**T.C.**

**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ VETERİNERLİK İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**YL-2025-0039**

LEİSHMANİAZİSLİ KÖPEKLERDE ÜRİNER 8- HİDROKSİDEOKSİGUANOZİN İLE OKSİDATİF DNA HASARININ İNCELENMESİ

**DEMET**



**DERYA**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

## Doç. Dr. Songül ERDOĞAN

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-24047 proje numarası ile desteklenmiştir.

**AYDIN–2025**

# KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veterinerlik İç Hastalıkları Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Demet DERYA tarafından hazırlanan “Leishmaniazisli köpeklerde üriner 8-hidroksideoksiguanozin ile oksidatif DNA hasarının incelenmesi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 18/06/2025

Üye (T.D.) : Doç. Dr. Songül ERDOĞAN Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Serdar PAŞA Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Hasan ERDOĞAN Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Buğrahan Bekir YAĞCI Kırıkkale Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Didem PEKMEZCİ Ondokuz Mayıs Üniversitesi

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün ……………..……..… tarih ve sayılı

oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK Enstitü Müdürü V.

# TEŞEKKÜR

Lisans eğitimimden itibaren kıymetli bilgi ve tecrübeleriyle akademik gelişimime rehberlik eden, yüksek lisans tez sürecimde de değerli katkıları ve desteğiyle her zaman yanımda olan, akademik disiplin, araştırma etiği ve bilimsel düşünce yapısına dair kazandırdığı bakış açısı ile akademik gelişimime katkı sağlayan Saygıdeğer Sayın Hocam Doç. Dr. Songül ERDOĞAN’a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini paylaşan Sayın Hocalarım Prof. Dr. Kerem URAL, Prof. Dr. Serdar PAŞA, Doç. Dr. Hasan ERDOĞAN, Prof. Dr. Mehmet Gültekin ‘ e

Lisans eğitiminde aynı sıralardan yüksek lisans tez sürecine kadar birbirimize destek olup güç verdiğimiz her an yanımda olup beni desteklediği, sabrı ve anlayışından dolayı varlığıyla bu süreci anlamlı kıldığı için yol arkadaşım Vet. Hek. Ahmet TURGUT’a

Yüksek lisans tez sürecimde birlikte çalıştığım, karşılıklı destek, fikir alışverişi ve dayanışma içerisinde olduğum başta deneyimleri ile her zaman destek olan Uzm. Vet. Hek. Tahir Özalp olmak üzere Vet. Hek. Cansu BALIKÇI, Vet. Hek. Zeynep USTAER, Vet. Hek. İlayda TENDAR, Vet. Hek. Ece Eylül Sönmez, Vet. Hek. Tansu KARATAŞ BAYKURT, Vet. Hek. Halil Emre CENGİZ, Vet. Hek. Ceren ÇETİNEL, Vet. Hek. Umut COŞKUN’ a ve tüm yüksek lisans ve doktora öğrencisi meslektaşlarıma,

Eğitim öğretim hayatım boyunca her daim yanımda olduğunu bildiğim, bana koşulsuz sevgi, sabır ve emek gösteren, başta en büyük dayanağım kıymetli annem Sevgi DERYA olmak üzere değerli aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER

|  |  |
| --- | --- |
| KABUL VE ONAY …………...………………………..…………….…….…………... | i |
| TEŞEKKÜR ……………………………………………………………...……………… | ii |
| İÇİNDEKİLER ..…………………………………………….………...…..…….……… | iii |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ …..………………...….…………….…….. | v |
| ŞEKİLLER DİZİNİ ….………….…………………………..………...………………….. | vii |
| RESİMLER DİZİNİ……………………………………………………………………….. | viii |
| [TABLOLAR DİZİNİ …………….…………………………...…………………….](#_bookmark4)........... | ix |
| [ÖZET ………………………………………………………………………………..](#_bookmark5).......... | [x](#_bookmark5) |
| [ABSTRACT ………………………………………………………………….……..](#_bookmark6)........... | [xi](#_bookmark6) |
| 1. [GİRİŞ …………………….…………………...……………………….….…..…..](#_bookmark7).......... | [1](#_bookmark7) |
| 2. [GENEL BİLGİLER ……………………..…………………………………....…..](#_bookmark8).......... | [2](#_bookmark8) |
| 2.1. [Etiyoloji…………………………………………………………………………](#_bookmark9)…… | [2](#_bookmark9) |
| 2.2. [Prevalans ………….……...……….………………………………….…...........](#_bookmark10)........... | [4](#_bookmark10) |
| 2.3. [Patogenez……………………….…………………………………………….....](#_bookmark11).......... | [6](#_bookmark11) |
| 2.4 Klinik Bulgular………………………………………………………………………… | 8 |
| 2.5 Tanı…………………………………………………………………………………….. | 10 |
| 2.6 Canin Visseral Leishmaniazis’te Oksidatif Stres…………………………..………….. | 11 |
| 2.7 Canin Visseral Leishmaniazis’te Mitokondriyal DNA Hasarı……….…..……............. | 15 |
| 2.7.1 8-Hidroksideoksiguanozin (8-OHdG)…………………………………..…………… | 15 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM……...…………………………………….…..………………… | 18 |
| 3.1. Gereç………………………………………………………….....…...………................ | 18 |
| 3.1.1. Kullanılan Cihaz ve Materyaller……….………………..….........….…….................. | 18 |
| 3.1.2. Hayvan Materyali ………………………..………………..…..….…………………. | 18 |
| 3.1.3 Etik Değerlendirme………………………………………………………………….. | 19 |
| 3.2 Yöntem………………………………………………………………………………... | 20 |
| 3.2.1 Tanı Ve Ayırıcı Tanı………………………………………………………………… | 20 |
| 3.2.2 Örnekleme İşlemleri………………………………………………………………… | 20 |
| 3.2.2.1 Kan Örneklerinin Toplanması…………………………………………………….. | 20 |
| 3.2.2.2 İdrar Örneklerinin Toplanması……………………………………………………. | 20 |
| 3.2.3 Laboratuvar Analizleri………………………………………………………………. | 21 |
| 3.2.3.1 İdrarda 8-OHdG Tayini…………………………………………………………… | 21 |
| 3.2.3.2 MDA, TAS ve TOS Ölçümü……………………………………………………… | 21 |
| 3.2.4 İstatistiksel Değerlendirme………………………………………………………….. | 22 |
| 4. BULGULAR…………………………………………………………………………… | 23 |
| 4.1 Klinik Bulgular………………………………………………………………………... | 23 |
| 4.2. Üriner 8-OHdG ve Reaktif Oksijen Türleri (TAS, TOS, MDA)…………………….. | 25 |
| 5. TARTIŞMA…………………………………………………………………………….. | 26 |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER……………………………………………………………….. | 34 |
| KAYNAKLAR……………………………………………………………………………. | 35 |
| EKLER……………………………………………………………………………………. | 42 |
| EK 1 (ADÜ - HADYEK)…………………………………………………………………. | 42 |
| BİLİMSEL ETİK BEYANI……………………………………………………………….. | 43 |
| ÖZ GEÇMİŞ………………………………………………………………………………. | 44 |

# SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
| **8-OHdG** | **:** 8-Hidroksi-2'-Deoksiguanozinin |
| **APC** | **:** Antijen Sunan Hücre |
| **APP** | **:** Akut Faz Proteinleri |
| **CanL** | **:** Canin Leishmaniazis |
| **CL** | **:** Kutanöz Leishmaniazis |
| **CVL** | **:** Köpek Visseral Leishmaniazisi |
| **FFPE** | **:** Formalinle Fikse Edilmiş Parafin Blokları |
| **GSH** | **:** Aktif Glutatyon |
| **H₂O₂** | **:** Hidrojen Peroksit |
| **IFN-γ** | **:** İnterferon-γ |
| **IL-12** | **:** İnterlökin-12 |
| **IL-4** | **:** İnterlökin-4 |
| **MDA** | **:** Malondialdehit |
| **NK** | **:** Doğal Öldürücü Hücreler |
| **NO** | **:** Nitrik Oksit |
| **NOS2** | **:** Nitrik Oksit Sentaz |
| **O2-** | **:** Süperoksit |
| **OH⁻** | **:** Hidroksil Radikali |
| **OS** | **:** Oksidatif Stres |
| **ROO·** | **:** Peroksil Radikali |
| **ROS** | **:** Reaktif Oksijen Türleri |
| **TAS** | **:** Total Antioksidan Kapasite |
| **TBA** | **:** Thiobarbiturik Asit |
| **TOS**  **WHO** | **:** Total Oksidan Seviye  **:** Dünya Sağlık Örgütü |

# ŞEKİLLER DİZİNİ

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Şekil 1.** | Leishmania enfeksiyonuna karşı Th1/Th2 bağışıklık yanıtı…………......... | 8 |
| **Şekil 2.** | Şistozomiyazis sırasında ROS üretimi ve DNA hasarı ile lipid peroksidasyonu……………………………………………………………... | 13 |
| **Şekil 3.** | İş akış şeması………………………………………………………………. | 19 |

# RESİMLER DİZİNİ

**Resim 1.** Enfekte köpeklerde sık karşılaşılan dermatolojik bulgular 24

# TABLOLAR DİZİNİ

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Tablo 1.** | Çalışmaya dahil edilen hayvanların demografik verileri………………………………………………………………….…. | 23 |
| **Tablo 2.** | Gruplar arası oksidatif stres ve DNA hasar belirteçlerinin karşılaştırılması | 25 |

# ÖZET

**LEİSHMANİAZİSLİ KÖPEKLERDE ÜRİNER 8-HİDROKSİDEOKSİGUANOZİN İLE OKSİDATİF DNA HASARININ İNCELENMESİ**

## Derya D. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik İç Hastalıkları Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2025.

**Amaç:** Canine Visceral Leishmaniazis’li (CVL) köpeklerde üriner 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) düzeyleri ile oksidatif DNA hasarının belirlenmesi amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışma kapsamında rutin klinik değerlendirmede tanı almış 40 leishmaniazisli ve 20 sağlıklı olmak üzere toplam 60 köpek ele alındı. Çalışmaya dahil edilen köpeklerde idrar 8-OHdG düzeyleri ile serum TAS, TOS ve MDA düzeyleri ELISA yöntemiyle ölçüldü.

**Bulgular:** Her iki grup arasında yaş, ırk (saf ve melez) ve cinsiyet açısından benzer dağılım gösterdi. Enfekte köpeklerde sistemik bulgulardan lenfadenopati, dermatolojik bulgulardan kepeklenme en sık görülen lezyonlar arasındaydı. Oksidatif parametrelerden TAS, TOS ve MDA enfekte köpeklerde daha yüksek seyrederken, bu artış MDA düzeylerinde sağlıklılara kıyasla anlamlı (p > 0,05) bulunmadı. Benzer şekilde DNA hasar belirteci olan üriner 8-OHdG düzeyleri de enfekte grupta ortalama 1043,79 ± 78,96 pg/ml ile sağlıklarda belirlenen 918,79 ± 105,76 pg/ml değere göre yüksek olmasına rağmen istatiksel fark (p > 0,05) kaydedilmedi.

## Sonuç: CVL’li köpeklerde serum TAS ve TOS anlamlı şekilde artarken, üriner 8-OHdG ve serum MDA düzeylerinde anlamlı fark gözlemlenmedi. Bulgular, oksidatif stresin belirgin olduğunu ancak DNA hasarı göstergelerinin sınırlı tanısal değere sahip olabileceğini göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** Biyobelirteç, Canine visceral leishmaniazis, DNA hasarı, Oksidatif stres, Üriner 8-hidroksi-2'-deoksiguanozinin.

# ABSTRACT

**ASSESMENT OF OXIDATIVE DNA DAMAGE IN CANINE LEİSHMANİAZİS WITH URINARY 8-HYDROXYDEOXYGUANOSINE**

## Derya D. Aydın Adnan Menderes University, Health Science İnstitutes Internal Medicine Program, Master Thesis, Aydın, 2025.

**Objective:** The aim of this study was to determine the levels of urinary 8-hydroxy-2'- deoxyguanosine (8-OHdG) and oxidative DNA damage in dogs with Canine Visceral Leishmaniazis (CVL).

**Material and Methods:** A total of 60 dogs comprising 40 dogs diagnosed with leishmaniazis and 20 healthy controls through routine clinical evaluation in this study. In the dogs included in the study, Urinary 8-OHdG and serum TAS, TOS and MDA levels were measured using the ELISA.

**Results:** Lymphadenopathy as systemic disease, dandruff as dermatological findings are mong the most common clinical findings in the infected dogs

## Conclusion: In dogs with Canine Visceral Leishmaniasis (CVL), TAS and TOS levels were significantly elevated, whereas no statistically significant differences were observed in 8-OHdG and MDA levels. These findings indicate a marked oxidative stress response, while suggesting that DNA damage markers may have limited diagnostic value in this context.

**Keywords:** Biomarker, Canine Visceral Leishmaniazis, DNA damage, Oxidative stress, Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine.

# GİRİŞ

Leishmaniazis, leishmania türlerine ait protozoon parazitlerin neden olduğu bir grup hastalığı ifade etmektedir. Bu hastalıklar, halk sağlığı için büyük bir tehdit oluşturmaktadır ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından tropikal gözardı edilen hastalıklar olarak sınıflandırılmaktadır (WHO, 2015).

Hastalık dişi phlebotom kum sineklerinin ısırıklarıyla bulaşmaktadır (Petersen, 2020). 23’ten fazla leishmania türü tanımlanmıştır ve bunların çoğu zoonotik karakterdedir. Evcil hayvanları etkileyen en önemli etken *L. infantum*'dur. Etken konakçıda makrofajlar tarafından taşınmaktadır. Lokalize deri enfeksiyonundan, parazit lenfatik veya kan damarları yoluyla yayılabilmektedir ve kemik iliği, lenf düğümleri, karaciğer, dalak, böbrek ve gastrointestinal sistemdeki makrofajları enfekte etmektedir (Reis ve diğerleri, 2009). Köpek visseral leishmaniazisi (CVL), bu grubun bir parçası olmakta ve köpeklerde görülen en agresif ve ölümcül form olarak kabul edilmektedir (Marcondes ve Day, 2019). CVL, geniş bir klinik belirti yelpazesi ve şiddet dereceleri ile kendini göstermektedir ve bu hastalığın yönetimi konusunda bilimsel bir mutabakat sağlanamamaktadır (Baneth ve diğerleri, 2008).

Yapılan bazı araştırmalarda, yüksek reaktif oksijen serbest radikallerinin paraziter enfeksiyonların patogenezindeki olası rolünü değerlendirmeye odaklanılmıştır (Biswas ve diğerleri, 1997; Erel ve diğerleri, 1997; Oliveira ve diğerleri, 2000). Reaktif türler, hastalıklarda DNA üzerinde çeşitli yollarla değişikliklere yol açabilmektedir ve bu da en çok çalışılan DNA oksidasyon biyobelirteçlerinden biri olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozinin (8-OHdG) artışına neden olabilmektedir. Çalışmalarda babesiosiste oksidatif DNA hasarına bağlı üriner 8- OHdG’nin arttığı gözlemlenmiştir (Blanca ve diğerleri, 2024). Leishmaniaziste de doğal enfekte köpeklerde oksidatif stres, iz elementler ve biyokimyasal parametrelerde belirgin değişikliklere yol açtığı bildirilmiştir (Hediarpour ve diğerleri, 2012).

