

# Renovasküler Hipertansiyonda Endovasküler Tedavinin Glutatyon Enzimleri Üzerine Etkisi

## Glutathione Related Enzymes in Renovascular Hypertension Effect of Endovascular Treatment

**Zuhal Panırdar\***  
Nevbahar Turgan\*

**Mustafa Panırdar\*\***  
Işıl Mutaf\*

**Ceyda Kabaroğlu\***  
Ahmet Memiş\*\*

**Dilek Erdener\***

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, İzmir

\*Biyokimya Anabilim Dalı, Klinik Biyokimya Bilim Dalı, \*\*Radyoloji Anabilim Dalı

### ÖZET

**Amaç:** Renin-anjiyotensin sisteminin oksidatif stresi arttırdığı bilinmektedir. Bu çalışmada, renovasküler hipertansif hastalarda eritrosit antioksidan enzimleri, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve glutatyon-S-transferaz, ve oksidatif stres indeksi olarak plazma malondialdehid düzeyleri ve endovasküler tedavinin bu parametreler üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Yöntemler:** 28 ünilateral renal arter stenozu bulunan hipertansif hastada, plazma malondialdehid düzeyleri; eritrosit glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve glutatyon-S-transferaz aktiviteleri endovasküler tedaviden önce ve 24 saat sonra ölçülmüş ve veriler sağlıklı kontrollerle karşılaştırılmıştır.

**Bulgular:** Malondialdehid konsantrasyonu hastalarda kontrollerden anlamlı yüksektir ve tedaviden 24 saat sonra düşmüştür. Eritrosit glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve glutatyon-S-transferaz aktiviteleri renovasküler hipertansif olgularda kontrollerden anlamlı yüksek saptanmış, endovasküler tedavi sonrası anlamlı değişiklik belirlenmemiştir. Girişim sonrası kan basınçları düşmüştür.

**Sonuç:** Renovasküler hipertansiyonda oksidatif stres ve glutatyon ile ilişkili antioksidan enzim aktiviteleri, olasılıkla oksidatif strese karşı savunma mekanizması olarak, artmıştır. Endovasküler tedavi ile glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve glutatyon-S-transferaz aktivitelerinin değişmeyişi, oksidatif stresi azaltıcı etkiden glutatyonla ilişkili enzimlerin sorumlu olmadığını göstermektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Renovasküler hipertansiyon, oksidatif stres, eritrosit glutatyonla ilişkili antioksidan enzimler, endovasküler tedavi

### ABSTRACT

**Purpose:** Activation of the renin-angiotensin system leads to an increase in oxidative stress. We investigated erythrocyte antioxidant enzymes, glutathione peroxidase, glutathione reductase and glutathione-S-transferase activities and as an index for oxidative stress plasma malondialdehyde levels and the effect of endovascular treatment on these parameters in renovascular hypertensive patients.

**Methods:** In 28 patients with unilateral renal artery stenosis, plasma malondialdehyde; erythrocyte glutathione peroxidase, glutathione reductase and glutathione-S-transferase activities were investigated at entry and after 24 hours of endovascular treatment and compared with controls.

**Results:** Malondialdehyde concentrations were higher in patients than controls and decreased 24 hours after the intervention. Erythrocyte glutathione peroxidase, glutathione reductase and glutathione S-transferase activities were significantly higher in patients than controls. However, their activities did not differ after the intervention. After the treatment blood pressures decreased.

**Conclusion:** Oxidative stress and glutathione related enzyme activities are increased in renovascular hypertension. The increase in the enzyme activities could be attributed to a defence mechanism against oxidative stress. Endovascular treatment decrease the oxidative stress without affecting the glutathione peroxidase, glutathione reductase and glutathione-S-transferase enzyme activities.

