

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

**TÜBERKÜLOZ HASTALARINDA PDGF VE PDGF
RESEPTÖR SEVİYESİ İLE OKSİDAN - ANTİOKSİDAN
PARAMETRELER ARASINDAKİ KORELASYONUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Begüm Hilal CEYLAN

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Hatice SEZEN

ŞANLIURFA

2016

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

**TÜBERKÜLOZ HASTALARINDA PDGF VE PDGF RESEPTÖR
SEVİYESİ İLE OKSİDAN - ANTİOKSİDAN PARAMETRELER
ARASINDAKİ KORELASYONUN DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Begüm Hilal CEYLAN

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Hatice SEZEN

Bu tez Harran Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı tarafından 15046 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA

2016

HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Begüm Hilal CEYLAN'ın hazırladığı “Tüberküloz Hastalarında PDGF ve PDGF Reseptör Seviyesi İle Oksidan-Antioksidan Parametreler Arasındaki Korelasyonun Değerlendirilmesi” konulu çalışma 19/07/2016 jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

Yrd.Doç.Dr.Hatice SEZEN (Danışman)

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi

Biyokimya Anabilim Dalı

ÜYE

Prof.Dr.Seyithan TAYSI

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi

Biyokimya Anabilim Dalı

ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Adnan KİRMİT

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi

Biyokimya Anabilim Dalı



İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ŞEKİL DİZİNİ.....	I
TABLO DİZİNİ.....	II
GRAFİK DİZİNİ.....	III
ÖZET	IV
ABSTRACT.....	VI
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tüberküloz.....	3
2.1.1. Tanım.....	3
2.1.2. Tarihçe	3
2.1.3.Epidemiyoloji.....	3
2.1.3.1.Dünyada Durum.....	4
2.1.3.2 Türkiye’de Durum.....	5
2.1.4. Etkeni.....	5
2.1.5. Bulaşma.....	7
2.1.6. İmmünoloji.....	8
2.1.7. Patogenez.....	8
2. 2.Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF).....	9
2.2.1. PDGF İzofomları.....	10
2.2.1.1. PDGF A.....	12
2.2.1.2. PDGF B.....	12
2.2.1.3. PDGF C.....	12
2.2.1.4. PDGF D.....	12
2.2.2. PDGF Reseptörleri.....	12
2.2.2.1. PDGF reseptör- α (PDGFR- α).....	12
2.2.2.2. PDGF reseptör- β (PDGFR- β).....	13
2.2.3.PDGF sinyal ileti mekanizmaları	13
2.2.3.1. Grb2/Sos.....	14
2.2.3.2. Stat	14
2.2.3.3. PLC γ	14
2.2.3.4. PI3K.....	14

2.2.3.5. Gap, SHP-2 ve Src	15
2.3. Serbest Radikaller	16
2.3.1. Biyolojik Sistemlerde Serbest Radikal Oluşum Kaynakları	16
2.3.1.1. Endojen Serbest Radikal Oluşum Kaynakları.....	16
2.3.1.2. Ekzojen Serbest Radikal Oluşum Kaynakları.....	17
2.3.2. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri (ROS).....	18
2.3.2.1. Süperoksit Radikalleri (O ₂ ⁻).....	19
2.3.2.2. Hidroksil Radikalleri (HO [·]).....	21
2.3.2.3. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂).....	22
2.3.2.4. Hipoklorik Asit (HOCl).....	22
2.3.2.5. Singlet O ₂ (O ₂ ↑↓).....	23
2.3.3. Reaktif Nitrojen Türleri (NO, NO ₂ , NO ⁺ , NO ⁻).....	23
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	25
3.1. Kan Örneklerinin Alınması.....	25
3.2. Örneklerin Toplanması ve Ölçümler.....	25
3.3. Kullanılan Araç, Gereç ve Kimyasallar	25
3.4. Oksidan Parametrelerin Ölçümü.....	26
3.4.1. Total Oksidant Seviye (TOS).....	26
3.4.2. Lipid Hidroperoksidasyonu (LOOH).....	26
3.5. Antioksidan Parametrelerin Ölçümü.....	26
3.5.1. Total Antioksidan Kapasite (TAK).....	26
3.5.2. Serüloplazmin düzeyi.....	27
3.5.3. Total Tiyol Ölçümü.....	27
3.5.4. Paraoksonaz Enzim Aktivitesi Ölçümü.....	27
3.5.5. Arilesteraz Aktivitesi Ölçümü.....	28
3.5.6. Oksidatif Stres İndeksi Ölçümü.....	28
3.6. Enzyme Linked Immunosorbent Assay Testi (ELISA).....	28
3.6.1. Reaktiflerin Hazırlanması.....	28
3.6.2. Mikropleytlerin Hazırlanması.....	29
3.6.3. Yıkama	29
3.6.4. Konjugatın Eklenmesi ve İnkübasyonu.....	29
3.6.5. Yıkama	29
3.6.6. Substratın Eklenmesi ve İnkübasyonu	29
3.6.7. Reaksiyonun Durdurulması.....	30

3.6.8 Okuma ve Sonuçların Hesaplanması	30
3.7. İstatistiksel Analiz.....	30
4. BULGULAR.....	31
5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR.....	38
6. KAYNAKLAR.....	41
7. EKLER.....	48



ŞEKİL DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1. <i>Myocobacterium tuberculosis</i> (SEM Görüntüsü).....	6
Şekil 2. PDGF molekülü (30).....	10
Şekil 3. PDGF ailesi (31).....	11
Şekil 4. PDGF reseptörleri ve izoformların bağlanması (33).....	13
Şekil 5. PDGF sinyal ileti mekanizmaları (40).....	15
Şekil 6. Serbest radikallerin oluşumu.....	18



TABLO DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1. Oksijen türevli bileşikler.....	18
Tablo 2. Hasta ve kontrol grubuna ait PDGFD, PDGFR β ve oksidatif stres markerları.....	31
Tablo 3. PDGFD, PDGFR β 'nın oksidatif parametreler ile ilişkisi.....	33
Tablo 4. Hastalık varlığı PDGFD, PDGFR β , SH, PON, AREST, CP, TAS, TOS ve OSI ilişkisi.....	37



GRAFİK DİZİNİ

	Sayfa No
Grafik 1. Gruplar arasında PDGFD ve PDGFR β düzeyleri.....	32
Grafik 2. Gruplar arasında TAS, TOS ve OSI değerleri.....	34
Grafik 3. Gruplar arasında PON ve AREST düzeyleri.....	35
Grafik 4. Gruplar arasında SH, CP ve LOOH düzeyleri.....	36



ÖZET

TÜBERKÜLOZ HASTALARINDA PDGF VE PDGF RESEPTÖR SEVİYESİ İLE OKSİDAN - ANTIOKSİDAN PARAMETRELER ARASINDAKİ KORELASYONUN DEĞERLENDİRİLMESİ

Begüm Hilal CEYLAN

Tıbbi Biyokimya, Yüksek Lisans Tezi

Tüberküloz, *Mycobacterium Tuberculosis Complex* olarak tanımlanan bir grup mikobakteri tarafından oluşan bir hastalıktır. Tüberküloz tüm organlarda görülebilmese de, en sık etkilenen organ %80-90 oranında akciğerlerdir. İnsanlarda en çok hastalığa sebep olan türü *Mycobacterium tuberculosis*'dir. *M. tuberculosis*'den sonra *M. bovis*, *M. avium* tüberküloza yol açmaktadır. *M. tuberculosis*, larenks ve akciğer tüberkülozlu hastaların konuşma, öksürük gibi aktiviteleri sırasında havaya dağılan sekresyonlarıyla bulaşır.

Tüberkülozda makrofajlar hedef hücrelerdir. Tüberküloz hastalarının alveolar makrofajlarında PDGF-B molekülünün mRNA sentezinin indüklendiği ve PDGF-B molekülünde büyük bir artış olduğu bulunmuştur. Biz de tüberküloz hastalarında PDGF-D ve onun reseptörü olan PDGFR β seviyelerinde anlamlı bir artış olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

Hasta kanlarından santrifüj yöntemi ile elde edilen serumlardaki PDGF-D ve PDGFR β seviyeleri ELISA yöntemi ile çalışıldı. Serumların oksidatif ve antioksidatif durumları kolorimetrik bir yöntemle ölçüldü. Elde edilen veriler SPSS 20 istatistik programı Kolmogorow-smirnow testi ile dağılım incelendikten sonra dağılımı normal olan parametrelerin gruplar arası karşılaştırması Independent Sample T testi ile dağılımı normal olmayan parametrelerin gruplar arası karşılaştırması Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Parametrelerin birbirleri ile ilişkilerinin varlığı Pearson ve Spearman Korelasyon Testi ile araştırıldı.

Elde ettiğimiz bulgulara göre, tüberküloz hastalarında PDGF-D ve PDGFR β seviyelerinin birlikte arttığı yapılan testlerde görülmüştür. Ayrıca oksidan parametreler yüksek, antioksidan parametreler düşük bulunmuştur. Tüberküloz hastalarında PDGF-D ve PDGFR β seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde pozitif korelasyon saptanmıştır. Ayrıca PDGF-D

ve PDGFR β seviyeleri ile oksidan parametreler arasında pozitif korelasyon, antioksidan parametreler arasında negatif korelasyon vardı.

Bulgularımıza göre, tüberküloz hastalarında PDGF-D, PDGFR β seviyelerinin ve oksidan parametrelerin arttığını, antioksidan parametrelerin ise azaldığını söylemek mümkün gözükmemektedir.

Anahtar Kelimeler: Tüberküloz, PDGF-D, PDGFR β , Oksidan, Antioksidan



ABSTRACT

EVALUATION OF CORRELATION BETWEEN PDGF AND PDGF RECEPTOR LEVELS WITH OXIDANT - ANTIOXIDANT PARAMETERS IN TUBERCULOSIS PATIENTS

Begüm Hilal CEYLAN

Medical Biochemistry, Master Thesis

Tuberculosis is a disease caused by a group of mycobacterium which identified as Mycobacterium Tuberculosis Complex. In spite of tuberculosis can be seen in all organs, lungs are the most commonly affected organs 80-90%. The species that cause disease in humans mostly is *Mycobacterium tuberculosis*. After *M. tuberculosis* respectively *M. bovis*, *M. avium* lead to tuberculosis. *M. tuberculosis*, infect patients have larynx and pulmonary tuberculosis, during activities such as speaking, coughing the liquid portion of the secretions

Macrophages are the target cells in tuberculosis. In alveolar macrophages of patients with tuberculosis induce the mRNA synthesis of PDGF-B molecules and PDGF-B molecule has been found to be greatly increased. We aimed to investigate whether there is a significant increase in PDGF-D and with its receptor PDGFR β levels in patients with tuberculosis.

PDGF-D and PDGFR β levels in serums which obtained by centrifugation from blood of patients were determined by ELISA. Oxidative and antioxidative status of the serums was determined by a colorimetric method. The data obtained was done with SPSS 20 statistical program Kolmogorow-Smirnow after examination of the distribution of the testing distribution is compared between groups of normal parameters Independent Sample T test and distribution intergroup comparison of abnormal parameters, Mann-Whitney U test. The existence of relations with each of the parameters were investigated by Pearson and Spearman correlation test.

According to the results we have achieved, it has been observed levels of PDGF-D and PDGFR β increased together in patients with tuberculosis in tests. Additionally, oxidant parameters were high, antioxidant parameters were low. Between levels of PDGF-D and PDGFR β positive correlation is detected statistically significant level in tuberculosis patients.

Furthermore PDGF-D and PDGFR β levels had positive correlation with oxidant parameters, and negative correlation with antioxidant parameters.

According to our findings, it seems possible to say that levels of PDGF-D, PDGFR β , and oxidant parameters increased, the antioxidant parameters decreased in tuberculosis patients.

Keywords: Tuberculosis, PDGF-D, PDGFR β , Oxidant, Antioxidant



1.GİRİŞ

Tüberküloz, insanlık tarihinin en eski hastalıklarından biridir ve aynı zamanda dünyada morbidite ve mortalitesi en fazla hastalıklardan biridir. Tüberküloz en çok akciğerlerde meydana gelen, yavaş yavaş ve sinsi gelişen, *Mycobacterium tuberculosis* basilinin sebep olduğu kronik ve bildirimi zorunlu bir hastalıktır.

Tüberküloz tarih boyunca insanoğlunu tehdit eden, korkutan ve ortaya çıkardığı sonuçlarla insanlara acı veren hastalıkların en başında gelmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün raporlarına göre, bugün dünya nüfusunun %32'si tüberküloz ile enfekte olmuş haldedir. Her sene dünya nüfusunun 1/100'ü tüberküloz basili ile enfekte olmakta, her sene yaklaşık sekiz milyon insan tüberküloza yakalanmakta ve yaklaşık iki milyon insan bu sebeple ölmektedir. Tüberküloz dünyada en çok ölüme neden olan hastalıkların arasında 6. sırada, bulaşıcı hastalıklar arasında ise AIDS'ten sonra ikinci sırada yer almaktadır. Tüberküloz tedavisi olan bir hastalık olmasına rağmen 21.yy taşınabilmiş ve önemli bir sağlık sorunu olmayı hala devam ettirebilen tek hastalıktır (8). Tüberkülozda en önemli gelişme ise 24 Mart 1882'de Robert Koch tarafından tüberküloz basilinin bulunmasıdır (5,7). Tüberküloz basillerinin tipleri farklı olsa da morfolojileri ve özellikleri birbirlerine benzer. Mycobacteriler oksijenli vasatları çok seven, aerob basillerdir. Bu basiller 0.2- 0.4 mikron genişliğinde, 2-4 mikron uzunluğunda, sporsuz, hareketsiz, endo ve ekzo toksinleri olmayan bakterilerdir. Fakültatif çoğalmaları ile etkin olurlar. Yavaş üreyen bakterilerdirler (12-24 saat). Vücut dışında üreyemezler. Mycobacterium tuberculosis, larenks ve akciğer tüberkülozlu hastaların konuşma, öksürük, şarkı söyleme gibi aktiviteleri esnasında havaya dağılan sekresyonlarının sıvı kısmının hızlı bir şekilde buharlaşarak küçük solid bir maddeye dönüşmesi ve damlacık çekirdeği ismini alan bu partiküllerin, sağlıklı insanlarca solunum yolu vasıtasıyla alınması sonucu bulaşır. Solunum yoluyla vücuda giren mycobacterium tüberkülozisin enfeksiyonu başlatabilmesi için alveollere kadar ulaşabilmesi gerekmektedir. Alveollere kadar ulaşabilen mycobacterileri alveol makrofajları tutar. Mikobakteriler ya makrofajlar tarafından tutularak tahrip edilir ya da makrofajlar içerisinde çoğalarak bu makrofajı öldürürler. Mikobakterium tüberkülozisin organizmaya girişini takiben 2-3 hafta sonra organizmada bu bakterilere karşı immün cevap gelişir.

Tüberkülozda makrofajlar hedef hücrelerdir. Mikobakteriler makrofajlar içerisinde çoğalırlar ve tüberkülleri oluştururlar. Ana kaynağı trombositlerin α granülleri olan PDGF aynı zamanda makrofajlar tarafından da üretilmektedir (28). . PDGF ailesi, PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB, PDGF-CC ve PDGF-DD olmak üzere disülfid bağı ile bağlı 5 üyeden oluşur. PDGF hedef hücrenin büyümesini uyarır ve kemotaksisi etkiler. PDGF embriyonel gelişim esnasında bazı organlar için önemli fonksiyonlara sahip olmasının yanı sıra yara iyileşmesinin uyarılmasına ve bağ doku homeostazına da etki eder (29). PDGF-D geni 11. kromozom üzerinde bulunur (37). PDGF-D ovaryum, kalp, ve pankreas dokularında yüksek değerlerde gözlemlenmiştir (33). İnsan PDGFR- β geni, 5. kromozom üzerinde yer almaktadır (38). Bu reseptör sadece PDGF-DD ve PDGF-BB'yi bağlamakta ve aktif hale geçmelerini sağlamaktadır (33). Tüberküloz hastalarının alveolar makrofajlarında PDGF-B molekülünün mRNA sentezinin indüklendiği ve PDGF-B molekülünde büyük bir artış olduğu bulunmuştur (27).

Akciğer oksidanlardan en çok etkilenen organdır çünkü hava kirliliğinden ve kandan kaynaklanan oksidanların etkisinde bulunmaktadır. Ayrıca vücudumuzda oksijenle en çok karşılaşan organ akciğerdir. Ayrıca tüberkülozda fagositoz sırasında savunma hattındaki makrofajlar tarafından bol miktarda reaktif oksijen radikalleri üretilebilmektedir (90). Yapılan bir çalışmada aktif tüberküloz hastalarında reaktif oksijen türleri (ROS) sağlıklı bireylere göre anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur. (91) Yapılan başka bir çalışmada akciğer tüberkülozlu çocuk hastalarda serum paraoksanaz ve TAS değerleri kontrollere göre düşük bulunmuş ve TOS değerleri ise yüksek bulunmuştur. (92)

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Tüberküloz

2.1.1. Tanım

Tüberküloz, Myobacterium Tuberculosis Complex olarak isimlendirilen bir grup mikobakteri tarafından meydana gelen, enfekte dokularda, granülomların olmasıyla karakterize farklı klinik olgulara sahip olan kronik nekrotizan bir bakteriyal enfeksiyondur (1). Tüberküloz tüm organlarda görülebilmesine rağmen, en sık etkilenen organ %80-90 oranında akciğerlerdir (2).

