

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

***TOXOPLASMA GONDII* POZİTİF HASTALARDA OKSİDATİF
STRES VE PROTEİN OKSİDASYON ÜRÜNLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Hazırlayan
Mehtap POLAT**

**Danışman
Prof. Dr. Eser KILIÇ**

Yüksek Lisans Tezi

**Aralık 2011
KAYSERİ**

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

***TOXOPLASMA GONDII* POZİTİF HASTALARDA
OKSİDATİF STRES VE PROTEİN OKSİDASYON
ÜRÜNLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Hazırlayan
Mehtap POLAT**

**Danışman
Prof.Dr. Eser KILIÇ**

Yüksek Lisans Tezi

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TSY-10-3273 nolu proje ile desteklenmiştir**

**Aralık 2011
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Mehtap POLAT

İmza:



“Toxoplasma Gondii Pozitif Hastalarda Oksidatif Stres ve Protein Oksidasyon Ürünlerinin Değerlendirilmesi” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve tez yazma Yönergesine uygun olarak hazırlanmıştır.

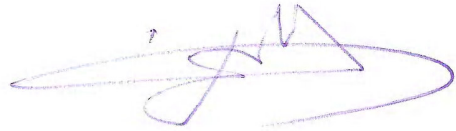
Tezi Hazırlayan

Mehtap POLAT



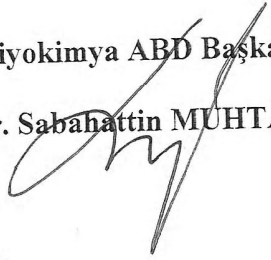
Danışman

Prof.Dr. Eser KILIÇ



Biyokimya ABD Başkanı

Prof.Dr. Sabahattin MUHTAROĞLU



Prof.Dr Eser KILIÇ danışmanlığında **Mehtap POLAT** tarafından hazırlanan **“Toxoplasma gondii Pozitif Hastalarda Oksidatif Stres ve Protein Oksidasyon Ürünlerinin Değerlendirilmesi”** konulu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Biyokimya** Anabilim Dalı’nda **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

30 / 12 / 2011

JÜRİ :

Başkan : Prof. Dr. Sabahattin MUHTAROĞLU

Üye : Prof. Dr. Süleyman YAZAR

Üye : Prof. Dr. Eser KILIÇ (Danışman)

İmza

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın planlanması ve gerçekleştirilmesinde emeğini esirgemeyen başta danışman hocam sayın Prof.Dr Eser KILIÇ'a, tüm Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı personeline özellikle Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı hocam sayın Prof.Dr. Sabahattin MUHTAROĞLU'na, Başta Ülfet ÇETİNKAYA olmak üzere Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalının tüm personeline ve emeği geçen tüm hocalarım ve çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu çalışma boyunca benden desteğini esirgemeyen sevgili aileme de daima yanımda oldukları için teşekkür ederim.

Mehtap POLAT

Kayseri, 2011

**TOXOPLASMA GONDII POZİTİF HASTALARDA OKSİDATİF STRES VE
PROTEİN OKSİDASYON ÜRÜNLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**
Mehtap POLAT

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Biyokimya Anabilim Dalı,

Yüksek Lisans Tezi, Aralık 2011

Danışman: Prof. Dr. Eser KILIÇ

KISA ÖZET

Toxoplasma gondii enfeksiyonu tüm dünyada yaygın bir zoonozdur. Gebelik sırasında enfeksiyonu alan kadınların çocuklarında konjenital enfeksiyona yol açabilir. Oksidatif stres oksidan üretimi ile antioksidan korunma arasındaki imbalans nedeniyle ortaya çıkar ve organizmada yapısal hasarla sonuçlanabilir. Bu çalışmada, *T. gondii* ile enfekte bireylerde serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizma arasındaki ilişki ve sonuçta doku hasarının derecesini incelemeyi amaçladık.

Çalışma gruplarını oluşturan hasta (*Toxoplasma gondii* pozitif), [22 gebe IgG (+) ve Ig M (+) ve 27 gebe IgG (+) ve Ig M (-)] ve 30 gebe kontrol bireyler IgG (-) ve Ig M (-) oksidatif stres belirteçleri olan oksidan ve antioksidan parametreler açısından incelenmiştir.

Toxoplasma gondii pozitif olan her iki grupta kontrol grubuna göre ve IgG (+) ve IgM (+) ile IgG (+) ve IgM (-) grupları kendi içinde malondialdehid düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Buna karşılık ksantin oksidaz aktivitesi hem IgG (+) ve IgM (+) grubunda hem de IgG (+) ve IgM (-) grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p < 0,05$). İleri oksidasyon protein ürünleri düzeylerinde özellikle IgG (+) ve IgM (+) pozitif grupta kontrol grubuna yani IgG (-) ve IgM (-) göre numerik olarak artış tespit edilirken, kontrol grubu ile her iki hasta grubu arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmedi ($p > 0,05$). Tiyol seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan ($p > 0,05$) her iki hasta grubunda da [IgG (+) ve IgM (+) ve IgG (+) ve IgM (-)] kontrol grubuna göre rakamsal azalışlar gözlemlendi. Myeloperoksidaz (MPO) aktivitesinde ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilemedi ($p > 0,05$). Bu sonuçlar özellikle parazit kaynaklı patolojilerin neticesinde organizmada oluşabilecek doku harabiyetinin derecesi hakkında bilgi verip, özellikle gebelik durumunda verilecek tedavinin nitel ve nicelik olarak yönlendirilmesi aşamasında faydalı olabilecektir.

Anahtar Kelimeler: *Toxoplasma gondii*, malondialdehid, Tiyol, ksantin oksidaz.

**ASSESSMENT OF OXIDATIVE STRESS AND PROTEIN OXIDATION PRODUCTS IN
TOXOPLASMA GONDII POSITIVE PATIENTS**

Mehtap POLAT

Erciyes University, Health Sciences Institute

Department of Biochemistry

Thesis of Master of Science, December 2011

Supervisor: Prof.Dr. Eser KILIÇ

ABSTRACT

Toxoplasma gondii infection is a common zoonose found all over the world. In women during pregnancy it can lead to congenital infection of their children. Oxidative stress occurs due to imbalances between the production of oxidants and antioxidant protection and can be resulted in structural damages in organism. In this study, we aimed to investigate relationship between free radical formation and antioxidant defense mechanism resulting in tissue damage in *Toxoplasma gondii* infected individuals.

Working groups that make up the patients (*Toxoplasma gondii* positive), [22 pregnant IgG (+) and Ig M (+) and 27 pregnant IgG (+) and Ig M (-)] and 30 control individuals IgG (-) and Ig M (-) were investigated in terms of the oxidant and antioxidant parameters of oxidative stress.

In both, *Toxoplasma gondii* positive groups comparing the control group and in addition in IgG (+)/IgM (+) and IgG (+)/Ig M (-) groups in terms of malondialdehyde levels there was no statistically significant difference found. In contrast, xanthine oxidase activity was found to be both in IgG (+)/Ig M (+) group and in IgG (+)/IgM (-) group statistically significant and higher comparing the control group ($p < 0.05$). Advanced oxidation protein products levels especially in IgG (+)/IgM (+) group was found to be numerical increased comparing to control group, however, there is no statistically differences identified in both patient group, comparing to control group ($p > 0.05$). Thiol levels were not statistically change in both patient [IgG (+) ve IgM (+) ve IgG (+) ve IgM (-)] groups comparing the control group ($p > 0.05$), however, in both patient group clear numerical decreases found against control groups. Myeloperoxidase activity were not statistically change between the groups ($p > 0.05$).

In conclusion, these results will provide some more information relating to the degree of tissue pathology as a result of parasite infection, and accordingly it would be also useful to give direction to the treatment in qualitative and quantitative degrees in pregnancies.

Key Words: *Toxoplasma gondii*, malondialdehyde, xanthine oxidase, Thiol,

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

İÇKAPAK	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI	iii
KABUL VE ONAY SAYFASI	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ	x
KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1.TOXOPLASMA GONDII	4
2.1.1.İnsana Bulaşma Yolları	5
2.1.2.Dünya’da ve Ülkemizde Toksoplasmosis	6
2.1.3 Klinik	6
2.2.SERBEST RADİKALLER, ANTİOKSİDAN SİSTEM VE	
OKSİDATİF STRES.	8
2.2.1.SerbestRadikaller	8
2.2.1.1.SerbestRadikallerin Kaynakları	9
2.2.1.2.Serbest Radikaller Hücreye Nasıl Zarar Vermektedir	13
2.2.2 Lipid Peroksidasyonu ve Malondialdehid (MDA)	15
2.2.3 Ksantin Oksidaz (XO)	17
2.2.4 Oksidatif Stres	19
2.2.5 Protein Oksidasyonu	19
2.2.6 Tiyol	21
2.2.7 İleri Oksidasyon Protein Ürünleri	21
2.2.8 Myeloperoksidaz (MPO)	23
2.2.8.1 Myeloperoksidazın Yapı ve Özellikleri	23
2.2.8.2 Myeloperoksidaz Sistemi	23
2.2.9 Antioksidan Sistem	24
2.2.9.1 Enzimatik Antioksidanlar	26
2.2.9.2 Nonenzimatik Antioksidanlar	27

Sayfa No

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1.GEREÇ.....	29
3.1.1 Çalışma Grubu.....	29
3.2.YÖNTEM.....	30
3.2.1 Malondialdehid Tayini.....	30
3.2.2 Ksantin Oksidaz Aktivitesi Tayini.....	32
3.2.3 AOPP Tayini.....	33
3.2.4 Tiyol Tayini.....	34
3.2.5 Myeloperoksidaz Aktivitesi Tayini.....	36
3.3. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME.....	38
4. BULGULAR	39
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	43
6. KAYNAKLAR	53
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİL ve TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1 T. gondii'nin yaşam döngüsü.....	5
Şekil 2.2 Serbest radikal reaksiyonunun şematik gösterimi.....	8
Şekil 2.3 Serbest radikal hasarının hedefleri ve ürünler.....	14
Şekil 2.4 Lipid peroksidasyonunun kimyasal yolu.....	16
Şekil 2.5 Pürin nükleotid yıkımı ve ürik asit oluşumu.....	17
Şekil 3.1 MDA'nın TBA ile reaksiyonu ve oluşan renkli TBA-MDA Kompleksinin yapısı.....	30
Şekil 3.2 MDA standart grafiği.....	32
Şekil 3.3 AOPP standart grafiği.....	34
Şekil 3.4 TNB oluşum reaksiyonu.....	35
Şekil 3.5 Tiyoil standart grafiği.....	36
Şekil 4.1 IgG(+)/IgM(-) ile IgG(+)/IgM(+) bireyleri arasında AOPP regresyon eğrisi.....	41
Şekil 4.2 IgG(+)/IgM(-) ile IgG(+)/IgM(+) bireyleri arasında ksantin oksidaz aktivitesi regresyon eğrisi.....	41
Şekil 4.3 IgG (-)/IgM(-) ile IgG(+)/IgM(+) bireyleri arasında ksantin oksidaz aktivitesi regresyon eğrisi.....	42
Şekil 4.4 IgG(-)/IgM(-) ile IgG(+)/IgM(-) bireyleri arasında ksantin oksidaz aktivitesi regresyon eğrisi.....	42
Tablo 2.1 Radikaller ve non-radikaller.....	10
Tablo 2.2 Biyolojik sistemlerde antioksidan savunma sistemi.....	25
Tablo 4.1 Toxoplasma gondii pozitif bireylerde ve kontrol grubunda oksidatif stres belirteçleri.....	39

KISALTMALAR

ADP	:Adenozin difosfat
AOPP	:İleri oksidasyon protein ürünleri
ATP	:Adenozin trifosfat
*OH	:Hidroksil radikali
¹ O ₂	:Singlet oksijen
Ca	:Kalsiyum
CaCl ₂	:Kalsiyum klorür
Cu	:Bakır
EDTA	:Etilendiamin tetraasetik asit
ELISA	:Enzyme-linked immunosorbent assay
Fe	:Demir
GSH	:Redükte glutatyon
GSH-Px	:Glutatyon peroksidaz
H ₂ O ₂	:Hidrojen peroksit
HAc	:Asetik asit
HO* ₂	:Hidroperoksi radikali
HOC	:Hipoklorik asit
HOCl	:Hipokloröz
IFA	:İndirekt fluoressan antikor
IHA	:İndirekt hemaglutinasyon
KCN	:Potasyum siyanid
K ₃ Fe(CN) ₆	:Potasyum ferri siyanür
LOO	:Lipid peroksil radikali
MDA	:Malondialdehid
Mn	:Manganez
MPO	:Myeloperoksidaz

NaCl	:Sodyum klorür
Na ₂ CO ₃	:Sodyum karbonat
NADPH	:Nikotin adenin dinükleotid fosfat
NaHCO ₃	:Sodyum bikarbonat
O ₂ ^{*-}	:Süperoksit radikali
O ₃	:Ozon
OD	:Optik dansite
ONOO ⁻	:Peroksinitrit
Ort	:Ortalama
PBS	:Fosfat buffer saline (Fosfat tamponu)
ROT	:Reaktif oksijen türleri
SD	:Standart deviasyon (sapma)
SDS	:Sodyum dodesil sülfat
SOD	:Süperoksit dismutaz
TBA	:Tiyobarbitürik asit
Zn	:Çinko
XO	:Ksantin oksidaz

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Toxoplasma gondii zorunlu hücre içi paraziti olup memeliler ve bazı kuş türlerinde enfeksiyon oluşturur. Toxoplasmosis hala tüm dünya için önemini sürdüren bir hastalık olarak karşımıza çıkmaktadır. Hastalığın insana bulaşması birçok yolla olmaktadır. Örneğin; anneden bebeğe bulaşma, kan transfüzyonu ve doku transplantasyonu (1-3). İnsana bulaşma yolları göz önünde bulundurulduğunda *Toxoplasma gondii*'den korunmak için kedi ile temas sonrası, bahçe işlerinden sonra ve toprakla uğraşma sonrası ellerin su ve sabunla iyice yıkanması gerekmektedir. Ülkemizde bölgelere göre toxoplasma seropozitifliği değişmektedir. İmmün sistemi sağlam insanlarda toxoplasmosis genellikle asemptomatik olarak görülmektedir. İnsanlarda hastalık genellikle klinik belirti vermeden seyreder. Ateş, yorgunluk, boğaz yanması, özellikle boyun bölgesinde lenfadenopati, bazen makulopapüler döküntüler, seyrek olarak hepatomegali ve sarılık tespit edilebilir (3). İnsanda *Toxoplasma gondii*'nin serolojik tanısında birçok test kullanılabilmeyle beraber ELISA en çok kullanılan testtir. Anti-*Toxoplasma gondii* IgG antikorları enfeksiyondan 1-2 hafta sonra yükselmeye başlamaktadır, devam eden IgG pozitifliğinin yakın 3 aylık bir dönemdeki enfeksiyonu mu yoksa 3 aydan daha eski bir enfeksiyonu mu gösterdiğini anlamak için IgG avidite testi yapılmaktadır. Double sandwich IgM ELISA enfeksiyonun ilk haftasında yükselen IgM antikorlarını tespit etmede kullanılmaktadır (4-13).

Oksidatif stres; kanser, ateroskleroz ve diabetes mellitus gibi birçok patolojik tablonun patogeneğinde olduğu gibi birçok farklı hastalığın mekanizmasında da rol almaktadır. Oksidatif stres, oksidan üretimi ile antioksidan korunma arasındaki imbalans nedeniyle ortaya çıkar. Bu imbalans oksidan üretimi artışına ve/veya antioksidan korunmadaki

azalmaya bağılı olabilir. Hücresel düzeyde ise bu imbalans protein, lipid ve nükleik asitlerin oksidatif modifikasyonu nedeniyle yapısal hasarla sonuçlanabilir (14-15).

Oksidatif stres, özetle; serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır.

Lipid peroksidasyonunun başlıca son ürünlerinden olan malondialdehit, oksidan hasarı değerlendirmede sıklıkla kullanılmaktadır. Malondialdehid üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda meydana gelir ve tiyobarbitürik asit ile ölçülebilir. Bir oksidan enzim olan ksantin oksidaz, bulunduğu dokuda kendisi serbest radikal oluşumuna yol açtığı gibi, asetaldehit metabolizmasının da ksantin oksidaz veya aldehit oksidaz aracılığı ile serbest radikaller üretebilme potansiyeli vardır. Serbest radikaller oldukça reaktif olup, canlı organizma için toksiktir. Protein oksidasyonu, $\text{OH}^\cdot$, H_2O_2 gibi reaktif oksijen türleri ile direkt olarak veya oksidatif stresin sekonder ürünleri ile reaksiyonu sonucu indirekt olarak indüklenen, proteinlerin kovalent modifikasyonu olarak tanımlanmaktadır. Protein oksidasyonunun yeni bir marker'ı olan ileri oksidasyon protein ürünleri çeşitli araştırmacıların dikkatini çekmiştir ve ditirozin içeren çapraz bağı protein ürünleri olarak tanımlanmaktadır (14-15). Son yıllarda yapılan çalışmalarla, ileri oksidasyon protein ürünleri'nin protein oksidasyonunun derecesini belirlemede duyarlı bir marker olabileceği, plazma ditirozin ve ileri glikasyon son ürünü olan pentozidin düzeyleri ile korelasyon gösterdiği bildirilmiştir. Serbest radikallerin hasar verici etkisini önlemeye çalışan antioksidanlar, özellikle de tiyol grupları, bu etkileşmeler sırasında plazma ve/veya doku düzeylerini genelde koruyamamaktadır. Diğer bir ifadeyle, serbest radikallerin proteinlerdeki tiyol gruplarının oksidasyonuna yol açtığı gösterilmiştir. Plazmada bulunan tiyol gruplarının başlıca kaynağı, redükte glutatyonun yanı sıra, başta albümin olmak üzere protein yapılarında bulunan sistein ve metiyonin amino asitleridir. Plazma tiyol düzeylerinin tayini, proteinlerin serbest oksijen radikalleri aracılı oksidasyondan ne denli etkilendiklerini göstermesi bakımından önem taşımaktadır. Myeloperoksidaz, doğal immün sistemin dominant etkili hücresi ve akut enflamasyonun başlıca hücresi olan nötrofillerde etkilidir. Süperoksit radikalının dismutasyonu sonucu oluşan hidrojen peroksit, myeloperoksidaz enzimi aracılığıyla reaksiyona girerek güçlü bir ajan olan hipoklorik asidi oluşturur. Enfeksiyöz ajanlarla savaş için gerekli olan reaktif oksijen

partikülleri kan hücreleri tarafından aşırı salgılanacak olurlarsa bu kez yarar yerine zararlı olmaya başlarlar (14-15).

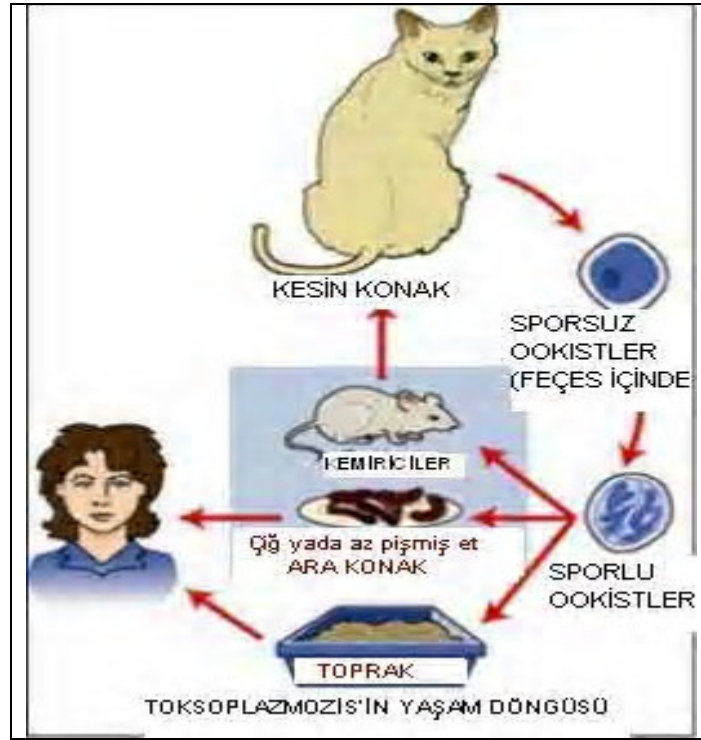
Bu çalışmada *Toxoplasma gondii* pozitif bireylerde serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması ve protein oksidasyon derecesi arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçladık. Bu amaçla, lipid peroksidasyonunun göstergesi olan malondialdehit düzeyleri, oksidatif stres nedenlerinden olan ksantin oksidaz aktivitesini, oksidatif stres nedenlerinden olan ve protein zararının tespitinde marker özelliği olan tiyol seviyesi ve protein peroksidasyonun göstergesi olan oksidatif stres marker'ı ileri oksidasyon protein ürünleri düzeyleri ve hücre içi antioksidan enzimlerden ve nötrofil aktivasyonun belirteçlerinden olan myeloperoksidaz düzeyi, birlikte değerlendirilmeye alındı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 TOXOPLAZMA GONDII

Toxoplasma gondii (*T. gondii*), hücre içi zorunlu protozoan parazitlerdendir. *T. gondii* insanda organları tutarak toxoplasmosis'e sebep olup, önemli derecede morbidite ve mortaliteye sebep olmaktadır. Son yıllarda dünyada *T. gondii* antikorlarının düştüğü bildirilmesine rağmen toxoplasmosis hala tüm dünya için önemini sürdüren bir hastalık olarak karşımıza çıkmaktadır (1-3).

T. gondii'nin kesin konağı kedigillerdir. Sporsuz ookistler kedi dışkısı ile dışarı atılmaktadır. Ookistler yalnızca 1-2 hafta atılmasına rağmen milyonlarca ookist atılımı olmaktadır. Dış koşullarda 1-5 gün içerisinde içlerinde dörder sporozoit bulunan iki sporokistli ookistler oluşmaktadır. Enfektif formun ara konak olan kuşlar ve rodentler tarafından kontamine toprak, su ve besinlerle alınmasıyla enfeksiyon bulaşmaktadır. Ookistlerin alınmasından kısa süre sonra takizoitler oluşmaktadır. Takizoitler doku kisti denilen bradizoitlere dönüşmektedirler. *T.gondii*, kedilerin enfekte ara konakları yemesiyle yaşam döngüsünü tamamlamaktadır (1-4).



