T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

KİSTİK EKİNOKKOZİSLİ HASTALARDA ADENOZİN DEAMİNAZ,5'-NÜKLEOTİDAZ AKTİVİTELERİ, TOTAL ANTİOKSİDAN KAPASİTE VE TOTAL OKSİDAN SEVİYELERİNİN BİRLİKTE DEĞERLENDİRİLMESİ VE OKSİDATİF STRES İNDEKSİNİN ORTAYA KONULMASI

Hazırlayan
Saadet KOÇ ENGİN

Danışman
Prof. Dr. Eser KILIÇ

Yüksek Lisans Tezi

Ekim 2016
KAYSERİ

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

KİSTİK EKİNOKKOZİSLİ HASTALARDA ADENOZİN DEAMİNAZ,5'-NÜKLEOTİDAZ AKTİVİTELERİ, TOTAL ANTİOKSİDAN KAPASİTE VE TOTAL OKSİDAN SEVİYELERİNİN BİRLİKTE DEĞERLENDİRİLMESİ VE OKSİDATİF STRES İNDEKSİNİN ORTAYA KONULMASI

Hazırlayan
Saadet KOÇ ENGİN

Danışman
Prof. Dr. Eser KILIÇ

Yüksek Lisans Tezi

Bu Çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma projeleri Birimi Tarafından TYL-2014-5457 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Ekim 2016
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim.Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi,bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı:Saadet KOÇ ENGİN

İmza:

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

"Kistik Ekinokkozisli Hastalarda Adenozin Deaminaz, 5'-Nükleotidaz Aktiviteleri, Total Antioksidan Kapasite ve Total Oksidan Seviyelerinin Birlikte Değerlendirilmesi ve Oksidatif Stres İndeksinin Ortaya Konulması" Adlı **Yüksek Lisans Tezi**, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan	**Danışman**
Saadet KOÇ ENGİN	Prof.Dr.Eser KILIÇ

Tıbbi Biyokimya AD. Başkanı

Prof.Dr. Sabahattin MUHTAROĞLU

Prof.Dr.Eser KILIÇ danışmanlığında **Saadet KOÇ ENGİN** tarafından hazırlanan **"Kistik Ekinokkozisli Hastalarda Adenozin Deaminaz,5'-Nükleotidaz Aktiviteleri,Total Antioksidan Kapasite ve Total Oksidan Seviyelerinin Birlikte Değerlendirilmesi ve Oksidatif Stres İndeksinin Ortaya Konulması"** adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Biyokimya** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

…….. /……. /2016

JÜRİ:

Danışman : Prof.Dr.Eser KILIÇ .....

Üye : ....

Üye : ....

Üye : ....

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun …….. tarih ve ……..sayılı kararı ile onaylanmıştır.

……../……../……..

Prof. Dr. Aykut ÖZDARANDELİ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yapılmasında ve yürütülmesinde bilgi ve deneyimlerini aktarıp her türlü desteğini esirgemeyen tez danışmanım Prof .Dr. Eser KILIÇ'a teşekkür ederim.

Çalışmamda kan örnekleri toplama aşamasında yardımcı olan Dr. Merve YÜRÜK'e, istatistiksel analiz aşamasında değerli yardımlarını gördüğüm Sayın Yrd. Doç. Dr. Ferhan ELMALI'ya sonsuz teşekkür ederim.

Evliliğim boyunca bana daima destek olan ve her zaman sabrederek manevi desteğini esirgemeyen değerli eşim Adnan ENGİN'e, çocuklarım Dilara, Ömer Kağan ve Yakup Efe'ye,beni okutarak bugünlere getiren sevgili aileme sonsuz teşekkür ederim.

Saadet KOÇ ENGİN

Kayseri, Ekim 2016

KİSTİK EKİNOKKOZİSLİ HASTALARDA ADENOZİN DEAMİNAZ, 5'NÜKLEOTİDAZ AKTİVİTELERİ, TOTAL ANTİOKSİDAN KAPASİTE VE TOTAL OKSİDAN SEVİYELERİNİN BİRLİKTE DEĞERLENDİRİLMESİ VE OKSİDATİF STRES İNDEKSİNİN ORTAYA KONULMASI

Saadet KOÇ ENGİN

Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi,Ekim2016
Danışman: Prof. Dr. EserKILIÇ

KISA ÖZET

Hidatik kist hastalığı çok uzun yıllardır bilinen ve helmint hastalıkları içinde insan ve hayvan sağlığının yanı sıra, sebep olduğu ekonomik kayıplar nedeniyle güncelliğini korumaya devam eden bir paraziter hastalıktır. Bu çalışmada, *E. Granulosus*'la enfekte bireylerde serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ilişki Total antioksidan seviye (TAS) ve Total oksidan seviye (TOS) durumu birlikte değerlendirilerek oluşan hasarın derecesini, Adenozin deaminaz (ADA) aktivitesi ile immün fonksiyonu ve 5'-nükleotidaz (5'-NT) aktivitesi ile de karaciğer harabiyetinin derecesini ortaya koymayı planladık. ADA aktivitesi hasta grubunda numerik olarak arttığı halde istatistiksel olarak fark görülmedi (p=0,371). Buna karşılık, 5'NT aktivitesi, hasta grubunda numerik olarak azaldığı halde istatistiksel olarak fark görülmedi (p=0,054).TAS hasta grubunda numerik olarak azaldığı halde istatistiksel olarak fark görülmedi (p=0,108). TOS düzeyi ise hasta grubunda numerik olarak arttığı halde istatistiksel olarak fark görülmedi (p=0,166). Yaptığımız çalışmada kistik ekinokoksizli hasta grubunda oksidatif stres indeksinin (OSİ) değeri 108,22, kontrol grubunda OSİ değeri 76,89 olarak bulundu. Çalışmamızda elde edilen 5'NT ve ADA sonuçları hastalığın daha başlangıç evresinde olmasından ve özellikle hasta grubunun ön tanı ile gelen grup şeklinde (erken evre) oluşmuş olmasından ve dolayısıyla karaciğer harabiyetinin henüz başlamamış veya hepatosellüler harabiyet olsa bile kolestaz olmamasından kaynaklanıyor olabileceğini düşündürmektedir. İlaveten hasta grubunda TAS seviyesinde kontrole göre görülen numerik azalma; bunun, endojen antioksidanların hastalıkla birlikte artan oksidanlar tarafından tüketilmesinin bir sonucu olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kistik ekinokokzis,Adenozin deaminaz,5'-nükleotidaz,Total antioksidan kapasite,Total oksidan seviye

INVESTIGATION OF ADENOSINE DEAMINASE, 5'NUCLEOTIDASE ACTIVITIES AND EVALUATION OF TOTAL ANTIOXIDATIVE CAPACITY AND TOTAL OXIDANT LEVELS TOGETHER AND PUTTING THE OXIDATIVE STRESS INDEX VALUE IN PATIENTS WITH CYSTIC ECHINOCOCSIS

Saadet KOÇ ENGİN
Erciyes University, Graduate School of Health Sciences
Department of Medical Biochemistry
M.Sc.Thesis,October 2016
Supervisor: Prof.Dr.EserKILIÇ

ABSTRACT

Hydatid disease known as helminth diseases, because it is effected to human and animal health and in addition it is caused economic losses that continues to maintain its freshness by a parasitic disease for so many years.

In this study, in the *E. granulosus* infected individuals; formation of free radicals is assesed with relationship between oxidant system and defense mechanisms using TAS and TOS status, wich is showing the damage's degree, in addition immune function is assesed with 5'NT activity, ADA activity measurement is also demonstrated the degree of liver damage. ADA activity increased in the patient group numerically although not statistically significant difference (p=0.371). In contrast, the 5'-NT'aktivite, even though numerically reduced in patients showed no statistically significant difference (p=0.054).TAS level in patients, even though numerically reduced statistically significant difference was not observed (p=0.108). TOS level, despite the increase in the patient group numerical difference was not statistically (p=0.166). In our study OSI values observed of 108.22 for patients and 76,89 for the control group respectively. In our study 5'NT and ADA results are showed that the disease is in the initial stage, especially as the group with the diagnosis of patients (early stage) to be formed, and thus have not yet started the hepatic injury or hepatocellular suggest that it may be due to the lack destruction even though cholestasis.. In addition, a decline in TAS level in patients compared to the controls suggests that may be a result of the increased oxidant are consumed by endogenous antioxidants.

KeyWords: Cystic echinococsis,Adenosine deaminase, 5'nucleotidase,Total antioxidative capacity,Total oxidant level

İÇİNDEKİLER

KİSTİK EKİNOKKOZİSLİ HASTALARDA ADENOZİN DEAMİNAZ, 5'NÜKLEOTİDAZ AKTİVİTELERİ, TOTAL ANTİOKSİDAN KAPASİTE VE TOTAL OKSİDAN SEVİYELERİNİN BİRLİKTE DEĞERLENDİRİLMESİ VE OKSİDATİF STRES İNDEKSİNİNORTAYA KONULMASI

Sayfa

İÇ KAPAK ..... **i**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK ..... **ii**

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI ..... **iii**

KABUL VE ONAY ..... **iv**

TEŞEKKÜR ..... **v**

KISA ÖZET ..... **vi**

ABSTRACT ..... **vii**

İÇİNDEKİLER ..... **viii**

KISALTMALAR ..... **xi**

TABLOLAR LİSTESİ ..... **xiv**

ŞEKİLLER LİSTESİ ..... **xv**

1.GİRİŞ VE AMAÇ **1**

2.GENEL BİLGİLER **4**

2.1. PARAZİTİN GENEL TANIMI 5

2.2. EPİDEMİYOLOJİ (YAYGINLIĞI) 6

2.3. YAŞAM SİKLUSU 6

2.4. HİDATİDOZA SEBEB OLAN ECHİNOCOCCUS GRANULOSUS'UN GENEL ÖZELLİKLERİ ..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

2.5. KİSTİK EKİNOKKOZ'DA TANI 10

2.5.1.Tanıda Kullanılan Serolojik Yöntemler 11

2.5.1.1. Kompleman Birleşmesi Deneyi (Weinberg) 11

2.5.1.2. Lateks Aglütinasyon Testi (LA) 12

2.5.1.3. İndirekt Hemaglutinasyon Testi (IHAT) 12
2.5.1.4. İndirekt Floresan Antikor Testi (IFAT) 12
2.5.1.5. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) 13
2.5.1.6. İmmunodiffuzyon (ID) ve İmmünoelektroforez (IE) testleri 13
2.5.1.7. Western Blot (İmmunoblot) 13
2.5.1.8. Dot-ELISA 14
2.5.1.9. Ko-aglütinasyon 14
2.6. PÜRİN NÜKLEOTİDLERİN METABOLİZMASI 15
2.7. PİRİMİDİN NÜKLEOTİDLERİN METABOLİZMASI 18
2.8. ADENOZİN DEAMİNAZ (ADA: ADENOZİN AMİNO HİDROLAZ, E.C. 3.5.4.4.) 18
2.9.5'NÜKLEOTİDAZ (URİDİN 5'-NUCLEOTİDASE E.C. 3.1.3.5) 19
2.10. SERBEST RADİKALLER (SR) 20
2.10.1. Serbest Radikalerin Etkileri 22
2.10.1.1. DNA ve Nükleik Asitlere Etkileri 22
2.10.1.2. Proteinlere Etkileri 23
2.10.1.3. Karbohidratlara Etkileri 23
2.10.1.4. Lipitlere Etkileri 23
2.10.2. Serbest Radikal Oluşumunda Eksojen Faktörler 24
2.10.3. Serbest Radikal Oluşumunda Endojen Faktörler 24
2.11.TOTAL OKSİDAN 27
2.12. ANTİOKSİDANLAR 28
2.12.1. Antioksidan-Oksidan Etkileşimi 29
2.13. TOTAL ANTİOKSİDAN SEVİYE (TAS) 29
2.14. OKSİDATİF STRES İNDEKSİ (OSİ) 30
3. GEREÇ VE YÖNTEM 32
3.1. KULLANILAN HASTA VE KONTROL GRUBUNA AİT ÖZELLİKLER 32
3.2. ADENOZİN DEAMİNAZ (ADA) AKTİVİTESİ TAYİNİ 32

3.3. 5'NÜKLEOTİDAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ 35
3.4. TOTAL ANTİOKSİDANT SEVİYE (TAS) TAYİNİ 37
3.5. TOTAL OKSİDAN SEVİYELERİNİN (TOS) TAYİNİ 39
3.6.OKSİTATİF STRES İNDEKSİ (OSİ) 41
4. BULGULAR 42
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 51
KAYNAKLAR 58
ÖZGEÇMİŞ 73

KISALTMALAR

5’ NT	:5’Nükleotidaz
ADA	:Adenozin Deaminaz
AMP	:Adenozin Monofosfat
ATP	: Adenozin Trifosfat
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
CAT	:Katalaz
CO_2	:Karbondioksit
CT	:Bilgisayarlı Tomografi
DD5	:Double Diffüzyon
Dk	:Dakika
DNA	:Deoksiribonükleik asit
EG	: Echinococcus Granulosus
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ETS	:Elektron Transport Zinciri
GMP	: Guanozin Monofosfat
GP_X	:Glutatyon Peroksidaz
G	:Gram
GR	:Glutatyon Redüktaz
GST	: Glutatyon-S-transferaz
H_2O	:Su
HGPRT	:Hipoksantin-Guanin Fosforibozil Transferaz
HKH	: Hidatik kist hastalığı
HOCl	:Hipokloröz asit
ID	: İmmündiffüzyon
IE	:İmmünoelektroforez
IFAT	:İndirekt İmmümofloresan Testi
IHA	: İndirekt Hemaglutinasyon Testi

IMP	:İnozin Monofosfat
KE	: Kistik Ekinokokkozis
Kg	:Kilogram
LA	:Latex Aglutinasyon Testi
LDL	: Low Density Lipoprotein
Ml	:Mililitre
MR	: Manyetik Resonans Görüntüleme
NADH	: Hidrojenize Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NH_3	:Amonyak
NO_2	:Nitrojen Dioksit
O_2^-	:Süperoksit Radikali
O_3	:Ozon
OH^-	: Hidroksil iyonu
OSİ	: Oksidatif Stres İndeksi
P_i	:İnorganik Fosfat
PMNL	:Polimorfonükleer Lökositler
PRPP	:Fosforibozil pirofosfat
RNA	: Ribonükleik asit
ROM	:Reaktif Oksijen Metabolitleri
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
ROT	:Reaktif Oksijen Türleri
SLE	:Sistemik Lupus Eritematozus
SO_2	:Kükürt Dioksit
SOA	:Serum Oksidan Aktivitesi
SOD	:Süperoksit dismutaz
SR	:Serbest Radikaller
TAK	:Total Antioksidan Kapasite
TAS	:Total Antioksidan Seviye
TOS	:Total Oksidan Seviye

TP	:Total Peroksit
USG	:Ultrasonografi
WB	: Western Blood
Weinberg	:Kompleman Birleşme Testi
XO	:Ksantin Oksidaz
X-ray	: Röntgen

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Artmış reaktif oksijen türevi bileşiklerin vücuttaki zararlı etkileri 26

Tablo 2.2. Sık karşılaşılan radikaller, simgeleri ve kimlikleri..... 28

Tablo 4.1. ADA'da hasta ve kontrol grupların istatistiksel verileri. 42

Tablo 4.2. TAS'da hasta ve kontrol grupların istatistiksel verileri..... 43

Tablo 4.3. 5'NT'de hasta ve kontrol grupların istatistiksel verileri 44

Tablo4.4. TOS'da hasta ve kontrol grupların istatistiksel verileri..... 45

Tablo 4.5. OSİ değerleri 50

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Erişkin Echinococcus granulosus 5

Şekil 2.2. Echinococcus granulosus yumurtası 7

Şekil 2.3. Hidatik kistin yaşam döngüsü 8

Şekil 2.4. Echinococcus granulosus'un a: Erişkin formu b: Olgun halkası c: Gebe halkası 9

Şekil 2.5. Echinococcus spp. yumurtasının yapısı 9

Şekil 2.6. Hidatik kistin yapısı 10

Şekil 2.7. Pürin nükleotidlerinin ürik aside (insanlarda pürin katabolizmasının son ürünü) yıkımı-1 15

Şekil 2.8. Pürin nükleotidlerinin ürik asite (insanlarda pürin katabolizmasının son ürünü) yıkımı-2 16

Şekil 2.9. Serbest radikallerin oluşumu 22

Şekil 3.1. 5'NT aktivitesi standart grafiği 37

Şekil 3.2. TAS standart grafiği. 39

Şekil 3.3. TOS standart grafiği 41

Şekil 4.1.(a): Gruplar arasında ADA aktivitesinin karsılastırılması. 43

Şekil 4.1. (b): Gruplar arasında TAS aktivitesinin karşılaştırılması. 44

Şekil 4.1. (c): Gruplar arasında 5'NT aktivitesinin karşılaştırılması. 45

Şekil 4.1. (d): Gruplar arasında TOS aktivitesinin karşılaştırılması. 46

Şekil 4.2. Hasta grubun, TAS ile 5'NT regrasyon eğrisi 47

Şekil 4.3. Hasta grubun, TAS ile TOS regrasyon eğrisi 47

Şekil 4.4. Hasta grubun, TOS ile 5'NT regrasyon eğrisi 48

Şekil 4.5. Kontrol grubun TAS ile 5'NT regrasyon eğrisi 49

Şekil 4.6. Kontrol grubun TAS ile TOS regrasyon eğrisi 49

Şekil 4.7. Kontrol grubun TOS ile 5'NT regrasyon eğrisi 50

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Kistik ekinokokkoz (hidatidoz), tarım ve hayvancılığın yaygın bir geçim kaynağı olduğu, buna karşın çevre sağlığı ve koruyucu hekimlik önlemlerinin yetersiz kaldığı tüm toplumlarda görülen önemli bir paraziter hastalıktır. Bu hastalık hakkındaki ilk bilgiler Hipokrat'ın hidatik kist keselerini "su kesesi" olarak tanımlamasıyla başlamıştır. İnsanlarla ilişkisi binlerce yıl öncesine dayanan köpekler taşıdıkları zoonoz karakterli parazitlerle insanlar ve diğer hayvanlar için bir tehlike oluşturmaktadır(1).

Paraziter zoonozların en önemlilerinden biri hidatidoz (kistik ekinokokkoz) veya kist hidatik hastalığı olup bu hastalığa yurdumuzun çeşitli bölgelerinde gerek kasaplık hayvanlarda gerekse insanlarda sıkça rastlanılmaktadır. Hidatidoz yüzünden her yıl birçok vatandaşımız çeşitli organlarından ameliyat olmakta, bir kısmıda hayatını kaybetmektedir. Mezbahalarda ise kesilen kasaplık hayvanların başta karaciğer ve akciğer olmak üzere çeşitli organları imha edilmektedir. Ayrıca kistik ekinokokkozlu hayvanların et randımanında sağlıklı olanlara oranla ciddi bir azalma olduğu ve bununda ekonomik kayıplara sebep olduğu bilinmektedir(2,3).

Ekinokokkozis (Hidatik kist hastalığı) çok uzun yıllardır bilinen ve helmint hastalıkları içinde insan ve hayvan sağlığının yanı sıra, sebep olduğu ekonomik kayıplar nedeniyle güncelliğini ve önemini korumaya devam eden bir paraziter hastalıktır(4,5).

Ekinokokkozis ve hidatidozis terimleri ekinokok cinsi sestodların erişkin ve larva (metasestod) şekillerinin yol açtığı zoonotik infeksiyonları tanımlamakta kullanılmaktadır. Ekinokokkozis terimi genellikle E.granulosus ve E.alveolaris için kullanılırken, hidatidozis veya hidatik kist hastalığı terimleri yalnızca metasestod infeksiyonlarını tanımlamaktadır. Yani çok yaygın kullandığımız şekliyle "Hidatik Kist" terimi aslında bir hastalık ismi değil, Echinococcus granulosus'un (EG) yaşam

siklusundaki larva (metasestod) evresidir. Bu nedenle doğru kullanılan şeklinin “Hidatik kist hastalığı” (HKH) olması gerekmektedir(4,5).

Echinococcus granulosus’un larval formunun koyun, sığır gibi otçul hayvanlarda ve insanda yerleşmesi ile ortaya çıkan klinik tabloya HKH adı verilir. Türkiye’de sık olarak görülen HKH’nin yayılışını etkileyen başlıca faktörler halkın kültür seviyesi, bölgenin iklimi, temizlik kurallarına uyulmaması, kaçak ve kontrolsüz kesimlerdir. Bulaşta en önemli rolü kesin konak olan köpekler üstlenmiştir. Gerçekte köpeklerle koyun, sığır gibi otçul hayvanlar arasında oluşan döngünün rastlantısal ara konağı olan insan, köpek dışkısı ile enfekte olmuş gıdalar ve köpekle yakın temasla etkeni alır. Ağız yolu ile alınan yumurtadan çıkan embriyo kan yolu ile dağılır ve uygun yerleşme noktası bulduğunda kist oluşturur. Larvaların neden olduğu kistler başta karaciğer olmak üzere akciğer ve vücudun diğer organlarına veya dokularına yerleşir. Kist içi renksiz, kokusuz, berrak bir sıvı ile doludur ve bu sıvıda protoskoleks olarak adlandırılan milyonlarca küçük larvalar yüzer. 2 Kist duvarı ise içten dışa germinal membran laminar tabaka ve fibrovasküler tabakadan oluşur(6).

Organizmada bulunan antioksidanların toplam etkisini Total Antioksidan Kapasite (TAK), oksidanların toplam etkisini ise Total Oksidan Seviye (TOS) gösterir.Organizmada antioksidan/oksidan durumu antioksidan/oksidan moleküllerin konsantrasyonu ayrı ayrı ölçülerek değerlendirilebilmekle beraber, genel antioksidan/oksidan durum total antioksidan kapasite (TAK) ve total oksidan durumun (TOS) ölçümü ile daha net değerlendirmek mümkün olabilmektedir.

Aynı zamanda, TOS ve TAK ölçümü birlikte değerlendirilerek,vücudun antioksidan savunma gücü belirlenir ve böylece hastalık risklerinin ve hastalıkların muhtemel müdahale sürecine kadar olan ilerleme sürecinin yavaşlatılması ve önlenmesi dahil olmak üzere, TAK açısından zengin yiyeceklerle besinsel müdahaleler gerçekleştirerek hastalıkların zararları en aza indirilebilir hatta ortadan kaldırılabilir. Oksidatif Stresin bir göstergesi olarak gösterilen Oksidatif Stres İndeksi (OSI),Toplam Oksidan Status/Seviye (TOS) düzeylerinin Toplam Antioksidan Status/Seviye (TAS) düzeylerine oranının yüzde derecesi olarak ifade edilir. Örneklerin Oksidatif Stres İndeksi (OSI) hesaplanırken TAS düzeyleri 100 ile çarpılarak TOS düzeyleri ile birimler eşitlenir (7).

Bu çalışmada *E. Granulosus*'la enfekte bireylerde serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ilişki total antioksidan kapasite ve total oksidan durumu birlikte değerlendirilerek oluşan doku hasarının derecesini diğer bir ifadeyle oksidatif stres indeksini ortaya koymayı planladık. Aynı zamanda, adenozin deaminaz aktivitesi tayini ile T-cell aktivasyonundaki artışın ve kistik ekinokokzisli hastalarda muhtemel marker değerinin ve benzer şekilde hepatobilier hastalıkların tanı ve takibinde etkin olarak kullanılan 5'nükleotidaz aktivitesindeki değişimin tayini ilede kistik ekinokokkozisli hastalarda bu parametrenin değişiminin derecesi ve bütün parametreler arasındaki muhtemel korelasyon bir bütün olarak tespit edilmeye çalışılacak.

Çalışmada kullanılan ticari kitler (IHA: Hydatidose, Fumouze Laboratoires, France; IFAT: Euroimmun GmbH, Germany; WB: Euroimmun GmbH, Germany) test prosedürlerine uygun olarak çalışılmıştır. IFAT ile çalışılan örnekler fluoresan mikroskobunda 450-490 nm dalga boylu filtrede x400 büyütmede değerlendirilmiş olup fluoresan verenler; IHA testi ile çalışılan örnekler makroskobik olarak değerlendirilmiş olup kenarları tırtıklı bir halka veya homojen bir şekilde bulanıklık verenler; WB ile çalışılan örneklerde ise p7 bandı oluşanlar pozitif olarak kabul edilmiştir(8).