Tüberküloz (Tbc) bildirim zorunlu bir hastalıktır (3).

2.1.2. Tarihçe

Tüberküloz, insanlığın bilinen en eski hastalıklarından birisidir. Geçen uzun süre içerisinde bu hastalığın insidansında artışlar ve azalışlar olmuştur, ama halk sağlığına kalıcı tehdit olma özelliği hep devam edegelmiştir (4). Verem olarak da bilinen bu hastalığa; tarihsel süreçte insanı eriterek öldürdüğü için Tüketim Hastalığı, hastaları soldurarak öldürdüğü için Beyaz Ölüm ve yüzyıllar boyu birçok insanın ölümüne sebep olduğu için de Ölümün Kaptanı gibi isimler verilmiştir. Türk kültüründe ise İnce Hastalık tabiri en çok kullanılan tanımdır. Tüberküloz hakkındaki ilk bilgiler MÖ 3000 senesine kadar uzanmaktadır (5, 6, 7).

Tüberküloz 18.yy sonlarına doğru tanımlanmıştır. 19.yy sonlarına doğru ise tüberkülozun temel özelliklerini bulmaya yönelik anatomik, deneysel, klinik, bakteriyolojik keşifler ve çalışmalar yapılmıştır. Tüberkülozun bulaşıcı bir hastalık olduğu ve insandan insana geçtiği Willemin tarafından 1865 yılında bulunmuştur. Tüberkülozda en önemli gelişme ise 24 Mart 1882'de Robert Koch tarafından tüberküloz basilinin bulunmasıdır (5,7).

2.1.3.Epidemiyoloji

Tüberküloz tedavisi olan bir hastalık olmasına rağmen 21.yy taşınabilmiş ve önemli bir sağlık sorunu olmayı hala devam ettirebilen tek hastalıktır (8). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) her yıl yayımladığı Küresel Tüberküloz Raporları ile hastalığa ait verileri dünya, bölgeler ve ülkeler gibi bölümlerle dünyaya sunmaktadır. Tüberküloza ait veriler birçok ülkede kayıt altına alınmaya çalışılsa da bu veriler çeşitli sebeplerle ülkeden ülkeye derecesi farklılık göstermek üzere eksik bilgiler içermektedir. DSÖ' nün yayımladığı veriler bilimsel bulgulara dayanan tahmini rakamlardır (6).

2.1.3.1. Dünyada durum

Günümüzde dünya nüfusunun 1/3 i tüberküloz basili ile infekte olmuş haldedir (9, 8, 10). Tüm tüberküloz olgularının %95'ini düşük ya da orta gelirli ülke vatandaşları oluşturmaktadır. Bu konuda yapılan araştırmalar tüberküloz ile yoksulluk arasındaki bağı göstermiştir (11). Gelişmekte olan ülkelerde önlenabilir ölümlerin %25'i tüberküloza bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Tüberküloz HIV/AIDS'den sonra dünyada erişkinlerde en çok ölüme yol açan ikinci infeksiyon hastalığı olarak hâlâ ciddi derecede önemini korumaktadır. Son otuz yıl içinde tüberküloz kontrol programlarının ihmal edilmesi, göçler, savaşlar, sosyo-ekonomik problemler ve özellikle de HIV/AIDS salgınının ortaya çıkması ile tüberküloz insidansında birçok ülkede ciddi anlamda artış olmuştur (12). Kötü kontrol programlarının ortaya çıkması sonucu ilaç direnci yaygınlaşmış, özellikle de "Çok ilaca Dirençli Tüberküloz (ÇİD-TB)" kişilerin sağlığı için önemli bir tehdit özelliği kazanmıştır (4).

DSÖ' nün 2010 raporuna göre 2009 yılında dünyada 14 milyon tüberküloz hastası vardı. 2009 yılında ortaya çıktığı tahmin edilen 9.4 milyon olgunun 1.1 (%12) milyonunun HIV ile infekte olduğu hesaplanmaktadır. Çok İlaça Dirençli Tüberküloz (ÇİD-TB) hem tüberküloz kontrolü kalitesinin bir göstergesidir hem de tüberküloz kontrolündeki en önemli problemlerden bir tanesidir. 2008 tahmini rakamlarına göre tüm dünyada 440.000 ÇİD-TB bulunmaktadır (13, 6)

Dünyadaki hastaların yaklaşık % 80'i 22 ülkede bulunmaktadır. Yüksek tüberküloz olgu yükü bulunan ülkelerden ilk beşi Hindistan, Çin, Endonezya, Nijerya, Bangladeş olarak sıralanmıştır. (4).

DSÖ'nün tüberküloz kontrol programındaki hedefi basil bulunan yeni tüberküloz vakalarının en az %70'ine ulaşmak ulaşılan bu vakaların %85'ini başarı ile tedavi etmektir (14, 15). Ancak halen DSÖ 2007 raporuna göre olgu bulma oranları %62 olup, hedeflenenin altında bulunmaktadır (8).

2.1.3.2. Türkiye'de durum

Resmi rakamlara göre ülkemizde 2008 yılında toplam 18.452 tüberküloz hastası verem savaş dispanserleri kayıtlarına girmiştir. Toplam olgu hızı yüz bin nüfusta 27,9'dan 25,8'e (%7,5) düşüş göstermiştir. Hastaların %37,8 kadın, %62,2'si erkektir. Erkek kadın oranı 1.6'dır. Olgu hızının yaş guruplarına göre dağılımı incelendiğinde, 15-24 yaş grubundan başlayarak yüksek bir düzey izlemekte ve 55 - 64 ile 65 ve üzeri yaşlarda en yüksek düzeye ulaştığı görülmektedir.

Hastaların %65,6'sı akciğer tutulumu, %30,6'sı akciğer dışı organ tutulumu, %3,8'i hem akciğer hem organ tutulumu göstermiştir. Toplam 18.452 hastanın %90,8'i yeni olgudur. Çok ilaca direnç oranı yeni olgularda %3, tedavi görmüş olgularda ise %18,6 olarak saptanmıştır. Türkiye de 2008 yılı nokta prevalansı yüz binde 22 dir (14).

Ülkemiz tüberküloz hastalığının orta derece yaygın olduğu ülkeler grubunda olup, son yıllarda stabil bir seyir izlemektedir. Tüberküloza en sık Marmara bölgesinde, daha sonra ise Karadeniz bölgesinde rastlanmaktadır. Türkiye ortalamasının çok üzerinde olan Marmara bölgesindeki tüberküloz insidans yüksekliğinden İstanbul sorumludur (4).

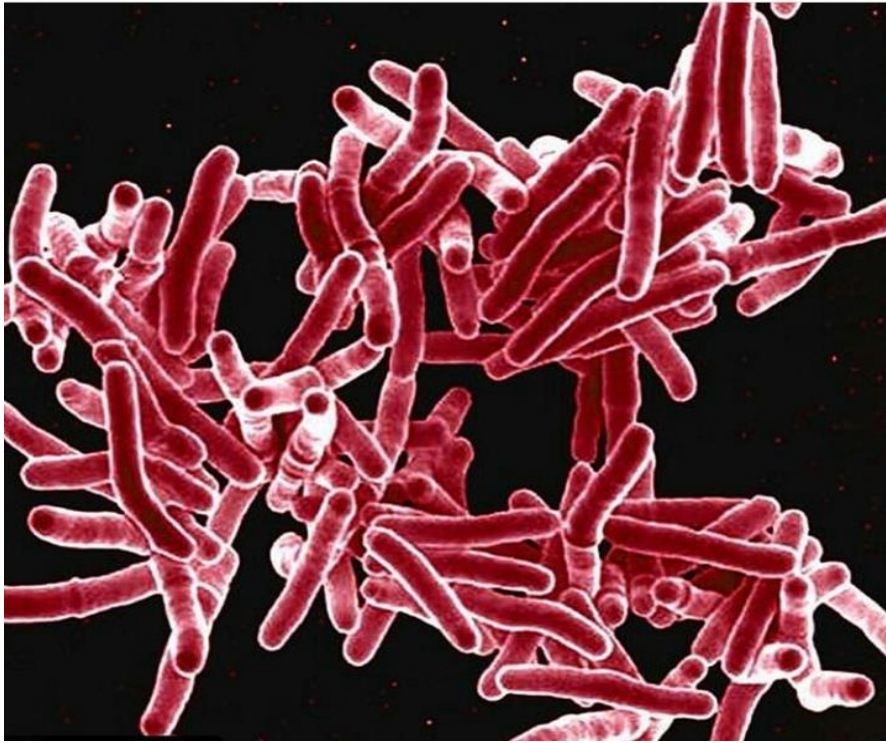
Son yıllarda Türkiye'de tüberküloz kontrolü ile ilgili önemli gelişmeler olmak beraber hala ciddi problemler de vardır. Problemlerin bazıları şunlardır; tanı geç konulabilmektedir ve bakteriyolojik tanı oranları oldukça düşük seviyededir. Tanısı konulmuş hastaların bildirimleri ve verem savaş dispanserlerine taşınmalarında da eksiklikler mevcuttur. Kayıtlı olan hastalar haricinde önemli sayıda hasta olduğu bilinmektedir. Tanısı konulan hastaların tedavilerinin sürdürülmesi ve tamamlanmasında da problemler vardır (16).

2.1.4. Etkeni

1882 yılında Robert Koch'un tanımladığı Mycobacteriler günümüzde farklı farklı sınıflara ayrılmışlardır. İnsanlarda en çok hastalığa neden olan türü *Mycobacterium tuberculosis*'dir. *Mycobacterium tuberculosis*'den sonra *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium avium* gelmektedir. Ayrıca atipik mycobacterilerin oluşturdukları akciğer tüberkülozları da bilinmektedir (3, 17).

Tüberküloz basillerinin tipleri farklı olsa da morfolojileri ve özellikleri birbirlerine benzer. Mycobacteriler oksijenli vasatları çok seven, aerob basillerdir. Bu basiller 0.2- 0.4 mikron genişliğinde, 2-4 mikron uzunluğunda, sporsuz, hareketsiz, endo ve ekzo toksinleri olmayan bakterilerdir. Fakültatif çoğalmaları ile etkin olurlar. Yavaş üreyen bakterilerdirler (12-24 saat). Vücut dışında üreyemezler.

Güneş ışığına karşı aşırı derece duyarlı olan bu basiller kısa sürede canlılıklarını yitirirler. 70-80 °C lik ısıya iki saat dayanabilme yeteneğine sahiptirler. Ayrıca güneş görmeyen nemli yerlerde de uzun süre yaşayabilirler (8, 17).



Şekil 1. *Mycobacterium tuberculosis* (SEM Görüntüsü)

2.1.5. Bulaşma

Tüberküloz hastalığında mikroorganizmaların bulaşma yolları birbirinden farklı şekillerde olabilir. Deri, gastrointestinal sistem birer giriş kapısı olmakla beraber en çok rastlanılan bulaşma yolu solunum sistemidir (18).

Mycobacterium tubercosis, larenks ve akciğer tüberkülozlu hastaların konuşma, öksürük, şarkı söyleme gibi aktiviteleri esnasında havaya dağılan sekresyonlarının sıvı kısmının hızlı bir şekilde buharlaşarak küçük solid bir maddeye dönüşmesi ve damlacık çekirdeği ismini alan bu partiküllerin, sağlıklı insanlarca solunum yolu vasıtasıyla alınması sonucu bulaşır. (19, 20, 18).

Tüberküloz basilinin bulaşmasını etkileyen faktörler:

1. Kaynak hasta

Balgamda basil miktarı: Tüberkülozda en fazla bulaştırıcılığı sahip kaynak aside dirençli basil (ARB) pozitif tespit edilen larenks ve akciğer tüberkülozlu olgulardır. Yapılan çalışmalarda balgam yayması pozitif olan hastanın yakın temashılarında TCT pozitifliğinin %30-50 olduğu, balgam yayması negatif olgularda ise daha farklı olup %5'lerde olduğunu göstermiştir (21).

Balgamın aerosol oluşturması: Çeşitli solunum hareketlerinin aerosol oluşturma hareketleri farklıdır. Konuşmayla 0-210, öksürmeyle 0-3500 ve hapşırma ile 4500-1.000.000 adet partikül oluşmaktadır. Bir sefer öksürme ile meydana gelen partikülün miktarı, ortalama beş dakika konuşmayla oluşturulan miktara eşit durumdadır. Ayrıca bu fonksiyonların miktarı arttıkça bulaşma ihtimali de artar. Hasta kişiden solunum yolu ile havaya saçılan bu partiküllerden çapları 1-3 mikron olanlar daha fazla miktarda alveollere ulaşır ve hastalık oluştururlar. Daha büyük çaptaki partiküller ise ağırlıklarından dolayı yere çökerler veya hava yollarında tutulup mukosilyer sistem ile dışarı atılırlar. Etkili ve doğru tedaviye başlandıktan sonra olguların bulaştırıcılığı iki üç haftadan sonra sona erer.

2. Çevresel faktörler: Kaynak hastayla paylaşılan mekanın havalandırılması yetersizdir ve açık olmayan mekân oluşturulması bulaşmayı artırır. Standart nem ve ısı şartları sağlanan kapalı mekanlarda aerosol halinde olan basiller canlılıklarını dokuz saate kadar sürdürebilmektedirler. Bu sebeple bulunan ortamlardaki partiküllerin filtrasyon veya ventilasyon ile uzaklaştırılması, odanın hava ısısının 6-12 kere taze havayla değişmesi ve ultraviyoleyle karşılaşılması bulaşıcılığı engellemede yardımcı olur.

3. Karşılaşma zamanı ve yoğunluğu: Karşılaşma zamanı ne kadar fazla ise ve kaynak hastanın basil yoğunluğu ne kadar çok ise bulaş oranı o denli fazladır.
4. Tüberküloz basilinın özellikleri: Basilin virulansı ve canlılığı bulaşma için önemli faktörlerdendir.
5. Hedef kişinin özellikleri: Temas eden kişinin önceden tüberküloz hastalığına yakalanıp yakalanmadığı BCG durumu, tüberkülozun gelişiminin artmasına sebep olan bir durumun varlığı, kaynak hastayla karşılaşmadan sonra gelişecek durumun belirlenmesinde oldukça önem arz etmektedir (22, 19, 21, 20, 1, 18).

Enfekte oluş kişide tüberküloz hastalığı gelişimini arttıran durumlar şunlardır: Enfeksiyonun yeni gelişmiş olması (≤ 2 yıl), diyabet (3 kat), silikozis (2.8-30 kat), uzun süre kortikostroid kullanımı, sigara tiryakiliği (2-3 kat), HIV enfeksiyonu (100-170kat), vücut ağırlığının ideal vücut oranına göre % 5'ten düşük olması, uyuşturucu kullanımı, lösemi, lenfoma, baş ve boyun kanserleri, retikuloendotelyal sistem kanseri, gastrektomi, transplantasyon, intestinal rezeksiyon (23, 24, 1).

2.1.6. İmmünoloji

Basil saçan bir tüberküloz hastasıyla temas eden sağlıklı, normal bir birey için sessiz enfeksiyon olasılığı %95, iki yıl içinde aktif tüberküloz gelişme ihtimali ise %5'dir. Sessiz enfeksiyon gelişen kişilerin %5'i hayatlarının geri kalan döneminde tüberküloz hastası olmaktadır. Yaşam boyu toplam tüberküloz olma riski temaslılarda %10'dur. İlk iki senede gelişen hastalık, genellikle akciğer dışı tüberkülozudur (25).

2.1.7. Patogenez

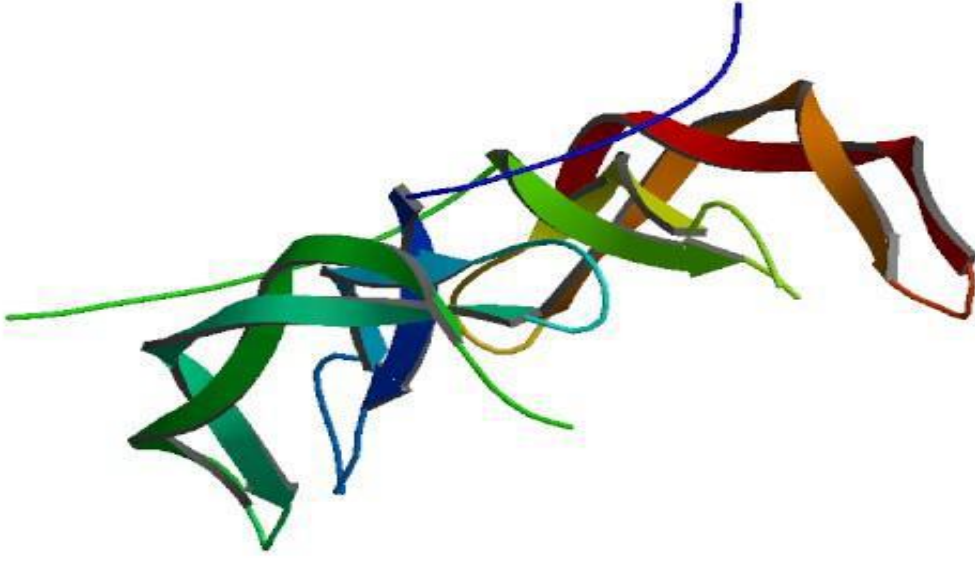
Solunum yoluyla vücuda giren mycobacterium tüberkülozisin enfeksiyonu başlatabilmesi için alveollere kadar ulaşabilmesi gerekmektedir. Alveollere kadar ulaşabilen mycobacterileri alveol makrofajları tutar. Mikobakteriler ya makrofajlar tarafından tutularak tahrip edilir ya da makrofajlar içerisinde çoğalarak bu makrofajı öldürürler. Mikobakterium tüberkülozisin organizmaya girişini takiben 2-3 hafta sonra organizmada bu bakterilere karşı immün cevap gelişir.