Şekil 2.1 *T. gondii*'nin yaşam döngüsü.

2.1.1 İnsana bulaşma yolları

Hastalığın insana bulaşması birçok yolla olmaktadır. Toxoplasmosis; anneden bebeğe bulaşma, kan transfüzyonu ve doku transplantasyonu yolları dışında insandan insana bulaşmamaktadır. İnsana hastalığın bulaşmasının 4 temel yolla olabileceği belirtilmiştir. a) Yiyecek ve içeceklerle b) Konjenital (Anneden bebeğe) c) Hayvandan insana d) Diğer yollar (1-3).

T. gondii bradizoit içeren doku kistlerinin yiyeceklerle alınmasıyla insana bulaşır. Bu, çiğ ya da az pişmiş enfekte etlerin yenilmesiyle olabileceği gibi enfekte etlerle temas etmiş ellerin etlere bulaşmasıyla da olabilmektedir. Bununla birlikte toxoplasma'nın deriden absorbe edilmediği de unutulmamalıdır. Yine enfekte etlerle temas etmiş kesici aletler de bulaşmada rol oynayabilmektedir (1,2). Gebeliği sırasında toxoplasma ile enfekte anneler enfeksiyonu bebeğe geçirmektedirler. Enfeksiyona yakalanma zamanı bebekteki enfeksiyonun derecesini etkilemektedir (1-3). Toxoplasmanın insana bulaşmasında diğer yolların en önemlileri Toxoplasma pozitif donörlerden organ transplantasyonu ve kan transfüzyonudur. Ayrıca enfekte kan ile temas ihtimali olan laboratuvar çalışanları da enfeksiyonun bulaşabileceği risk grupları arasındadırlar (1). İnsana bulaşma yolları göz önünde bulundurulduğunda *T. gondii*'den korunmak için

kedi ile temas sonrası, bahçe işlerinden sonra ve toprakla uğraşma sonrası ellerin su ve sabunla iyice yıkanması gerekmektedir. Ayrıca gebe olma veya immün bağışıklığı baskılayan bir hastalığa sahip olma durumunda ise kedilerin evin dışında tutulması en iyi önlem olarak görülmektedir. İyi pişmemiş veya az pişmiş yiyeceklerden kaçınmak ve bu tür besinleri kedilere de vermemek toxoplasmosis'den korunmada önemli yollardandır (1-6).

2.1.2 Dünya'da ve Ülkemizde Toxoplasmosis

Seroprevalans çalışmaları toxoplasmosis'in dünyada en yaygın insan enfeksiyonlarından biri olduğunu göstermiştir (1). Genel bilinenin aksine toxoplasmosis sadece geri kalmış ve gelişmekte olan ülkelerin değil aynı zamanda gelişmiş ülkelerin de önemli bir sorunudur. Amerika Birleşik Devletlerinde *T. gondii* seroprevalansı % 22,5 civarında olmasına rağmen dünyanın bazı bölgelerinde seroprevalansın % 95'lere ulaştığı tahmin edilmektedir (1, 5-7). Genel olarak seroprevalans yaş ile artarken cinsiyet ayrımı göstermemektedir. Hastalığın coğrafi insidansında görülen farklılıkların iklime, toplulukların beslenme alışkanlıklarına, kedi nüfusuna, kedi ile temasa, sosyo-ekonomik ve kültürel değerlere, az pişmiş ya da çiğ et yeme alışkanlıklarına göre değiştiği düşünülmektedir (2). Toxoplasmosis tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de yaygın bir hastalıktır (3). Türkiye'de seroprevalans, dünyada olduğu gibi, yaşa, coğrafik konuma, hijyenik koşullara, yaşam alışkanlıklarına, beslenme durumuna ve kedilerle olan temas sıklığına bağlı olarak farklılıklar göstermektedir (4-5). Yapılan çalışmalarda Türkiye'de örneğin; Ege bölgesinde genel popülasyonda Toxoplasma prevalansı ortalama % 45olarak bildirilmektedir (6-11).

2.1.3 Klinik

İmmün sistemi sağlam insanlarda toxoplasmosis genellikle asemptomatik olarak görülmektedir. Bununla birlikte akut toxoplasmosis'li hastaların %10-20'sinde grip benzeri semptomlar ve lenfadenopati görülebilmektedir (1, 12). Hastalık genellikle iyi seyirli olup kendi kendini sınırlamaktadır. Semptomlar birkaç hafta veya birkaç ay içinde düzelmektedir. Nadir durumlarda görme kaybı oluşabilmektedir. İmmün yetmezlikli hastalarda sıklıkla santral sinir sistemi hastalıkları, retinocoroidit, pnömoni ve diğer sistemik hastalıklar görülmektedir. AIDS'li hastalarda toxoplasmik ensafalit intraserebral lezyonun en önemli sebebidir. İmmüsupresif tedavi alanlarda toxoplasmosis ya enfeksiyonun yeni kazanılmasıyla ya da latent enfeksiyonun reaktive

olmasıyla olmaktadır. Konjenital enfeksiyon gebelik sırasında anneden bebeğe enfeksiyonun geçmesiyle olmaktadır. Konjenital enfeksiyonun ciddiyeti ve insidansı enfeksiyonun geçirildiği trimester ile ilgilidir. Anneden bebeğe enfeksiyonun bulaşma riski ilk trimester’da % 15-25, 2. trimester’da %30-45, 3. trimester’da ise %60-65’tir (1, 5, 12). Fakat ilk trimester veya ilk 6 ayda olan bulaşmalar daha ciddi durumlara yol açmaktadır. Bir çok yeni doğan doğum sırasında semptom göstermemekte iken ilerleyen dönemlerde konjenital toxoplasmosis’in semptom ve bulguları görülebilmektedir. Oküler toxoplasmosis, retinochoroidit’in önemli bir sebebi olup konjenital veya doğum sonrası bir enfeksiyonun sonucu olarak meydana gelebilir. Konjenital enfeksiyon sonrası yaşamın 2 veya 3. on yılında görmede bozulma olana kadar sıklıkla asemptomatik bir tablo olmaktadır. İmmün yetmezlikli hastalarda ve fetusta önemli morbidite ve mortaliteye sebep olan toxoplasmosis’i etkin olarak tedavi edebilmek için tanının hızlı ve doğru bir şekilde konulması gerekmektedir. Klinik bulgular tanı için yönlendirici olmakla birlikte immün sistemi normal kişilerde hastalığın asemptomatik seyretmesi, tüm klinik bulguların bir hastada bulunamaması nedeniyle tanının laboratuvar ile desteklenmesi gerekmektedir (5, 12). *T gondii* enfeksiyonunun laboratuvar tanısı indirekt olarak serolojik yöntemlerle direkt olarak izolasyon, histoloji, hibridizasyon ve PCR ile konulmaktadır (1,7,12).

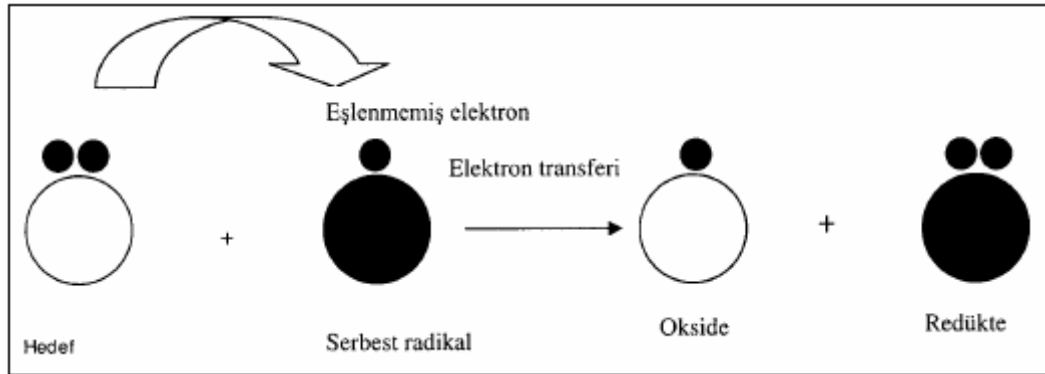
T. gondii serolojik tanısında Sabin Feldman boya testi, immunofloresan antikor testi, ELISA, IgG avidite testi ve agglütinasyon testleri kullanılmaktadır. Bu testler arasında Sabin Feldman boya testi altın standart olarak kabul edilmektedir. IgG antikorları enfeksiyondan 1-2 hafta sonra yükselmeye başlamaktadır. Devam eden IgG yüksekliğinin yakın 3 aylık bir dönmedeki enfeksiyonu mu yoksa 3 aydan daha uzak bir enfeksiyonu gösterdiğini anlamak için avidite testi yapılmaktadır. Double sandwich IgM ELISA ve IgM immunosorbent agglütinasyon assay (ISAGA) enfeksiyonun ilk haftasında yükselen IgM antikorları tespit etmede kullanılmaktadır. Özellikle IgM ISAGA yenidoğanlarda konjenital enfeksiyonunun tespitinde yüksek derecede sensitif ve spesifiktir (1-5, 7-12).

2.2 SERBEST RADİKALLER, ANTİOKSİDAN SİSTEM VE OKSİDATİF STRES

Oksidatif stres kanser, ateroskleroz, ve diyabetes mellitus gibi birçok patolojik tablonun patogenezinde olduğu gibi birçok farklı hastalığın mekanizmasında da rol almaktadır. Oksidatif stres oksidan üretimi ile antioksidan korunma arasındaki imbalans nedeniyle ortaya çıkar. Bu imbalans oksidan üretimi artışına ve/veya antioksidan korunmadaki azalmaya bağlı olabilir. Hücresel düzeyde ise bu imbalans *protein, lipid ve nükleik asitlerin* oksidatif modifikasyonu nedeniyle yapısal hasarla sonuçlanabilir. Oksidatif stres, özetle: serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır. (13-19).

2.2.1 Serbest Radikaller

Serbest radikaller eşlenmemiş elektronları bulundurlar ve bu elektroları nedeniyle oldukça reaktiftirler. Elektronu koparılmış olan molekül, eşlenmemiş elektron içerdiğinden, serbest radikale dönüşür ve böylece tek bir radikalin varlığı ile elektron transfer zincir reaksiyonları başlayabilir ve doku hasarına neden olabilir (14, 20) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 Serbest radikal reaksiyonunun şematik gösterimi.

Atomlardaki elektronlar yörünge olarak bilinen boşluklarda hareket ederler. Her yörüngede birbirine zıt yönde hareket eden en fazla iki elektron bulunur.

Serbest radikaller, pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilirler ve biyolojik sistemlerde en fazla elektron transferi ile oluşurlar. Serbest radikal reaksiyonları, bağışıklık sistemi hücrelerinden nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma

mekanizması için gerekli olsa da, serbest radikallerin fazla üretimi doku hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır (14, 21-26).

2.2.1.1 Serbest Radikallerin Kaynakları

Serbest radikaller, besinlerin oksijen kullanılarak enerjiye dönüştürülmesi sırasında meydana gelen kararsız ve reaktif moleküllerdir. Serbest radikal hasarına karşı koymak üzere mevcut antioksidanlar kullanılabilecek durumda değilse veya radikal oluşumu baş edilemeyecek kadar fazla ise, oksidan-antioksidan dengesi oksidanlar lehine bozulur ve ‘oksidatif stres’ ortaya çıkar. Böylece yaşam için çok gerekli olan oksijen, aynı zamanda oksitleyici maddeler olan serbest radikalleri meydana getirerek çevredeki tüm makromoleküllere hasara verir. Başlıcaları; lipitler, proteinler ve nükleik asitlerdir (22-25).

Elektronlar orbital denilen bölgelerde dönerler. Her orbital normal şartlarda birbirine zıt yönde dönen 2 elektron ihtiva eder. Serbest radikaller ortaklanmamış elektron içerir. Bu da en sık olarak elektron transfer zincirinde oluşan elektronların transferi ile veya oksidazlar ile tek elektron transferi ile oluşur. Serbest radikallerin bir başka oluşma şekli de moleküldeki bağların homolitik olarak parçalanması sonucu elektronlardan her birinin farklı atomlar üzerinde kalmasıyla olur. Ayrıca iyonize radyasyon da serbest radikal oluşumuna sebep olabilir. Oksijen, iki elektronu eşleşmemiş şekilde bir elektron dağılımına sahiptir. Bu yüzden bazen oksijen bir radikal olarak değerlendirilir. Oksijen molekülünün reaktif bir özelliği olmamasına rağmen diğer radikallerle reaksiyona girme özelliğine sahiptir (22-27).

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir (22). Aerobik organizmalarda oksijen kaynaklı serbest radikallerin oluşumu diğer radikallerden çok daha fazla olmaktadır. Reaktif oksijen türleri (ROT) olarak adlandırılan bu moleküllerden bazıları radikal tanımlamasına uyarken, bazıları radikal olmamakla birlikte benzer reaktiviteye sahiptirler (23). ROT; genellikle oksijen radikalleri ve okside olabilen ve/veya kolaylıkla radikallere dönüşebilen hipokloröz (HOCl), ozon (O₃), peroksinitirit (ONOO⁻), singlet oksijen (¹O₂) ve hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi non-radikallere denir (22-26, 28) (Tablo 2.1).

Tablo 2.1 Radikaller ve non-radikaller.

Radikaller	Non-radikaller
Süperoksit (O_2^-)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Hidroksil ($OH^\cdot$)	Hipokloröz asit ($HOCl$)
Peroksil ($RO_2^\cdot$)	Hipobromöz asit ($HOBr$)
Alkoksil ($RO^\cdot$)	Ozon (O_3)
Hidroperoksil ($HO_2^\cdot$)	Singlet oksijen (1O_2)
Nitrik oksit ($NO^\cdot$)	Nitroksil anyonu (NO^-)
Nitrojen dioksit ($NO_2^\cdot$)	Nitrozil kasyonu (NO^+)
	Nitröz asit (HNO_2)
	Dinitrojen tetraoksit (N_2O_4)
	Dinitrojen trioksit (N_2O_3)
	Peroksinitirit ($ONOO^-$)
	Peroksinitröz asit ($ONOOH$)
	Nitronyum kasyonu NO_2^+
	Alkil peroksinitirit ($ROONO$)

Oksijen (O_2)

Moleküler oksijen dış orbitallerinde paylaşılmamış iki elektron içerir. Oksijen, çok güçlü bir oksidan olmamasına rağmen, suya redüksiyonu sonucu çok reaktif ara ürünler oluşmasına neden olur. Radikal tanımına göre oksijen “diradikal” yapıya sahip bir moleküldür. Oysa oksijenin reaktivitesi beklenenin aksine çok düşüktür. Diradikal bir yapıya sahip olan oksijenin herhangi bir molekül ile tepkimeye girebilmesi için, tepkimeye gireceği molekülün de benzer yapıya sahip olması gerekir. Oysa başta organik moleküller olmak üzere atom ve moleküller orbitallerinde elektronları antiparalel ve eşleşmiş olarak içerirler veya paylaşılmamış elektronlar kovalent bağlara katılmışlardır. Bunun sonucu olarak oksijenin diğer moleküllere olan reaktivitesi son derece kısıtlanmıştır (29-32).

Süperoksit (O_2^-)

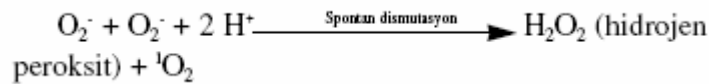
Doğal oksijen molekülünün çevresindeki herhangi bir molekülden bir elektron almış hali olan süperoksit (O_2^-) molekülü başka moleküllerle kolayca elektron alışverişine girebilen bir özelliktedir, yani radikaldir. Oksijene 1 elektron eklenmesiyle oluşur. Süperoksit radikali, 1 eşlenmemiş elektron içerdiğinden ne çok fazla reaktif, ne de güçlü bir oksidandır. Süperoksit radikalinin toksisitesinden, günlük oluşumunun çok fazla olması sorumlu olabilir (30-32).



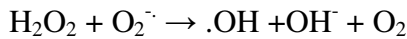
Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Doğal oksijen çevresindeki başka bir molekülden iki elektron almışsa peroksit oluşur. Peroksit molekülü iki H molekülü ile birleşirse H₂O₂ oluşur. Hidrojen peroksit membranlardan kolaylıkla geçip hücreler üzerinde bazı fizyolojik rollere sahip olabilir, fakat çiftlenmemiş elektrona sahip olmadığından radikal olarak adlandırılmaz. Bu nedenle "reaktif oksijen türleri", süperoksit gibi radikaller, ayrıca hidrojen peroksit gibi radikal olmayanlar için ortak olarak kullanılan bir terimdir (29).

Süperoksit radikaline 1 elektron eklenmesiyle güçlü bir oksidan olan ve atmosferdeki asit yağmurların da kaynağını oluşturan hidrojen peroksit oluşur (30).



Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü süperoksit ile reaksiyona girerek en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikalini oluşturmak için kolayca yıkılabilir.



Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir. Katalizör varlığında veya katalizörsüz oluşabilir. Ancak katalizörsün reaksiyon çok yavaş ilerler, demirle katalizlenen ikinci şekli ise çok hızlıdır. Bu reaksiyona da "Fenton Reaksiyonu" adı verilir (30-32).

Hidroksil Radikali (OH[•])

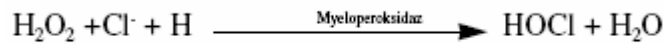
Hidroksil radikali (·OH), transisyon metallerinin varlığında hidrojen peroksidin indirgenmesiyle meydana gelir. Serbest radikaller içinde hidroksil radikali biyokimyadaki en reaktif molekül olup, diğer kimyasal türlerle sıklıkla reaksiyona girer.

Tek atom halinde ve bir elektronu eksik olan oksijen ile H⁺ 'in birleşmesinden oluşur. Yüksek reaktivite hidroksil radikalının mobilitesini sınırladığı için hidroksil radikalının toksisitesini kısmen sınırlayıcı bir özellik gösterir. Herşeye rağmen hidroksil radikali daima tehlikeli ve çok toksik kabul edilir. Çünkü insan vücudundaki her molekülü okside edebilir (32).

Hidroksilin yarılanma ömrü çok kısadır ve pek çok molekülden H atomu çıkarılmasını sağlar.

Hipokloröz Asit (HOCl)

Oksijenin nötrofillerdeki bir başka metabolizması da nötrofillerdeki myeloperoksidaz enzimiyle hidrojen peroksiti klorlayarak hipokloröz asiti oluşturmaktır. Hipokloröz asit de radikal olmadığı halde ROT arasında yer almaktadır. Aktive olan nötrofiller, monosit ve makrofajlar, eozinofiller O_2^- üretirler. Özellikle nötrofiller içerdikleri myeloperoksidaz enzimi aracılığıyla O_2^- 'in dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksiti klorür iyonu ile birleştirerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl'e dönüştürür: Nötrofillerden ve monositlerden salıverilen myeloperoksidaz enziminin hidrojen peroksit üzerine etkisiyle oluşup, ekstraselüler aralığa salıverildiği gibi myeloperoksidaz inhibitörüyle de bu oluşum engellenebilir (33-37).

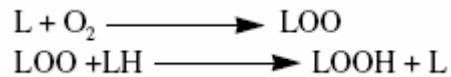


Nötrofiller aktive olduğunda oksijenin süperoksit radikaline dönüşümü 20 kat artar ki, buna oksijen tüketiminin artmasını ifade ettiği için solunum patlaması denir. Artmış metabolizma sonucu oluşan hidrojen peroksidin yaklaşık %40'ı hipokloröz asit, geri kalanı ise hidroksil radikaline dönüşür. Hipoklorit, evlerde temizlik malzemelerinin aktif maddesi olması yanında milisaniyeler içinde bakterilerde letal hasar oluşturan güçlü bir ajandır (34-38).

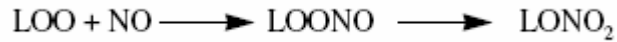
Lipid peroksil radikali (LOO)

Oldukça yıkıcı bir radikaldir. Bu sadece reaktivitesinden değil aynı zamanda lipid oksidasyonunu başlatması ve arttırmasından kaynaklanmaktadır. Lipit peroksidasyonu özellikle santral sinir sisteminde harabiyete neden olmaktadır. Karbon merkezli radikaller oksijen ile hızla reaksiyona girerek peroksil radikalini oluştururlar. Peroksil radikali lipid peroksidasyonunu başlatır ve oldukça uzun ömürlüdür.

Reaktif serbest radikaller ve metabolitler membrandan bir hidrojen uzaklaştırılmasıyla lipid peroksidasyonunu başlatırlar. Oluşan lipid radikal (L) oksijenle reaksiyona girerek lipid peroksil radikalini oluşturur (34-39).



Lipid peroksil radikali başka bir lipidden (LH) hidrojen atomunu uzaklaştırır ve lipid hidroperoksit (LOOH) ile başka bir lipid radikali oluşturur. Bu zincir reaksiyonunun NO'nun lipid peroksil radikali ile etkileşerek inhibe ettiği gösterilmiştir (40).