2.GENEL BİLGİLER

Kistik ekinokokoz hastalığı, *Echinococcus granulosus, E. multilocularis, E. Vogeli* ve *E. oligarthrus*'un oluşturduğu, daha çok hayvancılığın yaygın olduğu bölgelerde olmak üzere tüm dünyada görülen, sıklıkla akciğer ve karaciğerde yerleşim gösteren önemli bir zoonotik hastalıktır(9,10).

Echinococcus cinsinin sınıflandırılması:

Alem : Plathyhelminthes

Sınıf : Cestoda

Alt sınıf : Eucestoda

Takım : Cyclopylidea

Aile : Taeniidae

Cinsi : Echinococcus Echinococcus'un bugün için kabul edilen 4 türü mevcuttur.

Bunlar;

1. Echinococcus granulosus

2. Echinococcus vogeli

3. Echinococcus multilocularis

4. Echinococcus oligarthus(1,3).

Dört tür içinde en yaygın olanı kistik echinococcosin sebebi olan; "Echinococcus Granulosus"tur(11,12).**(Şekil 2.1)**

Şekil2.1. Erişkin Echinococcus granulosus (13).

Echinokokkus granulosus'un larval veya metasestod formunun insanlarda oluşturduğu hastalığa Kistik Ekinokokkozis (KE) adı verilmektedir(14).

2.1. PARAZİTİN GENEL TANIMI

Sestod sınıfına giren helmintlerin vücutları uzun, yassı ve halkalara ayrılmıştır. Echinococcus türlerinin boyları 2 mm ile 8 mm arasında değişkendir. Vücutları baş, boyun ve halkalar olmak üzere 3 kısımdan oluşur. Skoleks denilen baş kısımlarında 4 çekmen ve rostellumları üzerinde sayıları değişen halkalar bulunur. Gövdede sayısı 2-6 4 arasında değişen iki sıra halka bulunur. Strobila boyundan sonra gelen halkalardır. Proglottid ise son (gebe) halkadır(1,15,16).

Yumurtalar 30-40 mikrometre çapında yuvarlak veya ovaldir, içlerinde 6 çengelli embriyo (onkosfer) bulunmaktadır. Onkosferi embriyofor denen birkaç katlı kılıf sarmaktadır(1).

Metasestod, çimlenme kapsüllerini oluturan, germinal tabakadan oluşmuş kese biçimindeki bir yapıdır. Protoskoleksler, çimlenme kapsüllerinin iç duvarlarından veya germinal tabakadan gelişirler(1,15,17).

Echinococcus cinsinde yer alan türler Taenidae ailesindeki türlerin en küçüğüdür, bazı yazarlar Taenia echinococcus olarak da adlandırırlar. Genelde 3-5 halkadan oluşan bu türlerin uzunlukları 2-9 mm civarındadır. Skoleksleri küçük olup iki sıra çengel taşıyan

bir rostelluma sahiptir. Halkalarda bir genital organ takımı bulunur. Olgunların tür ayrımı rostellumdaki çengel sayısı, genital deliğin pozisyonu, testis sayısı ve ovaryumun şekli dikkate alınarak yapılır. Kistik larva formları yapısal farklılık gösterir (18).

2.2. EPİDEMİYOLOJİ (YAYGINLIĞI)

Kistik ekinokokoz tüm dünyayı ilgilendiren zoonotik bir hastalıktır. Dünyanın değişik kesimlerinde kistik ekinokokozun yıllık insidansı değişik endemik alanlarda her 1 milyonda <1'den 220'ye kadar; mortalite oranı %2 ile 4 arasında rapor edilmiştir(19,20,21).

Karaciğer hidatik kist hastalığı ülkemizde ve özellikle Güneydoğu Anadolu Bölgesinde önemli bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde paraziter hastalıklar halk sağlığı açısından önemli bir problem oluşturmaktadır. Bütün dünyada insan ve hayvan sağlığını tehdit eden kistik ekinokok (KE) Türkiye'deki paraziter zoonozların en önemlilerinden biridir(22,23).

Türkiye'de hidatik kistin en sık tuttuğu organ karaciğer (%53.9-79.8) olup akciğer (%9.0-19.8) ikinci sırada yer almaktadır(24-26).

Kist hidatik hastalığı her yaşta görülebilmesine rağmen genç erişkinlerde daha sıktır. Kadınlarda daha sık görülmektedir. Kırsal kesimde, hayvancılıkla uğraşanlarda ve özellikle kontrolsüz hayvan kesiminin yaygın olduğu toplumlarda daha sık rastlanmaktadır(27).

Echinococcus granulosus'un neden olduğu kistik ekinokokoz, özellikle hayvancılığın yaygın olduğu ülkelerde insidansı 1-150/100 000 arasında değişebilen, ülkemizde tahmin edilen cerrahi vaka oranı yıllık 0.87-6.6/100.000 olan bir paraziter zoonozdur. Hastalık sağlık ve ekonomik yönden büyük kayıplara yol açmaktadır(28).

2.3.YAŞAM SİKLUSU

Ekinokok türlerinin yaşam sikluslarını tamamlayabilmesi için biri ara konak biri ise kesin konak olmak üzere iki ayrı memeli grubun konağına ihtiyaç vardır(29).

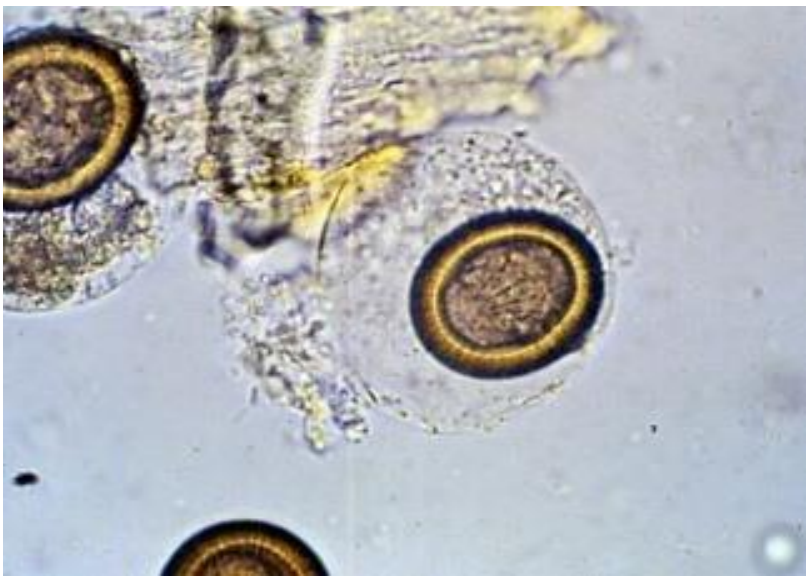
Karaciğer kist hidatik etkeni olan EG'dur. Parazitin erişkin şekli ana konağın proksimal ince bağırsağında yaşar. Larva formu ise koyun ve sığır başta olmak üzere manda,

tavşan, at, geyik, deve, domuz, maymun, fare, sincap gibi ara konak olan hayvanların iç organ ve dokularında bulunur. İnsan, EG yaşam siklusuna ara konak olarak girmektedir(30,31).

Ana konağın proksimal ince bağırsağında yaşayan şeritlerin ortalama yaşam süreleri iki yıldır. Olgunlaşan terminal gebe halkanın vücuttan kopması veya çatlaması ile bağırsağa dökülen yumurtalar gaita ile dışarı atılırlar. Koruyucu kitin tabakası ile kaplı olan heksakant embriyonlu yumurtalar doğa koşullarına oldukça dayanıklıdırlar. Nemli ortamda bir hafta, soğuk ortamda dört aya kadar canlılıklarını koruyabilirler. Kuruma ve ısıya karşı oldukça duyarlı, kimyasal maddelere karşı oldukça dirençlidirler(30).

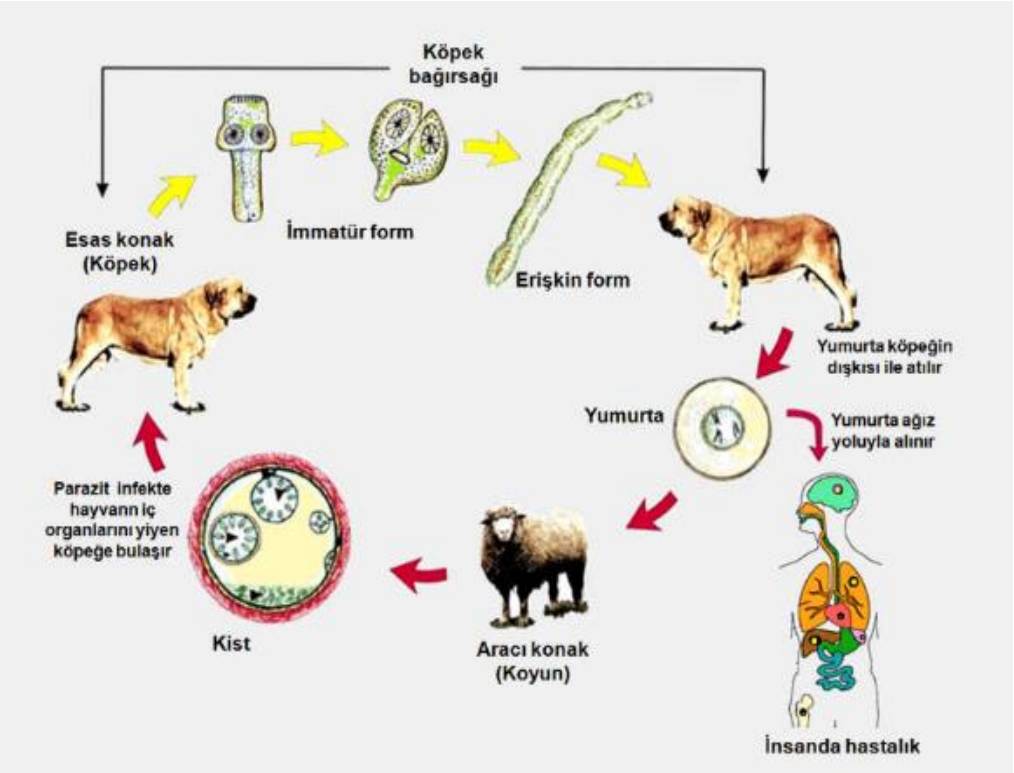
Köpekler parazitin erişkin şeklinin son konağıdır. Evcil geviş getiren hayvanlar (ör: koyun, sığır, deve, vb.) ve insanlar metasestod (hidatid) evresi için ara konak görevini görürler. Maymunlar, tavşanlar, fareler ara konak olabilir. Köpeklerin dışkısı ile atılan yumurtaların sindirim yolu ile alınması sonucu insanlarda kistik ekinokokkozis gelişmektedir(32)

EG yaşam döngüsünü evcil ve yabani etobur ve otobur hayvanlar arasında sürdürmekte, insanlar bu halkaya rastlantısal olarak girmektedir. Bulaşma, hayvanın gaitası ile enfekte olmuş ot, sebze ve meyvelerin yenmesi, hayvanın tüyleri üzerine yapışmış olan yumurtaların inhalasyon yoluyla alınması veya hayvan ile temas sonucu ile bulaşanyumurtaların sindirim sitemine geçmesi ile olur(33) .**(Şekil.2.2)**



Şekil2.2. Echinococcus granulosus yumurtası (34).

Bu şekilde yutulan yumurtalar midenin asit salgısından etkilenmeden duedonuma geçerler. Burada bulunan pankreatik enzimler yumurtaların dışındaki kutikula tabakasının erimesine yol açar. Böylece oncosphera (embriyo, larva) serbest kalmış olur. Serbest kalan oncosphera çengelleri vasıtası ile barsak mukozasına tutunarak mukozada kendine yol açar ve venüllere varır. Buradan portal dolaşıma geçen larvaların %70'i karaciğer sinüzoidlerinde tutulur. Karaciğer filtresini aşanların bir kısmı akciğerde tutulur, ancak bunlarında 1/3'ü burayı da aşıp sistemik dolaşıma geçerler ve dalak, böbrek, beyin, kas, kemik, göz tutulumu yaparlar (35,36).**(Şekil.2.3)**



Şekil2.3. Hidatik kistin yaşam döngüsü(37)

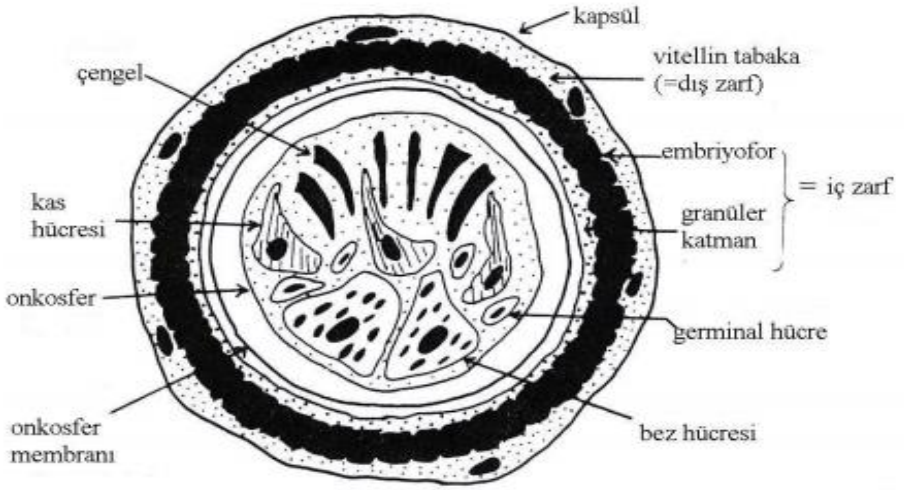
2.4. HİDATİDOZA SEBEB OLAN ECHİNOCOCCUS GRANULOSUS'UN GENEL ÖZELLİKLERİ

Genelde üç, nadiren dört halkadan oluşan parazitin uzunluğu 2-7 mm'dir. Bazen kopmayan halkalarla uzunluk 11 mm'yi bulmaktadır. Skoleksin çapı 260-360 µm olup, iki sıra halinde 34-38 adet çengel taşıyan rostelluma ve dört çekmene sahiptir. Büyük çengeller 25-49 µm, küçükler 17-31 µm uzunluktadır. Testisler 32-52 follikülden şekillenmiştir. Olgun halkalarda tek genital organ takımı bulunmaktadır. Genital delik halkanın ortasında veya arka yarısında yer alır. Ovaryum böbrek şeklinde olup, uterus

lateral uzantılar vermektedir. Gebe halka 200-800 yumurta içermekte, uzunluğu parazitin tüm uzunluğunun yarısına yakın olduğu bildirilmektedir(18).**(Şekil.2.4)**

Şekil 2.4. Echinococcus granulosus'un a: Erişkin formu b: Olgun halkası c: Gebe halkası (38).

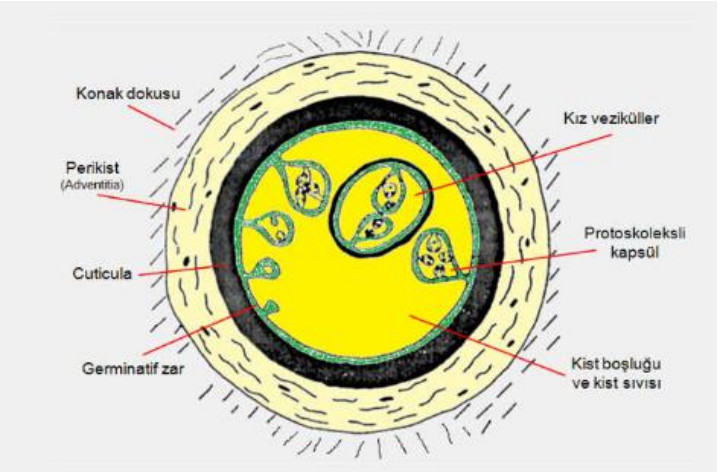
Yumurtaları yuvarlak veya hafif oval olup, 22-36×25-50 µm çapındadır. Üç çift çengelli onkosfer taşır, embriyofor kalın olup radiyal çizgilidir (18).**(Şekil.2. 5)**



Şekil 2.5. Echinococcus spp. yumurtasının yapısı (38).

Parazitin larva formu (metacestod) kist hidatid (cyst hydatid) genelde uniloküler yapıda olup, nadiren ana kesenin dışında gelişen, her biri ayrı keseden oluşan kız keselerin şekillendirdiği multikistik yapı gösterebilir. Kistlerin içi, protoskoleksleri veya nadiren kız keseleri içeren, oldukça berrak bir sıvı ile doludur. En içte üreme özelliğine sahip germinal membran, onun hemen dışında yapışık olarak bulunan lamellöz yapı gösteren

kütiküler tabaka yer alır, bunlar paraziter keseyi oluşturur. Kesenin etrafını ise konak tarafından oluşturulan, yangı hücrelerinin dejenerasyonu ile oluşan fibröz kapsül (adventisiyal tabaka) kuşatır(18).**(Şekil.2.6)**



Şekil2.6. Hidatik kistin yapısı(37)

2.5.KİSTİK EKİNOKKOZ'DA TANI

Hidatozun tanısı kolay değildir ve üç ana grupta toplanabilir. Bunlar; görüntü yöntemleri, indirekt immünolojik yöntemler ve direk mikroskobik bakıdır. Hidatidoz, laboratuar tanısı öncelikli olarak serolojiye dayanan birkaç enfeksiyon hastalığı arasında bulunmaktadır. Görüntü yöntemleri X-ray(röntgen), USG (Ultrasonografi), CT(Bilgisayarlı tomografi) ve MR(Manyetik Resonans Görüntüleme) klinik tanı için öncelikli olsa da, parazitolojik ve immünolojik tanı ile desteklenmesi son derece önemlidir. Bu nedenle iki veya daha fazla hassas antikor tanı yöntemlerinin bir kombinasyonunun kullanılması gerekmektedir. ELISA, IHA, IFA, immündiffüzyon (ID) ve immünoelektroforez (IE) temel yöntemlerdir ve Western Blot (WB) ile Double Diffüzyon (DD5) 'da kullanılmaktadır (3,39,40).

2.5.1.Tanıda Kullanılan Serolojik Yöntemler

Klinik şüphe, bir kistin varlığını onaylamak için invaziv olmayan görüntüleme tekniklerinin ve bunların sonucunu desteklemek için ise serolojik tekniklerin kullanımı gerekmektedir. Bu nedenle hidatidozun ayırıcı tanısında kullanılan görüntüleme ile spesifik tanının konulmasında son derece önemli olan serolojik yöntemler aşağıda ele alınmıştır (3,39,40).

Günümüzde KE'nin radyolojik tanı yöntemleriyle teshis edilmeye çalısılmasına rağmen kistin tümör, apse gibi olgularla ayırıcı tanısının yapılabilmesi için serolojik tanı yöntemleriyle desteklenmesi gerekmektedir. KE'nin tanısında kullanılan serolojik testler sunlardır: (39)

1- Kompleman birleşme testi (Weinberg)

2- Latex Aglutinasyon (LA) Testi

3- Indirekt Hemaglutinasyon (IHA) Testi

4- Indirekt Fluoresan Antikor (IFA) Testi

5- Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

6- Immunodiffuzyon (ID) ve Immunoelektoforez (IE) Testleri

7- Western blot (WB) yöntemi

8- Dot-ELISA

9- Ko-aglutinasyon

2.5.1.1.Kompleman Birleşmesi Deneyi (Weinberg)

İlk kez 1906 yılında Ghedini tarafından kullanılmıştır. Bağışık serumdaki antikor, Echinococcus antijeninin varlığında komplemanı başlamaktadır. Weinberg testi tüm hidatidozlu olguların %62'sinde, akciğer hidatidozlu olguların ancak %32-38'inde pozitif çıkmaktadır. Weinberg testinde standardizasyonu işlemlerinde titizlik

gösterilmesine karşın, kist sıvısındaki bazı bileşikler doğrudan kompleman aktivasyonuna yol açtığı için yalancı pozitiflik sık olarak görülür. Testin özgüllüğü %80 düzeyindedir(41,42).

2.5.1.2.Lateks Aglütinasyon Testi (LA)

İlk kez 1960 yılında kullanılan bu testte Echinococcus antijenleri ile kaplanmış lateks partikülleri kullanılmaktadır. Hasta serumu ile karşılaşan lateks partikülleri 10 dakikada çöker. Test daha çok pratikliği nedeniyle sero-epidemiyolojik çalışmalar için kullanılmaktadır. Testin duyarlılığı %83, özgüllüğü %94'dür (41,42).

2.5.1.3.İndirekt Hemaglutinasyon Testi (IHAT)

İndirekt Hemaglütinasyon tekniklerinde alyuvarların yüzeyi ve antijen proteinleri arasında kuvvetli bir bağ oluşturan kimyasal bir maddeden yararlanılmakta, bu kimyasal madde ile işleve tutulmuş eritrositlerin (koyun alyuvarları veya 0 grubu Rh- insan alyuvarları) üzerine antijenler tespit edilmektedir (43).

Testte tannik asitle duyarlılaştırılmış eritrositlerin yüzey gerilimlerinin değişmesi sonucu antijen tutma özelliklerinden yararlanılmaktadır. Antijen ile kaplı koyun eritrositleri hasta serumuyla karşılaşınca çökmektedir (39).

2.5.1.4.İndirekt Floresan Antikor Testi (IFAT)

Çalışma prensibi, değişik sulandırımları yapılmış şüpheli serumların daha önceden lamlar üzerine fikse edilmiş parazitin kendisinin veya kesitlerinin üzerine konup, inkubasyon ve yıkama işleminden sonra antijen-antikor reaksiyonunun meydana gelip gelmediğinin ve test edilen serumlar içinde antijene karşı oluşmuş antikorların bulunup bulunmadığının flouresceine isotiocyanate ile işaretli spesifik anti antikorlar yardımıyla gösterilmesine dayanmaktadır. Spesifik olmayan flouresans veya yeşil ışığı maskelemek için Evans blue gibi karşıt boyama yöntemlerinden yararlanılmaktadır. Test, immunfloresans mikroskobunda değerlendirilmekte, genellikle parazitin çeperinde oluşan yeşil-sarı flouresans ışıma pozitifliği göstermektedir. Buna karşın negatif olgularda parazitler az çok kırmızı renkte görünmektedir. Testin duyarlılığı %90-98, özgüllüğü %95-98 civarındadır (44).

2.5.1.5.Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Polistren plaklara emdirilmiş antijen moleküllerine bağlanan özel antikorlar üzerine, indirekt olarak enzim işaretli anti-insan immunglobülinlerinin bağlanması ve bileşimindeki enzimin substratı ile renk vermesi esasına dayanan ELISA testi, 1971 yılında Engvall ve Perlmann tarafından geliştirilmiştir (45).

Esas olarak, oluşturulan antijen-antikor kompleksine enzim ile işaretli antiglobulinin ilave edilmesi ve sonra substratın eklenmesi ile eğer antijen veya antikor varsa renk oluşumunun gözlenmesi esasına dayanmaktadır. Kimyasal bir olay olan renk oluşumu enzimin aktivitesine bağlıdır. Enzimle etkilenen substratın spektrofotometrik ölçümü, yöntemde araştırılması gereken antijen ya da antikor konsantrasyonu ile orantılıdır (46).

Duyarlı, güvenilir ve kolay uygulanabilir olması, enzim işaretli kromojen substrat kullanılarak görülebilir ve okunabilir sonuçlar vermesi ve çok sayıda serumun aynı zamanda çalışılabilmesi bu yöntemin avantajlarıdır (45).

2.5.1.6.İmmunodiffuzyon (ID) ve İmmünoelektroforez (IE) testleri

Bu testler antijen ve antikor moleküllerinin jel içinde optimal konsantrasyonda yayılırken karşılaştıkları bölgede presipitasyon oluşturarak çizgi şeklinde görülür hale gelmesi esasına dayanmaktadır (39).

2.5.1.7.Western Blot (İmmunoblot)

Ayrıştırılan proteinlerin jellerden membranlara transfer yöntemlerinin geliştirilmesi, proteinlerin elektroforetik analizi için yeni bir devir açılmasına neden olmuştur. İmmunoblotting veya Western blotting adı verilen bu immunokimyasal yöntemler bir membran üzerine sabitleştirilmiş proteinleri tanımlamada kullanılmaktadır. B transfer yöntemi ‘blotting’ diye adlandırılır, çünkü elektroforez ile jel içinde ayrıştırılan proteinlerin transfer edildikleri nitröselüloz membran üzerindeki bant örnekleri, orijinal jel üzerindeki örneklerin tam anlamıyla kopyasıdır. Proteinlerin membranlara transferi ‘Western blotting’, DNA izolasyonu için kullanılan yöntem ‘Southern blotting’, RNA izolasyonu için kullanılan yöntem ise ‘Northern blotting’ olarak isimlendirilmiştir (47).

