

T.C
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

SÜLEYMANŞAH KONAKLAMA TESİSLERİNDE
LEİSHMANİAZİS (ŞARK ÇIBANI) OLAN ÇOCUK
HASTALARDA ADENOSİN DEAMİNAZ (ADA) VE
OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNİN
ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Hülya YILDIRIM

DANIŞMAN
Prof. Dr. Nurten AKSOY

ŞANLIURFA
2016

T.C
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

SÜLEYMANŞAH KONAKLAMA TESİSLERİNDE
LEİSHMANİAZİS (ŞARK ÇIBANI) OLAN ÇOCUK
HASTALARDA ADENOSİN DEAMİNAZ (ADA) VE
OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNİN
ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Hülya YILDIRIM

DANIŞMAN
Prof. Dr. Nurten AKSOY

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından
14100 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA
2016

HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Hülya YILDIRIM'ın hazırladığı "Süleymanşah Konaklama Tesislerinde Leishmaniazis (Şark
Çıbanı) Olan Çocuk Hastalarda Adenozin Deaminaz (ADA) ve Oksidatif Stres
Parametrelerinin Araştırılması" konulu çalışma 19/07/2016 jüri üyeleri tarafından
değerlendirilerek **Tıbbi Biyokimya** Anabilim Dalında **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak
kabul edilmiştir.

BAŞKAN

Prof. Dr. Nurten AKSOY (Danışman)

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi

Biyokimya Anabilim Dalı

ÜYE

Prof. Dr. Seyithan TAYŞI
Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi

Biyokimya Anabilim Dalı

ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Hatice SEZEN
Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi

Biyokimya Anabilim Dalı

16.08/2016

ONAY

Prof. Dr. Mustafa DENİZ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince her türlü konuda desteğini esirgemeyen, bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, hoşgörü ve sabırla beni her konuda destekleyen tez danışmanım sayın Prof. Dr. Nurten AKSOY' a,

Tez çalışmama bilgi ve birikimleri ile katkıda bulunan değerli Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine, Asistanlarına ve Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı çalışanlarına,

Çalışma kanlarının toplanması aşamasındaki yardımlarını esirgemeyen; Akçakale Toplum Sağlığı Merkezi, Halk Sağlığı Müdürlüğü Bulaşıcı Hastalıklar Kontrol Programları Şubesi ve Şark Çıbanı Tanı ve Tedavi Birimi çalışanlarına,

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan, bana her konuda destek veren güzel AİLEM' e sonsuz teşekkür ederim.

Hülya YILDIRIM

İÇİNDEKİLER

SAYFA NO

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİL LİSTESİ	v
TABLO LİSTESİ	vi
KISALTMALAR	vii
ÖZET	ix
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Leishmania	3
2.1.1. Tarihçe	3
2.1.2. Morfoloji	3
2.1.2.1. Amastigot (Hücre İçi)	3
2.1.2.2. Promastigot (Hücre Dışı)	4
2.1.3. Epidemiyoloji	5
2.1.4. Yaşam Döngüsü	6
2.1.5. Vektörleri	7
2.1.6. Klinik Şekilleri	8
2.1.6.1. Kutanöz Leishmaniasis (KL)	8
2.1.6.2. Visseral Leishmaniasis (VL) (Kala-Azar)	9
2.1.6.3. Mukokutanöz Leishmaniasis (MKL)	10
2.1.7. Tanı	10
2.1.8. Tedavi	11

2.2. Adenozin Deaminaz (ADA)	12
2.3. Oksidatif Stres	13
2.3.1. Serbest Radikaller	13
2.3.1.1. Süperoksit Radikali (O_2^-)	14
2.3.1.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	15
2.3.1.3. Hidroksil Radikali (HO^-)	15
2.3.1.4. Serbest Oksijen Radikallerinin Yol Açtığı Hücresel Hasarlar	16
2.3.1.4.1. Membran Lipidlerine Etkisi (Lipid Peroksidasyonu)	16
2.3.1.4.2. Proteinlere Etkisi	16
2.3.1.4.3. Nükleik Asitlere Etkileri	17
2.3.1.4.4. Karbonhidratlara Etkileri	17
2.3.2. Antioksidan Mekanizmalar	17
2.3.2.1. Enzim Olan Antioksidanlar	18
2.3.2.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	18
2.3.2.1.2. Katalaz (CAT)	18
2.3.2.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)	19
2.3.2.1.4. Glutasyon -S- Transferaz (GST)	19
2.3.2.1.5. Glutasyon Redüktaz (GSH-Rd)	20
2.3.2.1.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz	20
2.3.2.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar	20
2.3.2.2.1. Glutasyon (GSH)	20
2.3.2.2.2. Vitamin C (Askorbik Asit)	20

2.3.2.2.3. Vitamin E (Tokoferol)	21
2.3.2.2.4. Seruloplazmin	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1.Çalışma Gruplarının Oluşturulması	22
3.1.1. Hasta Grubu	22
3.1.2. Kontrol Grubu	22
3.1.3. Kan Örnekleri	22
3.2. Serum/Plazma ADA Aktivitesinin Ölçümü	22
3.3. Total Oksidan Seviye (TOS) Ölçümü	23
3.4. Total Antioksidan Seviye (TAS) Ölçümü	23
3.5. Oksidatif Stres İndeksi (OSI) Hesaplanması	24
4. BULGULAR	25
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇ	32
7. KAYNAKLAR	33

ŞEKİL LİSTESİ

SAYFA NO

Şekil 1: Leishmania parazitinin amastigot formu	4
Şekil 2: Leishmania parazitinin promastigot formu	5
Şekil 3: Leishmania etkeni taşıyan dişi tatarcık sineği	6
Şekil 4: Leishmania'nın yaşam döngüsü	7
Şekil 5: Hasta ve Kontrol gruplarının Serum örneklerinde Adenozin Deaminaz Enzimi arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları	26
Şekil 6: Hasta ve Kontrol gruplarının serum örneklerinde Toplam Oksidan Seviye arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları	27
Şekil 7: Hasta ve Kontrol gruplarının serum örneklerinde Toplam Antioksidan Seviye arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları	27
Şekil 8: Hasta ve Kontrol gruplarının Serum örneklerinde Oksidatif Stres İndeksi arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları	28

TABLO LİSTESİ

SIRA NO

Tablo 1: Radikal ve Radikal olmayan oksijen türevi bileşikler

15

Tablo 2: Hasta ve Kontrol grupları arasındaki Oksidatif Stres ve ADA Enzimi
Düzeyleri

28



KISALTMALAR

L	: Leishmaniasis
µm	: Mikrometre
ADA	: Adenozin Deaminaz
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
KL	: Kutanöz Leishmaniasis
VL	: Visseral Leishmaniasis
MKL	: Mukokutanöz Leishmaniasis
LDT	: Leishmania Deri Tesi
DAT	: Direkt Aglünitasyon Testi
ELİSA	: Enzyme – Linked Immunosorbent Assay
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
ŞKİY	: Şiddetli İmmun Yetmezlik Sendromu
NH₃	: Amonyak
HO·	: Hidroksil
RO·	: Alkoksil
ROO·	: Peroksil
O₂·	: Süperoksit
NO·	: Nitrik Oksit

NO₂⁻	: Azot Dioksit
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
O₂^{↑↓}	: Singlet Oksijen
O₃	: Ozon
HOCl	: Hipoklorid
LOOH	: Lipidhidroperoksit
ONOO⁻	: Peroksinitrit
MDA	: Malondialdehit
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
CAT	: Katalaz
GST	: Glutasyon -S- Transferaz
GSH-Rd	: Glutasyon Redüktaz
GSH	: Glutasyon
GS⁻	: Glutasyon Radikali
Dk	: Dakika
TOS	: Total Oksidan Seviye
TAS	: Total Antioksidan Seviye
OSI	: Oksidatif Stres İndeksi
NaCl	: Sodyum Klorür
H₂SO₄	: Sülfirik Asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü

ÖZET

SÜLEYMANŞAH KONAKLAMA TESİSLERİNDE LEISHMANIAZİS (ŞARK ÇIBANI) OLAN ÇOCUK HASTALARDA ADENOZİN DEAMİNAZ (ADA) VE OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Tıbbi Biyokimya, Yüksek Lisans Tezi

Zorunlu hücre içi paraziti olan Leishmania, trypanozom ailesinin kinetoplastı da sınıfına ait kan kamçılılarından. Leishmaniasis'i; enfekte dişi tatarcık sinekleri kan emerken bulaştırırlar. Parazit yaşamını sürdürebilmek için omurgalı ve omurgasız konaklara gereksinim duymaktadır (6,7,8). İnsanlarda leishmaniazise karşı bir doğal direnç yoktur. Yaşın ve cinsiyetin etkisi yoktur. Leishmaniasiste enfeksiyon genellikle çocuklarda görülmektedir. Enfeksiyon yapabilmesi için gereken süre Leishmanianın türüne, çevre koşullarına ve sıcaklığa göre değişmektedir. Leishmania parazitlerin evriminde iki ayrı form görülür. Bunlardan biri omurgalı vücudunda bulunan kamçısız, 2-4 µm büyüklüğünde, oval veya yuvarlak görünüme sahip, hücre içi paraziti olan amastigot, diğeri ise omurgasız vücudunda bulunan, kamçılı, 10 µm uzunluğa 1,5-2,5 µm genişliğinde, hücre dışı paraziti olan promastigot formları şeklindedir.

Leishmania klinik olarak, Visseral Leishmaniasis (VL), Kutanöz Leishmaniasis (KL), Mukokutanöz Leishmaniasis (MKL) diye sınıflandırılır (9,10).

Adenozin Deaminaz (ADA), pürin nükleotidlerinin yıkımında yer alan ve Adenozini İnozin'e çevrimini katalizleyen bir enzimdir. Bu enzim; özellikle lenfoid hücrelerde yüksek oranlarda bulunur ve lenfoid hücrelerin proliferasyon ve matürasyonuna katılmaktadır. Genel olarak immunitenin arttığı durumlarda ADA aktivitesi artmaktadır.

Oksidatif stres; vücudumuzda mevcut oksidatif - antioksidatif dengenin oksidanlar lehine bozulması sonucu meydana gelen patolojik durumdur. Oksidatif stres aşırı reaktif oksijen ve/veya nitrojen türlerinin üretimi veya antioksidan tampon mekanizmasının eksikliği sonucu oluşur. Normal koşullarda organizma, endojen ve eksojen serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan savunma sistemine sahiptir.

Leishmaniasis hastalarından ve gönüllü kontrollerden alınan numunelerin Total Oksidan Seviye (TOS) ve Total Antioksidan Seviye (TAS)'ler Rel Assay marka ticari kitler

kullanılarak ölçülmüştür. Serum ADA aktivitesi Giusti ve Galanti tarafından tarif edilen spektrofotometrik yöntem kullanılarak belirlenmiştir.

Elde ettiğimiz bulgulara göre, leishmaniasis olan hastaların serumlarında oksidan parametreler ve ADA seviyesi yüksek, antioksidan parametreler ise düşük bulunmuştur. Buda bize leishmania hastalarında özellikle lenfoid dokularda hücre proliferasyonunun oldukça arttığını ve bunun artmış ADA aktivitesiyle gösterilebildiğini ve bu hastalığın oksidatif stresi de anlamlı oranda artırdığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Leishmaniasis, ADA, TOS, TAS, OSİ



ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF ADENOSINE DEAMINASE AND OXIDATIVE STRESS PARAMETERS IN CHILDREN WITH LEISHMANIASIS IN SULEYMAN SHAH ACCOMODATIONS

Medical Biochemistry, Master Thesis

Leishmania is an obligate intracellular parasite belonging to the genus of trypanosomes and class of Kinetoplastida. Leishmaniasis is transmitted via the bite of infected female phlebotomine sandflies. It needs the vertebrate and invertebrate host to maintain its life. There is no natural resistance against leishmaniasis in humans, age and gender also have no effect. It is usually seen in children. Time required to perform infection varies the species of Leishmania, environmental conditions and temperature. Two different forms are seen in the evolution of Leishmania parasites. One of these form is amastigotes that live in intracellular cells of vertebrates, have no flagellated, 2-4 μm in size with oval or round appearance. Other form is promastigote that live in extracellular cells of invertebrates, have flagellate, 10 x 1,5-2,5 μm in size.

Leishmania causes three main clinical forms: visceral , cutaneous, and mucocutaneous disease.

Adenosine Deaminase (ADA) is an enzyme that situated in the breakdown of purine nucleotide and catalysing the conversion of adenosine to inosine. This enzyme; especially found at high levels in lymphoid cells and is involved in the proliferation and maturation of lymphoid cells. In general, the ADA activity is increased in cases where the immunity increases.

Oxidative stress is a pathological condition that has occurred from as a result of deterioration caused by the current oxidative - antioxidative im balance in favor of oxidants in our body. Oxidative stress occurs due to the production of highly reactive oxygen and/or nitrogen species or the lack of antioxidant buffer mechanism. In normal conditions organism has an complex antioxidant defense system struggling with endogenous and exogenous oxidative stress generated by free radicals.

Total Oxidant Status (TOS) and Total Antioxidant Status (TAS) of the samples taken from Leishmaniasis patients and controls are measured with Rel Assay brand commercial kits.

Serum ADA activity was determined using the spectrophotometric method described by Giusti and Galanti.

According to the results we have obtained, oxidant parameters and ADA levels in the serum of patients with leishmaniasis were high and antioxidant parameters were low. This shows us, especially in leishmaniasis patients cell proliferation is increased in the lymphoid tissue, which has been shown by elevated ADA activity also indicate that oxidative stress in this disease significantly increases.

Key Words: Leishmaniasis, ADA, TOS, TAS, OSI



1.GİRİŞ

Leishmania cinsi parazitler ile infekte dişi tatarcığın (kum sinekleri, Phelebotomus) kan emerken omurgalı ya da omurgasız konağa bulaştırdığı hastalığa leishmaniasis denir. Leishmania parazitinin varlığı ilk kez Güney Amerika'da bulunan And dağlarından döndükten sonra İspanyol mevsimlik işçilerde görülmesi üzerine "Valley Sickness" ya da "Andean Sickness" diye isimlendirilmiştir. Ağız ve burun bölgesinde bulunan iyileşme göstermeyen lezyonlarıyla cüzzama benzerlik gösterdiği için hastalığa "beyaz cüzzam" da denilmiştir. Uzun yıllardır görülen ancak sebebi anlaşılamayan bu hastalık ilk defa 1900 yılında Hindistan' da bir askerin ölümünden sonra dalaktan alınmış yayma preparatında küçük oval cisimler gören Leishman tarafından tespit edilmiştir (1).

