzmanlık Tezi, s:5-8, 2006
- 2) Ege R: Kalça ile ilgili tarihi gelişme. Kalça cerrahisi ve sorunları kitabı. 51-69 THK. Matb.1.bası, Ankara, 1994.
- 3) Street, M.D.: The evolution of intramedullary nailing; the Science and Practice of Intramedullary Nailing, Browner, B.d (eds); 2nd ed., Williams&Wilkins, pg: 1-27, 1996
- 4)Sever, Gökhan , Erişkin Femur Cisim Kırıklarında Antegrad Kilitli İntramedüller Çivileme Uygulamalarımız, Uzmanlık Tezi, s:6, 2004
- 5) Sarmiento A: Unstable Intertrochanteric Fractures of the Femur. Clin. Orthop. 92: 77 - 85, 1973
- 6) Routt, M.L.C. Jr.: Fractures of the femoral shaft. In Green N.E., Swintkowski M.F(eds): Skeletal Trauma in children. Vol 3. Philedelphia: W&B Saunders, pg: 345-368,1994
- 7) Staheli, L.T.: Fractures of the shaft of the femur. In Rockwood C.A.,Wilkins K.E.,King R.E (eds):. Fractures in children. 3rd. ed. Philadelphia: J.B. Lippincott, pg: 1121-1163,1991
- 8) Kuran, O.: Femur anatomisi; Sistemantik anatomi, İstanbul, Filiz Kitabevi; pg:76-79;1983

- 9) Manizade D.M.: Kemik ve Mafsal Traumatolojisi (Kırık ve Çıkıklar). Cilt 2 S.: 512-556, İstanbul üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları Rektörlük no: 3671 .Fakülte no: 170, 1991.
- 10) Ege, R: Femur cisim kırıkları, Travmatoloji Kırıklar ve Eklem Yaralanmaları; Ed:Rıdvan Ege; 5.baskı, 3. cilt, pg: 2363-2443; Kadioğlu Matbaası, Ankara, 1989.
- 11) Netter, F.H.: Musculskeletal System, The CIBA Collection of Medical Illustration,Vol:8, Part:1, CIBA Geigy Corporation pg: 76-97
- 12) Dere, F.: Anatomi, Adana, Aydoğdu Ofset, pg: 10-15; 1990
- 13) Haidukewych, G.J. Ricci W.: Locked plating in orthopaedic trauma:a clinical update J Am Acad Orthop Surg.16:347-355, 2008.
- 14) Star, Adam J., Bucholz Robert W.: Fractures of the shaft of the femur, Rockwood and Greens Fractures of Adults; Ed: James H. Beaty, M.D., James R. Kasser, M.D.; 5th. ed.,Vol. 2, Chapter 41, pg: 1686-1690; Lippincott Williams Wilkins 2001
- 15) Anderson, G.H., Raymakers, R., Gregg, P.J.: The Incidence of Proximal Femoral Fractures in an English County. J. Bone Joint Surg Vol. 75-B, No.:3, 441-444, 1993.
- 16) Browner, D.B., Jüpiter, J.B., Levine, A.M., Trafton, P.G.: Skeletal Trauma, V:2,1833-1926, WB Saunders Company, 1996.
- 17) DeLee, J.C.: Fractures and Dislocations of the Hip, Rockwood and Green's Fractures in Adults, Vol.:2, 1659-1827, Lippincott-Raven,1996.
- 18) Ege, R.: Kalça Cerrahisi ve Sorunları; Trokanterik bölge kırıkları, S.:1041-1098, Türk Hava Kurumu Basımevi Ankara, 1994.

- 19) Hinton, R.Y., Lennox, D.N., Ebert, F.R., Smith, G.S.: Relative Rates of Fracture of the Hip in the United States. J. Bone Joint Surg Vol. 77-A, No.5, 695-702,1995.
- 20) Lewinnek, G.E., Kelsey, J., White, A.A., Kreiger, N.: The Significance and a Comparitive Analysis of the Epidemiology of Hip Fractures. Clin Orthop, No.: 152,35- 43,1980.
- 21) Moory, D., VWilliams, P.: Gray's Anatomy. 38th Ed., Churchill-Livingstone, 662-689,1995.
- 22) Laing, P.G.: The blood supply of the femoral shaft: Anatomical study. J Bone Joint Surg Br.; Vol.:35, pg: 462-466; 1953
- 23) Gülşen, M.: Deformite düzeltimi prensipleri, İlizarov cerrahisi ve prensipleri kitabı Ed: M. Çakmak, M. Kocaoğlu. Doruk grafik matbaası, İstanbul, pg: 145-146; 1990
- 24) Paley, D.: Normal Lower Limb Alignment and Joint Orientation,: Principles of Deformity Correction: 1st. ed., Chapter 1, pg: 1-17; 2002
- 25) Saka, G.: Subtrokanterik femur kırıklarının cerrahi tedavisi (Uzmanlık tezi), İst., 1998
- 26) Beng, Kubilay, 135° Dinamik Kalça Çivisi İle Tedavi Edilen İntertrokanterik Femur Kırıklarında Tip-Apeks Mesafesi Ölçümleri Ve Sonuçlara Etkisi, Uzmanlık Tezi, s:20, 2005
- 27) Falch, Jan A., Ilebekk, A., Slungaard U.: Epidemiology of hip fractures in Norvvay. Acta Orthop Scandinavia
- 28) Kırıl, A., Kuşkucu, M., Kaplan, H., Sandoğan, A., Yaşar, A.İ.: Anstabil parçalı Intertrokanterik ve Subtrokanterik kalça kırıklarının primer tedavisinde Leinbach protezi uygulaması. Acta Orthop Traumatol Türe 27 , 187-191, 1993.

