

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YAŞLANMADA
LİPİD PEROKSİDASYONU,
ANTIOKSİDANLAR

ve

LİPİDLER

Biyolog Alper UZUN

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yönetmeliğinin Biyokimya
Programı İçin Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

Danışman: Yard. Doç. Dr. Derya AKAYDIN

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ ARAŞTIRMA FONU
TARAFINDAN DESTEKLENMİŞTİR
PROJE NO: 41/1997

79799
KOCAELİ
1998

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

İşbu çalışma, jürimiz tarafından Biyokimya Anabilim Dalında BİLİM UZMANLIĞI TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan Ünvanı Adı SOYADI (DANISMAN)

Yard. Doç. Dr. Derya Akaydin

İMZA



Üye Ünvanı Adı SOYADI

Prof. Dr. Aytekin Göz

İMZA



Üye Ünvanı Adı SOYADI)

Doç. Dr. Gülay Keypenç

İMZA



ONAY

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

23.07.1998

Prof. Dr. Ali SAZCI
Enstitü Müdürü
Mühür

ÖZET

Yaşlanmada Lipid Peroksidasyonu, Antioksidanlar ve Lipidler

İnsanlarda yaşlanma, normal ve metabolik süreçlerin bir sonucu olarak ortaya çıkmakta ve bir çok biyokimyasal değişiklik ile birlikte görülmektedir. Bu çalışmada; kan lipid, lipid peroksit ve antioksidan düzeylerinin yaşa bağlı değişiminin ve bu parametrelerin birbirleri ile ilişkilerinin araştırılması amaçlandı.

Açlık kan örnekleri, yaşları 20 ve 86 arasında değişen (50.29 ± 16.15) 162 sağlıklı gönüllü bireyden (77 kadın, 85 erkek) alındı. Olgular yaşlarına göre 3 gruba ayrıldı. (Grup1: 20-39 yaş, n:42; Grup2: 40-59 yaş, n:66; Grup3: 60-79 yaş, n:54). Lipid parametreleri arasında; kolesterol ve LDL-kol düzeyleri yaşlı grupta genç gruba göre artış gösterdi ($p < 0.05$). HDL-kol de artan yaşla birlikte önemli bir artış gösterdi ($p < 0.05$). Trigliserid ve VLDL-kol düzeyleri orta yaşta grupta artarken yaşlı grupta azalma gösterdi ($p < 0.05$). Glukoz konsantrasyonlarında da genç yaş grubundakilere göre orta yaş ve yaşlı gruplarda önemli bir artış gözlemlendi ($p < 0.05$). Lipid peroksidasyonunun bir ölçütü olan tiyobarbitürik asit (TBA) değeri (MDA düzeyleri) açısından, yaş grupları arasında bir fark gözlenmedi ($p > 0.05$). Ancak artan yaşa bağlı olarak MDA düzeylerinin önemli pozitif bir korelasyon gösterdiği ($r: 0.1578$, $p < 0.05$) saptandı. Antioksidanlar açısından; eritrosit glutatyon düzeyleri, orta yaş ve yaşlı gruplarda azalma gösterdi ($p < 0.05$). Eritrosit Gpx aktiviteleri yaşlı ve orta yaşta gruplarda, genç gruba kıyaslandığında artarken ($p < 0.05$), SOD aktiviteleri yalnızca yaşlı grupta orta yaş grubuna göre artış gösterdi ($p < 0.05$). Vitamin düzeyleri açısından; askorbik asit düzeyleri değişik yaş gruplarında farklılık göstermezken ($p > 0.05$) vitamin E düzeyleri ve vitamin E indeksi yaşlı bireylerde azaldı ($p < 0.05$). Yaş ile korelasyonlara bakıldığında da; glukoz ($r: 0.2557$, $p: 0.001$), kolesterol ($r: 0.3640$, $p: 0.001$), HDL-kol ($r: 0.2774$, $p: 0.001$) ve LDL-kol ($r: 0.2912$, $p: 0.001$) pozitif korelasyon gösterirken, GSH ($r: -0.3969$, $p: 0.001$), askorbik asit ($r: -0.1598$, $p: 0.044$) ve vitamin E indeksi ($r: -0.0192$, $p: 0.009$) ise artan yaşla negatif bir korelasyon gösterdi.

Sonuç olarak, yaşlanma sürecinde lipid profilinde bozukluklar oluşmakla birlikte HDL-kol sağlıklı yaşlanma durumunun bir göstergesi olarak giderek artmaktadır. Lipid peroksidasyonu yaşlı bireylerde değişiklik göstermezken antioksidan durumun özellikle GSH ve vitamin E indeksine bağlı olarak yaşlılardaki azalışı belirgindir.

Anahtar sözcükler: Yaşlanma, lipid peroksidasyonu, antioksidanlar, lipidler, lipoproteinler.

ABSTRACT

Lipid Peroxidation, Antioxidants and Lipids In Aging

Aging in humans seems to be result of normal and metabolic processes and is accompanied by many biochemical changes. This study was designed to investigate the age-related changes in blood lipids, lipid peroxides and antioxidants, and the relations between these parameters.

Fasting blood samples were obtained from 162 healthy volunteers (77 women, 85 men) aged between 20-86 years (50.29 ± 16.15). The subjects were divided into three groups according to age. Group 1: 20-39 years, n=42; Group 2: 40-59 yaş, n=66; Group3: 60-79↑years, n=54. Among lipid parameters; cholesterol and LDL-C levels increased in the old age group with respect to the young group ($p < 0.05$). Triglycerides and VLDL-C levels increased in the middle age group ($p < 0.05$), and further decreased in the elderly ($p < 0.05$). A significant rise in glucose concentrations in the middle aged and old aged groups was also observed with respect to the young group ($p < 0.05$). The thiobarbituric acid (TBA) value (MDA levels) as a measure of lipid peroxidation showed no significant difference among the age groups ($p > 0.05$). However a significant positive correlation between MDA levels and the increasing age ($r: 0.1578$, $p < 0.05$) was observed. With respect to antioxidants, glutathione levels (GSH) decreased in the middle age and old age groups ($p < 0.05$). Erythrocyte Gpx activities increased in the old age and middle age group ($p < 0.05$) when compared to the young ones whereas SOD activities showed a significant rise only between the middle age and old age groups ($p < 0.05$). With respect to vitamins no significant difference was found in ascorbic acid levels among the groups ($p > 0.05$), but vitamin E and vitamin E index decreased in the old age ($p < 0.05$). When correlated with age, glucose ($r: 0.2557$, $p = 0.001$), cholesterol ($r: 0.3640$, $p < 0.001$), HDL-C ($r: 0.2774$, $p < 0.001$) LDL-C ($r: 0.2912$, $p < 0.001$), showed positive correlations, whereas GSH ($r: -0.3936$, $p < 0.001$), ascorbic acid ($r: -0.1598$, $p < 0.05$) and vitamin E index ($r: -0.2089$, $p < 0.01$) correlated negatively with increasing age.

In conclusion, lipid profile disorders occur in the aging process although HDL-C seems to rise by aging as an indication of healthy aging status. Lipid peroxidation doesn't seem to change in the aged population, whereas the decrease in the antioxidant status with respect to GSH and vitamin E index is striking in the elderly.

Key words: Aging, lipid peroxidation, antioxidants, lipids, lipoproteins.

TEŞEKKÜR

Biyokimya eğitimim süresince, ilgisi ve desteği ile yanımda olan, kıymetli hocam **Doç. Dr. Gülay HERGENÇ'e**, eğitimimin her aşamasında sabır ve özveri ile yaklaşan değerli hocam ve danışmanım **Yard. Doç. Dr. Derya AKAYDIN'a**, tezimin çeşitli safhalarında büyük desteğini gördüğüm ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum **sevgili asistan arkadaşlarıma**, laboratuvarımızda çalışan **teknisyen arkadaşlarıma** ve her zaman yanımda olan, hiç bir fedakarlıktan kaçınmayan **çok sevgili anne ve babama**, teşekkür ederim.

Bu tez, Kocaeli Üniversitesi Araştırma Fonu Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: 41/1997

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GENEL BİLGİ VE İLGİLİ ÇALIŞMALAR	
1.1. Yaşlanma Kavramı ve Tanımı	1
1.2. Lipidler	3
1.2.1. Lipidlerin Yaşlanma ile İlişkisi	6
1.3. Serbest Radikaller ve Lipid Peroksidasyonu	6
1.3.1. Serbest Radikaller ve Lipid Peroksidasyonunun Yaşlanma ile İlişkisi	11
1.4. Antioksidanlar	13
1.4.1. Glutasyon (GSH)	14
1.4.2. Superoksit dismutaz (SOD)	16
1.4.3. Glutasyon Peroksidaz (Gpx)	17
1.4.4. Vitamin C (Askorbik asit)	18
1.4.5. Vitamin E (α -tokoferol)	21
1.4.6. Antioksidanların Yaşlanma ile İlişkisi	24
1.5 Lipidler, Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidanların Birbirleriyle Etkileşimleri	25
2 AMAÇ ve KAPSAM	27
3 GEREÇ ve YÖNTEMLER	
3.1. Araştırmanın Yeri	29
3.2. Araştırmaya Katılanların Seçimi	29
3.3. Numunelerin Toplanması	30

3.4. Çalışma Yöntemleri	30
3.4.1. Kullanılan Kimyasallar, Reaktifler ve Cihazlar	30
3.4.2. Glukoz ve Lipidlerin Ölçümü	32
3.4.3. Lipid Peroksidasyon İndeksi (MDA) Ölçümü	32
3.4.4. Antioksidanların Ölçümü	33
3.4.4.1. Eritrosit GSH Düzeyi Ölçümü	33
3.4.4.2. Eritrosit SOD Aktivitesi Ölçümü	35
3.4.4.3. Eritrosit Gpx Aktivitesi Ölçümü	37
3.4.4.4. Plazma Askorbik Asit Düzeyi Ölçümü	38
3.4.4.5. Serum Vitamin E Düzeyi Ölçümü	41
3.5. İstatistiksel Yöntemler	42
4 BULGULAR	43
5 TARTIŞMA	59
6 SONUÇLAR ve ÖNERİLER	67
KAYNAKLAR DİZİNİ	69
ÖZGEÇMİŞ	75

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

GSH	: Glutatyon
GSSG	: Okside glutatyon
SOD	: Süperoksid Dismutaz
Gpx	: Glutatyon Peroksidaz
MDA	: Malondialdehit
DİE	: Devlet İstatistik Enstitüsü
PUFA	: Poliansature yağ asitleri
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
HDL	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein
VLDL	: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein
LCAT	: Lesitin: kolesterol açıl transferaz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (indirgenmiş)
ATP	: Adenozin trifosfat
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
DHAA	: Dehidroaskorbik asit
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
BSA	: Sığır serum albümini
GSH-S	: Glutatyon sentetaz
O ₃	: Ozon
•NO ₂	: Nitrit
•ASR	: Askorbat serbest radikali

$O_2\bullet^-$: Superoksit radikali
$HO\bullet$: Hidroksil radikali
$RO\bullet$: Alkoksil radikali
ROOH	: Hidroperoksit
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
$RO\bullet$: Peroksil radikali
TBARS	: Thiobarbituric acid reactive substances
HNE	: Hidroksi nonenal
LOO^-	: Lipid peroksit
SSYB	: Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.2.1. Trigliserid Molekülü	3
Şekil 1.2.2. Siklopentanoperhidrofenantren Halkası	4
Şekil 1.4.1.1. Glutatyon Sentezi	15
Şekil 1.4.4.1. L-Askorbik Asit	19
Şekil 1.4.4.2. Dehidroaskorbik Asit	19
Şekil 1.4.4.3. Askorbik Asit ve Dehidroaskorbik Asit Dönüşümleri	20
Şekil 1.4.5.1. Vitamin E: Antioksidan	21
Şekil 1.4.5.2. Vitamin E'nin Antioksidan Davranışı	23
Şekil 4.1. Glukoz ve Lipidlerin Yaş Gruplarına Göre Değişimi	45
Şekil 4.2. Vitamin ve MDA Düzeylerinin Yaş Gruplarına Göre Dağılımı	45
Şekil 4.3. Vitamin İndeksi GSH, Gpx Düzeylerinin Yaş Gruplarına Göre Dağılımı	46
Şekil 4.4. SOD Enziminin Yaş Gruplarına Göre Dağılımı	55
Şekil 4.5. Vitamin E ve Askorbik Asitin Yaşa Bağlı Değişimi	56
Şekil 4.6. LDL-Kol, Trigliserid ve Kolesterolün Yaşa Bağlı Değişimi	56
Şekil 4.7. Gpx ve Eritrosit GSH Düzeyinin Yaşa Bağlı Değişimi	57
Şekil 4.8. Glukoz Düzeylerinin Yaşa Bağlı Değişimi	57
Şekil 4.9. MDA Düzeyinin Yaşa Bağlı Değişimi	58

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.2.1. HDL, LDL, VLDL Özellikleri	5
Çizelge 1.4.1 Biyolojik Sistemlerde Bulunan Antioksidanlar	14
Çizelge 4.1. Çalışma Gruplarının Yaşa Göre Dağılımı	43
Çizelge 4.2. Araştırmaya Katılan Bireylerde Çalışılan Parametrelerin Düzeyleri	44
Çizelge 4.3. Çalışılan Parametrelerin, Yaş Gruplarına Göre İstatistiksel Değerlendirilmesi	47
Çizelge 4.4. Çalışılan Parametrelerin Erkeklerde Yaş Gruplarına Göre İstatistiksel Değerlendirilmesi	49
Çizelge 4.5. Çalışılan Parametrelerin Kadınlarda Yaş Gruplarına Göre İstatistiksel Değerlendirilmesi	51
Çizelge 4.6. Tüm Grupta Çalışılan Parametrelerin Yaş ile Korelasyonları	53
Çizelge 4.7. Tüm Gruplarda Çalışılan Parametrelerin Birbirleri ile Korelasyonları	54

GENEL BİLGİ ve İLGİLİ ÇALIŞMALAR

1.1 Yaşlanma Kavramı ve Tanımı

Yaşlı terimi, altmış beş yaş ve üstü bireyleri tanımlamak için kullanılır. Bu grupta kadınlar her yaş sınıfında erkeklerden daha çoktur. 2040 yılında tahmin edilen kadınlar için ortalama yaşam süresi seksen üç, erkekler için ise yetmiş beş yaştır. İstatistiklere göre en sık görülen ve yaşlı grubu etkileyen kronik hastalıklar; artrit, hipertansiyon, kalp hastalıkları, işitme bozuklukları, katarakt ve diğer görme bozuklukları ve ortopedik bozukluklardır. Altmış beş yaş üstü grupta ölüme neden olan major nedenler arasında; kalp hastalıkları, malign neoplazmlar, serebrovasküler olaylar, influenza ve pnömoni, diabetes mellitus, aterosklerozis, kaza ve travmalar yer almaktadır.

Yaşlanma ile birlikte vücut kompozisyonu değişir. Total vücut suyu yirmi beş yaşta %60 iken, yetmiş yaşta %50 olmaktadır. İskelet kası ve organ atrofisine bağlı olarak vücut kütlesi %15 azalır. Total vücut suyunun azalması ile suda eriyen ilaç ve nutrientlerden yararlanım azalır. Adipoz doku %15'ten %30'a artış gösterir. Vücut yağ dokusunun artışı, yağda çözünen ilaç ve nutrientlerin toksik birikimine yol açar (Anderson and Cockayne, 1993).

Yaşlanma, fizyolojik bir süreçtir. İki major faktör yaşlanmada önemli rol oynamaktadır:

1- Genetik olarak, yaşlanmanın çevreden bağımsız bir şekilde türlerin tüm bireylerine etkili olması

2- Çevresel etkilerin verdikleri zararlara bağlı olarak gelişen yaşlanmada; hastalıklar ve/veya serbest radikal reaksiyonların etkileri gibi örnekleri saymak mümkündür.

Lipid peroksidasyonunun ve serbest radikallerin verdikleri zararlar yaşlanma sürecinde önemli faktörler olarak yer almaktadır. Hızlanmış yaşlanmada, artmış bir

serbest radikal akımı söz konusudur. Yaşlılıkla ilişkili değişimler ve bazı hastalıklar serbest radikal teorisi ile açıklama bulabilmektedir. Frekansı artmış tümörler, ateroskleroz, yüksek tansiyon, immün disfonksiyon, merkezi sinir sisteminde meydana gelen değişimler bunlar arasında sayılabilir (Harman, 1981).

Avrupa'nın pek çok ülkesinde ortalama yaşam süresi 70 yıl ve civarı olarak gerçekleşirken, bu değer toplum sağlığı ileri düzeyde olan ve yüksek kaliteli sağlık hizmetlerinin verildiği gelişmiş ülkelerde daha da artmaktadır (Simonoff et al, 1992).

Ülkemizdeki durumun değerlendirilmesinde; nüfusumuzun yaklaşık %6 sının 65 yaş ve üstü olduğu, 25 yaş ve altının ise %43.3 oranında olduğu saptanmıştır (T.C. Başbakanlık DİE, 1996).

İstanbul'da yapılan bir araştırmada yaşlıların %72.9 unun duyu organları ile ilgili sorunları olduğu saptanırken (Yazıcı, 1994), İzmir'de yapılan başka bir araştırmada ise yaşlıların %90.36 nın sistemik hastalıklara bağlı sağlık sorunu olduğu belirlenmiştir. Bu sorunların başında da hipertansiyon ve aterosklerotik hastalıkların yer aldığı saptanmıştır (Fadıloğlu ve ark. 1992).

Potansiyel yaşam süresi bazı türlerde bazal metabolizma (günde vücut ağırlığı başına tüketilen oksijen) ile çok yakın ilişki göstermektedir. Mitokondrial solunum zincirinin fonksiyonu sırasında oksijen çıkışının miktarı bazal metabolizma ile orantılıdır. Mitokondri veya regülatör genlerin aktivitesi üzerinde yaşlanmanın yavaş kümülatif etkileri primer faktör olarak karşımıza çıkmaktadır (Simonoff et al. 1992). Böylece yaşlanma serbest radikal etkileri sonucu oluşan bir hatalı farklılaşma olarak ele alınabilir. Bu durumda; kalori alımında yapılacak kısıtlama ile bazal metabolizmayı düşürmek veya vücut yüzey ısını azaltmak yolu ile potansiyel yaşam süresinin uzatılmasının mümkün olacağı ileri sürülmektedir (Harman, 1992).

Yaşlanma süreci üzerine bir çok teori geliştirilmiştir. Örneğin; moleküler çapraz bağlanma (Bjorksten, 1968), immünolojik fonksiyonların değişimi (Walford, 1969), serbest radikal reaksiyonların etkisi ile meydana gelen hasarlar (Harman,

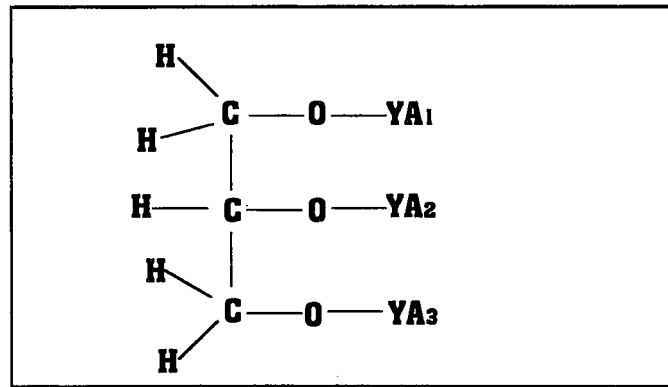
1986), DNA senesens genleri (Hayflick, 1987) gibi teoriler söz konusudur. Günümüze kadar tek bir teori genel olarak kabul edilmemiştir (Harman, 1993).

1.2. Lipidler

Lipidler, gerçekten veya potansiyel olarak yağ asiti esterleri olan bileşiklerdir. Canlılar tarafından kullanılan bu bileşikler organik çözücülerde çözünürken, suda çözünmemektedirler. Lipidlerin non-polar özellikleri suda çözünmelerini önlemektedir. Yağ asitlerini yaygın kimyasal bileşik olarak düşündüğümüzde, lipidler hem potansiyel olarak hem de kendi yatkinlıkları nedeni ile yağ asiti esterleri olmaktadır.

Yağ asitleri genel bir formül olarak, R-COOH ile gösterilmektedirler. R, uzun zinciri (12-26 karbon atom uzunluğunda) ifade etmektedir. Eğer tüm karbon atomları arasındaki bağ tek ise molekül sature (doymuş) yağ asidi olarak tanımlanmaktadır. Karbon atomları arasında tek çift bağ taşıyan yağ asitleri monoansatüre (doymamış) olarak adlandırılırlar. Bağ sayısı iki veya daha fazla ise poliansatüre (PUFA) adını alırlar (Burtis and Ashwood, 1996).

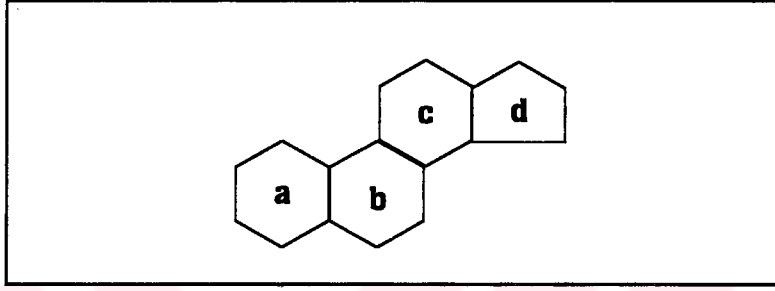
Trigliseridler yapı olarak, 3 karbondan oluşan gliserol iskeletine üç yağ asitinin bağlanmasından ibarettir (Şekil 1.2.1.).



Şekil 1.2.1. Trigliserid Molekülü

Hayvan kaynaklı trigliseridlerde yağ asiti zincirleri kısa ve doymuştur. Oda ısısında katı haldedir. Bitkisel kaynaklı trigliseridler daha uzun zincire sahip ve poliansatüredir. Oda ısısında sıvı haldedir (Anderson and Cockayne, 1993).

Kolesterol, steroidler olarak adlandırılan sınıfın bir üyesidir. Tüm steroidlerin iskeletini oluşturan siklopentanoperhidrofenantren halkasına sahiptir (Şekil 1.2.2.).



Şekil 1.2.2. Siklopentanoperhidrofenantren Halkası

Kolesterol, organizmanın normal işlevi için gereklidir. Çünkü;

1. Tüm hayvan hücrelerinin ve organel membranlarının yapısal bileşenidir.
2. Safra asitlerinin gerekli prekürsörüdür.
3. Tüm steroid hormonların, seks ve adrenal hormonlar da dahil olmak üzere prekürsörüdür.

Lipoproteinler, globular yapıda olan dışta protein ve fosfolipidden oluşmuş bir yüzeye, içte de hidrofobik, yüksüz kolesterol ve trigliseridden oluşmuş çekirdeğe sahiptir. Dolaşımında lipidlerin taşınmasında görev almaktadırlar.

Kolesterol tüm plazma lipoproteinlerinin yapısında bulunmaktadır. Fakat total kolesterolün %60 kadarı LDL (düşük dansiteli lipoprotein); tarafından taşınmaktadır. Kolesterolün üçte ikisi uzun zincirli yağ asitlerinden insanlarda predominant olarak bulunan linoleik asit ile esterifiye olmaktadır. Kolesterol esterleri, plazmada süregelen hidroliz ve tekrar sentezleri ile sabit bir dönüşüm hızına sahiptir. Kolesterol esterlerinin hidrolizi karaciğerde oluşurken, sentezleri esas olarak başlıca plazmada yağ asiti

rezidülerinin lesitinden serbest kolesterole transferi ile gerçekleşir. Bu reaksiyon, plazmada LCAT (lesitin: kolesterol açıl transferaz) enzimi ile katalizlenir (Kaplan and Pesce, 1996).

HDL (yüksek dansiteli lipoprotein), karaciğer ve barsak duvarında üretilmektedir. HDL; başlıca proteinden oluşmakta, bunun yanısıra yapısında fosfolipidler ve esterleşmiş kolesterol de yer almaktadır. HDL apoproteinleri, Apo AI, Apo AII ve Apo C'dir. Bu lipoprotein, kolesterolün dokulardan karaciğere taşınmasında önemli rol oynamaktadır. Bu bağlamda HDL, koroner kalp hastalıklarına karşı korunmada önemli görev almaktadır (Anderson and Cockayne, 1993; Lehninger et al, 1993).