Türkiye'de, insan leishmaniasisini ilk defa Kristamonas ortaya koymuştur. İlk bildirim ise Dr.Hofer Kaller 1918 yılında İzmir'de yapmıştır (1). Leishmaniasisin 3 farklı klinik şekli bulunmaktadır. Ülkemizde en sık rastlanan şekli KL olup Mersin, Adana, Kahramanmaraş, Şanlıurfa, Osmaniye, Hatay illerimizde yaygın olarak görüldüğü bilinmektedir.

Adenozin Deaminaz (ADA) enzimi pürin nükleotid yıkım yolunun bir enzimidir. Adenozin ve deoksiadenozini sırasıyla inozin ve deoksiinozine çevirir. ADA aktivite seviyesi, monosit-makrofaj sistemi hücrelerinin ve lenfositlerin mitojenik cevabı boyunca aktivitesi artmaktadır. ADA aktivitesinin yokluğu, şiddetli kombine immün yetmezlikle doğrudan ilişkisi olduğundan hücrel immünitenin bir göstergesi olabilir. Leishmaniasis hastalarında ADA aktivitesinin belirlenmesi hastanın immün durumunun tespitinde önemli bilgiler sağlayabilir.

Organizmada normal fizyolojik olaylar sırasında ya da çevresel zararlı ajanlara maruz kalınmasıyla ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri belirli düzeyi aşarsa veya antioksidanlar yetersiz kalırsa denge oksidanlar lehine bozulur ve bunun sonucunda oksidatif stres ortaya çıkar (2). Serbest Oksijen Radikalleri (SOR) hücrelerin rutin işleyişleri esnasında ortaya çıkabilir ve bu radikaller hücrel doğal antioksidan sistemlerle vücuttan uzaklaştırılmaktadır (3). Bu radikallerden organizmanın zarar görmemesi için oluşum ve uzaklaştırılma işlemlerinin sürekli bir denge halinde çalışması gerekmektedir (4,5).

Oksidatif stres hastalıklarda hem hücrel hemde moleküler doku hasarı oluşturmaktadır bu nedenle leishmaniasisin patogenezi ve prognozunun belirlenmesinde oksidatif stres parametreleri fayda sağlayabilir.

Çalışmadaki amacımız; leishmaniasis tanısı alan çocuk hastalarda ADA aktivitesini ve oksidatif stres parametrelerini değerlendirmektir.



2.GENEL BİLGİLER

2.1.Leishmania

Zorunlu hücre içi paraziti olan Leishmania, trypanozom ailesinin kinetoplastida sınıfına ait kan kamçılılarından. Leishmaniasis'i; enfekte dişi tatarcık sinekleri kan emerken bulaştırırlar. Parazitin yaşamını sürdürebilmesi için omurgasız ve omurgalı konaklara ihtiyaç duymaktadır (6,7,8).

Leishmania klinik olarak, Kutanöz Leishmaniasis (KL), Visseral Leishmaniasis (VL), Mukokutanöz Leishmaniasis (MKL) diye sınıflandırılır (9,10).

2.1.1.Tarihçe

Leishmania parazitinin varlığı ilk kez Güney Amerika'da bulunan And dağlarından döndükten sonra İspanyol mevsimlik işçilerde görülmesi üzerine "Valley Sickness" ya da "Andean Sickness" diye isimlendirilmiştir. Ülseratif deri lezyonlarıyla belirti gösteren bu hastalığa Inca yazılarında da değinilmiştir.

Ağız ve burun bölgesinde bulunan, iyileşme göstermeyen lezyonlarıyla cüzzama benzerlik gösterdiği için hastalığa "beyaz cüzzam" da denilmiştir. Uzun yıllardır görülen ancak sebebi anlaşılamayan bu hastalık ilk defa 1900 yılında Hindistan' da bir askerin ölümünden sonra dalaktan alınmış yayma preparatında küçük oval cisimler gören Leishman tarafından tespit edilmiştir (1).

2.1.2.Morfoloji

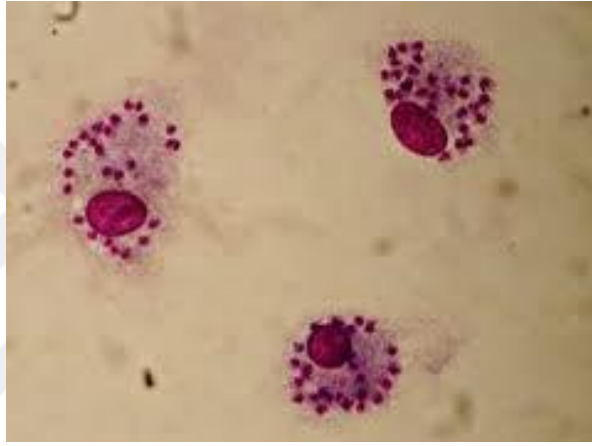
Leishmania cinsine ait türlerin yaşam evrelerinde iki ayrı morfolojik formu bulunmaktadır ve bunların memeli konakta "amastigot" formu, vektörde görülen ise "promastigot" formudur (11).

2.1.2.1.Amastigot (Hücre İçi)

Amastigot form; leishmanianın omurgalı vücudunda bulunan oval veya yuvarlak görünümde, kamçısız şekli 2-4 µm büyüklüğündedir. Amastigotlar polimorf çekirdekli lökositler, monositler ve endotel hücreler içerisinde zaman zaman gruplar halinde bulunabilir ya da hücreler parçalandığı için bu hücrelerin dışında tek tek görülebilmektedir. Bu formdaki

bir leishmanianın sitoplazmasında nukleus ve bu nukleusa komşu kinetoplast bulunur. Sitoplazmada, vakuoller nokta şeklinde bir kamçı kökü ve kamçı kökünden çıkıp ön kısımda biten bir aksonem bulunur. Ancak kamçı hücre dışına serbest olarak çıkamaz. Leishmania türlerinin hepsinde sitoplazmada sadece bir mitokondrium yer alır. Lizozomlar ve golgi aygıtı farklı enzim aktiviteleriyle parazitin beslenmesine yardımcı olurlar (12,13,14).

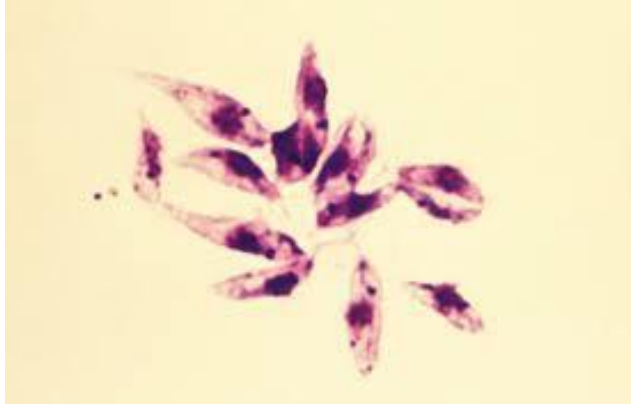
Giemsa ile boyanmış preparatlarında kese şeklinde olan çekirdek koyu kırmızı renkli ve hücrenin 1/3 ünü kaplar (10). Omurgalı konakta eritrosit üreten organların makrofajlarının fagolizozomları içinde çoğalmaktadırlar.



Şekil 1: Leishmania parazitinin amastigot formu (15)

2.1.2.2.Promastigot (Hücre Dışı)

Leishmanianın omurgasız vücudunda bulunan promastigot yani kamçılı şeklinin uzunluğu 10 μm olup genişliği ise 1,5-2,5 μm 'dir. Serbest kamçısının uzunluğu ise 15-28 μm 'dir. Kamçı köküne yerleşmiş 1 çift merkezi, 9 çift periferik liften oluşan bir aksonemi bulunur. Kamçının dip kısmı ve kinetoplastın ön kısmında kamçı kökü bulunur. Ön uçta at nalı ya da yuvarlak şeklinde bir nukleolus, nukleus ve nukleus membranında porlar bulunur. Sitoplazma içinde endoplazmik retikulum ve golgi aygıtı bulunur (14). Omurgasız vektörün sindirim kanalı ve aksenik kültürlerde çoğalmaktadır. Giemsa boyamalarında ortada koyu mora boyanan bir çekirdek, azure ile boyanan mor çubuk şeklinde kinetoplast görülür (16).



Şekil 2: Leishmania parazitinin promastigot formu (15)

2.1.3.Epidemiyoloji

Leishmaniasis epidemiyolojik açıdan incelendiğinde antroponotik ve zoonotik olarak iki formda görülür. Antroponotik form vektör olan tatarcık sinekleri (**Şekil 3**) ile insana bulaşır. Zoonotik formda ise asıl rezervuarlar dişi tatarcık sineklerinin enfekte ettikleri köpekler olup Akdeniz ülkelerinde daha fazla görülür.

Leishmaniasis kırsal alanlarda daha fazla görülmekte olup dünya genelinde Güney Avrupa, Kuzey Afrika, Orta Doğu, Orta ve Güney Amerika ve Hindistan bölgelerinde 60'dan fazla ülke için endemiktir (17).

Tropikal ve subtropikal bölgelerin hastalığı olan leishmaniasis; Güney Batı Asya ve Kuzey Afrika'da özellikle 1- 4 yaş, Batı Afrika ve Hindistan'da 5- 9 yaş arası çocuklarda, Çin ve Avrupa'da ise tüm yaş gruplarında görülebilecek şekilde epidemik karakter göstermektedir.

Avrupa ve Akdeniz havzasında da sağlık sorunu oluşturan leishmaniasis, Türkiye'den Portekiz'e kadar olan Avrupa kıyı bölgelerinde görülür. VL'in bölgesel olarak tespit edilmiş tipleri arasında; Hindistan, Akdeniz, Sudan, Güney Amerika ve Çin tipleri bulunmaktadır (18). Birçok ülkede endemik olan leishmaniasis zaman zaman epidemilere de neden olabilir. Hastalık rastlandığı ülkelerde bölgesel değişiklikler gösterir. Bunda sıcaklık, nem, bölgenin yükseltisi, bitki örtüsü gibi etkenler ile ilişkili olarak tatarcık çeşitlerinin bulunduğu ortamda üreyebilmesi, rezervuar olan hayvan ve insanların bulunması rol oynamaktadır.



Şekil 3: Leishmania etkeni taşıyan dişi tatarcık sineği (15)

2.1.4.Yaşam Döngüsü

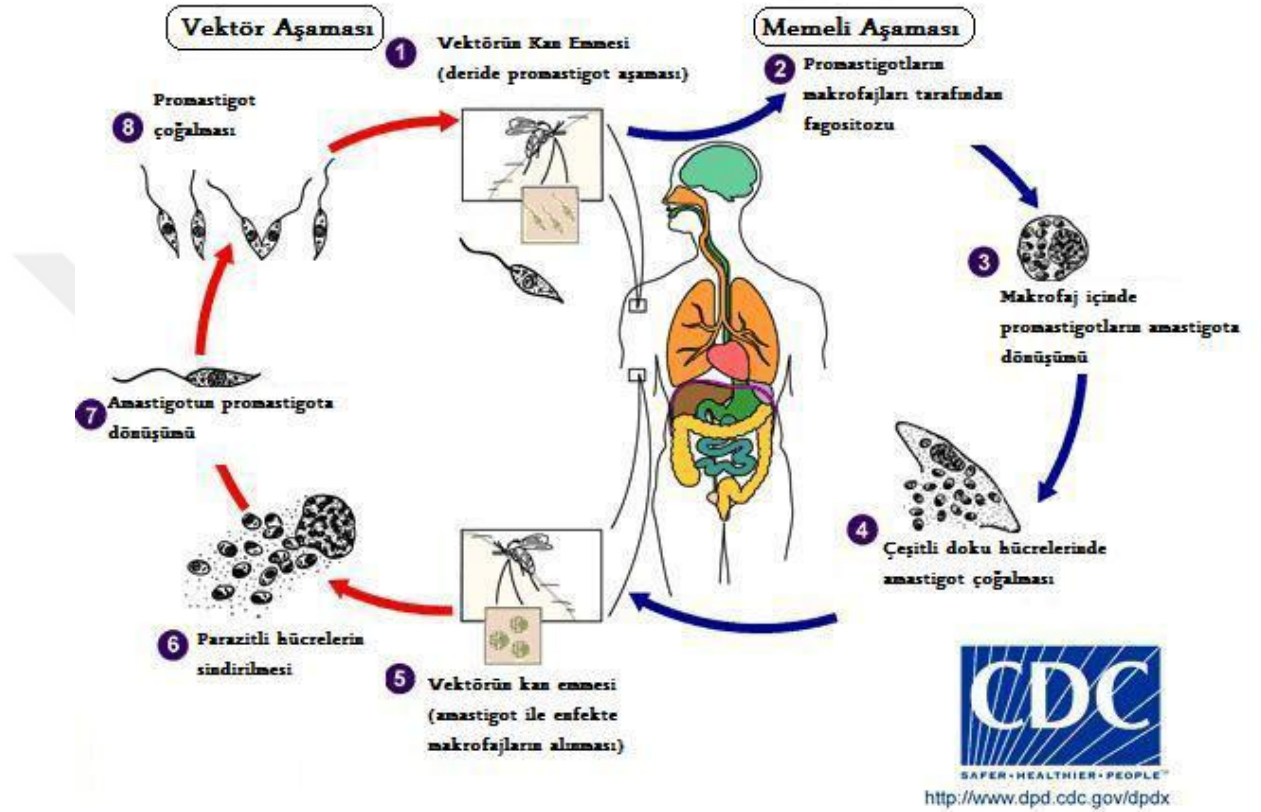
Leishmania türlerinin yaşam döngüsü Phlebotominae vektör ile, vertebrali konak arasında birbirini izleyen bir döngüyü içermektedir. Leishmaniaların vektörü olan Lutzomyia ya da Phlebotomus cinsi kum sinekleri leishmaniazisli omurgalı konaktan kan emdiklerinde içerisinde parazit olan makrofojlari da almaktadırlar (16).