Tekniğin ilk basamağında yapılan sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi ile mikroorganizma protein ekstraktları molekül ağırlıklarına göre migrasyonel separasyona tabii tutularak fraksiyonize edilmektedir. Bu işlem bir yandan antijenik profil erinin tespitine imkan sağlarken, diğer yandan fraksiyonların nitroselüloz asetat membrana kopyalanarak immobilize edilmeleri, bu fraksiyonlara karşı hasta serumunda oluşmuş antikorların tespitine de imkan vermiştir. Hatta hastalığın dönemine göre farklı protein fraksiyonlarına karşı antikor cevabı verilmesi nedeniyle bu teknik ile hastalıklarda dönem tespiti de mümkün hale gelmiştir. Bu teknikte multimerik proteinler gibi makromoleküler sodyum dodesil sülfat veya üre gibi ajanlarla polipetid bileşenlerine ayrılabilmektedir. Bu denatüre edici ajanlar uzaklaştırıldığında ayrıştırılan proteinler yeniden oluşabilmektedir (48). WB yönteminin değerini inceleyen bir çalışmada, 24 iki ayrı serolojik tanı yönteminin birlikte kullanılmasında; duyarlılığın arttığı, özgünlüğün ise düştüğü saptanmış, WB yönteminin IFA, IHA ve ELISA yöntemleri ile kombinasyonunun duyarlığı %100'e yükselttiği görülmüştür (49).

2.5.1.8.Dot-ELISA

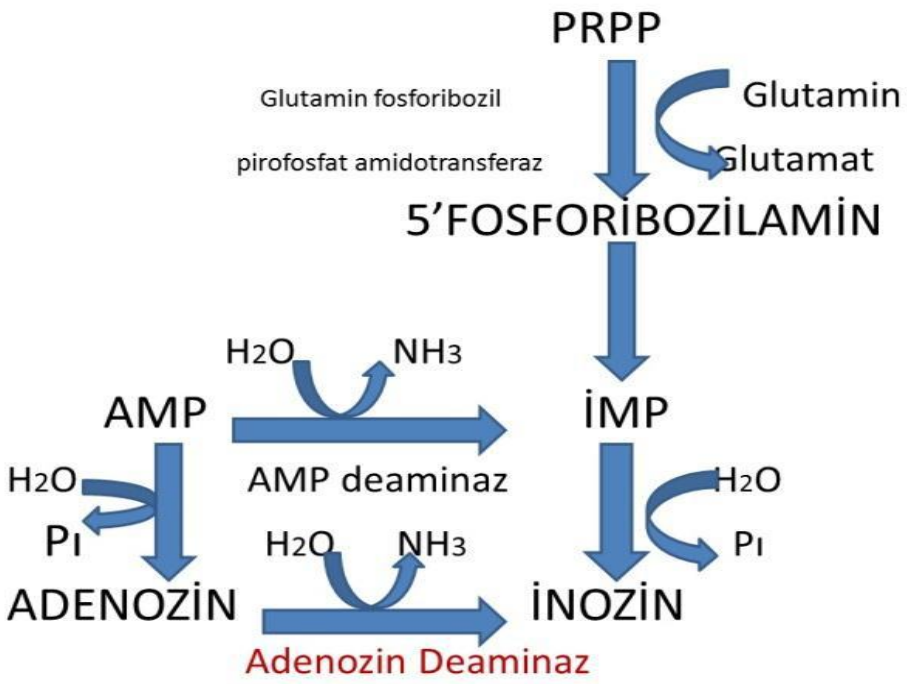
ELISA'nın bir modifikasyonu olup Echinococcus antijenleri yapıştırılmış nitroselüloz bir membrana 0,5 ml hasta kanı dökülür. Serumda antikor var ise bu antijenlere yapışıp kalır. Daha sonra enzimle işaretli antikor ve etiket antikor eklenerek antijen-antikor reaksiyonu çıplak gözle görünür hale gelir. Test 30 dakika sonuç vermekle beraber pahalı olup enzim bazlı materyalin sıcağa dayanıklılığı düşüktür (50).

2.5.1.9.Ko-aglütinasyon

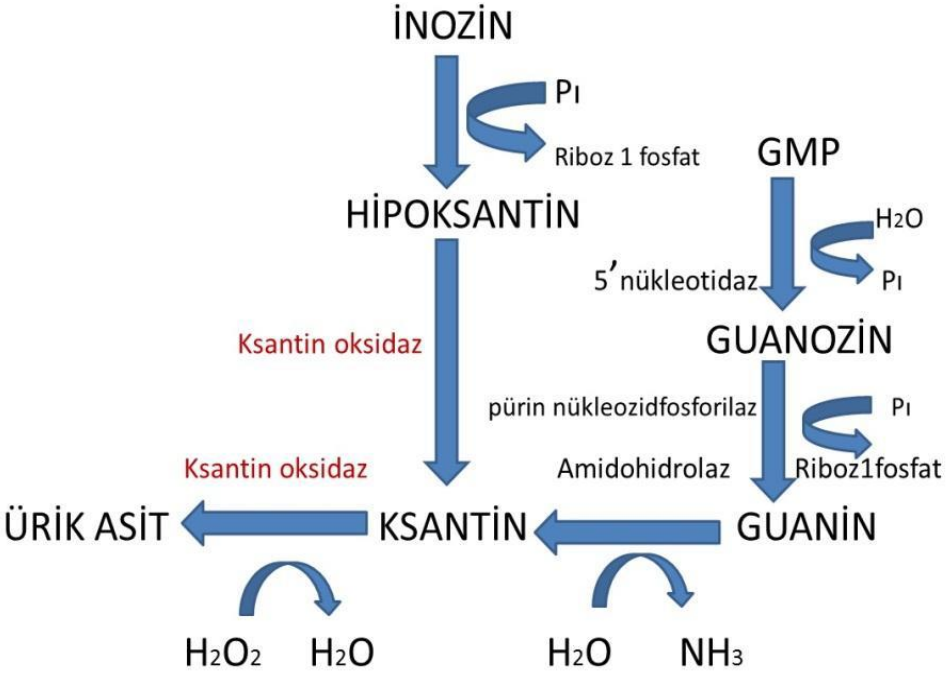
Serumda ekinokok antijeninin olup olmadığını gösteren bir testtir. Testte IgG'nin Fc kısmını, taşıdığı A proteini ile bağlayabilen Staphylococcusaureus Cowan 1 susu kul anılır. Tavşanlarişlenmemiş kist sıvısı ile immünize edildikten sonra serumları alınır ve anti-ekinokok antikorları içeren hiperimmün serum üretilmiş olur. Mueller-Hinton agarda üretilen S. aureus Cowan 1 susu formalin veya ısıyla öldürülüp hiperimmün seruma maruz bırakılır. Bu seruma eşit miktarda hasta serumu eklendiğinde mikroskopta bakterilerin küme küme yığıldıkları görülür. Test ucuz ve kullanılan materyal ısıya dayanıklıdır (51). Testin duyarlılığı %95, özgüllüğü %84'dür (52).

2.6. PÜRİN NÜKLEOTİDLERİN METABOLİZMASI

Ribonükleozid ve deoksiribonükleozid fosfatlar (nükleotidler) bütün hücreler için esansiyel (mutlaka gerekli) olan maddelerdir. Bunlar olmadan ne DNA ne de RNAsentezlenebilir. Bunun sonucunda da proteinler sentezlenemez ve hücreler prolifere olamaz. Ayrıca bazı karbonhidratların, lipidlerin ve proteinlerin sentezinde nükleotidler aktifleştirilmiş ara bileşiklerin taşıyıcıları olarak görev yaparlar. Bazı esansiyel koenzimlerin yapısal bileşenleridirler, ek olarak nükleotidler hücre içinde enerji taşıyıcısıdırlar. Ara metabolizmadaki metabolik yolların çoğunda anahtar görevi olan enzimleri aktive veya inhibe ederek düzenleyici rol oynarlar. Nükleotidlerde bulunan pürin ve pirimidinle de novo (yeniden) sentezlenebilir veya diyetin içerdiği maddelerde bulunan ve daha önce sentezlenmiş bazlar böylece tekrar kullanılabilir. Bu döngü içerisinde yapım ve yıkım tepkimeleri bir denge içerisinde ilerler. ADA ve XO, diğer birçok özelliği yanında temel olarak sağlıklı hücrede denge içinde olan bu tepkimelerin pürin yıkım basamağında rol alan enzimlerdir (53).**(Şekil.2.7-8)**



Şekil2.7.Pürin nükleotidlerinin ürik aside (insanlarda pürin katabolizmasının son ürünü) yıkımı-1 (53).



Şekil2.8.Pürin nükleotidlerinin ürik asite (insanlarda pürin katabolizmasının son ürünü) yıkımı-2 (53).

Pürin nükleotidlerin sentezinde temel iki yol vardır. Birincisi yapısal moleküllerin kullanıldığı de-novo sentez yolu, ikincisi bazların tekrar kullanıldığı daha az enerjiye ihtiyaç duyan salvage yoldur. De-novo sentez özellikle karaciğer ve plesantada aktifdir. Nonhepatik dokularda daha çok karaciğer kaynaklı pürinler kullanılır. PRPP nükleotid sentezindeki anahtar bileşiktir. Hem de-novo sentezde hemde salvage yolda kullanılır. De novo sentezin birinci ve düzenleyici basamağı PRPP ve glutaminden 5-fosforibozilaminin oluştuğu amidofosforibozil transferaz enzimin katalizlediği reaksiyondur. Sentez sonucunda oluşan bileşik IMP' dir. IMP' den AMP ve GMP sentezlenir. Salvage yol, extra hepatik dokularda önemlidir. Adenin nükleotidlerinyıkımında 5' nükleotidaz enzimi anahtar rol oynar. Sonuçta bu yoldaadenozin üzerinden inozin, guanozin ve ksantosin oluşur. Yıkım yolunda adenozin, adenozin deaminaz enzimi ile inozine döner. Bir sonraki reaksiyonda riboz 1-fosfatların ayrılması ile hipoksantin, guanin ve ksantin oluşur. Oluşan ksantin, ksantin oxidaz ile ürik asit ve hidrojen perokside yıkılır (54).

Pürinlerin de-novo senrezi Riboz-5 Fosfat'la başlar. Sentez yolunun 1. basamağında, ATP girişi ile 5- Fosforibozil 1 –pirofosfat meydana gelir. Bu reaksiyon PRPP sentetaz enzimi tarafından katalize edilir. Sentezin 2. basamağında 1. karbona bağlı pirofosfat grubu glutaminin amid grubuyla yer değiştirir. Böylece 5'-Fosforibozil- 1.amin (Fosforibozilamin)oluşur. Bu reaksiyonu Amidofosforibozil transferaz katalizler. Bu ilk iki reaksiyon de novo sentez yolunda hız kısıtlayıcı basamaklardır. 3. reaksiyonda glisin, 4.reaksiyonda N5N10-meteniltetrahidrofolat, 5. reaksiyonda ise tekrar glutamin kullanılır. Daha sonra halka kapanır ve imidazol halkası oluşur.7. reaksiyonda CO_2, 8. reaksiyonda aspartat kullanılır. 9. Reaksiyonda fumarik asit ayrılır. 10. reaksiyonda N_{10} formiltetrahidrofolat girişi olur.11. reaksiyonda ikinci halka kapanır ve inozin monofosfat oluşur (55).

Meydana gelen nükleotid daha sonra DNA ve RNA yapısında bulunan Adenin ve Guanin nükleotidlere çevrilir. IMP'den aminasyon, oksidasyon-aminasyon reaksiyonları ile AMP ve GMP meydana gelmektedir (55).

AMP ve GMP daha sonra ATP' nin yardımı ile di ve trifosfatlara dönüşür (55).

Memelilerde ribonükleotid difosfatlardan, ribonükleotid redüktase'ın katalizlediği reaksiyon ile deoksiribonükleotidler sentezlenir. Tüm dokularda ribonükleotid redüktaz mevcuttur. Aktif hale sadece DNA sentezi yapılacakken geçer .Bu enzim ribozun hidroksil grubundan oksijen alır (55).

Pürin nükleotid sentezi için diğer bir yol ise salvage yoldur. Bu ara yolda kullanılan en önemli bileşikler, pürin yıkım yolundan elde edilen hipoksantin ve guanin bazlarıdır. Bubazlar hipoksantin-guanin fosforibozil transferaz (HGPRT) enziminin salvage ara yolu purin bazlarının korunumunda ve pürin nükleotidlerin yeniden sentezinde önemli bir yeri vardır(56).

Pürin nükleotidleri yıkımı ise 5' nükleotidaz enzimi ile başlar. Sonuçta adenozin, inozin, guanozin oluşur. Adenozin, adenozin deaminaz enzimi ile inozine döner. Bir sonraki reaksiyonda riboz 1- fosfatların ayrılması ile hipoksantin ve guanin oluşur. Hipoksantinden ksantin oluşumunu ksantin oxidaz katalizlerken, guaninden ksantin

oluşumunu aminohidrolaz enzimi katalizler. Bir sonraki basamakta oluşan ksantin, ksantin oxidaz ile ürik asit ve hidrojen perokside yıkılır (54).

ADA, pürin metabolizmasında anahtar bir enzimdir. Adenozinden bir amin koparır ve geri dönüşümsüz olarak inozine dönüşümünü sağlar (57).

2.7.PİRİMİDİN NÜKLEOTİDLERİN METABOLİZMASI

Pirimidin nükleotidlerin biyosentezinde kullanılan öncül maddeler CO_2, glutamin ve ATP' dir. Pürin sentez yolundan farklı olarak burada önce pirimidin halkası meydana gelir. Daha sonra riboz 5- fosfat eklenerek nükleotidler oluşur(55).

Pirimidin nükleotidleri yıkımı, özellikle karaciğerde meydana gelir. Son ürünleri suda çözünürler(55).

2.8.ADENOZİN DEAMİNAZ (ADA: ADENOZİN AMİNO HİDROLAZ, E.C. 3.5.4.4.)

Pürin nükleotitlerin yıkım yolunda AMP'ı IMP'a veya adenozini inozine katalize eden, eksikliğinde bağışıklık yetersizliğine yol açan enzim olarak bilinmektedir ve adenin nükleotidlerinin metabolizmasında aktif rol oynar (58,59).

Adenozin deaminaz (ADA), pürin yıkım yolunda adenozin ve 2'- deoksiadenozinin sırasıyla inozin ve 2'-deoksiinozine dönüsümünü katalize eden bir enzim olduğundan adenozinin hücre içi konsantrasyonun kontrol edilmesinde önemlidir. ADA'nın katalizlediği bu reaksiyon geriye dönüşümsüzolduğu için, bu enzim reaksiyonu adenozinin yıkılmasında kontrol basamağını oluşturur. Adenozin ve deoksiadenozin moleküllerinin yüksek konsantrasyonları hücre için toksik olduğundan bu nükleozidlerin hücre içi seviyelerinin düzenlenmesinde önemlidir (60,61).

ADA enzimi özellikle lenfoid hücrelerin yüksek oranda bulunduğu dokularda yaygın bir şekilde dağılmıştır.ADA enziminin özellikle T lenfosidlerin farklılaşması içingerekli olduğu düşünülmektedir.Ayrıca monosit ve makrofajların olgunlaşmasında rol aldığı için ADA hücre aracılı bağışıklığın bir komponenti olarak düşünülür.ADA'nın esas fizyolojik aktivitesi lenfoid çoğalma ve farklılaşma ile ilgilidir.Enzim aktivitesi

lenfosidlerin mutajenik ve antijenik cevabı esnasında belirgin bir şekilde artar ve buna karşılık lenfosid blastogenezi ADA inhibitörü ile inhibe edilir (62).

ADA inhibisyonu sonucu, hücre içinde ADA için substrat olan adenozin ve deoksiadenozin artar. Bu substratların artışı ise hücresel immün cevabı inhibe eden 5' nükleotidlerin (özellikle siklik adenozin monofosfat (cAMP) artması ile sonuçlanır. Hücre içi deoksiadenozinin artışı, dATP artışına yol açarak nükleik asit sentezini inhibe eder, S-adenozin homosistein hidrolazın inhibisyonu ise hücrenin canlılığı için gerekli olan esansiyel metilasyon tepkimelerinin inhibisyonu ile sonuçlanır (63).Ishii ve Green adenozinin memeli kültür hücrelerine karşı toksik olduğunu ve pirimidin biyosentezini inhibe ettiğini bildirmişlerdir (64).

T lenfosit ADA aktiviteleri B lenfositlere göre daha yüksektir ve ayrıca T hücre farklılaşması esnasında özellikle immatür ve undiferansiye basamaklarında ADA aktivitesinde belirgin artış olur. Tüm bu sebeplerden dolayı birçok araştırmacı ADA'nın hücresel immünite belirteci olduğunudüşünerek farklı hastalıklarda ADA serum seviyelerini tespit etmişlerdir. Artmış serum ADA aktivitesi hücresel immünitenin uyarıldıgı tifo, infeksiyöz mononükleoz, bruselloz, akut pnömoni, tüberküloz, sarkodioz, karaciğer hastalıkları, akut lösemi, çesitli maligniteler ve romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus (SLE), Behçet Hastalıgı gibi otoimmün hastalıkların aktivasyon döneminde gösterilmiştir (65,66).

ADA aktivitesi immün fonksiyonun değerlendirilmesinde bir kriter olmaktadır. İmmünitenin arttığı durumlarda ADA aktivitesi artmakta, immünitenin zayıfladığı durumlarda ise ADA aktivitesi azalmaktadır. Lenfositlerde özellikle T lenfositlerinde yüksek aktivitede bulunan enzimin kalıtsal eksikliği, T ve B lenfositlerinin fonksiyonlarının bozulması ile şiddetli kombine immün yetmezlik durumuna öncülük etmektedir (67,68)

2.9.5'NÜKLEOTİDAZ (URİDİN 5'-NUCLEOTİDASE E.C. 3.1.3.5)

Vücutta glikoprotein yapıda olan ve özellikle karaciğer hücre membranlarında bulunan bir enzimdir. Nükleosid 5 fosfat üzerine etkili olan bir fosfatazdır (69,70).

5' nükleotidaz, başta adenozin mono fosfat olmak üzere yalnızca nükleozid 5 fosfatlar üzerine etki eder.

5'nükleotidaz

5 rinonükleotid $+H_2O$ ↔ ribonükleosid + fosfat

Bütün hücrelerde bulunan bir enzim olmakla birlikte özellikle karaciğer hastalıklarının teşhis ve takibinde önemli oranda kullanılmaktadır. 5'nükleotidaz aktivitesindeki değişiklik, alkalen fosfataz ve gamma glutamil transferaz enzim aktivitelerindeki değişikliklerlede kimi zaman paralellik gösterirsede, gamma glutamil tranferazın ilaç ve toksik madde kullanımına paralel olarak ve alkalen fosfatazında kemik patolojilerinde değişim göstermesi nedeniyle 5'nükleotidazın karaciğer hastalıklarında spesifisite göstermesinin ve karaciğer patolojilerinin tanı ve takibinde kullanımının yerini güçlendirmektedir (70-72).

5" Nükleotidazlar, nükleotid moleküllerinin riboz ve deoksiriboz kısımlarının 5" karbonunda esterleşmiş fosfat grubunun hidrolizini katalizleyen bir enzimdir(73,74).

Enzim 5' AMP' den inorganik fosfat oluşumunu sağlamaktadır. 5' NT' nin katalizlediği reaksiyon sonucu bir nükleozid ve inorganik fosfat açığa çıkar (75,76).

Pürin salvage yolu ve pürin yıkım yolu enzimi kabul edilen 5' NT, riboz ve deoksiriboz halkalarından 5'- Monofosfatların defosforilizasyonunu katalizleyen fosfatazdır. Purin yıkım yolunda hız sınırlayıcı basamaktır(75).

5' NT hücre içi nükleotid regülasyonunda görev almaktadır. Yıkım yolunda pürin bazları ürik asite yıkılırken aynı zamanda salvage yol için substrat sağlamaktadır. 5' NT 5'AMP'yi adenozine yıkmakta, ADA' da daha sonra adenozini,inozin ve deoksiinozine çevirmektedir. Oluşan hipoksantin hem salvage yolun substratıdır hemde yıkım yolu ürünüdür (77).

2.10.SERBEST RADİKALLER (SR)

Biyolojik sistemlerde elektron alıcı moleküller serbest radikaller olarak adlandırılırlar (78).

Bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron içeren atom ya da moleküller "serbest radikal" olarak adlandırılır. Serbest radikaller, başka moleküllerle elektron alışverişine girerek

bu moleküllerin yapısını bozan (79), kısa ömürlü, kararsız ve kimyasal reaktiviteleri yüksek molekül veya atomlardır (78).Çevrelerindeki atom veya moleküllere saldırarak onlardan elektron almaya çalışırlar. Elektron kaybeden molekül eşleşmemiş elektrona sahip olur ve serbest radikal haline gelir. Böylece tek bir radikalin varlığı zincir şeklinde elektron transfer reaksiyonları olan redoksu başlatır (80).

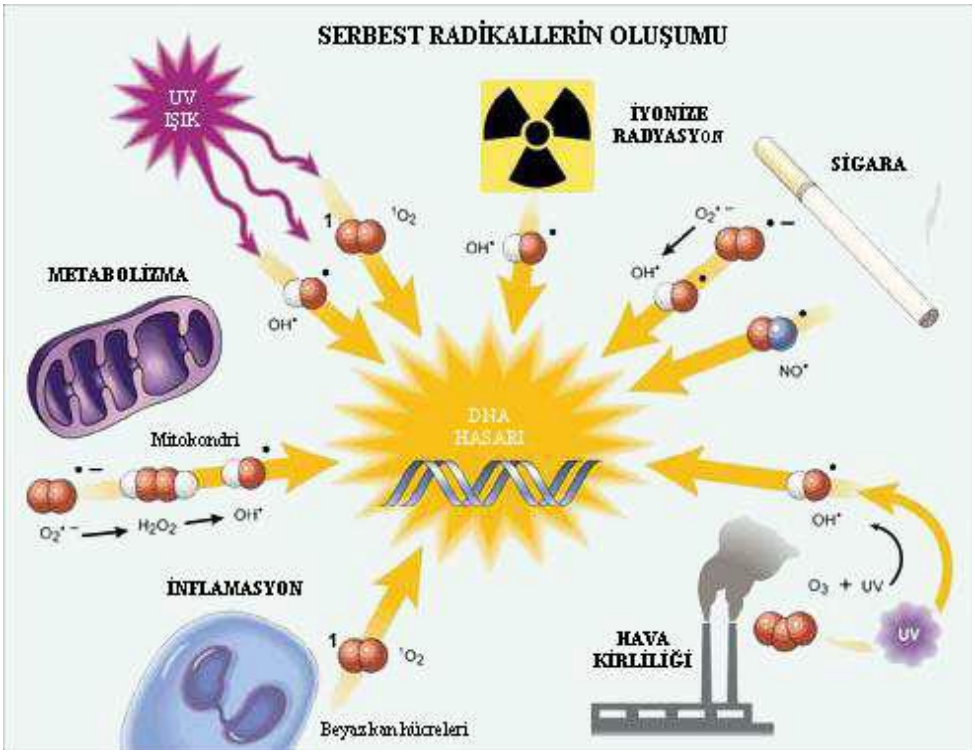
Reaktif Oksijen Türlerinin (ROT) hücre ve dokularda reseptör aracılı sinyal yollarının aktivasyonu, hücresel haberleşme, hücresel cevap ve mitojenik cevap gibi yararlı etkileri vardır. Nötrofiller tarafından bakterilerin fagositik öldürülmesi sırasında da ROT önemli bir role sahiptir. Fakat bakteriyel savunma sırasında gerçekleşen aşırı miktardaki ROT üretimi çevre dokudaki yıkıma da neden olmaktadır (81,82).

SR'ler bağımsız olarak var olabilen, dış orbitlerinde bir veya daha fazla bağımsız elektrona sahip olan ve bu nedenle stabil olmayan, çok aktif basit moleküllerdir. Yarılanma ömürleri çok kısadır.SR'ler tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilmekte ve hücrelerin tüm fonksiyonları sonucunda oluşabilmektedir. Bu moleküller pozitif ve negatif yüklü veya yüksüz olarak bulunabilmekte, hem oksidan hem de redüktan olarak görev yapabilmektedirler (83,84).