Singlet oksijen (1O_2)

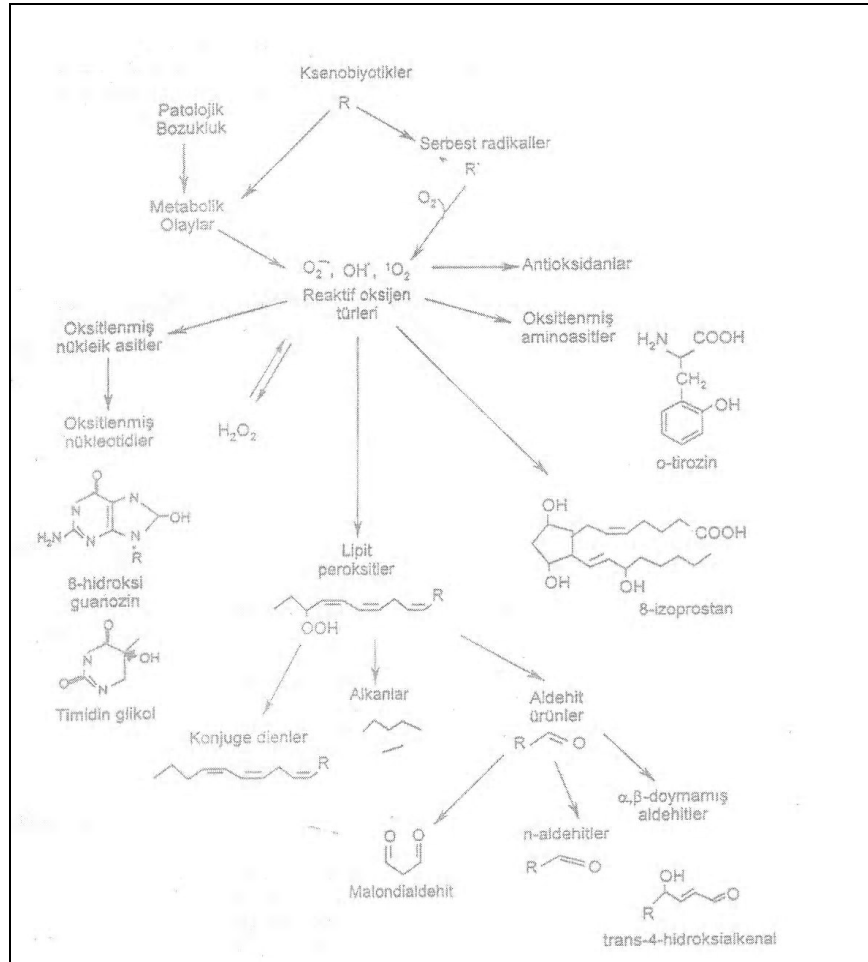
Yapısında eşleşmemiş elektronu bulunmaması nedeniyle serbest radikal olmadığı halde ROT'leri arasında yer alan O_2 serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olması açısından önem taşımaktadır. 'Delta' ve 'Sigma' olarak iki tipi mevcuttur. Sigma tipi daha reaktif olduğu için hızla delta tipine dönüşür. Singlet O_2 , oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi neticesi oluşabileceği gibi süperoksit radikalının dismutasyonu ve hidrojen peroksidin hipoklorit ile reaksiyonu sonucunda da oluşabilir. Serbest radikal olmasına karşın kuvvetli oksidan bir ajandır ve birçok molekülle etkileşir. Membran lipidlerine etki ederek peroksitleri oluşturur. NO ve hidrojen peroksidin etkileşmesiyle de singlet oksijen oluşabilmektedir (34-37,41).

2.2.1.2 Serbest radikaller hücreye nasıl zarar vermektedir?

Serbest radikaller hücre ve dokularda rol aldıkları 3 temel mekanizmayla birçok zarara yol açmaktadır.

1. *Membran Lipitlerinin Peroksidasyonu*; serbest radikaller hücrenin membranına saldırdıklarında gerçekleşir. Serbest radikaller, hücre membranının stabilizasyonunu ortadan kaldırarak, hızlı hücre ve doku bozulmaları na neden olurlar.
2. *Disülfit Bağı Oluşumu*; Glutasyon, tüm memeli hücrelerinde milimolar konsantrasyonlarda bulunur. Glutasyon (GSH) gibi tiyollerin (R-SH) oksidasyonu tiyol ve oksijen radikallerinin oluşumuna neden olur. Bunlar sülfür merkezli radikallerdir (RSH) ve proteinlerdeki homolitik fisyon (sülfürlerin karşılıklı bağlanması) reaksiyonları disülfit bağına oluşturur. Bu da proteinlerin konfigürasyonlarını bozarak vücuttaki metabolik aktivitelerini engeller.

3. *DNA Hasarı*; DNA molekülü yeniden sentezlenemeyen ancak kopyalanabilen bir molekül olduğundan DNA modifikasyonları mutasyonlara ve genetik bozukluklara neden olmaktadır. Bu yüzden DNA hasarının ROS ile indüklenen hücresel modifikasyonların en ciddi olduğu düşünülmektedir. Oksidatif DNA modifikasyonları memeli DNA'sında siktir. Bu modifikasyonların karsinogenez, diyabet ve yaşlanmanın mekanizmasına katkıda bulunduğu ileri sürülmüştür. Hidroksil radikalının DNA molekülünün tüm bileşenleriyle reaksiyona girdiği bilinmektedir. Pürin, pirimidin bazlarında ve deoksiriboz iskelette hasara yol açmaktadır.



Şekil 2.3 Serbest radikal hasarının hedefleri ve ürünleri.

Bu zararlar ayrıca şöyle de sıralanabilir:

1. Zar proteinlerinin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulması,
2. Seroid ve yaş pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi,

3. Kollajen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksido-redüksiyon olaylarının bozularak kapillerde aterofibrotik değişikliklerin oluşması,
4. DNA'nın tahrip olması,
5. Nükleotid yapılı koenzimlerin yıkımı,
6. Tiyollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması, hücre ortamının tiyol/disülfid oranının değişmesi,
7. Protein ve lipidlerle kovalent bağlantılar yapması,
8. Enzim aktivitelerinde ve lipid metabolizmasındaki değişiklikler,
9. Mukopolisakkaritlerin yıkımı,
10. Proteinlerin tahrip olması ve proteinlerin "turn-over"inin artması,
11. Lipid peroksidasyonu, zar yapısının bozulması (42-44).

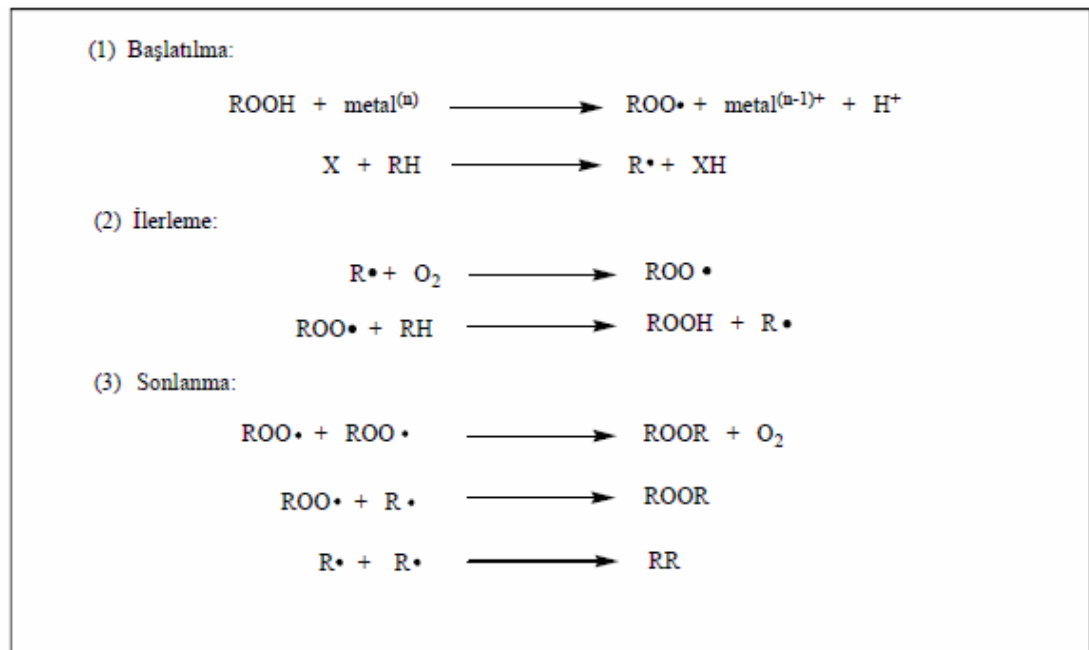
2.2.2 Lipid Peroksidasyonu ve Malondialdehid (MDA)

Oksidatif stres ve serbest radikaller özellikle lipitlerde hasara neden olur. Serbest radikaller hücrenin lipid membranına saldırarak buradan elektron çıkarırlar. Lipit hidroperoksitleri, lipit peroksidasyonunun erken aşamasını oluşturur. Lipit hidroperoksitlerinin yıkımı ile ise biyoaktif aldehitler oluşur. Bunlardan başlıcaları malondialdehit (MDA). Lipid peroksidasyonu; lipid hidroperoksit (COHH)'lerini oluşturmak için, oksijen radikali ile hücre membran fosfolipidlerindeki poliansatüre yağ asitlerinin reaksiyona girdiği kompleks bir işlemdir. Serbest oksijen radikallerinin membran lipidleriyle etkileşmesi zincirleme reaksiyonlarla devam eden lipid peroksidasyonunu başlatarak; membran yapısının bozulmasına, permeabilite artışına, hücrenin iyon gradientinin sürdürülememesine ve doku hasarına yol açabilir (45-46). Lipid peroksidasyonu, normal koşullarda tüm hücre ve dokularda düşük miktarlarda gerçekleşen ve oksijen kaynaklı serbest radikaller tarafından indüklenen oksidatif bir olaydır (45-49).

Lipid peroksidasyonu serbest oksijen radikallerinin poliansatüre yağ asitlerinin yan zincirindeki metilenik karbonlardan hidrojen iyonu çıkarması ile başlar ve lipid radikali oluşur. Oluşan lipid peroksi radikalının hemen yakınındaki ansatüre lipid molekülündeki hidrojen iyonu çıkarılmasıyla lipid hidroperoksit ve yeni bir lipid radikali meydana gelir. Lipid peroksidasyonu, oluşan iki lipid peroksit radikali ile

birleştirilip siklik peroksit oluşumu ile sonlanabileceği gibi, indirgenmiş metal iyonları [Demir (Fe^{2+}) ve Bakır (Cu^+) veya okside metal iyonları (Fe^{3+} ve Cu^{2+})] ile reaksiyona girerek alkoller, ketonlar, aldehydler ve buna benzer birçok sitotoksik ürünlere dönüştürülmesi ile de sonuçlanabilir. Oluşan bu radikaller de başka yağ asitlerinden hidrojen atomu kopartarak lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonunu sürdürürler. Lipid peroksidasyonu reaksiyonları Şekil 2.4’de gösterilmiştir.

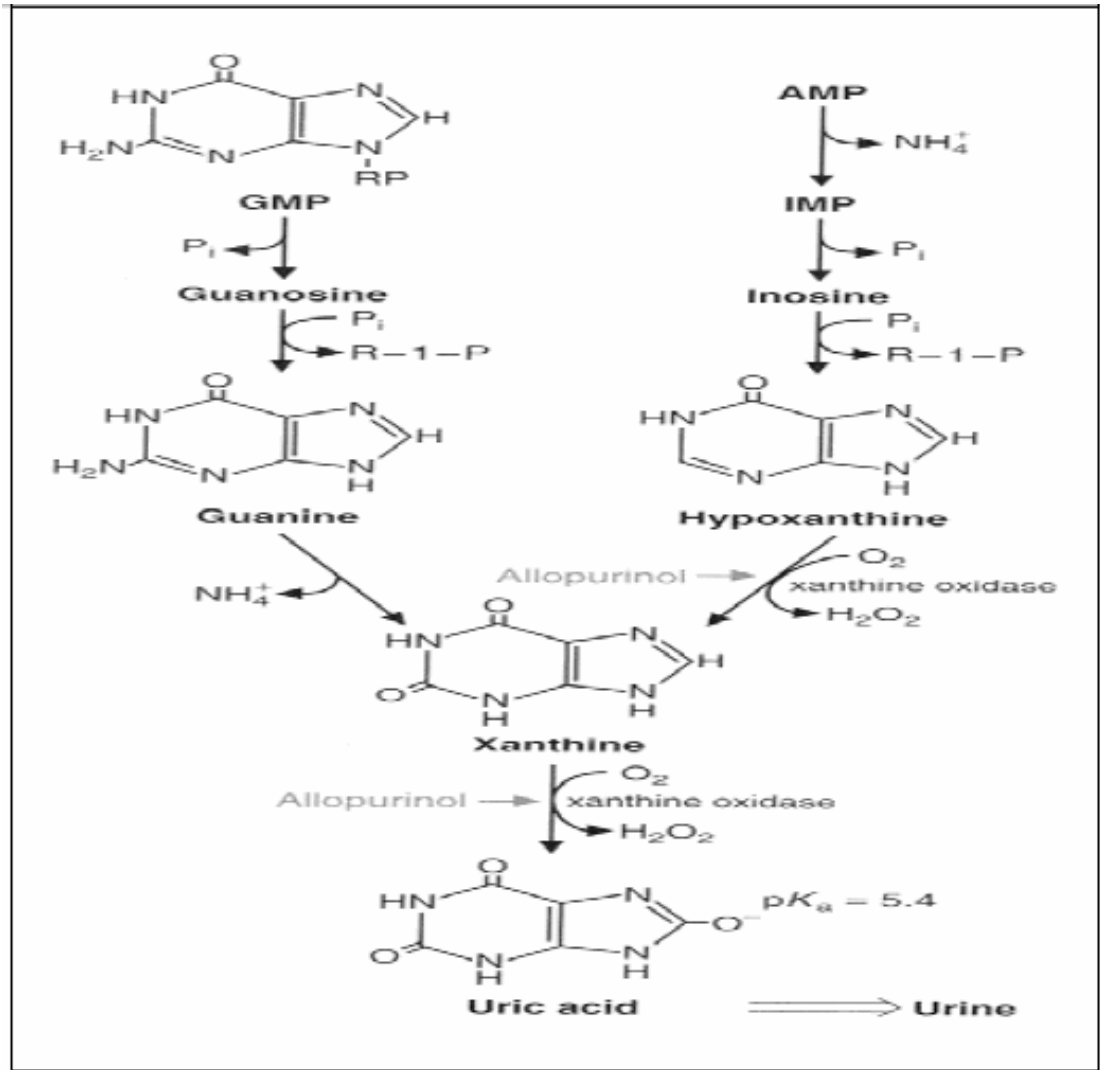
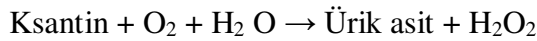
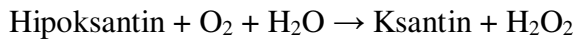
Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan en sitotoksik ürün aldehydlerdir. Bunlardan biri olan MDA, lipid peroksitlerin enzimatik olmayan oksidatif dekompozisyonu sonucu oluşur. MDA’nın asıl kaynakları üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu veya eikosanoid sentezinde serbestleşen siklik hidroperoksitlerdir. MDA, hücre membranının deformasyonuna, iyon geçişinin ve enzimatik fonksiyonların bozulmasına neden olur. Hücre zarlarından kolayca geçebileceği için hücre içindeki protein sentezini, enzimatik olayları ve DNA yapısını da olumsuz yönde etkilemektedir. MDA bu özelliklerinden dolayı mutajenik, genotoksik ve karsinojenik bir bileşiktir (45, 50). Lipit hidroperoksitleri ile nihai yıkım ürünü olan düşük molekül ağırlıklı MDA lipit peroksidasyonunun indeksi olarak kabul edilir. MDA’nın aldehyt gruplarıyla ile tiyobarbitürik asit arasındaki reaksiyon sonucu oluşan renkli ürün 545 nm’de absorbans verir (45- 49, 51).



Şekil 2.4 Lipid peroksidasyonunun kimyasal yolu (51).

2.2.3 Ksantin Oksidaz (XO)

Ksantin oksidaz (XO) enzimi oksidoredüktazlar sınıfına giren ve Mo içeren bir flavoproteindir (52, 53). XO hipoksantin ve ksantin de ürik aside dönüşümünü (Şekil 2.5) katalizler. Bu reaksiyonlarda O_2 'yi indirger ve bunun sonucunda da $O_2^{\cdot -}$ ve H_2O_2 oluşturur (52). Ürik asit, insanlarda pürin yıkımının son ürünüdür (53).

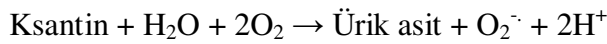


Şekil 2.5 Pürin nükleotid yıkımı ve ürik asit oluşumu. (53).

Süperoksit anyon radikalinin ($O_2^{\cdot-}$) en önemli enzimatik kaynaklarından birisi XO'dır. Bu enzim tüm çekirdekli hücrelerde yer alan metaloflavoproteindir (54). XO çok önemli serbest oksijen radikali kaynağıdır. Purinlerin hidroksilasyonunun katalizlenmesinde molibden, demir ve sülfür flavinin hidroksilasyonunda görev yapan enzim gurubunun üyesi olarak bilinir. Ksantin oksidaz hipoksantini ksantine, ksantini ürik aside dönüştüren reaksiyonları katalizler. Bu esnada moleküler oksijen indirgenerek ($O_2^{\cdot-}$) anyonuna dönüştürülür (55). XO, kapillerdeki endotel hücrelerinde çok yüksek konsantrasyonda bulunur (56).

Birçok enzimin katalitik döngüsü sırasında serbest radikaller ortaya çıkar. Bu enzimlerden biri XO'dır. XO hasarlanmamış dokularda bir dehidrojenaz olarak bulunur. Pürinlerin yıkım yolunda hipoksantinden ksantin ve ksantinden ürik asit oluşumu basamaklarında elektron akseptörü olarak moleküler oksijenden (O_2) daha çok nikotinamid adenin dinükleotid (NAD^+) kullanır (52, 55-56).

XO



Oksijensizliğe bağlı olarak adenozin difosfatın (ADP) adenozin trifosfata (ATP) fosforilasyonunun azaldığı durumlarda (iskemi durumlarında) ADP yıkılır ve pürin bazı, XO'ın bir oksidaz olarak etkili olmasıyla hipoksantine dönüştürülür. XO'ın, oksidaz olarak aktivite göstermesi durumunda hipoksantin ksantine ve ksantin ürik aside dönüşürken moleküler oksijen kullanılmakta, moleküler oksijen hidrojen perokside indirgenmektedir. İskemi durumlarında oksijen seviyesi düşük olduğundan önemli hasar olmaz. Ancak oksijen seviyesi reperfüzyon sırasında normale dönünce iskemi yerinde XO etkisiyle fazla miktarda H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ oluşur, bunların etkisiyle de iskemi/reperfüzyon hasarı denen durum ortaya çıkar. XO'ın özellikle intestinal mukoza hücrelerinde görülen iskemi/reperfüzyon hasarında önemli faktör olduğu düşünülmektedir (52, 56). Ksantin oksidaz gibi oksidan enzimler süperoksit radikali üretimine neden olurlar. *İnvivo* iskemi ve hipoksi, ksantin oksidazı, dehidrojenaz formundan oksidaz formuna dönüştürürerek, süperoksit radikali oluşumuna yol açar (52- 57).

2.2.4 Oksidatif stres

Serbest radikaller, besinlerin oksijen kullanılarak enerjiye dönüştürülmesi sırasında meydana gelen kararsız ve reaktif moleküllerdir. Serbest radikal hasarına karşı koymak üzere mevcut antioksidanlar kullanılabilecek durumda değilse veya radikal oluşumu baş edilemeyecek kadar fazla ise, oksidan-antioksidan dengesi oksidanlar lehine bozulur ve Oksidatif Stres ortaya çıkar. Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve durum 'oksidatif denge' olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. 'Oksidatif stres' olarak adlandırılan bu durum; serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (58).

Belirli bir düzeye kadar olabilen oksidan molekül artışı yani vücutta daima belirli düzeyde bulunan doğal antioksidan moleküller tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Böylece sağlıklı bir organizmada oksidan düzeyi ve antioksidanların bunları etkisizleştirme gücü bir denge içindedir. Oksidanlar belirli bir düzeyin üzerinde oluşur veya antioksidanlar yetersiz olursa yani denge bozulursa söz konusu oksidan moleküller organizmanın yapı elemanları olan protein, lipid, karbohidrat, nükleik asitler ve yararlı enzimleri bozarak zararlı etkilere yol açarlar (59).

2.2.5 Protein Oksidasyonu

Proteinlerin serbest radikal hasarından etkilenme dereceleri amino asit içerikleri ile ilişkilidir. Protein oksidasyonu, reaktif oksijen türevleri veya diğer oksidan metabolitler ile proteinlerin kovalent modifikasyonu sonucu oluşmaktadır. (60, 61). Doymamış bağlar ve -SH içeren moleküller ile triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin ve sistein gibi amino asitleri ihtiva eden proteinler serbest radikallerden daha kolay etkilenir. İmmünoglobulinler gibi fazla sayıda disülfit bağı bulunduran proteinlerde oksidasyon sonucu kükürt merkezli radikaller meydana gelir ve proteinin üç boyutlu yapısı bozularak normal fonksiyonunu yerine getiremez (61, 62).

Oksidasyon sonucu proteinlerin sekonder ve tersiyer yapılarında oluşan değişiklikler fonksiyonlarını etkilemektedir. Protein oksidasyonu, reaktif oksijen türleri (ROS)

(OH[·], H₂O₂ gibi) ile direkt olarak veya oksidatif stresin sekonder ürünleri ile reaksiyonu sonucu indirekt olarak indüklenen, proteinlerin kovalent modifikasyonu olarak tanımlanmaktadır. Reaktif oksijen türlerinin üretimine neden olan tüm reaksiyonlar ve ajanlar protein oksidasyonuna yol açabilmektedir. Protein oksidatif modifikasyonunun pek çok farklı tipi olduğundan, protein oksidasyonu için tek evrensel belirteç yoktur. Ancak, protein karbonil grupları oksidatif indüklü hücresel hasarın en genel belirteç olarak kabul edilmekte ve yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun nedenleri arasında protein karbonil gruplarının birçok farklı mekanizma ile ortaya çıkabilmesi, stabil olması ve basit ama duyarlı yöntemlerle ölçülebilir olması sayılabilir (61-65).

ROS biyolojik moleküllerin tümüne zarar verebilir. Bununla birlikte proteinler muhtemelen oksidatif hasara en duyarlı moleküllerdir ve hasarın etkisi diğer moleküllere göre oldukça fazladır. Proteinlerin oldukça farklı biyolojik fonksiyonları vardır. Proteinlerde *in vivo* olarak meydana gelen oksidatif değişiklikler proteinlerin rol oynadığı çeşitli hücresel fonksiyonları etkiler. Protein oksidasyonu ile ilişkili olduğu bilinen bazı hastalıklar ve hedef proteinleri: Ateroskleroz, Romatoid artrit, iskemi-reperfüzyon hasarı, Amfizem, Nörodejeneratif hastalıklar, Alzheimer, Parkinson, Akut pankreatit ve kanser (61-64).

ROS'un proteinlerde oluşturduğu oksidatif hasar, dört yolla olur ve yapısal değişikliklere yol açar. Bu mekanizmalar protein karbonil gruplarının oluşumu (61-65), metal katalizli protein oksidasyonu, protein tiyol gruplarının kaybı (45, 55-56), nitrotrozin oluşumu (62,64-68) ve ileri oksidasyon protein ürünlerinin oluşumu olarak sıralanabilir (69-70).