Tatarcıkların infekte ettikleri konaktan alınan amastigot biçimler şişmiş infekte makrofajların bir travma sonucu parçalanması ile serbest kalırlar ve tatarcıkların orta bağırsağına gelirler (9). Burada boyları uzar, kamçı oluşur ve hareketli promastigot biçimlere dönüşürler ve ikiye bölünerek çoğalırlar.

Tatarcıklar kan emdikten 1 saat sonra amastigot formu abdominal midede, 12-24 saat sonra promastigot formu ise abdominal midenin peritrof zarının içerisinde görülür. Nektomanadlar, 6 günde sindirim kanalının tamamında promastigotlar görülmeye başlar ve 14. güne kadar artmaya devam eder (19). Enfeksiyon yapabilmesi için gereken süre Leishmanianın türüne, çevre koşullarına ve sıcaklığa göre değişir (20). Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde görülen türün etkeni *L.tropica*'dır. Hastalığa neden olan infekte dişi tatarcık sineklerinin aktiviteleri yaz başlangıcında ve ilkbaharın sonlarına doğru başlamakta olup havaların soğuduğu döneme kadar sürmektedir.

Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde Mayıs-Ekim ayları arasında olan ancak iklimsel özelliklere göre farklılık gösterebilen döneme "bulaşım sezonu" denmektedir. Tatarcığın yaşam döngüsü uygun hava koşullarının olduğu yerlerde bir sezonda 2-3 defa

gerçekleşebilmektedir. Leishmaniasisin yaygın görüldüğü bölgelerde bulaşın özellikle sıcaklığın arttığı Haziran-Ağustos arasında olduğu ayrıca dişi tatarcıkların etkili oldukları Nisan-Eylül ayları arasında da gerçekleştiği bilinir. Lezyonlar inkübasyon döneminden dolayı çoğunlukla Ekim ayından Şubat ayına kadarki dönemde ortaya çıkar (21,22,23).



Şekil 4: Leishmanianın yaşam döngüsü (15)

2.1.5.Vektörleri

Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde tatarcık, kum sineği gibi değişik isimlerle bilinen Phlebotomus'lar, hem irritasyona neden olan sokmalarıyla hem de birçok hastalık etkeninin özellikle de leishmania türlerinin vektörü diye bilinmektedir. Dünyanın çeşitli bölgelerinde bulunan 700 Phlebotomus türünden 70 tanesinin vektör olarak değerlendirilebileceği kaydedilmektedir (24).

Eski Dünya'da Phlebotomus, Yeni Dünya'da Lutzomyia cinsi vektördür. Tatarcıklar insanların yaşam alanı çevresinde bulunurlar ve organik besin kaynakları olan dışkı, yaprak

gibi maddelerin çok miktarda bulunduğu nemli olan ortamlarda üreyebilirler (25). Tatarcıklar ya da kum sinekleri çoğunlukla sıcak ve nemli olan mağaralarda, kuş yuvalarında, ayrıca ev ve ahırlarda yaşarlar. Dişi tatarcıklar gündüze oranla genellikle geceleri sokma aktivitesi gösterirler. Bu oranın gece yarısı oldukça artış gösterdiği görülür. Güneş ışığından fazlasıyla etkilenmeleriyle birlikte yapay ışıklar erişkinler için oldukça caziptir (26).

Tatarcık yaklaşık 4,5 mm uzunluğundadır. Kahverengimsi uzun bacaklı, bal peteği şeklinde bir çift iri siyah gözleri, uzanan tenleri ve oldukça gelişmiş kan emmeye elverişli hortumları vardır. Bütün vücudu kıllarla örtülüdür (27).

Phlebotomusların genital organlarını taşıyan dokuzuncu segmentleri erkek ve dişiyi birbirinden ayırabilmeyi sağlayacak bir yapıdadır. Erkekler ağız yapılarından dolayı bitki özsuyu ile beslenirler (28).

2.1.6.Klinik Şekilleri

Leishmaniasis klinik belirtileri, hem parazitin türüne hem de konağın immün yanıtına bağlı olarak değişebilmektedir. Leishmania cinsi protozoonlar Kutanöz (KL), Mukokutanöz (MKL) ve Visseral Leishmaniasis'e (VL) sebep olurlar (29).

2.1.6.1.Kutanöz Leishmaniasis (KL)

Kutanöz Leishmaniasis; Leishmania türü parazitlerin neden olduğu, deride papül, nodül ve yara gibi belirtilerle kendini gösteren bir hastalıktır. Bu hastalık ülkemizde şark çıbanı, antep çıbanı ve yıl çıbanı gibi isimlerle anılır. Genellikle deride skar şeklinde iz bırakarak iyileşmektedirler (30).

Tropik ve subtropik ülkelerde sık görülen Kutanöz Leishmaniasisin etkeni *L. tropica*'dır (6,7,8). Lezyonun olduğu yerde makrofajların toplanması ve proliferasyonu sonucu bazı patolojik değişiklikler gözlenir. Promastigotlar, bu bölgeye gelen makrofajlara girerek amastigota dönüşür ve amastigotlar çoğalarak makrofajları patlatır ve yeni makrofajları infekte eder. Mononükleer fagositler, lenfositler ve plazma hücreleri toplanarak granülatöz bir yangı oluşturur. Büyüdükçe ortasında altın rengi veya kahverengi bir kabuk oluşur. Büyük olasılıkla etrafında daha küçük "satellit" lezyonlar da ortaya çıkacaktır. Bu ülser ortalama 3–4 ay kadar varlığını koruyacak, bazen bu süre bir yılı da geçecek, sürenin sonunda sekonder infeksiyon oluşmadıkça lezyon kendiliğinden gerileyecektir. Eğer sekonder bakteriyel infeksiyon varsa lezyon ağırlı olur. Bunun dışında lezyonlar ağrısız olur.

Papül şeklinde başlayan lezyon, zamanla ülserleşir, nekroz ve kabuk oluşumunun ardından, sonunda hipopigmente, düz ve atrofik bir skar bırakarak iyileşir veya yara nekrozlaşmadan kronik hale geçip tüberküloid karakter kazanır. İyileşen lezyon, etkeni olan türe karşı hayat boyu bağışıklık kazanmış olur (6,31,32,33,34). Kutanöz Leishmaniasis, Osmaniye, Adana, Hatay, Şanlıurfa, Mersin ve Kahramanmaraş illerimizde endemiktir.

2.1.6.2.Visseral Leishmaniasis (VL) (Kala-Azar)

Ülkemizde bilhassa 2-6 yaş grubu çocuk nüfusta daha sık rastlanır ayrıca erkeklerde kızlara göre daha fazla rastlanan VL, genellikle ılımlı, asemptomatik ya da çok az bulgu veren yapıda seyrederek, bunlara rağmen oldukça ciddi bir sistemik hastalık özelliği göstermektedir. Özellikle Akdeniz havzasında hastalığın hedefi daha ziyade küçük çocuklar ile immün sistemi baskılanmış kişilerdir. İnfekte kişilerin yalnızca küçük bir kısmında akut hastalık gelişmektedir (35,36,37). Kuluçka döneminin 2-3 haftadan iki yıla kadar değişebildiği, ortalama 2-4 ay sürdüğü belirtilmiştir (38). Bir olguda, endemik bölgeye ulaşması ile ateşin ortaya çıkışı arasındaki sürenin 10 günden az olduğu bildirilmekle birlikte, 3-4 aya kadar uzayabildiği de rapor edilmiştir (38,39).

VL'nin spesifik bir semptomu yoktur ve kolaylıkla malaria, bruselloz, bakteriyel endokardit, tifo, tüberküloz ve hemopoetik maligniteler ile karıştırılabilir. Hastalığı geçirmiş kişilerde yıllar sonra oluşabilecek bir immün supresyon durumunda sekonder özellikte yeni olgular ortaya çıkabilir. Eğer hasta endemik bölgeye yeni gelmiş ise hastalığın gelişimi akut olabilir. Bazı hastalarda üşüme ve titreme ile ani başlayan ateş, halsizlik, baş ağrısı, baş dönmesi, iştahsızlık, öksürük, burun kanaması, diyare, ödem gibi belirtiler görülebilmektedir (40). Ancak endemik bölgede yaşayan insanlarda hastalığın başlangıcı çok daha sessizdir.

VL, ateşin hızla 39-40 °C'ye yükselmesi ile başlayabildiği gibi, daha çok sessiz ve sinsi bir başlangıç gösterir. Başlangıç döneminde iştahsızlık, halsizlik, solukluk, baş ağrısı, baş dönmesi, diyare veya öksürük gibi belirtiler ortaya çıkmaktadır. Başlangıç dönemindeki subfebril ateş, ortalama iki hafta içinde yerini günde iki kez artan sürekli terleme sonucu düşen ateşe bırakır. Meydana gelen her ateş atağının arkasından dalağın daha da büyüdüğü gözlenir ve buna bağlı olarak sinüzoidlerde kanın staz yapması sonucu beyaz ve kırmızı kan hücreleri yıkılır bunun sonucunda da anemi ortaya çıkmaktadır.

Organlar bazen pelviste bile palpe edilebilir. Karın ağrısının nedeni büyümüş dalaktır. Bu hastalarda karın ağrısı ve kilo kaybı belirgin özellik gösterir ayrıca kemik iliğinin içi

amastigotlarla dolu makrofajlar tarafından istila edilmesi de anemiye körukleyen bir faktördür. Karaciğerin dalağa göre daha yavaş büyüdüğü bildirilmiştir (6).

Hasta yavaş yavaş daha halsiz bir hale gelir; zamanla zayıflar. Abdominal distansiyon organomegaliler nedeniyle iyice belirginleşir. Tedavi edilmeyen olguların % 80–90'ı ölümlerle sonuçlanmaktadır. Tedavi edilenlerden ise iyice terminal döneme gelmiş olanlarda başarısızlık söz konusu olabilir. Tedavi edilenler için herhangi bir sekel beklenmemekle birlikte, siroz bildirilen bir olgu da olmuştur (40).

2.1.6.3. Mukokutanöz Leishmaniasis (MKL)

MKL etkenleri *L. braziliensis* başta olmak üzere, *L. braziliensis* kompleksine ait türlerdir. *L. braziliensis* ile enfekte hastaların %2-40'ında, *L. guyanensis* ve *L. panamensis*'le enfekte olgularda ise daha nadir olarak, derideki lezyonlar mukozal yayılım gösterir. *L. guyanensis*'in yol açtığı enfeksiyona “pian bois” adı da verilir. Pian bois'in multilezyoner bir kliniği vardır. Birkaç ay içinde kendiliğinden iyileşen ve “uta” olarak da adlandırılan *L. peruviana* olguları daha selim karakterlidir. *L. Braziliensis* enfeksiyonlarında lenfadenopati sık görülen bir bulgudur. Neredeyse tamamen Orta ve Güney Amerika'da görülür. Kronik ve çok ciddi bir durumdur. En sık nazal mukoza tutuluşu gözlenirken, bunu farinks, larinks ve üst ekstremitelerin tutuluşunun izlediği, burundaki lezyonların genelde nodül olarak başlayıp, burunda tıkanıklık ve zaman zaman epistaksis şikayetlerine neden olduğu bilinir. Bundan kısa bir süre sonra burun septumu perforasyon olarak lezyonların oronazofaringeal mukozaya ve kemiklerine ciddi bir yıkım ve yayılım gösterdiği Portekizce'de “sünger” anlamına gelen “Espundia” olarak bilinen bu enfeksiyonda, şiddetli mukozal hasar gelişmektedir.

Hipertrofik bir ağız, dudak ve burun yapısı oluşabilir. Genellikle hastaların sekonder sepsis, aspirasyon pnömonisi ve beslenme bozukluğu ile kaybedildiği yayınlanmıştır (41,42).

2.1.7. Tanı

Konak, leishmaniasisi kuluçka döneminde asemptomatik olarak taşıyor olabilir veya tedavisiz iyileşebilmektedir. Klinik bulgular çoğunlukla spesifik değildir ve diğer hastalıklar maskeliyor olabilir. Dolayısıyla klinik belirtiler, leishmaniasiste kesin tanıyı vermez.

KL'de lezyonu kazıyarak ve özellikle sağlam doku-lezyon sınırına küçük bir insizyon uygulanarak örnek alınabilir. Kazıntı örneği alınmadan önce lezyonun, % 70'lik alkolle temizlenmesi gerekmektedir. Lezyon kenarlarından sıkıldıktan sonra bir lanset ile yaklaşık 2-

3 mm derinliğinde bir insizyon oluşturulur. İnsizyon üzerindeki kan damlası gazlı bez yardımıyla alınır ve daha sonra elde edilen materyalin kansız ve seröz olmasına dikkat edilir (43).

Tedavi edilmeyen VL olgularında kanda zaman zaman amastigotlar görülebilir. Ancak çoğunlukla kesin tanı için kemik iliğinden, dalak, karaciğer veya lenf bezlerinden ponksiyonla alınan materyal incelenir. İmmünesinde sorun olmayan VL hastası kişiler için en uygun örnek dalak aspiratıdır. Duyarlılığı % 94 oranındadır. Ancak dalak rüptürü riski nedeniyle mecbur kalınmadıkça tercih edilmez. Kemik iliği aspiratı için % 90, karaciğer biyopsisi için % 40 olan bu oran periferik kandan hazırlanan örnekler için ise % 8–53'tür (44,45).

Leishmaniasis'in kesin tanısı mikroskopik incelemede amastigotların gösterilmesiyle konur. VL'de kemik iliği, dalak ve karaciğer aspiratı veya biyopsi örneklerinden ve kandan hazırlanan yayma, KL'de ise cilt lezyonlarından alınan materyalden hazırlanan yayma incelenir (46). Preparatlar hemotoksilen eosin boyası, immünoperoksidaz boyası veya Giemsa ile boyanabilir. Wright boyama yanlış sonuç verebildiği için tercih edilmemektedir. Parazitin tanımlanmasında özellikle kinetoplastın ayırt edilmesi önemlidir. Giemsa ile boyanan yaymalarda sitoplâzma soluk mavi, çekirdek ve kinetoplast ise pembe-mor renkte boyanır (47).

