

TEMEL TIP BİLİMLERİNDE Tıbbi Tanı ve Tedavi Yöntemleri



Editör
Dr. Öğr. Üyesi Hayrunnisa Yeşil Sarsmaz





ISBN: 978-2-38236-064-4



9 782382 360644



LIVRE DE LYON

 livredelyon.com
 [livredelyon](https://twitter.com/livredelyon)
 [livredelyon](https://www.instagram.com/livredelyon)
 [livredelyon](https://www.linkedin.com/company/livredelyon)

Sağlık Bilimleri



LIVRE DE LYON

Lyon 2020

Temel Tıp Bilimlerinde

Tıbbi Tanı ve Tedavi Yöntemleri


Editör

Dr. Öğr. Üyesi Hayrunnisa Yeşil Sarsmaz



LIVRE DE LYON

Lyon 2020

Editör/Editor • Dr. Hayrunnisa Yeşil Sarsmaz  ORCID 0000-0002-9790-1723

Kapak Tasarımı/Cover Design • Aruull Raja

Birinci Baskı/First Published • Aralık/December 2020, Lyon

ISBN: 978-2-38236-064-4

© copyright

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the publisher's permission.

The chapters in this book have been checked for plagiarism by  **intihal.net**

Publisher • Livre de Lyon

Address • 37 rue marietton, 69009, Lyon France

website • <http://www.livredelyon.com>

e-mail • livredelyon@gmail.com



ÖN SÖZ

Son yarım asırda bir değişim ve gelişim evresinden geçen temel tıp bilimleri, kanıta dayalı tıp olarak anılan akımla birlikte; bilimsel metodu ve küresel bilgi birikimini kullanarak belirli bir konu hakkındaki kanıtları toplayarak bundan standart protokollerin geliştirilmesini amaçlamaktadır. Baş döndürücü hızla gelişen moleküler tıp, genetik ve moleküler biyolojideki ilerlemeler sosyal açıdan tıpta farklı bir bakış açısının ve farklı akımların oluşmasını sağlarken, meslekî olarak da tıpta yeni etkileşimlere yol açmıştır.

Bu kitap, her biri güncel tespit ve teşhisleri içeren 6 kısımdan oluşmaktadır. Birinci bölümde A. S. Küçükşayan'ın "Geri yansıma spektroskopisinin tıbbi tanı yöntemi olarak kullanımı" yer alırken, B. Öngen İpek'in "prostat kanseri taramasında prostat spesifik antijenin rolü" ne ait bir inceleme, E. Menekşe'nin "Diabetes mellitus için tanı yöntemleri" sunumu, E. Küçükşayan & M. Soyuğu'nun "kansere tedavisinde proprotein konvertazların yeri" üzerine yaptıkları çalışmaları, Y. K. Arıcı & S. Keskin'nin "box-cox transformasyon yönteminin kullanımı" na ait tespitlerin yanısıra, son bölümde de M. Büyükşekerci'nin "Mesleki ve çevresel kurşun maruziyetinde antioksidanların kullanımı" na ait çalışma yer almaktadır.

Bu kitap içeriğinden de anlaşılacağı gibi, Temel Tıp bilimlerinde Tıbbi Tanı ve Tedavi Yöntemlerinin uygulamalarında hatırı sayılır bir alt yapı oluşturmaktadır. Her bir bölüm her biri alanında tanınmış uzman kişiler tarafından yazılmıştır. Bu kitap temel tıp bilimlerinde yer alan akademisyenler, alanında kendini geliştirmek isteyen klinisyenler ve hatta tıp eğitimi gören öğrenciler için muazzam kaynak oluşturacak bir değerdedir. Başta bu kitabın okuyucusuna ulaştırılmasında emeği geçen yazarlarımıza ve basımında emeği bulunan herkese teşekkür ediyorum.

Dr. Öğretim Üyesi Hayrunnisa YEŞİL SARMAZ

Editör

İÇİNDEKİLER

ÖN SÖZ.....	I
HAKEM KURULU.....	V
Bölüm I A. S. Küçüksayan	
GERİ YANSIMA SPEKTROSKOPİSİNİN POTANSİYEL BİR TIBBİ TANI YÖNTEMİ OLARAK KULLANIMI.....	1
Bölüm II B. Öngen İpek	
PROSTAT KANSERİ TARAMASINDA PROSTAT SPESİFİK ANTİJENİN ROLÜ.....	15
Bölüm III E. Menekşe	
DİABETES MELLİTUS İÇİN TANI YÖNTEMLERİ.....	39
Bölüm IV E. Küçüksayan & M. Soyuğur	
KANSER TEDAVİSİNDE PROTEİN KONVERTAZLARIN YERİ.....	55
Bölüm V Y. K. Arıcı & S. Keskin	
BOX-COX TRANSFORMASYON YÖNTEMİNİN KULLANIMI.....	73
Bölüm VI M. Büyükşekerci2	
MESLEKİ VE ÇEVRESEL KURŞUN MARUZİYETİNDE ANTİOKSİDANLARIN KULLANIMI.....	93

HAKEM KURULU

Prof. Dr. Pınar Atukeren, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Doç. Dr. Gülşen Seren Gürgen, Manisa Celal Bayar Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Neslihan Yaprak, Akdeniz Üniversitesi

Dr. Ahmet Umay, Eskişehir Anadolu Üniversitesi


BÖLÜM I

GERİ YANSIMA SPEKTROSKOPİSİNİN POTANSİYEL BİR TIBBİ TANI YÖNTEMİ OLARAK KULLANIMI

*The Use of The Back Reflection Spectroscopy As A Potential Medical
Diagnosis Method*

Aslınur Sircan Küçükşayan

*(Dr. Öğr. Üyesi), Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi
e-mail: aslinursircan@gmail.com*

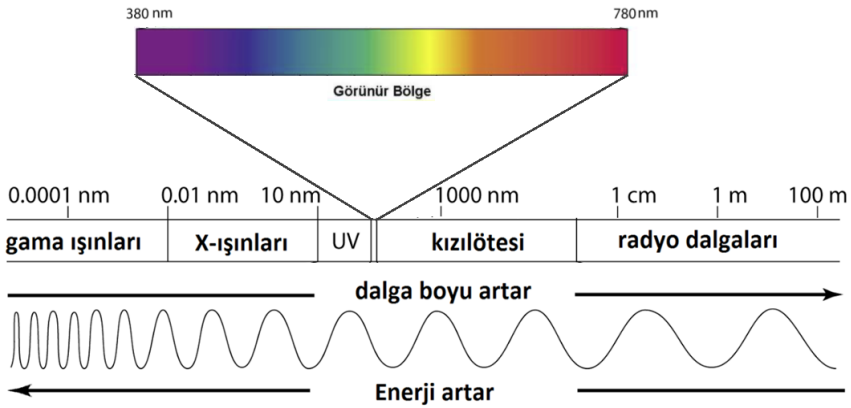
 ORCID 0000-0002-4168-8564

Spektroskopi, elektromanyetik ışımının madde ile etkileşmesini inceleyen yöntemlerin genel adıdır. Spektroskopik yöntemlerle sonucunda elde edilen verilerden oluşan ve her bir dalga boyu için enerji yoğunluğunu gösteren grafiklere spektrum denilir. Spektroskopik yöntemlerle ışık doku etkileşimini araştırılabilir ve nitel/nicel analizler ile doku hakkında bilgi edinilebilir Elektromanyetik ışığın özellikleri ve ışık doku etkileşimi spektroskopik yöntemlerin temelini oluşturur.

Elektromanyetik Spektrum

Elektromanyetik Spektrum, elektromanyetik ışımının dalga boylarına göre sınıflandırılmasıyla oluşturulan, gama ışınlarından radyo dalgalarına bilinen tüm elektromanyetik ışınları içeren bir dizilimdir (şekil 1). Elektromanyetik spektrumun kısa dalga boylarında gamma ve x-ışınları, uzun dalga boylarında mikro ve radyo dalgaları vardır. Elektromanyetik spektrumun 400 ila 700 nm dalga boyu aralığı, “Işık” olarak adlandırılan görünür, (Visible: VIS) bölgedir ^{1,2}. Elektromanyetik spektrumda görünür bölgeye komşu dalga boylarında mor ötesi (Ultraviyole: UV) bölge ve kızıl ötesi, (Infrared: IR) bölge bulunmaktadır ³. Kızılötesi bölgesi 700 nm ile 1mm dalga boyu aralığındadır. Kızılötesi

ışına belirli bir sıcaklığa sahip olan tüm maddelerden gerçekleşir. Kızılötesi bölgeden sonra 1 milimetreden daha uzun dalga boylarında sırasıyla mikro dalgalar ve radyo dalgaları bulunmaktadır. Görünür bölgeden daha kısa daha kısa dalga boyuna sahip morötesi ışına 10 ile 400 nm dalga boyu aralığındadır. Mor ötesi bölgede çok kısa dalga boylu ışınların insan vücudu için zararlı etkileri olduğu belirlenmiştir. X ışınları UV bölgenin hemen altında 0.01nm ile 10 nm dalga boyları aralığındaki bölgedir. Yüksek frekanslı ışınlardır ve bu ışınlar yüksek dozda maruz kalmak canlılar için tehlikelidir. Gama ışınları elektromanyetik spektrumun 0.01 nm den daha kısa dalga boyuna sahip bölgesini oluşturur. Spektrumda en yüksek enerjiye sahip ışınlar ve canlılar için oldukça zararlı etkileri bulunmaktadır.



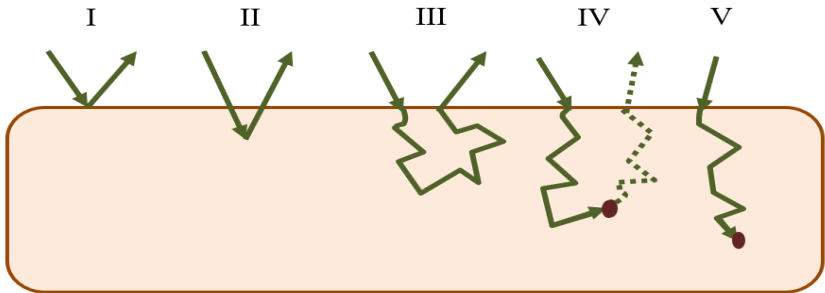
Şekil 1. Elektromanyetik spektrum ⁴.

Elektromanyetik spektrumda her bölgedeki ışınların doku ile etkileşimleri farklıdır. Uzun dalga boylu radyo dalgaları, insan vücudunu geçebilirken, kızılötesi ışına dokuda güçlü bir şekilde emilir. Görünür bölgedeki ışınların ise dokuda absorpsiyonu daha azdır. Ultraviyole bölgede güneşten gelen bütün ışınlar derinin en dış tabakası tarafından absorplanır. X ve gama ışınları biyolojik dokuları oldukça zararlı etkiler göstererek geçebilirler. Işık doku etkileşiminde ışığın dokudaki saçılımı

dalga boyuna bağlıdır. X ve gama ışınları dokuda çok fazla saçılmaya uğrarlar, dalga boyunun artması ile saçılma azalır.

Işık Doku Etkileşimi

Işık doku etkileşiminde dokunun optik özellikleri, ışığın hem tanısal hem de tedavi edici uygulamalarını etkiler. Işığın bir dokuya penetrasyonu, doku bileşenleri ile etkileşimi ve dokudan geri yansımaları, teşhis uygulamalarının anahtarıdır. Dokunun absorpsiyon özellikleri yoluyla enerji biriktirme yeteneği, tedavi uygulamalarının anahtarıdır. Bu nedenle, bir dokunun optik özelliklerini belirlemek, tanı yöntemleri geliştirme veya tedavi protokolleri planlamaya yönelik önemli bir aşamadır. Dokuların ışığı iletimi, yakın kızılötesi bölgede en fazla olur ki bu bölgeye “optik pencere” adı verilir. Dokularda yakın kızılötesi ışığı soğuran kromoforlar bulunmamasından dolayı bu bölgede absorpsiyon çok az miktarda olur ve ışık, dokunun içinde birkaç cm kadar ilerler. Biyolojik dokularda yakın kızılötesi bölgede saçılımın çok fazla olmasından dolayı dokuların incelenmesinde kullanılır. Biyolojik dokular, ışığın ilerlemesi yönünden türbid (bulanık) bir ortamdır⁵. Dokuların heterojen yapıları ışığı saçma ve absorplama özelliklerinin farklılık göstermesine neden olmaktadır⁶⁻⁸. Bundan dolayı ışığın doku içinde ilerlemesini belirleyen temel parametreler absorpsiyon ve saçılmadır.

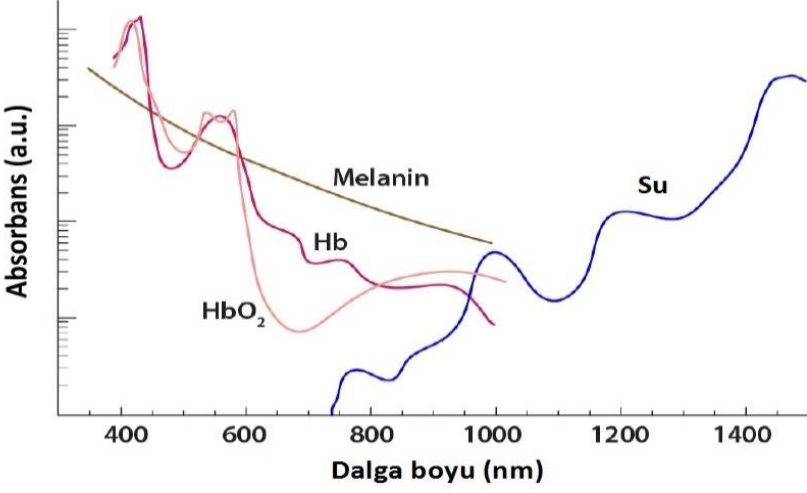


Şekil 2: Işık doku ile etkileşimi⁹

Işık dokuya iletildiğinde saçılır veya soğurulur (Şekil 2). Dokudan yansımaları ise saçılımın özel bir halidir. Şekil 2’de “I durumu”, dokuya gelen ışığın basit yansımalarını temsil etmektedir. Doku yüzeyinden yansıyan ışık doku ile ilgili çok az bilgi içermektedir. Işık dokuda hücre yapılara çarparak bir veya birkaç defa saçılmasını “II durumu” gösterir. Bu durum, saçılım gerçekleşirken fotonun enerjisi değişmediğinden, elastik saçılma olarak adlandırılır. Saçılma dalga boyu, hücre yapının boyutuna ve yoğunluğuna bağlı olarak değiştiğinden elastik saçılma ile dokunun morfolojik değişimleri belirlenebilir. “III durumu”, ışığın dağınık şekilde çoklu elastik saçılmadan sonra dokudan geri yansımalarını temsil etmektedir. Elastik olmayan saçılmada, saçılan fotonun enerjisinin değiştiği “IV durumu” ile gösterilmektedir. Şekil 2 de ışığın absorplanmasını “V durumu” temsil eder⁹. Dokudaki kromoforlar ile aynı dalga boyuna sahip fotonlar dokuda absorplanır ve geri saçılmaz. Dokuda oksihemoglobin ve deoksihemoglobin gibi kromoforları belirlemede ışığın dokudaki absorpsiyonundan faydalanılır.

Işık Dokuda Absorpsiyonu

Absorpsiyon (soğurma), ışığın etkileşime girdiği molekül tarafından emildiği ve enerjiye dönüştürüldüğü bir süreçtir. Biyolojik dokularda oksihemoglobin, deoksihemoglobin su ve melanin gibi moleküller ışığı absorplar ve bunlara kromofor denir. Absorpsiyon, tıbbi uygulamalarda hem teşhis hem de tedavi sürecinde kullanılır. Absorpsiyon spektrumları moleküle özgüdür ve ölçülen absorpsiyon spektrumu ile o molekülün varlığı veya konsantrasyonu belirlenebilir ve bu bilgiler teşhis süreçlerinin geliştirilmesinde kullanılabilir. Örneğin; yenidoğan sarılığı ve fotodinamik terapide ışık enerjisinin absorplanması, tedavi amaçlı da kullanılmaktadır. Biyolojik dokularda, her kromoforun kendine özgü absorpsiyon spektrumu vardır. Şekil 3’de biyolojik dokulardaki bazı kromoforların absorpsiyon spektrumları görülmektedir.



Şekil 3. Dokudaki bazı önemli kromoforların absorpsiyon spektrumları ¹⁰

Su insan vücudunun çok önemli bir kısmını oluşturan hayati fonksiyonlarda görev alan kimyasal bileşiktir ¹¹. Vücuttaki su miktarı yaş, cinsiyet ve doku tipi gibi birçok parametreye bağlı olarak değişir ¹². Biyolojik dokularda su yüksek konsantrasyonlarda bulunmasından dolayı spektroskopik yöntemlerle yapılan ölçümlerde dikkate alınması gereken önemli bir kromofordur. Suyun absorpsiyon spektrumu incelendiğinde görünür bölgede önemli bir absorpsiyonu olmadığı görülmektedir. Suyun absorpsiyonunun 900 nm üstünde arttığı ve 3 µm dalga boyu civarında maksimuma ulaştığı sonrasında ise 10 µm dalga boyuna kadar aynı düzeylerde ölçülmektedir.

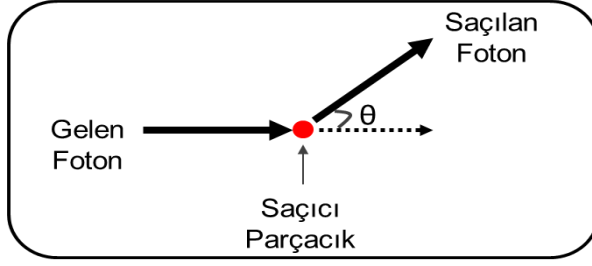
Hemoglobin biyolojik dokularda, elektromanyetik spektrumun görünür bölgesindeki, en baskın kromofordur. Hemoglobinin methemoglobin, karbohemoglobin (HbCO₂), sulfhemoglobin (HbH₂S), oksihemoglobin (HbO₂) ve deoksihemoglobin (Hb) gibi çeşitli formları vardır. Oksi ve deoksi formları yüksek düzeylerde bulunur ve birbirinden farklı absorpsiyon spektrumları verirler. Şekil 3’de görüldüğü gibi oksihemoglobin 410 nm ve 550 nm, 580 nm dalga boylarında maksimum

absorpsiyon yapmaktadır. Deoksihemoglobinin absorpsiyon spektrumu incelendiğinde 420 nm ve 560 nm dalga boylarında maksimum absorpsiyon olduğu görülmektedir.

Melanin derinin epidermis tabakasında üretilen bir pigmenttir. Melaninin ultraviyole bölgede absorpsiyon yüksektir, görünür bölgede ise absorpsiyonu monotonik bir şekilde azalmaktadır. İnsan melanin pigmenti 335nm de maksimum absorpsiyon gösterir ve 1000 nm dalga boylarına kadar azalarak absorpsiyon yapmaya devam eder.

Işığın Dokuda Saçılması

Işığın ortamda ilerlerken bir parçacığa çarptığında, parçacığın kırma indisi ortamın kırma indisinden farklı ise ışık saçılmaya uğrar. Gelen ışık saçıcı parçacıkla karşılaşmadan önce izlediği doğrultudan saçıcı parçacığa çarptıktan sonra belirli bir açıyla sapar (şekil 4). Gelen ışığın saçılma açısı parçacığın boyutuna, şekline, ışığı kırma indisine bağlıdır ¹³. Işık doku etkileşiminde ışığın bir kısmı yüzeyden direkt yansırken, diğer kısmı ise dokuya girer. Dokuya giren ışık karşılaştığı yapısal bileşenlere çarparak saçılır. Dokuda hücreler arası sıvının ışığı kırma indisi 1.36 civarındayken hücre zarının ışığı kırma indisi yaklaşık 1.42 olduğu bilinmektedir ¹⁴. Bundan dolayı dokuya giren ışık hücre zarından saçılabilir. Hücre membranının lipid yoğunluğu, membranın şekli ve büyüklüğü, hücre çekirdeğinin boyutu, dokulardaki suyun miktarı, kollajen fiberler gibi dokunun yapısal bileşenleri saçılım sürecinde önemli faktörlerdir. Hücre içine giren ışık organellerin ışığı kırma indisinin sitoplazmanın ışığı kırma indisinden büyük olması dolayısıyla organeller tarafından da saçılıma uğrayabilir.



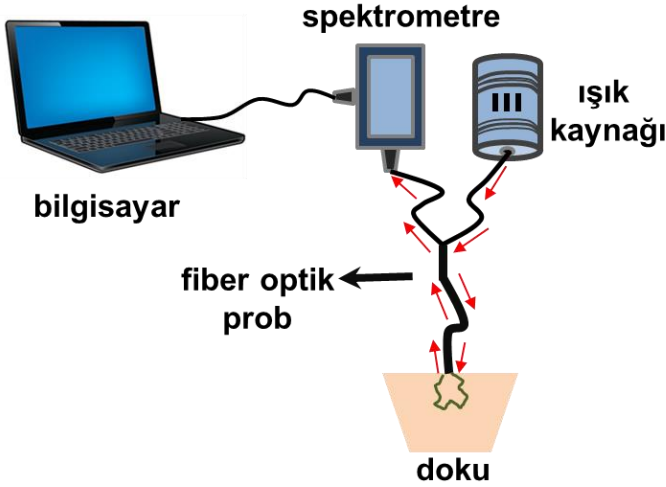
Şekil 4. Işığın parçacığa çarptıktan sonra θ açısıyla sapması

Bir saçılma olayı, hüresel bileşenlerin tüm saçılma özelliklerini taşır. Ölçülen saçılma özellikleri ölçüm alınan dokunun normal veya anormal (patolojik) olduğunu belirleyebilir. Normal hüresel bileşenlerden gelen sinyal çekirdek, çekirdekçik, kromatin içeriği ve metabolik organellere bağlıdır. Ancak düzensiz epitel oryantasyonu ve yapısı, epitel yüzey dokusunun morfolojisindeki değişiklikler, hücre yoğunlaşması, hücre çekirdeğinin büyümesi ve hiperkromisitesi, metabolik organellerin artan konsantrasyonu ve anormal protein paketleri varlığı gibi patolojik durumlarda ölçülen saçılma özellikleri değişecektir ¹⁵. Saçılma sinyalindeki bu fark doku patolojisinin belirlenmesinde tanıya yardımcı bir yöntem olarak kullanılabilir.

Geri Yansıma Spektroskopisi

Geri yansıma spektroskopisi in-vivo olarak dokunun optik özellikleri belirleyebilen invaziv olmayan bir tekniktir. Bu teknikte ışık dokuya gönderilir, dokuyla etkileştikten sonra geri yansıyan ışık toplanır ve spektrometreyle analiz edilir. Böylece dokuyla ilgili bilgi içeren 'spektrum' elde edilir. Elde edilen spektrum ışığın dokuda saçılması ve absorpsiyona bağlı bir sinyaldir ve doku hakkında bilgi sağlar. Işığın doku içinde saçılımı dokunun morfolojisi, absorpsiyonu ise biyokimyasal yapısı ile ilgidir. Bundan dolayı normal ve patolojik dokuların ışıkla etkileşimi oldukça farklıdır. Normal ve patolojik dokulardaki geri yansıma sinyali farklılığı potansiyel tanı yöntemlerinin temelini oluşturabilir.

Dokulardan ölçüm almak için kullanılan geri yansımaya spektroskopisi ölçüm düzeneği şekil 5 de görüldüğü gibi; küçük bir spektrometre, optik bir prob, ışık kaynağı ve bir bilgisayardan oluşmaktadır. Spektroskopik verileri almak için kullanılan spektrometre 400 ile 850 nm arasındaki dalga boyuna duyarlı, 2048 elemanlı CCD (Charge Coupled Device) detektör dizisine sahiptir. Fiber optik prob kaynak ve dedektör fiberlerinden oluşmaktadır. Optik probun fiber çapına ve kaynak dedektör mesafesine bağlı olarak elde edilen sinyalin taşıdığı bilgi değişir. Optik probun ve ışığın özellikleri değiştirilerek geri yansımaya spektroskopisi ile çeşitli patolojiler araştırılabilir ¹⁶.



Şekil 5. Geri Yansımaya Spektroskopisi Sistem Bileşenleri

Spektrometrelerin temel bileşenleri ışığı spektrumuna ayırmada kullanılan grating, ışık kaynağı, CCD detektör ve yön verici aynalardır. Işık, optik probun kaynak fiberi ile ortama gönderilir ve ortamdaki geri saçılan ışık optik probun dedektör fiberi ile toplanır. Spektrometreye gelen bu ışık, özel aynalar ve grating aracılığıyla CCD detektör dizisi üzerine dağıtılır. Spektrometrenin CCD bileşeni gelen ışık sinyalini elektrik

sinyaline çevirir. Dalga boyuna bağılı olarak ışık şiddeti verileri spektrometrenin yazılımı aracılığı ile bilgisayarda işlenir.

Son yıllarda hastalıkların teşhisinde optik yöntemlerin kullanımına yönelik oldukça fazla sayıda çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmalarda amaç hastalıkların invaziv olmayan bir yolla ve erken dönemde belirleyebilen tanı yöntemleri geliştirmektir. Optik yöntemlerin araştırıldığı çalışmaların diğere bir hedefi ise ölçüm sonuçlarını gerçek zamanlı değerlendirebilen pratik sistemler geliştirilmesidir. Dokunun morfolojisinin, fizyolojisinin ve biyokimyasının objektif takibi klinisyenler için değerli ve oldukça kullanışlı bir araç olacaktır. Tıbbi tanı için ideal bir sistem, non-invaziv, ölçümleri tekrarlanabilir, uzmanlık gerektirmeyen, ekonomik olarak erişilebilir ve gerçek zamanlı sürekli izleme yapılabilmesi için uygun olması gibi nitelikleri olmalıdır ¹⁷.

Geri Yansıma Spektroskopisi Sistemi ile Yapılan Tanı Yöntemi Geliştirmeye Yönelik Çalışmalar

Doku patolojisinin invazif olmayan, gerçek zamanlı değerlendirilmesini sağlamak için çeşitli spektroskopi yöntemleri araştırılmıştır. Araştırılan yöntemlerin ortak temel prensibi vardır: Bir dokunun spektrumu, dokunun biyokimyasal bileşimi ve/veya morfolojisi hakkında tanı bilgilerini içerir. Bu temel yaklaşım, doku oksijen saturasyonunun ölçülmesi ¹⁸, iskemi-reperfüzyonun değerlendirilmesi ^{19,20}, inflamatuvar ve enfeksiyöz süreçlerin takibi ²¹, kanserin tespiti ²² gibi durumlarda dokuların ayırt edilmesine yönelik tanı yöntemlerinin geliştirilmesi için önemlidir.

Skrotal pigmentasyonun spektroskopik yöntemle değerlendirilmesi, geri yansıma spektroskopisi kullanılarak yapılan çalışmalardan biridir ²³. Erkek bebeklerde konjenital adrenal hiperplaziye bağılı olarak genital hiperpigmentasyon gelişebilir. Klinik pratikte, genital

hiperpigmentasyon şüphesi olan bebeklerde kandan 17-hidroksiprogesteron (17-OHP) seviyesi ölçümü gereklidir. Ancak, bu sübjektif bir parametre vakaların kaçırılmasına veya gereksiz yere 17-OHP ölçümüne neden olabilir. Bu çalışmada neonatal skrotal dokudaki melanin pigment yoğunluğunu ölçmek için geri yansıma spektroskopisi ile objektif ve non-invaziv spektroskopik bir yöntem geliştirilmiş ve yöntemin hekim görüşü ile uyumu ve 17-OHP kan düzeyi ile ilişkisi belirlenmiştir. Çalışmaya skrotal hiperpigmentasyonu olduğu düşünülen 22 bebek ile uzamış sarılık nedeniyle başvuran normal skrotal pigmentasyona sahip 18 bebek olmak üzere toplam 40 bebek dahil edilmiştir. Çalışmada geri yansıma spektroskopisi ile skrotal pigmentasyonun belirlenmesine nesnel bir ölçüt hale getirildiği, spektroskopik verilerin 17-OHP ile ilişkisinin belirlendiği görülmektedir. Sonuç olarak geri yansıma spektroskopisinin erkek bebeklerde konjenital adrenal hiperplazi tanısına yardımcı olabilecek bir yöntem olarak geliştirilme potansiyeli olduğu gösterilmektedir.

Over torsiyonu için yeni bir tanı yönteminin histopatolojik ve biyokimyasal değerlendirmesi geri yansıma spektroskopisi kullanılarak yapılan çalışmalardan bir diğeridir ²⁰. Over torsiyonu, her yaştan kadını etkileyen jinekolojik bir acil durumdur ve over fonksiyonunu korumak için erken teşhis önemlidir. Over torsiyonunun sonografik teşhisi için yanlış pozitif oranı %50'dir; bu nedenle, teşhis doğruluğunu iyileştirmek için yeni bir gerçek zamanlı yöntem gereklidir. Bu çalışmada over torsiyonunu teşhis etmek için sıçan overi iskemi/reperfüzyon modelinde geri yansıma spektroskopisinin kullanımı araştırılmıştır. Sağlıklı ve hasarlı over dokusunu ayırt etmek amacıyla geliştirilen spektroskopik yöntemin tanısal değerini belirlemek için spektroskopik veriler, histopatolojik ve biyokimyasal verilerle karşılaştırılmıştır. Çalışmada spektroskopik veriler ile histopatoloji ve biyokimyasal veriler arasında iyi bir korelasyon bulunması, geri yansıma spektroskopisinin over torsiyonunun *in vivo*

değerlendirilmesi için prognostik ve tanısal değeri olabileceğini göstermektedir.

Akut mezenterik iske mi, 1/1000'lik bir insidansla nispeten nadir görülen ancak %60 ila %80'lik bir ölüm oranı ile yaşamı tehdit eden acil bir durumdur. Akut mezenterik iskemili hastaların genel sağ kalım süresi, cerrahi eksizyonun özelliklerinden etkilenir ²⁴. Mezenterik iske miye güncel yaklaşım, cansız bağırsak bölümlerinin rezeksiyonunu içermektedir. Ancak, bağırsak canlılığının klinik değerlendirmesi genellikle yetersizdir ve güncel kullanılan yöntemlerin çeşitli sınırlamaları mevcuttur ²⁵. Bundan dolayı bağırsak canlılığının belirlenmesinde yeni yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Akut mezenterik iskemisinin tedavisinde bağırsak canlılığının belirlenmesi için Karakaş ve ark. geri yansıma spektroskopisinin kullanımı araştırılmıştır ¹⁹. Bu çalışmada, sıçan mezenterik arter iske mi modelinde iske mi ve reperfüzyon sonrası bağırsak dokusunun canlılığı *in vivo* ve gerçek zamanlı olarak araştırmak için geri yansıma spektroskopisi kullanılmıştır. Bu çalışmada geri yansıma spektroskopisinin potansiyel olarak intraoperatif bağırsak canlılığının gerçek zamanlı olarak değerlendirilmesi için kullanılabileceği gösterilmiştir. Bu bulgular ile geri yansıma spektroskopisinin canlı dokuların gereksiz veya cansız dokuların yetersiz rezeksiyonunu azaltma potansiyeline sahip olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Sonuç olarak geri yansıma spektroskopi ile yapılan ölçümler dokuların biyokimyasal bileşimi ve/veya morfolojisi hakkında bilgi sağlayarak tanı yöntemlerinin geliştirilmesi için temel oluşturmaktadır. Geri yansıma spektroskopisinin dokudaki değişimlerin sürekli izlenmesini sağlayan, invazif olmayan, objektif ve tecrübe gerektirmeden çalışan tıbbi tanı yöntemi olarak geliştirilme potansiyeli bulunmaktadır.