- 29) Kyle, R.F.: Fractures of the Proximal Part of the Femur. J. Bone Joint Surg, Vol. 76-A, No.6, 924-948, 1994
- 30) Manizade D., Bayraktar K., Üzel M., Aydın A.: Trokanter Bölgesi Kırıkları, Tedavileri ve Neticeleri (126 vaka münasebetile). Cerrahpaşa Tıp Bülteni 2:356-368,1968. .
- 31) Aharonoff, G., Dennis, M.G., Elshinavvy A., Zuckerman, J.D., Koval, K.J.:Circumstances of Falls Causing Hip Fractures in the Elderly Clin Orthop No: 348, 10-14, 1998.
- 32) Claiborne, A., Christian: General principles of fracture treatment; Campbell's Operative Orthopaedics; Terry Canale (eds), 9th. Ed., Vol.3, pg: 1993-2042; Mosby 1998
- 33)Güz, H.: Femur cisim kırıklarında plak-vida osteosentezi (Uzmanlık Tezi), İstanbul,2002
- 34) Thoresen, B.O., Alho, A., Ekeland, A., Stromose, K., Folleras, G., Haukebe, A.:Interlocking intramedullary nailing in femoral shaft fractures.; J Bone Joint Surg; 67-A: 1313-1320, 1985
- 35) Winquist, R.A., Hansen, S.T., Clawson, K.: Closed intramedullary nailing of femoral fractures, a report of five hundred and twenty cases.; J Bone Joint Surg 66A: 529- 539, 1984
- 36) Hinton RY, Lincoln A, Crockett MM, Sponseller P, Smith G:Fractures of the femoral shaft in children; incidence, mechanisms and sociodemographic risk factors. J Bone Joint Surg Am 1999, 81:500-9.
- 37) Daly KE, Calvert PT: Accidental femoral fractures in infants. Injury 1991, 22:337-8.
- 38) Vangness C., DeCampos, J.,Merritt, P. et al.: Meniscal injury associated with femoral shaft fractures: an arthroscopic evaluation of incidence. J Bone Joint Surg 75B: 207-209; 1993

- 39) Bennett FS, Zinar DM, Kilgus DJ: Ipsilateral hip and femoral shaft fractures. Clin Orthop Relat Res. 1993;296:168-77.
- 40) Meaney JE, Carty H: Femoral stress fractures in children. Skeletal Radiol 1992, 21:173-6.
- 41) Fallinger, P.W.: Merrill's Atlas of Radiographic Positions and radiological Procedures. 8th Ed., Mosby Year Book, 1995.
- 42) Lieurance, R., Benjamin, J.B., Rappaport, W.D.: Blood loss and transfusion in patients with isolated femur fractures. J Orthop Trauma; 6: 175-179; 1992
- 43) Boyd, H.B., Anderson, L.D.: Management of Unstable Trochanteric Fractures. Surgery, 633-638, May, 1961A
- 44) Muller, M.E., Allgöwer, M., Willenegger, H.: Manual of Internal Fixation (A-O Technique), New York, Springer Verlag, 1969.
- 45) Trafton, P.G.: Subtrochanteric-Intertrochanteric Femoral Fractures. Orthop. Clin. North America-Vol.18, No.:1, 59-71, 1987.
- 46) Whitelaw, G.P., Segal, D., Sanzone, C.F., Ober, S.N., Hadley, N.: Unstable Intertrochanteric/Subtrochanteric Fractures of the femur Clin. Orth. No.:252, 238-245, 1990
- 47) Davis TRC, Sher JL, Horsman A, Simpson M, Porter BB, Checketts RG: Intertrochanteric Femoral Fractures. J Bone Joint Surg (Br): 72 – B, 26 - 31; 1990.
- 48) DeLee JC: Fractures and dislocations of the hip. Rockwood CA Jr, Green DP. editors: Fractures in adults, ed 2, Philadelphia, 1984, JB Lippincott.
- 49) Charles, M., Court –Brown, M.D.: Femoral Diaphyseal Fractures; Skeletal Trauma Basic Science, Management and Reconstruction; Bruce D. Browner, M.D., F.A.C.S., Alan M. Levine, M.D., Jesse B. Jupiter, M.D.,