**Key Words:** Renovascular hypertension, oxidative stress, erythrocyte glutathione related enzymes, endovascular therapy

## GİRİŞ

Renovasküler hipertansiyonda bir veya iki böbreğe birden azalmış kan akımı, dolaşımdaki anjiyotensin II düzeylerini arttıran, artmış renin yapımına neden olmaktadır (1, 2). Meydana gelen yüksek-reninli hipertansif durum, kan basıncının orta veya şiddetli derecede yükselmesi ile birlikte ve kan akımının azaldığı böbrekte ilerleyici bir fonksiyon kaybı izlenir (1). Perkütan translüminal anjioplasti (PTA) ve stent implantasyonu renovasküler hipertansiyonun tedavisi için etkili olduğu kanıtlanmış, yaygın olarak kullanılan revaskülarizasyon girişimleridir (3,4).

Oksidatif stres, oksidanların yapımı ve organizmanın savunma sistemleri arasındaki denge bozukluğunu ifade eden bir terimdir. Reaktif oksijen ürünleri (ROS:  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ , ve  $OH^*$ ), hücre metabolik olayların normal ara ürünleridir ve antioksidan enzimler tarafından kontrol altında tutulurlar. GSH, hücre sel antioksidanların en önemlilerindedir ve azalması, oksidatif strese bağlı hasarı hızlandırmaktadır (5). GSH redoks sistemi GSH-PX, GSH-Rd ve GST'yi içeren primer ve sekonder antioksidanlardan oluşmaktadır. GSH ve GSH-Rd birçok proteinde doğru disülfid bağlarının oluşumunda ve ksenobiyotiklerin metabolizmasında yer almaktadır (6). GST, ksenobiyotik ve karsinojenlere karşı hücre sel savunmada yer alan, taşıdığı bir elektrofilik merkez ve indirgenmiş GSH ile konjugasyon yoluyla daha çözünebilir ve daha

kolay ayrıştırılabilir bileşiklere dönüştüren, intraselüler bir protein ailesidir (7,8). GSH-PX, hücre içerisinde oluşan peroksidleri ortadan kaldırarak akut oksidatif stres sırasında redoks durumunun korunmasında kritik bir rol oynamaktadır. ROS, hücre sel ve mitokondrial membranlarda bulunan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu yoluyla dokulara zarar verir. Oksidatif stresin neden olduğu lipid yıkımının son ürünü olan MDA içeriğinin ölçümü, radikal ile uyarılan lipid peroksidasyonunun ölçümünde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Yakın zamanda yapılan birçok çalışmada, çeşitli hipertansif bozukluklarda artmış ROS reaktivitesine ilişkin kanıtlar bulunmaktadır. Kronik böbrek yetmezliği olan kurşunla uyarılan hipertansiyonu olan (9), siklosporinle uyarılan hipertansiyonu olan (10), spontan hipertansif sıçanlarda (11) ve pre-eklampsi saptanan kadınlarda (12) artmış ROS aktivitesi rapor edilmiştir. Hipertansiyonda glutasyon, SOD ve vitamin E gibi serbest radikal temizleyicilerin düzeylerinde düşüklük rapor edilmiştir (13). Oksidatif stresin renovasküler hipertansiyonun patofizyolojisinde rol oynadığı ileri sürülmüştür (14-16). Ancak, renovasküler hipertansiyonda endovasküler tedavinin glutatyonla ilişkili antioksidan enzim aktivitelerine olan etkisi ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmanın amaçları, 1) Renovasküler hipertansif hastalarda serum antioksidan enzimleri,

GSH-PX, GSH-Rd ve GST, ve oksidatif stres indeksi olarak plazma MDA düzeylerini araştırmak ve kontrollerle karşılaştırmak, 2) Endovasküler tedavinin bu parametreler üzerine etkisini araştırmaktır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya, Mart-2000 ve Eylül-2002 tarihleri arasında renovasküler hipertansiyon tedavisi için Girişimsel Radyoloji Ünitesine başvuran renkli dopler ultrasonografi ile renal arter darlığı doğrulanmış 28 olgu (21 erkek ve 7 kadın; ortalama ( $\pm$  SD) yaş,  $47.4 \pm 13.7$  yıl; vücut kitle indeksi ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ),  $21.3 \pm 3.2$ ) dahil edilmiştir. 23- 48 yaşları arasında ( $35 \pm 8.2$ , ortalama  $\pm$  SD) 18'i erkek, 7'si kadın 25 sağlıklı gönüllü kontrol grubunu oluşturmuştur. Çalışmaya katılan tüm olgulardan yazılı izin belgesi alınmıştır. Sistolik kan basıncı 130 - 139 mmHg ve diastolik basıncı 80-89 mmHg olanlar çalışmaya alınmamıştır. Renovasküler hastalığa eşlik eden sekonder hipertansiyon nedeni olmadığı, hikaye, fizik, radyolojik ve ultrasonografik inceleme ve idrar analizi ile doğrulanmıştır.