Çizelge 1.2.1. HDL, LDL, VLDL'nin Özellikleri

	HDL	LDL	VLDL
Elektroforetik mobilite	Alfa	Beta	Pre-beta
Boyut(A°)	65-95	215-220	280-750
Protein içeriği	%50	%20.7	%7.1
Fosfolipid içeriği	%21.9	%20	%26
Trigliserid içeriği	%8.1	%9.7	%51.8
Kolesterol içeriği	%20	%50	%22.2

LDL, VLDL'in (çok düşük dansiteli lipoprotein); katabolizması sonucu meydana gelmektedir. Normal insanlarda LDL-kol, total plazma kolesterolünün üçte ikisini oluşturmaktadır. LDL'nin esas görevi kolesterolü perifer dokulara taşımaktır. LDL'nin başlıca apolipoproteini, Apo B100'dür (Kaplan and Pesce, 1996).

VLDL, karaciğerde şilomikron kalıntılarından sentezlenmektedir. VLDL'nin görevi trigliseridleri perifer dokulara taşımaktır, başlıca içerdiği apoproteinler de Apo

B100, Apo E ve Apo C'dir. Yukarıda adı geçen lipoproteinlerin özellikleri çizelge 1.2.1.'de sunulmuştur.

1.2.1. Lipidlerin Yaşlanma ile İlişkisi

Koroner kalp hastalıkları yaşlıların neredeyse yarısından fazlasında görülmektedir. Yaşlı yetişkinlerde, koroner risk faktörleri; sistolik ve diastolik hipertansiyon, hiperkolesterolemi, düşük serum HDL-kolesterol düzeyi, artmış serum total kolesterol / HDL-kol oranı, hipertrigliseridemi, diabetes mellitus, obesite ve sigara içimini kapsamaktadır. Plazma total kolesterol ve trigliserid düzeyleri, yaşın ilerlemesi ile birlikte artış göstermektedir. Premenapozal dönem boyunca; kadınlarda, erkeklere oranla daha düşük kolesterol seviyeleri görülmektedir. Ayrıca dikkate değer bir HDL-kol yüksekliği de söz konusudur. Total kolesterol seviyesinde 50-60 yaşları arasında kadınlarda bir artış görülmektedir. Bu artışın olduğu zamanlardaki östrojen miktarında da bir azalma izlenmektedir. Total kolesterol düzeyi, 70 yaşına kadar erkeklere göre kadınlarda daha yüksek bir düzey izleyerek artmaktadır.

Ortalama HDL-kol düzeyleri 60-80 yaşları arasında artmaktadır. Bununla birlikte LDL seviyesi %9 düşmektedir. Plazma trigliserid düzeyi de yaş ile birlikte artış göstermektedir. Erkeklerde 40 yaş ile birlikte dikkate değer bir artış görülmektedir. Plazma trigliserid seviyelerinde değişme yaşlanma ile birlikte lipoprotein lipaz aktivitesindeki azalmaya bağlanabilir (Anderson and Cockayne, 1993).

1.3. Serbest Radikaller ve Lipid Peroksidasyonu

Bir serbest radikal, bir veya birden çok çiftlenmemiş elektron taşıyan atom veya molekül olarak tanımlanabilir. Bu atom veya molekül çiftlenmemiş elektronunu bir başka moleküle vererek veya başka bir molekülden elektron alarak daha stabil hale gelme eğilimindedir. Böylece serbest radikaller son derece reaktif özellik taşırlar (Halliwell, 1991).

Serbest radikallerin katıldıkları reaksiyonlar, enzimatik ve enzimatik olmayan kaynaklara bağlı olabilir. Enzimatik serbest radikal reaksiyonları arasında solunum zinciri, fagositoz, prostoglandin sentezi ve sitokrom P450 sisteminin çalışması sırasında oluşan reaksiyonlar sayılabilir. Oksijenin, organik bileşiklerle, bakır veya demir katalizörlüğünde girdiği reaksiyonlar ise enzimatik olmayan serbest radikal reaksiyonlardır. Bu reaksiyonlarla superoksit anyon radikali (O_2^-), hidroksil radikali ($HO\cdot$), alkoksil radikali ($RO\cdot$) gibi radikaller oluşmaktadır (Pryor, 1987; Seçkin'den, 1988).

Serbest radikallerin hücre ve dokularda yol açtığı zararlar şöyle sıralanabilir:

- a) DNA'nın tahrip olması
- b) Nükleotid yapılı koenzimlerin yıkımı
- c) Tiyollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması, hücre ortamının tiyol/ disülfid oranının değişmesi
- d) Protein ve lipidlerle kovalan bağlanmalar
- e) Enzim aktivitelerinde ve lipid metabolizmasındaki değişiklikler
- f) Mukopolisakkaritlerin yıkımı
- g) Proteinlerin tahrip olması ve protein "turnover"ının artması
- h) Lipid peroksidasyonu, zar yapısının bozulması ve fonksiyonunun değişmesi
- i) Membran proteinlerinin tahribi, transport sistemlerinin bozulması
- j) Yaş pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi

Kollajen ve elastin gibi uzun ömürlü bileşiklerdeki oksidoredüksiyon olaylarının bozularak kapillerlerde aterofibrotik değişikliklerin oluşması, serbest radikallerin bu etkilerinin, özellikle mitokondri ve mikrozoim gibi organellerin fonksiyonlarında daha belirgin olduğunu göstermiştir. Mitokondri, oksijenin %90'ının kullanıldığı organeldir. Bu yüzden oksijen kaynaklı radikallere ve bu radikallerin katıldıkları reaksiyonlara çok açıktır. (Britton et al. 1987; Şule Seçkin'den, 1987)

Bu reaksiyonların meydana getirdikleri değişiklikler ile nükleer ve mitokondri DNA'ları zarar görmekte ve bu nedenle mitokondrinin kendini yenileme kapasitesi

kaybolmaktadır. Böylece, özellikle mitokondri iç zarı elemanlarının yapı ve fonksiyonlarının bozulması ile mitokondride ATP oluşumu azalmakta, buna bağlı olarak ta hücrede glutatyon ve NADPH gibi maddelerin sentezi önemli ölçüde azalmaktadır. Bu değişiklikler mitokondride oluşan serbest radikal reaksiyonlarının sayısının artmasına ve mitokondriden oksijen anyonu çıkışının artmasına sebep olmaktadır.

Bu şekilde, özellikle somatik hücrelerde görülen mitokondri hasarı, hasarın yol açtığı zararların onarılma hızından çok yüksek olduğu için organel giderek fonksiyonunu yitirmekte, yaş pigmenti haline dönüşebilmektedir (Harman, 1981).

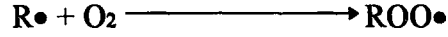
Serbest oksijen radikalleri aşırı derecede reaktif yapılardır. Normal biyolojik prosedürün büyük bir bölümünde etkili olmalarıyla birlikte potansiyel olarak hasar vericidirler. Hücre membranının yapısını bozmakta, hücrenin enzim fonksiyonlarını yok etmekte, DNA'yı değiştirmektedirler ve böylelikle, hücrenin ölümüne yol açmaktadırlar (Inder et al. 1994).

Doymamış yağ asitleri, peroksidasyon reaksiyonlarına son derece duyarlıdır. Reaksiyonu başlatan, membran fosfolipidlerinin yan zincirlerinde yer alan doymamış yağ asitleridir. Yağ asidi molekülünün metilen karbonundan bir hidrojen uzaklaştıracak reaktiviteye sahip herhangi bir kimyasal molekül, reaksiyon zincirini tetikler. Bu görevi genellikle hidroksil radikali üstlenir. Hidrojenin molekülden ayrılması, ayrıldığı karbon atomu üzerinde çiftleşmemiş bir elektron bırakır. Bu karbon merkezli radikal aerobik hücrelerde oksijen ile reaksiyona girerek peroksil radikale dönüşür.

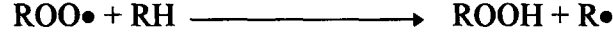
Peroksil radikalleri ya birbirleri ile reaksiyona girerler ya da membran proteinlerine hücum ederler. Diğer bir özellikleri de yakınlarındaki membranda yerleşmiş yağ asitlerinden hidrojen atomu çekerek reaksiyonu zincirleme şekline dönüştürmeleridir.



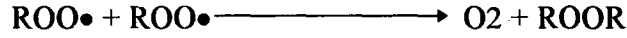
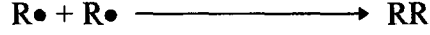
R• radikali hızla moleküler oksijen ile reaksiyona girerek peroksil radikali oluşturur.



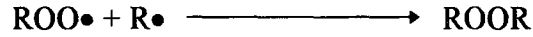
Peroksil radikali komşu yağ asidi ile reaksiyona girer, hidroperoksit ve yeni bir alkil radikali oluşturur.



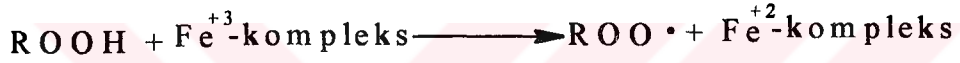
Bu olay iki radikalin birleşerek radikal olmayan bir bileşik oluşturması ile sonlanır.



veya



Hidroperoksitler (ROOH) sabit olabilir fakat demir ve demir kompleksleri ile reaksiyona girerlerse zincir reaksiyon yeniden başlayabilir.



Biyolojik membranlarda lipid peroksidasyonu membranın yapısını ve fonksiyonlarını bozar. Bu durumda;

- 1- Membran akışkanlığı azalır.
- 2- Membrana bağlı reseptör ve enzimler inaktive olur.
- 3- Öncelikle kalsiyum olmak üzere bir çok iyonun geçirgenlik nonspesifik olarak artar.

Tek bir başlangıç reaksiyonu yüzlerce yağ asidi zincirinin lipid peroksitleri şekline dönüşmesine neden olabilir. Oluşan reaksiyon zincirinin süresi pek çok faktöre bağlıdır (Valenzuela, 1991; Gutteridge and Halliwell, 1990).

Bunları şöyle sıralayabiliriz;

- 1- Membrandaki lipid / protein oranı
- 2- Yağ asitlerinin bileşimi
- 3- Oksijen konsantrasyonu

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

4- Membrandaki zincir kırıcı antioksidanların konsantrasyonu

Antioksidanlar hidrojen atomlarını çok kolaylıkla ortama vererek antioksidan kökenli bir radikal oluştururlar. Bu antioksidan radikalleri ya birbirleri ile ya da diğer peroksil radikalleri ile reaksiyona girerek zararsızca ortadan kaybolurlar. İnsan hücre membranındaki en önemli zincir kırıcı antioksidan α -tokoferoldür. Molekülün hidrojen kaybetmesiyle oluşan α -tokoferil radikal askorbik asit etkisi ile redüklenerek tekrar α -tokoferol şekline dönüşür. (Lee et al. 1988)

Lipid peroksitleri belirli maddelerle karşılaşınca parçalanırlar. Bunlar; demir ve bakır iyonları, metal iyonlarının fosfat esterleri ile yaptıkları şelatlar, hem, miyogloblin ve hemoglobin gibi demirli proteinlerdir.

Parçalanma sonucunda çeşitli sitotoksik ürünler ortama verilir. Bu ürünlerin başlıcaları şunlardır; hidrokarbon gazları (etan ve pentan), yağ asidi yan zincirlerinden hidrojen iyonu uzaklaştırabilen serbest radikaller ve doymamış aldehydlerdir. [4-hidroksi 2-trans-nonenal (HNE), Malondialdehit (MDA)]

Lipid peroksidasyon hızının belirlenmesinde en çok yararlanılan indeks MDA'tir. MDA üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucunda ortama verilir. MDA, zar yapısındaki elemanların polimerizasyonu ve çapraz bağlanmalarına neden olarak zarın bütünlüğünü bozar. Zarda devam eden iyon taşınımı ve enzim fonksiyonları durur. Hücre içerisine giren MDA çekirdeğe kadar ilerleyip, DNA yapısındaki azotlu bazlarla reaksiyona girerek mutajenik ve karsinojenik etkilerini gösterir. (Valenzuela, 1991)

Lipid peroksidasyonu genellikle geç dönemde ortaya çıkan bir olaydır. Direk hücre ölümüne neden olmaz, ancak dolaylı yoldan membran stabilitesini bozarak hücre ölümü sürecine katkıda bulunur (Gutteridge and Halliwell, 1990). Hücre ve doku hasarı lipid peroksidasyonunu artırır. Çünkü ortamda antioksidan maddeler azalmıştır ve hasarlı hücreden metal iyonları açığa çıkmaktadır. Doku hasarı

sonucunda lipid peroksidasyonunun hızlanması mevcut olan hasarın şiddetini arttırmaktadır (Hayırlıoğlu, 1993).

1.3.1. Serbest Radikaller ve Lipid Peroksidasyonunun Yaşlanma ile İlişkisi

Serbest radikal reaksiyonları, canlı organizmalarda hazır bulunan yapılardır. Yüksek kimyasal aktiviteleri nedeni ile vücudun tüm bileşenleri üzerinde değışime az yada çok neden olurlar (Harman, 1984). Böylece yaşlanma, metabolizmanın normal işleyişinde oluşan radikallerle ve bu radikallerin de zararlı etkileri sonucu rastgele bir şekilde ortaya çıkmaktadır (Pryor, 1987).

Harman, yaşlanmaya serbest radikal reaksiyonlarının neden olduğunu ileri sürmüştür. Bu reaksiyonlar, yaşlanma değışikliklerini meydana getirdiği gibi çevresel faktörlerle, hastalıklarla ve intrinsik yaşlanma prosedürü ile de ilişkilidir (Harman, 1981).

Denham Harman tarafından ileri sürülen teoride; bir organizmanın yaşam süresinin uzatılmasının, serbest radikal reaksiyonlarının başlama hızının yavaşlatılması veya serbest radikallerin zincir uzunluklarının azaltılması ve vücut yüzey ısısının düşürülmesi ile mümkün olabileceği öne sürülmektedir (Harman, 1992).

Serbest radikallerin hücre ve dokularda yol açtığı zararlı etkilerin bir sonucu olarak; yaş pigmenti adı da verilen, lipofuskin pigmentinin yaşlanma ile birlikte, özellikle santral sinir sisteminin bir çok alanında birikmesi söz konusudur (Harman, 1981). Yaş pigmenti büyük ölçüde ve olasılıkla mitokondri kaynaklı lipidlerin ve ayrıca proteinlerin oksidatif yol ile polimerleşmesi sonucu oluşur. Bu lipofuskin adlı pigmentin, özellikle santral sinir sisteminde nöron kaybı başta olmak üzere bir çok ters etkiye yol açtığı ve birikimi hızın da antioksidanlar ile yavaşlatılabildiği gösterilmiştir (Harman, 1981; Chiu and Labin, 1979; Frei, 1991; Margolis, 1991).

Serbest oksijen türevlerinin yol açtığı lipid peroksidasyonu yaşa bağlı olarak bir

artış göstermektedir. Bu yükselmenin bir nedeni selenyum eksikliğinin veya vitamin E gereksiniminin karşılanamaması olarak öne çıkmaktadır (Schafer and Thorling, 1990).

Hücre içi antioksidan enzimlerin aktivitelerinin azalması ve serbest radikal reaksiyonlarının hız kazanması ile lipid peroksidasyonu artmaktadır. Özellikle mitokondrinin aerobik metabolizması sonucu açığa çıkan radikallerin yeterli düzeyde inhibe edilememesi ile hem organellerin hem de genel olarak tüm hücrenin stabilitesi bozulmaktadır. Yaşın ilerlemesi bu enzimlerin aktivitelerindeki azalmanın en büyük nedenini oluşturmaktadır (Pryor, 1987; Knight et al. 1991; Machlin and Bendich, 1987).

Plazma lipid düzeylerinde yaşlanmaya bağlı olarak bir artış gözlenmekte ve bu artış lipid peroksidasyonu ile doğru orantılı olmaktadır. Özellikle LDL-kol düzeyinde ki yükseklikler sonucu; lipoprotein reseptör down regülasyonuna da bağlı olarak LDL'nin dolaşımında kalış süresi uzamakta ve oksidatif modifikasyonu da artmaktadır (Ohrwall et al. 1994).

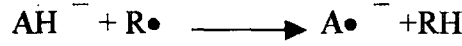
Schafer ve Thorling adlı araştırmacıların yaşlılar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, plazma total yağ asidi içeriğinde artış ile birlikte MDA düzeylerinin de arttığı gösterilmiştir (Schafer and Thorling, 1990).

Sonuç olarak yaşlanmada genel olarak bir artış gösteren lipidlerin, serbest yağ asiti içeriğinden ötürü lipid peroksidasyonuna yatkınlığı artmaktadır. Bu lipidler içinde de LDL-kol PUFA içeriğinin yüksek olması nedeni ile bu reaksiyonlardan çok etkilenmekte ve oksidatif modifikasyona uğramaktadır (Ohrwall et al. 1994).

1.4. Antioksidanlar

Reaktif oksijen molekülleri, hastalıkların (örneğin, kanser, ateroskleroz, yaşlılığın oluşumu gibi) ortaya çıkmasındaki önemli ajanlardandır. Bunun için antioksidan denilen mekanizmalar, oksidatif stresi kontrol altında tutmaktadır. Bunun yanı sıra genel olarak sağlıklı durumun korunması ile ilişkili olarak bir görev üstlenirler.

Antioksidanlar, dokuları serbest radikallerin zararlı etkilerinden korumaktadır. Temel teori olarak antioksidan aktivitesi aşağıda genel bir denklem halinde özetlenmiştir



Bu denklemde antioksidan aktivitesinde hidrojen veya elektron transferi ifade edilmektedir. $R\bullet$; radikal karakter yani güçlü bir oksidan (örneğin; hidroksil radikali), AH^- ; antioksidan molekül, $A\bullet^-$; antioksidan radikali göstermektedir (Cadenas, 1998).

Antioksidan sistemlerin etki mekanizmaları değişik özellikler göstermektedir. Bir grup antioksidan, yeni serbest radikallerin oluşumunu önler. Bu fonksiyonlarını da ortamda bulunan serbest radikallerin daha az zararlı moleküllere çevrilmesini sağlayarak gerçekleştirirler. SOD enziminin $O_2\bullet^-$ molekülünü hidrojen peroksit'e dönüştürmesi antioksidanların bu fonksiyonuna örnek olarak gösterilebilir. Diğer bir etkilerini de radikalleri tutarak veya zincir reaksiyonlarını önleyerek gerçekleştirirler. Alfa tokoferol, beta karoten, askorbik asit, ürik asit, bilirubin, albümin gibi antioksidanların etkileri bu şekilde olmaktadır. Serbest radikallerin biyomoleküllere verdikleri zararları onarmak, yine antioksidanların diğer bir görevidir. Özellikle, DNA onarım enzimleri ve metiyonin sülfoksit redüktaz antioksidanların bu fonksiyonlarına örnektir (Cristiano et al, 1995; Machlin and Bendich, 1987).

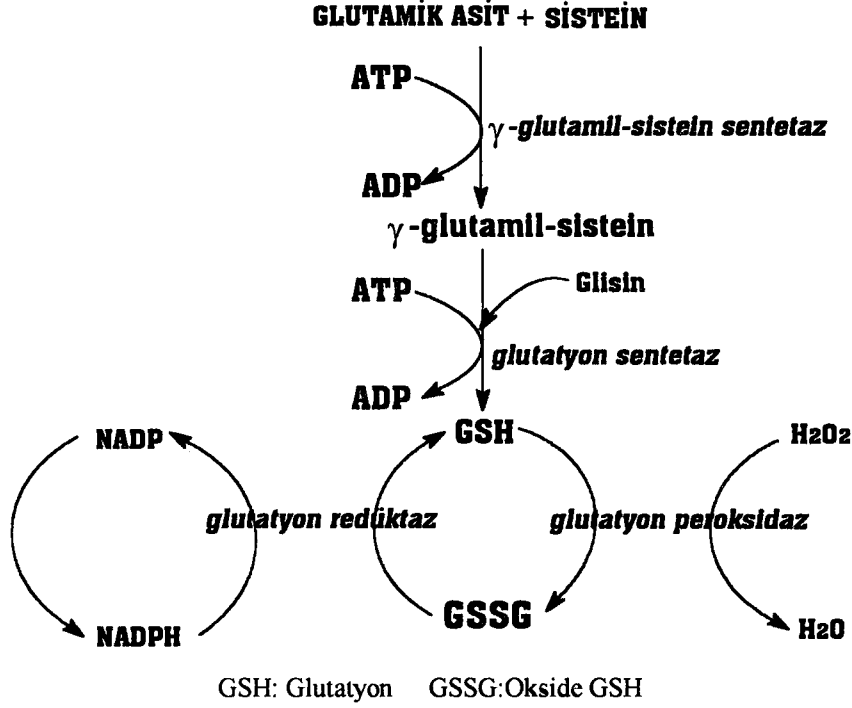
İnsan serumu bir çok değişik antioksidanı içermektedir. Hücre içi ve hücre dışı görev yapan antioksidanlar çizelge 1.4.1.'de gösterilmiştir (Frenkel, 1992).

Çizelge 1.4.1 Biyolojik Sistemlerde Bulunan Antioksidanlar.

İntrasellüler	Ekstrasellüler
Antioksidanlar ve temizleyiciler	Antioksidanlar ve temizleyiciler
SOD	SOD
Katalaz	α - tokoferol
Gpx	Serüloplazmin
Askorbik asit, vitamin A, vitamin K, α - tokoferol	Metal şelatörler
Tiyoller	Transferrin
Übikinon	Albümin

1.4.1. Glutasyon (GSH)

Glutasyon; glisin, glutamik asit ve sisteinden oluşmuş bir tripeptiddir. Hemoglobin ve diğer kırmızı kan hücrelerinin proteinlerini peroksidatif hasardan korur. Direk ve indirek olarak ta birçok olayda fonksiyonel roller üstlenir. Proteinlerin ve DNA'nın sentezinde, enzim aktivitesinde, hücre membranlarının stabilizasyonunun sağlanmasında, protein tiyol gruplarının korunmasında, amino asit transportunda, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda rol oynamaktadır. Ayrıca oksidatif hasara karşı redoks tamponu olma özelliği vardır.



Şekil 1.4.1.1. Glutatyon Sentezi (Burtis and Ashwood, 1994).

Hücrel glutatyon turnover'ı hücre dışına glutatyon transportu ile ilişkili olmaktadır. Transportu gerçekleştirilmiş olan GSH hücre membranında ki redüksiyon reaksiyonlarında da fonksiyonel olarak iş görmektedir (Beutler et al. 1963).

GSH intrasellüler olarak sırasıyla γ -glutamil sistein sentetaz ve GSH sentetaz (GSH-S) enzimlerinin aktivitesi ile meydana gelmektedir (Şekil 1.4.1.1.). Eritrositlerin içinde sentez edilen bu tripeptidin sentezi sırasında, γ -glutamil sistein sentetaz enzimi varlığında glutamik asitten ve sisteinden oluşan bir dipeptid oluşmakta, GSH sentetaz da glisini ekleyerek γ -glutamilsisteinilglisin'i veya diğer adıyla glutatyonu oluşturmaktadır (Meister and Anderson, 1983).

GSH-S aktivitesi yeterli sayıdaki genç eritrositlerde bulunmaktadır. Fakat hücrenin yaşı arttıkça aktivitesi hızla düşmektedir; çünkü hücreler yeni GSH-S moleküllerini üretememektedirler. Hücrenin diğer elemanlarından olan ribozomlar ve çekirdek bu meydana gelen hızlanmış GSH-S molekülü denatürasyonuna bağlı olarak ortaya çıkan açığı, GSH-S sentez ederek kapatırlar. Yapılan çalışmalarda kan GSH

düzeyi morbidite ve mortalite için bir prediktör olmaktadır; çünkü düşük kan glutatyon düzeyi bazı klinik bozukluklar ile ilişki göstermektedir. Bunlar; diyabet, kronik böbrek yetmezliği, malign neoplazmlar, katarakt oluşumu ve HIV enfeksiyonudur. Düşük GSH seviyesi yaş ile ters orantılıdır. İlerlemiş yaşlarda düşen GSH düzeyleri dikkat çekmektedir. Glutatyon okside olduğunda, GSSG karaciğer gibi organların hücrelerinden salınmaktadır. Böylece GSH oksidasyonunun yaşlanmayla ilişkisi vardır. Çünkü yaşlanma ile birlikte hücrelerden glutatyon salınım hızı artmaktadır (Lang et al.1992).