Peter G. Trafton, M.D., F.A.C.S.; 3rd Ed, Vol:2, pg: 1882-1888; Saunders 2003

- 50) Koval, K.J., Rosernberg, A.D., Zuckerman, J. D., Aharonoff, G.B., Skouron, M.L., Bernstein, R.L., Chakka, M.: Does Blood Transfusion Increase the Risk of Infection After Hip Fracture?J.Orthop. Trauma 11 No:4, 260-265, 1997
- 51) Öztürk, _., Domaniç Ü.: Trokanterik kırıkların Ender Çivileri _le Tedavisinden Sonra Görülen Dısa Rotasyon Deformitesinin Nedenleri ve Önlemleri. Acta Orthop. Traum. Turc. 20, 297-300 , 1986
- 52) Öztürk, _.: Stabil ve Anstabil Trokanterik Bölge Kırıklarında Ender Çivileri Uygulanmasının Geç Sonuçları. Acta Orthop. Traum. Turc.21,59-63,1987
- 53) Rao J.P. Hambly M., King J., Benevia J.: A Comparative Analysis of Ender's-Rod and Compression Screw and Side Plate Fixation of Intertrochanteric Fractures of the Hip. Clin Orthop and Related Research No:256, 125-131, 1990.
- 54) Snook. G.A.,Chrismann,D.: Thromboembolizm After Surgical Treatmant of Hip Fractures. Clin Orthop. No:155, 21-24, 1981
- 55) Cabbar, S.: Femur intertrokanterik Kırıklarında Richard's Vidasının Uygulaması ve Sonuçları. Uzmanlık Tezi, _stanbul Üniversitesi Cerrahpasa Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, 1994.
- 56) Epps, C.H.: Complications in Orthopaedic Surgery, 3rd Ed., Vol.:1,S.:443-486.J.B. Lippincott Company, 1993.
- 57) Mariani, M.E., Rand, J.A.: Nonunion of Intertrochanteric Fractures of the Femur Following Open Reduction and Internal Fixation. Clin. Orthop No.: 218, 81-89, 1987.
- 58) Parker, M.J., Pryor,G.A.: Handbook of Hip Fracture Surgery. Buttervorth-Heinemann,1997.

- 59) Winter,W.G.: Nonoperative treatment of proximal femoral fractures in the demented, nonambulatory patient. Clin. Orthop. 258:97-103,1987
- 60) Hughes BF, Sponseller PD, Thompson JD: Pediatric femur fractures: Effects of spica cast treatment on family and community.J Pediatr Orthop 1994,15:457-60.
- 61) Kirby RM, Winqvist RA, Hansen ST Jr: Femoral shaft fractures in adolescents: A comparison between traction plus cast treatment and closed intramedullary nailing. J Pediatr Orthop 1981, 1:193-7.
- 62) Bucholz, R.W., Brumback, R.J.: Fractures of the shaft of the femur.; Rockwood and Green's Fractures in Adults, ed. Rockwood C. A. Jr.; Green, D.P.; Bucholz, R. N.; 5rd Ed, Vol. 2, pg: 1653-1723; J.B. Lippincott Company, 1991
- 63) Korkmaz, A., Hüner, H., Akyıldız, M., Cevher, __, Çetinus E.: _ntertrokanterik Kırıklarda Dinamik Kompresyon Çivisi (DHS) Uygulaması ve sonuçları. Acta Orthop.Travm.Turc. 26, 24-27, 1992.
- 64) Koval, J.K., Sala, D.A., Kummer, F.J., Zuckerman, J.D.: Postoperative VVeight-Bearing after a Fracture of the Femoral Neck or an Intertrochanteric Fracture. J.Bone Joint Surg Vol. 80-A. No 3. 352-356, March 1998.
- 65) Kaufer, H.: Mechanics of the treatment of hip injuries. Clin Orthop.No.146 53-61,1980.
- 66) Chapman M.W.: Fractures of the tibial and fibular shafts. surgery of the musculoskeletal system (Ed. Evarts C.M.) Churchill-Livingstone. 3741-3825, 1990.
- 67) Ege R.: Travmatoloji, kırıklar ve eklem yaralanmaları. Kadioğlu Matbaası, 1989.
- 68) Ege R.: Travmatoloji, kırıklar, eklem ve diğer yaralanmalar. Bizim Büro Basımevi, 2003.