Mononükleer makrofajlar büyük oval, soluk stoplazmalı soluk nüveli, epiteloid hücrelere dönüşürler. Epiteloid hücreler tüberküloz için spesifik doku reaksiyonu oluşturan ve hastalığın tüberküloz olarak isimlendirilmesine sebep olan "tüberkül"leri meydana getirirler. Eğer oluşan tüberkül çok küçük ise tam iyileşme (sekelsiz) mümkün olabilir. Tüberküller sık olarak da fibröz değişime uğrarlar ve damarsız bir skar dokusu haline geçerler. Ama büyük tüberküllerde bulunan kazefiye odakların içerisindeki kazeöz metaryel absorbe olmaz, ya likefiye olarak boşalır ya da stabil hale geçerler. Kalsifiye odaklarda senelerce uyuklar vaziyette (dormant) kalan canlı tüberküloz basilleri bulunabilir. Bu lezyonlar bilinen(diyabet, uzun süre kortikostroid kullanımı) ya da bilinmeyen sebeplerle aktifleşerek hastalığı yeniden başlatabilirler (26).

Tüberkülozda makrofajlar hedef hücrelerdir. Tüberküloz hastalarının alveolar makrofajlarında PDGF-B molekülünün mRNA sentezinin indüklendiği ve PDGF-B molekülünde büyük bir artış olduğu bulunmuştur (27)

2. 2.Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF)

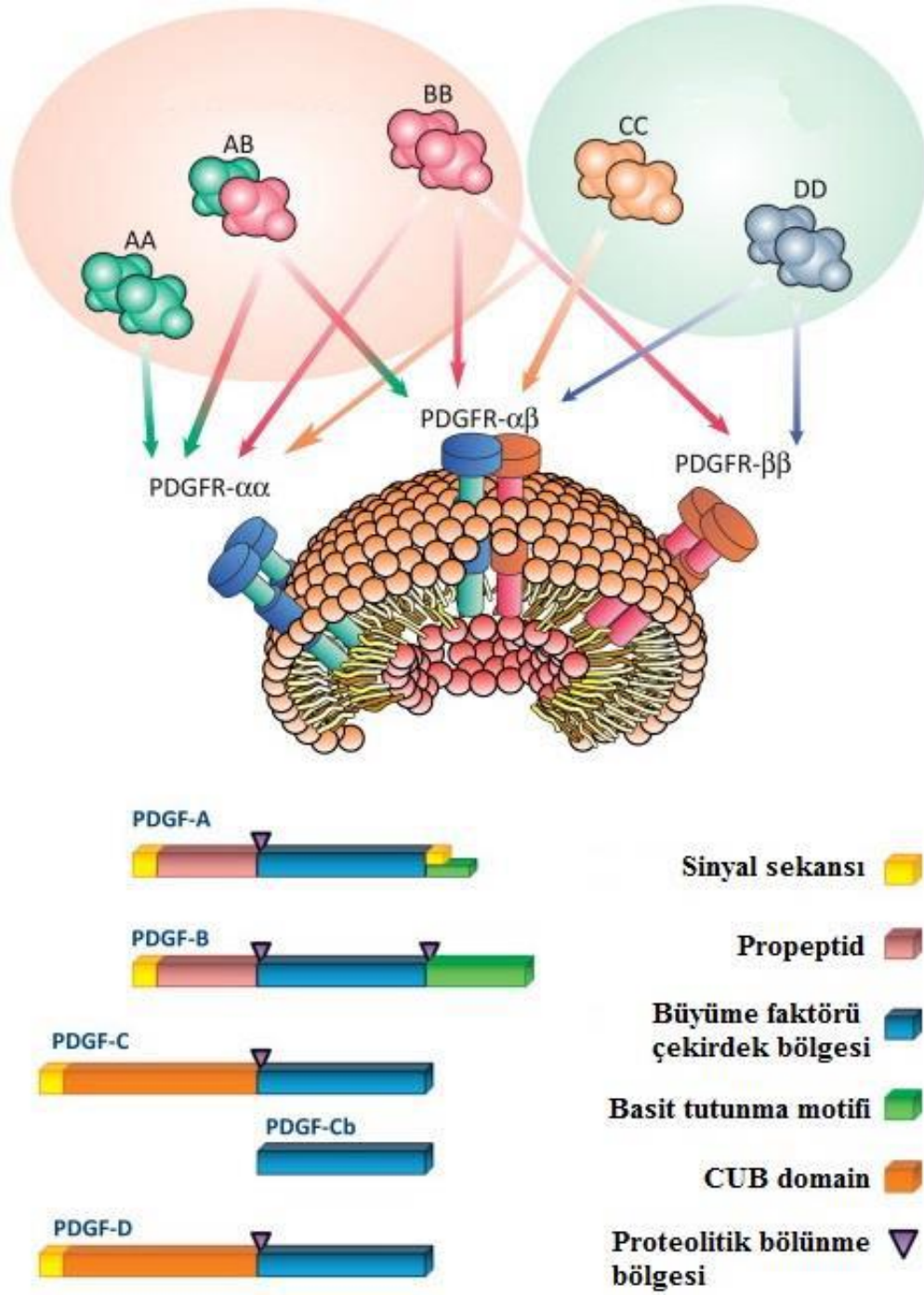
1974 yılında keşfedilen trombosit kökenli büyüme faktörü (Platelet Derived Growth Factor, PDGF) genellikle otokrin ve parakrin yolla etkisini göstermektedir. PDGF ailesi, PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB, PDGF-CC ve PDGF-DD olmak üzere disülfid bağı ile bağlı 5 üyeden oluşur. Katyonik yapıya sahip olan olgun PDGF-A ve PDGF-B zincirleri yaklaşık olarak % 60 aminoasit benzerliği gösterirler. A ve B zincirleri öncül moleküller halinde sentezlenir ve hücre içi dimerizasyona ve proteolitik işlemlere uğrarlar. Ana kaynağı trombositlerin α granülleri olan PDGF aynı zamanda makrofajlar, keratinositler, fibroblastlar, vasküler endotelial hücreler ve vasküler düz kas hücreleri tarafından üretilir (28). PDGF hedef hücrenin büyümesini uyarır ve kemotaksisi etkiler. Spesifik hücre tiplerine farklılaşması üzerine etkileri mevcuttur, aktin filament sistemin reorganizasyonu ile hücre şeklini etkiler. PDGF hücreyi apoptozise karşı koruyarak hücrenin sağ kalma şansını artırır. PDGF embriyonel gelişim esnasında bazı organlar için önemli fonksiyonlara sahip olmasının yanı sıra yara iyileşmesinin uyarılmasına ve bağ doku homeostazına da etki eder (29).



Şekil 2. PDGF molekülü (30)

2.2.1. PDGF izoformları

PDGF izoformları PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB, PDGF-CC ve PDGF-DD' dir.



Şekil 3. PDGF ailesi (31)

2.2.1.1. PDGF-A

PDGF-A zincirinin kodlanmasını sağlayan gen, insanlarda 7. kromozomda bulunmaktadır (32). PDGF-A sitokini, fibroblastlar, astrositler, keratinositler, damarların düz kas hücreleri, nöronlar makrofajlar, ve trombositler gibi birçok hücre tarafından sentezlenmektedir (28). Organlarda, pankreas kalp, ve iskelet kaslarında mRNA ekspresyonu en yüksek değerlerde bulunmuştur (33).

2.2.1.2. PDGF-B

PDGF-B zincirini kodlayan gen, insanlarda 22. kromozomun üzerinde bulunmaktadır (34). PDGF-B, trombositler, makrofajlar, fibroblastlar ve damarların düz kas hücreleri gibi birçok hücre tarafından sentezlenmektedir (28). Organlarda, kalpte ve plasenta mRNA ekspresyonun yüksek değerlerde olduğu bildirilmiştir (33). PDGF-B zinciriyle simian sarkoma virüsünün (SSV) onkogenleri homoloji göstermektedirler (35, 36).

2.2.1.3. PDGF-C

PDGF-C geni insanda 4. kromozom üzerinde bulunur. PDGF-C, kalp, böbrek ve pankreas olmak üzere birçok organ tarafından sentezlenmektedir.

2.2.1.4. PDGF-D

PDGF-D geni ise 11. kromozom üzerinde bulunur (37). . PDGF-D ise ovaryum, kalp, ve pankreas dokularında yüksek değerlerde gözlemlenmiştir (33).

2.2.2. PDGF reseptörleri

PDGF izoformlarını bağlama ve aktive etme özelliğine sahip olan iki farklı PDGF reseptörü bulunmaktadır. Bunlar; PDGFR- α ve PDGFR- β 'dır (33).

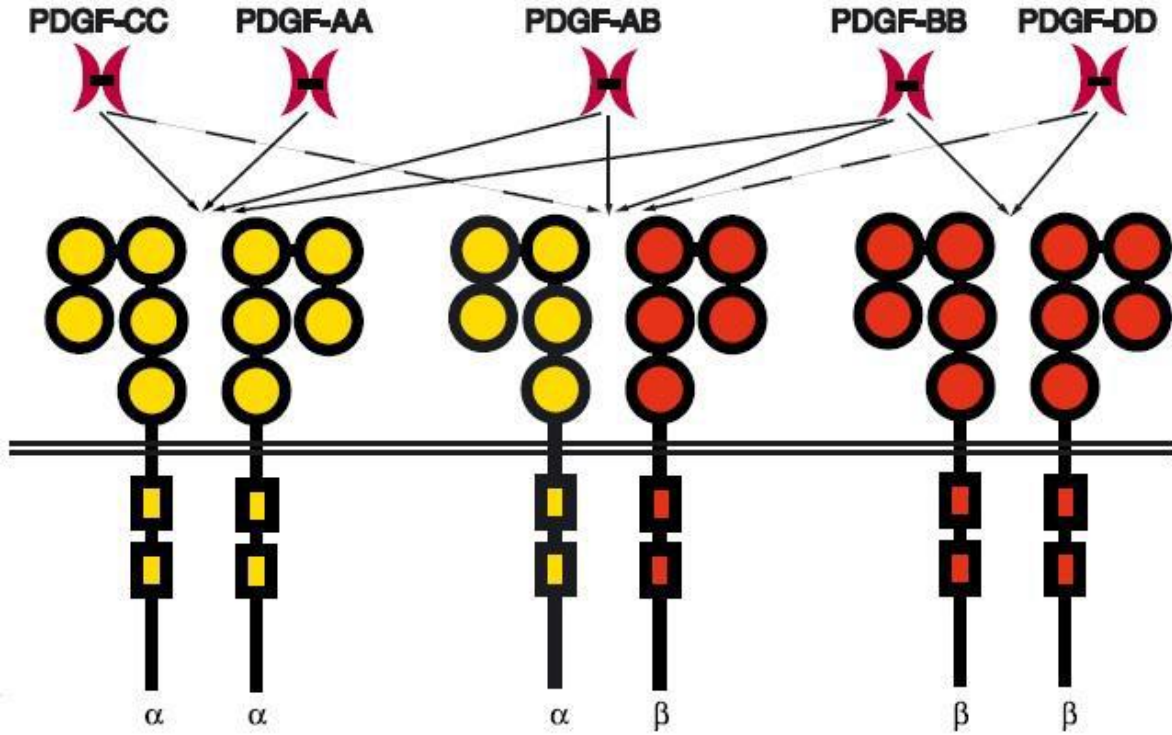
2.2.2.1. PDGF reseptör- α (PDGFR- α)

İnsanda PDGFR- α geni, 4. kromozom üzerinde yer almaktadır (32). PDGFR- α PDGF-AA, PDGF-AB, PDGF-BB, PDGF-CC gibi PDGF dimerlerini bağlamakta ve aktifleşmelerini sağlamaktadır (33).

2.2.2.2 PDGF reseptör- β (PDGFR- β)

İnsan PDGFR- β geni, 5. kromozomun üzerinde yer almaktadır (38). Beta reseptörü sadece PDGF-DD ve PDGF-BB' yi bağlamakta ve aktifleşmelerini sağlamaktadır (33).

PDGF-AB, PDGF-BB, PDGF-CC, PDGF-DD izoformları aynı zamanda heterodimerik olan PDGFR- $\alpha\beta$ tarafından da aktif hale getirilebilmektedirler (33).



Şekil 4. PDGF reseptörleri ve izoformların bağlanması(33)

2.2.3.PDGF sinyal ileti mekanizmaları

PDGF'nin bağlanması ile meydana gelen ve tirozin kinaz aktivitesi kazanan PDGF-reseptör kompleksinin hücre içi bölgesi öncelikle otofosforile olmaktadır. Oluşan tirozin fosfatlar, SH2 bölgesi olan proteinleri bağlayarak fosforile olmalarını ve aktif hale geçmelerini sağlamaktadırlar. Bu şekilde aktif hale gelen proteinler reseptörlerinden ayrılarak çeşitli hücre içi ileti yollarını başlatmaktadırlar (39). Çok sayıda SH2 bölgesi bulunan protein PDGFR- α ve PDGFR- β ' ya bağlanır. Bunlardan enzim olanlar şunlardır; fosfolipaz C- γ (PLC γ), fosfatidil inositol 3-kinaz (PI3K), Src ailesi, SH2 bölgesi içeren protein tirozin fosfataz-2 (SHP-2), GTPaz aktive eden protein (Gap)' dir. Grb2, Grb7, Nck, Crk ve Shc gibi moleküllerin ise enzimatik aktiviteleri yoktur ve adaptör molekül gibi davranıp, reseptör ile

katalitik molekülleri bağlamaktadırlar. Ayrıca, Stat ailesi de PDGF reseptörüne bağlanır ve dimerize olarak nükleusa gidip, spesifik genlerin transkripsiyonunu sağlarlar (28). PDGF reseptörü tarafından aktiveleştirilen en önemli ve iyi tanımlanmış sinyal ileti yolları şunlardır:

2.2.3.1. Grb2/Sos

Grb2 bir adaptör moleküldür ve Sos ile kompleks oluşturmak suretiyle reseptöre bağlanmaktadır. Bu olay direk olarak gerçekleşebildiği gibi Shc veya SHP-2 aracılığıyla da gerçekleşebilmektedir. Bu birleşim Ras aktivasyonunu meydana getirir. Aktifleşmiş olan Ras direk Raf-1' i etkiler ve aktif hale getirir. Raf-1 mitojen ile aktif hale gelen protein kinaz (MAPK) kaskadının ilk kinazıdır. Bu yolla aktif hale gelen MAPK molekülleri nükleusta transkripsiyon faktörlerinin sentezini uyararak hücre proliferasyonunu, migrasyonunu ve farklılaşmasını uyarılmaktadırlar (28).

2.2.3.2. Stat

PDGF' nin reseptörüne bağlanmasıyla ve sonrasında tirozinlerin fosforilasyonu ile Stat molekülleri konformasyonel olarak değişikliklere uğrar, nükleusa gider ve transkripsiyon faktörü gibi davranarak gen transkripsiyonunu düzenlerler (28).

2.2.3.3. PLC γ

Fosfolipaz C enziminin γ izoformu (PLC γ) SH2 bölgesi ile reseptörün fosfotirozinlerine bağlanır ve aktif hale gelir. Artan PLC γ ' nin katalitik aktivitesi, fosfatidil inositol-bifosfat (PIP2) adı verilen fosfolipitten diaçil gliserol (DAG) ve inositol trifosfat (IP3) üretimine sebep olur. IP3 sitozole dağılır, DAG ise plazma zarında kalır. IP3 düz endoplazmik retikulumdan Ca kalsiyum iyonlarının salınımına sebep olur. DAG ise protein kinaz C (PKC)' nin aktif hale gelmesinde rol oynamaktadır. PKC de çeşitli sinyal iletim kaskadlarında rol oynamak suretiyle hücre proliferasyonunu etkiler (28, 39).

