

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

**ORUÇ TUTAN SAĞLIKLI GÖNÜLLÜLERİN  
TROMBOSİTLERİNDE OKSİDAN VE  
ANTİOKSİDAN DÜZEYİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gülşah ÇELİK

DANIŞMAN

Prof.Dr.Nurten AKSOY

ŞANLIURFA

2015

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

**ORUÇ TUTAN SAĞLIKLI GÖNÜLLÜLERİN  
TROMBOSİTLERİNDE OKSİDAN VE  
ANTIOKSİDAN DÜZEYİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gülşah ÇELİK

DANIŞMAN

Prof.Dr.Nurten AKSOY

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından  
13091 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA

2015

HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Gülşah ÇELİK'in hazırladığı "Oruç Tutan Sağlıklı Gönüllülerin Trombositlerinde Oksidan ve Antioksidan Düzeyinin Araştırılması" konulu çalışma, 09/02/2015 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında YÜKSEK LİŞANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

  
Prof. Dr. Nurten AKSOY (Danışman)  
Harran Üniversitesi  
BAŞKAN

Yrd. Doç. Dr. Hatice SEZEN  
Harran Üniversitesi  
ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Emin SAVIK  
Harran Üniversitesi  
ÜYE

  
ONAY  
02/2015  
Prof. Dr. Nurten AKSOY  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim dalı'nda sürdürdüğüm Yüksek Lisans eğitimim süresince her türlü konuda desteğini esirgemeyen, tecrübe ve deneyimlerinden çok şey kazandığım ayrıca bana biyokimyayı daha çok sevdiren değerli tez danışman hocam Prof. Dr. Nurten AKSOY'a,

Tıbbi Biyokimya A.D. Öğretim Üyeleri Yrd. Doç. Dr. Hatice SEZEN'e ve Yrd. Doç. Dr. Emin ŞAVİK'e, bu çalışmanın gerçekleşmesinde yardımlarını esirgemeyen, Tıbbi Biyokimya laboratuvarı personeli değerli abim Mehmet DOĞAN'a ve tüm Tıbbi Biyokimya çalışanları ekibine, tez çalışmamdaki değerli katkılarından dolayı Biyokimya A.D. Öğretim görevlisi Abdullah TAŞKIN'a,

Çalışma kanlarının toplanması aşamasında desteklerini esirgemeyen değerli kuzenlerim Dr. Osman KARADAĞ, Avkt. Fahrettin KARADAĞ ve İbrahim Halil Ersöz'le birlikte Şanlıurfa Mehmet Akif İNAN Eğitim Arastırma Hastanesinde bulunan tüm ameliyathane personelin'e ve değerli abimiz Din kültürü öğretmeni Mehmet Ali POLAT'a, Kanların alınması sırasında yardımlarını esirgemeyen gülen yüzüyle her daim yanımızda olan sabır timsali değerli dostum Esra Zozan TÜRKMEN'e,

Hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, bugünlere gelmemde en büyük katkıyı sağlayan ve beni ne olursa olsun hiçbir zaman yalnız bırakmayan ayrıca tez çalışmam boyuncada desteklerini bir an olsun bile esirgemeyen canım babam Ahmet ÇELİK'e ve bitanecik kız kardeşim Gülben ÇELİK'e dualarıyla her daim yanımda olan kıymetli annem Sevgi ÇELİK'e, sevgili erkek kardeşlerim Serbülend Muhammed ÇELİK ve Ruşen Cumhur ÇELİK'e,

Tez çalışmamın yazımı esnasında benden yardımını ve desteğini esirgeyemen, ihtiyaç duyduğum her an bilgisi ve destekleri ile beni yönlendiren ve motive eden, tanımaktan dolayı mutluluk duyduğum değerli nişanlım Arş. Gör. Hamdullah KORHAN'a,

sonsuz teşekkür ederim

Gülşah ÇELİK

Şubat 2015

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
TABLolar LİSTESİ .....	vi
KISALTMALAR VE SİMGELER .....	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Orucun Kelime Anlamı .....	3
2.2. Oruç İbadetinin Tarihi Seyri .....	3
2.3. Oruç Fizyolojisi.....	4
2.4. Oruç Sonrası İnsan Vücudunda Meydana Gelebilecek Değişimler .....	5
2.4.1. Toksinlerden Arınma/Detoks .....	6
2.4.2. Dehidrasyon-Susuzluk .....	7
2.5. Oruç Tutmanın Tıbbi Açısından Faydaları.....	7
2.6. Oksidan ve Antioksidan Denge.....	8
2.6.1. Oksidan Sistem .....	8
2.6.1.1. Serbest Radikaller .....	8
2.6.1.2. Reaktif oksijen türleri .....	11
2.6.1.2.1 . Süperoksit Radikali (O <sub>2</sub> ) .....	12
2.6.1.2.2 . Hidrojen Peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) .....	13
2.6.1.2.3 . Hidroksil radikali (·OH).....	13
2.6.1.2.4 . Singlet Oksijen ( <sup>1</sup> O <sub>2</sub> ).....	14

2.6.1.2.5	. Nitrik Oksit (NO) .....	14
2.6.1.3.	Serbest Radikallerin Etkileri .....	15
2.6.1.3.1	. DNA ve Nükleik Asitlere Etkileri.....	15
2.6.1.3.2	. Proteinlere Etkileri .....	15
2.6.1.3.3	. Karbohidratlara Etkileri .....	15
2.6.1.3.4	. Lipitlere Etkileri .....	16
2.7.	Antioksidan Sistem .....	17
2.7.1.	Redükte Glutasyon (GSH).....	20
2.7.2.	Glutasyon Peroksidaz Enzimi (GSH-Px)(EC 1.11.1.9).....	21
2.7.3.	Glutasyon Redüktaz Enzimi (GSH-Rd)(EC 1.6.4.2).....	22
2.7.4.	Glutasyon-S-Transferaz Enzimi (GST)(EC 2.5.1.18) .....	22
2.7.5.	Süperoksit Dismutaz Enzimi (SOD)(EC 1.15.1.1) .....	23
2.7.6.	Katalaz Enzimi (CAT)(EC 1.11.1.6).....	24
2.7.7.	Tiyoredoksin Sistem .....	25
2.7.8.	Ubikinon (Koenzim Q) .....	25
2.7.9.	Askorbik Asit (C Vitamini).....	25
2.7.10.	Karotenler (A Vitamini).....	26
2.7.11.	Tokoferoller (E Vitamini) .....	26
2.7.12.	Flavonoidler .....	26
2.7.13.	Selenyum.....	27
2.7.14.	Transferin ve Laktoferrin .....	27
2.7.15.	Ürik Asit.....	27
2.7.16.	Bilirubin .....	27
2.7.17.	Haptogloblin (Hp) .....	27
2.7.18.	Seruloplazmin (Cp) .....	27
2.8.	Oksidatif Stres .....	28
2.9.	Trombositler .....	28
2.9.1.	Trombositin Yapısı .....	29
2.9.1.1.	Periferal (Çevresel) Bölge .....	29
2.9.1.1.1	. Dış Tabaka .....	30
2.9.1.1.2	. Trombosit Membranı .....	30

2.9.1.1.3	Membran Altı Bölge	30
2.9.1.2.	Sol –Jel Bölge	30
2.9.1.3.	Organel Bölgesi	31
2.9.1.4.	Membran Sistemi	31
2.9.2.	Trombosit Fonksiyonu	32
2.9.2.1.	Trombosit Adezyonu	32
2.9.2.2.	Trombosit Aktivasyonu	33
2.9.2.3.	Trombosit Sekresyonu	35
2.9.2.4.	Trombosit Agregasyonu	35
2.9.3.	Trombosit Oluşumu	38
2.9.4.	Trombosit Oluşumu ve Megakaryosit Gelişiminin Düzenlenmesi	41
2.9.5.	Trombosit Biyogenezi ve Apoptoz	42
3.	GEREÇ VE YÖNTEM	43
3.1.	Gereç	43
3.1.1.	Çalışma Gruplarının Oluşturulması	43
3.1.2.	Kan Örneklerinin Alınması	43
3.1.3.	Kullanılan Araç ve Gereçler	44
3.2.	Yöntem	45
3.2.1.	Trombositlerin Elde Edilmesi (Seperasyonu)	45
3.2.2.	Toplam Antioksidan Seviye (TAS) Ölçümü	46
3.2.3.	Toplam Oksidan Seviye (TOS) Ölçümü	46
3.2.4.	Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)	47
3.3.	Yapılan İstatistiksel Analizler	47
4.	BULGULAR	48
5.	TARTIŞMA	53
6.	SONUÇ	58
7.	KAYNAKLAR	59

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Vücuttaki önemli serbest radikaller ve serbest radikal hasarı sonuçları .....	11
Şekil 2.2. Radikallerin yol açtığı hücre hasarı. ....	18
Şekil 2.3. İnsan dokularındaki major antioksidan enzimler ve bağlı yollar.....	20
Şekil 2.4. Redükte Glutasyon (GSH). ....	21
Şekil 2.5 Glutasyon redoks döngüsü .....	22
Şekil 2.6 Trombositin yapısı. ....	29
Şekil 2.7. Dinlenme evresindeki trombosit. ....	32
Şekil 2.8. Aktif trombosit.....	32
Şekil 2.9.Megakaryositlerden trombosit oluşumu. ....	40
Şekil 4.1. Ramazan Öncesi, Ramazan Sonu ve Ramazan Ortası gruplarının TAS düzeyleri arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları.....	49
Şekil 4.2. Ramazan Öncesi, Ramazan Sonu ve Ramazan Ortası gruplarının TOS düzeyleri arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları.....	50
Şekil 4.3. Ramazan Öncesi, Ramazan Sonu ve Ramazan Ortası gruplarının OSİ düzeyleri arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları.....	50



## TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. Oksijen Türevi Bileşikler.....	9
Tablo 2.2 Oksijenin indirgenmesi.....	12
Tablo 2.3 Hidrofilik ve lipofilik fazda bazı antioksidanlar.....	19
Tablo 2.4. Radikal ve radikal olmayan reaktif oksijen türleri .....	28
Tablo 2.5. Değişik yüzey membran glikoproteinleri ve ligandları.....	33
Tablo 2.6. Trombosit granülleri ve içerikleri.....	37
Tablo 4.1. Grupların TAS, TOS, OSİ düzeyleri.....	48
Tablo 4.2. Kan Sayım Parametreleri.....	51
Tablo 4.3. Çalışma gruplarına ait korelasyon tablosu.....	52

## KISALTMALAR ve SİMGELER

DNA	: Deoksiribonükleik Asit
ADP	: Adenozin difosfat
SOD	: Superoksit Dismutaz
TAS	: Total Antioksidan Seviye
TOS	: Total Oksidan Seviye
OSİ	: Oksidatif Stres İndeksi
ROS	: Reaktif Oksijen Ürünleri
ATP	: Adenozin Trifosfat
LOO	: Lipit Peroksil Radikali
LOOH	: Lipit Hidroperoksit
MDA	: Malondialdehit
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	:Glutasyon Peroksidaz
GSH-Rd	: Glutasyon Redüktaz
GST	:Glutasyon-S-Transferaz
Trx	: Tiyoredoksin
TrxR	: Tiyoredoksin Redüktaz
Cp	: Seruloplazmin
RNS	: Reaktif Nitrojen Türleri
DMS	: Demarkasyon membran sistemi
LIF	: Lösemi inhibitör faktör
TPO	: Trombopoietin
KL	: Kit ligand
TAK	: Total Antioksidan Kapasite
HDL	:Yüksek yoğunluklu lipoprotein (high density lipoprotein)
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein (low density lipoprotein)

## ÖZET

### Oruç Tutan Sağlıklı Gönüllülerin Trombositlerinde Oksidan Ve Antioksidan Düzeyinin Araştırılması

Gülşah ÇELİK

#### Tıbbi Biyokimya Yüksek lisans Tezi

İslâm'ın temel ibadetlerinden biri de ramazan ayında oruç tutmaktır. Yılda bir ay, Ramazan ayında, ALLAH'A (CC) kulluk ve ibadet amacıyla, tanyerinin ağarmağa başlamasından güneş batmasına kadar, niyetlenerek bir şey yiyip içmekten ve orucu bozan başka şeylerden nefsi korumak suretiyle tutulur.

Ramazan orucu insan organizması üzerinde açlığın ve susuzluğun etkilerini araştırmak için iyi bir modeldir. Ramazan orucu standart hayat şartlarından kişileri aralıklı olarak uzaklaştırarak vücut sistemi üzerinde pek çok değişiklik oluşturmaktadır.

Bu çalışmamızın amacı, Ramazan ayında oruç tutan sağlıklı gönüllülerin trombositlerinde Total Antioksidan Seviye (TAS), Total Oksidan Seviye (TOS), Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) seviyelerini ölçmek ve buna göre değerlendirme yapmaktır.

Bu çalışma grubunda Şanlıurfa ilinde bulunan Oruç tutan sağlıklı ve gönüllü 20-40 yaş arası 39 erkek bireyden yaş kilo ve boy durumları da göz önünde bulundurularak Ramazan ayından iki gün önce, Ramazan ayının ortası ve Ramazan ayının son iki günü aynı kişilerden kan örnekleri alınıp trombositleri izole edildi. Daha sonra izole edilen trombositlerde, TAS, TOS ve OSİ kolorimetrik yöntemle biyokimya otoanalizöründe ölçüldü.

Bulgularımıza göre TAS, TOS, ve OSİ değerleri gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmuştur TAS düzeyleri ramazan öncesinde düşükken Ramazan ortasında ve sonunda aynı oranda bir artış gözlemlendi ( $p < 0,01$ ,  $p < 0,05$ , sırasıyla). TOS düzeyleri ise ramazan öncesinde yüksekken ramazan ortası ve sonrasına doğru giderek anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ , sırasıyla). Ayrıca

TOS düzeyleri ramazan öncesi ve sonrası arasında da anlamlı farklılık gösterdi ( $p<0,001$ ). Sonuçlarımız ışığında, Ramazan orucunun antioksidan kapasiteyi artırdığını, oksidatif stresi ise azalttığını söyleyebiliriz. Fakat, daha yoğun detaylı bir çalışma ile bu sonucu teyit etmemiz gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Ramazan Orucu, Trombosit, Oksidan Seviye, Antioksidan Seviye, Oksidatif Stres İndeks



## **ABSTRACT**

### **Investigation of Oxidant and Antioxidant Levels in the Platelets of Healthy Fasting Volunteers**

**Gülşah ÇELİK**

#### **Masters thesis of medical biochemistry**

One of the fundamental worships of Islam is to fast during the holy month Ramadan. Ramadan Fasting is performed by intending to avoid eating and drinking and to protect themselves from other things that may break the fast from the sunrise to the sunset for a month per year in order to worship and serve to Allah (cc).

Ramadan Fasting is a great model through which the effects of hunger and thirst on human organism may be studied. Fasting during Ramadan causes many changes on the body system by intermittently keeping them away from the standart life conditions.

The aim of our study is to measure the Total Antioxidant Status (TAS), Total Oxidant Status (TOS) and Oxidative Stress Index (OSI) levels in the trombocytes of healthy volunteers who fasted through the holy month Ramadan and assess the results accordingly.

In this cohort, upon considering their age, body weight and height conditions, 39 healthy male volunteers aged between 20-40 years old, who fast during Ramadan in Şanlıurfa, were found suitable to participate into the study. The blood of these volunteers were drawn at three time points; two days prior to Ramadan, in the middle of Ramadan and on the last two days of Ramadan. After drawing their blood, the trombocytes were isolated and TAS, TOS and OSI of the isolated blood trombocytes were measured by a colorimetric method in a biochemistry autoanalyser.

As a result, TAS, TOS and OSI levels have been found to be significantly different between the groups. While TAS levels were low before Ramadan, they were observed to be increased in the middle of the month and remained unchanged till the end of it ( $p < 0,01$ ,  $p < 0,05$ , respectively). TOS levels, on the other hand, were high before

Ramadan and gradually decreased through the middle and the end of the month. ( $p<0,05$ ,  $p<0,01$ , respectively). Additionally, TOS levels were significantly different between the before and end of the ramadan ( $p<0,001$ ).

In the light of these results, it may be possible to conclude that Ramadan fasting increases antioxidant capacity decreases oxidative stres in the body. However, more comprehensive work is required to verify this conclusion.

**Key Words :** Ramadan fasting, Tormbocytes, Oxidant Status, Antioxidant Status, Oxidative Stress Index.



## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Orucun Arapça karşılığı “savm” kelimesi olup, bu kelime “bir şeyden uzak durmak, bireyin kendini tutması ve engellemesi” manalarını gelmektedir. Oruç, İslam dininin beş şartından biridir. Yılda bir ay, ramazan ayında, ALLAH’a kulluk ve ibadet amacıyla, tanyerinin ağardığı andan güneş batmasına kadar, niyetlenerek bir şey yiyip içmekten ve orucu bozan başka şeylerden nefsi korumak suretiyle tutulur (1).

Orucun insan vücudunda tıbbi açıdan etkileri oldukça fazladır. Fransız biyolojist ve de fizyolojist ve Nobel ödüllü uzman Aleksis Karl orucun bu özelliği hakkında şöyle düşünüyor: Oruç sırasında vücut için oldukça önemli olan çok karmaşık ve bilinmeyen fonksiyonlar başlıyor ve böylece oruç, vücuttaki tüm dokuları adeta yıkıyor ve onları modifiye ediyor. İnsan yemekten uzaklaştığı ve tam oruç tuttuğu vakit, vücudu yavaş yavaş depoladığı maddelerden beslenir ve ihtiyacı olan enerjiyi bu yol ile karşılar. Normalde 11 ay boyunca çok yemek, dengesiz beslenmek ve zamansız yemek, vücudumuzu birden fazla yağ ve zehirli maddelerle doldurur ve oruç ibadeti bu maddeleri uzaklaştırmak için en uygun fırsattır. Hekimlerin tabiri ile oruç, vücutta biriken gereksiz maddeleri yakma zamanıdır. Orucun fizyolojik mekanizmasında insan vücudu gün boyunca beslenmediği için enerjisini vücuttaki zehirleri uzaklaştırmaya harcar. İranlı hekim Hasan Muzafferi de orucun bu faydasının çok değerli olduğunu vurguluyor. Gerçekte orucun zehirleri defetme özelliği şöyle ki, oruç esnasında insan vücudundaki organlar kısmi bir sükûnet içinde olur. Bu koşullarda iç organlar daha rahat zehirli maddeleri uzaklaştırmaya başlar (2).

Kandaki lipit ve kolesterol seviyesinin birçok hastalıkta kilit rol oynadığı bilinmektedir. Damar çeperleri, düzensiz ve disiplinsiz beslenme neticesi olarak zaman içerisinde kolesterol parçacıkları ile kaplanarak kan sirkülasyonunun bozulmasına yol açar. Özellikle dokuları besleyen küçük kapiller damarlar işlev yapamaz hale gelir. Dokuların beslenmesi bozularak bir çok hastalık meydana gelir (3). Hücre rejenerasyonu aksar, dokuların kendini onarması imkansız hal alır. Yaşlanma süreci hızlanır ve organ kayıpları meydana gelir Bu bakımdan ramazan aylarında düzenli oruç tutan kişilerde lipit ve kolesterol seviyeleri azalacağı için damarlar kendilerini onarma imkanı bulur. Damar lümenleri temizlenir ve kan dolaşımı rahatlar (4).

Serbest radikaller, dış yörüngesinde eşleşmemiş en az bir elektron içeren moleküllerdir. Özellikleri, kararsız ve tek olan elektronu çiftlemek için diğer moleküller ile tepkimeye girmeye meyilli olmalarıdır. Anyonik, katyonik veya nötral konumda olabilirler (5).

Serbest radikaller, etkilerini protein, lipit, karbohidrat ve DNA oksidasyonu yaparak; hücre zarında, hücre organellerinde ve DNA'larda patolojik değişiklikler meydana getirerek gösterirler. Bunların sonucu olarak fonksiyon bozukluğu veya hücre ölümü olmakta ya da mutant özellikler kazandırarak tümör oluşturabilmektedirler (6).

Organizmada essansiyel maddelerin oksidasyonuna sebep olabilecek moleküllerin etkilerini engelleyen veya geciktirebilen maddelere ise antioksidan denilmektedir. Oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki uyumsuzluk aşırı derecede reaktif oksijen türlerinin yapılmasına ve oksidatif hasara sebep olur. Bu durum oksidatif stres olarak adlandırılır (7,8).

Bu çalışma ile Ramazan ayında oruç tutmuş sağlıklı erkek gönüllülerden alınan kan örneklerindeki trombositler izole edildikten sonra trombositlerinde gözlenen oksidan ve antioksidan düzeylerinin araştırılması hedeflenmektedir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Orucun Kelime Anlamı

“Oruç” Farsça kökenli bir sözcüktür. “Rûze” kelimesinin Türkçeleşmiş halidir. Arapça’da oruç ibadeti “savm” ve “sıyâm” kelimeleriyle ifade edilir. “Savm” sözlükte; kişinin kendisini yeme, içme, yürüme ve konuşma gibi her hangi bir söz, eylem ve davranıştan alıkoyması, bir şeyden uzak durması, susması, bir şeye karşı kendini tutması ve engellemesi manasına gelmektedir.

Dinî bir terim olarak “savm” kelimesi ise müminin ibadet niyetiyle imsak vaktinden iftar vaktine kadar kendisini yeme, içme davranışlarından alıkoyması demektir (9).

### 2.2. Oruç İbadetinin Tarihi Seyri

Oruç, geçmişi insanlık tarihi kadar eski olan kadim bir ibadettir. Yüce Allah bu hususu, “Ey müminler! (Kötülüklerden ve haramlardan) korunmanız için oruç tutmak, sizden öncekilere farz kılındığı-gibi size de farz kılındı” (Bakara, 2/183) anlamındaki ayetle bildirmektedir. Ayette yer alan “sizden öncekiler” ifadesi, ilk insan Hz. Âdem’e kadar bütün insanları kapsar. Dinler tarihi araştırmaları da ilahî veya beşerî bütün dinlerde oruç ibadetinin var olduğunu göstermiştir. Dolayısıyla insanların yeryüzünde var olduğu günden bu yana hiçbir birey ve hiçbir toplum dinsiz olmadığı gibi şekil, zaman, amaç ve içerik olarak farklı olsa da oruç ve benzeri ibadetlerden de mahrum kalmamıştır (9).