Kaynaklar

1. Alonso M, Finn EJ. *Chapter 28, in Physics*. Addison Wesley Longman Limited: Harlow; 1992.
2. Wolfe WL. *Optics made clear : The nature of light and how we use it*. SPIE; 2006:
3. Kortum R, Muraca S, Muraca E. Quantitative optical spectroscopy for tissue diagnosis. *Annu Rev Phys Chem*. 1996;47:555-606. doi:DOI 10.1146/annurev.physchem.47.1.555
4. www.statlab.uni-heidelberg.de/data/color/.
5. Vo-Dinh T. *Chapter 2, in Biomedical Photonics Handbook*. CRC Press 2003.
6. Shangguan H, Prahl SA, Jacques SL, Casperson LW. Pressure effects on soft tissues monitored by changes in tissue optical properties. *SPIE* 1998:366-371.
7. Mourant JR, Freyer JP, Andreas HH, Eick AA, Shen D, Johnson TM. Mechanisms of light scattering from biological cells relevant to noninvasive optical-tissue diagnostics. *Appl Optics*. 1998;37(16):3586-3593.
8. Jacques SL. Optical properties of biological tissues: a review. *Physics in Medicine and Biology*. 2013;58(11)
9. Bigio IJ, Bown SG. Spectroscopic sensing of cancer and cancer therapy: current status of translational research. *Cancer biology & therapy*. Mar 2004;3(3):259-67. doi:10.4161/cbt.3.3.694
10. Yao J, Wang LV. Photoacoustic microscopy. *Laser & Photonics Reviews*. 2013;7(5):758-778. doi:10.1002/lpor.201200060
11. Marieb EN, Katja H. *Human anatomy & physiology* Pearson; 2007.
12. White DR, Woodard HQ. The composition of body tissues. *British Journal of Radiology*. 1987;59(708):1209-18.
13. Bohren CF, Huffman DR. *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*. Wiley; 1998.
14. Bolin FP, Preuss LE, Taylor RC, Ference RJ. Refractive index of some mammalian tissues using a fiber optic cladding method. *Appl Optics*. 1989;28(12)
15. Jerjes WK, Upile T, Wong BJ, et al. The future of medical diagnostics: review paper. *Congress. Head Neck Oncol*. Aug 23 2011;3:38. doi:10.1186/1758-3284-3-38

- 16.Sircan-Kucuksayan A, Denkceken T, Canpolat M. Differentiating cancerous tissues from noncancerous tissues using single-fiber reflectance spectroscopy with different fiber diameters. Research Support, Non-U.S. Gov't. *J Biomed Opt.* Nov 2015;20(11):115007. doi:10.1117/1.JBO.20.11.115007
- 17.Jones BM. Monitors for the Cutaneous Microcirculation. *Plast Reconstr Surg.* 1984;73(5):843-850. doi:Doi 10.1097/00006534-198405000-00025
- 18.Sircan-Kucuksayan A, Uyklu M, Canpolat M. Diffuse reflectance spectroscopy for the measurement of tissue oxygen saturation. *Physiological Measurement.* 2015;36(12):2461-2469. doi:10.1088/0967-3334/36/12/2461
- 19.Karakaş BR, Sircan-Küçüksayan A, G. Elpek Ö, Canpolat M. Investigating viability of intestine using spectroscopy: a pilot study. *J Surg Res.* 2014;191(1):91-98. doi:10.1016/j.jss.2014.03.052
- 20.Ozekinci M, Kucuksayan E, Erdogan G, et al. Histopathological and biochemical assessment of a novel diagnostic method for ovarian torsion. *Biotechnic & Histochemistry.* 2019;95(3):203-209. doi:10.1080/10520295.2019.1663558
- 21.Sircan-Kucuksayan A, Canpolat M. Estimating Joint Cartilage Thickness on an Animal Model ex vivo Using Diffuse Reflectance Spectroscopy. *Journal of Applied Spectroscopy.* 2019;86(4):623-628. doi:10.1007/s10812-019-00869-3
- 22.Sircan-Kucuksayan A, Yaprak N, Derin AT, Ozbudak İH, Turhan M, Canpolat M. Noninvasive assessment of oral lesions using elastic light single-scattering spectroscopy: a pilot study. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology.* 2020;277(5):1467-1472. doi:10.1007/s00405-020-05824-z
- 23.Basaran AE, Sircan-KÜÇÜKsayan A, Canpolat M, VelİPasaoĞLu S. Yenidoğanlarda skrotal pigmentasyonun spektrometre ile değerlendirilmesi ve 17-hidroksiprogesteron kan düzeyi ile korelasyonunun incelenmesi. *Acta Medica Alanya.* 2020;doi:10.30565/medalanya.569972
- 24.Oldenburg WA, Lau LL, Rodenberg TJ, Edmonds HJ, Burger CD. Acute mesenteric ischemia: a clinical review. Review. *Archives of internal medicine.* May 24 2004;164(10):1054-62. doi:10.1001/archinte.164.10.1054
- 25.Renner P, Kienle K, Dahlke MH, et al. Intestinal ischemia: current treatment concepts. Review. *Langenbeck's archives of surgery.* Jan 2011;396(1):3-11. doi:10.1007/s00423-010-0726-y


BÖLÜM II

PROSTAT KANSERİ TARAMASINDA PROSTAT SPESİFİK ANTİJENİN ROLÜ

The Role of Prostate Specific Antigen in Prostate Cancer Screening

Belkız Öngen İpek¹

¹(Dr Öğretim Üyesi), Maltepe Üniversitesi, e-mail: belkiz.ongen@maltepe.edu.tr

 ORCID 0000-0002-2998-263X

Giriş

Herhangi bir hastalığa yatkınlığı, hastalığın evrimini ve/veya tedaviye muhtemel yanıtı öngörebilen veya yansıtabilen, risk analizine katkı sunan, biyolojik bir sürecin fonksiyonel varyantları veya sayısal indeksleri olan biyobelirteçlerin rutin klinik ve tarama programlarında kullanımları son derece yaygın bir hal almıştır^{1,2}. Bir tarama programının ise en önemli amacı, prosedürün hastalığı çok erken safhasında tespit etmesi, erken müdahaleye izin vermesi böylece mortalite ve morbiditeyi azaltmasıdır. Bu bağlamda, erken evre prostat kanserinin tespiti için mevcut en yararlı araç ve en iyi tedavi aracı serum Prostat Spesifik Antijen (PSA) düzeylerinin ölçülmesi olarak görülmektedir³. PSA ilk olarak 1971 yılında Hara ve ark tarafından seminal plazmada⁴, 1979 yılında ise Wang ve ark⁵ tarafından prostat dokusunda izole edilmiştir. PSA testi, Food and Drug Administration (FDA) tarafından 1986 yılında onaylanmış ve 1990 yılında prostat kanseri tanısında kullanılmaya başlanmıştır⁶.

Dünyada erkek kanser ölümlerinin ikinci en sık sebebi prostat kanseridir⁷. Bu durumun, dünya nüfusunun yaş ortalamasının artması ve PSA'nın taramada kullanılması ile prostat kanseri tanısının daha fazla konmasından kaynaklandığı düşünülmektedir⁸.

PSA Sentez ve Salınımı

PSA androjenle düzenlenen bir serin proteazdır ve sentez geni kromozom 19q13.4'te yer alır⁹. Öncelikli olarak prostat duktal ve asiner epiteli tarafından lümene salgılanır. Ana fonksiyonu seminal sıvı içinde semenogelin I ve II'yi parçalamaktır¹⁰. Böylece semenin likefaksiyonuna neden olarak spermatozoaların hareketliliğine katkı sağladığı düşünülmektedir¹¹. PSA 259 amino asitten oluşur ve 17 amino asit lider dizisi ile sentezlenir (preproPSA). İnaktif bir molekül olan ve 244 amino asit içeren öncü proteini proPSA'ya bölünür. Lümende proPSA'dan N-terminal 7 amino asidin bölünmesi ile aktif PSA açığa çıkar¹²⁻¹⁴. Seminal plazmadaki PSA'nın %30'u bozulmamış aktif enzim iken %5 kadarı protein C inhibitörü ile kompleks durumdadır^{15,16}. Geri kalan formlar farklı bölünmeler nedeniyle inaktif enzim formundadır¹⁷. Bu bölünmüş PSA formlarından Bening Prostat Hiperplazisi (BPH)'nde düzeyleri artan ve prostat transitional zonda bulunan BPH ilişkili PSA oluşabilir^{16,18-20}. BPH ilişkili PSA, seminal sıvıda proteazlara daha yüksek oranda daha maruz kaldığı için prostat kanseri dokularında miktarının azaldığı tespit edilmiştir¹⁸.

Kan dolaşımına giren aktif PSA'nın %70-90'ının çoğunluğu α -1 antikom tripsin ile az bir kısmı ise α -1 antitripsin veya α -2 makroglobulin ile kompleks halde taşınır^{21,22}. Bu proteaz inhibitörleri ile taşınan PSA'ya kompleks PSA (cPSA) denir. Seminal vezikülde inaktif PSA olarak bulunan form periferal kanda proteaz inhibitörleri ile kompleks oluşturmadığı için serbest PSA (sPSA) olarak adlandırılır ve total PSA (TPSA)'nin %10-30'unu oluşturur. İnaktif PSA prostat kanserinde daha az oranda oluşur ve sPSA serumda daha düşük konsantrasyonlarda görülür. Bu nedenle sPSA oranı (sPSA/TPSA*100) prostat kanseri hastalarında daha düşük bulunur²³.

TPSA'nın yarı ömrü ortalama 3 gün²⁴ iken sPSA'nın yarı ömrü 1,5 saattir²⁵. Yaşla birlikte PSA üretimi artar. Bu artışın evrimsel bir

adaptasyon olduğu düşünölmektedir³. Altmış yaşındaki sağlıklı erkeklerde PSA düzeyi yıllık %3.2 artış saptanmıştır²⁶. Bu nedenle TPSA değerleri kullanılırken yaşa göre ayarlama yapmak gerektiği tavsiye edilebilir.

PSA, prostat dokusu haricinde normal meme dokusunda, meme, adrenal ve renal kanser dokularında çok düşük konsantrasyonlarda saptanmıştır²⁷. Ayrıca PSA'nın; transforme edici büyüme faktör- β 'yı etkili hale getirdiđi²⁸, insülin benzeri büyüme faktörü bağlayan protein-3'e bađlanabildiđi²⁹ ve paratiroid hormon ilişkili proteinin biyoaktivitesini düzenlediği gösterilmiştir³⁰. PSA'nın fibroblast büyüme faktörü-2 ve vasküler endotelial büyüme faktörünü inhibe ederek endotelial hücre proliferasyonunu inhibe ettiği ve anti-anjiogenik aktivite gösterdiği saptanmıştır³¹.

Prostat Kanseri Taramasında PSA

Serum TPSA düzeyi ölçümü; sağlıklı, asemptomatik erkekler için tartışmalı bir tarama testidir, çünkü enfeksiyon, travma, BPH, prostatit gibi bening durumlarda da düzeyi artar³². Bu bening durumlar TPSA'nın prostat kanseri tarama testi için kullanımında test özgülüğünü azaltır. Başka nedenlerle ölen erkeklerin otopsi çalışmalarında 50-59 yaşlarındakilerin %20'sinden fazlası ve 70-79 yaşlarındakilerin ise %33'ünden fazlasında prostat kanseri tespit edilmiştir³³. Bu nedenle güncel kılavuzlar, 70 yaş üzerinde asemptomatik bireylerde serum PSA taramasını önermemektedir³. Çünkü PSA ile tarama prostat kanserinin daha erken yakalanmasına yol açmıştır ancak serum TPSA'sı yüksek kişilerin çoğunluğunun etiyojisinin bening karakterde olduğu saptanmıştır. Stamey ve ark. BPH'li hastaların %86'sında TPSA değerlerinin yükseldiğini saptamışlardır³². Prostat kanseri olgularının çoğunluğunun müdahaleyi gerektiren boyuta ulaşmadığı gözlenmiştir³.

Prostat kanserinin tespitini garanti edebilecek bir TPSA düzeyi yoktur. Prostat kanseri olasılığı ve TPSA değerindeki artış ile doğrudan ilişkili olduğu bilinmektedir³². Ancak düşük düzey TPSA sonuçlarında

kanser görülmeyeceği sonucu çıkarılmamalıdır. Smith ve ark. çalışmalarında 0.50 ng/mL düzeyinde dahi prostat kanseri görülebileceğini göstermiştir³⁴. Catalona ve ark prostat kanserini saptamada, TPSA'nın erken prostat kanserinin tespiti için dijital rektal muayene ve transrektal prostat ultrasonografiden üstün olduğunu göstermişlerdir³⁵. Serum TPSA karar sınırı değeri 4 ng/mL'den yüksek kullanıldığında prostat kanseri saptama oranı %91 özgüllüğe sahiptir. Ancak TPSA'nın kullanımının artması ile bening bir olaya bağlı olarak yükselen TPSA nedenli morbidite artışı ve gereksiz işlem uygulanan çok sayıda hasta olmaktadır³⁶. Genel olarak, TPSA testinin prostat kanseri taramasındaki duyarlılığı yaşa ve PSA karar sınırı değerlerine göre %9-%33 arasında değişmektedir³⁷.

Prostat kanserinin taramaya alınması veya taramaya başlanması gereken yaş için dernekler arasında farklı uygulamalar bulunmaktadır (Tablo 1). Tüm derneklerde genel kanı 70 yaş üzerinde ve 10-15 yıldan uzun yaşam beklentisi olmayanlarda prostat kanseri için TPSA ile tarama yapılmamasıdır.

The United States Preventive Services Task Force (USPSTF) 2012'deki kılavuzunda tüm yaş grupları için TPSA taramasının yapılmaması gerektiğini³⁸ savunsa da 2018 yılında çıkardığı yeni kılavuzda 55-69 yaş aralığında erkeklerde TPSA'nın tarama testi olarak kullanılmasını ve hastanın bireysel bazda incelenerek aile öyküsü, etnik köken, eşlik eden tıbbi durumların da göz önüne alınmasını tavsiye eder³⁹. Tarama ve tedavi ile ilişkili potansiyel zararlara karşılık metastatik prostat kanserini azaltmaya yönelik tarama kararının hasta ile beraber verilmesini önerir. Yetmiş yaş üzerinde ise TPSA taramasını tavsiye etmez.

The European Assosiation of Urology (EAU) prostat kanseri riski olan erkeklerin (50 yaş üstü tüm erkeklere, 45 yaş üstü aile öyküsü olan ve/veya Afrika-Amerika kökenliler) bazal TPSA değerlerinin ölçülerek kişisel tanı ve tedavi sürecinin yönetilmesini önerir⁴⁰. 40 yaşında başlangıç PSA değerleri 1 ng/mL ve 60 yaşında başlangıç PSA değeri 2 ng/mL'den

yüksek olan erkeklerde 2 yıllık takip aralıkları ile strateji tavsiye eder. Bu riskler yok ise 8 yıl sonra takip önerir. Fazla tanı (%40 prostat kanseri tanılı hastanın takip sırasında metastaz geliştirme riskinin olmadığı) ve fazla tedavi (tedavinin faydasının olmamasının yanı sıra tedaviye ikincil olarak gelişen morbidite)⁴¹⁻⁴⁴ riskini azaltmak için EAU multimetrik manyetik rezonans görüntüleme yanında aile öyküsü, etnik köken, dijital rektal muayene ve prostat volümüne göre risk hesaplama yapılmasını tavsiye eder. Tedavi sürecini planlarken hastanın yaşam beklentisi ve kanserin mortalite riskinin dengelenmesi gerektiğini savunur⁴⁰.

American Urology Assosiation (AUA) 2013⁴⁵ ve 2018 yıllarında yayınladığı kılavuzlarda taramanın 55-69 yaş aralığındaki erkeklerde aile öyküsü, etnik köken ve eşlik eden tıbbi durumlar göz önüne alınarak ve kişiye tedavi komplikasyonları anlatılarak uygulanmasını önerir. 40-55 yaş arasındaki erkeklerde ise Afrika-Amerikan ırk, ailede genç yaşta tanı alan metastatik veya ölümcül adenokasinom öyküsü olanlar (prostat, meme, over, pankreas) gibi yüksek riskli grupta bulunanlarda kişisel bazda inceleme yapılmasını tavsiye eder. Yetmiş yaşın üzerindeki kişilerde veya 10-15 yıl yaşam beklentisi olmayanlara TPSA taraması önermez.

Canadian Urology Assosiation (CUA) 2017'de yayınladığı kılavuzda⁴⁶, 10 yıldan uzun yaşam beklentisi olan erkeklere TPSA taraması tavsiye eder. Taramanın toplumda 50 yaşında, prostat kanser riski daha yüksek bireylerde ise 45 yaşında başlamasını önerir. TPSA taramasına giren erkeklerin test sonuçlarına göre, TPSA<1ng/mL ise 4 yıl, TPSA 1-3 ng/mL ise 2 yıl, TPSA>3 ng/mL ise daha sık takip edilmesini önerir. 60 yaşında ve TPSA <1 ng/mL olanlarda takip önermez.

Canadian United States Preventive Task Force ise (CUSPTS) TPSA ile prostat kanseri taramasını hiçbir yaş grubunda önermemektedir.

Serbest PSA (sPSA)

4-10 ng/mL değerindeki TPSA değerlerinde prostat kanseri saptama hassasiyetini arttırmak için kullanılır. sPSA oranı değerlerindeki

azalma prostat kanseri lehine bulunmuştur^{47,48}. Catalona ve ark yaptığı çalışmada⁴⁹ 4-10 ng/mL aralığındaki total PSA değerlerinde, sPSA oranı değerinde %25 referans alındığında kanserli olguların %95'inin tespit edildiği, %20 hastada ise gereksiz biyopsinin engellendiği gösterilmiştir. Partin ve ark⁵⁰ 4-10 ng/mL total PSA aralığındaki olgularda kestirim değeri %20 olarak alındığında ise %29 oranında gereksiz biyopsiden kaçınıldığı gösterilmiştir. Albayrak ve ark⁵¹ transrektal ultrason kılavuzluğunda yapılan prostat biyopsilerinde TPSA sonuçlarına ve sPSA oranlarına göre prostat kanseri saptama oranlarını retrospektif araştırmışlardır. sPSA oranlarına göre %10'un altı ve %10-25 arası değerlerde malignite saptama oranlarını sırasıyla %33.3 ve %20.6 olarak bulmuşlar ve klinik önemli prostat kanserinin saptanmasında kullanılabilecek olan sPSA oranını %12 olarak saptamışlardır.

de Vries ve ark⁵² 2007'de yaptıkları Avrupa Randomize Prostat Kanseri Tarama Çalışmasında serum TPSA değerleri 2-3.9 ng/mL arasında değişen erkeklerde kanser görülme olasılığını %19 olarak belirlemiştir.

proPSA

259 amino asitten oluşan ve 17 amino asit lider dizisi ile sentezlenen preproPSA inaktif bir molekül olan ve 244 amino asit içeren öncü proteini proPSA'ya bölünür. proPSA'dan aktif PSA oluşurken [-2] proPSA, [-4] proPSA ve [-5] proPSA açığa çıkabilir⁵³. [-2] proPSA ve [-4] proPSA formların prostat periferel zon kanserleri ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir^{54,55}.

Malign prostat hastalıklarında sPSA oranının azaldığı ve sPSA'yı oluşturan PSA türevleri içerisinde proPSA fraksiyonunun arttığı gösterilmiştir. Bu nedenle proPSA/sPSA x100 (%proPSA) oranının da tarama amacıyla kullanılabileceği gösterilmiştir^{54,56,57}. Total PSA 2.5-4 ng/mL arasında prostat kanserinin erken tanısında proPSA'nın önemli olduğu gösterilmiştir⁵⁸. Sokoll ve ark⁵⁴ yaptığı çalışmada Prostat Health Index (phi) $([-2]proPSA/free\ PSA) \times \sqrt{PSA}$ 'ın prostat kanserlilerin

%75'inde arttığı, sPSA oranı sonuçlarına göre gereksiz biyopsileri azalttığı bulunmuştur. Catalonia ve ark⁵⁹ yaptığı çalışmada, total PSA 2-10 ng/mL arasında iken TRUS-biopsi yapılan 892 olgunun incelendiği seride proPSA'nın, sPSA oranı ve cPSA'dan daha iyi kanseri öngördüğü saptanmıştır. Gereksiz biyopsileri phi'in %21, sPSA oranının %13, cPSA'nın ise %9 önlediği görülmüştür. Aynı çalışmada, phi'nin yaş ve prostat hacminden etkilenmediği ve Gleason skoru ile ilişkili olduğu ve gereksiz TRUS-biopsisini önleyebileceği de gösterilmiştir. Shore ve ark⁶⁰ çalışmalarında yaşa göre ayarlanmış TPSA değerleri yüksek çıkan 332 kişiden biopsi yapmışlar ve bu kişilerin sPSA, proPSA ve phi değerleri ile patoloji sonuçlarını karşılaştırmışlardır. Phi bu popülasyonda, prostat kanserini tahmin etmede TPSA, sPSA, sPSA oranı ve proPSA değerlerine göre daha üstün bulunmuş ancak agresif prostat kanserini agresif olmayandan ayırt etmede phi'nin üstünlüğü görülmemiştir. Boegemann ve ark⁶¹ 65 yaş ve altındaki TPSA değeri 1,6-8 ng/mL olan kişilerde, agresif ve agresif olmayan prostat kanseri ayırımında TPSA, sPSA oranı, [-2] proPSA % (p2PSA%) ve phi'nin teşhisteki etkisini araştırmışlar ve prostat kanserinin teşhisinde, p2PSA% ve phi'nin, TPSA ve sPSA oranına göre daha iyi tanısal performansa sahip olduğunu göstermişlerdir.

Sonuç ve Tartışma

Giderek hızla yaşlanan dünyamızda, ilerleyen takvim yaşıyla görülme sıklığı artan prostat kanserinin, tanı konulma sayılarının da logaritmik oranda artması beklenmektedir⁶². Aktif taranıp bulunan prostat kanserinin uzun vadeli sağ kalım üzerine etkileri belirsizdir ve bu durum cinsel disfonksiyon ve üriner problemleri de beraberinde getirmektedir. Phi prostat kanserinde iyi bir tanısal performansa sahipken agresif prostat kanserinin tanısında sensitivitesi ve spesifitesi yüksek bir belirteç arayışı hâlâ devam etmektedir. Mevcut rutin pratikte kullanılan PSA testinin güncel ve farklı diğer testlerle birleştirilmesi, yazılım verileri kullanılarak karar sınır eşik değerleri hakkında daha ayrıntılı bilgi sunulması, ölçüm

metotlarının yenilenmesi ile hassasiyetinin artırılması gibi değişimler hastaya verilecek yararı arttırabilir.

Tablo 1. Prostat Kanseri Taramasında Derneklerin Önerileri

	Avrupa- EAU	Amerika-USPSTF	Amerika-AUA	Kanada-CUA	Kanada-CUSPTS
45-55 yaş	50 yaşından itibaren tarama önerir. Aile öyküsü olan ve Afrika kökenli Amerikalılara >45 yaşından itibaren tarama önerir.		PSA taraması önermez Yüksek riskli grupta kişisel bazda incelenmesi gerektiğini savunur. (ailede kanser öyküsü, afrika-amerikan ırk vb)	50 yaşından itibaren tarama önerir. Riskli grupta taramanın 45 yaşında başlamasını tavsiye eder.	Hiçbir yaş grubunda TPSA ile prostat kanseri taraması önermez.
55-69 yaş		PSA taramasının kişisel bazda yapılmasını önerir.	PSA taramasını önerir, taramanın en büyük faydasının 55-69 yaş aralığındaki erkeklerde olduğunu savunur.		
>70 yaş	Yaşam beklentisi <15 yıl olan erkeklerin erken tanıdan fayda görmesinin mümkün olmadığını savunur.	PSA ile taramayı önermez	>70 yaş veya 10-15 yıl yaşam beklentisi olmayanlara PSA taraması önermez.	>70 yaş üzerinde ve 10 yıl yaşam beklentisi olmayanlarda PSA taraması önermez.	

EAU: The European Association of Urology, USPSTF: The United States Preventive Services Task Force, AUA: American Urology Association, CUA: Canadian Urological Association, CUSPTS: Canadian United States Preventive Task Force

Referanslar

1. Sitar ME. Asymmetric dimethylarginine and its relation as a biomarker in nephrologic diseases. *Biomarker insights*. 2016;11:BMI. S38434.
2. Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers? *Current Opinion in HIV and AIDS*. 2010;5(6):463.
3. David MK LS. Prostate Specific Antigen. 2020; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557495/>. Accessed November, 2020.
4. Hara M, Koyanagi Y, Inoue T, Fukuyama T. Some physico-chemical characteristics of"-seminoprotein", an antigenic component specific for human seminal plasma. Forensic immunological study of body fluids and secretion. VII. *Nihon hoigaku zasshi= The Japanese journal of legal medicine*. 1971;25(4):322.
5. Wang M, Valenzuela L, Murphy G, Chu T. Purification of a human prostate specific antigen. *Investigative urology*. 1979;17(2):159-163.
6. Çetinkaya M, Erdoğan Ö, Deliktaş H, Şahin H. PROSTAT SPESİFİK ANTİJEN (PSA). *Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Dergisi*.2(2):67-77.
7. Siegel RL MK, Jemal A. . Cancer statistics, 2020. *Cancer J Clin*. 2020;70(1):7-30.
8. Plata BA, Concepcion MT. Prostate cancer epidemiology. *Archivos espanoles de urologia*. 2014;67(5):373.
9. Yousef GM, Diamandis EP. The new human tissue kallikrein gene family: structure, function, and association to disease. *Endocrine reviews*. 2001;22(2):184-204.
10. Lilja H, Oldbring J, Rannevik G, Laurell C. Seminal vesicle-secreted proteins and their reactions during gelation and liquefaction of human semen. *The Journal of clinical investigation*. 1987;80(2):281-285.
11. Mcgee RS, Herr JC. Human Seminal Vesicle-Specific Antigen is a Substrate for Prostate-Specific Antigen (or P-30). *Biology of reproduction*. 1988;39(2):499-510.
12. Kumar A, Mikolajczyk SD, Goel AS, Millar LS, Saedi MS. Expression of pro form of prostate-specific antigen by mammalian cells and its conversion to mature, active form by human kallikrein 2. *Cancer research*. 1997;57(15):3111-3114.

13. Lövgren J, Rajakoski K, Karp M, Lundwall Å, Lilja H. Activation of the zymogen form of prostate-specific antigen by human glandular kallikrein 2. *Biochemical and biophysical research communications*. 1997;238(2):549-555.
14. Takayama TK, Fujikawa K, Davie EW. Characterization of the precursor of prostate-specific antigen Activation by trypsin and by human glandular kallikrein. *Journal of Biological Chemistry*. 1997;272(34):21582-21588.
15. CHRISTENSSON A, LILJA H. Complex formation between protein C inhibitor and prostate-specific antigen in vitro and in human semen. *European journal of Biochemistry*. 1994;220(1):45-53.
16. Mikolajczyk SD, Millar LS, Marker KM, et al. Seminal plasma contains "BPSA," a molecular form of prostate-specific antigen that is associated with benign prostatic hyperplasia. *The Prostate*. 2000;45(3):271-276.
17. Zhang W-M, Leinonen J, Kalkkinen N, Dowell B, Stenman U-H. Purification and characterization of different molecular forms of prostate-specific antigen in human seminal fluid. *Clinical chemistry*. 1995;41(11):1567-1573.
18. Mikolajczyk SD, Millar LS, Wang TJ, et al. "BPSA," a specific molecular form of free prostate-specific antigen, is found predominantly in the transition zone of patients with nodular benign prostatic hyperplasia. *Urology*. 2000;55(1):41-45.
19. Chen Z, Chen H, Stamey TA. Prostate specific antigen in benign prostatic hyperplasia: purification and characterization. *The Journal of urology*. 1997;157(6):2166-2170.
20. Wang TJ, Slawin KM, Rittenhouse HG, Millar LS, Mikolajczyk SD. Benign prostatic hyperplasia-associated prostate-specific antigen (BPSA) shows unique immunoreactivity with anti-PSA monoclonal antibodies. *European journal of biochemistry*. 2000;267(13):4040-4045.
21. Lilja H, Christensson A, Dahlén U, et al. Prostate-specific antigen in serum occurs predominantly in complex with alpha 1-antichymotrypsin. *Clinical chemistry*. 1991;37(9):1618-1625.
22. Stenman U-H, Leinonen J, Alfthan H, Rannikko S, Tuhkanen K, Alfthan O. A complex between prostate-specific antigen and α 1-antichymotrypsin is the major form of prostate-specific antigen in serum of patients with prostatic cancer: assay of the complex improves clinical sensitivity for cancer. *Cancer research*. 1991;51(1):222-226.

23. Balk SP, Ko Y-J, Bubley GJ. Biology of prostate-specific antigen. *Journal of clinical oncology*. 2003;21(2):383-391.
24. Pruthi R. The dynamics of prostate-specific antigen in benign and malignant diseases of the prostate. *BJU international*. 2000;86(6):652-658.
25. Bjork T, Abrahamsson P, Lilja H, Petersson K, Cockett A. Rates of clearance of free and complexed forms of PSA in serum after radical prostatectomy and transurethral microwave therapy. *J Urol*. 1995;153:295A.
26. Oesterling JE, Jacobsen SJ, Chute CG, et al. Serum prostate-specific antigen in a community-based population of healthy men: establishment of age-specific reference ranges. *Jama*. 1993;270(7):860-864.
27. Monne M, Croce CM, Yu H, Diamandis EP. Molecular characterization of prostate-specific antigen messenger RNA expressed in breast tumors. *Cancer research*. 1994;54(24):6344-6347.
28. Killian CS, Corral DA, Kawinski E, Constantine R. Mitogenic response of osteoblast cells to prostate-specific antigen suggests an activation of latent TGF- β and a proteolytic modulation of cell adhesion receptors. *Biochemical and biophysical research communications*. 1993;192(2):940-947.
29. Cohen P, Graves H, Peehl DM, Kamarei M, Giudice LC, Rosenfeld R. Prostate-specific antigen (PSA) is an insulin-like growth factor binding protein-3 protease found in seminal plasma. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1992;75(4):1046-1053.
30. Iwamura M, Hellman J, Cockett AT, Lilja H, Gershagen S. Alteration of the hormonal bioactivity of parathyroid hormone-related protein (PTHrP) as a result of limited proteolysis by prostate-specific antigen. *Urology*. 1996;48(2):317-325.
31. Fortier AH, Nelson BJ, Grella DK, Holaday JW. Antiangiogenic activity of prostate-specific antigen. *Journal of the National Cancer Institute*. 1999;91(19):1635-1640.
32. Stamey TA, Yang N, Hay AR, McNeal JE, Freiha FS, Redwine E. Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *New England Journal of Medicine*. 1987;317(15):909-916.
33. Jahn JL, Giovannucci EL, Stampfer MJ. The high prevalence of undiagnosed prostate cancer at autopsy: implications for epidemiology and treatment of prostate cancer in the Prostate-

specific Antigen-era. *International journal of cancer*. 2015;137(12):2795-2802.

34. Smith Jr JA. Prevalence of prostate cancer among men with a prostate-specific antigen level \leq 4.0 ng per milliliter: Thompson IM, Pauler DK, Goodman PJ, Tangen CM, Lucia MS, Parnes HL, Minasian LM, Ford LG, Lippman SM, Crawford ED, Crowley JJ, Coltman CA Jr., Division of Urology, Department of Surgery, University of Texas Health Science Center at San Antonio, San Antonio, TX. *N Engl J Med* 2004; 350: 2239–46. Paper presented at: Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations 2004.
35. Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, et al. Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer. *New England Journal of Medicine*. 1991;324(17):1156-1161.
36. PC. A. Prostate cancer screening with prostate-specific antigen: Where are we going? *Cancer* 2018;124(3):453-455.
37. Leal J, Welton NJ, Martin RM, et al. Estimating the sensitivity of a prostate cancer screening programme for different PSA cut-off levels: A UK case study. *Cancer Epidemiology*. 2018;52:99-105.
38. Moyer VA. Screening for prostate cancer: US Preventive Services Task Force recommendation statement. *Annals of internal medicine*. 2012;157(2):120-134.
39. Grossman DC, Curry SJ, Owens DK, et al. Screening for prostate cancer: US Preventive Services Task Force recommendation statement. *Jama*. 2018;319(18):1901-1913.
40. Gandaglia G, Albers P, Abrahamsson P-A, et al. Structured population-based prostate-specific antigen screening for prostate cancer: the European Association of Urology position in 2019. *European urology*. 2019;76(2):142-150.
41. Martin RM, Donovan JL, Turner EL, et al. Effect of a low-intensity PSA-based screening intervention on prostate cancer mortality: the CAP randomized clinical trial. *Jama*. 2018;319(9):883-895.
42. Vickers AJ, Sjoberg DD, Ulmert D, et al. Empirical estimates of prostate cancer overdiagnosis by age and prostate-specific antigen. *BMC medicine*. 2014;12(1):26.
43. Loeb S, Bjurlin MA, Nicholson J, et al. Overdiagnosis and overtreatment of prostate cancer. *European urology*. 2014;65(6):1046-1055.

