

T1548



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

AKUT KORONER SENDROMLU HASTALARDA OKSİDATİF STRES BELİRTEÇLERİ

Uzmanlık Tezi

Dr. Yaşar TUNA

Tez Danışmanı

T 1548

Prof.Dr. Gülşen YAKUPOĞLU

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ KÜTÜPHANESİ

“Tezinden kaynakça gösterilerek yararlanılabilir”

Antalya, 2003

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübesi ile yol gösteren ve desteğini esirgemeyen A.Ü. Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Gülşen Yakupoğlu' na, yetişmemde emeği geçen tüm hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık tezimin gerçekleşmesindeki desteğinden dolayı A.Ü. Tıp Fakültesi Kardiyoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Filiz Ersel Tüzüner ve Uzm. Dr. Fatma Topuzoğlu Sezer' e, eğitimime ve tezimin planlanmasındaki desteğinden dolayı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi 3. İç Hastalıkları Klinik Şefi Uzm. Dr. Fatih Borlu' ya, biyokimyasal analizlerin gerçekleşmesi ve değerlendirilmesindeki katkılarından dolayı Sayın Prof. Dr. Tomris Özben ve Araş. Gör. Evrim Dursun' a, çalışma hastalarının temin edilmesindeki katkılarından dolayı tüm kardiyoloji bölümü asistan arkadaşlarıma ve bana destek olan aileme teşekkür ederim.

KISALTMALAR

- ADP : Adenozin difosfat
- AKS : Akut koroner sedrom
- AMI : Akut miyokard enfarktüsü
- ATP : Adenozin trifosfat
- CoA : Koenzim A
- DNA : Deoksiribonukleik asit
- ELİSA : Enzim bağlı immun assay
- ETS : Elektron transport sistemi
- GC-MS : Gas kromatografi kutle spektometre
- GSH : Glutasyon
- GSHPx : Glutasyon peroksidaz
- GSHp : Plazmada indirgenmiş glutasyon
- Hb : Hemoglobin
- HT : Hipertansiyon
- İso-PGF₂ α : İsoprostane prostaglandin F₂ α
- KAH : Koroner arter hastalıkları
- KB : Kan basıncı
- KDH : Kalp damar hastalıkları

KYBÜ : Koroner yoğun bakım ünitesi

LDH : Laktat dehidrojenaz

LDL : Düşük dansiteli lipoprotein

LP : Lipid peroksidasyonu

MDA : Malondialdehid

MPO : Myeloperoksidaz

NO : Nitrik oksit

NSAID : Nonsteroid antiinflamatuar ilaç

USAP : Stabil olmayan angina pectoris

PUFA: Poliansature yağ asitleri

ROT : Reaktif oksijen türleri

SH : Standart hata

SOD : Süperoksit dismutaz

SR : Serbest radikal

X : Ortalama

TBA : Tiyobarbiturik asit

TBARS : Tiyobarbiturik asit reaktif türevleri

XOD : Ksantin oksidaz

Vit : Vitamin

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
Kısaltmaların Dizini	iv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2. 1. Epidemiyolojik risk faktörleri	6
2. 1. 1. Hiperkolesterolemi	6
2. 1. 2. Hipertansiyon	7
2. 1. 3. Sigara	7
2. 1. 4. Diabetes Mellitus	8
2. 2. Patogenez	9
2. 2. 1. Aterogenez	9
2. 2. 2. Aterogenez hipotezleri	9
2. 3. İskemi sonrası olaylar	9
2. 3. 1. İskemik ön koşullanma (preconditioning) etkisi	10
2. 3. 2. No reflow fenomen	10
2. 3. 3. Miyokardiyal stunning	11

2. 3. 4. Miyokardiyal hibernatio	11
2. 3. 5. Reperfüzyon hasarı	11
2. 3. 6. Miyokardiyal nekroz	12
2. 4. Serbest Oksijen Radikalleri Tarihçe ve Terminoloji	12
2. 5. Serbest Radikallerin Reaksiyonları	13
2. 5. 1. Proteinler üzerine etkileri	13
2. 5. 2. DNA ve Nükleik asit üzerine etkileri	14
2. 5. 3. Karbonhidrat üzerine etkileri	15
2. 5. 4. Lipidler üzerine etkileri	15
2. 6. Antioksidan mekanizmalar	17
2. 6. 1. Hücre içi antioksidanlar	18
2. 6. 2. Membran antioksidanları	19
2. 6. 3. Hücre dışı antioksidanları	20
2. 7. Oksidatif stres ve Kalp	22
2. 7. 1. Oksidatif stres ve İskemi	22
2. 7. 2. Oksidatif stres ve Reperfüzyon	24
2. 8. Oksidatif stres ve Ateroskleroz	24
2. 9. Oksidatif stresin değerlendirilmesinde kullanılan biyokimyasal yöntemler	25

3. MATERYAL VE METOD	28
3. 1. Hastalar	28
3. 2. Laboratuvar Analizleri	29
3. 3. İstatistiksel analiz	29
4. BULGULAR	31
5. TARTIŞMA	35
6. KAYNAKLAR	40

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Aterosklerotik koroner arter hastalıkları (KAH) gelişmiş ülkelerdeki ölümlerin en önemli nedenidir. Tüm kalp hastalıklarına bağlı ölümlerin 2/3'ü ve tüm ölümlerin %50-75'ini oluşturan önemli bir halk sağlığı problemidir. Son 25 yıl içinde sanayileşmiş toplumlarda KAH'a bağlı morbidite ve mortalitede önemli azalma sağlanmasına rağmen, halen toplum sağlığını tehdit eden önemli hastalık grubunu oluşturmaktadır (1,2)

KAH'nın teşhis ve tedavisinde önemli ilerleme kaydedilmiştir. Ancak teşhis ve tedavinin ekonomik maliyetinin yüksekliği, araştırmacıları bu hastalık için primer önleme çalışmalarına yönlendirmiştir. Koruyucu tedbirlerin uygulanması ile kardiyovasküler hastalıklara bağlı morbidite ve mortalitede %30 civarında azalma sağlanmıştır. Akut miyokard infarktüsü tedavisinde prognozu etkileyen büyük gelişmeler sağlanmıştır. Koroner bakım ünitelerinin kurulması ile ölümcül aritmilerin hızlı ve etkin tedavisinin gerçekleşmesi ile başlayan ve daha çok komplikasyonların önlenmesine yönelik olan akut miyokard infarktüsü tedavisi daha sonra miyokard canlılığının kurtarılması ve korunması yönünde gelişmiştir (1,3)

Enerji elde etmek için gerekli oksidasyon reaksiyonları sırasında, oksijen molekülleri indirgenir ve bazı oksijen ara ürünleri ortaya çıkar. Bu ara ürünlerin bazıları " serbest radikal " denilen kimyasal açıdan çok aktif moleküllerdir (10,15), örneğin superoksit, hidroksi, peroksi radikalleri gibi, bazıları ise, örneğin hidrojen peroksit ve hipokloröz asit gibi, serbest radikal oluşumuna yol açan bileşiklerdir (15). Bunların tümüne birden reaktif oksijen türleri (ROT) denilmektedir (7,10,)

Reaktif oksijen türleri hücrelerde lipidlere, proteinlere, DNA'ya ve karbonhidratlara saldırarak önemli değişikliklere yol açarlar. Bunlardan lipidlerle etkileşme sonucu açığa çıkan lipid peroksidasyonu (LP) özellikle önemlidir (4,14,19). LP Otokatalitik bir olaydır, dolayısıyla giderek yayılma eğilimindedir. Benzer şekilde, ROT' nin proteinlerle olan etkileşmesi de başlangıçtaki reaksiyonu genişleten ürünler oluşturur. Sonuçta hücrenin

membran yapılarında, özellikle plazma membranında, mitokondrilerinde, enzimlerinde, reseptörlerinde, taşıyıcı proteinlerinde fonksiyonel değişiklikler olur ve buna bağlı doku hasarı görülür (6,13,15)

ROT organizmada mitokondriyel elektron taşınımı, fagositoz, mikrozomal detoksifikasyon işlemleri gibi normal olaylar sonucu da açığa çıkabilen moleküllerdir. Bu nedenle oksijensiz solunumdan oksijenli solunuma geçiş sırasında, oksijenin toksik etkilerini önlemek üzere canlılarda özel antioksidan sistemler gelişmiştir. Bu antioksidan sistemler içinde proteinlerin tiyol grupları, tiyol içeren amino asitler ve peptidler, E ve C gibi vitaminler, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi reaktif oksijen türlerini etkisiz kılan enzimler yer alır (7,52). Sağlıklı bireylerde ROT ile antioksidan sistem arasında bir tür denge vardır. Yaşlanma sürecinde ve kanser gibi yaşlanmayla birlikte görülme sıklığı artan hastalıklarda olduğu gibi, yavaş kümülatif bir oksidatif hasar söz konusudur. Oksidatif stres kavramı reaktif oksijen radikalleri ile antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengesizlik olarak tanımlanmaktadır. Reaktif oksijen türlerinin, günümüzde sayıları 100'ü aşkın, birbirinden farklı pek çok hastalıkla ilişkili olduğu ileri sürülmektedir ve bu ilişki iki yönlüdür. Belirli hastalıklarda ROT' nin oluşumu artar, buna karşılık ROT belirli hastalıkların gelişmesinde etkindir (7,15,54). Bu hastalıkların başında kalp damar hastalıkları gelmektedir (10). ROT'nin aterosklerozda, kalpte iskemi-reperfüzyon hasarında, transluminal koroner anjiyoplastide, esansiyel hipertansiyonda, konjestif kalp yetmezliğinde attığı ileri sürülmektedir (11,12,13). İskemi serbest radikal oluşumunu artırır (13). Aterosklerotik lezyonlarda ROT sonucu gelişen lipid peroksidasyonunun köpük hücrelerin oluşumuna yol açtığı belirtilmiştir (14). Fakat oksidatif stres hastalıklarının patofizyolojisinde hala bir hipotez olarak tartışılmaktadır (11,15,16).

ROT'nin doğrudan ölçümlerini yapmak güçtür. Bunların yerine malonildialdehit (MDA) (22), Schiff bazları, floresan hasar ürünleri gibi lipid peroksidasyonu ürünleri ölçülmektedir. Son yıllarda bir çok çalışmada lipid peroksidasyon reaksiyonu sonucu açığa çıkan arakitonik asitten enzimatik olmayan yolla ROT ile iso-PGF-2 α oluştuğu ileri sürülmüş ve oksidatif stres ölçüm belirteci olarak değişik biyokimyasal analiz yöntemleri ile bir

çok çalışmada tesbit edilmiştir (14,20,45,46) Siklooksigenaz yolla oluşan arakitonik asitten oluşan iso-PGF-2 α gibi endojen belirteçlerin dolaşımında serbest ve stabil olarak bulunması oksidatif stresin saptanmasında önemli avantajlar sağlar (17,18) Oksidatif stresin artması durumunda antioksidan savunma sistemleri çökeceğinden gerek enzimatik gerekse enzimatik olmayan antioksidan sistemlerde yer alan değişik moleküllerin ölçülmesi dolaylı olarak değer taşır Reaktif oksijen türlerinin biyolojik sistemlerdeki başlıca hedefleri membran lipidleridir Dolayısıyla membran yapısındaki LP ve antioksidan sistem ile ilgili ölçümler yapmak çok daha değer taşır Ayrıca, membranların ve hücrelerin peroksidasyonuna eğilimi ya da tersine direncinin ölçülmesi de oksidatif stresin iyi bir göstergesidir (15)

Çalışmamızda iskemide oksidatif stres belirteçlerinin artışının saptanması, bu belirteçler yoluyla oksidatif stres ile KAH risk faktörleri arasında ve akut koroner sendrom (AMI ve USAP) hastalarında oksidatif stres yönünden fark olup olmadığının ortaya konulması amaçlandı Oksidatif stres belirteçleri olarak, LP sonucu oluşan iso-PGF α (17,18,20,61) ve oksidatif stresin göstergesi kabul edilen konvansiyonel belirteçler MDA (22), karbonil grupları ve antioksidan belirteci sulfidril grupları (25) ölçüldü

2. GENEL BİLGİLER

Koroner arter hastalığı (KAH), kalp hastalıklarının ve gelişmiş ülkelerdeki ölümlerin en sık nedenidir (1,2,21) Akut miyokard enfarktüsü nun (AMI) en önemli nedeni koroner aterosklerozdur. Genel olarak, KAH erkeklerde kadınlardan daha fazla (4:1) rastlanılmaktadır 40 yaş öncesi KAH erkek/kadın oranı 8:1, 40-60 yaş arası 4:1 ve 70 yaşından sonra 1:1' dir Erkeklerde en sık 50-60 yaşlarında, kadınlarda ise 60-70 yaşlarında görülür. Problemin büyüklüğüne rağmen son 15-20 yılda hastane içi mortalite %30'lardan %7'lere indirilebilmiştir Bu azalmada, kolesterol seviyesi ve sigara içme oranındaki düşüşlerle yaşam tarzındaki değişikliklerin büyük rolü vardır. Ayrıca hastane öncesi resusitasyon uygulaması, koroner yoğun bakım üniteleri, trombolitik tedavi, anjioplasti veya koroner arter bypass cerrahisi gibi revaskularizasyon girişimlerinin de koroner arter hastalıklarında sağlanan bu olumlu sonuca katkısı vardır (1,2,53)

Akut Koroner Sendromlar (AKS), koroner plağın rupturu ile anstabil angina pectoris, Q-dalgasız AMI ve Q-dalgalı AMI olarak gelişen klinik durumlar olarak tanımlanır. KAH etyolojisinde hemen daima koroner arter lumenini daraltan yada daraltmayan aterosklerotik bir plak mevcuttur. En sık sebep olarak (%90), bu plakta rüptür, çatlak yada ulserasyon sonucu lümeni tamamen tıkayan trombus gelişimi ile akut miyokard infarktüsü gelişir. Diğer sebepler koroner arter spazmı (%5), geçici trombosit agregasyonu, plak içine kanama ve aterosklerotik plağın progresyonudur. Q-dalgalı AMI'da ST yükseklığı ile başlayan tam koroner tıkanma ve bütün ventrikül duvarının nekrozu sonucu kalıcı Q-dalgaları gelişmektedir. Daha düşük derecede tıkanmalar anstabil angina ve Q-dalgasız AMI ile sonuçlanır. AMI, uzamış iskemi sonucu meydana gelen irreversible miyokard nekrozudur. Koroner kan akımında ani azalma veya miyokard oksijen ihtiyacındaki ani artışın tıkalı koroner arter tarafından karşılanamaması sonucu miyokard dokusunda değişen miktarlarda

iskemik nekroz oluşur (21) Koroner kan akımı 20-30 dk'dan uzun bir süre kesildiğinde miyokardiyal iskemi geri dönüşü olmayan hücre ölümüne sebep olur Tıkanan koroner arter bölgesindeki nekroz zamana karşı bir durumdur ve ortalama 6 saat içinde endokardiyumdan epikardiyuma doğru gelişir Miyokardın kurtarılması adına en fazla yarar ilk 1-2 saatte kan akımının sağlanması ile elde edilir. Ancak koroner akımın 4-6 saat içinde düzeltilmesi de nekrozun yayılmasını önlemektedir (1,63)