- 69) Harkess J.W., Ramsey W.C., Ahmadi B.: Principles of fractures and dislocations. Rockwood and Green's Fractures in Adults, 2nd Ed. J.B. Lippincott Co. 1-146, 1984.
- 70) Harkess JW. Ramsey W.C., Harkess J.W.: Principles of fractures and dislocations. Rockwood and Green's Fractures in Adults, 3rd Ed. J.B. Lippincott Co. 1-180, 1991.
- 71) Johner R. Wruhs O.: Fractures of the tibial shaft. Clin. Orthop. Rel. Res. 178:7-26, 1983.
- 72) Claudi B.F. Oedekoven G.: Biologische osteosynthesen. Chirurg 62: 367-377, 1991.
- 73) Khoury A, Liebergall M, London E, et al Percutaneous plating of distal tibial fractures. Foot Ankle Int. 23(9):818-824, 2002.
- 74) Akgün, N., Egzersiz Fizyolojisi, Ege Üniversitesi Yayınları, s.25-45, İzmir, 1994
- 75) Fox, E.L., Mathews, D.K., The Physiological Basis Of Physical Education And Athletics, WB Saunders, Philadelphia, 1981
- 76) Kalyon, T.A., Spor Hekimliği Sporcu Sağlığı ve Spor Sakatlıkları, 4. Baskı, Ankara 1997
- 77) Taşkiran, D., Kutay, F.Z., Sözmen, E.Y., Pöğün, Ş., "Sex Differences in Nitrid-NitratL Levels and Antioxidant Defence in Rat Brain", Neuroreport, Vol:8 (4), 881-84, 1997
- 78) Cheeseman, K.H., Slater, T.F., "An Introduction to Free Radical Biochemistry", Brit. Med. Bull, 49(3), 481-493, 1993
- 79) Fridovich, I., "Superoxide Radical and Superoxide Dismutases", Annu. Rev. Biochem.. 64; 97-105, 1995

- 80) Ji, L.L., Leichtweis, S., "Exercise and Oxidative Stress: Sources Of Free Radicals and Their Impact on Antioxidant Systems", Age, Vol: 20, pp.91-106, 1997
- 81)Çelik A., Varol R., Onat T., Dağdelen Y., Tugay F., Akut Egzersizin Futbolcularda Antioksidan Sistem Parametrelerine Etkisi, Spormetre Beden Eğitimi ve Spor Bilimleri Dergisi, 2007, V (4) 167-172
- 82) Örnek Zafer ;Pamuk İplik Fabrikası Çalışanlarında Solunum Sistemi Belirtileri, Cilt Testi Serbest Radikal, Antioksidan Ve Serum Prolidaz Aktivite Düzeylerinin Araştırılması; Uzmanlık Tezi;2004
- 83) Thomas MJ. The role of free radicals and antioxidants: How do we know that they are working?, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1995;35, 21-29.
- 84)Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease free radicals and tissue injury. Lab. Invest., 1982;4: 412-426.
- 85)Aslan R, Şekeroğlu MR, Bayıroğlu F, Gültekin F. Blood lipoperoxidation and antioxidant enzymes in healthy individuals: relation to age, sex, exercise, air pollution and life habits. J. Environ. Sci. Healthy, 1997; 32: 2101-2109.
- 86)Taşkın Abdullah ;Sıtma Hastalarında Lökositlerin Oksidatif Stresinin Araştırılması Yüksek Lisans Tezi ;2010
- 87) Meister A. Glutathione ascorbate and cellcycle regulation FEBBS letters. 1-4, 1994.
- 88) Southorn P, Powis G. Free radical in medicine I. Chemical nature and biological reactions. J. Mayo Clin. Proc. 63:381,1988.
- 89) Moncada S, Palmer RMJ, Higs EA: Nitric oxide. Physiology, patophysiology and pharmacology. J.Pharmacol Rewiev; 43:109-137,1991

- 90) Halliwell B. Oxygen is poisonous. The nature and medical importance of oxygen radicals. *J. Med Lab Sci.* 41: 157-162, 1984.
- 91) Canbař A. Gıda Bilimi ve Teknolojisi. Ziraat Fakóltesi Yayını No: 78. Ç.Ü. Adana. 1983
- 92) Sies H, De Groot h. Role of reactive oxygen species in toxicity. *J. Toxicology.* 64: 547-551, 1992.
- 93) Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry and role in human disease. *J. The American Journal of Medicine.* 91: 14-22, 1991.
- 94) Brent JA, Rumack HH. Role of radicals in toxic hepatic injury. *J. Free Radical Chemistry. J. Clinical Toxicology.* 49: 481-493, 1993.
- 95) Mead J. Free radical mechanisms in lipid peroxidation and prostaglandins. Free radical in molecular biology. *J. Aging and disease.* 65: 53-66, 1984.
- 96) Notarjan D. Oxidants and signal transduction in vascular endothelium. *J. Clin. Med.* 125: 26-37, 1994.
- 97) Reubset FAG, Veerkamp JH, Tirijbels JMF, Momens LA: Total and peroxisomal oxidation of various saturated and unsaturated fatty acid in rat liver, heart. *J. M. Quadriceps. Lipids.* 24: 11-16, 1992.
- 98) Arıcıoğlu A: Serbest oksijen radikalleri ve hücre hasarı. 2: 139-242, 1994.
- 99) Kalyanamaran B, Perez E, Mason R P. Spin trapping and direct electron spin resonance investigations of the redox metabolism of quinone anti-cancer drugs. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1980; 630: 119-120.
- 100) Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie. Pesticides and oxidative stress: a review. *Med. Sci. Monit.*, 2004; 10: 141-147.
- 101) Serbest Oksijen Radikalleri Ve Antioksidanlar , www.mustafaaltinisik.org.uk