1.4.2. Superoksid Dismutaz (SOD)

SOD (EC 1.15.1.1), enzimi 1968 yılında McCord ve Fridovich tarafından Amerika Birleşik Devletlerinde bulunmuştur (Sun et al. 1988).

SOD, hücrelerde iki ana formda bulunmaktadır. Bir formu primer olarak sitoplazmada yer almakta ve Bakır (Cu) ile Çinko (Zn) metallerini içermektedir. Diğer bir formu da mitokondride bulunmaktadır. Bu formun içerdiği metal mangan'dır (Mn). İnsanlarda Mn içeren SOD enziminin görevi, mitokondride elektron transport zincirinden ve mitokondrial oksidaz enzimlerinden açığa çıkan, superoksit anyonunu uzaklaştırmaktır. Cu ve Zn metalleri esansiyel iz elementleridir. CuZn SOD sitoplazmada ve endoplazmik retikulumda sitozolik oksidazlardan ve sitokrom P450 enziminden gelen superoksit anyonunu ortamdaki uzaklaştırır. Çekirdek ve peroksizomlarda da Cu ZnSOD enzimi bulunmaktadır. SOD enzimi tarafından superoksit anyonu hidrojen peroksit'e çevrilmelidir. Çünkü kendi başına bırakılırsa, demir (Fe) ve bakır metal iyonları ile hidroksil radikalini oluşturacaktır ki bu da SOD enziminin kendi varlığı için tehlike olacaktır. İn vitro yapılan çalışmalarda, hücrede hidrojen peroksitin birikmesi hücreye zarar verecektir, SOD enziminin ortamda fazla bulunması da dolaylı olarak hücrenin yapısını olumsuz etkilemektedir. Bu tür dengesizlikler klinik olarak ta kendini göstermektedir. Örneğin; Down sendromunda SOD yüksekliği söz konusudur. Down sendromunda 21. kromozomda trizomi vardır.

Aynı zamanda; SOD enziminin sentezi de 21. kromozomda yapılmaktadır.(Niwa, 1993; Habif et al. 1994; Succari et al. 1997)

Cu ve Zn metal iyonları SOD enziminin aktif bölgesinde yer almaktadırlar. Cu metal iyonunun bağlandığı aktif bölge, değişimli olarak okside ve redükte olmaktadır. Zn metal iyonunun da katalitik rolü vardır. Dolayısı ile SOD enziminin fonksiyon görebilmesi için bu iz elementlere gereksinimi vardır. Yapılan çalışmalarda erkek ve kadınlar arasında Zn değerleri açısından bir farklılık gözlenmemiştir. Zn absorpsiyon kapasitesi açısından 80 yaşına kadar herhangi bir defekt görülmemiştir. Cu metal iyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda ise yaşlı erkek ve kadınlarda, gençlere göre daha yüksek düzeyde Cu iyonuna rastlanmıştır. CuZnSOD, superoksit anyonunu hidrojen peroksit'e çevirmekte, Gpx'da hidrojen peroksiti detoksifiye ederek ortamdan uzaklaştırmaktadır (Sun et al. 1987; Santiago et al. 1993).

1.4.3. Glutatyon Peroksidaz (Gpx)

Glutatyon peroksidazın (EC 1.11.1.9) varlığı, ilk olarak Mills tarafından 1957 yılında memeli eritrositlerinde saptandı. Bu enzim hidrojen peroksit radikalini, GSH varlığında 2 molekül suya çevirmektedir (Paglia and Valentine, 1967)

Gpx'ın etki mekanizması aşağıdaki reaksiyonda verilmiştir.



Gpx, lipid peroksidasyonunu hem başlangıç safhasında, hem de oluşan lipid hidroperoksitlerini etkisizleştirerek önlemektedir. Gpx'm selenyuma bağımlı ve bağımsız olmak üzere iki tipi bulunmaktadır. Selenyuma bağımsız olan sadece lipid

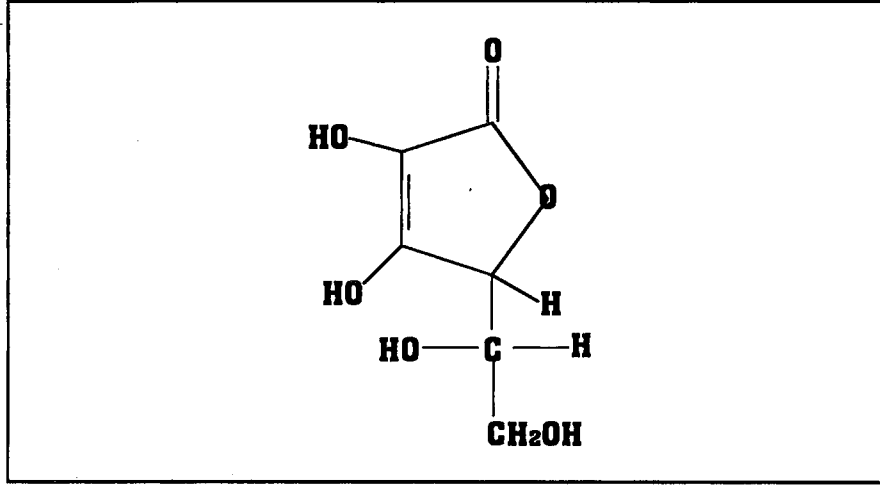
hidroperoksitleri için etkiliyken diğzerinin hidrojen peroksit üzerine de etkili olduğu bilinmektedir. Gpx, sitozol ve mitokondrilerde lokalize olmuştur. Hücre içi hidrojen peroksit konsantrasyonunun düzenlenmesinde önemli role sahiptir (Paglia and Valentine, 1967; Rudolph, 1987).

1.4.4. Askorbik asit (Vitamin C)

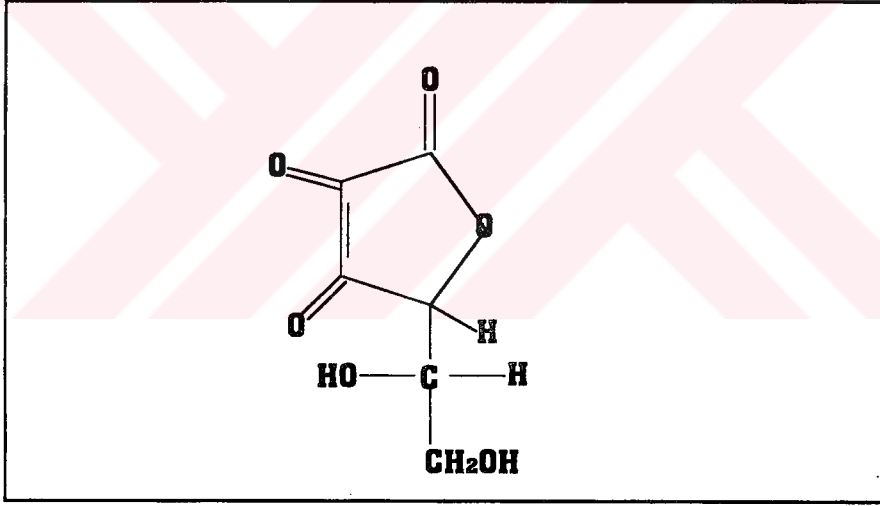
Askorbik asit, beyaz renkte kristal yapıda suda eriyen bir vitamindir. En çok turunçgiller, domates, yeşil yapraklı sebzeler ve yeşil biberde bulunur (Kaplan and Pesce, 1996).

Askorbik asit ince barsakta emilime uğrar (Kaplan and Pesce, 1996). Fizyolojik pH'ta yüksüz dehidroaskorbik asit hücre membranını monoanionik L-askorbattan daha hızlı geçmektedir. Askorbik asit pasif diffüzyon ile pek çok hücreye girerken (eritrositler ve lökositler gibi), aktif transport mekanizması aracılığı ile de hücrelere girmesi söz konusudur. Özellikle trombositler, adrenal bez ve retina bu şekilde girmektedir. Askorbik asit pek çok dokuda dağılım gösterir. Özellikle korpus luteum, timus ve adrenal kortekste yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Retinada da plazma konsantrasyonundan 30 kat daha fazla miktarda bulunur. Askorbik asitin yarılanma süresi 16 gündür (Burtis and Ashwood, 1994; Nielsen et al. 1997).

Askorbik asidin normal plazma değeri 0.5-1.5 mg/dL'dir. 0.3 ile 0.5 arası da kabul edilebilir sınıra girmektedir. Organizmada L-askorbik asit (Şekil 1.4.4.1) ve L-dehidroaskorbik asit (DHAA) (Şekil 1.4.4.2) olarak bulunur. D-glukuronik asitten sentez edilir. (Burtis and Ashwood, 1994).



Şekil 1.4.4.1. L-Askorbik Asit

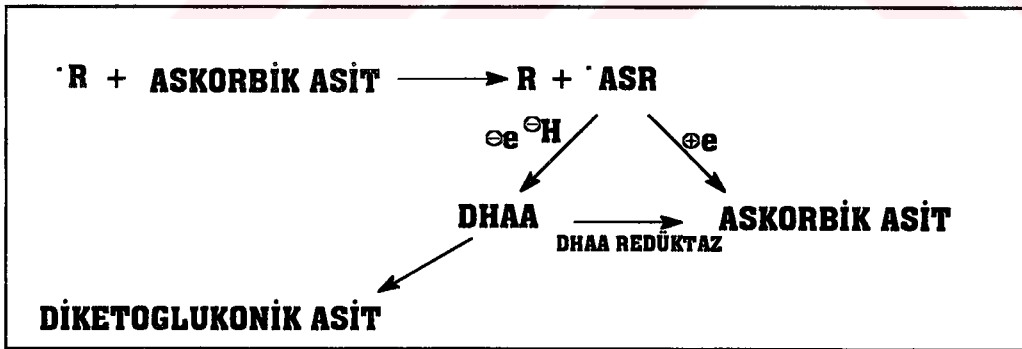


Şekil 1.4.4.2. Dehidroaskorbik Asit

İdrarda büyük miktarda DHAA şeklinde bulunmaktadır. Askorbik asit bağ dokusunun bileşenlerinden olan kollajenin sentezi, safra asitlerinin oluşumu, tirozinden adrenalin sentezi ve demir iyonlarının absorpsiyonu gibi pek çok metabolik olaya eşlik etmektedir. Tüm bunlara ek olarak solunum yoluyla organizmaya girebilen ozon gazı (O₃) ve sigara dumanı ile alınan nitrit (•NO₂) radikaline karşı etkili olduğu belirtilmiştir (Burtis and Ashwood, 1994).

Askorbik asit suda çözünen antioksidanlar içinde aktivitesi en fazla olanıdır. Herhangi bir serbest radikalle etkileşen askorbik asit, askorbat serbest radikaline (\bullet ASR) okside olur. İki molekül \bullet ASR ise kendiliğinden bir molekül askorbik asit ve bir molekül dehidroaskorbik aside (DHAA) çevrilir. Diğer taraftan DHAA lakton halkasının açılması ile fizyolojik etkilerden sorumlu diketoglukonik aside dönüşürken GSH veya DHAA redüktaz enzimi ile tekrar askorbik aside çevrilmektedir (Şekil 1.4.4.3.) (Blumberg, 1995; Schorah et al. 1996; Machlin and Bendich, 1987).

Sulu fazdaki (aköz faz) peroksil radikaller tarafından meydana getirilen peroksidatif hasardan lipidleri tamamen koruyabilen antioksidanın askorbik asit olduğu yapılan çalışmalar ile kanıtlanmıştır (Niki et al. 1991). Bu tip oksidatif streste askorbik asit albümin bağlı bilirubin, ürik asit, protein tiyoller, ubikinol-10 ve α -tokoferolden daha etkili olmaktadır. Askorbik asit, peroksil radikalleri plazma lipidlerine sulu fazda diffüze olmadan önce etki göstererek bu radikalleri yakalamaktadır. Askorbik asit tamamen tükendikten sonra, diğer suda çözünen antioksidanlar (ürik asit, albümin bağlı bilirubin ve protein tiyoller) sulu fazdaki peroksil radikallerinin bir kısmını tutabilmektedir.



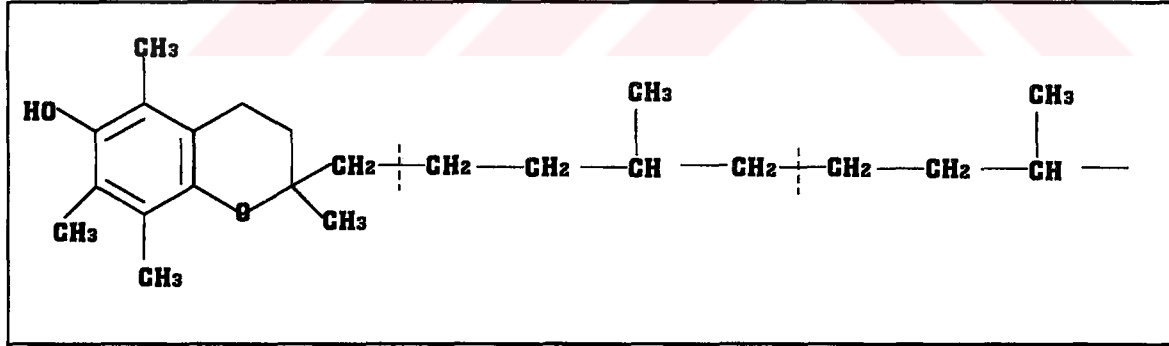
Şekil 1.4.4.3. Askorbik Asit ve Dehidroaskorbik Asit Dönüşümleri

Bu antioksidanlardan kurtulabilen sulu fazdaki peroksil radikalleri, lipidlere diffüze olup, lipid peroksidasyonunu başlatırlar. Peroksidasyonun oluşması da zincir kırıcı olarak adlandırılan lipoproteinlere bağlı antioksidanlardan ubikinol-10 ve α -tokoferol tarafından inhibe edilir. Dolayısıyla bu antioksidanlar, peroksidasyonun

başlamasını önlememektedirler. Ancak peroksidasyon başladıktan sonra olaya katılmakta ve oluşan peroksidasyonun hızını azaltmaktadırlar. Bu yüzden peroksidasyonun başlamasını önleyen tek antioksidan askorbik asit olmaktadır (Frei, 1991).

1.4.5. Vitamin E

E vitamini terimi, kimyasal olarak birbirinin izomeri olan hidroksillenmiş aromatik kromanol halkası ve buna bağlı alifatik fitil yan zincirinden ibaret bileşiklere verilen ortak bir isimdir. (Şekil 1.4.5.1.) En az sekiz farklı izomeri bilinen E vitamini, kromanol halkasına bağlı metil gruplarının sayısı ve konumuna göre biyoaktiviteleri birbirinden değişik dört temel formda bulunmaktadır. Antioksidan aktivitesi en çok olan α -tokoferoldür ($\alpha > \beta > \gamma > \delta$) (Varley et al. 1976). Bu nedenle α -tokoferol terimi vitamin E ile eş anlamda kullanılmaktadır.



Şekil 1.4.5.1. Vitamin E: Antioksidan

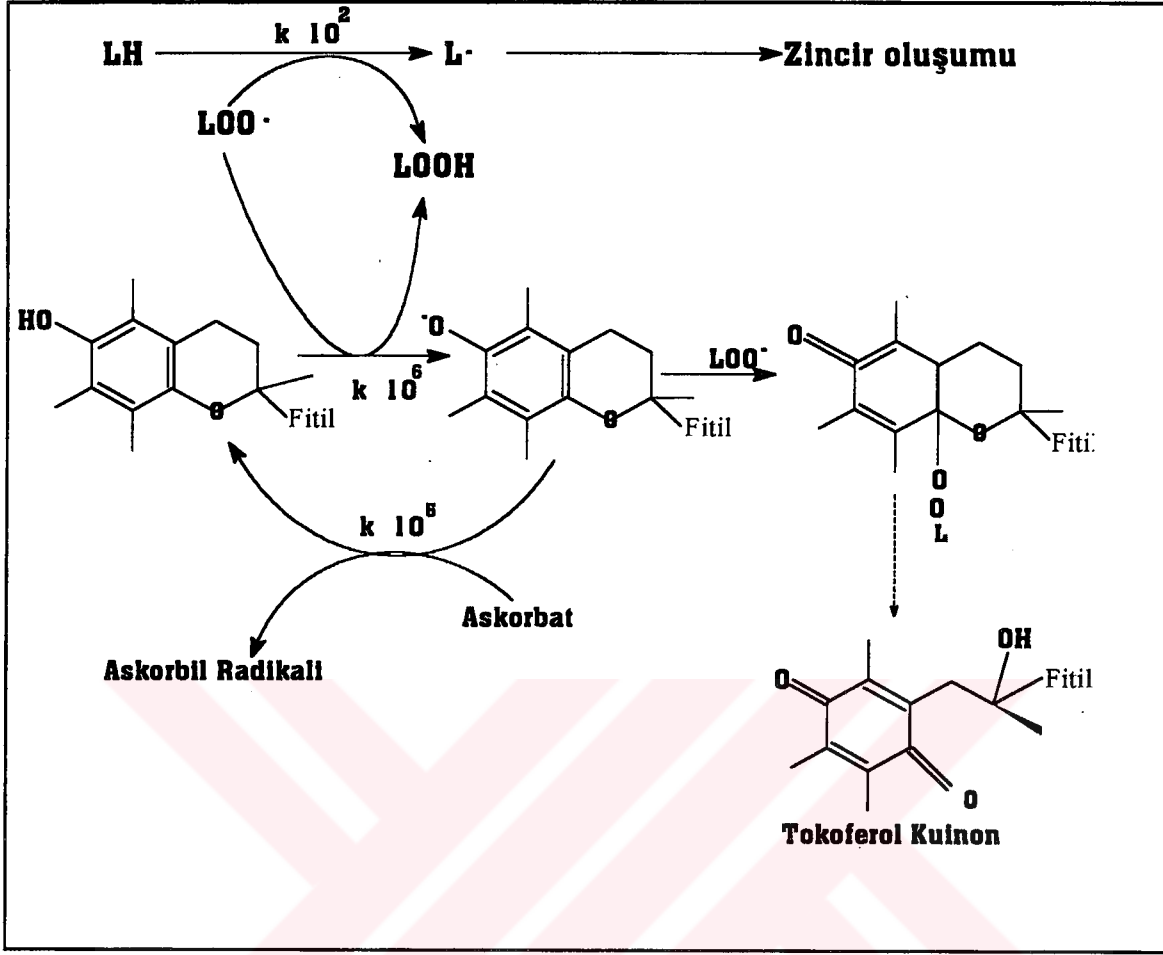
Vitamin E emiliminin ince barsakta sindirilmiş yağlar ile ilişkili olduğuna inanılmaktadır. Diyetle alınan E vitaminin yaklaşık olarak %40 kadarı emilime uğramaktadır. Bununla birlikte E vitaminin emilim yüzdesi doymamış diyetel yağın

derecesi ve izomer tipine göre de değişmektedir (Kaplan and Pesce, 1996). Yağda çözünen vitaminlerden biri olan α -tokoferol esas olarak insan plazmasında HDL ve LDL lipoprotein fraksiyonları tarafından taşınmaktadır (Traber et al. 1990; Battisti et al.1994). Böylece perifere ve karaciğere taşınabilmektedir. Adipoz doku, insanlarda önemli bir vitamin E deposu olarak iş görmektedir (Parker, 1988). Normal serumda vitamin E düzeyi 5-20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'dir. Oral yolla alınan E vitamininin %8'i enterohepatik dolaşıma katılırken %1'i veya daha azı idrar ile büyük bir kısmı ise safra metabolitleri şeklinde feçes ile atılmaktadır (Sokol, 1989).

Hücre membranı, mitokondri ve endoplazmik retikulum membranlarının oksidatif hasara maruz kalması ile bu bölgelerdeki vitamin E konsantrasyonu artmaktadır. Vitamin E molekülündeki fitil yan zinciri, membran fosfolipidlerindeki doymamış yağ asidi zincirlerine bağlanarak, serbest radikalleri tutma açısından ideal bir ortam yaratır (Şekil 1.4.5.2.) Antioksidan aktiviteden ise kromanol halka yapısı sorumludur. Kroman halkasındaki fenolik hidrojenin lipid radikaline aktarılmasıyla, vitamin E molekülü radikal hale geçer. Bu bileşik, ortamdaki askorbik asit ve Glutasyon (GSH) gibi redüktif ajanlar ile tekrar vitamin E molekülüne yükseltgenir. Vitamin E'nin en önemli rolü, membrandaki lipidlerin ve tiyol içeren proteinlerin oksidatif hasardan korunmasını sağlamaktır. Bununla birlikte membranın fosfolipid tabakasını da koruyarak stabilizasyonunu sağlar. Böylelikle membran stabilitesini ve bütünlüğünü korumuş olur (Brosche and Platt, 1987).

Yapılan çalışmalarda vitamin E ve askorbik asit arasında sinerjistik bir etkinin varlığı kanıtlanmıştır. Bir molekül vitamin E'nin çok sayıda doymamış yağ asidi molekülünün oksidasyonuna karşı etkili olduğu gösterilmiş ve bu durum vitamin E molekülünün ortamdaki diğer antioksidanlarla (özellikle askorbik asit ve GSH) ile sürekli yinelenmesi şeklinde açıklanmıştır (Meister, 1992).

Vitamin E eksikliğine insanlarda çok nadir rastlanır. Fakat laboratuvar koşullarında vitamin E yönünden eksik beslenen hayvanlarda sterilite, kassal zayıflık, balık pulu derisi görünüm gelişmiştir.



Şekil 1.4.5.2. Vitamin E'nin Antioksidan Davranışı. LH;lipid, LOO•;lipid kaynaklı peroksil radikali, L•;karbon merkezli lipid radikali, k; hız sabitleri

Vitamin E'nin major olarak bulunduğu besin kaynakları ise; diyetel yağlar, hububatlar, süt ürünleri, sebzeler ve tohum yağlarıdır (mısır yağı, soya yağı gibi) (Kaplan and Pesce, 1996).

Vitamin E konsantrasyonu lipidlerin serumda bulunma miktarına göre değişim göstermektedir. Böylece lipid miktarı dolaşımında olan vitamin E miktarının saptanmasına da olanak sağlamaktadır. Serum tokoferol konsantrasyonu direk olarak total lipid ve beta-lipoprotein konsantrasyonu ile de ilişkilidir. Dolayısı ile lipoprotein fraksiyonlarının ölçümü ideal bir yaklaşım olacaktır. Lipidde çözünen vitaminlerin

plazma düzeyleri plazma lipidleri ile geniş bir değişim göstermektedir. Bundan dolayı tek başlarına gerçekçi bir vitamin durumu indeksi olarak kullanılamamaktadırlar. Retinol ve α -tokoferol seviyeleri için normal yetişkin popülasyonunun ortalama kolesterol ve trigliserid düzeyine göre (sırasıyla 5.6 mmol/L ve 1.24 mmol/L) ayarlama yapılarak aşağıda verilen formül kullanılmıştır. Böylece plazma vitaminleri, plazma kolesterol ve trigliserid seviyelerinden bağımsız olarak değişmektedir (Gey and Puska, 1989; Panemangalore and Lee, 1992)

$$\text{Vitamin E İndeksi} = \frac{\text{Vitamin, } \mu\text{mol/L} \times [5.6 \text{ mmol/L} + 1.24 \text{ mmol/L Trig}]}{\text{Kişinin Kolesterol Düzeyi} + \text{Kişinin Trigliserid Düzeyi}}$$

1.4.6. Antioksidanların Yaşlanma ile İlişkisi

SOD, GSH, ürat gibi antioksidan moleküllerin konsantrasyonu, uzun yaşayan türlerde, kısa yaşayan türlerden daha yüksek bulunmuştur. Farklı primatlarda yapılan çalışmalar göstermiştir ki, yaşam süresi ile plazma SOD seviyesi arasında lineer bir korelasyon saptanmıştır. Bu korelasyon insanlar için de geçerlidir (Harman, 1992; Cutler, 1991).

Büyüyen ve yaşlanan sıçanlarda yapılan çalışmalar, Gpx seviyesinde herhangi bir değişiklik olmadığını göstermiştir. Yaşlı hücre kültürlerindeki çalışmalarda da, Gpx aktivitesi açısından bir düşme söz konusu değildir. Bununla birlikte GSH seviyesi yaşlı dokularda, daha düşük bir seviye izler. Sıçan kaslarında yapılan çalışmada NADPH/NADP oranında bir düşme görülmüştür. Bu oranın önemi Gpx enziminin aktivitesini göstermesi sırasında (NADPH \longrightarrow NADP) dönüşümünün olmasıdır. (Paglia and Valentine, 1967; Sohal and ORR, 1992) Askorbik asit düzeylerinde de düşme söz konusudur. E vitamini düzeyi ise yaş ile birlikte artmaktadır (Remacle et al. 1992).