### 2.3. Oruç Fizyolojisi

İnsan oğlunun varlığından bu yana insan vücudu, enerji depolamada ve besinsiz kalma gibi durumlarla baş etmede oldukça etkili bir gelişim göstermiştir. Oruç, yüzyıllardır birçok birey için normal bir durum haline gelmiş ve vücut da buna adapte olmuştur. Yapılan hesaplamalara göre en zayıf kişiler bile 40 gün veya daha fazla gün boyunca besinsiz canlı kalabilmektedir. İnsan vücuduna besin alınmadığında işlemeye başlayan özel bir mekanizmaya sahiptir. Oruç aç kalmak değildir; gerçekte vücudun depolanan enerjiyi yakmasıdır. Açlık vücutta yakacak enerji kalmadığında ortaya çıkar ve bu durumda enerji için organlar gibi önemli dokular kullanılmaya başlanır. Terapötik oruçlar bu noktaya gelinmeden çok önce sonlandırılır.

Oruç süresince vücutta farklı fizyolojik değişiklikler oluşur. Orucun ilk günü süresince vücut temel enerji kaynakları olan şeker ve glikojen kaynaklarını kullanır. Bu kaynaklar bitince vücut yağları kullanmaya başlar. Bununla beraber önemli miktarda enerji gerektiren beyin hala glikoza (glikojenden çevrilen şekerler) ihtiyaç duyar. Glikoz temin edebilmek için vücut orucun ikinci günü boyunca kas dokularını kırar. Bu yüzden oruç süresince belli bir miktar kas dokusu kaybı meydana gelir. Vücudun, beyine enerji sağlayabilmesi için günde yaklaşık 500 gram kas dokusu yakması gerekir; fakat vücut önemli kas kütlelerini korumak için farklı enerji yolları oluşturur. Proteinleri ayıran bu sürece keton birikimi adı verilir. Keton birikimi aşaması erkeklerde orucun üçüncü günü ve kadınlarda da ikinci günü meydana gelir. Oldukça etkili olan bu evrede karaciğer depolanan yağı ve diğer gerekli olmayan dokuları beyin, kas ve kalp tarafından enerji olarak kullanılan ketonlara dönüştürür. Orucun bu noktasında açlık hissi genellikle ortadan kaybolur ve birçok kişi bu dönemde normal ve hatta yükselen enerji seviyesi yaşar. Hormon seviyesi ve bazı belirli fonksiyonlar bu aşamada kararlı hale gelir. Çoğu orucun amacı, fazla yağı veya gereksiz ve zarar gören dokuları yakabilmek için vücudun keton aşamasına ulaşmasını sağlamaktır.

Kilo kaybı en hızlı şekilde orucun ilk birkaç günü içerisinde olduğu gözlemlenir. İlk birkaç gün içerisinde günde bir kilo verilebilir. Daha sonraki günlerde gün başına 200 gram kadar kaybedilir. Tüm oruç süresine bakıldığında, günde ortalama 500 gram verilebilir. Yapılan çalışmalar, ayda bir kez oruç tutmanın sağlıklı beslenme için

başlangıç olacağını ve vücudu bir ömür boyu ekstra kaloriden kurtarmaya fayda sağlayacağını gösterir (11).

#### **2.4. Oruç Sonrası İnsan Vücudunda Meydana Gelebilecek Değişimler**

İnsan vücudu alışmış ise, ortalama 60-70 gün kadar açlığa bir hafta kadar da susuzluğa dayanabiliyor. Ramazan ayında kişi gündüz vakti oruç tutacaktır bu bakımından tansiyonunu ilk günlerde hafifçe düşebilir. Dolayısıyla bu durum bünyenin, oruca yani kısmi açlığa olan adapte olma halidir. Yenilen her yemek vücut için bir yorgunluğun başlangıcıdır. Mideyi sanki bir asit fabrikası ve bağırsakları da adeta bir rafineri tarzında yaratan Cenab-ı Hak, 11 ay aralıksız çalışan bu fabrikalara 12 ayın bir ayında, yani Ramazan ayında muvakkat bir dinlenme vermiştir. Karaciğer birgün boyunca çalışmazsa şahıs ölür. Oruç halinde karaciğerin yükü azalacağı vücudu toksit yani zehirli maddelerden temizleme imkanı daha fazla olmaktadır. Vücut, kişi oruçlu iken maddi olarak da temizlenmektedir. Oruç sırasında karaciğerin çalışma yükü azaldığı için ölü ve ölmekte olan hücrelerin uzaklaştırma işi kolaylaşır ve hızlanır. Allah'ın emri olan orucun tutulması ile insan vücudu, yaşlanan hücrelerin temizlenmesi, onların yerine yeni hücrelerin gelmesi ile adeta gençleşmektedir.

" Vücudun zekatı da oruçtur "(İbn-i Mace, Siyam, Hadis no: 1345) hadisini ve Zekatın lügat manasının temizlenme olduğu düşünüldüğünde hikmeti daha iyi anlaşılır (10,12).

#### 2.4.1. Toksinlerden Arınma/Detoks

Ramazan ayında doğrudan oruca biranda başlayanlar ise ilk hafta çok zorlanırlar, çünkü bedenlerinde metabolizmanın normal çalışması neticesinde dışarı çıkma yolunu bulamamış pek çok atık madde vardır.

Bu olay yapılan bir deneyde şöyle açıklanmıştır:

Laboratuar ortamında tavuktan alınan hücreler Ringer solüsyonunda geliştirilmiş ve bu solüsyon her gün değiştirilmiştir. Bu yöntemle hücreler 20 yıldan daha fazla yaşatılmışlar. Hücrelerin ölüm sebebi ise resmi bir tatil süresinde laboratuar kapalı olmasından dolayı solüsyonun değiştirilememesidir. Bu deneyden anlaşılıyor ki içlerindeki metabolitlerle etkin bir şekilde mücadele edildiği zaman hücreler uzun süre canlı kalırlar. Bu deney boyunca hücrelerin içine konduğu Ringer solüsyonu hücrelerden çıkan metabolizma atıkları ile kirleniyordu ama yine de bunların içinde hücre için zorunlu besinler vardı. Bu da gösteriyor ki hücreleri öldüren içlerindeki toksik maddelerdir.

Bu deneyde olduğu gibi vücudumuzun metabolizma atıklarında karaciğer vasıtasıyla işlendikten sonra büyük abdest olarak ve de böbrekler tarafından işlendikten sonra idrarla vücuttan atılır. Buna ilaveten derimizden ter yoluyla, ciğerlerimizden de solunum yolu ile atılır.

Şayet, herhangi bir sebeple karaciğer, böbrekler, deri veya akciğerlerin tembelliginden dolayı bu atıklardan iyi bir şekilde arındırılmazsa bedenimiz bu atıkları kendi içinde depolayacaktır.

Atık maddeler, yediğimiz besinlerdeki metabolizma atıkları ile gerek nefes alarak, gerekse su içerek etkilendiğimiz çevre kirliliğidir.

Oruç tutmadığımız zamanlarda hücrelerimiz vücuda alınan besinleri işlemekle uğraş içerisinde ve bu işlem hücrelerin çok zamanını alır ve içlerinde kalan atıkları temizlemeye fırsat bırakmaz. Ta ki, biz devamlı yemeyi bıraktığımızda hücrelerin bu atıklarla uğraşmaya vakti olacaktır.

#### **2.4.2. Dehidrasyon-Susuzluk**

Ramazan orucu esnasındaki susuzluk vücut için kötü bir durum değildir, tam tersine tüm vücut sıvılarının daha da dengede olmasını sağlar ve vücutta çok az miktarda kuruluk meydana getirir.

Vücudun zaten kendi su tutma mekanizması vardır. Örneğin bitkilerdeki az miktarda susuzluğun ve bünyede su tutmanın en azından onların daha uzun ömürlü olmasını sağladığı görülmüştür (13).

#### **2.5. Oruç Tutmanın Tıbbi Açıdan Faydaları**

Dünyanın saygın bilim dergilerinden American Journal of Clinical Nutrition dergisinde 1993 yılında yayımlanan bir çalışma, Ramazan ayında HDL-kolesterol (iyi kolesterol) düzeylerinin önemli ölçüde (%30) arttığını ortaya koymuştur.

Adlouni ve ark. (14) Ramazan orucu ile ilgili yaptıkları çalışmada, Ramazan öncesi döneme göre Ramazan orucu sırasında, serum total kolesterol seviyelerinin ortalama %7.9 civarında azaldığını bulmuşlardır. Aynı şekilde, trigliserit seviyelerinin % 30 azaldığı; serum HDL kolesterolün % 14.3 arttığı ve LDL kolesterolün (kötü kolesterol) % 11.7 azaldığı tespit etmişlerdir. Sonuç olarak, Ramazan orucu esnasındaki beslenme davranışının, plazma lipit ve lipoproteinlerini olumlu yönde etkilediğini bulmuşlardır.

Adlouni ve ark.,(15) başka bir çalışmada ise Ramazan orucunun serum apo B seviyelerini azaltırken, serum apo AI (apolipoprotein AI) seviyelerini artırdığını bulmuşlardır. Elde edilen bulgulara göre, Ramazan orucu'nun serum apolipoprotein metabolizmasını olumlu bir biçimde etkilediği ve bunun kalp-damar hastalıklarını önlemeye katkıda bulunabileceği sonucuna varılmıştır.

Maislos ve ark.(16) çalışmalarında ise Ramazan ayında HDL kolesterol seviyelerinin önemli ölçüde (%23) arttığı gözlenmiş ve oruç tutmanın plazma HDL kolesterol seviyelerini artırmak için ilaçsız ve çok etkili bir yöntem olduğunu tespit etmişlerdir.

Ülkemizde de Benli Aksungar ve ark.,(17,18) tarafından yapılan iki farklı çalışma sonucunda, Ramazan Orucu'nun HDL düzeylerini arttırdığını; D-Dimer, IL-6, CRP ve homosistein seviyelerini ise düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Bundan yola çıkarakta, Ramazan orucunun vücudun inflamatuvar durumu ve kardiyovasküler risk faktörleri açısından olumlu etkileri olduğunu bildirmişlerdir.

Lamri-Senhadji ve ark.,(19) tarafından 2009 yılında yaptıkları çalışmada Ramazan Orucun'un LDL-kolesterolünü azaltıp, HDL-kolesterolünü arttırdığını belirlemişlerdir.

## **2.6. Oksidan ve Antioksidan Denge**

### **2.6.1. Oksidan Sistem**

#### **2.6.1.1. Serbest Radikaller**

Serbest radikal bir veya daha fazla çiftlenmemiş elektronlara sahip moleküllere verilen isimdir. Moleküllerin sağ üst köşesine konulan nokta sayısı çiftleşmemiş elektron sayısını belirtir (20). Serbest radikallerden en fazla karşılaşılanlar, moleküler oksijende meydana gelen değişimler sonucu oluşanlardır ve bunlara 'serbest oksijen radikalleri (reaktif oksijen radikalleri)' ismi verilir. Sonrasında kullanılmaya başlanan 'reaktif oksijen partikülleri' terimi radikal olmayan oksidanları da kapsamaktadır (21). Oksijen 8 atom numaralı olan ve doğada dioksijen ( $O_2$ ) olarak bulunan kararsız bir elementtir (22). Oksijen molekülündeki aynı yöne dönen iki elektrona sahip 2P son orbitali önemlidir. Bu orbitallerden herhangi birindeki elektron, bir orbitali bırakıp diğerine geçtiğinde veya farklı yönde döndüğünde "singlet oksijen" meydana gelir. Orbitalerden birine ters dönüşlü iki elektron veya ikisine ters dönüşlü iki elektron daha eklenirse "oksijen radikali" oluşur (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Oksijen Türevi Bileşikler.

Radikaller		Radikal olmayanlar	
Hidroksil	(OH)	Hidrojen peroksit	(H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )
Alkoksil	(RO)	Singlet Oksijen	( O <sub>2</sub> <sup>↓↑</sup> )
Peroksil	(ROO)	Ozon	(O <sub>3</sub> )
Superoksit	(O <sub>2</sub> )	Hipoklorid	(HOCl)
Nitrik Oksit	(NO)	Lipid hidroperoksit	(LOOH)
Azot Dioksit	(NO <sub>2</sub> )	Peroksinitrit	(ONOO)

Oluşan radikal, eşleşmemiş elektronu sebebiyle çok kararsız bir yapıya sahiptir ve tek elektronunu bir başka moleküle aktarabilir (redüksiyon), ya da bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilir (oksidasyon). Sonuç olarak nonradikal yapıyı radikal forma dönüştürebilirler (22,23). Oluşan radikaller çok reaktif ve anstabil dirler. Diğer moleküllere elektron verebildiklerinden ya da onlardan elektron alabildiklerinden dolayı vücutta indirgeyici veya yükseltgeyici bir davranış sergilerler (24,25).

Serbest radikaller organizmada normal metabolizma sonucu ortaya çıkabileceği gibi; ısı, ışık ve radyasyon gibi çeşitli dış kaynakların tesiri ile de ortaya çıkabilmektedir (26). Serbest radikaller tüm canlı hücrelerde fizyolojik miktarlarda üretilirler. Aşırı üretildiklerinde ise hücre ve doku hasarına sebep olurlar. Serbest radikallerin bu tesirleri antioksidan adı verilen enzim ve moleküller tarafından ortadan kaldırılır. Bütün organizmalarda serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizmaları arasında hassas bir denge vardır. Oksidatif stres; serbest oksijen radikallerinin üretimi ile bunların antioksidanlar tarafından yok edilmesi arasındaki dengesizlikten kaynaklanmaktadır.

Serbest radikal reaksiyonları lipid, protein ve polisakkaritlerin oksidasyonuna ve DNA hasarına sebep olarak çeşitli hasarlara yol açarlar (27). Hücre ve dokularda oluşan serbest radikallerin en mühimi, oksijen radikalleridir. Serbest oksijen radikalleri hücre metabolizmasında oksijen içeren pek çok biyokimyasal indirgenme reaksiyonları neticesinde meydana gelmektedir (28,29). Bu kimyasal reaksiyonlar sırasında oksijen, elektron transport zincirinde suya kadar indirgenirken her basamakta serbest oksijen radikalleri ortaya çıkmaktadır.

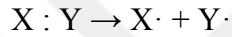
En önemli serbest oksijen radikalleri şunlardır (29).

- 1)  $O_2^{\cdot}$  (Süperoksit radikali)
- 2)  $H_2O_2$  (Hidrojen peroksit)
- 3)  $OH^{\cdot}$  (Hidroksil radikali)
- 4)  $O_2\downarrow\uparrow$  (Singlet oksijen)

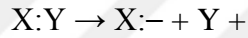
Serbest radikaller hücrede metabolik dengenin bir parçası olarak sürekli yapılırlar (30).

Serbest radikaller 3 yolla oluşurlar (31,32).

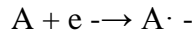
1. Kovalent bağlı normal bir molekülün, her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi.



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi. Heterolitik bölünmede kovalent bağı meydana getiren her iki elektron atomların birinde kalır. Böylece serbest radikaller değil, iyonları oluşur.



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun ilave edilmesi



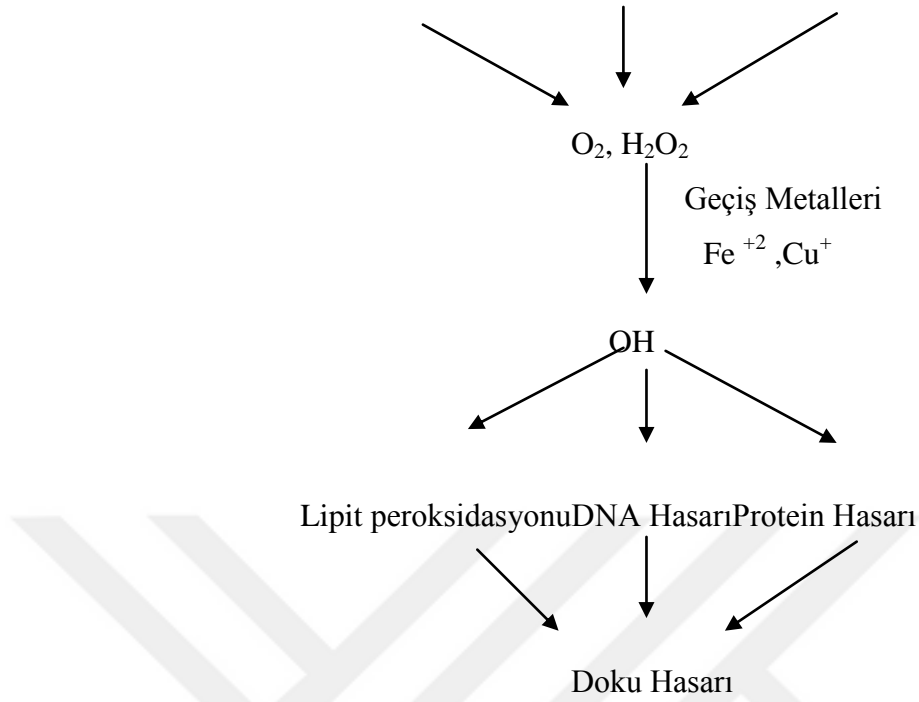
Organizmada oksidatif strese sebep olan radikal yapımı endojen ve çevresel faktörlere sahip çeşitli mekanizmalarla gerçekleşir (Şekil 2.1) (33).

Endojen faktörler mitokondriyal sızıntı, solunumsal patlama, enzim reaksiyonları, otooksidasyon tepkimeleridir. Çevresel faktörlerin başlıcaları ise sigara dumanı, hava kirliliği, ultraviyole ışınları, iyonize radyasyon ve ksenobiotiklerdir (33).

Örneğin bir nefes sigara dumanında takriben  $10^{14-16}$  serbest radikal mevcuttur, aşırı egzersiz ile mitokondri oksijeninin neredeyse %2-5'i serbest radikal yapımında kullanılır (30,34,35).



## Çevresel Faktörler Serbest Radikal Yapımı Endojen Faktörler



Şekil 2.1. Vücuttaki önemli serbest radikaller ve serbest radikal hasarı sonuçları

Serbest radikallerin aerobik hücrelerde en mühim tepkimeleri moleküler oksijen ve onun reaktif türleri (süperoksit anyonu ve hidroksil radikali), peroksitler ve geçiş metallerinin olduğu tepkimelerdir (36).

### 2.6.1.2. Reaktif oksijen türleri

Normal şartlarda oksijen kararlı, kokusuz, tatsız, renksiz, sudaki çözünürlüğü sınırlı bir gazdır. İnsan hayatı için hem gerekli hem de toksik olan bir moleküldür. Oksijenin iki eşleşmemiş elektronlarının ayrı orbitallerde aynı yönde dönmesi neticesinde oluşan oksijen bir radikaldir (37).

Moleküler oksijen elektron transferiyle suya kadar indirgenir. Bu yol 4 elektron gerektirir ve bu yolda reaktif ara moleküller meydana gelir ki bunlar süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksi radikalleridir. Bunlar önemli oksidatif stres ajanları olup reaktif oksijen türleri (ROS) olarak isimlendirilir. (Tablo 2.2) (38,39):

Tablo 2.2 Oksijenin indirgenmesi

$O_2 + e + H^+ \rightarrow HO_2^{\cdot}$	Hidroperoksil radikali
$HO_2^{\cdot} \rightarrow H^+ + O_2^{\cdot}$	Süperoksit radikali
$O_2^{\cdot} + 2H^+ + e \rightarrow H_2O_2$	Hidrojen peroksit
$H_2O_2 + e \rightarrow OH^- + \cdot OH$	Hidroksil radikali
$\cdot OH + e + H^+ \rightarrow H_2O$	

### 2.6.1.2.1. Süperoksit Radikali ( $O_2^{\cdot}$ )

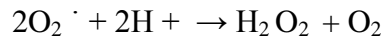
Oksijenli ortamda yaşam, oksidatif fosforilasyon ile ATP üretimi bakımından önemli ölçüde fayda sağlarken bazı tehlikeleri de beraberinde getirir. Oksidatif fosforilasyonun ana bileşeni olan oksijene bir elektron ilavesi ile süperoksit radikali oluşur (40).

Süperoksit radikali serbest radikal olmasına karşın reaktivliği düşüktür. Kendiliğinden, özellikle elektronca zengin bir ortam olan iç mitokondri zarında solunum zinciriyle birlikte meydana gelir. Süperoksit ayrıca iskemi-reperfüsyonda aktive olan ksantin oksidaz gibi flavo enzimlerce endojen olarak da oluşturulur. Lipooksijenaz ve siklooksijenaz ise diğer süperoksit meydana getiren enzimlerdir (41,42,43).

Süperoksit ayrıca yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar gibi fiziksel ve kimyasal ajanlar ile, bazı bileşikler notooksidasyonunda ve fagositozda oluşur (44).

Süperoksit kimyası çözelti ortamına bağlı olarak bazı değişiklikler gösterir. Süperoksit sulu çözeltide askorbik asit, tiyol gibi molekülleri oksitleyebilen zayıf bir oksitleyici ajandır. Bununla birlikte süperoksit güçlü bir indirgeyici ajan olup sitokrom c ve ferrik-EDTA gibi çeşitli demir komplekslerini indirgeyebilir (45).

Süperoksit, hidrojen peroksit ve moleküler oksijenin oluştuğu dismutasyon tepkimesinden dolayı sulu ortamda hızlıca kaybolur. Bunun yanında SOD enzimiyle katalizlenen dismutasyon tepkimesi ise spontan dismutasyondan  $10^9$  kat daha hızlıdır (46).



#### 2.6.1.2.2 . Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Hidrojen peroksit serbest radikal olmamasına karşın biyolojik zarlara nüfuz edebilmesi ve daha reaktif oksijen türlerinin yapımı sırasında aldığı rolden dolayı önemlidir. Bir diğer önemli görevi ise hücre içi sinyal molekülü olarak görev yapmasıdır (39).

Hidrojen peroksit süperoksit radikalının dismutasyon tepkimesi neticesinde oluşur. Üratoksidaz, glukozoksidaz, d-aminoasit oksidaz gibi bir çok enzim oksijene iki elektron transfer ederek doğrudan hidrojen peroksit oluşturabilirler (31).