Bu tez çalışması ile leishmaniazisli köpeklerde oksidatif DNA hasarının üriner 8-OHdG ile belirlenmesi oksidatif stres belirteçleri malondialdehit (MDA), total antioksidan kapasite (TAS) ve total oksidan seviye (TOS) ile üriner 8-OHdG korelasyonun ortaya konulması amaçlandı.

# GENEL BİLGİLER

## Etiyoloji

Leishmaniazis, *Trypanosomatidae* familyasına ait, Leishmania cinsine bağlı bir grup protozoon parazitinin neden olduğu bir hastalıktır (Mullen ve Durden, 2002). Leishmaniazis, etiyolojik ajanı Leishmania cinsinin digenetik protozoa (amastigot ve promastigot formları) olan hastalıklar kompleksidir. Parazitin bulaşması, Eski Dünya'da *Phlebotomus* cinsine ait dişi phlebotomine kum sineklerinin ve Yeni Dünya'da *Lutzomyia* cinsine ait kum sineklerinin kan emmesi sırasında gerçekleşmektedir (Alves ve diğerleri, 2018). WHO tarafından ihmal edilmiş bir hastalık olarak kabul edilen leishmaniazis, geniş bir coğrafi dağılıma sahip olup 98 ülkede mevcuttur. Dünyada, yaklaşık 12 milyon enfekte insan olduğu tahmin edilmekte ve her yıl yaklaşık 700.000 ile 1 milyon yeni vaka bildirilmektedir (Alemayehu ve diğerleri, 2017; Alves ve diğerleri, 2012; Rossi ve diğerleri, 2018).

Leishmaniazis, parazitin türüne ve konakçının bağışıklık yanıtına bağlı olarak kutanöz, mukozal ve visseral formda farklı klinik bulgulara yol açmaktadır (McGwire ve Satoskar, 2014). Köpeklerde kutanöz leishmaniazis (CL), iyileşebilen veya kronikleşebilen lokalize deri lezyonları olarak kendini göstermektedir, kronikleşen lezyonlar ise önemli doku tahribatına ve şekil bozukluğuna yol açabilmektedir (Mehregan ve diğerleri, 1999). Köpeklerde CL’ye neden olduğu bilinen türler, *L (V.) braziliensis*, *L (V.) panamensis*, *L (V.) guyanensis* ve *L (V.) peruviana*’dır*.* (Santaella ve diğerleri, 2011; Vélez ve diğerleri, 2012).

Visseral leishmaniazis (VL), *Leishmania donovani* kompleksine ait parazitlerin neden olduğu endemik zoonotik bir hastalıktır: Eski Dünya'da *L. d. donovani* ve *L. d. infantum*, Yeni Dünya'da ise *L. d. chagasi* olarak bilinmektedir (Ikonomopoulos ve diğerleri, 2003; Palatinik- de-Souza ve diğerleri, 2001). *L. chagasi*, *L. infantum*' dan ayrı bir tür olarak kabul edilmekteydi, ancak yapılan moleküler karakterizasyonlar bu organizmaların birbirinden ayırt edilemez olduğunu göstermektedir (Mauricio ve diğerleri, 2000). Canin visceral leishmaniazis (CVL), yaklaşık 50 ülkede mevcuttur; Antarktika ve Okyanusya hariç, tüm kıtalar hastalığın endemik olduğu bölgelerdir (Dantas- Torres ve diğerleri, 2012; Solano-Gallego ve diğerleri, 2009). Köpekler genellikle asemptomatik seyretmektedir ve semptomatik olduklarında, anemi, zayıflama, hepatosplenomegali, böbrek yetmezliği ve onikogrifozis gibi geniş bir klinik bulgu yelpazesi gösterebilmektedirler, bu belirtiler tedavi edilmediğinde ölüme yol açabilmektedir (Ulchar ve diğerleri, 2015). CVL klinik bulguları, progresif bir şekilde ortaya çıkmaktadır ve kutanöz lezyonlar, visseral hastalıkla birlikte görülebilmektedir (Lachaud ve diğerleri, 2002). Tedavi edildiklerinde bile, köpekler hastalığın bulaşında rol oynamaktadır, bu da hastalığın kentsel merkezlerde varlığını sürdürmesine neden olmaktadır (Gonçalves ve diğerleri, 2019).

*Leishmania spp*., yaşam döngüsünü iki farklı konakta tamamlayan diphasik (iki aşamalı) bir parazittir. Bu iki konak, phlebotomine kum sineği vektörü ve memeli konaktır. Kum sineği vektörü, parazitin flagellalı dışsal promastigot formunu barındırırken, memeli konak ise parazitin içsel amastigot formunun geliştiği yerdir. Parazitin son formu olan metasiklik promastigot, yeni bir omurgalı konağa transfer edilerek Leishmania yaşam döngüsünü tamamlamaktadır. Parazit ile enfekte olan kum sineği bir omurgalıdan kan alırken, bağırsaklarındaki promastigotları probosisi aracılığıyla konağa enjekte etmektedir. Sadece dişi kum sinekleri kan emici olup, erkekler bitkilerle beslenmektedir (Killick-Kendrick, 1999). Kum sinekleri, özellikle köpeklerde, tüy yoğunluğunun düşük olduğu deri bölgelerinde (baş, burun köprüsü, kulak kepçeleri, kasık ve perianal bölgeler gibi) kan emmektedir. Parazit, konağın deri tabakasına ulaştığında, makrofajlar tarafından fagositoz işlemine tabi tutulmaktadır. Makrofaj, paraziti çevreleyen bir fagosom oluşturmaktadır ve paraziti, oksijen tabanlı metabolitler (örneğin, nitrik oksit) ve lizozomal hidrolazların salınımıyla yok etmeye çalışmaktadır. Ancak Leishmania, bu spesifik olmayan savunmaları geçerek makrofaj içinde hayatta kalıp çoğalmaktadır. Enfeksiyonun ilerleyişi, konağın bağışıklık yanıtının etkinliğine bağlı olarak değişmektedir (Alvar ve diğerleri, 2004). Parazit, diğer phlebotom kum sinekleri tarafından da alınabilmektedir. Bu durumda, amastigotlar, memeli konağındaki hücrelerden serbest bırakılarak promastigotlara dönüşmektedir. Bu dönüşüm yalnızca sineğin bağırsaklarının ön segmentinde gerçekleşmektedir (Bates, 2007). Kum sineği vektör türleri ile *Leishmania spp.* türleri arasındaki güçlü ilişki, vektörün bağırsağındaki özel enzim aktiviteleri ve ligandlar sayesinde, sadece belirli *Leishmania spp.* türlerinin bağırsağın duvarına tutunabilmesini ve sindirilmiş kanla beslenme sırasında dışarı atılmadan çoğalabilmesini sağlamaktadır (Volf ve diğerleri, 2008). Bu nedenle, doğal iletim yalnızca uygun vektör türlerinin bulunduğu bölgelerde gerçekleşmektedir (Killick-Kendrick, 1999; Volf ve diğerleri, 2008). *Leishmania spp*.’nin kış boyunca hayatta kalması, aslında enfekte köpeklerde sürdürülmektedir, çünkü kumsineği vektörlerinde *Leishmania spp.*’nin transovarial geçişi gözlemlenmemiştir (Bates, 2007).

## Prevalans

Köpeklerde leishmaniazis Akdeniz çevresindeki Avrupa ülkeleri ve bölgelerde endemik olup, hastalığın dağılımı, phlebotomine vektörlerinin (kum sinekleri) dağılımı ile örtüşmektedir. Endemik bölgelerde köpeklerdeki enfeksiyon prevalansı, klinik hastalık gösteren ya da serokonversiyon geçiren bireylerin oranından çok daha yüksek seyretmektedir. Ortalama olarak, endemik ülkelerdeki köpeklerin %10'u *L. infantum* için seropozitif bulunmakta, ancak bu oran bölgelere göre geniş değişiklikler göstermektedir (Berg ve diğerleri, 2015). hastalığın dağılımı heterojendir ve tüm ülkeler ve bölgeler eşit şekilde çalışılmamış ve karakterize edilmemiştir. Güney Avrupa ülkelerinde, CanL seroprevalansı yüksek seviyelere ulaşmaktadır. Enfekte hayvanların erken tespiti, hastalığın yayılmasının kontrolü açısından kritik olabilmektedir. Canin leishmaniazis (CanL), İspanya'da yaygın olup, ülkenin neredeyse tüm topraklarında endemik olarak kabul edilebilmektedir. Ülkenin güneydoğusundaki seroprevalans %23.7 olarak hesaplanmış olup, bu oran hem veteriner kliniklerinden alınan kan örnekleriyle hem de rastgele seçilen köpeklerle belirlenmiştir (Martín-Sánchez ve diğerleri, 2020; Morales-Yuste ve diğerleri, 2012). Sıcak noktalar, Axarquia bölgesinde (Malaga) tespit edilmiştir (Morillas ve diğerleri, 1996). Merkezi İspanya'da prevalans %1-5 arasında (Miró ve diğerleri, 2017), kuzeyde ise daha düşük bulunmuştur (Gálvez ve diğerleri, 2020; Montoya- Alonso, 2020). Pirene dağları ve kuzeydoğu bölgelerde ise, özellikle av köpeği popülasyonunda, %19.5 prevalans bulunmuştur (Velez ve diğerleri, 2019). Kanarya Adaları’nda ise düşük prevalans (%0–2.5) bulunmuş, ancak ithal vakalar göz ardı edilmemiştir (Gálvez ve diğerleri, 2020; Montoya-Alonso, 2020; Morillas-Márquez, 2017). Diğer Güney Avrupa ülkelerinde de epidemiyolojik anketler benzer şekilde farklı desenler göstermektedir. İtalya'da, Campania bölgesinde yüksek endemik bölgelerde %14 prevalans bulunmuşken, Fransa'da %12'lik bir ortalama prevalans tespit edilmiştir. Bu oran, Akdeniz'e yakın bölgelerde

%8.1 ile %28 arasında değişmektedir. Fransa'nın güneydoğusunda, 2009 yılında askeri köpeklerde semptomatik CanL prevalansı çok düşük (%0.7) bulunmuşken, 1993’te bu oran

%3.5 ‘tur; bunun muhtemel nedeni, deltametrinle işlenmiş tasmaların yakın dönemde kullanılmasıdır. Portekiz’de ise genel prevalans %6.31 olup, %0.88 ile %16.16 arasında değişen prevalans oranları, en yüksek prevalansın iç bölgelerde görüldüğünü göstermektedir (Cortes ve diğerleri, 2012; Gramiccia ve diğerleri, 2013; Lachaud ve diğerleri, 2013; Marty ve diğerleri, 2007).

Küresel ısınma sonucunda, kum sineklerinin dağılım alanının hem enlem hem de yükseklik açısından genişleyebileceği ve bu durumun leishmaniazis prevalansını artırabileceği öne sürülmüştür. *L. infantum* vektörlerinin coğrafi genişlemesi, Kuzey İtalya'da (Morosetti ve diğerleri, 2009) ve İspanya’nın Pireneler bölgesinde (Ballart ve diğerleri, 2012) rapor edilmiştir ve bu durum iklim değişikliğine bağlanmaktadır. Sierra Nevada (Güney İspanya) bölgesinde, Barón ve diğerleri (2011), kum sineklerinin daha önce rapor edilen yüksekliklerden daha yüksek rakımlarda varlığını göstermiştir (Barón ve diğerleri, 2011); Martín-Sánchez ve diğerleri (2009) ise, 22 yıl süresince CanL seroprevalansında bir artış tespit etmiş ve bunun iklim değişikliğiyle ilişkilendirilebileceğini belirtmiştir (Martín-Sánchez ve diğerleri, 2009). İtalya’da, CanL’in ve vektörlerinin kuzeye doğru yayıldığı izlenmiştir. Ülkede daha önce otokton vakaların bildirilmediği kuzey bölgelerinde yeni CanL odakları ve yetkin vektörlerin varlığı bildirilmiş olup, burada yerleşik köpeklerde seroprevalans %4-6 arasındadır (Ferroglio ve diğerleri, 2005). Küresel ısınma, hastalığın daha serin bölgelere yayılmasının olası bir nedeni olarak görülmekte ve hastalığın geleneksel olarak endemik olduğu bölgelerden enfekte hayvanların hareketi, kum sineği vektörlerinin yayılmasını kolaylaştırabilmektedir. Portekiz'de, CanL seroprevalansı, 1990'larda %4–7 arasında iken, endemik bölgelerde %20'ye kadar çıkmıştır (Campino ve diğerleri, 2010). Güney İspanya'da ise, yüksek rakımlarda (1753–1813 m) *L. infantum* bulaşması, kum sineği kolonizasyonuyla bağlantılı olarak, CanL prevalansında (23%) bir artış göstermektedir (Díaz-Sáez ve diğerleri, 2021).

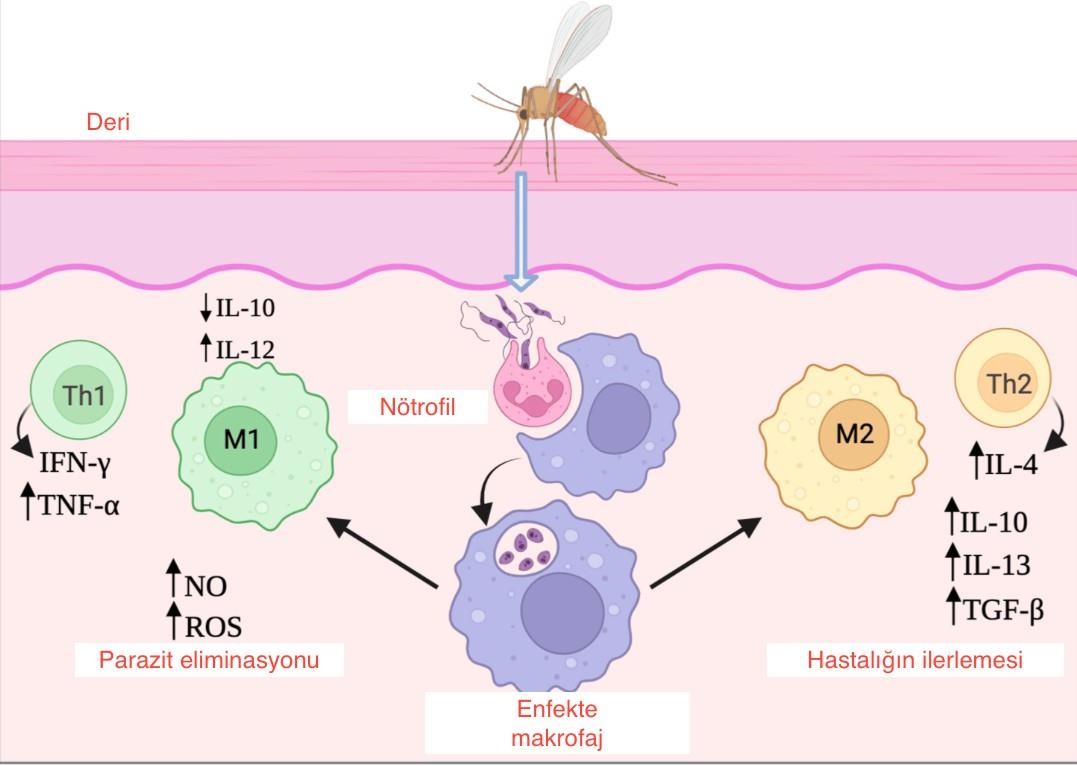
Yunanistan, CanL’in endemik olduğu bir ülkedir ve burada hem *L. infantum* hem de *L. tropica* (deri leishmaniazisinin etkenleri) bulunmuştur (Ntais ve diğerleri, 2013). 2005-2010 yılları arasında yapılan bir çalışmada, köpeklerde ortalama seropozitiflik oranı %22.1 (bazı bölgelerde %50'yi aşan oranlar) bulunmuş ve enfekte hayvanlar, 54 vilayetin 43'ünde tespit edilmiştir (Ntais ve diğerleri, 2013). Bir çalışmada, asemptomatik köpeklerde yapılan Speed Leish K serolojik testine göre, köpek nüfusundaki ortalama seropozitiflik oranı %13.8 bulunmuş ve enfekte köpekler tüm vilayetlerde tespit edilmiştir, kuzeyde ise bazı bölgelerde %50’yi aşan oranlar gözlemlenmiştir (Symeonidou ve diğerleri, 2021).