Kontrast madde olarak 50-75 mL (ortalama 65 mL) iohexzol (350 mg iyod/mL) kullanılmıştır. Palmaz Corinthian IQ (5-7 mm) (Cordis Europa Roden, The Netherland) stentler ve Powerflex (5-7 mm) (Cordis Europa Roden, The Netherland) balonlar kullanılmıştır. Ostial aterosklerotik stenozlar; primer stent implantasyonu, postostial stenozlar ise sadece PTA ile tedavi edilmiştir. PTA sonrası rezidü stenoz %30'un üzerinde ise stent implantasyonu gerçekleştirilmiştir. Tüm bu işlemler sırasında intraarteriyel olarak 2500 IU heparin verilmiştir. Endovasküler tedavinin başarısını belirlemek için tüm hastalarda işlem sonrası basınç ölçümleri ve tanısal arteriogramlar elde olunmuştur. Tüm hastalara rutin olarak asetilsalisilik asid (ASA) 300 mg/gün başlanmıştır.

Kan örnekleri 8-10 saatlik açlık sonrası K<sub>3</sub> EDTA içeren vakumlu tüplere alınmıştır ve 2 saat içerisinde 1.000 g'de 10 dakika santifüj edilmiştir. Plazma malondialdehid (MDA)

çalışılmak üzere ayrıldıktan sonra 1.0 mL soğuk serum fizyolojik (9.0 g/L NaCl) ile yıkanmıştır. Elde edilen eritrosit paketi serum fizyolojik ile 1/2 dilüe edilerek hemoglobin ölçümü yapılmıştır. Kalan paketler analize kadar -80°C'de bekletilmiştir. Analitik varyasyonun etkisini en aza indirmek için tüm örnekler aynı gün çalışılmıştır. 20 µL eritrosit paketi 580 µL soğuk deiyonize su ile 1:30 dilüe edilerek elde edilen hemolizat ile tüm enzim analizleri gerçekleştirilmiştir. Enzim aktiviteleri Hitachi 704 otomatik analizörde (Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, Germany), hemoglobin ölçümleri GEN-S otomatik kan sayım cihazında (Beckman Coulter Inc., Miami, Florida, USA) gerçekleştirilmiştir.

Plazma MDA içeriği, Nielsen ve arkadaşlarının yöntemine göre Shimadzu LC 10A HPLC (Shimadzu Corp., Kyoto, Japonya) sistemi ile ölçülmüştür (17).

GSH-PX aktivitesi Paglia ve Valentine'in metoduna göre belirlenmiştir (18). Reaksiyon karışımındaki GSH, örnekte bulunan GSH-PX'in ve substrat olarak eklenen kümen- hidropereksoksid'in etkisi ile okside olur. Okside olan GSH, NADPH varlığında GSH-Rd tarafından indirgenir. NADPH absorbansında izlenen azalma 340 nm'de ölçülür. GSH-Rd aktivitesi Beutler tarafından tanımlanan metodla saptanmıştır (19). Reaksiyon karışımında var olan okside GSSG, NADPH ve örnekte bulunan GSH-Rd'nin etkisi ile indirgenir. GST enzim aktivitesi Habig'in metoduna göre belirlenmiştir (20). Örnekte bulunan GST, 1-chloro 2,4-dinitrobenzene (CDNB) ve GSH arasındaki reaksiyonu katalizler. CDNB-glutatyon konjugatı 340 nm'de ölçülür.