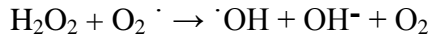
Hidrojen peroksitin redoks özelliği ve geçiş metalleri varlığında yüksek reaktif serbest radikalleri oluşturmasına rağmen vücut, savunma sistemi geliştirmiştir. İstenmeyen hidrojen peroksit katalaz, glutatyon peroksidaz ve diğer oksidazlar ile hücreden uzaklaştırılır (45).

#### 2.6.1.2.3. Hidroksil radikali (·OH)

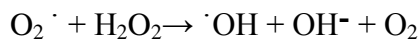
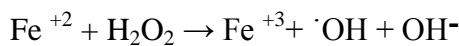
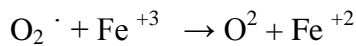
Hidroksil radikalının major oluşumu suyun yüksek enerji ile iyonizasyonudur.



Hidrojen peroksit ise süperoksit ile reaksiyon girerek en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali meydana getirmek üzere kolaylıkla yıkılabilir.



Bu tepkimeye Haber-Weiss tepkimesi denir ve tepkime katalizörsüz ortamda epeyce yavaşken, demirin katalizörlüğünde çok hızlıdır.



Katalizörlü tepkimede demir önce ferrik formdan ( $\text{Fe}^{+3}$ ) süperoksit ile ferröz forma ( $\text{Fe}^{+2}$ ) indirgenir. Ferröz form Fenton tepkimesi ile ferrik forma tekrar yükseltgenirken  $\cdot\text{OH}$  ve  $\text{OH}^-$  üretilir (37,45).

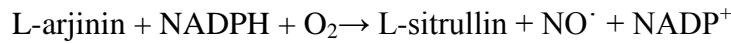
#### 2.6.1.2.4. Singlet Oksijen ( $^1\text{O}_2$ )

Single toksijen eşleşmemiş elektron içermediğinden serbest radikal değildir. Bununla beraber dönme yönlerinin farklılığından dolayı oksijenin yüksek reaktif formudur (45).

Moleküler oksijende paylaşılmamış iki dış elektron aynı yönde, farklı yörüngelerdedir. Singlet oksijende ise elektron dönme yönleri birbirine zıttır ve oluşturdukları delta veya sigma formuna göre aynı veya farklı yörüngelerde bulunurlar. Aynı yörüngede ise delta singlet oksijen, farklı yörüngelerde iseler sigma singlet oksijen formu oluşur. Sigma formu delta formuna göre daha enerjetik olup basitçe delta formuna dönüşebilir (47,48).

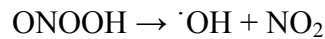
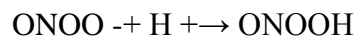
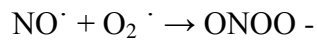
#### 2.6.1.2.5. Nitrik Oksit (NO)

$\text{NO}^\cdot$  enzimatik olarak nitrik oksit sentaz enzimi tarafından L-arjinin'den sentezlenir.



$\text{NO}^\cdot$  eşleşmemiş elektron bulundurmasına karşın birçok biyomolekül ile kolayca tepkimeye giremez, diğer taraftan peroksil, alkil gibi diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek daha az reaktif moleküller meydana getirirler (39).

Yüksek miktarlarda  $\text{O}_2^\cdot$  yapımı  $\text{NO}^\cdot$  ile paraleldir ve birbirlerini etkileyerek  $\cdot\text{OH}$  ve  $\cdot\text{NO}_2$  oluşumuna sebep olurlar. Tepkime sırasında ise peroksi nitrit ( $\text{ONOO}^-$ ) ve peroksi nitroz asit ( $\text{ONOOH}$ ) ara ürünleri oluşur (39).



### **2.6.1.3. Serbest Radikallerin Etkileri**

#### **2.6.1.3.1. DNA ve Nükleik Asitlere Etkileri**

İyonize edici radyasyona maruz kalınması ile oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona sebep olurlar. Sitotoksik etki, büyük oranda nükleik asit baz modifikasyonlarının neden olduğu kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer değişikliklere bağlıdır. Hidroksil radikalide oksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girmektedir. Hidrojen peroksit zarlardan kolayca geçip hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücrede fonksiyon bozukluğuna ve hatta hücre ölümüne sebep olmaktadır. (49,50).

#### **2.6.1.3.2. Proteinlere Etkileri**

Proteinler, radikallerin etkilerine lipitlere oranla daha az hassastır ve amino asit dizilişlerine bağlı olarak etkilenirler. Özellikle doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle etkileşimi fazladır. Bu sebeple triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi aminoasitleri kapsayan proteinler serbest radikallerden daha kolay etkilenirler. İmmungulobin G ve albumin gibi disülfid bağı fazla olan proteinlerin ise üç boyutlu yapıları bozular (37,45,49).

#### **2.6.1.3.3. Karbohidratlara Etkileri**

Monosokkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksit ve okzoaldehitler ortaya çıkar. Açığa çıkan okzoaldehitler proteinlere bağlanabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki göstererek etki eder ve böylece kanser ve yaşlanmaya sebep olabilirler (49).

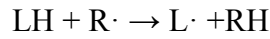
Serbest oksijen radikalleri bağ dokunun önemli bir bileşeni olan hiyalüronik asit gibi karbohidratların parçalanmalarına da yol açabilirler (40).

#### 2.6.1.3.4. Lipitlere Etkileri

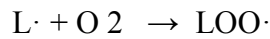
Serbest radikallerin biyolojik dokulardaki doymamış yağ asitlerine etkileri lipit peroksidasyonu olarak bilinmektedir. Biyolojik zarların yapısı lipit ve proteinden meydana gelmektedir, lipit peroksidasyonu lipitlere olduğu kadar zar proteinlerine de zarar verir (47).

Lipit peroksidasyonu, çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) reaktif oksijen türleri tarafından peroksitler, alkoller, malondialdehit, etan ve pentan gibi ürünlere yıkılma tepkimelerine denilmektedir. Yağ asitlerinin peroksidasyonu sonrasında açığa çıkan ürünler zar geçirgenliğini ve akışkanlığını ciddi şekilde etkileyip hücre ve organel içeriklerinin ayrılmasına neden olmaktadır ve kırılmalara yol açar. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen zar hasarı geri dönüşümsüzdür (40,45).

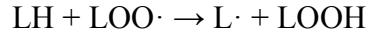
Zincir reaksiyonu şeklinde olan lipit peroksidasyonu, organizmada oluşan radikal etkisiyle çoklu doymamış yağ asitleri üzerindeki metilen grubundan bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlar. Bu reaksiyon başlangıç reaksiyonu olarak isimlendirilir. Hidrojen atomu uzaklaşması ile karbon atomu üzerinde eşleşmemiş elektron kalır ve bunun sonucu yağ asidi zinciri bir lipit radikali(L·) niteliği kazanır.



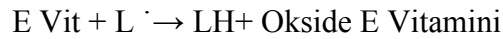
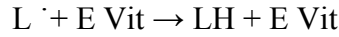
Oluşan lipit radikalının molekül içi çift bağlarını pozisyonunun değişmesiyle konjuge dienler oluşur. Bir alkenin iki çift bağı arasında bir tane tekli bağ varsa bu yapı konjuge dien olarak isimlendirilir. Bu şekilde moleküler düzenleme sağlanmış olur. Lipit radikalının moleküler oksijen ile etkileşmesi sonucu lipit peroksil radikali (LOO·) oluşur.



Peroksil radikali diğer komşu yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşmasına neden olurken kendisinde açığa çıkan hidrojen atomunu alarak lipit hidroperoksitlerine (LOOH) dönüşür. Böylece peroksidasyon başladıktan sonra kendi kendine yayılabilmekte ve çok sayıda yağ asidi zinciri lipit hidroperoksitlerine dönüşebilmektedir. Bu tepkime ilerleme reaksiyonu olarak isimlendirilir (40,45,50,51,52).



Oldukça kararlı olan lipit hidroperoksitleri lipit peroksidasyonunun ilk ürünüdür. Lipit peroksidasyonunun sürekli olarak devam ettiği durumlarda E vitamini gibi zincirleme tepkimeyi sonlandırıcı bir antioksidan ile lipit peroksidasyonu sonlanabilir (53).

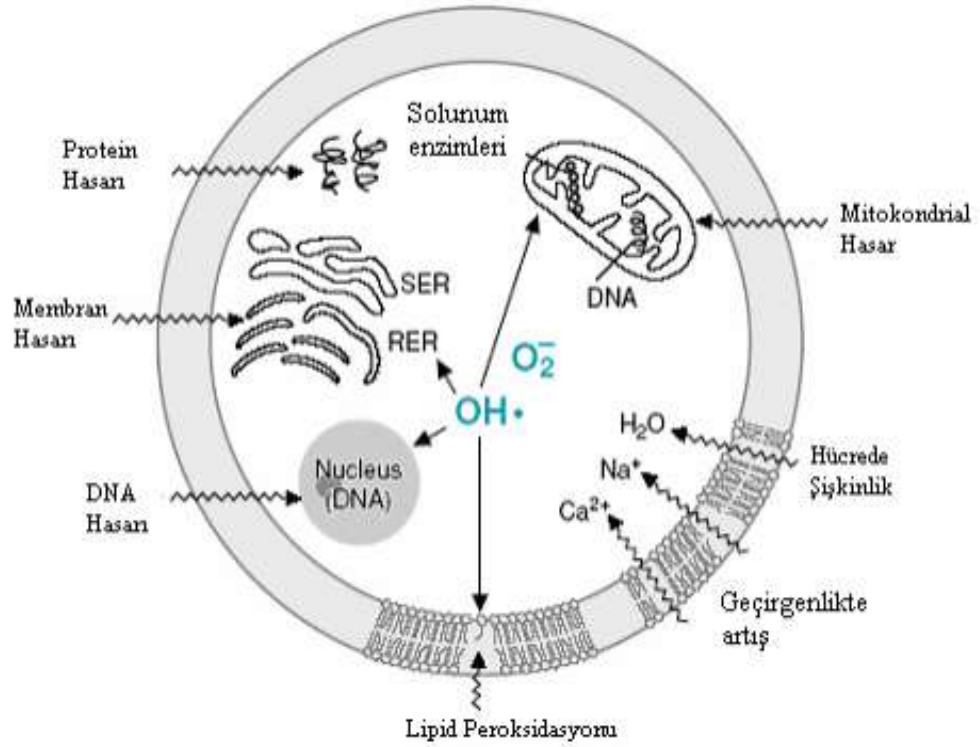


Geçiş metalleri varlığında lipit hidro peroksitleri bu metallerin redoks döngüsüyle birlikte lipit peroksidasyonunu başlatabilecek radikallerin oluşumuna neden olabilirler. Lipitlerden araşidonik asit metabolizması sonucu serbest radikal üretimine “enzimatik lipit peroksidasyonu”, diğer radikallerin sebep olduğu lipit peroksidasyonuna ise “non-enzimatik lipit peroksidasyonu” denir (37).

Lipit peroksidasyonunun son bileşeni olan malondialdehit (MDA) peroksidasyona uğramış çoklu doymamış yağ asitlerinin bölünmesiyle oluşan üç karbonlu bir dialdehidtir ve oksidatif durumun göstergesi olarak yaygın kullanılır. Bu dialdehid biyolojik ortamda makromoleküllerin NH<sub>2</sub> ve SH gruplarına bağlı veya serbest olarak bulunur. Oluşan MDA; deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi zar özelliklerinin değişmesine yol açar (40,54).

## 2.7. Antioksidan Sistem

Organizma içindeki radikaller, geri dönüşümsüz hücre hasarına yol açan birçok tepkimeye neden olurlar (Şekil 2.2). Süperoksit ve hidroksil radikalleri hücresel, mitokondrial, nükleer ve endoplazmik zarlarda lipit peroksidasyonunu başlatırlar. Geçirgenlikteki artış mitokondrial hasara neden olan Ca<sup>+2</sup>’un hücreye akın etmesine neden olur (55).



Şekil 2.2. Radikallerin yol açtığı hücre hasarı.

Hücre ve organ sistemlerini reaktif oksijen türlerine karşı koruyabilmek için organizma karmaşık bir sistem geliştirmiştir. Bu sistem endojen ve eksojen orjinli, etkileşimli ve birlikte çalışan çeşitli bileşenler içerir (56).

Antioksidan sistem hasar öncesi radikal oluşumunu önler, oksidatif hasarı onarır, hasara uğramış molekülleri temizler ve mutasyonları önler. Nötralize olması gereken çeşitli reaktif ara ürünleri ve indirgenmesi gereken okside biyomolekülleri etkileyen hem lipofilik hem hidrofilik fazda pek çok antioksidan Tablo 2.3’de özetlenmiştir (57).



Tablo 2.3 Hidrofilik ve lipofilik fazda bazı antioksidanlar

Antioksidan	Faz	Etki
Süperoksit Dismutaz(SOD)	Hidrofilik	$O_2^{\cdot -}$ 'nin $H_2O_2$ ve $O_2$ 'e dismutasyonu
Katalaz(CAT)	Hidrofilik	$H_2O_2$ 'nin $H_2O$ ve $O_2$ 'e dismutasyonu
Glutasyon peroksidaz(GSH-Px)	Hidrofilik veya Lipofilik	R-OOH'nin R-OH indirgenmesi
Glutasyon redüktaz (GSH-Rd)	Hidrofilik	Okside glutasyonun indirgenmesi
Glutasyon S Transferaz (GST)	Hidrofilik	R-OOH'nin GSH ile konjugasyonu
Metallotieninler	Hidrofilik	Geçiş metalleriyle nötralizasyon
Tiyoredoksinler	Hidrofilik	R-S-S-R'nin R-SH'a indirgenmesi
Glutasyon	Hidrofilik	R-S-S-R'nin R-SH'a indirgenmesi Serbest radikal temizleyicisi GSH-Px ve GST'nin kofaktörü
Ubikinon	Lipofilik	Serbest radikal temizleyicisi Lipid peroksidasyonunda korun
Askorbik asit	Hidrofilik	Serbest radikal temizleyicisi Tokoferol kazanımı Enzimlerin redükte formda korunması
Karotenler	Lipofilik	Serbest radikal temizleyicisi $O_2^{\cdot -}$ baskılayıcı
Tokoferol	Lipofilik	Selenyum absorpsiyonunu artırır Serbest radikal temizleyicisi Lipid peroksidasyonunda korun
Selenyum	Amfifilik	Tiyoredoksin, GSH-Px yapıtaşı

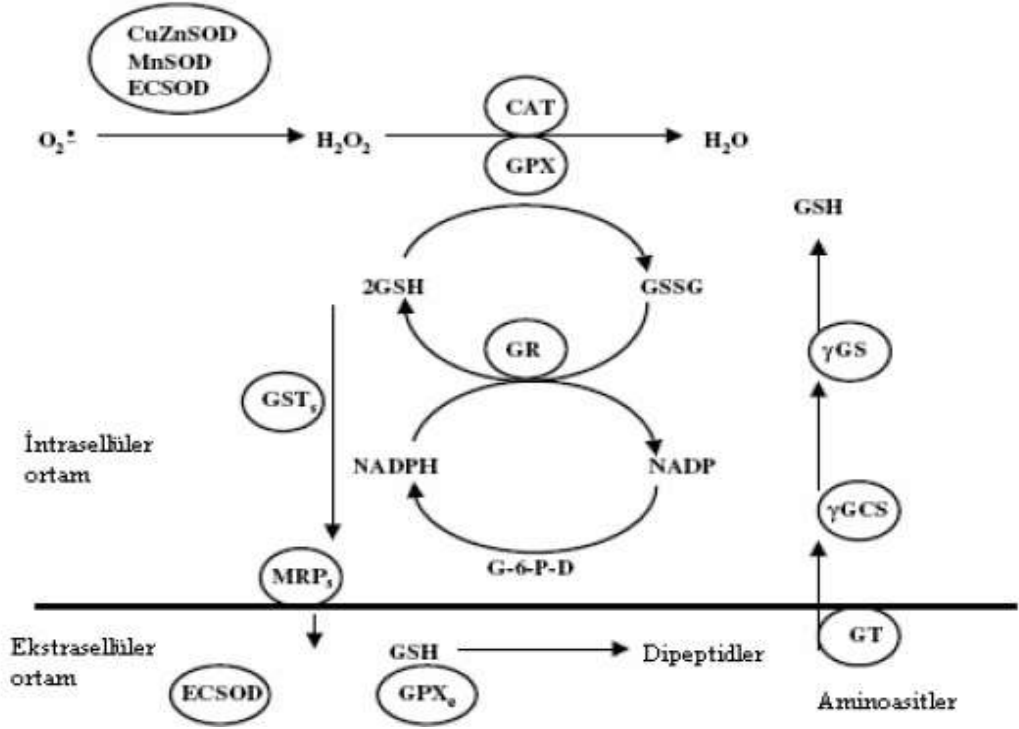
Antioksidanları hücre içi, hücre dışı ve zar antioksidanları olarak sınıflandırabiliriz. Bunlara örnek vermek gerekirse;

Hücre içi antioksidanlar için süperoksit dismutazları, katalazı, glutasyon peroksidazı, glutasyon S transferazı, glutasyon redüktazı,

Zar antioksidanları için E vitaminini,  $\beta$  karoteni, koenzim Q'yu,

Hücre dışı antioksidanlar da ise transferini, laktoferrini, haptoglobini, hemopeksini, albumini, seruloplasmini, ekstrasellüler süperoksit dismutazı, ekstrasellüler glutatyon peroksidazı, bilirubini, askorbik asiti sayabiliriz (45).

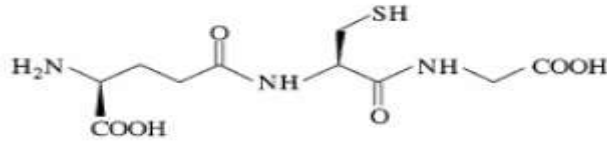
Reaktif oksijen türlerine karşı primer savunma enzimatik ve enzimatik olmayan intrasellüler antioksidanlarca yapılır (Şekil 2.3 ) (58).



Şekil 2.3. İnsan dokularındaki major antioksidan enzimler ve bağlı yollar. CuZnSOD (bakır-çinko SOD), MnSOD (manganez SOD), ECSOD (ekstrasellüler SOD), CAT (katalaz), GSH-Px (glutatyon peroksidaz), GSH-Rd (glutatyon redüktaz), GSH (redükte glutatyon), GSSG (okside glutatyon), GST (glutatyon S transferaz), MRP (Multidrug resistans protein), G6PD (glukoz-6-fosfat dehidrogenaz), cGS (gama glutamil transpeptidaz), cGCS (gama glutamil sisteinil sentetaz), glutamat sistein ligaz, GS (glutatyon sentaz), GPX<sub>e</sub> (ekstrasellüler glutatyon peroksidaz) (59).

### 2.7.1. Redükte Glutatyon (GSH)

Tripeptid yapıdaki GSH (L- $\gamma$ - glutamil-L-sisteinil-glisin) oksidatif ve elektrofilik stres ve radyasyona karşı hücrelerin korunmasında önemli rol oynar (Şekil 2.4). GSH sitozolik GSH redoks döngüsünde substrat olarak rol alırken, ROS'a karşı direkt olarak da savunma yapabilir (60).



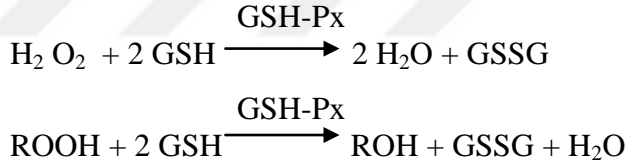
Şekil 2.4. Redükte Glutatyon (GSH).

Hücrede milimolar derişimde bulunan GSH primer olarak redükte formda(GSH) bulunur ancak okside formda disülfüd dimeri (GSSG) olarakta bulunabilir (61,62).

GSH'ın hücresel seviyesi  $\gamma$ -glutamil transpeptidaz, aminoasit transporterları, glutatyon sentetaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktazı içeren çoklu bir enzim sistemi tarafından korunur (63).

### 2.7.2. Glutatyon Peroksidaz Enzimi (GSH-Px)(EC 1.11.1.9)

Glutatyon Peroksidaz organik hidroperoksitlerin (lipit hidroperoksitler, DNA hidroperoksitler) veya hidrojen peroksitin GSH tarafından indirgenmesi tepkimesini katalizler. 1957'de Mills tarafından keşfedilmiştir (60).



Glutatyon Peroksidaz enzimi iki gruba ayrılabilir: selenyum bağı ve selenyum bağı olmayan. Selenyum bağı grupta hidrojen peroksit ve diğ er organik peroksitleri indirgeyen beş üye vardır, selenyum bağımsız Glutatyon Peroksidaz ise hidrojenperoksit ile ihmal edilebilir bir aktifliğ e sahip olup sadece organik hidroperoksitleri redükler (63).

Selenyum bağımlı üyelerden, GSH-Px 1 veya hücresel GSH-Px bütün hücrelerde eksprese edilen, tetramerik yapıda, sitozolik bir enzimdir. Eritrosit, böbrek ve karaciğ erde yüksek miktarda bulunur. GSH-Px 2 veya gastrointestinal GSH-Px insanlarda karaciğ er ve gastrointestinal kanalda eksprese edilir; böbrek, kalp, akciğ er, plasenta ve uterusunda bulunmaz. GSH-Px 3 veya plazma GSH-Px plazmanın lipit kısmından izole edilmiş bir glikoproteindir, akciğ er, plazma ve diğ er ekstrasellüler sıvılarda bulunur. GSH-Px 4 veya fosfolipit GSH-Px sitozolde, mitokondri ve hücre

zarında bulunur. GSH-Px 5 veya epididimal GSH-Px selenyum bağılı değildir ve yalnız epididimiste eksprese edilir. GSH-Px 6 hücrel GSH-Px ile homoloji gösterir, burun epiteli ve embriyolarda eksprese edilir (60,64,65).