Anstabil angina pektoriste koroner kan akımında en az 2, en fazla 15-20 dakika süreli azalmalar hızla bölgesel sistolik fonksiyon bozukluğuna yolaçar. Bu, sitabil angina pektoris için geçici bir durumdur. Perfüzyonun düzelmesi ile miyokard nekrozu önlenir; ancak her zaman için bölgesel duvar hareketleri aynı hızla normale dönmeyebilir. Bu duruma miyokardiyal stunning veya post iskemik miyokardiyal disfonksiyon denir. Hücre içi ATP ve kreatin fosfat düzeyinin önemli ölçüde azalması sözkonusudur. Kan akımı sağlanması ile kreatin fosfat seviyesi kısmen normale dönse de ATP seviyesinin normale dönmesi uzun bir zaman alır (60)

Son zamanlarda ateroskleroz ile düşük yoğunluklu lipoprotein (Low Density Lipoprotein: LDL) arasındaki ilişki üzerinde durulmaktadır (14,16) Plazma LDL düzeyi, LDL partikülünün başlıca karaciğerde ve diğer hücrelerin yüzeyinde bulunan reseptörlerce alınarak dolaşımdan uzaklaştırılması ile kontrol edilir. Makrofajlar LDL partikülleri için reseptörler taşırlar. Ancak, LDL lipidleri eğer aşırı peroksidasyona uğramışsa, makrofajlarda bulunan ve "çöpçü" reseptörler denilen farklı reseptörlere bağlanırlar. Bu reseptörlere bağlanan okside LDL' ler hemen makrofaj içine alınırlar, ancak lizozomal proteolize dirençlidirler ve sitokin üretimini uyarırlar (sitokinler kardiyomiyositler için toksik etki gösterir); böylece lipidce zengin "köpük hücreleri" oluşur (10,21,42)

Lipid peroksidasyonuna bağlı doku hasarı yalnızca membran lipidlerinin peroksidasyonuna bağlanamaz. Çoğu zaman hücre içi kalsiyumunda artış ve buna bağlı proteaz ve nukleaz gibi bir çok enzim aktivasyonu, membran yapısının bozulması, önemli konumdaki sulfidril gruplarının oksidasyonu (25) ve DNA hasarı çok daha önemlidir. Bugün lipid peroksidasyonunun pek çok hastalıkta hızlandığı bilinmektedir. Ancak

bu durum herhangi bir nedenle açığa çıkan doku hasarından kaynaklanabilir. Doku hasarı lipid peroksidasyonunu artırmaktadır. Bunun nedeni, doku hasarı nedeni ile ortama depolardan ya da metalloproteinlerin lizozomal enzimlerce parçalanması sonucu hücrelerden metal iyonlarının salıverilmesi, bazı antioksidanların inaktive olması, bazı antioksidanların hücreden dışarı sızarak miktarlarının azaltılmasıdır (10). Lipid peroksidasyonundaki artış ise varolan doku hasarını daha da artırır (49).

2.1. Epidemiyolojik Risk Faktörleri:

Aterosklerozun patogenezi, yapılan çalışmalarla bir derece aydınlatılabilmektedir.

Koroner arter hastalığının (KAH) gelişmesinde veya ilerlemesinde değiştirebilir risk faktörleri çok önemlidir (21).

Epidemiyolojik çalışmalarda ana değiştirilebilir risk faktörlerinin, hiperlipidemi, hipertansiyon, sigara içimi, diabetes mellitus ve vücut kitle indeksi olduğu tespit edilmiştir. KAH için daha yüksek risk taşıyanlara, düşük risk taşıyanlara kıyasla daha ciddi müdahale gerekmektedir (1,6).

2.1.1. Hiperkolesterolemi:

Yüksek plazma kolesterol konsantrasyonları ile artmış KKH riski arasındaki ilişkiye ait deliller giderek artmaktadır. Ateroskleroz, damar duvarındaki lipid birikimi ve hücre proliferasyonu ile karakterize değişikliklere bağlıdır. Bu değişiklikler damar lumeni daraltarak gerçek obstrüksiyona neden olurlar. Ateroskleroz için majör risk faktörü olan hiperkolesterolemi hakkında elimizde geniş bulgular vardır (1). Aterogenezde majör rolü total serum kolesterol seviyesinin yüksekliği oynar. Framingham çalışmasında serum kolesterol seviyesi 265mg/dL üzerinde bulunan 35-40 yaşındaki kadın erkeklerde KKH riski, serum kolesterol seviyesi 220mg/dL' nin altında bulunanlara göre 5 kat daha yüksektir (47,53,67). Hiperlipemide oksidatif stres artışına bağlı uyarılan

endotel disfonksiyonu ve aterosklerozun hızlanması konusunda güçlü deliller elde edilmiştir (13,14, 23)

2. 1. 2. Hipertansiyon:

Ateroskleroz, koroner kalp hastalığı ve strok gelişmesi için bir risk faktörüdür, yüksek diyastolik değerler daha önemlidir Kardiyovasküler hastalık için kan basıncı artışının eşik seviyesi yoktur Ancak 160/90 mmHg'dan yüksek olan kan basıncında risk artışı 2 – 3 kat daha fazladır (1) Progresif basınç artışı durumunda risk sürekli hale gelir Yükselmiş KB, vasküler endotelde hasar oluşturarak lipoproteinlerin damar duvarına geçişini artırabilir Diyet ve farmakolojik tedaviyle hipertansiyonun düşürülmesi uzun süreli kardiyovasküler prognozu iyileştirir (29) Hipertansiyona bağlı oksidatif stres ve ROT 'nin artışı birçok çalışmada saptanmıştır (25,29,56)

2. 1. 3. Sigara:

Butun kardiyovasküler risk faktörleri içinde sigara içimi en önemli olanıdır Sigara içmek kardiyovasküler ölümlerin yaklaşık üçte birinin nedenidir Sigara bırakılmasının yeri KAH' nın hem primer, hem de sekonder önlenmesinde çok büyüktür. Sigaranın bırakılmasından 2 – 3 yıl kadar sonra sigaraya bağlı ek risk hiç içmemiş kişilerle aynı düzeye inmektedir Miyokard infarktüsünden sonra sigara içmeye devam edenler ani ölüm açısından yüksek risk altındadır Sigara içenlerde sessiz iskemi riski yüksektir Birlikte hiperkolesterolemi, hipertansiyon, diabeti olan hastalarda risk katlanarak artmaktadır Sigara damar endotelinde hasar yapar ve bu genç yaşlarda da olabilir Pasif sigara içimi de bu hasarı yapabilmektedir (1,3) Sigara içicilerinde ROT ' ne bağlı oksidatif stres artar (26,30,69)

2. 1. 4. Diyabetes Mellitus:

DM, AMI' nin hastane mortalitesini 1.5-2 kat artırmaktadır. Diyabetik kadınların prognozu daha da kötü olup, bunlarda kalp yetmezliği, reinfarktüs ve tekrarlayan iskemik olaylar daha sık gelişebilmektedir. Geç mortalite de diyabetiklerde diyabetik olmayanlara göre anlamlı derecede daha yüksektir (6). Diyabetik hastalarda KKH riskinin azaltılmasında diyabetin etkin kontrolü etkili olmakta, bu hastalarda KKH riskinin artmasında fizik aktivite azlığı, lipid anormallikleri gibi birlikte bulunan diğer risk faktörlerinin de önemi vardır (1). Diyabetik hastalarda oksidatif stres artmıştır (27,31,32). İdeal vücut ağırlığından %30 veya daha fazla artış, risk faktörüdür (5,28). Ancak sıklıkla hipertansiyon, diyabet ve hiperkolesterolemi ile birlikte görülür. Anksiyete ve emosyonel faktörlere de büyük dikkat göstermek gerekmektedir. Östrojen alan kadınlarda HDL kolesterol almayanlara göre %20 daha yüksek bulunmuştur. Menstruasyon gören kadınlarda KAH nadir görülür. Menapozla birlikte KAH riski artmaktadır. Özellikle yüksek miktarda östrojen içeren oral kontraseptif alan kadınlarda MI riski artmıştır. Sigara içen, 35 yaşından sonra 5 yıldan daha uzun süreli olan kontraseptif alan hastalarda bu çok belirgindir. MI gelişme oranı (50 yaş altında) bu ajanı almayan kadınlara göre 3 – 4 kat daha yüksektir. Tip A kişiliği olanlarda (sürekli zaman ve iş stresi olan, aceleci, yarışma halinde agresif kişiler), tip B (daha rahat kişiler) ile kıyaslandığında, KKH insidensinin daha büyük olduğu düşünülmüştür. Kadınlarda KKH riski düşük olsa da 60 – 70 yaşından sonra risk aynı yaş grubu erkeklerde eşittir (1,2,33).

2. 2. Patogenez:

2. 2. 1. Ateroskleroz:

Musküler arterlerin yavaş seyreden progresif bir hastalığıdır (13) Arteriyel duvarın en iç tabakası, yağ depoziteleri ve fibröz doku ile kalınlaşmıştır. En sık yerleştiği yerler, koroner ve serebral arterlerdir. Ateroskleroz sanayileşmiş toplumlarda ani ölümlerin %80' inden sorumludur ve 40 yaş sonrası ölümlerin çoğunun sebebidir (1) Genellikle çocukluk yaşlarında başlar ve ilerleyici bir seyir göstererek, orta ve genç erişkinlik dönemlerinde klinik belirti verir. Patolojik bulguları otuz yıl önce tanımlanmış olmasına rağmen patogenezini halen tam olarak bilinmemektedir (21,34)

2. 2. 2. Aterogenez Hipotezleri:

Hasara Cevap Hipotezi: Bu hipotezin anahtar olayı endotel zedelenmesidir. Otokrin ve/veya parakrin bir organ olarak kabul edilen endotelin zedelenmesiyle ürettiği ve/veya düzenlediği vazodilatör, vazopressör, antitrombotik/trombojenik, büyümeyi ilerletici/durdurucu ve kemotaktik substansların dengesi bozulur. İleri dönemde arteri daraltan veya tıkayan; köpük hücre (foam cell), yağ izleri (fatty streak), fibröz plak ve/veya kalsifik plak oluşumunu içeren patolojik olaylar ardışık olarak gelişir (21,63) Atherom plağının gelişmesi ve stabilitesinin bozulmasında ROT' nin artışı önemlidir. ROT' nin ateroskleroz oluşumunda adezyon molekül ekspresyonu, vasküler düz kas uyarımı ile çoğalma ve göç etme, endotel apoptozu, lipid oksidasyonu, matriks metalloproteinaz aktivasyonu ve vazomotor aktivite değişimi gibi çeşitli olayları başlattığı gösterildi (34) LDL yüksekliğinin ateroskleroz riski için merkezi rol oynadığı görülüyor. Fakat, çalışmalar LDL' nin tek başına in vitro olarak aterogenez olmadığını destekliyor. Bu gözlemler LDL' nin aterogenez neden olabilmesi için değişime uğraması gerektiğini desteklemektedir. LDL' nin oksidatif değişiminin ateroskleroz patogenezinde kritik rol oynadığı birçok hipotezini desteklemektedir. Oksidatif strese neden olan yolları anlayabilmek için LDL oksidasyon hipotezinin bilinmesi anahtar rol oynar. (10,15,63)

Monoklonal Hipotez: Aterosklerotik lezyonun bütün hücrelerinin tek bir düz kas hücresinden geliştiğini ileri süren hipotezdir (1,21 34)

2. 3. İskemi Sonrası Olaylar:

2. 3. 1. İskemik Önkoşullanma Etkisi(Preconditioning) :

Akut miyokard infarktüsünden önceki 24 saat içinde olan anginalar, koroner mikrosirkülasyonu ve miyokardiyal canlılığı korumaktadır (21) İnfarktüs oluşturacak kadar şiddetli olmayan geçici koroner tıkanmanın, daha sonra oluşacak iskemik hasara karşı koruyucu etkisi gözlenmiştir (8) Beş dakika kadar süren ve takiben reperfüzyon gelişen koroner tıkanmalar, daha sonra oluşan uzun süreli koroner tıkanmalarının sebep olduğu infarktüsün genişliğini azaltır (17,18) Bu koruyucu etkiye iskemik preconditioning etki denir Bu etkinin miyokardiyal stunning' ten farkı, kısa surmesi ve stunning'i azaltan veya engelleyen girişimlerden etkilenmemesidir. Oluşum mekanizması, mikrokardiyal metabolik isteklerin azalmasına bağlı olabilir İskemi sırasında aerobik glikolizin yavaşlaması ve ATP kullanımının azalması bu görüşü destekler (8,9)

2. 3. 2. No Reflow Fenomeni:

Akut ve tam koroner tıkanma, hücre sel nekroza ve sonuçta miyokard fonksiyon bozukluğuna sebep olur Kısa süre koroner tıkanma sonrası değişik derecelerde miyosit nekrozu oluşurken mikrovasküler yatağın sağlam olduğu, eğer tıkanma 90 dakika ve üzerinde olursa miyositlerde daha fazla hasar meydana geldiği ve mikrovasküler yatağın anatomik bütünlüğünün bozulduğu gösterilmiştir (39) Epikardiyal majör koroner arterlerde (Conductance Artery) kan akımının yeniden sağlanmasına rağmen perfüzyon gerçekleşmemesi "no reflow fenomen" olarak tanımlanır (36,37)

Erken no reflow fenomeni, iskeminin yol açtığı mikrovasküler hasara bağlıdır ve vasküler düzeyde, ani ve kesin bir tıkanma vardır ve kapiller doluş yoktur Geç no reflow fenomeni ise reperfüzyondan sonra endotelial şişme ve miyokard ödeminin, mikrotrombüslerin ve nötrofillerin

sebepe olduğu mikrovasküler bütünlüğün progresif bozulması ile ortaya çıkar (38,40,41)