Tek sayıda elektrona sahip olması nedeniyle yüksek derecede reaktivite gösteren bu moleküller diğer bileşiklerle hızla reaksiyona girme eğilimindedirler. SR'lerle girdiği reaksiyon sonucu elektron kaybeden kimyasal yapılar da SR halini alır. Bu reaksiyon, zincirleme olarak yaşayan hücre içerisinde devam eder ve hücrede bozulmalara neden olur. SR'ler hücre ve doku fonksiyonlarında hayati öneme sahip pek çok biyomolekülden elektron sökerek bu biyomolekülleri okside etmekte, yapı ve fonksiyonlarının bozulmasına neden olmaktadır (85).

SR'ler söz konusu atom veya molekülün sembolünün üzerine bir nokta konarak belirtilmektedir (86).

Serbest radikallerin aktif oksijen türevlerine de oksidanlar denir. Oksidanlar hedef moleküllerden elektron alma yetenekleri nedeniyle, bu hedef molekülün yapısını ve fonksiyonlarını değiştirerek hücre zarını, DNA, RNA gibi genetik materyali ve değişik enzimatik olayları etkileyerek hücre hasarlarına yol açtığı bilinmektedir(84).**(Şekil 2.9)**



Şekil2.9. Serbest radikallerin oluşumu(87)

SR'ler uygun şartlarda vücut savunma sisteminin bir parçası olarak işlev görebilmekte, uygun olmayan şartlarda üretildiklerinde ise direkt ve indirekt yollarla değişik doku ve organlara zarar verebilmektedir(81,82).

Fizyolojik şartlarda organizmalardaki SR oluşum hızı ve bunların ortadan kaldırılma hızı dengeli bir şekilde gerçekleşmektedir. Bu durum oksitatif denge olarak adlandırılmaktadır. Oksitatif denge çeşitli nedenlerle bozulursa serbest radikallerin zararlı etkileri söz konusu olabilir (82,84,88-91)

2.10.1.Serbest Radikallerin Etkileri

2.10.1.1. DNA ve Nükleik Asitlere Etkileri

İyonize edici radyasyona maruz kalınması ile oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona sebep olmaktadırlar. Sitotoksik etki, büyük oranda nükleik asit baz modifikasyonlarından kaynaklanan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer değişikliklere bağlıdır. Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer. Hidrojen peroksit zarlardan kolayca geçip hücre çekirdeğine

ulaşarak DNA hasarına, hücrede fonksiyon bozukluğuna ve hatta hücre ölümüne neden olabilir (92,93).

2.10.1.2.Proteinlere Etkileri

Proteinler, radikallerin etkilerine, lipitlere oranla daha az hassastır ve amino asit dizilişlerine bağlı olarak etkilenirler. Özellikle doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle etkileşimi yüksektir. Bu nedenle triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitleri içeren proteinler serbest radikallerden daha kolay etkilenirler. İmmungulobin G ve albumin gibi disülfit bağı fazla olan proteinlerin ise üç boyutlu yapıları bozulmaktadır (92,94,95).

2.10.1.3. Karbohidratlara Etkileri

Monosokkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksit ve okzoaldehitlermeydana gelmektedir. Açığa çıkan okzoaldehitler proteinlere bağlanabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki göstererek kanser ve yaşlanmaya neden olabilirler. Serbest oksijen radikalleri bağ dokunun önemli bir bileşeni olan hiyalüronik asit gibi karbonhidratların parçalanmalarına da yol açabilirler (92,96)

2.10.1.4. Lipidlere Etkileri

Serbest radikallerin biyolojik dokulardaki doymamış yağ asitlerine etkileri lipitperoksidasyonu olarak bilinir. Biyolojik zarların yapısı lipit ve proteinden oluşmaktadır,lipit peroksidasyonu lipitlere olduğu kadar zar proteinlerine de zarar verir (97).Lipit peroksidasyonu, çoklu doymamış yağ asitlerinin reaktif oksijen türleri tarafından peroksitler, alkoller, malondialdehit, etan ve pentan gibi ürünlere yıkılma tepkimelerine denilmektedir. Yağ asitlerinin peroksidasyonu sonrasında açığa çıkan ürünler zar geçirgenliğini ve akışkanlığını ciddi şekilde etkileyip hücre ve organel içeriklerinin ayrılmasına neden olan kopma ve kırılmalara yol açmaktadırlar. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen hücresel hasar geri dönüşümsüzdür (95,96).

Memran lipitlerinin peroksidasyonu sonucunda memranın kimyasal ve fiziksel komponentlerinde değişiklik olmakta ve iyon geçirgenliği bozulmaktadır. Lizozomal membranların tahribi hidrolitik enzimlerin salınmasına ve intrasellüler sindirime neden

olur. Biriken hidroperoksitler direkt olarak toksik etki göstermenin yanısıra duyarlı aminoasit kalıntılarını (methionin, histin, stein, lizin) okside eder veya zincir polimerizasyon reaksiyonlarıyla enzimleri inaktive edebilirler (98).

2.10.2.Serbest Radikal Oluşumunda Eksojen Faktörler

1. Diyetsel faktörler: Çoklu doymamış yağ asitlerince zengin gıdalarla beslenme, alkol,fazla kalorili beslenme (obezite), hayvansal proteinlerce zengin beslenme, az sebze ve meyve yenmesi, yiyeceklerin uygun olmayan ortam ve koşullarda hazırlanması.

2. Çevresel faktörler: Sigara dumanı, hava kirliliği (O_3, NO_2, SO_2, Hidrokarbonlar), radyasyon asbest ve pestisitler gibi kirleticiler.

3. İlaçlar: Antikanser ilaçlar, glutatyon tüketen ilaçlar.

2.10.3.Serbest Radikal Oluşumunda Endojen Faktörler

1. Fiziksel egzersiz / sedanter (hareketsiz) yaşam

2. Stres

3. Yaşlılık

4. Doku hasarı ve kronik hastalıklar (Ateroskleroz, kanser, kronik inflamasyon, iskemireperfüzyon hasarı gibi)

5. Diyetsel antioksidan alınımını etkileyen koşullar (istahsızlık, malabsorbsiyon) (99).

1)Mitokondri, hücreye alınan oksijenin yaklaşık %90'ından fazlasının tüketildiği önemli bir hücresel organeldir. Mitokondri iç membranında lokalize olmuş elektron transport zincirinde oksijenin dört elektronunun su oluşturmak üzere indirgenmesi sırasında salınan enerji, ATP sentezinde kullanılır. Fakat bu süreçte elektronların %1-3'ü bu reaksiyona katılmaz ve ara ürün olarak serbest oksijen radikallerinin oluşumuna neden olur. Süperoksit radikalinin en önemli in vivo kaynağı mitokondri ve endoplazmik retikulumdaki elektron transport zinciridir. Süperoksit üretiminden elektron transport

zincirinin kompleks I (NADH dehidrogenaz) ve kompleks III (koenzim Q-sitokrom b) adlı bölgeleri sorumludur (84).

2)Hücresel ROT'ların diğer endojen kaynakları, nötrofiller, eozinofiller ve makrofajlardır. Aktive edilmiş makrofajlar oksijen alımında artışı başlatırlar. Bu da süperoksit anyonu, nitrik oksit ve hidrojen peroksit gibi çeşitli ROT'ların oluşumuna neden olur(78).

3)Sitokrom P450 de ROT kaynağı olarak görev yapmaktadır. Sitokrom P450 enziminin indüklenmesi vasıtasıyla, P450 katalitik siklusunun bozulması ya da dağılmasını takiben, başta süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit olmak üzere ROT'ların üretimi oluşabilmektedir(78).

4) Mikrozomlar ve peroksizomlar da ROT kaynağıdır. Mikrozomlar, hiperoksik alanlarda *in vivo* olarak üretilen hidrojen peroksit konsantrasyonunun %80'inden sorumludur. Peroksizomların ise fizyolojik koşullarda, süperoksit anyonu değilse de hidrojen peroksit ürettiği bilinmektedir(78).

5) Araşidonik asit metabolizması da ROT için önemli bir kaynaktır. Araşidonik asitin siklooksijenaz ve lipooksijenaz tarafından katalizlenen oksidasyonu sonucu çeşitli serbest radikaller oluşabilmektedir. Araşidonik asit metabolizmasının lipooksijenaz yolu ile süperoksit radikali üretilir (100).

6) Ksantin oksidaz (XO), NADH-oksidaz, aldehit oksidaz, amino oksidaz, dihidroorotat dehidrogenaz gibi birçok enzimin katalitik döngüsü sırasında da serbest radikaller ortaya çıkar (100,101).

7)Geçiş metal iyonları lipit peroksidasyonundaki etkileriyle serbest radikal reaksiyonlarında önemli bir yere sahiptir. Metal iyonları, hidrojen peroksit ya da lipit peroksitler gibi düşük reaktif türlerin, hidroksil radikali ya da peroksil/alkoksil radikalleri gibi yüksek reaktif türlere dönüşümünü katalizler ve biyomoleküler oksidasyonun da güçlü katalizörleridir (102).

8) İskemiye maruz kalan doku ya da organa moleküler oksijenin tekrar girmesi ile hızla serbest oksijen radikalleri meydana gelmektedir ve bu olay hücrede reperfüzyon

hasarına yol açmaktadır. Reperfüzyon hasarından en çok etkilenen hücresel yapılar, membran lipitleri, proteinler, nükleik asitler ve DNA moleküleridir (103).

9) Atomdan elektron koparmak için yeterli enerjiye sahip olan radyasyona iyonize radyasyon denir. İyonize radyasyonun canlıda etki oluşturması radyasyonun enerjisini canlı hücreye aktarması ile gerçekleşir. Hücreler %70-90 oranında su içerdiğinden radyasyona maruz kalındığında suyun radyolitik parçalanması sonucunda serbest radikaller meydana gelmektedir (102,104)

10) Strese bağlı olarak katekolamin seviyesi artar ve katekolaminlerin oksidasyonusonucunda serbest radikaller meydana gelmektedir (104).

11) Uzun süreli ve yoğun yapılan egzersiz sırasında alınan oksijenin artması ilebirlikte ROT da aşırı miktarda üretilmektedir (105).

12) Atmosferdeki en önemli kirletici gazlar olan azot oksitlerin yanma reaksiyonlarısonrasında serbest radikaller oluşmaktadır (106).

13) Sigaranın içindeki başlıca farmakolojik aktif madde olan nikotin, mitokondrialsolunum zincirini kırarak ve sitokrom P450 aktivitesini arttırarak serbest radikallerin oluşumuna neden olabilmektedir (107).

Tablo 2.1'de artmış reaktif oksijen türevi bileşiklerin vücuttaki zararlı etkileri görülmektedir.

Tablo 2.1. Artmış reaktif oksijen türevi bileşiklerin vücuttaki zararlı etkileri

Artmış reaktif oksijen türlerinin vücuttaki zararlı etkileri
* Hücre mebranın en önemli bileşeni olan lipit ve proteinlerin yapısını bozmak
* Mitokondri içersinde gerçekleşen aerobik solunumu bozmak
* DNA'da zincir kırıklarına yol açarak mutajenik etki göstermek
*Hücre içersindeki yararlı enzimleri etkisiz hale getirmek
* Elastaz, proteaz, fosfolipaz, lipoksijenaz, siklooksijenaz, ksantinoksidaz, indolamin dioksijenaz, triptofan dioksijenaz ve galaktoz oksidaz gibi litik enzimleri aktive etmek
* Trombositlerin agregasyonunu artırmak
* Extraselüler matriksteki kollogen doku bileşenlerini yıkmak

Biyolojik sistemlerin en önemli serbest radikalleri oksijen kaynaklı olanlarıdır. Daha az olarak karbon ve kükürt merkezli olanları da vardır. Reaktif Oksijen türleri canlılığın varlığı için belli oranlarda gereklidir. ROS, mikrozomal ve mitokondriyal elektron transport zincirinden elektronların diffüze olması esnasında, nükleotid metabolizmasında hipoksantin ve ksantin basamaklarında, fagositik hücrelerde solunum patlaması esnasında, araşidonik asit metabolizması esnasında ve argininden nitrik oksitin sentezi esnasında üretilmektedir (108).

2.11.TOTAL OKSİDAN

Serbest radikallerin aktif oksijentürevlerine oksidanlar denir. Oksidanlar hedef moleküllerden elektron alma yetenekleri nedeniyle, bu hedef molekülün yapısını ve fonksiyonlarını değiştirerek hücre zarını, DNA, RNA gibi genetik materyali ve değişik enzimatik olayları etkileyerek hücre hasarlarına yol açtığı bilinmektedir(84).

Oksidan moleküller endojen olarak organizmada üretildiği gibi, dış çevreden de alınabilir. Elektron transport zinciri (ETS) ve ksantin oksidaz, glikolat ve monoaminoksidaz gibi oksidatif enzimler majör endojen reaktif oksijen kaynaklarıdır (109,110)Erişkinde istirahatte O_2 tüketimi, 3.5 mL O_2/kg/dk.'dır. Bunun %1'i süperoksid radikalanyon üretirse, (O_2^{-}) bu 0.147 mol/gün'e denk gelir. Egzersiz sırasında O_2 alımının artmasıyla 10 katına kadar artabilir. Enflamasyonda, NADPH oksidaz ve myeloperoksidaz aktiviteleri oksidan yükü artırır (111,112).

Bundan başka ultraviole ışınları ve sigara eksojen oksidanların önemli bir kaynağıdır (113).

Total oksidan kapasiteye en büyük katkıyı endojen olarak vücutta sentezlenen serbest oksijen moleküllerinin yan ürünleri sağlamaktadır. Vücutta normal veya patolojik olarak serbest radikaller üretilir. Bu ürünler hemen sentez edildikleri yerde detoksifiye edilmezler ise zararlı etkilerini oluştururlar (114,115).

Serbest radikaller ortaklanmamış elektron içerir. Reaktif oksijen türleri, oksijen radikalleri ve oksijenden türeyen, ama radikal olmayan singlet oksijen ve hidrojen peroksit gibi moleküllerin genel adlandırılmasıdır(94,116).**(Tablo 2.2).**

Tablo 2.2.Sık karşılaşılan radikaller, simgeleri ve kimlikleri(94).

Hidrojen radikali	H-	Bilinen en basit radikal.
Süperoksit radikali	O_2-.	Oksijen metabolizmasının ilk ana ürünü.
Hidroksil radikali	OH-	En toksik oksijen metaboliti.
Singlet oksijen	O_2-	Yarılanma ömrü hızlı, güçlü oksidatif oksijen formu.
Hidrojen peroksit	H_2O_2	Reaktivitesi çok düşük, moleküler hasar yeteneği zayıf.
Perhidroksi radikali	HO_2	Lipidlerde hızlı çözünerek lipid peroksidasyonunu arttırır.
Triklorometil radikali	.CCl_3	CCl_4 metabolizması ürünü, karaciğerde üretilen bir radikal.
Nitrojen oksit	NO	L-arjinin aminoasitinden in vivo üretilir.
Nitrojen dioksit	NO_2	NO'in oksijen ile reaksiyonundan üretilir.
Alkoksil	RO-	Organik peroksitlerin yıkımı ile üretilen oksijen metaboliti

TOS, total peroksid (TP), serum oksidan aktivitesi (SOA), reaktif oksijenmetabolitleri (ROM) eş anlamda kullanılantanımlamalardır(117).

2.12.ANTİOKSİDANLAR

Antioksidanlar düşük derişimlerde organik moleküllerin serbest radikal mekanizmalı oksidasyonunu önleyen bileşiklerdir(118).

Antioksidanlar, oksitlenebilir bir substratınkine kıyasla düşük konsantrasyonlarda bulunduğunda, o substratın oksidasyonunu erteleyen ya da engelleyen maddeler olaraktanımlanabilir (79,88,119 -123).

Serbest radikallerin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarları azaltmak için etki gösteren moleküllere antioksidanlar denir. Biyolojik sistemlerde çeşitli antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir. Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar, bu olaya da antioksidan savunma denir. Bütün hücreler güçlü savunma sistemlerinin varlığı ile oksidatif strese karşı savaşmaktadırlar, savunma

sistemlerini serbest radikal tutucuları ve bazı enzimler oluşturmaktadır ve savunma sisteminde öncelikle enzim sistemi etkili olmaktadır. Ömürleri çok kısa olmasına rağmen içerdikleri paylaşılmamış elektronlar nedeniyle serbest radikaller; lipid, karbonhidrat, protein ve nükleik asitler gibi makromoleküllerle etkileşmekte, hücre yapı ve organellerinde, bunların fonksiyonlarında önemli hasarlara yol açabilmektedir.

2.12.1.Antioksidan-Oksidan Etkileşimi

Antioksidanlar oksidan molekülleri 4 farklı mekanizma ile etkisizleştirirler;

· ***Temizleme Etkisi*:** Enzimler tarafından yapılır. Oksidanları zayıf bir moleküleçevirir.

· ***Baskılama Etkisi*:** Vitaminler ve flavonoidler tarafından yapılır. Oksidanlara birhidrojen aktararak etkisizleştirir.

· ***Onarıcı Etki*:** Oksidatif hasar görmüş DNA molekülünü tamir eden enzimler buguruba örnek olarak verilebilir. Ancak Onarıcı etki üzerinde çalışmalar devametmektedir.

· ***Zincir Koparma Etkisi*:** Hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini gibimoleküller tarafından yapılır. Ağır metaller şeklindedir ve oksidanlarıbağlayarak fonksiyonlarını engeller (94,124 -128)

2.13.TOTAL ANTİOKSİDAN SEVİYE (TAS)

Serbest radikalleri metabolize eden, serbest radikal oluşumunu önleyen veya serbestradikallerin temizlenmesini arttıran maddelere antioksidan maddeler denilmektedir (129).

TAS, henüz keşfedilmemiş antioksidanlar da dahil olmak üzere, incelenen biyolojik örneklerdeki antioksidanların tümünün total etkisini yansıtan, antioksidan durumu değerlendirmeye imkan veren güncel ve güvenilir bir parametredir. Antioksidan türlerinin tek tek araştırılmasına kıyasla daha kolaydır, daha ucuzdur ve daha az zaman almaktadır. Bunun yanı sıra çeşitli antioksidanlar arasındaki olası sinerjistik veya antagonistik etkileşimleri de yansıtmaktadır (115,131,132)

Serum ya da vücut sıvılarında bulunan antioksidan maddeler labaratuvar şartlarında ayrı ayrı ölçülebilir ama ölçümleri zaman alıcı, pahalı ve karmaşık teknikler gerektirir (115).

Plazmada bulunan antioksidanlar etkileşim halindedirler. Bu etkileşimden dolayı bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir etki oluşturmaktadırlar. Total antioksidan durumun ölçülmesi, antioksidanların yalnız ölçümünden daha değerli bilgiler verebilir. Çünkü TAS, serumda bulunan antioksidan özelliklere sahip enzimatik olan veya enzimatik olmayan bütün antioksidan maddelerin toplam aktivitesini yansıtır ve daha doğru bir yaklaşım sağlar(115,133,134).

Total antioksidan durum, memranlar ve diğer hücresel komponentleri oksidatif strese karşı koruma kapasitesinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (135).

2.14.OKSİDATİF STRES İNDEKSİ (OSİ)

Oksidatif stres; herhangi bir nedenle oksidan üretiminde artış ve antioksidan savunma mekanizmasında yetersizlik nedeniyle aradaki dengenin antioksidan aktivite aleyhinebozulması sonucunda oluşan doku hasarı olarak tanımlamaktadır (136).

Vücuttaki fizyolojik aktivitenin doğal ürünü olan serbest radikalleri, organizma doğuştan kazandığı çok hassas bir donanımla oksidan-antioksidan denge olarak tanımlanabilecek bir çizgide tutmaya çalışır. Bu dengenin bozulması oksidatif strese yol açar (137).

Başka bir şekilde tanımlayacak olursak; doku veya hücrede oluşan serbest oksijen radikallerinin konsantrasyonunun antioksidan kapasiteyi aşması olarak tanımlanır (138).

Organizmada antioksidan ve oksidanlar moleküller denge halindedir. Bu denge antioksidanlar aleyhine değişmeye başlaması durumunda oksidatif stres gözlenir ve serbest radikal hasarı gözlenir(136).

Oksidatif Stresin bir göstergesi olarak gösterilen Oksidatif Stres İndeksi (OSI),Toplam Oksidan Status/Seviye (TOS) düzeylerinin Toplam Antioksidan Status/Seviye (TAS) düzeylerine oranının yüzde derecesi olarak ifade edilir. Örneklerin Oksidatif Stres

İndeksi (OSI) hesaplanırken TAS düzeyleri 100 ile çarpılarak TOS düzeyleri ile birimler eşitlenir (139).

$$\text{OSİ} = \frac{\text{TOS, } \mu\text{mol } H_2O_2 \text{ Equiv. / L.}}{\text{TAS, mmol trolox Equiv. / L.}} \times 100$$

Oksidatif stres, tüm hücrelerde yapısal ve fonksiyonel hasara neden olabilmektedir. Bilinen hedefleri çoklu doymamış yağlar, şekerler, proteinler ve nükleik asitlerdir. Oksidatif stres, hücre redoks sistemini, hücre içi haberleşmeyi ve gen transkripsiyonunu etkileyerek, hücre döngüsünün bozulmasına ve sonuçta hücrenin ölümüne neden olmaktadır (139,140).

Normal fizyolojik koşullarda organizma, endojen veya eksojen nedenlerle oluşan serbest radikaller ve bunlara bağlı oluşan oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan defans sistemine sahiptir. Vücudun oluşan oksidan durumlara karşı redoks ayarını sürdürebilmesinde kan çok önemlidir. Çünkü kan antioksidanların vücudun tüm bölümlerine taşınmasını ve dağıtımını gerçekleştirmektedir. Total oksidan kapasiteye en büyük katkıyı endojen olarak vücutta sentezlenen serbest oksijen moleküllerinin yan ürünleri sağlamaktadır. Vücutta normal veya patolojik olarak serbest radikaller üretilir. Bu ürünler hemen sentez edildikleri yerde detoksifiye edilmezler ise zararlı etkilerini oluştururlar. Total antioksidan kapasiteye en büyük katkı plazmadaki antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada bilirubin, serbest demiri toplayan transferrin ve seruloplazmin, ürik asit, E vitamini, C vitamini gibi proteinler yanında serbest radikalleri tutan zincir kırıcı antioksidanlar da bulunmaktadır. Plazmada antioksidanlar bir etkileşim içinde bulunurlar. Genel olarak bu maddeler sinerjist olarak çalışmaktadırlar. Bu etkileşimden dolayı, bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir etki oluşmaktadır. Bu sinerjizme örnek glutatyonun askorbatı, askorbatında tokoferolün yeniden aktifleşmesini sağlaması gösterilebilir. Ayrıca bir antioksidandaki azalma diğerindeki artış ile kompanse edilebilmektedir. Vücuttaki oksidatif stresi ve antioksidan kapasiteyi değerlendirmek için oksidan ve antioksidan moleküllerin bireysel ölçümü yerine total olarak ölçümünü sağlayan yöntemler yaygınlaşmaktadır (114,115).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı ve Parazitoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.1.KULLANILAN HASTA VE KONTROL GRUBUNA AİT ÖZELLİKLER

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi servisine kistik ekinokokkozis ön tanısı ile başvuran ve Parazitoloji AD'na sevk edilen (Mart-Aralık 2014 tarihleri arasında) serolojik tekniklerle (İHA, ELİSA, İFAT ve WB) anti-*E. granulosus* IgG antikorları pozitif çıkan pre-operatif dönemdeki 30 hasta çalışma kapsamına alındı. Mevcut klinik ve laboratuvar bulgularına göre diyabet, kronik respiratuvar yetmezlik, akut infeksiyon, malign tümör ve hepatit gibi sistemik hastalığı bulunanlar çalışma dışında bırakıldı.

Kontrol grubunu, sistemik hastalığı olmayan vitamin ve/veya mineral preparatları dahil, son üç aydır hiçbir ilaç kullanmayan ve sigara içmeyen sağlıklı kişiler arasından seçilen 28 birey oluşturuldu. (Çalışma sırasında kontrol grubu, hasta grubunu oluşturacak bireylerin yaş ortalaması ve cinsiyetleri dikkate alınarak oluşturuldu). Kan örneklerinden elde edilen örnekler alikotlar halinde -80ºC'de dondurularak saklandı.