Balkanlar'daki CanL durumu son zamanlarda Vaselek (2021) tarafından gözden geçirilmiştir (Vaselek, 2021). Son on yılda, bu bölgedeki otokton CanL vakalarının artışını gösteren bir dizi rapor bulunmuştur. En son raporda Arnavutluk'ta seroprevalans %3.2 olarak tespit edilmiştir, ayrıca Bosna-Hersek'te %16.7 seroprevalans ve %3.1 PCR oranı, Kosova'da ise %18 seroprevalans bildirilmiştir.

## Patogenez

İnkübasyon süresi genellikle 2 hafta ile 18 ay arasında değişmektedir (John ve Petri, 2006), ancak VL belirtileri genellikle enfeksiyonu takiben 2-8 ay içinde başlamaktadır ve başlangıçtaki deri lezyonlarının yanı sıra ciddi inflamasyona bağlı reaksiyonlar gelişebilmektedir, ancak VL semptomlarının ortaya çıkması yıllar sürebilmektedir (Barret ve Croft, 2012). Hastalık progresif bir seyir izlemektedir ve tedavi edilmeyen asemptomatik enfeksiyon genellikle fetal olup (Barret ve Croft, 2012), mortalite oranı %75–95 arasında değişmektedir (John ve Petri, 2006). Ölüm genellikle 2 yıl içinde gerçekleşmektedir, ancak spontan iyileşmeler de görülebilmektedir (John ve Petri, 2006). Parazitler, mononükleer fagosit sistemi hücrelerinin bulunduğu her yerde çoğalmaktadır ve bunlar en sık makrofajlarda görülmektedir. Bu hücreler en bol olarak dalak ve karaciğerde bulunmaktadır, dolayısıyla enfeksiyon her iki organın da büyümesine yol açmaktadır (John ve Petri, 2006; McGwire ve Satoskar, 2013). Kemik iliği hücreleri enfekte olmaktadır ve hastalar pansı̇topeni (kırmızı kan hücreleri, beyaz kan hücreleri ve trombositlerin üretiminin baskılanması) ve immunosupresyon geliştirerek süperenfeksiyonlara karşı duyarlı hale gelmektedirler (John ve Petri, 2006; McGwire ve Satoskar, 2013).

Doğal koşullarda, kum sinekleri enfekte olmuş bir vertebrattan düşük sayıda promastigot (100-1000) almaktadır ve bu sayede hastalık, duyarlı köpeklerde meydana gelmektedir. Çoğu parazit, kompleman faktörleri tarafından öldürülse de, birkaçı farklı stratejilerle hayatta kalmayı başarmaktadır. Bu promastigotlar hızla, monosit ve makrofaj kökenli hücrelere (dendritik hücreler ve Langerhans hücreleri dahil) tutunmaktadır. Parazitin plazma membranına bağlı olan kompleman bileşenlerini bağlayan en önemli tutunma reseptörleri Kompleman reseptörleri Tip I (CR1, CD35) ve Tip III (CR3, CD11b/CD18) olup, bu kompleman-bağımlı yapışma, parazitin fagositoz yoluyla hücre içine alınmasıyla devam etmektedir. Fagosom içinde, promastigotlar hareketsiz amastigotlara dönüşmektedir ve pH hızla yaklaşık 5’e düşmektedir. Parazitin bozulmasını engelleyen gp63’ün proteolitik aktivitesi, fagosom içinde hayatta kalmasını sağlamaktadır (Solbach ve Laskay, 2000). Parazitlerin deriye inokülasyonu, lokal bir inflamatuar yanıtı başlatmaktadır. Başlangıçta, bu yanıtın ana hücreleri nötrofil ve eozinofilik granülositlerdir, bunları makrofajlar izlemektedir. Doğal öldürücü (NK) hücreler, enfeksiyonun erken aşamalarında tespit edilebilmektedir. Lenfositler, daha sonraki aşamalarda ortaya çıkmaktadır ve hastalık ilerledikçe, inflamasyon tipik olarak granülomatöz bir yapıkazanmaktadır (Cotran ve diğerleri, 1999). Hastalığın yayılmasının önemli bir aşaması, deriden diğer organlara doğru ilerlemesidir. Duyarlı köpeklerde, enfeksiyon ilk birkaç saat içinde hızla lenf düğümlerine, dalağa ve kemik iliğine yayılmaktadır. Buna karşın, dirençli hayvanlarda, parazitler yalnızca deride lokalize kalmaktadır veya sadece lokal lenf nodlarını etkilemektedir. Derideki enfeksiyonun kontrolünden sorumlu olan ana hücreler NK hücreleridir. NK hücreleri, parazit antijenleriyle aktive olduktan sonra hızla interferon-γ (IFN-γ) ve interlökin-12 (IL-12) üretirler. IFN-γ, makrofajlarda nitrik oksit sentaz (NOS2) üretiminin güçlü bir indükleyicisidir (Belkaid, 2000; Solbach ve Laskay, 2000). Koruyucu bir anti-Leishmania bağışıklık yanıtının oluşumu, uygun antijenlerin antijen sunan hücreler (APC'ler) tarafından sunulmasını, CD4+ Th1 lenfositlerinin indüksiyonunu ve genişlemesini gerektirmektedir. Bu süreç, makrofajların parazitleri etkin bir şekilde öldürmesi için aktive edilmesini içermektedir. Leishmaniazis'te ana APC'ler makrofajlar, dendritik hücreler ve Langerhans hücreleridir. Süperoksit (O2-) ve nitrik oksit (NO) üretimi, Leishmania parazitlerini ortadan kaldırmanın iki ana efektör mekanizmasıdır. Bağışıklık yanıtının türü (Th1 veya Th2), T hücrelerinin antijenle ilk karşılaştıkları sırada karşılaştıkları sitokin ortamına bağlı olarak şekillenmektedir. T yardımcı lenfositleri, memeli konakçılarda leishmaniaya karşı bağışıklık tepkisini koordine etmede kritik bir rol oynamaktadır ve doğrudan koruyucu bağışıklık sağlayabilmektedir (Ayala ve diğerleri, 2024). Th1 veya Th2 reseptör yanıtına doğru olan sapmalarının yönü, hastalık ilerlemesinde önemli bir faktör olarak gösterilmiştir (Şekil 1). Bu bağlamda, interlökin-4 (IL-4), bağışıklık yanıtının yönünü belirleyen en önemli sitokindir. Leishmania enfeksiyonuna duyarlılık, ilk aşamalarda IL-4 üretiminin erken dönemde artmasına bağlıdır, bu da IL-12'ye karşı duyarsızlıkla sonuçlanmaktadır. Interlökin-12, IL-12RB1 ve IL-12B2'yi içeren bir reseptör kompleksiyle bağlanmaktadır ve IL-4 (diğer sitokinlerle birlikte), IL-12 reseptörünün ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Genel olarak, Leishmania enfeksiyonuna duyarlılık veya direnç gelişimi, CD4+ T hücrelerinin IL-12'ye yanıt verip vermemelerine bağlıdır; bu da enfeksiyon sonrası IL-12 reseptörünün ekspresyonunun 48 saatten fazla korunması ile ilişkilidir. Interlökin-12, enfeksiyonun etkin kontrolü için kritik öneme sahiptir; hem NK aktivitesini hem de IFN-γ üretimini indüklemektedir. Duyarlı köpeklerde, klinik lezyonlar ve belirtiler enfeksiyon sonrası 3 aydan birkaç yıla kadar değişen bir süre içinde ortaya çıkmaktadır. Lenfoid organlarda, T-lenfosit bölgeleri hücre açısından zayıflar, buna karşın B-hücre bölgeleri proliferasyon göstermektedir. Ayrıca histiyositlerin ve makrofajların çoğalması, genelleşmiş lenfadenopatiye ve bazen hepatosplenomegaliye yol açmaktadır. Ayrıca, klinik hastalık, dolaşımdaki CD4+ lenfositlerin sayısının düşük olmasıyla ilişkilidir (Guarga ve diğerleri, 2000). Hastalık ilerledikçe, parazitler vücuttaki birçok organı (lenf düğümleri, dalak, kemik iliği, karaciğer, böbrekler, pankreas, ince bağırsak, testisler, akciğerler, gözler, eklemler ve kemikler) kolonize etmektedir ve her bir organın içinde değişken sayılarda amastigot içeren granülomatöz reaksiyonlar gözlemlenmektedir (Buracco ve diğerleri, 1988; Engwerda ve Kaye, 2000). T-hücre düzenlemesinin bozulması ve aşırı B-hücre aktivitesi, büyük miktarlarda dolaşımdaki immun komplekslerin oluşmasına neden olabilmektedir (López ve diğerleri, 1996). Bunların kan damar duvarlarında birikmesi, vaskülit, poliarthritis, üveit ve glomerülonefrit gibi hastalıklara yol açabilmektedir (Garcia-Alonso ve diğerleri, 1996; Pumarola ve diğerleri, 1991; Spreng, 1993).



**Şekil 1.** Leishmania enfeksiyonuna karşı Th1/Th2 bağışıklık yanıtı. Leishmania ile enfekte olmuş makrofajlar, sırasıyla Th1 veya Th2 bağışıklık yanıtlarıyla ilişkili olan, M1 (yeşil) ve M2 (sarı) olarak bilinen iki farklı makrofaj aktivasyonu geliştirebilmektedir (Ayala ve diğerleri, 2024).

## Klinik Bulgular

## *L. infantum* ile enfekte olmuş makrofajlar, parazit ile enfekte dokularda bulunabilmektedir ve bu durum, çoğu semptomun ortaya çıkmasına neden olan granülomatöz inflamatuar reaksiyonlara yol açmaktadır. Çoğu köpek, kötü vücut kondisyonuna veya kaşeksiye sahip olmaktadır; genellikle zayıftırlar ve anoreksi eğilimindedirler. Başlıca deri semptomları arasında deride döküntü, kutanöz lezyonlar (nodüler, ülseratif ve püstüler) ve eksfolyatif dermatit yer almaktadır. Alopesi, solgun mukozalar ve eritematöz reaksiyonlar da yaygındır. Onikogrifozis (tırnak büyümesi) oldukça yaygındır ve parazitlerin yokluğunda likenoid ve ara yüz mononükleer dermatit ile ilişkilidir (Koutinas ve diğerleri, 2014). Oküler hasar da gözlemlenebilmektedir; blefarit, üveit ve konjonktivit oldukça yaygın görülen semptomlar arasında bulunmaktadır. Adenopati, semptomatik köpeklerde yaygın olmakla birlikte lenf nodülü büyümesiyle karakterizedir, bu durum, nodül yapısındaki hipertrofiye bağlı olarak gelişmektedir. Bu büyüme, genellikle dokudaki parazit yükü ile ya da hayvanın klinik durumu ile ilişkili değildir (Corpas-López ve diğerleri, 2016; Koutinas ve diğerleri, 2014).

Böbrek tutulumuna çoğu enfekte köpekte rastlanmaktadır. Glomerülonefrit, immun kompleks birikimiyle ilişkili olmakla birlikte böbrek yetmezliğine yol açabilmektedir. Böbrek hasarı, enfeksiyonun başlangıcında başlayabilmektedir fakat yalnızca ileri aşamalarda proteinüri ve yüksek kan kreatinin seviyeleri ile belirginleşmektedir. Böbrek yetmezliği, CanL'deki başlıca ölüm nedenidir (Solano-Gallego ve diğerleri, 2009). CanL'li köpeklerde genellikle epistaksis, hematüri ve hemorajik ishal görülmektedir. Bunlar hastalığın pıhtılaşma bozukluklarından kaynaklanmaktadır (Koutinas ve diğerleri, 2014).

Dalakta amastigotların varlığı, makrofaj infiltrasyonu ve organın mikro yapıdaki değişiklikler nedeniyle splenomegaliye yol açmaktadır. Benzer bir durum, karaciğerde de görülebilmektedir ve bazı vakalar hepatite ilerleyebilmektedir (Rallis ve diğerleri, 2005). CanL’de, dalak, deri ve kemik iliğinin yanı sıra enfeksiyon sırasında en fazla etkilenen organlardan biridir.

Pankreas da CanL’de etkilenen organlardan biridir, ancak tespit oranı ve parazit yükü genellikle düşük seyretmektedir (Kost ve diğerleri, 2021). Bir çalışmada, *L. infantum*’un köpeklerde kronik pankreatitin etiyolojik ajanlarından biri olduğu ve pankreas, dalak ve/veya kemik iliği ile birlikte eşzamanlı enfeksiyonu ile kötü vücut kondiyonu ve kaşeksi arasında ilişki bulunduğu belirtilmiş ve bu belirtilerin, köpeklerde visseral leishmaniazisin daha ileri bir aşamasının sonucu olduğu öne sürülmüştür (Kost ve diğerleri, 2021).

*L. infantum*, çoğu köpeğin dokularına ve organlarına invazyon yapmaktadır (Baneth ve Aroch, 2008). Kemik iliğine ulaşarak hastalığın kalıcılığından, özellikle nükslerden sorumlu lan organ olarak kabul edilmektedir. Hematopoez, hastalığın erken aşamalarında normal olsa da, kemik iliğinde parazitin yoğun tutulumu, hücre üretiminde değişikliklere yol açarak pansitopeni, rejeneratif olmayan anemi, histiositik hiperplazi ve eritrositik hipoplaziye neden olmaktadır ve bu durum meduller aplazi ile sonuçlanmaktadır. Tüm bu değişiklikler, hematolojik ve pıhtılaşma bozuklukları olarak kendini göstermektedir ve dalak hasarına bağlı hemoliz değişiklikleriyle daha da kötüleşmektedir (Manzillo ve diğerleri, 2006).