Reaktif türevler ve peptid bağları ile ya da amino asit yan zincirleri ile reaksiyona girer. Bu reaksiyonlar, redoks reaksiyonlarına giren demir ve bakır gibi metal katyonlardan etkilenir. Oksidatif modifikasyona uğramış proteinler ya düşük molekül ağırlıklı ürünlere ayrılır ya da çapraz bağlı yüksek molekül ağırlıklı ürünleri oluşturur (60-65). Proteinlerde modifikasyonlara yol açan reaksiyonların; oksidasyona ve peptid bağının ayrılmasına yol açan reaksiyonlar ve yan zincir modifikasyonuna yol açan reaksiyonlar olmak üzere iki grupta sınıflandırılmasının daha kolay bir sınıflandırma sistemi olacağı öne sürülmektedir (60-67). Protein oksidasyonu esas olarak hidroksil radikali (OH) ile başlar. Diğer taraftan oksidasyon sürecinde O₂ ile birlikte, süperoksit anyon radikali (O₂^{·-}) ve süperoksit radikalinin protonlanmış formu olan hidroperoksil (HO₂[·])'in

varlığında da gereklidir. Adı geçen bu reaktif oksijen türevleri amino asitlerin yan zincirlerinin oksidasyonuna, protein-protein çapraz bağlarının oluşumuna ve protein omurgasının oksidasyonu yolu ile protein fragmentasyonuna neden olur (60-63).

2.2.6 Tiyol

Oksidatif protein hasarı, protein karbonil (PCO) düzeylerindeki artış (71-74) ve protein tiyol düzeylerindeki azalma ile karakterizedir. Serbest radikaller proteinlerdeki tiyol gruplarının oksidasyonuna yol açarak oksidatif protein hasarına neden olur (73-74) Protein tiyolleri (PSH) antioksidan fonksiyonlarını peroksidasyonu başlatan oksidanları tutarak gösterir. Böylelikle vitamin E ve/veya lipidler oksidatif ataktan korunur (75).

Proteinlerde yapısal değişikliğe yol açan başlıca mekanizmalar; Protein karbonil içeriğinin artmasına yol açan metal katalizli protein oksidasyonu (76), protein tiyol gruplarının kaybı, Nitrotirozin oluşumu (77), ileri protein oksidasyon ürünlerinin oluşumudur. Proteinlerdeki tiyol gruplarının (-SH) serbest radikaller tarafından oksidasyona uğradığı bilinmektedir. Sisteindeki -SH grubunun oksidasyona yatkın olması nedeniyle, buna denk -SH grubundan değişik mekanizmalarla tiil radikali (-S[•]) oluşur ve sonuç olarak disülfid bağları meydana gelir (78). Bu ise radikal aracılı protein oksidasyonunun en önemli belirtisidir (79).

Serbest radikallerin proteinlerdeki tiyol (-SH) gruplarının oksidasyonuna yol açtığı gösterilmiştir (74-76). Sisteinin -SH grubu oksidatif atağa oldukça yatkındır ve -SH gruplarından değişik mekanizmalarla oluşan tiil radikali (S[•]) proteinlerdeki disülfid bağlarının oluşumuna öncülük eder (78-79). -SH gruplarının disüfitle ve oksiasitler gibi diğer oksitlenmiş türevlere dönüşümü, radikal aracılı protein oksidasyonun en erken gözlenebilen belirtisidir. Birçok araştırmacı peroksinitritin tiyol grupları ile reaksiyonu sonucu tiil radikallerinin oluştuğunu göstermiştir (74-79).

2.2.7 İleri Oksidasyon Protein Ürünleri

İleri oksidasyon protein ürünleri (AOPP), ditirozin içeren çapraz bağlı protein ürünleri olarak bilinmektedir. İleri oksidasyon protein ürünlerinin tayini, protein oksidasyonunun derecesini belirlemekte kullanılır (80-85). Proteinler oksidanlara maruz kaldıklarında birçok kovalent değişikliğe uğrar. Bu değişikliklerden bazıları serbest radikallerin protein molekülleri üzerine direkt etkileri sonucu oluşabildiği gibi, bazıları da oksidasyon yan ürünlerinin proteinlere kovalent olarak bağlanması ile meydana gelir.

Proteinlerin radikal aracılı hasarı; elektron kaybı, metal-iyon katalizli reaksiyonlar, lipid ve şekerlerin otooksidasyonu ile başlatılabilmektedir. Bu ürünlerin oluşum hızının artması veya temizleyici mekanizmaların yetersiz kalması, proteinler de olmak üzere diğer hücresel moleküllerdeki oksidatif modifikasyonların artışına yol açar (82-85).

Reaktif oksijen türleri (ROT) vücutta sürekli olarak oluşmaktadır. ROT, inflamatuvar ve dejeneratif hastalıklar gibi insandaki birçok patolojik duruma katkıda bulunur.

Oksidatif stresin kritik olan hastaların hastalıklarının gelişiminde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Serbest radikal hasarına neden olan dört ana grup ürün vardır. Bunlar lipid peroksidazlar, isoproteenazlar, DNA hidroksilasyon ürünleri ve protein karbonil bileşikleridir. Oksidatif stresin değerlendirilmesinde çok sayıda uygulanabilecek yöntem olduğu halde, bu yöntemlerin birçoğunun otomasyon eksikliği ve/veya karışık yöntemlerinden dolayı rutin klinik laboratuvarlarında kullanılamamaktadır. Örneğin; isoproteenazların ölçümü büyük doğruluğa sahiptir ve vücut sıvılarındaki lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesinde güvenilirdir. Fakat karışık yönteminden dolayı klinik çalışmalarda kullanımı sınırlanmaktadır (85).

1996'da kronik üremik hastaların plazmasında, Advanced oxidation protein products (ileri protein oksidasyon ürünleri-AOPP) olarak adlandırılan, yeni bir oksidatif stres belirteci tespit edildi ve çalışma şekli klinik kimya analizlerine programlandı. AOPP'nin mononükleer fagositleri aktive ederek, nötrofil ve bazofiller arasında sitokin benzeri mediyatör gibi davrandığı da öne sürülmektedir (81).

Protein oksidasyonu, proteinlerin reaktif oksijen türevleri veya oksidatif stres ürünleri ile kovalent modifikasyonu sonucu meydana gelir (82-91). Protein oksidasyonunun biyokimyasal sonuçları enzim aktivitesindeki azalma, protein fonksiyonlarının kaybı, proteaz inhibitör aktivitenin kaybı, protein agregasyonu, proteolize artmış/azalmış yatkinlık, reseptör aracılı endositozun bozulması, gen transkripsiyonundaki değişimler, immünojen aktivitedeki artış olarak sıralanabilir (83-103). Reaktif türevler tarafından proteinlerin oksidatif modifikasyonu, bir dizi bozukluk ve hastalığın etyolojisi ile ilerlemesinde rol oynar (92). Bu hastalıklar arasında başlıcaları; Alzheimer, amiyotrofik lateral skleroz, katarakt oluşumu, kronik böbrek yetmezliği, kistik fibrozis, diyabet, iskemi ve reperfüzyon hasarı, Parkinson, romatoid artrit ve sepsis olarak sayılabilir (85).

2.2.8. Myeloperoksidaz (MPO)

2.2.8.1 Myeloperoksidazın yapı ve özellikleri

Myeloperoksidaz (MPO), memeli nötrofillerinin granüllerinde yer alan bir enzim olup, fagosite edilmiş bakterilerin öldürülmesinde önemli rol oynamaktadır. Enzimin I, II ve III olarak tanımlanmış üç tipi mevcuttur.

Kristal yapısı X ışınlarıyla incelenmiş olup, her MPO molekülünün 2 alt birimden oluştuğu görülmüştür. Toplam molekül ağırlığı 140,000 olup, iki uzun iki de kısa polipeptid zinciri vardır. MPO 1940'lı yıllarda Verdoperoksidaz olarak anılmakta iken, sonradan Myeloperoksidaz olarak isimlendirilmiştir. Enzimin total ağırlığının ortalama %3-4'ü karbonhidrattır. Bir çok enzimde olduğu gibi spesifik inhibitörü de bildirilmiştir. Bilinen bu inhibitör MPO aktivitelerini bloke etmektedir (104-107).

2.2.8.2. Myeloperoksidaz sistemi

Fagolizozom içinde meydana gelen hidrojen peroksit miktarları, bakterilerin etkili şekilde öldürülmelerini sağlayacak yeterlilikte değildir. Ancak, nötrofillerin azurofil granüllerinde bulunan myeloperoksidaz enzimi (MPO), klor iyonu (Cl-) varlığında hidrojen peroksiti hipokloröz asite (HOCl.) dönüştürür. Hipokloröz asit, güçlü bir oksidan ve antimikrobiyal ajandır. Benzer bir mekanizma mantarlar, virüsler, protozoa ve helmintler için de etkili olur. Hidrojen peroksitin büyük bir kısmı, zamanla katalaz tarafından su ve oksijene parçalanır ve bir kısmı da glutatyon peroksidaz etkisiyle yıkılır. Kan monositleri de myeloperoksidaz granülleri içerirler ve bakterileri öldürmek için hidrojen peroksit-myeloperoksidaz sistemini kullanırlar. Bu sistemin önemi, kronik granulomatöz hastalık (CGD) olgularında çarpıcı bir tablo ile belirir. Kronik granulomatöz hastalık, kalıtsal bir enzimik defekt sonucu, fagositoz sırasında hidrojen peroksit üretiminde yetersizlikle karakterizedir. Bu nedenle hastalar ciddi, tekrarlayan, inatçı, multiple enfeksiyonlara açıktır (106-108).

Nötrofil ve monositler, primer lizozomal granüllerinde bir hem enzimi olan MPO ihtiva ederler. Polimorf nötrofil lökositlerin %90'dan fazlasını oluşturan nötrofiller, kompleman fragmanları, HO, reaktif oksijen radikalleri ve sitokinler tarafından aktive edilirler. Dokuya gelen aktive lökositler, MPO, elastaz, proteaz, kollajenaz, laktoferrin ve katyonik proteinler gibi enzimleri açığa çıkarırlar. Bu enzimler hem dokudaki hasarı artırır, hem de daha fazla radikal oluşmasına neden olur. Enflamasyon durumunda MPO

extraselüler ortama salınır. Bu nedenle nötrofil sekestrasyonunun göstergesi olarak MPO aktivitesinin ölçülmesi duyarlı bir testtir (106-107).

MPO aracılıklı antimikrobiyal sistem çeşitli bakteri, mantar, virüs, mikoplazma, çok hücreli organizmalar ve memeli hücrelerine karşı etkilidir. MPO çeşitli bileşikler okside edebilen bir enzim-substrat kompleksi oluşturmak için substratı olan hidrojen peroksit ile birleşir. Bunlardan oluşan halidlerin oksidasyonu sonucu, çeşitli yollarla mikroorganizmayı etkileyebilen toksik ajanlar meydana gelir ve bunlar hücre ölümüne yol açar (104-108).

2.2.9 Antioksidan Sistem

Her hücre için intrinsik oksidasyon ve antioksidanlar arasındaki dengenin fizyolojik sınırlarda tutulması organ/dokular için önemlidir (109-111).

SOR eliminasyonunda, endojen antioksidan enzimler (GSH-Px, SOD, CAT) ve bazı vitaminler (vitamin A, C ve E) işlevsel olabildikleri gibi eksojen antioksidanlar (likopen, resveretrol) ile antioksidan özelliğe sahip ön maddelere (benzoik, gallik, vanillik asit) de gerek duyulmaktadır (112-117).

Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmada koruyucu mekanizmalar vardır. Bu mekanizmalardan bir kısmı serbest radikal oluşumunu, bir kısmı ise oluşmuş serbest radikallerin zararlı etkilerini önler. Bu işlevleri yapan maddelerin tümüne birden genel olarak *antioksidanlar* denir (109-120).

Antioksidan terimi genel bir ifade olup, gıdaların antioksidan içerikleri ve antioksidanların biyoyararlanımları gıda maddesinin cinsine, hasat zamanı ve hasat yöntemlerine, iklime, depolama ve muhafaza ortamının ısisına, nemine, ışığına, gıdanın hazırlanması, hatta kişi ve toplumların tüketim alışkanlıklarına göre de değişebilmektedir (121-126).

Antioksidanlar, enzimatik ve non-enzimatik olarak incelenirler: Süperoksit dismutaz (SOD) katalaz (CAT) glutatyon peroksidaz (GSH-Px) birinci derece enzimatlere, glutatyon redüktaz (GR) ve glukoz 6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) ikinci derece enzimatlere örnek gösterilmektedir. Non-enzimatik olanlar ise; Mineral (Se, Zn), vitamin (A, C, K ve E), karotenoidlerdir (127-132).

Antioksidanlar etkilerini, şimdiye kadar tespit edilebilen altı değişik mekanizma ile gösterirler (121-132):

Bu mekanizmalar, birbirinden bağımsız veya bir arada işleyebilmektedirler.

1. Oksijen ile reaksiyona girerek ya da onun yerini alarak lokal oksijen konsantrasyonunu azaltabilirler.
2. Hidroksil ($\text{OH}^\cdot$) radikali yapısında yer alan hidrojen atomları bağ oluşturabilecek yapıdaki ürünleri temizleyerek peroksidasyonun başlamasını önleyebilirler.
3. Membran lipidlerine direkt etkiyerek peroksit oluşturabilen singlet oksijeni ($^1\text{O}_2$) baskılayabilir ya da temizleyebilirler.
4. Metal iyonlarını bağlamak yoluyla reaktif grupların ($\text{OH}^\cdot$, ferril ya da $\text{Fe}^{+2}/\text{Fe}^{+3}/\text{O}_2$ kompleksleri gibi) ve/veya lipid peroksitlerden peroksil ve alkoksil radikallerinin oluşumunu önleyebilirler. Membranlarda lipid peroksidasyonunun başlamasına hangi reaktif ürünlerin neden olduğu tartışılmaktadır, ancak hem başlangıç için ve hem de oluşan lipid peroksitlerinin dekompozisyonu için transisyonel metal iyonlarına ihtiyaç olduğu konusunda genel bir kanı vardır.
5. Peroksitleri, alkol gibi nonradikal ürünlere çevirebilirler. Örneğin; GSH-Px, peroksitleri bu yolla temizleyen bir antioksidandır.
6. Zinciri 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 olanı α -tokoferol yer almakla birlikte başka lipid solubl zincir kırıcı antioksidanlar da vardır (121,132).

Antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar şeklinde de sınıflandırılırlar (Tablo 2.2). Hücrelerin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler (112).

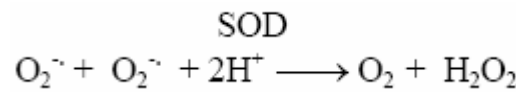
Tablo 2.2 Biyolojik sistemlerde antioksidan savunma sistemi.

Enzimatik	Nonenzimatik	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutatyon (GSH)	Albümin
Katalaz (KAT)	α -Tokoferol (vit E)	Seruloplazmin
Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)	Askorbat (vit C)	Transferrin
Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGSH-Px)	β -Karoten	Ferritin
Glutatyon S-transferaz (GST)	Flavonoidler	Laktoferrin
Glutatyon redüktaz (GSSG-R)	Ürat	Melatonin
	Bilirubin	Sistein

2.2.9.1 Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit Dismutaz (SOD)

3 tür SOD vardır. Birincisi mitokondride lokalize Mn-SOD, ikincisi sitozolde lokalize Cu-Zn SOD ve üçüncüsü de Cu içeren ve plazmadaki süperoksit radikallerini metabolize eden vasküler endotele bağlı Cu-SOD'dir. Metalloprotein olan SOD bir süperoksit molekülünü O_2^- molekülüne yükseltgeyip, diğer süperoksit molekülünü H_2O_2 'e indirger (120-123).



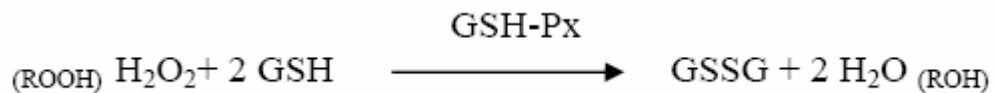
Katalaz (CAT)

Dört tane hem grubu içeren bir hemoproteindir ve peroksizomlarda lokalizedir. Hidrojen peroksidi moleküler oksijen ve suya katalizler (112-127).

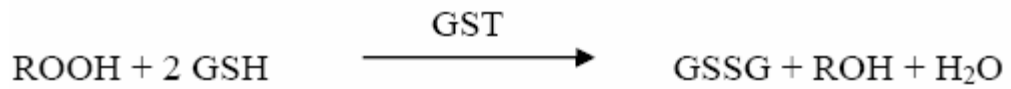


Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

Selenyum (Se)-bağımlı (GSH-Px,) ve Se-bağımsız (Glutasyon-S-transferaz, GST, EC 2.5.1.18) olmak üzere iki izoformu vardır (14, 120, 125, 126, 129). Bu iki enzimin alt ünite sayıları ve katalitik mekanizmaları farklıdır. Glutasyon mekanizması çok önemli antioksidatif savunma mekanizmalarından biridir. GSH-Px karaciğerde en yüksek; kalp, akciğer ve beyinde orta; kasta ise düşük düzeyde aktivite gösterir. Aşırı düzeylerde H_2O_2 varlığında redükte glutasyonun (GSH) okside glutatyona (GSSG, glutasyon disülfid) dönüşümünü katalize eder. Bu arada H_2O_2 de suya dönüştürülerek detoksifiye olur.



GST glutatyonun tiyol (-SH) grupları ile alkilasyon ajanlarının reaksiyonunu kataliz ederek onların elektrofilik alanlarını yok eder. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroksiperoksitleri olmak üzere lipid hidroksiperoksitlere (ROOH) karşı GST'lar Se-bağımsız glutatyon peroksidaz aktivitesi gösterirler (125-127).

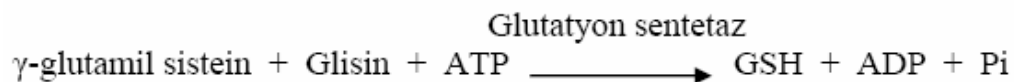
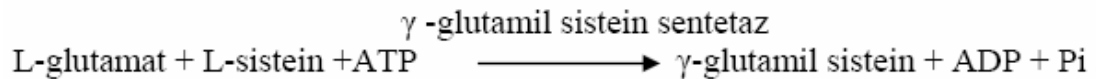


2.2.9.2 Nonenzimatik Antioksidanlar

Enzimatik antioksidanların yanı sıra vitaminler de serbest radikallerin zararlı etkilerinin ortadan kaldırılmasında önemlidir. Vitaminler non-enzimatik antioksidanlar kısmında yer alır.

Glutatyon

Redükte glutatyon (GSH); glutamik asit, sistein ve glisin içeren bir tripeptit olup, aktif bir sülfhidril (-SH) grubuna sahiptir. Vücuttaki GSH'nun büyük bölümü karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç duyulmadan iki aşamada sentezlenebilen bir tripeptittir. Serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur (126-127, 129).



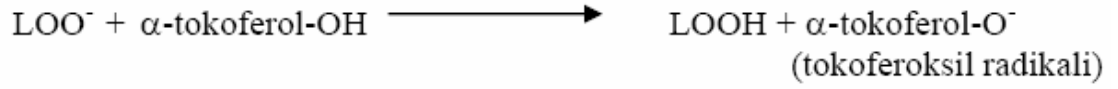
En önemli görevi, enzim ve proteinlerin tiyol gruplarının (-SH) indirgenmesi ile redükte formlarının yeterli düzeylerde kontrolünü sağlamaktır (126-127, 129).



Vitamin E (α -Tokoferol)

Tokoferol yapısında olup α , β , γ , δ olmak üzere 4 farklı tipin karışımı şeklinde bulunabilir ve yağda çözünür. Vitamin E'nin en aktif formu olan α -tokoferol çok kuvvetli bir antioksidandır ve hücre membran fosfolipidlerinde bulunan çoklu

doymamış yağ asitlerini serbest radikal etkilerinden korur. Vitamin E O_2^- , HO^- , singlet $\cdot O_2$, lipid peroksil (LOO) radikallerini ve diğer radikallere bir elektron vererek zararsız formların dönüşümünü sağlar (132-133).



Vitamin C

Akciğerler ve göz lensi gibi su içeriği yüksek organ ve dokularda bulunan önemli ve güçlü bir antioksidan sistemi oluşturur. Vitamin C vitamin E ile birlikte hücre membranı ve lipoproteinlerde bulunan α -tokoferoksil radikalinin α -tokoferole redüklenmesini sağlar (134-136).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ve Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında ortaklaşa gerçekleştirildi.

3.1 GEREÇ

Biyokimyasal ölçümlerde, Sigma ve Merck marka analitik saflıkta kimyasal maddeler kullanıldı.

Çalışmalarda, spektrofotometre (Shumadzu U.V. Visible 1601), analitik terazi (A&D GR- 200), pH metre (WTW pH 330 i), soğutmalı santrifüj (Sigma 3K 30), değişik ölçü ve markalarda otomatik pipetler, cam pipetler, balon jojeler, mezür, polistren tüpler ve beherler kullanıldı.

Çalışmalarda kullanılan çözeltiler tridistile su ile hazırlandı. Çalışmalarda kullanılan tüm cam malzemeler deiyonize su ile yıkandıktan sonra 1 gün boyunca % 20'lik HNO₃ içerisinde bekletildi ve sonrasında tekrar deiyonize su ile yıkandı.

3.1.1 Çalışma Grubu

Hasta Grubu: Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalına *T. gondii* ön tanısı ile başvuran (Ocak 2010- Temmuz 2011 tarihleri arasında) serolojik

tekniklerle (IgG-ELISA, IgG avidite testi ve IgM ELISA) sadece IgG antikorları pozitif çıkan 22 gebe hasta ve hem IgG hem de IgM antikorları pozitif çıkan 27 gebe hasta çalışma kapsamına alındı. Mevcut klinik ve laboratuvar bulgularına göre diyabet, kronik respiratuvar yetmezlik, akut enfeksiyon, malign tümör ve hepatit gibi sistemik hastalığı bulunanlar çalışma dışında bırakıldı

Kontrol Grubu: Aynı tarihler arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği'ne müracaat eden ve Tıbbi Parazitoloji Anabilim dalına sevk edilen kriterlere uygun gebe *T. gondii* IgG (-) / IgM (-) 30 gebe kişi çalışmaya alındı.