- 102) Tappel AL, Dillard JC.: Invivo lipid peroxidation measurement via exhaled pentane and protection by vitamin E. J. Federation proceedings. 40: 174-178.1981.
- 103) Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, 1. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya., 1995
- 104) Jialal, I., and Fuller, C. J., Oxidized LDL and Antioxidants. Clin Cardiol. Apr; 1993;16(4 Suppl 1):16-19.
- 105)Yanbeyi S. Aspirin ve Antioksidant Buthylated Hydroxyanisole'ün Tavşanlarda Eritrosit Total Katalaz, Süperoksit Dismutaz ve Glutasyon
- 106)Dizdaroğlu M. Chemical Determination of Free Radical-Induced Damage to DNA. J Free Radical Biology & Medicine. 1993; 61(3): 225-242.
- 107) Fırat, S., Kobaylarda Radyasyonla Oluşan Akciğer Hasarında Doku Glutasyon , Glutasyon Peroksidaz, Glutasyon- S-Transferaz Düzeyleri ve N-Asetil Sistein'in Bu Sistem Üzerindeki Etkisi. Gazi Üni. Tıp Fak. Biyokimya A.B.Dalı, Uzm.Tezi, Ankara, 1997; 95s.
- 108) Uysal, M., Serbest Radikaller, Lipid Peroksidleri ve Organizmada Prooksidan-Antioksidan Dengeyi Etkileyen Koşullar. Klinik Gelişim II, 1998;336-341.
- 109) Wheeler, C. R., and Salzman, J. A., Automated Assays for Superoxide Dismutase, Catalase, Glutathione Peroxidase and Glutathione Reductase Activity. Analytical Biochemistry., 1990; 184:193-199
- 110) Çakır H. ; Bel fitiği olan hastalarda prolidaz aktivitesinin belirlenmesi ve oksidatif stres indeksi ile karşılaştırılması ,Uzmanlık Tezi ; 2009, s:24-59
- 111)Antmen Efsun Ş. ; Beta Talasemide Oksidatif Stres ; Yüksek Lisans Tezi 2005 ;
- 112) Gutteridge J M C. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clin Chemistry 1995;41:1819-1828

- 113) Halliwell B, Gutteridge JM. Free radicals in biology and medicine. 2th Ed. Oxford: Clarendon Pres, 1989.125
- 114) Ünal B. B Talasemi ve G6PD Enzim Eksikliğinde MDA Düzeyi. Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Adana, 1999.
- 115) Nordberg J, Arner ESJ. Reactive Oxygen Species, Antioxidants and The Mammalian Thioredoxin System. Free Radical Biology and Medicine, 2001; 31(11): 1287-1317
- 116) Meram İ, Aktaran Ş. Serbest Radikallerin Biomoleküller Üzerine Etkileri. Arşiv. 2002;11:299.
- 117) Kurutaş Belge E, İnanç Güler F, Kılınç M. Serbest Radikaller. Arşiv, 2004; 13:120-13
- 118) Özkan A, Fışkın K. Serbest Oksijen Radikalleri, Karsinogenez ve Antioksidant Enzimler. Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi. 2004; 14:52-60
- 119) Tekkes, Y., Streptozotisin ile diabet oluşturulmuş farelerde aspirin ve e vitamininin dokularda lipit peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş, 2006; 66s.
- 120) Ames, B.N., Shigenaga, M. K., Hagen, T. M., Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proc Natl Acad Sci U S A., 1993; 90(17):7915-22.
- 121) Halliwell, B., Gutteridge, J. M., The antioxidants of human extracellular fluids. Arch Biochem Biophys., 1990; 280(1): 1-8.
- 122) Guemouri, L., Artur, Y., Herbeth, B., Jeandel, C., Cuny, G., Siest, G., Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. Clin Chem., 1991; 37(19):32-7).