Karaciğer, CanL’de hedef organlardan biridir ve *L. infantum*, burada yerleşik makrofajlar veya Kupffer hücreleri aracılığıyla organda hasar oluşturmaktadır. Parazit enfeksiyonu, karaciğerde inflamatuar değişikliklere yol açmaktadır. Bu değişiklikler, bu organda enfeksiyonun çözümüyle ilişkili olabilecek granülomaların oluşumu ve olgunlaşmasını içermektedir. Karaciğer aynı zamanda bazı bağışıklık fonksiyonlarına sahiptir. Örneğin patojenlerin ve onların antijenlerinin dolaşımdan uzaklaştırılması gibi. Hepatositler, bu fonksiyonu CanL sırasında inflamatuar mekanizmaların aktivasyonu ile koordine etmektedir (Kaye ve Beattie, 2016; Lima ve diğerleri, 2019; Rodrigues ve diğerleri, 2019).

## Tanı

Leishmaniazis’te parazitolojik tanı, her zaman bir laboratuvar ortamında konulmaktadır. Klinik belirtiler ve/veya hastalıkla uyumlu klinikopatolojik anormallikler, CanL ‘den şüphelenmemize yol açmaktadır. Enfeksiyonun etiyolojisinin doğrulanması, farklı doğrudan ve dolaylı laboratuvar tanı yöntemleri (paraziterolojik, moleküler ve serolojik yöntemler) kullanılarak yapılabilmektedir. Paraziterolojik yöntemler, mikroskobik inceleme ve kültürü içermektedir. Kemik iliği veya lenf düğümünden alınan boyalı sürüntülerde amastigotların mikroskobik gözlemi kesin tanı sağlamaktadır, ancak bu deneyim ve zaman gerektirmektedir. Kemik iliği aspiratlarında %52–85, lenf düğümü aspiratlarında ise %52–58 arasında duyarlılık bulunmuştur (Maia ve diğerleri, 2009). Amastigotların atipik yerleşim yerlerinde (örneğin dil, testis, ağız veya burun kitleleri) nodüler kitlelerde varlığını tanımlayan raporlar, ince iğne aspirasyonu sonrasında bildirilmiştir (Paltrinieri ve diğerleri, 2016). Formalinle fikse edilmiş parafin bloklarındaki (FFPE) dokularda histopatolojik (hematoksilin-eozin boyalı kesitler) ve immunohistokimyasal yaklaşımlar önemli bir uzmanlık ve eğitim gerektirmektedir, ayrıca bu yöntemler duyarlılığı artırmamaktadır. Bu yöntemler, artefaktların amastigot olarak yanlış değerlendirilmesi nedeniyle yanlış pozitif sonuçlar verebilmektedir (Maia ve Campino, 2008). Sitolojiye kıyasla, histoloji daha zahmetli ve zaman alıcıdır, ayrıca amastigotların tanımlanması daha zor olabilmektedir.

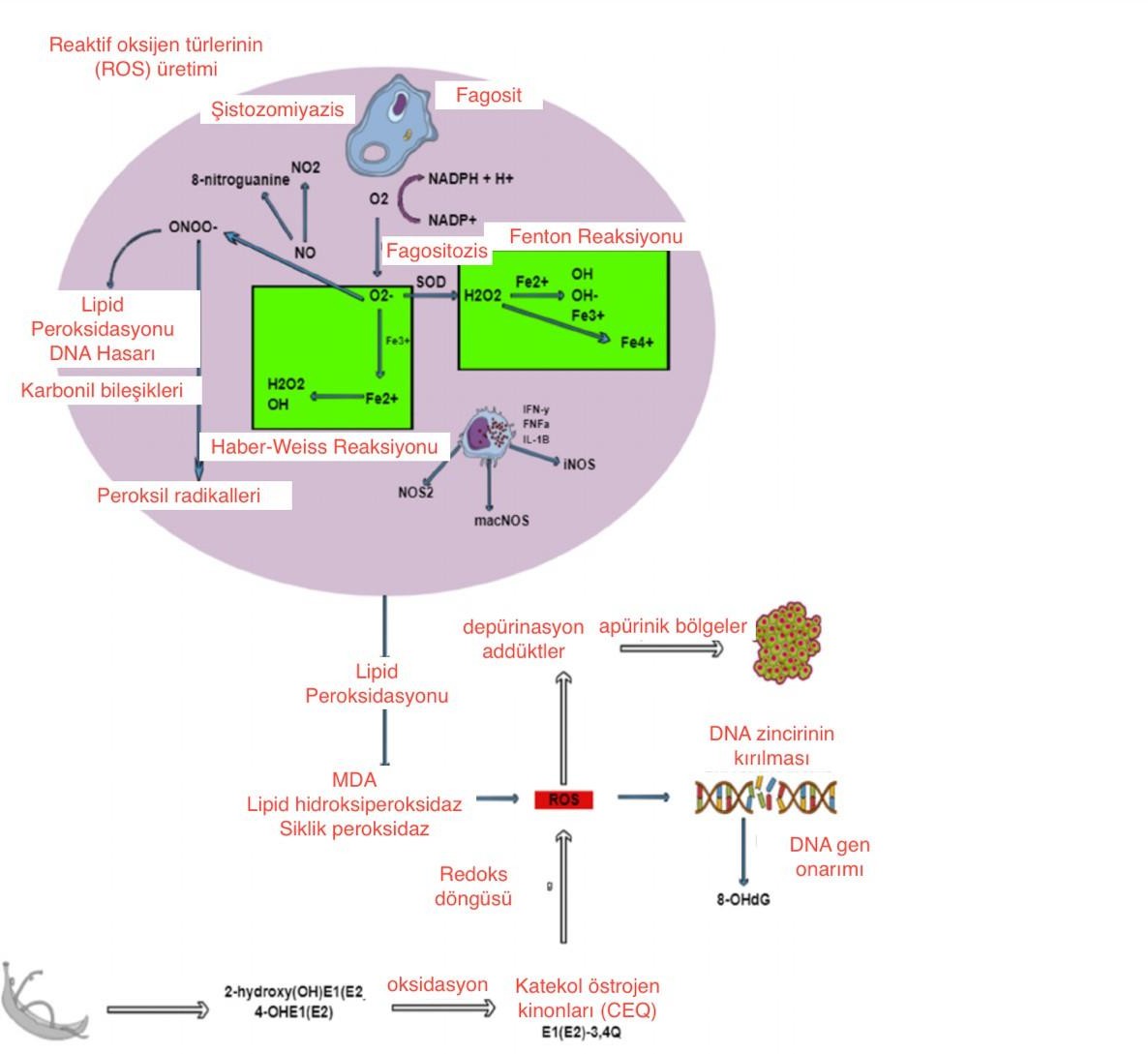
*In vitro* kültür, basit bir işlem değildir ve negatif bir sonuç almak en az bir ay sürebilmektedir. Bu nedenle, şu anda genellikle tanı yöntemi olarak kullanılmamaktadır. Geçmiş yüzyılın sonlarında sıkça kullanılması, Leishmania suşlarını tanımlamak için izoenzim elektroforezi kullanma ihtiyacıyla ilgili olarak yapılmıştır (Fisa ve diğerleri, 1999; Jiménez ve diğerleri, 1995; Martin Sanchez ve diğerleri, 1994; 2004). Ayrıca, parazit suşları arasında büyüme hızı ve dokularda parazit yükü açısından geniş bir değişkenlik bulunmaktadır. Popliteal lenf nodülü, kültür için en erişilebilir biyolojik materyaldir ve semptomatik köpeklerde ve antikor titresi ≥80 olan köpeklerde %64–100 pozitif sonuçlar vermektedir (Martin Sanchez ve diğerleri, 1994; 1999; Sánchez ve diğerleri, 1996).

Moleküler tanı, duyarlılıkta bir gelişim sağlamaktadır. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), şu anda CanL'nin tanısında ve Leishmania türlerinin tanımlanmasında duyarlı bir araçtır. LAMP (loop-mediated isothermal amplification) gibi diğer yöntemler ise yaygın olarak kullanılmamaktadır. Birçok PCR testi tanımlanmış olsa da, en uygun PCR tekniğini seçmek karmaşıktır. Duyarlılık ve özgüllük, PCR varyantına (konvansiyonel PCR, nested PCR, PCR- ELISA ve gerçek zamanlı PCR) ve hedef DNA dizisine (kinetoplast DNA minicircles gibi yüksek derecede tekrarlanan diziler veya küçük alt birim ribozomal RNA genleri gibi bir dizi benzersiz gen) göre değişmektedir. PCR’nin avantajlarından biri, analiz edilebilecek örneklerin çeşitliliğidir. FFPE biyopsileri, kan, konjonktival ve oral sürüntüler, tüy ve diğer invazif olmayan örnekler dahil olmak üzere birçok farklı örnekle analiz yapılabilmektedir (Belinchón- Lorenzo ve diğerleri, 2013; Corpas-López ve diğerleri, 2016; Lombardo ve diğerleri, 2012; Merino-Espinosa ve diğerleri, 2018). En yüksek ortalama parazit yükü kemik iliğinde bulunmaktadır, bunu lenf nodülü izlemektedir (Corpas-López ve diğerleri, 2016). Parazitemi genellikle düşük olup, ağır leishmaniazisli köpeklerde bile düşük seviyelerde kalmaktadır (Di Pietro ve diğerleri, 2020).

## Canin Visseral Leishmaniazis’te Oksidatif Stres

Oksidatif stres, serbest reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ve eliminasyonu arasındaki dengenin bozulması" olarak tanımlanabilmektedir. Bu dengenin bozulması sonucunda hücre lipitleri, proteinleri ve DNA'sı zarar görmektedir, bu da nihayetinde hücre ölümüne yol açmaktadır (Du ve diğerleri, 2012; Khatri ve diğerleri, 2013). Önemli ROS'lar arasında süperoksit (O₂⁻), hidroksil (OH⁻), peroksil radikali (ROO·) ve hidrojen peroksit (H₂O₂) bulunmaktadır. Vücudun ROS'lara karşı savunma sistemi, ROS'ları temizlemekle sorumlu olan antioksidanlardan oluşmaktadır (Herzog ve diğerleri, 2009). Eğer antioksidanlar ile ROS'lar arasındaki denge bozulur ve ROS'lar baskın hale gelirse, serbest radikallerin vücut iç organlarına saldırır ve buna da oksidatif stres denmektedir (Djurišić ve diğerleri, 2015; Elsaesser ve Howard, 2012; Fu ve diğerleri, 2014). Köpeklerde leishmaniazisinin (CanL) patogenezinde oksidatif stresin (OS) rolü geniş çapta incelenmiş olup, OS’nin CanL’nin klinik evreleriyle ilişkisi ve önemi hakkında önemli kanıtlar toplanmaktadır (Almeida ve diğerleri, 2013; Torrecilha ve diğerleri, 2016). Konak immun yanıtı, parazitler ve oksidatif stres arasındaki etkileşim, karmaşık bir patojenik durum yaratmaktadır.

*Leishmania spp.,* başlangıçta fagositlerin ROS üretimini baskılayarak immun sistemden kaçabilirken, CanL’deki inflamasyonun ilerlemesi, yüksek seviyelerde oksidan üreten aktifleşmiş nötrofillerin ve makrofajların artan akışıyla karakterize seyretmektedir. Bu durum, hastalığın ilerlemesine ve aynı zamanda antioksidan savunmaların zayıflamasına neden olmaktadır (Almeida ve diğerleri, 2013; 2017; Paltrinieri ve diğerleri, 2021; Rubio ve diğerleri, 2016). Bu bulgular, dolaşımdaki oksidasyon belirteçlerinde (örneğin reaktif oksijen türleri, malondialdehit, toplam oksidan durumu) artış (Almeida ve diğerleri, 2013; Bildik ve diğerleri, 2004; Heidarpour ve diğerleri, 2012; Morabito ve diğerleri, 2017) ve klinik evreye bağlı olarak antioksidan belirteçlerinde (örneğin TAS, CUPRAC, FRAP, GSH ve tiol grupları) farklı değişiklikler gösteren çeşitli çalışmalarla desteklenmektedir (Almeida ve diğerleri, 2013; Heidarpour ve diğerleri, 2012; 2017;Rubio ve diğerleri, 2016; Torrecilha ve diğerleri 2016). CanL’deki OS’nin nötrofil fonksiyon bozukluğuna yol açtığını ve özellikle ileri evrelerde üremi ile ilişkili olarak nötrofillerin apoptozuna neden olduğu kaydedilmiştir (Almeida ve diğerleri, 2013a, 2013b). ROS üretimi, nötrofillerin antioksidan kapasitesini aştığında, apoptoz tetiklenmektedir ve bu hücrelerin canlılığı ve fonksiyonu bozulmaktadır, bu da köpekleri enfeksiyona yatkın hale getirebilmektedir. Orta evre CVL’li köpeklerde artmış süperoksit üretimi gözlemlenirken, çok şiddetli evre CVL’li köpeklerde süperoksit üretiminde azalma ve nötrofil apoptoz oranında artış görülmüştür. İleri evre köpeklerde gözlemlenen daha düşük spontan canlılık ve artmış spontan apoptoz bu gruplarda gözlemlenen daha yüksek lipid peroksidasyonu ile açıklanabilmektedir. Aşırı ROS, hayati hücresel yapıları hasara uğratmaktadır, hücresel TAS (toplam antioksidan kapasitesi) tükenmesine bağlı olarak oksidatif stres arttırmaktadır ve lipid peroksidasyonuna yol açmaktadır, bu da sonrasında apoptozun artmasına neden olmaktadır (Almeida ve diğerleri, 2013). Masamba ve Kappa’nın (2021) yapmış olduğu Şistozomiyazis’te oksidatif stres biyobelirteçlerine bakılan bir çalışmada artan ROS üretiminin lipid peroksidasyonunun yanında bu süreç sonunda DNA zincirinde kırılmalara yol açarak kanser gelişimine de neden olduğu görülmüştür (Şekil 2).



**Şekil 2.** Şistozomiyazis sırasında ROS üretimi ve DNA hasarı ile lipid peroksidasyonu (Masamba ve Kappa, 2021).

Leishmaniazis, hastalık evresine bağlı olarak farklı nötrofil disfonksiyonlarına neden olmaktadır. Orta evre CVL’de, nötrofil canlılığında bir değişiklik olmaksızın artmış süperoksit üretimi gözlemlenirken, çok şiddetli evre CVL’de üremi ile ilişkili olarak süperoksit üretiminde azalma ve apoptozda artış görülmektedir (Almeida ve diğerleri, 2013). Başka çalışmalar da, artmış OS’nin lenfoproliferatif yanıtı zayıflatarak bu hastalığa sahip köpeklerde hücresel bağışıklığı bozduğunu göstermektedir (Almeida ve diğerleri 2017). Ayrıca, OS biyobelirteçleri ile parazit yükü arasında korelasyonlar gözlemlenmiş (Torrecilha ve diğerleri, 2016) ve başarılı tedavi sonrasında antioksidan savunmada iyileşmeler olduğu bulunmuştur. Bu da OS’nin hastalık tedavisinin izlenmesi ve klinik takibinin bir aracı olabileceğini göstermektedir (Rubio ve diğerleri, 2016).