44. Moyer VA. Screening for lung cancer: US Preventive Services Task Force recommendation statement. *Annals of internal medicine*. 2014;160(5):330-338.
45. Carter HB, Albertsen PC, Barry MJ, et al. Early detection of prostate cancer: AUA Guideline. *The Journal of urology*. 2013;190(2):419-426.
46. Rendon RA, Mason RJ, Marzouk K, et al. Canadian Urological Association recommendations on prostate cancer screening and early diagnosis. *Canadian Urological Association Journal*. 2017;11(10):298.
47. Vickers AJ, Gupta A, Savage CJ, et al. A panel of kallikrein marker predicts prostate cancer in a large, population-based cohort followed for 15 years without screening. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2011;20(2):255-261.
48. Vickers AJ, Cronin AM, Roobol MJ, et al. A four-kallikrein panel predicts prostate cancer in men with recent screening: data from the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer, Rotterdam. *Clinical Cancer Research*. 2010;16(12):3232-3239.
49. Catalona WJ, Partin AW, Slawin KM, et al. Use of the percentage of free prostate-specific antigen to enhance differentiation of prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial. *Jama*. 1998;279(19):1542-1547.
50. Partin AW, Catalona WJ, Southwick PC, Subong EN, Gasior GH, Chan DW. Analysis of percent free prostate-specific antigen (PSA) for prostate cancer detection: influence of total PSA, prostate volume, and age. *Urology*. 1996;48(6):55-61.
51. Albayrak S, TANIK S, Zengin K, BAKIRTAŞ H, İmamoğlu MA, Gürdal M. Hangi prostat spesifik antijen değeri önemli? *Yeni Üroloji Dergisi*. 9(3):38-43.
52. de Vries SH, Postma R, Raaijmakers R, et al. Overall and disease-specific survival of patients with screen-detected prostate cancer in the European randomized study of screening for prostate cancer, section Rotterdam. *European urology*. 2007;51(2):366-374.
53. Akbayır S, Muşlu N. Prostat Kanseri Tanısında Prostat Spesifik Antijen ve Türevleri. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*. 2016;14(3):189-204.
54. Sokoll LJ, Chan DW, Mikolajczyk SD, et al. Proenzyme PSA for the early detection of prostate cancer in the 2.5–4.0 ng/ml total PSA range: preliminary analysis. *Urology*. 2003;61(2):274-276.

55. Ito K, Miyakubo M, Sekine Y, et al. Diagnostic significance of [- 2] pro-PSA and prostate dimension-adjusted PSA-related indices in men with total PSA in the 2.0–10.0 ng/mL range. *World journal of urology*. 2013;31(2):305-311.
56. Lazzeri M, Haese A, De La Taille A, et al. Serum isoform [- 2] proPSA derivatives significantly improve prediction of prostate cancer at initial biopsy in a total PSA range of 2–10 ng/ml: a multicentric European study. *European urology*. 2013;63(6):986-994.
57. Catalona WJ, Partin AW, Sanda MG, et al. A multicenter study of [- 2] pro-prostate specific antigen combined with prostate specific antigen and free prostate specific antigen for prostate cancer detection in the 2.0 to 10.0 ng/ml prostate specific antigen range. *The Journal of urology*. 2011;185(5):1650-1655.
58. Khan MA, Partin AW, Rittenhouse HG, et al. Evaluation of proprostate specific antigen for early detection of prostate cancer in men with a total prostate specific antigen range of 4.0 to 10.0 ng/ml. *The Journal of urology*. 2003;170(3):723-726.
59. Catalona WJ, Bartsch G, Rittenhouse HG, et al. Serum pro prostate specific antigen improves cancer detection compared to free and complexed prostate specific antigen in men with prostate specific antigen 2 to 4 ng/ml. *The Journal of urology*. 2003;170(6):2181-2185.
60. Shore ND, Pieczonka CM, Henderson RJ, et al. A comparison of prostate health index, total PSA,% free PSA, and proPSA in a contemporary US population—The MiCheck-01 prospective trial. Paper presented at: Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations2020.
61. Boegemann M, Stephan C, Cammann H, et al. The percentage of prostate-specific antigen (PSA) isoform [-2] pro PSA and the Prostate Health Index improve the diagnostic accuracy for clinically relevant prostate cancer at initial and repeat biopsy compared with total PSA and percentage free PSA in men aged ≤ 65 years. *BJU international*. 2016;117(1):72-79.
62. Pilleron S, Soto-Perez-de-Celis E, Vignat J, et al. Estimated global cancer incidence in the oldest adults in 2018 and projections to 2050. *International journal of cancer*. 2020.


BÖLÜM III

DIABETES MELLİTUS İÇİN TANI YÖNTEMLERİ

Diagnose Methods of Diabetes Mellitus

Elif Menekşe

*(Biochemistry Specialist, MD.), Amasya Sabuncuoğlu Şerefeddin Training and Research
Hospital e-mail: elifzehra2008@hotmail.com*

 ORCID 0000-0001-7300-5636

GİRİŞ

Diabetes mellitus; pankreas insülin sekresyonunun mutlak veya rölatif yetersizliği veya insülin etkisizliği ya da insülin molekülündeki yapısal bozukluklar sonucu gelişen, hiperglisemi ve glukagon yüksekliği ile karakterize; karbonhidrat, protein ve lipid metabolizmalarının bozukluğu ile seyreden, akut metabolik ve kronik dejeneratif komplikasyonlara neden olan bir sendromdur. Genetik, çevresel faktörler ve yaşam tarzı değişikliklerinin etkileşimi nedeniyle insülin salgılanması, insülin etkisi veya her ikisinde oluşmuş defektlerden kaynaklanır. Son derece ciddi ve ilerleyici bir hastalık olmasının yanı sıra, kontrol sağlanamadığında akut ve kronik komplikasyonlara yol açıp morbidite ve mortaliteyi olumsuz etkilemesiyle hem birey hem de toplum için büyük bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Hastalığın, akut komplikasyon riskini azaltmak ve uzun dönem kronik (retinal, renal, nöral, kardiyak ve vasküler) ve tedavi maliyetini artıran komplikasyonlarından korunmak için sağlık çalışanları ve hastaların sürekli eğitimi şarttır. Vücudumuzdaki

glukoz metabolizmasını düzenlemekle görevli insulin hormonu pankreas dediğimiz organımız tarafından salgılanır.

PANKREAS BEZİ

Yunanca pan (tüm, bütün) ve kreas (et) kelimelerinin birleşmesinden oluşmuştur. Pankreas; bursa omentalis, mide ve colon transversum'un arkasında bulunur ve duodenumun oluşturduğu kavsin içinden solda dalağa kadar transvers olarak uzanır. Sekonder retroperitoneal yerleşimli olup, karın arka duvarı boyunca, columna vertebralis'in önünde L2 vertebra hizasında yer alır. Yumuşak, sarımsak - hafif kırmızımsı renkte, 12-15 cm uzunluğunda, 3 cm genişliğinde, 1-1,5 cm kalınlığında ve 70-100 g ağırlığında olup, caput, collum, corpus ve cauda olmak üzere dört kısımdan oluşan bir organdır. Ayrıca processus uncinatus adlı bir de aksesuar lobu bulunmaktadır. Pankreasın %98-99 gibi büyük bir kısmı ekzokrin salgı yapan asiner hücreler (%80) ile boşaltım kanallarından (%18) oluşurken, yalnız % 1-2 gibi küçük bir kısmı endokrin salgı yapan Langerhans adacıklarından oluşan karışık yapıda bir bezdir. Endokrin pankreas (*Langerhans adacıkları*) alfa, beta ve delta olmak üzere, boyanma özellikleri ve morfolojileri ile birbirinden ayırt edilebilen üç hücre tipi yanında, gama ve enterokromafin (*EC*) adı verilen hücreleri de içerir. Pankreasta yaklaşık 1, 5 milyon adacık bulunmaktadır. İnsülin, pankreastan doğrudan kana aktarılır. Langerhans adacıkları tüm organa dağılmış olmasına rağmen, bezin kuyruk kısmında daha yoğun olup pankreas ağırlığının % 1-2' sini teşkil ederler. Sayıları 1-2 milyon kadardır. Herbir adacık 0,1-0,2 mm çapındadır. Langerhans adacıklarında bulunan hücrelerden insülin (beta hücreleri), glukagon (alfa hücreleri), somatostatin (delta hücreleri) ve pankreatik polipeptid (PP hücreleri) salgılanır. Pankreas, dalak, karaciğer ve üst mezenter atardamarlarıyla beslenir. Pankreas'ın boşaltıcı kanalları, Wirsung kanalı ve Santorini kanalıdır.

İNSÜLİN

Molekül ağırlığı 11.500 dür. Pankreasın beta hücrelerinden preprohormon olarak salgılanır daha sonra 9.000 molekül ağırlığı olan proinsüline parçalanır. Proinsülinin yapısında daha sonra aktif etki gösterecek insülin ve Cpeptid molekülleri vardır. C peptid bağlayıcı peptid olarak görev yapar. Aktif insülin birbirine disülfid bağları ile bağlı iki peptid zincirinden oluşur. A zincirinde 21 aminoasit B zinciri 30 amino asid içerir. N terminal amino asidi fenilalanin C terminal amino asidi treonindir. Aktif insülin toplam 51 aminoasit içerir. İnsülin eksikliği ya da duyarsızlığı hiperglisemi ile sonuçlanır. Bu hipergliseminin nedeni başlıca kas ve yağ dokularına glukoz transportunun olamaması ve karaciğerden glukoz salınımının artmasıdır. İnsülinin başlıca etki mekanizmaları :

A-Karbonhidrat metabolizmasına etkileri

- ✓ Glukoz düzeyini azaltmaya yöneliktir (hipoglisemik etki)
- ✓ Glukozun hücre içine girişini sağlar ve hücre içinde kullanımını etkiler.
- ✓ Karaciğerde glikolizi hızlandırır, glikojen yapımını uyarır, glikoneogenezi inhibe eder. Glikojen depolanmasını artırır.
- ✓ Hepatik glukoz çıkışını baskılar.
- ✓ Periferik ve hepatic insülin duyarlılığını artırır.

B-Lipit metabolizmasına etkisi

- ✓ Karaciğer ve yağ dokuda lipolizi engeller, lipogenezi uyarır.

C-Protein ve nükleik asit metabolizması üzerine etkileri

- ✓ Protein sentezini uyarır(anabolik etki),yıkımını baskılar
- ✓ RNA ve DNA sentezini artırır,büyümeyi uyarır.

VÜCUT SIVILARINDA GLUKOZ ÖLÇÜLMESİ YÖNTEMLERİ

Enzimatik yöntemlerle yapılan ölçümlerde yetişkinler için plazma veya serum glukoz değerleri 80-110 mg/dl arasında değişir.Tam kanda bu değerler 60-90 mg/dl dir. Kan glukoz değerlerinde cinsiyet farklılığı yoktur. Açlık durumlarında venöz, kapiller ve arteryel kandaki glukoz seviyeleri arasında çok önemli fark yoktur. Fakat vücuda glukoz alımından sonra kapiller kandaki glukoz miktarı diğerlerine göre biraz yüksektir.Tokluk kan glukozu ya da glukoz toleransı ölçülürken bu nokta dikkate alınmalıdır.

Glukoz ölçüm yöntemleri

- ✓ Enzimatik yöntemler
- ✓ Oksido-Redüksiyon yöntemi
- ✓ Somogyi-Nelson Yöntemi
- ✓ O-Toluidin Yöntemi
- ✓ Kondensasyon Yöntemi

En sık kullanılan yöntem enzimatik yöntemdir. Bu yöntemlerle sıklıkla kullanılan enzimler glukoz oksidaz, heksokinaz, glukoz-6-fasfat dehidrogenaz dır.

Glukoz oksidaz metodu (enzimatik kolorimetrik metot): Glukoz oksidaz enzimi glukozun glukonolakton ve hidrojen peroksida dönüşümünü sağlar.Bu ortama peroksidaz ve kromojenik oksijen alıcısı

olarak O-dianasin gibi madde ilave edildiğinde renkli kompleks meydana gelir. Bu renkli kompleksin absorbanı spektrometrede ölçülür, meydana gelen renk ortamdaki glukoz konsantrasyonu ile orantılıdır. Peroksidaz içeren ikinci reaksiyonda diğer çeşitli indirgenler bu reaksiyondan etkilenir bunlar arasında ürik asit, C vitamini, bilirubin, glutatyon sayılabilir. Analiz ortamında bu tür indirgenlerin etkisi önlenmediği takdirde bu moleküllerin de indirgeyici etkisi ile sonuç daha düşük çıkacak ve gerçeği yansıtmayacaktır. İdrar glukoz ölçümünde ürik asit nedeniyle kullanılmaz ve kreatininden gelen interferans azaltılmıştır. Hekzokinaz metodunda (enzimatik ultraviyole metot) glukoz, heksokinazın katalize ettiği reaksiyonla ATP tarafından fosforile edilerek glukoz-6-fosfata dönüştürülür. Glukoz-6-fosfat da glukoz-6-fosfat dehidrogenaz tarafından 6-fosfoglukonata okside olur; aynı zamanda NAD^+ , $NADH$ 'ye indirgenir. $NADH$ oluşumundan dolayı meydana gelen absorban artışı 340 nm'de okunur. Glukoz konsantrasyonu, $NADH$ 'ın milimolar absorpsiyon katsayısı kullanılarak hesaplanır. Metot, 500 mg/dL'ye kadar lineerdir.

DİABETES MELLİTUS TİPLERİ

I. Tip 1 Diyabet: Genellikle mutlak insülin noksanlığına sebep olan b-hücre yıkımı vardır.

II. Tip 2 Diyabet: İnsülin direnci zemininde ilerleyici insülin sekresyon defekti ile karakterizedir.

III. Gestasyonel diabetes mellitus (GDM): Gebelik sırasında ortaya çıkan ve genellikle doğumla birlikte düzelen diyabet formudur.

IV. Diğer spesifik diyabet tipleri

a. β -hücre fonksiyonlarının genetik defektları: Kromozom 12,7,20,13,17,2, mitokondriyal DNA v.b

b. İnsülinin etkisindeki genetik defektler: Leprechaunism, Rabson-Mendenhall sendromu, Lipoatrofik diyabet, Tip A insülin direnci

c. Pankreasın ekzokrin doku hastalıkları: Fibrokalkülöz pankreatopati, Hemokromatoz, Kistik fibroz, Neoplazi, Pankreatit, Travma/pankreatektomi.

d. Endokrinopatiler: Akromegali, Aldosteronoma, Cushing sendromu, Feokromositom, Hipertiroidi, Somatostatinoma, Glukagonoma,

e. İlaç veya kimyasal ajanlar: Atipik anti-psikotikler, Anti-viral ilaçlar, b-adrenerjik agonistler, Diazoksid, Fenitoin, Glukokortikoidler, Tiroid hormonu, Pentamidin, Nikotinik asit

f. İmmun aracılıklı nadir diyabet formları: Anti insülin-reseptör antikolları, Stiff-man sendromu ve diğerleri

g. Diyabetle ilişkili genetik sendromlar: Friedreich tipi ataksi, Alström sendromu, Down sendromu, Huntington korea, Klinefelter sendromu, Laurence-Moon-Biedl sendromu, Miyotonik distrofi, Porfiria, Prader-Willi sendromu, Turner sendromu, Wolfram (DIDMOAD) sendromu

h. İnfeksiyonlar: Konjenital rubella, Sitomegalovirus, Koksaki B, adenovirus, kabakulak

I. TİP 1 DM

Bu tip DM lu kişilerde yüksek kan glukoz değerleri ve hastalığın klinik belirtileri vardır. DM lu hastaların yaklaşık %10 nunu oluşturur, insülin salınımı hiç yoktur veya çok azdır. Genellikle 30 yaşından önce başlar. Okul öncesi (6 yaş civarı), puberte (13 yaş civarı) ve geç adolesan dönemde (20 yaş civarı) üç pik görülür. Ancak son 20 yıldır daha ileri yaşlarda ortaya çıkabilen 'Latent otoimmün diyabet' (LADA: Latent

Autoimmune Diabetes in Adults) formunun, çocukluk çağı (<15 yaş altı) tip 1 diyabete yakın oranda görüldüğü bildirilmektedir. Bazı otörler hastalığın asıl özelliği olan yavaş seyrine vurgu yapmaması, gizli diyabet ifadesinin yanıltıcı olması gerekçesi ile LADA terminolojisinin kullanılmamasını önermektedirler. Hiperglisemiye ilişkin (ağız kuruluğu, polidipsi, açlık hissi, poliüri, kilo kaybı ve yorgunluk gibi) semptom ve bulgular aniden ortaya çıkar. Hastalar sıklıkla zayıf ya da normal kilodadır. Bununla beraber, son yıllarda fenotip açısından insülin direnci hakim tip 2 diyabete benzeyen, kilolu/obez kişilerde görülen ve 'Duble diyabet', 'Hibrid diyabet', 'Dual diyabet' veya 'Tip 3 diyabet' olarak adlandırılan tip 1 diyabet formu da tanımlanmıştır. 'Duble diyabet' genellikle Tip 2 Diyabet için genetik yatkınlığı olan Tip 1 diyabetli bireylerde, özellikle insülin tedavisi sonrasında kontrolsüz kilo alımı olunca kendisini belli eder. Tip 1 diyabetli bireyler diyabetik ketoasidoza daha yatkındır.

Fizyopatoloji / Etiyoloji

Tip 1 diyabette mutlak insülin eksikliği vardır. Hastaların %90'ında otoimmün, %10 kadarında ise non- otoimmün β -hücre yıkımı söz konusudur. Daha önce kullanılan tip1A (otoimmün) ve tip 1B (immün olmayan) diyabet terminolojisi klinik olarak yardımcı olmaması nedeni ile artık pek kullanılmamaktadır. Genetik yatkınlığı (riskli doku grupları) bulunan kişilerde çevresel tetikleyici faktörlerin (virüsler, toksinler, emosyonel stres) etkisiyle otoimmünite tetiklenir ve ilerleyici β -hücre hasarı başlar. β -hücre rezervi %80-90 oranında azaldığı zaman klinik diyabet semptomları ortaya çıkar. Otoimmünitenin başladığı evre 1 ve evre 2 genellikle asemptomatikken, evre 3'de hiperglisemi ve klinik semptomlar belirginleşir. Evre 3 başlangıcında kanda adacık otoantikörleri pozitif bulunur. Bu antikörler kısa süre pozitif kalır ve birinci yıldan sonra kaybolmaya başlar. Tip 1 diyabet klinik olarak akut başladığı için, tanı

esnasında HbA1C yüksek olmayabilir. Bu sebeple tip 1 diyabet tanısında HbA1C den ziyade APG yüksekliği dikkate alınmalıdır.

II. TİP 2 DM

DM un en yaygın olduğu tipidir(%90). Bu tip hastalarda kanda yeterli miktarda insülin vardır. Hatta bu insülin miktarı normalden daha fazla olduğu halde kan glukoz düzeyi yüksektir. Burada hücrelerde insüline karşı bir rezistans gelişmiştir. İnsülin direnci, dolaşımdaki insüline karşı biyokimyasal yanıtın azalması şeklinde tanımlanabilir. Açlık insülin düzeyi ve glukoz alımından sonraki tokluktaki insülin düzeyi insülin direnci hakkında indirekt bilgi verebilir. Metabolik olarak insülin direnci karaciğerde kontrolsüz glukoz sentezine kas ve yağ dokusunda glukozun hücreye girmesinin engellenmesine sebep olur. Çoğunlukla 30 yaş sonrası ortaya çıkar, ancak obezite artışının sonucu olarak özellikle son 10-15 yılda çocukluk veya adolesan çağlarında ortaya çıkan tip 2 diyabet vakaları artmaya başlamıştır. Güçlü bir genetik yatkınlık söz konusudur. Ailede genetik yoğunluk arttıkça, sonraki nesillerde diyabet riski artar ve hastalık daha erken yaşlarda görülmeye başlar. Hastalar sıklıkla obez veya kiloludur [beden kitle indeksi (BKİ) >25 kg/m²]. Hastalık genellikle sinsi başlangıçlıdır. Pek çok hastada başlangıçta hiçbir semptom yoktur. Bazı hastalar ise bulanık görme, el ve ayaklarda uyuşma ve karıncalanma, ayak ağrıları, ekrarlayan mantar infeksiyonları veya yara iyileşmesinde gecikme nedeniyle başvurabilir. Başlangıçta Diyabetik Keto Asidoz (DKA)'ya yatkın değildir. Ancak uzun süreli hiperglisemik seyirde veya β-hücre rezervinin azaldığı ileri dönemlerde DKA görülebilir. Son yıllarda genç-erişkin yaşta DKA ile başlayan tip 2 diyabet vakaları da artmıştır ve bu durum ketoza eğilimli diyabet (ketosis-prone diabetes; KPD) olarak adlandırılır.

Fizyopatoloji / Etiyoloji

İnsülin direnci

Hücre-reseptör defektine (post-reseptör düzeyde) bağlı olarak organizmanın ürettiği insülinin kullanımında ortaya çıkan sorunlar nedeniyle glukoz hücre içine absorbe edilip enerji olarak kullanılamaz (hücre içi hipoglisemi vardır). Periferik dokularda (özellikle kas ve yağ dokusunda) insülinin etkisi yetersiz olduğundan glukoz tutulumu (uptake) azalmıştır.

İnsülin sekresyonunda azalma

Pankreas, kan glukoz düzeyine yanıt olarak yeteri kadar insülin salgılayamaz. Karaciğerde glukoz yapımı aşırı derecede artmıştır. Hepatik glukoz yapımı artışından insülin sekresyon defekti ve sabaha karşı daha aktif olan kontr-insülinler sistem hormonları (kortizol, büyüme hormonu ve adrenalin; Dawn fenomeni) sorumludur. Genellikle insülin direnci tip 2 diyabetin öncesinden başlayarak uzun yıllar tabloya hakim olmakta, insülin sekresyonunda ciddi azalma ise diyabetin ileri dönemlerinde veya araya giren hastalıklar sırasında ön plana geçmektedir.

İnkretin hormon yetersizliği

İnkretinler gıda alımına cevap olarak gastrointestinal sistemdeki özel hücrelerden salgılanan ve insülin sekresyonunu stimüle eden hormonlardır. İnkretin etkisi gıda alımından sonraki toplam insülin salınımının yaklaşık %60'ından sorumludur. İnkretin hormon yetersizliğinin tip 2 diyabet etyopatogenezinde nedensel bir rol oynayabileceği düşünülmektedir. Bunların dışında; pankreas adacık hücrelerinden glukagon salınımının artması, lipolizin artması, glukoz geri emiliminin artması ve nörotransmitter disfonksiyonu da patofizyolojide rol

oyun. Ek olarak son yıllarda pek çok çalışma bağırsak mikrobiyomunu tip 2 diyabet ve obezite gibi yaygın hastalıkların gelişimi ile ilişkilendirmiştir.

III. GESTASYONEL DM

Önceden DM u olmayan ilk defa gebelik sırasında DM tanısı konan kişiler bu gruba girer. Gebelik sırasında DM tanısı konan kadınların daha sonraki yıllarda DM olma riskinin fazla olduğu bildirilmiştir. Çoğunlukla gebeliğin ikinci yarısında ortaya çıkan asemptomatik olan ve annenin yaşamını tehdit etmeyen bu tür DM da yenidoğanda ,hipoglisemi ,hipokalsemi gibi tabloların görülme riski vardır. 25 yaşından küçük, gebelikten önceki vücut ağırlığı normal olan, birinci derece akrabalarında diyabet olmayan, anormal glukoz tolerans öyküsü olmayan, kötü gebelik öyküsü olmayan gebeler GDM riski düşük kabul edilir. GDM riski orta derecede olan diğer gebelere gebeliğin 24-28. haftaları arasında test yapılır. Riskli kadınlarda ilk prenatal vizitte GDM veya gestasyonel glukoz intoleransı araştırılmalıdır. Genellikle asemptomatik bir durumdur. Doğumla birlikte sıklıkla düzelir, ancak daha sonraki gebeliklerde tekrarlar. Daha önceden bilinen diyabeti olmayan tüm asemptomatik gebelerde, ilk prenatal muayeneden itibaren risk değerlendirmesi yapılmalı ve APG ölçülmelidir. APG ≥ 126 mg/dl olan gebelerde daha sonraki gün APG tekrarlanmalı ya da HbA1C veya OGTT ile tanı doğrulanmalıdır. Eğer APG veya OGTT 2.st PG ya da HbA1C ile tanı doğrulanırsa daha önceden mevcut ancak tanı almamış diyabet (pregestasyonel DM) olarak kabul edilmeli ve tedavi edilmelidir. Gebeliğin başlangıcında diyabet düşündürülen ozmotik (poliüri, polidipsi vb.) semptomları olan gebelerde günün herhangi bir saatinde ölçülen kan glukozu ≥ 200 mg/dl ise pregestasyonel diyabet olarak kabul edilmeli ve tedaviye başlanmalıdır. Fetüste makrozomi ve buna bağlı riskleri azaltmak, anne adayının sağlığını korumak ve ayrıca ileride gelişebilecek tip 2 diyabet ve insülin rezistansı açısından riskli kadınları izleyebilmek için

tüm gebelerde 24-28. Haftalarda GDM araştırması yapılmalıdır. Gebeliğin başlangıcında APG prediyabetik sınırlarda (APG 100-125 mg/dl) bulunduğu, tercihen OGTT (veya HbA1C) yapılarak gebe olmayanlardaki gibi yorumlanmalıdır. Bu durumda OGTT 2.st PG \geq 200 mg/dl (veya A1C \geq %6.5) ise 'pregestasyonel diyabet' tanısı konulur. Buna karşılık OGTT 2.st PG 140-199 mg/dl (veya HbA1C %5.7-6.4) ise pregestasyonel prediyabet kabul edilmeli ve diyabetli gebeler gibi izlenmelidir. Eğer OGTT veya HbA1C testi normal glukoz metabolizmasını gösteriyor ise daha sonraki trimesterde standart GDM tarama testi protokolü uygulanmalıdır.

GDM araştırması iki aşamalı ya da tek aşamalı olarak yapılabilir.

Tek basamakta tanı için 100 g veya 75 g glukoz ile OGTT yapılır.

İki basamakta tanı için önce 50 g oral glukoz yüklemesi (açlık şart değil) yapılır ve 1 saat sonra glukoz ölçümü yapılır. 50 g glukoz yüklemeden 1 saat sonra ölçülen plazma glukoz konsantrasyonu 140 mg/dL ise 100 g veya 75 g glukoz ile OGTT yapılır.

GDM için risk faktörleri:

Birinci derecedeki akrabalarda DM öyküsü, obezite, ileri anne yaşı, glukozüri, bir önceki bebeğin 4 kg dan fazla olması GDM riskinin yüksek olduğunu gösterir ve Tip 2 diyabet için önemli bir risk faktörüdür.

Fizyopatoloji / Etiyoloji

- ❖ Gebeliğe bağlı insülin direnci
- ❖ Genetik yatkınlık

Gebelik sonrası tarama: GDM tanısı almış kadınlarda, doğumdan sonra 4-12. Haftalarda standart 75 g glukozlu, 2 saatlik OGTT

yapılmalı ve standart kriterlere göre yorumlanmalıdır. ADA ve WHO, gestasyonel diyabetin (GDM) tanısı için OGTT'ni önermektedirler.

DIABETES MELLİTUS TANI PARAMETRELERİ

Plazma glukoz

Şüpheli ya da diyabete ilişkin semptom varlığında Açlık Plazma Glukozu (APG), rastgele Plazma Glukozu (PG) ve/veya HbA1C tetkiki yapılarak tanı konulabilir. Çok ağır diyabet semptomlarının bulunduğu durumlar dışında, tanının daha sonraki bir gün, aynı (veya farklı bir) yöntemle doğrulanması gerekir. Eğer başlangıçta iki farklı test yapılmış ve test sonuçları uyumsuz ise sonucu eşik değerinin üstünde çıkan test tekrarlanmalı ve sonuç yine aynı şekilde diyagnostik ise diyabet tanısı konulmalıdır. Rastgele PG ölçümü günün herhangi bir zamanında öğünü dikkate almadan yapılan kan şekeri ölçümüdür.

-Açlık plazma glukozunun ≥ 126 mg/dl olması

-Rastgele yapılan ölçümde 200 mg/dl ve üzerindeki değerler,diyabet semptomlarının eşlik ediyorsa diabetes mellitus teşhisine götürür.

-75 gr glukoz ile yapılan OGTT nin 2. Saatindeki plazma glukozunun ≥ 200 mg/dl olması tanıya götürür.

Oral glukoz tolerans testi (OGTT)

OGTT vücudun glukozu kullanabilme ve kandan temizleyebilme yeteneğini gösterir. Diğer yöntemler kullanıldığı halde aşikar diyabet tanısı konulmamış, ancak glukoz metabolizma bozukluğu şüphesi devam eden hastalarda oral glukoz tolerans testi (OGTT) yapılır. APG 100-125 mg/dl olan bireylere 75 g glukozlu standart OGTT uygulanmalı ve 2.st PG düzeyine göre değerlendirilmelidir. Tanı için 75 g glukoz ile standart

OGTT yapılması, en az 8 saat süreyle açlık sonrası sabah ölçülen açlık plazma glukoz (APG) düzeyine dayalı tanı yöntemine göre daha sensitif ve spesifik olmakla birlikte, bu testin aynı kişide günden güne değişkenliğinin yüksek, emek yoğun ve maliyetli olması rutin kullanımını güçleştirmektedir. Diğer taraftan, APG'nin daha kolay uygulanabilmesi ve ucuz olması klinik pratikte kullanımını artırmaktadır. Bununla beraber, OGTT'nin hem diyabet tanısında hem de diyabet ve prediyabet taramasında önemli bir rolü vardır. OGTT açlık plazma glukoz düzeylerinden daha az tekrarlanabilir olsa da prediyabet veya diyabetin tespiti için daha duyarlıdır. Tanı kriterleri venöz plazmada glukoz oksidaz veya hegzokinaz yöntemi ile yapılan ölçümleri baz almaktadır.

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre açlıkta kapiller tam kanın glukoz düzeyi venöz plazmadaki düzeye eşittir, ancak toklukta kapiller kanda glukoz düzeyi plazmadakinden yaklaşık olarak %11 daha düşük kabul edilmektedir. Hematokrite (Hct) bağlı olarak bu fark değişir, Hct %55 olan bir kişide fark %15'e yükselir, buna karşılık Hct %30 olan bir kişide fark %8'e iner. Günlük pratikte OGTT yapılan bazı kişilerde açlık ve 2.st glukoz normal ya da BAG veya bozulmuş glukoz toleransı (BGT) aralıklarında bulunmasına rağmen 2. saatten önceki herhangi bir zaman noktasında PG düzeyinin 200 mg/dl'nin üzerinde olduğu görülmektedir. Bazı akademisyenler tarafından disglisemi olarak adlandırılan bu tablodaki vakaların, tıpkı aşikar diyabet gibi takip edilmesi oldukça yaygın kabul gören bir yaklaşımdır.

- ✓ Tüm yetişkinler -demografik ve klinik özelliklerine uygun olarak- tip 2 diyabet risk faktörleri açısından değerlendirilmelidir
- ✓ 40 yaşından itibaren tüm bireylerde ve BKİ ≥ 25 kg/m² olup diyabet risk faktörleri bulunan bireylerde APG düzeyi ölçülmelidir

✓ İlave risk faktörleri olan kişiler daha erken yaşta ve daha sık aralıklarda APG veya daha önce prediyabet tanısı almış ya da GDM öyküsü olan bireyler OGTT ile değerlendirilmelidir

✓ APG 100-125 mg/dl olan bireylere 75 g glukozlu standart OGTT uygulanmalı ve 2.st PG düzeyine göre değerlendirilmelidir

Oral Glukoz Tolerans Testine Hazırlık ve Testin Yapılması

OGTT sırasında dikkate alınması gerekli bazı kurallar aşağıda belirtilmiştir:

- Testten önce, en az 3 gün yeterli miktarda karbonhidrat (≥ 150 g/gün) alınmalı ve mutad fizik aktivite sürdürülmelidir.

- Test en az 8 saatlik açlık sonrası sabah uygulanır.

- Testten önceki akşam 30-50 g karbonhidrat içeren bir öğün tüketilmesi önerilir.

- Test öncesinde ve sırasında su içilebilir, ancak çay/kahve gibi içecekler veya sigara içilmesine müsaade edilmez.

- Test sırasında kişinin istirahat halinde olması gerekir.

- Karbonhidrat toleransını bozan ilaçların kullanılması, inaktivite ve akut/kronik infeksiyon gibi durumlarda OGTT yapılmamalıdır.

- Açlık kan örneği alındıktan sonra standart olarak 75 g anhidroz glukoz veya 82.5 g glukoz monohidrat 250-300 ml su içinde eritilip 5 dakika içinde içirilir.

- Glukozlu sıvının içilmeye başladığı an, testin başlangıcı kabul edilir. Bu noktadan 2 saat sonraki kan örneği alınır.

- Çocuklarda verilecek glukoz miktarı 1.75 g/kg (maksimum 75 g)'dır.

- Glukoz konsantrasyonu hemen ölçülemeyecekse, kan örneğinin sodyum florürlü (1 ml tam kan örneği için 6 mg) tüplere alınması, hemen santrifüj edilerek plazmanın ayrılması ve glukoz ölçümü yapılmaya kadar dondurulması gerekir.