- 123) Halliwell B. Free radicals and metal ions in health and disease. *Proc. Nutr. Soc.* Feb., 1987; 46(1):13-26.
- 124) Craig Ve Aust, E.T., Aust, S.D., Free radicals and environmental toxins. *Annals of Emergency Medicine*, 1986; 15,9.
- 125) Halliwell, B., Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet.*, 1994; 344(8924):721-4.
- 126) Maxwell, S. R., Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drugs.*, 1995; 49(3):345-61.
- 127) Ceballos L, Triver JM, Nicole A: Age correlated modifications of copper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes. *J. Clin. Chem.*36: 66-70,1992
- 128) Smith EL, Hill RL, Lehmal R: *Principle of biochemistry 7th ed-mcBraw Hill, inc. USA.* 382-383,1993.
- 129) Rice-Evans, C. A., Miller, N.J., Paganga, G., Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med.*, 1996;20:933-56.
- 130) Carlberg I., Mannervik, B., Glutathione reductase. *Methods Enzyme.*, 1985;113: 448-490
- 131) Akyol, Ö., Şizofrenide Oksidatif Stres. *Kocatepe Tıp Dergisi*, Cilt 5, Ek Sayı 1., 200
- 132) Imai H, K. Narashima, M. Arai, H. Sakamoto, N. Chiba and Y. Nakagawa., Suppression of leukotriene formation in RBL-2H3 cells that overexpressed phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *J Biol Chem.*, 1998; 273.

- 133) Ding L, Z., Liu, Z., Zhu, G., Luo, D., Zhao and J. Ni., Biochemical characterization of selenium-containing catalytic antibody as a cytosolic glutathione peroxidase mimic. *Biochem J*, 1998; 332: 251-255.
- 134) Yan, H. and J. J. Harding., Glycation-induced inactivation and loss of antigenicity of catalase and superoxide dismutase. *Biochem J*, 1997; 328, 599-605
- 135) Nishikimi, M., Fukuyama, R., Minoshima, S., Shimizu, N., Yagi, K., Cloning and chromosomal mapping of the human nonfunctional gene for L-gulonogamma-lactone oxidase, the enzyme for L-ascorbic acid biosynthesis missing in man. *J Biol Chem*, 1994; 269:13685-13688.
- 136) Nishikimi, M., Yagi, K., Biochemistry and molecular biology of ascorbic acid biosynthesis. *Subcell Biochem*, 1996; 25:17-39
- 137) Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW: *Harpers biochemistry*. 2nd edition. Typo.1991.
- 138) Berger SJ, Gosky D, Zberowska E. Sensitive enzymatic cycling in diabetes. *J. Diabetes* 1991; 46(4): 405 - 12.
- 139) Burton G, Traber M. Vitamin E: antioxidant activity biokinetics and bioavailability. *J. Annu. Rev. Nutr.* 1990; J. 10: 357-82.
- 140) Pabon A, Carmona J, Burgos LC, Blair S. Oxidative stress in patients with non-complicated malaria. *J. Clinical Biochemistry* 2003; 36(5): 71-78.
- 141) Burtis C.A., Ashwood E.R. Vitaminler. Aslan D. Eds. *Klinik Kimyada Temel İlkeler*. Ankara: Palme Yayınları, 2005: 548-550, 332-333, 578-601.
- 142) Ernster, L.; Dallner, G. Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochim. Biophys. Acta*, 1995; 1271:195-204;

- 143) Xia, L.; Björnstedt, M.; Nordman, T.; Eriksson, L. C.; Olsson, J. M. Reduction of ubiquinone by lipoamide dehydrogenase. An antioxidant regenerating pathway. *Eur. J. Biochem.* 2001; 268:1486– 1490
- 144) Harma M, Erel O: Oxidative stress in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*; 192(2): 656-57. 2005
- 145) Harma M, Erel O: Measurement of the total antioxidant response in preeclampsia with a novel automated method. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*; 118(1): 47-51. 2005
- 146) Yao JK, Reddy R, Mc Elhinny LG, et al: Reduced status of plasma total antioxidant capacity in schizophrenia. *Schizophr Res*; 31(1): 1-8. 1998
- 147) Ghiselli A, Serafini M, Natella F, et al: Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: Critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med*; 29(11): 1106-14. 2000
- 148) Erel O: A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem*; 37(2): 112-9. 2004
- 149) Milligan A, Brown G: Prolidase deficiency: a case report and literature review. *Brit J. Dermatol.* 1989; 121: 405 –409.
- 150) Dolenga M, Hechtman P: Prolidase deficiency in cultured human fibroblasts: biochemical pathology and iminodipeptid. *Enhanced Growth Pediatr Res.* 1992; 32(4): 479-482,
- 151) Davis NC, Smith EL: Purification and some properties of prolidase of swine kidney. *J. Biol Chem.* 1957; 244: 261-275
- 152) Boright A, Scriver CR: Prolidase deficiency: biochemical classification of alleles. *Am. J Hum Genet.* 1989; 44: 731-740