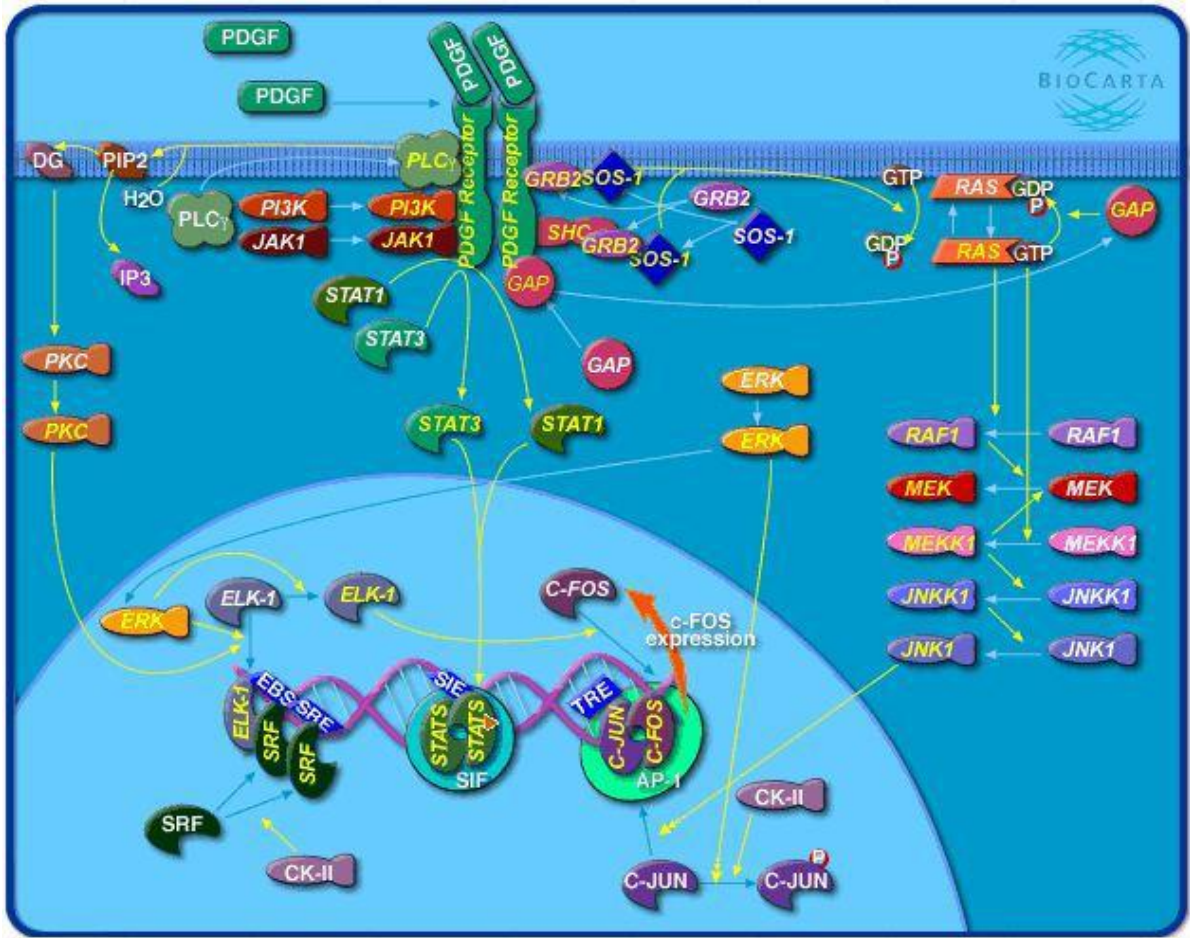
2.2.3.4. PI3K

SH2 bölgesi olan PI3K (fosfatidil inositol 3-kinaz) reseptördeki fosfotirozinlere bağlandığı zaman aktif hale gelmektedir. Aktif hale gelen PI3K fosfatidil inositol-bifosfat (PIP2)' ı fosfatidil inositol-trifosfat (PIP3)' a dönüştürmektedir. PIP3, hücre içi sinyal iletiminde merkezi bir rol oynamaktadır. Aktin reorganizasyonu, hücre büyümesi, kemotaksis, anti-apoptozis gibi farklı hücresel cevaplar üzerine etki etmektedir (28).

2.2.3.5. Gap, SHP-2 ve Src

SHP-2, Grb2/Sos kompleksine bağlanarak Ras aktivasyonuna katkı yapmaktadır. Src ailesinin üyeleri PDGF' nin mitojenik cevabı için önemli bir yer teşkil etmektedir. Hücre döngüsü üzerine etki etmektedirler.

Gap, guanozin trifosfat (GTP)' ı guanozin difosfat (GDP)' a dönüştürür ve böylece Ras aktivasyonunu düzenler (28).



Şekil 5. PDGF sinyal ileti mekanizmaları (40).

2.3. Serbest Radikaller

Ortaklaşmamış (eşlenmemiş) elektron içeren atom, atom grubu ya da moleküllere serbest radikal adı verilmektedir. Ancak Fe^{3+} , Cu^{2+} , Mo^{5+} ve Mn^{2+} gibi geçiş metalleri de ortaklaşmamış elektronlara sahip olmalarına rağmen serbest radikal olarak kabul edilmezler, ancak serbest radikalın meydana gelmesinde önemli rol oynarlar. Serbest radikaller pozitif yüklü (kasyon), negatif yüklü (anyon) veya elektriksel olarak nötr olabilmektedirler

(41, 42).

Serbest radikalde bulunan eşleşmemiş elektron, herhangi bir kimyasal bağ içerisinde başka bir elektronla spin paylaşmadığı için bu radikaller, ekstra elektronlarını başka atomlara lokalize olana kadar veya elektron alana kadar oldukça reaktiftirler. Bu reaktif maddeler, başka atomlarla ve moleküllerle elektron alışverişine girerek onları da kendileri gibi kararsız hale getirmektedirler (42, 43).

Serbest radikallerin yaşam süreleri çok kısa olmasına rağmen, yüksek aktiviteleri sebebiyle organizmada yüksek düzeyde tahrip edici özelliğe sahiptirler. Serbest radikallerin meydana gelme hızıyla yok edilme hızı arasında denge olduğu müddetçe, organizma bu durumdan etkilenmez. Bu denge bozulduğu zaman, oksidanların arttığı ya da antioksidanların yetersiz kaldığı zamanlarda organizma oksidanlara yani oksidatif strese maruz kalmaktadır. Bunun sonucunda, hücrel metabolizmanın işleyişi bozulmakta, oluşan moleküler yıkım ile kalp, karaciğer, akciğer, böbrek, mide, beyin gibi birçoğu hayati öneme sahip olan organlarda doku hasarı meydana gelmektedir (42,44-46).

2.3.1. Biyolojik Sistemlerde Serbest Radikal Oluşum Kaynakları

Serbest radikal oluşturan kaynakları, endojen ve ekzojen olmak üzere iki gruba ayrılabiliriz.

2.3.1.1. Endojen Serbest Radikal Oluşum Kaynakları

Organizmada birçok fizyolojik olay esnasında küçük miktarlarda serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri meydana gelmektedir. Bunlar antimikrobiyal savunmada ve sinyallerin iletilmesi gibi görevlerde rol oynadıktan sonra antioksidan savunma sistemleri tarafından etkisiz hale getirilmektedirler. Hücrenin tüm bileşenleri bu radikallerin meydana gelmesine katkıda bulunmaktadır. Özellikle mitokondriyal elektron taşıma zinciri endojen kaynaklı

radikallerin meydana geldiği en önemli yerdir (47-49). Mitokondriyal solunum zinciri esnasında NADH ve FADH₂ gibi indirgeyici moleküllerin elektronlarının moleküler oksijene aktarılması esnasında, solunum zinciri taşıyıcılarının indirgenmesi sonucunda serbest radikal yapısına sahip ürünler meydana gelmektedir (44,47,50). Endoplazmik retikulumda ve nükleer zar da ise serbest radikal üretimi, membrana bağlı sitokromların oksidase olmasından kaynaklanmaktadır. Elektron taşıma sistemlerinin aktivitesi esnasında sadece oksijen türevli radikaller oluşurken, ksenobiyotiklerin metabolizması esnasında ilave olarak yüksek toksik özelliğe sahip olan karbon merkezli radikaller de oluşabilir. Nükleer zar kaynaklı radikaller de özellikle DNA hasarına sebep olabilmektedirler (50,51-53).

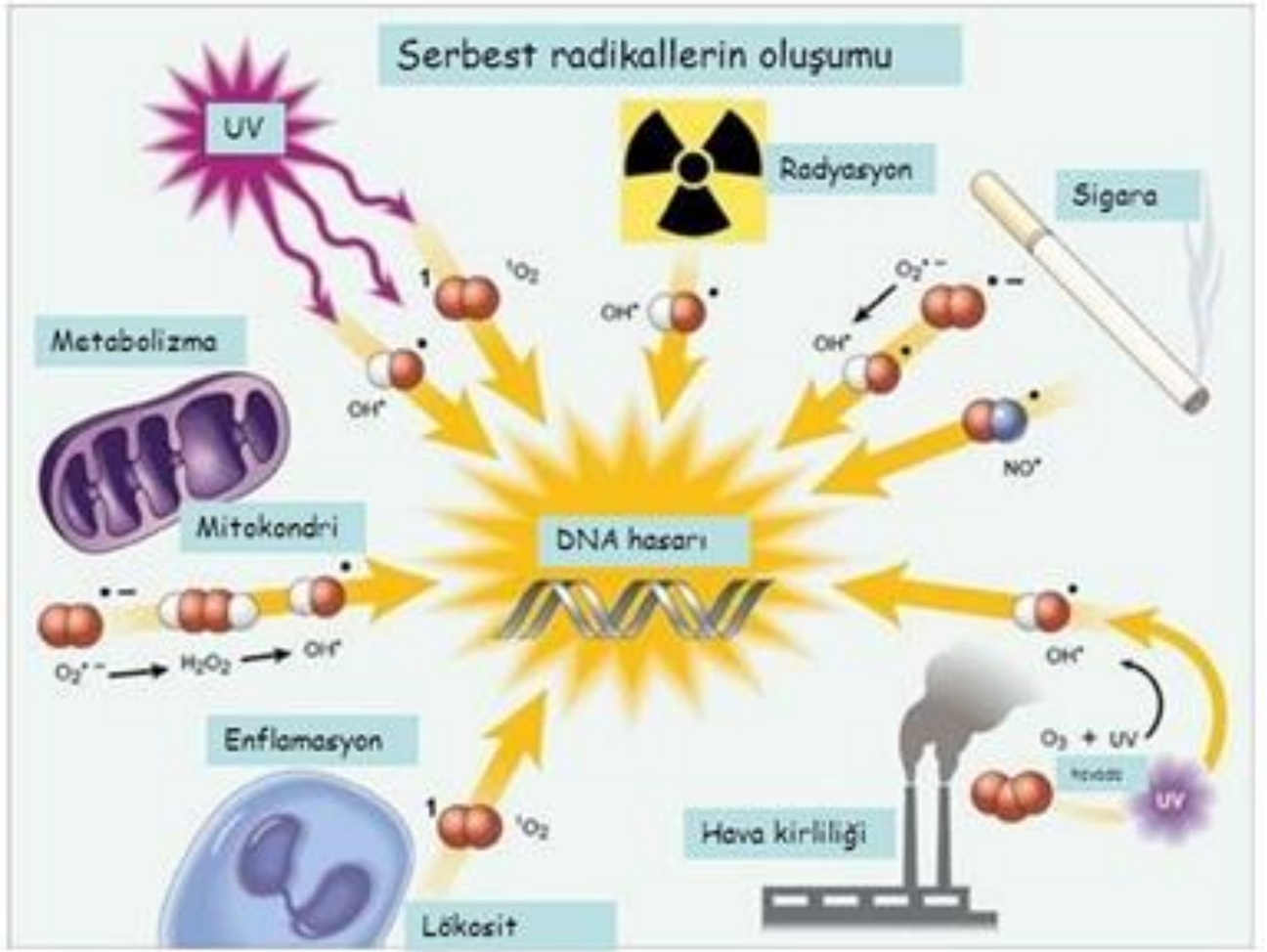
Peroksizom, hücre içindeki önemli hidrojen peroksit kaynağıdır. Peroksizomlardaki D-aminoasit oksidaz, L-hidroksilizin oksidaz, ürat oksidaz ve yağ asidi açıl-CoA oksidaz gibi oksidazlar süperoksit radikalini (O₂⁻) üretmeksizin, bol miktarda hidrojen peroksit (H₂O₂) üretimine neden olmaktadır. Fakat katalazın aktivitesi oldukça yüksek olduğundan dolayı bu organelden sitoplazmaya hangi miktarda H₂O₂ geçtiği bilinmemektedir (44,51).

2.3.1.2. Ekzojen Serbest Radikal Oluşum Kaynakları

Serbest radikal oluşumunun ekzojen kaynakları arasında sigara, çözücüler, pestisitler, petrokimya ürünleri, alkol, ilaçlar, stres, güneş ışınları, X-ışınları bulunmaktadır. Hatta yiyeceklerin içinde var olan bazı bileşikler de bunların en önemlileridir. Ağır bedensel aktivite de oksijen kullanımındaki artışla beraber radikallerin meydana gelmesini artırmaktadır. (44,54-60).

Kimyasal ve organik maddelerin yanması sonucu açığa çıkan özel maddelerin, radikallerin olası kaynakları ve taşıyıcıları olduğu ileri sürülmektedir. Sigara dumanı, akciğerlere alınan ve en önde gelen yanmış organik materyaldir. Sigaranın dumanının gaz fazının, in vitro poliansatüre yağ asitlerinin (PUFA) otooksidasyonunun başlamasına neden olduğu gösterilmiştir (42).

Sigara dumanındaki NO₂'in ilk formu olan nitrik oksit, hemoglobinin hem demiri ile oldukça hızlı bir şekilde reaksiyon vermektedir. Böylece eritrositlerde artan methemoglobin konsantrasyonu, bu kan hücrelerini oksidasyona predispoze hale getirmektedir (42).



Şekil 6. Serbest radikallerin oluşumu

2.3.2. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

Serbest oksijen radikalleri; singlet oksijen radikali, hidrojen peroksit, süperoksit radikali, hipoklorik asit ve hidroksil radikali olup bu radikaller oksijenli solunum metabolizması sırasında oluşmaktadırlar. Bu radikallerin yarılanma ömürleri birkaç mili saniye ile saatler arasında değişebilmektedir (61).

Moleküler oksijen, aerobik olan canlıların enerji metabolizmasındaki rolü nedeniyle hayati bir önemi vardır. Moleküler oksijenin toksik etkisi bulunmamaktadır, ancak aerobik hücre

metabolizmasında moleküler oksijen, serbest oksijen radikallerine dönüşmektedir. Enzim tepkimeleri de ROS oluşumuna sebep olmaktadır (62). Ayrıca oksijen radikalleri doku hasarına sebep olduklarından dolayı daha da bir önem kazanmaktadır (48). Oksijen molekülündeki aynı yöne doğru dönmekte olan iki elektrona sahip olan 2P son orbitali oldukça önemlidir. Bu orbitallerden herhangi bir tanesindeki elektron, bir orbitali bırakıp diğerine geçtiği zaman ya da farklı yönde döndüğü zaman "singlet oksijen" meydana gelmektedir. Orbitallerden bir tanesine ters dönüşlü iki elektron veya iki tanesine ters dönüşlü iki elektron daha gelirse "oksijen radikali" meydana gelmektedir.

<u>RADİKALLER</u>	<u>RADİKAL OLMAYANLAR</u>
Hidroksil (HO.)	Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)
Süperoksit (O ₂ .)	Hipoklorid (HOCl)
Alkoksil (RO.)	Singlet Oksijen (O ₂ - [˙])
Peroksil (ROO.)	Ozon (O ₃)
Nitrik oksit (NO.)	Lipid hidroperoksit (LOOH)
Azot dioksit (NO ₂ .)	Peroksinitrit (ONOO-)

Tablo 1. Oksijen türevli bileşikler

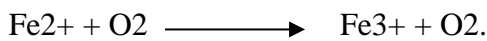
Oluşan radikal eslenmemiş olan bir elektronu sebebiyle çok dengesiz durumdadır ve hızla bulunduğu ortamdan kaybolur. Bu sebepten bu radikaller bahsedilen tek elektronlarını başka bir moleküle verebilir (redüksiyon) veya başka bir molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilmektedirler (oksidasyon). Sonuç olarak radikal olmayan yapıyı radikal şekle dönüştürebilmektedirler. Bu özelliklerinden dolayı reaktif oksijen partikülleri iki ana başlık altında incelenmektedir (63, 64).

2.3.2.1. Süperoksit Radikalleri (O₂.)

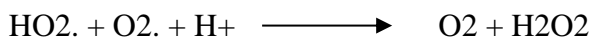
Neredeyse tüm aerobik hücrelerde, oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu süperoksit radikal anyonu (O₂.) (a) oluşmaktadır. Süperoksit nitrik oksitle tepkimeye girerek azot dioksit (NO₂), nitronyum iyonu (NO₂⁺), hidroksil radikali (OH[·]) gibi toksik ürünlere dönüşebilen peroksinitriti (b) (ONOO⁻) meydana getirirler (50,66, 67).



Süperoksit radikali zarları kolay bir şekilde geçemediği için, belli bir tahrip edici etkisi bulunmamaktadır. Genellikle bir hidrojen peroksit kaynağı ve geçiş metalleri indirgeyicisi olarak bilinmektedir (68). Süperoksit radikali mitokondriyal solunum esnasında meydana gelir. Mitokondrilerde kullanılmakta olan oksijenin % 2'lik kısmı süperoksit haline dönüşür. Oksijen mitokondride indirgendiği zaman oluşan primer ürün sudur (69, 70). Süperoksit anyonu ve hidroksil radikali diğer moleküllerin sahip olduğu elektronları kendilerine çekmek suretiyle enerji ihtiyaçlarını karşılarlar, bunlar hem oksitleyici hem de redükleyici anyonlar olarak bilinmektedirler (50,68). Süperoksit indirgenmiş geçiş metallerinin ootoksidasyon tepkimesiyle de meydana gelebilmektedir. Bu tepkimeler geri dönüşümlü olan tepkimelerdir.