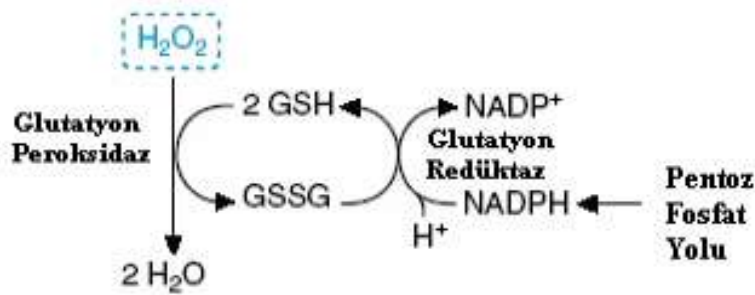
### 2.7.3. Glutasyon Redüktaz Enzimi (GSH-Rd)(EC 1.6.4.2)

Okside glutasyon (GSSG) NADPH bağılı flavo enzim olan Glutasyon Redüktaz tarafından redükte formuna (GSH) indirgenir (33,39,60) .



Glutasyon redüktazın kalıtımı otozomal dominanttır, 8. kromozom üzerindedir. Glutasyon peroksidaz ile benzer doku dağılımı gösterir.

Glutasyon redüktaz flavin adenin dinükleotid (FAD) içerir, NADPH'tan bir elektronun GSSG'nin disülfid bağlarına aktarılmasını katalizler. Bu nedenle NADPH serbest radikal hasarına karşı gereklidir ve major kaynağı pentoz fosfat yoludur (Şekil 2.5) (50).



Şekil 2.5 Glutasyon redoks döngüsü

### 2.7.4. Glutasyon-S-Transferaz Enzimi (GST)(EC 2.5.1.18)

GST memeli türlerinde elektrofilik bileşenlerin GSH ile konjugasyonunu katalizleyen izoenzimlerin oluşturduğu çoklu bir gen ailesinden oluşur; alfa,mu, teta, pi,zeta, sigma, kappa ve omega olarak gösterilen 8 esas sınıfı ile düzenlenmiştir.

Alfa kromozom 6'da, mu kromozom 1'de, teta kromozom 22'de, pi kromozom 11'de, zeta kromozom 14'de, sigma kromozom 4'de, kappa ve omega kromozom 10'da kodlanır (50,66).

GST karsinojenleri, çevresel etmenleri, ilaç ve geniş spektrumlu kasenobiotikleri metabolize eder. Mikrozomal GST belirlendiyse de GST aktivitesi esasen sitozoliktir (60).

GST iki subüniteden oluşmuş dimerik bir proteindir. Bu subünitelerden her biri glutasyon bağlanma bölgesi (G bölgesi) ve buna komşu elektrofilik substrata bağlanan nispeten hidrofobik olan bölge içerir. Bunun yanında çeşitli izoenzimlerde transport veya düzenleyici fonksiyonu olduğu düşünülen substrat bağlanmayan bölge de belirlenmiştir.

GST, hidroksialkenler, lipit peroksidasyonunun ürünlerinden propenaller ve DNA hidroperoksitleri gibi endojen zararlı bileşiklerin detoksifikasyonunu sağlayabildiği için oksidatif strese karşı savunmaya katılır, bunun yanında epoksidler ve kinonlar gibi maddelerin biotransformasyonunda elektrofilik ksenobiotikler veya reaktif ara ürünler oluşabilir (50,63).

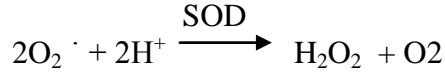
GST enziminin teta ve alfa sınıfları selenyum bağlı olmayan Glutasyon peroksidaz aktivitesi gösterirler, GST pi formu lipit hidroperoksitleri ve hidroksialkenler, malondialdehitler ve propenalleri inaktive eder. GST pi ayrıca hassasSH- grubuyla ROS ile direkt reaksiyona girerek disülfüd yapımının inaktif olmasına neden olur (63).

#### **2.7.5. Süperoksit Dismutaz Enzimi (SOD)(EC 1.15.1.1)**

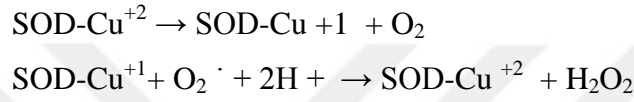
Reaktif oksijen türlerine karşı primer antioksidan enzim Süperoksit Dismutaz'dır. Formları arasında aminoasit dizilimi, aktif metal bölgesi ve hücrel dağılım farkı vardır. Prokaryotlarda Fe ve Mn-SOD bulunurken, ökaryotlarda Mn, Cu, Zn ve ekstrasellüler SOD (EC-SOD) bulunur (67).

Mn-SOD homotetramer yapıdadır, her subünitesinde bir Mn iyonu bulunur, ve 88 kDa ağırlığındadır. Hücrel Mn-SOD içeriği kalp, beyin, karaciğer, böbrek gibi yüksek metabolik aktivitesi olan dokularda daha fazladır. Cu, Zn-SOD 32 kDa ağırlığında olup memelilerde en çok karaciğer, böbrek eritrosit ve santral sinir sisteminde bulunur. İki protein subünitesi içerir her subünitede Cu ve Zn atomları bulunur. EC-SOD ise en çok vaskülatür, akciğer, uterus ve tiroid bezlerinde bulunur (59,68).

SOD, süperoksit molekülünün hidrojen peroksite ve moleküler oksijene tepkimesini katalizler (33,37,39).



Tepkimede süperoksit anyonu  $\text{Cu}^{+2}$  ve bir arjinin rezidüsünün guanido grubuna bağlanır. Bu şekilde süperoksitten bir elektron  $\text{Cu}^{+2}$  'a transfer olurken  $\text{Cu}^{+1}$  ve moleküler oksijen oluşur. İkinci süperoksit anyonu  $\text{Cu}^{+1}$  'dan bir elektron, bağlanma ortağından ise iki elektron alarak hidrojen peroksiti oluşturur (37,59).

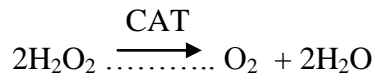


#### 2.7.6. Katalaz Enzimi (CAT)(EC 1.11.1.6)

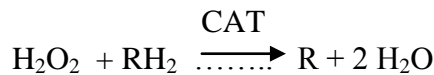
Katalaz çoğu organizmada bulunan ve hem içeren homotetramerik bir enzimdir. Peroksizomlarda yüksek derişimlerde bulunur (69,70).

Katalaz yapı ve işlevlerine göre bifonksiyoneldir. Tüm prokaryot ve ökaryotlarda bulunur. Her subünite bir hem grubu ve NADPH molekülü içerir. Birçok katalazda NADPH molekülü yüzeye yakın ve sıkıca bağlıdır. Bu kofaktör peroksite oksijene dönüşümünde katalazın inaktivasyonunu koruduğu ve etkisini arttırdığı gözlenmiştir (70).

Katalaz hidrojen peroksite su ve moleküler oksijene dismutasyonunu katalizler.



Katalaz ayrıca fenol, alkol gibi farklı substratların, hidrojen peroksite çift redüksiyonu ile detoksifikasyonunu sağlar.



Glukoz-6-fosfat eksikliklerinde NADPH'nin olgun eritrositlerdeki düşükliğünün katalazda inhibisyona neden olduğu ve hemolizin GSH-Rd/GSH-Px'den çok katalazdan kaynaklandığı düşünülmektedir (39).

### **2.7.7. Tiyoredoksin Sistem**

Tiyoredoksin sistem oksidoredüktaz enzim aktivitesi gösteren tiyoredoksin (Trx) ile tiyoredoksin redüktazı (TrxR) içeren iki antioksidan enzim sistemi içerir. Memeli ve prokaryotik hücrelerde bulunur. Tiyoredoksin redüktaz NADPH kullanarak tiyoredoksinin disülfid aktif bölgesini ve pek çok substratı redükler. Yapılan çalışmalarda, tiyoredoksinin insanda immun sistem düzenlenmesiyle ilişkili olduğu ve farklı genlerce kodlanan üç farklı varyantı gösterilmiştir. Tiyoredoksin redüktaz izoenzimleri, her subünitesinde bir FAD bulunduran NADPH bağlı oksidoredüktazlardır. Tiyoredoksin redüktazın ilk saflaştırılması 1977'de yapılmıştır (39).

### **2.7.8. Ubikinon (Koenzim Q)**

Ubikinon esas olarak mitokondride elektron transport zincirinin bir parçası olarak kullanılmaktadır, bunun yanında ubikinon düşük derişimlerde plazmada ve hücre zarlarında lipit peroksidasyonuna karşı koruyucu antioksidan olarak bulunur.

Ubikinonun yenilenmesi lipoamid dehidrogenaz ve kısmen tiyoredoksin redüktazı da içeren enzim ailesinin diğer üyeleriyle gerçekleştirilir (71,72).

### **2.7.9. Askorbik Asit (C Vitamini)**

Askorbik asit insan plazmasında ve hücre zarında bulunan, zarı geçebilen major antioksidanlardan biridir. Suda çözünebilir düşük moleküler ağırlıklı bu antioksidan kollojen sentezi, demir absorpsiyonu ve hücrelerin redoks durumunun korunmasında gereklidir. Tokoferoller, peroksidler ve süperoksit gibi reaktif oksijen türlerini redükler. Askorbik asitin antioksidan olarak esas görevi lipit hidroperoksitlerin oluşumunu engellemektir. Bu da aterosklerotik plak oluşumunu engellemede önemli rol üstlendiğini gösterir (73).

### **2.7.10. Karotenler (A Vitamini)**

Alkoller(retinoller), aldehitler(retinaller) ve retinoik asitler başta olmak üzere A vitamininin çeşitli türleri bulunur. A vitamininin en etkili ve en yaygın türü  $\beta$ -karoten'dir. Suda çözünmeyen bu bileşik havada okside olarak inaktif ürünler oluşturur (74).

A vitamininin antioksidan etkisi yanında gerekli olduğu sistemik etkiler hücre ve intrasellüler zar dayanıklılığının sağlanması, epitel dokunun bütünlüğünün sürdürülmesi, ve glikoprotein sentezidir (74).

### **2.7.11. Tokoferoller (E Vitamini)**

$\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  olmak üzere dört farklı tokoferol formu bulunur. Biyolojik olarak en yaygın ve en aktif E vitamini şekli olan d- $\alpha$ -tokoferoldür. Yağda çözünen fakat suda çözünmeyen bu bileşikler oksijen bulunmayan ortamlarda asit ve sıcaklığa dayanıklıdır (75).

Eşleşmemiş elektronlarla reaksiyona giren ve indirgeyebilen hidroksil grubu içerir. Radikal reaksiyonları sırasında zincir kırıcı etkiye sahiptir. Glutasyon ve askorbik asit ile antioksidan etkisi artar (36,75,76).

### **2.7.12. Flavonoidler**

Flavonoidler çeşitli sebze, meyve ve otlarda bulunan polifenol grubu doğal kimyasallardır. Doğada altı binin üzerinde flavonoid vardır. Antioksidan, antiarteriyosklerotik, antiinflamatuvar, antitümör, antitrombojenik, antiviral, antialerjik etkileri vardır. Flavonlar, flavonollar, flavanonlar; kateşinler, isoflavonlar, antosiyanidinler olarak altı sınıfa ayrılırlar.

Flavonoidler, önemli metal şelatörleri ve serbest radikal temizleyicisi gibi rol oynarlar. Flavonoidler tarafından temizlenebilen ve formasyonları inhibe edilebilen reaktif oksijen ürünleri; süperoksit anyonları, hidroksil radikali, alkol radikali, peroksil radikali ve perhidroksi radikali. Flavonoidler, radikallerin reaktif kısımlarıyla etkileşerek, reaktif oksijen ürünlerini stabilize ederler (77).



### **2.7.13. Selenyum**

Selenyum yiyeceklerde selenosistein öncü maddesi olan selenitler, selenatlar ve selenometiyonin olarak bulunur. *İn vitro* hayvan deneylerinde Se bileşiklerinin apoptozisi ve transforme hücrelerde hücre siklusunu indirgediği gösterilmiş ve bundan dolayı da kanser hücre gelişimini durduğu ileri sürülmüştür (76,78).

### **2.7.14. Transferin ve Laktoferrin**

Transferin kanda demir taşıyan bir  $\beta$ -globindir. Laktoferrin ise dolaşımdaki serbest demiri düşük pH'larda bağlar (37,76).

### **2.7.15. Ürik Asit**

İnsanlarda pürin nükleozidleri olan adenozin ve guanozin katabolizmasının temel ürünü ürik asittir. Metal bağlayıcı ve serbest radikal temizleyicisi olarak görev alır (79).

### **2.7.16. Bilirubin**

Bilirubinin büyük bir kısmı ömrünü dolduran eritrositlerin parçalanmasından kaynaklanır ve dolaşımdan karaciğer tarafından alınır ve biyotransformasyona uğrar, safra ve idrarla atılır. Antioksidan olarak peroksil radikalleri toplar (76).

### **2.7.17. Haptoglobin (Hp)**

Haptoglobin hemoglobini geri dönüşümsüz olarak bağlayan bir  $\alpha_2$  - glikoproteindir. Ekstrasellüler hemoliz sırasında hemoglobin eritrositlerden salınır ve serbest hemoglobin dimerleri tümüyle haptoglobine bağlanır (76).

### **2.7.18. Seruloplazmin (Cp)**

Seruloplazmin total serum bakırının yaklaşık %95'ini içeren  $\alpha_2$  -globulindir. Cp'nin primer fizyolojik rolü plazma redoks reaksiyonlarıyla ilişkilidir. Serbest ferrik iyonları ve ferritin bağlayan bölgelerin varlığı gibi faktörlere bağlı olarak oksidan veya antioksidan olarak işlev görür. Cp'nin demirin iyonik durumunu düzenlemede ve toksik demir ürünleri oluşmaksızın demirin transferine girmesinde. yaşamsal önemi vardır (76).

## 2.8. Oksidatif Stres

Vücuttaki fizyolojik aktivitenin doğal ürünü olan serbest radikalleri, organizma doğuştan kazandığı çok hassas bir donanımla oksidan-antioksidan denge olarak tanımlanabilecek bir çizgide tutmaya çalışır. Bu dengenin bozulması oksidatif strese yol açar (7 8). Reaktif oksijen türleri(ROS), reaktif nitrojen türleri (RNS)ve sülfür merkezli radikaller oksidan sınıfına girer. Ancak tüm reaktif türleri radikal değildirler. Radikal olan ve olmayan reaktif türleri Tablo 2.4’de özetlenmiştir (80,55).

Tablo 2.4. Radikal ve radikal olmayan reaktif oksijen türleri (3)

Reaktif Türleri	
Radikal	Non-Radikal
Hidroksil ( $\cdot\text{OH}$ )	Peroksinitrit ( $\text{ONOO}^-$ )
Alkoksil ( $\text{L(R)O}\cdot$ )	Hipoklorit ( $-\text{OCl}$ )
Hidroperoksil ( $\text{HOO}\cdot$ )	Hidroperoksit ( $\text{L(R)OOH}$ )
Peroksil ( $\text{L(R)OO}\cdot$ )	Singlet oksijen ( $^1\text{O}_2$ )
Nitrik oksit ( $\text{NO}\cdot$ )	Hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )
Süperoksit ( $\text{O}_2^-$ )	Ozon ( $\text{O}_3$ )

Canlı organizma için önemli olan yapıları, fiziksel ve kimyasal özellikleri, hücrel kaynakları, rol oynadıkları tepkimeler ve etkileri ile çeşitli klinik durumların patogeneğinde rol oynayan serbest radikaller, atomik yörüngelerinde eşleşmemiş elektron bulundurarak, bağımsız olarak var olabilen moleküllerdir. Eşleşmemiş elektronun kazandırdığı en önemli özellik bir çok radikal ile bu elektronun paylaşılabilmesidir (81,82,47).

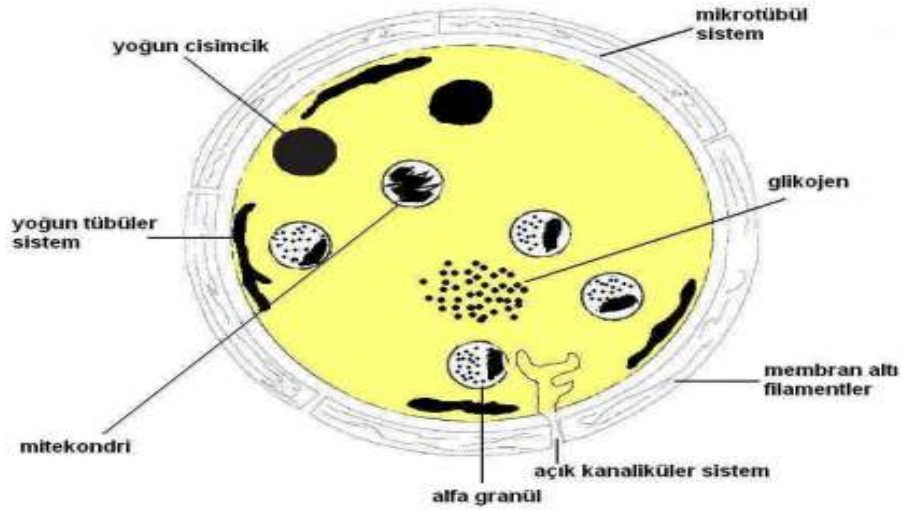
## 2.9. Trombositler

Trombositler küçük, disk şekilli, çekirdeksiz, 2–3  $\mu\text{m}$  çapında hücrelerdir. Megakaryositlerin sitoplazmik parçalanmaları ile oluşup kan dolaşımına girerler ve 7–9 günlük bir ömre sahiptirler. Megakaryosit gelişimi ve trombosit oluşumu trombopoietin ve diğer sitokinler tarafından düzenlenir. Trombositler, kemik iliğindeki boşluklarda yer alan endotelial hücreler boyunca megakaryositlerin sitoplazmik büyüme ve bölünme

aşamaları ile yayıldığı bugün genel olarak var sayılmaktadır. Fakat bu basamakta hangi sayıda ve boyutta kaç trombositin kontrol edildiği bilinmemektedir (Hartwig ve Italiano 2003) (83).

### 2.9.1. Trombositin Yapısı

Basit görünen trombositlerin fonksiyonları karmaşıktır. Dinlenme evresindeki trombositlerin yapı (Şekil 2.6) ve fonksiyonu, anatomik olarak dört bölgeye ayrılarak çok iyi anlaşılmıştır (White 1987)(84).



Şekil 2.6 Trombositin yapısı.

#### 2.9.1.1. Periferal (Çevresel) Bölge

Bu bölge açık kanaliküler sistemi oluşturan bir membran ve bunun içe doğru olan kıvrımlarından oluşmaktadır. Burası üç farklı bölgeye bölünebilir: dış tabaka, membran ve membran altı bölge (Nurden ve Caen 1978)(85).

### **2.9.1.1.1 Dış Tabaka**

10–20 nm kalınlığında glikokaliks ve glikoproteince zengin bir bölgedir. Temel olarak hücre-hücre, hücre-damar duvarı etkileşimi için reseptör olarak işlev görmektedirler. Trombosit yapışması ve kümelenmesi hakkında bu reseptörler detaylıca tartışılmıştır (Nurden ve Caen 1978)(85).

### **2.9.1.1.2 Trombosit Membranı**

Bir çok yönden trombosit membranı diğer kan hücrelerinin membranları ile benzerdir:

- 1- Fosfolipit bakımından zengin çift tabakalı lipitten oluşması
- 2- Hücre içi ve hücre dışı işlemler arasında fizikokimyasal ayırım sağlaması
- 3- Anyon ve katyon pompalarını içermesi (NA<sup>+</sup> /K<sup>+</sup> -ATPaz gibi) zardan geçen iyonların dengelenmesinde kritiktir. Trombosit membranı pıhtılaşma için önemli bir katalizördür (Tracy 1988)(86).

### **2.9.1.1.3 Membran Altı Bölge**

Anatomik ve fonksiyonel olarak membran glikoproteinleri ve yaygın sitoplazmik filament sistemi ile ilişkilendirilmiş farklı mikrofilament ağlarını içerir (Zucker-Franklin 1970)(87).

### **2.9.1.2. Sol –Jel Bölge**

Sitoplazmanın matriksine sol-jel bölge denir ve polimerizasyonun değişkenlik gösteren durumlarında iki fiber sisteminden meydana gelir. Alt membranın hemen

altında dinlenme evresindeki trombositin şeklini korumaya yardım eden sıkıca kıvrılmış (helezonlaşmış) mikrotübüller bulunur. Aktivasyon ile mikrotübüller, merkezde kümelenmiş organellerin etrafında sık halkalar halinde daralırlar. Bu kasılma olayı için hareketi sağlayan kuvvet sitoplazmik filamentler tarafından oluşturulur (White 1968)(88).

Sol-jel içindeki ikinci grup fiberler aktin mikrofilamentleridir. Dinlenme evresindeki trombositte (Şekil 2.7) aktinin sadece % 30-40'ı filamentlere polimerize olur (Fox, Boyles et al. 1984)(89). Aktivasyonla polimerizasyonda bir artış olur. Yeni filamentler hücrenin dış yüzeyinde (Şekil 2.8) (periferinde) ve gelişen filopodia içinde görünmeye başlar (Fox 1993)(90).

### **2.9.1.3. Organel Bölgesi**

Bu bölge farklı bir bölge olarak çok iyi ayırt edilebilen bir yer değildir ancak sitoplazma boyunca dağılmış depo granülleri, yoğun cisimcikleri, peroksisomları, lizozomları ve mitokondrileri içerir. Aslında bu bölge belli başlı metabolik işlemlerle ilgilidir ve aynı zamanda yaygın değişkenlik gösteren proteinler, kalsiyum, serotonin, adenin nükleotidi ve enzimler için bir depo yeri gibi rol alır (White 1973; White 1974)(91;92).