Moleküler tanı olarak PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ile periferik kanda ve doku aspiratlarında Leishmania DNA tespiti yapılabilir. Bazı serilerde tanı duyarlılığı % 70-93'lere ulaşmaktadır (48).

2.1.8.Tedavi

KL lezyonu, genellikle başarılı bir tedavinin ardından komplikasyonsuz olarak iyileşirken, VL'de ise tedavi edilmeyen olguların büyük bir çoğunluğunun kaybedildiği bildirilmiştir (49). VL'de hastaya kalorisi yüksek ve vitaminler açısından zengin diyetle yatak istirahati verilmeli; ağır anemiyle seyreden olgularda kan transfüzyonu yapılmalıdır (28). VL'in tedaviye verdiği yanıt kesin olarak belirlenememiştir. İyileşmenin göstergesi olarak ateşin kontrol altında tutulması, iştahın artması ile birlikte kilo alımı, hepatosplenomegali ve lenfadenopatinin gerilemesi, anemi, trombositopeni ve lökopeninin düzelmesi sayılabilir. Tedavinin bitmesini takiben ilk altı ay içinde relaps oluşma riski vardır. Bu nedenle olguların iki yıl boyunca izlenmesi önerilir. HIV ile enfekte VL hastalarında bu risk daha yüksektir (50).

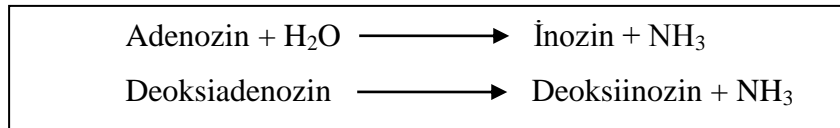
KL'nin tedavi edilip edilmemesine, lezyonun bulunduğu yer ve çapının büyüklüğüne göre karar verilir. Baş ve boyun bölgesi hariç, tek görülen ve çapı 1 cm 'den ufak olan lezyonlar takibinin yapılması şartıyla tedavi edilmeyebilirler. Gebelerde, emzirenlerde beş değerli antimon tedavisinin yeterli güvenirliliğe sahip olmamasından dolayı sistemik veya intralezyonel tedavi önerilmemektedir (43). İntralezyonel tedavide insülin enjektörü gibi ince uçlu enjektörler kullanılır. İlacın etkisini gösterebilmesi için lezyonun içine zerk edilmelidir. Bu işlemin ardından tüm lezyonun beyazlaşması ilacın etkili doza ulaştığını gösterir. Bu enjeksiyonlar haftada 1–3 kez olmak üzere lezyon tamamen iyileşene kadar uygulanır. Genellikle ortalama 10–12 enjeksiyona ihtiyaç duyulmaktadır.

Deriden kabarık lezyonların deri ile aynı seviyeye inmeleri, ülserleşmiş lezyonların ise tamamen kapanması iyileşmeyi gösterir. Dolayısıyla tedavi sonlandırılabilir. Başarılı tedavilerin ardından nüks daha az görülür. Uygulanan intralezyonel enjeksiyonlardan sonra enjeksiyon yerlerinde milia gelişimi, birkaç dakika süren hapsirik nöbeti görülen zararsız yan etkilerdendir. Lezyonun bulunduğu yerde birkaç gün süren enflamasyon ve hafif ağrı da birçok hastada karşılaşılan bir durumdur (50).

2.2. Adenozin Deaminaz (ADA)

Adenozin Deaminaz enziminin bilim camiasında kabul görmüş resmi sembolü “ADA” şeklindedir (51). ADA, yetmezliği ilk kez 1972 de Gibblet tarafından Şiddetli Kombine İmmun Yetmezlik Sendromu (ŞKİY) olan bir çocukta tanımlanmıştır (52).

ADA, pürin nükleotid katabolizmasında görev alan, adenozin ile deoksiadenozini; inozin ve deoksiinozine dönüşümünü tetikleyen bir enzimdir (53). Reaksiyon adenozinin hücre içi konsantrasyonunun kontrol edilmesi için çok önemlidir. ADA geri dönüşümsüz lduğu için kontrol basamağını meydana getirir. Adenozin ile deoksiadenozinin hücre içi seviyelerinin yükselmesi zararlı olduğundan bu nükleozidlerin hücre içi düzeylerinin düzenlenmeside önem taşımaktadır (54,55).



ADA' nın iki izoformu mevcuttur. Düşük molekül ağırlıklı olan ADA₁ timus, eritrosit ve kalpte bulunurken, yüksek molekül ağırlıklı ADA₂ karaciğer, böbrek ve barsaklarda

bulunmaktadır (56). ADA₂ insan kan plazmasında baskın olan enzim formudur. Romatoid Artrit, Psöriazis, Sarkoidoz vb. bağışıklık sistemi ile ilişkili birçok hastalıkta artış gösterir. Plazma ADA₂ izoformu kanserli olgularda da artış gösterir.

İnsanda timüs, dalak, lenf nodu, kemik iliği ve periferik kan lenfositlerinde daha fazla ADA aktivitesi görülmektedir. Periferik lenfoid dokuda ADA aktivitesi timusa göre daha düşük bulunmuş ve dokudaki T lenfositlerin oranı ile ilgili olduğu tespit edilmiştir. Yapılan araştırmalarda ADA aktivitesinin T hücrelerinde ve makrofajlarda en yüksek, B hücrelerinde ise en düşük enzim aktivitesi saptanmıştır. T hücrelerinde B hücrelerine göre 5-20 kat daha fazla ADA aktivitesi olduğu tespit edilmiştir (57,58,59). Ayrıca ADA aktivitesi, insan dokularında en yüksek oranda dalakta, en düşük oranda ise tiroid dokusunda bulunmaktadır.

ŞKIY'in ikinci sıklıkla görülen formudur (60). Hastalığın patogeneğinde, ADA enziminin eksikliğine bağlı adenzin ve deoksiadenozinin hücre içinde birikmesi ve bunların hücre için toksik etki yaratması yer alır (61). ADA eksikliği lenfopeni, ağır derecede bozulmuş hücresel ve humoral immünite, gelişme geriliği ve ölümcül ciddi infeksiyonlar ile seyretmektedir (62).

ADA'nın ölçümünde Bertholet yöntemi (Giusti Yöntemi) kullanılmaktadır. Bu yöntem substrat olarak kullanılan adenzinden açığa çıkan amonyum iyonunun kolorimetrik olarak ölçümü temeline dayanmaktadır. Oluşan İndofenol ölçülmektedir.

2.3.Oksidatif Stres

2.3.1.Serbest Radikaller

Serbest radikaller, en son yörüngelerinde bir ya da daha çok çiftleşmemiş elektron içeren reaktif moleküllerdir. Oksijen türevi radikaller, biyolojik sistemin en iyi bilinen serbest radikalleridir ve canlı hücrelerde, normal süreçte fizyolojik miktarlarda üretilirler. Çok miktarda üretildiklerinde hücre ve doku hasarına neden olurlar. Yapılarındaki ortaklanmamış elektrolitlerden dolayı oldukça reaktifirler ve tüm hücre bileşenleri ile kolayca etkileşebilme özelliği göstermektedirler (63,64).

Serbest radikaller üç yolla meydana gelirler:

- 1- Kovalent bağlı radikal olmayan bir molekülün bağlarının koparılması ile iki ayrı radikal oluşumuyla,
- 2- Bir molekülün bölünmesi ya da bir molekülden tek elektronun kaybıyla
- 3- Bir moleküle tek elektronun ilavesiyle,

Organik ya da inorganik moleküller elektriksel olarak negatif-pozitif yüklü veya nötral şekilde olabilmektedirler. Oksijenin, atom numarası 8 olup doğada dioksijen olarak bulunur ayrıca kararsız yapıya sahip bir elementtir. Bu kararsız yapısı, enerji seviyelerinde bulunan elektronlarının yapısıyla ilişkilidir. Oksijen molekülünde 2P son orbitali önem taşır. Bu orbital yapısında aynı yöne dönmekte olan iki elektron barındırır. “Singlet oksijen” in oluşabilmesi için bu orbitallerden rastgele birindeki elektronun bir orbitali bırakıp başka bir orbitale geçmesi ya da zıt yönde dönmesi gerekmektedir. “Oksijen radikali” nin elde edilebilmesi içinde orbitallerden birine ya da ikisine birden ters dönüşlü iki elektron daha gelmesi gerekmektedir (63). Oluşan radikalde eşleşmemiş bir elektron bulunduğundan dengesiz yapıdadır bu nedenle hızlı bir şekilde ortamdaki yok olur. Bu radikaller bir elektronlarını farklı bir moleküle verebilir (redüksiyon) veya farklı bir molekülden elektron alıp elektron çifti oluşturur (oksidasyon). Sonuç olarak radikal olmayan yapıyı radikal hale çevirebilirler. Oksijenden türeyen çeşitli radikal ve radikal olmayan bileşikler Tablo 1’de gösterilmiştir (65,66).

Tablo 1: Radikal ve radikal olmayan oksijen türevi bileşikler

OKSİJEN TÜREVİ BİLEŞİKLER	
RADİKALLER	RADİKAL OLMAYANLAR
Hidroksil (HO^\cdot)	Hidrojen Peroksit (H_2O_2)
Alkoksil (RO^\cdot)	Singlet Oksijen ($\text{O}_2^{\uparrow\downarrow}$)
Peroksil (ROO^\cdot)	Ozon (O_3)
Süperoksit (O_2^\cdot)	Hipoklorid (HOCl)
Nitrik Oksit (NO^\cdot)	Lipidhidroperoksit (LOOH)
Azot Dioksit (NO_2^\cdot)	Peroksinitrit (ONOO^\cdot)

2.3.1.1.Süperoksit Radikali (O_2^\cdot)

Moleküler oksijenin (O_2) bir elektron alıp indirgenmesiyle kararsız yapıdaki O_2^\cdot radikali oluşur ($\text{O}_2 + e^- \rightarrow \text{O}_2^\cdot$). H_2O_2 kaynağı olup canlılarda olduğu ilk gösterilen serbest radikal

türevidir. Hücre dışı ortamda trombositler, endotel hücreler, lenfositler ve başka hücreler tarafından normal hücrel reaksiyonlar sonrası ortaya çıkan güçlü bir oksidan özellik göstermeyen O_2^- 'nin tek başına ciddi hücrel hasar oluşturması mümkün görülmemektedir (67). Ancak süperoksit radikalleri oksitleyici ve metal iyonları redükleyici etkisi ile oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonları başlatabilir. Aktive edilmiş fagositik lökositlerden çok miktarda O_2^- üretilip hem buldukları ortama hemde fagozom içine verilebilir. Radikal yapımı antibakteriyel etki içinde gereklidir ve daha reaktif çeşitlerin meydana gelmesinde başlatabilmektedir (68,69,70,71).

2.3.1.2.Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

H_2O_2 , süperoksitlerin enzimatik olmayan ve enzimatik dismutasyon tepkimeleri sonucunda veya oksijenin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi sonucunda meydana gelir. Dismutasyon kendiliğinden veya SOD enzimi aracılığıyla olur. H_2O_2 membranlardan rahatlıkla geçebilir bunun sonucunda da hücreler üzerinde değişik fizyolojik rollere sahip olabilir. H_2O_2 proteinlerin yapısındaki hem grubunda yer alan demir ile tepkimeye girmesi sonucu yüksek oksidasyon seviyesindeki reaktif demir şekillerini oluşturabilmektedir. Oluşan demirin güçlü bir oksitleyici özelliği vardır. Bu nedenle hücre zarlarında lipid peroksidasyon tepkimelerini başlatabilir (64,65).

2.3.1.3.Hidroksil Radikali (HO^\cdot)

OH^\cdot , biyolojik sistemlerde yer alan en güçlü serbest radikal olarak bilinmektedir. Dokular radyasyona maruz kaldığı zaman enerjinin büyük bir kısmı hücre içinde bulunan su tarafından emilir. Radyasyon, oksijen ve hidrojen arasında kovalent bağa sebep olmaktadır. Sonuçta iki radikal meydana gelir. Bu radikallerden biri hidrojen (H^\cdot) ve diğeri ise hidroksil radikalidir (OH^\cdot).



Hidroksil radikali biyolojik makromolekülerin bütün türlerine atak yaparak, DNA'nın pürin ve pirimidin bazları ile etkileşebilmekte, DNA sarmalında kırılmalara, enzim inaktivasyonuna neden olabilmektedir (72,73). Hidroksil radikalının neden olduğu en iyi tanımlanmış biyolojik hasar lipid peroksidasyonudur (69,70).

2.3.1.4.Serbest Oksijen Radikallerinin Yol Açtığı Hücresel Hasarlar

Vücutta antioksidan savunma mekanizması ve serbest radikaller arasında bir denge bulunmaktadır. Bu denge eğer oksidanlar etkileyecek şekilde bozulursa serbest radikaller karbonhidrat, lipid, DNA ve protein gibi biyomoleküllerle etkileşimi sonucu hücrede hem yapısal hemde metabolik değişikliklere neden olur (70,74,64).

2.3.1.4.1.Membran Lipidlerine Etkisi (Lipid Peroksidasyonu)

Lipidler, serbest oksijen radikallerine karşı en hassas olan vücut bileşenleridir. Doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerle etkileşmesi sonucunda doymamış yağ asitlerinin yapısında bulunan metilen grubundan bir hidrojen atomu uzaklaştırılır böylece lipid peroksidasyonu başlamış olur. Biyolojik sistemlerde bu radikalın hidroksil radikali ile süperoksit anyon radikali olduğu kabul edilmiştir. Süperoksit anyon radikali hidroksil radikaline dönüşmektedir. Benzer şekilde hidrojen peroksidin de hidroksil radikaline dönüştüğü bilinmektedir. Buna bağlı olarak lipid peroksidasyonunu başlıca hidroksil radikali başlatmaktadır (75).

Lipid hiperoksidleri yıkımı ile biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur ki bu maddeler, hücre içine yayılarak, hasarın hücrenin diğer bölümlerine de yansımaya neden olurlar. Lipid peroksidasyonun sonunda MDA (Malondialdehit) oluşur ve oluşan MDA, enzim aktivitesi, iyon transportu ve hücre yüzey bileşenlerinin membran niteliğini değiştirir böylece genotoksik, karsinogenik ve mutajenik etkilere yol açabilir (76).