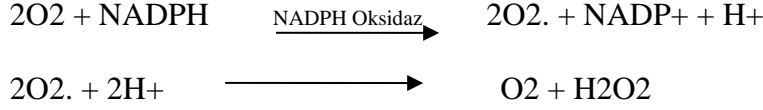


Süperoksit düşük pH olan ortamda proton alarak perhidroksil (HO₂.) radikalini oluşturmaktadır. Süperoksit ve perhidroksil radikali (SOD) süperoksit dismutaz enzimi aracılığıyla etkileştiği zaman biri okside olur iken diğeri indirgenmektedir. Bu dismutasyon tepkimesinde O₂ ve H₂O₂ meydana gelir (50, 66).



Fagositik hücreler (eozinofiller, nötrofiller, makrofajlar, monositler) bazı biyolojik hedeflerin tahribatına neden olan ve infeksiyonlara karşı hücrel yanıtı başlatan hücrelerdir.

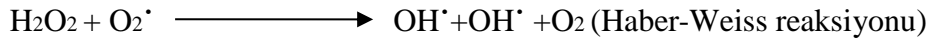
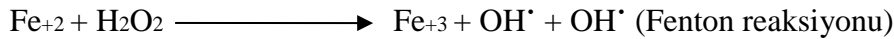
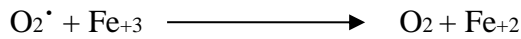
Nötrofillerde süperoksit radikali NADPH oksidaz enzimi aracılığıyla yapılmaktadır. Önce fagosit uyarılır, sonrasında NADPH oksidaz enzimi aktif hale gelir, redükte piridin nükleotidlerinden (NADPH) iki elektron iki molekül oksijene transfer edilir. Böylece iki molekül O₂. meydana gelir (50,68).



2.3.2.2. Hidroksil Radikalleri (OH[•])

Hidroksil radikali, biyolojik sistemlerde var olan en güçlü serbest radikal olarak bilinmektedir. Hidroksil radikalının en güçlü serbest radikal olmasının sebebi hücre çekirdeğindeki membran bariyerlerini kolayca geçebilmesi ve mutajenik olarak DNA'yı etkileyebilmesidir. Bu sebeple *in vivo* meydana gelen bir OH[•] radikali neredeyse her moleküle saldırır ve meydana geldiği yerlerde de büyük hasarlara sebep olur. Radikal olmayan biyolojik moleküller ile zincirleme tepkimeleri başlatır (50, 70, 71).

Hidroksil radikali, geçiş metalleri varlığında hidrojen peroksitin indirgenmesiyle (Fenton tepkimesi) meydana gelen son derece reaktif olan radikaldir. Ayrıca hidrojen peroksitin süperoksit radikaliyle tepkimesi sonucunda da (Haber-Weiss tepkimesi) oluşur. Bu tepkime katalizör olmadan çok yavaş gerçekleştiği halde Fe⁺³ katalizörlüğünde oldukça hızlı gerçekleşir (50, 72).



Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda da hidroksil radikali meydana gelir (50,73). Bir hidroksil radikali, oldukça fazla sayıda yağ asidini ve yağ asidinin yan zincirini lipid hidroperokside dönüştürebilmektedir. Oluşan bu hidroperoksitler birikerek zar bütünlüğünü bozar ve hücrenin kollabe olmasına sebep olurlar. Ayrıca bu hidroperoksitlerden son ürün olarak reaktif ve toksik olan aldehitler de meydana

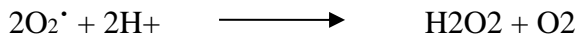
gelebilmektedir. Bunların arasından en önemli olanlardan biri de Malondialdehit (MDA)'dır (74).

Hidroksil radikali, inorganik ve organik bileşiklerde elektron transfer reaksiyonlarının gerçekleşmesine sebep olur. Fakat normalde OH[•] radikali meydana gelmez. Çünkü OH[•] meydana gelebilmesi için moleküler oksijenin üç değerlikli olarak indirgenmesi gerekmektedir ki, bu olay oldukça zor bir olaydır. OH[•] oluşabilmesi için O₂^{•-} ve H₂O₂ gerekmektedir. Bunlarda SOD, CAT veya GSHPx enzim sistemiyle uzaklaştırılmaktadır. Böylece fizyolojik şartlarda çok miktarda OH[•] meydana gelmez. Bu üç enzim hücre içi major antioksidanlardır (72, 75).

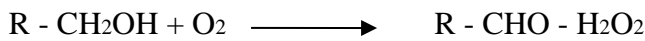
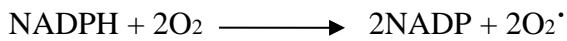
2.3.2.3. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit eşlenmemiş elektrona sahip olmadığı için aslında bir radikal değildir. Süperoksit anyonunun (O₂^{•-}) hidrojenle yaptığı tepkimeye dismutasyon reaksiyonu denir ve dismutasyon hızı asidik pH değerlerinde hızlanır (64,76).

Tepkime şu şekilde ifade edilir;



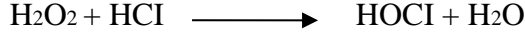
Bazı enzimler tekli (NADPH oksidaz) veya çiftli (Glukoz oksidaz) elektron eklenmesini katalizleyerek O₂^{•-} veya H₂O₂ oluşmasına sebep olurlar.



2.3.2.4. Hipoklorik Asit (HOCl)

Hipoklorik asit radikal olmamasına rağmen reaktif oksijen türleri (ROS) içinde yer alır. Fagositik hücrelerin bakterileri öldürülmesinde oldukça önemlidirler. Aktive olan nötrofiller, makrofajlar, monositler ve eozinofiller süperoksit radikallerini (O₂^{•-}) üretmektedirler. Radikal

üretimi fagositik hücrelerin bakterileri yok etmesinde çok büyük önem taşımaktadırlar. Özellikle nötrofiller miyeloperoksidaz enzimleri vasıtası ile önce O₂••'i meydana getirirler ve daha sonra dismutasyonla meydana gelen hidrojen peroksiti klorür iyonu ile birleştirerek güçlü bir antibakteriyel ajan olan HOCl'i oluştururlar.



2.3.2.5. Singlet O₂ (O₂ ↑↓)

Singlet oksijen (O₂↑↓), dıştaki yörüngesinde ortaklaşmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Oksijenin enerjistik uyarılması sonucu meydana geldiğinden spin kısıtlaması mevcut değildir ve reaktivitesi oldukça yüksektir. Oksijen elektronlarından birinin enerji almak suretiyle kendi spininin tersindeki yönde başka bir orbitale yer değiştirmesi ile meydana gelmektedir (50, 67).

Singlet oksijen, uyarılmış olan elektronların daha da düşük olan enerji seviyesine düşmesi sonucu ışık yaymaktadır. Kimyasal bir bileşik ile etkileşmesi sonucunda oluşan kemilüminesans olarak ölçülerek reaktif oksijen türlerinin dolaylı olmadan, direkt tespiti yapılabilmektedir (50,68). Pigmentlerin (flavin barındıran nükleotidler, bilirübin, renital, gibi) oksijenli ortamda ışığı absorbe etmesiyle, metal varlığında katalizlenen hidroperoksitlerin yıkım tepkimelerinde, spontan meydana gelen dismutasyon reaksiyonlarında (fagozom içerisinde), prostaglandin endoperoksit sentaz tepkimeleri ve bazı sitokrom P450 reaksiyonlarında vücutta singlet oksijen oluşabilir(50, 68).

Singlet oksijen diğer moleküller ile kıyaslandığında mevcut enerjisini aktarabileceği gibi kovalent reaksiyonlara da girebilir. Karbon-karbon çift bağları sayesinde, peroksi radikalini (ROO•) oluşturur ve lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir (68,77).

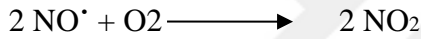
2.3.3. Reaktif Nitrojen Türleri (NO, NO₂, NO₊, NO₋)

Lipofilik özellikte olup, oksijensiz ortamda oldukça stabil haldedir (78). Düşük konsantrasyonlardayken, bulunduğu ortamda oksijen var olduğunda dahi stabilitesini muhafaza edebilen NO, en düşük molekül ağırlıklı, biyoaktif memeli hücresi sekresyon ürünü olarak bilinmektedir (79-81). Diğer radikallerden farklı olarak düşük miktarlarda toksik etkisi yoktur ve oldukça önemli fizyolojik fonksiyonları meydana getirir (78). NO•; bir atom azotla

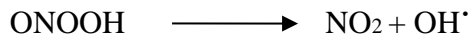
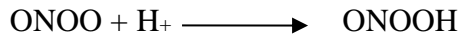
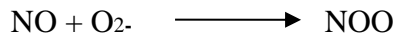
bir atom oksijenin çiftlenmemiş elektron vermek suretiyle birleşmesinden oluşmuştur ve bu sebepten radikal tanımına uymaktadır (82). Lipofilik olan serbest radikal damarların endotel hücrelerinde Nitrik Oksid Sentaz (NOS) enzimi vasıtası ile L-arjininden sentezlenmektedir. NOS'ın birçok izoformu da tanımlanmış durumdadır.

NO^{*} 'in yarı ömrü 10-20 saniye arasındadır. Kolaylıkla düz kasa geçerek Guanilat Siklaz (GC) enziminin "hem" demirine bağlanmakta ve cGMP sentezini uyarır ve damar gevşemesini uyarmaktadır. Sentezlenen NO, aynı vakitte tiyol gruplarını S-nitrozilasyona uğratar ve reseptör ve protein işlevlerini de değiştirmektedir. NO, Fe-S kümelerine afinite gösterdiği için bu grupları içeren akonitaz enzimine de bağlanmaktadır. Bu enzim hücre içi demir akışını kontrol etmektedir. NO, akonitaz enzimine mRNA bağlanmasını artırmakta ve enzimin aktivitesini düşürmektedir.

NO^{*} metabolize olurken moleküler oksijenle bağlanıp nitrojen dioksidi (NO₂) meydana getirir:



NO'in ROS'leri ile tepkimeye girerek güçlü oksidan olan peroksinitriti (ONOOH) meydana getirdiği ve bunun da ileri dekompozisyonla OH^{*} 'in meydana gelmesine sebep olduğu belirtilmektedir:



OH^{*} radikaliyse biyolojik açıdan yıkıcı bir moleküldür. Ayrıca, peroksinitrit de tirozin gibi fenolik amino asitleri nitrolar ve toksik nitro- türevlerini (nitrotirozin) meydana getirir. Sonuç itibariyle NO, endotel hücrenin disfonksiyonunu ve buna bağlı hipertansiyon, ateroskleroz ve Diabetes Mellitus gibi bazı önemli rahatsızlıklarda rol oynayabildiği bilinmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı'nda TBC tanısı konmuş yaşları 18 ± 60 yıl arasında değişen 44 (22 Erkek, 22 Kadın) hasta ve TBC tanısı olmayan sağlıklı-gönüllü yaşları 18 ± 60 yıl arasında değişen 44 (22 Erkek, 22 Kadın) sağlıklı kişi ile yapıldı. Çalışma için Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun onayı alındı. Ayrıca çalışma, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu (HÜBAK) tarafından desteklendi. Hastalara çalışma başlangıcında bilgilendirilmiş olur formu verildi. Hastalara tanı balgam yayması tekniği ile konuldu.

3.1. Kan Örneklerinin Alınması

Hasta ve kontrol grubunu oluşturan kişilerden tüm kan örnekleri, 12 saatlik açlığı takiben ve kan örneklerinin standardizasyonunun sağlanması amacı ile bireyler oturur pozisyondayken alınmıştır. Kan örneklerinin alınmasında, hem geniş hem de yüzeye daha yakın olduğundan antekübital venler (median kübital ven ya da sefalik ven) kullanıldı.

3.2. Örneklerin Toplanması ve Ölçümler

Antekübital venden alınan kan 1 jelli biyokimya tüpüne alındı. Jelli biyokimya tüplerine alınan kan örnekleri Nüve marka soğutmalı santrifüj cihazında 4000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi. Kanın santrifüj edilmesi sonucu elde edilen kan serumları ELISA ve oksidan antioksidan parametreler çalışılmak üzere 2 ayrı ependorfa konuldu. Ependorfa konulan serumlar hedeflenen sayı tamamlanınca çalışılmak üzere için -20°C 'lik derin dondurucuda muhafaza edildi.

3.3. Kullanılan Araç, Gereç ve Kimyasallar

- Biyokimya otoanalizörü (Abbott Architect C8000®, USA)
- Derin Dondurucu (Uğur®, Türkiye)
- Buzdolabı (Uğur®, Türkiye)
- Santrifüj (Nüve®)
- İnkübatör (red LINE by BINDER)
- Otomatik multipipetler (Gilson®, Germany)
- Hassas terazi
- Vorteks (Nüve® NM 110 model, Türkiye)

Oksidatif parametreler Rel® assay (Mega Tip, Gaziantep, Türkiye) kitleri kullanılarak Abbott marka Architect C8000 modelinde çalışıldı.

3.4. Oksidan Parametrelerin Ölçümü

3.4.1. Total Oksidant Seviye (TOS)

Örneklerin TOS düzeyi, Relassay® ticari kitler kullanılıp ölçülmüştür. Ölçme testinin çalışma prensibinde belirtildiği gibi örneklerin içinde bulunan oksidan moleküllerin ferroz iyonunu ferrik iyonuna kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanılmıştır.

Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/L olarak ifade edildi (79).

Reaktif 1: 140 mM'lık NaCl çözeltisi içerisinde 25 mM H₂SO₄ çözülerek ana solüsyon hazırlanmaktadır. Ana solüsyon içerisinde önce % 10 oranında gliserol çözündürülüp daha sonra total volümde 250 μM Xylenol orange çözülerek hazırlanır.

Reaktif 2: Ana solüsyon içinde önce 10 mM o-Dianisidine dihydrochloride çözülüp sonra 5 mM amonyom ferröz sülfat çözündürülerek reaktif hazırlanmaktadır.

Prensip: Örnek içerisinde bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyonuna oksitlemektedirler. Ortamda yer alan gliserol bu tepkimeyi hızlandırmakta ve yaklaşık olarak üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xylenol orange ile renkli bir kompleks oluşturmaktadırlar. Örnek içerisinde bulunan oksidanların miktarı ile ilgili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülür.

3.4.2. Lipid Hidroperoksidasyonu (LOOH)

LOOH tayini, Khelifa Arab ve Jean–Paul. Steghens'in tam otomatik yöntemiyle, xylenol orange ve demir oksidasyonunun kullanılmasıyla ölçüldü (80).

3.5. Antioksidan Parametrelerin Ölçümü

3.5.1. Total Antioksidan Kapasite (TAK)

Örneklerin total antioksidan kapasite (TAK) düzeyleri, Rel® assay ticari kitleri kullanılıp ölçüldü. Ölçme yöntemi şu şekildedir; örnek içerisindeki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS* katyonik radikalini redüklemesi sonucunda renkli radikalın antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonları ile orantılı olarak dekolorize olur. Kalibratör olarak ise E vitamininin suda çözünen bir analogu olan trolox kullanılmaktadır. Sonuçlar mmol Trolox Equivalent/L olarak ifade edilmiştir (81).

Reaktif 1: 75 mM Clark tamponu (pH=1.8) içerisinde 10 mM o-dianisidine ve 45 µmol (NH₄)₂ Fe(SO₄)₂·6H₂O çözülmesi ile hazırlanmıştır.

Reaktif 2: 75 mM Clark tamponu (pH=1.8) içerisinde 7,5 mM hidrojen peroksit karıştırılarak hazırlanmaktadır.

Prensip: Fe²⁺-o-dianisidine kompleksi hidrojen peroksit ile fenton tipi tepkime meydana getirerek OH- radikalini meydana getirir. Bu güçlü reaktif oksijen türü indirgenir ve düşük pH'da renksiz o-dianisidine molekülüyle tepkimeye girerek sarı-kahverengi dianisidyl radikallerini meydana getirmektedirler. Dianisidyl radikalleri ileri oksidasyon tepkimelerine katılır ve renk meydana gelmesini artırır. Fakat örnekler içerisinde bulunan antioksidanlar bu oksidasyon tepkimelerini bastırarak renk oluşumunu durdururlar.

3.5.2. Serüloplazmin düzeyi

Örneklerin Serüloplazmin enzim aktivitesi düzeyi Erel tarafından geliştirilen motoda göre ölçülmüştür (82).

3.5.3. Total Tiyol Ölçümü

Örneklerin içerdiği sülfidril gruplarının toplam miktarı olarak ölçüldü. Testin prensibi, -SH grubunun Ellman reaktifi 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoate) (DTNB) kullanılarak oluşan renkli ürünün absorbanasının 412 nm de ölçülmesi esasına dayanır (83). Kalibratör olarak GSH kullanıldı.