TABLO 1: Diabetes mellitus ve glukoz metabolizmasının diğer bozukluklarında tanı kriterleri

	Aşık DM	İzole BAG	İzole BGT	BAG + BGT	YRG
APG (≥8 st açlıkta)	≥126 mg/dl	100- 125 mg/dl	<100 mg/dl	100- 125 mg/dl	
OGTT 2.st PG (75 g glukoz)	≥200 mg/dl	<140 mg/dl	140- 199 mg/dl	140- 199 mg/dl	
Rastgele PG	≥200 mg/dl + Diyabet semptomları				
A1C**	≥%6.5 (≥48 mmol/mol)				%5.7-6.4 (39-47 mmol/mol)

Glisemi venöz plazmada glukoz oksidaz veya heksokinaz yöntemi ile 'mg/dl' olarak ölçülür. 'Aşık DM' tanısı için dört tanı kriterinden herhangi birisi yeterli iken 'İzole BAG', 'İzole BGT' ve 'BAG + BGT' için her iki kriterin bulunması şarttır. **Standardize metodlarla ölçülmelidir. DM: Diabetes mellitus, APG: Açlık plazma glukozu, 2.st PG:

2. saat plazma glukozu, OGTT: Oral glukoz tolerans testi, A1C: Glikozillenmiş hemogloblin A1c, BAG: Bozulmuş açlık glukozu (impaired fasting glucose), BGT: Bozulmuş glukoz toleransı (impaired glucose tolerance), YRG: Yüksek risk grubu.

Özetlersek:

* Önceki yemeğin zamanına bakılmaksızın plazma glukozunun ≥ 200 mg/dL olması aşikar DM tanısı koydurur.

*Açlık plazma glukozunun (FPG) ≥ 126 mg/dL olması

*Oral glukoz tolerans testi (OGTT) sırasında 2.saatteki plazma glukozunun ≥ 200 mg/dL olması DM tanısı koydurur.

Tablo 2. Gestasyonel diyabet tanı kriterleri

		APG	1.st PG	2.st PG	3.st PG
İki aşamalı test					
İlk aşama	50 g glukozlu test	-	≥ 140	-	-
İkinci aşama	100 g glukozlu OGTT (en az 2 patolojik değer tanı koydurur)	≥ 95	≥ 180	≥ 155	≥ 140
Tek aşamalı test					
IADPSG kriterleri	75 g glukozlu OGTT (en az 1 patolojik	≥ 92	≥ 180	≥ 153	-

	değer tanı koydurur)				
--	-----------------------------	--	--	--	--

*Glisemi venöz plazmada glukoz oksidaz veya heksokinaz ile 'mg/dl' olarak ölçülür. IADPSG: Uluslararası Diyabetik Gebelik Çalışma Grupları Derneği, GDM: Gestasyonel diabetes mellitus, OGTT: Oral glukoz tolerans testi, APG: Açlık plazma glukozu, 1.st PG, 2.st PG, 3.st PG: 1., 2., 3.st plazma glukozu.

A. İki aşamalı tanı yaklaşımı

1) 50 g glukozlu tarama testi: Gün içinde rastgele bir zamanda 50 g glukozlu sıvı içirildikten 1 saat sonra PG düzeyi ≥ 140 mg/dl ise diyabet açısından kuşkuludur, daha ileri bir test olan OGTT yapılması gerekir. Tarama testinde 50 g glukoz içirildikten sonraki 1.st PG kesim noktası 140 mg/dl alınırsa GDM'li kadınların %80'ine, buna karşılık kesim noktası olarak 1.st PG 130 mg/dl kabul edilirse GDM'li kadınların %90'ına tanı konulabilir. Genel olarak, 50 g glukozdan 1 saat sonraki PG >180 mg/dl ise OGTT yapılması gerekli görülmemekte, bu vakaların GDM gibi izlenmesi ve tedavi edilmesi önerilmektedir.

2) 75 veya 100 g glukozlu OGTT: 50 g glukozlu tarama testi pozitif olan gebelerde tanıyı kesinleştirmek için 100 g glukozlu 3 saatlik OGTT yapılmalıdır. Alternatif olarak, tanı amaçlı OGTT'nin, 75 g glukoz ile 2 saatlik olarak da yapılabileceği ileri sürülmüşse de bu görüş çok taraftar bulmamıştır. Her iki testte de en az iki değer normal sınırı aşması GDM tanısı koydurur.

B. Tek aşamalı tanı yaklaşımı

75 g glukozlu OGTT: Bu testte sabah aç karnına bazal değer için kan alınıp 75 g glukoz içirildikten sonra 1 ve 2. saat kan şekeri değerlerine bakılır. Tek değer yüksekliği durumunda GDM tanısı konulur.

iki aşamalı (50 gglukozlu ön tarama testi ve ardından gerekiyorsa 100 g glukozlu OGTT) tanı yaklaşımı benimsemektedirler. Bu sebeple, TEMD Diabetes Mellitus Çalışma ve Eğitim Grubu olarak, jinekoloji camiası tarafından da benimsenen iki aşamalı tanı yaklaşımının sürdürülmesini önermekle birlikte, kolay uygulanması, GDM tanısına standardizasyon getirmesi ve glukoz kesim noktalarının doğrudan fetusun komplikasyonlarına dayanarak belirlenmiş olması gibi nedenlerle alternatif olarak, 75 g glukozlu OGTT'nin de GDM tanısında kullanılabileceğini önermekteyiz. GDM öyküsü bulunan kadınlarda, yaşam boyu 3 yılda bir diyabet taraması yapılması gereklidir. GDM öyküsü bulunan kadınlarda kalıcı tip 2 diyabet riski çok yüksektir. Bu kadınlarda ömür boyu sağlıklı yaşam tarzı girişimleri uygulanmalı ve gerekiyorsa metformin verilmelidir.

Glikolize hemoglobin (HbA1C)

Yetişkinlerde hemoglobinin %97 si HbA1, geri kalanları HbA2(%2.5) ve HbF(fetal Hb)(%0.5) dir. Kromatografik analizde HbA1 in HbA1a,HbA1b,HbA1c gibi minör hemohlobinlere ayrıldığı görülmüştür. Elektroforezde daha hızlı hareket eden HbA nın bu şekline glikolize hemoglobinler veya glikehemoglobinler adı verilir. Glukoz proteinlere kontrolsüz bağlandığında HbA1c nin arttığı görülür. Hemoglobin 2 α 2 β olmak üzere 4 polipeptid zincirinden meydana gelmiş bir proteindir. Diğer proteinlere olduğu gibi hücre içi glukoz arttığı zaman glukozun fazlası buradaki proteinlere herhangi bir enzimin katalizine gerek olmaksızın nonenzimatik bağlanma ile bağlanabilmektedir. Hemoglobin eritrositlerde bulunması nedeniyle HbA1C eritrositlerde meydana gelir, eritrositlerin yaşam ömrü 120 gün ile sınırlıdır, bu nedenle HbA1C nin ölçülmesi diyabete ait yaklaşık son üç aylık değeri verir.

Tablo 3. Amerikan Diyabet Cemiyetinin önerilerine göre çeşitli durumlarda kan glukozu ve HbA1c

	Açlık kan glukozu	75 gr glukoz 2. saat	HbA1c
	mg/dL	mg/dL	%
Normal	<100	<140	
Pre-diabet			5.7-6.4
Bozulmuş açlık glukozu	100-125		
Bozulmuş glukoz toleransı		140-199	
Diyabetes Mellitus	≥ 126	≥ 200	≥ 6.5

Tablo 4. Plazma glukoz düzeyleri ile HbA1C arasındaki korelasyon

%HbA1C	Plazma Glukoz(mg/dl)
6	135
7	170
8	205
9	240
10	275
11	310

Mikroalbumin

İdrar proteinlerini özellikle glomerüllerden filtre olabilen düşük molekül ağırlıklı serum proteinleri ile genitoüriner sistemde üretilen proteinler oluşturur.İdrar proteinlerinin yaklaşık üçte birini albümin

oluşturur. Geri kalan idrar proteinleri de plazmadan filtre olabilen alfa, beta ve gama globülinlerdir.

Albuminüri Sıklığı	
Diyabetiklerde	% 30
Hipertansif ve Diyabetik	
Mikroalbuminüri	% 40
Makroalbuminüri	% 10 -19

Tablo 6. İdrarda Protein & Albumin Hesaplanması

	Spot İdrarda (mg/dL)	24h İdrarda (mg/gün)
Protein	10	150
Albumin	2,5	30
Mikroalbumin üri	3 -30	30-300
Makroalbumin üri	≥30	≥300

Mikroalbuminürinin prognostik anlamı DM için mikrovasküler patolojinin göstergesi olmasıdır. Mikroalbuminürlü tip 1 diyabetli hastaların %80'inde üriner albümin atılımı her yıl %10-20 artar ve 10-15 yılda klinik proteinüri gelişir. Bunların da çoğu (>%80) terminal döneme gider. Mikroalbuminürlü tip 2 diyabetli hastaların %20-40'ında nefropati gelişir. Bunların yalnızca ~%20'si terminal döneme gider.

Mikroalbüminürili tip 1 ve tip 2 diyabetli hastalarda kardiyovasküler hastalık riski de artmıştır. Mikroalbüminüri testleri için, 12 saatlik veya 24 saatlik idrar örneklerinde albümin konsantrasyonu tayini, spot idrar (tercihan sabah ilk idrarı) örneklerinde albümin/kreatinin oranı tayini yapılır. Tedaviye yanıtı izlemede 12 veya 24 saatlik idrar örneklerinde albümin konsantrasyonu tayini tercih edilir. İdrarda albümin, 4-20° C'de en az 1 hafta stabildir, -20° C veya -80° C'de saklanabilir.

Keton cisimleri

Kanda ve idrarda keton cisimleri (asetoasetat, aseton ve β -hidroksibütirik asit), diyabetli hastalarda diyabetik ketoasidozun tanısı ve gidişinin izlenmesi için tayin edilir. Diyabetlilerde akut hastalık, stres, inatçı hiperglisemi [plazma glukozu >16,7 mmol/L (300 mg/dL)], gebelik, diyabetik ketoasidoz semptomları varlığında idrarda keton cismi tayini yapılmalıdır. Genellikle asetoasetat ve asetonu ölçen nitroprussid strip veya tablet testi (Rothera metodu) kullanılır.

C-Peptid düzeyi

Pankreas beta hücre (endojen insülin) rezervini yansıtır. Ancak, aşırı hiperglisemi durumunda glukoz toksisitesinin pankreas beta hücrelerine etkisi nedeniyle, C-peptid düzeyi gerçek endojen insülin rezervini yansıtmayabilir. Böyle bir şüphe varsa glukoz toksisitesi (örneğin DKA) düzeltildikten en az 2 hafta sonra C-peptid ölçümü tekrarlanmalıdır. İnsülin veya sülfonilüre kullananlarda ölçümün son dozdan 24 saat sonra yapılması daha iyi fikir verebilir. Tip 1 diyabette rutin olarak C-peptid ölçülmesine gerek yoktur. LADA gibi otoimmün diyabet formlarının tip 2 diyabetten ayrılmasında ve insülin tedavisine geçilecek tip 2 diyabet olgularının belirlenmesinde açlık ve uyarılmış C-peptid düzeyleri ölçülebilir. C-peptid düzeyinin <0.6 ng/ml olması mutlak insülin ihtiyacı olduğunu düşündürür.

Genetik markırlar

Tip 1 diyabetin tanı ve izlenmesi için genetik markerlerin rutin ölçülmesinin değeri yoktur. Diyabet için genetik tarama, prognoz ve genetik danışma için yararlı olabilmekle birlikte genotip, fenotiple korele olmayabilir. Mutasyonların ortaya çıkarılması, periferik kan lökositlerinden ekstrakte edilen genomik DNA'da yapılır. Kan örnekleri EDTA'lı tüplere alınır ve DNA 3 gün içinde ayrılır.

İdrar glukozu

Normal sağlıklı bir kişinin idrarında glukoz bulunmaz ancak genellikle kan glukoz düzeyi ≥ 180 - 200 mg/dl nin üzerine çıkarsa görülür. Özellikle diyabetik hastaların ve diyabetik nefropatinin tanı ve takibinde değerli bir testtir.

Yanlış negatif sonuçlar askorbik asit ve bakterilerin varlığında, yanlış pozitif sonuçlar oksidan varlığında görülebilir.

İdrarda semikantitatif glukoz testinin diyabetli hastaların izlenmesinde rutin olarak yapılması tavsiye edilmemektedir. Çünkü idrar glukoz konsantrasyonu, plazma glukoz konsantrasyonunu doğru olarak yansıtmaz.

İdrar glukozunun izlenmesi, kan glukozunu portabl ölçü cihazlarıyla kendi kendine izleyemeyen diyabetlilerde düşünülür.

Potansiyel önemli çeşitli analitler

*Proinsülin diyabette rutin testler olarak bir rolü olmayan analitlerdir. Araştırma amaçlı olarak ölçülürler. Nadir vakalarda oral ilaçlara dönmeden önce mutlak insülin gerektiren hastaları tanımak için ölçülür.

Amilin

Leptin de diyabette araştırma amaçlı olarak ölçülürler. Leptin, adipoz dokuda sentezlenen proteindir. Hipotalamus yoluyla iştah ve enerji alımının düzenlenmesinde rol oynar. Genetik olarak obez farelerde leptin eksikliği olduğu halde birçok obez insanda leptin konsantrasyonu artmıştır.

Amilin, bir pankreatik peptiddir. Besin alınmasına cevap olarak insülin ile birlikte salgılanır. Mide boşalmasını geciktirerek ve glukagon oluşmasını azaltarak glukoz metabolizmasının düzenlenmesine yardım eder.

Lipit profili

Diyabetli bütün erişkinlerde her yıl lipid profiline (plazma kolesterol, LDL-kolesterol, HDL-kolesterol ve trigliserid konsantrasyonu) bakılmalıdır. Diyabetiklerde plazma trigliserid,kolesterol veVLDL düzeyleri yüksek iken ,HDL düzeyleri düşük bulunmaktadır.

ADA'ya göre; LDL<3,35 mmol/L (130 mg/dL), HDL>0,90 mmol/L (35 mg/dL) [erkek], 1,15 mmol/L (45 mg/dL) [kadında], TG>4,5 mmol/L (400 mg/dL) olan diyabetli hastalar koroner arter hastalığı (CAD) için yüksek risk grubunu oluşturmaktadır.

KAYNAKÇA

1. Türkan Yiğitbaşı, S. Sibel Erdem, Perinur Bozaykut, Nesrin Emekli. Biyokimya Laboratuvarı, Medipol Unv. <https://www.medipol.edu.tr/universite/yayinlar/biyokimya-laboratuvari>
2. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, Diabetes Mellitus ve komplikasyonlarının tanı, tedavi ve izlem kılavuzu-2020. http://temd.org.tr/admin/uploads/tbl_kilavuz/20200625154506-2020tbl_kilavuz86bf012d90.pdf
3. 2020 ADA homepage, diabetes section. <https://www.diabetes.org/diabetes>
4. Lappharat S, Liabsuetrakul T. Accuracy of screening tests for gestational diabetes mellitus in Southeast Asia: A systematic review of diagnostic test accuracy studies. *Medicine (Baltimore)*. 2020;99(46):e23161. doi:10.1097/MD.00000000000023161
5. Östenson C-G. The pathophysiology of type 2 diabetes mellitus: an overview. *Acta Physiol Scand*. 2001;171(3):241-247. doi:10.1046/j.1365-201x.2001.00826.x
6. Gonzalez, Andrea & Adi, Saleh. (2012). Type 1 Diabetes Mellitus. doi:10.1016/B978-0-12-385083-6.00001-2.


BÖLÜM IV

KANSER TEDAVİSİNDE PROPROTEİN KONVERTAZLARIN YERİ

The Importance of Proprotein Convertases in Cancer Treatment


Ertan Küçüksayan^{1*} & Merve Soyğur²

^{1*}(Dr. Öğr. Üyesi) Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi,
e-mail: ertankucuksayan@gmail.com

 ORCID 0000-0002-1611-0875

*Sorumlu Yazar

²(Yüksek Lisans Öğrencisi) Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi,
e-mail: soyugurmerve@gmail.com

 ORCID 0000-0001-7091-4690

Proprotein Konvertaz

Proprotein Konvertaz (PK) çok çeşitli proteinlerin aktivasyonunda rol oynayan Ca²⁺ bağımlı serin proteaz ailesindedir. Birçok protein, ilk sentezlendiklerinde inaktiftir ve aktivitelerini bloke eden amino asit zincirleri içerirler. Olgun biyoaktif formlarına dönüşüm için proteoliz gerekir, PK'lar bu zincirleri çıkarır ve proteini aktive ederler. İnsan genomu 550'den fazla proteazı kodlayan bu moleküler makaslar esasen tüm fizyolojik süreçlerde önemli rol oynamaktadır. Yiyeceklerimizdeki proteinleri sindirir, yanlış katlanmış veya istenmeyen proteinleri bozarlar ve çok sayıda hücrenel faktörün aktivitesini düzenlerler. En önemli translayon sonrası değişikliklerden biri proteolitik parçalanmadır. Hücre çoğalmasında, bağışıklıkta ve iltihaplanmada kritik öneme sahip çok sayıda biyoaktif protein ve peptit üretir. Bu proteazların anormal aktivitesi; mutasyonlara, kansellere, kardiyovasküler bozukluklara ve otoimmün hastalıklarına neden olabilmektedir.

PK'lar kolesterol sentezi gibi birçok önemli biyolojik süreçte yer alırlar. PK'lar, diğer hücrel proteinleri aktive etme yetenekleri ile iyi bilinmektedir. İnaktif prekürsör proteinlerin biyoaktif moleküllere proteolitik dönüşümü 1960'larda tarif edilmiştir ¹. İnaktif protein substratları spesifik bir PK aracılı proteolizden sonra tam aktivite kazanır. Bu protein substratları arasında büyüme faktörleri ve büyüme faktörü reseptörleri, metalloproteinazlar, pıhtılaşma faktörleri, viral proteinler ve diğerleri bulunur. Artan aktif protein seviyeleri, hücre proliferasyonu, hücre dışı matrisin bozulması, bağışıklık yanıtının aktivasyonu ve konakçı hücrelere verimli girişe izin veren viral proteinlerin aktivasyonu gibi çeşitli patofizyolojik süreçlerin teşvik edilmesine yol açar.

Bugüne kadar değişen fonksiyonlara ve doku dağılımlarına sahip 9 adet proprotein konvertaz tanımlanmıştır ². Proprotein konvertaz subtilisin ve keksin tipi (PCSK) dokuz kalsiyum bağımlı serin proteaz grubunu oluşturur; PC1 / 2, Furin, PC4, PC5 / 6, PC7 ve PACE4, SKI-1 ve PCSK9. Listelenen son iki PC hariç tümü, temel dizi RXR / KR'nin C-terminal ucunu tanıır ve ayırır. Yapısal olarak, her PK beş karakteristik alana sahiptir; (i) enzimin salgı yoluna girmesinden sorumlu N-terminal ucundaki sinyal peptidi; (ii) enzimin (şaperon) uygun katlanmasını yönlendiren pro-domaini, bu aynı zamanda enzimi, uygun kalsiyum konsantrasyonu ve otomatik olarak işlenecek pH değerine sahip bir bölmeğe ulaşana kadar etkin olmayan formda tutan moleküller arası bir inhibitördür. (iii) PK ailesi arasında yüksek homolojiye sahip, substratın çok temel artıklarının etkileşiminden ve bölünmesinden sorumlu bir aspartat, histidin ve serinden oluşan katalitik üçlüyü içeren katalitik alan; (iv) kalsiyum ve pH bağımlı enzim stabilitesini sağlayan bölgeye sahiptir ³.

Protein Konvertaz Çeşitleri

Her bir PK'ın C-terminal alanındaki yapısal özelliklerinden dolayı, her enzimin farklı hücrel lokalizasyona sahiptir. Sistein açısından zengin alanlarla heparin sülfat proteoglikanları ile ilişkili hem PC1 / 3 hem de PC2, düzenlenmiş salgı yolu içinde lokalizedir. Furin, S1P / SKI-1 ve PC7, TGN ile PC5 / 6 hücre zarı ve golgi salgı yolu granülleri arasında bulunan zara bağlı PK'lardır. PACE4 ve PC5 / 6 tarafından plazma membranı ile ilişkilendirilebilir ³.

Bilinen dokuz PK enziminden sekizi, S8B serin proteaz ailesine aittir; PC enzim ailesi yedi gen tarafından kodlanır. Furin enzimleri, PC1 / 3, PC2, PACE4, PC4, PC5 / 6, PC7, PCSK9 keksin benzeri olmayan, sadece kendi propeptidini parçalamaktadır. Öte yandan, PK'ların parçalama fonksiyonlarında küçük farklılıklar vardır ve doku dağılımı veya hücre içindeki yeri ile ilgilidir. Örneğin PC-1 ve PC-3 nöroendokrin dokularla sınırlı iken PC-4 sadece testislerde eksprese edilir. Bununla birlikte, diğer PK'lar, furin, PACE4, PC-5 ve PC-7, hemen hemen her dokuda ekspresyon göstermektedir. Bazı substratlar belirli bir PK'a aşırı afinite gösterebilirler. Örneğin, bir PK olan furin, transforme edici büyüme faktörü beta 1(TGF- β 1)'in in vivo olarak aktive edilmesinde görevlidir ⁴. Ayrıca bazı PK'lar kanserde veya normal dokuda farklı bir ekspresyon gösterebilir. PACE4 ağırlıklı olarak nispeten normal yumurtalık epitelinden türetilmiş hücrelerde eksprese edilir. PACE4 yumurtalık neoplazisini sustururken, PACE4'nin aşırı ekspresyonu ise prostat kanseri hücre dizilerinin in vitro ve in vivo çoğalmasını teşvik edebilir. Diğer PK'ların aşırı ekspresyonu benzer şekilde etkili görünmemektedir ⁵. Furin ve PACE4 ilişkili kanser, metastaz, artrit ve viral enfeksiyonlarda rol oynar. Bu da onları terapötik hedef olması açısından ayrıcalıklı kılmaktadır. Bu PK'ların küçük molekül inhibitörleri veya antisens susturulması artık terapötik seçenekler olarak kabul edilmektedir ⁶.

Protein Konvertaz İşlevleri

Her bir PK homolog bir katalitik alanı sahip oldukları için spesifik substratların tanımlanması zordur. Özellikle terapötik uygulamalar için potansiyel stratejilerde, PK'lar arasındaki örtüşen parçalama özgüllüğü önemli bir sorun teşkil edebilir. Örneğin, iki veya daha fazla PK in vitro koşullar altında aynı ayrılma bölgesinde bir prekürsör proteini parçalayabilirken, bu PK'ların her birinin hücre içi lokalizasyonu nedeniyle PK'lardan sadece birinin bu fonksiyonu in vivo olarak gerçekleştirilmesi mümkündür. Bu bölünme tercihlerini tanımlamak amacıyla her bir PK'ın çoklu peptid motiflere karşı proteolitik aktivitesini araştırılmış ve tahmin algoritmaları üretilmiştir^{7,8}. Bu algoritmalar iyi bir öngörüye sahip olsa da hücre düzeyinde durum farklı olabilir. Faydalı bir tedavi elde etmek için hastalığındaki PK'ların hedeflenmesi kesinlikle kanıt dayalı doğrulama gerektirir.

Furin Molekülü

Bir PK olan Furin, tüm omurgalılarda ve birçok omurgasızda her yerde eksprese edilebilen kalsiyum bağımlı bir proteazdır. Furin her yerde eksprese edilmesine rağmen, mRNA ve protein seviyeleri hücre tipine ve dokuya bağlı olarak değişir. Tükürük bezlerinde, karaciğer ve kemik iliğinde yüksek seviyeler bulunurken, kas hücreleri nispeten düşük miktarlarda furin ifade eder⁹. Buna paralel olarak, IFN γ , TGF- β , IL-12 ve PMA gibi moleküller furin ekspresyonunu indükler. Proprotein konvertaz subtilisin / keksin 3 (PCSK3) olarak da adlandırılan furin, hücre fonksiyonu ve homeostazda yer alan çok çeşitli proproteinleri işleyen endoproteazdır. Furinin düzensizliği, kanser ve fibroz dahil olmak üzere birçok hastalık durumunda gösterilmiştir¹⁰.

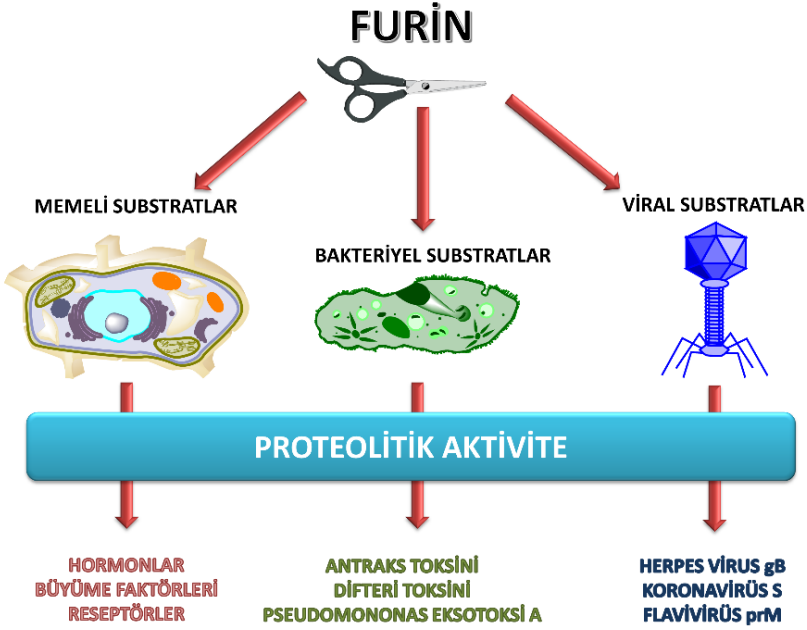
Furin, diğer proteinleri olgun / aktif formlarına ayırmak için işlev gördüğü golgi aparatında bolca bulunmaktadır. Hücresel öncü proteinlerin

işlenmesine ek olarak furin, bir dizi patojen tarafından da kullanılır. Aynı zaman da periferik bağışıklık toleransının sürdürülmesi için T hücrelerinde furinin ekspresyonu gereklidir. Furin, protein öncülerini Arg – X – X – Arg ve Lys / Arg – Arg gibi motiflerde bazik yan zincirlerin karboksi terminalini parçalamaktadır. Bölünme genellikle proprotein aktivasyonu ile sonuçlanır, fakat aktiviteyi inaktive de edebilir veya modifiye edebilir. Bu nedenle, kanser dahil olmak üzere birçok fizyolojik süreç ve patolojide önemli bir rol oynaması şaşırtıcı değildir.

Furinin büyüme faktörleri ve sitokinleri (örn. IGF1, IGF2, TGF- β , PDGF-a, PDGF- β , VEGF - C, NGF, CXCL10), hormonları (örn. PTH, TRH, GHRH), yapışma molekülleri (örn. İntegrinler, vitronektin), kollajenler, metalloproteinleri, pıhtılaşma faktörleri, reseptörler, membran kanalları ve albümindir gibi birçok substratı bulunmaktadır. Bu hedef substratların çoğu furin aracılı ayrılma üzerine aktive olurken, inaktive edici ayrılma adımları da uygulayabilir ^{11,12}.

Furinin Hastalıklarla İlişkisi

Furinin aracılı proteolitik bölünme ile sağlık durumunda ve hastalıkta sayısız birçok süreç düzenlenmektedir. Furin çeşitli memeli, bakteriyel ve viral substratları ayırır ve aktive eder. Furinin anormal ekspresyonu veya aktivitesi çeşitli bozukluklara neden olabilir (Şekil-1). Memeli furin substratları arasında sitokinler, hormonlar, büyüme faktörleri ve reseptörler bulunur. Bu nedenle, anormal furin aktivitesinin kanser dahil olmak üzere çeşitli bozukluklarla ilişkilidir. Ayrıca, Furinin enzimatik aktivitesi sayısız viral ve bakteriyel patojen tarafından sömürülerek virülanslarını ve yayılmalarını artırır. Furin hücre fonksiyonu ve homeostazda yer almaktadır. Furinin düzensizliği, kanser ve fibroz dahil olmak üzere birçok hastalık durumunda gösterilmiştir ¹³.



Şekil 1. Furin proteolitik aktivitesi ¹³

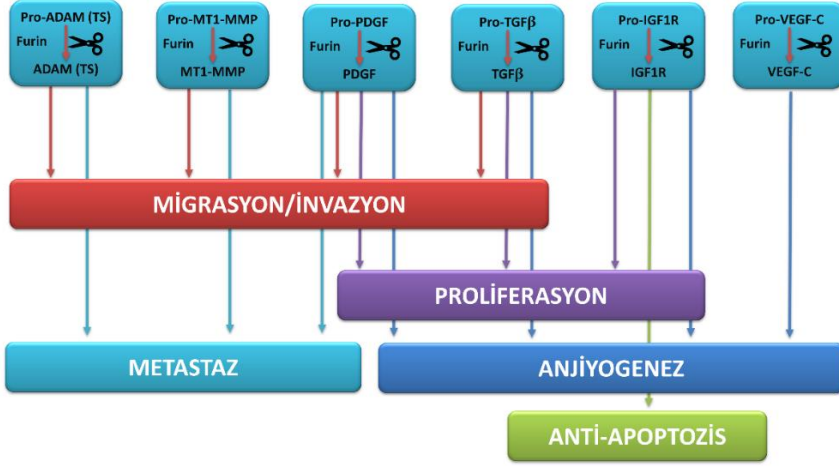
Furinin diğer bir özelliği, hipoksiyle indüklenebilir faktör-1 (HIF-1 α) transaktivasyonu ile düzenlenen sayısız hedef genlerden biridir. Endozomal bölmelere ve hücre yüzeyine dağılımı, HIF-1 α yoluyla hipoksi ile tetiklenebilir. Furin mRNA'nın oksijenden yoksun hücrelerde hızla arttığı ve HIF-1 α 'nın, furin promotörünün bir konsensüs hipoksi yanıt elemanına bağlanarak furin transkripsiyonunun yürütülmesinden sorumlu olduğundan dolayı özel bir öneme sahiptir ¹⁴. Hipoksi, çoğunlukla proprotein konvertaz furin için doğal substratlar olan birçok anjiyojenik ve invazyon ile ilgili aracının gen ifadesi üzerindeki etkisi nedeniyle yaygın bir tümör oluşumu arttırıcıdır. Furin promotörlerinin analizi ile hipoksiye hücre adaptasyonda önemli bir rol oynayan bir transkripsiyon kompleksi olan HIF-1 için varsayılan bağlanma bölgelerinin varlığını ortaya çıkartılmıştır. Furin kodlayan mRNA'nın hipoksik durumda önemli

ölçüde arttığı bulunmuştur¹⁵. Ayrıca furinin osteopontin kaynaklı MKK3 / 6, p38- ve NF-kB'ye bağlı servikal kanser hücre göçünde önemli bir rol oynadığı bulunmuştur. Bazı insan aterosklerotik plakları, furin, PACE4 ve PC5 / 6A'yı oluşturan makrofajlar ve vasküler düz kas hücrelerindeki yüksek ekspresyon seviyeleri nedeniyle ateroskleroz ve restenozda da rol oynamıştır¹⁶. Bu yüzden birçok hastalığın teşhisinde ve tedavisinde Furinin ekspresyonunaki ve aktivitesindeki değişiklikler önem arz etmektedir.

Furin ile Kanser İlişkisi

Furinin artan ekspresyonu çeşitli kanser türlerinde doğrulanmıştır. Furin aktivitesi, hücre proliferasyonu, migrasyon ve invazyon veya vaskülarizasyon gibi kansere bağlı birçok süreci teşvik etmektedir. Son 20 yılda birçok çalışma çeşitli kanser türlerinde furin ekspresyonunu incelemiştir. Bazı vakalarda, ileri evreli hastalık için bir belirteç olarak furinin ekspresyonu, agresif ve artan ekspresyon ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca, PK aktivitesinin modülasyonu, furin ve diğer PK'ların karsinogenez ve kanser ilerlemesinde yer alan çeşitli süreçlerdeki rolünün deşifre edilmesine yardımcı olmuştur.

PK olan metaloproteinazlar (MMP), adezyon molekülleri, büyüme faktörleri ve reseptörlerini içeren çeşitli endojen substratların doğası nedeniyle, hücre proliferasyonu, migrasyonu ve metastazını teşvik ederek neoplazide önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir¹⁷. Tanımlanacak birçok şey olmasına rağmen, PC'lerin kanserdeki rolüne dair kanıtlar büyük bir ivme ile artmaktadır (Şekil-2).