2.3.1.4.2.Proteinlere Etkisi

Proteinlerin aminoasit içeriğine serbest radikallerin proteinler üzerine olan etkisi değişmektedir. Protein molekülleri üzerindeki amino grupları ya da sülfhidril ile serbest radikaller etkileşir. Etkileşim sonucunda proteinlerin yapısında farklılıklar oluşur ve bu farklılıklar üç farklı şekilde incelenebilir:

- 1- Proteinlerin fragmantasyonu,
- 2- Aminoasitlerin modifikasyonu,
- 3- Proteinlerin çapraz bağlanması ya da agregasyonudur (77).

Proteinin temel yapısındaki değişme, proteolize hassasiyete yol açabileceği gibi antijenitesindeki değişmeye de neden olabilir. Radikaller, membran proteinleriyle tepkimeye

girebilir. Enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin işlevlerinin bozulmasına sebep olurlar. Serbest radikallerin etkisi sonucu albümin ve IgG'a benzer şekilde çok sayıda disülfid bağı içeren proteinlerin üç boyutlu şekilleri bozulur bundan dolayı olağan işlevlerini sürdüremezler. Hem proteinleri de serbest radikallerden büyük oranda olumsuz etkilenirler. Özellikle okside olmuş hemoglobinin O₂ veya H₂O₂ ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna neden olmaktadır (76).

2.3.1.4.3.Nükleik Asitlere Etkileri

Nükleik asitler, serbest radikallerinden kaynaklanan farklılıklara karşı hassastır. Hidroksil radikallerin DNA ile tepkimesi sonucunda baz delesyonları, baz modifikasyonları ve zincir kırılmaları gerçekleşebilmektedir. Oksijen radikalleri, oksidatif yarılma sonucunda DNA hasarı oluşturabilir. En duyarlı yapıda olan ise pirimidinlerden olan timindir. DNA çift sarmalı ayrılması ve DNA halatlarının kopması sonucunda hücrede mutasyonlar görülebileceği gibi ölümden gelişebilmektedir. 8-OhdG, oksidatif stres sonucu oluşan DNA hasarında bir belirteçtir. Yenidoğanlarda ve hipoksi gelişen bebeklerde bu oranın yükseldiği bilinmektedir (78).

2.3.1.4.4.Karbonhidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu H₂O₂, okzoaldehitler ve peroksitler oluşur. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu katarakt, diyabet ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıkların, inflamatuvar eklem hastalıklarının oluşumuna katkıda bulunabilirler (79).

2.3.2.Antioksidan Mekanizmalar

Serbest radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldırmak amaçlı organizmada koruyucu mekanizmalar vardır. Serbest radikal oluşumu ve oluşmuş serbest radikallerin zararlı etkilerini önleyen mekanizmalarda bulunmaktadır. Bu işlevleri yapan maddelerin hepsine antioksidanlar denmektedir (70,80,81,82).

Antioksidan savunma mekanizmaları etkilerini aşağıdaki yollarla gösterebilirler:

- 1- Hasarlı hedef moleküllerin yerini alarak,
- 2- Reaktif oksijen türleri oluşumunu minimumda tutarak,
- 3- Hasarlı hedef molekülleri onararak,

- 4- Yüksek derecede reaktif türlerin oluşumunda görev alan meta iyonlarını bağlayarak,
- 5- Reaktif türleri enzim kullanarak yahut bizzat kendisinin yer aldığı reaksiyonlarla temizleyerek (83).

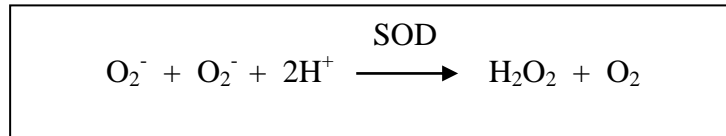
Aerobik hücrelerde fazla sayıda antioksidan mekanizma bulunur. Antioksidanlar, endojen ve eksojen kaynaklıdır. Endojen kaynaklı antioksidanlar, enzim olan ve enzim olmayan antioksidanlar diye iki ayrı grupta incelenir.

Enzim olan antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz, glutatyon -S- transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidazdır. Enzim olmayan antioksidanlar ise; albümin, bilirubin, α -tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, ürik asit, transferrin, glutatyon, ferritin gibi maddelerden oluşur. Bu maddeler oksijen radikallerine yönelik başlangıç savunma mekanizmasını oluştururlar (84,85). Eksojen antioksidan olarak da C vitamini, E vitamini, mannitol, folik asit, kalsiyum kanal blokerleri, allopurinol, asetilsistein, adenosin, steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar sayılabilir (86).

2.3.2.1.Enzim Olan Antioksidanlar

2.3.2.1.1.Süperoksit Dismutaz (SOD)

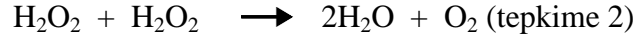
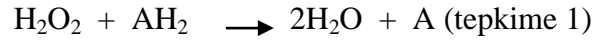
SOD; süperoksit anyonunun H_2O_2 'e dismutasyonunu katalize eder.



Oksijen radikallerinden kaynaklanan hücrel hasarlara karşı SOD, CAT ve GSH-Px önemli enzimatik savunma mekanizmalarını oluştururlar. SOD ve O_2^- 'nin dismutasyonu sonucu H_2O_2 çıkarılması hücre için biyolojik avantaj sağlar. Hücreden H_2O_2 çıkarılması için SOD; katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri ile birlikte çalışır (87,88).

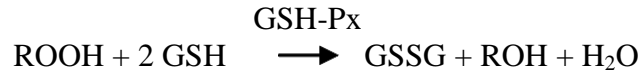
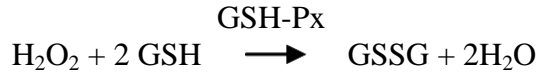
2.3.2.1.2.Katalaz (CAT)

Katalazın yapısında hem grubu bulunur bu nedenle hemoprotein olarak nitelendirilmiştir (89). Karaciğer, kan, böbrek, mukoz membran ve kemik iliğinde fazla miktarda bulunmaktadır (90). H_2O_2 oluşum hızı düşük ise peroksidatif tepkimeyle (**tepkime 1**) ya da H_2O_2 oluşum hızı yüksekse katalitik tepkimeyle (**tepkime 2**) hidrojen peroksidi suya dönüştürür ve ortamdan uzaklaşmasını sağlar (91).



2.3.2.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

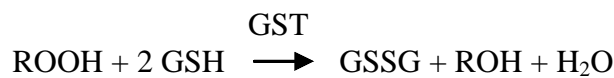
GSH-Px, pek çok hücrenin sitozollerinde bulunan bir enzimdir ve hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Mitokondri ile sitozollerde SOD tarafından meydana getirilen yağ asidi hidroperoksitleri ve H_2O_2 'i ortadan kaldırmaktadır. H_2O_2 düşük konsantrasyonlarında çalışmaktadır. Kofaktör olarak selenyum elementini kullanır.



Hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesiyle oksitlenen glutasyon, glutasyon redüktaz enzimi ve başlıca pentoz fosfat yolundan sağlanan NADPH yardımıyla indirgenerek reaksiyonların devamını sağlar (70). GSH-Px, fagositik hücrelerde önemli işlevleri bulunmaktadır. Diğer antioksidanlarla beraber GSH-Px, solunum patlaması esnasında serbest radikal peroksidasyonundan kaynaklanan fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GSH-Px oksidatif strese karşı en etkili antioksidan olarak bilinir. GSH-Px etkinliğindeki azalma, H_2O_2 'in fazlaşmasına yol açar buna bağlı olarak hücre hasarına neden olur.

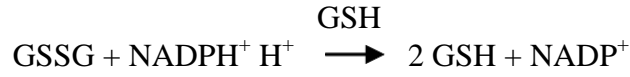
2.3.2.1.4. Glutasyon -S- Transferaz (GST)

Lipid peroksitlerine karşı selenyumdan bağımsız glutasyon peroksidaz aktivitesi göstermektedir. Antioksidan aktivitesine ek olarak farklı biyokimyasal görevleri de vardır ayrıca bilirubin ve endojen maddelere geri dönüşsüz bir şekilde bağlanır ve hücre içi transport sisteminde de görev almaktadır (70).



2.3.2.1.5. Glutasyon Redüktaz (GSH-Rd)

H₂O₂ indirgenmesi esnasında GSH oksitlenir. GSH-Px'in fonksiyonunun devamlılığının sağlanabilmesi için okside glutasyon yeniden indirgenmelidir. Reaksiyonu GSH redüktaz katalizler. Enzim NADPH bağımlı bir flavoproteindir (70).



2.3.2.1.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

Süperoksit anyonunun suya dönüştüğü reaksiyonu katalizler, bakır içerir. Mitokondrideki elektron taşıma zincirinin son basamağında yer alır.

2.3.2.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar

2.3.2.2.1. Glutasyon (GSH)

Glutamat, sistein ve glisin aminoasitlerinden sentezlenen, hücrede en fazla tiyol içeren bileşiktir. GSH sentezindeki sisteinin kaynağı N-asetilsisteindir. GSH sentezinde kullanılan glutamatın temel kaynağı, α-ketoglutarat ile dallı zincirli aminoasitlerin transaminasyonu ve glutaminin glutaminaz ile hidrolizidir. GSH'dan kaynaklanan glutasyon radikali (GS[•]) bir prooksidandır. İki GS'nin birleşmesi sonucu okside glutasyon (GSSG) oluşur ve GSH-Rd tarafından GSH'ya indirgenmektedir. Direkt veya dolaylı yollarla reaktif oksijen çeşitlerini temizler. Hücrel redüksiyon-oksidasyon dengesinin düzenlenmesinde önemli etkisi olan tiyol proteinleriyle etkileşime girer (92).

2.3.2.2.2. Vitamin C (Askorbik Asit)

C vitamini, Suda çözünme özelliği gösterir. Lipit peroksidasyonun başlamasına neden olan radikallerin etkilerini yok eder ve bunun sonucunda lipitleri oksidasyona karşı korumaktadır.

E vitaminin yenilenmesinden sorumlu olduğundan dolayı tokoferoksil radikalini a-tokoferole indirger. Bunun sonucunda E vitaminiyle beraber LDL oksidasyonunu engellemiş olur. Fagositozun gerçekleşebilmesi için de C vitamini gereklidir ayrıca bu vitamin

kemotaktik cevabıda arttırır. C vitamininin antioksidan özelliğinin yanı sıra organizmada fenton tepkimesinde feri demiri ferro demire indirger ve H₂O₂'le etkileşime uyumlu olan O₂⁻'nin üretimini de sağlar. Bu etkisi nedeniyle C vitamini pro-oksidan olarakta kabul edilmektedir. Bu tip etki yalnızca az konsantrasyonlarda görülmekte olup daha çok konsantrasyonlarda ise etkili bir antioksidan olarak etki gösterir (93).

2.3.2.2.3.Vitamin E (Tokoferol)

Alfa tokoferol yağda çözünen lipit zincirini kıran bir antioksidandır. Mitokondri ve endoplazmik retikulum gibi membrandan zengin hücre kısımlarında vitamin E konsantrasyonu artmıştır. Güçlü bir antioksidan özellik gösteren alfa tokoferol hücre membran fosfolipitlerinde yer alan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal ataklarına karşı korur ve oluşan radikalleri temizleyerek lipid peroksidasyonu inhibe edilmiş olur(94).

Selenyum ile E vitamininin ve GSH-Px ve SOD gibi antioksidan enzimlerin düzeylerini arttırdığı bunun da oksidatif düzeyin arttığı kolon kanseri gibi bazı hastalıkları önleyebileceği belirtilmiştir (95).

2.3.2.2.4.Seruloplazmin

Plazma antioksidan aktivitesinin önemli bir kısmı, bakır içeren ve taşıyan akut faz proteini seruloplazminden kaynaklanır. Demir ve bakır bağımlı lipid peroksidasyonu inhibe eder ayrıca süperoksit radikali ile reaksiyona da girer.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Çalışma Gruplarının Oluşturulması

3.1.1.Hasta Grubu: Ocak 2013 – Ocak 2015 tarihleri arasında Şanlıurfa Halk Sağlığı Müdürlüğüne bağlı Şark Çıbanı Tanı ve Tedavi Birimine başvuran ve “Leishmaniasis” tanısı alan, Akçakale ilçesinde bulunan Süleymanşah Konaklama Tesislerinde ikamet eden 4 -16 yaş grubu olmak üzere toplam 35 Leishmaniasis tanısı almış hasta grubu oluşturulmuştur.

Fizik muayenesinde herhangi bir patoloji saptanmayan, klinik ve laboratuvar tetkiklerinde lokal veya sistemik hastalık tespit edilmeyen, alkol ve sigara kullanmayan, Leishmaniasis tedavisine başlanmış olan kişiler hasta grubu olarak seçildi.

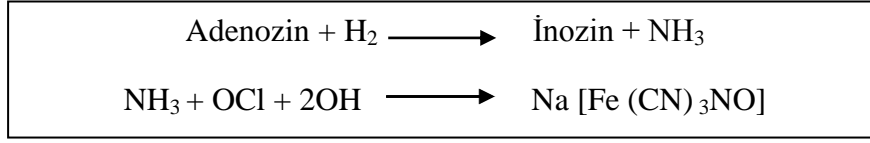
3.1.2.Kontrol Grubu: Kan örnekleri; Şanlıurfa'nın Akçakale ilçesinde bulunan Süleymanşah Konaklama Tesislerinde yaşayan “Leishmaniasis” öyküsü olmayan, fizik muayenesinde herhangi bir patoloji saptanmayan, klinik ve laboratuvar tetkiklerinde lokal veya sistemik hastalık tespit edilmeyen, alkol ve sigara kullanmayan, 4 – 16 yaş grubu olmak üzere toplam 35 sağlıklı, rutin sağlık kontrolü yapılan gönüllü çocuk kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi.