### **2.9.1.4. Membran Sistemi**

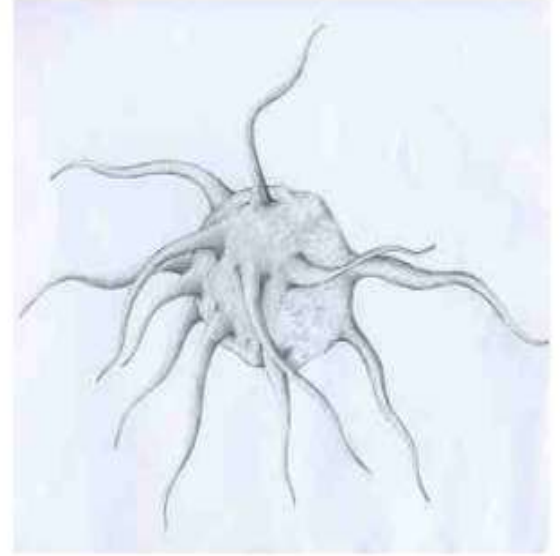
Membran sistemi dördüncü ve son bölgeyi oluşturur. Plazma membranı aynı zamanda trombosit içindeki derinlere giden çok sayıda kıvrımlar içerir. Genellikle “açık kanaliküler sistem” olarak isimlendirilen bu kanallar hücresel transport için geniş bir yüzey alanı oluştururken devam eden reaksiyon süresince ve şekil değişikliği ile trombosit aktivasyonunu tamamıyla sürdürür (White 1973; White 1974)(91;92).

Yoğun tübüler sistem ikinci bir membran sistemi oluşturur ve hücrenin iç kısmında yer alır. Ata hücrenin endoplazmik retikulumundan türemiş olan yoğun tübüler sistem hem kalsiyum için hem de prostoglandin senteziyle ilişkili enzimler için

bir depo yeri olarak rol oynar. Bu iki membran sistemi birbirleriyle doğrudan ilişki içindedirler ve içeriklerinin değiş tokuş edilmesine izin verirler (Cutler, Rodan ve ark. 1978)(93).



Şekil 2.7. Dinlenme evresindeki trombosit.



Şekil 2.8. Aktif trombosit.

## 2.9.2. Trombosit Fonksiyonu

Normal koşullar altında trombositler diğer trombositlerle ya da damar endoteli ile etkileşmeden serbestçe kan damarında dolaşırlar. Endotelde zedelenme olması durumunda pıhtı oluşumuna neden olan bir olaylar zinciri tetiklenir. Bu olaylar dizisi karmaşık birçok biyokimyasal ve hücrel süreçlerin olduğu dört genel kategoriye bölünerek açıklanmıştır: adezyon, aktivasyon, agregasyon ve sekresyon (Weiss 1975) (94).

### 2.9.2.1. Trombosit Adezyonu

Trombositler zarar görmüş, bozulmuş ya da fonksiyonunu yitirmiş endotelyuma bağlanma eğilimi gösterir. Zarar gören bölge, spesifik membran glikoproteinleri olarak tanımlanmış olan adeziv proteinler aracılığı ile trombositler tarafından örtülür. Fonksiyonel olarak örtüşen çok sayıdaki reseptör aynı liganda bağlanabilir ve spesifik bir reseptör birden fazla liganda yanıt verebilir. Reseptörler bir de integrinler ve integrin

olmayanlar olarak gruplandırılabilir. integrinler  $\alpha$ - ve  $\beta$ - altbirimlerinden oluşan heterodimerik hücre yüzey mellekülleridir. integrinlerin genellikle düşük ve yüksek olmak üzere iki afinite seviyesi vardır. Afiniteleri sitoplazmik domainlerinin fosforilasyonu ve sitoplazmik sinyallerle değiştirilir. Trombositler,  $\beta_1, \beta_2$  ve  $\beta_3$  alt birimleri ile toplamda altı farklı integrin içerirler ( $\alpha_2\beta_1$ ,  $\alpha_5\beta_1$ ,  $\alpha_6\beta_1$ ,  $\alpha_L\beta_2$ ,  $\alpha_{IIb}\beta_3$ , ve  $\alpha_v\beta_3$ ) (Bouvard, Brakebusch ve ark. 2001) (95).

Değişik yüzey membran glikoproteinleri ve ligandları aşağıdaki Tablo 2.5’de özetlenmiştir.

Tablo 2.5. Değişik yüzey membran glikoproteinleri ve ligandları.

Reseptör	Ligand	İntegrin İçeriği	Biyolojik Aktivitesi
GPIa/IIa	Kollajen	$\alpha_2\beta_1$	Adezyon
GPIb/IX	vWF	-	Adezyon
GPIc/IIa	Fibronektin	$\alpha_5\beta_1$	Adezyon
GPIIb/IIIa	Kollajen	$\alpha_{IIb}\beta_3$	Agregasyon
	Fibrinojen		
	Fibronektin		
	Vitronektin		
	vWF		
GPIV	Trombospondin, kollajen	-	Adezyon
GPVI	Kollajen		
Vitronektin reseptörü	Vitronektin, trombospondin	$\alpha_v\beta_3$	Adezyon
VLA-6	Laminin	$\alpha_6\beta_1$	Adezyon

Adezyonu başlatan olay temastır. Süreç, dolaşımda dinlenme evresinde bulunan trombositin “durması” ve zarar görmüş damara “yapışmasıdır”. Bu önemli olay trombosit glikoproteinini Ib-IX kompleksi ile damar endotelial hücreler tarafından sentezlenen büyük bir protein olan von Willebrand (vWF) arasındaki etkileşimle gerçekleşmektedir (Roth 1992) (96).

### 2.9.2.2. Trombosit Aktivasyonu

Aktivasyon çok çeşitli biyokimyasal ve mekanik uyarılarla tetiklenebilir. Bu biyokimyasal agonistlerin çoğu, damar duvarına yapışmış olan trombositler tarafından

üretir ya da salgılanır. Trombosit aktivasyonunun üç aşamada gerçekleştiği kabul edilir:

1) Uyarı: Genellikle agonistlerin ortaya çıkmasına yol açarak trombosit aktivasyonuna neden olan bir olay vardır. Agonistlerin trombositlere bağlanması bu hücrenin aktivasyonunu başlatır.

2) Hücre içindeki ikincil mesajcılar uyarıyı iletmeleri.

3) Cevap: Trombosit iskelet yapısının değişmesi (trombositin şekil değiştirmesi), trombositlerin fibrinojen aracılığı ile yapışıp küme oluşturmaları ve granül sekresyonudur (Koca 2007) (97).

Trombosit aktivasyonunu başlatan agonistler zayıf ve güçlü olarak sınıflandırılırlar. Güçlü agonistler (kollajen, trombin vb.) agregasyonun engellendiği şartlarda dahi granül sekresyonunu uyarabilirler. Zayıf agonistler (ADP, epinefrin vb.) ise yalnız başlarına granül sekresyonunu uyaramazlar; ancak agregasyonu uyarabilirler. Agregasyon neticesinde sekresyon gerçekleşebilir (Koca 2007)(97).

Trombosit agonist reseptörleri çoğunlukla transmembran uzantıları da olan plazma membran proteinleridir. Tam anlamıyla karakterize edilebilen reseptörlerin çoğu "G proteinleri ile ilişkili olan reseptörler" grubundandır. Bu reseptörlerin ortak özellikleri yedi adet transmembran kıvrımı olan tek bir polipeptid yapısında olmaları ve oluşturdukları uyarıyı ikincil mesajcılara ileten, G proteinleri olarak adlandırılan adaptör proteinler kullanmalarıdır (Koca 2007)(97).

Sırasıyla G proteini tarafından tetiklenen birbirini takip eden iki tane hücre içi uyarılma yolu vardır. Fosfoinozid hidroliz yolu, G proteini tarafından fosfolipaz C'nin aktivasyonu ile başlar. Fosfatidilinositol-4-5-bifosfat (PIP<sub>2</sub>) iki ikincil mesajcıya parçalanır (inositol-1,4,5-trifosfat (IP<sub>3</sub>) ve diaçilgliserol) (Berridge 1987). IP<sub>3</sub> yoğun tübül sistemden kalsiyum salınmasını uyarır. Bu olay fizyolojik trombosit cevaplarından sorumlu hücre içi enzimlerin aktivasyonu için gereklidir (Rink ve Sage 1990) (98).



Sitoplazmada serbest kalsiyum düzeyinin artışıyla ikinci hücre içi uyarılma yolu olan eikozanoid yol aktive olur. Kalsiyum düzeyinin artışı ile uyarılan sitoplazmik fosfolipaz A2 yoğun tübüler sistem membranından ve belki de sitoplazma zarından araşidonik asit ayrılmasını sağlar. Araşidonik asit sitoplazmada başlıca tromboksan A2'ye (TxA2) metabolize edilir. Hücre dışına salınan TxA2, civardaki trombositleri de uyurarak trombosit aktivasyonunun amplifiye olmasını sağlar (Koca 2007)(97).

### **2.9.2.3. Trombosit Sekresyonu**

Trombosit aktivasyonu, hücre dışı sinyallere, hücre iskeletinin yeniden düzenlenmelerine, membran birleşmelerine ve trombositlerde bulunan üç farklı granül ( $\alpha$ -granüller, yoğun cisimcikler ve lizozomlar) içeriğinin dışarı çıkarılmasına (sekresyona) cevap oluşturan bir komplekstir.  $\alpha$ -granüllerin birbirleriyle ve plazma membranın yaptığı içe doğru oluşan derin kıvrımlarla (açık kanaliküler sistem) birleşmesi kanıtlanmıştır (Ginsberg, Taylor ve ark. 1980; Stenberg, Shuman ve ark. 1984) (99;100). Lizozomlar çok sayıda asit hidrolaz (proteinazlardan ketepsinler) içermektedirler. Lizozom sekresyonu,  $\alpha$ -granüller ve yoğun cisimciklerin sekresyonundan daha yavaş olmaktadır (Holmsen ve Day 1970)(101).

ADP'nin reseptörüne bağlanmasını takipeden olaylar; kalsiyumun hızla sitoplazmaya akması, hücre içi kalsiyum depolarının hareketi, şekil değişikliği, adenil siklazın inhibisyonu, IP 3 oluşumunun uyarılması, yüzey GPIIb/IIIa ifadesi, fosfolipaz A2'nin uyarılması, yoğun granüllerin ve alfa granüllerinin içeriklerinin salgılanması şeklinde rapor edilmiştir (Nurden, Savi ve ark. 1995)(102).

### **2.9.2.4. Trombosit Agregasyonu**

Trombosit aktivasyonu ile GPIIb/IIIa, konformasyonel bir değişime uğrar (Tablo 2.6). Bunu genelde protein ligandlarıyla, kısmen de fibrinojenle uygun bir bağlanma yapabilmek için yapar. GPIIb/IIIa,  $\alpha$  IIb ,  $\beta$ 3 alt birimlerini içerir.  $\alpha$ -alt birimi bir ağır zincir ve bir hafif zincir içerir. Ağır zincir tamamen hücre dışındayken hafif zincir

trombosit membran açıklıklarında bulunur ve kısa bir hücre dışı domainle sonlanır (Poncz, Eisman ve ark. 1987) (103).

GPIIb/IIIa- fibrinojen kompleksinin elektron mikroskopi çalışmalarında GPIIb/IIIa'nın globüler baş bölgesi fibrinojen molekülünün distal ucu ile etkileşim halinde olduğu ve kuyrukların fibrojen molekülüne 90<sup>0</sup> 'lik açı yapacak şekilde lateral olarak uzatılmış halde olduğu görülmüştür. Dolayısı ile GPIIb/IIIa, bir fibrinojen molekülünün ucuna doğru bağlanırken, kuyruklar zıt yöne doğru yönelir, bu da yakın trombositlerin arasında "köprü" oluşturmaya imkân sağlar (Weisel, Nagaswami ve ark. 1992) (104).

*In vivo* ortamda kanın subendotelial dokuya temasına neden olan bir damar zedelenmesi neticesinde trombositler diğer hücreler ve ekstrasellüler matriks moleküllerine (immobilize vWF, kollajen, laminin, fibronektin) yapışırlar (adezyon). Adezyonu takiben, trombositler subendotelial matriks üzerinde birçok yeni reseptör-substrat bağlanması ile sıkı bir şekilde yayılırlar. Kollajen, adenosin difosfat (ADP), epinefrin, trombin gibi herhangi bir agonist trombosit yüzeyindeki reseptörüne yapıştığı zaman hücrede belirgin biyokimyasal değişikliklere neden olur (aktivasyon). Aktive olması neticesinde trombositin şekli değişir ve diğer hücrelerle etkileşimleri uyarılır. *In vitro* şartlarda aktivasyonu takiben trombositin küresel bir şekil kazandığı ve birçok filopodial uzantıların ortaya çıktığı izlenir. Aktin iskeleti tarafından meydana getirilen bu şekil değişimi ile hücre yüzeyi ve trombositlerin birbirleri ile temas alanları artar. İşte, şekil değişiminin ve trombosit aktivasyonu neticesinde GPIIb/IIIa reseptöründe meydana gelen konfigürasyon değişikliğinin avantajıyla trombositler bu reseptörün ligandı olan fibrinojeni bağlamak suretiyle kümeleşirler (agregasyon).

Agregasyonun ilk aşaması tersinebilir. Takiben, yoğun ve granül içerikleri salgılanır (sekresyon) ve bu granüllerin yapısında bulunan agonistlerin de katkısıyla agregasyon tersinemez hale gelir. Son olarak, damar kesisi bölgesinde trombositlerin de katkılarıyla oluşan pıhtının deney tüpünde olduğu gibi büzüşerek yara dudaklarını birbirlerine yaklaştırdığı kabul edilmektedir (retraksiyon). Pıhtı büzüşmesinde trombosit aktin iskeletinin görev yaptığı ve bu süreçte integrin GPIIb/IIIa'nın düzenleyici rolü olduğu düşünülmektedir (Koca 2007).

Tablo 2.6. Trombosit granülleri ve içerikleri.

Trombosit granülleri ve içerikleri	
Yoğun cisimcikler	
	ATP ADP serotonin kalsiyum fosfat guanin nükleotid
Alfa granülleri	
*Enzimler	$\alpha$ 1 antitripsin $\alpha$ 2 makroglobulin $\alpha$ 2 antiplazmin C1-esteraz inhibitörü
*Adezyon proteinleri	Fibrinojen Fibronektin vWF Trombospondin Vitronektin GP IIbIIIa P-Selektin
*Büyüme faktörleri	PDGF (Platelet Derived Growth Factor) TGF $\beta$ (Transforming Growth Factor $\beta$ ) Epidermal Growth Factor Endotelial Growth Factor
*Sitokin benzeri proteinler	IL 1 CD 40 Ligand PF4 (Trombosit faktör 4) $\beta$ -Tromboglobulin (BTG)
*Koagülasyon faktörleri	HMWK Plazminojen PAI-1 Faktör V Faktör XI Fibrinojen Pr. S
Lizozomlar	
	$\beta$ Galaktosidaz $\beta$ Glukuronidaz $\alpha$ arabinosid N-asetil glukozamidaz Elastaz Kollejenaz Katepsin

### 2.9.3. Trombosit Oluşumu

Kan pulcuklarının oluşum mekanizması üzerine yaklaşık 100 yıldır çalışılmaktadır. 1906'da James Homer Wright Massachusetts General Hospitalda trombositlerin dev öncülleri olan mega karyositlerden nasıl oluştuğunun detaylı bir analizini yaparak ilk adımı atmıştır. Yıllar boyunca trombositlerin megakaryositlerden nasıl oluştuğunu açıklayan çok sayıda teori önerilmiştir. Demarkasyon membran sistemi (DMS)1957'de Yamada tarafından detaylıca tanımlanmıştır. Başlangıçta megakaryosit sitoplazması içinde sınırları önceden şekillendirilmiş "trombositaları" olarak önerilmişti (Yamada 1957) (105). Mikroskop uzmanları gelişen megakaryositlerin membran ve trombosit organelleriyle dolmaya başladığını tanımlamışlardır. Bu membranlarda tanımlanan alanların, gelişen trombositler için bir sistem oluşturduğunu önermişlerdir (ShaklaiveTavassoli1978) (106). Serbest kalan trombositlerin, megakaryositoplazmasındaki bu alanlar arasında bulunan DMS kırılma çizgileri boyunca büyük bir parçalanma ile oluştuğu önerilmiştir. DMS modeli trombositlerin ayrıntılı olarak hazırlanmış bir iç membranın yeniden organizasyon süreci boyunca oluştuğunu ifade etmektedir (Kosaki 2005)(107).

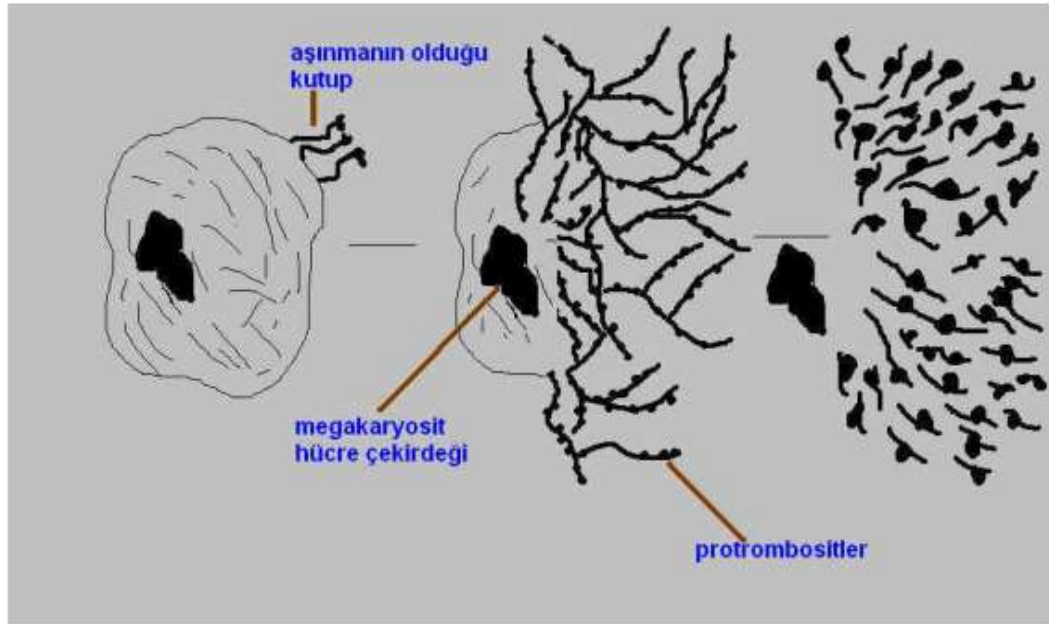
Megakaryosit plazma membranının içe doğru kıvrılmasıyla meydana gelen tübüler membranların, her yerde sürekli bir iletişim ağı oluşturmak için birbirine bağlandığı ve kollara ayrıldığı tahmin edilmiştir. Yakın tübüllerin kaynaşması, son aşamada oluşan bir trombositin sitoplazmasının çevresinde olan bir düz membran oluşturmak için bir mekanizma olarak kabul edilmiştir. Modellerde, megakaryosit sitoplazmasının trombosit seviyesinde hacimlere nasıl bölündüğünü ve kendi membranının trombositleri nasıl sardığını açıklamak için hep kullanılmış olan DMS çok sayıdaki tutarsız gözlemlerden dolayı güven kaybetmiştir. Örneğin eğer trombositler megakaryosit sitoplazması içinde DMS tarafından açıklanıyorsa, o zaman trombosit alanları dinlenme evresindeki trombositlerle aynı yapısal özellikleri göstermeliydi ancak böyle bir durum söz konusu değildi (Radley ve Hartshorn 1987) (108). Megakaryosit içindeki trombosit alanlarının marjinal mikrotübül sarmallarından yoksun olması, dinlenme evresindeki trombosit yapısının en seçici özelliklerinden biriydi. Yine doğrudan trombosit alanlarının patlayarak çatlaması ya da paramparça olarak fonksiyonel trombosit olgunlaşmasını gösteren canlı megakaryositler üzerinde

yapılmış bir çalışmanın bulunmamasıdır. Aksine mikrotübüldepolimerizasyon ajanları tarafından uyarılan protrombosit büzülmesinin öncesi ve sonrasında megakaryositlerin DMS'si üzerine odaklanılan çalışmalar, protrombositlerin kapsamlı büyümeleri için özelleşmiş bu membran sisteminin içe kıvrılarak (evajinasyon) plazma membranı sağlamak amacıyla öncelikle membran rezervuarı olarak işlevsel olabileceği ortaya atılmıştı. Radley ve Haller DMS'nin belkide yanlış adlandırılmış olabileceğini belirtmiş ve bu membran öz ağı tanımlamak için "in vajinasyon membran sistemi" ni daha uygun bir isim olarak öne sürmüşlerdir (Radley ve Haller 1982) (109).

Toplanan önemli kanıtlar trombosit oluşumundaki protrombosit modelini desteklemiştir. Protrombosit terimi genellikle megakaryositten çıkan dar stoplazmik uzantılarda büyüklüğü (milimetreye kadar) tanımlamak için kullanılır (Becker ve De Bruyn 1976) (110). Bu uzantılar dar stoplazmik köprülerle birbirine bağlanmış çeşitli boncuk boyutundaki trombositler ile karakterize edilir ve megakaryositten trombosit dönüşüm sırasındaki ara yapıları temsil ettiği düşünülür. Bu yalancı ayak benzeri yapılardan trombositlerin oluşumundaki asıl kavram Wright tarafından trombositlerin megakaryositlerden köken aldığını tanımlaması ve disk benzeri parçalar ya da megakaryositten çıkan yalancı ayaklardan gelen segmentleri açıklamasıyla oluşmuştur (Wright 1906) (111).

Trombosit oluşumu sırasında megakaryositlerden gelişen bu sitoplazmik olayları Thiery, Bessis ve Behnke daha sonradan detaylıca açıklamıştır (Thiery ve Bessie 1956; Behnke 1969) (112;113). Klasik protrombosit teorisi, megakaryositlerin uzun yalancı ayak benzeri yapıları oluşturup ardından trombosit oluşturmak için parçalandıklarını ortaya atan Becker ve De Bruyn tarafından tanımlanmıştır (Becker ve De Bruyn 1976)(114). Bu modelde DMS hala megakaryosit sitoplazmasını trombosit alanlarına böldüğü öngörülüyordu. Radley ve Haller daha sonra trombositlerin, yalnızca birleşmiş protrombosit eksenli boyunca bağlanan boncuk boyutundaki trombositlerden köken aldığı kabul edilen "akış Modeli"ni geliştirmişlerdir. DMS'nin trombosit alanlarını açıklamak için fonksiyonel olmadığını daha ziyade bir rezervuar olarak protrombosit oluşumu sırasında membran yüzeyini ters çevirdiğini (tersyüz ettiğini) ileri sürmüşlerdir. Gelişen trombositlerin, yalnızca protrombosit oluşturan plazma membranı ile sarıldıkları varsayılmıştır (Radley ve Haller 1982) (109).