## İstatistik

Hasta ve kontrol grubu arasındaki istatistiksel anlamlılık, t-testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Tedavinin etkisi, Wilcoxon matched-pairs signed-ranks test kullanılarak değerlendirilmiştir. Korelasyonlar için Pearson korelasyon analizi kullanılmış ve  $p < 0.05$  düzeyi anlamlı olarak kabul edilmiştir. İstatistiksel analizler SPSS 10.0 (Statistical Packages for

**Tablo I.** Sağlıklı kontrollerin ve renovasküler hipertansif olguların tedavi öncesi ve sonrası plazma malondialdehid, eritrosit GSH-PX, GSH-Rd, GST aktiviteleri (ortalama  $\pm$  SD)

	Renovasküler Hipertansif Olgular (n=25)		
	Kontrol (n=28)	Endovasküler tedavi öncesi	Endovasküler tedaviden 24 saat sonra
Plazma malondialdehid ( $\mu$ mol/L)	0.55 $\pm$ 0.3	1.18 $\pm$ 0.74 <sup>1</sup>	0.86 $\pm$ 0.54 <sup>2</sup>
Eritrosit GSH-PX (U/g Hb)	17.9 $\pm$ 2.89	22.79 $\pm$ 6.43 <sup>3</sup>	21.35 $\pm$ 5.95
Eritrosit GSH-Rd (U/g Hb)	8.77 $\pm$ 1.13	10.02 $\pm$ 2.48 <sup>4</sup>	9.82 $\pm$ 2.93
Eritrosit GST (U/g Hb)	4.57 $\pm$ 2.04	7.32 $\pm$ 1.05 <sup>1</sup>	7.42 $\pm$ 2.01

<sup>1</sup>: > Kontrol, p=0.001 <sup>2</sup>:< Endovasküler Tedavi Öncesi, p=0.003 <sup>3</sup>: > Kontrol, p=0.003 <sup>4</sup>:> Kontrol, p=0.04  
GSH-PX: Glutasyon peroksidaz; GSH-Rd: Glutasyon redüktaz ve GST: Glutasyon-S-transferaz

Social Sciences) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

## BULGULAR

MDA konsantrasyonu hastalarda kontrollerden anlamlı yüksektir ve tedaviden 24 saat sonra anlamlı düşmüştür (Tablo I). Eritrosit GSH-PX, GSH-Rd ve GST aktiviteleri renovasküler hipertansif olgularda kontrollerden anlamlı yüksek saptanmıştır (Tablo I). Enzim aktivitelerinde endovasküler tedavi sonrası anlamlı değişiklik izlenmemiştir. Eritrosit GSH-PX aktiviteleri endovasküler tedavi öncesi GSH-Rd ile anlamlı pozitif korele bulunmuştur (r=0.57, p=0.007).

Beklenen şekilde, sistolik ve diastolik kan basıncı düzeyleri tedavi sonrası anlamlı derecede düşmüştür (Kan basıncı değerleri verilmemiştir).

## TARTIŞMA

Renovasküler hipertansiyon, potansiyel olarak tedavi edilebilen bir sekonder hipertansiyon formudur ve renal arterlerin bir veya her ikisinin stenozu ile karakterizedir (21). Oksidatif stresin renovasküler hipertansiyonun patofizyolojisi ve renal hasarda rol oynadığı ileri sürülmüştür (14-16). Renovasküler hipertansiyonda süperoksidin kaynağı anjiotensin II tarafından uyarılan NAD(P)H sitokrom P-450 oksidoredüktazın, daha yaygın adıyla NAD(P)H oksidazın, aktivasyonudur (22,23). Yapılan bir çalışmada nöradrenalin