3.1.3.Kan Örnekleri: Akçakale Süleymanşah Konaklama Tesislerinde ikamet eden 4 – 16 yaş grubu kişilerden kan alınarak çalışmaya dahil edilmek üzere Hasta ve Kontrol Grubu oluşturulmuştur. Alınan kanlar Akçakale Toplum Sağlığı Merkezinde bulunan santrifüj cihazında 4000 rpm de 5 dk santrifüj işlemi gerçekleştirildi bu işlem sonucunda elde edilen serumlar eppendorfa alınıp daha sonra çalışılmak üzere Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Biyokimya laboratuvarında – 80 derece derin dondurucuda depolandı.

3.2.Serum/Plazma ADA Aktivitesinin Ölçümü

Serum ADA aktivitesi ölçümünde Giusti ile Galanti'nin açıkladığı spektrofotometrik metot kullanıldı. Yöntemin prensibi aşağıda gösterildiği gibi ADA, adenozin deninozin oluşumunu katalize eder. Meydana gelen NH₃, sodyum hipoklorid ile alkali ortamda fenol çözeltisiyle mavi renkli indofenol bileşiğine çevrilir.

Katalizör olarak ise sodyum nitropurissat görev yapar. NH₃ konsantrasyonu oluşan indofenol reaksiyonuyla orantılı bir şekildedir. Sonuçlar U/L olarak değerlendirildi (96).



3.3.Total Oksidan Seviye (TOS) Ölçümü

Örneklerin TOS seviyesinin ölçümünde Rel Assay marka ticari kitler kullanılmıştır. Ölçümün çalışma ilkesinde belirtildiği gibi örneklerin içerisinde bulunan oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyonuna kümülatif bir şekilde oksitlemesini içeren kolorimetrik metot kullanılmıştır.

Total Oksidan Seviye Ölçümünde Kullanılan Ayıraçlar:

Reaktif 1: 140 mM NaCl çözeltisi içerisinde 25 mM H₂SO₄ çözülerek temel eriyik hazırlanır. temel eriyikte önce % 10 oranında glycerol çözündürülür. Bundan sonra 250 uM xilenol orange çözülerek hazırlanmaktadır.

Reaktif 2: Temel eriyik içerisinde başlangıçta 10 mM o-dianisidine dihydrochloride çözündürülüp sonra 5 mM amonyum ferröz sülfat çözülüp hazırlanır. 560 nm'de spektrofotometrik olarak End-Point ölçüm yapılır.

Prensip: Örnekte yer alan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyonla oksitlemektedirler. Ortamdaki gliserol reaksiyon hızını yaklaşık olarak 3 katına çıkarır. Ferrik iyonların asidik ortamda ksilenol orange ile tepkimesi sonucunda renkli bir kompleks oluşumunu sağlarlar.

Örnekte yer alan oksidanların ölçüsüyle alakalı olan rengin şiddeti spektrofotometrik metot kullanılarak ölçülür. Standart olarak H₂O₂ kullanılır. Sonuçlar µmol H₂O₂ equivalent/L olarak ifade edilir (97).

3.4.Total Antioksidan Seviye (TAS) Ölçümü

Örneklerin TAS seviyesinin ölçümünde Rel Assay marka ticari kitler kullanılmıştır. Örnekte yer alan antioksidan moleküllerin renkli ABTS* katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikalın antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması temeline dayanan ölçüm metodu kullanılmaktadır. Ölçümleme olarak E vitamininin suda çözünebilen bir analogu olan Trolox kullanılmaktadır. Sonuçlar mmol Trolox Equivalent/L olarak ifade edilir (98).

Total Antioksidan Seviye Ölçümünde Kullanılan Ayıraçlar:

Reaktif 1: 75 mM Clark tamponunda (pH: 1.8) 10 mM o-dianisidine dihydrochloride ve 45 uM amonyum ferroz sülfat çözülerek hazırlanır.

Reaktif 2: Clark tamponu (pH: 1.8) içerisinde 7,5 mM H₂O₂ çözdürülerek hazırlanır. 240 nm’de spektrofotometrik olarak End-Point ölçüm yapılır.

Prensip: Fe₂⁺ –o-dianisidine kompleksi H₂O₂ ile fenton tipi reaksiyon oluşturmasının sonucunda OH radikalini oluşturmaktadır. Oluşan güçlü reaktif oksijen türü indirgen düşük pH’da renksiz odianisidine molekülü ile tepkimeye girer bu tepkime sonucunda sarı-kahverengi dianisidyl radikallerinin oluşumu sağlanır.

Renk oluşumunu arttırmak için dianisidyl radikalleri ileri oksidasyon tepkimelerine katılır. Fakat örnekte bulunan antioksidanlar bu oksidasyon tepkimelerini bastırdıkları için renk oluşmasını durdururlar. Tepkime otomatik analizörde 240 nm’de spektrofotometrik metot kullanılarak sonuç verilmektedir (99).

3.5.Oksidatif Stres İndeksi (OSI) Hesaplanması

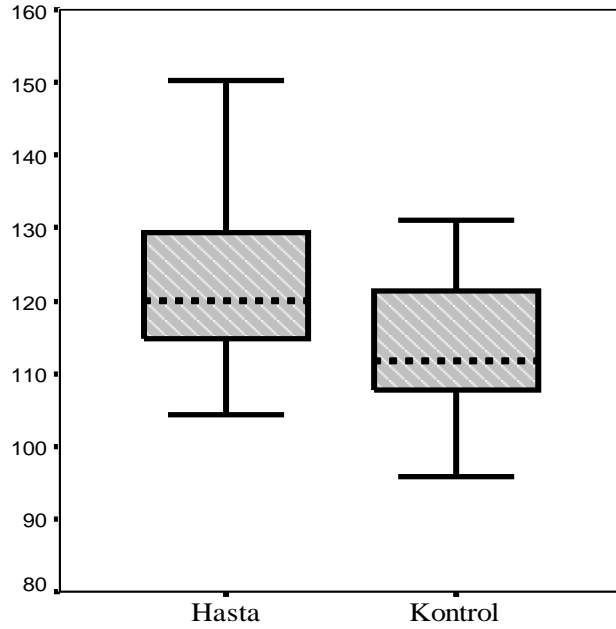
Oksidatif stresin önemli bir belirteci olan Oksidatif Stres İndeksi (OSI), TOS seviyelerinin TAS seviyelerine oranının yüzde derecesidir. Örneklerde OSI hesaplanırken TAS seviyesinin birimi ile TOS seviyesinin birimlerinin eşitlenmesi gerekmektedir (100,101). Sonuçlar Arbitrary Units (AU) olarak ifade edilir.

$$\text{OSI} = \frac{\text{TOS, } \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv. / L.}}{\text{TAS, } \mu\text{mol trolox Equiv. / L.}} * 100$$

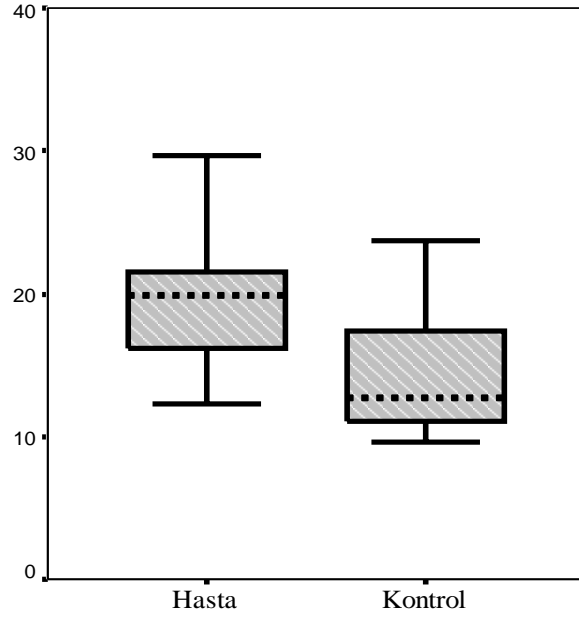
4.BULGULAR

Suriye’de 2011 yılında başlayan iç savaş 20,5 milyon Suriyeliden 2 milyondan fazlasının Türkiye’ye sığınmasına neden olmuştur. İlimize sığınan Suriyeliler için kurulan çadırkamplardan biri olan Akçakale Süleymanşah Konaklama Tesisleri 2012 yılından itibaren Suriyeli misafirler için hizmet vermeye başlamıştır.

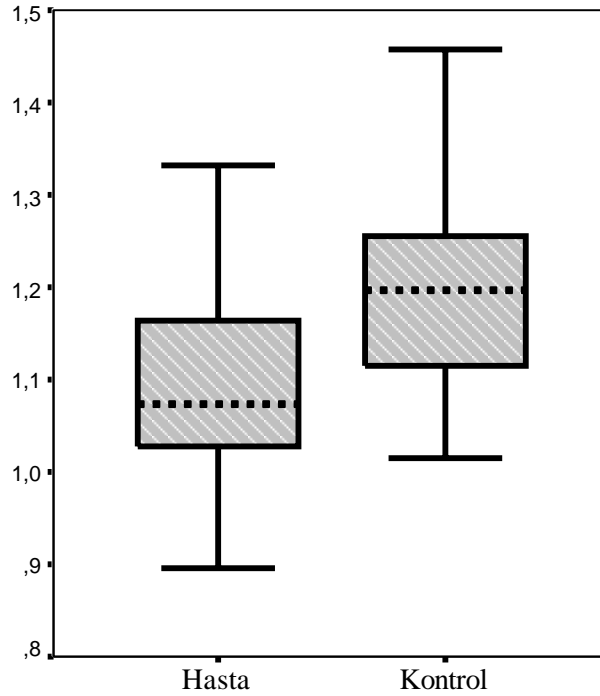
Çalışmamızda kampta ikamet eden; leishmaniasis tanısı alan 35 çocuk ve leishmaniasis öyküsü olmayan 35 sağlıklı çocuk olmak üzere toplam 70 kişiden kan örnekleri alınmıştır. Hasta ve kontrol grubunun bulguları istatistiksel olarak karşılaştırıldı.



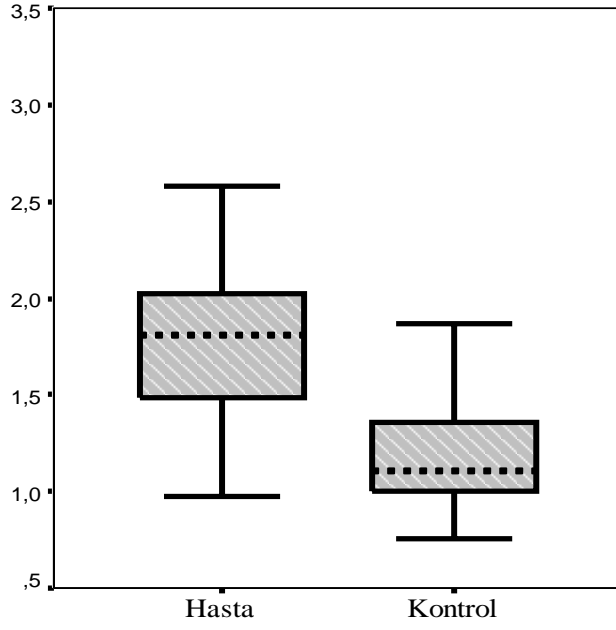
Şekil 5: Hasta ve kontrol gruplarının serum örneklerinde Adenozin Deaminaz Enzimi arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları



Şekil 6: Hasta ve kontrol gruplarının serum örneklerinde Toplam Oksidan Seviye arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları



Şekil 7: Hasta ve kontrol gruplarının serum örneklerinde Toplam Antioksidan Seviye arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları



Şekil 8: Hasta ve kontrol gruplarının serum örneklerinde Oksidatif Stres İndeksi arasındaki fark, dağılım ve standart sapmaları

Tablo 2: Hasta ve kontrol grupları arasındaki Oksidatif Stres ve ADA Enzimi Düzeyleri

	Hasta (n: 35)	Kontrol (n: 35)	<i>p</i>
TAS, mmol troloxEq./L	1,09 ± 0,11	1,19 ± 0,11	< 0,001
TOS, µmol H₂O₂ Eq./L	19,76 ± 4,93	14,55 ± 4,18	< 0,001
OSİ, ArbitraryUnit	1,82 ± 0,49	1,21 ± 0,33	< 0,001
ADA, U/L	121,38 ± 11,76	113,26 ± 8,99	0,002

Tablo 2 'deki bulgulara göre; hastaların oksidan parametreleri olan TOS, istatistiksel olarak önemli ölçüde yükseklik saptandı (19,76 ± 4,93). Buna karşın hastaların antioksidan parametreleri olan TAS düzeyleri düşük bulundu (1,09 ± 0,11).

Hasta grubunda kontrol grubuna göre Total Oksidan Seviyenin artması ve Total Antioksidan Seviyenin azalmasına bağlı olarak Oksidatif Stres İndeksinde (OSI) artma

görülmektedir. Başka bir deyişle hasta gruplarında oksidanlar artarken antioksidan cevap yetersiz kalmakta ve oksidatif stres gelişmektedir.

Leishmaniasis hasta grubunda ortalama ADA düzeyleri ($121,38 \pm 11,76$) ile kontrol grubu ($113,26 \pm 8,99$) ile karşılaştırıldığında hasta grubunda yükseklik saptandı.



5.TARTIŞMA

Ülkemizin ılıman iklime sahip olması, sosyokültürel olumsuzluklar gibi faktörler paraziter hastalıklarının görülmesinde önemli rol oynarlar. Bu durumlar vektör veya konak olabilecek canlıların yaşamlarını sürdürebilmeleri için uygun ortamlar oluşturabilmektedir. Bu anlamda, ülkemiz için önemli parazit hastalıklarından birisi de leishmaniasistir. Alt yapının yetersizliği gibi çevresel etkenler, iklim değişiklikleri, kentlere göç gibi çeşitli sebepler leishmaniasis olgularında artışa yol açmaktadır. Bu da leishmaniasisin kontrolünü güçleştirmektedir. Bu gibi etkenler vektörün yaşamını olumlu yönde etkileyip popülasyonunun artmasına ve böylece daha fazla insanın bu tatarcıklardan etkilenmesine sebep olmaktadır. Seyahatlerin kolaylaşması ve artması yeni odakların ortaya çıkmasına sebebiyet vermektedir (43). Leishmaniasis, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından belirlenen en mühim tropikal hastalıklar arasında bulunan altı hastalıktan birisidir.