Bugün deneysel bulguların çoğu trombosit oluşumu ile ilgili olarak modifiye edilmiş bir protrombosit modelini savunmaktadır. Protrombositlerin ürünleri olan yapısal ve fonksiyonel olarak kan trombositleri ile benzer olan trombositlerin olgunlaşmasında hem *in vivo* hem de *in vitro* da protrombositler gözlenmiştir (Choi, Nichol ve ark. 1995; Cramer, Norol ve ark. 1997) (115;116). Bu gözlemler sıçanları, köpekleri, inekleri ve insanları kapsayan memeli türlerinin geniş bir aralığında yapılmıştır (Leven 1987) (117). Kemik iliğinden büyüyen megakaryositler, dolaşıma katıldıkları varsayılan kan damarını kaplayan endotel bağlantı bölgeleri boyunca trombosit oluşturmak için ilave parçalanmalara maruz kalırlar (Tavassoli ve Aoki 1989) (118). Farelerde iki farklı hematopietik transkripsiyon (Nükleer faktör eritroid 2 (NF-E<sub>2</sub>), transkripsiyon faktör GATA-1) faktörünün olmayışından dolayı bu olaylar gerçekleşmez. Bu fareler *in vitro* da protrombosit oluşturamazlar ve şiddetli trombositopeni gösterirler. Esas alınan bu bulgular protrombosit yapımının trombosit oluşumunda önemli bir rol olduğunu destekler (Lecine, Villeval ve ark. 1998) (119).



Şekil 2.9.Megakaryositlerden trombosit oluşumu.

Trombopoietinin keşfedilmesi ve trombosit oluşumunun *in vitro*da yeniden düzenlendiği megakaryosit kültürlerinin geliştirilmesi, protrombosit oluşturma eylemini

yapan megakaryositleri çalışmak için sistemler sağlamıştır. Megakaryosit sitoplazmasının içeriğinin nerdeyse tamamının protrombosit uzantılarına ve son basamakta ince sitoplazmik iplerle bağlanan boncuklar olarak gözükten partikül boyutlu trombositlere dönüşmektedir (Şekil 2.9). Dönüşüm 5- 10 saatte gerçekleşmektedir ve megakaryosit sitoplazmasında bir kutuptaki aşınma ile başlar. Önce kalın yalancı ayaklar oluşur sonra uzayarak çapı 2–4 µm de değişmeyen ince tüplere dönüşür. Bu ince tübüller sırasıyla dinamik bir kıvrılma ve dallanma işlemleri geçirir ve uzunluğu boyunca yoğunlaşırlar. En sonunda megakaryositten geriye yalın bir çekirdek kalır ve etrafı karma karışık bir protrombosit ağı ile çevrelenir. Hücre gövdesinin protrombosit parçacıklarına parçalanmaya başladığı anda megakaryosit olgunlaşması sona erer. Partikül boyutlu trombositlerin arasındaki sitoplazmik köprülerin kopmasıyla her bir yapının dolaşıma bir trombosit verdiği inaniılmaktadır (Italiano, Lecine et al. 1999) (120).

#### **2.9.4. Trombosit Oluşumu ve Megakaryosit Gelişiminin Düzenlenmesi**

Megakaryosit gelişimi ve trombosit oluşumu çeşitli aşamalarda çok sayıda sitokin tarafından düzenlenmektedir (Kaushansky2003) (121).Bu mekanizmalar normal trombosit sayısını korumak için yaklaşık olarak 3 basamakta düzenlenmektedir. İnterlökin-3, interlökin-6,interlökin-11,interlökin-12,GM-CSF(Granülosit Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör) ve eritropoietin gibi özel sitokinler megakaryosit öncüllerinin çoğalmasını düzenler (Segal, Stueve ve ark. 1988) (122).

Lösemi inhibitör faktör (LIF) ve interlökin-1α sitokinleri megakaryosit gelişimini ve trombosit salınımı düzenler. Trombopoietin (TPO) 1995 yılında beş farklı grupta saflaştırılıp kopyalanmış bir sitokindir ve trombosit oluşumunun temel düzenleyicisidir (Kaushansky 2006) (123). Trombopoietin, hematopoietik kök hücre basamağından sitoplazmik olgunlaşmaya kadar megakaryosit gelişiminin bütün basamaklarında düzenleyicidir. Kit ligand (KL) (kök hücre faktörü, steel faktör, mast hücresi büyüme

faktörü olarak da bilinir) bir sitokin olup hem membrana bağlı hem de serbest halde bulunur. İlk hematopoietik hücreleri etkiler. İnterlökin-6, interlökin-11 ve KL aynı zamanda megakaryosit gelişiminin her basamağında düzenleyici olsa da yalnızca TPO ya da interlökin-3 ile birlikte işlevsel görünmektedir. İlginç olan ise in vitro da TPO ve yukarıda bahsi geçen sitokinlerin trombosit oluşumunun (protrombosit ve trombosit üretiminde) son basamağı için gerekli olmayışıdır (Ito, Ishida ve ark. 1996) (124).

### **2.9.5. Trombosit Biyogenezi ve Apoptoz**

Trombosit oluşumundaki olaylarda megakaryositler, hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi, membran yoğunlaşması ve büzülmesini içeren apoptozla ilgili bazı özellikler gösterir. Bu benzerliklerden dolayı apoptozun protrombosit oluşumunda ve trombosit salınımında bir mekanizma olup olmadığını belirlemeye yönelik ek araştırmalar yapılmıştır. Apoptoz ya da programlanmış hücre ölümü, yaşlanan megakaryositlerdeki çekirdek yıkımından sorumludur (Ito, Ishida ve ark. 1996) (124).

Sadece özelleştirilmiş bir apoptotik olayın trombosit üretimi ve salınımına neden olabileceği düşünülmüştür. Hem proapoptotik hem de antiapoptotik çok sayıda apoptotik faktör megakaryositlerde tanımlanmıştır (Kaluzhny ve Ravid 2004) (125). Bcl-2 ve Bcl-x L gibi apoptoz inhibitör edici proteinler ilkin megakaryositlerde ifade edilir. Megakaryositlerde aşırı ifade oldukları zaman her iki faktör protrombosit oluşumunu engeller. Bcl-2 olgun kan trombositlerinde, Bcl-x L ise yaşlanmış megakaryositlerde bulunmaz (Sanz, Benet ve ark. 2001) (126).

Programlı hücre ölümüne yol açan enzimlerden kaspazlar ve nitrik oksidi (NO) içeren proapoptotik faktörler de megakaryositlerde ifade olmaktadır. Bulgular kaspazların trombosit toplanmasında güçlü bir rolü olduğunu göstermiştir. Kaspaz aktivitesinin protrombosit oluşumu için gerekli olduğu belirlenmiştir. Kaspaz 3 ve 9 olgun megakaryositlerde aktiftir ve bu kaspazların inhibisyonu protrombosit oluşumunu engeller (De Botton, Sabri ve ark. 2002) (127).

Nitrik oksit partikül boyutlu trombositlerin salınımına karışmaktadır ve trombosit salınımı artırmak için trombopoietin ile birlikte çalışabilir (Battinelli ve Loscalzo 2000)



(128). Megakaryositlerde ifade olan diğer proapoptotik faktörler ise trombosit oluşumundan sorumludur (Kim, Jung ve ark 2002) (129). Ayrıca kaspaz 3 ve 9 son aşamada farklılaşmış megakaryositlerde de aktiftir. Fakat sadece kaspaz 3 trombositlerde bol miktarda bulunurken kaspaz 9 bulunmaz (Clarke, Savill ve ark. 2003) (130). Benzer şekilde kaspaz 12 de megakaryositlerde varken trombositlerde yoktur (Kerrigan, Gaur ve ark.. 2004) (131).

### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

#### **3.1. Gereç**

##### **3.1.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması**

Bu çalışmada Ramazan ayında Şanlıurfa ilinde bulunan Oruç tutan sağlıklı ve gönüllü 20-40 yaş arası 39 erkek bireyden yaş kilo ve boy durumları da göz önünde bulundurularak Ramazan ayından iki gün önce (07-08.07.2013), Ramazan ayının ortası (22.07.2013) ve Ramazan ayının son iki günü (05-06.08.2013) aynı kişilerden olmak üzere herhangi bir sağlık problemi bulunmayan (diyabet, yüksek tansiyon, kronik kalp hastalıkları vb.) sigara, alkol, uyuşturucu madde kullanmayan bireylerden kan örnekleri alınmıştır. Harran Üniversitesi etik kurul izni doğrultusunda kişilerin bilgilendirilmiş olur formu alınıp aynı zamanda gönüllü olmayı kabul eden bireyler bu koşullar yönünde belirlendikten sonra çalışma grubu oluşturulmuştur.

##### **3.1.2. Kan Örneklerinin Alınması**

Çalışma grubunu oluşturan kişilerden alınacak kan örnekleri öncesinde 10 mililitrelik cam deney tüplere 0,018 gr EDTA konulduktan sonra; sağlıklı gönüllüler kan örneklerinin standardizasyonunun sağlanması amacı ile bireyler oturur pozisyondayken EDTA'lı tüplere kanlar alınıp buz içerisinde Harran Üniversitesi Tıp

Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Biyokimya Laboratuvarına getirilip trombosit izolasyonu hemen gerçekleştirildikten sonra Total Oksidatif Seviye (TOS), Total Antioksidan Seviye (TAS), Oksidatif Stres İndeksi (OSİ= (TOS) / (TAS) şeklinde bölünerek) düzeyleri araştırılmıştır.

### 3.1.3. Kullanılan Araç ve Gereçler

1. Biyokimya Otoanalizörü (Abbott Aeroset<sup>®</sup>)
2. Kan Sayım Analizörü (Abbott Cell-Dyn<sup>®</sup> 3700, USA)
3. Sonikatör Cihazı (Bandelin<sup>®</sup> SH213, Almanya)
4. Soğutmalı Santrifüj (Hettich Universal<sup>®</sup> 30 RF)
5. Buz dolabı (Uğur)
6. Otomatik pipetler (Gilson<sup>®</sup>)
7. pH Metre (Hanna<sup>®</sup>, pH 211 model Japon)
8. Manyetik Karıştırıcı (Hangping<sup>®</sup>, Variomag<sup>®</sup>)
9. Distile su cihazı (Nüve)
10. Deiyonize su cihazı (Easypure RF<sup>®</sup>)
11. Hassas terazi (Sartorius marka 0,0001 g'a duyarlı)
12. Balon joje
13. Laminar Flow Güvenlik Kabini (Heraeus<sup>®</sup>).
14. Kurutma Kağıdı
15. Eppendorf Tüpü
16. Pipet Uçları

## Kullanılan Kimyasal Maddeler

1. TrisHCl (Sigma<sup>®</sup>)
2. Trisbase (Sigma<sup>®</sup>)
3. Sodyum klorür (NaCl) (Merck<sup>®</sup>)
4. Glukoz (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>) (Merck<sup>®</sup>)
5. EDTA (Merck<sup>®</sup>)
6. Potasyum Klorür (KCl) (Merck<sup>®</sup>)
7. Sodyum Hidrojen Karbonat (NaHCO<sub>3</sub>) (Merck<sup>®</sup>)
8. Potasyum Dihidrojen Fosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) (Merck<sup>®</sup>)
9. Magneyum Sülfat (MgSO<sub>4</sub>) (Merck<sup>®</sup>)

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Trombositlerin Elde Edilmesi (Seperasyonu)

Ramazan ayının öncesinde, ortasında ve sonlarında 39 sağlıklı gönüllü erkek bireylerden, 10 mL venöz kan çekildikten sonra içinde 0.018 gr EDTA bulunan cam deney tüplere aktarılıp, bütün kan trombosit sayımı, ramazan öncesi, ortası ve sonundaki değerleri kıyaslayabilmek amacıyla Kan Sayım Otoanalizörü (Abbott Cell-Dyn<sup>®</sup> 3700, USA) kullanarak yapılmıştır.

Trombosit seperasyonu Hassel Mark L. ve ark. (132) yöntemine göre belirlenmiştir. 10 ml'lik cam deney tüplerinde bulunan kan numuneleri 1350 rpm ve 4C° 'de 15 dakika santrifüj edilmiştir, numuneler hazırlıklar sırasında buz içerisinde tutulmuştur. Santrifüj işlemi sonucunda cam deney tüpünün üst kısmında oluşan trombosit açısından zengin plazma, 15 ml'lik konik tüpe aktarılmış ve bu aktarılan

miktar kadar birinci soğuk temizleme buffer (135 mmol/L NaCl, 5 mmol/L glukoz, 3 mmol/L EDTA, 12 mmol/L TRIS-HCl, pH7.4) ile eşit hacimde seyreltilmiştir. Soğuk temizleme bufferi ile seyreltikten sonra 2750 rpm ve 4C° 'de 15 dakika boyunca tekrar santrifüj edilmiştir.

Santrifüj işleminden sonra oluşan süpernatant atılmıştır. Ve geriye kalan pellet, birinci soğuk temizleme bufferınının 10 mL 'si içerisinde yeniden süspansiyona alınmış ve 2750 rpm ve 4 C° 'de 15 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Bu aşamadan sonra oluşan süpernatant atıldıktan sonra geriye kalan trombosit pelleti hacmine eşit bir hacimde, ikinci soğuk buffer (150 mmol/L NaCl, 5 mmol/L glikoz, 6 mmol/L KCl, 32 mmol/L NaHCO<sub>3</sub>, 15 mmol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.5mmol/L MgSO<sub>4</sub>, pH7.4) maddesi içinde yeniden süspansiyona alınmıştır ve mikropipet yardımı ile alt üst edilip karıştırılmıştır. Sonrasında bu süspansiyon buz içerisinde ultrasonikatörle parçaladıktan sonra, izole edilen trombositlerde Oksidan ve antioksidan parametreler değerlendirildi.

### **3.2.2. Toplam Antioksidan Seviye (TAS) Ölçümü**

Örneklerin TAS.düzeyle, Ö. Erel tarafından geliştirilen Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülen tam otomatik bir yöntem olup, güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen bir metottur (133). Ölçüm yöntemi, örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS \*katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikali antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılır. Sonuçlar mmol TroloxEqiv/L olarak ifade edildi.

### **3.2.3. Toplam Oksidan Seviye (TOS) Ölçümü**

Örneklerin TOS düzeyleri, Ö. Erel tarafından geliştirilen Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülen tam otomatik bir yöntem olup (134) testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyon akümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanılır.

Kalibratör olarak Hidrojen Peroksit kullanılır. Sonuçlar  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2\text{Equiv/L}$  olarak ifade edilir.

Prensip: örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferik iyonla oksitler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xylenele orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir.

#### 3.2.4. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Oksidatif Stresin bir göstergesi olarak gösterilen OSİ, TOS düzeylerinin TAS düzeylerine oranının yüzde derecesi olarak ifade edilir. Örneklerin Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplanırken TAS düzeyleri 10 ile çarpılarak TOS düzeyleri ile birimler eşitlenir (135). Sonuçlar Arbitrary Units (AU) olarak ifade edildi.

$$\text{OSİ} = \frac{\text{TOS, } \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv. / L.}}{\text{TAS, } \mu\text{mol trolox Equiv. / L.}} \times 100$$

### 3.3. Yapılan İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler SPSS Versiyon 11.5 (SPSS® Inc. Chicago USA) bilgisayar programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Grupların ortalamaları arasındaki farkın önemi Student's *t* testi ile karşılaştırılmıştır. Parametreler arasındaki ilişki Pearson korelasyon analizi ile araştırılmıştır.  $p < 0,05$ 'den küçük değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

TAS düzeyleri açısından; ramazan öncesi ile ramazan ortası arasında istatistiksel açıdan orta düzeyde anlamlı bir fark bulunmuştur.( $p<0,01$ ). Ramazan öncesi ile sonu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmuştur. ( $p<0,05$ ) TAS düzeyleri ramazan öncesinde düşükken ramazan ortasında ve sonunda aynı oranda bir artış bulunmuştur.

Tablo 4.1. Grupların TAS, TOS, OSİ düzeyleri

	Ramazan Öncesi	Ramazan Ortası	Ramazan Sonu	<i>p</i>
TAS	0,12 ± ,04 <sup>a**</sup>	0,14 ± ,01	0,14 ± 0,02 <sup>b*</sup>	0,009
TOS	16,71 ± 3,40 <sup>a***</sup>	12,83 ± 2,17 <sup>c**</sup>	11,01 ± 1,36 <sup>b***</sup>	<0,001
OSİ	14,52 ± 5,54	8,82 ± 1,82	7,86 ± 1,82	<0,001

Mean ± Standart Deviation

\*:  $p<0,050$

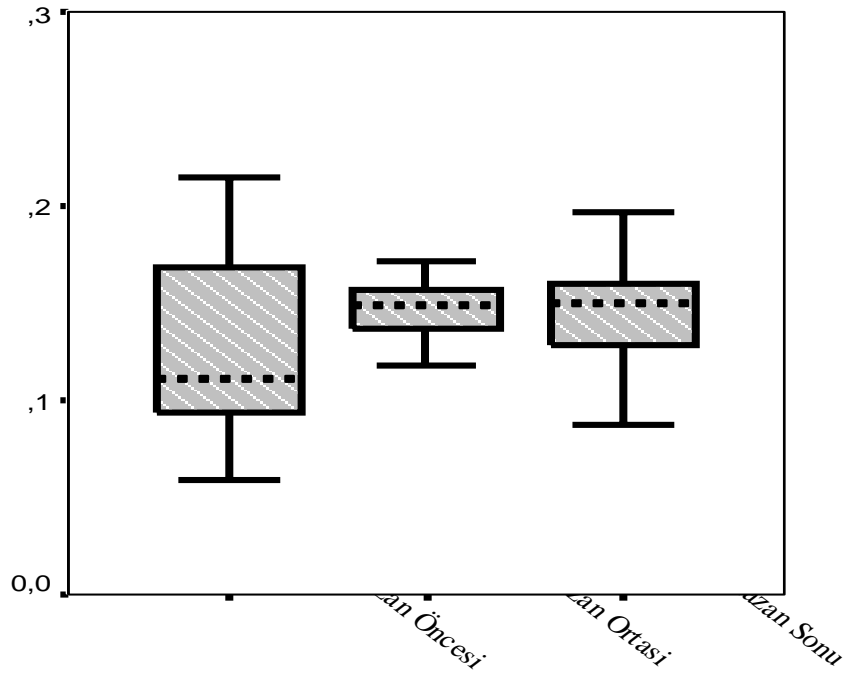
\*\* :  $p<0,010$

\*\*\*:  $p<0,001$

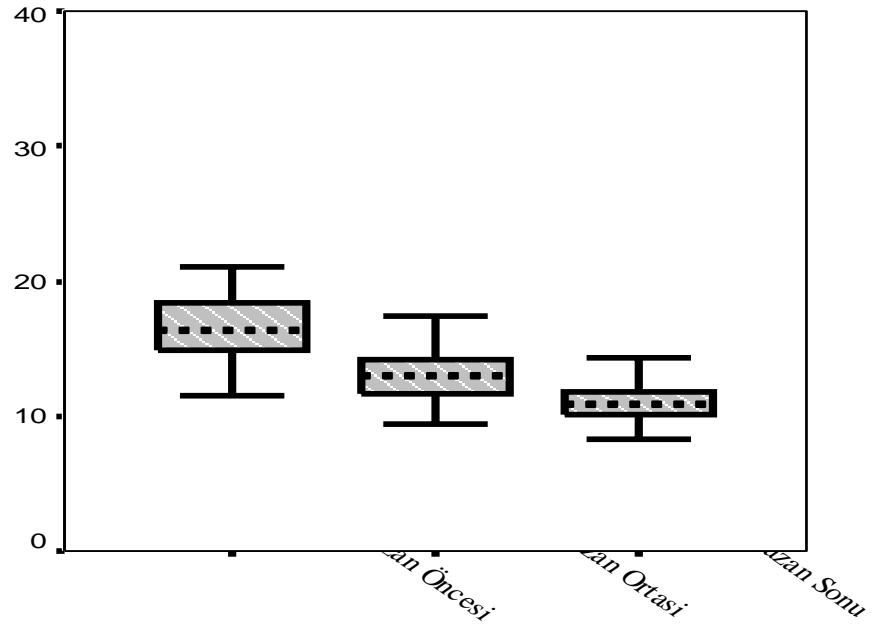
- Ramazan Öncesi ile Ramazan Ortası arasında anlamlı fark vardır.
- Ramazan Öncesi ile Ramazan Sonu arasında anlamlı fark vardır
- Ramazan Ortası ile Ramazan Sonu arasında anlamlı fark vardır

Tablo 4.1’de görüldüğü gibi TOS düzeyleri arasında; Ramazan öncesi ile ramazan ortası arasında istatistiksel açıdan ileri düzeyde anlamlı bir fark bulunmuştur ( $p<0,001$ ). Ramazan Ortası ile ramazan Sonu arasında istatistiksel açıdan orta düzeyde anlamlı fark bulunmuştur ( $p<0,01$ ). Ramazan Öncesi ile ramazan Sonu arasında istatistiksel açıdan ileri düzeyde anlamlı fark bulunmuştur ( $p<0,001$ ).TOS düzeyleri ramazan öncesinde yüksekken ramazan ortası ve sonuna doğru giderek azaldığı gözlenmiştir.