Şekil 2. Furinin kanserdeki rolleri ¹⁷

Furinin onkojenik ve prometastatik aktivitesi, hücre proliferasyonu, anjiyogenez, migrasyon ve doku invazyonunu destekleyen proteinleri aktive etme yeteneğine özelliğinden kaynaklanmaktadır. Örneğin, furin hücre çoğalmasını ve sonuç olarak tümör büyümesini arttıran IGF'ler, PDGF'ler veya NGF gibi büyüme faktörlerini ayırır ve aktive eder. Benzer şekilde VEGF-C ve VEGF-D gibi anjiyojenik ve lenfanjiyojenik faktörler hiperaktif hale getirilebilir ve katı tümörlerin vaskularizasyonunu ve büyümesini teşvik edebileceği bildirilmiştir ¹⁷. Tümör büyümesi üzerindeki etkilerin yanı sıra furin, hücre-hücre ve hücre-matris etkileşimlerine aracılık eden yapışma moleküllerini işlerken malign hücrelerin göçünü ve ekstrasvazyonunu da teşvik edebilir. İntegrinlerin parçalanması, sadece hücrelerin hücre dışı matrise yapışmasına aracılık etmekle kalmaz, aynı zamanda hücre büyümesini, bölünmesini ve hayatta kalmasını düzenleyen sinyal iletim molekülleri olarak da işlev görür. Son olarak, artan furin aktivitesi koruyucu antitümör mekanizmalarını baskılayarak kanser gelişimini de teşvik edebilir ¹⁸. Örneğin, TGF-β'nin furin aracılı aktivasyonunun artması, baskılayıcı T reg hücrelerinin gelişimini teşvik ederek efektör T hücresi fonksiyonlarını inhibe eder.

Sonuç olarak bağıışıklık azalmış olur. Furinin bağıışıklıktaki temel rolü, azaltılmış aktif TGF- β seviyeleri salgılayan reaktif efektör T hücrelerini doğal olarak aşırı barındıran T hücresine özgü furin knock-out fareleri ile gösterilmiştir ¹⁹. Başka bir çalışmada da furinin susturulması, immünosupresif sitokin TGF β 1'in olgunlaşmasını inhibe etmek için kullanılmıştır ²⁰.

Pozitif geri besleme döngüleri de furinin onkojenik potansiyelini daha da artırabilir. Örneğin, furin substratı TGF- β sadece furin mRNA ekspresyonunu arttırmakla kalmaz, aynı zamanda proteolitik aktivitesini bilinmeyen bir mekanizma ile artırır ²¹. Benzer şekilde furin, IFN γ salgılanmasını artırır ve bu da FUR promotörünü aktive eder IFN γ 'nin tümör gelişimi ve ilerlemedeki kilit rolü göz önüne alındığında, bu karşılıklı gelişme özellikle önemli görünmektedir ²². Bir yandan, furin ile uyarılan IFN γ salımı, doğal öldürücü hücrelerin ve sitotoksik T lenfositlerin tümör sıvı aktivitesini arttırdığı için faydalı etkilere sahip olabilir. Ayrıca IFN γ , bir antianjiyojenik faktör olarak işlev görebilir ve p21 veya p27 gibi tümör supresörlerinin ekspresyonunu indükleyerek doğrudan tümör hücresi proliferasyonunu inhibe edebilir. İlginç bir şekilde, laringeal kanser hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada IFN γ - furin geri besleme döngüsünün bazı hastalarda radyoterapi furin ekspresyonunu arttırdığı için iyatrojenik olarak daha da artırılabilceğini düşündürmektedir ²³.

Furin ile İlişkilendirilmiş Kanserler

Furin, anormal ekspresyonu veya aktivasyonu, kolon karsinomu, rabdomiyosarkom, baş ve boyun kanserleri, akciğer, deri ve beyin tümörleri dahil olmak üzere çeşitli malignitelerin oluşumunu ve ilerlemesini teşvik edebileceği için 'tümör büyümesi ve ilerlemesinin ana anahtarı olarak adlandırılmıştır ²⁴.

Akciğer neoplazileri, PK aktivitesi açısından araştırılan ilk kanserler arasındaydı. 1980'lerin sonlarında Schalken ve ark. küçük hücre dışı akciğer kanserinden (NSCLC) türetilmiş akciğer kanseri dokularında seçici ve güçlü bir furin mRNA ekspresyonu gözlemledi. Diğer çalışmalar akciğer yassı epitel hücreli karsinomlarında ve akciğerlerin adenokarsinomlarında yüksek furin mRNA düzeyleri saptamıştır^{25, 26}. mRNA ve protein düzeyleri NSCLC hücre hatlarının potansiyel işgali ile bağıntılı olduğu görülmektedir. Furin protein ekspresyonu akciğerin invazif skuamöz hücreli karsinom (SCC) çoğunluğunda bulunmuştur²⁷.

Akciğer Kanseri

Furinin hücresel süreçlerdeki rolü, baş ve boyun yassı epitel hücreli karsinomunda (HNSCC) kapsamlı bir şekilde primer tümörlerde ve hücre dizilerinde furinin mRNA ve protein düzeylerini araştırılmıştır. Furin mRNA, metastaz yapmayan karsinomlarda saptanmamıştır. Tersine, furin mRNA, metastaz yapan HNSCC'lerde eksprese edildiği gözlemlenmiştir²⁸. HNSCC'de furin düzeyleri ile agresiflik arasında bir korelasyon bulmuştur. Furin ve matris metaloproteinaz 14 (MMP14 adıyla membran tip 1 matris metaloproteaz veya MT1-MMP) metastaz tümörlerin yüksek seviyelerde gözlenmiştir.

Baş Boyun Kanseri

Lopez de Cicco ve ark. oral kavite ve özofagusun SCC doku örneklerinde furin proteini ekspresyonu incelemişlerdir. Oral SCC'nin yaklaşık %90'ında ve incelenen özofagusun tüm SCC'sinde furin ekspresyonu doğrulanmıştır. Ayrıca, decRVKR-CMK (dekanoil-Arg-Val-Lys-Arg-klorometilketon) uygulamasıyla furin inhibisyonu, in vitro olarak laringeal kanser hücrelerinde MMP14 ekspresyonunu ve invazivliğini azalttığı bulunmuştur²³.

Meme Kanseri

Furin mRNA ekspresyonu 30 farklı meme tümör dokusunda ve çeşitli meme kanseri hücre dizilerinde doğrulanmıştır²⁹. Ayrıca, MDA - MB - 231 hücrelerinde furinin inhibe edici prodomain segmentinin ekspresyonunun artması ile substratların trombosit kaynaklı büyüme faktörü A'nın (PDGF - A, PDGF - 1) ve (insülin benzeri büyüme faktörü 1 reseptörü) IGF1R'nin işlenmesinde bozulmaya yol açtığı ve in vivo tümör büyümesini geciktirdiği gösterilmiştir³⁰.

Endometrial, Servikal ve Yumurtalık Kanseri

Endometriyal kanser menopoz sonrası kadınlarda en sık görülen jinekolojik malignitelerden biridir. Bununla birlikte, bugüne kadar endometriyal kanserin erken ve kolay tespiti için biyokimyasal testler araştırılmaktadır. Endometriyal kanser hücre dizileri ve biyopsilerinde furin benzeri PK'ların ekspresyon seviyesini araştırılmış ve furinin bu kanserle ilişkili bir şekilde ifade edilen PK olduğunu bulunmuştur³¹. Furin, endometriyal kanser biyopsilerinde kontrol dokusuyla karşılaştırıldığında yüksek seviyeler gösteren tek PC idi. Bu nedenle, rahim lavaj örneklerinde veya endoservikal bezlerden PK aktivitesinin izlenmesi, her iki durumda da PK aktivitesinin, hasta numunelerinde sağlıklı kontrollerden daha yüksek olduğu için endometriyal kanser için invazif olmayan teşhis araçları olarak önerilmiştir^{32, 33}. Rahim ağzı kanseri hücrelerinde, hücrelerin sitokin osteopontin ile uyarılmasının, in vitro ve in vivo tümör büyümesi ile ilişkili olan furinin NF - κ B bağımlı ekspresyonuna yol açtığı gösterilmiştir. Ayrıca, osteopontin ve furinin ekspresyonunun artması rahim ağzı kanseri ilerlemesi ile ilişkilidir³⁴. İki çalışma da primer tümör ve metastazlar dahil olmak üzere yumurtalık kanserinin farklı kanserli aşamalarında furin ekspresyonunu doğrulanmıştır ve furin ekspresyonu ile

yumurtalık kanseri hastaları için kötü prognoz arasında bir korelasyon bulunmuştur ³⁵.

Gastrointestinal Sistem Kanseri

Furin ekspresyonu çoğu mide kanseri dokusunda ve hücre hattında gözlenmiştir ³⁶. Birçok in vitro ve in vivo çalışmada furinin kolon karsinomu ilerlemesindeki rolünü araştırılmıştır. Furin inhibisyonu ile IGF1 (insülin benzeri büyüme faktörü 1) ve IGF1R sinyal yolağı bozulur. Böylelikle hücrelerin invazivliğinin, tümör büyümesinin, tümör vaskülarizasyonunun ve karaciğer metastazlarının azaldığı gözlemlenmiştir ^{36,37}.

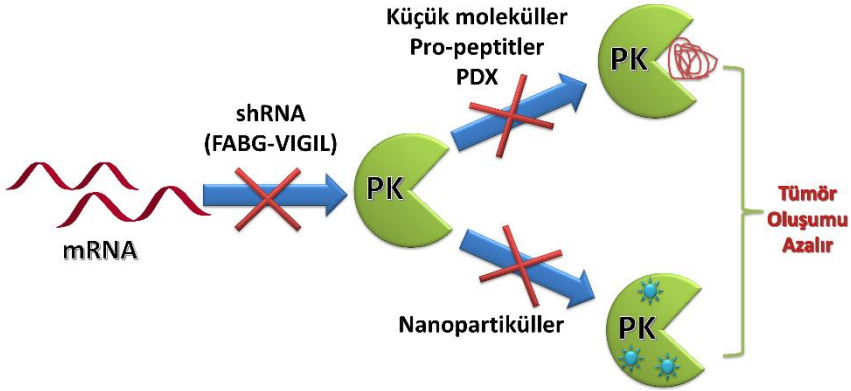
Sarkomlar

Son çalışmalarda furinin pediyatrik rabdomyosarkom (RMS) tümörlerinin %86'sından fazlasında eksprese edildiğini gösterilmiştir. Farklı RMS hücre dizilerinde furin aktivitesinin modülasyonu, IGF1R ve MMP14 dahil olmak üzere kanserle ilişkili çeşitli substratların uygun şekilde işlenmesi için furin aktivitesi gereklidir. Furinin in vitro motilite ve invazivliği hem de in vivo da tümör büyümesini desteklediği ortaya çıkarılmıştır ³⁸. Bu nedenle furin, pediyatrik RMS tedavisi için umut verici yeni bir hedef gibi görünmektedir ³⁹. Bununla birlikte, furin inhibitörlerinin uygulanması MMP14 işlemeyi bozmaktadır. Fibrosarkom ve osteosarkom hücre dizilerinin in vitro invaziv yeteneklerini azaltmaktadır. Diğer sarkom tiplerinde furin ile ilgili araştırmalar oldukça seyrek olmuştur.

PK İnhibitörleri

PK'lar, viral enfeksiyonlar ve kanserler dahil olmak üzere çeşitli patolojilerde sorumlu olduğu için terapötik uygulamalar için umut verici hedeflerdir (Şekil-3). Şu anda, PK inhibitörlerinin gelişimi şunlara dayanmaktadır: (i) PK'lar hakkında yeni edinilen yapısal ve modelleme bilgileri; (ii) kombinatoriyal yöntemlerle optimize edilen peptitler; (iii)

PK'larla birlikte gelişmemiş ancak spesifik olarak hedef PKC'lara uygun modifikasyonların aşılması için kararlı iskeleler olarak kullanılan mühendislik polipeptid proteaz inhibitörleri; (iv) endojen, birlikte evrimsel inhibitörler; ve (v) küçük peptit olmayan bileşikler ve türevleridir.



Şekil 3: PK'ların her biriyle ilişkili ana özellikleri, hücre altı lokalizasyonunu ve ana patofizyolojik süreçleri ²⁴.

PK'lara terapötik müdahaleler için iyi hedeflerdir ve bu proteinlerin aktivasyonu hastalığın gelişmesine neden olabilir. Rekabetçi inhibitörlerin tasarımı ve mRNA transkripsiyonuna müdahale dahil olmak üzere PK'ların aktivitesini inhibe etmeyi amaçlayan çeşitli stratejiler, bu substratların proteolitik aktivasyonunu ortadan kaldırmak veya en aza indirmek için araştırmalar devam etmektedir. PK inhibitörleri ile etkilerini hedef proteinlerin aktif olmasını engelleyebilir. Birçok PK, özellikle furin ve PACE4, viral enfeksiyon, inflamasyon, hiperkolesterolemi ve kanser gibi patolojik süreçlerde yer alır ve bu hastalıkların bazıları için terapötik hedefler olarak kabul edilir ²⁴.

Özetle, anormal furin aktivasyonu, hücre proliferasyonu, vaskülarizasyon, metastaz ve antitümör bağışıklığı dahil olmak üzere çeşitli kanser gelişim

aşamalarını teşvik eder. Bununla birlikte, ayrı ayrı furin substratlarının tümör ilerlemesine göreceli katkısı ve diğer proprotein konvertazlarının rolü büyük lde belirsizliğini korumaktadır.

KAYNAKLAR

1. van de Ven WJ, Voorberg J, Fontijn R, et al. Furin is a subtilisin-like proprotein processing enzyme in higher eukaryotes. *Mol Biol Rep.* Nov 1990;14(4):265-75. doi:10.1007/BF00429896
2. Fugere M, Day R. Cutting back on pro-protein convertases: the latest approaches to pharmacological inhibition. *Trends Pharmacol Sci.* Jun 2005;26(6):294-301. doi:10.1016/j.tips.2005.04.006
3. Couture F, D'Anjou F, Day R. On the cutting edge of proprotein convertase pharmacology: from molecular concepts to clinical applications. *Biomol Concepts.* Oct 1 2011;2(5):421-438. doi:10.1515/bmc.2011.034
4. Dubois CM, Blanchette F, Laprise MH, Leduc R, Grondin F, Seidah NG. Evidence that furin is an authentic transforming growth factor-beta1-converting enzyme. Research Support, Non-U.S. Gov't. *The American journal of pathology.* Jan 2001;158(1):305-16. doi:10.1016/s0002-9440(10)63970-3
5. D'Anjou F, Routhier S, Perreault JP, et al. Molecular Validation of PACE4 as a Target in Prostate Cancer. *Transl Oncol.* Jun 2011;4(3):157-72. doi:10.1593/tlo.10295
6. Pasquato A, Pullikotil P, Asselin MC, et al. The proprotein convertase SKI-1/S1P. In vitro analysis of Lassa virus glycoprotein-derived substrates and ex vivo validation of irreversible peptide inhibitors. *J Biol Chem.* Aug 18 2006;281(33):23471-81. doi:10.1074/jbc.M513675200
7. Duckert P, Brunak S, Blom N. Prediction of proprotein convertase cleavage sites. *Protein Eng Des Sel.* Jan 2004;17(1):107-12. doi:10.1093/protein/gzh013
8. Remacle AG, Shiryaev SA, Oh ES, et al. Substrate cleavage analysis of furin and related proprotein convertases. A comparative study. *J Biol Chem.* Jul 25 2008;283(30):20897-906. doi:10.1074/jbc.M803762200
9. Uhlen M, Fagerberg L, Hallstrom BM, et al. Proteomics. Tissue-based map of the human proteome. *Science.* Jan 23 2015;347(6220):1260419. doi:10.1126/science.1260419
10. Pearce KH, Overton LK, Gampe RT, et al. BacMam production and crystal structure of nonglycosylated apo human furin at 1.89 Å resolution. *Acta Crystallogr F Struct Biol Commun.* Apr 1 2019;75(Pt 4):239-245. doi:10.1107/S2053230X19001419
11. Jin W, Fuki IV, Seidah NG, Benjannet S, Glick JM, Rader DJ. Proprotein convertases [corrected] are responsible for proteolysis and inactivation of endothelial lipase. *J Biol Chem.* Nov 4 2005;280(44):36551-9. doi:10.1074/jbc.M502264200

- 12.Essalmani R, Susan-Resiga D, Chamberland A, et al. In vivo evidence that furin from hepatocytes inactivates PCSK9. *J Biol Chem*. Feb 11 2011;286(6):4257-63. doi:10.1074/jbc.M110.192104
- 13.Braun E, Sauter D. Furin-mediated protein processing in infectious diseases and cancer. Review. *Clinical & translational immunology*. 2019;8(8):e1073. doi:10.1002/cti2.1073
- 14.Fu J, Zhang J, Gong Y, Testa CL, Klein-Szanto AJ. Regulation of HIF-1 alpha by the proprotein convertases furin and PC7 in human squamous carcinoma cells. *Mol Carcinog*. Sep 2015;54(9):698-706. doi:10.1002/mc.22131
- 15.McMahon S, Grondin F, McDonald PP, Richard DE, Dubois CM. Hypoxia-enhanced expression of the proprotein convertase furin is mediated by hypoxia-inducible factor-1: impact on the bioactivation of proproteins. *J Biol Chem*. Feb 25 2005;280(8):6561-9. doi:10.1074/jbc.M413248200
- 16.Stawowy P, Fleck E. Proprotein convertases furin and PC5: targeting atherosclerosis and restenosis at multiple levels. *J Mol Med (Berl)*. Nov 2005;83(11):865-75. doi:10.1007/s00109-005-0723-8
- 17.Jaaks P, Bernasconi M. The proprotein convertase furin in tumour progression. Review. *International journal of cancer*. Aug 15 2017;141(4):654-663. doi:10.1002/ijc.30714
- 18.Dahmani A, Delisle JS. TGF-beta in T Cell Biology: Implications for Cancer Immunotherapy. *Cancers (Basel)*. Jun 11 2018;10(6)doi:10.3390/cancers10060194
- 19.Pesu M, Watford WT, Wei L, et al. T-cell-expressed proprotein convertase furin is essential for maintenance of peripheral immune tolerance. *Nature*. Sep 11 2008;455(7210):246-50. doi:10.1038/nature07210
- 20.Senzer N, Barve M, Kuhn J, et al. Phase I trial of "bi-shRNAi(furin)/GM-CSF DNA/autologous tumor cell" vaccine (FANG) in advanced cancer. Clinical Trial, Phase I Research Support, Non-U.S. Gov't. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy*. Mar 2012;20(3):679-86. doi:10.1038/mt.2011.269
- 21.Bourne GL, Grainger DJ. Development and characterisation of an assay for furin activity. *J Immunol Methods*. Feb 1 2011;364(1-2):101-8. doi:10.1016/j.jim.2010.11.008
- 22.Mojic M, Takeda K, Hayakawa Y. The Dark Side of IFN-gamma: Its Role in Promoting Cancer Immuno-evasion. *Int J Mol Sci*. Dec 28 2017;19(1)doi:10.3390/ijms19010089
- 23.Lee M, Ryu CH, Chang HW, Kim GC, Kim SW, Kim SY. Radiotherapy-associated Furin Expression and Tumor

- Invasiveness in Recurrent Laryngeal Cancer. *Anticancer Res.* Oct 2016;36(10):5117-5125. doi:10.21873/anticancer.11081
24. Klein-Szanto AJ, Bassi DE. Proprotein convertase inhibition: Paralyzing the cell's master switches. *Biochem Pharmacol.* Sep 15 2017;140:8-15. doi:10.1016/j.bcp.2017.04.027
 25. Mbikay M, Sirois F, Yao J, Seidah NG, Chretien M. Comparative analysis of expression of the proprotein convertases furin, PACE4, PC1 and PC2 in human lung tumours. *Br J Cancer.* 1997;75(10):1509-14. doi:10.1038/bjc.1997.258
 26. Demidyuk IV, Shubin AV, Gasanov EV, et al. Alterations in gene expression of proprotein convertases in human lung cancer have a limited number of scenarios. *PLoS One.* 2013;8(2):e55752. doi:10.1371/journal.pone.0055752
 27. Lopez de Cicco R, Bassi DE, Page R, Klein-Szanto AJ. Furin expression in squamous cell carcinomas of the oral cavity and other sites evaluated by tissue microarray technology. *Acta Odontol Latinoam.* 2002;15(1-2):29-37.
 28. Bassi DE, Mahloogi H, Al-Saleem L, Lopez De Cicco R, Ridge JA, Klein-Szanto AJ. Elevated furin expression in aggressive human head and neck tumors and tumor cell lines. *Mol Carcinog.* Aug 2001;31(4):224-32. doi:10.1002/mc.1057
 29. Cheng M, Watson PH, Paterson JA, Seidah N, Chretien M, Shiu RP. Pro-protein convertase gene expression in human breast cancer. *Int J Cancer.* Jun 11 1997;71(6):966-71. doi:10.1002/(sici)1097-0215(19970611)71:6<966::aid-ijc10>3.0.co;2-4
 30. Scamuffa N, Sfaxi F, Ma J, et al. Prodomain of the proprotein convertase subtilisin/kexin Furin (ppFurin) protects from tumor progression and metastasis. *Carcinogenesis.* Mar 2014;35(3):528-36. doi:10.1093/carcin/bgt345
 31. Singh H, Heng S, Nicholls PK, et al. Proprotein convertases in post-menopausal endometrial cancer: distinctive regulation and non-invasive diagnosis. *Biochem Biophys Res Commun.* Mar 23 2012;419(4):809-14. doi:10.1016/j.bbrc.2012.02.111
 32. Heng S, Stephens AN, Jobling TW, Nie G. Total PC Activity Is Increased in Uterine Lavage of Post-Menopausal Endometrial but Not Ovarian Cancer Patients. *J Cancer.* 2016;7(13):1812-1814. doi:10.7150/jca.16331
 33. Heng S, Stephens AN, Jobling TW, Nie G. Measuring PC activity in endocervical swab may provide a simple and non-invasive method to detect endometrial cancer in post-menopausal women. *Oncotarget.* Jul 19 2016;7(29):46573-46578. doi:10.18632/oncotarget.10287
 34. Kumar V, Behera R, Lohite K, Karnik S, Kundu GC. p38 kinase is crucial for osteopontin-induced furin expression that supports

- cervical cancer progression. *Cancer Res.* Dec 15 2010;70(24):10381-91. doi:10.1158/0008-5472.CAN-10-1470
35. Page RE, Klein-Szanto AJ, Litwin S, et al. Increased expression of the pro-protein convertase furin predicts decreased survival in ovarian cancer. *Cell Oncol.* 2007;29(4):289-99. doi:10.1155/2007/930321
36. Nakajima T, Konda Y, Kanai M, et al. Prohormone convertase furin has a role in gastric cancer cell proliferation with parathyroid hormone-related peptide in a reciprocal manner. *Dig Dis Sci.* Dec 2002;47(12):2729-37. doi:10.1023/a:1021005221934
37. Scamuffa N, Siegfried G, Bontemps Y, et al. Selective inhibition of proprotein convertases represses the metastatic potential of human colorectal tumor cells. *J Clin Invest.* Jan 2008;118(1):352-63. doi:10.1172/JCI32040
38. Jaaks P, D'Alessandro V, Grob N, et al. The Proprotein Convertase Furin Contributes to Rhabdomyosarcoma Malignancy by Promoting Vascularization, Migration and Invasion. *PLoS One.* 2016;11(8):e0161396. doi:10.1371/journal.pone.0161396
39. Jaaks P, Meier G, Alijaj N, et al. The proprotein convertase furin is required to maintain viability of alveolar rhabdomyosarcoma cells. *Oncotarget.* Nov 22 2016;7(47):76743-76755. doi:10.18632/oncotarget.11648


BÖLÜM V

BOX-COX TRANSFORMASYON YÖNTEMİNİN KULLANIMI


Use of the Box-Cox Transformation Method

Yeliz Kaşko Arıcı¹ & Sıddık Keskin²

¹(Dr. Öğr. Üyesi), Ordu Üniversitesi, e-mail: ykaskoarici@odu.edu.tr

 ORCID 0000-0001-6820-0381

²(Prof. Dr.), Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, e-mail: skeskin@yyu.edu.tr

 ORCID 0000-0001-9355-6558

Giriş

Güçlü istatistik testlerin birçoğunun uygulanabilmesi için verilerin bazı özelliklere sahip olması gerekir. Bu özellikler, uygulanacak testin ön şartları veya varsayımları olarak adlandırılır. Örneğin, değerlendirilecek verilerin "normal dağılım" göstermesi, parametrik testlerin uygulanabilmesi için yerine getirilmesi gereken ortak varsayımlardan birisidir. Muamelelerin etkisini araştırmak amacıyla sıklıkla kullanılan t-testi ve Varyans analizi (ANOVA) gibi parametrik testlerin sonuçlarının güvenilir olabilmesi için bazı varsayımların sağlanması gerekmektedir. Bu varsayımlar aşağıdaki gibi özetlenebilir;

- Gözlemlerin birbirinden bağımsız olması
- Gözlemlerin normal dağılım göstermesi
- Grupların ortalama ve varyanslarının bağımsız olması
- Grup etkilerinin eklenebilir olması
- Grup varyanslarının homojen olması

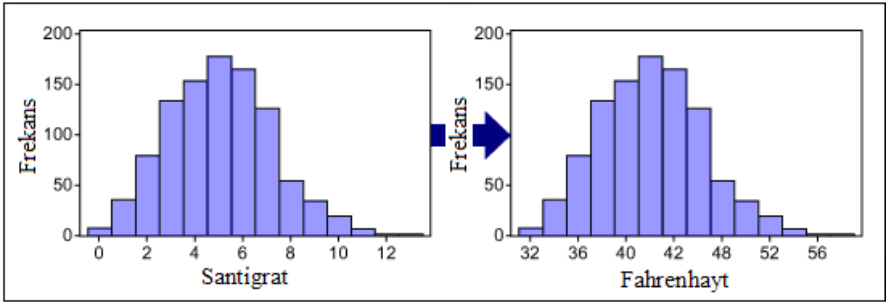
Yukarıda özetlenen varsayımları sağlayan verilere parametrik testler uygulanabilir. Parametrik testler için yerine getirilmesi gereken varsayımlardan en önemli ve en kolay test edilebilir olanların "normal dağılım" ve "grup varyanslarının homojen olması" varsayımları olduğu söylenebilir. Yaygın olarak kullanılan Kolmogorov-Smirnov testi, Anderson-Darling testi, Saphiro-Wilk testi ve Ryan-Joiner testi gibi normallik testleri ile verilerin normal dağılım gösterip göstermediği kolaylıkla kontrol edilebilmektedir. Grup varyanslarının homojen olup olmadığı ise uygun durumlarda kullanılan Hartley (F_{max}) testi, Bartlett testi, Cochran testi ve Levene testi gibi yöntemlerle kolaylıkla belirlenebilmektedir.

Adı geçen varsayımlardan bir veya daha fazlasının sağlanamadığı durumlarda izlenecek yollardan birisi de parametrik olmayan testlerin kullanılmasıdır. Ancak, parametrik testlerin uygulanabilmesinin mümkün olabileceği durumlarda, parametrik olmayan testlere başvurulması, hedeflenen güvenilirlik ve istatistik güç düzeylerinde azalmaya neden olabilir. Ayrıca parametrik olmayan testlerin de varyansların heterojen olmasından olumsuz yönde etkilendiği bilinmektedir (1). Varsayımların sağlanamaması durumunda izlenecek bir başka yol ise söz konusu özelliklerde olmayan verilere bazı veri dönüşümü (transformasyon) yöntemleri uygulayarak verilerin bu özelliklere sahip hale getirilmesidir. Bunun için orijinal veriler yerine; mesela bunların logaritmaları, karekökleri ya da açılı değerleri alınabilir. Transformasyon uygulandıktan sonra hala istenen varsayımların sağlanamadığı durumlarda uygun parametrik olmayan testler kullanılabilir (2).

Transformasyon kelime olarak dönüşüm veya şekil değiştirme anlamına gelmektedir. Veri transformasyonu ise mevcut verilerin uygun şekillere dönüştürülerek yeni bir yapı kazanmasıdır. Dolayısıyla, transformasyon verilerin istatistik metotlarla değerlendirilmesinde önemli

bir yere sahiptir. Aslında transformasyon, istatistik bir hile gibi düşünülse de gerçekte durum böyle değildir. Zira, uygulanacak transformasyon bir grup veriye değil de analize tabi tutulacak tüm verilere uygulanmakta ve böylece verilerin hepsini aynı derecede etkilemektedir (3).

Bir çalışma sonucunda elde edilen veriler normal dağılmıyorsa bile, veriye en güçlü istatistik testleri uygulayabilmek için, çeşitli transformasyon yöntemleriyle verinin normal dağılması sağlanmaya çalışılır. Transformasyon orijinal verilerin her birine aynı matematik fonksiyonu uygulamak anlamına gelmektedir. Günlük hayatta kullanılan bazı transformasyonlar örneğin; döviz dönüşümleri (dolar↔euro) veya derece (santigrat↔fahrenheit) dönüşümleri, orijinal değerler özel bir katsayı ile çarpılıp veya bölüldüğünden yada sabit bir değer çıkartılıp eklendiğinden “doğrusal (linear) transformasyon” olarak adlandırılır. Ancak doğrusal transformasyonlar veri dağılımının şeklini değiştirmediklerinden (Şekil 1), verilerin normal dağılım göstermesine yardımcı olmaz (4).



Şekil 1. Santigrat Derecenin Fahrenheit Dereceye Doğrusal Dönüşümü (4)

Box-Cox transformasyon yöntemi

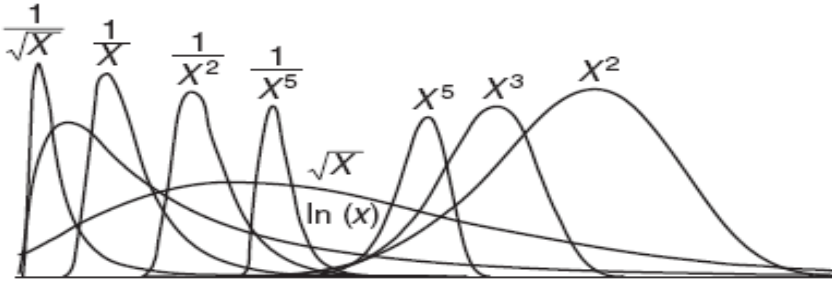
Transformasyonu gerektirecek çeşitli haller bulunmaktadır. Araştırmacının hatasını içeren haller için transformasyon bir çözüm olamaz. Üzerinde çalışılan olayı belirtecek ölçümlerin özelliğinden kaynaklanan haller araştırmacı tarafından değerlendirilmeli faydalı görüldüğünde, söz konusu şartların daha iyi gerçekleşecekleri düşünüldüğünde veya gerçekleştikleri görüldüğünde, verilerin yapısına uygun transformasyona gidilmelidir (2).

Karekök, logaritmik ve açılı transformasyonları uygulamada en yaygın kullanılan transformasyonlar olmakla birlikte, (1) transformasyon uygulamada en önemli aşama, hangi transformasyonun kullanılabileceğinin belirlenmesidir. Veri yapısı ve dağılım şekli dikkate alınarak, deneme yanılma ile en uygun transformasyon belirlenebilir. Ancak bu durum, büyük bir vakit kaybına neden olabilmekte ve yine de verilen karardan şüphe edilebilmektedir. Bu zorluğu ve kararsızlığı gidermek üzere, Box ve Cox, "Box-Cox transformasyonu" olarak adlandırılan bir veri dönüşüm yöntemi geliştirmişlerdir (5). Bu yöntemin hem verilerin normalleşmesine hem de varyansların homojenleşmesine katkı sağlayacağı belirtilmiştir.

Verilerin normal dağılım göstermesi kadar, göstermemesi de beklenen durumdur. Zira, sürekli değişkenler bile normal dağılım göstermeyebilir. Transformasyon, normal dağılım göstermeyen verileri normale dönüştürmek için uygulanan bir stratejidir. İstatistikte çok sayıda transformasyon yöntemi bulunmakla birlikte, önemli olan mevcut duruma en uygun olanı belirleyebilmektir. Çeşitli transformasyon yöntemlerini denemektense, hangisinin en uygun olduğunu belirlemek üzere; Box ve Cox üs transformasyonları ailesi içinde yeni bir yöntem geliştirmişlerdir (6). Geliştirilen bu yöntemde, sadece pozitif veri değerleri tanımlanmıştır. Ancak, bu durum herhangi bir soruna neden olmaz, zira yöntemin negatif

değerlerde kullanılacak olması durumunda, orijinal gözlemlere bir sabit eklenerek negatiflik ortadan kaldırılabılır (5, 7).

Box ve Cox, verileri normal şekle transforme etmek üzere, uygun bir katsayıyı tanımlamışlardır (5). "Lamda değeri (λ)" olarak adlandırılan bu katsayı bütün değerlerin yükseltilmesi gereken üssü belirtmektedir. Box-Cox transformasyon yönteminde λ değeri, en iyi değer bulunana kadar -5 ile +5 değerleri arasında aranır (4).