Enfekte dişi tatarcıklar kan emerken leishmania cinsi protozoan parazitleri memeli konaklara bulaştırırlar ve bunun sonucunda meydana gelen hastalığa leishmaniasis denir. Leishmania parazitlerin evriminde iki ayrı form görülmektedir. Bunlardan biri omurgalı vücudunda bulunan oval yada yuvarlak görünümde, kamçısız şekli 2-4 µm büyüklüğünde, hücre içi paraziti olan amastigot, diğeri ise omurgasız vücudunda bulunan, kamçılı, 10 µm uzunluğa 1,5-2,5 µm genişliğinde, hücre dışı paraziti olan promastigot formları şeklindedir.

Leishmania klinik tablosu; KL, VL ve MKL diye sınıflandırılır (9,10). En fazla rastlanan form olan KL, dünya çapındaki vakaların %95'inin sebebidir. KL vakalarına daha sık Amerika Kıtaları, Akdeniz Havzası, Orta Doğu ve Orta Asya 'da rastlandığı bilinmektedir. İsrail, Türkiye, Türkmenistan ve Özbekistan leishmaniasisten en çok etkilenmiş ülkeler olarak bilinmektedir. DSÖ Avrupa Bölgesi'nde rastlanan etkenlerin büyük bir kısmını; *L. infantum*, *L. tropica* ve *L. major* oluşturur. Avrupa'da KL için temel vektörler *Phlebotomus sergenti* ve *Ph. papatasi*dir. VL, Doğu Afrika ve Hint yarımadasında yaygın olarak görülür. Avrupa'da VL'e genellikle *L. infantum* sebep olmaktadır. MKL vakalarının % 90'ı Brezilya, Peru ve Çok Uluslu Bolivya Devleti'nden bildirilmektedir (102). ADA, pürin nükleotid katabolizmasında görev alan, adenozin ile deoksiadenozini; inozin ve deoksiinozine dönüşümünü tetikleyen enzimdir (53). ADA aktivitesinin lenfositler ve makrofajlarda en yüksek düzeyde bulunur. T lenfositlerde B lenfositlere göre, T4 lenfositlerde de T8 lenfositlere göre daha fazla ADA aktivitesi bulunur (52).

Adenozin, sitokin sentezini ve nötrofil fonksiyonlarını baskılamak sureti ile inflamasyonu inhibe ederek immun-modülatör bir rol oynar (103). ADA, adenozini parçalayarak inflamasyonu arttırıcı bir etki de gösterir. ADA aktivitesi T lenfositlerin antijenik uyarıya yanıt vermesi sırasında artar. Bu nedenle bu enzim T lenfosit aktivasyonu ile hücrel immüitenin özgün olmayan bir belirteci diye bilinir (57).

1995 yılında yapılan bir çalışmada leishmaniasis hastalarında serum ADA enzim aktivitesi araştırılmıştır. Araştırmaya hasta grubu; yaşları 14-50 arası değişen, ilaç kullanımına başlamış olan kişiler, kontrol grubuna ise yaşları 11-40 olan kişiler dahil edilmiştir. Çalışmanın sonucuna göre, Leishmaniasis hastalarında ADA aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. ADA aktivitesinin yüksekliğinin lenfositer kaynaklı olabilme ihtimali düşünülmüştür. Ayrıca yapılan çalışmada ADA aktivitesi ile, hastanın yaşı, hastalığın süresi, lökosit, granülosit, lenfosit, monosit ve periferik yayma yüzde değerleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (104).

Biz çalışmamızda Leishmaniasis çocuk hastalarında ADA parametrelerini değerlendirmeyi amaçladık. Çalışmamızda hasta ve kontrol grubu 4-16 yaş aralığından seçilmiştir. Çalışmanın sonucuna göre hasta grubunda ADA düzeylerini kontrol grubuna göre yukarıdaki çalışma ile uyumlu olarak istatistiksel açıdan anlamlı oranda yüksek bulduk. Bizim sonuçlarımızda leishmaniasisli hastalardaki ADA yüksekliğinin lenfositer kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir.

Sağlıklı bir organizmada toplam oksidan ve antioksidan düzeyleri bir denge halindedir. Organizmada normal fizyolojik olaylar sırasında gelişen ya da çevresel zararlı ajanlara maruz kalınmasıyla ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri belirli düzeyi aşarsa veya antioksidanlar yetersiz kalırsa denge oksidanlar lehine bozulursa oksidatif stres ortaya çıkar (105).

Çesitli yayınlarda birçok patofizyolojik olayın altında artmış serbest oksijen radikallerinin üretiminin olduğu kabul edilmektedir. Artmış serbest oksijen radikalleri oksidatif stres oluşturmakta ve buna bağlı olarak hücrel proliferasyonda çeşitli seviyelerde hasarlar meydana gelmektedir (106,107,108). Oksidatif stres leishmaniasisin etyopatogenezinde de rol alıyor olabilir.

Vektörle bulaşan hastalıklarla ilgili yapılan çalışmalarda oksidatif stresin arttığını gösteren çalışmalar vardır. Bununla ilgili hastalıklarda oksidatif stres ile ilgili parametrelerin sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir (109).

Biz çalışmamızda; leishmaniasis hastalarında oksidatif stres parametreleri arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık. Çalışma sonucunda; hastaların oksidan parametreleri olan TOS düzeylerinde artış buna karşın hastaların antioksidan parametreleri olan TAS düzeyleri ise düşük bulunmuştur. Hasta grubunda kontrol grubuna göre total oksidan seviyenin artması ve total antioksidan seviyenin azalmasına bağlı olarak oksidatif stres indeksi (OSI) artma görülmektedir. Leishmaniasisin organizmada oksidatif stres yaratan bir durum olduğu düşünülebilir.

SOR; eozinofil, nötrofil, lenfosit gibi inflamatuvar hücrelerden salındığı zaman inflamasyon bölgesindeki doku hasarında da rol oynar (110). Oksidatif stres seviyesi süperoksit anyonlarını, indirgeyen süperoksit dismutaz (SOD) gibi enzimatik antioksidanları da içeren endojen antioksidan sistemler tarafından düzenlenir. Katalaz ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) her ikisi de hidrojen peroksiti (H_2O_2) detoksifiye eder. Glutatyon (GSH) redoks sistem, bilirubin, serüloplazmin, transferrin ve albümin gibi non-enzimatik antioksidanlar ile A (beta-karoten), C (askorbik asit), E (alfa-tokoferol) vitaminleri gibi ROS-aracılı serbest radikalleri inaktive eden özellikleri ile hücresel hasara karşı koruyacak olan eksojen antioksidanlar da bulunmaktadır (111,112).

Total oksidan/antioksidan seviye ölçümü, oksidanların/antioksidanların tek tek ölçülmesinden daha önemli bilgiler verebilmektedir. Bu nedenle kanın oksidan/antioksidan seviyesini belirlenmesinde bireysel oksidanlardan/antioksidanlardan ziyade bunların total değerlerini veren TOS/TAS ölçümü yaygınlaşmıştır. Çalışmamızda, Erel tarafından son yıllarda geliştirilen, birçok çalışmada pratik ve güvenilir yöntemler olduğu gösterilmiş olan total oksidan/antioksidan seviye ölçüm yöntemlerini kullandık (13). Leishmaniasis hastalarında ADA ve oksidatif stres parametrelerini araştırmaya yönelik çalışmamızın sonucuna göre;

Leishmaniasis tanısı alan hastalarda ADA enzim seviyesi kontrol grubuna göre artış göstermiştir. ADA aktivitesinin yüksekliği hastalığın lokal tutulum gösterdiği ancak sistemik etkiye sahip olduğunu düşünebiliriz. Bu nedenle ADA aktivitesi hastalığın, etyolojisinde, prognozunda, patogenezin izahında, immün durumun tespitinde ve tedavi takibinde yararlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Oksidatif stres; leishmaniasis hastalarında oksidanlar artarken antioksidan cevap yetersiz kalmakta ve oksidatif stres gelişmektedir. Leishmaniasisin etyopatogenezi ve prognozunun belirlenmesinde oksidatif stres parametreleri fayda sağlayabilir.

6.SONUÇ

Mevcut tez çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgular ışığında, Leishmaniasisli çocuk hastalarda ADA seviyelerinin ve oksidatif stres indeksinin oldukça yükseldiğini gördük. Leishmaniasis de granümatöz yaraların oluşum ve progresyonunda özellikle lenfosit proliferasyonunun oldukça fazla olması bu hastalarda ADA aktivitesinin oldukça yüksek bulunmasını açıklamaktadır. Ayrıca oksidatif stres indeksinin yükselmesi de Leishmaniasisin vücutta oksidanları artırarak antioksidanları harcayarak azalttığını göstermektedir.

Sonuçlarımıza göre bu hastalarda ADA aktivitesinin özellikle KL'in patolojik progresyonunda artarak hastalığın kliniksel olarak devam ve ilerlemesi hususunda fikir vermesi bakımından kullanışlı olabileceğini göstermektedir. Fakat sonuçlarımızın uzun süreli ve detaylı ileri çalışmalarla teyit edilerek sunulması bilimsel literature daha önemli ve daha büyük katkılar sağlayacaktır.

7.KAYNAKLAR

1. Unat Ek. Leyişmanyoz'ların Tarihçesi. "Leishmaniasis". Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını 1981; 1-9.
2. Cochrane CG: Cellular injury by oxidants. Am. J med. 1991; 92: 235-305.
3. Chopineau J, Sommier Mf, Sautou V: Evaluation of free radical production in an ischemia – reperfusion model in the rabbit using a tourniquet. J Pharm Pharmacol 1994; 46: 519-520.
4. Andreoli SP: reactive oxygen molecules, oxidant injury and renal disease. Pediatr Nephrol 1991; 5: 733 -742.
5. Poli G: Liver Damage due to free radicals: Br Med Bulletin 1993; 49: 604-620.
6. Unat EK, Yücel A, Altaş K, Samastı M, Unat'ın Tıp Parazitolojisi İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları İstanbul 1991; 9-570.
7. Ak M, Özbek Y, Özensoy S, Turgay N, Visceral Leishmaniasis. İmmün Yetmezlikte Önemli Artan Parazit Hastalıkları. Editör Özcel M.A. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları. Ege Üniversitesi Basım Evi – Bornova, İzmir, 1995; 69-107.
8. Desjeux, P. Leishmaniasis: Current Situation and New Perspectives. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 2004; 27(5): 18-305.
9. Altıntaş N., Leishmaniasis, GAP ve Parazit Hastalıkları Türkiye Parazitoloji Der. Yayını, Ege Üniversitesi Basımevi, 1993; 8-120.
10. Yaşarol Ş., Medicol Parazitoloji, Ege Üniversitesi Matbaası, 1984; 50-71.
11. Unat EK, Yücel A, Altaş K, Samastı M, Unat'ın Tıp Parazitolojisi 5. Baskı İstanbul; Doyuran Matbaası, 1995; 564-586.
12. Özbek Y, Leishmaniasis, Özcel MA. Tıbbi Parazit Hastalıkları. 1. Baskı, İzmir: Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, 2007; 198-230.
13. Aksoy N, Vural H, Sabuncu T, Aksoy S. Effects of melatonin on oxidative-antioxidative status of tissues in streptozotocin-induced diabetic rats. Cell Biochem Funct 2003; 21:5-121.
14. Weigle KA, Valderlamal, Arias Aa, Santrica C, Saravia Ng. Leishmanianin Standardization and evaluation of safety, dose, storage, longevity of reaction and sensitization. Am Journal Tropical Medical Hygiene. 1991; 44: 260-271.
15. Centers for disease Control and Prevention web sayfası <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/html/leishmaniasis.htm>

16. İa A. Kpeklerde leishmaniasis. Erciyes niv. Vet. Fak. Derg. 2004; 119-124.
17. Martinez S, Marr JJ, Allopurinol in the treatment of American Cutaneous Leishmaniasis the New England Journal of Medicine. 1992; 326(11): 4-74.
18. Gramiccia, M. Gradoni, L. The Leishmaniasis of Southern Europe. In Emerging Pests and vector - Borne Diseases in Europe, Takken Wand Knols B.G.J. (eds). Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, 2007; 75-95.
19. Unat EK, Yaşarol ř. Leishmaniazis: Kala-azar ve şark ıbanı Ege niversitesi Matbaası Bornova - İzmır,1981; 1-45.
20. Molyneux, Dolt, and Killick - Kendrick, R., Morphology, Ultra structure and Life Cycles The Leishmaniasis Biology and Medicine, Eds. Petters, W., Killick - Kendrick, R. 1987; 121-175.
21. Alptekin D, Kasap M, Luleyap U, Kasap H, Aksoy S, Wilson ML, Sand Flies (Dİptera: Psychodidae) associated with epidemic cutaneous leishmaniasis in şanlıurfa, Turkey. J Med Entomol 1999; 36: 277-81.
22. Gurel MS, Ulu Kanlıgil M, zbilge H, Cutaneous Leishmaniasis in şanlıurfa: epidemiologic and clinical features of the last four years. Int. J Dermatol (Cross Ref) (1997-2000); 200, 41: 7-32.
23. Uzun S, Durdu M, Culha G, Allah verdiyev A, Memiřođlu H, Clinical features, epidemiology, and efficacy and safety of intralesional antimony treatment of cutaneous leishmaniasis: recent experience in Turkey. J Parasitol (Cross Ref) 2004; 90: 9-853.
24. Deđer S, Yaman M, Van Yresi, Phelebotaminae Trleri. YY Vet. Fak. Der. 2005; 16(1): 55-59.
25. Markle H, Makhoul K, Cutaneous leishmaniasis; recognition and treatment American Family Physican 2004; 64: 60-1455.
26. Alten B ađlar S, Vektr Ekolojisi ve Mcadelesi Sağlık Bakanlığı Ankara 1998; 189-205.
27. Merdnencia., Medical Entomoloji, İst. niv. Cerr. Tıp Fak. Yayın No: 74, 1981; 117-123.
28. zcel M, GAP'ı Tehdit eden parazit hastalıkları Ege n. Basımevi 1995; 97-131.
29. Pintado V, martin - Rabadan P, Rivera ML, Moreno S, Bouza E. Visceral leishmaniasis in human immuno deficiency virus (HIV)-infected and non-HIV-infected patients. A comparative Study Medicine 2001; 80 (1): 54-73.