2. 3. 3. Miyokardiyal Stunning:

Koroner kan akımındaki azalmanın yaptığı miyokard disfonksiyonunun tipi ve ciddiyeti, akım azalmasının suresine ve yaygınlığına bağlıdır. Postiskemik sol ventrikul disfonksiyonu veya "miyokardiyal stunning" : normal veya normale yakın koroner kan akımının sağlanması ve irreversibl yıkım yokluğuna rağmen devam eden mekanik disfonksiyondur. Miyokardiyal stunning oluşturduğu düşünölen mekanizmalar; geçici olarak aşırı kalsiyum yüklenmesi, miyofilamentlerin kalsiyuma duyarlılığının azalması, serbest radikaller, yüksek enerjili fosfatların yeniden sentezinde yetersizlik, değişmiş sempatik cevap, heterojen bölgesel perfuzyon, kreatin kinaz kaybı ve kollateral akımla ilişkili perfuzyon yetersizliğinin şiddetine bağlıdır. Kontraktıl fonksiyonun geri dönmesi, akut iskemi ve reperfuzyon sırasında hasar gören proteinlerin yavaş sentezi nedeni ile gecikmektedir. Serbest oksijen radikallerinin ventriküler disfonksiyon oluşturma mekanizması çok açık olmamakla beraber, deneysel olarak serbest radikal temizleyici veya bunların oluşumunu engelleyici ajanlar iyileşmeyi hızlandırır (39)

2. 3. 4. Miyokardiyal Hibernation:

Miyokardiyal hibernation, azalmış koroner kan akımına bağlı miyokard fonksiyonlarının uzun süreli bozulmasıdır. Yeterli perfuzyonun sağlanması ile miyokard fonksiyonları tamamen geri dönebilir. Koroner kan akımı azaldığında miyokard kontraksiyonu azalır. Koroner akım ile ventrikul fonksiyonları arasında doğrusal bir ilişki vardır. Normal perfuzyonun %15 – 20' si miyokard nekrozunu önlemek için yeterlidir (39,40)

2. 3. 5. Reperfüzyon Hasarı:

Reperfüzyon hasarı, iskemik kalmış ama irreversibl hasar gelişmemiş dokuda reperfüzyonu takiben ortaya çıkan hücre ölümü olarak

tanımlanmıştır (11,35) Reperfüzyon, iskemi ile oluşan hücrel şişmeyi artırır ve bu tek başına veya no reflow fenomeni ile birlikte hücrel hasara yol açar. Reperfüzyon, irreversibl hasar gelişmiş miyositlerin nekrozunu hızlandırır ancak yeni nekroz alanları oluşturmaz (37) Başarılı reperfüzyona rağmen, kaybedilen hastalarda yapılan histolojik çalışmalarda, bu kanamanın genellikle nekroz alanı dışına fazla taşmadığı gözlenmiştir İskemik hücrelerin reperfüzyonla, oksijen ve kalsiyumla aniden karşılaşması iskemik hasarın ciddiyetini etkilemektedir (38,42) Kısmen uyarılmış lökositlerin de etkisiyle; serbest oksijen radikallerinin ve bunların yaptıkları toksisitenin miyokard hasarının yayılmasında rolü vardır (42)

2. 3. 6. Miyokardiyal Nekroz:

Miyokard nekrozu 20 – 30 dakikalık iskemiden sonra oluşabilir ve endokarddan epikarda doğru yayılır Deneysel modellerde, koroner tıkanma 6-8 saat devam ederse, riskli bölgenin %70 – 80' inde nekroz gelişir Nekroz miktarı, koroner tıkanma suresinin yanında kollateral dolaşım durumuna da bağlıdır Mortalite, morbidite, miyokard yetmezliği ve yaşam kalitesi, miyokard yıkımının genişliğine bağlıdır %25 veya üzerindeki yıkımlar kalp yetmezliği nedenidir (1,40)

2. 4. Serbest Oksijen Radikalleri Tarihçe ve Terminoloji:

Oksijenin indirgenmesi, sonuç olarak iki serbest radikal, hidroksil ve süperoksit radikalleri, ortaya çıkarır Bir ya da daha çok sayıda paylaşılmamış elektron taşıyan kimyasal yapılar serbest radikal olarak tanımlanmaktadır Serbest radikaller kimyasal açıdan aktif yapılardır Ömurleri bu nedenle kısadır, kimyasal özgüllükleri azdır Buna göre, oksijenin kendisi de bir radikaldir, çünkü paylaşılmamış iki elektron taşır Buna karşılık, oksijen kimyasal açıdan çok aktif değildir, çünkü oksijenin kararlı bir reaksiyon ürünü verebilmesi için, oksijen molekülüne aynı anda iki elektronun girmesi gerekir ki bu da kuantum mekaniğine uymaz Bu

nedenle, oksijen molekülüne herhangi bir anda gelen elektronlar tek tek girerler, böylece oksijenin indirgenme ara ürünleri oluşur (10)

Biyolojik sistemlerde oksijenin katıldığı indirgenme/yukseltgenme reaksiyonları uzun zaman anlaşılammış, 1934' te Haber ve Weiss' in moleküler oksijenin üç değerli indirgenmesi sonucu son derece güçlü bir yükseltgen ara ürünün oluştuğunu göstermesiyle, oksijenin indirgenme ara ürünleri önem kazanmıştır. Oksijenin reaksiyon ürünleri arasında hidrojen peroksit, tek oksijen, hipokloröz asit, ozon gibi radikal olmayan ama kimyasal açıdan gene çok aktif yapılar da vardır. Oksijenin radikal olan ve olmayan ara ürünlerinin tümüne birden ROT denilmektedir (7)

2. 5. Organizmada Serbest Radikallerin Reaksiyonları:

Serbest radikallerin oluştukları ilk reaksiyonlara başlama reaksiyonu denilmektedir. Geçiş metallere elektron transferi, hücre serbest radikal oluşumu için iyi bir örnektir. Serbest radikallerin başlama reaksiyonları, başta radikal özellikte ara ürünlerin oluştuğu ve sonsuza dek surebilme yeteneğindeki yayılma reaksiyonları ile sürer. Bu yayılma reaksiyonları, radikal temizleyici moleküllerle sonlandırılabilir. Temizleyici moleküllerin bazıları hücre bütünlüğü için gereklidir, dolayısıyla radikal reaksiyonları sonucu tüketilirse doku hasarı oluşur (10). Serbest radikaller hücre içi ya da dışındaki proteinlere, karbonhidratlara, nükleik asitlere ve lipidlere saldırarak önemli değişikliklere neden olurlar (14,16,33,44)

2. 5. 1. Proteinler Üzerine Etkileri:

Serbest radikaller proteinleri üç yolla etkilerler: (1) amino asit kalıntılarında fragmantasyon, çapraz bağ oluşumu, polimerizasyonla konformasyonel yapıyı değiştirir; (2) proteinlerin enzimatik hidrolize yatkınlığını değiştirir; (3) denature proteinlerin birikmesine yol açar. Bu durum belirli enzimlerin inhibisyonuna (örneğin α -1-antitripsin) ya da aktivasyonuna neden olabilir (15,16). Kollajen yapısının O_2 tarafından bozulduğu, bu nedenle kollajen peptid dizilerinin doğal uçlu sarmal yapılarını oluşturmadığı öne sürülmektedir. Aktive olmuş inflamatuvar

hucrelere üretilen ROT' nin bir plazma bileşeni ile etkileşerek kemotaktik bir faktör oluşturduğu ve bu kemotaktik faktörün de inflamatuvar hücre filtrasyonunu daha da artırdığı belirtilmektedir. Oluşan faktörün albumine bağlı bir okside olmuş yağ asiti olabileceği düşünülmektedir. Serbest radikallerin albumine de zarar verdiği belirtilmektedir. Hücre dışı proteinler çok sayıda disulfid köprüleri içerir (örneğin IgG ve albumin). Bunlar radikallerinin ataklarına açıktır. Albuminde böylece, serbest radikal hasarı nedeni ile açığa çıkan şekilsel değişik, molekülün proteinazlar aracılığı ile yıkımını kolaylaştırır (43).

Yapısında doymamış bağlar ve kükürt taşıyan amino asitler serbest radikal saldırılarına daha açıktır. Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin ve sistein amino asitlerini taşıyan proteinler, serbest radikal etkisiyle değişikliklere uğrarlar (57). Gerek sitoplazmik proteinler, gerekse membran proteinleri, serbest radikal etkisi sonucu çapraz bağlarla dimerler ya da daha büyük agregatlar oluşturur. Prolin ve lizin taşıyan proteinlerde ise ROT etkisiyle enzimatik olmayan hidrosillenmeler olduğu belirtilmektedir. Yapısında hem taşıyan proteinler de serbest radikallerden kolay etkilenir. Örneğin O_2 oksihemoglobindeki demiri hem halkasından çıkararak deoksijenize eder ve ferrihemoglobin oluşturur; bu sırada serbest kalan demir ise sitotoksik OH radikali oluşturur. Benzer şekilde katalaz enzimi de O_2 tarafından inhibe edilir. H_2O_2 ise SOD enzimini inhibe eder (44).

2. 5. 2. DNA ve Nükleik Asitler Üzerine Etkileri:

DNA üzerine genel olarak serbest radikal, özellikle OH etkisiyle DNA iplikçiklerin ayrıldığı ve koptuğu, DNA bazları ve deoksiriboz şekerlerinin tahrip olduğu, fragmente olduğu belirtilmektedir. Böylece kromozom bozuklukları, bunlara bağlı mutasyonlar ve sitotoksikite görülür. Superoksit anyonu ve ROT' nin hücrelerde doğrudan ya da DNA iplikçiginde kopmalar nedeni ile dolaylı olarak ATP üretimini azalttığı da belirtilmektedir. DNA hasarı sonucu polimeraz enziminin aktive olduğu ve bunun da ATP üretimi için gerekli bir kofaktörü tükettiği (NAD tüketimi) ön sürülmektedir (43,44).

2. 5. 3. Karbonhidrat Üzerine Etkileri:

Fizyolojik pH ve sıcaklıkta, glukoz gibi monosakkaritler otoksidasyon sonucunda ROT oluşur. Serbest radikal etkisiyle karbonhidratların proteinlere bağlanması (glikasyon) artar. Protein glikasyonunun ise diyabetes mellitusta görülen önemli komplikasyonlardan retinopati ve glomerülopati ile sonuçlanabilen mikroanjyopatiye yol açtığı bilinmektedir (32,33)

2. 5. 4. Lipidler Üzerine Etkileri :

Biyolojik sistemlerdeki çoklu doymamış yağ asitleri serbest radikallerin etkisine özellikle açık moleküllerdir. Çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikaller ile oksidasyonu, biyolojik sistemlerdeki çok yönlü etkileri nedeni ile önemlidir (6,24)

Lipid peroksidasyonunun mekanizması, membran kolesterolünün yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolay reaksiyona girer ve peroksidasyona uğrar. Lipid peroksidasyonu otokatalitiktir, ilk aşamada ortaya çıkan ürün, daha sonraki aşamalarda substrat olarak davranır, sonuçta lipid peroksitleri, lipid alkolleri ve lipid aldehitleri açığa çıkar. Lipid peroksidasyonunun, diğer zincirleme radikal reaksiyonları gibi başlama, yayılma ve sonlanma aşamaları vardır. Biyolojik sistemlerde lipid peroksidasyonunun başlaması, membranlardaki çoklu doymamış yağ asitlerine ROT saldırısı ile olur. Yağ asiti yapısındaki çift bağ komşu bağlarını zayıflatır, bu nedenle doymamışlık oranı yüksek yağ asitleri peroksidasyonuna açıktır (6). Yağ asitinin metilen grubundan bir hidrojen atomu koparabilecek güçte herhangi bir ROT lipid peroksidasyonunu başlatabilir (16). Sonuçta tek bir peroksidasyon reaksiyonunun başlaması ile yüzlerce lipid hidroperoksiti oluşur. Lipid hidroperoksitleri sırası ile siklik peroksitler ile siklik endoperoksitleri verir ve bu üçü daha sonra aldehitlere özellikle malonildialdehid (MDA) ve polimerizasyon ürünlerine parçalanır (19). Sonuçta çok reaktif molekül olan tek oksijen radikali oluşur ve zincirleme lipid peroksidasyonu reaksiyonlarını başlatabilir (22)

Biyolojik sistemlerde Lipid peroksidasyon sonuçları, LP ürünleri olan lipid peroksitleri ve lipid peroksil radikalleri, toksik etkilerini diğer oksijen serbest radikallerinin etkili olduğu hücre bileşenleri üzerinde gösterebilir. Ancak, yapılarında hidrofobik olması nedeni ile reaksiyonlarının çoğu membranda yer alan ya da membrana bağlı hemoviskozitesinin, membrandaki enzim ve iyon kanallarının fonksiyonu için gereklidir. Ancak bu durum membran yapılarını serbest radikal etkilerine açık kılar (6). Membranda lipid peroksidasyonunun yayılma reaksiyonlarından proteinler de etkilenecektir. Uç ya da daha fazla sayıda çift bağ taşıyan yağ asitlerinin peroksidasyon ürünü olan MDA, primer aminlerle floresan özellikteki konjuge Schiff bazlarını verir. MDA membran bileşenleri ile çapraz bağlar yapar, polimerizasyona neden olur. Bütün bu değişiklikler, membrana bağlı reseptörlerin ve enzimlerin inaktivasyonuna ve kalsiyum gibi iyonlar için membran permeabilitesinin artışına, dolayısıyla proteaz ve nükleazların aktivasyonuna yol açar. Lipid peroksidasyonunun diğer aldehid ürünleri enzimlerin sulfidril grupları ile etkileşerek aktivite değişikliklerine neden olurlar. Lipid peroksidasyonu ürünlerinden MDA kolay diffüze olabilen bir moleküldür, dolayısıyla membran dışındaki amino asitler, proteinler, fosfolipidler ve DNA ile etkileşebilir ve lipofusin benzeri floresan ürünler oluşturur (19,22,63).