Heidarpour ve diğerleri (2012) semptomatik köpeklerin asemptomatik ve kontrol köpeklerine kıyasla daha şiddetli oksidatif strese (örneğin, lipid peroksidasyonu biyobelirteci olan yüksek malondialdehit (MDA) ve antioksidanlar olarak düşük TAS ve albumin) sahip olduklarını yaptıkları çalışmada kaydetmişlerdir. Benzer şekilde, Panaro ve diğerleri (2008) nitrik oksidin, köpeklerde leishmaniazisin klinik sunumunda güçlü bir şekilde yer alabileceğini bildirmiştir. MDA seviyelerinin tahmin edilmesi, hücre zarına verilen peroksidatif hasarın derecesini değerlendirmek için güvenilir bir yöntem olmaya devam etmektedir. Çünkü bu süreç sırasında yan ürün olarak en fazla oluşan aldehittir (Halliwell ve Chirico, 1993). Asemptomatik köpeklerin düşük parazit yükü sergilediği, semptomatik köpeklerin ise çeşitli dokularda yüksek parazit yükü taşıdığı kaydedilmiştir. Ayrıca, dokulardaki histolojik değişikliklerin yoğunluğu, bu dokulardaki parazit yükünün derecesine bağlıdır (Giunchetti ve diğerleri, 2008). Bu nedenle, semptomatik köpeklerde asemptomatiklere kıyasla daha şiddetli oksidatif stresin, daha yüksek doku parazit yükü ve dolayısıyla semptomatik köpeklerde daha yüksek ROS üretimi ile açıklanabilmektedir. Aynı çalışmada leishmaniazisli köpeklerde CVL'nin antioksidan savunma mekanizmaları üzerinde belirli etkiler yarattığını ve semptomatik CVL'li köpeklerde serum TAS konsantrasyonunun anlamlı bir şekilde (P < 0.001) düşük olduğu kaydedilmiştir. Serum TAS konsantrasyonu, serumun toplam antioksidan kapasitesini yansıtabilmektedir. Bu kapasite, lipidler, proteinler ve DNA gibi biyomoleküllerin oksidatif hasarına güçlü bir şekilde yol açan serbest radikal reaksiyonlarına karşı çalışmaktadır (Kosecik ve diğerleri, 2005). Antioksidanlar, oksidatif süreç sırasında serbest radikal temizleyicileri olarak tüketilmektedir. Benzer şekilde, antioksidanların artan tüketimi Bildik ve diğerleri (2004), Cechini ve Oliveira (2002) ve tarafından leishmaniazisli hayvanlarda bildirilmiştir. Serum TAS ile MDA arasındaki anlamlı negatif korelasyon, CVL’de artmış lipid peroksidasyonunun, azalmış antioksidan kapasitesiyle ilişkili olabileceğini göstermektedir.

Oksidatif stres ile hastalık progresyonu arasındaki kurulan bağlantıya rağmen, redoks durumuna yönelik tedavi stratejileri yeterince incelenmemiştir. Bazı çalışmalar, CanL tedavi planlarının hastanın redoks durumuna göre özelleştirilmesini savunurken (Quintavalla, 2021) bu hastalıkta antioksidan savunma sistemini artırmanın etkinliği konusunda yapılan araştırmalar sınırlıdır. Yeni bir çalışmada, standart anti-Leishmania tedavisine beslenme yardımcıları (omega-3 PUFA’lar ve B vitaminleri) eklenmesiyle dolaşımdaki MDA ve PC düzeylerinde azalma, aktif glutatyon (GSH) düzeylerinde ise artış gözlemlenmiştir (de Sousa Gonçalves, 2021). Ancak bu konuda daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

## Canin Visseral Leishmaniazis’te Mitokondriyel Hasar

Oksidatif DNA hasarının, özellikle kanser gelişimi (karsinogenez) ve pek çok diğer hastalığın oluşumunda önemli bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Hidroksil radikalleri (OH•) son derece reaktiftir ve DNA yapısındaki bazlarla etkileşerek, bu bazların çift bağlarına hidrojen atomu ekleyebilir ya da DNA'nın yapı taşı olan 2-deoksiribozun karbon-hidrojen bağlarını ve timin bazındaki metil gruplarını hedef alarak H atomu çıkarabilir (Breen ve Murphy, 1995). Bu tür kimyasal reaksiyonlar, timin peroksil radikallerinin indirgenmesine ve ardından timin glikol, hidroksihidroperoksit, 5-hidroksimetilurasil, 5-hidroksi-5-metilhidantoin ve 5-formilurasil gibi oksidasyon türevlerinin ortaya çıkmasına yol açmaktadır.

DNA'daki en yaygın baz mutasyonlarından biri 8-hidroksi-2′-deoksiguanozinin oluşumudur. Hidroksil radikalleri, guanin bazının 8. pozisyonunda reaksiyona girerek oksidasyona yol açmaktadır ve bunun sonucunda 8-OHdG gibi oksidatif bir ürün meydana gelmektedir. Ayrıca, Cu+2 iyonları, DNA'nın guanin bazlarına güçlü bir şekilde bağlanarak ve H2O2 ile etkileşime girerek DNA'nın bütünlüğünü daha da zedelemektedir. Oksidatif hasarın göstergesi olarak 8-OHdG, genellikle DNA hasarının derecesini belirlemede kullanılmaktadır (Helbock ve diğerleri, 1999). Bunun yanı sıra, baz radikalleri, proteinlerdeki aromatik amino asitlerle birleşerek DNA ve protein arasında çapraz bağlar oluşturabilmektedir (Cooke ve diğerleri, 2003). OH• radikalleri ayrıca, DNA'nın şeker yapılarına etki ederek zincir kırılmalarına ve şeker modifikasyonlarına neden olabilmektedir. Sonuç olarak, H2O2 ve benzeri oksidan maddelere maruz kalan hücrelerde, replikasyon ve transkripsiyon süreçlerinde aksamalara yol açarken, aynı zamanda DNA tamir mekanizmalarını inhibe ederek hasarın ilerlemesine neden olabilmektedir (Hu ve diğerleri, 1995).

## 8-Hidroksideoksiguanozin (8-OHdG)

Oksidatif stres, ROS üretimi ve birikimi arasındaki dengenin bozulmasını yansıtmaktadır. ROS’lar, antioksidan sistem tarafından temizlenmektedir, ancak aşırı yoğunlukta olduklarında proteinleri, lipitleri ve DNA'yı oksitleyebilmektedirler. Oksidatif stresin en bilinen zararlarından biri DNA hasarıdır. DNA hasarı genellikle onarılmaktadır ve oksitlenmiş ürünler idrarla atılmaktadır. Nükleik asit oksidasyon biyobelirteçleri hasarı değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Brown ve diğerleri, 2016). 8-OHdG, nükleik asit oksidasyonunun en bilinen ve yaygın olarak kullanılan biyobelirtecidir. Serbest radikaller tarafından üretildiği ilk kez 1984 yılında bildirilmiştir (Graille ve diğerleri, 2020). Köpeklerde oksidatif DNA hasar belirteci olarak 8-OHdG’ nin araştırıldığı sınırlı sayıda veri söz konusudur (Ercan ve Fidanci, 2012; Ciftci ve diğerleri, 2014; Ercan ve diğerleri, 2020). Ercan ve Fidanci (2012) tarafından yapılan araştırmada piyoderma köpeklerde molondehaldehit ile 8-OHdG seviyelerinin anlamlı derecede yükseldiği, yine aynı araştırmacının farklı zamanda yürüttüğü araştırmada da venereal tümörlü kangal ırkı köpeklerde yine içlerinde 8-OHdG yer aldığı oksidatif parametrelerin daha yüksek seyrettiği (Ercan ve diğerleri, 2020) bulunmuştur. Farklı çalışmalarda da paraziter enfeksiyonlarda oksidatif hasar geliştiği kanıtlanmıştır (Yano ve diğerleri., 2008; Herbas ve diğerleri, 2009; Ciftci ve diğerleri, 2014; Kiral ve diğerleri, 2021). Paraziter hastalıklarda artan oksidatif hasarın farklı patolojik koşullar olan lipid peroksidasyon ve oksidatif DNA hasarıyla oluşan makromoleküller kaynaklı olduğu düşünülmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1999). Kiral ve diğerleri (2021) tarafından yapılan araştırmada leishmaniazisli köpeklerde oksidatif hasar belirteçlerinin arttığı ve antioksidan yanıtın azaldığı bildirilmiştir. Aynı araştırmada lenfositlerde oksidatif DNA hasarı comet metoduyla belirlenmiş ve enfekte köpeklerde sağlıklılara göre yüksek bulunmuştur. Ayrıca artan nitrik oksit ve azalan antioksidan yanıt ile DNA hasarının doğrusal artış gösterdiği gözlemlenmiştir (Kiral ve diğerleri, 2021). Hassas yapıdaki DNA moleküllerine serbest radikallerin hücum etmesi ile mutasyon ve hücre ölümleri meydana gelmektedir. Beraberinde kromozomal değişimler, DNA zincirindeki kırılmalar ve DNA transkripsiyon, replikasyon ve yenilenmesindeki azalmalar gelişmektedir. Leishmaniazisli köpeklerde oksidatif DNA hasarının belirlendiği Kiral ve diğerleri (2021) tarafından yürütülen araştırmaya göre leishmaniazisli köpeklerin uzun süreli yangısal hücre aktivasyonuna bağlı artan savunma mekanizmasının ROS üretimi ve DNA hasarından sorumlu olduğu gösterilmektedir.

Serbest oksijen radikallerinden dolayı oksidatif DNA hasar ürünü bir metabolit olan 8- OH-dG son yıllardaki araştırmalarda belirtilen önemli bir endojen oksidatif DNA hasar indikatörüdür (Valavanidis ve diğerleri, 2009). İçlerinde Plasmodium spp. (Yano ve diğerleri., 2008) *Trypanosoma spp*. (Herbas ve diğerleri, 2009) ve Babesia vogeli (Ciftci ve diğerleri, 2014) bağlı enfestasyonlarda arttığı bildirilen 8-OHdG’ nin leishmaniazisli köpeklerde nasıl seyrettiğini belirten bir araştırma ile karşılaşılmamıştır. Bu araştırma neticesinde oksidatif DNA hasarının oluştuğu (Kiral ve diğerleri, 2021) ortaya konulan leishmaniazisli köpeklerde 8- OHdG seviyesinin sağlıklı köpeklere göre artış göstermesi ve çalışma sonucunda leishmaniazise bağlı köpeklerde oksidatif DNA hasar gelişim patofizyolojisinin desteklenmesi beklenilmektedir. Diğer taraftan DNA hasarlarının belirlenmesi yararlı bir oksidatif indikatör olmasının yanı sıra kanser riskinin ortaya konmasında da kullanılmaktadır (Fidan ve Dündar, 2008). Nitekim 8-OHdG beşeri alanda kanser riskinin belirlenmesinde kullanılan önemli belirteçler arasındadır (Wu ve diğerleri, 2004; Al-Taie ve diğerleri, 2021). Leishmaniazisli köpeklerde lenfoma gelişimine dair kuvvetli kanıtlar söz konudur (Foglia ve diğerleri, 2008; Henriques ve diğerleri, 2021). Bu sebeple bu araştırmadan elde edilecek veriler leishmaniazisli köpeklerde kanser gelişimine dair risk faktörlerinin değerlendirilmesinde ve kanser ile hastalığın ilişkilendirilmesinde ön veri sunabilecektir.8-OHdG'nin arka plan seviyelerinin belirlenmesi, oksidatif stres üretiminin ölçüsü olarak kullanılabilmesi için gereklidir (Graille ve diğerleri, 2020). Nükleer ve mitokondrial DNA, doku ve kan lenfositlerinden genellikle oksidasyon hasarının meydana geldiği alanlardır. Purin ve pirimidin bazları arasında, guanin oksidasyona en yatkın olanıdır. Oksidasyon sonucu, guanin molekülünün 8. pozisyonuna bir hidroksil grubu eklenmektedir ve oksidatif olarak modifiye olmuş ürün olan 8-hidroksi-2′- deoksiguanozin (8-OHdG), serbest radikal kaynaklı DNA hasarlarının en baskın formlarından biri haline gelmektedir. Oksidatif olarak modifiye olmuş DNA, 8-OHdG formunda, DNA hasarının boyutunu göstermek için ölçülebilmektedir. Son yıllarda 8-OHdG, oksidatif stresin bir göstergesi olarak öne çıkmıştır. Özellikle idrardaki 8-OHdG, oksidatif hasarın boyutunu göstermek için en sık ölçülen belirteçtir, çünkü non-invazivdir ve teknik olarak daha az karmaşıktır (Wu ve diğerleri, 2004).