Pek çok memelide yapılan çalışmalarda bir antioksidan enzim olan superoksit dismutaz (SOD) "yaşam süresi enerji potansiyeli" adı verilen bir kavram ile korelasyon göstermektedir. Bunun yanında ürat, serüloplazmin gibi antioksidanlar da iyi bir korelasyona sahiptir. Vitamin E'nin ise sınırlı sayılabilecek bir korelasyonu vardır (Cutler, 1991).

SOD, vitamin E, ürik asit gibi antioksidanların, ortalama yaşam süresi üzerine etkileri vardır. Fakat maksimum yaşam süresi üzerine etkili değildir. Çünkü metabolizma hızı ile yaşam süresi arasında ters bir ilişki vardır. Aerobik metabolizma tarafından meydana getirilen zararlı moleküllerin yaşam süresini kısıtlayıcı etkileri vardır.

1.5. Lipidler, Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidanların Birbirleriyle Etkileşimleri

Lipid peroksidasyonu, serbest radikal reaksiyonları sonucu ortaya çıkan radikallerin PUFA'lara, saldırması ile meydana gelmektedir. Özellikle dolaşımda bulunan LDL bu saldırılara yoğun bir şekilde maruz kalmaktadır. Bunun nedeni yaklaşık 3000 adet yağ asiti taşıması ve bunun %50'den fazlasını PUFA'ların oluşturmasıdır. Hücre membranında bulunan fosfolipidler de yine bu serbest radikallerden zarar görmektedir. Buna karşı olarak hücrenin savunma sistemlerinden olan antioksidanlar devreye girerek serbest radikallerin bu zararlı etkilerini değişik safhalarda inhibe etmektedirler. Bazı antioksidanlar, özellikle alfa tokoferol, zincir kırıcı özelliği ile lipid peroksidasyonunu yavaşlatmakta, askorbik asit radikal oluşum hızını azaltmakta görev alarak etkilerini göstermektedirler (Mehmetçik et al. 1997: Schafer and Throling, 1990: Machlin and Bendich, 1987).

Özet olarak lipidler ile serbest radikallerin etkileşimi ile ortaya çıkan lipid peroksidasyonu, antioksidanlar tarafından yavaşlatılmaya ve inhibe edilmeye

alışılmaktadır. Bu olaylar normal biyolojik bir süreçte oluşmaktadır. Çevresel faktörlerin etkisi, bu olayların daha da hızlanmasını sağlamaktadır.



AMAÇ ve KAPSAM

Yaşlanma normal gelişimsel ve metabolik süreçlerin bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Artan yaş ile birlikte oluşan fizyolojik değişikliklerin ilerleyen birikimi, ortaya çıkan hastalıklara ve de ölüme giderek artan yatkınlıktan sorumludur. Yaşlanma süreci tüm canlılar için ortak bir süreçtir, çünkü yaşlılık ve ölüm kavramları evrensel kavramlardır. Ayrıca yaşlanma belli bir dereceye kadar genetik kontrol altındadır. Çünkü yaşlılık belirtileri ve yaşam süresi farklı canlı türleri arasında olduğu kadar aynı türün bireyleri arasında da farklılık göstermektedir (Harman, 1993; Cutler, 1991)

Yaşlanmadaki fizyolojik değişikliklerin büyük ölçüde karmaşık oluşu, yaşlanmaya neden olan biyolojik mekanizmaların araştırılmasını zorunlu kılmıştır. Bu mekanizmalarla ilişkili olarak birçok teori ileri sürülmekteyse de günümüzde "yaşlanmanın serbest radikal teorisi" en çok üzerinde durulan mekanizmalar arasındadır. Bu teoride; serbest radikal reaksiyonlarının yaşlanmada ve yaşlılıkla ilişkili bozukluklarda rol oynadığı ileri sürülmektedir. Bu reaksiyonlar çevresel etkilerden (iyonize edici radyasyon gibi) ve de normal metabolizma sırasında oluşan enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlardan oluşmaktadır. Böylelikle; gerek dışsal gerekse içsel yaşlanma süreçlerinde önemli roller üstlenmektedirler (Harman, 1993).

Birçok deneysel çalışmada; serbest radikal reaksiyonlarının bir sonucu olarak ortaya çıkan lipid peroksitlerin çeşitli dokulardaki düzeylerinin yaşlanmada arttığı gösterilmiştir (Joswiak and Jasnowska, 1985; Uysal ve ark. 1989; Miyazawa et al. 1993).

Poliansatüre yağ asitleri peroksidasyona kolayca yatkınlık gösterirler. Plazma lipid düzeyleri de insanlarda yaşa bağlı olarak giderek artış göstermektedir. Lipidlerin peroksidede olabirlik indeksinin yaş ile birlikte arttığı özellikle hayvan deneylerinde gösterilmiştir. Ancak; yaşlanmada; plazma lipid peroksidasyonunun plazma

antioksidanları ve lipidlerle ilişkisi üzerinde literatürdeki bilgiler sınırlıdır (Mehmetçik ve Ark. 1997).

Lipid peroksidasyonunun şiddeti, özellikle vitamin E gibi ekstrasellüler antioksidanlar, intrasellüler antioksidan enzimler (SOD, Gpx) ve glutatyonun etkisi ile azaltılabilir. Yaşlanmada antioksidan sistemde olan değişikliklerle ilişkili olarak literatürde çelişkili sonuçlar mevcuttur. Ancak, askorbik asit ve vitamin E'nin uygun miktarlardaki artışının yaşlanmada serbest radikallere karşı koruyucu rol oynadığı ayrıca immün sistem üzerinde aktivasyon ve kardiyovasküler sistemde koruyucu roller üstlendiği bilinmektedir (Cutler 1991;Barja, 1992).

Bu çalışmanın amacı da; yaşlanma sürecinde, lipidler, lipid peroksidasyonu indeksi ve antioksidanların nasıl bir değişim gösterdiğini incelemek olmuştur. Bu amaçla yaşları yirmi ve seksen altı arasında değişen 162 sağlıklı bireyde plazma kolesterol, trigliserid, lipoprotein düzeyleri ile lipid peroksidasyon ve antioksidan vitaminlerden askorbik asit ve vitamin E'nin, ayrıca intrasellüler antioksidan sistemin (eritrosit SOD ve Gpx aktiviteleri ve glutatyon düzeyleri) ölçümü yapılmıştır. Serbest radikal teorisinin yaşlanmadaki rolü ve bununla birlikte antioksidanların ne şekilde değişim gösterdiği, genç ve yaşlı gruplarda karşılaştırılarak, bu parametrelerin yaşlanma etiopatogenezindeki yerinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1. Araştırmanın Yeri

Bu çalışma, Kocaeli ve çevresinde gerçekleştirilmiştir. Bireylerin seçildiği yerlere göre dağılımları ise şöyledir;

1- S. S. Y. B. Kocaeli Huzurevi	14 Kişi
2- Kocaeli Sosyal Dayanışma Merkezi	2 Kişi
3- Çevre ilçeler ve muhtarlıklar (Cedit Mah. Muh., Gölcük, Derince, Körfez, Saraybahçe)	106 Kişi
4- Gazete ilanları ve diğer duyurular	40 Kişi

3.2. Araştırmaya Katılanların Seçimi

Çalışma; herhangi bir sistemik hastalığı (örnek; renal yetmezlik, diabetes mellitus, hipertansiyon, kalp hastalıkları gibi) olmayan, sigara kullanmayan (ya da en az 6 ay önce bırakmış olan), 77 kadın, 85 erkek 20-80 yaş ve yukarısı yaş grubunda olan 162 sağlıklı birey üzerinde yapılmıştır.

Bu ölçütlere uygun olan bireyler öncelikle, çalışma hakkında bilgilendirilmiş ve katılmayı kabul eden katılımcılar çalışma kapsamına alınmıştır. Çalışmamız, 17 Mart 1998-20 Mayıs 1998 tarihleri arasında yürütülmüştür. Bu çalışmanın gerçekleştirilmesi için Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 24.12.1997 tarihinde, (hek-97/91) ön onay alınmıştır. Tüm gönüllülerin aydınlatılmış onamları alınarak çalışmaya katılımları sağlanmıştır.

3.3. Numunelerin Toplanması

10-12 saat açlık sonrası gelen bireylerden 15 cc kan, antekübital venden EDTA'lı, heparinli ve düz tüplere (Beckton Dickinson Vacutainer® Systems Grenoble, France) alınmıştır. Toplanan kanlar 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edilerek serum ve plazmalar ayrılmıştır. Glukoz, lipidler, GSH, MDA ve askorbik asit hemen aynı gün analiz edilmiştir. Gpx ve SOD analizi için tam kan, vitamin E için ayrılan serum -85°C'de analiz edilinceye kadar saklanmıştır.

3.4 Çalışma Yöntemleri

3.4.1. Kullanılan Kimyasallar, Reaktifler ve Cihazlar

Xanthine Oxidase	25 ünite	Sigma X 1875
Xanthine	1 gr	Sigma X 4002
NitroBlueTetrazolium	50 mg	Sigma N6876
Etanol	2.5 L	Riedel- de Haén
Na₂CO₃	1 kg	MERCK
EDTA	500gr	Sigma E4884
BSA	%22 10 mL	Croma test
Kloroform	2.5 L	MERCK
CuCl₂	1 kg	MERCK
Etanol:	2.5 Lt	Riedel- de Haén
Ksilen	2.5 L	MERCK
Propanol	1 L	MERCK
2,2'-dipridil	10gr	Sigma D 7505
FeCl₃	100gr	MERCK
(+)-α-tokoferol standart	10gr	Sigma T 3634

Metafosforik asit	100gr	Sigma M 5043
Sülfürük asit	2.5 L	MERCK
2,4-DNPH	100gr	MERCK
(Dinitrofenil hidrazin)		
Tiyöüre	100 gr	Sigma T 7875
L-Askorbik Asit	25 gr	Sigma A 5960
Bakır Sülfat	1 kg	MERCK
Glutasyon	1 gr	Sigma G 4251
NaCl	5 kg	MERCK
Sodyum Sitrat	1 kg	MERCK
TBA (Tiyobarbitürük asit)	25 gr	MERCK
TCA	100 gr	Riedel- de Haén
n-Butanol	2.5 L	MERCK
NADPH	250 mg	Sigma N 1630
Na₂HPO₄	1 kg	MERCK
NaH₂PO₄	1 kg	MERCK
Glutasyon Redüktaz	500 ünite	Sigma 1762
NaN₃	100 gr	MERCK
t-Bütül hidroperoksit	100 mL	Riedel- de Haén
Kolesterol Kiti		BİOTROL
Trigliserid Kiti		BİOTROL
HDL-Kolesterol Kiti		Boehringer Mannheim
Glukoz Kiti		BİOTROL
Su banyosu		Nüve BM402
Spektrofotometre		Jasco V-530 UV/VIS Spectrophotometer
Soğutmalı Santrifüj		SANYO MSE Mistral 2000R
Mikrosantrifüj		SIGMA 201 M
Vorteks		Nüve NM110
Millipore		Milli-RO 3 plus
Etüv		Nüve EN 500
Otoanalizörler		Bayer OpeRA Chemistry Systems Technicon RA-XT

Santrifüj
Hemotokrit Santrifüjü

Nüve NF 1215
Nüve

3.4.2. Glukoz ve Lipidlerin Ölçümü

Açlık plazma glukoz düzeyleri glukoz oksidaz prensibi ile, hazır kit kullanılarak otoanalizöre uygulandı.

Kolesterol, trigliserid, HDL-kolesterol düzeyleri OpeRA (Bayer) otoanalizöründe çalışıldı. Kolesterol kolesterol esteraz ve kolesterol oksidaz yöntemi ile, trigliserid trigliserid lipaz yöntemi ile çalışıldı. HDL-kolesterol, fosfotungstik asit ve magnezyum ile çöktürme prensibine dayanarak tayin edildi. Bu yöntemde LDL ve VLDL fraksiyonları çöktürülerek supernatanda HDL-kolesterol ölçümü, otoanalizöre uygulanarak yapıldı. LDL-Kolesterol, Friedewald formülüne göre hesaplandı.

Friedewald formülü:

$$\text{LDL-Kol} = \text{Total Kolesterol} - (\text{Trigliserid} / 5 + \text{HDL-Kolesterol})$$

3.4.3. Lipid Peroksidasyon İndeksi (MDA) Ölçümü (Tamatsu et al. 1979)

Kan EDTA'lı tüplere alındı.

TBA (tiyobarbitürik asit): 0.67 gr TBA 100 mL bidistile su içinde ısıtılarak eritildi.

Stabilitesi çok az olduğu için günlük olarak hazırlanır ve oda ısısında saklanır.

%20 TCA: 20 gr TCA 100 mL bidistile suda eritilerek hazırlandı.

n-Butanol: orijinal şişesinden kullanıldı.

Alınan kan örneği, 3000rpm'de 10 dakika çevrildi.

Ayrılan plazmadan 0.5 mL alındı.

2.5 mL %20 TCA ile bir tüpe konularak karıştırıldı.

1 mL % 0.67 TBA eklendi ve karıştırıldı.

30 dakika kaynatıldı .

Oda ısısına gelince, üzerine 4 mL n-butil alkol eklendi ve karıştırıldı.

3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.

n-bütül fazı alınarak 535 nm'de spektrofotometrede absorbanslar okundu.

MDA düzeyleri molar absorpsiyon katsayısı kullanılarak hesaplandı.

Konsantrasyon ($\mu\text{mol/L}$)= $A/(\epsilon \times l)$

ϵ : $1.56 \times 10^{+5}$

3.4.4. Antioksidanların Ölçümü

3.4.4.1. Eritrosit GSH Düzeyi Ölçümü (Burtis and Ashwood, 1994)

EDTA içeren tüplere kan alındı.

Ayırıcılar:

1- Presipitasyon solüsyonu:

100 mL 'lik bir balon joje içerisinde,

1.67 gr glasiyal metafosforik asit,

0.20 gr disodyum veya dipotasyum EDTA,

30 gr NaCl,

Distile su ile hacim 100 mL'ye tamamlandı.

Stabilitesi 4°C'de 3 haftadır.

2- Disodyum fosfat Solüsyonu(0.3mol/L):

1 litrelik balon joje içerisinde,

42.59 gr Na_2HPO_4 konularak, deiyonize su ile hacim 1Litreye tamamlandı

Stabilitesi 4°C'dedir. Eğer kristalize olursa, ısıtılarak özdürölür.

3- DTNB ayıraçı:

100 mL 'lik bir balon joje içerisinde, 40 mg DTNB,

Hacim sodyum sitrat solüsyonu (1 gr/dL) ile 100 mL'ye tamamlandı.

Stabilitesi 4°C'de 13 haftadır.

4- GSH kalibratörleri:

100 mg GSH 100 mL içerisinde deiyonize su ile özdürölü. GSH özölene kadar ters yüz edildi. 50 mg/dL ve 10 mg/dL'lik kalibratörler hazırlandı. Kalibratörler stabil olmadığı için taze hazırlanmalıdır.

B-alıřma Yöntemi

1- 0.2 mL tam kan, 10 mL'lik test tüpüne pipetlendi. 1.8 mL distile su eklendi Karıştırılarak hemolize edildi.

2- 3 mL Presipitasyon solüsyonu eklendi ve karıştırıldı.

3- 5 dakika oda ısısında bekletildi. Filtre kağıdımdan süzölü.

4- Kuvetler aşağıdaki gibi hazırlandı.

AYIRAC (mL)	KÖR	ÖRNEK	STANDART
Filtrat	-	2.0	-
PresipitatAyıracı	1.2	-	-
Su	0.8	-	-
Na_2HPO_4	8.0	8.0	8.0
DTNB Solüsyonu	1.0	1.0	1.0
GSH Kalibratörü	-	-	2.0

5- Kuvetler kapatıldı 3 kez karışması için ters çevrildi.

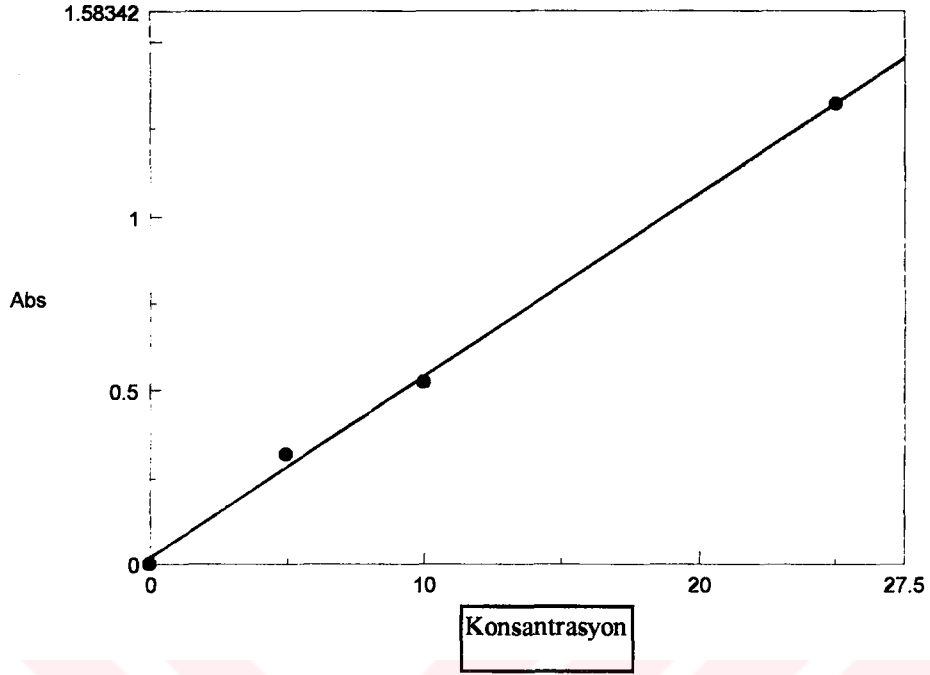
6- Kuvetler hazırlandıktan 4 dakika içinde 412 nm'de absorbanlar okundu.

7- Tam kan örneğinin hematokriti elde edildi.

8- Filtrasyon aşaması elde edilerek, GSH kalibratörleri çalışıldı.

9- Kalibratör eğrisi hazırlandı. Grafikten kan örneğinin GSH konsantrasyonu elde edildi.

10- GSH konsantrasyonu hesap edildi.



$$\text{GSH (mg/dL RBCs)} = \frac{\text{GSH Konsantrasyonu (kalibrasyon eğrisinden)}}{\text{Hematokrit}}$$

Referans Değeri: 47-100 GSH mg/dL RBCs

3.4.4.2. Eritrosit SOD Aktivitesi Ölçümü (Sun et al. 1988)

Kan heparinli tüpe alındı

Ksantin Oksidaz Solüsyonu: 2M buzda soğutulmuş amonyum sülfat ile sulandırıldı
Taze olarak hazırlandı.

Ksantin oksidazın son konsantrasyonu 167 U/L oldu.

SOD Çalışma Reaktifi: 40 hastalık çalışma için.

200mL'lik beherde aşağıdakiler hazırlanıp iyice karıştırıldı;

40mL	0.3mmol/L	Ksantin solüsyonu
20mL	0.6mmol/L	EDTA solüsyonu
20mL	150µmol/L	Nitrobluetetrazolium
12mL	400mmol/L	Na ₂ CO ₃ solüsyonu
6mL	1g/L	Sığır Serum Albümini

Örneklerin Hazırlanması: Heparinli tam kan alındıktan sonra;

3000rpm 10 dakika 0-4°C'de santrifüj edildi. Plazma ayrıldı. 0.1 mL eritrosit, 0.9 mL buzlu su (4°C) ile lizis edildi. 0.3 mL kloroform ve 0.5 mL etanol ile hemoglobin uzaklaştırıldı. 1 dakika vortekslendi. Karışım 4500 g'de 90 dakika boyunca santrifüj edildi. Supernatan sıvı, 100 sulandırma faktörü ile sulandırıldı. 0.5 mL sulandırılmış solüsyon, Cu Zn SOD aktivitesini ölçmek için kullanıldı.

Çalışma:

40 tüpe	2.45 mL SOD çalışma reaktifi eklendi.
	0.5 mL standart veya sulandırılmış supernatan sıvı eklendi.
	SON HACİM, 3.0 mL'dir.
	İçerdikleri ve oranları şöyledir;
Ksantin	0.1mmol/L
EDTA	0.1mmol/L
Sığır Serum Albumini	50mg/L
NBT	25µmol/L
Ksantin Oksidaz	9.9nmol/L
Na ₂ CO ₃	40mmol/L

40 tüp su banyosuna (25°C) kondu. Her tüpe 50µL ksantin oksidaz solüsyonu 30 sn aralıklarla eklendi. Her tüp 20 dakika inkübe edildi. Reaksiyona 1mL 0.8 mmol/L CuCl₂ eklenerek durduruldu. (Ksantin oksidazın eklendiği son tüp ile CuCl₂ eklenecek olan ilk tüp arasındaki zaman 30 sn olmalı. Bu şekilde yapıldığı takdirde 40 tüp, 40 dakikada çalışılmış olur. 15 dakikada spektrofotometrik okuma yapılır.)

Formazan oluşumu **560nm**'de saptandı

Bu şartlar altında, 560 nm'de ki blank absorbanası yaklaşık 0.19 olarak bulundu.

$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{(A_{\text{blank}} - A_{\text{örnek}})}{A_{\text{blank}}} \times 100\%$$

x-axis protein konsantrasyonu (Cu ZnSOD aktivitesi, U/L)

y-axis'i % inhibisyon olacak şekilde kalibrasyon eğrisi çizildi.

1 ünite SOD, NBT redüksiyon oranını %50 inhibe eden protein miktarı olarak kabul edildi.

Hasta sonuçları kalibrasyon eğrisinden elde edildi.

3.4.3.3. Eritrosit Gpx Aktivitesi Ölçümü (Jacobson et al. 1988)

Kan heparinli tüpe alındı.

Ayırıcılar:

1. 0.125 M Fosfat Tamponu, pH: 7.5
2. GSH çözeltisi: 8.5 mg/mL olacak şekilde tamponda çözüldü.
3. NADPH çözeltisi: 5 mg/mL olacak şekilde tamponda çözüldü.
4. Glutasyon redüktaz çözeltisi: 20 ünite/mL
5. Sodyum azid çözeltisi: 0.91 mg/mL
6. t-bütil hidroperoksit çözeltisi: 10mM

Örneklerin Hazırlanması:

Tam kan örnekleri 1:20 oranında distile su ile karıştırılarak hemolizat elde edildi. Hücre artıklarının uzaklaştırılabilmesi amacıyla hemolizat 10000g'de santrifüj

edildi. Ayrılan supernatantlar analizörün numune kaplarına konuldu. Otoanalizörün ayıraç küvetlerine konmak üzere iki ayrı çözelti hazırlandı.

I. Ayıraç: 10 mL ayıraç için;

0.46 mL NADPH

0.77 mL GSH

0.31 mL NaN_3

0.31 mL Glutasyon redüktaz

8.15 mL Tampon

II. Ayıraç: 10 mM t-bütil hidroperoksit çözeltisi

I. ve II. ayıraç otoanalizörün ayıraç kısmına yerleştirilerek, Technicon RA-XT otoanalizörde çalışıldı.

3.4.4.4. Plazma Askorbik Asit Düzeyi Ölçümü (Burtis and Ashwood, 1994)

Kan heparinli tüpe alındı.

A-Ayıraçlar:

Metafosforik asit (0.75 mol/L):

30 gr metafosforik asit son volümü, 500 mL olacak şekilde deiyonize suya eklendi.

Stabilitesi 1 haftadır.

Sülfürik asit (4.5 mol/L):

250 mL konsantre sülfürik asit, 500 mL soğuk distile suya ilave edildi.

Solüsyon oda sıcaklığına ulaştığında, hacim 1 litreye tamamlandı.

Stabilitesi oda sıcaklığında 2 yıldır.

Sülfürik asit (12 mol/L):

650 mL konsantre sülfürik asit, 300 mL soğuk distile suya ilave edildi.

Solüsyon oda sıcaklığına ulaştığında, hacim 1 litreye tamamlandı.

Stabilitesi oda sıcaklığında 2 yıldır.

2,4-DNPH, 20 mg/mL (0.01 mol/L):

10 gr 2,4-dinitrofenilhidrazin 400 mL, 4.5 mol/L sülfürik asit içinde çözdürüldü, volüm 1 litreye, 4.5 mol/L sülfürik asit ile tamamlandı.