Arakitonik asitin nonsiklogenaz oksidatif değişiminin bir ürünü olan iso-PGF₂ α serbest radikallerin hücre membrane fosfolipid ve kan LDL ile reaksiyonu sonucu oluşur. Klasik PG'ler serbest arakitonik asitten PGH sentaz enzimlerince oluşturulurken, F₂ isoprostanlar ise membran fosfolipidlerinin esterleşmiş yağ asit iskeletinden oluşur. Bunlar fosfolipaz aracılı hücre aktivasyonlarına cevap olarak serbestleşir. Plazmada serbest olarak dolaşır ve idrarla atılır. Endojen isoprostanların salgılanması ve serbest ve esterleşmiş formlarına dönüşü sağlayan faktörler iyi anlaşılamadı. Isoprostane monositler de dahil olmak üzere aterosklerotik plağın bütün tabakalarında sentezlenir. LDL ile monositler inkube edildiğinde oksidasyona bağlı iso-PGF₂ α 'nın sentezinin attığı görülmüştür (45,46,47).

Sonuç olarak, lipid peroksidasyonuna bağlı doku hasarı yalnızca membran lipidlerinin peroksidasyonuna bağlanamaz. Çoğu zaman hücre

içi kalsiyumunda artış ve buna bağlı proteaz ve nüklez gibi bir çok enzim aktivasyonu, membran yapısının bozulması, önemli konumdaki sulfidril gruplarının oksidasyonu (25) ve DNA hasarı çok daha önemlidir. Bugün lipid peroksidasyonunun pek çok hastalıkta hızlandığı bilinmektedir. Ancak bu durum herhangi bir nedenle açığa çıkan doku hasarından kaynaklanabilir. Doku hasarı lipid peroksidasyonunu artırmaktadır. Bunun nedeni, doku hasarı ile ortama depolardan ya da metalloproteinlerin lizozomal enzimlerce parçalanması sonucu hücrelerden metal iyonlarının salıverilmesi, bazı antioksidanların inaktive olması, bazı antioksidanların hücreden dışarı sızarak miktarlarının azaltılmasıdır (10). Lipid peroksidasyonundaki artış ise varolan doku hasarını daha da artırır (49).

Örneğin aterosklerozda, aterosklerotik lezyonlarda lipid peroksidasyonunun arttığı ve bunun da köpük hücreleri oluşumuna, lezyonun daha da büyümesine yol açtığı bilinmektedir (10,21).

2. 6. Oksidatif Stres ve Antioksidan Mekanizmalar:

Aerobik canlılar oksijenin toksik etkilerinden korunabilmesi için bir biyokimyasal savunma sistemine sahiptir. Bugün varolan biyokimyasal antioksidan savunma sistemi küçük moleküllü radikal temizleyicilerinden ve kompleks enzimatik sistemlerden oluşmaktadır. Organizmada fazla miktarda bulduklarında toksik etki gösteren ROT' nin oluşumu ve antioksidan savunma arasında bir denge vardır. Bu dengenin ROT' den yana bozulmasına oksidatif stres denilmektedir. Oksidatif stres ROT' nin oluşumunun artmasıyla veya antioksidan savunma mekanizmalarının yetersizliğiyle ortaya çıkabilir (7,10).

Hücreler hafif oksidatif strese antioksidan savunma sisteminin sentezini artırarak karşı koyabilirler. Ancak, oksidatif stres hızlandığında ve uzadığında antioksidan savunma sistemi çöker. Antioksidan sistem bu nedenle oksidatif stresin göstergesidir.

Antioksidanlar, okside olabilecek substratlara göre "düşük konsantrasyonlarda iken, substratın oksidasyonunu geciktiren ya da engelleyen maddeler" olarak tanımlanmaktadır. Antioksidanların sınıflandırılması: (a) oksijeni uzaklaştırarak ya da lokal oksijen

konsantrasyonunu azaltarak; (b) katalitik metal iyonlarını uzaklaştırarak (metal kelatörleri); (c) superoksit ve hidrojen peroksit gibi ROT' ni uzaklaştırarak; (d) hidroksil, alfoksil, peroksil gibi başlatıcı serbest radikalleri temizleyerek; (e) başlamış olan reaksiyonlar zincirini kırarak; (f) tek oksijeni molekulini temizleyerek yada enerjisini düşürerek etkilerini gösterebilirler. Bu sayılardan a, b, d ve f şıklarındaki gibi etki gösterenlere "Önleyici antioksidanlar" denilmektedir; c şikkındaki gibi etki gösterenler de önleyici antioksidanlar gibi değerlendirilebilirler, ancak bunlar enzim olduklarından (superoksit dismutaz, katalaz), reaksiyon sonunda tüketilmemektedirler. "Zincir kırıcı antioksidanlar", tek oksijen molukul temizleyicileri ve metal kelatörleri koruyucu görevlerini yerine getirirken tüketilirler (7,15,16,52).

2. 6. 1. Hücre İçi Antioksidanlar:

Hucreler çok yönlü bir antioksidan savunmaya sahiptir. Bu sistemde yer alan bazı elemanlar antioksidan gibi görülmeyebilir. Savunma sistemi, birçok aşamada oksidatif strese karşı koyar, radikal oluşumunu önler, oluşan radikalleri etkisiz kılar, radikallerin neden olduğu doku hasarını onarır, hasar ürünlerinin atılımını artırır, mutasyonları önlemek için aşırı hasar görmüş hücre bileşenlerini onaramaz. Oksijen hücrede metabolize olur. Antioksidanlar oksijenin indirgenmiş ara ürünlerine karşı evrimleşmiştir (33).

Superoksit dismutaz (SOD) enzimi superoksit anyonundan H_2O_2 oluşturur. Superoksit dismutazlar metalloproteinlerdir (42,52).

Oluşan H_2O_2 katalaz ve glutatyon peroksidaz (GSHPx) enzimleri tarafından yıkılır. Dolayısıyla, bu enzimlerin aktivitesi H_2O_2 'nin toksik etkilerinin belirleyicisidir. Bu enzimler de metalloproteinlerdir. Katalaz demir (Fe^{+++}), GSHPx ise selenyum içerir. GSHPx' in, lipid hidroperoksitlerini de, yukarıdaki reaksiyona benzer şekilde, çok daha az reaktif olan yapıya dönüştürür (33). Hücre içi sistein elektron kaynak oluşturur. Oksidatif stres sırasında hücre içi konsantrasyonu düşer. Yüksek düzeylerde, hemen tüm hücrelerde bulunur. Hücrede bir tür redoks tamponu görevi yapar. Proteinlerin sülfidril gruplarının indirgenmiş durumda tutulmasını sağlar, aynı zamanda glutaredoksin için indirgen bir ajandır. Glutatyon (GSH) in

vivo olarak α -tekoferolün radikal şeklinde rejenerasyonunda kullanılabilir (7,52)

Hücrede glutatyon (GSH) konsantrasyonunun düşmesi görevlerinin aksaması sonucunu doğurur. İndirgenmiş glutatyon (GSSGpx) yeniden GSH' a dönüştürülmesi gerekir, bu dönüşüm glutatyon reduktaz enzimi ile yapılır. Dönüşüm sırasında NADPH kullanılır, dolayısıyla NADPH tüketimi olur. Transhidrojenaz enzimleri, NADH ve NADPH arasında denge sağlayan enzimlerdir. Dolayısıyla oksidatif stres sonucu hücrede indirgenmiş durumdaki piridinli nukleotidlerin konsantrasyonu düşer ve bu durum pek çok metabolik olayı etkileyebilir. Hücrede GSSG artışı, oksidatif stresin bir başka göstergesidir; tiyol grubu taşıyan proteinlerde disülfid oluşumuna yol açtığından toksik etki gösterir (25). Bunların dışında oksijen toksisitesini önleyecek önlemler alınmıştır. Örneğin mitokondriyel elektron transportunda son oksidaz olan sitokrom oksidaz, oluşan reaktif oksijen metabolitlerini aktif merkezinde tutar, salıvermez (56).

2. 6. 2. Membran Antioksidanları:

Membranların hidrofobik iç bölümlerinde, hücre içi sulu ortamda oluşanlardan farklı lipofilik radikaller oluşur. Lipofilik radikallerin uzaklaştırılması için farklı antioksidanlar gereklidir. Bu antioksidanların başında E vitamini (α -tekoferol) gelmektedir. E vitamini yağda çözünen bir vitamindir, membran dışında etkisiz bir antioksidandır, membranda ise çok etkilidir. Bu nedenle, yapılan çalışmaların niteliğine göre, E vitamini çok önemli bir antioksidan olarak da (31), çok önemsiz bir antioksidan olarak da değerlendirilebilmiştir (52). E vitamini membran dışında, lipoprotein oksidasyonunu önlemesi açısından da çok önemlidir. Lipid peroksidasyonu aterosklerozun başlıca belirleyicisidir (15,16), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) partikülü içinde plazmada taşınan α -tekoferol, LDL lipidlerinin oksidasyonuna karşı koyarak ateroskleroz sürecini yavaşlatır. β -Karatol ve koenzim Q diğer önemli membran antioksidanlarıdır. β -Karatol lipofilik radikallerin temizleyicisidir, tek oksijen molekuli etkisizleştirir. Koenzim Q, enerji metabolizmasındaki önemli rolünün yanı sıra, antioksidan özellikte bir membran bileşenidir (7,51,52).

Membran proteinlerinin SH grupları lipid peroksidasyonuna karşı antioksidan etki gösterebilir Membran lipid peroksidasyonu sonucu proteinlerin serbest SH gruplarının okside olduğu, böylece disülfid köprülerinin oluştuğu, bu nedenle membran geçirgenliğinin arttığı, fosfolipidlerin membrandaki konumlarının değiştiği, hücre deformabilitesinin azaldığı belirtilmektedir (25) Fosfolipaz A₂, membran fosfolipidlerinin dönüşümünde rol alan bir membran enzimidir Bu enzimin yeni bir fonksiyonu olarak, membran lipid oksidasyonu sonucu oluşan lipid peroksitlerini daha büyük bir afinite ile kopardığı, böylece GSHPx'ın lipid peroksitlerini lipid hidroksitlerine dönüştürmesini kolaylaştırdığı ileri sürülmektedir (33)

2 . 6. 3. Hücre dışı antioksidanları:

Vucutta hücre dışı sıvılarda antioksidan sistemde yer alan enzimler bulunmaz Ancak, plazmada yapıları farklı, düşük aktivitede indirgenmiş plazma glutasyon (GSHPx) ve superoksidismutaz (SOD) enzimleri saptanmıştır. Bu nedenle, hücre dışı sıvılar oksidatif strese daha açıktır Superoksit ve H₂O₂ gibi ROT' nin hücre dışı sıvılarda sınırlı süre de olsa da kalabilmesi, vücutta bu molekülerin NO gibi elçi ya da sinyal molekülü olarak kullanıldıklarını düşündürmektedir Bu görüşe göre hücre dışı antioksidan sistem, demir ve bakırı reaktif olmayan şekillerde tutmak üzere gelişmiştir. Demir taşıyan protein transferin, genellikle 1/3 oranında demirle yüklüdür, geri kalan demir bağlama kapasitesi antioksidan etki sağlar. Protein molekülü başına iki mol demir bağlayan loktoferrin de aynı yönde davranan bir antioksidan proteindir (48) Miyoglobin, hemoglobin ve hem taşıyan diğer yapılar ise lipid peroksidasyonunu hızlandırmaktadır Ancak bunlar da haptoglobinlerce bağlanarak etkisizleştirilir. Hemopeksin ise serbest kalan hem demirini bağlayarak lipid peroksidasyonunu önler Seruloplazmin, demir kaynaklı lipid peroksidasyonu reaksiyonlarını önleyen bir başka antioksidan plazma proteindir Seruloplazmin, Fe⁺⁺ iyonlarını çözültiden uzaklaştırır, aynı zamanda oksijeni suya indirger Seruloplazmin aynı zamanda, nonspesifik olarak bakır iyonlarını bağlar,

böylece bakır iyonlarının katalize ettiği ROT oluşumunu ve lipid peroksidasyonu inhibe eder (33)

Albumin de bakır iyonlarını bağlayarak bakır kaynaklı lipid peroksidasyonunu ve ROT oluşumunu inhibe edebilir. Radikal reaksiyonları, bu kez albümin yapısında sürer ve proteine zarar verebilir, ancak albümin plazmada yüksek konsantrasyonda bulunur ve turnover' ı hızlıdır (yarı ömrü yaklaşık 20 gündür), dolayısıyla albuminde oluşan hasar önemli değildir. Serüloplazmine bağlı olmayan bakırın tümü albümine bağlıdır. Ek olarak, albüminin plazmada HOCl moleküllerini temizlediği belirtilmektedir (54)

Plazmada bulunan serbest tiyol grupları antioksidan etki gösterir. Plazma tiyol gruplarının çoğu albümin üzerinde bulunur. Plazma protein tiyollerinin havuzuna albuminden başka fibrinojen ve γ -globinler de katkıda bulunur. Sistein ve glutatyon (GSH) gibi protein olmayan tiyol bileşiklerinin dolaşımdaki yarı ömürleri kısa, konsantrasyonları düşüktür, bu nedenle total plazma tiyollerine kantitatif açıdan az katkıda bulunur. Plazma oksidatif stresle karşı karşıya geldiğinde hemen okside olurlar. Dışarıdan verilen tiyol bileşiklerinin oksidatif strese karşı koyduğu belirtilmektedir (48). Plazma tiyollerini, okside olmuş askorbatı indirgeyerek yeniden E vitaminini rejenere etmesine yardımcı olurlar. Plazma tiyollerinin antioksidan etkisi, diğer antioksidanlar (urat, askorbat ve E vitamini) etkisiz olduğunda daha da önem kazanır (7,52,53)

Hidrojen peroksit, sülfidril grupları ile iki türlü reaksiyon verir:

- (a) H_2O_2 ' den iki SH grubundan her birine birer elektron taşınarak disülfid oluşumu,
- (b) Tek bir sülfidril grubuna 2 elektron aktararak sülfenik asitin oluşturulması,

Ancak tiyol grupları belirli şartlarda oksijen radikallerini temizlemek bir yana, prooksidan etki de gösterebilir. Tiyol bileşiklerinin fizyolojik pH' da, ortamda demir tuzları varken oksijen radikalinden $\cdot OH$ oluşumunu önleyemediği, hatta kendilerinin $\cdot OH$ ürettiği öne sürülmektedir (33)

Plazmada lipoproteinler içinde taşınan zincir kırıcı antioksidan E vitamini, plazma için etkin değildir. C vitamini suda çözünen bir vitamindir