- 153) Alparslan S, Gultepe M: Serum prolidase activity: its value as an indicator of collagen accumulation in chronic liver diseases. *Biyokimya Dergisi*. 1993; 18: 1-9
- 154) Phang JM., Yeh GC., Scriver.: Disorders of proline and hydroxyproline metabolism. *On the Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*, (7th Ed) Scriver RC., Bland et al., Sly WS., (Eds) Mc Graw Hill, Montreal. 1995; 1125-1141.
- 155) Mock WL, Zhuang H.: Chemical Modification Locates Guanidinyl and Carboxylate Groups Within The Active site of prolidase *Biochem biophys Res Commun*. 180(1): 401-406, 1991
- 156) End of Tanoue A.: Primary Structure and Gene Localization of Human Prolidase. *J Biol Chem*. 264: 4476- 4481, 1989.
- 157) Özgönül Saadet, Hipertroidi ve Hipotroidi Hastalarda Oksidatif stres ve Prolidaz Aktivitesinin Değerlendirilmesi ; Uzmanlık Tezi, 2010
- 158) Ateş Y. , Gönen E. , Tibia Cisim Kırıklarında Yaklaşım, TOTBİD (Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Dergisi 2008 · Cilt: 7 Sayı: 1-2
- 159) Ceferov E., Tibia Üst Uç Eklemi İlgilendiren Kırıkların Cerrahi Tedavi Sonuçları Uzmanlık Tezi, 2007
- 160) Blokker CP, Rorabeck CH, Bourne RB. Tibial plateau fractures and analysis of treatment in 60 Patients. *Clin. Orthop*, 1984; 182:193-198.
- 161) Catagni. Fractures of the leg (tibia). In: Maioccki AB, Aronson J, eds. *Operative principles of Ilizarov*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1991: 91-124.
- 162) Skinner Harry B., *Ortopedi Güncel Tanı ve Tedavi* ,2005, s:130

- 163) Ateş Y, Ömeroğlu H., Uçar H.D., Korkusuz Z.: Tibia cisim kırıklarında farklı tedavi metodlarının karşılaştırılması, *Acta Orthopædica Travmatologica Turcica*. 28:90-93, 1994.
- 164) Demirörs H., Gönen E., Ateş Y.: Kırıklara eşlik eden yumuşak doku yaralanmalarında değerlendirme ve tedavi. *TOTBİD Dergisi* 3(3-4):131-142, 2004.
- 165) Watson JT, Wiss DA. Fractures of the proximal tibia and fibula. In: Rockwood C, Green D, Bucholz R, eds. *Fractures in adults*, 5th ed. Philadelphia, Lippincott Williams-Wilkins Company, 2001; 1801-1841.
- 166) Totter JR. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1980; 77: 1763–7.
- 167) Sies H. Antioxidant activity in cells and organs. *J. Am Rev Respir Dis* 1987; 136(9): 478- 80.
- 168) Gutteridge JMC. Antioxidant properties of the proteins ceruloplasmin, albumin and transferrin: a study of their activity in serum and synovial fluid from patient with rheumatoid arthritis. *J. Biochim Biophys Acta* 1986; 869(36): 119-27.
- 169) Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.*, 2005; 38(12):1103-11.
- 170) Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*, 2004; 277– 285
- 171) Chinard P: Photometric determination of proline and ornithine. *J Biol Chem*. 199; 61-65. 1952.
- 172) Kodama H, Mikasa H: Biochemical investigations on prolidase and prolinase in erythrocytes from patients with prolidase deficiency. *Clin Chim Acta*, 173:317-324,1988.

- 173) Myara I, Charpentier C, Lemonnier A.: Optimal conditions for prolidase assay by proline colorimetric determination: Application to iminodipeptiduria. *Clin Chim Acta.* 125:193-205, 1982.
- 174) Ohhshi T, Ohno T, Arata J, Sugahara K, Kodama H.: Characterisation of prolidase I and II from erythrocytes of a control, a patient with prolidase deficiency and her mother. *Clin Chim Acta.* 187(1):1-9, 1990.
- 175) Mock WL, Green PC.: Mechanism and inhibition of prolidase. *J Biol Chem.* 265 (32): 19606-19610, 1990.
- 176) Ozcan Ö, Mustafa G, Osman Mİ: Prolidazın mutlak aktivitesini değerlendirmede fotometrik enzim aktivitesi ölçüm metodunun optimizasyonu. *Turkish Journal of Biochemistry;* 32 (1) ;12-16, 2007.
- 177) Wilce MCJ, Bond CS, Dixon NE, Freeman HC, Guss JM, Lilley PE, Wilce JA. Structure and mechanism of a proline-specific aminopeptidase from *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 95: 3472-2477, 1998.
- 178) Hamilton PB, Ortiz PJ: Proline and hydroxyproline: purification, reaction with ninhydrine and some properties of their N-nitrosoderivatives. *J Biol Chem.* 184 (2): 607-615. 1950.
- 179) Bayat A., Akut Bruselloz Hastalarında Prolidaz Enzim Aktivite Düzeyleri, Uzmanlık Tezi, 2008, Ş.urfa, s:46-49
180. Ohhashi T, Ohno T, Arata J, Sugahara K, Kodama H. Characterisation of prolidase I and II from erythrocytes of a control, a patient with prolidase deficiency and her mother. *Clin Chim. Acta.* 1990; 187 (1): 1-9
181. İyidoğan YÖ, Gürdöl F, Öner P: Serum prolidaz I aktivitesinin kemik yapım-yıkım indeksi olarak değerlendirilmesi. *İst.Tıp Fak.Mecmuası.* 1999; 62: 2.