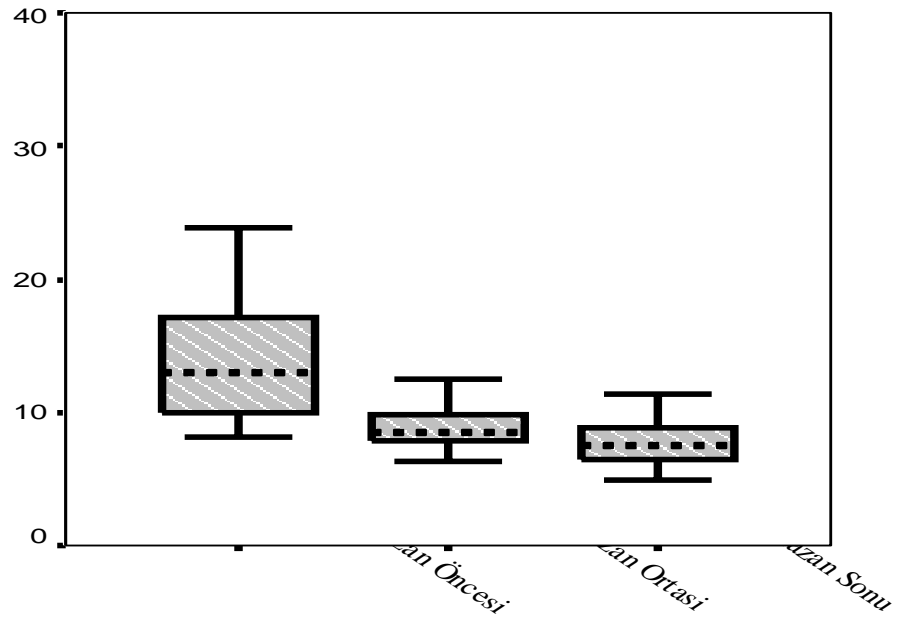
OSİ düzeyleri arasında Ramazan öncesi ile ramazan ortası arasında istatistiksel açıdan ileri düzeyde anlamlı bir fark bulunmuştur.( $p<0,001$ ). Ramazan Ortası ile ramazan Sonu arasında istatistiksel açıdan orta düzeyde anlamlı fark bulunmuştur ( $p<0,01$ ). Ramazan Öncesi ile ramazan Sonu arasında istatistiksel açıdan ileri düzeyde anlamlı fark bulunmuştur ( $p<0,001$ ). OSİ düzeyleri ramazan öncesinde yüksekken ramazan ortası ve sonuna doğru giderek azaldığı gözlenmiştir.OSİ düzeyleri ile TOS düzeyleri arasında paralel bir durum mevcuttur(Tablo 4.1).



Şekil 4.1. Ramazan Öncesi, Ramazan Sonu ve Ramazan Ortası gruplarının TAS düzeyleri arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları



Şekil 4.2. Ramazan Öncesi, Ramazan Sonu ve Ramazan Ortasi gruplarının TOS düzeyleri arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları



Şekil 4.3. Ramazan Öncesi, Ramazan Sonu ve Ramazan Ortasi gruplarının OSI düzeyleri arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları



Tablo 4.2. Kan Sayım Parametreleri

	Ramazan Öncesi	Ramazan Ortası	Ramazan Sonu	<i>p</i>
WBC	6,97 ± 1,79	6,63 ± 1,80	7,47 ± 1,69	0,113
RBC	5,39 ± 0,35	5,48 ± 0,44	5,53 ± ,37	0,260
HGB	16,14 ± 1,12	16,35 ± 1,43	16,26 ± 1,16	0,752
PLT	248,57 ± 50,55	230,72 ± 54,91	249,02 ± 50,52	0,214
PCT	0,19 ± 0,03	0,20 ± 0,04	0,20 ± 0,03	0,584
PDW	18,16 ± 1,36	18,45 ± 1,28	18,27 ± 1,43	0,654
HCT	46,97 ± 2,90 <sup>a**</sup>	49,27 ± 3,66	48,78 ± 2,90 <sup>b*</sup>	<0,010

Mean ± Standart Deviation

\*:  $p < 0,050$

\*\* :  $p < 0,010$

\*\*\*:  $p < 0,001$

a. Ramazan Öncesi ile Ramazan Ortası arasında anlamlı fark vardır.

b.Ramazan Öncesi ile Ramazan Sonu arasında anlamlı fark vardır

c.Ramazan Ortası ile Ramazan Sonu arasında anlamlı fark vardır

Ramazan ayının öncesinde, ortasında ve sonlarında 39 sağlıklı gönüllü erkek bireylerden alınan bütün kanlar ramazan öncesi,ortası ve sonundaki değerleri kıyaslayabilmek amacıyla Kan Sayım Otoanalizörü kullanılarak araştırılmıştır.

Kan sayım parametrelerindeki değerlerde bir değişiklik gözlenmemiş sadece HCT değerlerinde ; ramazan öncesi ile ramazan ortası arasında istatiksel açıdan orta düzeyde anlamlı fark saptanmıştır ( $p < 0,01$ ).Ramazan öncesi ile ramazan sonundaki değerlerde ise istatiksel açıdan anlamlı fark bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).

Tablo 4.3. Çalışma gruplarına ait korelasyon tablosu

		TOS	OSİ	PLT	PCT	PDW
TAS	<i>r</i>	-,075	-,713	-,061	-,045	-,027
	<i>p</i>	,419	,000	,517	,638	,774
TOS	<i>r</i>		,690	<b>-,238</b>	<b>-,281</b>	,002
	<i>p</i>		,000	<b>,010</b>	<b>,003</b>	,979
OSİ	<i>r</i>			-,147	-,186	-,035
	<i>p</i>			,117	,050	,710
PLT	<i>r</i>				,692	-,394
	<i>p</i>				,000	,000
PCT	<i>r</i>					,114
	<i>p</i>					,232

*r*: Korelasyon katsayısı

*p*: İstatiksel önem

Tüm grupların TOS düzeylerinin; PLT düzeyleri arasında negatif bir korelasyon mevcuttur (*r*: -0,238, *p*:0,010). TOS ile PCT düzeyleri arasında yine negatif bir korelasyon mevcuttur (*r*: -0,281, *p*:0,03).

## 5. TARTIŞMA

Ramazan orucu ALLAH'a kulluk ve ibadet niyetiyle, tanyerinin ağardığı andan güneş batmasına kadar, niyetlenerek bir şey yiyip içmekten ve orucu bozan başka hususlardan nefsi korumak suretiyle tutulur Ramazan ayı hicri takvime göre tutulduğu için her yıl yaklaşık 10 gün geriye gelir. Biri gün ağarmadan önce biri de gün batımında olmak üzere toplam 2 öğün yemek yenir. Ramazan orucu insan organizması üzerinde açlığın ve susuzluğun etkilerini araştırmak için iyi bir modeldir. Çünkü bir çalışmanın parçası olarak denekleri bu kadar süre aç ve susuz bırakmak etik olmadığı gibi istemli olarak da olanaksızdır (136).

İnsan yemekten uzaklaştığı ve oruç tuttuğu vakit, vücudu yavaş yavaş depoladığı maddeleri kullanır ve ihtiyacı olan enerjiyi bu yol ile karşılar. Normalde 11 ay boyunca aşırı yemek, dengesiz beslenmek ve zamansız yemek, vücudumuzu birden fazla yağ ve zehirli maddelerle doldurur ve oruç ibadeti bu maddeleri uzaklaştırmak için en uygun fırsattır. Uzmanların tabiri ile oruç, vücutta biriken gereksiz maddeleri yakma zamanıdır. Orucun fizyolojik mekanizmasında insan vücudu gün boyunca beslenmediği için enerjisini vücuttaki zehirleri uzaklaştırmaya harcar (137).

Orucun pek çok vücut sistemi üzerinde etkisinin olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Çalışmalar oruç sırasında substrat elde edilebilirliği ve kullanımının etkilediğini sonuçta orucun aralıklı dehidratasyona ve açlığa sebep olduğunu göstermiştir Aralıklı açlık ve susuzluk periyodu metabolik dengesinde, vücut sıvısı ve elektrolit dengesinde değişikliklere sebep olur (138,139,140). Ramazanda kan biyokimyası etkilenir, Sirkadian ritme uyan hormonlar değişir.

Oruç, bedenimizi koruyan doğal bir koruma kalkanı gibidir ve bedenimize pek çok yararı vardır. Oruçlu iken: Organlarımız kendini yeniliyor, bel ağrısı, kalp ve damar hastalıkları gibi birçok rahatsızlıkla savaşıyor. Ağır bir yemekten sonra, kalbin, sol karıncıktan ana atar damara fırlattığı kan miktarı 7 litreye çıkar ve kalbi zorlar, kalp rahat atar. Bu netice kardiyolojide, ancak bazı ilaçlarla sağlanır. Besin alışverişi, hücre içi ve hücre arası su dengesini ayarlayan hücrenin bu vazifeleri en aza iner. Hücreler nefes alır. Kanda besinler en az seviye düşünce kemik iliği uyarılır. Bu sebeple kansızlık sorunu olanlarda, oruçlu iken vücut daha kolay kan yapar. Karaciğer hücreleri

vücudu zehirli maddelerden temizler. Ölü ve ölmekte olan hücrelerin tasfiye işi kolaylaşır böylece vücut gençleşir. Böbrekler fazla yüke maruz kalmaz. Böbrek taşı olan oruçluların da idrardaki sodyum miktarı arttığı için taş oluşumu önlenir. Oruçlu kişinin mide Ph'sı öğle saatlerinden itibaren daha yüksektir. Bu ise midede asidin azaldığını gösterir. Oruç zararlı maddelerin vücuda girmesini önleyen ince bağırsak düzeni bozulduğunda bu mekanizmanın onarılmasına zemin hazırlar.

Orucun hafif fizyolojik etkileri incelendiğinde ise, genellikle sahurda yanlış beslenmeden de kaynaklanan baş ağrısı, tansiyon düşmesi, kan şekerinin düşmesi mide yanması, kabızlık gibi şikayetlerin ramazan ayının ikinci haftası geçtiği tesbit edildiği görülmüştür. Şöyleki: Beyin normal zamanlarda su ve glikoz, oruçlu iken yağların yakılması sonucu oluşan keton cisimlerini kullanır. Birkaç gün süren bu adaptasyon sırasında ise baş ağrısı yaşanır. Bu durumu iki saatlik öğle uykusu önler. Vücuttaki su ve tuz kaybı sebebiyle tansiyon düşüklüğü meydana gelir. Gündüz 2 saat uyumak bedenin su ve elektrolit kaybını engeller. Sahurda aşırı şekerli gıdalar yemek, insülin salınımını arttırarak gün içerisinde kan şekerinin düşmesine sebep olur. Sahurda sıvı gıdalar tüketmek, tuzlu ve şekerli yiyeceklerden kaçınmak kan şekerinin düşmesini engeller. Araştırmalar sonucunda oruç tutanlarda bel ağrılarının iyileştiği özellikle iltihabi sebeplerle bel ağrısı olan hastalarda bu iyileşmenin çok daha net görüldüğü belirlenmiştir. Yine oruçlu iken homosistein seviyesinin düştüğü bununda kalp ve damar hasarları ile alakalı risk faktörlerini azalttığı, hamilelikte tutulan orucun annenin sıhhatine bir zararı olmadığı gibi, bebeğin kilosu ve zeka seviyesinide etkilemediği ve kanser hücrelerinin ise vücutta sadece şekeri kullandığı oruçlu olan zamanlarda ise yaşamlarını sürdüremedikleri tespit edilmiştir (2).

Serbest radikaller, besinlerin oksijen kullanılarak enerjiye dönüşümü sırasında meydana gelen reaktif moleküllerdir. Oksijen molekülleri yaşam için vazgeçilmez olmakla birlikte, metabolizma sırasında serbest radikal kaynağı olarak bilinen ve son derece reaktif olan ara ürünler oluşur. Reaktif oksijen türleri metabolitleri olarak bilinen bu moleküller lipit, protein ve DNA gibi hücre bileşenlerine zarar verir. Aerobik (oksijen soluyan) organizmalarda serbest radikal oluşumunu kontrol altında tutmak ve bu moleküllerin zararlı etkilerine engel olmak üzere antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir. Ancak bazı durumlarda mevcut antioksidan savunma sistemi serbest

radikallerin etkisini tamamen önleyemez ve oksidatif stres olarak adlandırılan durum ortaya çıkar. Bu durum vücudun paslanması diye de tanımlanabilir (141-142).

Biz bu çalışmamızda 20-40 yaş arası oruç tutan sağlıklı erkek gönüllü bireylerden ramazan öncesi, ramazan ortası, ramazan sonu alınan kanların trombositleri Hassel Mark L ve ark. yöntemine göre izole ettikten sonra trombositlerinde Oksidatif durumu değerlendirdik (132).

Çalışmamızda antioksidan molekülleri ayrı ayrı tespit etmekten ziyade toplam antioksidan kapasiteyi değerlendirmeyi, ayrıca oksidatif molekülleri tek tek çalışmaktan ziyade toplam oksidatif durumu değerlendirerek oksidan-antioksidan denge hakkında bilgi edinmeye çalıştık. Bunu yapmak için TAS ve TOS ile sembolize edilen, otomatize edilmiş spektrofotometrik bir yöntem olan Erel yöntemini kullanmayı tercih ettik. Erel yöntemi güçlü serbest radikallere karşı total antioksidan kapasiteyi ölçebilen bir metottur.

Bu ölçüm yönteminde 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radikali (ABTS kökü) kullanılmıştır. Bu ölçüm yönteminin esası hidrojen peroksit varlığında ABTS molekülünün ABTS<sup>+</sup> molekülüne okside olmasına dayanmaktadır. ABTS kökü, antioksidan miktarına ve antioksidan kapasiteye göre mavi ve yeşil rengini kaybetmektedir. Bu renk değişikliği, emilim değeri 660 nm'de ölçülerek değerlendirilmeye yapılmaktadır (143,144). Reaksiyon hızı, bilinen bir yöntem olan Trolox ile ayarlanabilmektedir. Birimi Trolox equivalent/L'dir. TOS ölçümü, Erel tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemle yapılmıştır (145). Birim  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Eqv. /L'dir. TAS ve TOS ölçümlerinde kullanılan Erel yöntemleri spektrofotometrik bir yöntem olmasından kolay uygulanabilir ve kısa zamanda sonuç alınabilir olduğundan tercih edilmiştir.

Ramazan orucunun oksidan antioksidan moleküller üzerine etkisi bazı çalışmalarda incelenmiştir. Ibrahim WH. ve arkadaşları Ramazan açlığının MDA, Serum MDA ve Plasma protein bağımlı karboniller gibi serum oksidan parametrelerinde artışa neden olmadığını göstermişlerdir. Aynı grup GSH, aktive GSx eritrosit katalazı plazma alfa ve gamma-tokoferol, retinol alfa-karoten konsantrasyonlarında değişim olmadığını; vitamin C, Beta-karoten, lizofen ve lutein konsantrasyonunda hafif azalma ve plazma karotenoidleri ve criptoksantin seviyelerinde anlamlı azalma olduğunu göstermişlerdir (146)

Öztürk E. ve ark. Ramazan ayında Hamile kadınlar üzerine yaptıkları çalışmada, Hamilelik sırasında TAS, TOS, OSI, anne yaş, Hamilelik Yaşı, doğurganlık, doğum ağırlığı veya kilo alımı açısından incelenen gruplar arasında önemli bir farklılık bulamamışlardır. Bunun yanında, TOS ve OSI açısından gruplar arasında önemli ölçüde farklılıklar yokken, TAS seviyesi orucun 10. gününde oruçlu olan grupta, oruçlu olmayan kontrol gruba göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (147)

Fakat yukarıda bahsettiğimiz hamile kadınlar üzerinde yapılan çalışma dışında mevcut bilimsel çalışmalarda tek tek bakılan enzim ve moleküller oksidan ve antioksidan parametreler olup asıl oksidasyonun ve antioksidasyonun genel toplamını yansıtabilen TAS, TOS ve OSI'nin açıklıkta ve açıklığın üst düzey bir modeli olan Ramazan açıklığında bakılmamıştır. Dahası bazı antioksidan/oksidan parametreler artarken bazıları azalmakta tüm parametrelerin hepsine bakma olasılığı olmadığı için de sonuç hususunda net karar verilememektedir. Oksidan antioksidan parametrelerin kandaki düzeyleri bize genel olarak vücudumuzda mevcut oksidan-antioksidan dengedeki değişiklikler hususunda fikir verebilmektedir. Bu değişikliklerden fonksiyonel işlevlerine göre kan hücrelerimizde etkilenmektedir. Kan hücrelerimizden de hassasiyetleri itibariyle diğerlerinden daha ön planda gelen kan pulcuklarımız trombositlerimiz gelmektedir. Trombositlerimiz hassas olmaları yanında işlev bakımından da büyük öneme sahiptirler. Kanımızdaki sayılarının artması veya azalması hayatı tehdit eden patolojik durumlara yol açmaktadır. Fakat şimdiye kadar bu hücrelerimizin oksidatif değişikliklere maruziyeti durumlarında gösterdiği değişiklikler konusunda herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Bu nedenle biz bu çalışmamızda Ramazan Orucunun trombositlerdeki oksidan-antioksidan denge üzerine etkilerini araştırarak bu hususta literatüre katkıda bulunmaya çalıştık. Sonuçlarımıza göre Ramazan Orucunun öncesinde TAS düzeyleri ortasına ve sonrasına göre istatistiksel olarak anlamlı oranlarda düşük kaldı, yani Ramazan Orucu TAS düzeyleri üzerinde oldukça olumlu etki yapmakta ve kan pulcuklarımızın antioksidan güçlerini artırmaktadır. Antioksidan potansiyeli yükselen kan pulcukları da sağlıklı fonksiyon görmeleri bakımından büyük önem taşımaktadır. Ayrıca ramazan öncesinde TOS düzeyi Ramazan ortası ve sonuna göre daha yüksek tespit edildi. Bu da yine Ramazan Orucunun trombositlerin oksidan antioksidan dengelerini olumlu etkileyerek oksidatif stres indekslerini düşürdüklerini ortaya koymaktadır. Yaptığımız korelasyon

analizlerinde TOS düzeyleri ile trombosit sayısı (PLT) ile PCT arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeylerde negatif korelasyon tespit edildi. Bu da bize oksidatif stresin artması ile trombositlerin yıkıma uğradığını veya yapılarının baskılandığını, bu nedenle sayılarının da azaldığını göstermektedir. Kan pulçuklarımızın sağlıklı işlev görmeleri özellikle kanama diatezleri açısından büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle kanama diatezleri ve trombositlerin iştirak ettiği diğer patolojik durumlarda orucun bu olumlu etkilerinin göz önüne alınmasını tavsiye edebiliriz.



## 6. SONUÇ

Kan hücrelerimiz arasında sayılan ve kan pulçukları olarak da bilinen trombositlerimizin oksidan-antioksidan dengelerini incelediğimiz çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular ışığı altında Ramazan Orucunun bu dengeyi antioksidanlar lehine değiştirdiğini, toplam antioksidan kapasiteyi artırdığını toplam oksidan seviyeyi ise azalttığını söyleyebiliriz. Ayrıca artmış oksidan seviye ile trombosit sayısı ve PCT arasında anlamlı negatif korelasyonun bulunması oksidatif stresin platelet işlevlerini negatif yönde etkilediğini göstermesi açısından önem taşımaktadır. Buna göre trombositlerin kolay parçalandığı, sayılarının azaldığı veya aşırı üretildiği patolojik durumlarda bu durumun göz önünde bulundurulması fayda sağlayacaktır.

Literatür bilgilerimiz ışığında şu ana kadar ilk kez yapılan bu araştırmanın sonuçlarının trombositlerle ilgili planlanmış ya da planlanacak olan diğer araştırmalara yol gösterecektir. Fakat çalışma grubumuzu daha geniş tutarak daha detaylı yoğun ileri araştırmalarla çalışma sonuçlarımızın teyit edilmesi çalışmamızın değerini artıracaktır.



## 7. KAYNAKLAR

- 1- Erişim: <http://oruc.nedir.com/#ixzz36uqfNbx>(son erişim tarihi 20.07.2014)
- 2-Erişim:<http://turkish.irib.ir/makaleler/dini-makaleler/item/283963> orucun-insan-üzerindeki-etkileri (son erişim tarihi 20.07.2014)
- 3- Ziaee V, Razaee M, Ahmadinejad Z, Shaikh H, Yousefi R, Yarmohammadi L. The changes of metabolic profile and weight during Ramadan fasting. Singapore Med J 2006;47(5):409-14
- 4- Anonim. <http://www.nenasilyapilir.net/saglikli-yasam/oruc-insani-nasil-etkiler-orucun-sagliğa-faydalari.html> 2013.
- 5- Halliwell B. Antioxidants and Human Disease: curiosity, cause or consequence? Lancet, 1994;344:721-24.
- 6- Dilek ON. Serbest Radikaller ve Cerrahi. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar Araştırma Derneği III.Ulusal Kongresi. Afyon, 23-30 Mart 2003;6
- 7- Yeum KJ, Russell MR, Krinsky IN, Adlini G. Biomarkers of antioxidant capacity in hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2004;430: 97-103
- 8- San I, Ulas T, Bozkus F, Iynen I, Yesilova Y, Sezen H, Aksoy N. Prolidase activity and oxidative stress parameters in patients with nasal polyps.Clin Ter. 2013 May-Jun;164(3):209-13. doi: 10.7417/CT.2013.1557.
- 9- Altuntaş H, Karagöz İ. 2. baskı, Oruç İlmihali, Diyanet İşleri Başkanlığı Yayınları, Ankara, 2010; 39-41
- 10- Erişim: <http://www.kafkas-akademi.com/haberler/oruc-39'un-bilimsel-ve-dini-yonden-faydalari-444.html> (son erişim tarihi 28.07.2014)
- 11- Erişim: <http://www.alternatifterapi.com/icerik/oruc-nedir> (son erişim tarihi 26.07.2014)
- 12- Erişim: <http://www.izafet.com/islam-ve-insan/153036-din-ve-bilim-acisindan-oruc-saglik.html#ixzz23AYc1xNP> (son erişim tarihi 28.07.2014)
- 13- Gökmen N. <http://nursyifa.info/Health/4TheMuslimFastandBodyPt1.htm#top> 2 İstanbul 19.09.2006 <http://sufizmveinsan.com>.
- 14- Adlouni A, Ghalim N, Benslimane A, Lecerf JM, Saile R. Fasting during Ramadan induces a marked increase in high-density lipoprotein cholesterol and decrease in low density lipoprotein cholesterol. Ann Nutr Metab. 1997;41(4):242-9.