Pek çok radikali etkisizleştirebilir (4,31,51) Superoksit, suda çözünür peroksil, tiyil ve sülfenil radikallerini temizleme özelliğindedir. Aynı zamanda güçlü bir HOCl temizleyicisidir α -tokoferil radikalini yeniden α -tokoferole indirgeyerek E vitaminini rejenere eder. Ürik asit antioksidan özellikte bir plazma bileşenidir. Hem demir, bakır gibi iyonları bağlayarak serbest radikal reaksiyonlarının hızlandırılmasını önler, hem de tek oksijen radikal molekuli, HOCl ve peroksil radikali gibi ROT' ni temizler. Ancak, ürik asitin \cdot OH ya da peroksil radikalleriyle etkileşmesi sonucunda, gene doku için hasar oluşturabilecek güçte ürik asit radikalleri açığa çıkar. Bu ürik asit radikalleri, askorbik asit tarafından indirgenebilir (54,56)

2. 7. Oksidatif stres ve Kalp

2. 7. 1. Oksidatif stres ve İskemi:

Kalbe mitokondrilerdeki aerobik metabolizmayı sürdürmeye yetecek kadar oksijen verilemediğinde miyokardiyal iskemi açığa çıkar. İskemi sırasında oksijen açığı olmasına rağmen, kollateral dolaşım ile iskemik bölgeye gelen oksijen tarafından ROT oluşturulur (15) İskemi sırasında mitokondriyel elektron taşınım zincirinin elemanları indirgenir, solunum zincirinden elektron kaçıışı artar ve kalan oksijen ile ROT oluşur. İskeminin başlangıç döneminde mitokondrilerde üretilen aşırı miktardaki serbest radikaller SOD tarafından nötrale edilir. Ancak, iskemi süresi uzayınca SOD aktivitesi azalır, mitokondriler radikallere karşı zayıf düşer (44)

İskemide kalbin enerji depoları tükenir. Kreatin fosfat ve ATP konsantrasyonu düşer. AMP katabolizması sonucu adenosin, inozin, hipoksantin ve ksantin konsantrasyonları artar. Hücrelerde iyon pompalarının özellikle kalsiyum pompasının fonksiyonunu yitirmesi ile sonuçlanır. Hücre içi kalsiyum düzeyi artar. Kalsiyum ile aktive olan fosfolipaz ve proteaz aktiviteleri artar, lizozomal enzimler salıverilir; sonuçta hücre hasarı gelişir (40,41)

Ksantin dehidrogenaz (XDH) kalp hücrelerinde aktivitesi saptanamayan bir enzimdir. Ancak, kapiller damar endotel hücrelerinde bulunduğu belirlenmiştir. Bu enzim ksantinden ürik asit oluşumunu

katalizler, bu sırada elektronlar NAD^+ 'e aktarılır İskemi sonucu, XDH aktivitesi ksantin oksidaza dönüşür Ksantin oksidaz da ksantinden urik asit oluşumunu katalizler (48,57), ancak bu sırada elektronları moleküler aktararak oksijen radikal molekül oluşumuna yol açar. Nötrofiller aktive olduklarında çeşitli tiplerde oksijen serbest radikalleri üretirler Örneğin akut miyokard infarktüsünde, tıkalı bölgede nötrofil kumelenmesi olur ve bunlar miyokarda zarar verebilir (11,57,58)

Oksijen serbest radikalleri arakidonik asit yolağı ve katekolaminlerin oksidasyonu yoluyla hucre membranında da oluşur İskemi sırasında fosfolipaz aktivitesinin artışı, membrandan arakidonat salıverilişini artırır, aynı zamanda norepinefrin salınışında da bir artış olur Gerek arakidonik asit metabolizmasında, gerekse katekolaminlerin otooksidasyonunda serbest radikaller oluşur (15)

Normal aerobik kalpte sürekli ROT üretimi vardır Elektron taşıyım sistemlerinde enzim-substrat reaksiyonları sonucu oksijen radikali, SOD aktivitesi sonucu ise H_2O_2 oluşur Fizyolojik şartlarda en önemli ROT kaynağı, mitokondrilerdeki elektron taşıyım sistemidir Kullanılan oksijenin yaklaşık olarak %2'si, solunum zincirindeki elektron taşıyıcılarından kaçan elektronlarca kısmen indirgenir Superoksit anyonlarının büyük bölümü (%75), iç mitokondri membranında yer alan kinonlar ile sitokrom b arasındaki bölgede oluşur Ayrıca endoplazmik retikulum ve nukleer membrandaki elektron taşıyıcıları da oksijen radikali ve H_2O_2 oluşturabilir Oksidazlarca zengin peroksizomlarda bol miktarda oluşan H_2O_2 ' in %40' ı sitoplazmaya sızarak sitosolik yapılarda hasara yol açabilir Oksidatif stres kalpte başlıca dört olayda yer alır: İskemi, reperfuzyon, inflamasyon ve ilaç toksisitesi (11,13,58)

Sonuç olarak, iskemide oksidatif stres artar Kalpte iskemi "lipid triadı" denilen olaylar toplamına yol açar: lipid peroksidasyonu artar, fosfolipaz aktivasyonu olur, serbest yağ asitleri ve fosfolipidler üretilir (10,16,54,58)

2. 7. 2. Oksidatif stres ve Reperfüzyon:

İskemik kalbe oksijen girişi, iskeminin neden olacağı hasarın önlenmesi açısından esastır. Ancak, kan akışının sağlanarak dokuya oksijen verilmesinin de (reperfüzyon) hasara yol açtığı uzun süredir bilinmektedir (35,42) Bu hasara reaktif oksijen türleri neden olmaktadır ve olaya da "oksijen paradoksu" denilmektedir (11,37) Reperfüzyon hasarı önceleri kalpte de ksantin oksidaz (XOD) enzimine dayandırılmışsa da, bu enzimin kalpte bulunmadığı ya da çok düşük aktivitede bulunduğu belirlenmiştir Bu nedenle reperfüzyon hasarından yalnızca XOD enziminin sorumlu olma olasılığı düşüktür (41) İskemik hücrelerden salıverilen metal iyonlarının etkisiyle oksijen varlığında çok miktarda oksijen serbest radikalının üretildiği belirtilmektedir (59)

2. 8. Oksidatif Stres ve Ateroskleroz:

Ateroskleroz süreci, genel kanıya göre, damar endotelinde bir hasarla başlar. Damar endotel hücreleri başka mekanizmaların yanı sıra oksidatif stres sonucu da hasar görebilir (57,64) Monosit ve makrofajların aterosklerotik lezyonların gelişiminde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Bu fagositler damar duvarında aktive olduklarında ortama oksijen radikali, H_2O_2 , NO^* ve hidrolitik enzimler salarak antioksidan savunmayı yenerler ve endotel hasarı oluştururlar (10,15,48)

Ateroskleroz ile düşük yoğunluklu lipoprotein (Low-Density Lipoprotein: LDL) arasındaki ilişki üzerinde durulmaktadır (14,16) Plazma LDL düzeyi, LDL partikülünün başlıca karaciğerde ve diğer hücrelerin yüzeyinde bulunan reseptörlerce alınarak dolaşımdan uzaklaştırılması ile kontrol edilir Makrofajlar LDL partikülleri için reseptörler taşırlar Ancak, LDL lipidleri eğer aşırı peroksidasyona uğramışsa, makrofajlarda bulunan ve "çöpçü" reseptörler denilen farklı reseptörlere bağlanırlar Bu reseptörlere bağlanan okside LDL' ler hemen makrofaj içine alınırlar, ancak lizozomal proteolize dirençlidirler ve sitokin üretimini uyarırlar, sitokinler kardiyomiyositler için toksik etki gösterir; böylece lipidçe zengin "köpük hücreleri" oluşur (10,21,42)

Arter endotel hücreleri, damar düz kas hücreleri ve makrofajlar LDL' yi okside ederek makrofajlar tarafından daha hızlı alınmalarını sağlarlar. LDL' nin bu şekilde değişiminde lipoksijenaz enzimleri; endotel, düz kas hücreleri ve makrofajların ürettiği $O_2^{\bullet-}$ ve H_2O_2 rol oynar. Ayrıca, sitotoksik lipid peroksidasyonu ürünleri LDL' deki apoprotein B'nin lizin artıkları ile etkileşerek LDL yapısının değişmesine yol açar (16). Peroksidasyona uğramış LDL partikülü eğer makrofajlar tarafından alınmamışsa, monositlerin endoteliyuma yapışmasını hızlandırır ve böylece dolaylı olarak endotel hasarına yol açarlar (21,43).

LDL partikülleri, dansitelerine, büyüklüklerine, kütlelerine ve içeriklerine göre alt gruplara ayrılır. Bunlardan küçük ve yoğun LDL partiküllerinin aterosklerozdan sorumlu olduğu belirtilmektedir. Küçük, yoğun LDL partikülleri reseptörler tarafından plazmadan daha yavaş uzaklaştırıldığından, dolaşımda daha uzun süre kalırlar. Bu nedenle daha çok okside olur ve toksisiteyi artırır; aynı zamanda in vitro olarak da daha kolay okside oldukları saptanmıştır. Öte yandan, kolesterolün ateroskleroza önemli olduğu uzun zamandan beri bilinmektedir. Kolesterolün plazmada başlıca LDL ile taşınması, bakımından bu ilişki anlamlıdır. Ancak, kolesterolün okside olması sonucu açığa çıkan ürünlerin de ateroskleroza hızlandırdığı belirtilmektedir (6, 21, 43, 48).

2. 9. Oksidatif stresin değerlendirilmesinde kullanılan biyokimyasal yöntemler:

Oksidatif stresin değerlendirilmesinde pek çok test yöntemi kullanılmaktadır. Oksidatif stresin en doğrudan belirlenmesi oksijen serbest radikallerinin ölçülmesiyle olabilir. Ancak, oksijen serbest radikallerinin doğrudan doğruya ölçülmesi zordur (44).

Oksidatif stresi değerlendirmekte en çok kullanılan yöntemler, lipid peroksidleri ve lipid peroksidasyonu ürünleri ölçümüne yönelik olanlardır. Lipid peroksidleri, peroksidlerin hem tarafından yıkılmasına, lipid peroksidlerinin I^- 'u I_2 'a oksitlemesine ve bunun da titrasyonla belirlenmesine, glutatyon peroksidazın H_2O_2 ve hidroperoksidlerle etkileşmesine ve siklooksijenaz aktivitesinin uyarılmasına dayanan yöntemlerle ölçülebilmektedir (20,33). Lipid peroksidasyonu ürünlerinden ise

en çok ölçümü yapılanlar aldehidler, özellikle de malonildialdehid (MDA) (19,22) MDA' in ve diğer aldehidlerin proteinlerle birleşmesi sonucu ortaya çıkan Schiff bazları, konjuge dienler ve floresan hasar ürünleri de lipid peroksidasyonunun, dolayısıyla oksidatif stresin göstergesidir Lipid peroksitleri ve MDA, tiyobarbiturik asit (TBA) ile spektrofotometrik ya da florometrik olarak belirlenebilmektedir (51). Schiff bazları ve floresan yıkım ürünleri organik ekstraksiyon sonrasında florometrik olarak belirlenmektedir. Konjuge dienler ise, yine organik ekstraksiyon sonrasında ultraviyole spektrometrisi ile ölçülmektedir Lipid peroksitleri ve aldehidler gaz kromatografisi (GC) ile ayrıldıktan sonra kütle spektrometrisi (MS) ile belirlenebilmektedir Lipid peroksidasyonunun diğer ürünleri etan ve pentan gibi uçucu alkanların ölçümü gaz kromatografisi, antikör teknikleri ile yapılabilmektedir Doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan prostaglandin izomerleri ve doymamış yağ asitleri düzeyindeki azalma da lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak kullanılmakta ve GC-MS ile ölçülmektedir.

Oksidatif stresin değerlendirilmesinde kullanılan diğer testler oksidan ve antioksidan sistemlerde yer alan parametrelerin ölçümüne dayanır. Total tiyol ve protein tiyolleri, ditiyo-bis-nitrobenzoik asit (DTNB) ile reaksiyon sonucu oluşan tiyonitrobenzoat anyonu üzerinden ölçülebilmektedir. Doku glutasyonu, gene DTNB ile belirlenebilmekte, dokuya göre çok daha düşük düzeylerde bulunan plazma glutasyonu ise aldehid ile ölçülmektedir Okside glutasyon ise, glutasyon redüktaz enzimi ile indirgendikten sonra aynı şekilde belirlenebilmektedir

Demir, bakır, çinko, mangan ve selenyum düzeyleri oksidatif stresi değerlendirmek amacıyla ölçülmektedir Demir ve bakır, lipid peroksidasyonunu uyaran geçiş metalleridir Bakır, çinko ve mangan ile birlikte SOD enziminin kofaktörü, selenyum ise glutasyon peroksidaz enziminin kofaktörüdür; bu dört element de atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile belirlenebilmektedir. Demir ve bakır gibi geçiş metallerinin taşıyıcıları olan transferrin ve seruloplazmin gibi proteinlerin düzeyleri de oksidatif stresi değerlendirmek amacıyla ölçülmektedir (48)

Antioksidan vitaminlerden tokoferoller, karotenoitler ve retinoitler deproteinizasyon ve organik ekstraksiyon sonrasında ölçülmektedir Bu

antioksidanlar için duyarlılığı az kolorimetrik yöntemler de geliştirilmiştir Suda çözünen antioksidan vitamin askorbat GC ile ya da spektrofotometrik ve florometrik olarak ölçülmektedir (52)

Oksidatif stresi değerlendirmek için antioksidan enzimlerden superoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve glutatyon-S-transferaz ölçümleri yapılmaktadır Bu enzimlerin plazma düzeylerinden çok doku ve hücre düzeyleri daha anlamlıdır ve her biri için çok sayıda yöntem geliştirilmiştir (33)

Oksidatif stresin değerlendirilmesinde çok kullanılan yöntemlerden birisi de peroksidasyona eğilimin ölçülmesidir. Bu ölçümler plazma, lipoprotein fraksiyonları (Özellikle LDL), hücreler ve hücre membranları için yapılmaktadır. Örnekler oksidan ajanlarla (H_2O_2 , demir ve bakır bileşikleri, fenilhidrazin gibi) inkübe edilmekte ve daha sonra MDA ya da diğer peroksidasyon ürünlerinin ölçümü yapılmaktadır (14,22,62,62)