3.2.ADENOZİN DEAMİNAZ (ADA) AKTİVİTESİ TAYİNİ

Prensip

Hasta ve kontrol gruplarının serum örneklerinde ADA düzeyleri Giusti ve Galanti tarafından tanımlanan alkali ortamda adenozinin adenozin deaminaz ile inozine ve amonyağa dönüşümünün sağlanması ve oluşan amonyağın da Berthelot reaksiyonu ile kantitasyonuna dayanan spektrofotometrik metodla çalışıldı.

Test Prosedürü

Berthelot Reaksiyonu;

ADA reaksiyonu sırasında açığa çıkan amonyak, alkali ortamda, fenol ve hipoklorik reaktifleri ile reaksiyona girerek mavi renkli indofenol bileşiği oluşturur. Oluşan rengin absorbansı 628 nm'de ölçülüp,standartla karşılaştırılarak ADA aktiviteleri tayin edildi.

Reaktifler;

-Fosfat tamponu:50 mM,pH:6,5

-Amonyum sülfat stok standart:75mM

-Tamponlanmış Adenozin substratı:21mM,pH:6,5

-Alkali hipoklorit reaktifi

REAKTİFLERİN HAZIRLANMASI;

1.50 mM,pH:6,5 FOSFAT TAMPONU;

-Na_2HPO_4 (baz) 7,1gr. tartılıp 1000 ml'lik balon jojede distile suda çözüldü.

- NaH_2PO_4 (asit) 6 gr. tartılıp 1000 ml'lik balon jojede distile suda çözüldü.

Daha sonra baz olanın üzerine asit olan yavaş yavaş dökülerek pH:6,5'e ayarlandı.

2.ALKALİ HİPOKLORİT REAKTİFİ;

1N NaOH'in 62,5 mL'si %5 NaOCL 8,2 mL'si ile karıştırıldı.Son hacim distile su ile 500 mL'ye tamamlandı.

3.FENOL REAKTİFİ;

5gr. Fenol ve 25mg Na-nitroprussiat tartılıp ve 500 mL distile suda çözüldü.

ÇALIŞMA;

Standart hazırlanması**;** Ara stok standart çözeltiden 50µL alınıp ve fosfat tampon çözeltisi ile 10 mL'ye tamamlandı.

Adenozin hazırlanması**;**140 mg adenozin tartılıp ve 25ml fosfat tamponunda çözüldü.

Hazırlanacak deney tüpleri

Reaktifler	**Reaktif körü**	**Standart**	**Adenozin körü**	**Numune**	**Numune körü**
Tampon	500µL				500µL
Adenozin			500µL	500µL	
Standart		500µL			
Numune				25 µl	25 µl
Distile su	25 µl	25 µl	25 µl		

Numune ve diğer tüpler yukarıdaki çizelgeye göre hazırlandı,37^{0}C'de ki benmaride 60 dk. karıştırılarak bekletilip,60 dakikanın sonunda 1,5mL fenol reaktifi ve 1,5 mL alkali hipoklorit reaktifi eklendi. Tüpler 30 dakika karıştırılarak su banyosunda bekletilip ve süre sonunda spektrofotometrede 628nm'de absorbansları okundu, numunenin enzim aktivitesi tayin edildi.

Hesaplama;

A:Numune OD – Numune Körü OD

B:Adenozin körü – ReaktifKörü OD

C:Standart OD –ReaktifKörü OD

ADA (U/L)=[(A-B)/C]×50

3.3.5'NÜKLEOTİDAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Shanghai Yehua Biological Technology Co Ltd (Katalog no:YHB0040Hu) marka insan ELISA kiti 5'nükleotidaz aktivitesi ölçümü için kullanıldı.

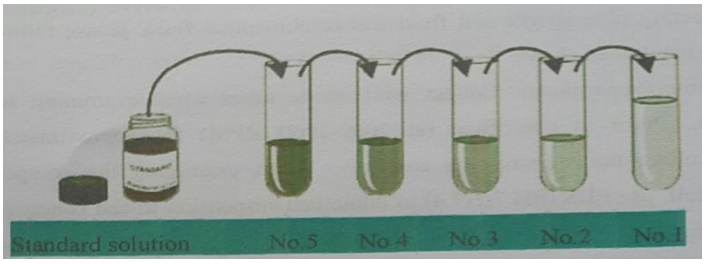
Prensip

Bu kit enzim bağlantılı bağışıklık deneylerinde insan 5'nükleotidaz'ı ölçmek için kullanılır. 5'nükleotidaz tayininde çift antikorlu biotin ile birleştirilmiş enzim kullanıldı. Önceden 5'nükleotidaz biyotin antikoru ile kaplanmış olan kuyucuklara 5'nükleotidaz eklenir sonra inkübasyona bırakılıp inkübasyondan sonra streptavidin-HRP ile birleştirmek için biotin ile etkileştirilmiş 5'NT antikor eklendi. İnkübasyon ve yıkama sonrası bağlanmamış enzimler uzaklaştırmış oldu. Subsrat A ve B eklenip, solisyonun rengi önce maviye sonrada asidin etkisi ile sarıya döndü. Solüsyonun renk tonu insan 5'NT'nin konsantrasyonu ile pozitif ilişkilendirilecekti.

Test Prosedürü (Çalışma Prosedürü)

a)Standart solusyonların seyreltilmesi:

80ng/ml	Standart No.5	120µl Orijinal Standart +120 µl diluents
40ng/ml	Standart No.4	120 µl Standart No.5+120 µl diluents
20ng/ml	Standart No.3	120 µl Standart No.4+120 µl diluent
10ng/ml	Standart No.2	120 µl Standart No.3+120 µl diluent
5ng/ml	Standart No.1	120 µl Standart No.2+120 µl diluent



b)Striplerin sayısı, örnekler ve standartlar belirlendi.

c)Örnek yükleme:

1)Kör kuyucuğu: Örnek eklenmedi,kromojen A & B reaktifini ve stop (durdurma) solusyonu eklendi, diğer basamaklardaki işlemler aynen uygulandı.

2)Standart solusyon kuyucuğu: 50 µl standart ve 50 µl streptomymycin-HRP eklendi.

3)Örnek kuyucuğu: 40 µl örnek ve sonra 10 µl 5'NT antikoru ve 50 µl streptomycin-HRP eklendi, sonra plate'in üzeri kaplandı. Örnekleri karıştırmak için yavaşça çalkalanıp, 37 ^{0}C' de 60 dk inkübe edildi.

d)Yıkama solusyonunun hazırlanması: Yıkamasolusyonunu distile su ile (30X) seyreltildi.

e)Yıkama: Plate in kaplaması dikkatlice çıkarıldı. Kuyucuklardaki sıvı boşaltıldı. Her kuyucuğa yıkama solusyonu yüklendi, 30 sn beklenip, sonra tekrar boşaltıldı. Bu prosedür 5 kez tekrarlandı.

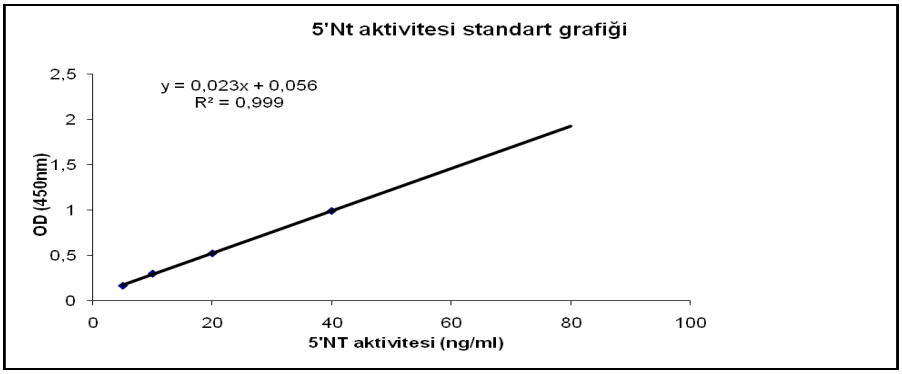
f)Renk geliştirilmesi:Öncelikle 50 µl kromojenreaktifi A her kuyucuğa eklendi, sonra 50 µl kromojen reaktifi B her kuyucuğa eklenip, karıştırmak için yavaşça çalkalandı. Renk gelişimi için karanlıkta 37 ^{0}C' de 10 dk inkübe edildi.

g)Durdurma: Reaksiyonu durdurmak için 50 µlstop (durdurma) solusyonu her kuyucuğa eklendi (renk değişimi maviden sarıya dönüştü.).

h)Analiz: Kör kuyucuğu sıfır olarak kabul edildi, 450 nm dalga boyunda her kuyucuğun absorbansı (OD) ölçüldü. Bu işlem stop solusyonu eklendikten sonra 10 dk içinde yapıldı.

i)Standart konsantrasyonları ve karşılık gelen OD değerlerine göre, standart eğrinin lineer regresyon denklemi hesaplanıp, örneklerin OD değerlerine göre konsantrasyonu hesaplandı.

Absorbans değerleri ile 5'NT aktivitesistandart grafiği çizildi.(**Şekil.3.1**)



Şekil3.1. 5'NT aktivitesi standart grafiği

3.4.TOTAL ANTİOKSİDANT SEVİYE (TAS) TAYİNİ

Shanghai Yehua Biological Technology Co Ltd (Katalog no:YHB3515Hu) marka TAS kiti kullanılarak üretici firmanın uyarıları doğrultusunda çalışma gerçekleştirildi.

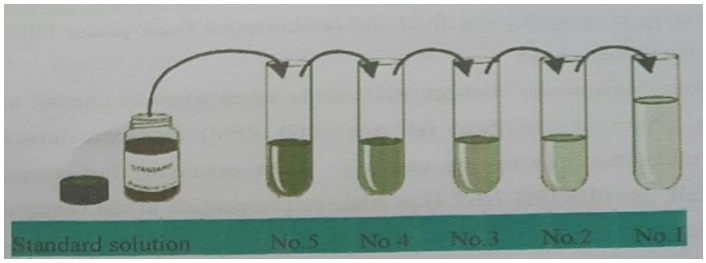
Prensip

Bu kit enzim bağlantılı bağışıklık deneylerinde insan Total antioksidan seviyesini ölçmek için kullanılır. Total antioksidan seviye ölçmek için çift antikorlu biotin ile birleştirilmiş enzim kullanıldı. Önceden Total antioksidan antikoru ile kaplanmış olan kuyucuklara Total antioksidan eklendi sonra inkübasyona bırakıldı inkübasyondan sonra streptavidin-HRP ile birleştirmek için biotin ile etkileştirilmiş Total antioksidan antikor eklendi.İnkübasyon ve yıkama sonrası bağlanmamış enzimler uzaklaştırmış oldu. Subsrat A ve B eklendi, solüsyonun rengi önce maviye sonrada asidin etkisi ile sarıya döndü. Solüsyonun renk tonu insan Total antioksidan seviye konsantrasyonu ile pozitif ilişkilendirildi.

Test Prosedürü (Çalışma Prosedürü)

a)Standart solusyonların seyreltilmesi:

80pg/ml	Standart No.5	120µl Orijinal Standart +120 µl diluents
40pg/ml	Standart No.4	120 µl Standart No.5+120 µl diluents
20pg/ml	Standart No.3	120 µl Standart No.4+120 µl diluent
10pg/ml	Standart No.2	120 µl Standart No.3+120 µl diluent
5pg/ml	Standart No.1	120 µl Standart No.2+120 µl diluent



b)Striplerin sayısı, örnekler ve standartlar belirlendi.

c)Örnek yükleme:

1)Kör kuyucuğu: Örnek eklenmedi, kromojen A & B reaktifini ve stop (durdurma) solusyonu eklendi, diğer basamaklardaki işlemler tekrar edildi.

2)Standart solusyon kuyucuğu: 50 µl standart ve 50 µl streptomymycin-HRP eklendi.

3)Örnek kuyucuğu: 40 µl örnek ve sonra 10 µl TAS antikoru ve 50 µl streptomycin-HRP eklenip, plate'in üzeri kaplandı. Örnekleri karıştırmak için yavaşça çalkalanıp, 37 ^{0}C' de 60 dk inkübe edildi.

d)Yıkama solusyonunun hazırlanması: Yıkama solusyonunu distile su ile (30X) seyreltildi.

e)Yıkama: Plate'in kaplaması dikkatlice çıkarıldı. Kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp, her kuyucuğa yıkama solusyonu yüklendi. 30 sn beklenip, sonra tekrar boşaltıldı. Bu prosedür 5 kez tekrarlandı.

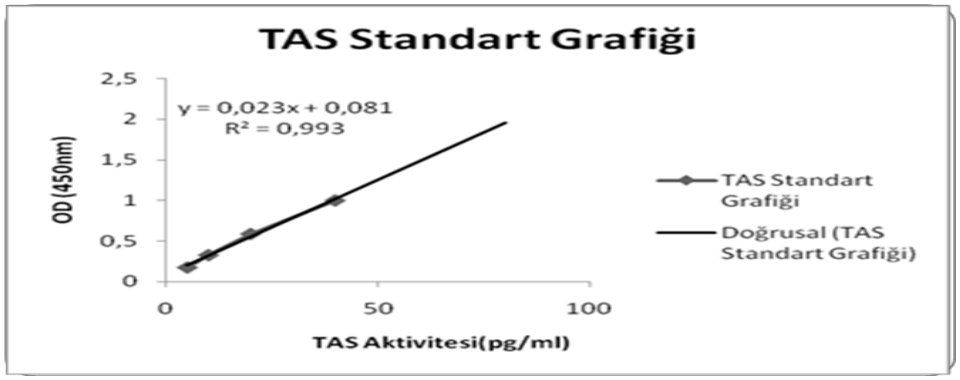
f)Renk geliştirilmesi:Öncelikle 50 µl kromojenreaktifi A her kuyucuğa eklenip, sonra 50 µl kromojenreaktifi B her kuyucuğa eklendi. Karıştırmak için yavaşça çalkalandı. Renk gelişimi için karanlıkta 37 ^{0}C' de 10 dk inkübe edildi.

g)Durdurma: Reaksiyonu durdurmak için 50 µl stop (durdurma) solusyonu her kuyucuğa eklendi.(renk maviden sarıya dönüştü.)

h)Analiz: Kör kuyucuğu sıfır olarak kabul edildi, 450 nm dalga boyunda her kuyucuğun absorbansı (OD) ölçüldü. Bu işlem stop solusyonu eklendikten sonra 10 dk içinde yapıldı.

i)Standart konsantrasyonları ve karşılık gelen OD değerlerine göre, standart eğrinin lineer regresyon denklemi hesaplandı. Örneklerin OD değerlerine göre ilgili örneklerin konsantrasyonu hesaplandı.

Absorbans değerleri ile TAS standart grafiği çizildi.(**Şekil3.2**)



Şekil3.2. TAS standart grafiği.

3.5.TOTAL OKSİDAN SEVİYELERİNİN (TOS) TAYİNİ

Shanghai Yehua Biological Technology Co Ltd (Katalog no:YHB3538Hu) marka TOS kiti kullanılarak üretici firmanın uyarıları doğrultusunda çalışma gerçekleştirildi.

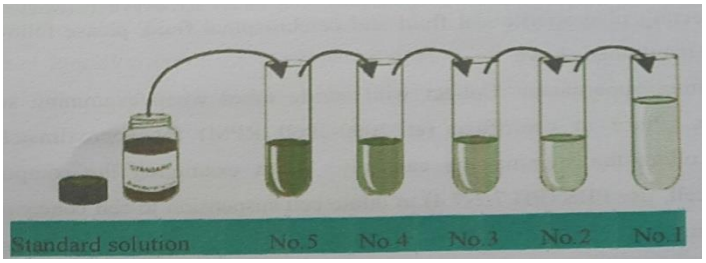
Prensip

Bu kit enzim bağlantılı bağışıklık deneylerinde insan Total oksidan seviye'i ölçmek için kullanılır. Total oksidan seviye ölçmek için çift antikorlu biotin ile birleştirilmiş enzim kullanıldı. Önceden Total oksidan antikoru ile kaplanmış olan kuyucuklara Total oksidan eklendi sonra inkübasyona bırakıldı inkübasyondan sonra streptavidin-HRP ile birleştirmek için biotin ile etkileştirilmiş Total oksidan antikor eklendi. İnkübasyon ve yıkama sonrası bağlanmamış enzimler uzaklaştırmış oldu. Subsrat A ve B eklendi, solisyonun rengi önce maviye sonrada asidin etkisi ile sarıya döndü. Solüsyonun renk tonu insan Total oksidan seviye konsantrasyonu ile pozitif ilişkilendirildi.

Test Prosedürü (Çalışma Prosedürü)

a)Standart Solusyonların seyreltilmesi:

64pg/ml	Standart No.5	120µl Orijinal Standart +120 µl diluents
32pg/ml	Standart No.4	120 µl Standart No.5+120 µl diluents
16pg/ml	Standart No.3	120 µl Standart No.4+120 µl diluent
8pg/ml	Standart No.2	120 µl Standart No.3+120 µl diluent
4pg/ml	Standart No.1	120 µl Standart No.2+120 µl diluent



b)Striplerin sayısı, örnekler ve standartlar belirlendi.

c)Örnek yükleme:

1)Kör kuyucuğu: Örnek eklenmedi,kromojen A & B reaktifini ve stop (durdurma) solusyonu eklenip, diğer basamaklardaki işlemler gerçekleştirildi.

2)Standart solusyon kuyucuğu: 50 µl standart ve 50 µl streptomymycin-HRP eklendi.

3)Örnek kuyucuğu: 40 µl örnek ve sonra 10 µl TOS antikoru ve 50 µl streptomycin-HRP eklenip, plate'in üzeri kaplandı. Örnekleri karıştırmak için yavaşça çalkalanıp, 37 ^{0}C' de 60 dk inkübe edildi.

d)Yıkama solusyonunun hazırlanması: Yıkama solusyonunu distile su ile (30X) seyreltildi.

e)Yıkama: Plate'in kaplaması dikkatlice çıkarıldı. Kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp, her kuyucuğa yıkama solusyonu yüklendi. 30 sn beklenip, sonra tekrar boşaltıldı. Bu prosedür 5 kez tekrarlandı.

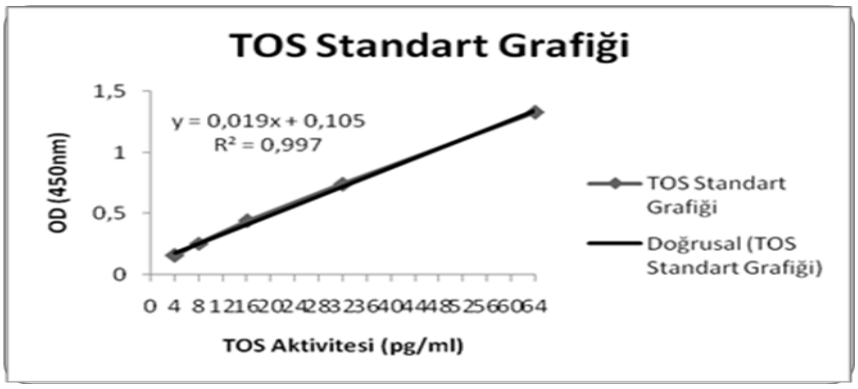
f)Renk geliştirilmesi:Öncelikle 50 µl kromojen reaktifi A her kuyucuğa eklendi, sonra 50 µl kromojen reaktifi B her kuyucuğa eklenip, karıştırmak için yavaşça çalkalanıp, renk gelişimi için karanlıkta 37 ^{0}C' de 10 dk inkübe edildi.

g)Durdurma: Reaksiyonu durdurmak için 50 µl stop (durdurma) solusyonu her kuyucuğa eklendi. (renk maviden sarıya dönüştü.)

h)Analiz: Kör kuyucuğu sıfır olarak kabul edildi. 450 nm dalga boyunda her kuyucuğun absorbansı (OD) ölçüldü. Bu işlem stop solusyonu eklendikten sonra 10 dk içinde yapılmalıdır.

i)Standart konsantrasyonları ve karşılık gelen OD değerlerine göre, standart eğrinin lineer regresyon denklemi hesaplandı. Sonra örneklerin OD değerlerine göre örneklerin konsantrasyonu hesaplandı.

Absorbans değerleri ile TOSstandart grafiği çizildi.(**Şekil.3.3**)



Şekil 3.3. TOSstandart grafiği

3.6.OKSİTATİF STRES İNDEKSİ (OSİ)

TOS ve TAK değerlerinin %oranı olarak kabul edilen oksidatif stres indeksi aşağıdaki formule göre hesaplandı:

$$\%OSİ = \frac{\text{TOS, µmol } H_2O_2 \text{ Equiv. / L.}}{\text{TAS, mmol trolox Equiv. / L.}} \times 100$$

4.BULGULAR

Veriler IBM SPSS Statistics 22.0 (IBM Corp. Armonk, New York, ABD) istatistik paket programında değerlendirildi. Verilerin normal dağılımı ShapiroWilk normallik testi ve Q-Q grafikleri ile değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler ortalama±standart sapma, medyan(min-max) değerleri olarak verildi. Gruplar arası karşılaştırmalar normal dağılım gösteren değişkenlerde bağımsız iki örnek t testi, normal dağılım göstermeyen değişkenlerde Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Sayısal değişkenler arası ilişkiler Pearson veya Spearman korelasyon analizleri ile değerlendirildi. $p<0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

ADA ve TAS'da dağılım normal olduğu için T testi yapıldı.

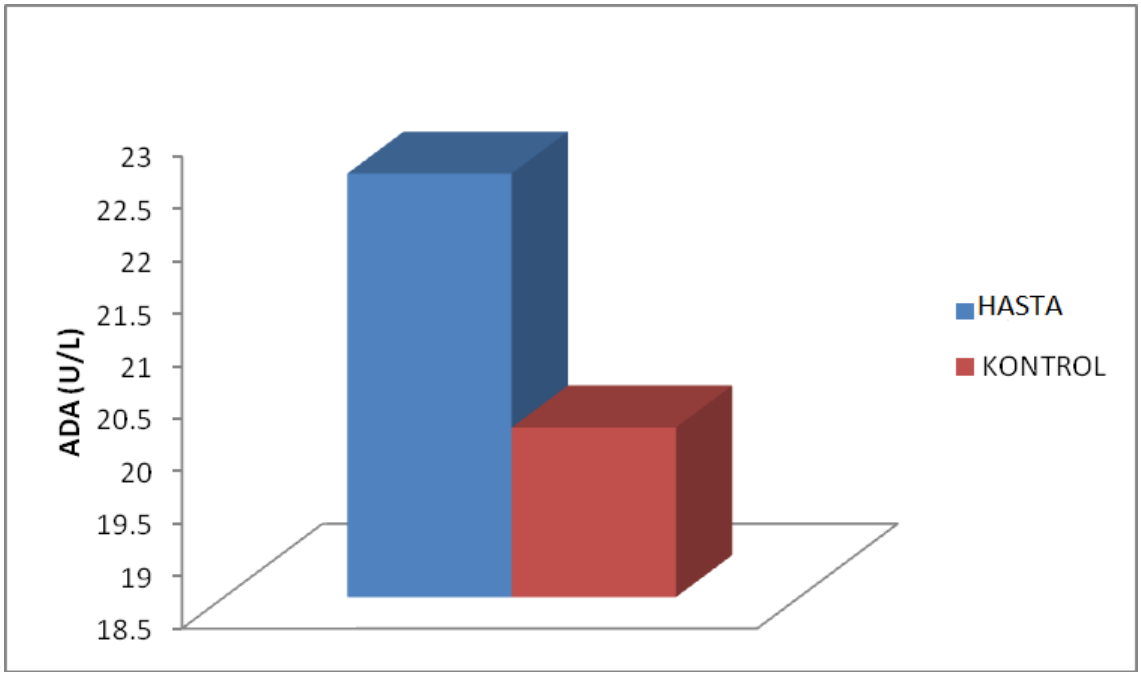
Tablo 4.1. ADA'da hasta ve kontrol grupların istatistiksel verileri.

	Hasta (n=29) Ort±SD	Kontrol (n=28) Ort±SD	*p*
ADA	22,53±11,36	20,11±8,67	0,371

Tablo 4.1'de görüldüğü gibi, ADA'da hasta ve kontrol gruplar arasında istatistiksel anlamda bir fark tespit edilmedi.(p=0,371)

Hasta ve kontrol grubu bireylerde ADA aktivitesinin karşılaştırılması grafik **Şekil4.1.a'**de sunulmuştur.