1 gece buzdolabında bekletildi.

Stabilitesi buzdolabında 1 haftadır.

Tiyöüre, 50 mg/mL (0.66 mol/L):

5 gr tiyöüre, 100 mL distile suda çözdürüldü.

Stabilitesi 4°C'de 1 aydır.

Bakır sülfat, 6 mg/mL (0.027 mol/L):

0.6 gr anhidroz bakır sülfat, son volüm deiyonize su ile 100 mL' ye getirildi.

Stabilitesi oda sıcaklığında 1 yıldır.

Askorbik Asit Standardları:

Stok standart (2.8 mmol/L), 50 mg askorbik asit, metafosforik asit ile 100 mL'ye getirilerek hazırlandı

Dilüsyonları, metafosforik asitte 2.5, 5, 20 mg/L olacak şekilde (sırasıyla 0.014, 0.028 ve 0.011mmol/L) yapıldı. Bunlar çalışma standartlarıdır.

Günlük taze olarak hazırlanır.

DTC ayıracağı (DNPH/tiyöüre/bakırsülfat karışımı):

5 mL bakırsülfat solüsyonu 5 mL tiyöüre ve 100 mL 2,4-DNPH ayıracağına ilave edildi

Günlük taze olarak hazırlandı.

B-Çalışma Yöntemi

1- 0.5 mL serum, 2.0 mL metafosforik asit solüsyonuna pipetlendi. Vorteksenerek karıştırıldı. 2500g 'de 10 dakika oda ısında santrifüj edildi. 1.2 mL supernatan, spektrofotometre tüpüne pipetlendi.

2- Her çalışma standardı, 1.2 mL hacminde, spektrofotometre tüpüne pipetlendi.

3- 1.2 mL metafosforik asit, spektrofotometre tüpüne pipetlenerek ayıracağı körleri hazırlandı.

4- 0.4 mL DTC ayıracağı tüm tüplere ilave edildi.

Tüplerin ağızları kapatıldı.

Vorteksenerek karıştırıldı.

37°C'de 3 saat inkübe edildi.

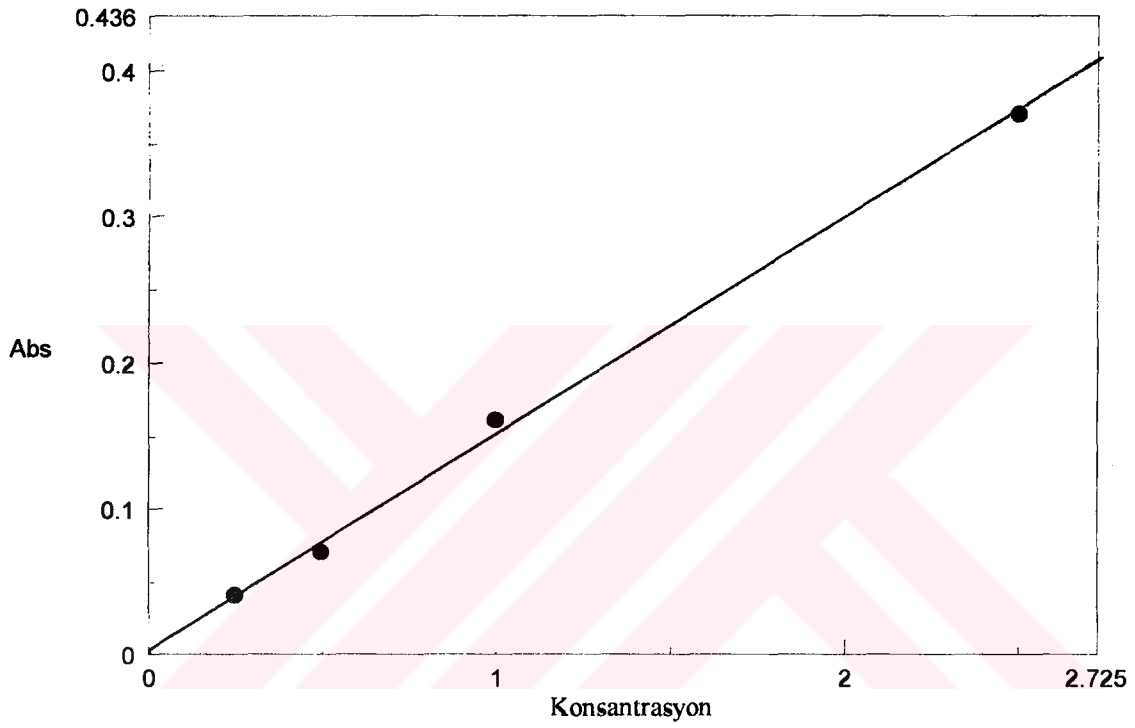
5- Tüpler 10 dakika buz banyosunda tutuldu.

Dikkatli bir şekilde karıştırılarak, yavaşça 2 mL soğuk 12 M sülfürik asit her tüpe ilave edildi

Vortekslenerek karıştırıldı. Tüpler hemen buz banyosuna geri konuldu.

6- Metafosforik asit körü kullanılarak spektrofotometrede 520 nm'de standartların ve bilinmeyenlerin absorbansı okundu.

7- Kalibrasyon eğrisi hazırlandı. Numunelerin askorbik asit değerleri elde edildi.



3.4.4.5. Serum Vitamin E Düzeyi Ölçümü (Varley et al. 1976)

Kan düz tüpe alındı.

Ayrıçlar:

%95 Etanol

Ksilen

2,2'-dipyridyl çözeltisi (1.2 g/l n-propanol)

FeCl₃ çözeltisi (1.2gr/L etanol)

(+)- α -tokoferol standart çözeltisi (10mg/L etanol)

Yapılışı:

Deney	Kör	Standart	Serum
Su	1.5 mL	1.5 mL	-
Etanol	1.5 mL	-	1.5 mL
Standart	-	1.5 mL	-
Serum	-	-	1.5 mL
Ksilen	1.5 mL	1.5 mL	1.5 mL

Tüm deney tüpleri karıştırılıp, santrifüj edildikten (3000rpm 10 dakika) sonra fazlar ayrıldı. 1mL ksilen fazı üzerine 1mL 2,2'-dipyridil çözeltisi eklendi, karıştırıldı. ve **460 nm**'de absorbanslar okundu. Bütün tüplere 0.44mL FeCl₃ çözeltisi eklendikten 90 saniye sonra **520nm**'de absorbanslar tekrar okundu. Tokoferol düzeyleri aşağıda verilen formül kullanılarak hesaplandı.

$$\text{E vitamini (mg/L)} = \frac{[A_{520 \text{ Deney}} - (A_{460 \text{ Deney}} \times 0.29)]}{A_{520 \text{ Standart}}} \times 10$$

Vitamin E sonuçları elde edildikten sonra vitamin E indeksleri hesaplandı.

Vitamin E indeksinin hesaplanmasında kullanılan formül aşağıda belirtilmiştir.

$$\text{Vitamin E İndeksi} = \frac{\text{Vitamin, } \mu\text{mol/L} \times [5.6 \text{ mmol/L} + 1.24 \text{ mmol/L Trig}]}{(\mu\text{mol/mmol}) \quad \text{Kişinin Kolesterol Düzeyi} + \text{Kişinin Trigliserid Düzeyi}}$$

3.5 İstatistiksel Yöntemler

Olguların değerlendirilmesinde Windows programı için hazırlanmış olan SPSS 5.0.1 versiyon paket istatistik programından yararlanılmıştır.

Bağımsız grupların parametrelerinin karşılaştırılmasında ANOVA testi uygulanmış ve "post hoc" olarak ta Duncan testi ile anlamlıkları test edilmiştir. Mann-Whitney U ve student t testi de uygulanmıştır. Levene testi grupların homojenizasyonunun belirlenmesinde kullanılmıştır. Korelasyonların saptanması için Pearson korelasyon testinden yararlanılmıştır. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya katılan bireyler yaş grupları açısından 3 gruba ayrıldı. 1. grup 20-39 yaş arası 42 kişi, 2. grup 40-59 yaş arası 66 kişi ve 3. grup 60-79 yaş ve üzeri 54 kişi şeklinde oluştu. Çalışmaya 85 erkek, 77 kadın toplam 162 kişi katıldı. Tüm çalışma grubunun, cinsiyete ve yaş gruplarına göre yaş ortalamaları \pm SD, minimum ve maksimumları Çizelge 4.1.de gösterilmiştir. Çalışılan parametrelere göre tüm gruptaki dağılımı ise Çizelge 4.2.'de görülmektedir.

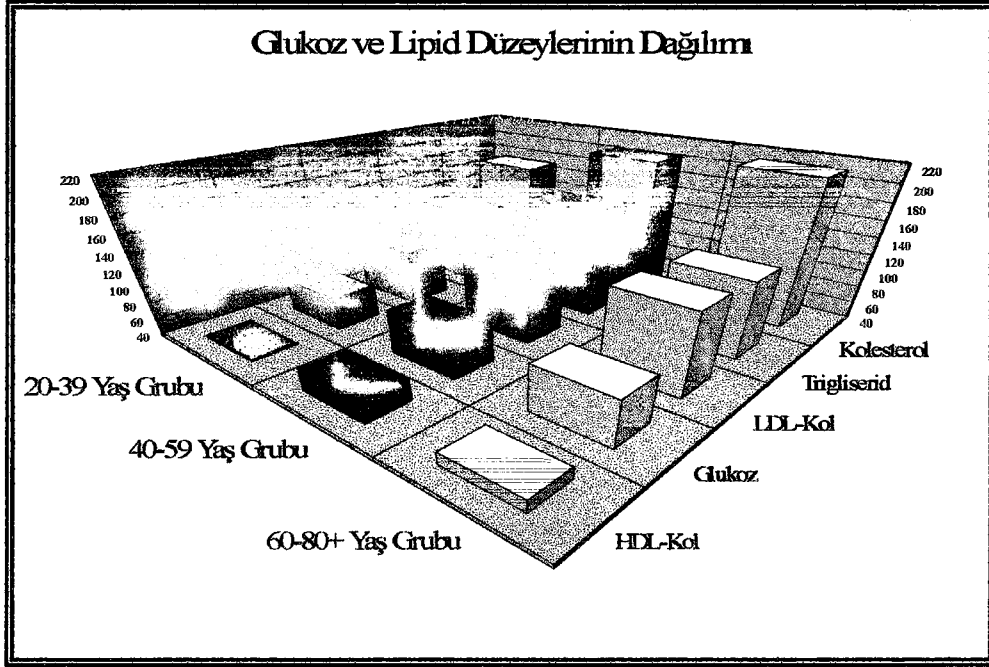
Çizelge 4.1. Çalışma Gruplarının Yaş Göre Dağılımı (*E= Erkek **K=Kadın)

Grup	Yaş Ortalama \pm SD	Minimum	Maksimum
Çalışma grubu (n.162)	50.29 \pm 16.15	20	86
Erkek(n.85)	51.85 \pm 16.86	21	86
Kadın(n.77)	48.55 \pm 15.24	20	79
Grup 1 (20-39 yaş) (n.42)	29.17 \pm 5.44	20	39
Grup 1E*(n.22)	30.05 \pm 5.78	21	39
Grup 1K**(n.20)	28.20 \pm 5.01	20	39
Grup 2 (40-59 yaş) (n.66)	49.03 \pm 5.43	41	59
Grup 2E (n.32)	49.56 \pm 5.50	41	58
Grup 2K(n.34)	48.53 \pm 5.41	41	59
Grup 3(60-79+ yaş) (n.54)	68.26 \pm 6.95	60	86
Grup 3E(n.31)	69.71 \pm 7.58	60	86
Grup 3K(n.23)	66.30 \pm 5.57	60	79

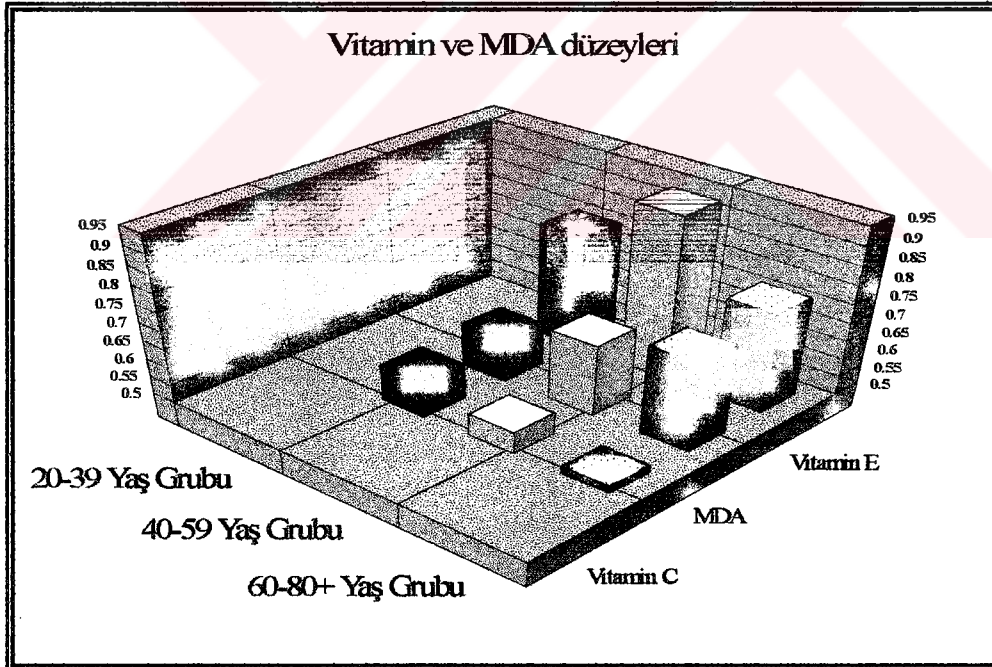
Çizelge 4.2. Araştırmaya Katılan Bireylerde Çalışılan Parametrelerin Düzeyleri

Parametre	Ortalama ± SD	5%	95%
Glukoz (mg/dL)	90.40 ± 20.69 (n:159)*	72.00	121.00
Kolesterol (mg/dL)	198.24 ± 41.38 (n:162)	132.45	269.70
Trigliserid (mg/dL)	146.79 ± 83.40 (n:160)*	57.05	290.70
HDL-kol (mg/dL)	42.36 ± 12.54 (n:162)	27.00	67.0
LDL-kol (mg/dL)	127.05 ± 36.25 (n:159)*	74.00	201.20
VLDL-kol (mg/dL)	29.35 ± 16.68 (n:160)*	11.41	58.14
MDA(μmol/L)	0.69 ± 0.29 (n:162)	0.35	1.28
Eritrosit GSH (mg/dL Eritrosit)	57.32 ± 18.85 (n:153)*	33.25	101.98
Eritrosit Gpx (U/grHb)	34.23 ± 14.34 (n: 150)*	15.76	54.89
Eritrosit SOD (U/grHb)	847.79 ± 298.56 (n:136)*	469.75	1422.75
Askorbik asit (mg/dL)	0.56 ± 0.20 (n:160)*	0.24	0.92
Vitamin E (mg/dL)	0.85 ± 0.30 (n:158)*	0.39	1.31
Vitamin E İndeksi (μmol/mmol)	20.46 ± 6.92 (n:156)*	9.85	33.16
Hemoglobün(gr/dL)	13.13 ± 2.57 (n:162)	9.57	17.11
Hematokrit(%)	41.00 ± 4.00 (n:162)	36	49
Sistolik Kan Basıncı (mmHg)	121.79 ± 25.34 (n:162)	90	168.50
Diastolik Kan Basıncı (mmHg)	74.44 ± 15.42 (n:162)	50	100

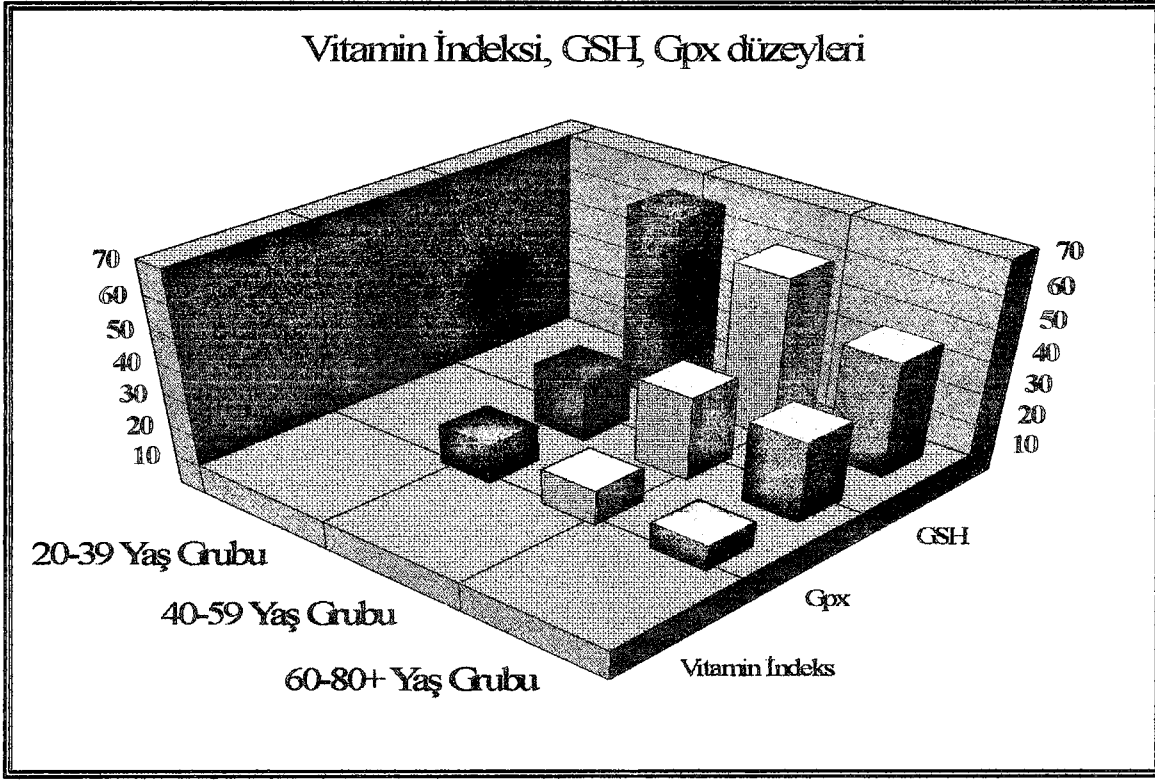
* Ortalamayı bozan uç değerler çıkarılmıştır.



Şekil 4.1. Glukoz ve Lipidlerin Yaş Gruplarına Göre Değişimi,
(Glukoz , Kolesterol, LDL-kol, Trigliserid, HDL-kol (mg/dL))



Şekil 4.2. Vitamin ve MDA Düzeylerinin Yaş Gruplarına Göre Değişimi
(Vitamin C, Vitamin E (mg/dL), MDA,(µmol/L))



Şekil 4.3. Vitamin E İndeksi (mol/mmol), GSH (Mg/dLEritrosit) ve Gpx (U/Gr Hb) Düzeylerinin Yaş Gruplarına Göre Dağılımı

Oluşturulan 3 grubun çalışılan parametrelere göre aralarındaki karşılaştırmalar çizelge 4.3.'de gösterilmektedir.

Çizelge 4.3. Çalışılan Parametrelerin Yaş Gruplarına Göre İstatistiksel Değerlendirilmesi.

Parametre	Grup 1 (n: 42) (20-39 yaş)	Grup 2 (n: 66) (40-59 yaş)	Grup3 (n: 54) (60-79+yaş)	F değeri	Pa
Glukoz (mg/dL)	80.9± 8.7 bc	92.8± 20.4	94.9± 25.1	6.57	0.0018
Kolesterol (mg/dL)	171.8± 30.6 bc	203.9± 43.2	211.7± 37.5	13.97	0.0001
Trigliserid (mg/dL)	132.6± 78.1 b	167.8± 96.4 c	131.5± 63.2	3.69	0.026
HDL-kol (mg/dL)	40.1± 10.1 b	38.6± 10.3 c	48.6± 14.3	11.63	0.0001
LDL-kol (mg/dL)	106.3± 26.2 bc	132.1± 40.6	136.8± 31.0	10.39	0.0001
VLDL-kol (mg/dL)	26.5± 15.6 b	33.5± 19.2 c	26.3± 12.6	3.69	0.026
MBA (µmol/L)	0.62± 0.21 c	0.69± 0.34	0.74± 0.28	2.22	0.1100
Eritrosit GSH (mg/dL Eritrosit)	67.1± 17.7 c	60.5± 21.5 c	46.6± 8.8	18.24	0.0001
Eritrosit Gpx (U/grHb)	29.4± 17.8 bc	36.4± 14.4	35.6± 9.2	3.35	0.037
Eritrosit SOD (U/grHb)	849.6± 342.3	789.0± 64.0	921.4± 296.9	2.52	0.084
Askorbik asit (mg/dL)	0.60± 0.22	0.56± 0.24	0.52± 0.12	2.07	0.1200
Vitamin E (mg/dL)	0.81± 0.26 b	0.94± 0.33 c	0.77± 0.25	4.98	0.0080
Vitamin İndeks (µmol/mmol)	22.1± 6.7 c	22.1± 6.9 c	18.4± 6.7	3.87	0.050

a: ANOVA, gruplar arasındaki farkın anlamlılık düzeyi,

b: 2. Grup ile karşılaştırıldığında, (p<0.05) ("post hoc", Duncan test)

c: 3. Grup ile karşılaştırıldığında (p<0.05) ("post hoc", Duncan test)

Buna göre;glukoz düzeyleri, 2.grupta (92.8 ± 20.4 mg/dL) ve 3.grupta (94.9 ± 25.1 mg/dL) 1.gruba (80.9 ± 8.7 mg/dL) göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p < 0.05$). Kolesterol değerleri açısından da, 3.grup (211.7 ± 37.5 mg/dL) 1.grup (171.8 ± 30.6 mg/dL) ve 2.gruba (203.9 ± 43.2 mg/dL) göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p < 0.05$). Trigliserid düzeyleri açısından, 1.grup(132.6 ± 78.1 mg/dL) ile 2.grup (167.8 ± 96.4 mg/dL) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış ($p < 0.05$) ve 2.grup ile 3.grup (131.5 ± 63.2 mg/dL) arasında da azalma görülmüştür ($p < 0.05$). HDL-kol açısından; 1.grup (40.1 ± 10.1 mg/dL) ve 2.grup (38.6 ± 10.3 mg/dL) arasında istatistiksel olarak azalan($p < 0.05$), 2.grup ile 3.grup (48.6 ± 14.3 mg/dL) arasında da artan anlamlı bir fark vardır ($p < 0.05$). LDL-kol düzeyi 2. ve 3.grupta (132.1 ± 40.6 , 136.8 ± 31.0 mg/dL) 1.gruba (106.3 ± 26.2 mg/dL) göre istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme göstermiştir ($p < 0.05$). VLDL-kol düzeyleri açısından, 1.grup (26.5 ± 15.6 mg/dL) ile 2.grup(33.5 ± 19.2 mg/dL) arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir artma ($p < 0.05$) ve 2.grup ile 3.grup (26.3 ± 12.6 mg/dL) arasında istatistiksel olarak, anlamlı azalma vardır ($p < 0.05$). MDA seviyelerinde gruplar arası anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p > 0.05$). Eritrosit GSH düzeyleri 3. grupta (46.6 ± 8.8 mg/dL eritrosit) 1.grup ve 2.gruba (67.1 ± 17.7 , 60.5 ± 21.5 mg/dL eritrosit), göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma göstermiştir ($p < 0.05$). 2. ve 3.grubun(36.4 ± 14.4 , 35.6 ± 9.2 U/gr Hb) eritrosit Gpx aktiviteleri 1.gruba (29.4 ± 17.8 U/gr Hb), göre anlamlı bir artış göstermektedir ($p < 0.05$). Eritrosit SOD aktivitesi 3. grupta (921.4 ± 296.9) 2.gruba (789.0 ± 64.0 U/gr Hb) göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermektedir ($p < 0.05$). Askorbik asit düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p > 0.05$). Vitamin E düzeyleri, 2.grupta, 1.gruba (0.94 ± 0.33 mg/dL, 0.81 ± 0.26) göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p < 0.05$). 3. grup (0.77 ± 0.25 mg/dL) ile 2.grup arasında da vitamin E düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalmıştır ($p < 0.05$). Vitamin E indeksi açısından, 3.grup (18.4 ± 6.7 μ mol/mmol), 1. ve 2.gruba (22.1 ± 6.7 , 22.1 ± 6.9 μ mol/mmol) göre istatistiksel olarak anlamlı azalan bir değere sahiptir($p = 0.05$).