30. Desjeux P. Leishmaniasis. Public health aspects and control. Review. Clinics in Dermatol 1996; 14: 417-423.
31. Bodur H, Korkmaz M, Akıncı E, Çolpan A, Erbay A. Visseral Layşmanyoz Klinik Dergisi; 2003; 2: 7-95.
32. Kuman, H.A. Altıntaş, N. "Protozoon Hastalıkları" İzmir, Ege Üni. Basımevi, 1996; 79-100.
33. Özensoy S, Korkmaz M, Özbel, Y, Ertabaklar, H. Rastgeldi, S. Karaburun ve Urfa Bölgesindeki Zoonotik Visseral Leishmaniasis. Türkiye Parazitolojisi Dergisi; 2002; 26(3): 38-234.
34. Polat E, Aygün G, Aklon M, Aksın E.d, Yıldırım A, Altaş K, Bir Visseral Leishmaniasis olgusu. Türkiye Parazitolojisi Dergisi, 2003; 27(1): 4-5.
35. Montalban, C., Calleja, J. L., Erice, A., et al. Visceral leishmaniasis in patient infected with human immunodeficiency virus. Co-operative Group for the study of leishmaniasis in AIDS. J Infect, 1990; 21: 70-261.
36. WHO., "Report on consultative meeting on HIV/ Leishmania co-infections", cosponsored by the Istituto Superiore di Sanita and the World Health Organization, Rome, 1994; 35-95.
37. WHO "Report of a WHO expert committee". Control of the Leishmaniasis, 1990; 793.
38. Jopling, W. H. Long incubation period in Kala-azar. Br Med J. 1955; 2(4946): 1013.
39. Stone, H. H., Toll, C. D., Pugsley, W. S. Kala-azar (Visceral Leishmaniasis): Report of a case with 34 month incubation period and positive Doan- Wright test. Ann Intern Med, 1952; 36: 93-686.
40. Bryceson, A. D. M. Leishmaniasis. In: Cook G.C. (Ed). "Manson's Tropical Diseases". 20th Ed. WB. Saunders Comp, 1996; 45-1213.
41. Marsden, P. D. Mucocutaneous Leishmaniasis. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1986; 80: 859-76.
42. Walton, B. C. American cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. In: Peters W. & Killick Kendrick R. (Eds). "The Leishmaniasis in Biology and Medicine". Orlando: Academic Press, Vol 2: 1987; 61-638.
43. Uzun G, Buzgan T. Şark Çıbanı. Sağlık Bakanlığı yayınları, Ankara 2005; 1- 11.

44. Romero GAS, Sampaio RNR, Macedo VO, Marsden PD. Sensitivity of lymph node aspiration in localized cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania braziliensis*. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 1999; 94: 11-509.
45. Martinez P, Vega E, Laguna F, Soriano V. Diagnosis of VL in HIV infected individuals using peripheral blood smears. AIDS 1993; 7: 30-227.
46. Singh S, Simakumar R. Recent advances in the diagnosis of leishmaniasis. J Postgrad Med 2003; 49: 55-60.
47. Singh S. New Developments in diagnosis of leishmaniasis. Indian J Med Res. 2006; 123: 41-330.
48. Zijlstra EE, el-Hassan AM. Leishmaniasis in Sudan. Visceral leishmaniasis. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 2001; 95 (Suppl.) 1: 27-58.
49. Turgay N. Leishmaniasis kliniği ve immünolojisi. 32. Türk mikrobiyoloji kongre kitabı, 2006; 14-113.
50. Uzun S. Kutanöz leishmaniasis Tanı ve Tedavisi: Pratik Yaklaşımlar Dermatose 2002; 1(4): 32-38.
51. Genetick homereferance, your guide to understanding genetic conditions. <http://ghr.nlm.nih.gov>
52. Russo, M, Giancane R, Apice G. Adenosine deaminase and pürine nucleoside hosphorylase activities in peripherallymphocytes from patients with solid tumors. Brit J. Cancer 1981; 43-196.
53. Sauer A, Brigida I, Carriglio N, Aiuti A. Auto immun edysregulation and purine metabolism in adenosine deaminase deficiency. Front Immunol 2012; 3:1-19.
54. Bloom GE. Leukocyte adenosine deaminase phenotypesina cute leukemia. Cancer 1972; 29: 60-1357.
55. Tomizawa K, Tanaka H, Kumakiri M, Ohkawara A. Clinical significance of serum adenosine deaminase activity in patients with mycosis fungoides. J Dermatol 1993; 20: 9-394.
56. BALIS, M.E. Adenosine deaminase and Malignant Cells. Annals New York Academy of Sciences, 1985; 45: 142-149.
57. Ateş Y, Ergün H, Tüzün A ve ark. Ailesel Akdeniz ateşi olan hastalarda lenfosit alt grupları ve serum adenozin deaminaz düzeyleri. Akademik Gastroenteroloji Dergisi 2005; 4: 6-112.

58. Ungerer JP, Oosthuizen HM, Bissbort SH, Vermaak WJ. Serum adenosine deaminase: isoenzymes and diagnostic application. *Clin Chem* 1992; 38: 6-1322.
59. Dolezal T. Adenosine deaminase review of physiological roles 2001. Available from: URL: <http://www.entu.cas.cz/fyziol/seminars/ada.htm>
60. Sauer A, Brigida I, Carriglio N, Aiuti A. Auto immunedysregulation and purine metabolism in adenosine deaminase deficiency. *Front Immunol* 2012; 3: 1–19.
61. Her shfield MS, Kredich NM, Ownby DR, Ownby H, Buckley R. In vivo in activation of erythrocyte S-adenosylhomocysteinehydrolase by 2'-deoxyadenosine in adenosine deaminase-deficient patients. *J Clin Invest* 1979; 63(4): 11-807.
62. Hirschhorn R, Nicknam MN, Eng F, Yang DR, Borkowsky W. Novel deletion and a new missense mutation (Glu 217 Lys) at the catalytic site in two adenosine deaminase alleles of a patient with neonatal onset adenosine deaminase- severe combined immunodeficiency. *J Immunol* 1992; 149(9): 12-3107.
63. Kuppusamy UR, Dharmani M, Kanthimathi MS, Indran M. Antioxidant enzyme activities of human peripheral blood mononuclear cell exposed to trace elements. *Biol Trace Elem Res.* 2005; 106: 29–40.
64. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as bio markers of tissue damage. *Clin Chem.* 1995; 41: 28-1819.
65. Meister A. Glutathione A scorbate and cell cycle regulation *FEBBS letters.* 1994:1–4.
66. Southorn P, Powis G. Free radical in medicine I. Chemical nature and biological reactions. *J. Mayo Clin. Proc.* 1988; 63 (3): 8-381.
67. Aydemir B, Kızıler AR, Onaran I, et al. Impact of Cu and Fe concentrations on oxidative damage in male in fertility. *Biol Trace Elem Res.* 2006; 112: 193-204.
68. Minnet C. Çocukluk çağında B12 vitamin eksikliğinin oksidan-antioksidan sistem ve DNA hasarı ile ilişkisi. Uzmanlık tezi, 2006.
69. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi.* 2002; 33: 110-118.
70. Akkuş I. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya; Mimoza yayınları, 1995; 4-42.
71. Yamamoto Y. Role of active oxygen species and antioxidants in photoaging. *Journal of Dermatological Science.* 2001; 27: 1-4.

72. Baykal Y, Gök F, Erikçi S. Demir, serbest radikaller ve oksidatif hasar. Sendrom. 2002; 14(1): 94-100.
73. Shi X, Dong Z, Huang C et al. The role of hydroxyl radical as a messenger in the activation of nuclear transcription factor NF- kappa B. Mol Cell Bio chem. 1999; 194: 63-70.
74. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical bio chemistry, Br.Med. Bull.1993; 481-493.
75. Ball S, Weindruch R, Walford L. Antioxidant sand immun response. J. Free radicals, Agingand Dejenervative Diseases. 1986; 427-456.
76. Mc Cord JM: Human disease, free radicals and the oxidant / antioxidant balance. Clin Biochem 1993; 26: 7-351.
77. Ripine JE, Bast A, Lank harst. Lipids and The Oxidative Strees Study Group: Oxidative stres in chronic obstructive pulmonary disease. J Respir Crit Care Med.; 1997; 156: 7-341.
78. Asad SF, Singh S, Ahmad A. Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and its metabolic precursor biliverdin: a structure - activitystudy. Chem Bio IInteract; 2001; 137: 59-74.
79. Steenken S. Purine bases, nucleosides, and nucleotides: aque oussolution redox chemistry and trans formation reactions of their radical cations and e- and OH adducts. J. Chem. Rev.; 1989; 89(24): 503-520.
80. Ames, B.N., Shigenaga, M. K., Hagen, T. M., Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proc Natl Acad Sci U S A., 1993; 90(17): 22-7915.
81. Frei, B., Stocker, R., Amans, B., Antioxidant defenses and lipit peroxidation in human blood plasma. Proc. Natl. Acad SCI USA, 1988; 85: 9748- 9752.
82. Bast, A., Haenen, G. R. M. M., Cees, J. A. D., Oxidants and antioxidants: State of the art. The American Journal of Medicine, 1997; 91, (Supll 3C),30,3C-2S_3C-13S.
83. Gutteridge JMC, Halliwell B. Antioxidants in nutrition, healt hand disease. 1st ed. New York. Oxford University Press. 1994.
84. Buonocore G, Perrone S, Bracci R. Free radical sand brain damage in the new born. Biol Neonate. 2001; 79: 6-180.
85. Buhimschi IA, Buhimshi CS, Pupkin M. Beneficialim pact of termlabor: non enzymatic antioxidant reserve in the human fetus. Am J Obstet Gynecol. 2003; 189: 8-181.

86. Scandalios JG. Therise of Ros. Trends in Bio Chemical Sciences. 2002; 27: 6-483.
87. Seven A, İnci F, Civelek S, Burçak G, İnci E, Korkut N. Larenks Kanserli Olgularda Lipid Peroksidasyon ve Antioksidan Statü Göstergelerinin Dokuda incelenmesi. Türk ORL Arsivi 1998; 36: 6-33.
88. Ceballos L, Triver JM, Nicole A. Age corralated modifications of cupper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activies in human erythrocytes. J. Clin. Chem. 1992; 36(1): 66–70.
89. Smith EL, Hill RL, Lehmal R. Principle of biochemistry. 7th cd- Mc Braw Hill, inc. USA. 1983; 382 – 383.
90. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harpers bio chemistry. 2nd edition. Typo.1991.
91. Notarjan D. Oxidants and signol trans duction in vaslerendot helium. J. Clin. Med. 1994; 125(35): 26–37.
92. Schou M, Amdisen A, Jensen SE, Olsen T. Occurrence of goitreduring lithium treatment. Br Med J., 1968; 3: 3-710.
93. Burton G, Traber M. Antioxidant saction of carotenoids. J. Nutr. 1989; 119(6): 11-109.
94. Makarov VG, Makarova M, Selezneva AI. Studying the mechanism of antioxidant
95. Vural, H., Aksoy, N., Arslan S. O., Bozer M. Effects of vitamin E and selenium on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in colon of methylazoxy methanol treatedrats. Clinical Chemistryand Laboratory Medicine, 2000; 38(10): 3-1051.
96. Guisti, G. Adenosine Deaminase. Bergmeyer H.U. Ed. Methods of Enzymatic Analysis 3rd. English Ed. Academic Press New York 1974; 109-1092.
97. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. Clin Biochem 2005; 38(12): 11-1103.
98. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidantcapacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. Clinical Biochemistry. 37, 2004; 277–285.
99. Erel O. A new auto mated colorimetric method for me asuring total oxidantstatus. J. Clinical J. Clinical Bio chemistry 2005; 47: 29-119.
100. Aycicek A, Erel O, Kocyigit A Increased oxidative stres in infants exposed o passive smoking. Eur J Pediatr 2005; 164:775–778.

101. Aycicek A., Varma M., Ahmet K., Abdurrahim K., Erel O. Maternal active or passive smoking causes oxidative stress in placental tissue. *Eur J Pediatr.* 2011; 170 (5): 51-645.
102. DSÖ Avrupa Bölgesi'nde Leishmaniasis durumu URL: <http://bhsm.gov.tr/galeri/dokuman/Leishmaniasis-tr.pdf>
103. Cronstein BN. Adenosine, an endogenous anti-inflammatory agent. *J Appl Physiol* 1994; 76(1): 5–13.
104. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Fakültesi, Kimya Anabilim Dalı “Şark Çıbanı Hastalarında Serum Adenozin Deaminaz Enzim Aktivitesi” Muhammed Sait OKUMUŞ. Yüksek Lisans Tezi ŞANLIURFA – 1995; 29-34
105. Aksoy N, nutrition res. 2012
106. Birn boim HC. DNA strand breakage in human leukocytes exposed to a tumor promoter phorbol myristate acetate. *J. Mutat. Res.* 1982; 215: 1247–1249.
107. Rikans LE, Hornbrook LR. Lipid peroxidation, antioxidant and aging. *J. Biochim Biophys Acta* 1997; 1362(1): 27-116.
108. Fenn WO, Gerschman R, Gilbert DC. Mutagenic effects of high oxygen tension on *E. coli*. *Proc Natl Acad Sc* 1957; 43: 32-1027.
109. Harran Üniversitesi, Sağlık Bilimler Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, “Sıtma Hastalarında Lökositlerin Oksidatif Stresinin Araştırılması” Abdullah TAŞKIN. Yüksek Lisans Tezi 2010; 78-81.
110. Picado C, Deulofen R, Lleonart R, et al. Dietary micronutrient- sand their relationship with bronchial asthma severity. *Allergy* 2001; 56: 9-43.
111. Barnes PJ. Reactive oxygen species and airway inflammation. *Free Rad Biol Med.* 1990; 9: 43-235.
112. Vural H, Aksoy N, Ceylan E, et al. Leuko cyte oxidant and antioxidant status in asthmatic patients. *Arch Med Res* 2005; 36: 6-502.