3.5.4. Paraoksonaz Enzim Aktivitesi Ölçümü

HDL-Kolesterole bağı lipofilik, hidrofobik yapılı antioksidan bir enzim olan paraoksonaz aktivitesi ticari Rel Assay marka kit kullanılarak ölçüldü. Yöntemde paraoksonaz enzimi paraoxon (O,O-diethyl-O-pnitrophenylphosphate), substratını hidroliz ederek renkli *p*-nitrophenol ürününün oluşmasına yol açar. Meydana gelen ürünün absorbansı 412 nm de kinetik modda izlenerek enzim aktivitesi U/L olarak ifade edilir (84). Bu enzim lökosit homojenatlarında bulunmaz, plazma örneklerinde ölçülmektedir.

3.5.5. Arilesteraz Aktivitesi Ölçümü

Antioksidan bir enzim olan paraoksonaz enziminin arilesteraz aktivitesi de ticari Rel Assay marka kit kullanılarak ölçüldü. Bu test, örneğin içerdiği enzim tarafından fenilasetat substratından enzimatik aktiviteyle açığa çıkarılan fenolün, kolorimetrik olarak ölçülmesi esasına dayanır (85). Sonuçlar enzim aktivitesi çok yüksek düzeylerde olduğu için kU/L olarak ifade edilir.

3.5.6. Oksidatif Stres İndeksi Ölçümü (OSİ)

Örneklerin oksidatif stres indeksi (OSİ), örneklerin toplam oksidan status (TOS) seviyelerinin, örneklerin toplam antioksidan status (TAS) oranına yüzdesi olarak belirtilir (203). Hesaplamadan önce TAS testinin birimindeki mmol degeri TOS testindeki gibi mikromol birimine çevrilir.

3.6. Enzyme Linked Immunosorbent Assay Testi (ELISA)

ELISA testi, Harran Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarında yapılmıştır. Çalışmada, PDGF VE PDGFR β araştırılması için ticari kompetatif ELISA (cELISA) kiti (Elabscience Human PDGFD ve Human PDGFR β ELISA Kit, Catalog No: E-EL-H0985) kullanılmıştır. ELISA testi, Elabscience kit prosedüründe belirtildiği gibi kullanılmıştır.

3.6.1. Reaktiflerin Hazırlanması

Reaktifleri kullanmadan evvel hasta kan serumları, test solüsyonları ve mikropleytlar oda sıcaklığına (18-26°C) gelmesi için derin dondurucu ve dolaplardan çıkarıldı. Kan serumlarının protokol numaraları daha öncesinden hazır hale getirildi ve veri kayıt formu üzerine yazıldı. ELISA için kullanılacak olan bütün test solüsyonları ve serumlar vorteksle karıştırıldı. Yıkama solüsyonunu hazırlamak için, yıkama konsantresi diye adlandırılan “Wash Concentrate “ distile su ile seyreltildi.

3.6.2. Mikropleytların Hazırlanması

8 adet standart hazırlanmıştır. Mikropleytların Standart kuyucuklarına 100 µl, numune kuyucuklarına ise numaralandırılmasına göre 100 µl dilüe edilmiş numune konulmuştur. Mikropleyt nazikçe karıştırıldıktan sonra, üzeri plate etiketiyle kapatılarak 37°C (±3°C) de 90 dakika (±5 dakika) inkübasyona bırakıldı. 90 dakikalık inkübasyondan sonra mikroplettekileri tamamen dökülür ve yıkama yapılmadan hızlı bir şekilde bütün kuyucuklara 100 µl biyotinlenmiş antikör konulmuştur. Üzeri plate etiketiyle kapatılarak 37°C (±3°C) de 60 dakika) inkübasyona bırakıldı.

3.6.3. Yıkama

Mikropleytların her bir kuyucuğu 350 µl yıkama solüsyonuyla 3 kez yıkanmıştır. Her yıkama sonrasında tüm kuyucukların içerisindeki yıkama solüsyonu kağıt havlu üzerine hızlı ve sert şekilde birkaç kez vurulmak suretiyle hepsinin içindeki yıkama solüsyonu boşaltıldı.

3.6.4. Konjugatın Eklenmesi ve İnkübasyonu

Mikropleytların her bir kuyucuğunun içine 100 µl konjugat (HRP Conjugate) eklenmiştir. Yine aynı şekilde mikropleytların üzeri plate etiketiyle kapatılarak 37°C (±3°C)'de 30 dakika (±5 dakika) inkübasyona bırakıldı.

3.6.5. Yıkama

Yıkama, kit prosedürüne uygun biçimde daha öncesinde yapıldığı şekilde 5 kez tekrar edilmiştir.

3.6.6. Substratın Eklenmesi ve İnkübasyonu

Mikropleytlerin her bir kuyucuğuna 90 µl substrat (TMB Substrate) eklenmiştir. 37°C (±3°C)'de 15 dakika (±1 dakika) karanlık ortamda inkübasyona bırakıldı.

3.6.7. Reaksiyonun Durdurulması

Mikropleytlerin her bir kuyucuğuna 50 µl stop solüsyonu (Stop Solution) düzgün ve hızlı şekilde eklenmiş ve renk tepkimesi durduruldu. Substrat solüsyonu eklendikten sonra mavi renk olan kuyucuklar stop solüsyonu eklenince hızlı bir şekilde sarı renge dönmüştür.

3.6.8. Okuma ve Sonuçların Hesaplanması

Stop solüsyonu eklendikten hemen sonra, mikropleyt boşaltılmadan 450 nm dalga boyunda ELISA Reader cihazında (mikrotiter plate okuyucusu) okutuldu VE elde edilen değerler Elabscience kit prosedüründe ifade edilen formülden yararlanılarak hesaplandı.

3.7. İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel analizler SPSS 20 istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Kolmogorow-smirnow testi ile dağılım incelendikten sonra dağılımı normal olan parametrelerin gruplar arası karşılaştırması Independent Sample T testi ile, dağılımı normal olmayan parametrelerin gruplar arası karşılaştırması Mann-Whitney U testiyle yapıldı. Parametrelerin birbirleri ile ilişkilerinin varlığı Pearson ve Sperman Korelasyon Testi ile araştırıldı. Parametrelerin hastalık varlığına etkileri Binary logistik regresyon analizi ile araştırıldı. P 0,05'ten küçük olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

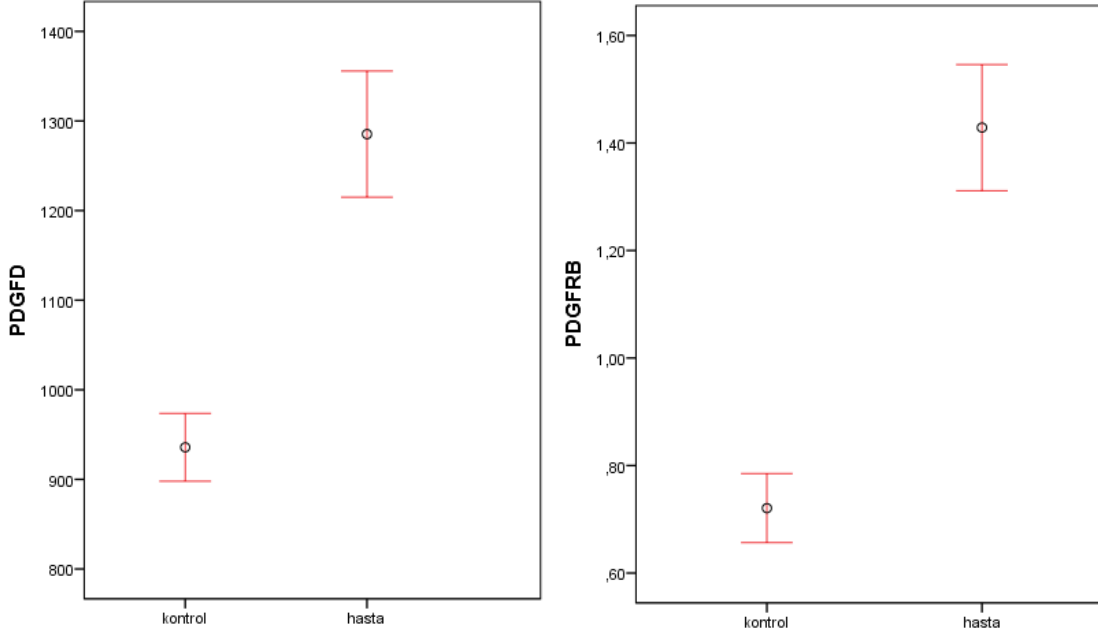
PDGFD, PDGFR β , SH, PON, AREST ve TAS'ın dağılımı normal, CP, TOS, LOOH ve OSI'nin dağılımı normal değildi.

Hasta ve kontrol grubuna ait PDGFD, PDGFR β ve oksidatif stres markerları tablo 2 ve grafiklerde gösterilmiştir. Hasta ve kontrol grubu PDGFD ve PDGFR β yönünden karşılaştırıldığında hasta grubunda her iki değer de anlamlı olarak yüksekti ($p<0,05$, Tablo 2, grafik 1).

Hem AREST ve hem de PON hasta grubunda anlamlı düzeyde düşüktü ($p<0,05$, Tablo 2, grafik 1). TAS hasta grubunda kontrol grubuna göre düşük, TOS ve OSI ise yüksekti ($p<0,05$, Tablo 2, grafik 1). CP ve LOOH hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek, SH ise düşüktü($p<0,05$, Tablo 2, grafik 1).

Tablo 2. Hasta ve kontrol grubuna ait PDGFD, PDGFR β ve oksidatif stres markerları

	Hasta N=44	Kontrol N=44	P değeri
PDGFD	1285 \pm 232	936 \pm 125	<0,001
PDGFR β	1,43 \pm 0,39	0,72 \pm 0,21	<0,001
SH	,33 \pm 0,07	,39 \pm 0,07	<0,001
PON	86,2 \pm 24,2	107,2 \pm 22,0	<0,001
AREST	97,0 \pm 21,7	119,15 \pm 19,6	<0,001
TAS	0,55 \pm 0,16	0,76 \pm 0,23	<0,001
TOS	5,9(4,02 \pm 10,91)	2,02(1,07-3,02)	<0,001
OSI	1,52(0,56-1,89)	0,32(0,09-1,61)	<0,001
CP	540(303-970)	250 (153-445)	<0,001
LOOH	4,51(3,03-5,83)	0,49(0,31 \pm 0,86)	<0,001



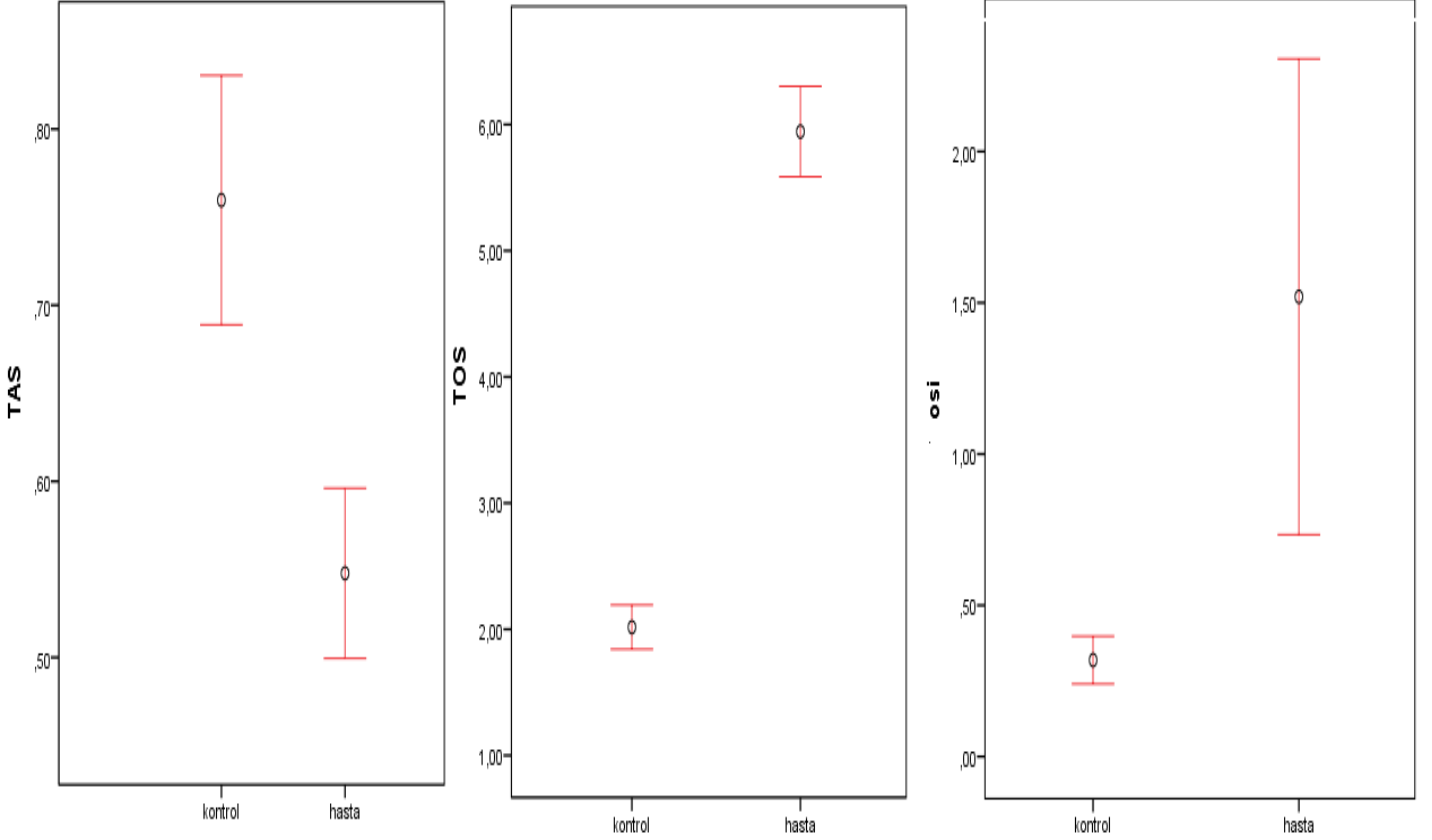
Grafik 1. Gruplar arasında PDGFD ve PDGFR β düzeyleri

Grafik 1’de görüldüğü gibi hasta ve kontrol grubu PDGFD ve PDGFR β yönünden karşılaştırıldığında hasta grubunda her iki değer de anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Lineer regresyon analizi sonuçları tablo 3 de sunulmuştur. Lineer korelasyon analizinde PDGFD PDGFR β , CP, LOOH TOS ve OSI ile pozitif diğer SH, PON, ARST, TAS ile negatif korele idi ($p < 0,05$). PDGFD PDGFR β , CP, LOOH TOS ve OSI ile pozitif diğer SH, PON, ARST, TAS ile negatif korele idi ($p < 0,05$). SH PON, AREST ve TAS ile pozitif diğer tüm parametreler ile negatif korele idi ($p < 0,05$). PON AREST ile pozitif diğer SH, PON, ARST, TAS ile negatif korele idi ($p < 0,05$). CP PDGFD PDGFR β , LOOH TOS ve OSI ile pozitif SH, PON, ARST, TAS ile negatif korele idi ($p < 0,05$). TAS CP, PDGFD PDGFR β ile pozitif diğer tüm parametreler ile negatif korele idi ($p < 0,05$). TOS ve OSI ise CP, PDGFD ve PDGFR β ile pozitif diğer tüm parametreler ile negatif korele idi ($p < 0,05$).