(a)



Şekil4.1.(a): Gruplar arasında **ADA** aktivitesinin karşılaştırılması.

ADA'da, hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında ADA aktivitesi hasta grubunda numerik olarak arttığı halde istatistiksel olarak fark görülmedi.

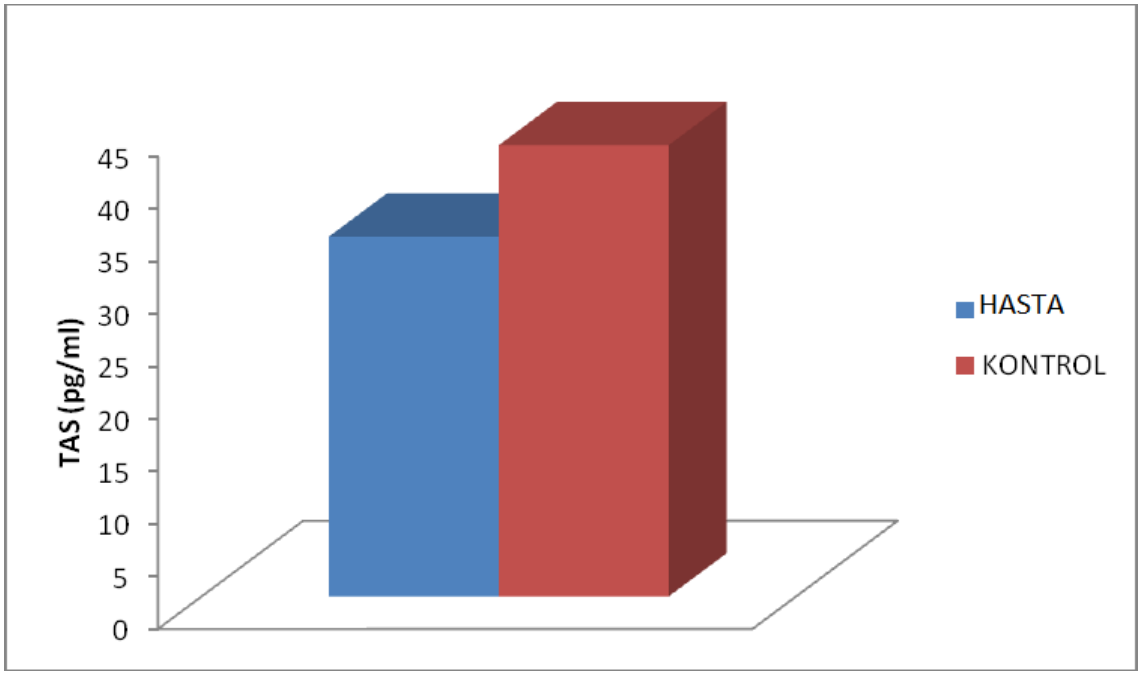
Tablo 4.2. TAS'da hasta ve kontrol grupların istatistiksel verileri

	Hasta (n=29) Ort±SD	Kontrol (n=29) Ort±SD	*p*
TAS	34,30±19,30	43,02±21,29	0,108

Tablo 4.2'de görüldüğü gibi TAS 'da hasta ve kontrol gruplar arasında istatistiksel anlamda bir fark tespit edilmedi.(*p*=0,108)

Hasta ve kontrol grubu bireylerde TAS aktivitesinin karşılaştırılması grafik **Şekil4.1.b'**de sunulmuştur.

(b)



Şekil4.1. (b): Gruplar arasında **TAS** aktivitesinin karşılaştırılması.

TAS'da, hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında TAS aktivitesi hasta grubunda numerik olarak azaldığı halde istatistiksel olarak fark görülmedi.

5'NT ve TOS'da dağılım normal olmadığı için (nanparametrik) Mann-Whitney U testi yapıldı.

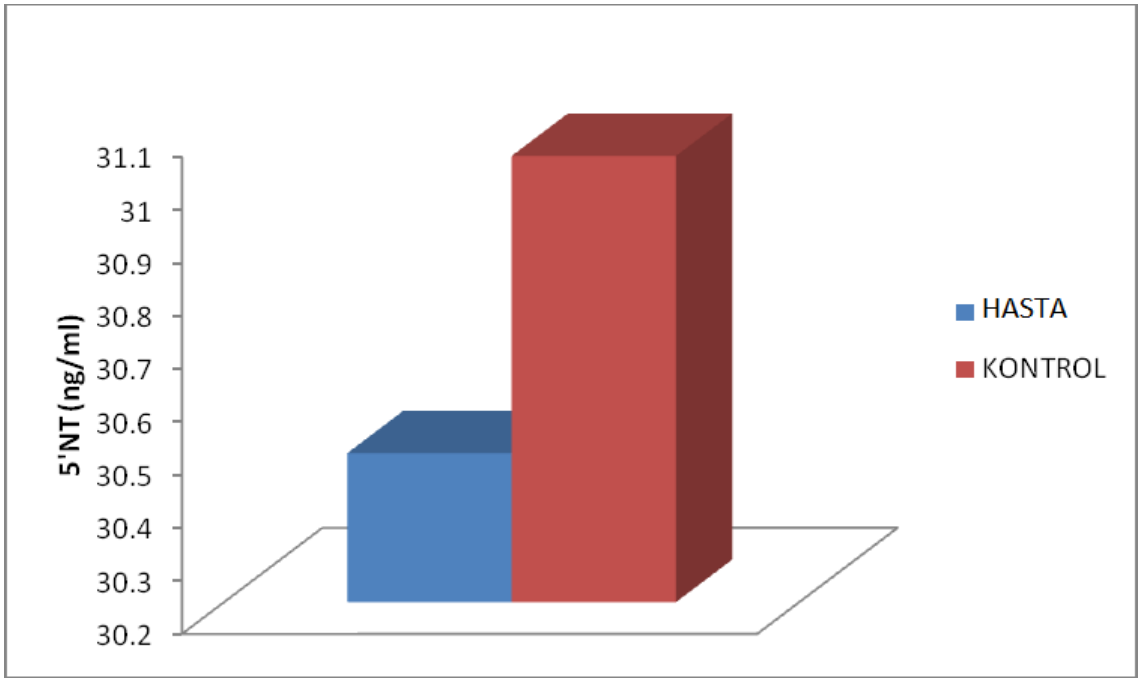
Tablo 4.3.5'NT'de hasta ve kontrol grupların istatistiksel verileri

	Hasta (n=30) Media (min-max)	Kontrol (n=29) Media (min-max)	*p*
5'NT	27,15 (16,57-66,48)	29,35 (8,26-53,96)	0,054

Tablo 4.3'de görüldüğü gibi 5'NT'de hasta ve kontrol gruplar arasında istatistiksel anlamda bir fark tespit edilmedi.(*p*=0,054)

Hasta ve kontrol grubu bireylerde 5'NT aktivitesinin karşılaştırılması grafik **Şekil4.1.c'**de sunulmuştur.

(c)



Şekil4.1. (c): Gruplar arasında 5'NT aktivitesinin karşılaştırılması.

5'NT'de, hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında 5'NT aktivitesi hasta grubunda numerik olarak azaldığı halde istatistiksel olarak fark görülmedi.

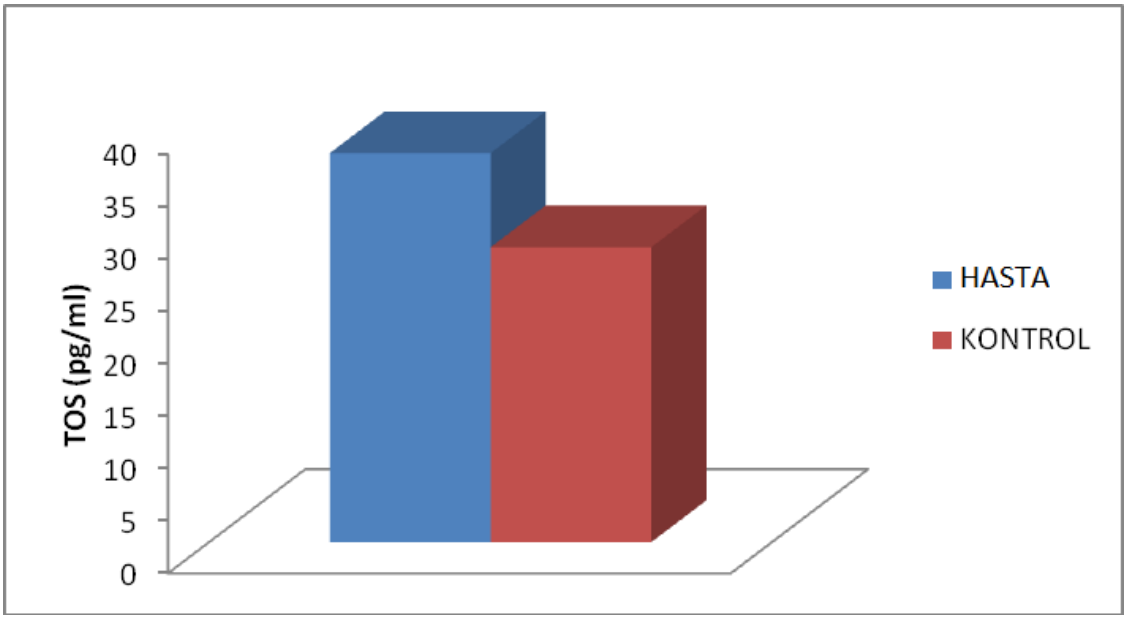
Tablo4.4.TOS'da hasta ve kontrol grupların istatistiksel verileri

	Hasta (n=30) Media (min-max)	Kontrol (n=25) Media (min-max)	*p*
TOS	36,13 (15,32-75,26)	28,84 (8,00-90,63)	0,166

Tablo 4.4'de görüldüğü gibi TOS da hasta ve kontrol gruplar arasında istatistiksel anlamda bir fark tespit edilmedi.(*p*=0,166)

Hasta ve kontrol grubu bireylerde TOS aktivitelerinin karşılaştırılması grafik **Şekil 4.1.d**'de sunulmuştur.

(d)



Şekil4.1.(d): Gruplar arasında **TOS** aktivitesinin karşılaştırılması.

TOS'da, hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında TOS aktivitesi hasta grubunda numerik olarak arttığı halde istatistiksel olarak fark görülmedi.

4 parametre için, hasta ve kontrol gruplarına ayırarak;

Hastalarda;

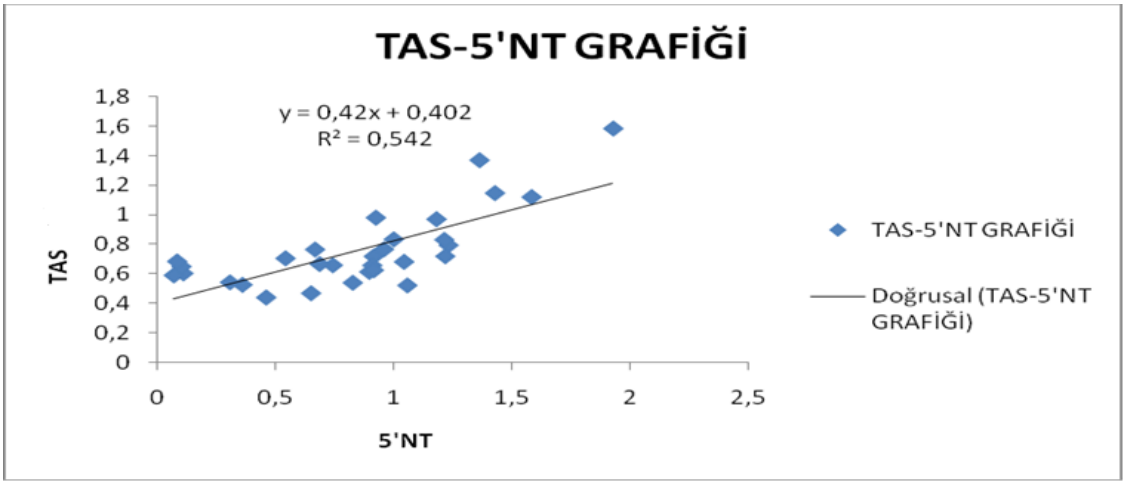
ADA-TAS arasında korelasyon tespit edilemedi (p=0,491 r=-0,136).

ADA-5'NT arasında korelasyon tespit edilemedi (p=0,276 r=0,209).

ADA-TOS arasında korelasyon tespit edilemedi (p=0,453 r=0,145).

TAS-5'NT arasında anlamlı, pozitif korelasyon var (p<0,001 r=0,712).

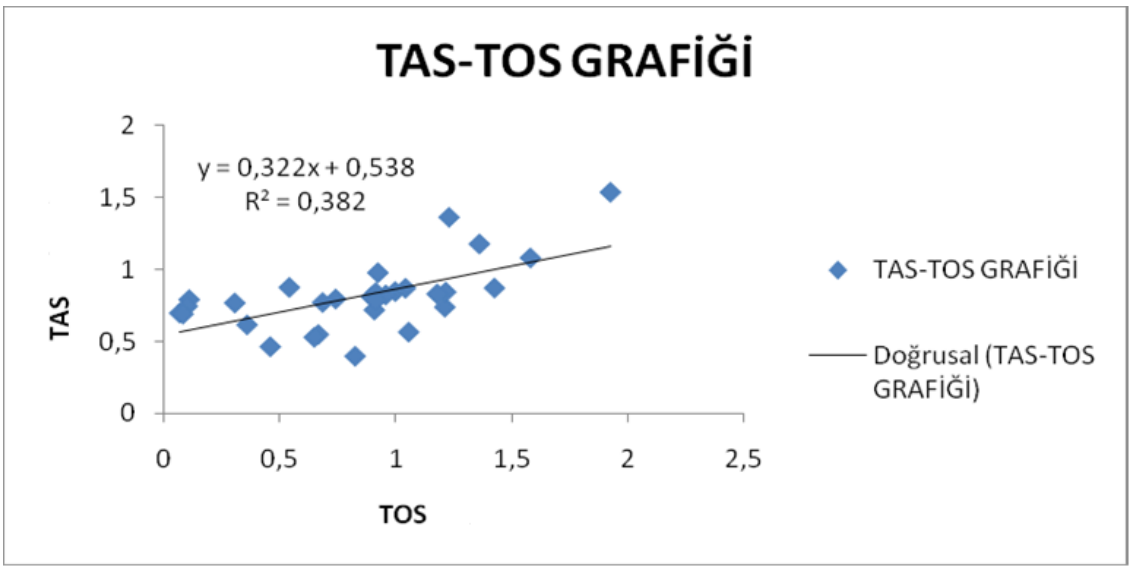
E. granulosus ile infekte bireylerde yapılan korelasyon analizlerinde; TAS ile 5'NT arasındaki regrasyon eğrisi **Şekil 4.2'**de tanımlayıcılık katsayılarıyla birlikte (R^2) aşağıda gösterilmiştir.



Şekil4.2. Hasta grubun, TAS ile 5'NT regrasyon eğrisi

TAS-TOS arasında anlamlı, pozitif korelasyon var (p<0,001 r=0,651).

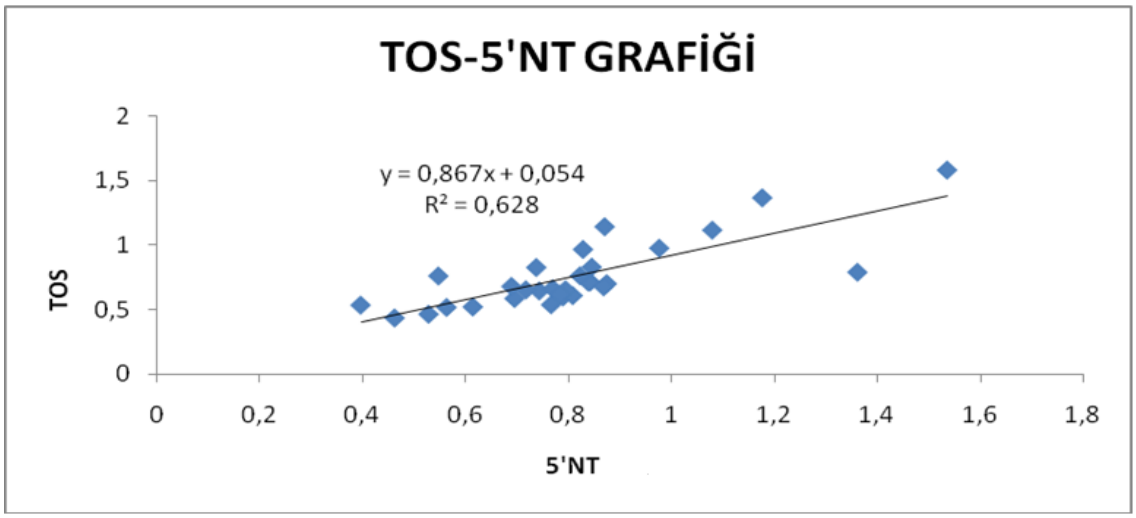
E. granulosus ile infekte bireylerde yapılan korelasyon analizlerinde; TAS ile TOS arasındaki regrasyon eğrisi **Şekil 4.3**'de tanımlayıcılık katsayılarıyla birlikte (R^2) aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Hasta grubun, TAS ile TOS regrasyon eğrisi

TOS-5'NT arasında anlamlı pozitif korelasyon var (p<0,001 r=0,785) .

E. granulosus ile infekte bireylerde yapılan korelasyon analizlerinde; TOS ile 5'NT arasındaki regrasyon eğrisi **Şekil 4.4**'de tanımlayıcılık katsayılarıyla birlikte (R^2) aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 4.4. Hasta grubun, TOS ile 5'NT regrasyon eğrisi

Kontrol grupta;

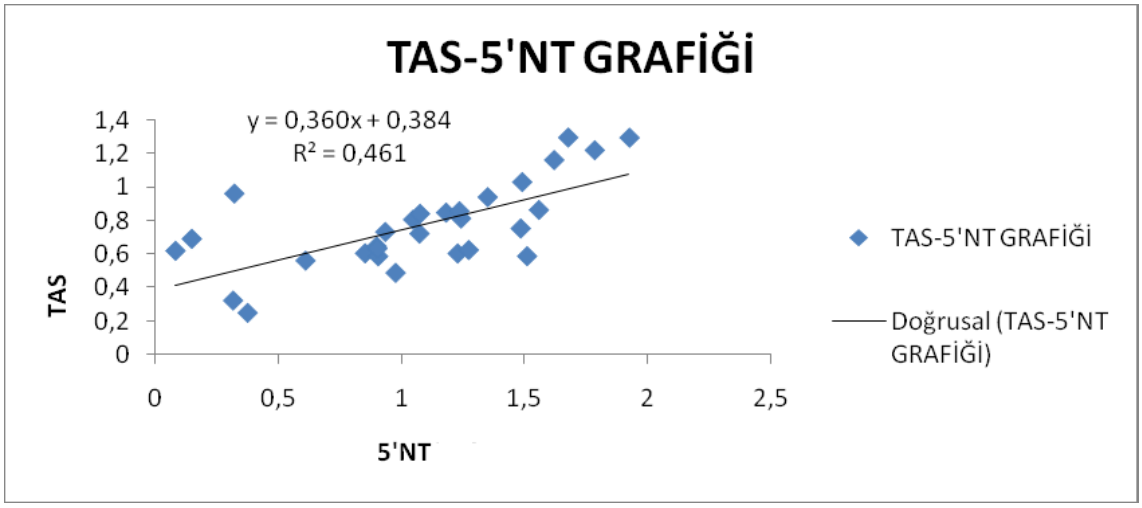
ADA-TAS arasında korelasyon tespit edilemedi (p=0,877 r=-0,031).

ADA-5'NT arasında korelasyon tespit edilmedi (p=0,356 r=-0,181) .

ADA-TOS arasında korelasyon tespit edilmedi (p=0,453 r=0,145).

TAS-5'NT arasında anlamlı pozitif korelasyon var (p<0,001 r=0,658).

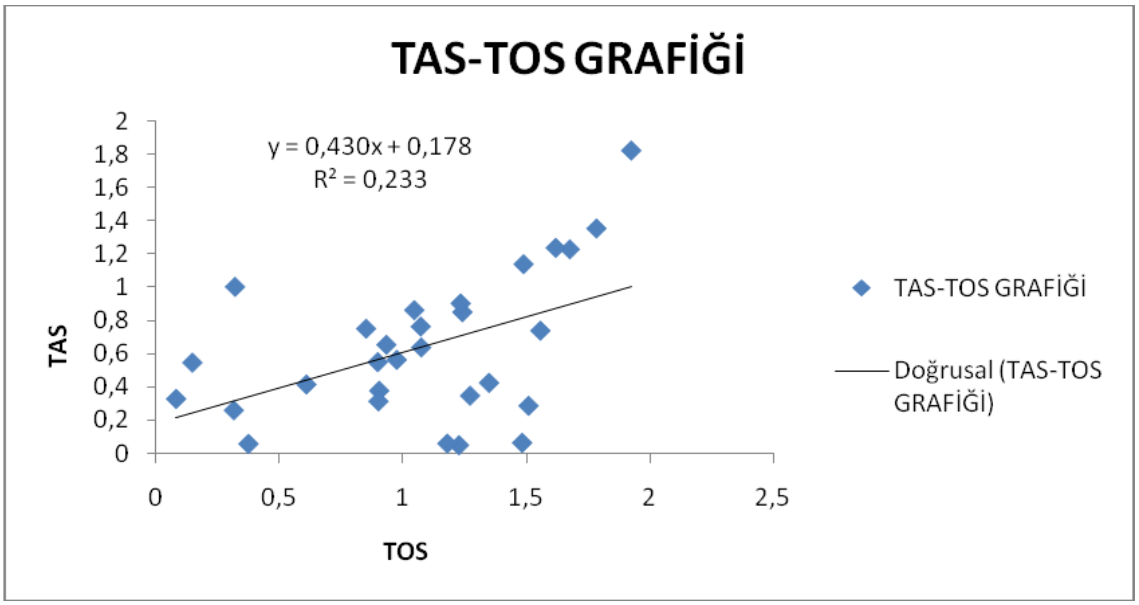
Kontrol grubundaki bireylerde yapılan korelasyon analizlerinde; TAS ile 5'NT arasındaki regrasyon eğrisi **Şekil 4.5**'de tanımlayıcılık katsayılarıyla birlikte (R^2) aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 4.5. Kontrol grubun TAS ile 5'NT regrasyon eğrisi

TAS-TOS arasında anlamlı, pozitif korelasyon var (*p*=0,004 *r*=0,560).

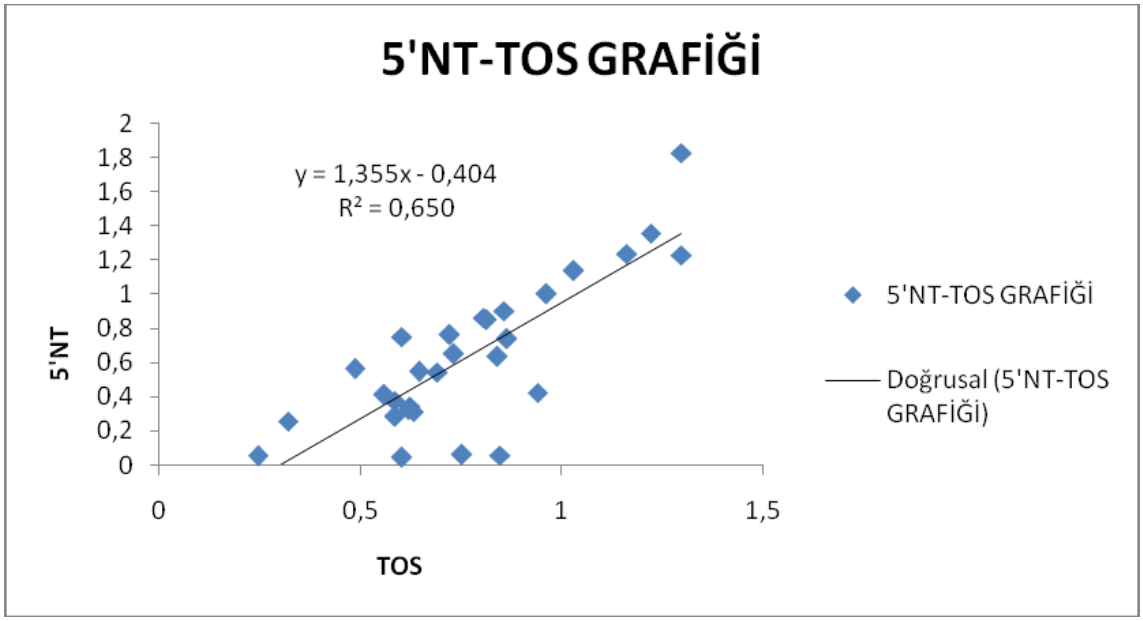
Kontrol grubundaki bireylerde yapılan korelasyon analizlerinde; TAS ile TOSarasındaki regrasyon eğrisi **Şekil 4.6**'de tanımlayıcılık katsayılarıyla birlikte (R^2) aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 4.6. Kontrol grubun TAS ile TOS regrasyon eğrisi

5'NT-TOS arasında anlamlı, pozitif korelasyon var (*p*<0,001 *r*=0,825).