infüzyonu ile benzer derecede hipertansif hale getirilen sıçanlarda NAD(P)H oksidaz aktivitesinde herhangi bir artışın meydana gelmediği, bu etkinin oldukça özgün bir etki olduğunu düşündürmüştür (23). Artmış süperoksid ( $O_2^-$ ) oluşumuna neden olan durumlarda, nitrik oksid ile birleşen süperoksid, yıkım ürünleri biyolojik sistemdeki en reaktif oksijen ürünlerinden biri olan, ve peroksinitroz aside protone olabilen, peroksinitrit anyonunu ( $ONOO^-$ ) oluşturur (24,25). Ayrıca, süperoksid anyon radikalinin vazokonstriktör etkisi birçok çalışmada gösterilmiştir (26,27). Anjiotensin II endotelin (ET) sentezini de uyartabilir (28). Bu çalışmada, plazma MDA konsantrasyonlarının kontrollerden anlamlı yüksek oluşu, renovasküler hipertansiyonda oksidatif stresin artmış olduğunu ortaya koymaktadır. Kontrollerden anlamlı yüksek olan GSH-PX, GSH-Rd ve GST aktiviteleri de bu görüşü desteklemektedir. Artmış oksidatif stres bu enzimlerin yapımını uyartabilir. PTA veya stent implantasyonu ile tedavi sonrası plazma MDA düzeyleri düşmüş, ancak antioksidan enzim aktivitelerinde anlamlı bir değişiklik belirlenmemiştir. Tedavi sonrası MDA konsantrasyonlarının anlamlı azalışının nedeni, renin-anjiotensin sisteminin inhibe oluşunun direkt etkisi olabilir. Yapılan bir çalışmada anjioplastinin oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir (29). Ayrıca, tedavi sonrası kan basıncında meydana gelen dramatik düşüş, oksidatif stresin azalışına katkı sağlayabilir. Ancak kan basıncı düzeyleri ile plazma MDA düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki bulunmayışı,

kan basıncı azalışının tek başına oksidatif stresi azaltan faktör olmadığını düşündürmektedir.

Bu çalışmada tedavi öncesi eritrosit GSH-PX ve GSH-Rd düzeylerinde anlamlı pozitif korelasyon saptanmıştır. Bu enzimlerin glutatyonun redoks durumundaki rolleri göz önüne alınırsa, GSH-Rd aktivitesinin artmış peroksidaz aktivitesine bağlı glutatyonun tüketilmesini telafi etmek için reaktif olarak arttığı düşünülebilir.