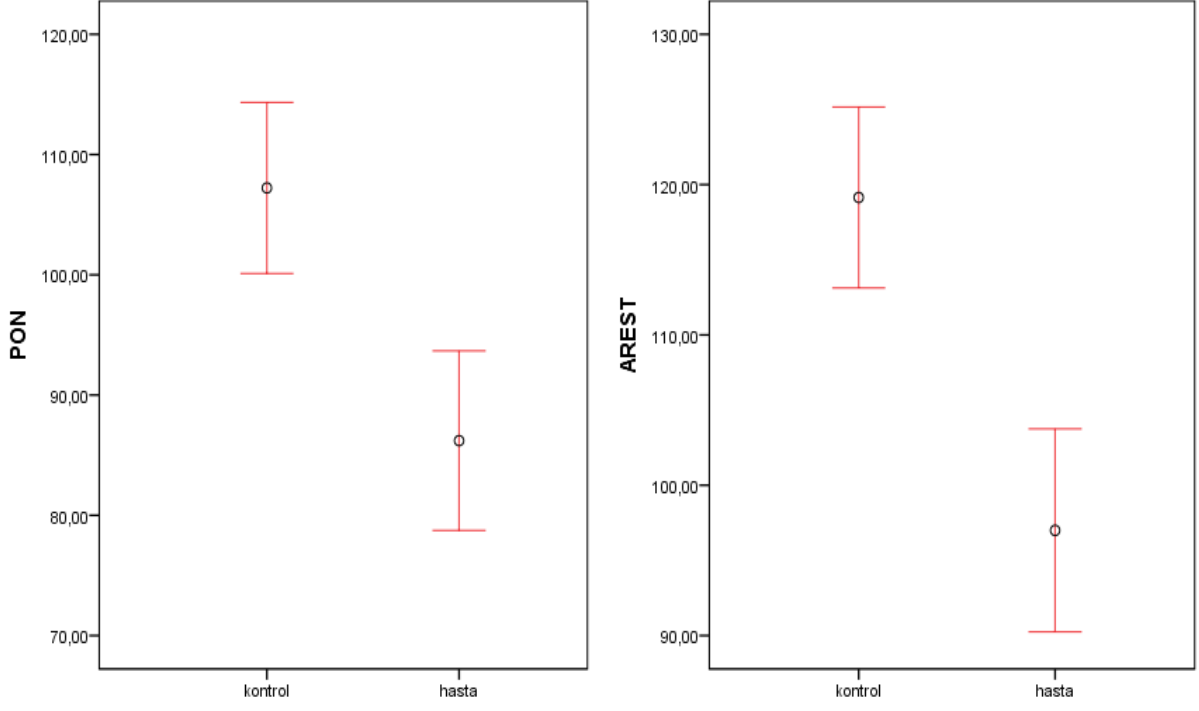
Tablo 3. PDGFD, PDGFR β 'nin oksidatif parametreler ile ilişkisi

		PDGFD	PDGFR β	SH	PON	AREST	CP	TAS	TOS	LOOH	OSI
PDGFR β	Pearson Correlation	0,601**									
	Sig. (2-tailed)	0,000									
SH	Pearson Correlation	-0,283	-0,342								
	Sig. (2-tailed)	0,009	0,001								
PON	Pearson Correlation	-0,222*	-0,364	0,306							
	Sig. (2-tailed)	0,045	0,001	0,006							
AREST	Pearson Correlation	-0,358	-0,412	0,258*	0,500						
	Sig. (2-tailed)	0,001	0,000	0,017	0,000						
CP	Correlation Coefficient	0,585	0,614	-0,476	-0,296	-0,377					
	Sig. (2-tailed)	0,000	0,000	0,000	0,007	0,000					
TAS	Pearson Correlation	-0,334	-0,286	0,181	0,153	0,145	-0,412				
	Sig. (2-tailed)	0,002	0,007	0,098	0,170	0,185	0,000				
TOS	Correlation Coefficient	0,616	0,604	-0,589	-0,346	-0,377	0,729	-0,435			
	Sig. (2-tailed)	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000			
LOOH	Correlation Coefficient	0,652	0,605	-0,482	-0,344	-0,433	0,775	-0,555	0,847		
	Sig. (2-tailed)	0,000	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000	0,000	0,000		
OSI	Correlation Coefficient	0,602	0,512	-0,529	-0,273	-0,322	0,658	-0,775	0,880	0,826	
	Sig. (2-tailed)	0,000	0,000	0,000	0,013	0,003	0,000	0,000	0,000	0,000	



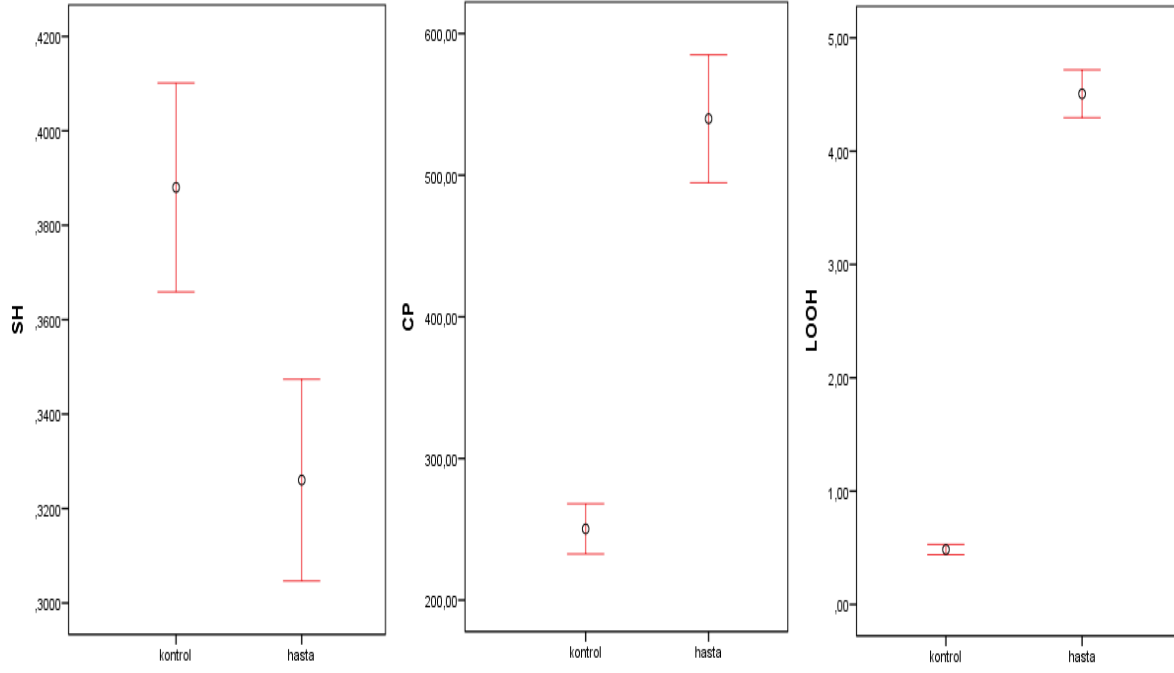
Grafik 2. Gruplar arasında TAS, TOS ve OSI değerleri

Grafik 2.'de grldği gibi TAS sonuçları hasta grubunda kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. TOS ve OSI sonuçları ise hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur.



Grafik 3. Gruplar arasında PON ve AREST düzeyleri

Grafik 3’de görüldüğü üzere hem AREST ve hem de PON değerleri hasta grubunda anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur.



Grafik 4. Gruplar arasında SH, CP ve LOOH düzeyleri

Grafik 4'te görüldüğü üzere CP ve LOOH değerleri hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek, SH ise düşük bulunmuştur.

Yapılan logistik regresyon analizinde univariate analizde anlamlı çıkan PDGFD, PDGFR β , CP, LOOH, SH, PON, AREST, TAS TOS ve OSI'de hiçbirisi TBC varlığını için bağımsız belirleyici değildi ($p>0,05$ ve Tablo 4).

Tablo 4. Hastalık varlığı PDGFD, PDGFR β , SH, PON, AREST, CP, TAS, TOS ve OSI ilişkisi

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
PDGFD	0,014	38,688	0,000	1	1,000	1,014
PDGFR β	15,395	12074,468	0,000	1	0,999	4852781,390
SH	22,308	54560,574	0,000	1	1,000	4876165935,978
PON	-0,160	236,496	0,000	1	0,999	0,852
AREST	0,118	204,144	0,000	1	1,000	1,125
CP	0,023	34,934	0,000	1	0,999	1,024
TAS	-14,070	15844,625	0,000	1	0,999	0,000
TOS	10,699	3592,348	0,000	1	0,998	44325,987
Constant	-76,321	60274,399	0,000	1	0,999	0,000

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Tüberküloz, Myobacterium Tuberculosis Complex olarak adlandırılan bir grup mikobakteri tarafından meydana gelen, enfekte dokularda, granülomların olması ile karakterize olan ve farklı klinik görünümlere sahip olan kronik nekrotizan bir bakteriyal enfeksiyon olarak tanımlanmaktadır(1). Tüberküloz tüm organlarda görülebilmesine rağmen, en sık etkilenen organ %80-90 oranında akciğerlerdir (2).

Tüberküloz, insanlığın en eski hastalıklarından bir tanesidir. Geçen uzun yıllar içerisinde hastalığın insidansında artış ve azalışlar olmuştur, ama halk sağlığına kalıcı bir tehdit olma özelliği sürekli devam edegelmiştir (4). Tüberkülozda en önemli gelişme ise 24 Mart 1882'de Robert Koch tarafından tüberküloz basilinin bulunmasıdır (5,7).

Solunum yoluyla vücuda giren mycobacterium tüberkülozisin enfeksiyonu başlatabilmesi için alveollere kadar ulaşabilmesi gerekmektedir. Alveollere kadar ulaşabilen mycobacterileri alveol makrofajları tutar. Mikobakteriler ya makrofajlar tarafından tutularak tahrip edilir ya da makrofajlar içerisinde çoğalarak bu makrofajı öldürürler.

Mononükleer makrofajlar büyük oval, soluk stoplazmalı epitelooid hücrelere dönüşürler. Epitelooid hücreler tüberküloz için spesifik doku reaksiyonu oluşturan ve hastalığın tüberküloz olarak isimlendirilmesine sebep olan "tüberkül"leri meydana getirirler. Eğer oluşan tüberkül çok küçük ise tam iyileşme mümkün olabilir. Tüberküller sık olarak da fibröz değişime uğrarlar ve damarsız bir skar dokusu haline geçerler (26).

Tüberkülozda makrofajlar hedef hücrelerdir. Mikobakteriler makrofajlar içerisinde çoğalırlar ve tüberkülleri oluştururlar. Ana kaynağı trombositlerin α granülleri olan PDGF aynı zamanda makrofajlar tarafından da üretilmektedir (28). . PDGF ailesi, PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB, PDGF-CC ve PDGF-DD olmak üzere disülfit bağı ile bağlı 5 üyeden oluşur. PDGF hedef hücrenin büyümesini uyarır ve kemotaksisi etkiler. PDGF embriyonel gelişim esnasında bazı organlar için önemli fonksiyonlara sahip olmasının yanı sıra yara iyileşmesinin uyarılmasına ve bağ doku homeostazına da etki eder (29).

PDGF-D geni 11. kromozom üzerinde bulunur (37). PDGF-D ovaryum, kalp, ve pankreas dokularında yüksek değerlerde gözlemlenmiştir (33). İnsan PDGFR- β geni, 5. Kromozomun üzerinde yer almaktadır (38). Bu reseptör yalnızca PDGF-BB ve PDGF-DD' yi bağlamakta ve aktif hale geçmelerini sağlamaktadır (33). Bu yüzden biz de çalışmamızda PDGF-D'nin reseptörü olan PDGFR β 'yi çalışmaya karar verdik.

Tüberküloz hastalarının alveolar makrofajlarında PDGF-B molekülünün mRNA sentezinin indüklendiği ve PDGF-B molekülünde büyük bir artış olduğu bulunmuştur (27). Biz de tüberküloz hastalarında PDGF-D ve onun reseptörü olan PDGFR β seviyelerinde anlamlı bir artış var mı şeklinde bir araştırma yapmayı amaçladık.

Yaptığımız ELISA testlerinin sonuçlarına bakıldığında hasta ve kontrol grubu PDGFD ve PDGFR β yönünden karşılaştırıldığında PDGFD ve PDGFR β değerleri hasta grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Akciğer oksidanlardan en çok etkilenen organdır çünkü hava kirliliğinden ve kandan kaynaklanan oksidanların etkisinde bulunmaktadır. Ayrıca vücudumuzda oksijenle en çok karşılaşan organ akciğerdir. Ayrıca tüberkülozda fagositoz sırasında savunma hattındaki makrofajlar tarafından bol miktarda reaktif oksijen radikalleri üretilebilmektedir (90). Yapılan bir çalışmada aktif tüberküloz hastalarında reaktif oksijen türleri (ROS) sağlıklı bireylere göre anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur. (91) Yapılan başka bir çalışmada akciğer tüberkülozlu çocuk hastalarda serum paraoksanaz ve TAS değerleri kontrollere göre düşük bulunmuş ve TOS değerleri ise yüksek bulunmuştur. (92)

Bu bilgilere dayanarak biz de tüberküloz hastalarındaki oksidatif stres durumunu incelemek üzere hastalardan aldığımız kan serumlarında oksidatif parametreleri inceledik. İncelediğimiz oksidatif parametreler; Total Oksidant Seviye (TOS), Lipid Hidroperoksidasyonu (LOOH), Total Antioksidan Seviyesi (TAS,) Serüloplazmin(CP), Total Tiyol (SH), . Paraoksonaz Enzim Aktivitesi (PON), Arilesteraz Aktivitesi (AREST), Oksidatif Stres İndeksi Ölçümü (OSI) idi.

Yaptığımız testler sonucunda TAS sonuçları hasta grubunda kontrol grubuna göre düşük bulundu. TOS ve OSI sonuçları ise hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulundu. Hem AREST ve hem de PON değerleri hasta grubunda anlamlı seviyede düşük bulunmuştur. CP ve LOOH değerleri hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek, SH ise düşük bulundu.

Ayrıca çalıştığımız tüm testler arasındaki korelasyona baktığımızda, Lineer korelasyon analizinde PDGFD PDGFR β , CP, LOOH TOS ve OSI ile pozitif diğer SH, PON, ARST, TAS ile negatif korele olarak bulunmuştur PDGFD PDGFR β , CP, LOOH TOS ve OSI ile pozitif, diğer SH, PON, ARST, TAS ile negatif korele olarak bulunmuştur. SH PON, AREST ve TAS ile pozitif, diğer tüm parametreler ile negatif korele olarak bulunmuştur. PON AREST ile pozitif, diğer SH, PON, ARST, TAS ile negatif korele olarak bulunmuştur. CP PDGFD

PDGFR β , LOOH TOS ve OSI ile pozitif SH, PON, ARST, TAS ile negatif korele olarak bulunmuştur . TAS CP, PDGFD PDGFR β ile pozitif diğer tüm parametreler ile negatif korele olarak bulunmuştur. TOS ve OSI ise CP, PDGFD ve PDGFR β ile pozitif diğer tüm parametreler ile negatif korele olarak bulunmuştur. Yapılan logistik regresyon analizinde univariate analizde anlamlı çıkan PDGFD, PDGFR β , CP, LOOH, SH, PON, AREST, TAS TOS ve OSI'de hiçbiri TBC varlığını için bağımsız belirleyici değildi .

Tüberküloz hastalarında PDGF-D ve PDGFR β 'nın birlikte incelendiği bu çalışmada iki parametrenin de birlikte arttığı yapılan testlerde görülmüştür. Ayrıca oksidatif parametrelerden oksidan parametrelerin hasta grubunda yüksek, kontrol grubunda ise düşük olduğu bulunmuştur.



6. KAYNAKLAR

1. Özkara Ş, Aktaş Z, Özkan S, Ecevit H. Türkiye’de Tüberkülozun Kontrolü için Başvuru Kitabı. T.C Sağlık Bakanlığı Verem Savaş Daire Başkanlığı Yayını, Ankara. (2003).
2. Özkara Ş, Arpaz S, Özkan S, Aktaş Z, Örsel O, Ecevit H. Tüberküloz tedavisinde doğrudan Gözetimli Tedavi (DGT). *Solunum Hastalıkları*, (2003). 14: 150-157.
3. Crofton SC, Horne N, Miller F. Klinik Tüberküloz. 2.Baskı, Çevirenler: Koçyiğit E, Dağlı E, Yüce Yayınları A.Ş, İstanbul. (2002).
4. Kılıçaslan Z. Dünyada ve Türkiye’de tüberküloz. *Ankem Dergisi*, (2007). 21(2):76-80.
5. Barış Yİ. Dünyada tüberkülozun tarihi. *Konuralp Tıp Dergisi*, (2010). 3(2):14.
6. Kılıçaslan Z. Tüberküloz Epidemiyolojisi ve Dünyada Tüberküloz. İçinde: Tüberküloz. Eds: Bilgiç H, Kadaj M, Türk Toraks Derneği, Aves Yayıncılık, İstanbul, (2010). s.25-35.
7. Özyardımcı N. Tüberkülozun Tarihçesi ve Epidemiyolojisi. İçinde: Akciğer ve Akciğer Dışı Organ Tüberkülozu. Uludağ Üniversitesi Basımevi, Bursa. (2008).
8. Öngen HG. Akciğer Tüberkülozu Epidemiyoloji. İçinde: Göğüs Hastalıkları Ders Kitabı. Ed: Umut S. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul, (2008). s.205-227.
9. Ailinger RL, Moore JB, Nguyen N, Lasus H. Adherence to latent tuberculosis infection therapy among latino immigrants. *Public Health Nurs.* (2006). 23(4):307-13.
10. Yüce A. Ülkemizde Tüberkülozun Durumu. *Klinik Dergisi*, (2005). 18(1):3-5.
11. Yıldırım Y, Balbay Ö. Tüberküloz ve yoksullukla ilişkisi. *Sted*, (2003). 12(1): 32-34
12. Halilçolar H. Tüberkülozda Tedavi Sorunları. İçinde: Akciğer Günleri 25. Yıl Kongresi. Ed: Özyardımcı N, Bursa, (2000). s.95-97.
13. Bozkurt H. Başkandan. *Türkiye’de Verem Savaşı Dergisi*, (2011). 2(2), s1-4.
14. Bozkurt H. Türkiye’de Verem Savaşı 2010 Raporu, Ankara (2010).
15. Kara B. Tüberküloz Kontrolünde Başlıca Sorunlardan Biri: Tedaviye Uyum. *Tav Preventive Medicine Bulletin*, (2009). 8(1):75-82.