Kontrol grubundaki bireylerde yapılan korelasyon analizlerinde; TOS ile 5'NT arasındaki regrasyon eğrisi **Şekil 4.7**'de tanımlayıcılık katsayılarıyla birlikte (R^2) aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 4.7. Kontrol grubun TOS ile 5'NT regrasyon eğrisi

Tablo 4.5.OSİ değerleri

	n	Serumda(%)(TOS)	n	Serumda(%)(TAS)	OSİ değeri
HASTA	30	37,13	29	34,31	108,22
KONTROL	25	33,08	29	43,02	76,89

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Echinococcosis dünya çapında, önemli helmint hastalıklarından biri olup, zoonoz bir enfeksiyondur (141). *Echinococcus granulosus* başta olmak üzere diğer Echinococcus türleri de insanlarda ve hayvanlarda hastalık yapmakta ve büyük ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (142,143).

Kistik ekinokokoz insan ve hayvanların parazitik bir hastalığıdır. Birçok ülkedeinsanların sahip olduğu koyun, köpek gibi hayvanlarla yakın temasları parazitin hayatzincirinin kalıcı olmasını sağlar. Kist hidatik tüm Akdeniz ülkelerinde bölgenin enönemli parazitik hastalığı olarak halk sağlığını ve ulusal ekonomiyi etkileyerek ciddi problemler oluşturur (3).

Genellikle köpeklerin bazen kurt, çakal gibi etobur hayvanların ince bağırsağındayaşayan *Echinococcus granulosus*'un yumurtaları, bu hayvanların gaitaları ile çevreye yayıldığında; koyun, sığır, deve, geyik ve insanın da dahil olduğu canlılar tarafındankontamine besinlerle alınarak embriyon yumurtadan ayrılmakta ve kan dolaşımınageçerek başta karaciğer olmak üzere akciğerler, dalak, böbrekler, pankreas gibi organlarda hidatik kist hastalığını oluşturmaktadır (144,145).

Köpekler parazitin erişkin seklinin son konağıdır. Evcil geviş getiren hayvanlar (ör: koyun, sığır, deve, vb.) ve insanlar metasestod (hidatid) evresi icin ara konak görevini görürler. Maymunlar, tavsanlar, fareler ara konak olabilir. Köpeklerin dışkısı ile atılan yumurtaların sindirim yolu ile alınması sonucu insanlarda kistik ekinokokkosis gelişmektedir (32).

Ağız yolu ile alınan yumurtadan çıkan embriyo kan yolu ile dağılır ve uygun yerleşme noktası bulduğunda kist oluşturur. Larvaların neden olduğu kistler basta karaciğer olmak üzere akciğer ve vücudun diğer organlarına veya dokularına yerleşir (7).

Hidatik kist hastalığı birçok ülkede eradike edilmiş olmasına rağmen sosyoekonomik düzeyin düşük olduğu, bununla beraber tarım ve hayvancılığın yaygın olduğu ülkelerde halen sık görülen bir hastalıktır.

Hastalığın yayılmasında denetimsiz kesilen hayvanların yaygın olması, enfekte sakatatların başıboş gezen köpekler tarafından yenmesi, başıboş hayvanların kontrollerinin yapılamaması ve halkın bu konuda yeteri kadar bilgilendirilememesi rol oynamaktadır.

Birey ve topluma sosyal ve ekonomik anlamda da yükü olan bu hastalıkla; basit çevre önlemleri, etkin bir kontrol ve eradikasyon yöntemleri ile baş etmek hatta bu hastalığı tamamen önlemek mümkündür (146).

Çalışma parametrelerimizden biri olan adenozin deaminaz (ADA), pürin nükleotidlerinin katobolizmasında rol oynayan, adenozin ve deoksiadenozini geri dönüşümsüz olarak inozin ve deoksiinozine dönüşümünü katalize eden bir enzimdir (147).

Bu reaksiyonlarözellikle adenozinin hücre içi konsantrasyonun kontrol edilmesinde önemlidir. ADA'nın katalizlediği bu reaksiyon geriye dönüşümsüz olduğu için, bu enzim reaksiyonu adenozinin yıkılmasında kontrol basamağını oluşturur. Adenozin ve deoksiadenozin moleküllerinin yüksek konsantasyonları hücre için toksik olduğundan bu nükleozidlerin hücre içi seviyelerinin düzenlenmesinde önemlidir (60,61,148)

ADA' nın majör fizyolojik rolü lenf nodları, dalak ve timus gibi lenfoidsistemin farklılaşması ve olgunlaşması ile ilgilidir. Bu enzim, lenfositlerin, özelikle T-lenfositlerin farklılaşmasında ve proliferasyonunda önemli rol oynamaktadır. ADAaktivitesi lenfositlerin antijenik uyarıya cevap vermeleri sırasında artmaktadır.Özellikle T lenfositlerin çoğalması ile beraber ADA aktivitesinin de artığı bilinmektedir (147,149).

ADA ile immün yetmezlik arasındaki ilişki, ağır kombine immün yetmezliği olan hastaların lenfositlerinde ADA enzimi gösterilemediği zaman ortaya konmuştur. İmmün yetmezliği olan hastalarda lenfosit kültürüne dışardan ADA ilave edildiği zaman bunlarda önceden var olmayanmitojene karşı cevap oluşturabilmekte bu da ADA' nın lenfosit proliferasyonundaki rolünü ortaya koymaktadır (150,151).

ADA birçok insan dokusunda bulunan ve en yüksek aktivitesini lenfoid hücrelerde gösteren bir enzimdir. Birçok araştırmacı ADA'nın hücresel immünitenin bir belirteci olduğunu ve buna bağlı olarak farklı hastalıklarda serum seviyelerinin artışını göstermişlerdir. Sonuç olarak ADA düzeyleri, T hücre aktivasyonunun ve hücresel immünitenin özgün olmayan bir belirteci olarak kabul edilmektedir (147).

ADA aktivitesi immün fonksiyonun değerlendirilmesinde bir kriter olmaktadır.İmmünitenin arttığı durumlarda ADA aktivitesi artmakta, immünitenin zayıfladığı durumlarda ise ADA aktivitesi azalmaktadır (67,68).

Yaptığımız bu çalışmada ADA'da,hasta grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında ADA aktivitesi hasta grubunda numerik olarak arttığı halde istatistiksel olarak fark görülmedi.

Yapılan çalışmalarda serum ADA aktivitesinin HIV positive hastalarda artış gösterdiği (71). Başka bir çalışmada serum ADA aktivitesinin meme kanserli hasta grubunda konrol grubunda arttığı görülmüştür (152).Yapılan bir başka çalışmada serum ADA aktivitesinin çöp toplama işi ile uğraşan belediye çalışanlarında da arttığı gözlenmiştir (153).Ülkemizde yapılan bir çalışmada da ülseratif kolitli hasta grubunda çalışmamızla benzer şekilde serum ADA seviyesinin kontrol grubuna göre artış gösterdiği tespit edilmiştir (154).

Bütün bu çalışmalar ve benzer şekilde bizim çalışmamızda göstermektedirki; Organizmada; adenozin ve deoksi adenozin moleküllerinin yüksek konsantasyonları hücre için toksik olduğundan bu nükleozidlerin hücre içi seviyelerinin düzenlenmesinde önemlidir,ADA'nın katalizlediği bu reaksiyon geriye dönüşümsüz olduğu için, bu enzim reaksiyonu adenozinin yıkılmasında ve bir anlamda organizmanın güvenliği için kontrol basamağını oluşturmaktadır.

1954 yılında Reis ve arkadaşları kas homojenatlarında bulunan 5'NT' yi tanımlamışlardır. İnsan serumunda 5' NT'nin belirlenmesi pek çok hastalığın tanısında önemli yer teşkil etmiştir (76).

Perifer kanda 5' NT aktiviteleri pek çok immunolojik yetmezlik ve lenfoproliferative hastalıklarda düşük bulunmuştur (75).

Bütün hücrelerde bulunan bir enzim olmakla birlikte özellikle karaciğer hastalıklarının teşhis ve takibinde önemli oranda kullanılmaktadır. 5'nükleotidaz aktivitesindeki değişiklik, alkalen fosfataz ve gamma glutamil transferaz enzim aktivitelerindeki değişikliklerlede kimi zaman paralellik gösterirsede, gamma glutamil tranferazın ilaç ve toksik madde kullanımına paralel olarak ve alkalen fosfatazında kemik patolojilerinde değişim göstermesi nedeniyle 5'nükleotidazın karaciğer hastalıklarında spesifisite göstermesinin ve karaciğer patolojilerinin tanı ve takibinde kullanımının yerini güçlendirmektedir (70-72).

Çalışmamızda 5'NT aktivitesinde hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptanmadı. Bilinmektedir ki, nükleotidaz, nükleosid 5 fosfat üzerine etkili olan bir fosfatazdır.

Bu sonuçlarda ilk akla gelen hastalığın daha başlangıç evresinde olmasından hasta grubunun ön tanı ile gelen grup şeklinde (erken evre) oluşmuş olmasından ve dolayısıyla karaciğer harabiyetinin henüz başlamamış veya hepatosellüler harabiyet olsa bile kolestaz olmamasından kaynaklanıyor olabileceğini düşündürmektedir.

İlaveten ADA, TAS ve TOS aktivite ve seviyelerindeki değişimlerde bu belirtiklerimizi desteklemektedir.Aynı zaman da bilinmektedir ve yapılan çalışmalar göstermiştir ki Kist hidatik sadece karaciğeri tuttuğunda, çok büyümedikçe veya bası belirtileri çıkmadıkça sessiz seyreder. Rutin muayene sırasında saptanan hepatomegali dışında belirti vermeyebilir. Laboratuvarda nonspesifik alkalen fosfataz ve transaminaz yüksekliği görülebileceği belirtilmektedir(155).

Dış orbitallerinde paylaşılmamış (tek sayıda) elektron taşıyan, molekül veya atomlara serbest radikal denilmektedir (156). Serbest radikaller, oldukça kısa ömürlü ve reaktiftirler. Elektriksel olarak; pozitif, negatif ve nötral yüklere sahiptirler(157).Yüksek

enerjili olan elektronlar çevrelerindeki diğer elektronları ayırıp, yapılarını bozmaktadır. Bu durum serbest radikalleri tehlikeli ve aynı zamanda kullanışlı kılar (99).

Serbest radikallerin aktif oksijentürevlerine oksidanlar denir. Oksidanlar hedef moleküllerden elektron alma yetenekleri nedeniyle, bu hedef molekülün yapısını ve fonksiyonlarını değiştirerek hücre zarını, DNA, RNA gibi genetik materyali ve değişik enzimatik olayları etkileyerek hücre hasarlarına yol açtığı bilinmektedir (84).

Serbest radikallerin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarları sınırlandırmak için biyolojik sistemlerde çeşitli antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir (128).Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddeleri oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir (158).

Serbest radikaller, besinlerin oksijen kullanılarak enerjiye dönüştürülmesi sırasındameydana gelen kararsız ve reaktif moleküllerdir. Serbest radikal hasarına karsı koymaküzere mevcut antioksidanlar kullanılabilecek durumda değilse veya radikal olusumu bahsedilemeyecek kadar fazla ise, oksidan-antioksidan dengesi oksidanlar lehine bozulur ve‘oksidatif stres’ ortaya çıkar. Böylece yasam için çok gerekli olan oksijen, aynı zamandaoksitleyici maddeler olan serbest radikalleri meydana getirerek çevredeki tümmakromoleküllere hasara verir. Başlıcaları; lipitler, proteinler ve nükleik asitlerdir (159-162).

Total oksidan status (durum);Oksidan moleküllerin ayrı ayrı plazmadakikonsantrasyonunu ölçmek mümkün olmakla birlikte bu moleküller birbirlerinietkileyebileceğinden oksidan molekülleri ayrı ayrı ölçmek için pratik değildir. Bu nedenle bütün oksidan durumu yansıtan total oksidan durum (TOS) ölçümü geliştirilmiştir.

Total antioksidan kapasite; farklı antioksidan türleri arasındaki biyolojik ilişkilereve oksidatif stres sürecinde bu türlerin konak hücre savunmasında nasıl etkili biçimderol oynadıklarına genel bir bakış sağlar (163). Total antioksidan kapasite, test örneklerindeki antioksidanlar tarafından temizlenen serbest radikallerin kapasitesini gösterir (164).

Bu çalışmada kistik ekinokoksizli hasta grubunda oksidan moleküllerin genel bir göstergesi olan TOS'u yüksek bulmakla birlikte, kontrol grubu ile kıyaslandığında aralarındaki farkın anlamlı olmadığını gördük. Bununla birlikte hasta grubunda TAS seviyelerinin kontrollere göre numerik azaldığını gösterdik. Bunun, endojen antioksidanların hastalıkla birlikte artan oksidanlar tarafından tüketilmesinin bir sonucu olabileceği kanaatindeyiz.

Yapılan ve bireysel olarak oksidan ve antioksidan seviyelerinin değerlendirildiği çeşitli çalışmalarda antioksidan moleküllerin azaldığı gösterilmiştir.Kistik ekinokokzisli hastalardada antioksidan molekülleri ve antioksidan kapasitenin azaldığını ve hastalığın tedavisi veya önlenmesinde antioksidan tedavinin düşünülmesi gerektiğini belirtmişlerdir.Bu ve benzeri çalışmaların sonuçları kistik ekinokokkozisli bireylerde de TAS seviyelerinin düşük olduğu bulgumuzu desteklemektedir

Oksidatif stres; herhangi bir nedenle oksidan üretiminde artış ve antioksidan savunmamekanizmasında yetersizlik nedeniyle aradaki dengenin antioksidan aktivite aleyhine bozulması sonucunda oluşan doku hasarı olarak tanımlamaktadır (136).

Son yıllarda, oksidatif stres indeksi ise TOS'un TAS'a bölünmesi ile elde edilen bir index olup oksidatif stresin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Yaptığımız çalışmada kistik ekinokoksizli hasta grubunda OSİ değeri 108,22, kontrol grubunda OSİ değeri 76,89 olarak bulunmuştur ki buda oksidatif streste total anlamda bir atış olduğunun net bir göstergesidir.

Korelasyon analizleri göstermektedir ki; birçok parametre arasında gerek hasta bireyler (pozitif) gerekse sağlıklı (kontrol) grupları arasında anlamlı olmayan pozitif ya da negatif korelasyon gözlenmiştir.

Bununla birlikte; hem hasta grubunda hemde kontrol grubunda TAS-TOS, TAS-5'NT ve TOS-5'NT arasındaki anlamlı pozitif yöndeki korelesyonlar bize bu çalışma ile organizmada bu parametrelerin arasında görülen pozitif bağıntıyı göstermektedir.

Oksidatif stres; herhangi bir nedenle oksidan üretiminde artış ve antioksidan savunmamekanizmasında yetersizlik nedeniyle aradaki dengenin antioksidan aktivite aleyhine bozulması sonucunda oluşan doku hasarı olarak tanımlamaktadır, dolayısıyla

gerek hasta ve gerek kontrol bireyler arasındaki TAS-TOS arasındaki pozitif korelasyon bu dengenin korunmaya çalışıldığının en güzel göstergesidir.Benzer şekilde hem hasta hemde kontrol gruplarındaki 5'NT ile TAS/TOS arasındaki pozitif korelasyonlardakaraciğer harabiyeti ile bağlantılı olarak oksidan seviyesinin arttığını ve organizmanın da bu oksidan seviye artışına paralel olarak savunma sistemlerini aktif hale getirip antioksidan seviyelerde artışın olduğunun güzel bir göstergesi olarak tespit edilmiştir.

Ancak yapılacak yeni çalışmalarda çalışma gruplarının sayısının arttırılması ve çalışmaların farklı toplumlarda yapılması ve bu toplumları etkileyen parametrelerin ayrıntılı irdelenmesi ile daha net sonuçlar elde edilebilecektir.

KAYNAKLAR

1. Unat EK, Üner A, Özcel M, AltıntaN, Budak S, Daldal S, Özdemir N, Kuman A, Sevinç E, Sermet, Özdedeli E, Tiin Y, Tınar R, Burgu A, Doanay A, Cokun. Yedinci ulusal parazitoloji kongresi özel kitabı. T Parazitol Dern, No:10 1995
2. Kaypmaz A. .Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Hepatobilier Sistem ve Pankreas Hastalıkları Sempozyum Dizisi No:28 Ocak 2002; 285-299.
3. Barış İ, Şahin A, Bilir N, Kalyoncu F, Emri S, Barı B, Çapur S, Selçuk T. Hidatik Kist Hastalığı ve Türkiye'deki Konumu. Türkiye Akcier Hastalıkları Vakfı Yayını No: 1 Ankara 1989. 4.
4. Merdivenci A, Aydınoğlu K. Hidatidoz (Hidatik Kist Hastalığı). İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, No: 97. İstanbul: Fatih Gençlik Vakfı Matbaası; 1982.
5. Unat EK, Üner A, Özcel MA ve ark, eds. Kist Hidatik. İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını (No:10); 1991.
6. Garcia L.S. : Diagnostic Medical Parasitology. Fourth edition, Washington: ASM Press, p:2001; 386-396.
7. Harma M, Harma M, Kocyigit A, Erel O.. Increased DNA damage in patients with complete hydatidiform mole. Mutat Res. 2005 May 2;583(1):49-54. Epub 2005 Mar 26.
8. Çetinkaya Ü., Hamamcı B., Kaya M ve ark., Kistik Ekinokokkozis Ön Tanılı Hastalarda Anti–*Echinococcus granulosus* Antikorlarının Araştırılması, Türkiye Parazitoloji Dergisi, 2012; 36: 57-60
9. Demirel F, Dökmen Yavuz A, Söğüt A, Tomaç N. Ayın Olgusu. Türk PediatriArşivi.2002;232-3
10. Kurt Y, Sücüllü Q, Filiz AQ, Urhan M, AkRn ML. Case report pulmonary echinococcosis mimicking multipl lung metastasis of breast cancer: The role of fluoro-deoxy-glucose positron emission Tomography. World J Surg, 2008;6-7.

11. Köktürk O, Gürüz Y, Akay H, Akhan O ve ark. Toraks Derneği Paraziter Akciğer Hastalıkları Tanı ve Tedavi Rehberi 2002;3 :0-10

12. Welle PF. Parasitic pneumonias. In: Pennington JE ed. Respiratory Infections: Diagnosis and Management, 2th ed. New York, Raven Press; 1998:583-600.

13. http://www.gsaygi.4t.com/echinococcus.htm/20.11.2010

14. Pawlowski ZS, Eckert J, Vuitton DA, Ammann RW, Kern P, Craig PS et al.

15. Markel EK, Voge M, John DT. Medical Parasitology 8 th Edition. WB SaundersCompany, USA, 1999; 234-268.

16. Schmidt GD, Roberts LS. Foundations of Parasitology. Fourth Edition. Times Mirror/Mosby Collage Publishing, USA, 1989; 346-367.

17. Merdivenci A. Türkiye'de Hidatik Kist Hastalığı .Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak Yayınları No:2145 İstanbul 1976. 7

18. Ayaz E, Tınar R. Cestoda. Ed. Tınar R Helmintoloji. Fen ve Biyoloji Yayınları Dizisi, Nobel Yayın No:965, 2006. p. 167-180.

19. Mamuti W, Yamasaki H, Sako Y, Nakaya K, Nakao M, Lightowlers MW, et al. Usefulness of Hydatid Cyst Fluid of Echinococcus granulosus developed in 61 mice with secondary ınfection for serodiagnosis of cystic echinococcosis in humans. Clin Diagn Lab Immunol, 2002;9(3):573-76.

20. Sunita T, Dubey M.L, Khurana S, Malla N. Specific antibody detection in serum, urine and saliva samples for the diagnosis of cystic echinococcosis. Acta Trop, 2007; 101:187-91.

21. Li J, Zhang WB,. Mcmanus DP. Recombinant antigens for immunodiagnosis of cystic echinococcosis. Biol. Proced. 2004;6(1):67-77.

22. Akyol ÇV. Hidatidoz ve halk sağlığı yönünden önemi. J Fac Vet Med 2001; 20: 137- 142.

23. Kabaalioğlu A, Karaali K, Apaydin A, et al. Ultrasound-guided percutaneous scklerotherapy of hydatid liver cysts in children. Pediatr Surg Int 2000; 16: 346-350.

24. Gündoğdu C, Arslan R, Arslan MÖ, Gıcık Y. Erzurum ve çevresinde insanlarda kistik ve alveolar ekinokokkozis olgularının değerlendirilmesi. Türkiye Parazitol Derg 2005;29(2):163-6.

25. Kaplan M, Aygen E, Özyurtkan MO, Bakal Ü. 2005-2007 yılları arasında Fırat Üniversitesi Hastanesindeki kistik ekinokokkozis olguları. F Ü Sağ.Bil Tıp Derg 2010;24(2):109-13.

26. Miman Ö, Atambay M, Aydın NE, Daldal N. Kistik ekinokokkozis nedeniyle opere edilmiş 91 olguda klinik, morfolojik ve serolojik irdelemeler. Türkiye Parazitol Dergisi, 2010;34(3):179-83.

27. Ralph T. Bryan, MD, Schantz, VMD, et al. Parasitic Diseases Branch, Division of Parasitic Diseases, Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control, Public Health Service, US Department of Health and Human Services. Atlanta 1989; 303- 333.

28. Bayram Delibaş S, Özkoç S, Şahin S, Aksoy Ü, Akısü Ç. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Seroloji Laboratuvarı'na kistik ekinokokkozis şüphesiyle başvuran hastaların değerlendirilmesi. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 2006; 30(4):279-81.

29. Özbilgin A., Kilimcioğlu A.A., Kistik Echinococcosis,s. 541-566.İçinde Özcel MA,Özbel Y,Ak M (editörler),Tıbbı Parazit Hastalıkları,Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını, 2007,22 541-566

30. McManus DP. A biochemical study of adult and cystic stages of Echinococcus granulosus of human and animal origin from Kenya.J Helminthol. 1981 Mar; 55(1):21-27.

31. McManus DP, Rishi AK. Genetic heterogeneity within Echinococcus granulosus: isolates from different hosts and geographical areas characterized with DNA probes.Parasitology. 1989; Aug;99 Pt1:17-29.

32. Thompson RC. The taxonomy, phylogeny and transmission of Echinococcus. Exp Parasitol. 2008 Aug; 119(4):439-446.

33. El-On J, Khaleel E, Malsha Y, Nahmias J, Schantz P, Sneir R, Ben-Ismail R, Furth M and. Hoida G. Echinococcus granulosus: a seroepidemiological survey in

notrhern Israel using an enzyme-linked immunosorbent assay.Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and hygiene, 1997; 91: 529-532.

34. http://cal.vet.upenn.edu/paraav/images/ 11- 50.jpg

35. Carmona C, Perdomo R, Carbo A, Alvarez C, Monti J, Grauert R, Stern D, Perera G, Lloyd S, Bazını R, Gemmel MA and Yarzabal L. Risk factors associated with human cystic echinococcosis İn Florida, Uruguay: results of a mass screening study using ultrasaund and serology. Am.J. Trop.Med. Hyg. 1998; 58 (5): 599-605.

36. Moro PM, Bonifacio N, Gilman RH, Lopera L, Silva B, Takumoto R, Verastegui M and Cabrera L. Field diagnosis of Echinococcus granulosus infection among intermediate and definitive hosts in endemic focus of human cystic echinococcosis, Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and hygıene, 1999; 93: 611–615.