Oluşturulan yaş gruplarında çalışılan parametrelere göre erkeklerdeki karşılaştırmalar çizelge 4.4. de gösterilmektedir.

Çizelge 4.4. Çalışılan Parametrelerin Erkeklerde Yaş Gruplarına Göre İstatistiksel Değerlendirilmesi.

Parametre	Grup 1E (20-39 yaş) (n:22)	Grup 2E (40-59 yaş) (n:32)	Grup3E (60-79+ yaş) (n:31)	F değeri	Pa
Glukoz (mg/dL)	82.9±8.1 b	99.1±27.0	91.6±17.8	4.14	0.019
Kolesterol (mg/dL)	176.4±35.7 b	202.7±34.7	196.3±30.9	4.15	0.019
Trigliserid (mg/dL)	155.6±99.1b	208.3±114.0 c	124.4±70.3	5.98	0.0038
HDL-kol(mg/dL)	36.7±9.71 c	35.9±10.4 c	47.0±15.9	7.24	0.0013
LDL-kol(mg/dL)	111.0±27.8	125.8±32.0	124.0±25.5	1.84	0.1640
VLDL-kol (mg/dL)	31.1±19.8	41.6±22.8 c	24.8±14.0	5.98	0.0038
MDA (µmol/L)	0.59±0.17	0.74±0.42	0.71±0.3	1.44	0.24
Eritrosit GSH(mg/dl.Eritrosit)	63.2±21.9 c	61.0±21.7 c	46.3±8.2	7.48	0.0011
Eritrosit Gpx (U/grHb)	27.4±10.6 bc	34.7±13.9	34.6±10.3	2.98	0.056
Eritrosit SOD (U/grHb)	805.3±319.1	758.5±258.2	936.39±327.3	2.64	0.078
Askorbik asit (mg/dL)	0.62±0.21	0.57±0.30	0.51±0.13	1.42	0.2473
Vitamin E (mg/dL)	0.81±0.25	0.97±0.35 c	0.75±0.26	4.74	0.0112
Vitamin E İndeksi(µmol/mmol)	21.4±5.9	20.5±5.9	19.0±6.9	0.90	0.4107

a:ANOVA, gruplar arasındaki farkın anlamlılık düzeyi

b: 2. Grup ile karşılaştırıldığında, (p<0.05) ("post hoc", Duncan test)

c: 3. Grup ile karşılaştırıldığında (p<0.05) ("post hoc", Duncan test)

Buna göre; glukoz değerleri açısından erkeklerde 1.grup (82.9±8.1mg/dl) ile 2.grup (99.1 ±27.0 mg/dl) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur(p<0.05). Kolesterol değerleri 1.grup (176.4 ± 35.7 mg/dl) ve 2.grup (202.7 ±34.7 mg/dl) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir (p<0.05). Trigliserid düzeyleri 1. grup (155.6 ± 99.1 mg/dl) ve 2. grup (208.3 ±114.0mg/dl) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterirken (p<0.05), 2.grup ile 3.grup (124.4 ±70.3 mg/dl) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma göstermiştir (p<0.05). HDL-kolesterol seviyeleri, 1.grup (36.7 ±9.71 mg/dl) ile 3.grup (47.0 ±15.9mg/dl) ve 2.grup (35.9 ±10.4 mg/dl) ile de 3. grup (47.0 ±15.9 mg/dl) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir (p<0.05). LDL-kolesterol

düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p < 0.05$) VLDL-kolesterol açısından, 2. grup (41.6 ± 22.8 mg/dl) ile 3. grup (24.8 ± 14.0 mg/dl) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmüştür ($p < 0.05$). MDA düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p > 0.05$). Eritrosit GSH seviyeleri, 3. grupta (46.3 ± 8.2 mg/dl eritrosit) 1. gruba (63.2 ± 21.9 mg/dl eritrosit) ve 2. gruba (61.0 ± 21.7 mg/dl eritrosit) göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur ($p < 0.05$). Eritrosit Gpx seviyeleri 1. gruba (27.4 ± 10.6 U/grHb) göre 2. grup (34.7 ± 13.9 U/grHb) ve 3. grupta (34.6 ± 10.3 U/grHb) istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p < 0.05$). Eritrosit SOD düzeylerini incelediğimizde 2. grup (758.5 ± 258.2 U/grHb) ile 3. grup (936.39 ± 327.3 U/grHb) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmemiştir. ($p > 0.05$) Askorbik asit düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p > 0.05$). Vitamin E düzeyleri açısından 2. grup (0.97 ± 0.35 mg/dl) ile 3. grup (0.75 ± 0.26 mg/dl) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0.05$) . Vitamin E indeksi açısından yaş grupları arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p > 0.05$).

Oluşturulan yaş gruplarında çalışılan parametrelere göre kadınlardaki karşılaştırmalar çizelge 4.5. de gösterilmektedir.

Çizelge 4.5. Çalışılan Parametrelerin Kadınlarda Yaş Gruplarına Göre İstatistiksel Değerlendirilmesi.

Parametre	Grup 1K (n:20)	Grup 2K (n:34)	Grup3K (n:23)	F değeri	Pa
Glukoz (mg/dL)	78.7± 9.1 bc	87.2± 9.2 c	99.6± 32.7	6.32	0.0029
Kolesterol (mg/dL)	166.9± 23.6 bc	205.0± 50.4 c	232.6±36.0	13.9	0.0001
Trigliserid (mg/dL)	108.6± 36.2	129.7± 54.9	140.7± 52.5	2.26	0.1111
HDL-kol (mg/dL)	43.8± 9.4 c	41.2± 9.8 c	50.7± 11.7	5.91	0.0041
LDL-kol (mg/dL)	101.3±24.1 bc	137.8± 46.8 c	153.6± 29.8	11.0	0.0001
VLDL-kol (mg/dL)	21.7± 7.2	25.9± 10.9	28.1± 10.5	2.26	0.1111
MDA (µmol/L)	0.65± 0.25	0.65± 0.24	0.79± 0.25	2.54	0.0851
Eritrosit GSH (mg/dL Eritrosit)	71.7± 9.5 bc	60.0± 21.7 c	47.09± 9.7	11.7	0.0001
Eritrosit Gpx (U/grHb)	31.6± 23.5	37.9± 15.0	37.1± 7.3	0.95	0.3881
Eritrosit SOD (U/grHb)	891.3± 367.6	827.9± 270.2	900.8± 256.7	0.40	0.66
Askorbik asit (mg/dL)	0.59± 0.23	0.54± 0.17	0.53± 0.10	0.73	0.4845
Vitamin E (mg/dL)	0.80± 0.28	0.90± 0.32	0.81± 0.25	0.966	0.3855
Vitamin E İndeksi (µmol/mmol)	22.8± 7.4 c	21.6± 7.7 c	17.5± 6.4	3.22	0.0454

a:ANOVA, gruplar arasındaki farkın anlamlılık düzeyi

b: 2. Grup ile karşılaştırıldığında, (p<0.05) ("post hoc", Duncan testi)

c: 3. Grup ile karşılaştırıldığında (p<0.05) ("post hoc", Duncan testi)

Buna göre ;glukoz değerleri açısından, kadınlarda 1. grup (78.7 ± 9.1 mg/dl)

ile 2. grup (87.2 ± 9.2 mg/dl) ve 3. grup (99.6 ± 32.7 mg/dl) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür ($p<0.05$). Ayrıca 2. grup (87.2 ± 9.2 mg/dl) ve 3. grup (99.6 ± 32.7 mg/dl) arasında da istatistiksel olarak anlamlı artış bulunmuştur ($p<0.05$). Kolesterol düzeylerini incelediğimizde, 1.grup (166.9 ± 23.6 mg/dl) ile 2. ve 3.grup (sırasıyla; 205.0 ± 50.4 mg/dl, 232.6 ± 36.0 mg/dl) arasında istatistiksel olarak anlamlı artış bulunmuştur ($p<0.05$). 2.grup (205.0 ± 50.4 mg/dl) ve 3. grup (232.6 ± 36.0 mg/dl) arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir artış vardır ($p<0.05$). Trigliserid düzeylerinde kadın yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). HDL-kolesterol seviyeleri 1.grup (43.8 ± 9.4 mg/dl) ve 3.grup (50.7 ± 11.7 mg/dl) arasında istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artmıştır ($p<0.05$). 2. grup ile 3.grup (41.2 ± 9.8 mg/dl) arasında da yine anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0.05$). LDL -kolesterol seviyelerinde 1. grup (101.3 ± 24.1 mg/dl) ile 2. grup (137.8 ± 46.8 mg /dl) arasında ve yine 1.grup ile 3.grup (153.6 ± 29.8 mg/dl) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0.05$), ayrıca, 2. grup (137.8 ± 46.8 mg/dl) ile 3. grup (153.6 ± 29.8 mg/dl) arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur ($p<0.05$). VLDL-kolesterol seviyelerinde 1. grup (21.7 ± 7.2 mg/dl) ile 3. grup (28.1 ± 10.5 mg/dl) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0.05$). MDA düzeyleri arasında kadın yaş gruplarında da anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Eritrosit GSH düzeylerinde, 1.grup (71.7 ± 9.5 mg/dl eritrosit) ile 2. ve 3. grup (sırasıyla; 60.0 ± 21.7 mg/dl eritrosit, 47.09 ± 9.7 mg/dl eritrosit) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmüştür($p<0.05$). Ayrıca 2. grup (60.0 ± 21.7 mg /dl eritrosit) ve 3. grup (47.09 ± 9.7 mg /dl eritrosit) arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bulunmuştur ($p<0.05$). Kadınlarda eritrosit Gpx, eritrosit SOD, askorbik asit ve vitamin E düzeyleri açısından yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmamıştır ($p>0.05$). Vitamin E indeksi açısından, 1. ve 2. Grup (sırasıyla; 22.8 ± 7.4 μ mol /mmol, 21.6 ± 7.7 μ mol /mmol) ile 3. grup (17.5 ± 6.4 μ mol /mmol) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış gözlenmiştir ($p<0.05$).

Çalışmaya alınan tüm olguların parametrelerinin yaş ile korelasyonları Pearson korelasyon analizi ile saptanmış ve çizelge 4.6.da gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. Tüm Grupta Çalışılan Parametrelerin Yaş İle Korelasyonları

*Pearson Korelasyon Katsayısı

Yaş-Parametre	r*	p
Glukoz	0.2557	0.001
Kolesterol	0.3640	0.001
Trigliserid	0.0400	0.615
HDL-kol	0.2774	0.001
LDL-kol	0.2912	0.001
VLDL-kol	0.0400	0.615
MDA	0.1578	0.045
Eritrosit GSH	-0.3936	0.001
Eritrosit Gpx	0.1524	0.063
Eritrosit SOD	0.1396	0.105
Askorbik asit	-0.1598	0.044
Vitamin E	-0.0192	0.810
Vitamin E İndeksi	-0.2089	0.009
Sistolik Kan Basıncı	0.4646	0.001
Diastolik Kan Basıncı	0.2577	0.001

Buna göre çıkan sonuçlar şöyledir; yaş ile glukoz (r:0.2557, p:0.001) kolesterol (r: 0.3640, p:0.001), HDL-kol (r:0.2774, p:0.001), LDL-kol (r:0.2912, p:0.001), MDA düzeyi (r:0.1578, p:0.045), sistolik ve diastolik kan basıncı arasında (r:0.4646, p:0.001;r:0.2577, p:0.001), anlamlı pozitif bir korelasyon bulunmuştur . Bu parametreler yaşa bağlı olarak artmaktadır. Eritrosit GSH düzeyi (r:-0.3936, p:0.001) askorbik asit (r:-0.1598, p:0.044) ve vitamin E indeksi (r:-0.0192, p:0.009) ile yaş arasında ise anlamlı negatif korelasyonlar bulunmuştur (p<0.05). Yaş artışı ile bu parametrelerin düzeyleri azalmaktadır. Triglisericid, VLDL-kol, eritrosit SOD ve Gpx

düzeyleri ve vitamin E ile yaş arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır ($p>0.05$).

Çalışılan parametrelerin birbirleri ile ilişkisi Pearson korelasyon analizi uygulanarak incelenmiş, sonuçları çizelge 4.7. ile sunulmuştur.

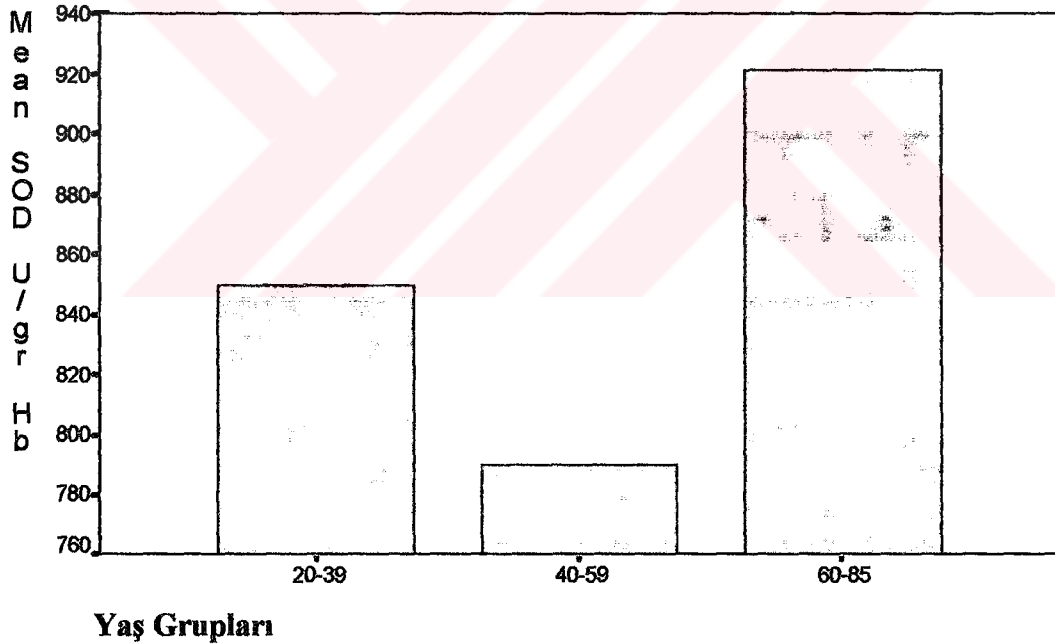
Çizelge 4.7. Tüm Gruplarda Çalışılan Parametrelerin Birbirleri ile Korelasyonları

*Pearson Korelasyon Katsayısı

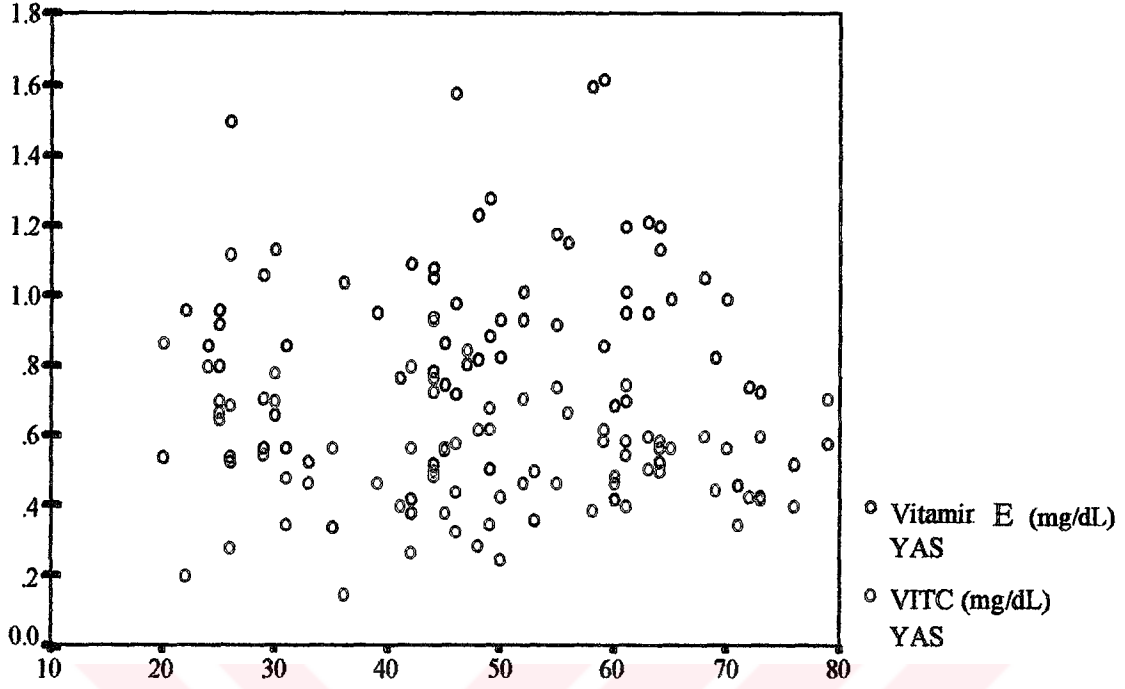
Parametre	r*	p
Glukoz-Kolesterol	0.2266	0.004
Glukoz-Eritrosit GSH	-0.1743	0.032
Kolesterol-Eritrosit Gpx	0.1696	0.038
Kolesterol-Eritrosit GSH	-0.2589	0.001
Kolesterol-LDL- kol	0.9130	0.000
LDL- kol -Vitamin E	0.2118	0.008
MDA-Askorbik asit	0.1792	0.023
VitaminE-MDA	-0.0012	0.988
MDA-Eritrosit Gpx	0.2509	0.002
Eritrosit Gpx-Eritrosit GSH	0.1848	0.027
Eritrosit SOD-Eritrosit Gpx	0.2320	0.009
Eritrosit GSH-Askorbik asit	0.3211	0.001
Askorbik asit -Vitamin E	-0.1365	0.089
Vitamin E-Vitamin E İndeksi	0.7339	0.001
Vitamin E-Kolesterol	0.2676	0.001
Vitamin E-Trigliserid	0.3516	0.001
Vitamin E İndeksi-Trigliserid	-0.1921	0.016
Vitamin E-Eritrosit Gpx	-0.0214	0.798
VitaminE-Eritrosit SOD	-0.0067	0.939

Buna göre sonuçlar şöyledir; glukoz ve kolesterol arasında anlamlı pozitif bir korelasyon bulunmuştur ($p<0.01$). Kolesterol ile eritrosit Gpx düzeyi, LDL-kol ve

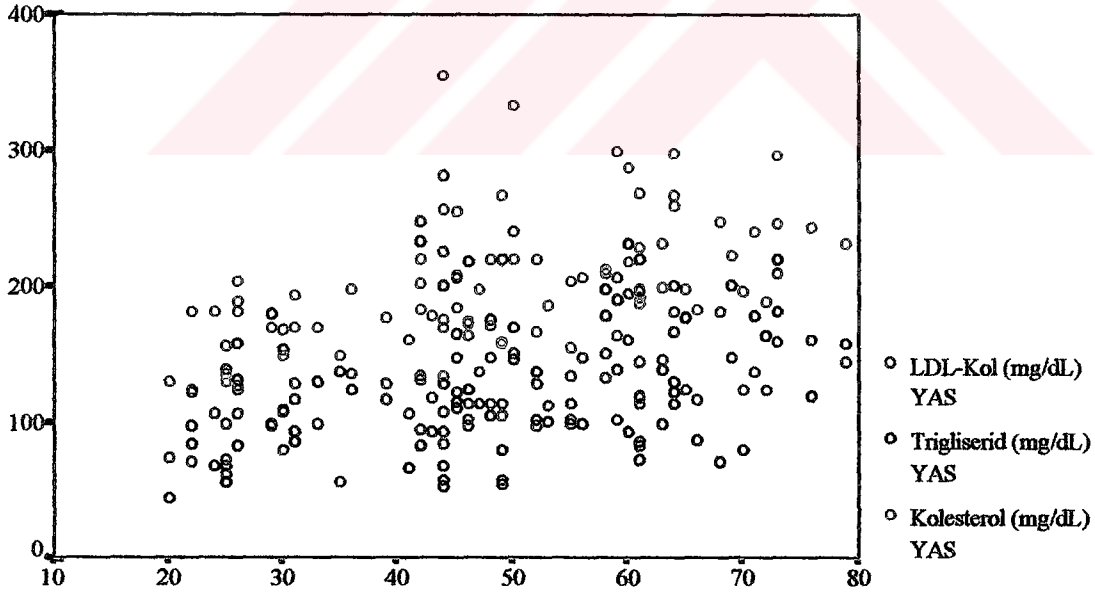
vitamin E arasında pozitif anlamlı korelasyonlar vardır ($p<0.05$, $p<0.01$). Kolesterol ve eritrosit GSH düzeyi arasında korelasyon vardır ve negatif anlamlılık bulunmuştur ($p=0.001$). Vitamin E ile LDL-kol ($p<0.01$), vitamin E indeksi ($p=0.001$) arasında pozitif anlamlı korelasyon vardır. Askorbik asit ile MDA düzeyi ve eritrosit GSH düzeyi arasındaki korelasyonlar pozitif ve anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$, $p:0.001$). Eritrosit GSH düzeyi ile eritrosit Gpx ($p<0.05$), düzeyi arasında anlamlı pozitif bir korelasyon bulunmuştur. MDA ile eritrosit Gpx düzeyleri arasında da pozitif anlamlı bir korelasyon vardır ($p<0.01$). Vitamin E ile trigliserid ve kolesterol arasında da pozitif anlamlı korelasyonlar görülmektedir ($p=0.001$). Gpx, SOD, ve MDA'nın vitamin E ile anlamlı korelasyonları bulunamamıştır ($p>0.05$). Glukoz düzeyi ile eritrosit GSH düzeyi arasında istatistiksel olarak negatif anlamlı bir korelasyon görülmektedir ($p<0.05$). Eritrosit SOD aktivitesi ile Gpx aktivitesi arasında ise pozitif anlamlı bir korelasyon ($p<0.01$) bulunmuştur.