Şekil 2. Box-Cox Transformasyonu ile Normal Dağılıma Dönüştürülebilecek Birkaç Yatık Dağılımın Olasılık Fonksiyonları (Dikey Ve Yatay Ölçekler Her Bir Eğri İçin Farklıdır) (8).

Box-Cox transformasyonunun esnekliğini göstermek üzere, $Y=X^\lambda$ üs transformasyonu ile normal dağılıma dönüştürülebilen birkaç olasılık fonksiyonu Şekil 2'de görüldüğü gibidir. Bir üs olan λ , dağılım şekli sola yatık olduğunda " $\lambda > 1$ ", sağa yatık olduğunda ise $\ln(X)$ durumu da dahil olmak üzere " $\lambda < 1$ " değerlerinde dağılımı normalleştirmek için etkili olabilmektedir. Genel olarak λ , -5 ile +5 değişim aralığındadır. Zira, bu aralık dışındaki λ değerleri tutarsız sonuçlar üretme eğilimidir. Box-Cox transformasyonu sadece yatık dağılımların belirli durumlarında etkindir. Bu yöntem, çok basık (leptokurtic), az basık (platykurtic) yada 2 veya daha fazla tepe değerli olasılık dağılımlarını (multimodal) normalize edemeyecektir (8).

Box-Cox transformasyonu;

$$Y = \begin{cases} \frac{X^{\lambda}-1}{\lambda} & \lambda \neq 0 \\ \ln(X) & \lambda = 0 \end{cases} \quad (1)$$

olmak üzere, aşağıdaki olabilirlik fonksiyonunu maksimum yapan λ değerini bulma ve transformasyonda bu değeri üs olarak kullanma esasına dayanır.

$$L_{\max}(\lambda) = -\frac{n}{2} \ln \sigma^2(\lambda) + (\lambda - 1) \sum_{i=1}^n \ln X_i \quad (2)$$

Eşitlik (2)' de yer alan n, toplam gözlem sayısı ve $\sigma^2(\lambda)$, λ 'ya belirli bir değer verilerek transforme edilmiş Y değerlerinin varyansdır. Dolayısıyla varyansın hesaplanmasında transforme değerlerin aritmetik ortalamasından yararlanılmaktadır. Eşitlik (2)'deki ikinci terim ise transforme edilmemiş değişkenlerin doğal logaritmasının toplamını içermektedir (5). Bazı kaynaklarda, eşitliğin ilk kısmında yer alan "n" yerine "v" yani serbestlik derecesi kullanılmakta ve bu durumda önemsenmeyecek kadar küçük farklılıklar ortaya çıkabilmektedir.

Box-Cox transformasyonunda, birden fazla grup olduğunda $\sigma^2(\lambda)$ değeri transforme edilmiş değerlerden hesaplanan gruplar içi kareler ortalaması yani toplanmış varyanstır. L olabilirlik fonksiyonunu maksimum yapan λ değeri aynı zamanda gruplar içi kareler ortalamasını da minimum yapan λ değeridir (9).

Verilerde normal dağılım ile gruplar içi varyansların homojenliği varsayımlarının birlikte yerine getirilmesi isteniyorsa, Box ve Cox, "L" değeri yerine "L' " değerini maksimum yapan λ ' nın kullanılmasını önermişlerdir.

$$L'_{\max}(\lambda) = L - \frac{1}{2}\chi^2 \quad (3)$$

Eşitlik (3)' te χ^2 , varyansların homojenliğini kontrol eden Bartlett testinde kullanılan Ki-kare değeridir. Genel olarak L'yi maksimum yapan λ , L' ifadesini de maksimum yapmaktadır (2, 6, 8, 9). Ayrıca λ seti içinde fonksiyonu maksimum yapan λ için yaklaşık olarak %100 $(1-\alpha)$ güvenilirlikle güven sınırı bu setteki λ değerlerinden aşağıdaki gibi oluşturulabilir (7).

$$L'_{\max}(\lambda) \geq L'_{\max}(\hat{\lambda}) - \frac{1}{2}\chi^2_{\alpha;1} \quad (4)$$

Eşitlik (4)'te; $\hat{\lambda}$, λ için maksimum olabilirlik tahmin edicisidir. $\chi^2_{\alpha;1}$ ise α ' ya bağlı olarak 1 serbestlik dereceli Ki-kare dağılımının üst 100 $(1-\alpha)$ değeridir (<http://www.itl.nist.gov>, 2008). Bu değer, seçilmiş her λ için $Y=X^\lambda$ 'ya ilişkin değerler için varyans analizini gerçekleştirmede kullanılır.

Excel, Minitab ve SAS gibi programlarda, Box-Cox transformasyonu için optimal λ değeri hesaplanabilmektedir. Minimum standart sapmaya sahip λ değerini bulmayı amaçlayan bu programların yaptığı hesaplamaların esası ise aşağıdaki ifadeye dayanmaktadır.

$$W_i = \begin{cases} \frac{X_i^\lambda - 1}{\lambda G^{\lambda-1}} & \lambda \neq 0 \\ G \ln(X_i) & \lambda = 0 \end{cases} \quad (5)$$

Eşitlik (5)'te; G, orijinal gözlem değerlerinin geometrik ortalaması olup,

$$G = \left[\prod_{i=1}^n X_i \right]^{\frac{1}{n}}$$

olarak hesaplanmaktadır. Optimal λ değeri, W_i için hesaplanan örneğin standart sapması olan S_w yi minimum yapan λ değeridir. Birden fazla grup olduğunda ise W_i için hesaplanan standart sapma “ \bar{S}_w/c_4 ” veya toplanmış standart sapma şeklinde aşağıdaki şekilde hesaplanmaktadır. Standart sapmaları minimum yapan bu λ değeri aynı zamanda L fonksiyonunu maksimum yapacaktır (8)

$$S_T = \sqrt{\frac{\sum_i \sum_j (W_{ij} - \bar{W}_i)^2}{\sum_i (n_i - 1)}}$$

Y, orijinal veri olan X’in, transforme edilmiş hali olmak üzere bilinen bazı Box-Cox transformasyonları Tablo 1’ de verilmiştir. λ , 0 olduğunda her bir değer 1 olacağı için transformasyon Y^0 şeklinde değil, Y’ nin logaritması alınarak yapılır.

Tablo 1: Yaygın Kullanılan Box-Cox Transformasyonları

λ	Y
-2	$Y^{-2} = 1/X^2$
-1	$Y^{-1} = 1/X^1$
-0.5	$Y^{-0.5} = 1/\sqrt{X}$
0	$\ln(Y)=\log(X)$
0.5	$Y^{0.5} = \sqrt{X}$
1	$Y^1 = X$
2	$Y^2 = X^2$

$\lambda = 1$ olduğunda, dağılımın şeklini değiştirmeyen basit bir doğrusal (linear) transformasyonun, $\lambda = 1/2$ olduğunda, karekök transformasyonunun, $\lambda = 0$ olduğunda logaritmik transformasyonun ve $\lambda = -1$ olduğunda ise ters açılı transformasyonunun uygun olabileceği söylenebilir (Tablo 1). Sonuç olarak, en çok olabilirlik fonksiyonunun logaritması olarak bilinen L fonksiyonunu maksimize eden λ transformasyon yöntemleri içinde en iyi olanı belirlemiş olur.

Box-Cox transformasyonu uygulamaları

Uygulama 1

Yüz adet deney ünitesi ile yürütülen bir çalışmada, sürekli bir değişken bakımından elde edilen veriler Tablo 2’de görüldüğü gibidir (6). Bu veri setine ait tanımlayıcı istatistikler Tablo 3’te özetlenmiştir.

Tablo 2: Veri Setine Ait Gözlem Değerleri (6)

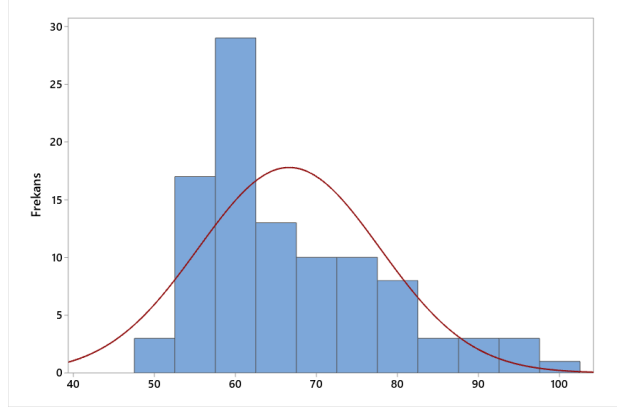
51.0	56.0	58.0	58.0	61.0	63.0	67.0	70.0	76.0	83.0
51.0	56.0	58.0	59.0	61.0	63.0	67.0	72.0	76.0	85.0
51.0	57.0	58.0	59.0	61.0	64.0	68.0	73.0	79.0	87.0
53.0	57.0	58.0	59.0	61.0	65.0	68.0	73.0	80.0	88.0
53.0	57.0	58.0	60.0	61.0	65.0	69.0	74.0	80.0	88.0
53.0	57.0	58.0	60.0	62.0	65.0	69.0	74.0	81.0	89.0
54.0	57.0	58.0	60.0	62.0	65.0	69.0	74.0	82.0	93.0
55.0	57.0	58.0	60.0	62.0	65.0	69.0	74.0	82.0	94.0
55.0	57.0	58.0	60.0	62.0	67.0	69.0	75.0	82.0	96.0
56.0	57.0	58.0	61.0	63.0	67.0	69.0	76.0	82.0	98.0

Tablo 3: Veri setine ait tanımlayıcı istatistikler

n	100
Ortalama	66.61
Standart sapma	11.21
Standart hata	1.12
Minimum-Maksimum	51.0- 98.0
Çarpıklık Katsayısı (Skewness)	0.94
Basıklık Katsayısı (Kurtosis)	0.12

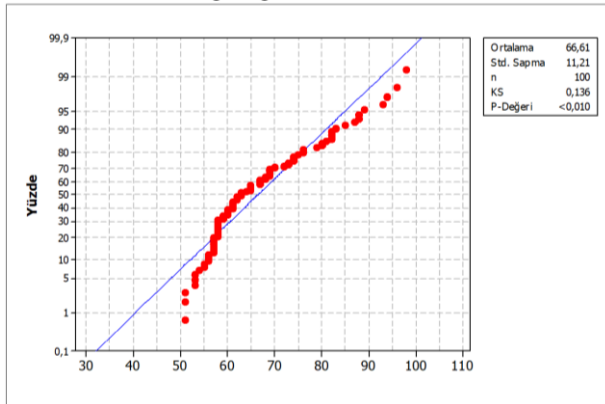
Araştırma hipotezleri doğrultusunda kullanılması planlanan parametrik testler için verilerin normal dağılım gösteriyor olması

gerekmektedir. Bu nedenle işleme öncelikle verilerin normal dağılım gösterip göstermediklerinin kontrolü ile başlanır.



Şekil 3: Veri Setine Ait Histogram

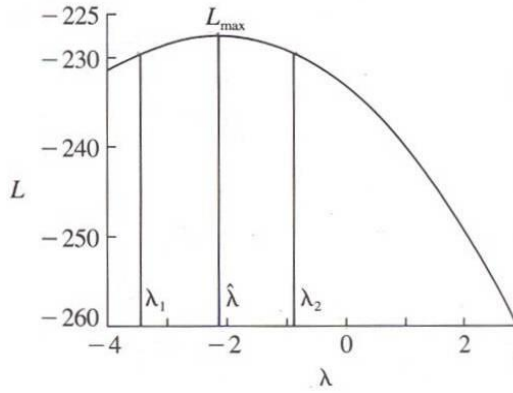
Şekil 3 ve eğrilik katsayısının pozitif olmasından da anlaşıldığı üzere, uygulama 1 veri setine ait verilerin sağa yatkın bir dağılım gösterdiği görülmektedir. Ayrıca Kolmogorov-Smirnov testi sonucunda test istatistiği 0.136 olarak hesaplanmış olup bu değer istatistik olarak anlamlı ($p < 0.01$) bulunmuştur (Şekil 4). Buna göre adı geçen verilerin normal dağılım göstermediği söylenebilir.



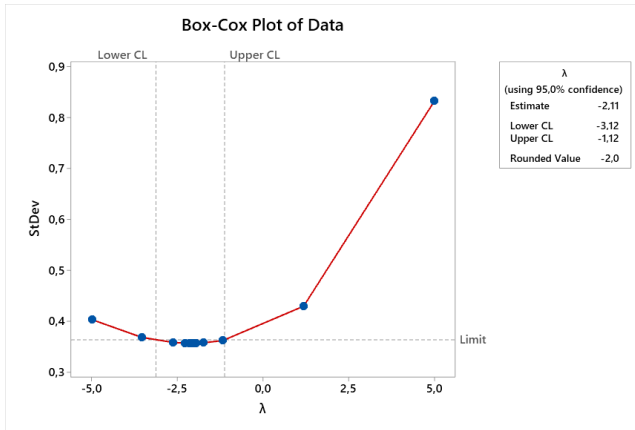
Şekil 4: Veri Setine Ait Normallik Testi Olasılık Grafiği

Normal dağılım göstermediği belirlenen bu verilere Box-Cox transformasyonu uygulanmak istendiğinde verileri transforme etmede kullanılacak en uygun λ değeri, -5 ile +5 aralığında aranır. Bu işlem ya deneme yanılma yöntemi ile yada bir program yardımıyla yapılabilir. Sokal ve Rohlf, Box-Cox transformasyonunda tüm λ değerlerini deneyerek optimal λ değerini bulmayı sağlayan bir program mevcut olmadığı durumlarda; dağılımın sağa çarpık yani eğrilik (eğiklik) katsayısının pozitif olduğu durumda, $1/\sqrt{Y}$, \sqrt{Y} , $\ln Y$, $1/Y$ gibi transformasyonları, dağılımının sola çarpık yani eğrilik katsayısının negatif olduğu durumlarda ise Y^2 , Y^3 gibi transformasyonları denemeyi önermişlerdir (6).

Hesaplamalar, işlem kolaylığı sağlamak amacıyla, MSDEV ve IMSL desteği ile FORTRAN programlama dilinde yazılmış bir program yardımıyla yapılmıştır. λ değerleri -5'ten başlatılıp, 5'e kadar, 0.01 artırılmıştır. Her λ değerine karşılık gelen L değeri hesaplanmıştır. Tüm λ değerleri denendikten sonra Şekil 5'te de görüldüğü gibi L olabirlik fonksiyonunu maksimum yapan değer $\lambda = -2.1089$ olarak tahmin edilmiştir. Bu hesaplama, MINITAB (ver:19) programında "Stat" sekmesinde yer alan "Control Charts" menüsü içerisinde yer alan "Box-Cox transformation" seçeneği ile de yapılabilir (Şekil 6).



Şekil 5: Box-Cox Transformasyon Parametresi λ 'ya (%95 Güven Aralığı (λ_1, λ_2) ile birlikte) Ait Olabilirlik Fonksiyonu L 'nin Aldığı Değerler



Şekil 6: MINITAB Programında Box-Cox Transformasyon Parametresi

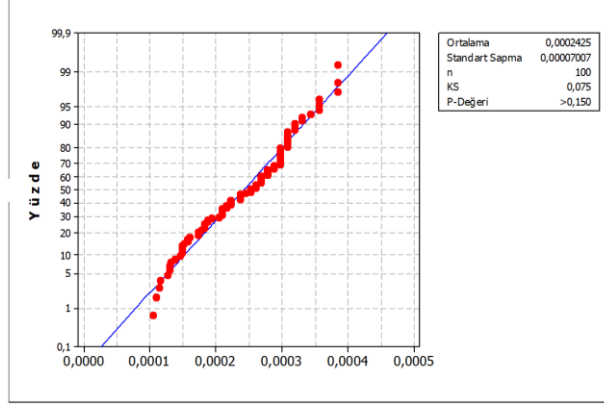
λ 'nın güven sınırları (λ_1 ve λ_2), $-2L_{\max}$ yaklaşık olarak 1 serbestlik dereceli χ^2 dağılımı gösterdiği için $\lambda_1 = -3.412$ ve $\lambda_2 = -0.828$ olarak elde edilmiştir. Bu aralıklar $\lambda = 1$ (doğrusal transformasyon) değerini içermediği için bir transformasyonun uygulanabileceği sonucuna varılır. Optimal transformasyonu gerçekleştirmek için optimal $\lambda = -2.1089$ değeri yaklaşık olarak kare transformasyonunun inversidir. Burada veri seti için

kare kuralının inversini önermek için teorik bir neden yoktur bu sadece deneysel bir sonuçtur. Bunun etkinliği, veri setine ait eğrilik katsayısının transformasyon yapılmadan $g_1=0.94$ olarak hesaplanarak istatistik olarak önemli bulunmasına karşılık, Box-Cox transformasyonu yapıldıktan sonra Tablo 4'te görüldüğü gibi $g_1=-0.14$ olarak hesaplanan değerin istatistik olarak önemli bulunmaması ile gösterilebilir (6).

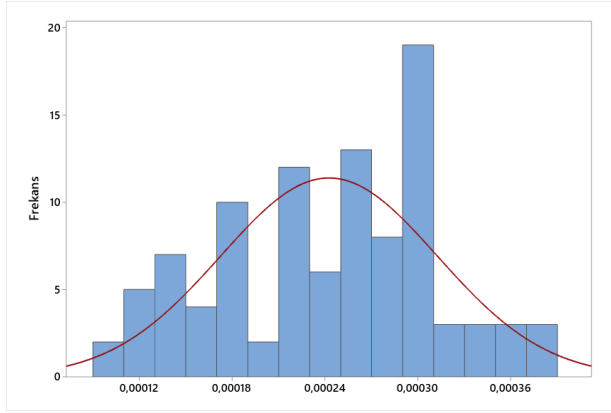
Tablo 4: Transforme Edilmiş Değerlere Ait tanımlayıcı İstatistikler

n	100
Ortalama	0.000242
Standart sapma	0.000070
Standart hata	0.000007
Minimum-Maksimum	0.000104 - 0.000384
Çarpıklık Katsayısı (Skewness)	-0.14
Basıklık Katsayısı (Kurtosis)	-0.82

Box-Cox transformasyonu uygulanan verilere yapılan Kolmogorov-Smirnov testi sonucunda test istatistiğinin değeri 0.075 olarak hesaplanmış olup, bu değer istatistik olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 7). Şekil 8'de de görüldüğü üzere, uygulanan transformasyon verilerin dağılımını normal dağılıma yaklaştırmıştır.



Şekil 7: Transforme Edilmiş Veri Setine Ait Normallik Olasılık Grafiği ve Normallik Testi



Şekil 8. Transforme Edilmiş Veri Setine Ait Histogram

Uygulama 2: Simülasyon

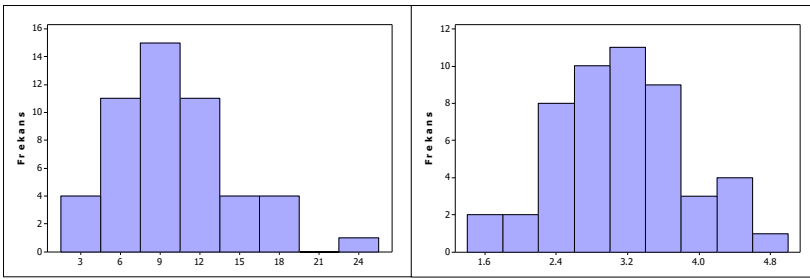
Box-Cox transformasyon yönteminin normal dağılım göstermeyen veri setlerinde, normal dağılım göstermedeki başarısı, MSDEV ve IMSL desteği ile FORTRAN programlama dilinde yazılmış bir simülasyon programı ve MINITAB (ver: 19) paket programı kullanılarak belirlenmeye çalışılmıştır. Örnek genişliği 50 alınarak; 3, 10, 30 ve 100 serbestlik

dereceli Ki-kare dağılımlarından veriler elde edilmiştir. Bu verilerde Box-Cox transformasyonu için bulunan optimal λ değerleri -5'ten başlatılarak 5'e kadar 0.01 artırılmıştır. Her λ değerine karşılık gelen L değerleri hesaplanarak elde edilen sonuçlar Tablo 5'te özetlenmiştir.

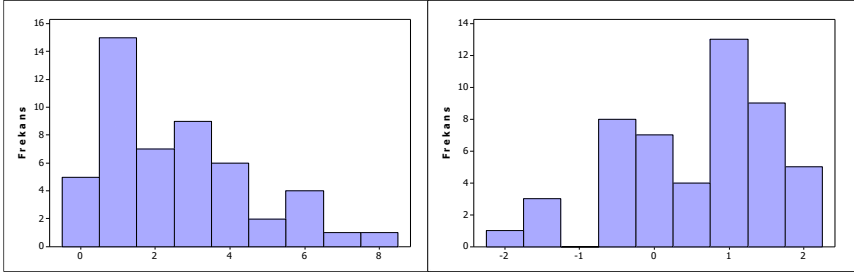
Tablo 5. n=50 için 3, 10, 30 ve 100 serbestlik dereceli Ki-kare dağılımlarında Box-Cox transformasyonu için bulunan optimal λ değerleri

Serbestlik Derecesi	Optimal λ
3	0.3100
10	0.3500
30	0.4900
100	0.8800

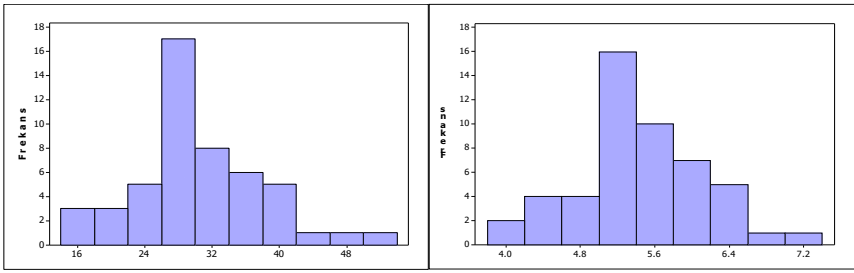
Transformasyon uygulama öncesi ve belirlenen λ değerleri ile transforme edildikten sonraki verilere ilişkin dağılımlar Şekil 9-12'de verilmiştir. Şekiller incelendiğinde, Box-Cox transformasyonu uygulanan verilerin dağılım şekillerinin normal dağılıma benzediği görülmektedir.



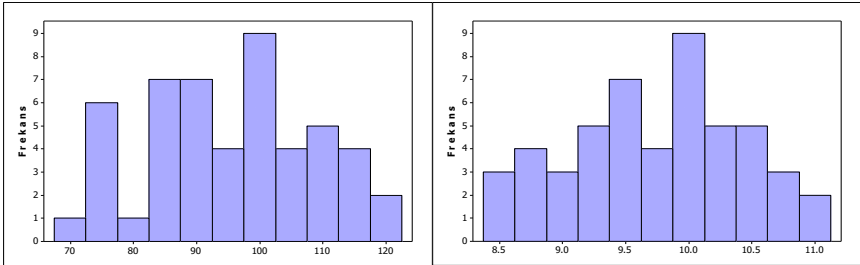
Şekil 9: 3 Serbestlik Dereceli Ki-Kare Dağılımından Elde Edilen Veriler İçin Transformasyon Öncesi Ve Sonrası Histogram



Şekil 10: 10 Serbestlik Dereceli Ki-Kare Dağılımından Elde Edilen Veriler İçin Transformasyon Öncesi ve Sonrası Histogram



Şekil 11: 30 Serbestlik Dereceli Ki-Kare Dağılımından Elde Edilen Veriler İçin Transformasyon Öncesi ve Sonrası Histogram



Şekil 12. 100 serbestlik dereceli Ki-kare dağılımından elde edilen veriler için transformasyon öncesi ve sonrası histogram

Sonuç

Box-Cox transformasyonu, uygulanabilirlik açısından kolay ve eldeki verilere hangi transformasyon yönteminin uygulanması gerektiğine kendisi karar verebilen bir veri transformasyon yöntemidir. Box-Cox transformasyon yönteminde gözlem değerleri olabilirlik esasına dayalı

olarak tahmin edilen transformasyon parametresine göre standardize edilmektedir. Bu çalışmada, Box-Cox transformasyon yönteminin, verileri normalleştirmede başarılı sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Normal dağılıma ulaşmak için yürüttüğü algoritmalar, aynı zamanda grup söz konusu olduğunda grup varyanslarını da homojen hale getirebilmektedir. Bu özellikleri ile istatistik testlerin varsayımlarını yerine getirmede diğer transformasyon yöntemlerine göre daha ön plana çıkmaktadır.

Araştırmacıların, istatistik analizleri transforme edilmiş veriler ile yaptıktan sonra, sonuçları orijinal veriler üzerinden sunması ve yorumlaması gerektiği unutulmamalıdır.

KAYNAKLAR

1. Kaşko Arıcı, Y., Özkan, MM. ve Kocabaş, Z. Heterojen Varyanslı Gruplarda Kruskal-Wallis Testi ile Transformasyon Sonrası Varyans Analizinin Karşılaştırılması. 7. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi (14-16 Eylül), Adana, Türkiye. 2011
2. Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O., Gürbüz, F. Araştırma ve Deneme Metodları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara. 1987.
3. Tekindal, B. Varyans Analizinin Varsayımları ve Transformasyonlar. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, 68s., Ankara. 1998.
4. Buthmann, A. Making Data Normal Using Box-Cox Power Transformation. <http://europe.isixsigma.com/library/content/c080416a.asp>. 2008.
5. Box, GEP, Cox, DR. An Analysis of Transformations. Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological), 1964; 26, (2): 211-252.
6. Sokal, RR., Rohlf, FJ. Biometry (2nd edition). WH Freeman and Co., San Francisco. 1981
7. Anonymous. Engineering Statistics Handbook. What To Do When Data Are Non-Normal. <http://www.itl.nist.gov/div898/handbook>. 2008
8. Sleeper, AD., Design for Six Sigma Statistics: 59 Tools for Diagnosing and Solving Problems in Six Sigma Initiatives, McGraw-Hill, USA. 2006.
9. Montgomery, DC. Design and Analysis of Experiments, Wiley, NY. 2004.


BÖLÜM VI

MESLEKİ VE ÇEVRESEL KURŞUN MARUZİYETİNDE ANTİOKSİDANLARIN KULLANIMI

Use of Antioxidants in Occupational and Environmental Lead Exposure

Murat Büyükşekerci²

¹(Uzm. Dr.), Ankara Mesleki ve Çevresel Hastalıklar Hastanesi,
e-mail: drmuratbs@gmail.com

 ORCID 0000-0001-9921-0507

Giriş

Kurşun, yer kabuğunda çeşitli mineral formlarında doğal olarak oluşan mavimsi gri bir ağır metaldir (atom ağırlığı 207,2 gr.). Metalik kurşun korozyona karşı dayanıklıdır, çünkü hava veya suya maruz kaldığında, kurşun bileşiklerinin (oksit ve karbonatların) ince filmleri oluşur ve bu metali daha fazla aşınmaya karşı korur. Kolayca biçimlendirilme, kalıplanma ve korozyona karşı dayanıklı olma özelliklerinden dolayı kurşun yüzyıllardır yaygın olarak kullanılmaktadır. Kurşun doğal olarak tabiatta oluşur. Nadiren elementel formunda bulunur, ancak kurşun mineralleri çinko, bakır ve demir sülfürlerin yanı sıra altın, gümüş, bizmut ve antimon mineralleri ile de birlikte bulunur. Ayrıca kömür, petrol ve odunun yapısında da bir eser element olarak bulunur. Volkanlar, rüzgârla taşınan toz ve erozyon gibi doğal kaynaklardan salınan kurşun, antropojenik kaynaklarla karşılaştırıldığında miktar olarak azdır. Havada kurşun partiküller şeklinde bulunur ve yağmurla birlikte veya yerçekimi kuvvetiyle yeryüzüne iner. Yetişkinlerin çoğunda, kronik kurşun zehirlenmesi iş yeri ortamında maruz kalma sonucu ortaya çıkar. İmalat, döküm ve saflaştırma gibi çeşitli iş ortamlarında veya pillerin,

pigmentlerin, lehim, mühimmat, boya, araba radyatörleri, kablo ve teller ve bazı kozmetiklerin kullanılmasıyla kurşun maruziyeti gerçekleşir ¹. Kurşunlu benzinin 1973 ve 1995 yılları arasında nakliye araçlarında kullanımdan kaldırılması ve 1978 yılından itibaren kurşunun ticari boyalarda kullanımının yasaklanması sonucu insanlarda ortalama kan kurşun seviyeleri önemli ölçüde düşmüştür. Ancak her halükarda, insan vücudunda 100-120 yıl öncesine göre yaklaşık 625 kat daha fazla kurşun vardır. Bitkiler ve hayvanlar kurşunun biyokonsantrasyonunu yapabilir ve suda ve karada yaşayan organizmalarda yüksek kurşun konsantrasyonları bulunabilir. Atmosferde birikimi nedeniyle bitki yüzeylerinde kurşun bulunabilir, ancak bitki iç dokularındaki varlığı toprak ve yaprak yüzeyinden biyolojik alım olduğunu gösterir. Kurşun, yenilebilir sebzelerde ve meyvelerde, kök sistemi yoluyla, doğrudan yaprak alımı ve bitki içinde translokasyon yoluyla topraktan alınabilir. Kontamine olmuş ortam havasının solunması veya kontamine bitkilerin yenilmesi nedeniyle hayvanlar da kurşuna maruz kalabilirler.

Kurşun toksisitesi tanısı geleneksel olarak önemli ölçüde yüksek kan kurşun düzeylerine bakılarak konur. Tibia ve patelladaki (özellikle tibiadaki kortikal doku) kurşun seviyeleri, yıllarla ifade edilebilen kümülatif dozun ve kandaki mobilizasyon için mevcut olan en büyük kurşun havuzunun bir göstergesidir. Kan kurşun düzeyleri hamilelik, yaşlanma ve menopoz sonrası gibi yüksek kemik rezorpsiyonu zamanlarında artar ². Toplam vücut yükünün yaklaşık % 90'ı kemikte, geri kalanı kan dolaşımı ve yumuşak dokudadır. Kurşun plasentayı geçer ve fetüste birikir. Kan-beyin bariyeri (BBB) yetersizliği nedeniyle fetal beyinde kurşun birikimi meydana gelebilir³. Emildikten sonra, dolaşımdaki kurşun yaklaşık % 30-35 oranında eritrositlere bağlanırken, emilen kurşunun sadece % 1'i plazma ve serumda bulunur ve sonraki 4-6 hafta içinde $Pb_3(PO_4)_2$ olarak karaciğer, böbrek korteksi, aort, beyin, akciğerler ve dalak gibi yumuşak dokularda birikir. Kurşun öncelikle

böbrekler yoluyla atılırken, az miktarda dışkı ve ter ile atılır⁴. Akut inorganik kurşun zehirlenmesinin en genel belirtisi gastrointestinal koliktir. Kurşuna kronik maruz kalma, hematopoietik, sinir, gastrointestinal ve böbrek sistemlerine zarar verir. Kurşun maruziyetinin etkileri tüm insanlar için bir sağlık sorunudur, ancak özellikle erken çocukluk dönemi en fazla riskli olan dönemdir. Yeni yürümeye başlayan çocuklarda aşırı miktarda inorganik kurşuna maruz kalmak beyin fonksiyonu üzerinde kalıcı olumsuz etkiler yaratabilir. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) kurşun ve inorganik kurşunu olası insan kanserojenleri (grup 2A) olarak sınıflandırmıştır⁵.

Kurşun, çok çeşitli fizyolojik, biyokimyasal ve davranışsal işlev bozuklukları indükleyen toksisitesi eski zamanlardan beri bilinen bir metaldir. Birçok çalışma yıllar boyunca bu toksisitenin mekanizmalarını ve semptomlarını araştırmıştır. Yaygın olarak bulunan diğer kalıcı toksik metaller, cıva, arsenik ve kadmiyum gibi kurşun hücresel yapılara zarar verir ve hücresel genetiği değiştirir. Tüm bu toksik metallerin ortak mekanizması oksidatif hasarı içerir. Toksik metaller serbest radikallerin üretimini artırır ve ortaya çıkan hasara cevap vermek için antioksidan rezervlerinin kullanılabilirliğini azaltır. Veriler artık daha önce normal kabul edilen, düşük seviyeli kan kurşun seviyelerine yol açan kurşun maruziyetinin de bilişsel işlev bozukluğuna, nörodavranışsal bozukluklara, nörolojik hasara, hipertansiyona ve böbrek yetmezliğine yol açabileceğini göstermektedir⁶. Kurşun toksisitesinin patogenezi çok faktörlüdür. Kurşun enzim aktivasyonunu doğrudan inhibe eder, esansiyel mineral emilimini inhibe eder, proteinlerine, sülfhidril yapılarına bağlanır (yapısal protein sentezini kesintiye uğratar), kalsiyum homeostazını bozar ve vücutta sülfhidril grubu içeren mevcut antioksidan rezervlerinin seviyesini düşürür⁷. Kurşun toksisitesine bağlı hipertansiyonun etiolojisini inceleyen son araştırmalar, serbest radikal üretiminin ve doğal antioksidanın azalmasının ortaya çıktığını ortaya koymaktadır⁸. Hali

hazırda onaylanmış klinik müdahale yöntemi, kurşun yüklü dokulara kurşun bağlayan ve çıkartan şelatör ajanlar vermektir. Ancak çalışmalar göstermiştir ki, konvansiyonel olarak kullanılan şelatör ajanların güvenlik ve etkinlik eksikliği bulunmaktadır. Kurşunun oksidatif stresi indükleyebileceği bilgisine rağmen, antioksidanların tek başına veya şelasyon tedavisi ile birlikte yararlılığı tam olarak araştırılmamıştır. Bazı antioksidanların şelatör olarak da işlev görebileceği düşünüldüğünde, bu ikili fayda onları kurşun zehirlenmesinin tedavisinde kullanım için güçlü adaylar yapar⁹. Birçoğu, kurşunun dokular ve hücresel bileşenler üzerindeki oksidan etkisinin doğrudan bir sonucu olan kurşunla ilgili patolojilerin mekanizmaları, antioksidanların hücresel düzeylerinin artırılması ile hafifletilebilir. N-asetilsistein (NAC), çinko, B6, C ve E vitaminleri, selenyum, taurin ve alfa-lipoik asidin kurşunun zararlı etkilerini durdurmak veya en aza indirmek ve farmasötik şelatör ajanlar ile sinerjistik etki gösterdikleri gösterilmiştir¹⁰.