1. **GEREÇ VE YÖNTEM**

## Gereç

* + 1. **Kullanılanılan Cihaz ve Materyaller**

SNAP® Leishmania (IDEXX, US)

TAS Rel Assay Diagnostics, Türkiye

TOS Rel Assay Diagnostics, Türkiye

BT LAB Canine 8-Hydroxy-desoxyguanosine, (8-OHdG) ELISA Kit/ Cat.NO EA0062Ca

Canine Malondialdehyde, MDA ELISA Kit/ Cat.NO E0144Ca

## Hayvan Materyali

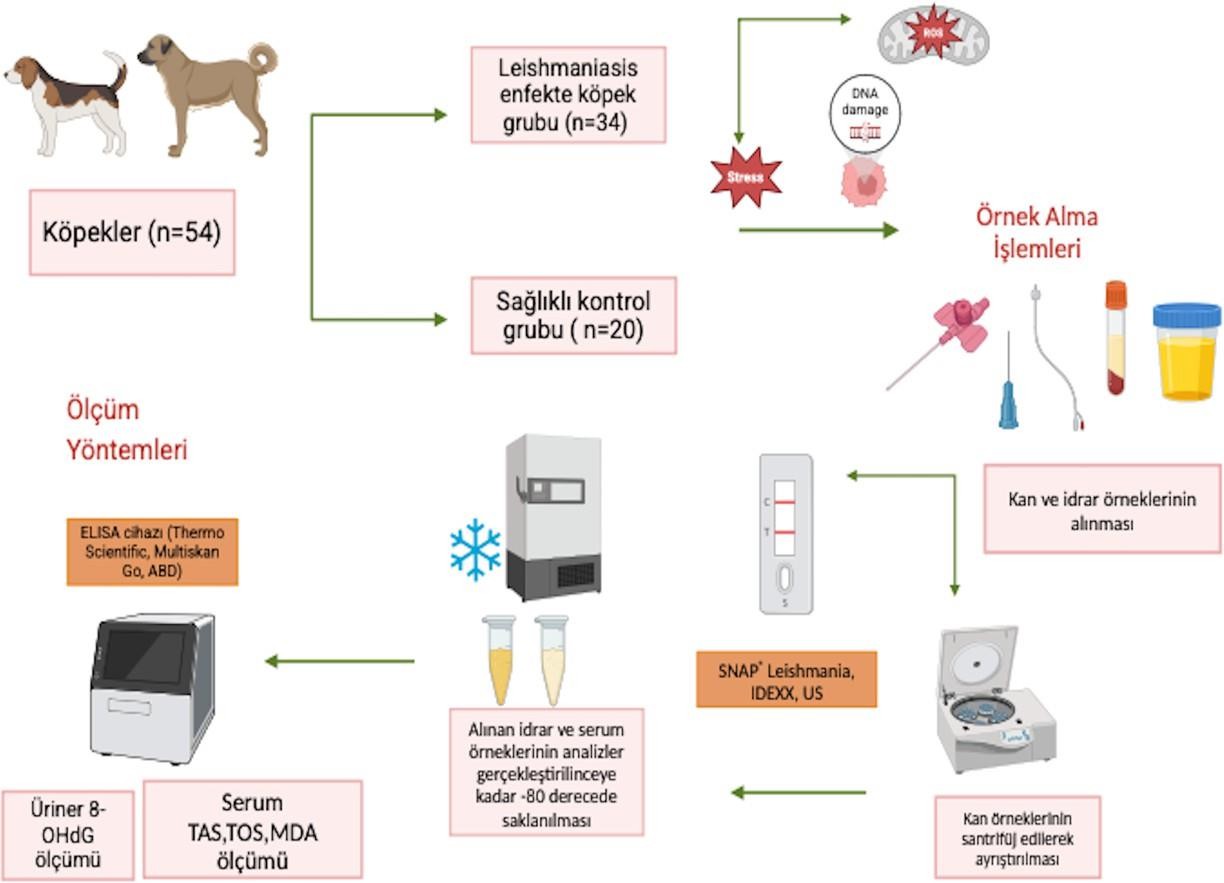
Araştırma Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı’na getirilen ve rutin değerlendirmede leishmaniazis tanısı alan 34 enfekte köpek ile aşı, paraziter uygulama ya da genel sağlık kontrolü amacıyla getirilen ve rutin değerlendirmede herhangi bir hastalığı olmadığı belirlenen 20 sağlıklı köpek ile gerçekleştirildi. Araştırma kapsamında toplamda 54 hayvandan örnek alınarak değerlendirildi.

Çalışma kapsamında kullanılması planlanan hayvanların araştırmaya dahil edilmesi ve araştırmadan çıkarılması kriterleri kapsamında;

* 1 yaşından büyük olma,
* kaşıntı, alopesi, generalize lenfadenopati, burun ve göz çevresinde ülseratif eksfoliyatif dermatit, onikogripozisi içeren çoklu dermatolojik lezyonların klinik bulguları,
* monoenfekte (hızlı test kiti ve IFAT ile serolojik tayini yapılmış) ve diğer vektör kaynaklı hastalıklar yönünden negatif sonuca sahip olan),
* gebe veya laktasyonda olmayan,
* son 2 yıl içerisinde leishmaniazis tedavisi görmemiş ancak daha önce tanı almış olan hayvanlar çalışmaya dahil edildi.

Sağlıklı köpekler ile enfekte köpeklerin karşılaştırması söz konusu olacağı için sağlıklı köpekler de 1 yaş olma, hastalık yönünden patolojik bulguya sahip olmama, gebe ya da laktasyonda olmama ve devam eden bilinen kronik bir hastalığının olmaması göz önüne alınarak seçildi.

Hastaların tanımlanmasında kullanılan iş akış şeması Şekil 3’ deki basamaklara göre değerlendirildi.



**Şekil 3.** İş akış şeması.

## Etik Değerlendirme

İlgili tez çalışması Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK)’ nun 64583101/2024/100 nolu iznine tabii olarak gerçekleştirildi (Ek 1).

**3.2. Yöntem**

## Tanı ve Ayırıcı Tanı

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Klinikleri’ne getirilen köpeklerden anamnez bilgileri alınıp klinik muayeneleri yapıldıktan sonra leishmaniazis yönünden değerlendirme klinik bulguların varlığı, hematolojik ve biyokimyasal belirteçler ile hızlı test kitinin (SNAP® Leishmania, IDEXX, US) pozitif ve anti-leishmanial antikor titresi (IFAT)’ nin ≥ 1/64 olması ile yapıldı.

## Örnekleme İşlemleri

## Kan Örneklerinin Toplanması

Bu kapsamda tüm köpeklerden *V*. *cephalica* veya *V. saphena*’dan tekniğine uygun yöntemle (köpeğin boyutuna uygun kanül yardımıyla) antikoagulantlı heparin içeren ve antikoagülan eklenmemiş (serum tüpü) tüplere 4’er ml olacak şekilde bir defaya mahsus olmak üzere kan örneği alındı.

Kan örnekleme işlemleri kapsamında rutin değerlendirmede tam kan ve biyokimyasal değerlendirmeler antikoagulantlı kan örnekleri ile yapıldıktan sonra serum tüplerine alınan kanlar laboratuvarda 1,800×g hızda 10 dakika santrifüj edildi. Ayrıştırılan serum örneklerinden

0.5 ‘er ml örnek ependorflara katarılarak bekletilmeksizin IFAT analizleri için Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı’ na gönderildi ve kalan serum örnekleri ise oksidatif belirteçlerin analizi gerçekleşene kadar −20 °C'de saklandı.

## İdrar Örneklerinin Toplanması

Köpeklerde idrarda 8-OHdG tayini amacıyla da steril idrar kaplarına idrar örnekleri toplandı. İdrarlar sondalama yoluyla ilk parti egale edildikten sonra en az 5 ml olacak şekilde alındı. Toplanan idrar örnekleri analiz gerçekleştirilene kadar -80C’ de saklandı.

**3.2.3. Laboratuvar Analizleri**

Hızlı test kiti, IFAT analizi ve tam kan-tam biyokimya analizleri rutin değerlendirme kapsamında yapılmış olup yalnızca hastaların tanısal değerlendirilmesinde kullanılmıştır.

## İdrarda 8-OHdG Tayini

Üriner 8-OHdG ölçümünde ticari Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Assay (ELISA) test kiti (BT LAB Canine 8-Hydroxy-desoxyguanosine, Cat.NO EA0062Ca) kullanıldı ve ölçümler özel bir laboratuvarda gerçekleştirildi. Örnekler, önceden kaplanmış mikrotitre plakalarına eklendi. Daha sonra biyotinilant antijen eklendi. Örneklerdeki antijenler, biyotinilant antijenle bağlanmak için rekabet etti ve bu şekilde yakalama antikoruna bağlanarak inkübe edildi. Bağlanmamış antijen yıkama adımında uzaklaştırıldı. Ardından avidin-HRP eklendi ve tekrar inkübe edildi. Bağlanmamış avidin-HRP de yıkama adımıyla uzaklaştırıldı. TMB substratı eklendi ve renk gelişti. Reaksiyon, asidik durdurma çözeltisi eklenerek durduruldu ve renk sarıya döndü. Bu renk, 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Gelişen renk yoğunluğu, örnekteki 8-OHDG konsantrasyonu ile ters orantılıdır. Örnekteki 8-OHDG konsantrasyonu, örneklerin optik yoğunluğu (O.D.) standart eğri ile karşılaştırılarak belirlendi.

## MDA, TAS ve TOS Ölçümü

Serumdaki MDA konsantrasyonu ölçümü, Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Analizi (ELISA) yöntemi ile gerçekleştirildi. Kullanılan plaka, köpek MDA antikoru ile önceden kaplandı. Örneklerde bulunan MDA kuyulardaki antikorlar ile bağlandı. Daha sonra biyotinli antijen ve HRP eklenerek renkli bir reaksiyon oluşması sağlandı. Test uygulamasında öncelikle reaktifler oda sıcaklığına getirildi ve üretici firma talimatlarına uygun olarak hazırlandı. Örnek ve standartlar ilgili kuyulara 50 μl eklendi. Ardından 50 μl biyotinli antijen çözeltisi eklenerek karıştırıldı. Bu işlemden sonra 50 μl HRP eklenerek 37°C’de 60 dakika inkübe edildi. Kuyular elle beş kez ya da otomatik yıkayıcı ile yıkandı. Daha sonra 50 μl Substrat A ve 50 μl Substrat B eklenerek 10 dakika boyunca karanlık ortamda inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda 50 μl durdurma solüsyonu eklendi ve optik yoğunluk, 450 nm dalga boyunda, 10 dakika içinde spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Plazmanın toplam antioksidan kapasitesi, Erel (2004) tarafından geliştirilen yeni bir otomatik kolorimetrik ölçüm yöntemi ile ölçüldü. Bu yöntemde, en güçlü biyolojik radikal olan hidroksil radikali, Fenton tepkimesi ile üretilmektedir ve renksiz substrat O-dianisidin ile reaksiyona girerek, parlak sarımsı-kahverengi olan dianisil radikalini oluşturmaktadır. Plazma örneği eklendiğinde, reaksiyonda bulunan hidroksil radikalleri tarafından başlatılan oksidatif reaksiyonlar, plazmanın antioksidan bileşenleri tarafından baskılanmaktadır, bu da renk değişimini engellemekte ve böylece TAS'ın etkili bir şekilde ölçülmesini sağlamaktadır. Test prosedürü Erel (2004) tarafından belirtilen şekilde yapıldı ve test sonuçları mmol Trolox Eq/l olarak kayıtlandı.

TOS analizi yine Erel (2005) tarafından geliştirilen ticari kit (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye) kullanılarak belirlendi. Analizin çalışma prensibi oksidatif reaksiyonda ferrik iyonlarının asidik ortamda kromojen ile oluşturduğu renk yoğunluğunun spektrofotometrik olarak ölçümüne dayanmaktadır. Oluşan reaksiyon yoğunluğu ELISA cihazında 660 nm absorbansla okutulup kaydedildi ve absorbans değerleri; ∆Abs Örnek = Örnek ikinci okuma – Örnek ilk okuma ∆Abs Standart = Standart ikinci okuma – Standart ilk okuma TOS (μmolH2O2Eq/l) = (∆Abs Örnek/ ∆Abs Standard) X 10\* formülü kullanılarak belirlendi. Değerler μmolH2O2Eq/l cinsinden kaydedildi.

## İstatistiksel Değerlendirme

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi amacıyla SPSS 16 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programı kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi kullanılarak değerlendirildi. Normal dağılım göstermeyen gruplar arası farklılık Kruskall Wallis varyans analizi ile yapıldı. Normal dağılım gösteren gruplar arası farklılık tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile, farkların önem kontrolü ise *post hoc* Duncan testi ile yapıldı. Farkın hangi grup veya gruplardan kaynaklandığını belirlemek için Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi yapıldı. Yapılan istatistiksel analizlerden elde edilen sonuçlardan p<0.05 olan değerler önemli kabul edildi. Tüm veriler ortalama ve ± standart hata olarak verildi.

# BULGULAR

Dahil edilen köpeklerin farklı ırk, her iki cinsiyet ve 1 yaşında olduğu görüldü. Hayvanlara ait demografik bilgiler Tablo 1’ de verildi.

**Tablo 1.** Çalışmaya dahil edilen hayvanların demografik verileri

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Özellikler** | | **Sağlıklı (n=20)** | **CVL (n=34)** | **P değeri** |
| Ort (Min-max) | |
| **Yaş (yıl)** |  | 3,70 (1-8) | 5,25 (1-14) | 0,152 |
| **Cinsiyet (%)** | Dişi | 35 | 35,3 | 1,00 |
| Erkek | 65 | 64,7 |
| **Irk (%)** | Saf | 55 | 70,6 | 0,376 |
| Melez | 45 | 29,4 |

Araştırma kapsamında, enfekte (n=34) ve sağlıklı (n=20) olmak üzere toplamda 54 köpek dahil edildi.

Araştırmaya dahil edilen köpeklerin yaş, cinsiyet ve ırk dağılımlarına göre gruplar arası farklılık göstermediği görüldü (p>0.05) (Tablo 1).

**4.1. Klinik Bulgular**

Enfekte köpeklerde klinik bulgulardan yaygın olarak dermatolojik lezyonlar ile karşılaşıldı. Sık karşılaşılan semptomlar arasında sistemik bulgulardan lenfadenopati (%64.7), dermatolojik bulgulardan deskuamasyon (deride kepeklenme) (%55.88), nazal hiperkeratoz (%38.23), onikogrifozis (%35.29), kulak ucu nekrozu (%29.41) yer alırken daha az olarak sistemik ve oküler lezyonlardan kilo kaybı (%14.70), iştahsızlık (%17,64), halsizlik (%14,70), burun kanaması (%14,70), perioküler dökülme ve deri lezyonlarından hiperkeratoz (%26.47), deride lokal tüy dökülmeleri (%17.64) gözlemlendi (Resim 1).

köpek cinsi, ev hayvanı, köpek, iç mekan içeren bir resim

Açıklama otomatik olarak oluşturuldu

**Resim 1.** Enfekte köpeklerde sık karşılaşılan dermatolojik bulgular.

## Üriner 8-OHdG ve Reaktif Oksijen Türleri (TAS, TOS, MDA)

Çalışmamızda enfekte grup (n=34) ile sağlıklı kontrol grubu (n=20) arasında oksidatif stres ve antioksidan kapasiteyi yansıtan biyobelirteçler ve DNA hasarını gösteren üriner 8-OHdG açısından karşılaştırmalar yapıldı (Tablo 2).

8-OHdG düzeyleri Tablo 2’ de de belirtildiği gibi enfekte grupta ortalama 1043,79 ± 78,96 pg/ml iken kontrol grubunda 918,79 ± 105,76 pg/ml olarak ölçüldü. Enfekte grupta daha yüksek bir ortalama değer gözlenmesine rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı (p=0,333) bulunmadı.

MDA düzeyleri ise enfekte grupta ortalama 10,50 ± 2,08 nmol/L ve kontrol grubunda 8,38 ± 2,22 nmol/L olarak tespit edildi. Enfekte grupta daha yüksek ortalama görülmesine rağmen 8-OHdG düzeylerinde olduğu gibi istatistiksel olarak anlamlılık (p=0,352) görülmedi.

Beraberinde TAS ve TOS değerleri incelendi. Enfekte köpeklerde her iki parametrede kontrol grubuna kıyasla anlamlı (p=0,001) şekilde daha yüksek bulundu.