Kontrol grubuna dahil edilen kişiler ise; sistemik hastalığı olmayan ve sigara içmeyen sağlıklı kişilerden seçildi.

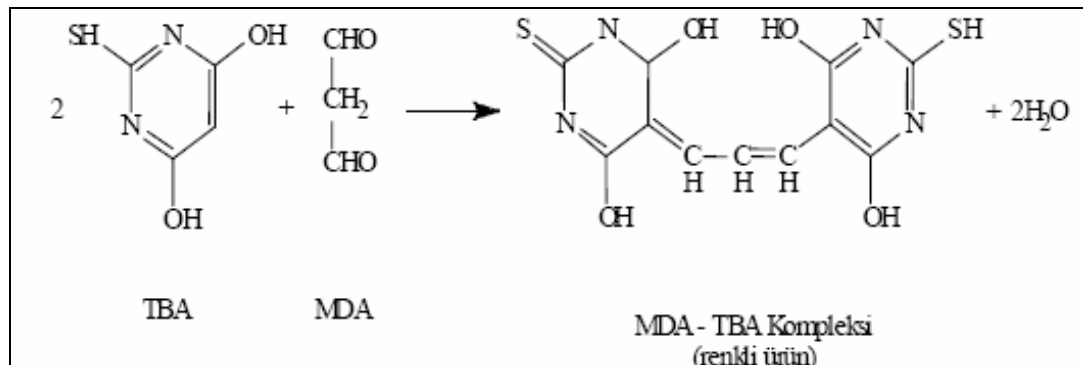
3. 2 YÖNTEM

Hasta ve kontrol gruplarından heparinli tüplere alınan venöz kanlar, 4°C'de 2000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi, plazmalar ayrıldıktan sonra alikotlara ayrılarak çalışma gününe kadar -70 °C'de eppendorf tüplerde saklandı.

3. 2. 1 Malondialdehid Tayini

Plazma MDA tayini Ohkawa ve arkadaşları (138) tarafından geliştirilen metodla gerçekleştirildi.

Metodun prensibi, lipid peroksidasyonunun yıkım ürünlerinden olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile oluşturduğu pembe renkli kompleksin renk şiddetinin 532 nm dalga boyunda ölçülmesi esasına dayanır (**Şekil 3.1**).



Şekil 3.1 MDA'nın TBA ile reaksiyonu ve oluşan renkli TBA-MDA kompleksinin yapısı

Çözeltiler

- % 8.1 Sodyum dodesil sülfat (SDS)
- % 0.8 Tiyobarbitürik asit (TBA)
- % 20 Asetik asit (HAc), pH 3.5
- n-bütanol/piridin karışımı (15/1, v/v)
- 6.825 M MDA (stok standart)

Çalışma

	Kör	Numune
Plazma	-	0.1 ml
SDS	0.1 ml	0.1 ml
Tip I su	0.4 ml	0.3 ml
HAc	0.75 ml	0.75 ml
TBA	0.75 ml	0.75 ml
➤ 100°C'de 60 dakika inkübe edildi ve soğutuldu		
Tip I su	0.5 ml	0.5 ml
n-bütanol/piridin	2.5 ml	2.5 ml

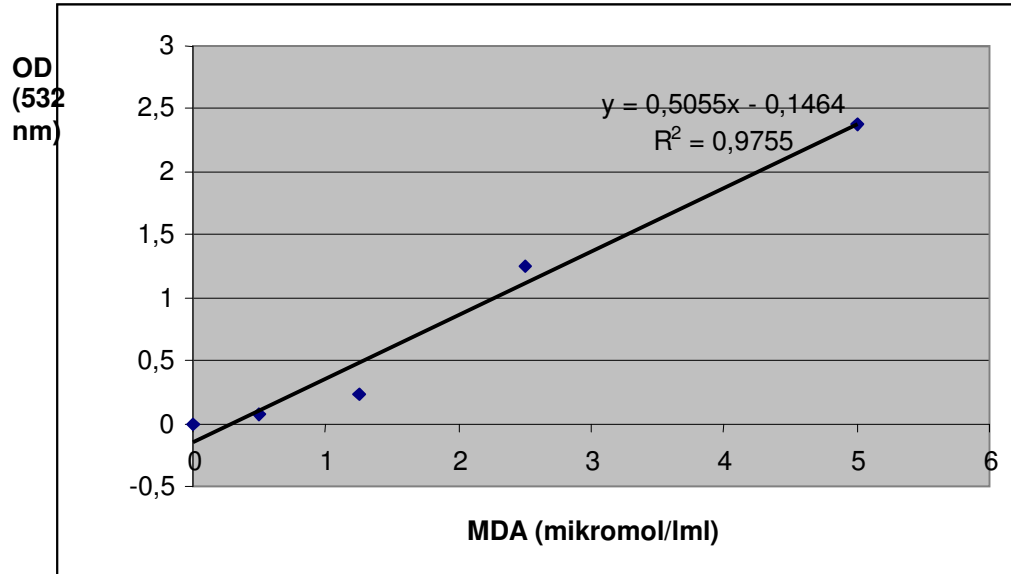
Kapalı cam tüplerde ekstrakte edilen karışımlar, polistren tüplere aktararak soğutmalı santrifüje yerleştirildi. Organik ve su fazlarının ayrılmasını sağlamak için 4000 rpm de 10 dakika santrifüje edilen tüplerin üst kısmında oluşan pembe renkli organik fazın absorbansı köre karşı 532 nm dalga boyunda ölçüldü.

Standart Serinin Hazırlanması

Stok MDA (6.825 M) çözeltisiyle uygun dilüsyonları gerçekleştirerek ara stok standart çözeltisi (100 μ M) hazırlandı. Ara stok standart; 0; 2,5; 5,0; 10 ve 20 μ mol/L konsantrasyonlarda olacak şekilde yeniden dilüe edilerek standart seri hazırlandı. Numune gibi çalışılan standartların absorbans değerleriyle, MDA standart grafiği çizildi (Şekil 3.2). Çalışma gruplarının standart grafik üzerinden MDA seviyeleri μ mol/L olarak belirlendi.

CV değeri (MDA);

	Ölçüm sayısı	Ort $\pm$ SD (μ mol/L)	CV (%)
CV	8	0,34 $\pm$ 0,01	2,92



Şekil 3.2 MDA standart grafiği

3.2.2 Ksantin Oksidaz Aktivitesi Tayini

Plazma XO, aktivitesi için Prajda ve Weber (139) tarafından geliştirilen metod kullanılmıştır. Bu metod ksantinden ürik asit oluşumu esnasında 293 nm’de absorbans artışının spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanır.

Çözeltiler

- 50mM Fosfat tamponu, pH 7.5
- 4mM Ksantin (tampon içinde hazırlandı)
- %100 TCA (trikloro asetik asit)

Çalışma

	Numune	Kör
Distile su	-	50µL
Numune	50µL	-
Tampon	3mL	3mL
➤ 37 °C’de 30 dakika inkubasyon		
TCA	100µL	100µL
➤ 6000 g’de 20 dakika santrifüj		

Santrifüj işlemi sonunda üstte kalan süpernatantların absorbansı köre karşı 293 nm dalga boyunda ölçüldü. 1 ünite ksantin oksidaz, 37 °C’de pH 7.5’te 1 dakikada oluşan µmol ürik asit olarak tarif edilip;

Abs-kör= A

A x 5121,9 = B

B/1000 = XO

formülüyle hesaplanıp, U/ml olarak hesaplandı.

CV değeri (XO);

	Ölçüm sayısı	Ort ±SD (U/ml)	CV (%)
CV	7	0,005±0,003	6

3.2.3 AOPP Tayini

AOPP tayini, Witko-Sarsat ve arkadaşları (101) tarafından geliştirilen spektrofotometrik metodla gerçekleştirildi

Çözeltiler

- Fosfat tamponu (PBS pH 7.4)
- Kloramin-T standartları (10-200 µmol/L)
- Asetik asit
- Potasyum iyodür (KI 1.16 mol/L)

Çalışma

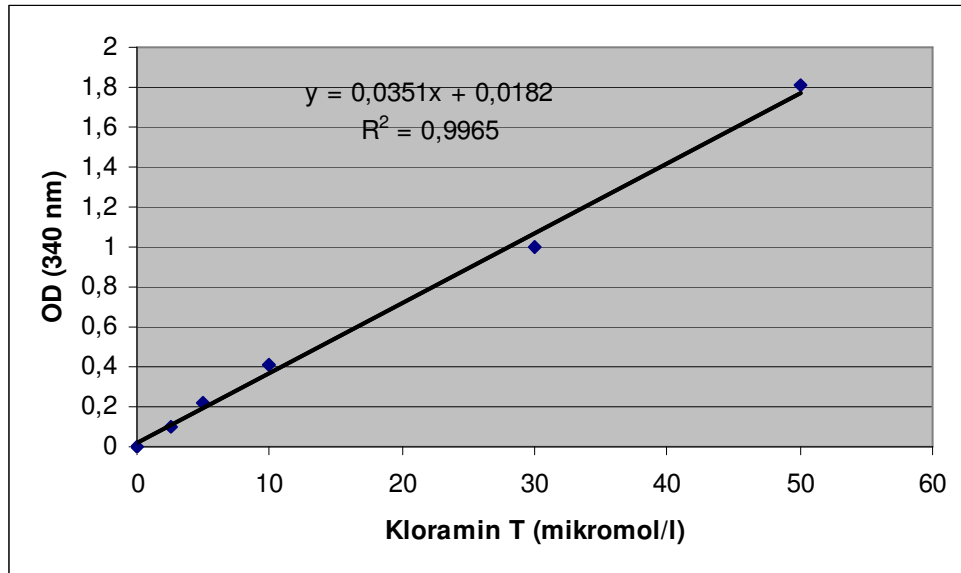
Fosfat tamponu (PBS pH 7.4) ile dilüe (1:5) edilen plazma ve kloramin-T standart çözeltilerinin (0- 200 $\mu\text{mol/L}$) 400 μL 'sine 200 μL Asetik asit ve 100 μL 1.16 mol/L KI ilave edildi. Reaksiyon karışımının absorbansı spektrofotometrede 340 nm dalga boyunda ölçüldü. AOPP düzeyleri, kloramin-T ekivalentlerinden $\mu\text{mol/L}$ olarak belirlendi (Şekil 3. 3).

Standart Serinin Hazırlanması

200 $\mu\text{mol/L}$ konsantrasyonundaki stok kloramin-T çözeltisi, uygun oranlarda dilüe edilerek, 0, 2,5, 5 10, 30 ve 50 $\mu\text{mol/L}$ konsantrasyonlarında standart seri hazırlandı. Standartlar numune gibi çalışıldı.

CV değeri;

	Ölçüm sayısı	Ort $\pm$ SD ($\mu\text{mol/L}$)	CV (%)
CV	5	9,2 $\pm$ 0,5	5

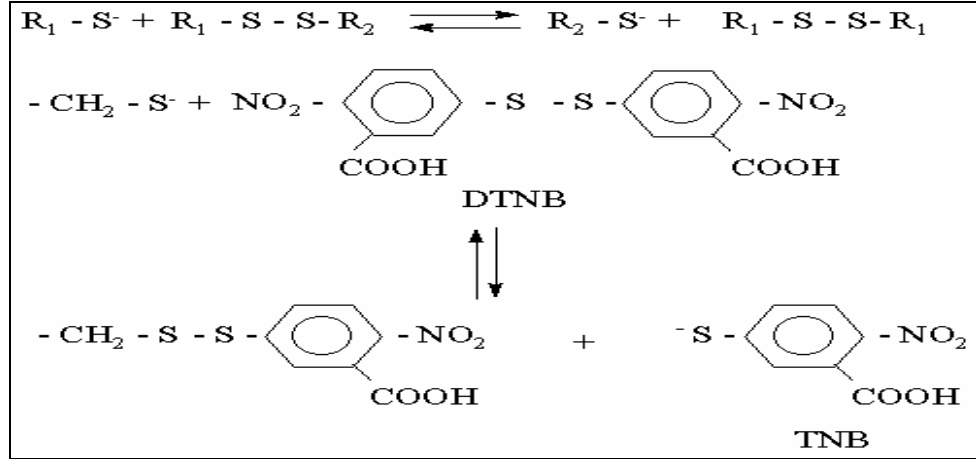


Şekil 3.3 AOPP standart grafiği

3.2.4 Tiyoil Tayini

Plazma tiyoil seviyelerinin tayini, Hu ML ve arkadaşlarının (140) geliştirdiği metodla gerçekleştirildi. Metod serbest tiyoil gruplarının 5,5-ditiyo bis (2-nitrobenzoik asit)

(DTNB) ile oksitlenmesi sırasında oluşan koyu sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit (TNB)'in renk şiddetinin 412 nm dalga boyunda ölçülmesi esasına dayanır.



Şekil 3. 4. TNB oluşum reaksiyonu

Çözeltiler

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

Çalışma

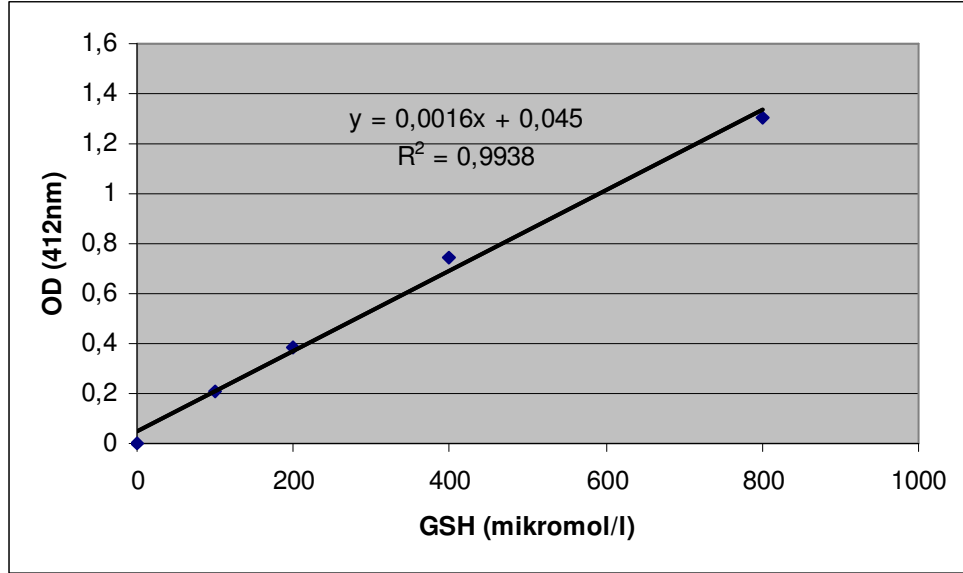
	Kör	Kontrol	Numune
Tris-HCl	1.05 ml	1.0 ml	1.0 ml
Metanol	-	0.05 ml	-
Plazma	-	0.05 ml	0.05 ml
DTNB	0.05 ml	-	0.05 ml

DTNB ilavesiyle inkübasyon süresi başlatıldı. Kör, kontrol ve numune tüpleri 25 °C' de 15 dakika inkübe edildi. Kör tüpüne karşı, kontrol ve numune tüplerinin absorbansı 412 nm dalga boyunda ölçüldü. Değerlendirme standart grafik üzerinden yapıldı.

Standart Serinin Hazırlanması

Stok GSH (1.0 mM) çözeltisi, 0, 100, 200, 400 ve 800 µmol/L konsantrasyonlarında standart seri oluşturacak şekilde Tip-I su ile dilüe edildi ve her bir standart, numune gibi çalışılarak GSH (µmol/L) konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değeriyle

standart grafik çizildi (Şekil 3. 5). Standart grafikten bulunan plazma tiyol seviyeleri, $\mu\text{mol/L}$ olarak verildi.



Şekil 3.5 Tiyol standart grafiği

CV değeri;

	Ölçüm sayısı	Ort $\pm$ SD ($\mu\text{mol/L}$)	CV (%)
CV	10	202,44 $\pm$ 3,55	1,75

3.2.5 Myeloperoksidaz Aktivitesi Tayini

Plazmada MPO aktivitesi, Bradley ve ark (140) tarafından geliştirilen metot ile tayin edildi.

Metodun prensibi, O-dianisidin (peroksidaz substratı)'ın H_2O_2 varlığında, MPO tarafından oksitlenerek sarı-turuncu renkli bir ürün oluşturması ve bu oksidasyon reaksiyonunun, spektrofotometrede 460 nm dalga boyunda, zamana bağlı OD artışı şeklinde izlenmesi esasına dayanır.

Çözeltiler

50 mM Potasyum fosfat tamponu, pH 6,0

%16,7 mg o-dianisidin dihidroklorid (tampon içinde günlük hazırlanır)

%0,0005 H_2O_2 substratı (O-dianisidin içeren tampon içinde günlük hazırlanır)

Çalışma

	Numune	Kontrol
%0,0005 H ₂ O ₂ substratı	2,9 ml	2,9 ml
Saf su	-	0,1 ml
Plazma	0,1 ml	-

Hesaplama

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

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

Okside O-dianisidinin molar ekstinksiyon katsayısı ($1,13 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak plazma örneklerinin net $\Delta OD/dk$ değerlerinden, ünite birimine geçildi.

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

$$\dot{U}/L = \frac{\text{net } \Delta OD/dk}{1,13 \times 10^4} \times \frac{3,0}{0,1} \times 10^6$$

$$\dot{U}/L = \text{net } \Delta OD/dk \times 2564,8$$

Plazma örneklerinde tayin edilen MPO aktivitesi, $\dot{U}/L$ şeklinde bir litre plazma başına verildi.

CV değeri;

	Ölçüm sayısı	Ort $\pm$ SD ($\mu\text{mol}/L$)	CV (%)
CV	13	3,93 $\pm$ 0,29	7

3.3 İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmeleri SPSS for windows 11.0 paket programında yapılmıştır. Değerlendirmelerde iki grubun ölçümle belirtilen parametrelerinin karşılaştırmasında parametrik varsayım sağlandığında Student's t testi, sağlanmadığından Mann-Whitney U testi, değişkenler arası ilişkilerin analizinde Spearman Rank Korelasyon Analizi kullanılmıştır. Tanımlayıcı değerler olarak ölçümle belirtilen parametreler için Ort $\pm$ SD şeklinde verilmiştir. En küçük anlamlılık sınırı 0,05 olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışma gruplarımızı oluşturan hasta (*T. gondii* pozitif), [IgG (+) ve Ig M (+) ve IgG (+) ve Ig M (-)] ve kontrol bireylerin IgG (-) ve Ig M (-) özellikleri ve oksidatif stres belirteçleri olan oksidan ve antioksidan parametreler **Tablo 4.1** verilmektedir.

Tablo 4. 1 *T. gondii* pozitif bireylerde ve kontrol grubunda oksidatif stres belirteçleri.

	Hasta [IgG (+) ve IgM (+)] (n:27) (Ort ± SD)	Hasta [IgG (+) ve IgM (-)] (n:22) (Ort ± SD)	Kontrol [IgG (-) ve IgM (-)] (n:30) (Ort ± SD)
Yaş (yıl)	(18-36) 26,6 ± 4,5	(20-36) 29,3 ± 4,07	(17-38) 28,45 ± 5,4
MDA (µmol/L)	1,6±0,9	1,4±1	1,8±0,8
XO (U/mL)	1,0±1,5 [•]	0,4±0,5 [■]	0,09±0,16 ^{• ■}
AOPP (µmol/L)	8,2±3,9 [▲]	5,8±4,2 [▲]	6,4±3,4
Tiyol (µmol/L)	214,4±58,2	246,3±93,6	266,6±87,3
MPO (U/L)	9±12	14±22	7±7

İstatistik karşılaştırma:

Anlamli bulgular: ● Kontrol grubu / (IgG (+) ve IgM (+) grubu ile

■ Kontrol grubu / (IgG (+) ve IgM (-) grubu ile ve

▲ İki hasta grubunun (IgG (+) ve Ig M (+) ile (IgG (+) ve Ig M (-)

karşılaştırılması sırasında istatistiksel olarak anlamlı bulgular elde edildi.

Tablo 4. 1'de görüldüğü gibi; kontrol grubundaki bireylerin yaşları ve *T. gondii* pozitif grupların yaşları karşılaştırıldığında fark, istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$).

Yine **Tablo 4. 1**.'den görüleceği üzere kontrol grubuna göre *T. gondii* pozitif olan her iki grupta ve IgG (+) ve IgM (+) ile IgG (+) ve IgM (-) grupları kendi içinde MDA düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0,05$).

Buna karşılık XO aktivitesi hem IgG (+) ve IgM (+) grubunda hem de IgG (+) ve IgM (-) grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p < 0,05$). IgG (+) ve IgM (+) ile IgG (+) ve IgM (-) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p > 0,05$).

AOPP düzeylerinde özellikle IgG (+) ve IgM (+) pozitif grupta kontrol grubuna yani IgG (-) ve IgM (-) göre numerik olarak artış tespit edilirken, kontrol grubu ile her iki hasta grubu arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmedi ($p > 0,05$) buna karşılık hasta gruplarında yani; (IgG (+) ve IgM (+) grubu ile IgG (+) ve IgM (-) grubunda istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($p < 0,05$).

Tiyol seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan ($p > 0,05$) her iki hasta grubunda [IgG (+) ve IgM (+) ve IgG (+) ve IgM (-)] kontrol grubuna göre ve yine IgG (+) ve IgM (+) grubunda IgG (+) ve IgM (-) grubuna göre rakamsal azalışlar gözlemlendi.