37. Manual on Echinococcosis in humans& animals: a public health problem of global concern.Eds Eckert J,Gemmell MA. Paris, France,2011

38. Şenlik B ve Diker Aİ 2004

39. Altıntaş N, Yazar S. Kistik Ekinokokkoz'da Tanı. T Parazitol Derg, 1999; 23(2): 160-168.

40. Pawlovski ZS. Critical points in the clinical management of cystic echinococcosis. Compedium on cystic echinococcosis. Compedium Brigham Young University Print Services. USA, 1993; 119-131.

41. Doğan R, Yüksel M, Çetin G, Süzer K, Alp M, Kaya S, Ünlü M, Moldibi B. Surgical treatment of the hydatid cysts of the king: Report of 1055 patients. Thorax Derg, 1991; 25-34.

42. Gemmel MA. Hydatidosis control, A global view. Austvet J, 1979; 55:118-25.

43. Kuman HA. İndirekt Hemaglütinasyon. Ed: Özcel MA, Altıntaş N, Parazit Hastalıklarında Tanı. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, No:15, İzmir, 1997b. p. 193-223.

44. Özcel MA, Üner A, Ertuğ S. İmmunfloresans Yöntemi. Ed: Özcel MA, Altıntaş N, Parazit Hastalıklarında Tanı. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, No: 15, İzmir, 1997. p. 215-239.

45. Grigorova R, Norris JR. Methods in Microbiology. Academic Press Limited. UK; 1990: 22: 512-20.

46. Herlow ED, Lane D. Antibodies, A Laboratory Manuel. Cold spring Harbor Laboratory 1988;561-599.

47. Altıntaş N, Yazar S. Western blot (Immunoblotting). Ed: Özcel MA, Altıntaş N, Parazit Hastalıklarında Tanı. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, No:15, İzmir, 1997. p. 343-372.

48. Köksal F., Serin M.S., Kekeç Y., Sadr Y.E. : İnsan ve hayvan kökenli kist hidatik sıvılarnın SDS-PAGE metoduyla analizi ve Westernblot metodunun klinik önemi. T Parazitol Derg 1995:19, 221-9.

49. Yazar, S. : Cystic Echinococcosis (CE)'in tanısında SDS-PAGE ve Western blot yönteminin diger serolojik tanı yöntemleri ile karsılastırılması. Doktora Tezi. Ege Üniversitesi Saglık Bilimleri Enstitüsü, 1998.

50. Hobson,W(Ed) The theory and practice of public health, Oxford Univ. Publ, London 1975; 22:123- 125.

51. Parija S.C. : A review of some simple immunoassays in the serodiagnosis ofcystic hydatid disease. Acta Tropica 1998:70, 17-24.

52. Ravinder P.T, Parija S.C, Ra K.S. : Evaluation of human hydatid disease beforeand after surgery and chemotherapy by demonstration of hydatid antigens andantibodies in serum. J Med Microbiol ,1997:47, 59-64.

53. Champe PC, Harvey RA. Biochemistry. Lippincott's illustrated series 1997.

54. Seyhan Gümüşlü,Lösemili Hastaların Kemik İliği Hücrelerinde Adenozin Deaminaz Ve 5' Nükleotidaz Enzim Aktivitelerinin Tayini,Doktora Tezi.2007 ; 10

55. Dikmen N, Öztügen T. Murray Harper's Biyokimya. 25.Baskı.İstanbul; Nobel Kitapçılık: 2004. 386-481

56. Onat T, Emerk K. Temel Biyokimya.1.Baskı. İzmir; Saray Medikal Yayıncılık; 1996

57. Aghaei M, Karami- Tehrani F, Salami S, Atri M. Adenosine deaminase activity in the serum and malignant tumors of breast cancer: The assessment of isoenzyme ADA1 end ADA2 activities. Clin Biochem 2008; 38: 887-91.

58. Köktürk O. Akciğer hidatik kist hastalığı. Toraks Kitapları, 2001; 3, 557-604

59. Dalla Rosa L, Da Silva AS, Ruchel JB, Gressler LT, Oliveira CB, França RT, Lopes ST, Leal DB, Monteiro SG.Influence of treatment with 3'-deoxyadenosine associated deoxycoformycin on hematological parameters and activity of adenosine deaminase in infected mice with Trypanosoma evansi.Exp Parasitol. 2013 Oct;135(2):357-62.

60. Bloom GE. Leukocyte adenosine deaminase phenotypes in acute leukemia. Cancer 1972; 29: 1357-60.

61. Koizumi H, Tomizawa K, Tanaka H, Kumakiri M, Ohkawara A. Clinical significance of serum adenosine deaminase activity in patients with mycosis fungoides. J Dermatol 1993; 20: 394-399.

62. Gökbulut, İ. Çeşitli Göğüs Hastalıklarında Bronşial Lavaj Sıvısı Ve Plazmada Ksantin Oksidaz Ve Adenozin Deaminazaktiviteleri İle Nitrik Oksit Ve Malondialdehit Seviyeleri.Yüksek Lisans Tezi,Malatya,2000;47s.

63. Herschfield MS. Appearent suicide inactivation of human lymphoblast s-adenosylhomocysteine hydrolase by 2’ deoxyadenosine and adenine arabinoside: A basis for direct toxic effects of analogs of adenosine J Biol Chem 1979; 254: 22.

64. Ishii K, Green H. Lethality and adenosine for cultured mammalian cells by interference with pyrimidine biosynthesis. Journal of Cell Science. 1973; 13: 429-39.

65. www.toraks.org.tr/kisokulu2-ppt-pdf/Sadik_Ardic.ppt

66. Hatipoglu K., Yüksekol _., Özkan M., Balkan A., Koparan EZ., Bedirhan _.,Bilgiç H., Demirci N. Tüberküloz tanısında serum adenozin deaminaz ölçümüninönemi. *Gülhane Tıp Dergisi,* 2003:45(2):165–168.

67. Köylüoğlu O, Meram Ð, Özdemir Y. Adenozin Deaminaz Metobolizması ve Klinik Önemi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Dergisi, 2002; 19(2): 153-160.

68. Kane BJ, Kuhn JG, Roush MK. Pentostatin: an adenosine deaminase inhibitor for the treatment of hairy cell leukemia. Ann Pharmacother 1992; 26: 939-947.

69. Sunnetcioglu M**,**Karadas S, Aslan M, Ceylan MR, Demir H, Oncu MR, Karahocagil MK, Sunnetcioglu A, Aypak C.Serum adenosine deaminase activity in cutaneous anthrax.Med Sci Monit. 2014 Jul 6;20.

70. Khambu B, Mehta KD, Rijal S, Lamsal M, Majhi S, Baral N.Serum nitrite level and adenosine deaminase activity is altered in visceral leishmaniasis.Nepal Med Coll J. 2007 Mar;9(1):40-3.

71. Gakis C, Calia G, Naitana A, Pirino D, Serru G.Serum adenosine deaminase activity in HIV positive subjects. A hypothesis on the significance of ADA2.Panminerva Med. 1989 Jul-Sep;31(3):107-13.

72. Durak ZE, Büber S, Devrim E, Kocaoğlu H, Durak I.Aqueous extract from taxus baccata inhibits adenosine deaminase activity significantly in cancerous and noncancerous human gastric and colon tissues.Pharmacogn Mag. 2014 Apr;10(Suppl 2):S214-6.

73. Amador, E., Wacker, W. B., Enzymatic Methods Used for Diagnosis,Methods of Biochemical Analysis, Vol 13,1965: 265-306,

74. http://guncel.tgv.org.tr/journal/12/pdf/148.pdf

75. Vivekanandhan S, Soundararajan C C, Tripathi M, Maheshwari MC.Adenosine Deaminase and 5’ Nucleotidase Activities in Peripheral Blood T Cells of Multiple Sclerosis Patients. Neurochemical Research 2005; 30: 453 –456.

76. Sunderman FW.The Clinical Biochemistry of 5’- Nucleotidase. Annals of Clinical and Laboratory Science 1990; 20: 2-8.

77. Trangas T, Courtis N,Gounaris A. Patterns of Adenosine Deaminase,Ecto-5-Nucleotidase, Poly (A) Polymerase and Surface Light Chain Expression in Chronic Lymmpocytic Leukemias. Blut 1989; 58: 187-193.

78. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stres-induced cancer. Chem Biol Interact. 2006, 160;1-40

79. Chapple ILC.Role of free radicals and antioxidants in the pathogenesis of the inflammatory periodontal diseases. J Clin Pathol: Mol Pathol 1996:49: 247-255.

80. Waddington RJ, Moseley R, Embery G. Reactive oxygen species: a potential role in the pathogenesis of periodontal diseases. Oral Dis 6(3):2000; 138-151.

81. Esposito, K.; Ciotola, M.; Giugliano, D. Oxidative stress in the Metabolic Syndrome. *Journal of endocrinological investigation*, 2006, 29:791-795.

82. Akbayram S, Doğan M, Akgün C, Mukul Y, Peker E, Bay A, Caksen H, Oner AF. The association of oxidant status and antioxidant capacity in children with acute and chronic ITP. *Journal of pediatric hematology/oncology*, 2010, 32:277-281.

83. Chapple IL, Matthews JB. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontology 2000*, 2007, 43:160-232.

84. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 2007, 39:44-84.

85. Seifried HE, Anderson DE, Fisher EI, Milner JA. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *The Journal ofnutritional biochemistry*, 2007, 18:567-579.

86. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Archives of biochemistry andbiophysics*, 1986, 246:501-514.

87. Pendyala G, Thomas B, Kumari S . The challenge of antioxidants to free radicals in periodontitis. J Indian Soc Periodontol 2008:12(3),79-83.

88. Brock GR, Butterworth CJ, Matthews JB, Chapple IL. Local and systemic total antioxidant capacity in periodontitis and health. *Journal of clinicalperiodontology*, 2004, 31:515-521.

89. Canakçi CF, Tatar A, Canakçi V, Cicek Y, Oztas S, Orbak R. New evidence ofpremature oxidative DNA damage: mitochondrial DNA deletion in gingivaltissue of patients with periodontitis. *Journal of periodontology*, 2006, 77:1894-1900

90. Canakci CF, Cicek Y, Yildirim A, Sezer U, Canakci V. Increased levels of 8-hydroxydeoxyguanosine and malondialdehyde and its relationship with antioxidant enzymes in saliva of periodontitis patients. *European journal ofdentistry*, 2009, 3:100-106.

91. Gutteridge JM, Halliwell B. Free radicals and antioxidants in the year 2000. Ahistorical look to the future. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2000,899:136-147.

92. Meram, İ., Aktaran, Ş., "Serbest Radikallerin Biomoleküller Üzerine Etkileri."*Arşiv.*2002:11:299.

93. Özkan, A., Fışkın, K., "Serbest Oksijen Radikalleri, Karsinogenez ve AntioksidantEnzimler. "*Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi*. 2004:14:52-60.

94. Akkus, I.,"Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. " 1.Baskı, MimozaYayınları,Konya 1995 : 13-19.

95. Gutteridge, J.M.C.,"Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissuedamage". *Clin Chemistry*; 1995:41:1819-1828.

96. Kurutaş, B. E.,İnanç, G. F., vd, "Serbest Radikaller. " *Arşiv,*;2004; 13:120-13.

97. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., "Oxygen toxicity, oxygen radicals, transitionmetals and disease. " *Biochem J,*1984:219;1-14

98. Burton G, Traber M. Antioxidants action of carotenoids. J. Nutr.1989: 119:109-111.

99. Uysal, M.,"Serbest radikaller, lipit peroksidleri organizmada prooksidanantioksadan dengeyi etkileyen koşullar. " Klinik gelişim.1998: 11: 336–341.

100. Coşkun MÜ.Şizofreni etyopatogenezinde oksidatif stresin rolü. Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Bakırköy Prof. Dr. Mazhar Osman Ruh Sağlığı ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.(2008).

101. Toklu E .Erişkin periodontitisli bireylerde dişeti ve dişeti oluğu sıvısı süperoksit dismutaz enzim aktivite düzeyleri ve nonsteroid antiinflamatuar ilaç etkilerinin değerlendirilmesi. Doktora tezi, Hacettepe Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.(2001).

102. Halliwell B .The wanderings of a free radical. Free Radic Biol Med 2009:46(5):531-542.

103. Akkoç H. Miyokardiyal İskemi Reperfüzyon Hasarı. Dicle Tıp Dergisi 2008:35(3):211-215.

104. Çiçek E.Nükleer Tıp uygulamalarının hastalardaki serbest radikaller üzerine etkileri. Doktora tezi, Fizik Anabilim Dalı, Isparta.(2005).

105. Hamurcu Z, Sarıtaş N, Demirtaş H .Yoğun sportif egzersiz ile indüklenen nükleer protein içeriğinin akım sitometrisi ile ölçümü. Erciyes Tıp Dergisi,2010:32(3): 155-160.

106. İlkılıç C, Behçet R. Hava kirliliğinin insan sağlığı ve çevre üzerindeki etkisi. Anadolu Bölge Araştırması.(2006)

107. Atagün ÖS. Kronik periodontitisli bireylerde sigara kullanımının, serum ve tükürük total antioksidan kapasite, total oksidatif durum ve lipid peroksidasyon düzeylerine etkisinin değerlendirilmesi. Doktora tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.(2011).

108. AltınkaynakŞ.E.,Tip 2 Diabetes Mellitus'lu Hastalarda Rosiglitazon veya Metformin Tedavisinin Leptin, Total Antioksidan Kapasite, Süperoksit Dismutaz, Paraoksonaz ve Lipid Peroksidasyonu Üzerindeki Etkisinin İncelenmesi,Yüksek Lisans Tezi,Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü,2009,33.

109. Nobi H, Gille L, Staniek K. Intraselüler generation of reactive oxygen species by mitochondria. Biochem Pharmacol. 2005;69:719-723.

110. Berry Ce, Hare JM. Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease:Molecular mechanisms and pathophysilogical implications. J Physiol. 2004;555:589-606.

111. Zouzoui Boudjeltia K, Moguilevsky N, Oxidation of low density lipoproteins by myeloperoxidase at the surface of endothelial cells;an additional mechanism to subendothelium oxidation. Biochem Biophys Res Commun. 2004;325:434-438.

112. O Brien PJ. Peroxidases. Chem-Biol Interact. 2000;129:113-139.

113. Kesecik M, Erel O, Sevinç E, Selek S. Increased oxidative stress in children exposed to passive smoking. Int J Cardiol. 2005;100:61-64.

114. Erel Ö. A New Automated Colorimetric Method For Measuring Total Oxidant Status. Clinical Biochemistry 2005; 38: 1103-11.

115. Erel Ö. A Novel Automated Method to Measure Total Antioxidant Response Against Potent Free Radical Reactions. Clinical Biochemistry 2004; 37: 112-119.

116. Cherubini A, Ruggiero C, Polidori MC, Mecocci C: Potential markers of oxidative stress in stroke. Free Radical Biology & Medicine. 2005;39: 841 – 852.

117. Yazıcıoğlu Ç.,Fetal Hidrosefali ve Nöral Tüp Defekti Olan Gebelerde Total Oksidan Seviyetotal Antioksidan Kapasite-Oksidatif Stres İndeksinin Değerlendirilmesi: Prospektif Kontrollü Klinik Çalışma,Uzmanlık Tezi, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları Ve Doğum Anabilim Dalı,2003;17.

118. Eryiğit, F. Mentha Pulegium L. ve Salvia Tomentosa Miller Bitkilerinin Metanol Ozutlerinin In Vitro Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi.Yuksek Lisans Tezi. Suleyman Demirel Universitesi. Fen Bilimleri Enstitusu.(2006).

119. Battino M, Ferreiro MS, Gallardo I.The antioxidant capacity of saliva. J Clin Periodontol,2002;29: 189–194.

120. Diab-Ladki R, Pellat B, Chahine R. Decrease in the total antioxidant activityof saliva in patients with periodontal diseases. Clin Oral Invest 7:2003: 103-107.

121. Halliwell B, Aeschbach R, Löliger J, Aruoma OI. The characterization ofantioxidants. Food Chem Toxicol 1995:33(7):601-17.

122. Konopka T, Krol K, Kopec W, Gerber H . Total antioxidant status and 8-hydroxy-2’-deoxyguanosine levels in gingival and peripheral blood of periodontitispatients. Arch Immunol Ther Exp 55:2007: 417-425.

123. Abou Sulaiman AE, Shehadeh RM . Assessment of total antioxidant capacityand the use of vitamin C in the treatment of non-smokers with chronic periodontitis.J Periodontol 81(11):2010: 1547-1554.

124. Aydilek, N., Aksakal, M., "Testosteronun Tavşanlarda Karaciğer Antioksidan Sistemi Üzerine Etkisi. " YYU Vet Fak Derg. 2003: 14(2):22-25.

125. Beşkaya, A.,"Broylerlerde doğal ve sentetik antioksidanların bazı iz elementler üzerine etkisi. " Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 2004.

126. Moseman, R.F.,"Chemical disposition of boron in animals and humans. "Environmental Healt Perspectives. 102 (supplement):1994: 113-117.

127. Scheibmeir, H.D., Christensen, K., et al, "Review of free radicals and antioxidants for critical care nurses." Intensive and Critical Care Nursing. 2005;21:24-28.

128. Yıldırım, A., "İntakt ve Adrenalektomili Sıçanların Eritrosit ve Mide DokularındaOksidan ve Antioksidan Parametrelerin Araştırılması. " Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Erzurum, 2003.

129. Akçalı M. Sarılıklı yeni doğanlarda fototerapi öncesi ve sonrası paraoksonaz, arilesteraz, total oksidan/antioksidan durumun değerlendirilmesi. Uzmanlık tezi. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi 2009;19–30.

130. Sculley DV, Langley-Evans SC. Salivary antioxidants and periodontaldisease status. Proc Nutr Soc 61(1):2002;137-43.

131. Aycicek A, Erel O, Kocyigit A. Increased oxidative stress in infants exposed to passive smoking. *European journal of pediatrics*, 2005;164:775-778.

132. Kusano C, Frerari B. Total antioxidant capacity: a biomarker in biomedical and nutritional studies. *Journal of cell and molecular biology*, 2008; 7:1-15.

133. Plit ML, Theron AJ, Fickl H, Van Rensburg CE, Pendel S, Anderson R. Influence of antimicrobial chemotherapy and smoking status on the plasma concentrations of vitamin C, vitamin E, beta-carotene, acute phase reactants, iron and lipid peroxides in patients with pulmonary tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis 1998; 2: 590–596.

134. Erel O: A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. Clin Biochem 2004;37: 277-285.

135. Ho-Kyung Kwak, Sun Yoon. Relation of serum total antioxidant status with metabolic risk factors in Korean adults. Nutr Res Pract. 2007 Winter; 1(4): 335–340.2007 December 31.

136. Sies, H.,"Oxidants and antioxidants. " Exp Physiol 82:1997;291-295.

137. Akciğer Kanserinde Oksidatif Hasarın Rolü. Solunum, 2002;4(4);468-473.

138. Hamidanoğlu M. Osteomiyelitli Hastalarda Oksidan ve Antioksidan Kapasitelerin Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi. Şanlıurfa; 2011.

139. Rice-Evans, C.A., Diplock, A.T., "Current status of antioxidant therapy." Free Radic Biol Med 15:1993;77-96 .

140. Dypbukt, J.M., Ankarcrona, M., et al, "Different prooxidant levels stimulate growth, trigger apoptosis or produce necrosis of insulin secreting RINm5F cells. " J Biol Chem.;1994;269:30553-60 .

141. Altıntaş N. Past to present: Echinococcosis in Turkey. Acta Tropica 2003;85:105-112.

142. Torgerson PR, Dowling PM, Abo-Shehada MN. Estimating the economic effects of cystic echinococcosis. 3. Jordan, a developing country with lower-middle income. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 2001;95:595-603.

143. Eckert J, Deplazes P. Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. Clinical Microbiology Reviews 2004;1(17):107-135.

144. Çetin ET, Anğ Ö, Töreci K. Tıbbi Parazitoloji: Protozoonlar, helmintler, artropotlar, 5.baskı. İ.Ü.Basımevi ve Film Merkezi, ÜniversiteYayın No 3890, İstanbul, 1995;237-58.

145. Garcia HH., Jimenez JA, Escalante H, Cestodes. Ed: Murray PR, Baron EJ,JorgensenJH, Landry ML, Pfaller MA, 9th. Edition, ASM Press,Washington,D.C, 2007;2166-74.

146. Örüç O,Özkara Ş,Demirel S,Başer Y.Akciğer Hidatik kisti olanlarda Hastane Giderleri.Solunum hastalıkları Dergisi.1990;1(3);23-26.

147. 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: 112-6.

148. Koizumi H, Ohkawara A. Adenosine deaminase activity in sera of patients with psoriasis, mycosis fungoides and adult T cell leukemia. Acta Derm Venereol 1992; 72: 410-2.

149. Alataş F, Uslu S, Moral M, ve ark. Akciğer tüberkülozunda serum adenozin deaminaz aktivitesi. Tüberküloz ve Toraks Dergisi 2003; 51: 277-81.

150. Dolezal T. Adenosine deaminase review of physiological roles 2001.Available from: URL: http://www.entu.cas.cz/fyziol/seminars/ada.htm,

151. Carson DA, Seegmiller JE. Effect of adenosine deaminase inhibition upon human lymphocyte blastogenesis. J Clin Invest 1976;57:274-282.

152. Choudhari A[1], Desai P, Indumati V, Kadi S..Activities of serum Ada, GGT and alp in carcinoma breast-a case control study for diagnostic and prognostic significance.Indian J Med Sci. 2013 May-Jun;67(5-6):123-9. doi: 10.4103/0019-5359.122740

153. Odewabi AO[1], Ogundahunsi OA, Odewabi AA, Oritogun KS, Ekor M.Epub 2012 Nov 16.Adenosine deaminase activity and immunoglobulin levels as potential systemic biomonitors of occupational hazards and health status in municipal solid waste management workers. Environ Toxicol Pharmacol. 2013 Jan;35(1):1-12. doi: 10.1016/j.etap.2012.11.002.

154. Beyazit Y, Koklu S, Tas A, Purnak T, Sayilir A, Kurt M, Turhan T, Celik T, Suvak B, Torun S, Akbal EJ Crohns Colitis.Serum adenosine deaminase activity as a predictor of disease severity in ulcerative colitis. 2012 Feb;6(1):102-7. doi: 10.1016/j.crohns.2011.07.010.

155. Uygun A, Polat Z,Güncel Gastroenteroloji, 13/4 Viral Hepatit Dışı Serum Transaminaz Düzeyinde Artışa Neden Olan Hastalıklar Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Gastroenteroloji Kliniği, Ankara, Aralık 2009.

156. Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem*,2004; 266: 37-56.

157. Castaner A, Roig E, Serra A, De Flores T, Magrina J, Azqueta M, Sanz G and Betriu A. Risk stratification and prognosis of patients with recent onset angina. *Eur Heart J*,1990;11: 868–875.

158. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T, savunma. Ropva. *Journal of the Turkish Nephrology*, 1997; 92-95.

159. Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. YYU. Vet. Fak. Dergisi 2004; 15: 91-96.

160. Sugamura K, Keaney JF Jr. Reactive oxygen species in cardiovascular disease. Free Radic Biol Med. 2011; 51: 978-992.

161. Whaley-Connell A, McCullough PA, Sowers JR. The role of oxidative stress in the metabolic syndrome. Rev Cardiovasc Med. 2011; 12: 21-29.

162. Darley-Usmar V, Halliwell B. Nitric oxide and oxygen radicals: a question of balance. FEBS Lett 1995; 369: 131-135. 25.

163. Chapple IL, Milward MR, Dietrich T. The prevalence of inflammatory periodontitis is negatively associated with serum antioxidant concentrations. J Nutr 2007;137(3): 657-64.

164. Niki E. Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. Free Radic Biol Med 2010;49(4): 503-15.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı,Soyadı :Saadet KOÇ ENGİN

Uyruğu :Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri:08 Eylül 1979,KAYSERİ

Medeni Durum :Evli

Tel :05053961361

Email :sadengin@hotmail.com

:skocengin@erciyes.edu.tr

Yazışma Adresi :Erciyes Üniversitesi Göğüs Hastalıkları Servisi 11.Kat Solunum Fonksiyon LaboratuarıTalas/ KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans	EÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2016
Lisans	EÜ Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji	2001
Lise	Fevzi Çakmak Lisesi, Kayseri	1996

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2008-Halen	Erciyes Üniversitesi Göğüs Hastalıkları Servisi SolunumFonksiyon Laboratuarı	Biyolog
2005-2006	Süleyman Tarman İ.Ö.O /KAYSERİ	Öğretmen
2001-2002	Hanyolu İ.Ö.O /HATAY	Öğretmen