Lipid peroksidasyon sonucu oluşan isoprostane kimyasal olarak stabil bir üründür (46) ve bir oksidatif stres endikatörüdür. Prostaglandin F2 bileşikleri siklooksigenaz enziminden bağımsız ve plazmada serbest olarak bulunur. Bu endojen oluşumu saptayarak oksidatif stresin saptanması önemli avantajlar sağlar (35,47). Arakitonik asitin nonsiklogenaz oksidatif değişiminin bir ürünüdür. Serbest radikallerin hücre membran fosfolipid ve kan LDL ile reaksiyonu sonucu oluşur. Klasik PG'ler serbest arakitonik asitten PGH sentaz enzimlerince oluşturulurken, F2 isoprostanlar ise membran fosfolipidlerinin esterleşmiş yağ asit iskeletinden oluşur (61). Bunlar fosfolipaz aracılı hücre aktivasyonlarına cevap olarak serbestleşir. Plazmada serbest olarak dolaşır ve idrarla atılır (4). Endojen isoprostanların salgılanması ve serbest ve esterleşmiş formlarına dönüşü sağlayan faktörler iyi anlaşılammıştır. Isoprostane, monositler de dahil olmak üzere aterosklerotik plağın bütün tabakalarında sentezlenir. LDL ile monositler inkübe edildiğinde oksidasyona bağlı iso-PGF2 α 'nın sentezinin attığı ve diğer siklooksigenaz yol ürünlerinin PGE2 ve TXB2 gibi ürünlerin artmadığı görülmüştür (61,66) ve SOD ile önlenir fakat siklooksigenaz inhibitörlerinin etkisi yoktur (14). Iso-PGF2 α siklooksigenaz aktive trombositlerde minimal düzeyde oluşur. Bu minor etkiyi NSAİ veya steroid tedavisi ile inhibe eder (45,46, 50)

3. MATERYAL VE METOD:

3.1. Hastalar :

Bu çalışmada Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Koroner Yoğun Bakım Ünitesine (KYBU) yatırılan akut koroner sendrom (AKS) hastaları seçilmiştir. Çalışmaya ilk dört saat içinde hastaneye başvuran 14 anstabil angina pectoris (USAP) ve 12 myokard infarktusu (MI) olmak üzere, toplam 26 hasta alınmıştır. Hastaların 22' si erkek, 4' ü kadın, 18' i sigara içen, 5'i obez ve 13' ü fazla kilolu, 7'si hipertansiyon koroner risk faktörlerine sahiptir. Çalışmaya dahil edilen hastaların başvuru anında böbrek fonksiyon testleri, karaciğer fonksiyon testleri, sistolik ve diastolik kan basınçları normaldi. KOAH, astım, demans, Alzheimer gibi oksidatif strese katkıda bulunabilecek hastalıklara sahip AKS' lu hastalar çalışmaya alınmamıştır.

Hastaların seçilmesinde aşağıda belirtilen kriterler göz önüne alınmıştır.

1. Klinik veya laboratuvar olarak gösterilmiş, DM, serebrovasküler veya periferik arter ve solunum sistemi hastalığı olmaması,
2. İnflamatuvar hastalığı, malignite öyküsü bulunmaması,
3. Bütün AKS' li hastaların ağrının başlangıcından sonra 4 saat içinde başvurmuş olması,
4. Daha önce bilinen AKS hikayesi olmaması,
5. Başvuru anında akut pulmoner ödem, şok, hipotansiyon veya hipertansif kriz tablosu olmaması,
6. Geçmişte son 3 yıl veya halen sigara içenler sigara içici, diğerleri sigara içmeyen olarak belirlenmiştir. Tüm hastaların başvuru kilo ve boyları ölçülerek vücut kitle indeksleri (BMI) hesaplanmıştır. Kontrol grubuna genel dahiliye polikliniğine başvuran 44 koroner kalp hastalığı belirtisi bulunmayan kişiler alınmıştır.

3. 2. Laboratuvar Analizleri

Akut koroner sendromlu hastalardan başvurdularında kanları alındı. Antikoagulan içermeyen tüplere alınan kanlar 3000 g' de 10 dakika santrifüje edildikten sonra serumlar 2 ayrı tüpte ayrıldı. Bir tüpe NSAID eklendi. Serum örnekleri -80°C' de saklandı.

MDA ölçümünde Wasowicz, Neve, Peretz' in metodu esas alındı. Bu metodun temel prensibi lipid peroksidasyonu son ürünü olan MDA' nın 2-tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girmesi ve oluşan bileşiğin butonal fasına ekstrakte edilerek 525 nm (eksitasyon) ve 547 nm (emisyon) da spektrofotometrik olarak okunması esasına dayanmaktadır (19,22)

Sülfidril grupları (SH) nin ölçümünde Koster, Biemond ve Swaak' ın metodu esas alınmıştır. Proteinlerin sülfidril grupları bir disülfid olan 5-merkaptta -2- nitrobenzoik asidi (DTNB) indirgeyerek koyu sıvı renkte kromofor oluşturur. Oluşan kromoforun absorbası 412 nm' de okunur (70)

8-iso-PGF₂ α seviyesi immumassay kiti -80°C' de saklanan hasta serumlarında ölçüldü. İmmunussay öncesi alkali hidrolizi kullanıldı ve 405 nm spektroleometri analiz yapıldı (30,58,65)

LDL kolesterol kolorimetrik olarak ölçüldü. Diğer analizlerde rutin laboratuvar teknikleri kullanılmıştır

Oksidatif stres parametrelerinin ölçümünde kullanılan kimyasal maddeler Aventis ve AstraZeneca firmalarından temin edilmiştir

3. 3. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS versiyon 10.0 for Windows paket programı kullanılarak yapılmıştır. Sürekli değişkenler ortalama \pm standart hata şeklinde ifade edilmiştir. Tüm gruplarda sürekli değişkenlerin ortalamalarının karşılaştırılmasında ve gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkların belirlenmesinde tek yönlü varyans analiz (One-way ANOVA), Man-Whitney U testi, Kuruskal-Wallis varyans analiz metodları veya t-testi kullanılmıştır. Tüm gruplarda kategorik değişkenlerin oranlarının karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanılmıştır. İstatistiksel en küçük

anlamlılık sınırı $P < 0,05$ olarak kabul edilmiştir. Değişkenler arası ilişkilerde Pearson korelasyonuna bakılmıştır. Logistik regresyon analizinde (metod olarak) stepwise kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Bu çalışma iki grupta yürütülmüştür. Grup 1' de 26 akut koroner sendrom olgusu, Grup 2' de 44 koroner kalp hastalığı belirtisi olmayan olguyu içeren kontrol grubu olmak üzere iki farklı gruptan oluşmaktaydı. Grup 1 akut koroner sendromlu hastalar; 14 anstabil angina pectoris (USAP) ve 12 akut myokard infarktüs (AMI) hastası olmak üzere iki ayrı subgruba ayrıldı. Grupların klinik ve karakteristik özellikleri Tablo 1'de sunuldu.

Tablo 1. Grupların klinik karakteristik özellikleri karşılaştırılması (ortalama \pm standart hata)

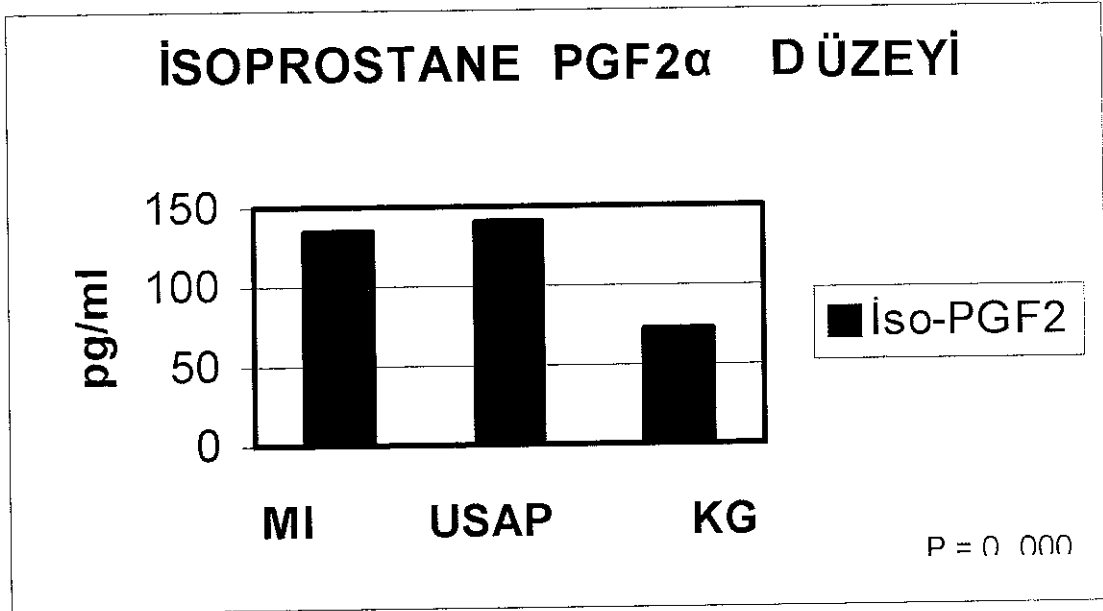
	AKS n:26	KG N:44	P değeri
Yaş	57,3 \pm 2,6	52,3 \pm 1,4	0,086
BMI (kg/m²)	26.3 \pm 3,2	27.0 \pm 4,7	0,888
HT(%)	26,9	31,8	0,666
LDL (mg/dl)	101 \pm 22.8	120,3 \pm 31,2	0,019
Sigara (%)	% 15,9	% 69,2	< 0,05

Gruplar arasında yaş açısından istatistiksel farklılık yoktu. Grupların koroner kalp hastalığına neden olan geleneksel aterosklerotik risk faktörleri açısından sigara alışkanlığı, LDL kolesterol açısından istatistiksel anlamlılık vardı. HT ve BMI açısından anlamlı farklılık yoktu.

AKS ve KG olgularının oksidatif stres belirteçleri, iso-PGF2 α , MDA, Karbonil grupları, Sulfidril grupları plazma değerleri istatistiksel olarak farklılık göstermektedir. Tablo2' de oksidatif stres belirteçlerinin plazma seviyeleri sunuldu.

Tablo 2 Grupların oksidatif stres parametreleri açısından karşılaştırılması
(ortalama \pm standart hata)

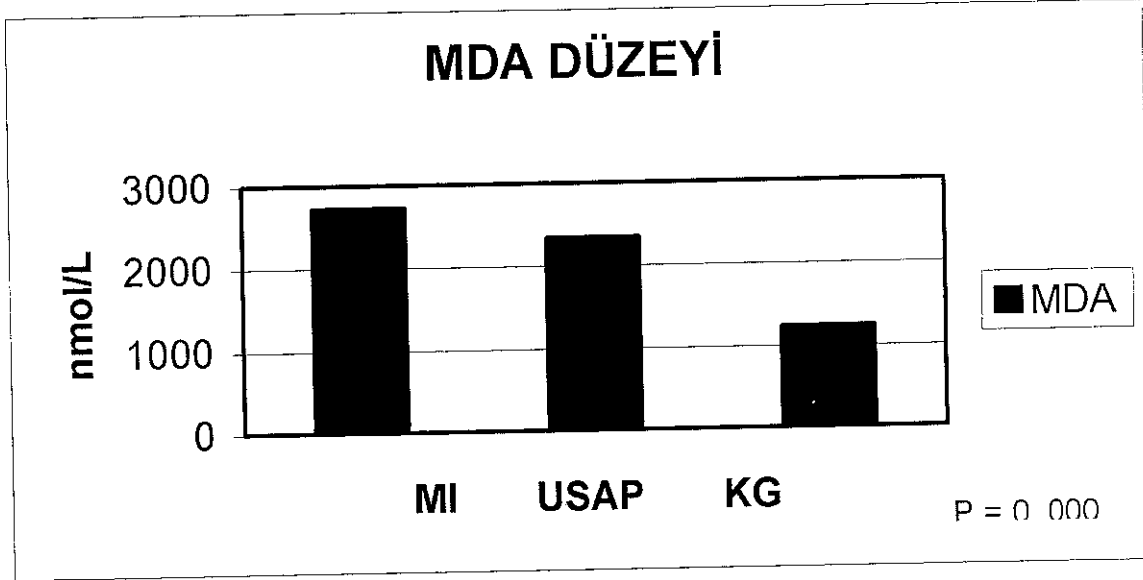
	MI	USAP	KG	P değeri
İso-PGF2 α (pg/ml)	135 80 \pm 8 95	141 58 \pm 8 70	72 89 \pm 3 68	0 000
MDA (nmol/L)	2720 \pm 100	2344 \pm 105	1232 \pm 53	0 000
Karbonil(μ mol/mgr pr)	2.02 \pm 0.20	2.01 \pm 0.25	1.49 \pm 0.17	0 031
Sülfidril (μ mol/L)	24 74 \pm 2 0	24 65 \pm 1,0	29 1 \pm 1.2	0 050



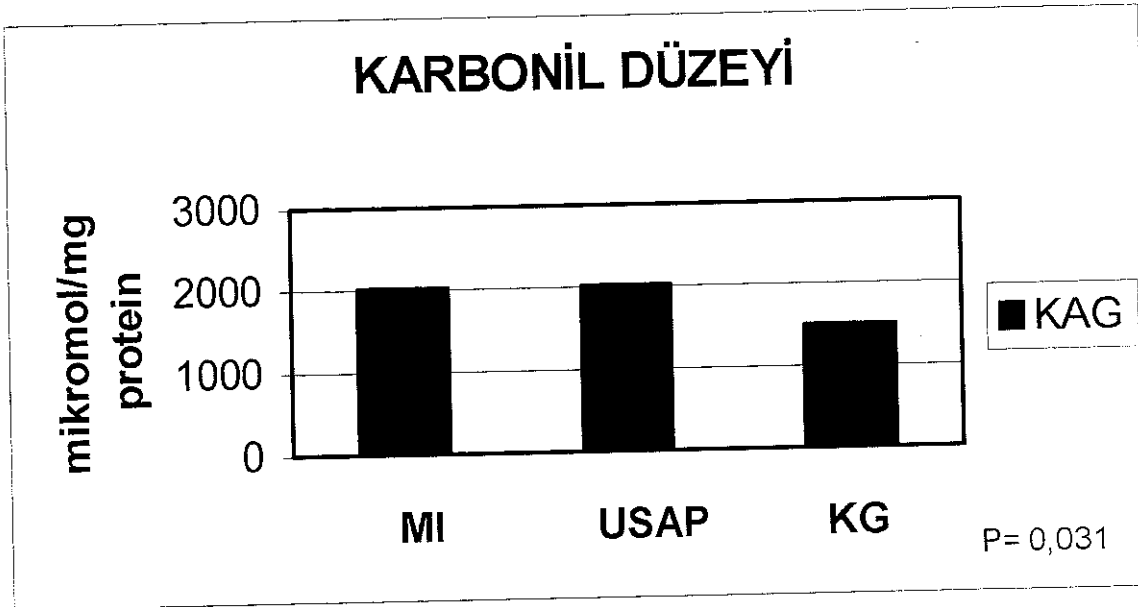
Şekil 1. Grupların iso-PGF2 α düzeyleri AKS ve kontrol grubu hastalarının sonuçları ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.