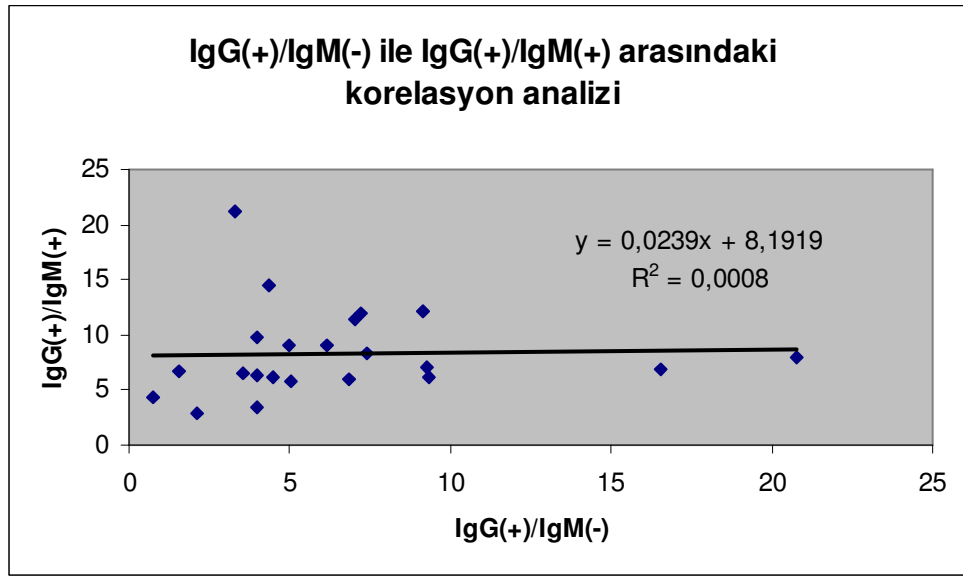
MPO aktivitesinde ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p > 0,05$).

T. gondii ile infekte bireylerde yapılan korelasyon analizlerinde; AOPP düzeyleri kendi içinde IgG(+)/IgM(-) ile IgG(+)/IgM(+) bireyler arasında anlamlı pozitif korelasyon tespit edildi (Şekil 4. 1).

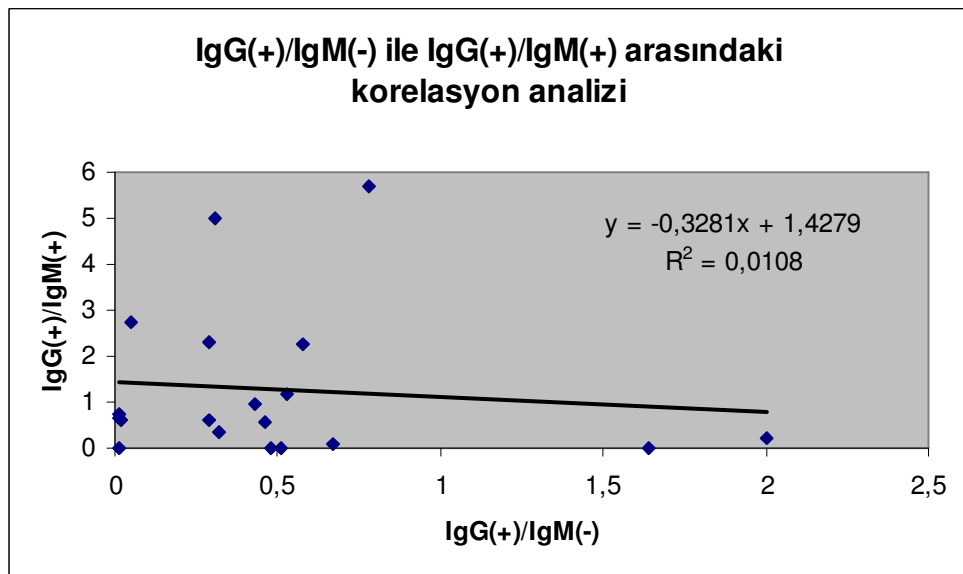
Ksantin oksidaz aktivitesi ise IgG(+)/IgM(-) ile IgG(+)/IgM(+) bireyler arasında anlamlı negatif korelasyon (Şekil 4.2), IgG(-)/IgM(-) ile IgG(+)/IgM(+) bireyler arasında

anlamli pozitif korelasyon (Şekil 4.3) ve IgG(-)/IgM(-) ile IgG(+)/IgM(-) bireyler arasında anlamli negatif korelasyon gözlemlendi (Şekil 4.4).

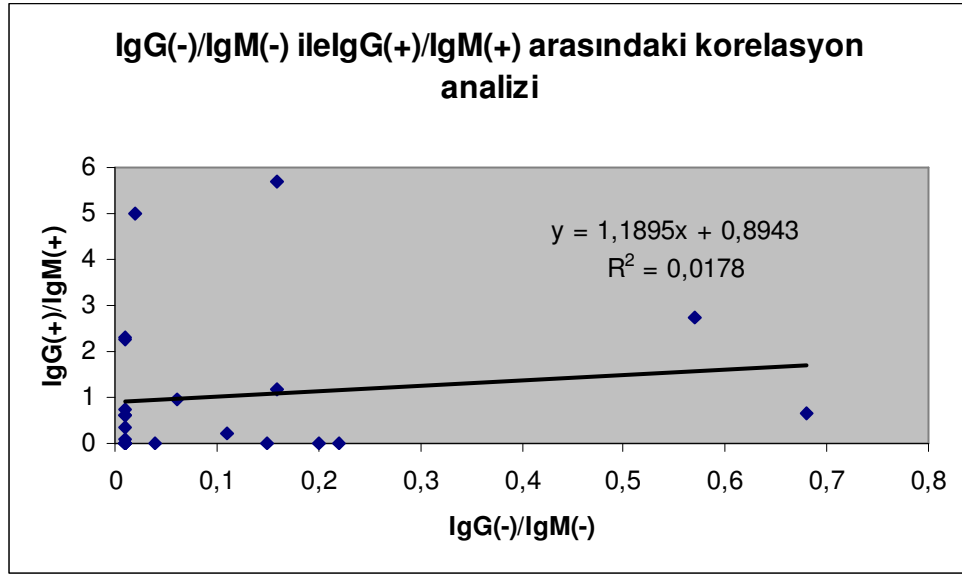
İstatistiksel olarak kontrol grubuna göre anlamli çıkan XO ve AOPP seviyeleri arasında yapılan korelasyon analizleri sonucunda hem IgG(+)/IgM(+) grubunda hem de IgG(+)/IgM(-) grubunda istatistiksel olarak anlamli bir korelasyon gözlenmemiştir.



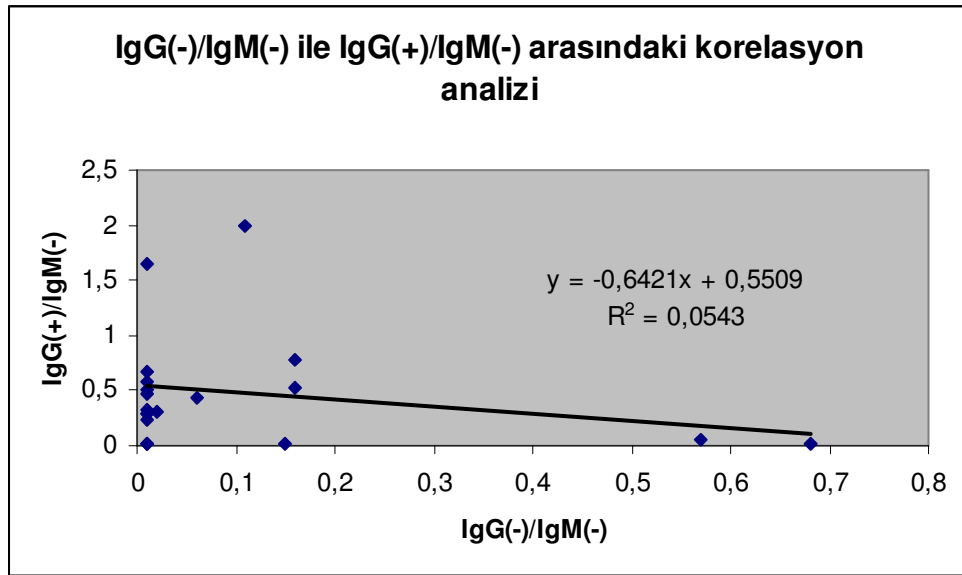
Şekil 4.1 IgG(+)/IgM(-) ile IgG(+)/IgM(+) bireyleri arasında AOPP regresyon eğrisi.



Şekil 4.2 IgG(+)/IgM(-) ile IgG(+)/IgM(+) bireyleri arasında ksantin oksidaz aktivitesi regresyon eğrisi.



Şekil 4.3 IgG(-)/IgM(-) ile IgG(+)/IgM(+) bireyleri arasında ksantin oksidaz aktivitesi regresyon eğrisi.



Şekil 4.4 IgG(-)/IgM(-) ile IgG(+)/IgM(-) bireyleri arasında ksantin oksidaz aktivitesi regresyon eğrisi.

5. TARTIşMA VE SONUÇ

Parazit hastalıkları gelişmekte olan ÷lkelerde çok ciddi sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. *T.gondii* dñnyanın en yaygın parazitlerinden ve tek hücreli bir protozoondur. Bu parazit, enfekte kedi ve kedigillerin (son konak) incebarsaklarında epitelyum hücrelerinde bulunur ve ookistler dışkı ile dışarı atılır. İnsana bulaşma daha çok enfekte kedi dışkısı ile kontamine yiyecekler, içecekler ve ellerle pişmemiş veya az pişmiş kistli etlerin yenmesi, çiğ yumurta ve çiğ süt içilmesi ile olduğu gibi kan transfüzyonu, organ transplantasyonu ve transplasental yolla da olmaktadır. Enfeksiyonun başlangıç döneminde taşizoit (endozoit) denen formları, nöronlar, endotelyum, karaciğer parankim hücreleri, lökositler ve diğer pek çok hücrede bulunurlar. Daha sonra doku kistleri beyin, kalp kası, iskelet kasları, akciğerler ve diğer dokularda bulunur (1-3).

Gebelik sırasında oluşan enfeksiyonda taşizoitler intrauterin yolla yavruya geçebilmektedir. Taşizoitlerin sütle diğer bir konağa geçebileceği bildirilmiştir. *T. gondii*, ara konakta taşizoit döneminde hızla çoğalır ve içinde bulunduğu hücreyi patlatarak tahrip eder. Ağır enfeksiyonlarda myokard, akciğerler, karaciğer, beyin gibi yaşamsal değeri olan organ ve dokularda nekrotik alanlar oluşur. Aynı zamanda ateş yükselir ve lenf yumruları şişer. Bu döneme *akut toxoplasmosis* adı verilir. Ancak her

olayda bu devrede klinik belirti görülmeyebilir. Kist devresinde, parazitler kistin içinde bradizoit formundadır. Bradizoitler çok yavaş çoğalırlar. Bunlar kist içinde olduklarından ve hücreleri tahrip etmediklerinden zararlı etkileri yoktur. Klinik belirtilerin görülmediği bu döneme *kronik toxoplasmosis* denir (1-3, 12).

Toxoplasma enfeksiyonu sıklıkla belirti vermeden geçirilen bir enfeksiyondur. Ancak nadir durumlarda çok ağır seyir gösterir. Gebelikte geçirilen enfeksiyonun belirti vermeden seyretmesi enfeksiyonun bebeğe geçme riskini azaltmaz. Yani hiç bir belirtisi ve hiçbir şikayeti olmayan bir anne adayının da bebeğinde toxoplasmaya bağlı bir sekel oluşması mümkündür (1, 2, 8).

Enfeksiyonun kesin tanısı ancak kanda parazite karşı oluşan antikorların gösterilmesi ile koyulur. IgG tipi antikorların yüksek düzeyde bulunması geçirilmiş enfeksiyonu düşündürür. Buna karşı IgM tipi antikorlar akut enfeksiyon gösterir. Enfeksiyon ilk geçirildiğinde IgM tipi antikorlar 6 aya kadar kanda yüksek düzeylerde kalabilir. Gebeliğin ilk üç ayında Toxoplasma IgM tipi antikorların düzeyi yüksek saptandığında önemli bir soru ile karşılaşırız. Daha önce de belirttiğimiz gibi IgM nin kanda 6 ay süreyle yüksek düzeyde kalması söz konusu olabilir. Bu durumda hastalığın gebelikten önce mi gebelik sırasında mı geçirildiğini saptamakta bugün için en geçerli test '*avidite testi*' olarak adlandırılan özel tetkiktir (3, 8, 9, 10,12).

Serbest radikaller vücudumuzda besinlerin oksijen kullanılarak enerjiye çevrilmesi sırasında oluşan metabolik yan ürünlerdir. Serbest radikaller kararsız bir yapıdadırlar ve kararlı hale gelmek için hücrelere saldırarak hasar oluştururlar. Antioksidanlar ise serbest radikalleri etkisiz hale getirerek hücreleri bu hasarlardan korurlar. Serbest radikaller ve antioksidanlar vücutta dengede olmalıdır ki, antioksidanlar serbest radikalleri etkisiz hale getirebilsin. Eğer serbest radikal seviyesi, antioksidan seviyesine göre artar ise serbest radikaller hücrelerde oksidatif hasarlara yol açar ve bu duruma *oksidatif stres* denir. (14, 19, 20, 25, 137) Sonuçta, oksidatif stres oksidan üretimi ile antioksidan korunma arasındaki imbalans nedeniyle ortaya çıkar. Bu imbalans oksidan üretimi artışına ve/veya antioksidan korunmadaki azalmaya bağlı olabilir. Hücresel düzeyde ise bu imbalans protein, lipid ve nükleik asitlerin oksidatif modifikasyonu nedeniyle yapısal hasarla sonuçlanabilir. Oksidatif stres, özetle; serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (20, 85, 86, 137).

Son yıllarda, dünyada ve özellikle ülkemizde yapılan çalışmalarla paraziter enfeksiyonlara dair yapılan çalışmalar serbest radikaller ve oksidatif stres üzerine yoğunlaşmıştır. Farklı parazit türleriyle enfekte olan konakçı hücrelerinde oksidatif strese bağlı oluşan serbest radikaller ise proteinler, lipidler ve nükleik asitler gibi vücudumuzun temel yapısal moleküllerinin oksidatif hasarlanmasına ve akabinde hücre ve doku hasarlarına neden olur (20, 28, 29, 42, 43, 57, 59, 67, 110).

Normal koşullar altında serbest radikallerin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta enzimatik ve enzimatik olmayan savunma mekanizmaları gelişmiştir ki bunlar *antioksidanlar* olarak bilinirler (20, 75, 93, 101, 103, 137).

Bu çalışmada *T. gondii* pozitif bireylerde serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması ve protein oksidasyon derecesini ve muhtemel doku hasarını değerlendirdik. Bu amaçla; lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeyleri, oksidan stres nedenlerinden olan XO aktivitesini, oksidan stres nedenlerinden olan ve protein zararının tespitinde marker özelliği olan tiyol seviyesi ve protein peroksidasyonunun göstergesi olan novel oksidatif stres marker'ı AOPP düzeyleri, hücre içi antioksidan enzimlerden ve nötrofil aktivasyonun belirteçlerinden olan MPO düzeyi, birlikte değerlendirilmeye alındı.

Lipid peroksidasyonunun başlıca son ürünlerinden olan MDA oksidan hasarı değerlendirmede sıklıkla kullanılmaktadır. Lipid peroksidasyonu, membranda bulunan poliansatüre yağ asitlerinin, serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehidler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur. Lipid hidroperoksitlerinin yıkımı ile oluşan ve biyolojik olarak aktif olan aldehidler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından difüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. MDA üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucunda meydana gelir ve tiyobarbitürik asit ile ölçülebilir (14, 20, 107, 141-145).

Malondialdehid, oluşan serbest oksijen radikallerinin iyi bir göstergesidir. Malondialdehid yükselmesi, serbest oksijen radikallerinin etkisi ile artmış lipid peroksidasyonunu gösterir. Lipid peroksidasyonu, organik yapılar ve membranların fonksiyonları üzerine çok zararlı etkilerine bağlı olarak, hücre ölümüne kadar ilerleyen değişiklikler oluşturur. Çalışmamızda, MDA konsantrasyonu her iki hasta grubunda da [IgG (+) ve Ig M (+) ile IgG (+) ve Ig M (-)] kontrol grubuna IgG (-) ve Ig M (-) göre

istatistiksel olarak anlamlı değişiklik gözlenmedi. Bu da, başlangıçta *T. gondii* enfeksiyonunda MDA yükselmesine neden olanların dışında diğer serbest radikal kaynaklarının etkinliği olasılığını düşündürmektedir. Ayrıca, süperoksit dismutaz ve katalaz radikal bağlayıcılarıdır ve bunların artışı da diğer akla gelen olasılık içindedir. Ayrıca unutulmamalıdır ki çalışmamızı oluşturan bireyler gebe bireylerdi ve bu bireyler beslenmelerine çok dikkat eden grubu oluştururlar. Netice itibariyle, değişmeyen MDA seviyesi bireylerin örneğin β ve α - karoten içeren havuç gibi ya da ginseng ekstraktı içeren yiyecekleri çok tüketiyor olmalarından kaynaklanıyor olabilir. Kullanılan diğer folik asit gibi terapötik ajanlar MDA seviyesinde oluşabilecek olan olası yükselme üzerine etkin olmuş olabilirler. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir (145-148). Benzer şekilde koenzim Q₁₀ verilen bireylerde verilmeyenlere oranla MDA seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı düşüşler gözleendiği tespit edilmiştir (149).

Bu arada, N-asetil sistein, düşük doz doğal bir amino asit olan L-Sistein'in N-asetillenmiş türevi olup mukolitik bir ajandır. Son aylarda yapılan bir çalışmada malarya enfeksiyonuna sahip bireylerde düşük doz N-asetilsistein verilen bireylerde de MDA düzeyi kontrol grubuna göre düşerken yüksek doz verilenlerde MDA düzeyinde artış gözlenmiş ve malarya enfeksiyonu tedavisinde yüksek dozlar kullanılırken dikkat edilmesi gerektiği önerilmiştir (150).

Yapılan bir çalışmada da, *Trichinella spiralis* ile enfekte ratlarda selenyum tedarikinin MDA konsantrasyonunu %18 oranında selenyum verilmeyen gruba oranla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşürdüğü saptanmıştır (151).

Bu arada unutulmamalıdır ki, yarı ömrünün kısalığı, stabil olmayışı spesivite ve sensitivitesinin ölçülen yöntemlerde düşük olması MDA sonuçlarının güvenilirliğini etkilemektedir. Ayrıca, DNA, lipid ya da protein ürünlerinin belirlenmesinde oksidatif hasara yol açan SOR'un türü de çok önemlidir (152). Plazmada bulunan SOR türleri içerisinde en reaktif ve en toksik ajan olan HOCl'nin başlıca hedefi proteinlerdir. Lipidlerin çok az etkilendiği bilinmektedir. Bu nedenle oksidatif stresin ortaya konulmasında protein oksidasyon ürünlerinin de göz önünde bulundurulması gereği unutulmamalıdır (62, 151).

Ksantin oksidaz bilinen ilk süperoksit radikal kaynağıdır. Bu enzimin doğal formu olan ksantin dehidrogenaz, süperoksit radikali oluşturmaz. Doku hasarına bağli olarak

ksantin dehidrogenaz'dan ksantin oksidaz'a dönüşüm deneysel olarak sıçanların birçok organında gösterilmiştir (20, 52, 56). Birçok enzimin katalitik döngüsü sırasında da serbest radikaller ortaya çıkar. Bu enzimlerden biri ksantin oksidazdır. Ksantin oksidaz hasarlanmamış dokularda bir dehidrogenaz olarak vardır, pürinlerin yıkılım yolunda hipoksantinden ksantin ve ksantinden ürik asit oluşumu basamaklarında elektron akseptörü olarak moleküler oksijenden (O_2) daha çok NAD^+ kullanır. Oksijensizliğe bağlı olarak ADP'nin ATP'ye fosforilasyonunun azaldığı durumlarda ADP yıkılır ve pürin bazı, ksantin oksidazın bir oksidaz olarak etkili olmasıyla hipoksantine dönüştürülür. Ksantin oksidazın, oksidaz olarak aktivite göstermesi durumunda hipoksantin ksantine ve ksantin ürik aside dönüşürken moleküler oksijen kullanılmakta, moleküler oksijen hidrojen perokside indirgenmektedir. Çeşitli sebeplerle oluşan hasarlı hücrelerden demir iyonlarının salınımı, mitokondriyal solunum zincirlerindeki aksamalar ksantin oksidaz enziminin açığa çıkması ile dokularda reaktif oksijen partikülleri sentezi uyarılır. Kan akımı tekrar sağlandığında ortama oksijenin ulaşmasıyla hasar daha da artar. Bütün bu özelliklerinden dolayı diğer bir ifadeyle özellikle pürin metabolizmasında etkin bir enzim olması ve dolayısıyla moleküler seviyede DNA hasarının ve beraberinde hücre hasarının başladığını gösteren bir enzim olması nedeniyle son birkaç yılda oldukça sık oranda oksidan aktivite değişikliklerinin analizinde başvurulmaktadır (20, 52, 57).

Yaptığımız çalışmada her iki hasta grubunda ölçülen XO aktivitesinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda arttığı saptandı. Buna karşılık hasta grupları arasında diğer bir ifadeyle IgG (+) ve Ig M (+) ile IgG (+) ve Ig M (-) arasında anlamlı bir fark gözlenemedi.

Paraziter hastalıklarla diğer yapılan sınırlı sayıdaki çalışmada da bir oksidan enzim olan XO seviyesindeki değişiklikler artış yönünde saptanmıştır. Örneğin; *Trypanosoma cruzi*'li bireylerde, *Plasmodium falciparum* ile enfekte çocuklarda ve *E. granulosus*'la enfekte olmuş bireylerde yapılan ölçümlerde hasta gruplarında plazma XO aktivitesinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek olduğu tespit edilmiştir (153-155).

Oksidan bir ajan olan XO aktivitesinin diğer antioksidanların devreye girmesiyle etkisinin arttığını ve lipid peroksidasyonunun XO üzerinden değil de muhtemel diğer

reaktif oksijen türevlerine maruz kalma ile veya bağımsız oluşma ihtimalini de ortaya çıkarmaktadır.

Yapılan kısıtlı sayıdaki diğer çalışmalarda MDA düzeyi ile XO aktivitesi arasındaki bağıntıya bakıldığında çalışmadan-çalışmaya farklı sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Örneğin; İkiüçlü Bozukluk Hastalarında Ötimik Evrede Ksantin Oksidaz ve Malondialdehid Düzeyleri arasında pozitif bağıntı tespit edilirken (156), Maraş otunun tükürük ADA, XO, total sialik asit ve malondialdehid düzeylerine etkisinin bakıldığı bir başka çalışmada MDA düzeyi ile XO aktivitesi arasında anlamlı negatif bir bağıntı tespit edildiği görülmektedir (157).