182. Zuyderhoudt M.C., Brugman A. M., Smith J. J. H., Jong L.: Plasma prolidase in the rat; noindex of liver fibrosis. *Clinical Chemistry*. 1985; 31: 4.
183. Chamson A, Voigtlander V: Collagen Biosynthesis Anomalies in Prolidase Deficiency. Effect of Glycyl-L-Proline on the Degradation of Newly Synthesized Collagen. *Clin Physiol Biochem*. 1989; 7: 128-136.
184. Altındağ Ö, Erel Ö, Aksoy N, Selek Ş, Çelik H, Karaoğlanoğlu M: Increased oxidative stress and its relation with collagen metabolism in knee osteoarthritis. *Rheumatology International*. Published online: 10 November 2006.
- 185 . Elçi K., Hipertansiyonlu Hastalarda Kan Prolidaz Aktiviteleri, Yüksek Lisans Tezi, Ş. Urfa, 2007. s:32
186. Ünsaldı E., Durmuş A.S., Serbest Oksijen Radikalleri, Antioksidanlar Ve Kırık İyileşmesi, Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı, Elazığ-TÜRKİYE. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları*; 2005 s:22-23
187. Ağlamış Z, Propofol İle Anesteziye Alınan Kolelithiazis Hastalarında Kapiller Kan Oksijen Saturasyonu Oksidatif Stres ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri , Yüksek Lisans Tezi , Şanlıurfa 2011
188. Altay MA, Ertürk C, Aksoy N, Taskin A, Bilge A, Celik H, Isikan UE, Serum prolidase activity and oxidative-antioxidative status in Legg-Calve-Perthes disease, *J Pediatr Orthop B*. 2011 Jul;20(4):222-6.
189. Harma M, Harma M, Kocyiğit A, Erel O, Increased DNA damage in patients with complete hydatidiform mole. *Mutat Res*. 2005 May 2;583(1):49-54. Epub 2005 Mar 26.

EKLER

Femur ve tibia kırıklarında prolidaz enzim aktivitesi ve oksidatif stress indeksinin değerlendirilmesi anket formu:

KİŞİ BİLGİLERİ

- 1) Adı – Soyadı:
- 2) Yaşı:
- 3) Boy:
- 4) Kilo:
- 5) BKİ:
- 6) Cinsiyet: K() E()
- 7) Sosyal Güvencesi: a)Yeşilkart b) SSK c) Bağkur
d) Emekli Sandığı e) Diğer
- 8) Meslek:
- 9) Eğitim Durumu: a) Okur-yazar değil
b) Okur-yazar
c) İlkokul
d) Lise
e) Üniversite
- 10) Medeni Durumu: a)Evli b)Bekar c) Diğer
- 11) Adres:
- 12) Tlf:
- 13) Özgeçmiş: a)HT b)DM c)Böbrek yetmezliği
d)Akciğer hastalığı e)Diğer
- 14) Soygeçmiş:
- 15) Sigara: a) Kaç yıldır içiyor? (_____)
b) Günde kaç tane? (_____)
- 16) Alkol: a)Kaç yıldır içiyor? (_____)
- 17) İlaç Kullanımı:
- 18)Beslenme:
- 19)Tanı:
- 20) Kırığın Oluş Sebebi: 1)Araç içi trafik kazası
2)Motorlu araç çarpması
3)Motersiklet kazası
4)Ateşli silah yaralanması
5)Yüksekten düşme
6)Spor yaralanması
7)İş kazası
- 21)Hastaneye yatış tarihi:
- 22)Taburcu tarihi:

Araştırmacı Selma AĞLAMİŞ

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Şanlıurfa'da doğdum.İlk, orta ve lise eğitimimi Şanlıurfa'da tamamladım.Harran Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu Hemşirelik bölümünü 2006 yılında ikincilikle bitirdim.2009 yılında Harran Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisansa başladım.2006-2007 yılları arasında önce Harran Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesinde 5 ay Genel Cerrahi servisinde, sonrada 7 ay Süleymaniye Faik Güzeloğlu Sağlık Ocağında vekil hemşire olarak çalıştım.Temmuz 2007'den beri Şanlıurfa Eğitim ve Araştırma Hastanesi Ortopedi servisinde hemşire olarak görev yapmaktayım.