AKS grubu içinde BMI, sigara, HT, LDL gibi KAH risk faktörleri oksidatif parametreler açısından karşılaştırıldığında anlamlı farklılık bulunmadı. Ayrıca USAP ve MI hastalarında oksidatif stres parametreleri açısından anlamlılık yoktu fakat her iki grupta oksidatif stres parametreleri iso-PGF2 α ve MDA düzeyleri açısından KG' na göre istatistiksel anlamlılık vardı.

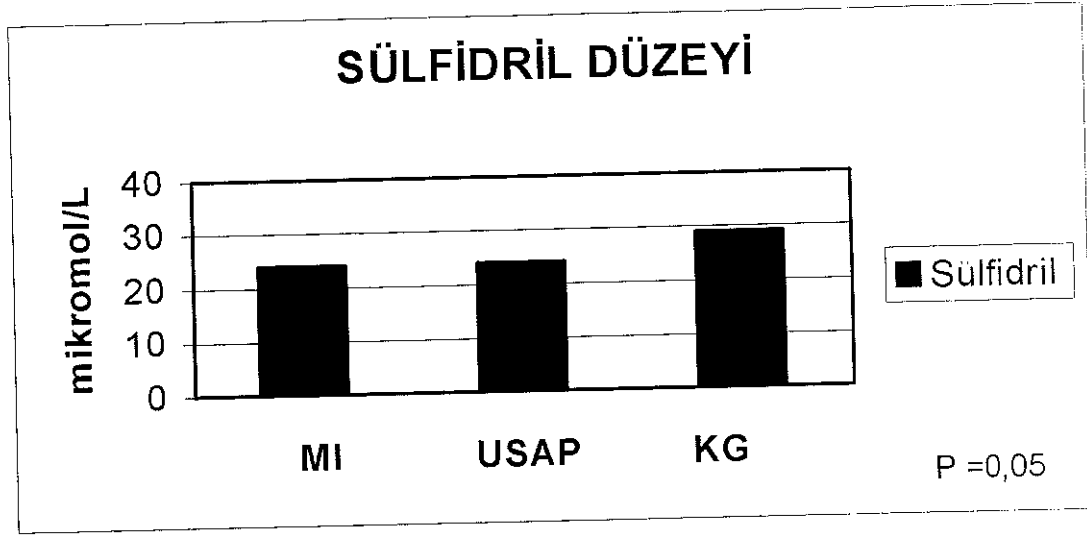
Hasta ve kontrol grupları arasında lipid peroksidasyonunu gösteren konvansiyonel parametreler MDA, karbonil grupları ve sulfidril gruplarının plazma düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu (Tablo 2) (Şekil 2-4)



Şekil II. AKS ve KG hastalarının MDA plazma düzeyleri ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir



Şekil III. AKS ve KG hastalarının karbonil grupları plazma düzeyleri ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.



Şekil IV. AKS ve KG hastalarının sülfidril grupları plazma düzeyleri ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.

Logistik regresyon analizinde stepwise metodu kullanılarak BMI, HT, MDA, İsoprostane $PGF_{2\alpha}$ değişkenleri modele anlamlı katkıda bulundu.

5. TARTIŞMA

Aterogenez oluşumunda yer alan pek çok risk faktörleri arasında oksidatif stres aracılı metabolik ve hümorale patolojiler giderek önem taşımaktadır (57) Endotel, koruyucu mekanizmalarla ateroskleroz oluşmasına normalde izin vermez. Oksidan ve antioksidan dengesizliği ifade eden oksidatif stresin aterosklerozda arttığını gösteren kanıtlar giderek artmaktadır. Oksidatif stres artışının bazı inflamatuvar mekanizmaları başlatarak, ateroskleroz ve düz kas proliferasyonunu başlattığı ve sürdürdüğü öne sürülmüştür (13,15,34,48)

Reaktif oksijen türleri (ROT), hücrelerdeki normal metabolik süreçlerin yan ürünleridir (25) Dengenin ROT lehine bozulması hücrele hasara yol açar ve bir çok hastalık patogenezinde rol aldıkları düşünülmektedir. Genel ateroskleroz risk faktörlerinin geniş deneysel hayvan çalışmalarında serbest oksijen radikallerinin yapım artışı gösterilmiştir. Böylece hiperkolesterolemi, diabetes mellitus, hipertansiyon, sigara içme ve yaşlanma ROT yapımını artırır (26,28,30,33) İnsanlarda gerçekte ateroskleroz her zaman akut myokard infarktüsü ile sonuçlanmaz, fakat çoğu akut koroner sendromlar aterosklerotik plağın rüptürü ile gerçekleşir. Aterosklerotik plak rüptürünü artıran risk faktörleri önem taşımakta ve bunlar incelenmektedir. Oksidan maddeler plak rüptüründe önemli rol oynayabilir. Bu görüşü plak rüptür bölgesinde proteinlerin hasarına neden olan enzimlerin bulunması desteklemektedir.

Çalışmamızda akut koroner sendromlu (AKS) hastaların plazmalarında oksidatif stresin hassas göstergesi olan iso-PGF₂α düzeyinin anlamlı olarak yüksek saptanması, ROT artışı ve LP ile devam eden ve aterosklerozla sonuçlanan süreçte oksidatif stres artışı saptandı. ROT ateroskleroz oluşumunda adezyon molekül ekspresyonu, vasküler düz kas uyarımı ile çoğalma ve göç etme, endotel apoptozu, lipid

oksidasyonu, matriks metalloproteinaz aktivasyonu ve vazomotor aktivite değişimi gibi çeşitli olayları başlattığı gösterilmiştir (14,15,16,34)

Deneysel ve epidemiyolojik olarak okside LDL' nin aterosklerotik lezyonlarda önemli rol oynadığı bilinmektedir. Çalışmamızda lipid peroksidasyonunun en iyi göstergelerinden iso-PGF2 α AKS gruplarında yüksek bulundu. Diğer konvansiyonel belirteçler ve iso-PGF2 α anstabil angina pectoris (USAP) ve myokard infarktüsü (MI) grupları arasında karşılaştıma ile oksidatif stres farkı olmadığı ortaya konuldu.

Çalışma gruplarımızı oluşturan AKS ve kontrol grupları oluşturan hastalar yaş açısından uyumludur. Ayrıca grupların geleneksel aterosklerotik risk faktörleri BMI ve HT açısından iki grup arasında benzerlik vardı. Sigara içenler AKS grubunda anlamlı yüksek bulundu. LDL kolesterolün ise AKS'li hastalarda anlamlı derecede düşük bulunması, bu hastaların çoğunluğunun antilipidemik ilaç kullanmasına bağlı yorumlanabilir. AKS grubu içinde risk faktörlerinin oksidatif stres belirteçlerine etkisinin çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı bulunmamasının, muhtemel nedeni hasta sayısının düşük olmasına bağlanabilir; bunu ortaya koymak için tek risk faktörüne sahip daha fazla sayıda hasta içeren çalışma gruplarına ihtiyaç olabilir.

Çalışma gruplarımızda oksidatif stresin son yıllarda belirlenen, en iyi göstergesi olan isoprostane-PGF2 α plazma düzeyi ölçüldü (14,28,31,45,46,49,65). AKS grubunda iso-PGF2 α düzeyi kontrol grubuna göre yüksek saptadı. AKS subgrupları USAP ve MI' lı hastaları arasında fark yoktur. MI grubuna göre USAP' lı hastalarda istatistiksel anlam taşımayan seviyede iso-PGF2 α yüksekliği saptanması, oksidatif stresin kronik bir süreç olduğu şeklinde yorumlanabilir. Stabil angina pectorisli hastalarda iso-PGF2 α düzeyi AKS'li hastalara göre başka bir çalışmada daha düşük bulunursa; oksidatif stresin plak stabilitesini bozan önemli bir unsur olabileceği düşünülebilir. AKS grubu içinde geleneksel aterosklerotik risk faktörleri BMI, HT, LDL kolesterol, sigara açısından fark bulunmaması hasta gruplarının küçük olması ve AKS' li hastaların çoğunluğunun en az bir veya daha fazla risk faktörüne sahip olmasına bağlandı. AKS

hastalarında risk faktörüne göre oksidatif stres karşılaştırması yapmak için daha geniş denekli çalışmalara ihtiyaç vardır.

ROT'ların damar hastalarındaki öneminden sonra damarda serbest radikallerin oluşmasındaki enzimatik kaynaklar ilgi toplamaya başladı. Ksantin oksidaz, NADPH oksidaz, mitokondrial kaynaklar ve NO sentaz enzimleri değişik ürün kaynakları kullanılarak oksijen molekulu sonuçta değişik ROT'ne indirgenir Enzim sistemlerinin damarsal oksidaz kontrolünde bazı patolojik uyarılar alması önem taşır Örneğin Ag-II NADPH oksidaz uyarımı ile ROT yapımını artırır (55,56) Sonuçta membran yapılarının oksidasyonuna neden olur ve Ag II hipertansiyonda aterosklerozun oluşumunda merkezi rol oynar Renin-Ag II sistemi ortadan kaldırılınca damar duvarının oksidan stresi azalır AKS ' li hastalarda artmış oksidatif stresin çeşitli potansiyel kaynakları olabilir. Sigara, HT, dislipidemi, obezite, yaşlanma gibi faktörlerin yanında genetik olarak antioksidan mekanizmaların yetersizliği de oksidatif stres patolojilerinin ortaya çıkmasına neden olabilir

Konvansiyonel belirteçlerden MDA ve karbonil gruplarının plazma düzeyleri AKS hastalarında anlamlı olarak yüksek bulunması oksidatif stresin yüksekliğini destekler niteliktedir. Anstabil anjina pectoris ve akut myokard infarktüs hastalarında okside LDL ve MDA düzeyi yüksek bulunması lipid peroksidasyonunun aterosklerozdaki önemini vurgulamaktadır (22) Okside LDL'nin aterom plaklarında köpük hücrelerinde saptanması ile aterogenezde önemli rolü olduğu düşünülmektedir (19,71)

Çalışmamızda ayrıca enzimatik olmayan antioksidan sistem değişiklikleri sülfidril grupları incelenmiştir AKS 'li hastalarda sülfidril grupları anlamlı olarak düşük saptandı Sonuç AKS' li hastalarda düşük antioksidan düzeylerine dikkat çekmektedir Bunun olası nedenlerinden biri de artmış ROT nedeniyle antioksidan mekanizmaların tükenmesi olabilir (25,70)

Aterom plağındaki makrofaj köpük hücrelerinde dış uyarılardan bağımsız sabit ve devamlı olarak ROT yapıldığı va bunlar metalloproteinaz enzim aktitelerini değiştirerek inflamasyon sonucunda oksidatif stres artmıştır. Aterosklerotik plakta makrofaj zengin bölgede

metalloproteinazların aktivasyonunda artış tesbit edilmiştir. In vitro bu enzimler aterosklerotik lezyonlardaki ana yapı kollagen ve elastinleri yıkar. Bu enzimlerin aktivasyonu matriks yıkımına ve plak ruptürüne neden olabileceği ileri sürülmektedir (40,41,42)

LDL yüksekliğinin ateroskleroz riski için merkezi rol oynadığı görülmüştür. Fakat, çalışmalar LDL'nin tek başına in vitro olarak aterogenik olmadığını destekliyor. Bu gözlemler LDL'nin aterogeneze neden olabilmesi için değişime uğraması gerektiğini desteklemektedir. LDL'nin oksidatif değişiminin ateroskleroz patogenezinde kritik rol oynadığı ileri sürülmektedir. Oksidatif strese neden olan yolları anlayabilmek için LDL oksidasyon hipotezinin bilinmesi anahtar rol oynar (68)

Deneyisel modellerde oksidatif stres olaylarını açıklayan birçok çalışma yapılmıştır. Aterogeneze bir anahtar olay arter duvarında proinflatuar makrofajların görülmesidir. Gerçekte lipid birikmiş (Lipid laden) makrofajlar ateroskleroz lezyonunun erken hücrel işaretidir. Bu hücreler özelleşmiş biyokimyasal yollarla ROS yapar. Makrofajlar NADPH oksidaz kullanarak superoksit üretir. Bu da SOD ile hidrojenperokside dönüşür. Bu hücrelerde miyeloperoksidaz oksidatif yolların diğer bir anahtar komponentidir. Miyeloperoksidaz hidrojenperoksitten daha potent sitotoksik oksidantlar oluşturur. Miyeloperoksidaz yolunun insan arter duvarında oksidatif hasara neden olduğu görüşü son on yılda ileri sürülen ilginç bir hipotezdir. Bu görüşü test etmek için yapılan çalışmalarda, aterosklerotik lezyonlardaki makrofajlarda miyeloperoksidaz düzeyi yüksek bulunmuş. Miyeloperoksidaz özellikle orta düzeydeki lezyonlarda, aterosklerotik plağın ruptür olma eğilimi yüksek olan omuz kısmındaki makrofajlarda saptanmıştır. Miyeloperoksidaz LDL'nin oksidatif hasarı için bir yol olabilir.

Artan biyokimyasal kanıtlara rağmen, kardiyovasküler hastalık ile oksidatif hasarın ilişkisini irdeleyen çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Aşırı serbest radikal üretimi ve düşük antioksidan düzeyleri ile karakterize olan oksidatif stres, endotel disfonksiyonu ve ateroskleroz gelişiminde önemli bir kofaktör olarak ortaya çıkmaktadır. Serbest oksijen radikallerin aterosklerozdaki rolü tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte, endotel hasarı ile oksijen radikalleri aterosklerotik sürecin hızlanmasına katkıda

bulunmaktadır. Özellikle aterosklerotik plakların önemli komponenti olan çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu lipid peroksidlerinin oluşumuna yol açarak bu komponentlerin hasarına neden olabilir. Lipid peroksidleri endotel hasarını kolaylaştırmaktadır.