Oksidan ajan XO aktivitesindeki artış muhtemel başka bir antioksidan ajanın artışını tetiklemekte ve *T. gondii* enfekte bireylerde parazitin yerleştiği dokuda birden fazla oksidan ve/veya antioksidan sistem üzerine etkili olabileceğini ve bundan sonraki çalışmalarda doku oksidan ve antioksidan parametrelerinin kombine bir şekilde değerlendirilmesi gereğini rahatlıkla düşündürmektedir.

Protein oksidasyonu, proteinlerin reaktif oksijen türevleri veya oksidatif stres ürünleri ile kovalent modifikasyonu sonucu meydana gelir (20, 60-61, 79, 81-91).

Bilindiği gibi hidroksil radikali ($^{\bullet}\text{OH}$), kimyasal olarak aktive edilmiş oksijenin en reaktif türüdür ve protein oksidasyonu esnasında peptid bağlarının yarılmasından sorumludur (20, 61-65, 79, 81-91). Bu yarıma, peptidin çevresindeki herhangi bir noktada olabilmekte ve çeşitli ürünler oluşmaktadır. Bu oksidatif ürünlerin birçoğu, yeni oluşmuş karbonil grupları içerir. Karbonil içeriğinin belirlenmesi, protein oksidasyonunun ortaya çıkarılmasının uygun bir ifadesidir. Nitekim karbonil gruplarının varlığının protein oksidasyonu ile saptanması ile aging, oksidatif stres ve bir takım hastalıklar arasındaki ilişki hakkında fikir yürütülür (20, 61, 63, 79, 81-91).

Proteinler, oksidanlara maruz kaldıklarında birçok kovalent değişikliğe uğrar. Bu değişikliklerden bazıları serbest radikallerin protein molekülü üzerine direkt etkileri sonucu oluşabildiği gibi, bazıları da oksidasyon yan ürünlerinin proteinlere kovalent bağlanması ile meydana gelir. Proteinlerin radikal aracılı hasarı; elektron kaybı, metal-iyon katalizli reaksiyonlar, lipidlerin otooksidasyonu ile başlatılabilmektedirler. Bu ürünlerin oluşum hızının artması veya temizleyici mekanizmaların yetersiz kalması, proteinler de dahil olmak üzere diğer hücrel moleküllerdeki oksidatif modifikasyonların artışına yol açar (20, 64, 65, 79, 81-91).

Protein oksidasyonu ürünleri arasında, AOPP gibi çapraz bağlanma ürünleri sayılabilir (20, 61, 64, 79, 81-91). AOPP, ditirozin içeren çapraz bağlı protein ürünleri olarak tanımlanmaktadır (64-67, 70, 79, 81-91).

Plazma tiyol grupları, oksidatif strese karşı koruyucu bir biyolojik belirteçtir. Aslında bütün plazma tiyol grupları proteinlerle birleşmiştir ve albümin gibi plazmada bol bulunan proteinler, ekstrasellüler antioksidan gücünün bir kısmını kaybederler. Bundan dolayı, düşük tiyol düzeyleri protein oksidasyonunun erken ürünleri olarak değerlendirilir (20, 65, 66, 92-93).

Biz de çalışmamızda, her iki hasta grubuna göre (*T. gondii* pozitif), [IgG (+) ve Ig M (+) ve IgG (+) ve Ig M (-)] kontrol grubu tiyol düzeyleri [IgG (-) ve Ig M (-)], numerik anlamda yüksek olarak bulundu ve gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak olmasa da rakamsal olarak belirlendi. İlginç bir şekilde hasta grubunu oluşturan bireylerde kendi içinde de; IgG (+) ve Ig M (+) olan grup, IgG (+) ve Ig M (-) gruba göre rakamsal olarak net bir düşüş gösterdi. Tiyol düzeyindeki bu düşüş protein oksidasyonunun ve *T. gondii* pozitif grupta antioksidan savunma sisteminin azalmış bir göstergesi olarak değerlendirilebilir.

Çeşitli hasta gruplarıyla yapılan çalışmalarda oksidatif hasara duyarlı olan tiyol gruplarının plazma düzeylerinin hastalarda sağlıklı bireylere (kontrol grubuna) göre düşük olduğu gözlemlenmiş (20, 157).

Protein oksidasyon ürünleri arasında yer alan AOPP düzeylerinin plazma konsantrasyonu, oksidasyona uğramış proteinlerin, özellikle albümin oksidatif hasarı için etkin bir belirteçtir (159). AOPP oluşumunda *in vivo* tek kaynağın, aktif nötrofillerden salınan HOCl olduğu ve endojen aminlerle reaksiyona girdiği, kloraminlerle okside olan proteinler üzerinde AOPP oluşturduğu bildirilmekte ve neticesinde oksidatif hasarın gösterilmesinde özellikle nötrofil kaynaklı oksidatif hasar için AOPP'nin önemli bir parametre olduğu düşünülmektedir (100-102, 152).

Yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir, bir çalışmada, protein oksidasyon hasarının belirteci olarak AOPP düzeyleri açısından hasta grubuyla kontrol grubu arasında anlamlı bir fark tespit edilememiştir (158). Diğer bir çalışmada ise hasta grubu AOPP düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (20).

Yaptığımız bu çalışmada kontrol grubuyla her iki hasta grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmezken hasta grubunda kendi içinde; *T. gondii* pozitif, IgG (+) ve Ig M (+) olan grupta IgG (+) ve Ig M (-) gruba göre AOPP düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlenmiştir.

Hasta grubunda gözlenen yüksek plazma AOPP düzeyi, nötrofil aktivasyonuna bağlı olarak artan MPO-HOCl sisteminin oluşturduğu hasara bağlı olduğunu düşündürmektedir.

Albüminin tiyol gruplarının normal insan plazmasının antioksidan kapasitesinin önemli bir kısmını oluşturduğu bilinmektedir (20, 71-79). Çalışmamızda da tiyol düzeyinin her iki hasta grubunda da düşük bulunması, proteinlerle ilgili antioksidan mekanizmanın yetersiz kaldığı ve bunun sonucunda da insan serum albüminin okside olabileceği bunun da özellikle *T. gondii* pozitif, IgG (+) ve Ig M (+) bireylerde AOPP'nin artışıyla ilgili olduğu ileri sürülebilir. Tiyol grubu oksidasyonu aynı zamanda protein oksidasyonunun göstergesi olarak da yorumlanmaktadır. Oksidatif strese sekonder gelişen tiyol kaybı tiyol stres olarak da adlandırılmıştır, bu nedenle organizmada tiyol stres hem oksidan gücün kaybını hem de protein oksidasyonunun derecesini yansıtabilmektedir (152, 160).

Birçok çalışmada da AOPP'nin artmış düzeyinin MPO aracılı okside insan serum albüminin ürünü olduğu şeklinde ifade edilmiş ve hasta gruplarında MPO düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulmuşlardır (152,161-162). Çalışmamızda hasta grubunda tespit edilen düşük tiyol değerleri, oksidatif stresin proteinler üzerindeki etkisi geri dönüşümlü ve uzun dönem olduğu için, hem protein oksidasyonunun varlığını hem de antioksidan kapasitenin derecesinin azaldığını düşündürmektedir.

Nötrofillere spesifik olan MPO'nun plazmada yüksek düzeyde bulunması, nötrofil degranülasyonunu gösterecek, yani oksidatif hasar oluşturabilen aktif nötrofillerin varlığını yansıtacaktır. Bu çalışmada da hasta gruplarında kontrol grubuna göre rakamsal olarak tespit edilen azda olsa yüksek MPO değeri, hastalarda nötrofillerin aktif olduğunu ve aktif nötrofillerden plazmaya MPO salındığını göstermesi bakımından önemlidir. Buda hastalığın aktivasyonu ile nötrofil aktivasyonu arasında kısmen de olsa bir bağıntı olabileceğini düşündürmektedir.

Plazmada MPO kaynaklı başlıca serbest oksijen radikali türevlerinin başında HOCl olduğu bilinmektedir (152). HOCl'yi yakalayan primer antioksidanın tiyol olduğu düşünüldüğünde tiyol kaynaklarının HOCl'yi etkisiz hale getirmesi düşünülür (74, 140, 152, 160). Dahası yapılan çalışmalarda, AOPP'nin *in vitro* olarak nötrofil ve monositlerde solunum patlamasını ve NADPH oksidaz ile MPO aktivitelerini artırdıklarını göstermişlerdir (152, 159).

Bu çalışmada *T. gondii* pozitif bireylerde serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması ve protein oksidasyon derecesi arasındaki ilişkiyi incelemek amaçlanmıştır. Buradan yola çıkarak, lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeyleri, oksidan stres nedenlerinden olan XO aktivitesini, hücre içi antioksidan enzimlerden ve nötrofil aktivasyonun belirteçlerinden olan MPO düzeyi, oksidan stres nedenlerinden olan ve protein zararının tespitinde markır özelliği olan tiyol seviyesi ve protein peroksidasyonun göstergesi olan oksidatif stres marker'ı AOPP düzeyleri, birlikte değerlendirildi.

Sonuç olarak; Çalışmamızda, MDA seviyesinde görülemeyen fakat hasta grubunda görülen plazma XO aktivitesi artışı DNA hasarının başladığının göstergesi olarak yorumlanmıştır. XO pürin metabolizmasında etkin bir enzim olması ve dolayısıyla moleküler seviyede DNA hasarının ve beraberinde hücre hasarının başladığını gösteren bir enzim olması nedeniyle son birkaç yılda oldukça sık oranda oksidan aktivite değişikliklerinin analizinde başvurulmaktadır (20, 52, 57). *T. gondii* pozitif bireylerde, plazma MPO seviyesinde görülen kısmi yükseklik nötrofillerden plazmaya MPO salındığını; MPO'nunda özellikle tiyol seviyelerinin azalmasına ve özellikle AOPP oluşumuna sebep olduğunu düşündürmektedir.

Bu bilgilerden ve elde edilen tüm sonuçlardan yola çıkarak; bundan sonraki planlanacak olan ilk aşamadaki çalışmalarda ölçülen parametrelere ek olarak organizmada mevcut antioksidan sistemlerin değerlendirildiği örneğin; katalaz ve süperoksit dismutaz seviyelerindeki değişimin gösterilebileceği bir çalışmanın planlanabilirliği ilk akla gelendir. Buna müteakip daha geniş bir hasta ve kontrol grubu oluşturularak veya bir hayvan modelinde ya da iyi planlanacak bir çalışma ile doku biyopsileri üzerinde daha geniş bir yelpazede oksidan ve antioksidan ajanlar bir bütün olarak değerlendirilmelidir. Bütün bunların neticesinde elde edilecek sonuçlar hastalığın tanı, diagnoz ve tedavi

aşamasına kadar geçen sürede ve eğer gerekiyorsa cerrahi operasyona kadar geçen sürede uygulanacak tedaviye yön vermede mutlaka etkili olacaktır.

6. KAYNAKLAR

1. Özcel MA. Özcel'in Tıbbi parazit hastalıkları. Gürüz AY, Özcel MA Toxoplasmosis. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını İzmir. 2007;22: 141-189.
2. Korkmaz M, Ok ÜZ, Parazitolojide laboratuvar, Yöntem-Yorum-Akreditasyon, Türkiye Parazitoloji derneği, Yayın no: 23, 2011; 261-284.
3. Tanyüksel M, Gün H, Erdal N. Toxoplazmosis tanısında serolojik testlerin karşılaştırılması. Türkiye Parazitol. Derg. 1994; 18: 266-276.
4. Altıntaş N, Yolasıǧmaz A, Yazar S, Şakru N. İzmir ve çevresindeki yerleşim bölgelerinde yaşayan insanlarda Toxoplasma antikorlarının araştırılması. Türkiye Parazitol Derg. 1998; 22: 229-232.
5. Garcia LS, Bruckner DA. Diagnostic Medical Parasitology. American Society for Microbiology, 1993; 2: 92.
6. Altintas N, Kuman HA, Akisu C, Aksoy U, Atambay M. Toxoplasmosis in last four years in Agean region, Turkey. J Egypt Soc Parasitol. 1997; 27: 439-443.
7. Kurt S, Erler A, Demir N, Konuk E. Ege Bölgesi'nde Toxoplasma seropozitifliği (1859 olgu). Türkiye Ekopatol Derg. 1996; 2: 28-30.
8. Yazar S, Altunoluk B, Akman MAA, Şahin İ. Gebelerde anti-*Toxoplasma gondii* antikorlarının araştırılması. Türkiye Parazitol Derg. 2000a; 24: 343-345.
9. Yazar S, Karagöz S, Altınoluk B, Kılıç H. Toxoplasmosis ön tanılı hastalarda

10. Anti-Toxoplasma gondii antikorlarının araştırılması. Türkiye Parazitol Derg. 2000b; 24: 14-16.
11. Yazar S, Eser B, Yay M. Prevalence of anti-Toxoplasma gondii antibodies in Turkish blood donors. Ethiop Med J. 2006; 44: 219.
12. Yaman O, Yazar S, Cetinkaya U, Temel HO, Balci E, Pehlivan I, Sahin I. Kayseri Kapalı Cezaevi Mahkumlarında Toxoplasma gondii Seroprevalansı. Türkiye Parazitol Derg. 2009; 33: 15-19.
13. Montoya JG, Huffman HB, Remington JS. Evaluation of the immunoglobulin G avidity test for diagnosis of toxoplasmic lymphadenopathy. J Clin Microbiol. 2004t; 42: 4627-4231.
14. Ersayit D, Kistik ekinokokkozisli hastalarda oksidatif stres: Oksidan ve antioksidan parametreler arasındaki ilişki. Yüksek lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 2009
15. Engin A, Altan N, Işık E. Erythrocyte glutathione levels in lithium-induced hypothyroidism. Drugs R D. 2005; 6: 35-40.
16. Engin A, Bozkurt BS, Altan N, et al. Nitric oxide-mediated liver injury in presence of experimental bile duct obstruction. World Journal of Surgery 2003; 27: 253-255.
17. Ha HL, Shin HJ, Feitelson MA, Yu DY. Oxidative stress and antioxidants in hepatic pathogenesis. World J Gastroenterol. 2010; 16: 6035-6043.
18. Yardım-Akaydın S, Sepici A, Özkan Y, et al. Oxidation of uric acid in rheumatoid arthritis: Is allantoin a marker of oxidative stress? Free Radical Research 2004; 38: 623-628.
19. Yardım-Akaydın S, Sepici A, Özkan Y, et al. Evaluation of allantoin levels as a new marker of oxidative stress in Behcet's disease. Scandinavian Journal of Rheumatology 2006; 35: 61-64.
20. Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative stress. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2011; 25: 287-299.
21. Uluçay C, Preeklampside endotel disfonksiyonu ve iskemi modifiye albumin düzeyleri. Yüksek lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 2007
22. Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. YYU. Vet. Fak. Dergisi 2004; 15: 91-96.

23. Sugamura K, Keaney JF Jr. Reactive oxygen species in cardiovascular disease. *Free Radic Biol Med*. 2011; 51: 978-992.
24. Whaley-Connell A, McCullough PA, Sowers JR. The role of oxidative stress in the metabolic syndrome. *Rev Cardiovasc Med*. 2011; 12: 21-29.
25. Darley-Usmar V, Halliwell B. Nitric oxide and oxygen radicals: a question of balance. *FEBS Lett* 1995; 369: 131-135.
26. Klaunig JE, Wang Z, Pu X, Zhou S. Oxidative stress and oxidative damage in chemical carcinogenesis. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2011; 254: 86-99.
27. Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative stress. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2011; 25: 287-299.
28. Avery SV. Molecular targets of oxidative stress. *Biochem J*. 2011; 434: 201-210.
29. Cross CE, Hallwell B, Borish ET, et al. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987; 107: 526-545.
30. McCord J. Human disease, free radicals and the oxidant\antioxidant balance. *Clin Biochem* 1993; 26: 351-357.
31. Gutteridge JMC. Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chem Biol Inter* 1994; 91: 133-140.
32. Liochev SI, Fridovich I. The role of O_2 in the production of $OH^\bullet$ in vitro and in vivo. *Free Radical Biol Med* 1994; 16: 29-33.
33. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford, Clarendon Press 1989; 10-21.
34. Pryor W, Squadrito GL. The chemistry of peroxynitrite : A product from the reaction of nitric oxide with superoxide . *Am J Physiol* 1995; 268: 699-722
35. Marjani A., Lipid peroxidation alterations in type 2 diabetic patients. *Pak J Biol Sci*. 2010(1); 13: 723-730.
36. Sugamura K, Keaney JF Jr. Reactive oxygen species in cardiovascular disease. *Free Radic Biol Med*. 2011(1); 51: 978-992.
37. Vladimirov YA, Proskurnina EV. Free radicals and cell chemiluminescence. *Biochemistry (Mosc)*. 2009; 74: 1545-1566.
38. Santos CX, Anilkumar N, Zhang M, Brewer AC, Shah AM. Redox signaling in cardiac myocytes. *Free Radic Biol Med*. 2011(1); 50: 777-793.

39. Demiryürek AT, Wainwright CL, Wadsworth RM, Kane KA. Characterization of a method for the detection of drugs with free radical scavenging activity using porcine leukocytes. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1994; 32: 35-40.
40. Noronha-Dutra AA, Epperlein MM, Woolf N. Reduction of nitric oxide with hydrogen peroxide to produce potentially cytotoxic singlet oxygen as a model for nitric oxide-mediated killing. *Federation of European Biochemical Societies Letters (FEBS Lett)*. 1993; 321: 59-62.
41. Demiryürek AT, Kennedy S, Wainwright CL, Wadsworth RM, Kane KA. Influence of nitric oxide on luminol-enhanced chemiluminescence measured from porcine- stimulated leukocytes. *J Cardiovasc Pharmacol* 1997; 30: 332-337.
42. Bernovky C. Nucleotide chloramines and neutrophil mediated cytotoxicity. *FASEB J* 1991; 5: 295-300.
43. Kehre JP, Smith JV. Free radicals in biology: Sources, reactivities and roles in etiology of human diseases; In Frei B(ed): *Natural Antioxidants In Human Health and Disease*. San Diego: Academic Press, 1994: 25-62.
44. Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim* 1998; 11: 336-341.
45. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford: Oxford University Press, 1999.
46. A Zervos I, Nikolaidis E, N Lavrentiadou S, P Tsantarliotou M, K Eleftheriadou E, P Papapanagiotou E, J Fletouris D, Georgiadis M, A Taitzoglou I., Endosulfan-induced lipid peroxidation in rat brain and its effect on t-PA and PAI-1: ameliorating effect of vitamins C and E. *J Toxicol Sci*. 2011; 36: 423-433.
47. Mancino R, Di Pierro D, Varesi C, Cerulli A, Feraco A, Cedrone C, Pinazo-Duran MD, Coletta M, Nucci C. Lipid peroxidation and total antioxidant capacity in vitreous, aqueous humor, and blood samples from patients with diabetic retinopathy. Mancino R, Di Pierro D, Varesi C, Cerulli A, Feraco A, Cedrone C, Pinazo-Duran MD, Coletta M, Nucci C. *Mol Vis*. 2011; 17: 1298-1304.
48. Dormandy TL. In praise of peroxidation. *Lancet* 1998; 12: 11-26.
49. Davidge ST, Hubel CA, Brayden RD, Capeless EC, McLoughlin MK. Serum antioxidant activity in uncomplicated and preeclamptic pregnancies. *Obstet Gynecol* 1992; 79: 897-901.

50. Sreejai R, Jaya DS. Studies on the changes in lipid peroxidation and antioxidants in fishes exposed to hydrogen sulfide. *Toxicol Int.* 2010; 17: 71-77.
51. Sağol S, Özkınay E. Preeklampsi etyopatogenizinde lipid peroksidasyonu. *T Klin Jineköl Obst* 2000; 10: 7-15.
52. Murray RK, Harpers biochemistry, 24th Appletona dn lang 1996; 146-157.
53. Berry CE, Hare JM. *J Physiol.* Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease: molecular mechanisms and pathophysiological implications. 2004(3); 16: 589-606
54. Champe PC, Harvey RA. Lippincott's Illustrated reviews serisinden: Biyokimya İkinci Baskı, 1997.
55. Watts RW. *J Clin Pathol Suppl (R Coll Pathol).* Molecular variation in relation to purine metabolism. 1974; 8: 48-63.
56. Ferrari R, Ceconi C, Curello S, Cargnoni A, Pasini E, De Giuli F, Albertini A. *Am J Clin Nutr.* Role of oxygen free radicals in ischemic and reperfused myocardium. 1991; 53: 215-222.
57. Hille R, Nishino T. Flavoprotein structure and mechanism. 4. Xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase. *FASEB J.* 1995; 9: 995-1003.
58. Çete S, Arslan F, Yaşar A.. Aloe Vera ve Nerium Olfander'in Bazı Mikroorganizmalara Karşı Antimikrobiyal Aktivitenin Araştırılması ve bu Bitkilerin Siklosporinli karaciğer dokusundaki Ksantin Oksidaz Enzim Aktivitesine Etkilerinin İncelenmesi. *G. Ü. Fen Bilimleri Dergisi.* 2005; 18: 375-380.
59. Serafini M, Del Rio D. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool? *Redox Report* 2004; 9: 145-152.
60. Halliwell B. Reactive oxygen species in living system: source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med* 1991; 91: 14-21.
61. Shacter E. Protein oxidative damage. *Methods Enzymol.* 2000; 319: 428-436.
62. Stadtman E.R., Berlett B.S., et al. Reactive Oxygen-Mediated Protein Oxidation İn Aging And Disease. *Chem Res Toxicol*, 1997; 10, 485-494.
63. Dalle-Donne I, Giustarini D, Colombo R, Rossi R, Milzani A., et al. Protein carbonylation in human diseases. *Trends Mol Med.* 2003; 9: 169-176

64. Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R., et al. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta*. 2003; 329: 23-38.
65. Stadtman ER, Levine RL., et al. Protein oxidation. *Ann N Y Acad Sci*. 2000; 899: 191-208.
66. Bindoli A, Rigobello MP., et al. Mitochondrial thioredoxin reductase and thiol status. *Methods Enzymol*. 2002; 347: 307-316.
67. Netto LE, Kowaltowski AJ, Castilho RF, Vercesi AE, et al. Thiol enzymes protecting mitochondria against oxidative damage. *Methods Enzymol*. 2002; 348: 260-270.
68. Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies MJ., et al. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem J*. 1997; 324 : 1-18.
69. Gow AJ, Duran D, Malcolm S, Ischiropoulos H., et al. Effects of peroxynitrite-induced protein modifications on tyrosine phosphorylation and degradation. *FEBS Lett*. 1996; 385: 63-66.
70. Szabo C. The pathophysiological role of peroxynitrite in shock, inflammation, and ischemia-reperfusion injury. *Shock*. 1996; 6: 79- 88.
71. Skvarilová M, Bulava A, Stejskal D, Adamovská S, Bartek J. Increased level of advanced oxidation products (AOPP) as a marker of oxidative stress in patients with acute coronary syndrome. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2005; 149: 83-87.
72. Kalousová M, Skrha J, Zima T. Advanced glycation end-products and advanced oxidation protein products in patients with diabetes mellitus. *Physiol Res*. 2002; 51: 597-604.
73. Reznick AZ, Packer L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol* 1994; 233: 357-363.
74. Evans P, Lyras L, Halliwell B. Measurement of protein carbonyls in human brain tissue. *Methods Enzymol* 1999; 300: 145-156.
75. Hu ML. Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma. *Methods Enzymol* 1994; 233: 381-385.
76. Bourdon E, Loreau N, Blache D. Glucose and free radicals impair the antioxidant properties of serum albumin. *FASEB* 1999; 13: 233-244.