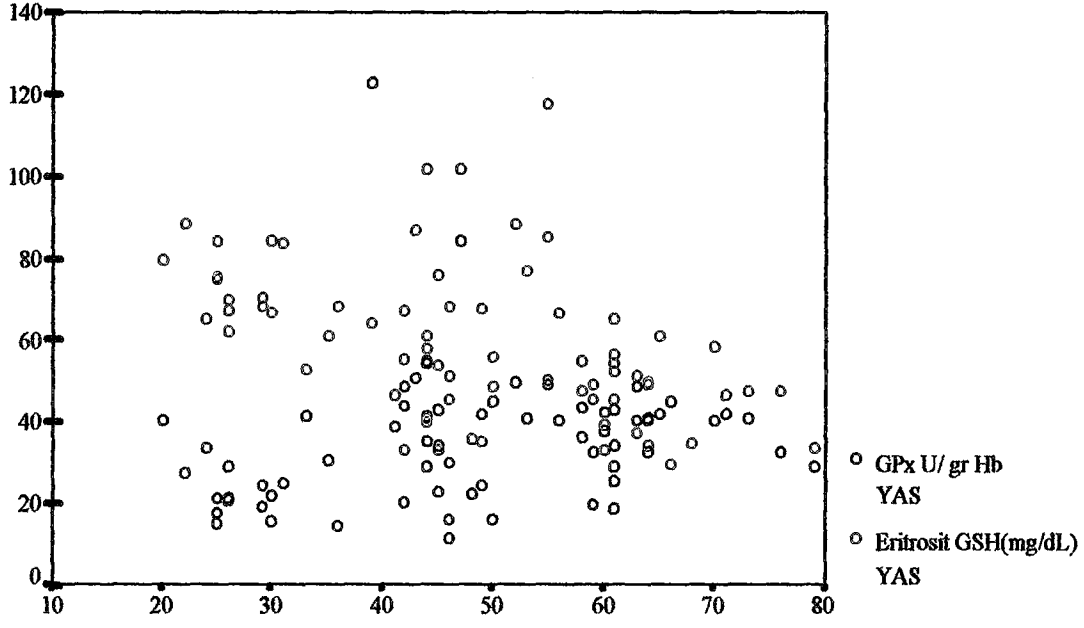
Sekil 4.4. SOD Enziminin Yaş Gruplarına Göre Dağılımı



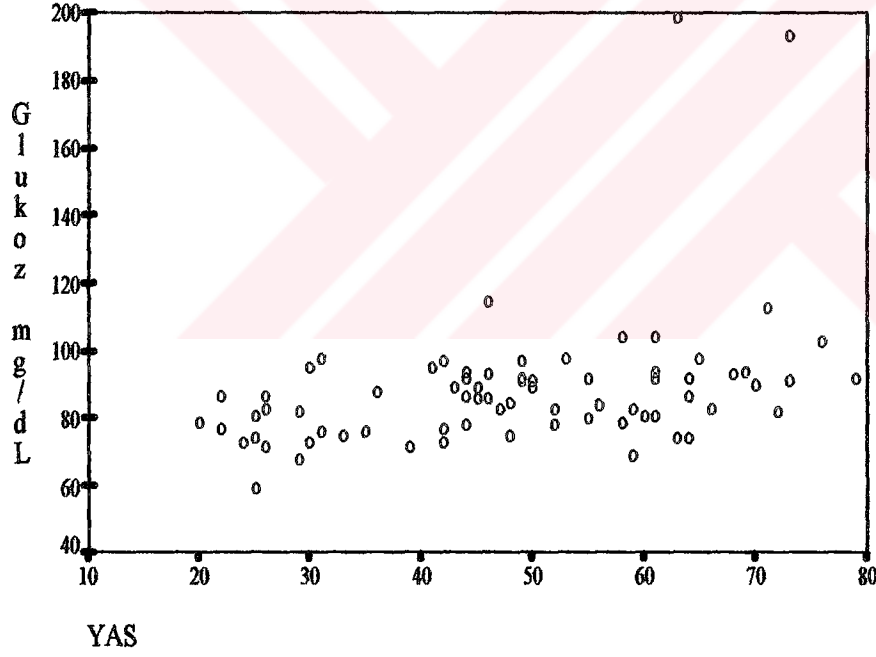
Şekil 4.5. Vitamin E ve Askorbik Asitın Yaşa Bağlı Değişimi



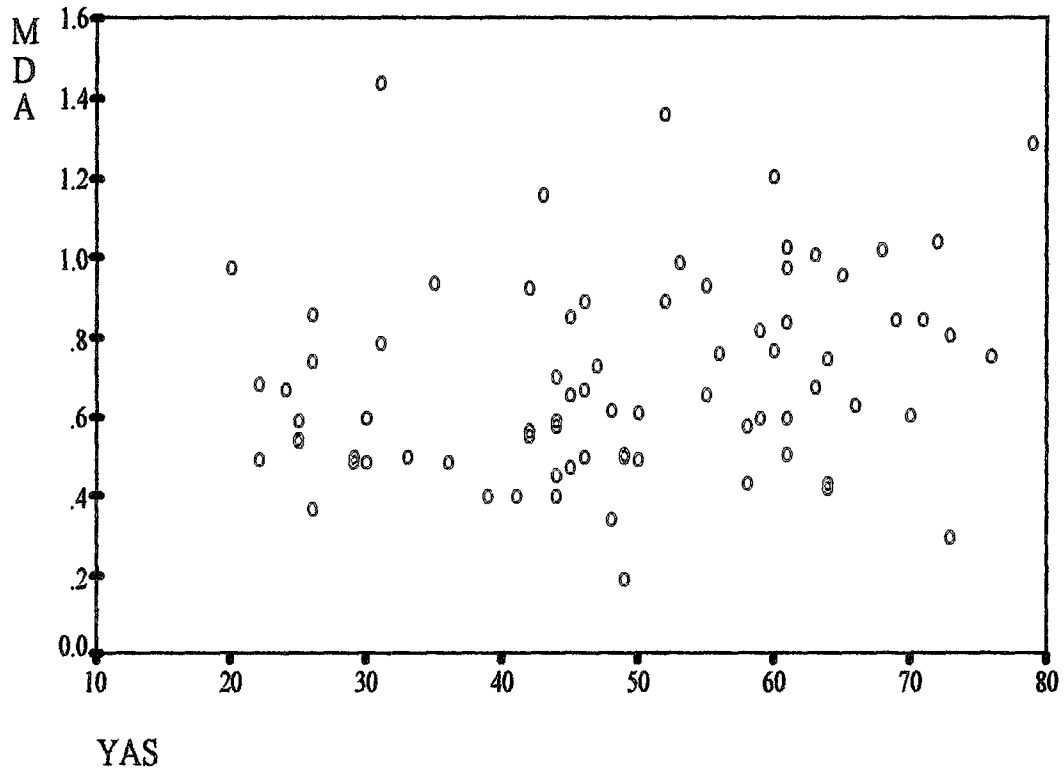
Şekil 4.6. LDL-Kol, Trigliserid ve Kolesterolün Yaşa Bağlı Değişimi



Şekil 4.7. Gpx ve Eritrosit GSH Düzeyinin Yaşa Bağlı Değişimi



Şekil 4.8. Glukoz Düzeylerinin Yaşa Bağlı Değişimi



Şekil 4.9. MDA Düzeyinin Yaşa Bağlı Değişimi

TARTIŞMA

Yaşlanmada günümüze kadar ileri sürülmüş olan birçok teori arasında halen en çok ilgi gören hipotez, yaşlanmadaki serbest radikal hipotezidir (Schafer and Thorling, 1990). Bu bağlamda, serbest radikallerin ve bunlara karşı antioksidan sistemin yaşlı gruplardaki durumu ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır (Sohal et al. 1987; Cutler, 1990). Serbest radikal reaksiyonlarının yaşlanmadaki önemli rolünü destekleyen kanıtlar, en çok Harman tarafından çalışılmış ve bu kanıtlar memelilerde ki ortalama yaşam süresinin bazal metabolizma hızı ile direk ilişkili olduğu, dejeneratif hastalıkların özellikle yaşamın terminal döneminde yer alması, diyetteki kısıtlamaların yaşam süresi üzerindeki olumlu etkileri, kadınların daha uzun yaşam sürelerine sahip olmaları ve de çeşitli otoimmün bozuklukların yaş ile birlikte artış göstermesi şeklinde ortaya konmuştur (Harman, 1981, 1991, 1992a, 1992b, 1992c, 1992d, 1993).

Ayrıca aktif oksijen türlerinin hücresel düzeyde süpürülmesinin, gerek genç gerekse yaşlı erişkinlerde %100 etkin fonksiyon gösteremediği ortaya konulmuştur. Sonuç olarak ta, bu durumun fizyolojik yaşlanmadaki ilerleyici fonksiyon azalmasında etken olabileceği ileri sürülmüştür. Buna ek olarak; bazı araştırmacılar, ileri yaşta dokulardaki total antioksidan kapasitesinin de azaldığını ve bu iki olayın birlikte genç erişkin dönemden yaşlı döneme dek geçen süreçte maksimum fizyolojik kapasiteyi sürekli olarak azaltıcı etki gösterdiğini ortaya koymuşlardır (Cutler, 1984 ;Barja, 1992).

Yaşlı bireylerde, mortaliteye en çok neden olan hastalıkların başında ateroskleroz yer almaktadır. Plazmada lipid fraksiyonlarının artan düzeyleri, özellikle kolesterol ve LDL-kol düzeylerindeki artış ve bununla birlikte HDL-kol'ün azalmış

düzeyleri aterosklerozdaki önemli risk faktörlerini oluşturmaktadır. Her ne kadar aterogenezdaki mekanizma, henüz kesin olarak bilinmemekteyse de, lipoproteinlerin oksidasyonunun önemli rol üstlendiği düşünülmektedir. Özellikle LDL'nin oksidatif modifikasyona en yatkın lipoprotein fraksiyonu oluşu ateroskleroz gelişiminde major riski oluşturmaktadır (Stulnig et al, 1996).

Aterosklerozun klinik bulgularının gözlemlendiği ve gözlenmediği sağlıklı yaşlı olgularda yaşlanma sürecinde bizzat lipoprotein oksidasyonunu artırıcı etkisinin bulunup bulunmadığı çalışılmıştır. Yaşlı olgularda gençlere göre serum total kolesterol ve LDL-kol düzeylerinin ve trigliseridlerin arttığı gösterilmiş ancak HDL-kol düzeylerinde değişiklik gözlenmemiştir. Aynı araştırmacılar, genç ve yaşlı bireylerde okside LDL düzeylerini de çalışmışlar ve LDL oksidasyonunun ateroskleroz patogenezinde katkıda bulunduğunu; ayrıca da Okside LDL'nin bu etkisinden bağımsız olarak serbest radikallerin reaksiyonlarını artırıcı ve dolayısıyla hücre hasarı uyarıcı etkisiyle yaşlanma sürecine katılımında bulunduğunu göstermişlerdir (Stulnig et al. 1996; Mehmetçik et al. 1997).

Çalışmamızda lipid sonuçları açısından tüm grupta ve cinsiyete bağlı olarak incelenen yaş gruplarında çelişkili sonuçlar bulunmuştur. Diğer bazı araştırmacılarla uyumlu olarak (Hallfrisch et al. 1994), total kolesterol, LDL-kol, HDL-kol düzeylerinin yaşa bağlı olarak yükseldiği gösterilmiştir. Plazma total kolesterol düzeyleri, 2.yaş grubu olan orta yaş grubunda (40-59 yaş) ve de en yaşlı grup olan 3.grupta (60-79↑yaş), genç yaş grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik göstermektedir ($p<0.05$). Bununla birlikte kolesterol ve glukoz arasında da pozitif istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmuştur ($r:0.2266$, $p<0.01$). Kolesterol ve glukoz arasındaki ilişki kolesterol ile kan basıncı ve kardiyovasküler hastalıklar arasındaki ilişkiye benzerlik gösterdiği diğer araştırmacılar tarafından da ortaya konmuştur (Gerstein, 1997; Paolisso et al. 1997; Cefalu et al. 1998). LDL-kol düzeyleri açısından da yaşlı grup orta yaşta ve genç yaşta gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik göstermiştir ($p<0.05$). Trigliserid ve VLDL-kol düzeyleri ise orta yaş grubunda genç yaş grubuna göre artış gösterirken 60-79↑yaş grubu olan en yaşlı grupta düşüş göstermektedir ($p<0.05$). HDL-kol düzeyleri, Stulnig ve

arkadaşları (Stulnig et al. 1996) ile çelişkili olarak, orta yaş grubunda genç yaş grubuna göre düşüş gösterirken en yaşlı grup olan 60-79↑yaş grubunda orta yaş grubuna göre tekrar bir yükselme göstermektedir ($p<0.05$). Ayrıca lipid fraksiyonlarından LDL-kol, HDL-kol ve kolesterol yaş ile pozitif anlamlı korelasyonlar gösterirken (sırasıyla; $r:0.2912$, $p:0.001$; $r:0.2774$, $p:0.001$) trigliserid ve VLDL-kol ile yaş arasında anlamlı korelasyonlar bulunamamıştır ($r:0.04$, $p>0.05$).

100 yaş ve üzerindeki bireylerde yapılan çalışmalarda, diğer yaşlı olgulara göre bu bireylerin daha düşük aterojenik plazma lipid ve lipoprotein profiline sahip oldukları bulunmuştur (Paolisso et al. 1997). Çalışma grubumuzda da HDL-kol'de 3.yaş grubunda tekrar bir artış gözlenmiştir. Bu gruptaki HDL-kol düzeyinin yüksek oluşunun sebeplerini daha iyi ve net ortaya çıkarmak için olguların yaşı ve sayısı yükseltilecek, kendi aralarında yapılacak karşılaştırmaların sağlıklı ve anlamlı sonuçlar verebileceği düşünülmektedir (Barbagallo et al. 1998). Öte yandan çalışmamızda trigliserid ve VLDL-kolesterol düzeyleri açısından yaşlı grupla genç grup arasında anlamlı azalma şeklinde önemli farklılıklar gözlenmiştir ($p<0.05$). HDL-kol, trigliserid ve VLDL-kol açısından yaşlı grubumuzda gözlenen bu durum, bir anlamda 60-79↑yaş grubunda lipid düzeylerine bağlı riskin azaldığını gösterirken, aterogeneizde önemli rol üstlenen kolesterol ve LDL-kol'ün aynı grupta en yüksek seyretmesi artan yaş ile birlikte lipid profilinde bozuklukların olduğunu daha çok düşündürmektedir.

Erkeklerde, yaş grupları arasında lipid fraksiyonlarının karşılaştırılması açısından bakıldığında ise; total kolesterol orta yaş grubunda, genç yaş grubuna göre anlamlı bir istatistiksel artış gösterirken ($p<0.05$) en yaşlı erkek grubunda diğer 2 gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). LDL-kol düzeyleri ise erkeklerde farklı yaş grupları arasında anlamlı bir değişiklik göstermemiştir ($p>0.05$). Trigliserid ve VLDL-kol tüm grupta olduğu gibi orta yaş grubunda genç yaş grubuna göre artış göstermekte ($p<0.05$), en yaşlı grupta tekrar düşmektedir ($p<0.05$). Erkeklerde HDL düzeyleri, genç ve orta yaş gruplarında sabit kalırken, yaşlı grupta diğer iki grup ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0.05$).

Kadınlarda kolesterol ve LDL-kol düzeyleri, tüm grupta olduğu gibi, en yaşlı grupta diğer iki gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0.05$). Erkek ve kadın grupları arasında kolesterol ve LDL-kol açısından gözlenen bu farkın nedeni 3.grupta postmenapozal dönemde olan kadınların yer alması olabilir. Ayrıca kadınlarda erkeklerden farklı olarak trigliserid ve VLDL-kol düzeyleri, en yaşlı ve en genç grup arasında bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermektedir ($p<0.05$). Kadın yaş gruplarının HDL-kol düzeyleri de, erkeklerde olduğu gibi genç ve orta yaş grubunda sabit kalırken 3.grup olan en yaşlı grupta diğer iki gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermektedir ($p<0.05$).

Yaşlanma ile paralel olarak glukoz düzeylerinde yükselme görülmektedir. İnsülin rezistansı, bozulmuş glukoz toleransı, abdominal yağ dokusu oluşumları yaş artışı ile birlikte görülmekte ve glukoz düzeylerinin yükselmesine neden olmaktadır (Cefalu et al. 1997). Bu bilgiler paralelinde, çalışmamızda da yaş ile glukoz arasında pozitif istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmuştur ($r:0.2557$, $p:0.001$).

Yaşlanmada arter plazma lipidlerinin ve özellikle LDL-kol'ün lipid peroksidasyonuna yoğun PUFA içeriği nedeniyle yatkınlığı çeşitli araştırmacılar tarafından da gösterilmiştir (Mehmetçik ve ark. 1997; Shafer and Thorling, 1990). Lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA düzeylerinin insanlarda yaşlanma ile artış gösterdiği (Shafer and Thorling, 1990) ya da değişiklik göstermediği, sabit kaldığı gibi bulgular (Sohal, 1993; Mehmetçik ve ark. 1997) literatürde mevcuttur.

Bu çalışmada lipid peroksidasyon ürünü olan MDA düzeyleri, tüm çalışma grubunda, ve kadın ile erkek yaş gruplarında karşılaştırıldığında genç, orta yaş ve yaşlı gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$). Bununla birlikte yaş ile MDA düzeyleri arasında pozitif anlamlı bir korelasyon vardır ($r:0.1578$, $p<0.05$). Çizelge 4.6. ve şekil 4.9. da görüldüğü gibi artan yaş ile birlikte MDA düzeyleri de artmaktadır. Ancak bu artış gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir ($p>0.05$). Bunun olası bir nedeni lipid peroksidasyon indeksinin bir ölçütü olan MDA düzeyleri; tek başına oksidatif stresin bir göstergesi olmak için yetersiz kalmaktadır. Ayrıca TBARS yöntemi sensitivitesi yüksek olmakla birlikte

spesifitesi düşük bir yöntem olup, plazmada 3 farklı grup bileşiğe özgüllük gösterebilir. Birincisi zaten plazmada varolan malodialdehitdir, ikincisi tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girerek TBARS adı verilen yapıyı oluşturanlar, üçüncüsü ise tiyobarbitürik asit çalışmasını interfere eden biyolojik maddeler ve ksenobiyotiklerdir (Lefevre et al. 1996). Sonuçlarımız MDA düzeyleri açısından, Schafer ve Throling 'in sonuçları ile uyumluluk göstermektedir. MDA'da yaş grupları arasında farklılık gözlenmemesinin bir nedeni plazmadaki lipid peroksitlerin düzeylerinin, olasılıkla kendilerinin okside olmamış prekürsörleri ile bir denge halinde bulunması şeklinde açıklanabilir.

Serbest radikallerin yaşlılıkta hücre dejenerasyonu üzerindeki etkileri gerçekte organizmada serbest radikallerin oluşumu ile hücre içi ve hücre dışı antioksidan savunma sistemleri arasındaki bozukluğuna bağlı olarak düşünülebilir(Remacle et al. 1992).

Yaşlanma etiopatogenezinde antioksidan sistemin rolü bir çok boyutu ile araştırılmış ve farklı araştırmacılar tarafından farklı sonuçlara varılmıştır. Hücre içi antioksidan sistemin bileşenlerinden olan SOD, Gpx, katalaz gibi enzimler ve de GSH molekülünün gerek hayvan gerekse insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda yaşa bağlı değişiklikleri incelenmiştir. Bu çalışmaların sonuçlarına göre Gpx'in yaşlanmada en az değişiklik gösterdiği ileri sürülmüştür (Artur et al. 1992).

Farklı hayvan türlerinde O_2^- ve H_2O_2 tutucu sistemler eritrositlerde çalışıldığında, SOD enziminin O_2^- tutucu bir enzim olarak oksidatif stres söz konusu olduğunda, yüksek derecede indüklenebildiği ve dolayısıyla yaşlanmada ROT'ne (reaktif oksijen türleri) karşı bir yanıt gösterme eğiliminde olduğu ve bu nedenle SOD düzeylerinde artma beklendiği öne sürülmüştür. Öte yandan H_2O_2 tutucu sistemlerin ise (katalaz, Gpx gibi) bir çok canlı türlerinde normal koşullarda da yaygın olarak önemli miktarlarda bulunduğu ve dolayısı ile ROT (Reaktif Oksijen Türleri) indüksiyonundan SOD gibi etkilenmediğini savunmuşlardır (Niwa et al. 1993).

Çalışmamızda yaş ile SOD arasında anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır. SOD enziminin yaş grupları ile ilgili grafiği Şekil 4.5. ile gösterilmiştir. SOD enzimi

2.yaş grubuna göre 3.yaş grubunda önemli ölçüde artış göstermektedir ($p<0.05$). En yüksek SOD düzeyi 3. grup olan en yaşlı grupta bulunmuştur. Aynı şekilde MDA düzeyi açısından da yine en yüksek değer bu grupta bulunmuştur. Lipid peroksidasyon indeksi olan MDA'nın yüksekliği oksidatif stresi artırması yönünde SOD aktivitesini indüklemiş olabilir (Niwa et al. 1993).

SOD enziminin H_2O_2 ile reaksiyona girmesi ile açığa çıkan superoksit anyonunun suya çevrilmesinde görevli antioksidan bir enzim olan Gpx düzeylerinde yaş ile yükselme bulunamamıştır (Artur et al.1992; Andersen et al. 1997). Bu çalışmada da yaş ile Gpx aktivitesi açısından anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır ($r: 0.1524$, $p>0.05$). Gpx aktivitesinin, SOD gibi oksidatif stresle indüklenip artmamasının sebebi olarak, radikallerle ilk etkileşen enzim olmaması ve ortaya çıkan süperoksit radikalının suya çevriminde sadece kendisinin değil katalazın da aynı fonksiyona sahip olması gösterilebilir. Rémacle ve arkadaşlarının yaşlanmada SOD, katalaz ve Gpx aktiviteleri üzerinde yaptıkları çalışma da, bu çalışmada çıkmış olan sonuçları destekler niteliktedir (Rémacle et al. 1992).

GSH, antioksidan bir molekül olarak serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı iyi bir koruyucudur (Vina et al. 1992). GSH özellikle redükte GSH, Gpx enziminin etkisini gösterebilmesi için önemli bir moleküldür (Ursini et al. 1985; Rémacle et al. 1992). Yaşa bağlı olarak dikkate değer bir düşüş gösteren antioksidan olma özelliğindedir (Lang, 1992). Bu çalışmada da yaş ile istatistiksel olarak negatif anlamlı bir korelasyon göstermiştir ($r:-0.3936$, $p<0.05$). GSH'un yaş artışına bağlı değişimi Şekil 4.8. ile gösterilmiştir. Çalışmamızın en yaşlı grubunda (60-79↑yaş), en genç grup ile orta yaş grubuna göre GSH düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş görülmektedir ($p<0.05$). Bunun nedeni ekstrasellüler ortama verilen glutatyonun artması ve dolayısıyla GSH'ın tekrar redükte haline döndürülememesidir. Ayrıca GSH düzeyi aynı yaş grubundaki kadınlarda erkeklere göre daha yüksek bulunmuştur.

Zincir kırıcı özelliğe sahip olan ve yağda çözünen bir antioksidan olan vitamin E düzeylerinin, yapılan çalışmada yaşa ile istatistiksel açıdan anlamlı bir korelasyonu bulunamamıştır ($r:-0.0192$, $p:0.810$). Vitamin E düzeylerinin daha iyi değerlendirilmesinde geçerli bir indeks olan vitamin E indeksi ise istatistiksel olarak

yaş ile korelasyonunda negatif bir korelasyon göstermektedir ($r:-0.2089$, $p:0.009$). 3 yaş grubu içinde en düşük vitamin E düzeyi, en yaşlı grupta saptanmıştır ($p<0.05$). Bu sonuçlar diğer araştırmacıların bulguları ile de benzerdir (Panemangalore and Lee, 1992).

Bazı araştırmacıların sonucuna göre ise yaşlılık ile birlikte vitamin E düzeyinde artış söz konusudur (Vandewoude and Vandewoude, 1987; Simonoff et al. 1992). Fakat bu çalışmada en yaşlı gruptaki vitamin E düşüklüğü, yine aynı grubun askorbik asit düzeyinin 3 grup içindeki en düşük değerde olmasına bağlanabilir. Vitamin E ile askorbik asit arasındaki sinerjistik ilişkinin varlığı bu düşüklüğün bir sebebi olabilir (Aragon et al. 1995). Çünkü serbest radikallerle karşılaşarak prooksidana dönen, vitamin E'yi tekrar antioksidana askorbik asit çevirmektedir. Bu nedenle askorbik asitin yetersizliği ve lipid peroksidasyon hızının yüksekliği vitamin E'nin tekrar antioksidan görevinin engellenmesine böylelikle de vitamin E düzeyinde bir düşüşe sebep olabilmektedir.

Vitamin E ile yaş arasındaki ilişki şekil 4.6.da gösterilmiştir. Erkeklerde vitamin E düzeyi yaşlı grupta orta yaş grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma göstermektedir ($p<0.05$). Bunun bir nedeni olarak LDL-kol düşünülebilir. Çünkü vitamin E bu lipoprotein aracılığında dolaşımda taşınmaktadır (Battisti et al. 1994) Yine en yüksek LDL-kol düzeyi de orta yaş grubunda bulunmuştur. Kadınlar arasında vitamin E düzeyleri açısından anlamlı istatistiksel bir fark bulunamamış ($p>0.05$) fakat en yüksek düzey orta yaş grubunda saptanmıştır.

Çok güçlü bir antioksidan olan askorbik asit suda çözünen bir vitamindir (Kaplan and Pesce, 1996). Bundan dolayı etkisini serbest radikallerin lipidlere saldırmasından önce göstermektedir (Frei, 1991). Böylece lipid peroksidasyonun başlamasını yavaşlatmaktadır. Bu çalışmada yaşa bağlı olarak askorbik asit ile istatistiksel olarak anlamlı negatif bir korelasyon bulunmuştur ($r:-0.1598$, $p:0.044$). Askorbik asit ile vitamin E arasında da negatif bir korelasyon vardır. Fakat istatistiksel olarak anlamlı değildir ($r:-0.1365$, $p:0.089$). Vitamin E'nin düzeyi ne kadar yüksek olursa askorbik asitin düzeyi de bununla orantılı olarak düşmektedir (Aragon et al.

1995). Askorbik asitin azalma hızı vitamin E varlığında artmakta, yokluğunda da azalmaktadır (Niki, 1991). Vitamin E ile askorbik asit arasında bir anlamlılık bulamayışımızın nedeni, daha az sensitif olan spektrofotometrik tekniği kullanmamız ve aralarındaki korelasyonu iyi ortaya çıkarabilecek olan kromatografik veya florometrik teknikleri kullanamayışımızdan kaynaklanmış olabilir.