**Tablo 2.** Gruplar arası oksidatif stres ve DNA hasar belirteçlerinin karşılaştırılması

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Değişken** | **Birimin Cinsi** | **Enfekte Grup (n=34)** | **Kontrol Grubu (n=20)** | **P-değeri** |
| Ortalama ± SH | |
| **8-OHdG** | **pg/ml** | 1043,80 ± 78,96 | 918,79 ± 105,76 | 0,333 |
| **TAS** | **mmol/L** | 1,30 ± 0,05 | 1,04 ± 0,06 | **0,001** |
| **TOS** | **µmol/L** | 18,91 ± 3,29 | 8,23 ± 1,61 | **0,002** |
| **MDA** | **nmol/L** | 10,51 ± 2,08 | 8,38 ± 2,22 | 0,352 |

# TARTIŞMA

*L. infantum* tarafından meydana gelen leishmaniazis, dişi kum sineklerinin ısırığıyla insanlara ve köpeklere bulaşan zoonotik vektörle taşınan bir hastalıktır. WHO tarafından öncelikli olarak belirlenen 20 terk edilmiş tropikal hastalıktan biridir ve 12 milyondan fazla insanı etkilemekte ve her yıl 20.000 ölüme neden olmaktadır. Veteriner saha açısından bakıldığında, dünya çapında 700 milyonun üzerinde köpeğin enfekte olduğu tahmin edilmektedir (Alvar ve diğerleri, 2011; Feasey ve diğerleri, 2010; Hotez ve diğerleri, 2020).

Mevcut literatüre göre, leishmaniazise karşı belirli bir ırka özgü yatkınlık bulunmamaktadır; hastalık tüm ırklarda tanımlanmıştır (Abranches ve diğerleri, 1991; Ciaramella ve diğerleri, 1997; Ozon ve diğerleri, 1995; Slappendel, 1988). Bununla birlikte, Boxer ve büyük ırklarda daha fazla vaka bildirilmişken (Ph ve diğerleri, 1996), Poodle ve Yorkshire terrierlerde daha az vaka görülmüştür (Ozon ve diğerleri, 1995). Küresel köpek popülasyonu dikkate alındığında bile (Abranches ve diğerleri, 1991) Alman çoban köpeği farklı çalışmalarda en sık bahsedilen ırklardan biri olmuştur. Köpek ırkı, yalnızca *L.infantum* enfeksiyonunu taşıma riskini değil, aynı zamanda CanL’nin patolojik seyrini de etkileyebilecek bir faktördür (Sanchez-Robert ve diğerleri, 2005, 2008; Solano-Gallego ve diğerleri, 2000). Bu doğrultuda, safkan köpeklerin, melez köpeklere kıyasla CanL’nin klinik formları ile önemli ölçüde ilişkili olduğu belirlenmiştir (Cortes ve diğerleri, 2012; Maia ve diğerleri, 2017). Seroprevalans çalışmaları doğrultusunda, enfeksiyona daha duyarlı olduğu bildirilen ırklar Boxer, Cocker Spaniel, Doberman Pinscher, Alman Çoban Köpeği, American Pit Bull Terrier, Rottweiler iken daha düşük seroprevalans oranlarına sahip olduğu bildirilen ırklar Ibizan Hound, Yorkshire Terrier, Poodle gibi ırklardır (de Vasconcelos ve diğerleri 2019; França-Silva ve diğerleri, 2003; Michelin ve diğerleri, 2018; Miranda ve diğerleri, 2008; Müller ve diğerleri, 2022). Dirençli köpeklerin, Leishmania'ya karşı ağırlıklı olarak hücresel bağışıklık yanıtı geliştirdiği ve bunun koruyucu bir rol oynadığı gösterilmiştir. Buna karşılık, hastalığa yatkın köpekler genellikle aşırı, ancak koruyucu olmayan bir humoral yanıt görülmektedir (Solano- Gallego ve diğerleri, 2000). Araştırmamızda enfekte köpeklerde saf ırk köpeklerin dağılımı daha yüksek olup sağlıklı grupla kıyaslandığında gruplar arası saf ya da melez ırk dağılımlarının birbirlerine yakın olduğu görüldü.

Leishmaniazis’in seroprevalans çalışmalarında cinsiyet dağılımını belirlemek amacıyla Amela ve diğerleri (1995)’ nin yapmış olduğu benzer bir çalışmada erkek köpekler ile dişi köpekler arasında önemli bir fark bulunmamıştır. Carolina ve diğerleri (2024) ise leishmaniaziste erkek köpeklerin daha yüksek seroprevalans gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu sonuç, kırsal bölgelerde erkek köpeklerin daha fazla başıboş dolaşma eğiliminde olması veya erkek bekçi köpeklerinin daha çok dış mekânda bulunma alışkanlığına sahip olmasıyla açıklanabilmektedir (Carvelli ve diğerleri, 2020). Yürütülen bu tez araştırmasında araştırmadaki erkek köpek dağılımlarının her iki grupta daha fazla olmasına rağmen elde edilen veriler Amela ve diğerleri (1995) ile uyumlu şekilde istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p<0.05).

Rombolà ve diğerleri (2021) ‘nin yapmış olduğu çalışmada 2 yaşından itibaren seropozitif olma riski daha yüksek bulunmuştur ve bu durum, köpeklerde yaş ilerledikçe seropozitiflik riskinin arttığını bildiren çeşitli çalışmalarla uyumlu bulunmuştur (De Massis ve diğerleri, 2020; Martín-sánchez ve diğerleri 2020; Maresca ve diğerleri, 2009; Sauda ve diğerleri, 2018). Cardoso ve diğerleri (2004)’nin yapmış olduğu bir çalışmaya benzer şekilde Sofia ve diğerleri de (2012) 2 yaşından küçük köpeklerin daha az enfekte olduğunu ve riskli yaş grubunun 5-8 yaş aralığında seyrettiğini bulmuştur. Bununla birlikte, bazı araştırmacılar seroprevalansın bimodal yaş dağılımı gösterdiğini bildirmiştir; yani seropozitiflik 1–2 yaşındaki genç köpeklerde ilk yüksek seviyesine ulaşmakta, ardından 7–8 yaşlarındaki yaşlı köpeklerde ikinci ve daha belirgin bir artış göstermektedir. Bu model, hedef popülasyonun bileşimi ile açıklanmaktadır. Hastalığa daha duyarlı ırklarda (örneğin Boxer), enfeksiyonun erken yaşta geliştiği, daha dirençli köpeklerde ise latent enfeksiyon ilişkili yaşlanma ve bağışıklık sisteminin zayıflaması ile ortaya çıktığı bildirilmektedir (Gálvez ve diğerleri, 2010). Araştırmamızda bir örnekliliğin sağlanabilmesi adına bazı dışlama kriterleri dikkate alınmıştır. Bu kapsamda sağlıklı ve enfekte grup arasındaki yaş dağılımları benzerlik göstermiş olup enfekte köpeklerin yaş dağılımlarının ortalama 5,25 (1-14) olduğu görülmüştür.

CanL, potansiyel olarak herhangi bir organ, doku ve biyolojik sıvıyı içerebilecek ve spesifik olmayan klinik belirtilerle kendini gösteren sistemik bir hastalıktır. Farklı çalışmalarda doğal enfeksiyonlu köpeklerde çeşitli klinik bulgular rapor edilmiştir. Klinik olarak anemi, zayıflama, splenomegali, lokal veya generalize lenfadenopati, kutanöz lezyonlar, oküler lezyonlar, kilo kaybı ve kaşeksi ile kendini göstermektedir (Dahmani ve diğerleri, 2022; Meléndez-Lazo ve diğerleri, 2018). Monteiro ve arkadaşlarının (2019) çalışmasında, 185 enfekte köpeğin 41’inde alopesi, deri kuruluk, nodül ve ülserasyonlar gibi deri lezyonlarının yanı sıra zayıflık ve oküler belirtiler saptanmıştır. Meléndez-Lazo ve ark. (2018) ise %78.4 oranda deri lezyonlarını, %64.7 ile lenfadenopati ve %47.1 ile kilo kaybının takip ettiğini bildirmiştir. Silva ve ark. (2017) tarafından 265 CVL’li köpekte yapılan değerlendirmede, en sık karşılaşılan belirtiler arasında lenfadenomegali, burun ve kulak lezyonları, beslenme durumu bozukluğu, tüy yapısında değişiklik, solgun mukoza, ornikogrifozis, nazal depigmentasyon ve gözle ilgili sorunlar yer almakta; özellikle ornikogrifozis, nazal depigmentasyon ve keratokonjunktivitisin CVL ile güçlü ilişkisi olduğu belirtilmektedir. Araştırmamızda leishmaniaziste yaygın görülen klinik semptomlara göre yapılan değerlendirmelerle benzer yaygın semptomların görülmesi söz konusudur. Çalışmamızda enfekte köpeklerde en yaygın gözlenen klinik belirtilerin dermatolojik kökenli olduğu belirlenmiştir. Özellikle lenfadenopati (%64,7) gibi sistemik semptomlar sık görülürken, dermatolojik lezyonlar arasında deskuamasyon (%55,88), nazal hiperkeratoz (%38,23), onikogrifozis (%35,29) ve kulak ucu nekrozu (%29,41) dikkat çekmiştir. Daha düşük oranlarda ise kilo kaybı (%14,70), iştahsızlık (%17,64), halsizlik (%14,70), epistaksis (%14,70), perioküler bölgedeki tüy dökülmeleri, hiperkeratoz (%26,47) ve lokal alopesiler (%17,64) gibi sistemik, oküler ve kutanöz bulgulara rastlanmıştır.

CVL'de lenfadenopati de hastalığın yaygın bir klinik belirtisidir. Lenfadenopati genellikle lenf nodu büyüklüğünde bir artış (lenf düğümlerinin genişlemesi) olarak tanımlanmaktadır ve bölgesel veya generalize bir değişiklik olarak ortaya çıkabilmektedir (Amusategui ve ve diğerleri, 2003). Yapılan klinik skorlama değerlendirmelerinde enfekte köpeklerin çoğunda deri lezyonları gözlenirken, sistemik bulgulardan lenfadenopati ile daha sık karşılaşılmıştır (Lima ve diğerleri, 2004; Meléndez-Lazo ve diğerleri, 2018; Silva ve diğerleri, 2017).

Endemik bölgelerde yapılan çalışmalarda en sık bildirilen deri lezyonları, yaygın veya fokal alopesi/hipotrikoz ve kutanöz veya mukozal ülserasyonlu eksfolyatif dermatittir. Eksfolyatif dermatitin, daha önce bildirilen çalışmalarda %56 ile %91 arasında değişen prevalansı (Ciaramella ve diğerleri, 1997; Koutinas ve diğerleri, 1992), Manolis ve diğerleri (2007)’nin yapmış olduğu 15 semptomatik leishmaniazisli hastada da benzer şekilde olup deride kepeklenme en yaygın klinik belirti olarak öne çıkmaktadır. Yine aynı çalışmada deride gözlemlenen histolojik değişiklikler, örneğin ortokeratotik hiperkeratoz, epidermal hiperplazi ve diğer iltihabi lezyonlar, daha önce yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir (Manolis ve diğerleri, 2007). Perego ve diğerleri (2014) tarafından yapılan bir çalışmada toplam 100 köpek örnekleminde sadece deride lezyon gösteren 21 köpeğin alt grubunda, endemik bölgelerde yapılan önceki çalışmalarda rapor edilenlerle uyumlu olarak en yaygın dermatolojik formun eksfolyatif dermatit olduğu gözlemlenmiştir, bu sonuç literatürdeki önceki bulgularla paralellik göstermektedir. Ancak, bazı önemli farklılıklar da gözlemlenmiştir. Özellikle, ülseratif dermatit ve onikogrifoz oranları, endemik bölgelerdeki önceki çalışmalarda bildirilenlerden daha düşük bulunurken, nodüler formun prevalansı daha yüksek olarak saptanmıştır (Ciaramella ve diğerleri, 1997; Koutinas ve diğerleri, 1993,1999). Araştırmamıza dahil edilen enfekte köpeklerde sistemik bulgulardan lenfadenopati (%64.7), kutanöz bulgulardan kepeklenme (%55.88) ile nazal/kulak hiperkeratozu, tırnaklardaki uzama en sık karşılaşılan semptomlardandır. Görülen deri lezyonlarında değişken konakçı immün yanıtının rol oynadığı öne sürülmektedir. Hücresel bağışıklığın aktif olması, konakçıda etkene karşı direncin sağlandığı başlıca etkendir. Deri immün sisteminin doğuştan gelen mekanizması, antijenleri spesifik olmayan bir şekilde tanıyarak leishmania enfeksiyonuna karşı ilk savunma hattını oluşturmaktadır (Solbach ve Laskay, 2000). Enfekte deride promastigotlar, savunma hücreleri tarafından tanımlanarak T hücrelerinin farklılaşmasına neden olmaktadır. Immun sistemdeki denge ve parazit yüküne bağlı olarak hastalık bu safhada elemine edilebilmekte ya da ilerleyebilmektedir (Solbach ve Laskay, 2000). İmmün sistem ile parazit arasındaki karmaşık etkileşime dair pek çok mekanizma henüz tam olarak aydınlatılamamış olup, bu alanda daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Oksidatif stres, ROS oluşumu ile organizmayı bu kimyasal saldırılardan koruyan antioksidan yanıtlar arasındaki dengesizlik olarak tanımlanmaktadır. ROS'un kontrolsüz aşırı üretimi, protein, lipid peroksidasyonuna ve DNA hasarına yol açarak hücre ve doku ölümüne neden olabilir (Michalek ve diğerleri, 2020). Son yıllarda, çeşitli hayvan türlerinde farklı patolojik durumlarda incelenmiş olan oksidatif stres (Gessner ve diğerleri, 2017; Quintavalla ve diğerleri, 2021), klinik semptomların gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. Leishmaniaziste parazitler makrofajlar tarafından fagosite edildikten sonra, bu hücreler konak savunma mekanizması olarak çeşitli ROS ürünleri üretmektedirler (Serarslan ve diğerleri, 2005). ROS, vücutta normal metabolizma sırasında veya çevresel pro-oksidanlara maruz kaldıktan sonra üretilen son derece reaktif moleküllerdir. Aşırı serbest radikaller, nükleik asitleri, proteinleri, lipitleri ve diğer hücresel bileşenleri yok edebilecek tehlikeli bir zincir reaksiyonuna neden olmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1999). Son yıllarda, parazitik enfeksiyonların patogenezinde ROS’ ların olası rolü üzerine aktif araştırmalar yapılmaktadır (Kiral ve diğerleri, 2021; Mousa ve diğerleri, 2021; Pugliese ve diğerleri, 2022; Pawłowska ve diğerleri, 2023). CanL’ de etken, fagositik hücrelerden makrofajlara yerleşim göstermektedir. Konakçı makrofajları da, patojenlerin uzaklaştırılmasını teşvik etmek ve inflamasyon ile bağışıklık yanıtını içeren sinyal yollarına katkıda bulunmak için bir savunma mekanizması olarak oksidatif yanıtı başlatmaktadır. Bu nedenle, oksidatif stres enfeksiyonda iki yönlü bir rol oynamaktadır; serbest radikaller istilacı patojenlere karşı koruma sağlarken, aynı zamanda doku hasarına yol açan inflamasyona neden olabilmektedir (Reverte ve diğerleri, 2022). Oksidatif stres, ROS ve reaktif azot türlerinin aşırı salınımından kaynaklanmaktadır (Shankar ve diğerleri, 2014). ROS, proteinler, nükleik asitler, lipidler ve karbonhidratlar gibi geniş bir molekül yelpazesi ile güçlü bir şekilde etkileşmektedir. Bu etkileşimler aracılığıyla, ROS biyolojik sistemlerde hasara yol açmaktadır. Ayrıca, ROS istilacı patojenlere karşı önemli bir hücresel savunma mekanizmasıdır (Bedard ve diğerleri, 2007). Leishmania parazitleri gibi hücre içi patojenlere yanıt olarak, makrofajlar hızlı bir şekilde oksidatif stres yanıtını başlatarak patojen temizliği sağlamaktadır ve inflamasyon ile bağışıklık yanıtları ile ilişkili sinyal yollarını aktive etmektedir (Ferrari ve diğerleri, 2019; Rossi ve diğerleri, 2017). Enfeksiyon sırasında, eritrositlerin hasarı sebebiyle hem MDA seviyelerindeki artış hem de plazmadaki antioksidan moleküllerinin seviyelerinde azalma ile oksidatif hasar şekillendiği bildirilmiştir (Bildik ve diğerleri, 2004). Köpeklerde leishmaniazis ilişkili yapılan oksidatif hasar araştırmalarında antioksidan yanıt için TAS ve oksidatif yanıtta MDA takibinin yapıldığı görülmektedir (Heidarpour ve diğerleri, 2012; Kiral ve diğerleri, 2021; Mousa ve diğerleri, 2021).