Çalışmamızda Lipid Peroksidasyonunun önemli belirteçi isoprostane PGF₂ α düzeyi ve diğer oksidatif stres belirteçleri akut iskemik sendromlu hastalarda kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek bulunmuştur. Bu durum, aterogeneze neden olabilecek potansiyel mekanizmalar arasında oksidatif stresin rolüne, lipid peroksidasyonu ve antioksidan düzeyi düşüklüğüne dikkati çekmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. Braunwald: Heart Disease of Cardiovascular Medicine, 6th ed , 1272-1276,2135
2. Goldman : Cecil Textbook of Medicine, 21st ed , 292-294
3. Gök H Klinik Kardiyoloji. İstanbul. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. 1996: 88-108.
4. Jean-Luc Cracowski, Thierry Durand and Germain Bessard, Isoprostane as a biomarker of lipid peroxidation in humans: physiology, pharmacology and clinical implications, Trends in Pharmacological Sciences 2002; 22:8
5. Suwaidi J, Higono S, Hamasaki S, Association between obesity and coronary atherosclerosis and vascular remodeling Am J Cardio 2001; 88(11)
6. Larsen : Williams Textbook of Endocrinology, 10th ed 1544-1545, 1619-1922
7. Pizzorno : Textbook of Natural Medicine, 2nd ed. 841
8. Lui GS, Thornton J, Van Winkle DM, Stanley AWH, Olsson RA, Downey JM, Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A1 adenosine receptors in rabbit heart, Circulation 1991;84:350-56
9. Kitakaze M, Hori M, Takashima S, Sato H, Inoue M, Kamada T, Ischemic preconditioning increases adenosine release and 5' nucleotidase activity during myocardial ischemia and reperfusion in dogs Circulation 1993; 87: 208-15
10. Rajogopalan S, Meng XP, Ramasamy S, Harrison DG, Galis ZS, Reactive oxygen species produced by macrophage-derived foam cells regulate the activity of vascular matrix metalloproteinases in vitro Implications for atherosclerotic plaque stability J Clin invest 1996; 98:2572-2579
11. Muredach P, Reilly, Norman Delanty, et al. Increased formation of the isoprostanes IPF_{2x-1} and 8-Epi-Prostaglandin F_{2x} in Acute Coronary Angioplasty. Circulation 1997;96:3320

12. Alexander RW, (eds), Hurst' the heart, 8th edition London Mc Graw-Hill Inc 1994: 1107-12
13. Wasserman M, Sundel C, Chemistry and Pharmacology of vascular protectants: a novel approach to the treatment of coronary artery disease Am Col Cardio 2003; 91(3A)
14. Carlo Patrono, Gurret A, Fitz Gerald, Isoprostanes: Potential markers of oxidant stress in atherothromhotic disease Atherosclerosis, Thorombosis, and Vascular Biology 1997;17:2309-2315
15. Harrison D, Griendling K, Role of oxidative stress in atherosclerosis Am J Cardio 2003; 91: 3144-2
16. Joy W. Heinecke, Oxidative stress : new aproaches to diagnosis and prognosis in atherosclerosis Am J Car 2003;91(3A)
17. Ottani F, Galvani M, Ferrini D, Sorbello F, Limonetti P, et al Prodromal angina limits infact size: A role of ischemic preconditioning Circulation. 1995; 91: 291-297
18. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA: Preconditioning with ischemia: A delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. Circulation. 1986: 74: 1124-36.
19. Holvoet P, Vanhaecke J, Janssens S, et al. Oxidized LDL and malondialdehyde-modified LDL in patients with acute coronary syndromes and stable coronary artery disease Circulation 1998;98:1487-1494
20. Pratico D , Barry O. IPGF2 α -I : An index of lipid peroxidation in humans Biochemistry 1998; 95: 34449-3454
21. Cotran : Robbins Patholojic Basis of Disease, 6th ed ,500-509, 554-556
22. Nielsen F, Mikkelsen B , Nielsen J. Plazma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: referance interval and effects of life-style factors 1997; 43:7, 1209-1214
23. Giovanni Davi, Paola Alessandrini, Andrea Messetti et al. In vivo formation of 8- Epi – Prostaglandin F_{2x} is increased in hypercholesterolemia Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 1997;17:3230-3235

24. Milos P Stojilkovia, Heno F Lopes, Da Zhang. Increasing plasma fatty acids elevates F2-isoprostanes in humans: implications for the cardiovascular risk factor cluster *Journal of Hypertension* 2002; 20:1215-1221
25. Vaziri D, Wang Q X, Oveisi F Induction of Oxidative Stress by Glutathione Depletion Causes Severe Hypertention in Normal Rats *Hypertention* 200; 36:142-14
26. Murdeach Reilly, Norman Delanty et al. Modulation of oxidant stress in vivo in chronic cigarette smokers. *Circulation*. 94(1):19.
27. Ghanim H, Garg R. Supretion of Nuclear-kappa B and sitimulation of inhibitor kappa B by Troglitazone: Evidance for an Antiinlamatory Effect and a potential Antiatherosclerotic Effect in Obese *J Cli End Met* 2001; 86: 1306-1318
28. John F Keaney, Martin G. Lawson Et al Obesity and systemik Oxidative stress. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 2003;23:434
29. Felmeden D, Spencer c., Chung N Relation of thrombogenesis in sistemic hypertantion to angiogenesis and endothelial damage/dysfuction (ASCOT) 2003; 92(4)
30. Dillon s., Lowe G Dietary Suplemantation with Aged Garlic Extract Reduces Plasma and urine Consantration of 8-iso-prostaglandin F2 α in Smoking and Nonsmoking Men and Women *Nutrition* 2003; 132(2): 168
31. Giovanni Davi, Giovanni Glatattoni el al In vivo formation of 8- iso-prostaglandin F2 α and platelet activation in diabetes mellitus Effects of improved metabolic control and vitamin E supplementation *Circulation* 1999;99:224-229.
32. AM Schmidt, O Hori, J Brett, SD Yan Celluler receptor for advaced glycation end products Implications for induction of oxidant stress and celluler dysfunction in the pathogenesis of vascular lesions *Arteriosclerosis and Thrombosis* 1994;14:1521-1528
33. Evans J, Goldfire D Oxidative stress and stress activated signaling pathways: A Unifying Hypothesis of Tip I Diabetes *Endocrine Reviews* 2002; 25:599-622

34. Y Tardy, N Resnick Shear stress gradients remodel endothelial monolayers in vitro via a cell proliferation-migration-loss cycle *Arteriosclerosis Trombosis and Vascular Biology* 1997; 17:3102-3106
35. Heyndrickx GR, Amano J, Patrick TA, Manders WT, Rogers GG et al Effects of coronary artery reperfusion on regional myocardial blood flow *Circulation* 1985; 71: 1029-37.
36. Kloner RA, Ganote CA, Jennings B. The no reflow phenomenon after temporary coronary occlusion in the dog. *J Clin Invest* 1974; 54: 1496-508
- 37 Thorsten R , Sharon L H Relationship between no reflow and infarct size as influenced by the duration of ischemia and reperfusion *Am J. Physiol Heart Circ Physiol* 2002;282:H766-H772
- 38 Thorsten R. And Robert A Kloner Microvascular reperfusion injury: Rapid expansion of anatomic no reflow during reperfusion in the rabbit *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283: H1099-H1107
- 39 Ferrari R , Ceconi C Ischemic preconditioning, myocardial stunning and hibernation: Basic Aspects *Am Heart J* 1999; 138: 61-68
- 40 Colonna P And Iliceto Sabino Myocardial infarction and left ventricular remodeling Results of the CEDIM trial *Am Heart J* 2000; 139:124-130
- 41 Giuseppe Ambrosio and Isabella Tritto Reperfusion injury: Experimental evidence and clinical implications *Am Heart j* 1999; 138: S64-S75
- 42 S. Bertuglia and A Giusti Microvascular oxygenation, Oxidative stress, No suppression and superoxide dismutase during postischemic reperfusion *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: H1064-H1071
43. Gadai S , Gerhoud P In vitro effects of oxygen-derived free radicals on Type1 and Type 2 cAMP Dependent protein kinases *J Biol Chem* 1998; 273: 22833-22840
44. Joe M. McCort and Irusin Fridovich The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions *J Biol Chem* 1969; 244(22): 6056-6063
- 45 GUTTERIDGE, J.M.C., 1995 Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin. Chem* 41: 1819-1828

- 46 John A Lawson, Joshua Rokach and Garret A. Fitz Gerald. Isoprostanes: Formation, Analysis and Use as indices of Lipid peroxidation in vivo *Biol Chem*, 1999;274(35):24441-24444
47. Reilly MP, Pratico D, Delanty N, DiMinno G, Tremoli E, Rader D, et al Increased formation of distinct F₂-isoprostanes in hypercholesterolemia *Circulation* 1998;98:2822-2828
48. Dimmeler S, Hermam Ac Up regulation of superoxide dismutase and nitrose oxide synthase mediates the apoptosis-suppressive effects of shearstress on endothelial cells *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19:656-664
- 49 Frits M., Jonkers I Normal oxidative stress and enhanced lipoprotein resistance to in vitro oxidation in hypertriglyceridemia *Arterioscle Thromb Vas Biol* 2000; 20:2434
- 50 Laurent P Audoly, Bianca Rocca, Cardiovascular Responses to the Isoprostanes IPF2 α -III AND IPE2-III are Mediated via the Tromboxane A2 Receptor In vivo, *Circulation* 2000;101:2833-2840
- 51 Sandra Erbs, Stephan Gielen, Axel Linke, Improvement of peripheral endothelial dysfunction by acute vitamin C application: different effects in patients with coronary artery disease, ischemic and dilated cardiomyopathy, *American Heart Journal*, 2003;146(2)
52. Jean-Claude Tardif, Clinical results with AGI-1067: a novel antioxidant vascular protectant *Am J Car*, 2003;91(3A)
53. John A Farmer, Antonio M Gotto Jr, The Heart Protection Study: expanding the boundaries for high-risk coronary disease prevention, *Am J Car*, 2003;92(1)
54. Martin A Wasserman, Cynthia L. Sundell, Charles Kunsch, Chemistry and pharmacology of vascular protectants: a novel approach to the treatment of atherosclerosis and coronary artery disease, *Am J Car*, 2003;91(3A)
- 55 Ushio-Fukai M, Alexanders RW, Akers M, Griendling KK. P38 mitogen activated protein kinase is a critical component of the redox – sensitive signaling pathways activated by anjiotensin II *J Biol Chem* 1998;273:15022-15029

- 56 Sanjay Rajagopalan, Sabine Kurz, Thomas Munzel, Angiotensin II-mediated Hypertension in the Rat Increases Vascular Superoxide Production via Membrane NADH/NADPH Oxidase Activation *J Investigation*, 1996; 97:1916-1923
- 57 Lanse S Terada, Oxidative stress and endothelial activation, *Critical Care Medicine*, 2002; 30(5)
- 58 Cipollone F. et al. Oxidant stress and Asprin – insensitive thromboxane biosynthesis in severe unstable angina. *Circulation*. 2000; 102:1007
- 59 Delanty n., Reilly M.P., Pratico D. Lawson J.A. 8-Epi PGF₂ α Generation During Coronary Reperfusion *Circulation* 1997; 95: 2492
- 60 Oldgren J., Linder R., Grip L., Siegbahn A., Wallentin L. Coagulation activity and clinical outcome in Unstable Coronary Artery Disease *Arterioscler Tromb Vasc Biol* 2001; 21: 1059-1064
- 61 Awad JA, Morrow JD, Takahashi K, et al Identification of non-cyclooxygenase-derived prostanoid (F₂-isoprostane) metabolites in human urine and plasma. *J Biol Chem*. 1993; 268:4161-4169.
- 62 Chiabrando C., Valagussa A., Rivalta C., Durand T Identification and measurement of endogenous β -Oxidation Metabolites of 8-epi-Prostaglandin F₂ α
- 63 Richard T Lee, Peter Liby The Unstable Atheroma, *Arterioscler Tromb Vasc Biol* 1997; 17: 1859-1867
- 64 Beret E. Fenster, Philip S. Tsao, Stanley G. Rockson Endothelial dysfunction: clinical strategies for oxidant stress *American Heart Journal* 2003; 146(2)
- 65 Vassalle c, Botto N, Andreassi MG, Berti S, Biagini A Evidence For enhanced isoprostane plasma levels, as index oxidative stress in vivo, in patients with coronary artery disease *Coron Artery Dis* 2003; 14(3):213-8
- 66 Z Wang, G ciabattoni, C Creminon, j Lawson Immunological characterization of urinary 8-epi-prostaglandin F₂ α excretion in man *American Socie Pharma Experimental Therapeutics* 1995; 75: 94-100

67. Kenichi Yasunari, Kensaku Maeda, Mieko Minami, Junichi Yoshikawa
HMG-CoA Reductase Inhibitors Prevent Migration of Human Coronary
Smooth Muscle Cells Through Suppression of Increase in Oxidative
stress Arterioscler Thromb Vas 2001;21:937-942
68. Patricia J M. Best Lialach O Lerman, Juan C Romero, Darcy
Richardson Coronary Endothelial Function is Preserved With
Chronic Endothelin Receptor Antagonism in Experimental
Hypercholesterolemia in Vitro Arterioscler Thromb Vasc Biol 1999; 19:
2769-2775
69. Paola Patrignani, Maria R. Panara, Stefania Tacconelli, Francesca
Seta Effects of Vitamin E Supplementation on F2- Isoprostane and
Tromboxane Biosynthesis in Healthy Cigarette Smokers circulation 2000;
102: 539-545
70. Koster JF, Biemond P, Swaak JG. Intracellular and extracellular
sulphydryl levels in rheumatoid arthritis Ann Rheumatic Disease 1986;
45: 44-46
71. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Ahn BW,
Shaltiel S, Stadman ER Determination of carbonyl content in
oxidatively modified proteins. Methods Enzymol 1990;186:464-478,

ERDENİZ ÜNİVERSİTESİ
KÜTÜPHANE KÜTÜPLÜĞÜ