77. Takenaka Y, Miki M, Yasuda H, Mino M. The effect of α -tocopherol as an antioxidant on the oxidation of membrane protein thiols induced by free radicals generated in different sites. *Arch Biochem Biophys* 1991; 285: 344-350.
78. Arai H., Berlett B.S., Chock P.B., Stadtman E.R.: Effect of bicarbonate on iron-mediated oxidation of low-density lipoprotein. *J. EMBO*, 2005; 102: 10472-10477.
79. Kong Q, Lin CL. Oxidative damage to RNA: mechanisms, consequences, and diseases. *Cell Mol Life Sci.* 2010; 67(11): 1817-1829.
80. Kayalı R., Çakatay U.: Basic mechanisms of protein oxidation. *Cerrahpaşa J. Med.*,2004; 35: 83-89.
81. Dean R.T., Fu S., Stocker R., Davies M.J.: Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *J. Biochem.*,1997; 324: 1-18.
82. Halliwell B.: What nitrates tyrosine? Is nitrotyrosine specific as a biomarker of peroxynitrite formation in vivo. *FEBS Lett.*,1997; 411: 157-160.
83. Gülbahar Ö. Protein oksidasyonunun mekanizması, önemi ve yaşlılıkla ilişkisi. *Turkish Journal of Geriatrics* 2007; 10: 43-48.
84. Shacter E. Protein oxidative damage. *Methods Enzymol* 2000; 319: 428-436.
85. Shacter E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metab Rev* 2000; 32: 307-326.
86. Davies MJ, Fu S, Wang H, Dean RT. Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease. *Free Radic Biol Med* 1999; 27: 1151-1163.
87. Dalle-Donne I, Giustarini D, Colombo R, Rossi R, Milzani A. Protein carbonylation in human diseases. *Trends Mol Med* 2003; 9: 169-176.
88. Stadtman ER, Levine RL. Free radical-mediated oxidation of free amino acids residues in proteins. *Amino Acids*, 2003; 25: 207-218.
89. Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R, Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta* 2003; 329: 23-38.
90. Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem J* 1997; 324: 1-18.
91. Levine RL. Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. *Free Radic Biol Med* 2002; 32: 790-796.

92. Stadtman ER, Levine RL. Protein oxidation. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 899: 191-208.
93. Bindoli A, Rigobello MP. Mitochondrial thioredoxin reductase and thiol status. *Methods Enzymol*, 2002; 347: 307-316.
94. Netto LES, Kowaltowski AJ, Castilho RF, Vercesi AE, Thiol enzymes protecting mitochondria against oxidative damage. *Methods Enzymol* 2002; 348: 260-270.
95. Gow AJ, Duran D, Malcolm S, Ischiropoulos H. Effect of peroxynitrite-induced protein modifications on tyrosine phosphorylation and degradation. *FEBS Lett* 1996; 385: 63-66.
96. Bahar G, Feinmesser R, Shpitzer T, Popovtzer A, Nagler RM. Salivary analysis in oral cancer patients: DNA and protein oxidation, reactive nitrogen species, and antioxidant profile. *Cancer*. 2007; 109(1): 54-59.
97. Ischiropoulos H, Al-Mehdi AB, Peroxynitrite-mediated oxidative protein modification. *FEBS Lett* 1995; 364: 279-282.
98. Szabo C. The pathophysiological role of peroxynitrite in shock, inflammation, and ischemia-reperfusion injury.
99. Ter Steege JCA, Koster-Kamphuis L, van Straaten EA, Forget PP, Buurman WA. Nitrotyrosine in plasma of celiac disease patients as detected by a new sandwich ELISA. *Free Radic Biol Med* 1998; 25: 953-963.
100. Alderman CJJ, Shah S, Foreman JC, Chain BM, Katz DR. The role of advanced oxidation protein products in regulation of dendritic cell function. *Free Radic Biol Med* 2002; 32: 377-385.
101. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillere-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, Jungers P, Descamps-Latscha B. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int* 1996; 49: 1304-1313.
102. Witko V, Nguyen AT, Descamps-Latscha B. Microtiter plate assay for phagocyte-derived taurine-chloramines. *J Clin Lab Anal*, 1992; 6: 47-53.
103. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillere-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, Jungers P, Descamps-Latscha B. Advanced oxidation protein products as a novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure. *J Immunol*, 1998; 161: 2524-2532.
104. Berlett BS, Stadtman ER. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *J Biol Chem* 1997; 272: 20313-20316.

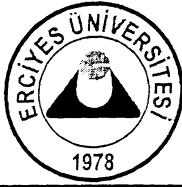
105. Schindhelm RK, van der Zwan LP, Teerlink T, Scheffer PG Myeloperoxidase: a useful biomarker for cardiovascular disease risk stratification? *Clin Chem.* 2009; 55(8): 1462-1470.
106. Loria V, Dato I, Graziani F, Biasucci LM. Myeloperoxidase: a new biomarker of inflammation in ischemic heart disease and acute coronary syndromes. *Mediators Inflamm.* 2008; 8: 135625-135627.
107. Malle E, Furtmüller PG, Sattler W, Obinger C. Myeloperoxidase: a target for new drug development? *Br J Pharmacol.* 2007; 152(6): 838-854.
108. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: friend and foe. *J Leukoc Biol.* 2007; 77(5): 598-625.
109. Dominguez-Rodriguez A, Abreu-Gonzalez P. Current role of myeloperoxidase in routine clinical practice. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2011; 9(2): 223-230.
110. Frei B. Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: Mechanisms of Action., *The American Journal of Medicine.* 1994; 97:5-12.
111. Akkuş I. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza yayınları, Kuzucular ofset, Konya 1995.
112. Bast A, Haenen GRMM, Cees JAD. Oxidants and antioxidants: State of the art. *The American Journal of Medicine.* 1997; 91:3-13.
113. Yanbeyi, S. Aspirin ve antioksidant buthylated hydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri. Doktora tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 1999; 88.
114. Dikici I. Akut viral hepatitlerle interferon tedavisi görmüş kronik viral hepatitlerde oksidatif stresin araştırılması. Uzmanlık tezi, Selçuk Üniversitesi Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, Konya, 1999; 73.
115. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, et al. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med.* 1987; 107(4): 526-545.
116. Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys.* 1990; 280: 1-8.
117. Guemouri L, Artur Y, Herbeth B, et al. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. *Clin Chem.* 1991; 37(11): 1932-1937.

118. Memişoğulları R. Diyabette serbest Radikallerin rolü ve Antioksidanların Etkisi. Düzce Tıp Fakültesi dergisi 2005; 3: 30-39.
119. Tudhope GR. Red cell catalase in health and in disease, with reference to the enzyme activity in anaemia. Clin. Sci.1967; 33: 165-182.
120. Palmer T. Understanding Enzymes.1990.
121. Gonzales MB, Auclair C, Voisin E, et al. Superoxide dismutase catalase and glutathione peroxidase in red blood cells from patients with malignant diseases.Cancer Res. 1984; 44(9): 4137-4139.
122. Rice-Evans CA, Diplock AT, Symons MCR. Techniques in free radicals research. Elsevier, Amsterdam. 1991; 22.
123. Rachmilewitz D, Karmeli F, Okan E, Samuni A. A novel antiulserogenic stable radical prevents gastric mucosal lesions in rats.Gut. 1994; 35: 1181-1188.
124. Mates JM, Perez-Gomez C, De Castro IN. Antioxidant enzymes and human diseases. Clin Biochem 1999; 32: 595-603.
125. Cervello I, Lafuente A, Giralt M, Mallol J. Enhanced glutathione S-transferase (GST) activity in pregnant rats treated with benzo(a)pyrene. Placenta 1992; 13: 273-280.
126. Mannervik B. Glutathione peroxidase. Methods Enzymol. 1985; 113: 490-495.
127. Fırat S. Kobaylarda radyasyonla oluşan akciğer hasarında doku glutatyon, glutatyon peroksidaz, glutatyon- S-transferaz düzeyleri ve N-asetil sistein'in bu sistem üzerindeki etkisi. Uzmanlık tezi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, 1997; 95.
128. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? Lancet. 1994; 344: 721-724.
129. Smirnoff N, Pallanca JE. Ascorbate metabolism in relation to oxidative stress. Biochemical Society Transactions.1995; 24-26.
130. Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. J Lab Clin Med. 1963;61: 882-888.
131. Champe PC, Harvey RA. Glikozaminoglikanlar. A. Tokullugil, M. Dirican, E. Ulukaya. Lippincott's Illustrated reviews serisinden: Biyokimya. İkinci baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul,1997; 147-156.
132. Carlberg I, Mannervik B. Glutathione reductase. Methods Enzymol.1985; 113:484-490.

133. Burton GW, Ingold KU. Vitamin E as an in vitro and in vivo antioxidant. *Ann NY Acad Sci.* 1989; 57: 7–22.
134. Pryor WA. Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trial. *Free Rad Biol Med.* 2000; 28: 141–164.
135. Carr A, Frei B. Does Vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? *FASEB J.* 1999;13: 1007–1024.
136. Kojo S. Vitamin C: Basic metabolism and its function as an index of oxidative stress, *Curr Med Chem.* 2004; 11: 1041–1064.
137. Giron YE, Rise M, Levy J. Effects of lycopene enriched tomato oleoresin on 7,12-dimethyl-benz[a]anthracene-induced rat mammary tumors. *Cancer Detect Prevent.* 1997;21: 118–123.
138. Ohkava H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1978; 95: 351-358.
139. Prajda N, Weber G. Malignant transformation-liked imbalance: decreased XO activity in hepatomas. *FEBS Lett* 1975; 59: 245-249.
140. Hu ML, Louie S, Cross CE, Motchnik P, Halliwell B. Antioxidat protection against hypochlorous acid in human plasma. *J. Lab. Clin. Med* 1993; 121: 257-262.
141. Brdaley PP, Priebat DA, Christensen RD, Rothstein G. Measurement of Cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *J. Invest Dermatol* 1982; 78: 266-269.
142. Jain SK. Evidence for membrane lipid peroksidation during the in vivo aging of human Erythrocytes. *Biochem Biophys Acta*, 1988; 937: 205-210.
143. Memişoğulları R, Çayır K, Keleş M ve Akçay F. Son dönem böbrek yetmezlikli hastalarda plazma homosistein ve malondialdehid düzeyleri ve bu parametreler üzerine hemodiyalizin etkisi. *Türk Biyokimya Dergisi*, 2004; 29 (4), 282-285.
144. Yazar S, Kilic E, Saraymen R, Ozbilge H. Serum malondialdehyde level in children infected with *Vampirolepis nana*. *Pediatr Int.* 2005; 47(4): 409-411.
145. Kilic E, Yazar S, Saraymen R, Ozbilge H. Serum malondialdehyde level in patients infected with *Ascaris lumbricoides*. *World J Gastroenterol.* 2003; 9(10): 2332-2334.
146. Potter AS, Foroudi S, Stamatikos A, Patil BS, Deyhim F. Drinking carrot juice increases total antioxidant status and decreases lipid peroxidation in adults. *Nutr J.* 2011; 24: 1096.

147. Seung-Hwan Kim, Kyung-Shin Park, Effects of Panax ginseng extract on lipid metabolism in humans, Pharmacological Research, 2003; 48: 511-513.
148. Patra RC, Swarup D, Dwivedi SK, Antioxidant effects of α tocopherol, ascorbic acid and L-methionine on lead induced oxidative stress to the liver, kidney and brain in rats, Toxicology, 2001; 162: 81-88.
149. Lee BJ, Huang YC, Chen SJ, Lin PT., Coenzyme Q₁₀ supplementation reduces oxidative stress and increase antioxidant enzyme activity in patients with coronary artery disease. Nutrition. 2011
150. Fitri LE, Sardjono TW, Simamora D, Sumarno RP, Setyawati SK., High dose of N-acetylcysteine increase H₂O₂ and MDA levels and decrease GSH level of HUVECs exposed with malaria serum., Trop Biomed. 2011; 28(1):7-15.
151. Gabrashanska M, Teodorova SE, Petkova S, Mihov L, Anisimova M, Ivanov D., Selenium supplementation at low doses contributes to the antioxidant status in Trichinella spiralis-infected rats, Parasitol Res. 2010; 106(3): 561-570.
152. Kaya S, Behçet hastalarında N-asetilsisteinin bazı oksidatif stres parametrelerine etkisi, Uzmanlık tezi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı , Kayseri, 2008.
153. Hernandez SM, Kolliker-Frers RA, Sanchez MS, Razzitte G, Britos RD, Fuentes ME, Schwarcz de Tarlovsky MN. Antiproliferative effect of sera from chagasic patients on Trypanosoma cruzi epimastigotes. Involvement of xanthine oxidase. Acta Trop., 2009; 109(3): 219-225.
154. Iwalokun BA, Bamiro SB, Ogunledun A. Levels and interactions of plasma xanthine oxidase, catalase and liver function parameters in Nigerian children with Plasmodium falciparum infection. APMIS. 2006; 114(12):842-850.
155. Hernandez SM, Kolliker-Frers RA, Sanchez MS, Razzitte G, Britos RD, Fuentes ME, Schwarcz de Tarlovsky MN. Antiproliferative effect of sera from chagasic patients on Trypanosoma cruzi epimastigotes. Involvement of xanthine oxidase. Acta Trop. 2009; 109(3): 219-225.
156. Haluk A. Savaş, H. Serdar Gergerlioğlu, Ahmet Gürel, Salih Selek, Esen Savaş, Esra Koçoğlu, Murat Eren Özen, Hasan Herken, Ömer Akyol, İkiuçlu Bozukluk Hastalarında Ötimik Evrede Artmış Ksantin Oksidaz ve Malondialdehid Düzeyleri, Klinik Psikiyatri Dergisi. 2005 ; 8(4):180-185.

157. Gökpınar E, Maraş Otunun (Ağız Otu) tükürük adenozin deaminaz ve ksantin oksidaz ile total sialik asit ve malondialdehit düzeylerine etkisinin araştırılması, Yüksek lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Kahramanmaraş, 2008.
158. Lurba E, Gratacos E, Cabero L. A comprehensive study of oxidative stress and antioxidant status in preeclampsia and normal pregnancy. *Free Radical Biology & Medicine* 2004; 37(4): 557-570.
159. Witko-Sarsat V, Gausson V, Nguyen AT. AOPP induced activation of human neutrophil and monocyte oxidative metabolism: Apotential target for N-acetylcysteine treatment in dialysis patients. *Kidney Int* 2003; 64: 82-91.
160. Himmelfarb J, McMonagle E, McMenamin E, Plasma protein thiol oxidation and carbonyl formation in chronic renal failure. *Kidney Int*, 2000; 58:2571-2578.
161. Blandin C, Gausson V, Witko-Sarsat V. Biochemical and spectrophotometric significance of advanced oxidized protein products. *Biochimica et Biophysica Acta* 2004; 1689: 91-102.
162. Noyan T, Güler A, Şekerlioğlu MR. Serum advanced oxidized protein products, myeloperoxidase and ascorbic acid in preeclampsia and eclampsia. *Australian and New Zealand of Obstet and Gynecol* 2006; 46: 486-491.



T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Sayı : B.30.2.ERC.01.00.01/ 500-199
Konu : Teze Başlama

15/02/2011

Sayın Mehtap POLAT

Doç. Dr. Eser KILIÇ'ın danışmanlığında hazırlamış olduğunuz **“Toxoplasma Gondii Pozitif Hastalarda Oksidatif Stres ve Protein Oksidasyon Ürünlerinin Değerlendirilmesi”** isimli tez projeniz; Enstitü Yönetim Kurulunun 10/02/2011 tarih ve 496 sayılı toplantısında Yönetmeliğin 46.maddesine göre kabul edilmiştir. Tezinizin en geç **30/01/2012** tarihine kadar Enstitüye teslim edilmesi gerekmektedir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.


Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR
MÜDÜR

Projenin Etik Kurul Onay Tarihi ve Sayısı :
Etik Kurul Kararının Enstitüye Geliş Tarihi :

Tez konusu ve önerisi

MADDE 46 – (1) Ders dönemini başarıyla tamamlayan öğrencinin tez konusu ve tez yazım kurallarına uygun şekilde hazırlanmış tez önerisi, en geç izleyen yarıyılın başına kadar tez danışmanı tarafından ana bilim/ana sanat dalı başkanlığına sunulur. Tez konusu ve önerisi ana bilim/ana sanat dalı kurulunda incelendikten sonra Enstitü Yönetim Kurulu kararı ile kesinleşir. Tez konusunda değişiklik yapılması gereken durumlarda aynı işlem uygulanır.

(2) Öğrenci, tez konusunun Enstitü Yönetim Kurulu tarafından kabulünden sonra her yarıyıl tez çalışmasına kayıt yaptırmak zorundadır. Tez çalışmasından üst üste iki kez veya aralıklı olarak üç kez başarısız not alan, süresi içinde tez önerisini hazırlamayan veya tez önerisi Enstitü Yönetim Kurulu tarafından iki kez reddedilen öğrencinin kaydı silinir.

MADDE 47 – (2) Öğrenci tez çalışmasına başladığı tarihten itibaren sekiz ay geçmeden tezini Enstitü Müdürlüğüne sunamaz

E.Ü. TIP FAKÜLTESİ ETİK BAŞVURUSU DEĞERLENDİRME FORMU

ETİK KURULUN ADI	: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Değerlendirme Komisyonu
AÇIK ADRES	: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Melikgazi/KAYSERİ
TELEFON	: 0 352 437 49 10 - 11
FAKS	: 0 352 437 52 85
E-POSTA	: byancar@erciyes.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Toxoplasma gondii pozitif hastalarda oksidatif stres ve protein oksidasyon ürünlerinin değerlendirilmesi			
ARAŞTIRMA PROTOKOLÜNÜN KODU				
EUDRACT NUMARASI				
SORUMLU ARAŞTIRMACININ ÜNVANI/ADI/SOYADI	Doç.Dr. Eser Kılıç			
SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyokimya			
KOORDİNATÖRÜN ÜNVANI/ADI/SOYADI				
KOORDİNATÖRÜN UZMANLIK ALANI				
ARAŞTIRMA MERKEZİ	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı			
ARAŞTIRMA MERKEZİNİN AÇIK ADRESİ	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı			
BAŞVURULAN ETİK KURULUN ADI	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Değerlendirme Komisyonu			
DESTEKLEYİCİ VE AÇIK ADRESİ				
DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ VE ADRESİ				
UZMANLIK TEZİ/ AKADEMİK AMAÇLI	UZMANLIK TEZİ ☒	AKADEMİK AMAÇLI ☐		
ARAŞTIRMA FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1			
	FAZ 2			
	FAZ 3			
	FAZ 4			
	BE/BY			
	DiĞER		Diğer ise belirtiniz	
İLAÇ DIŞI ARAŞTIRMA		Belirtiniz		
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEKMERKEZ ☒	ÇOKMERKEZ ☐	ULUSAL ☐	ULUSLARARASI ☐

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER

BELGE ADI	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER

BELGE ADI	Açıklama
ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	
SIGORTA	
HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	
İLAN	
YILLIK BİLDİRİM	
SONUÇ RAPORU	
GÜVENLİK BİLDİRİMLERİ	
DiĞER	

Bahri YANCAR
Fakülte Şefi

KARAR SIRA NO.	KARARA ESAS OLAN EVRAKIN			GÜNDEM
	TARİHİ	NO.	NEREDEN GÖNDERİLDİĞİ	
94				
Toplantı Tarihi: 20.07/ 2010 Başkan: Prof. Dr. Sabahattin Muhtaroglu Üyeler: Prof. Dr. M. Üstüdal, Prof. Dr. L. Kisse, Doç. Dr. C. Yılmaz, Doç. Dr. F. Narin, Doç. Dr. E. Kılıç, Doç. Dr. G. Başkol, Yrd. Doç. Dr. A. Getin, Uzm. Dr. Z. Saraymen				

KARAR

20.07.2010 tarihinde toplanan Biyokimya Anabilim Dalı akademik kurulunda Doç. Dr. Figen Narin'in danışmanı olduğu yüksek lisans öğrencisi Funda Akpınar'ın "Litium ve valproat olan bipolar hastalarda oksidatif stres ve antioksidan enzimlerin araştırılması" başlıklı tez projesi ve Doç. Dr. Eser Kılıç'ın danışmanı olduğu yüksek lisans öğrencisi Mehtap Polat'ın "Toksooplazma gördü pozitif hastalarda oksidatif stres ve protein oksidasyon ürünlerinin değerlendirilmesi" başlıklı tez projesi görüşülerek uygun bulunmuştur.

K. Mustafa ÜSTÜDAL
Muhtaroglu

Prof. Dr. Sabahattin Muhtaroglu
Muhtaroglu

Doç. Dr. Figen Narin
Narin

Eser Kılıç
Kılıç

Prof. Dr. Kadir KISE
Kise

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı : Mehtap POLAT

Uyruğu : Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri : 17 Kasım 1984, Kayseri

Medeni Durumu : Bekar

Tel : 0 530 350 72 29

email : sirinpharmacy@hotmail.com

Yazışma Adresi : Alpaslan Mah. Emrah Cad. 21/28 Melikgazi/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Lisans	Hacettepe Üniv. Eczacılık Fakültesi	2008
Lise	Melikgazi YDA Lisesi	2002

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Kurum
2008-2011	Eczane Eczacılığı

YABANCI DİL

İngilizce