Çalışılan parametrelerin yaş ve cinsiyet ile ilişkileri yanında birbirleri ile olan etkileşimlerine de bakmak yararlı olacaktır. Eritrosit glutatyon düzeyi ile plazma total kolesterolü arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif bir korelasyon vardır ($r:-0.2589$, $p:0.001$). Lipid peroksidasyonundan etkilenebilen kolesterol esterlerinin artışına bağlı olarak hücre içi antioksidan tüketiminin artmasından dolayı GSH düzeylerinin yaş artışı ile birlikte giderek azaldığı düşünülebilir ($r:-0.2589$, $p:0.001$). MDA düzeyi ile askorbik asit arasında pozitif ve istatistiksel olarak ta anlamlı bir korelasyon bulunmuştur ($r: 0.1792$, $p:0.023$). Ayrıca eritrosit Gpx ve eritrosit SOD aktivitesi arasında istatistiksel olarak pozitif anlamlı bir korelasyon vardır. Bu iki enzimin ardışık görev yapıyor olmaları nedeniyle pozitif bir korelasyon göstermeleri literatür açısından da paralellik göstermektedir (Remacle et al. 1992; Guémouri et al. 1991a; Perrin et al. 1990) Fakat bazı araştırmacılar da negatif korelasyon bulmuşlardır (Joswiakand Josnawska, 1985). Vitamin E ile kolesterol arasında pozitif ve istatistiksel olarak ta anlamlı bir korelasyon bulunmuştur ($r: 0.2676$, $p:0.001$). Glukoz ile kolesterol arasında pozitif ve istatistiksel olarak ta anlamlı bir korelasyon bulunmuştur ($r:0.2266$, $p:0.004$). Yapılan çalışmalarda da yaşlılık ile vücut kitle indeksinin arttığı bununla birlikte hem glukoz düzeylerinin hemde plazma lipid düzeylerinin yükseldiği dolayısıyla aralarında pozitif korelasyonlar bulunduğu saptanmıştır (Paolisso et al. 1997; Cefalu et al. 1998).

SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Yaşlanma, kendi doğal süreci içinde meydana gelirken, çevresel faktörlerin ve genetik faktörlerin de etkisi ile kişiden kişiye farklılık göstermektedir.

Bu çalışmada yaşlılığın oluşumu ile antioksidan enzimlerin, plazma lipid düzeylerinin ve lipid peroksidasyonunun nasıl değiştiği ortaya konulmaya çalışıldı. Antioksidan enzimlerin yaş ile birlikte aktivitelerindeki azalma ve dolayısıyla yaşlanmanın daha hızlı oluşumu kaçınılmaz bir sonucu oluşturmaktadır. Fakat azalan antioksidanların yerine konulmasının bu süreci yavaşlatabileceği düşünülebilir. Askorbik asit ile vitamin E'nin sinerjistik etkilerinden dolayı özellikle yaşlılıkta askorbik asit alınımı daha yararlı olabilir. Çünkü vitamin E düzeyindeki artış, ters orantılı olarak askorbik asit düzeyinde çok hızlı azalmalara sebep olmaktadır. Çalışmamızda antioksidan bir vitamin olan vitamin E ile birlikte vitamin E indeksinin kullanımının daha güvenilir sonuçlar verdiği gösterilmiştir. Antioksidan vitaminlerin yaşlanmadaki önemini daha iyi ortaya koyabilmek için yaşlı grupta vitamin kullanımı sonrası oksidan/antioksidan dengesini araştırmak yararlı olacaktır.

Yaşlanma ile birlikte GSH seviyeleri istatistiksel olarak ta anlamlı ($p < 0.05$) bir şekilde düşme eğilimi göstermektedir. Literatürdeki bilgilere göre bu antioksidanların düzeyindeki düşüş yaş ile Gpx enziminin aktivitesindeki azalmaya bağlanmaktadır. Fakat sadece Gpx aktivitesindeki azalmanın GSH düzeyindeki düşüşün nedeni olduğunu düşünmek yeterli olmayabilir. Yaşlılık ile birlikte Gpx enziminin kullandığı redükte GSH yerine, ekstrasellüler alanda okside GSH bulunmaktadır. Glutatyon karaciğer orijinli olarak okside olduktan sonra hücre dışına verilmekte ve hücre dışı okside GSH düzeyi yükselmektedir. Dolayısıyla Glutatyon redüktaz ve transferaz enzimlerinin de aktivitelerine bakmak GSH düzeyindeki azalmanın daha net ve sağlıklı ortaya çıkarılmasına yarayabilir. Sonuç olarak sadece Gpx aktivitesi ya da GSH düzeyine hatta ikisine birden bile bakmak yerine okside glutatyon redükte

glutatyon dönüşümüne katılan tüm enzim ve moleküllere global bir şekilde bakmak yararlı olacaktır.

Lipidlerin ileri yaş grubunda çelişkili sonuçlar vermesi nedeniyle, bu konunun ileriye dönük daha yaşlı gruplarda lipoprotein alt gruplarının (özellikle HDL) ve birlikte okside LDL'nin de çalıştırılması ile açıklık kazanacağı düşüncesindeyiz.

Özellikle en yaşlı gruptaki kadınlarda lipid düzeylerinin yüksek oluşu menapoz sonrasında oksidatif strese çok duyarlı olabileceklerini düşündürmektedir. Yeterli düzeyde antioksidan alımı bu grupta oksidatif strese karşı bir önlem olabilir.

Lipid peroksidasyon indeksinin bir göstergesi olan TBARS yöntemi ile MDA düzeyi ölçümü, sensitivitesi yüksek ve spesifitesi düşük bir test olması nedeniyle çok gerçekçi sonuçlar elde edilmesine olanak sağlayamamaktadır. Bu nedenle daha iyi ve sağlıklı sonuçların alınabilmesi için hidroksononal (HNE), konjuge dienler gibi oksidan stresle ilgili daha duyarlı ölçümlerin yapılması yaşlanmada serbest radikal teorisini daha iyi açıklamaya yardımcı olacaktır.

Sonuç olarak yaşlılığın meydana gelmesinde serbest radikallerin ve etkilerinin rolünün daha geniş gruplarda ve farklı serbest radikal testleri ile (konjuge dien, süperoksit, nitrit düzeyleri gibi) çalışılması yaşlanmada serbest radikal teorisine açıklık getirebilir. SOD enziminin artmış aktivitesi ve vitamin E düzeylerinin düşüşünün dolaylı olarak oksidatif stresin bir göstergesi olduğu düşünülürse, lipidler, lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzimler arasındaki ilişkilerin yaşlılık süreci içinde daha iyi ve açık ortaya konulması yaşlılık sürecinin uzatılmasına ya da hızının azaltılmasına sebep olabilecektir.

Uzun ve yaşlı yaşamak yerine, uzun ve genç yaşamak ta bu mekanizmaların moleküler düzeyde açığa çıkartılması ile mümkün olabilir.

KAYNAKLAR

- ANDERSEN, H.B., NIELSEN, J.B., NIELSEN, F., GRANDJEAN, P., (1997). Antioxidative enzyme activities in human erythrocytes. *Clinical Chemistry*. 43(4): 562-568.
- ANDERSON, S. C., COCKAYNE, S. (1993). Geriatric laboratory assessment in: *Clinical Chemistry Concepts and Applications*. Philadelphia: W. B. SAUNDERS COMPANY p: 674-675.
- AYDIN, A., SAYAL, A., İŞİMER, A., (1997). Oksijen radikalleri ve biyolojik sistemlerdeki rolü. *GATA Bülteni*. 39: 270-274.
- BANKS, M.A., BERLİN, E., JOHNSON, W.A., PETERS, R.C., (1996). Vitamin E levels and susceptibility to lipid peroxidation increase with aging in heart plasma membrane from miniature swine. *Journal of Gerontology: Biological Sciences*. 51A(6): B409-B416.
- BATTISTI, C., DOTTI, M.M., MANNESCHI, L., FEDERICO, A. (1994). Increase of serum levels of vitamin e during human aging: Is it a protective factor against death? *Arch. Gerontol. Geriatr*. 4:13-18.
- BEUTLER, E., DURON, O., KELLY, B.M., (5 February 1963). Improved method for the determination of blood glutathione. *J. Lab. Clin. Med.* 61 (5); 882-888.
- BROSCHÉ, T., PLATT, D., (1987). Impaired glucose tolerance and plasma levels of vitamin e In geriatric subject. *Nutrition Reports International*. 35 (3): 575-582.
- BLUM, J., FRIDOVICH, I., (1985). Inactivation of glutathione peroxidase by superoxide radical. *Archives of biochemistry and biophysics* 240 (2) : 500-508.
- BLUMBERG, J., (1995). The requirement for vitamins in aging and age-associated degenerative conditions. *Vitamins and Aging* 52:108-115.
- BURTIS, A. C., ASHWOOD E. R. (1994). Determination of erythrocyte glutathione concentration in: *Tietz Text Book of Clinical Chemistry 2nd Edition*. Philadelphia: W. B. SAUNDERS COMPANY p: 1990-1991.
- BURTIS, A. C., ASHWOOD E. R. (1994). Methods for the determination of ascorbic acid in: *Tietz Text Book of Clinical Chemistry 2nd Edition*. Philadelphia: W. B. SAUNDERS COMPANY p: 1313-1316.
- CALS, M. J., SUCCARI, M., MENEGUZZER, E., PONTEZIERE, C., BORIES, P.N., DEVANLEY, M., DESVEAUX, N., GATEY, M., LUCIANI, L., BLONDE-CYDBER, C., COUDRAY-LUCAS, C., (1997). Markers of oxidative stress in fit, health-conscious elderly people living in the Paris area. *Nutrition* 13:319-326.
- CAO, G., ALESSIO, H.M., and GUTLER, R.G., (1993). Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay For Antioxidants. *Free Radical Biology & Medicine*. 14: 303-311
- CEFALU, W. T., WERBEL, S., BELL-FARROW, A. D., TERRY, J. G., WANG, Z. Q., OPARA, E. C., MORGAN, T., HINSON, W. H., CROUSE, J. R. 3RD. (1998). Insulin resistance and fat patterning with aging; relationship to metabolic risk factors for cardiovascular disease. *Metabolism* 47(4):401-408.

- CRISTIANO, F., HAAN, J. B., IANELLO, R. C., KOLA, I., (1995). Changes in the levels of enzymes which modulate the antioxidant balance occur during aging and correlate with cellular damage. *Mechanisms of Ageing and Development*. 80:93-105.
- CLARK, G. M., EISEMANN, B., (1958). Studies in ammonia metabolism IV. biochemical changes in brain tissue of during ammonia-induced coma. *N Eng. J. Med.*, 259:178-180.
- CUTLER, R. G. (1991). Antioxidants and aging . *Am J Clin Nutr* 53:373-379.
- DAVIDGE, S.T., HUBEL, C.A., BRAYDEN, R.D., CAPELESS, E. C., MCLAUGHIN, M. K. (1992). Sera antioxidant activity in uncomplicated and preeclamptic pregnancies. *Obstetrics and Gynecology*. 79(6): 897-901.
- EMERSON, P.M., MASON, D.Y., CUTHBERT, J.E., (1972). Erythrocyte glutathione peroxidase content and serum tocopherol levels in newborn infants. *British Journal of Haematology*. 22: 667-680
- ESTERBOUER, H., CHEESEMAN, K. H., (1990). Determination of aldehydic lipid peroxidation products: Malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Meth. Enzymol.* , 186:407-418.
- FADİLOĞLU, Ç. (1992). Huzurevinde yaşayan yaşlıların günlük yaşam aktiviteleri ve sağlık durumlarının incelenmesi: *Sağlıklı Yaşlanma Sempozyum Kitabı*. Hacettepe Üni. Hemşirelik Yüksek Okulu. pp:139-147.
- FREİ, B. (1991) Ascorbic acid protects lipids in human plasma and low density lipoprotein against oxidative disease. *Amj Clin Nutr*. 54; 1113 S-18 S
- FRENKEL K., (1992). Carcinogen-mediated oxidant formation and oxidative DNA damage. *Pharmac Ther* 53:127-66
- GERSTEIN, H.,C. (1997). Glucose: a continuous risk factor for cardiovascular disease. *Diabet Med*. 14(3): 25-31.
- GUTTERRIDGE, J.M.C., HALLIWELL, B., (APRİL 1990). The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *TIBS*. 126-135
- HABİF, S., MUTAF, I., TURGAN, N., BAYINDIR, O. (1994). Age and hypertension related changes in plasma Cu, Zn superoxide dismutase activities. *Balkan Journal of Clinical Laboratory*. 26-29
- HARMAN, D., (November 1981) The aging process. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 78 (11): 7124-7128
- HARMAN, D., (1992) Free Radical theory of aging. *Mutation Research*. 275; 257-266
- HARMAN, D. (1992). Role of free radicals in aging and disease. *Ann. Newyork Acad. Sciences*. 673:126-141.
- HARMAN; D. (1992). Free radicals theory of aging; history. *Free Radicals and Aging*. 1-10.
- HARMAN, D., (1993). Free radical involvement in aging pathophysiology and therapeutic implications. *Drugs & Aging*. 3 (1): 60-80

- HALLFRISCH, J., SINGH, V.N., MULLER, D.C., BALDWIN, H., BANNON, M.E., ANDRES, R., (1994). High plasma vitamin c associated with high plasma HDL and HDL2 cholesterol1,2 *Am J Clin Nutr.* 60: 100-105
- HALLIWELL, B., GUTTERIDGE J. M. C., (1990). The antioxidants of human extracellular fluids. *Archives of Biochemistry and Biophysics.*, 280 (1):1-8.
- HALLIWELL, B., GUTTERIDGE J. M. C., (1984). Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage and antioxidant therapy. *The Lancet.* 1396:1397.
- HAYIRLIOĞLU. Ş., (1993). İskemik ve kapak kökenli konjestif kalp yetmezliklerinde lipid peroksidasyonu indeksi olarak MDA düzeyleri. (*Uzmanlık Tezi*).T.C Sağlık Bakanlığı Ankara Numune Hastanesi
- INDER, T.E., GRAHAM, P., SANDERSON, K., TAYLOR, B.J. (1994) Lipid peroxidation as a measure of oxygen free radical damage in the very low birthweight infant. *Archives of Disease in Childhood.* 70: 107-111
- JACOBSON, B., QUIGLEY, L. G., LOCKITCH, G., (1988). Adaptation of glutathione peroxidase assay to the technicon RA-1000. *Clin. Chem.*, 34: 2164-2165.
- JIALAC, I. AND GRUNDY, S.M. Influence of Antioxidant Vitamin on LDL Oxidation. *Annals New York Academy of Sciences*
- KAY, M. M. B., BOSMAN, G. J. G. M., SHAPIRO, S. S., BENDICH, A., BASSEL, P. S., (1986). Oxidation as a possible mechanism of cellular aging; vitamin E deficiency causes premature aging and IgG binding to erythrocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 83:2463-3467.
- KELLOGG, E. W., FRIDOVICH, I. (1997). Liposome oxidation and erythrocyte lysis by enzymically generated superoxide and hydrogen peroxide. *The Journal of Biological Chemistry.* 252(19): 6721-6728.
- KNIGHT, J. A., VOORHES, R. P., MARTIN, L., ANSTALL, H. (1992). Lipid peroxidation in stored red cells. *Transfusion* 32(4):354-357.
- LANG, C.A., NARYSHKIN, S., SCHNEIDER, D.L., MILLS, B.J., LINDEMAN, R. D. (1992). Low blood glutathione levels in health ageing adults. *J.Lab. Clin. Med.* 120 (5): 720-25
- LEE, W., DAVIS, K.A., RETTMER, R.L., LABBE, R.F. (1988). Ascorbic acid status: biochemical and clinical considerations. *Am J Clin Nutr.* 48: 286-290
- LEFEVRE, G., BONNEAU, C., RAHMA, S., CHANU, B., BRAULT, D., COUDERC, R., ETIENNE, J. (1996) Determination of Plasma Protein-Bound Malondialdehyde by derivative spectrophotometry. *Eur j Clin Biochem.* 34:631-636
- LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L., COX, M. M., (1993) Lipid biosynthesis in: *Principles of Biochemistry*, Ed: V. Neal. New York Worth Publishers. p: 677-678.
- MAES, M., WEECKX, S., WAUTERS, A., NEELS, H., SCHARPE, S., VERKERK, R., DEMEDTS, P., DESNYDER, R., (1996). Biological variability in serum vitamin e concentrations: relation to serum lipids. *Clinical Chemistry.* 42 (11): 1824-1831
- MACHLIN, L. J., BENDICH, A. (1987). Free radical tissue damage: protective role of antioxidants nutrients. *FASEB J.* 1:441-445.
- MASORO, E. J. (1991). Biology of aging; facts, thoughts, and experimental approaches. *Laboratory Investigation.* 65(5):500-510.

- MEHMETÇİK, G., ÖZDEMİRLER, G., KANBAĞLI, Ö, TOKER, G., (27 January 1997). Age-related changes in plasma lipid peroxidation and antioxidant system in humans and rats. *Archives of Gerontology and Geriatrics*. 25:305-310.
- MEISTER, A., ANDERSON, M.E. (1983) Glutathione. *Ann. Rev. Biochem.* 52 : 711-60
- MIGUEL, J., RAMIREZ-BOSCA, A., SOLER, A., DIEZ, A., CARRION-GUTIERREZ, M.A., DIAZ-ALPERI, J., QUINTANILLA-RIPOLL, E., BERND, A., QUINTANILLA-ALMAGRA, E. (1998). Increase with age of serum lipid peroxides; implications for the prevention of atherosclerosis. *Mech Ageing. Dev.* 100(1):17-24.
- NIELSEN, F., MIKKELSEN, B.B., NIELSEN, J.B., ANDERSEN, H.R., GRANDJEAN, P., (1997). Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress reference interval and effects of life-style factors. *Clinical Chemistry*. 43 (7): 1209-1214
- NIKI, E., (1991). Action of ascorbic acid as scavenger of active and stable oxygen radicals. *Am J Clin Nutr* 54:1119-24.
- NIWA, Y., LIZAWA, O., ISHIMOTO, K., AKAMATSU, H., KANO, T., (1993). Age-Dependent basal Level and Induction Capacity of Copper-Zinc and Manganese Superoxide dismutase and other scavenging enzyme activities in leukocytes from young and elderly adults. *American Journal of Pathology*. 143 (1): 312-320
- OHRVALL, M., TENGBLAD, S., EKSTRAND, B., SIEGBAHN, A., VESSBY, B., (1994). Malondialdehyde concentration in plasma is inversely correlated to the proportion of linoleic acid in serum lipoprotein lipids. *Atherosclerosis*. 108: 103-110
- PAGLIA, D.E., VALENTINE, W.N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.* 70(1):158-169.
- PANEMANGALORE, M., LEE, C. J., (1992). Evaluation of the indices of retinol and alpha-tocopherol status in free-living elderly. *Biological Sciences* 47(3) b98-104.
- PAOLETTI, F., ALDINUCCI, D., MOCALI, A., CAPARRINI, A., (1986). A sensitive spectrophotometric method for the determination of superoxide dismutase activity in tissue extracts. *Analytical Biochemistry* 154:536-541.
- PAOLISSO, G., GAMBARDELLA, A., AMMENDOLA, S., TAGLIAMONTE, M.R., RIZZO, M.R., CAPURSO, A., VARRICCHIO, M. (1997). Preserved antilipolytic insulin action is associated with a less atherogenic plasma lipid profile in healthy centenarians. *J Am Geriatr Soc.* 45(12):1504-1509.
- PARKER, S.R., (1988). Carotenoid and tocopherol composition of human adipose tissue 1-3. *Am J Clin Nutr.* 47:33-36
- PRYOR, W.A., (1987). The free radical Theory of aging revisited; a critique and a suggested disease-specific theory. *Modern Biological Theories of Aging*: 89-112
- REMALLE, J., MICHAELS, C., RAES, M., (1992). The importance of antioxidant enzymes in cellular aging and degeneration. *Free Radicals and Aging*. 99-108
- RUDOLPH, N., WONG, S. L., (1978). Selenium and Glutathione peroxidase activity in maternal and cord plasma and red cells. *Pediatrics*. 12:789-792.

- SANTIAGO, L. A., OSATO, J. A., LIU, J. MORI, A. (1992). Age-related increases in superoxide dismutase activity and thiobarbituric acid-reactive substances: effect of bio-catalyzer in aged rat brain. *Neurochemical Research*. 18(6): 711-717.
- SEYMEN, O., SEVEN, A., CANDAN, G., YİĞİT, G., HATEMİ, S., HATEMİ, H., (1997). The effect of iron supplementation on GSH levels, GSH-Px, and SOD activities of Erythrocytes in L-Thyroxine administration. *Acta Med Okayama* 51 (3):129-133.
- SCHAFER, L., THORLING, E.B. (1990). Lipid peroxidation and antioxidant supplementation in old age. *Scand J. Clin. Lab. Invest.* 50: 69-75
- SCHORAH, C. J., DOWNING, C., PRİPİTSİ, A., GALLİVAN, L., AL-HAZAA, A.H., SANDERSON, M. J., BODENHAM, A., (1996). Total vitamin C, ascorbic acid, and dehydroascorbic acid concentrations in plasma of critically ill patients. *Am J Clin Nutr* 63:760-765.
- SIES, H., STAHL, W., SUNDQUIST, A. R. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids. *Annals New York Academy of Sciences.* 7-20.
- SIMONOFF, M., SERGEANT, C., GARNİER, N., MORETTO, P., LLABADOR, Y., SIMONOFF, G., CONRİ, C., (1992). Antioxidant status (selenium, vitamins A and E) and aging. *Free Radicals and Aging.* 368-397
- SIMONOFF, M., SERGEANT, G., GARNİER, N., MORETTC, P., LLABADOR, Y., SIMONOFF, G., CONRİ, C., (1992). *Free Radicals and Aging.* 368-397
- SOHAL, R.S., (1987). The free radical theory of aging: A Critique. *Review of Biological Research in Aging.* 3:431-449.
- SOHAL, R. S., ORR, C., (1992). Relationship between antioxidants, prooxidants, and the aging process. *Ann. NY. Acad. Sci.* 663:74-84.
- SOHAL, R.S., (1993). The free radical hypothesis of aging: An appraisal of the current status. *Aging Clin. Exp. Res.* 5: 3-17.
- SOHAL, R.S., ORR, W.C. (1993). Oxidative stress and aging. *Biologic Prospective Complex.* 513-518.
- SUN, Y., OBERLEY, L.W., LI, Y. (1998). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin. Chem.* 34(3): 497-500.
- STULNİG, T.M., JÜRGENS, G., CHEN, Q, MOLL, D., SCHÖNİTZER, D., JAROSCH, E., WICK, G. (1996). Properties of low density lipoproteins relevant to oxidative modifications change paradoxically during aging. *Atherosclerosis.* 126: 85-94.
- TAMATSU, Y., KYOYA, K., TOSHIA, S., MARİKA, M. (1979). Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *Am. J. Obst. Gynecol.* 372-376
- TOLONEN, M., SARNA, S., HALME, M. TUOMINEN, S.E.J., WESTEMARC, T., NORDBERG, U.R., KEINONEN, M., SCHRIJVER, J. (2. January 1988). Comparison of two levels of Ascorbic acid supplementation on antioxidant vitamin status in elderly institutionalized subjects. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.* 65: 261-265
- T.C. BAŞBAKANLIK DİE, (1996). *Türkiye İstatistik Yıllığı.* Ankara.
- VALENZUELA, A., (1991). The biological significance of MDA determination in the assessment of tissue oxidative stress. *Life Sciences,* 48:301-309.

VARLEY, H., GOWENLOCK, A.H., BELL, M., (1976). The Toccoherds (Vitamin E). *Practical Clinical Biochemistry*. Volume 2.

VINA, J., SASTRE, J., ANTON, V., BRUSEGHINI, L., ESTERÁS, A., ASENSI, M., (1992). *Free Radicals and Aging*. 136-145.

YAZICI, R., (1994). Yaşlı bireylerin ölüm kaygısı ve bunun günlük yaşam aktivitelerine olan etkisinin araştırılması. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, (Yüksek Lisans Tezi), İstanbul.



ÖZGEÇMİŞ

1971, İstanbul doğumluyum. Orta ve lise öğrenimimi İzmit'te, Kocaeli Anadolu Lisesi'nde tamamladım. İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 1995 yılında mezun oldum. Aynı yıl Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün açmış olduğu biyokimya yüksek lisans programına girdim. 1996 yılında da Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nde araştırma görevlisi olarak göreve başladım.



**İ.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**