Sonuç olarak, renovasküler hipertansiyonda oksidatif stres ve GSH-PX, GSH-Rd ve GST aktiviteleri artmıştır. Bu artış, artmış oksidatif stresin bu enzimlerin yapımını uyarması nedeniyle olabilir. Endovasküler tedavi, 24 saatte oksidatif stresi azaltmakta; ancak, GSH-PX, GSH-Rd ve GST aktivitelerini etkilememektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Excerpts from the 1993 USRDS Annual Data Report Am J Kidney Dis 1993; 22(Suppl 2): 1-118.
2. Mailloux LU, Napolitano B, Bellucci AG, Vernace M, Wilkes BM, Mossey RT. Renal vascular disease causing end-stage renal disease, incidence, clinical correlates, and outcomes: a 20-year clinical experience. Am J Kidney Dis 1994; 24: 622-629.
3. Van Bockel JH, Van Schilfgaarde R, Felthuis W, Hermans J, Van Brummelen P, Terpstra JL. Surgical treatment of renovascular hypertension caused by arteriosclerosis. I. Influence of preoperative factors on blood pressure control early and late after reconstructive surgery. Surgery 1987; 101: 698-705
4. Weibull H, Bergqvist, Jendteg S et al. Clinical outcome and health care costs in renal revascularization-percutaneous transluminal renal angioplasty versus reconstructive surgery. Br J Surg 1991; 78: 620-624
5. Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jügens G. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. Free Radic Biol Med 1992; 13:341-90.
6. Arrick B, Nathan C. Glutathione metabolism as determinant of the therapeutic efficacy: a review. Cancer Res 1984; 33: 4224-32.
7. Mantle T, McCusker F, Phillips M, Boyer S. Glutathione S-transferases. Isoenzymes 1990; 18: 175-7.
8. Mannervik B, Awashi Y, Board P, Hayes J, Dillio C, Ketterer B. Nomenclature for human glutathione S transferase. Biochem J 1992; 282: 305-8.
9. Vaziri ND, Oveisi F, Ding Y. Role of increased oxygen free radical activity in the pathogenesis of uremic hypertension. Kidney Int 1998; 53: 1748-1754.
10. Navarro-Antolin J, Hernandez-Perera O, Lopez-Ongil S, Rodriguez-Puyol M, Rodriguez-Puyol D, Lamas S. CsA and FK506 up-regulate eNOS expression: role of reactive oxygen species and AP-1. Kidney Int (Suppl) 1998; 68: S20-S24.
11. Schnackenberg CG, Welch WJ, Wilcox CS. Normalization of blood pressure and renal vascular resistance in SHR with a membrane-permeable superoxide dismutase mimetic: role of nitric oxide. Hypertension 1998; 32: 59-64.
12. Roggensack AM, Zhang Y, Davidge ST. Evidence for peroxynitrite formation in the vasculature of women with pre-eclampsia. Hypertension 1999; 33: 83-89.
13. Irani K. Oxidant signaling in vascular cell growth, death and survival: a review of the roles of reactive oxygen species in smooth muscle and endothelial cell mitogenic and apoptotic signaling. Circ Res 2000; 87: 179-183.
14. Shanley PF. The pathology of chronic renal ischemia. Semin Nephrol 1996; 16: 21-32.
15. Kellerman PS. Cellular and metabolic consequences of chronic ischemia on renal function. Semin Nephrol 1996; 16: 33-42.
16. Lerman LO, Nath KA, Rodriguez-Porcel M, et al. Increased oxidative stress in experimental renovascular hypertension. Hypertension 2001; 37: 541-546.
17. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Granjean P. Plasma malondialdehyde as a biomarker for oxidative stress: reference intervals and effects of life-style factors. Clinical Chemistry 1997; 43 (7): 1209-14.
18. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. Journal of Laboratory and Clinical Medicine 1967; 70: 158-69.
19. Aviram M, Kent UM, Hollenberg PF. Microsomal cytochromes P450 catalyze the oxidation of low density lipoprotein. Atherosclerosis 1999; 143(2): 253.
20. Habig WH, Pabst MJ, Jacoby WB. Glutathione S-Transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. Journal of Biological Chemistry 1974; 249: 7130-39.
21. Welch WJ. The pathophysiology of renin release in renovascular hypertension. Semin Nephrol 2000; 20: 394-401.
22. Romero JC, Reckelhoff JF. State-of-the-Art lecture: role of angiotensin and oxidative stress in essential hypertension. Hypertension 1999; 34: 943-949.

23. Rajagopalan S, Kurz S, Munzel T, et al. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation: contributions to alterations of vasomotor tone. *J Clin Invest* 1996; 97: 1916-1923
24. Rubanyi GM, Vanhoutte PM. Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol* 1986; 250: H822-H827.
25. Beckman JS, Chen J, Ischiropoulos H, Crow JP. Oxidative chemistry of peroxynitrite. In: Packer L, ed.: *Methods of Enzymology*. San Diego, Calif: Academic Press Inc; 1994; 229-240.
26. Auch-Schwelk W, Katusic ZS, Vanhoutte PM. Contractions to oxygen-derived free radicals are augmented in aorta of the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension* 1989; 13: 859-864.
27. Casentino F, Sill JC, Katusic ZS. Role of superoxide anions in the mediation of endothelium-dependent contractions. *Hypertension* 1994; 23: 229-235.
28. Kohno M, Horio T, Ikeda M, et al. Angiotensin II stimulates endothelin-I secretion in cultured rat mesangial cells. *Kidney Int* 1992; 42: 860-866.
29. Higashi Y, Sasaki S, Nakagawa K, Matsuura H, Oshima T, Chayama K. Endothelial function and oxidative stress in renovascular hypertension. *N Engl J Med* 2002; 346: 1954-1962.

---

**Yazışma adresi:**

Dr. Zuhâl Parıldar  
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Klinik Biyokimya Bilim Dalı, Bornova – İzmir  
Tel: 232 343 82 71 Faks: 232 3438271  
e-mail: zuhalp@med.ege.edu.tr

---