1. Oksidatif Stres Kavramı

Oksidatif stres, reaktif oksijen / azot türlerinin (ROS / RNS) oluşumu ile organizmanın antioksidatif koruma sistemleri tarafından bunların etkilerine karşı koyma kapasitesi arasındaki dengenin bozulması olarak tanımlanmıştır¹¹. Oksidatif stres, ya artmış bir ROS / RNS üretiminden kaynaklanır veya endojen sistemlerin hedef biyomoleküllere yönelik oksidatif saldırıya karşı savaşıma kapasitesinin azalması ile karakterize antioksidan koruyucu kabiliyetinin bozulmasıdır. Oksidatif streste serbest radikal kaynaklı hasarın, nörodejeneratif durumlar (Parkinson, Alzheimer, Huntington hastalığı ve amyotrofik lateral skleroz) amfizem, kardiyovasküler ve enflamatuar hastalıklar, katarakt ve kanser gibi birçok kronik sağlık probleminin patogeneze ve patofizyolojisine katkıda bulunduğu doğrulanmıştır¹². Oksidatif stresin sebep veya sonuç olarak 100'den fazla hastalık ile ilişkili olduğu değerlendirilmiştir. Reaktif oksijen türlerinin neden olduğu geri

dönüşümsüz bir oksidatif bozulmanın ilerlemesi, fizyolojik fonksiyonların bozulması, hastalık insidansının artması ve yaşam süresinin azaltılmasından oluşan yaşlanma biyolojisinin durumu üzerinde de olumsuz etkiler gösterir¹³. Oksidatif stres “oksidan türün lehine potansiyel hasara yol açan antioksidan dengede bozulma” olarak da tanımlanmıştır. Oksidatif stres, ROS üretimi ve tükenmesi arasındaki dengesizliğin sonucu olan aşırı miktarda ROS olarak anlaşılmıştır. Bu nedenle, oksidatif stres, artmış bir serbest radikal oluşumunun yansıması, aynı zamanda koruyucu antioksidan savunma sisteminin de aktivitesinin azalmasıdır.

2.Kurşun Kaynaklı Oksidatif Hasar Mekanizmaları

Deneyel çalışmalar sonucu elde edilen veriler, geçiş metallere, özellikle demir ve bakırın, lipid peroksidasyonu, DNA hasarı ve hücrel antioksidan savunma sistemlerinin tükenmesine yol açan reaktif oksijen türleri (ROS) üretebileceğini göstermektedir. Ağır metallerin oksidatif hasardaki bu önemli rolü, eski bir sorun için yeni bir mekanizma önermektedir ve bilim adamlarının, kurşunun biyolojik makro moleküllerin oksidatif bozulmasına dâhil olup olmadığını araştırmasına neden olmuştur. Geçiş metallere ROS üretebileceğini öngören çeşitli teoriler, indirgeyici ajanlarla redoks döngüsüne girmenin önemli bir mekanizma olduğunu düşündürmektedir. Ancak, kurşun kolayca yüklü hale girmez bu nedenle, oksidatif strese neden olma yeteneğinin altında yatan mekanizmaların açıklığa kavuşturulması gerekmektedir. E.D. Willis, 1965 yılında kurşun kaynaklı oksidatif strese ilgili en eski makaleyi yayınladı¹⁴. Otuz yıl sonra, Yin ve Lin, linoleik, linolenik ve araşidonik asidin kurşun ile inkübasyonu sonucunda malondialdehit oluşumunda (MDA) belirgin bir artış göstermiştir¹⁵. Bu bulgu, kurşuna maruz kalan hayvanların çeşitli dokularında artmış lipid peroksidasyonuna veya azalmış intrinsik antioksidan savunmaya işaret eden diğer birçok çalışma ile kanıtlanmıştır. Kurşunun oksidatif strese neden olduğu mekanizmalar tam olarak anlaşılmassa da, kanıtlar çoklu mekanizmaların

olabileceğini göstermektedir. Oksidatif strese neden olan herhangi bir bileşik veya durum, pro-oksidan oluşumunu hızlandırarak, hücrelerin antioksidan savunmasını azaltarak veya her ikisini de indükleyerek yapar. Kurşun kaynaklı oksidatif stres için önerilen mekanizma, ROS oluşumundaki rolünün yanı sıra antioksidan savunma sistemi üzerindeki etkisi ele alınarak gözden geçirilecektir. Oksidatif stres, karaciğer, böbrekler ve beyin dokusu dâhil olmak üzere kurşunla ilişkili doku hasarı olan belirli organlarda da rol oynamaktadır. Kurşun maruziyeti sonucunda üretilen ROS, akciğer, endotelial doku, testisler, sperm, karaciğer ve beyinde tanımlanmıştır¹⁶. Mesleki kurşun maruziyeti olan işçilerin kısırlık, ölü doğumlar ve kendiliğinden düşük olma sıklığı sperm sayısında ve hareketliliğinde azalma, tatozoospermi oranlarında artış ve libido azalması daha yüksektir¹⁷.

2.1 Kurşunun Hücre Zarları Üzerindeki Doğrudan Etkisi

Kurşunun membran yapısı ve fonksiyonları üzerinde bazı toksik etkileri olduğu bilinmektedir. Özellikle kırmızı kan hücresi (RBC) membranları üzerindeki etkiler, RBC'lerin kurşun için yüksek bir afiniteye sahip olması, kan dolaşımında bulunan kurşunun çoğunluğunu içermesi ve oksidatif hasara karşı diğer birçok hücreden daha savunmasız olması nedeniyle yoğun bir şekilde analiz edilmiştir. RBC'de bazı zara bağlı enzimlerin aktivitesi ve membran proteinlerinin bileşiminin de kurşun maruziyeti ile değiştiği bulunmuştur¹⁸. Oksidatif stresin kurşunun bildirilen bu toksik etkilerinin nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu açık değildir, ancak kurşun maruziyeti muhtemelen bileşenlerini bozarak bütünlüklerini değiştirerek zarların duyarlılığını daha da artırabilir. Bir molekül, ROS üretimini doğrudan indüklemenin yanı sıra, ROS saldırısına karşı zarların duyarlılığını artırarak dolaylı olarak oksidatif stresi indükleyebilir. Biyolojik zarların ana bileşenleri lipitler ve proteinlerdir. Membranlarda bulunan lipit molekülleri hidrofobik yağ asidi yan zincirleri içerir. Birçok çalışmada kurşunun membran bileşenleri

üzerindeki olası toksik etkileri araştırılmış ve bu etkiler ile kurşun kaynaklı oksidatif hasar arasında bir korelasyon olduğunu belirlenmiştir. Lipid peroksidasyon hızındaki artış ve fosfolipid seviyelerindeki düşüş yüzdelerinin, beyin bölgelerindeki kurşun konsantrasyonlarına benzer bir patern izlediği gösterilmiştir¹⁹. Birlikte ele alındığında, bu veriler kurşuna maruz kalan membranların değişen lipit bileşiminin, değişen membran bütünlüğü, geçirgenliği ve fonksiyonuna neden olabileceğini düşündürmektedir. Bunlar lipit peroksidasyonuna yatkınlığı artıracaktır.

2.2. Kurşun-Hemoglobin Etkileşimleri

Ağır metallerin oksihemoglobin ile etkileşiminin RBC'de önemli bir süperoksit (O_2^-) kaynağı olduğu gösterilmiştir. Ag^+ , Hg^{2+} , ve Cu^{2+} gibi güçlü hemolitik ajanların oldukça güçlü bir şekilde peroksidasyona neden olduğu bulunmuştur. Bu nedenle kurşunun da benzer bir etkiye sahip olup olmadığı araştırılmış, Pb^{2+} 'nin in vitro lipozom modelinde hemoglobinin oto oksidasyonunu önemli ölçüde arttırdığı bulunmuştur. Bu etkinin süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz gibi antioksidan enzimler tarafından inhibisyonu, O_2^- ve H_2O_2 'nin de bir şekilde sürece dâhil olduğunu göstermiştir²⁰. Sonuç olarak, Pb^{2+} 'nin oksihemoglobin ile etkileşerek ROS oluşumunu indükleyebileceği ve RBC zarlarının peroksidatif hasarına yol açabileceği bulunmuştur.

2.3. D-Aminolevulinik Asit (ALA) Kaynaklı Reaktif Oksijen Türlerinin Üretimi

Kurşun toksisitesi için hedeflerden biri hematolojik sistemdir. Eritrositlerin kurşun için yüksek afinitesi vardır, dolaşımındaki kurşunun yüzde 99'unu bağlar. Kurşun bu sistemi (i) hem ve hemoglobin sentezini inhibe etmek ve (ii) RBC morfolojisi ve yaşam süresini değiştirmek suretiyle etkiler. Hem sentezinde kurşunun toksik etkilerine en duyarlı enzim muhtemelen d-aminolevulinik asit dehidratazdır (ALAD). Düşük kan seviyelerinde (yaklaşık 15 g / dl) kurşun, sitosolik bir sülfidril enzimi olan ALAD'ı inhibe eder²¹. Kurşun ayrıca hem sentezinin son adımında

ferroşelataz aktivitesini azaltır. ALAD enzimi tarafından porfobilinojen oluşturmak ve ferroşelataz ile protoporfirine demir eklemek için iki molekül d-aminolevulinik asitin (ALA) birleşmemesi sonucu hem sentezi inhibe edilmiş olur. Baskılanan hem sentezi, negatif geri besleme kontrolü sayesinde hem biyosentetik yolağındaki ilk enzim olan ALA sentetazı uyararak ALA üretiminin artması ve hem dolaşımdaki kanda hem de atılan idrarda önemli miktarda ALA artışı ile sonuçlanır. ALA ROS oluşumunu indükler²².

Kurşun kırmızı kan hücrelerinde hemoliz oranını arttırır, hemoliz RBC zarında ROS tarafından üretilen lipid peroksidasyonunun bir sonucu gibi görünmektedir. Kurşun ayrıca doğrudan fosfatidilkoline bağlanabilir RBC zarında fosfolipid seviyelerinde bir azalmaya yol açar. Hipokromik veya normokromik anemi, kurşun maruziyetinin ayırt edici özelliğidir; ROS üretimi ve müteakip eritrosit hemolizinden kaynaklanmaktadır. Kurşun, gümüş, cıva ve bakır ile birlikte, hücre zarlarında lipid peroksit oluşumu yoluyla eritrosit yıkımına neden olabilen güçlü bir hemolitik ajan olarak kabul edilir²⁴.

2.4. Glutasyon Ve Sülfhidril İçeren Enzimlere Bağlanma

Kurşun toksisitesi, her ne kadar ilişkili olsa da, iki ayrı yolla serbest radikal hasarına yol açar: (1) hidroperoksitler, singlet oksijen ve hidrojen peroksit dâhil olmak üzere reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ve (2) antioksidan rezervlerinin doğrudan tükenmesi. ROS üretiminin arttığı herhangi bir biyolojik sistemde antioksidan rezervleri tükenir. Kurşun maruziyetinin etkilerinden biri glutasyon metabolizmasıdır. Glutasyon, lenfositin iç bölmesinde üretilen sistein bazlı bir moleküldür. İnsan vücudundaki doku haricindeki sülfürün yüzde 90'ından fazlası tripeptit glutatyonda bulunur. Serbest radikalleri nötralize etmek için önemli bir antioksidan olarak hareket etmenin yanı sıra, glutasyon, karaciğerdeki glutasyon konjugasyonu yoluyla spesifik ilaçların ve toksinlerin metabolizmasından sorumlu bir substrattır. Cıva, arsenik ve

kurşun glutatyon molekülünü etkin bir şekilde etkisiz hale getirir, böylece karaciğer metabolizmasında bir antioksidan veya substrat olarak kullanılamaz. Kandaki glutatyon konsantrasyonlarının kurşuna maruz kalan çocuklarda ve yetişkinlerde kontrol seviyelerinden önemli ölçüde düşük olduğu gösterilmiştir²³. Kurşun ayrıca fonksiyonel sülfhidril gruplarına sahip enzimlere bağlanır, bu da onları işlevsiz hale getirir ve oksidatif dengede bozulmaya katkıda bulunur. Spesifik sülfhidril grubu içeren iki enzim, d-aminolevulinik asit dehidrojenaz (ALAD) ve glutatyon redüktaz (GR), kurşun maruziyeti olan deney hayvanlarında ve insanlarda inhibe edilmiştir.

2.5. Kurşun Ve Nitrik Oksit

Hayvan modellerinde ve insan popülasyonlarında yapılan çalışmalarda, düşük seviyeli kurşun maruziyeti ile hipertansiyon arasında nedensel bir ilişki olduğunu göstermiştir²⁵. Bununla birlikte, oksidan stresin hipertansiyon etiolojisinde önemli bir rol oynadığına dair kanıtlar vardır. Antioksidan takviyesinin sıçanlarda hipertansiyonu iyileştirdiği gösterilmiştir²⁶. Nitrik oksit metabolizmasının, hem oksidatif stres kaynaklı hipertansiyonun hem de kurşun kaynaklı hipertansiyonun patogenezinde merkezi bir rol oynadığı gösterilmiştir. Endotel bağımlı vazodilatasyon ve düz kas hücresi proliferasyonunun, trombosit agregasyonunun ve monosit yapışmasının önlenmesi için yeterli seviyelerde nitrik oksit gereklidir. Kurşun maruziyetinin ayrıca aort dokularındaki monoamin oksidaz aktivitesini artırdığı ve plazma norepinefrin düzeyini yükselttiği gösterilmiştir. Kurşun kaynaklı hipertansiyonu olan hastalarda, sempatik sinir sistemi aktivitesini ve renin-anjyotensinin aktivasyonunu gösteren nörotransmitter değişiklikleri görülür. Nitrik oksit, sempatik sinir sistemi aktivasyonunu düzenleme yeteneğine sahiptir. Nitrik oksit baskılanmasının hipertansiyonda artan sempatik aktivite üzerindeki etkisi doğrudan araştırılmamış olsa da, ROS'un nitrik oksidi baskılama potansiyelinin

kurşun kaynaklı hipertansiyonun patogeneğinde rol oynayabileceği varsayılmıştır.

3.Kurşun Kaynaklı Oksidatif Stresde Antioksidanların Rolü

Kurşun bir kez vücuda girdiğinde vücuttan tamamen temizlenmesi veya zararlı etkilerinin tersine çevrilmesi neredeyse imkânsız olduğu için tedavi rejimlerinin yanında koruyucu tedbirler öncelikle tercih edilir. Kurşun tarafından uyarılan oksidatif stres, antioksidan rezervlerinin azalmasıyla serbest radikal oluşumunu içeren ve aynı zamanda vücudun serbest radikallerin olumsuz etkilerini yok etme yeteneğini engelleyen bir durumdur. Serbest radikaller, hücre zarı bozulmasına neden olan lipid peroksidasyonu, proteinler ile nükleik asitler DNA ve RNA'nın oksidasyonunu indükleyen kanser oluşumuna yol açan bir dizi zincir reaksiyonu üretir. İki veya daha fazla çift bağa sahip çoklu doymamış yağ asitleri tarafından oluşturulan eritrosit zarları dâhil olmak üzere hücre zarlarının fosfolipidleri, kurşun tarafından indüklenen oksidatif strese karşı daha hassastır. Bu peroksidasyon işleminde kurşun, membran enzimlerinin, endo ve ekzositozun aktivitesini ve sinyal iletim süreçlerini etkileyebilir²⁷. Çeşitli antioksidanların uygulanmasının, vücutta serbest radikallerin oluşumuna neden olan kurşunun toksik etkilerini önleyebileceği ve tedavi edebileceği öne sürülmüştür. Antioksidanlar ROS'u moleküler düzeyde temizleme ve kurşun iyonlarını şelatlama, böylece toksik etkileri tersine çevirme yeteneğine sahiptirler²⁸. Superoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimatik antioksidanlar, hücrelerde endojen olarak üretilirken, karotenoidler, flavonoidler, polifenoller, vitaminler (Vit B, Vit C, Vit E) gibi enzimatik olmayan antioksidanlar meyve, sebze, kuruyemiş, tahıl, et ve süt gibi günlük gıdalarımızda bulunur.

Birçok çalışmada kurşuna maruz kalan işçilerin SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzim aktivitelerinde ve glutatyon (GSH) gibi bazı antioksidan moleküllerin konsantrasyonlarında

değişiklikler olduğu bildirilmiştir²⁹. Bu bulgular, kurşun toksisitesinin patofizyolojisinde oksidatif stresin olası bir katılımını düşündürse de, bu değişikliklerin oksidatif hasarın nedeni mi yoksa bir sonucu mu olduğu açık değildir. Kurşun, cıva ve kadmiyum gibi diğer metaller sülfhidril (SH) gruplarına yüksek afiniteye sahip olduklarından, sistein SH grubu ve diğer amino asit yan zincirleri ile de daha az stabil komplekslerle merkaptidler oluşur. Kurşunun fonksiyonel SH gruplarına sahip farklı enzimleri inhibe ettiği gösterilmiştir. Kurşun ile ROS indüksiyonu ve daha sonra antioksidan hücre savunmalarının tükenmesi, kurşun yüklü dokularda proksidan / antioksidan dengenin genel olarak bozulmasına neden olabilir. Hücrelerin antioksidan kapasitesini arttırmak terapötik bir strateji olarak kurşun zehirlenmesinin uzun süreli etkili tedavisini güçlendirebilir. Bu, şelasyon yoluyla kan ve doku kurşun düzeylerini azaltarak, böylece kurşunun kritik biyomoleküllerle etkileşerek oksidatif hasarı indüklemeye olasılığını azaltarak veya antioksidan moleküllerin eksojen takviyesi yoluyla hücrenin antioksidan savunmasını güçlendirerek gerçekleştirilebilir. Birçok araştırmacı kurşun kaynaklı oksidatif stresi doğrulasa da, antioksidanların tek başına veya şelasyon terapisi ile beraber kullanımının etkili olup olmadığı henüz tam olarak araştırılmamıştır. Antioksidan aktiviteye sahip bazı moleküllerin hayvanlarda deneysel kurşun toksisitesini önleme veya tedavi etme yeteneği araştırılmış olup bazı ajanların kurşunun bazı toksik etkilerini azaltabildiği bulunmasına rağmen, bunların hiçbirinin kurşun maruziyetinden sonra bozulmuş pro-oksidan / antioksidan oranını yeniden dengeleyerek etkili olduğu gösterilememiştir.

3.1.B6 Vitamini

1987 yılında Tandon ve ark. kurşun zehirlenmesinde B6 vitamininin etkisini araştırdı³⁰. Bu yazarlar, kurşun verilmesi ve eşzamanlı B6 vitamini takviyesi sonucunda ALAD aktivitesinin ve çinko protoporfirin seviyelerinin önemli ölçüde azaldığını bildirmiştir. B6

vitamini takviyeli sıçanlarda kan, böbrek ve karaciğer kurşun düzeylerinde azalma görülürken, beyin kurşun düzeylerinde herhangi bir etki gözlenmedi. B6 vitamininin kurşun toksisitesi üzerindeki bu yararlı etkilerinin, halka azot atomunun kurşun şelasyonuna katılması veya kurşun ve B6 vitamini arasında absorpsiyon seviyesinde olası bir etkileşime bağlı olduğu ileri sürülmüştür³⁰. 1989 yılında McGowan, B6 vitamini eksikliği olan bir diyetle beslenen kurşun maruz sıçanların GSH metabolizmasını incelemiş ve deney grubunun GSH düzeyleri kontrol değerlerinden düşük bulunmuştur³¹. B6 vitamininin GSH metabolizmasına bu şekilde dâhil edilmesi, transsülfürasyon yolundaki çeşitli enzimler için B6 vitamininin kofaktör rolü ile açıklanmıştır. GSH'nin öncüsü olan sisteinin çoğu, bu yoldaki diyet metiyoninden sentezlenir. Bu nedenle, B6 vitamini eksikliğinin sisteinin varlığını sınırlandırarak metiyoninin GSH biyosentezine karışmasını önlediği öne sürülmüştür. Sonuçlar, B6 vitamininin kurşuna maruz kalan sıçanlarda, GSH biyosentezini indüklemek suretiyle antioksidan savunma sistemlerini destekleyerek dolaylı bir antioksidan rolünü göstermektedir..

3.2.Çinko

Çinkonun sıçanlarda tek başına ve / veya tiamin ile kombinasyon halinde kurşun zehirlenmesini önleyebildiği ve tedavi edebildiği bildirilmiştir³². Söz konusu çalışmada eşzamanlı “Zn ve metiyonin / tiamin” diyet takviyesinin, kandaki ALAD aktivitesinin kurşun kaynaklı inhibisyonunu ve ALA'nın idrar atılımını azaltmada en etkili olduğu bulunmuştur. Bu çalışmalar ayrıca kombinasyon tedavisinin kurşuna maruz kalma ile eşzamanlı olarak takviye edilmesinin kurşun maruziyetinden sonra tedaviden daha etkili olduğunu düşündürmektedir. Çinko için bu koruyucu etki, gastrointestinal kanaldaki kurşun emilimindeki azalmaya bağlanmıştır. Başka bir çalışmada çinko, CaNa2EDTA, süksimer ve D-penisilamin ile birlikte kurşuna maruz bırakılmış sıçanlara uygulanmış ve kan, hepatik ve renal kurşun

konsantrasyonunu azaltarak ve inhibe olmuş kan ALAD aktivitesini tersine çevirerek söz konusu şelasyon ajanlarının etkinliğini arttırdığı gösterilmiştir³³. Ayrıca, Zn takviyesi, şelatlama maddeleri ile tedaviyi takiben dokulardaki tükenen Zn seviyelerini geri kazanmada etkilidir ve antioksidan etkisi olduğu gösterilmiştir. Zn'nin antioksidan fonksiyonu, önerilen bazı mekanizmaların yanı sıra sülfhidril gruplarının oksidasyona karşı korunması ve geçiş metalleri tarafından ROS (HO ve O₂) üretiminin önlenmesi şeklinde iki mekanizma ile açıklanmıştır. Bununla birlikte, kurşun toksisitesinde Zn'nin yararlı etkisini gösteren çalışmalarda, bu etkinin oksidatif stres ile ilişkili olup olmadığı konusu aydınlanmamıştır. Flora ve ark. kurşuna maruz kalmış sıçanlarda karaciğer GSH'sini çinko, metiyonin ve "çinko (+) metiyonin" uygulamasını takiben ölçmüşler ve beklendiği gibi, GSH'nin bir öncüsü olan metionin, hem tek başına hem de Zn ile kombinasyon halinde kurşun kaynaklı hepatik GSH seviyelerinde azalmaları yerine koymamada etkili olmuştur³⁴.

3.3.E Vitamini

Birçok araştırmada, iyi bilinen bir antioksidan olan E vitamininin kurşun toksisitesi üzerindeki iyileştirici etkisini değerlendirilmiştir. Kurşun zehirlenmesi olan sıçanların eritrositlerinde E vitamininin antioksidan etkisinin incelendiği in vivo ve in vitro çalışmalar, antioksidan desteğinin, aminolevulinik dehidrataz (ALAD) aktivitesinin inhibisyonunu önlediğini ve lipid peroksidasyonunu engellediğini göstermektedir³⁵. E vitamininin tek başına veya CaNa₂EDTA ile kombinasyon halinde, sıçanlarda karaciğer ve beyindeki kurşun kaynaklı lipid peroksit seviyelerini düşürmede etkili olduğu bulunmuştur³⁶. Kurşuna maruz kalan işçilerde, antioksidan E vitamini takviyesi, ALAD aktivitesinde önemli bir artış sağlamıştır; kurşunun enzim üzerindeki doğrudan etkileri, ALAD aktivitenin tamamen geri kazanılmamasını açıklayabilir. Birkaç model, ALAD'ın oksidasyona duyarlı bir protein olduğunu kanıtlamaktadır. E vitamininin kurşuna maruz kalan işçilerde,

protein oksidatif hasarını önlemede etkili olduğunu ve aynı zamanda aktivitelerini koruduğunu göstermektedir³⁷. Levander ve ark. E vitamini eksikliği olan ve E vitamini takviyeli sıçanlarda RBC' nin filtre edilebilirliğini ve RBC lipit peroksidasyonunu araştırmışlardır. Kurşunun, RBC'nin mekanik kırılabilirliğini arttırdığı gösterilmiştir, bu da RBC'yi daha az deforme olabilir ve oksidan strese karşı daha hassas hale getirir. E vitamini eksikliği olan sıçanlardan RBC için filtrasyon süresi, E vitamini takviyeli sıçanlardan alınan RBC' den çok daha fazlaydı. Ayrıca, artan lipit peroksidasyonu ile kırmızı hücrelerin E vitamini eksikliği olan kurşun zehirli sıçanlardan filtrelenebilirliği arasında güçlü bir korelasyon bulundu. Bu sonuçlar, insanların yüksek E vitamini statüsünün, kurşunun neden olduğu ve onları oksidatif hasara karşı daha savunmasız hale getiren RBC'nin deforme olabilirliğindeki değişiklikleri iyileştirebileceğini göstermektedir³⁸.

3.4.Askorbik Asit (C Vitamini)

Kurşuna maruz kalmış sıçanlarda tek başına veya tiamin ile kombinasyon halinde, askorbik asit ve iki tiol metal şelatörü, süksimer ve -mercapto (2-furil) akrilik asidin etkinliği araştırılmıştır. Askorbik asitin tek başına ve tiamin ile kombinasyon halinde kurşunun üriner eliminasyonunun artırılması, hepatik ve renal kurşun yükünün azaltılması ve kan ALAD aktivitesinin kurşun kaynaklı inhibisyonunun tersine çevrilmesi yoluyla etkili olduğu bulunmuştur³⁹). Bununla birlikte, tek başına tiamin herhangi bir yararlı etki göstermemiştir. Askorbik asidin bu yararlı rolü, kurşun ile kompleks yapma etkisine bağlanmıştır. Simon ve Hudes, Amerikalılar arasında serum askorbik asit ve kan kurşun seviyeleri arasında ters bir ilişki olduğunu gösteren popülasyon temelli bir çalışma bildirmişlerdir⁴⁰. Yazarlar, nedensel bir ilişki doğrulanırsa kurşun toksisitesinin önlenmesinde daha yüksek dozda bir askorbik asit alımının etkili olabileceğini öne sürmektedir. Kurşuna maruz kalmış hayvanlara çeşitli antioksidan uygulamalarla iyileşme bildirilmiş olsa da, literatürde

kurşun kaynaklı oksidatif hasara karşı bir antioksidanın etkinliğinin kapsamlı bir şekilde araştırıldığı yeterli çalışma bulunmamaktadır.

3.5.Selenyum

Selenyum, glutatyon peroksidazın aktivitesi için gerekli olduğu bilinen, böylece hücrelerin antioksidan savunma sistemlerinde önemli bir role sahip bir elementtir. Serbest radikal ile ilişkili hastalıkların tedavisinde etkinliği birçok çalışma ile gösterilmiştir. Kurşun maruziyetinden önce, selenyum uygulaması asit ve alkalın fosfatazlar, transaminazlar (GOT, GPT), total protein, trigliseritler ve serumdaki kolesterol açısından kurşunun olumsuz etkilerine karşı belirgin profilaktik etki ile sonuçlanmıştır⁴¹. Kurşun asetatın erkek albino sıçanlara uygulanmasından 2 saat önce kas içine enjekte edilen sodyum selenitin oksidatif stresle ilgili parametreler üzerinde etkisi iki ana hedef organda, karaciğer ve böbrekte, analiz edilmiş ve selenyumun, SOD ve glutatyon redüktaz aktivitelerini arttırarak ve GSH'yi arttırarak hücrelerin antioksidan kapasitesini arttırdığı bulunmuştur. Selenyumun koruyucu etkisi için üç olası mekanizma önerilmiştir: (i) inaktif bir selenyum-kurşun kompleksinin oluşumu, (ii) SOD aktivitesini arttırarak radikal süpürmeyi teşvik etmek, böylece süperoksit radikalinin uzaklaştırılmasını arttırmak, ve (iii) glutatyon redüktaz aktivitesini arttırarak dolaylı olarak hücrelerin antioksidan kapasitesinin arttırılması⁴¹.

3.6.S-Adenosil-L-Metiyonin (SAM)

Etanolün, sıçan beyni antioksidan savunma sistemlerinin kurşun kaynaklı inhibisyonunu güçlendirdiği bildirildiğinden, GSH'nin öncüsü olan s-adenosil-l-metiyonin (SAM) in kurşun ve etanol bileşimine maruz kalan farelere takviye olarak verilmesinin etkileri araştırılmıştır. SAM'ın bazı biyokimyasal parametrelerde (kan ALAD, GSH, beyin ve karaciğer lipid peroksidasyonu ve GSH içeriği) değişiklikleri ve akut kurşun ve etanol maruziyeti sırasında kan, karaciğer ve beyindeki kurşun birikmesini önlediği gösterilmiştir. Sonuçlar umut vericidir ve yazarlar, şelasyon

tedavisi sırasında beynin kurşun yükünü tüketerek ve “kurşun ve etanol” kaynaklı oksidatif stresi hafifleterek SAM'ın ya tek ya da “adjuvan” bir ajan olarak olası bir terapötik potansiyele sahip olabileceğini önerilmiştir³³.

3.7.N-Asetilsistein (NAC)

Kurşun toksisitesinin oksidatif stresi indükleyip indüklediğinin araştırıldığı, Çin hamsteri yumurtalık (CHO) hücrelerinin kullanıldığı bir in vitro modelde Ercal ve ark. azalmış GSH / GSSG oranı, artmış MDA seviyeleri ve katalaz aktivitesi yoluyla kurşuna maruz kalan hücrelerde artmış oksidatif hasar gözlemlenmiştir⁴². Kurşun toksisitesinde meydana gelen oksidatif dengesizlik için olası bir çözümün hücrelerin GSH tedarikinin yenilenmesi olarak önerilmiştir. Doğrudan GSH takviyesinin etkisiz olduğu gösterildiğinden, kurşuna maruz kalan CHO hücrelerinde takviye olarak iyi bilinen bir GSH prekürsörü olan NAC kullanılmış ve kurşun kaynaklı oksidatif stresi azattığı gösterilmiştir. NAC, birkaç yan etki ile farklı klinik durumlarda kullanılan tiyol içeren bir antioksidandır. Yüksek toksisite eşiği ve geniş terapötik penceresi, kullanımını artırır.

Antioksidan etkinin, ROS ile doğrudan etkileşimi ve / veya GSH sentezini uyarma kabiliyeti nedeniyle olduğuna inanılmaktadır. NAC'nin tüm bu avantajları göz önüne alındığında , kurşun zehirlenmesi tedavisi protokolüne dâhil edilmesiyle olumlu bir sonucun elde edilebileceği beklenir. NAC takviyesi GSH / GSSG oranının artmasına, MDA ve katalaz aktivitesinin azalmasına neden olmuştur⁴². Bu antioksidan fonksiyonun yanı sıra NAC, kurşun etkisi ile önemli ölçüde azalmış olan hücre sağkalımı üzerinde pozitif bir etki de oluşturmuştur. Sonuçlar, ROS'un kurşun toksisitesine katılımını ve kurşun zehirlenmesinin terapötik sonuçlarında NAC için olası faydalı bir rolü destekler. NAC ile tedavi, kurşuna maruz kalan C57BL / 6 farelerinin hem beyinlerinde hem de karaciğerlerinde oksidatif stres endekslerinde bir azalmaya neden olmuştur. Bu, tiyol içeren bir antioksidanın kurşun kaynaklı oksidatif

stresi hafifletebileceğini gösterir. Öte yandan, NAC 'nin bor, krom, kobalt, kadmiyum, altın ve kurşun gibi çeşitli ağır metaller için şelasyon aktivitesine sahip olduğu belirtilmiştir⁴³. Bununla birlikte, oral yoldan verildiğinde NAC'nin metal şelatlamada etkisiz olabilir. NAC tedavisi kan, karaciğer veya beyin kurşun düzeylerinde herhangi bir azalmaya neden olmamıştır. Bu bulgu, NAC uygulamasının, kurşunu hedef dokulardan çıkarmadan in vivo oksidatif strese karşı koyduğunu göstermektedir⁴². NAC'nin etkisi, şelasyondan bağımsız olarak kurşun zehirlenmesi tedavisinde bazı yararlı etkiler sağlayabilir. Bu nedenle, NAC'nin kurşun zehirlenmesi için şelasyon odaklı bir tedavi protokolüne dâhil edilmesi tek ajan olarak kullanmaktan çok daha etkilidir.