16. Bilgiç H. Türkiye’de Tüberkülozun Durumu ve Eredikasyon (kontrol) Programı, 21. yy Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Tanı Yöntemleri Kursu, 19 Mayıs Üniversitesi. Samsun. (2003).
17. Özyardımcı N, Çalışkan F, Erdoğan B. Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Özet Kitabı. Bursa, (2002). s.77-126.
18. Umut S, Yıldırım N. Göğüs Hastalıkları Cilt 1. İçinde: Tüberküloz. Editör Erk M, İstanbul Üniversitesi, (2001). s.486-545
19. Kılıçaslan Z. Tüberkülozda Bulaşma Patogenez ve Tanı. *I. Kış Okulu. Toraks Dergisi*. [Elektronik Dergi], <http://www.toraks.org.tr> Ulaşım Tarihi 28/12/2011. (2002).
20. Öğretensoy M. Tüberkülozda Bulaşma. İçinde: Tüberküloz. Eds; Özkara Ş, Kılıçaslan Z. Türk Toraks Kitapları. Sayı 11. Aves Yayıncılık. (2010). s.62-65.
21. Oğuz Avkan V. Tüberküloz basinin bulaş yolları ve konaktaki seyri. 21. yy’da tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Labratuar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun, (2003). s.48-58.
22. American Thoracic Society and the Centers for Disease Control and Prevention Diagnostic standards and classification o tuberculosis in adults and children. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, (2000) 161, f 1376-1395.
23. Bates JH. Pulmonary and Critical Care Medicine. İn: Tuberkulosıs. Eds: Campbell GD, Payne DK. Lıpincott Williams &Wilkıns. (2001). s.15-17
24. Iseman MD. Klinisyenler İçin Tüberküloz Kılavuzu. Çeviren: Özkara Ş, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul. (2002).
25. Karlıkaya C. Tüberküloz enfeksiyonu- bulaşı. *Türkiye’de Verem Savaşı Dergisi*. (2011). 2(3):45-46
26. Öner Eyüpoğlu F. Tüberküloz Patogenezi. İçinde: Tüberküloz. Eds; Özkara Ş, Kılıçaslan Z. Türk Toraks Kitapları. Sayı 11. Aves Yayıncılık. (2010). s.66-71.
27. A. Wangoo, I. K. Taylor, A. R. Haynes & R. J. “Shaw Up-regulation of alveolar macrophage platelet-derived growth factor-B (PDGF-B) mRNA by interferon-gamma from Mycobacterium tuberculosis antigen (PPD)-stimulated lymphocytes” *Clin Exp Immunol* 1993; 94:43-50 29 April 1993

28. Heldin, C. H., Westermark, B., "Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor", *Physiol. Rev.*, (1999). 79(4): 1283-1316
29. Heldin, C. H., "Platelet-derived growth factor", *Encyclopedia of Hormones*, 231-237 (2003).
30. Bonthron, D. T., Morton, C. C., Orkin, S., Collins, T., "Platelet-Derived Growth Factor A Chain: Gene Structure, Chromosomal Location, and Basis for Alternative mRNA Splicing", *P. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 85(5): 1492-1496 (1988).
31. Internet: From character to personality. Recombinant Human Platelet-Derived Growth Factor-BB. Creative BioMart. URL:http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.creativebiomart.net%2Fdescription_3514_12.htm&date=2015-08-13.
32. Lee C., Zhang, F., Tang, Z., Liu, Y. and Li, X. PDGF-C: a new performer in the neurovascular interplay, *Trends in Molecular Medicine*, 19(8), 474-486. (2013).
33. Fredriksson, L., Li, H., Eriksson, U., "The PDGF family: four gene products form five dimeric isoforms", *Cytokine Growth F. R.*, 15(4): 197-204 (2004).
34. Dalla-Favera, R., Gallo, R. C., Giallongo, A., Croce, C. M., "Chromosomal localization of the human homolog (c-sis) of the simian sarcoma virus onc gene", *Science*, 218(4573): 686-688 (1982).
35. Doolittle, R., Hunkapiller, M., Hood, L., Devare, S., Robbins, K., Aaronson, S., Antoniades, H., "Simian sarcoma virus onc gene, v-sis, is derived from the gene (or genes) encoding a platelet-derived growth factor", *Science*, 221(4607): 275-277 (1983).
36. Waterfield, M., Scrace, G., Whittle, N., Stroobant, P., Johnsson, A., Wasteson, A., Westermark, B., Heldin, C., Huang, J., Deuel, T., "Platelet-derived growth factor is structurally related to the putative transforming protein p28sis of simian sarcoma virus", *Nature*, 304(5921): 35-39 (1983).
37. Uutela, M., Lauren, J., Bergsten, E., Li, X., Horelli-Kuitunen, N., Ericsson, U., "Chromosomal Location, Exon Structure and Vascular Expression Patterns of the Human PDGF-C and PDGF-D Genes", *Circulation*, 103(18): 2242-2247 (2001).
38. Yarden, Y., Escobedo, J., Kuang, W., Yang-feng, T., Daniel, T., Tremble, P., Chen, E., Ando, M., Harkins, R., Francke, U., "Structure of the Receptor for Platelet-Derived Growth Factor Helps Define a Family of Closely Related Growth Factor Receptor", *Nature*, 323(6085): 226-232 (1986).

39. Aslan, D., "Hücre Döngüsü, Büyümesi ve Proliferasyonu, Onkogenler", Ğnsan Biyokimyası, Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E. Y., *Palme Yayıncılık*, Ankara, 691-699 (2006).
40. İnternet: Biocarta, "PDGF Signaling Pathway", http://www.biocarta.com/pathfiles/h_pdgfPathway.asp (01.05.2012).
41. Kavas GÖ. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri, *Türkiye Klin. Dergisi*, 1989; 9, 1, 1-8.
42. Thomas MJ. The role of free radicals and antioxidants: How do we know that they are working?, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1995;35, 21-29.
43. Karafakoğlu YS. Tütün çalışanlarında oksidan - antioksidan durum. *The Medical Journal of Kocatepe*. 2004; 5: 7-10.
44. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.*, 1982;4: 412-426.
45. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am. J. Surg.*1991; 161: 488-503.
46. Aslan R, Sekeroğlu MR, Bayıroğlu F, Gültekin F. Blood lipoperoxidation and antioxidant enzymes in healthy individuals: relation to age, sex, exercise, air pollution and life habits. *J. Environ. Sci. Health*, 1997; 32: 2101-2109.
47. Bagasa HS. Biochemical aspects of free radicals. *Biochem et Biophysica Acta*, 1990; 1047: 255-263.
48. Hinder RA, Stein HJ. Oxygen-derived free radicals. *Arch. Surg.* 1991; 126: 104-108.
49. Kargın F, Fidancı U R. Serbest oksijen radikalleri ve oksidatif hasar. *Türk Vet. Hek. Derg.*1997; 9: (2) 26-28.
50. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, 1. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya., 1995
51. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry, *Br. Med. Bull.*1993; 49, 3, 481-493.
52. Halliwell B. Free radicals and metal ions in health and disease. *Proc. Nutr. Soc.* Feb., 1987; 46(1):13-26.

53. Fortone JC, Word PA. Role of Oxygen-derived free radicals and metabolites in leucocyte dependent inflammatory reaction, *Am. J. Pathol.*, 1982; 107, 3, 397- 413.
54. Kalyanamaran B, Perez E, Mason R P. Spin trapping and direct electron spin resonance investigations of the redox metabolism of quinone anti-cancer drugs. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1980; 630: 119-120.
55. Slater T F. Free radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J.*, 1984; 222: 1-15.
56. Janoff A, Pryor WA, Bengali ZH. Effect of tobacco smoke components on cellular and biochemical process in the lung. *Am. Rev. Respir. Dis*, 1987.; 136(4):1058-64.
57. Heffner JE, Repine JE. Pulmonary strategies of antioxidant defense. *Am. Rev. Respir. Dis*, 1989.; 140: 531-554.
58. Rahman I, Macnee W. Oxidant / antioxidant imbalance in smokers and chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*, 1996; 51: 348-350.
59. Norton ID, Apte MY, Lux O, Haber PS. Chronic ethanol administration causes oxidative stress in the rat pancreas. *J. Lab. Clin. Med.*, 1998; 131: 442- 446.
60. Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie. Pesticides and oxidative stress: a review. *Med. Sci. Monit.*, 2004; 10: 141-147.
61. Wang, L.H., Wu, S.H., Hou, L.A., Ma, H., Tsai, L.Y. Superoxide anion radical, lipid peroxides and antioxidant status in the blood of patients with breast cancer. *Clinica Chimica Acta*, 2005; 25:175-181
62. Stahl, M., Bouw, R., Jackson, A., Pay, V. Human. Microdialysis. *Curr Pharm Biotechnol*, 2002;3(2): 165-78. Review. Stampfer, Mj., Osborn.
63. Meister A. Glutathione Ascorbate and cell cycle regulation *FEBS letters*. 1994: 1-4.
64. Southorn P, Powis G. Free radical in medicine I. Chemical nature and biological reactions. *J. Mayo Clin. Proc.* 1988; 63 (3): 381 - 8.
65. Karabulut Bay A. Hepatit B'li hastalarda eritrosit ve lenfosit antioksidan enzimler, nitrik oksit düzeyleri ve plazma stokinleri. Doktora Tezi, Malatya. 2001
66. Halliwell B., Packer L., Cadenas E. *Handbook of Antioxidants*. Taylor and Francis Groups. 2002; 9-10.
67. Tanırgan G., Koldaş M., Uras F. Serbest radikaller: An introduction to free radical biochemistry. *Haseki Tıp Bülteni.*, 1994; 32(4):304-308.
68. Kılınç K., Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Temel Tıptan Kliniği. Hacettepe Tıp Derg.*, 2002; 33(2):110-118.

69. Farber JL. Mechanisms of cell injury by activated oxygen species. *Environ Health Perspect*, 1994; 102(10):17-24.
70. Jialal, I., and Fuller, C. J., Oxidized LDL and Antioxidants. *Clin Cardiol. Apr*; 1993;16(4 Suppl 1):16-19.
71. Yanbeyi, S., Aspirin ve Antioksidant Buthylated Hydroxyanisole'ün Tavsanlarda Eritrosit Total Katalaz, Süperoksit Dismutaz ve Glutasyon Peroksidaz Aktiviteleri Üzerine Etkileri. Ondokuz Mayıs Üni. Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Samsun, 1999; 88s
72. Dizdaroğlu M. Chemical Determination of Free Radical-Induced Damage to DNA. *J Free Radical Biology & Medicine*. 1993; 61(3): 225-242.
73. Fırat, S., Kobaylarda Radyasyonla Olusan Akciğer Hasarında Doku Glutasyon , Glutasyon Peroksidaz, Glutasyon- S-Transferaz Düzeyleri ve NAsetil Sistein'in Bu Sistem Üzerindeki Etkisi. Gazi Üni. Tıp Fak. Biyokimya A.B.Dalı, Uzm.Tezi, Ankara, 1997; 95s.
74. Uysal, M., Serbest Radikaller, Lipid Peroksitleri ve Organizmada Prooksidan-Antioksidan Dengeyi Etkileyen Koşullar. *Klinik Gelişim II*, 1998; 336-341.
75. Wheeler, C. R., and Salzman, J. A., Automated Assays for Superoxide Dismutase, Catalase, Glutathione Peroxidase and Glutathione Reductase Activity. *Analytical Biochemistry.*, 1990; 184:193-199
76. Tappel AL, Dillard JC. *İn vivo* lipid peroxidation measurement via exhaled pentane and protection by vitamin E. *J. Federation proceedings* 1981; 40(3):174-8.
77. Halliwell B., Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, significance. *Am J Clin Nutr.*, 1993; 57:715-25.
78. Moncada S, Palmer RMJ, Higs EA. Nitric oxide. Physiology, patophysiology, and pharmacology. *J. Pharmacol Review* 1991; 43(29): 109-37.
79. Lancaster J. Nitric oxide, principles and and actions. Copyright by Academic Press. Inc. California/USA. 1990.
80. Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthase in mammals. *J. Biochem.* 1994; 298(12):249-58.
81. Marletta MA. Nitric oxide synthase structure and mechanism. *J. Biol. Chem.* 1993; 268(7):123-5.
82. Myatt L, Rosenfield RB, Eis ALW. Nitrotyrosine residues in placenta: Evidence of peroxinitrite formation and action. *J. Hypertension* 1996; 28(21): 488-93.

83. 162. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005;38(12):1103-11
84. Yigit A, Yurdakök M. Yeni doğanlarda serbest radikallere bağlı hastalıklar. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi.* 1997;39:749-765.
85. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry.* 2004; 37:277 – 285
86. Erel O. Automated measurement of serum ferroxidase activity. *Clin Chem* 1998; 44(11): 2313– 9.
87. Hu ML, Louie S, Cross CE, Motchnik P, Halliwell B. Antioxidant protection against hydrochlorous acid in human plasma. *J Lab Clin Med,* 1993; 121:257-62.
88. Eckerson HW, Wyte MC, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet,* 1983; 35:1126–38.
89. Haagen L, Brock A. A new automated method for phenotyping arylesterase (E.C.3.1.1.2.) based upon inhibition of enzymatic hydrolysis of 4-nitrophenyl acetate by phenyl acetate. *Eur J Clin Chem Clin Biochem,* 1992; 30:391–5.
90. H. Ohshima, M. Tatemichi, T. Sawa Chemical basis of inflammation- induced carcinogenesis, *Arch. Biochem. Biophys.* 417;2003:267-272
91. Ceylan E¹, Gülsün A, Gencer M, Aksoy N. A new parameter in the detection of tuberculosis activity: reactive oxygen metabolites. 2005 Mar-Apr;72(2):156-9.
92. Torun E¹, Gedik AH, Cakir E, Umutoglu T, Gok O, Kilic U. Serum paraoxonase 1 activity and oxidative stress in pediatric patients with pulmonary tuberculosis. *Med Princ Pract.* 2014;23(5):426-31. doi: 10.1159/000363700. Epub 2014 Jul 16.

HASTA BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

ÇALIŞMANIN BAŞLIĞI: Tüberküloz hastalarında PDGF ve PDGF reseptör seviyesi ile oksidan - antioksidan parametreler arasındaki korelasyonun değerlendirilmesi

HASTA ADI: _____

Araştırmacı tarafından bana tüberküloz hastalarında PDGF-D ve PDGFR β ve oksidan-antioksidan parametreler arasındaki korelasyonun değerlendirilmesi amacıyla bir çalışma yapılmasının planlandığı bana söylendi.

Çalışmanın Etik Kurul Onayını müteakiben başlanacağı ve ortalama 6 ayda bitirileceği bana söylendi.

Bu çalışma için benden 10 cc. Toplardamar kanı alınacağı, kanın şekilsiz kısmının ayrılarak serum elde edileceği, bunun -80°C'de saklanacağı ve çalışmanın bu serumlardan yapılacağı tarafıma söylendi.

Bu işlem için alınacak kan sırasında kan alınan bölgede ağrı, şişlik, cilt altına ve dışarı kanama olabileceği bana söylendi.

Çalışmanın yürütülmesi, olası yan etkiler veya bir hasta olarak haklarım konusunda kafamda sorular belirlediğinde aşağıda belirtilen kişiyle bağlantı kurmam yeterli olacaktır: Dr. Hatice SEZEN : 0505 572 62 48

Bu çalışmanın sonuçları toplanır veya bilimsel yayınlarda sunulabilir, ancak bu durumda kimliğim kesin olarak gizli tutulacaktır.

Bu çalışmaya katıldığım için zarar görürsem, ihtiyaç duyacağım tıbbi bakım, sorumlu doktor ve bu hastane tarafından yerine getirilecektir. Masraflarım Dr. Hatice SEZEN tarafından karşılanacaktır. Bu formu imzalayarak yasal haklarımın hiçbirinden vazgeçmediğimin bilincindeyim.

Bu olur formunu imzalamadan önce yukarıdaki bilgileri kendi ana dilimde okudum veya bana okunmasını sağladım. Bu bilgilerin içeriği ve anlamı bana açıklandı. Bana aklıma gelen bütün soruları sorma fırsatı tanındı ve sorularına tatminkâr cevaplar aldım. Bu çalışmaya katılmadığım ya da katıldıktan sonra vazgeçtiğim takdirde hiçbir yasal hakkımdan vazgeçmiş olmayacağım. Bu çalışmada yer almayı gönüllü olarak kabul ediyorum.

Bu bildirimli olur sözleşmesinin imzalı bir nüshasını aldım.

Hastanın Adı-İmzası
(Veli veya vasisinin)

Tarih

Sorumlu Doktorun Adı-İmzası

Tarih

Tanığın Adı-İmzası

Tarih

HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
Etik Kurul Kararı

TARİH : 01.04.2016
OTURUM : 03
SAAT : 14:30

16/03/10

Karar: Üniversitemiz Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç.Dr. Hatice SEZEN'in sorumlu araştırmacı olduğu "Tüberküloz Hastalarında PDGF ve PDGF Reseptör Seviyesi ile Oksidan-Antioksidan Parametreler Arasındaki Korelasyonun Değerlendirilmesi" başlıklı çalışmaya Etik Kurulu Onayı verilmesine,

Oybirliğiyle / Oyçokluğuyla karar verilmiştir.

ASLI GİBİDİR

Prof. Dr. Nurten AKSOY
Etik Kurul Başkanı