- 15- Adlouni A, Ghalim N, Saïle R, Hda N, Parra HJ, Benslimane A. Beneficial effect on serum apo AI, apo B and Lp AI levels of Ramadan fasting. *Clin Chim Acta*. 1998 Mar 23;271(2):179-89.
- 16- Maislos M, Abou-Rabiah Y, Zuili I, Iordash S, Shany S. Gorging and plasma HDL-cholesterol—the Ramadan model. *Eur J Clin Nutr*. 1998 Feb;52(2):127-30.
- 17- Aksungar FB, Eren A, Ure S, Teskin O, Ates G. Effects of intermittent fasting on serum lipid levels, coagulation status and plasma homocysteine levels. *Ann Nutr Metab*. 2005 Mar-Apr;49(2):77-82. Epub 2005 Mar 29.
- 18- Aksungar FB, Topkaya AE, Akyildiz M. Interleukin-6, C-reactive protein and biochemical parameters during prolonged intermittent fasting. *Ann Nutr Metab*. 2007;51(1):88-95. Epub 2007 Mar 19.
- 19- Lamri-Senhadji MY, El Kebir B, Belleville J, Bouchenak M. Assessment of dietary consumption and time-course of changes in serum lipids and lipoproteins before, during and after Ramadan in young Algerian adults. *Singapore Med J*. 2009 Mar;50(3):288-94.
- 20- Halliwell B. Reactive Oxygen Species and the Central Nervous System. *J Neurochem*. 1992;59:1609-23.
- 21-Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi* 1997; 3-4:92-95.
- 22-Meister A. Glutathione, ascorbate and cellular protection. *Cancer Research*. 1994;54:1969-75-73.
- 23- Southorn P, Powis G. Free radical in medicine I. Chemical nature and biological reactions. *J Mayo Clin Proc*, 1988;63(3):381–8.
- 24-Flora SJ. Role of free radicals and antioxidants in health and disease. *Cell Mol Biol*, 2007; 53:1-2.
- 25- JMC. Free radicals in biology and medicine. 2nd ed. Oxford: Clarendon Press, 1989;188-96.
- 26- Arıcıoğlu A. Serbest Oksijen Radikalleri ve Hücre Hasarı. Doktor, Mayıs 1994.
- 27-Saugstad OD. Mechanisms of tissue injury by oxygen radicals: implications for neonatal disease. *Acta Paediatr* 1996;85:1–4.
- 28- Naito Y, Lee MC, Kato Y, Nagai R, Yonei Y. Oxidative stress markers. *Anti-Aging Medicine*, 2010; 7(5): 36-44.
- 29- Akkuş I. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 1. baskı. Mimoza yayınları, 1995;3-157.
- 30- Urso ML, Clarkson MP. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*, 2003; 189: 41-54

- 31- Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygenradicals, transitionmetal sand disease. *Biochem J*, 1984;219;1-14
- 32- Halliwell B, Gutteridge JMC. Role of Free Radical sand Catalytic Metal İons in Human Disease: An overview. *Methods Enzymol*,1990; 49(3): 577-87
- 33- Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease, *J Clin Pathol*, 2001; 54:176-86
- 34- Aslan R, Şekeroğlu MR, Bayiroğlu F. Serbest Radikal Türlerin Membran Lipid Peroksidasyonuna Etkileri ve Antioksidan Savunma, *Y.Y.Ü Sağlık Bil. Derg.*1995;2(1); 137-42
- 35- Church DF, Pryor WA. Free Radical chemistry of cigarette smoke and it stoxicological implications. *Environ. Health Perspect*, 1985; 64: 111-26
- 36- Zwart DeLL, Meerman JHN, Commandeur JNM, Vermeulen NPE. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radical Biology and Medicin.* 1999; 26: 202-26
- 37- Akkuş İ. Serbest Oksijen Radikalleri ve Fizyopatolojik Etkileri. *Mimoza BasımYayınve Dağıtım, Konya*:1995;1-15
- 38- Fridovich I. Oxidative Stres. *Encyclopedia of Life Sciences.* Nature Publishing Group, 2001.
- 39- Nordberg J, Arner ESJ. Reactive Oxygen Species, Antioxidants and The Mammalian Thioredoxin System. *Free Radical Biology and Medicine*, 2001; 31(11): 1287-317
- 40- Kurutaş Belge E, İnanç GF, Kılınç M. Serbest Radikaller. *Arşiv*, 2004; 13:120-13
- 41- Zimmerman BJ, Granger DN. Mechanisms of reperfusion injury. *Am. J. Med. Sc.*, 1994; 307:284–92
- 42- Kontos HA, Wei EP, Ellis EF, Jenkins LW, Povlishock JT, Rowe GT, Hess ML. Appearance of superoxideanion radical in cerebral extracellular space during increased prostaglandin synthesis in cats. *Circ. Res.* 1985; 57:142–51
- 43- McIntyre M, Bohr DF, Dominicza AF. Endothelial function in hypertension. *Hypertension* 1999;34:539–45.
- 44 Oruç Özcan E. 2,4-Diamin ve Azinfosmetilin *Tilapia Nilotica*'da Karaciğerde Antioksidan Enzim Aktivitelerine ve Lipid Peroksidasyonuna Etkileri. *Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana*, 1998
- 45- Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chemistry* 1995;41:1819-28
- 46- Hinder RA, Stein HJ. Oxygen-derived free radicals. *Arch Surg*.1991;126:104-5

- 47- Halliwell B, Gutteridge JM. Free radicals in biology and medicine. 2 thEd. Oxford: Clarendon Pres, 1989.125
- 48- Ünal B. B Talasemi ve G6PD Enzim Eksikliğinde MDA Düzeyi. Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Adana, 1999.
- 49- Meram İ, Aktaran Ş. Serbest Radikallerin Biomoleküller Üzerine Etkileri. Arşiv. 2002;11:299.
- 50- Özkan A, Fıskın K. Serbest Oksijen Radikalleri, Karsinogenez ve Antioksidant Enzimler. Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi. 2004; 14:52-60
- 51- Sodergen E. Lipid Peroxidation İn vivo Evolution and Application of Methods for Measurements, Sweeden, Tryck&Medier, 2000.
- 52- Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. Clinica Chimica Acta. 2001; 306:1-17
- 53- Thomas MJ. The role of free radicals and antioxidants: how do we know that they are working? Critical Reviews in Food Sci. Nutrition, 2000;32:21-39.
- 54- Cighetti G, Duca L, Bortone L, Sala S, Nava I, Fiorelli G, Cappellini MD. Oxidative Status and Malon dialdehyde in  $\beta$ -thalassaemia Patients. European Journal of Clinical Investigation. 2002; 32:55-601
- 55- Word RJ, Peters TJ. Free radicals. Kaplan LA, Pesce AJ editors. Clinical chemistry. 3 thEd. Mosby Year Book, Inc. 1996; 765-77.
- 56- Percival M. Antioxidants. Clinical Nutrition Insights. 1998; 98(10): 1-4.
- 57- Sorg O. Oxidative stres: a theoretical model or biological reality?. C.R.Biologies, 2004;327:649-662.
- 58- Bowler RP, Crapo JD. Oxidative Stres in Allergic Respiratory Diseases. J .Allergy Clin İmmunol. 2002;110(3):349-56.
- 59- Kinnula VL, Paakko P, Soini Y. Antioxidant enzymes and redox regulating thiol proteins in malignancies of human lung. FEEBS, 2004;1-6
- 60- Knapen MFCM, Zusterzeel PLM, Peters WHM, Steegers EAP. Glutathione and Glutathione-Related Enzymes in Reproduction. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. 1999;82: 171-84
- 61- Lucente G, Luisi G, Pinnen F. Design and Synthesis of Glutathione Analogues. II Framaco. 1998; 53:721-35.
- 62- Sies H. Glutathione and Its Role in Cellular Functions. Free Radical Biology and Medicine. 1999; 27:916-21.

- 63- Cnubben NHP, Rietjens IMCM, Wortelboer H, Zanden J, Bladeren PJ. The interplay of glutathione-related processes in anti oxidant defense. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2001; 10:141-52.
- 64- Hall L, Williams K, Perry ACF, Frayne J, Jury JA. The majority of human glutathione peroxidase type 5 (GPX5) transcripts are incorrectly spliced: implications for the role of GPX5 in the male reproductive tract. *Biochem J*. 1998;333:5-9.
- 65- Haan JB, Bladier C, Griffit P, Keiner M, O'shea RD, Kola İ. Mice with a homozygous null mutation for the most abundant glutathione peroxidase, Gpx1, show increased susceptibility to the oxidative stress-inducing agents paraquat and hydrogen peroxide. *Issue of August*. 1998;273(35):22528-22536.
- 66- Strange RC, Spiteri MA, Ramchandran S, Fryer AA. Glutathione-S-transferase family of enzymes. *Mutation Research*. 2001; 482:21-26.
- 67- Oberley LW. Representative of Polypeptide Structure of Bovine CuZnSOD. *Superoxide Dismutase*, 1982;1:28
- 68- Kinnula VL, Crapo JD. Superoxide Dismutases in Malignant Cells and Human Tumors. *Free Radical Biology and Medicine*. 2004; 36(6):718-44
- 69- Erişim (James@catalase.com) Erişim tarihi: 21.01.2004
- 70- Zamocky M, Koller F. Understanding the structure and function of catalases: clues from molecular evolution and in vitro mutagenesis. *Progress in Biophysics & Molecular Biology*. 1999;72: 19-66
- 71- Ernster L, Dallner G. Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochim. Biophys. Acta*, 1995; 1271:195–204;
- 72- Xia L, Björnstedt M, Nordman T, Eriksson LC, Olsson JM. Reduction of ubiquinone by lipoamide dehydrogenase. An antioxidant regenerating pathway. *Eur. J. Biochem*. 2001; 268:1486– 90
- 73- Frei B, Stocker R, England L, Ames BN. Ascorbate: the most effective antioxidant in human blood plasma. *Av Exp Med Biol*. 1990; 264:155-63.
- 74- Sies H, Stahl W, Sundquist AR. Antioxidant function of vitamins. Vitamin E and C, beta-carotene and other carotenoids. *Ann N Y Acad Sci*, 1992;669:7-20.
- 75- Tadmouri GO, Başak AN. B-thalassemia in Turkey; A review of the clinical epidemiological molecular and evolutionary aspects. *Hemoglobin*. 2001;25(2):227-39.
- 76- Burtis CA, Ashwood ER. Vitaminler. Aslan D. Eds. *Klinik Kimyada Temel İlkeler*. Ankara: Palme Yayınları, 2005: 548-550, 332-333, 578-601.
- 77- Nijveldt RJ, Noad E, Hoorn DEC, Boelens PG, Norren K, Leeuwen PAM. Flavonoids: a review of probable mechanism of action and potential applications. *Am J Clin Nutr*. 2001;74:418-25.

- 78- Onat T, Eerk K, Sözmen YE. İnsan Biyokimyası. Ankara: Palme Yayıncılık. 2002: 135,535-36.
- 79- Becker MA, Roessler BJ. Hyperuricemia and Gout. In Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, New York: 7<sup>th</sup> Ed. McGraw-Hill, 1995: 1655-77.
- 80- Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. Clinica Chimica Acta. 2001; 306: 1-17
- 81- Dormandy TL. An approach to free radicals. Lancet, 1983; 322: 1010-13.
- 82- Kaynak K. Akciğer kanserinde oksidatif hasarın rolü. Solunum, 2002; 4(4): 468-73
- 83- Hartwig J ve Italiano Jr. "The birth of the platelet." J Thromb Haemost 2003; 1(7): 1580-6.
- 84- White JG. Platelet ultrastructure. In: Bloom AL, Thomas DP (eds.) Haemostasis and Thrombosis, 2nd ed. Churchill Livingstone, Edinburgh, p.20. .1987
- 85- Nurden AT ve Caen JP. "Membrane glycoproteins and human platelet function." Br J Haematol (1978) 38(2): 155-60.
- 86- Tracy PB. Regulation of thrombin generation at cell surfaces." Semin Thromb Hemost 1988; 14(3): 227-33.
- 87- Zucker-Franklin D. The submembranous fibrils of human blood platelets." J Cell Biol. 1970; 47(1): 293-9.
- 88- White JG. Effects of colchicine and Vinca alkaloids on human platelets. I. Influence on platelet microtubule and contractile function. Am J Pathol 1968; 53(2): 281-91.
- 89- Fox JE ve ark. Actin filament content and organization in unstimulated platelets. J Cell Biol 1984; 98(6): 1985-91.
- 90- Fox JE. The platelet cytoskeleton. Thromb Haemost . 1993; 70(6): 884-93.
- 91- White JG. Identification of platelet secretion in the electron microscope. Ser Haematol 1973; 6(3): 429-59.
- 92- White JG. Electron microscopic studies of platelet secretion. Prog Hemost Thromb 1974; 2(0): 49-98. 91-
- 93- Cutler L ve ark. Cytochemical localization of adenylate cyclase and of calcium ion, magnesium ion-activated ATPases in the dense tubular system of human blood platelets. Biochim Biophys Acta 1978; 542(3): 357-71.
- 94- Weiss HJ. Platelet physiology and abnormalities of platelet function (first of two parts). N Engl J Med 1975; 293(11): 531-41.

- 95- Bouvard D ve ark. Functional consequences of integrin gene mutations in mice. *Circ Res* . 2001; 89(3): 211-23.
- 96- Roth GJ. Platelets and blood vessels: the adhesion event. *Immunol Toda*. 1992;13(3): 100-5.
- 97- Koca E, Haznedaroğlu İC, Büyükaşık Y. Trombosit aktivasyonu. *Türk J Cardiol* 2007;10:82-90.
- 98- Rink TJ. ve Sage SO. Calcium signaling in human platelets. *Annu Rev Physiol* 1990;. 52: 431-49.
- 99- Ginsberg MH ve ark.. The mechanism of thrombin-induced platelet factor 4 secretion. *Blood* 1980;55(4): 661-8.
- 100- Stenberg PE ve ark. Redistribution of alpha-granules and their contents in thrombin-stimulated platelets. *J Cell Biol* 1984; 98(2): 748-60.
- 101- Holmsen H. ve Day HJ. The selectivity of the thrombin-induced platelet release reaction: subcellular localization of released and retained constituents. *J Lab Clin Med* 1970; 75(5): 840-55.
- 102- Nurden P. ve ark. An inherited bleeding disorder linked to a defective interaction between ADP and its receptor on platelets. Its influence on glycoprotein IIb-IIIa complex function. *J Clin Invest* 1995; 95(4): 1612-22.
- 103- Poncz M ve ark. Structure of the platelet membrane glycoprotein IIb. Homology to the alpha subunits of the vitronectin and fibronectin membrane receptors. *J Biol Chem* 1987; 262(18): 8476-82.
- 104- Weisel JW. ve ark. Examination of the platelet membrane glycoprotein IIb-IIIa complex and its interaction with fibrinogen and other ligands by electron microscopy. *J Biol Chem* 1992; 267(23): 16637-43.
- 105- Yamada E. The fine structure of the megakaryocyte in the mouse spleen. *Acta Anat (Basel)* 1957; 29(3): 267-90.
- 106- Shaklai M. ve Tavassoli M. Demarcation membrane system in rat megakaryocyte and the mechanism of platelet formation: a membrane reorganization process. *J Ultrastruct Res* 1978; 62(3): 270-85.
- 107- Kosaki G. *In vivo* platelet production from mature megakaryocytes: does platelet release occur via proplatelets? *Int J Hematol* 2005; 81(3): 208-19.
- 108- Radley JM. ve Hartshorn MA. Megakaryocyte fragments and the microtubule coil. *Blood Cells* 1987; 12(3): 603-14.
- 109- Radley JM. ve Haller CJ. The demarcation membrane system of the megakaryocyte: a misnomer? *Blood* 1982; 60(1): 213-9.

- 110- Becker RP. ve De Bruyn PP. The transmural passage of blood cells into myeloid sinusoids and the entry of platelets into the sinusoidal circulation; a scanning electron microscopic investigation. *Am J Anat* 1976; 145(2): 183-205.
- 111- Wright J. The origin and nature of blood platelets. *Boston Med Surg J* 1906;154:643-5
- 112- Thiery JB. ve Bessis M. Platelet genesis from megakaryocytes observed in live cells. *C R. Acad Sci Paris.* 1956;;242:290.
- 113- Behnke O. An electron microscope study of the rat megakaryocyte. II. Some aspects of platelet release and microtubules. *J Ultrastruct Res* 1969; 26(1): 111-29.
- 114- Becker RP. ve De Bruyn PP. The transmural passage of blood cells into myeloid sinusoids and the entry of platelets into the sinusoidal circulation; a scanning electron microscopic investigation. *Am J Anat* 1976; 145(2): 183-205.
- 115- Cho ES. ve ark. Platelets generated in vitro from proplatelet-displaying human megakaryocytes are functional. *Blood* 1995;85(2): 402-13.
- 116- Cramer EM. ve ark. Ultrastructure of platelet formation by human megakaryocytes cultured with the Mpl ligand. *Blood* 1997;89(7): 2336-46.
- 117- Leven RM. Megakaryocyte motility and platelet formation. *Scanning Microsc* 1987;1(4): 1701-9.
- 118- Tavassoli M. ve Aoki M. Localization of megakaryocytes in the bone marrow. *Blood Cells* 1989;15(1): 3-14.
- 119- Lecine P. ve ark. Mice lacking transcription factor NF-E2 provide *in vivo* validation of the proplatelet model of thrombocytopoiesis and show a platelet production defect that is intrinsic to megakaryocytes. *Blood* 1998;92(5): 1608-16.
- 120- Italiano J. ve ark. Blood platelets are assembled principally at the ends of proplatelet processes produced by differentiated megakaryocytes. *J Cell Biol* 1999;147(6): 1299-312.
- 121- Kaushansky K. Thrombopoietin: a tool for understanding thrombopoiesis. *J Thromb Haemost* 2003;1(7): 1587-92.
- 122- Segal G. Ve ark. Analysis of murine megakaryocyte colony size and ploidy: effects of interleukin-3. *J Cell Physiol* 1988;137(3): 537-44.
- 123- Kaushansky K. Lineage-specific hematopoietic growth factors. *N Engl J Med* 2006; 354(19): 2034-45.
- 124- Ito T. ve ark. Recombinant human c-Mpl ligand is not a direct stimulator of proplatelet formation in mature human megakaryocytes. *Br J Haematol* 1996;94(2): 387-90.



- 125- Kaluzhny Y. ve Ravid K. Role of apoptotic processes in platelet biogenesis. *Acta Haematol* 2004;111(1-2): 67-77.
- 126- Sanz C ve ark. Antiapoptotic protein Bcl-x(L) is up-regulated during megakaryocytic differentiation of CD34(+) progenitors but is absent from senescent megakaryocytes. *Exp Hematol* .2001;29(6): 728-35.
- 127- De Botton S ve ark. Platelet formation is the consequence of caspase activation within megakaryocytes. *Blood* 2002;100(4): 1310-7.
- 128- Battinelli E. ve Loscalzo J. Nitric oxide induces apoptosis in megakaryocytic cell lines." *Blood* 2000; 95(11): 3451-9.
- 129- Kim ve ark. Gene expression profile of megakaryocytes from human cord blood CD34(+) cells ex vivo expanded by thrombopoietin. *Stem Cells*. 2002;20(5): 402-16.
- 130- Clarke MC ve ark.. "Compartmentalized megakaryocyte death generates functional platelets committed to caspase-independent death." *J Cell Biol* 2003;160(4): 577-87.
- 131- Kerrigan S ve ark. Caspase-12: a developmental link between G-protein-coupled receptors and integrin alphaIIb beta3 activation. *Blood* 2004;104(5): 1327-34.
- 132- Hasselmark L, Malmgren R, Unge G, Zetterstro"m O. Lowered platelet glutathione peroxidase activity in patient swith in trinsic asthma. *Allergy* 1990;45:523-7.
- 133- Southorn P, Powis G. Free radical in medicine I. Chemical nature and bidogicalreactions. *J. Mayo Clin. Proc.* 1988; 63(3): 381-8.
- 134- Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp dergisi*. 2002; 33(2): 110-8. 41.
- 135- Harma M, Harma M, Kocyigit A, Erel O. Increased DNA damage in patients with complete hydatidiform mole. *Mutat Res*. 2005;49-54. Epub 2005.
- 136- Erişim: <http://oruc.nedir.com/#ixzz36uqfNbxd>(son erişim tarihi 20.07.2014)
- 137-Erişim:<http://turkish.irib.ir/makaleler/dini-makaleler/item/283963> orucun-insan-üzerindeki-etkileri (son erişim tarihi 20.07.2014)
- 138- McHardy DA, Ephraim M. The fast of Ramadan. *BMJ*. 1992 25;304 (6834): 1114.
- 139-Husain R, Duncan MT, Cheah SH, Ch'ng SL. Effects of fasting in Ramadan on tropical Asiatic Moslems. *Br. J.Nutr.*1987;58: 41-8.
- 140-Mustafa KY, Mahmoud NA, Gumaa KA, Gader AM. The effects of fasting in Ramadan. 2. Fluid and electrolyte balance. *Br. J. Nutr.*1978;40: 583-9.
- 141- Anonim, <http://www.oksante.com.tr/oksantest.pdf>

- 142- Incebiyik A, Camuzcuoglu A, Hilali NG, Ulas T, Vural M, Camuzcuoglu H, Aksoy N. Serum oxidative stress, visfatin and apelin in healthy women and those with premenstrual syndrome. *J Obstet Gynaecol.* 2015 Feb;35(2):188-92. doi: 10.3109/01443615.2014.948399. Epub 2014 Aug 11.
- 143- Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *J. Clinical Biochemistry* 2004; 37: 112– 9.
- 144-Tabur S, Aksoy SN, Korkmaz H, Ozkaya M, Aksoy N, Akarsu E. Investigation of the role of 8-OHdG and oxidative stress in papillary thyroid carcinoma. *Tumour Biol.* 2014 Dec 2. [Epub ahead of print]
- 145- Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *J. Clinical Biochemistry* 2005; 47(5): 119– 29)
- 146- Ibrahim WH, Habib HM, Jarrar AH, Al Baz SA. Effect of Ramadan fasting on markers of oxidative stress and serum biochemical markers of cellular damage in healthy subjects. *Ann Nutr Metab.* 2008;53(3-4):175-81.
- 147- Öztürk E, Balat Ö, Uğur MG, Yazıcıoğlu C, Pence S, Erel Ö, Kul S. Effect Of Ramadan Fasting on Maternal Oxidative Stres During the Second Trimester: A preliminary study *J. Obstet. Gynaecol. Res.* Vol. 37, No. 7: 729–733, July 2011