3.8-Lipoik Asit (LA)

Başka bir antioksidan olan LA'nın da kurşunun bazı toksik etkilerini azaltabileceği öne sürülmüştür. LA, hayvanlar ve insanlar tarafından sentezlenebilir ve çeşitli çoklu enzim komplekslerinde bir kofaktör olarak işlev görür. İndirgenmiş formu, dihidrolipoik asit (DHLA), iki serbest sülfhidril grubuna sahiptir ve LA / DHLA redoks çifti, antioksidan potansiyeli ile ilgili son çalışmalarda büyük ilgi görmüştür⁴⁴. Hem LA hem de DHLA; (i) bazı reaktif türleri temizleme kabiliyetine sahiptir, (ii) diğer antioksidanları (yani E ve C vitaminleri ve GSH) radikal veya aktif olmayan formlarından yeniden üretebilirler ve (iii) metal şelatlama aktivitesine sahiptirler. LA aynı zamanda GSH kaybına karşı NAC'ye göre kayda değer bir avantaja sahip gibi görünmektedir, çünkü LA mikromolar bir aralıkta etkiliyken, benzer bir etki için milimolar NAC gereklidir. Bir ajanın terapötik uygulamaları göz önüne alındığında önemli olan diğer kriterler, emilimi ve biyoyararlanımı ile hedef dokulardaki konsantrasyonudur. LA' nın kan-beyin bariyerini geçme kabiliyeti ekstra bir avantaj gibi görünmektedir, çünkü beyin kurşun zehirlenmesinde önemli bir hedeftir. Kurşuna maruz bırakılmış CHO hücrelerinin LA ile inkübe edilmesi sonucu oksidatif stresin azaldığı

ve birlikte hücre sağ kalımının önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir⁴⁵. Bu, azalmış MDA seviyeleri, artmış GSH içeriği ve azalmış katalaz aktivitesi açısındandır. LA' nın oksidatif stresle ilişkili parametreler üzerindeki yararlı etkileri, hedef hücrelerden kurşunu çıkarma kabiliyeti ile ilişkili görünmemektedir, ancak LA'nın tiyol antioksidan kapasitesini artırma potansiyeli ile ilişkilidir.

3.9 Kaptopril

Anjiyotensin dönüştürücü bir enzim inhibitörü olan kaptoprilin, iyi bilinen anti hipertansif etkisinin yanı sıra antioksidan potansiyele sahip olduğu ileri sürülmüştür. Terminal sülfhidril grubunun, kaptoprilin antioksidan etkisi için bir mekanizma olarak gösterilen ROS süpürmede rol oynadığı öne sürülmüştür⁴⁶. Kaptopril yapısındaki tiyol grubu, ağır metalleri şelatlama olasılığını artırmış ve böylece atılımlarını arttırmıştır. Bu özellikler, oksidatif stresin dâhil olduğu düşünülen kurşun toksisitesinde kaptoprilin kullanımını öne çıkarmıştır. Kaptoprilin kurşun kaynaklı oksidatif stres üzerindeki in vivo etkilerini araştırılmış ve kaptopril ile tedavi edilen sıçanların karaciğer, beyin ve böbreklerinde daha yüksek GSH: GSSG oranları ve ayrıca MDA konsantrasyonlarında hafifçe azalma gösterilmiştir. Katalaz aktivitesi önemli ölçüde etkilenmemiştir⁴⁷. Kurşuna maruz kalmış sıçanlara bir haftalık kaptopril (10 mg / gün) uygulandıktan sonra kan kurşun konsantrasyonlarının değişmediği saptanmıştır ki bu da kurşun zehirlenmesi tedavisinde sadece bir şelatör maddesi ile birlikte kullanılabileceğini göstermektedir⁴⁷. Kurşuna bağlı hipertansiyon diğer çalışmalarda bildirilmiştir, bu da kurşun maruziyeti ile artan ROS üretiminin endotel kaynaklı nitrik oksidin inaktivasyonunu arttırarak kan basıncında artışa katkıda bulunabileceğini göstermiştir⁴⁸. Kurşunla indüklenen hipertansiyonda ROS'un olası bir rolü, kurşuna maruz kalan hayvanlara E vitamininin birlikte uygulanmasıyla MDA seviyelerinin azalması ve kan basıncının düşmesi ile daha da kanıtlanmıştır⁴⁹. Hidroksil radikallerinin kurşun toksisitesinde

gösterilen endotelial disfonksiyon için sorumlu radikal olabileceği bildirilmiştir. Bu nedenle kaptoprilin bir antioksidan ve antihipertansif ajan olarak faydaları, kaptoprilin antioksidan etkisinin bilinen antihipertansif etkisi için olası bir alternatif mekanizma olup olmayacağı tartışmalıdır.

3.10.Taurin

Yarı esansiyel bir amino grup asit olan taurinin kalsiyum homeostazını koruma, osmoregülasyon, hipoklorik asidin uzaklaştırılması ve hücre zarların stabilize edilmesinde rol oynadığı gösterilmiştir. Son veriler, taurinin, ROS'u temizleyerek doğrudan bir antioksidan olarak ve / veya oksidan hasar nedeniyle zar geçirgenliğindeki değişiklikleri önleyerek dolaylı bir antioksidan olarak hareket edebileceğini göstermektedir⁵⁰. Taurinin CHO hücrelerinde ve F344 sıçanlarında kurşun kaynaklı oksidatif stres üzerinde yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir. Taurin ile tedavi edilen, kurşuna maruz kalan CHO hücrelerinde dramatik olarak sağ kalım artışı sağlanmış, MDA seviyeleri düşmüş ve GSH seviyeleri artmıştır. Benzer etkiler kurşuna maruz kalan F344 sıçanların RBC, beyin ve karaciğerlerinde gözlenmiştir. Taurin tedavisinden sonra kan, beyin, karaciğer ve böbreklerdeki kurşun konsantrasyonlarında herhangi bir değişiklik ile taurinin şelat etkisi gösterilmemiştir. Taurinin kurşun kaynaklı oksidatif stresde gözlenen etkisinin altında şelatlama aktivitesinden ziyade antioksidan bir mekanizma yatıyor gibi görünmektedir. Taurinin antioksidan özelliklerini anlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

3.11 Flavonoidler Ve Polifenoller

Flavonoidler, meyvelerin, sebzelerin, bitki kaynaklı içeceklerin (kırmızı şarap ve çay) ve çikolatanın ana bileşenlerini temsil eden doğal olarak polifenolik bileşiklerdir. Flavonoidler bitkilerde önemli bir rol oynar, esas olarak onları dış patojenlere, ultraviyole ışığa veya sığağa karşı korur. Flavonoidler, meyve ve çiçeklerin kırmızı, mor ve mavi renginden

sorumludur. İnsanlarda, bu bileşikler, diğer antioksidanlar gibi, aktif metal iyonlarını şelatlayarak ve ayrıca serbest radikal zincir reaksiyonunu sonlandırarak oksidatif stresi iyileştirebilir veya önleyebilir⁵¹. Flavonoidlerin antioksidan olarak hareket etme yeteneği, en az bir veya daha fazla hidroksil grubuna sahip iki veya daha fazla aromatik halka ve ayrıca metal şelatlama özellikleri veren konjüge elektronlarla karakterize edilen moleküler yapılarına bağlıdır. Kuersetin, sebze, meyve ve çayda yaygın olarak bulunan bir flavonoiddir. Karbonil grubu ile birlikte hidroksil grupları, rezonansa girerek elektron verir ve serbest radikalleri stabilize eder, böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eder. Kuersetin, orto-fenolik grupları kurşun ile koordinasyon bağı oluşturarak bu metali şelat eder. Liu ve çalışma arkadaşları, kurşunun neden olduğu karaciğer⁵² ve böbrek⁵³ hasarına karşı kuersetinin koruyucu mekanizmasını incelemiştir. Kuersetinin, malondialdehid (MDA), H₂O₂ ve ROS seviyelerini önemli ölçüde azalttığını ve kurşunla tedavi edilen sıçanların karaciğer ve böbreklerdeki GSH / GSSG oranını düşürdüğünü bulmuşlardır. Ayrıca bu biyoflavonoid, Cu / Zn SOD, CAT ve GPx aktivitelerini önemli ölçüde restore etmiş ve kurşunla tedavi edilen sıçanların karaciğer ve böbreklerinde DNA oksidatif hasarı ve apoptozunu azaltmıştır. Sarı polifenolik bir bileşik olan kurkumin, antioksidan özellikler, radikal süpürme ve kurşun toksisitesinde metal şelatlama da dahil olmak üzere birçok aktiviteye sahip olan tumerik'in aktif bileşenidir⁵⁴. Kurkuminin sıçanlarda kurşun kaynaklı nörotoksositeye karşı koruyucu etkisi bildirilmiştir. Kurkumin ile tedavi edilen sıçanların beyin bölgelerinde lipid peroksidasyonunda önemli bir düşüşe ve GSH seviyesinde azalmaya ve SOD ve CAT aktivitelerinde önemli bir artışa neden olmuştur. Daniel ve ark. kurkuminin şelasyon özelliklerine dikkat çekerek sıçan beynindeki kurşun seviyesini düşürdüğünü göstermişlerdir⁵⁵. Bununla birlikte suda çözünürlüğünün son derece düşük

olması ve zayıf sistemik biyoyararlanım ile sonuçlanan hızlı bağırsak ve hepatik metabolizması, oral kullanımını kısıtlar.

3.12 Metiyonin

Metiyonin, hepatositler tarafından glutatyon üretimi için tercih edilen substrattır ve karaciğerde glutatyon üretimi için bir öncü görevi görür. Metiyoninin, metiyonin sülfoksit oluşturmak için ROS ile reaksiyona girdiği ve hepatik glutatyon seviyelerini artırarak ROS temizlenmesini arttırdığı gösterilmiştir. Kurşuna maruz kalan hayvanlarda metiyonin takviyesi tiyol molekül grupları, kükürt bazlı protein ve antioksidan olarak işlev gören protein olmayan moleküllerin artmasına neden olarak karaciğer ve böbreklerde peroksidasyonu önlemiştir³⁶. Kurşuna maruz kalmış sıçanlarla yapılan çalışmalarda, Flora ve arkadaşları, çinko ve tiamine ek olarak verilen metiyoninin ALAD aktivitesini ve ALA'nın idrar atılımına normale döndürdüğü ve tek başına verilen herhangi bir besin maddesinden daha etkili olduğunu bulmuşlardır³⁴.

4. Antioksidanların Kullanılabilirliği Ve Nanopartiküller

İn vitro ve in vivo çalışmalardan nanopartiküller içinde kapsüllenmiş antioksidanların çeşitli hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde büyük potansiyele sahip olduğunu gösteren çeşitli kanıtlar vardır. Antioksidanların yararlılığındaki en büyük dezavantaj, sulu çözücülerdeki zayıf çözünürlük, zayıf emilim, zayıf biyoyararlanım ve hızlı metabolizmadan kaynaklanıyor gibi görünmektedir. Bu olumsuz nedenleri bertaraf etmek ve antioksidanların kullanılabilirliğini arttırmak için nanopartiküller, lipozomlar ve fosfolipid kompleksinin kullanımını içeren çok sayıda yaklaşım benimsenmiştir. Nanokapsüllemenin lipit sistemleri, çözünürlüklerini ve biyoyararlanımlarını geliştirerek ve diğer gıda bileşenleri ile istenmeyen etkileşimleri önleyerek antioksidanın yararlılığını artırır. Lipozom teknolojisi, antioksidanların kapsüllemesi ve kontrollü salımının yanı sıra gelişmiş biyoyararlanım ve stabilitede

heyecan verici fırsatlar sunar. Mozafari ve ark.⁵⁶ lipozomların küçük boyutları, biyolojik olarak parçalanabilirliği, hidrofobik ve hidrofilik karakterleri ve düşük toksisiteleri nedeniyle besinlerin, enzimlerin, ilaçların ve gıda antimikrobiklerini için taşıyıcı araçlar olarak kullanılabilmesini bildirmiştir. Çeşitli çalışmaların sonuçları, lipozomların ilaç penetrasyonunu artırma, terapötik etkinliği artırma ve ciddi yan etkileri azaltma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Lipozomlar, yapay olarak hazırlanan ve hücre zarları olarak fosfolipid çift katmanları ile oluşturulan su içeren küresel şekilli (genellikle 100 ila 1000 nm çapında) küçük veziküllerdir. Lipozomlar sonikasyon ile hazırlanır ve fosfatidilkolin ve fosfatidiletanolaminden zenginleştirilmiş fosfolipitlerden oluşur. Fosfolipitler amfifiliktir, molekülün uzun hidrokarbon kuyrukları hidrofobikken kutup başı hidrofiliktir. Fosfolipitlerin dışarıya bakan hidrofilik kafaları bulunurken, her iki lipit katmanının hidrofobik kuyrukları birbirleri ile etkileşime girer. Ayrıca, lipozomların içi suda çözünür ve çözünür ilaçlar, enzimler, besinler ve biyomoleküller. Dış fosfolipid membranları yüklü moleküller ile kovalent olarak modifiye edilebilir; bu şekilde lipozomlar hedef hücrelere daha kolay taşınabilir. Kurkumin'i lipozomlar içinde kapsülleyerek mükemmel sonuçlar elde edilmiştir. Lipozomlara kapsüllenmiş kurkumin daha biyoaktif ve biyolojik olarak kullanılabilir olmasına rağmen, bu özellikleri doğrulamak için in vivo çalışmalar hala gereklidir⁵⁷.

Sonuç

Kurşun zehirlenmesi, dünya çapında eski ama kalıcı bir halk sağlığı sorunudur. Kurşun maruziyetinin, aynı zamanda antioksidan savunma sistemini de bozan ve nükleik asitler (DNA ve RNA), proteinler, enzimler ve membran bazlı fosfolipitler gibi çeşitli biyomoleküllerde oksidatif hasara yol açarak serbest radikallerin ve ROS üretimini indüklediğini vurgulamak önemlidir. Kurşun zehirlenmesinde kullanılan tekli veya kombine şelatlayıcı ajanların antioksidanlarla takviye edilmesi

tedavide yeni bir yaklaşım sunmaktadır. Şimdiye kadar yapılan çalışmalar, antioksidanların kurşunun bazı toksik etkilerini azaltmada son derece önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Antioksidanların, özellikle vitaminlerin (B1, B6, C ve E) ROS tarafından üretilen hücresel hasarı azalttığı gösterilmiştir. Antioksidanlar, toksik etkileri tersine çevirerek ROS ve kurşun iyonlarını şelatlama yeteneğine sahiptirler. Bu antioksidanların ayrıca tiyol şelatörleri DMSA ve MiADMSA ile birlikte uygulandığında yüksek bir terapötik etki sağladığı bildirilmiştir. Antioksidanların kullanımında en büyük dezavantaj, düşük çözünürlük ve hızlı eliminasyon nedeniyle zayıf biyoyararlanımlarıdır. Bu antioksidanların düşük biyoyararlanım probleminin üstesinden gelmek için yeni yaklaşımlar arasında nanopartiküller, lipozomlar ve miseller bulunur. NAC gibi bazı antioksidanların kurşun şelatlama ve kan dolaşımından uzaklaştırma potansiyeli olduğu görülmektedir. Daha ileri çalışmalar, bu antioksidanların kurşun toksisitesinin tedavisinde olası şelatlama ve antioksidan ajanların ikili faydalarını araştırmaya odaklanmalıdır. Antioksidanların kullanımı, tedaviye başka bir seçenek getirir, hastayı kurşun kaynağından çıkarmadan terapötik müdahale olasılığı. Şelatörlerin rebound etkisinden dolayı, şelasyon tedavisi, hastanın kurşun maruziyeti devam ederken başlatılmamalıdır. Bununla birlikte antioksidanlar güvenli moleküller olarak tanımlar ve kurşuna maruz kalmadan uzaklaştırılmaları mümkün olmasa bile kanlarında düşük kurşun konsantrasyonu olan hastalara verilebilirler. Sonuç olarak, antioksidanların, kurşun maruziyeti için eşzamanlı olarak tedavi edilen hücreler veya hayvanlar üzerindeki etkilerini göstermek için deneylere ihtiyaç vardır. Bazı antioksidanların faydalı etkilerinin altında yatan mekanizmaları anlamak ve kurşun zehirlenmesi vakalarında daha iyi klinik iyileşmeler elde etmek için optimum dozaj ve tedavi süresini araştırmak için ayrıntılı mekanik çalışmalar da gereklidir.

KAYNAKÇA

1. Gürer, H., Ozgünes, H., Saygin, E., & Ercal, N. (2001). Antioxidant effect of taurine against lead-induced oxidative stress. *Archives of environmental contamination and toxicology*, *41*(4), 397–402. <https://doi.org/10.1007/s002440010265>
2. Rocha, A., & Trujillo, K. A. (2019). Neurotoxicity of low-level lead exposure: History, mechanisms of action, and behavioral effects in humans and preclinical models. *Neurotoxicology*, *73*, 58–80. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2019.02.021>
3. Mitra, P., Sharma, S., Purohit, P., & Sharma, P. (2017). Clinical and molecular aspects of lead toxicity: An update. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, *54*(7-8), 506–528. <https://doi.org/10.1080/10408363.2017.1408562>
4. Vaziri, N. D. (2008). Mechanisms of lead-induced hypertension and cardiovascular disease. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, *295*(2), H454-H465.
5. Brodtkin, E., Copes, R., Mattman, A., Kennedy, J., Kling, R., & Yassi, A. (2007). Lead and mercury exposures: interpretation and action. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne*, *176*(1), 59–63. <https://doi.org/10.1503/cmaj.060790>
6. Hu, H., Shih, R., Rothenberg, S., & Schwartz, B. S. (2007). The epidemiology of lead toxicity in adults: measuring dose and consideration of other methodologic issues. *Environmental health perspectives*, *115*(3), 455–462. <https://doi.org/10.1289/ehp.9783>
7. Flora, G., Gupta, D., & Tiwari, A. (2012). Toxicity of lead: A review with recent updates. *Interdisciplinary toxicology*, *5*(2), 47–58. <https://doi.org/10.2478/v10102-012-0009-2>
8. Sinicropi, M. S., Caruso, A., Capasso, A., Palladino, C., Panno, A., & Saturnino, C. (2010). Heavy metals: toxicity and carcinogenicity. *Pharmacologyonline*, *2*, 329-333.
9. Anttila, A., Apostoli, P., Bond, J. A., Gerhardsson, L., Gulson, B. L., Hartwig, A., & Levy, L. (2006). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: Inorganic and organic lead compounds.
10. Patrick L. (2006). Lead toxicity part II: the role of free radical damage and the use of antioxidants in the pathology and treatment of lead toxicity. *Alternative medicine review : a journal of clinical therapeutic*, *11*(2), 114–127.
11. Persson, T., Popescu, B. O., & Cedazo-Minguez, A. (2014). Oxidative stress in Alzheimer's disease: why did antioxidant therapy fail? *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2014*, 427318. <https://doi.org/10.1155/2014/427318>

12. Thanan, R., Oikawa, S., Hiraku, Y., Ohnishi, S., Ma, N., Pinlaor, S., Yongvanit, P., Kawanishi, S., & Murata, M. (2014). Oxidative stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer. *International journal of molecular sciences*, *16*(1), 193–217. <https://doi.org/10.3390/ijms16010193>
13. Maulik, N., McFadden, D., Otani, H., Thirunavukkarasu, M., & Parinandi, N. L. (2013). Antioxidants in longevity and medicine. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2013*, 820679. <https://doi.org/10.1155/2013/820679>
14. Wills E. D. (1965). Mechanisms Of Lipid Peroxide Formation In Tissues. Role Of Metals And Haematin Proteins In The Catalysis Of The Oxidation Unsaturated Fatty Acids. *Biochimica Et Biophysica Acta*, *98*, 238–251. [https://doi.org/10.1016/0005-2760\(65\)90118-9](https://doi.org/10.1016/0005-2760(65)90118-9)
15. Yiin, S. J., & Lin, T. H. (1995). Lead-catalyzed peroxidation of essential unsaturated fatty acid. *Biological trace element research*, *50*(2), 167–172. <https://doi.org/10.1007/BF02789419>
16. Hsu, P. C., & Guo, Y. L. (2002). Antioxidant nutrients and lead toxicity. *Toxicology*, *180*(1), 33–44. [https://doi.org/10.1016/s0300-483x\(02\)00380-3](https://doi.org/10.1016/s0300-483x(02)00380-3)
17. Levin, S. M., & Goldberg, M. (2000). Clinical evaluation and management of lead-exposed construction workers. *American journal of industrial medicine*, *37*(1), 23–43. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0274\(200001\)37:1<23::aid-ajim4>3.0.co;2-u](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0274(200001)37:1<23::aid-ajim4>3.0.co;2-u)
18. Suwalsky, M., Villena, F., Norris, B., Cuevas, Y. F., Sotomayor, C. P., & Zatta, P. (2003). Effects of lead on the human erythrocyte membrane and molecular models. *Journal of inorganic biochemistry*, *97*(3), 308–313. [https://doi.org/10.1016/s0162-0134\(03\)00292-7](https://doi.org/10.1016/s0162-0134(03)00292-7)
19. Shafiq-Ur-Rehman (1984). Lead-induced regional lipid peroxidation in brain. *Toxicology letters*, *21*(3), 333–337. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(84\)90093-6](https://doi.org/10.1016/0378-4274(84)90093-6)
20. Clemens, M. R., & Waller, H. D. (1987). Lipid peroxidation in erythrocytes. *Chemistry and physics of lipids*, *45*(2-4), 251–268. [https://doi.org/10.1016/0009-3084\(87\)90068-5](https://doi.org/10.1016/0009-3084(87)90068-5)
21. Mani, M. S., Kunnathully, V., Rao, C., Kabekkodu, S. P., Joshi, M. B., & D'Souza, H. S. (2018). Modifying effects of δ -Aminolevulinic acid dehydratase polymorphism on blood lead levels and ALAD activity. *Toxicology letters*, *295*, 351–356. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2018.07.014>
22. Dan, J., Sun, X., Li, W., Zhang, Y., Li, X., Xu, H., Li, Z., Tian, Z., Guo, S., Yao, J., Gao, W., & Tian, Y. (2015). 5-Aminolevulinic Acid-Mediated Sonodynamic Therapy Promotes Phenotypic

- Switching from Dedifferentiated to Differentiated Phenotype via Reactive Oxygen Species and p38 Mitogen-Activated Protein Kinase in Vascular Smooth Muscle Cells. *Ultrasound in medicine & biology*, 41(6), 1681–1689. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2014.12.664>
23. Hunaiti, A. A., & Soud, M. (2000). Effect of lead concentration on the level of glutathione, glutathione S-transferase, reductase and peroxidase in human blood. *The Science of the total environment*, 248(1), 45–50. [https://doi.org/10.1016/s0048-9697\(99\)00548-3](https://doi.org/10.1016/s0048-9697(99)00548-3)
 24. Ribarov, S. R., & Benov, L. C. (1981). Relationship between the hemolytic action of heavy metals and lipid peroxidation. *Biochimica et biophysica acta*, 640(3), 721–726. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(81\)90102-4](https://doi.org/10.1016/0005-2736(81)90102-4)
 25. Shvachiy, L., Geraldes, V., Amaro-Leal, Â., & Rocha, I. (2018). Intermittent low-level lead exposure provokes anxiety, hypertension, autonomic dysfunction and neuroinflammation. *Neurotoxicology*, 69, 307–319. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2018.08.001>
 26. Vaziri, N. D., Wang, X. Q., Oveisi, F., & Rad, B. (2000). Induction of oxidative stress by glutathione depletion causes severe hypertension in normal rats. *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*, 36(1), 142–146. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.36.1.142>
 27. Adonaylo, V. N., & Oteiza, P. I. (1999). Pb²⁺ promotes lipid oxidation and alterations in membrane physical properties. *Toxicology*, 132(1), 19–32. [https://doi.org/10.1016/s0300-483x\(98\)00134-6](https://doi.org/10.1016/s0300-483x(98)00134-6)
 28. Antonio-García, M. T., & Massó-Gonzalez, E. L. (2008). Toxic effects of perinatal lead exposure on the brain of rats: involvement of oxidative stress and the beneficial role of antioxidants. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 46(6), 2089–2095. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.01.053>
 29. Dobrakowski, M., Pawlas, N., Hudziec, E., Kozłowska, A., Mikołajczyk, A., Birkner, E., & Kasperczyk, S. (2016). Glutathione, glutathione-related enzymes, and oxidative stress in individuals with subacute occupational exposure to lead. *Environmental toxicology and pharmacology*, 45, 235–240. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2016.06.008>
 30. Tandon, S. K., Flora, S. J., & Singh, S. (1987). Influence of pyridoxine (vitamin B6) on lead intoxication in rats. *Industrial health*, 25(2), 93–96. <https://doi.org/10.2486/indhealth.25.93>

31. McGowan C. (1989). Influence of vitamin B6 status on aspects of lead poisoning in rats. *Toxicology letters*, 47(1), 87–93. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(89\)90088-x](https://doi.org/10.1016/0378-4274(89)90088-x)
32. Flora, S. J., Singh, S., & Tandon, S. K. (1989). Thiamine and zinc in prevention or therapy of lead intoxication. *The Journal of international medical research*, 17(1), 68–75. <https://doi.org/10.1177/030006058901700110>
33. Flora, S. J., & Tandon, S. K. (1990). Beneficial effects of zinc supplementation during chelation treatment of lead intoxication in rats. *Toxicology*, 64(2), 129–139. [https://doi.org/10.1016/0300-483x\(90\)90130-9](https://doi.org/10.1016/0300-483x(90)90130-9)
34. Flora, S. J., Kumar, D., & Das Gupta, S. (1991). Interaction of zinc, methionine or their combination with lead at gastrointestinal or post-absorptive level in rats. *Pharmacology & toxicology*, 68(1), 3–7. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0773.1991.tb01199.x>
35. Rendón-Ramírez, A., Cerbón-Solórzano, J., Maldonado-Vega, M., Quintanar-Escorza, M. A., & Calderón-Salinas, J. V. (2007). Vitamin-E reduces the oxidative damage on δ -aminolevulinic dehydratase induced by lead intoxication in rat erythrocytes. *Toxicology in vitro*, 21(6), 1121–1126.
36. Patra, R. C., Swarup, D., & Dwivedi, S. K. (2001). Antioxidant effects of alpha tocopherol, ascorbic acid and L-methionine on lead induced oxidative stress to the liver, kidney and brain in rats. *Toxicology*, 162(2), 81–88. [https://doi.org/10.1016/s0300-483x\(01\)00345-6](https://doi.org/10.1016/s0300-483x(01)00345-6)
37. Rendón-Ramírez, A. L., Maldonado-Vega, M., Quintanar-Escorza, M. A., Hernández, G., Arévalo-Rivas, B. I., Zentella-Dehesa, A., & Calderón-Salinas, J. V. (2014). Effect of vitamin E and C supplementation on oxidative damage and total antioxidant capacity in lead-exposed workers. *Environmental toxicology and pharmacology*, 37(1), 45–54. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2013.10.016>
38. Levander, O. A., Morris, V. C., & Ferretti, R. J. (1977). Filterability of erythrocytes from vitamin E-deficient lead-poisoned rats. *The Journal of nutrition*, 107(3), 363–372.
39. Dhawan, M., Kachru, D. N., & Tandon, S. K. (1988). Influence of thiamine and ascorbic acid supplementation on the antidotal efficacy of thiol chelators in experimental lead intoxication. *Archives of toxicology*, 62(4), 301–304. <https://doi.org/10.1007/BF00332491>
40. Simon, J. A., & Hudes, E. S. (1999). Relationship of ascorbic acid to blood lead levels. *Jama*, 281(24), 2289–2293.
41. Othman, A. I., & El Missiry, M. A. (1998). Role of selenium against lead toxicity in male rats. *Journal of biochemical and molecular*

- toxicology*, 12(6), 345–349. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1099-0461\(1998\)12:6<345::aid-jbt4>3.0.co;2-v](https://doi.org/10.1002/(sici)1099-0461(1998)12:6<345::aid-jbt4>3.0.co;2-v)
42. Ercal, N., Treeratphan, P., Hammond, T. C., Matthews, R. H., Grannemann, N. H., & Spitz, D. R. (1996). In vivo indices of oxidative stress in lead-exposed C57BL/6 mice are reduced by treatment with meso-2, 3-dimercaptosuccinic acid or N-acetylcysteine. *Free Radical Biology and Medicine*, 21(2), 157-161.
43. Ottenwalder, H., & Simon, P. (1987). Differential effect of N-acetylcysteine on excretion of the metals Hg, Cd, Pb and Au. *Archives of toxicology*, 60(5), 401-402.
44. Moini, H., Packer, L., & Saris, N. E. (2002). Antioxidant and prooxidant activities of alpha-lipoic acid and dihydrolipoic acid. *Toxicology and applied pharmacology*, 182(1), 84–90. <https://doi.org/10.1006/taap.2002.9437>
45. Gurer, H., Ozgunes, H., Oztezcan, S., & Ercal, N. (1999). Antioxidant role of α -lipoic acid in lead toxicity. *Free radical biology and medicine*, 27(1-2), 75-81.
46. Radomska A. (2003). Antioxidant properties of captopril in vitro. *Acta poloniae pharmaceutica*, 60(3), 191–195.
47. Gurer, H., Neal, R., Yang, P., Oztezcan, S., & Ercal, N. (1999). Captopril as an antioxidant in lead-exposed Fischer 344 rats. *Human & experimental toxicology*, 18(1), 27–32. <https://doi.org/10.1177/096032719901800104>
48. Vaziri, N. D., & Sica, D. A. (2004). Lead-induced hypertension: role of oxidative stress. *Current hypertension reports*, 6(4), 314-320.
49. Vaziri, N. D., Liang, K., & Ding, Y. (1999). Increased nitric oxide inactivation by reactive oxygen species in lead-induced hypertension. *Kidney international*, 56(4), 1492-1498.
50. Lambert, I. H., Kristensen, D. M., Holm, J. B., & Mortensen, O. H. (2015). Physiological role of taurine—from organism to organelle. *Acta Physiologica*, 213(1), 191-212.
51. Terao J. (2009). Dietary flavonoids as antioxidants. *Forum of nutrition*, 61, 87–94. <https://doi.org/10.1159/000212741>
52. Liu, C. M., Zheng, G. H., Ming, Q. L., Sun, J. M., & Cheng, C. (2013). Protective effect of quercetin on lead-induced oxidative stress and endoplasmic reticulum stress in rat liver via the IRE1/JNK and PI3K/Akt pathway. *Free radical research*, 47(3), 192-201.
53. Liu, C. M., Ma, J. Q., & Sun, Y. Z. (2010). Quercetin protects the rat kidney against oxidative stress-mediated DNA damage and apoptosis induced by lead. *Environmental toxicology and pharmacology*, 30(3), 264-271.

54. Agarwal, R., Goel, S. K., & Behari, J. R. (2010). Detoxification and antioxidant effects of curcumin in rats experimentally exposed to mercury. *Journal of Applied Toxicology*, 30(5), 457-468.
55. Daniel, S., Limson, J. L., Dairam, A., Watkins, G. M., & Daya, S. (2004). Through metal binding, curcumin protects against lead- and cadmium-induced lipid peroxidation in rat brain homogenates and against lead-induced tissue damage in rat brain. *Journal of inorganic biochemistry*, 98(2), 266-275.
56. Mozafari, M. R., Johnson, C., Hatziantoniou, S., & Demetzos, C. (2008). Nanoliposomes and their applications in food nanotechnology. *Journal of liposome research*, 18(4), 309–327. <https://doi.org/10.1080/08982100802465941>
57. Gandhi, P., Khan, Z., & Chakraverty, N. (2011). Soluble curcumin: a promising oral supplement for health management. *Journal of applied pharmaceutical science*, 1(2), 1-7.