Reaktif oksijen türleri, çeşitli çevresel ajanlar ve endojen oksijen metabolizması tarafından hücrelerde oluşturularak DNA'ya zarar vermektedirler (Halliwell, 1994). Oksidatif DNA hasarının birçok türü arasında, kanserojenite ile ilişkili hücresel oksidatif stresin bir belirteci olarak sıkça analiz edilen 8-OHdG, mutasyonlara neden olabileceğinden araştırmalarda takip edilmektedir (Kasai, 1997,2001; Cheng ve diğerleri, 1992; Kuchino ve diğerleri, 1987). 8-OHdG, reaktif oksijen türlerinin indüklediği guanin bazının 8-hidroksilasyonundan sonra mitokondri ve nükleer DNA'da spesifik enzimatik ayrılma ile oluşan oksidatif DNA hasarının bir ürünüdür (Cooke ve diğerleri, 2000). Hasar görmüş DNA onarıldığında, üretilen 8-OHdG idrara atılmaktadır (Loft ve diğerleri, 1009; Shigenaga ve Ames, 1991). İdrarda 8-OHdG, oksidatif DNA hasarının ve toplam sistemik oksidatif stresin *in vivo* hassas bir göstergesi olarak yaygın bir biçimde kullanılmaktadır (Halliwell, 1996; Shigenaga ve diğerleri, 1989). 8-OHdG'ye ek olarak, biyolojik sıvılardaki serbest baz olan 8-hidroksiguanin, *in-vivo* oksidatif stres göstergesi olup (Dziaman ve diğerleri, 2007; Shigenaga ve diğerleri, 1994) idrarda belirlenen 8-OHdG endojenik DNA hasarının önemli belirteci olarak yerini almaktadır (Lin ve diğerleri, 2004).

Mevcut veteriner literatüründe, üriner 8-OHdG ile ilgili yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır (Ercan ve Fidanci, 2012; Ciftci ve diğerleri, 2014; Ercan ve diğerleri, 2020). Ercan ve Fidancı (2012) tarafından 28 pyoderma ile enfekte köpek, 27 sağlıklı köpek bulunduran kontrol grubundan oluşan bir çalışmada plazmada MDA ve idrarda 8-OHdG düzeyleri ölçülmüştür. Çalışma sonucunda, piyodermalı köpeklerde sağlıklı gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek 8-OHdG seviyeleri gözlemlenmiştir (p ≤ 0.05). Benzer şekilde Ercan ve diğerleri (2020) ‘nin yapmış olduğu bir çalışmada 15 adet TVT ile enfekte, 15 adet sağlıklı köpek ve hasta köpeklerin serum 8-OHdG ve MDA düzeylerinin enfekte grupta istatistiksel olarak anlamlı bir artışa sahip olduğu görülmüştür. Yine aynı şekilde Peștean ve diğerleri (2024)’nin yapmış olduğu köpeklerde oksidatif stres belirteçleri ve periodontal hastalık arasındaki korelasyon çalışmasında periodontitisli hastaların sağlıklı kontrol grubuna göre önemli ölçüde daha yüksek tükürük 8-OHdG seviyelerine sahip olduğu bulunmuştur. Farklı çalışmalarda da paraziter enfeksiyonlarda oksidatif hasar geliştiği kanıtlanmıştır (Yano ve diğerleri., 2008; Herbas ve diğerleri, 2009; Ciftci ve diğerleri, 2014; Kiral ve diğerleri, 2021). İçlerinde *Plasmodium spp.* (Yano ve diğerleri., 2008) *Trypanosoma spp.* (Herbas ve diğerleri, 2009) ve *Babesia vogeli* (Ciftci ve diğerleri, 2014) bağlı enfestasyonlarda arttığı bildirilen 8-OH-dG’ nin leishmaniazisli köpeklerde oksidatif DNA hasarının oluştuğunu gösteren ve Kiral ve diğerleri (2021) tarafından yaplan araştırma ile literatürlere önemli katkı sağlamıştır.

Paraziter hastalıklarda artan oksidatif hasarın farklı patolojik koşullar olan lipid peroksidasyon ve oksidatif DNA hasarıyla oluşan makromoleküller kaynaklı olduğu düşünülmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1999). Kiral ve diğerleri (2021) tarafından yapılan araştırmada leishmaniazisli köpeklerde oksidatif hasar belirteçlerinin arttığı ve antioksidan yanıtın azaldığı bildirilmiştir. Aynı araştırmada lenfositlerde oksidatif DNA hasarı comet metoduyla belirlenmiş ve enfekte köpeklerde sağlıklılara göre yüksek bulunmuştur. Ayrıca artan nitrik oksit ve azalan antioksidan yanıt ile DNA hasarının doğrusal artış gösterdiği gözlemlenmiştir (Kiral ve diğerleri, 2021). Hassas yapıdaki DNA moleküllerine serbest radikallerin hücum etmesi ile mutasyon ve hücre ölümleri meydana gelmektedir. Beraberinde kromozomal değişimler, DNA zincirindeki kırılmalar ve DNA transkripsiyon, replikasyon ve yenilenmesindeki azalmalar gelişmektedir. Leishmaniazisli köpeklerde oksidatif DNA hasarının belirlendiği Kiral ve diğerleri (2021) tarafından yürütülen araştırmaya göre leishmaniazisli köpeklerin uzun süreli yangısal hücre aktivasyonuna bağlı artan savunma mekanizmasının ROS üretimi ve DNA hasarından sorumlu olduğu gösterilmektedir.

Zoonotik bir hastalık olan leishmaniazis üzerine yapılan çeşitli çalışmalar, oksidan durumu gösteren biyobelirteçlerde artış, antioksidan savunmayı gösteren biyobelirteçlerde ise azalma olduğunu bildirmiştir. Bu durum, oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki dengenin bozulmasına neden olmakta ve oksidatif hasarın her iki hastalıkta da önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Rubio ve diğerleri, 2019).

Lipid peroksidasyonunun genel seviyesini gösteren yaygın ROS biyobelirteçlerinden biri, lipid peroksidasyon ürünü olan MDA’ dır (Nielsen ve diğerleri, 1997). Kutanöz leishmaniazis vakalarında artmış MDA seviyelerine ilişkin birçok çalışma bulunmaktadır (Serarslan ve diğerleri, 2005). Heidarpour ve diğerleri (2012)’nin yapmış olduğu semptomatik ve asemptomatik olmak üzere toplam visseral leishmaniazisli 30 köpek içeren bir çalışmada, semptomatik köpeklerde MDA seviyesinin daha yüksek, TAS ve albümin seviyelerinin ise daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular, Panaro ve diğerleri (2008) tarafından bildirilen, nitrik oksidin köpeklerdeki leishmaniazis klinik tablosunda önemli bir rol oynayabileceği yönündeki çalışmaları desteklemektedir. Bu da, *L. infantum* enfeksiyonu sırasında oksidatif stresin ve lipid peroksidasyonunun böbrek hasarı mekanizmasında rol oynadığını göstermektedir. Ayrıca yine aynı çalışmada MDA ile böbrek biyobelirteçleri olan BUN ve kreatinin arasında pozitif bir korelasyon tespit edilmiştir. Bu çalışmaya benzer şekilde *L. chagasi* ile enfekte hamsterlerin karaciğerinde yüksek MDA konsantrasyonu gözlemlenmiş ve kronik *L. chagasi* enfeksiyonlarında oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunun karaciğer hasarına yol açtığı güçlü bir şekilde belirtilmiştir (Oliveira ve Cechini 2002). Vücudun oksidatif strese karşı koyma yeteneğinin göstergesi olan başka bir biyobelirteç de TAS’tır. Serum TAS konsantrasyonu, serbest radikal reaksiyonlarına karşı koyan toplam antioksidan kapasiteyi yansıtmaktadır ve bu reaksiyonlar, lipitler, proteinler ve DNA gibi biyomoleküllerde oksidatif hasara yol açmaktadır (Kosecik ve diğerleri. 2005). Benzer şekilde, Oliveira ve Cechini (2002) ile Bildik ve diğerleri (2004), leishmaniazisli hayvanlarda artmış antioksidan tüketimi bildirmiştir. Serum TAS ve MDA arasındaki önemli negatif korelasyon, CVL’de artan lipid peroksidasyonunun azalmış antioksidan kapasite ile ilişkili olabileceğini göstermektedir. Heidarpour ve diğerleri (2012)’nin yapmış olduğu çalışmada CVL'nin antioksidan savunma mekanizmaları üzerinde belirli etkileri olduğu ve semptomatik köpeklerde serum TAS konsantrasyonunun belirgin şekilde (P < 0.001) düşük olduğu gözlemlenmiştir. Gültekin ve diğerleri (2017)’nin yapmış olduğu 32, klinik, hematolojik ve biyokimyasal bulgulara göre sağlıklı 14 olmak üzere toplam 46 köpek içeren çalışmada hastalığın tüm evrelerindeki visseral leishmaniazisli köpeklerde sağlıklı köpeklere göre yüksek (p<0,001) TOS değerleri bulunmuş olup ayrıca sağlıklı ve visseral leishmaniazisli köpekler arasında TAS değerinde anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür. Kıral ve diğerleri (2021) ‘nin yapmış olduğu 2 ila 6 yaşları arasında olan 10 klinik olarak sağlıklı köpek ile rk39 dipstick testi ve IFAT ile leishmaniazis teşhisi konmuş 15 köpek olmak üzere toplam 25 köpekten oluşan çalışmada mevcut çalışmalara benzer olarak lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA düzeyi, enfekte köpeklerde kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p < 0.05). Öte yandan, TAS seviyeleri leishmaniazisli köpeklerde daha düşük tespit edilmiştir (p < 0.05). Veteriner literatürdeki çalışmalara benzer şekilde insan leishmaniazisinde de Serarslan ve diğerleri (2005)’in yapmış olduğu çalışmada kutanöz leishmaniazisli hastalarda tedavi edilen hastalara kıyasla önemli ölçüde daha yüksek serum MDA ve NO· seviyeleri bulunmuştur.

Çalışmamızda CanL ile sağlıklı grup oksidatif parametreler açısından kıyaslandığında üriner 8-OHdG’ nin ve MDA düzeylerinin yukarıda beyan edilen araştırmalarla benzer şekilde yüksek seyrettiği ancak farklı olarak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. Bu durum, DNA oksidatif hasarı ve lipid peroksidasyon yönünden iki grup arasında belirgin bir fark olmadığını göstermektedir. Diğer taraftan önemli oksidatif denge parametreleri arasında yer alan TAS ve TOS değerleri ise enfekte grupta kontrol grubuna kıyasla anlamlı (p < 0,005) artış göstermiş olup bu bulgu, enfeksiyonun antioksidan savunma sistemini uyardığını ve bu yanıtın sistemik düzeyde artmış antioksidan kapasite ile sonuçlandığını düşündürmektedir.

# SONUÇ VE ÖNERİLER

Yürütülen bu tez çalışmasıyla CVL’ li köpeklerde oksidatif stres düzeylerinin ve buna bağlı DNA hasarının değerlendirilmesi amaçlanmış; elde edilen bulgular doğrultusunda, enfekte grupta serum TAS ve TOS değerlerinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Buna karşın, oksidatif DNA hasar göstergesi olan üriner 8-OHdG ve lipid peroksidasyon belirteci MDA düzeylerinde gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Bu sonuçlar, CVL patogenezinde oksidatif stres mekanizmalarının aktif rol oynadığını ortaya koyarken, oksidatif DNA hasarı ve lipid peroksidasyonuna ilişkin biyobelirteçlerin duyarlılığının sınırlı olabileceğine işaret etmektedir. Bu doğrultuda, ileriye dönük çalışmalarda daha geniş örneklem grupları kullanılarak hastalığın farklı klinik evrelerinin ayrıntılı biçimde değerlendirilmesi ve 8-OHdG gibi non-invaziv biyobelirteçlerin tanısal ve prognostik açıdan güvenilirliğinin derinlemesine araştırılması önerilmektedir.

# KAYNAKLAR

Adel, A., Berkvens D., Abatih E., Soukehal A., Bianchini J., Saegerman C. "Evaluation of immunofluorescence antibody test used for the diagnosis of canine leishmaniasis in the mediterranean basin: A systematic review and meta-Analysis." *PloS one* 11.8 (2016): e0161051.doi: 10.1371/journal.pone.0161051

Aktepe, N., Altıntaş, A. (2021). Visceral Leishmaniazis’ li Köpeklerde Serum C-Reaktif Protein Üre Kreatinin ve Toplam Protein Düzeyleri. *MAS Journal of Applied Sciences*, 6(2), 470-480. doi: 10.52520/masjaps.88

Al-Taie, A., Sancar, M., Izzettin, F. V. (2021). 8-Hydroxydeoxyguanosine: A valuable predictor of oxidative DNA damage in cancer and diabetes mellitus. In Cancer (pp. 179- 187). Academic Press. doi: 10.1016/B978-0-12-819547-5.00017-1

Almeida, B. F. M., Narciso, L. G., Bosco, A. M., Pereira, P. P., Braga, E. T., Avanço, S. V., Ciarlini, P. C. (2013). Neutrophil dysfunction varies with the stage of canine visceral leishmaniosis. *Veterinary Parasitology*, 196(1-2), 6-12. doi:10.1016/j.vetpar.2013.02.016

Amusategui, I., Sainz, A., Rodriguez, F., Tesouro, M. A. (2003). Distribution and relationships between clinical and biopathological parameters in canine leishmaniazis. *European Journal of Epidemiology*, 18, 147-156. doi: 10.1023/A:1023090929302

Aşkar, T. K., Aşkar, Ş., Büyükleblebici, O., Güzel, M. (2019). Evaluation of oxidative status and inflammatory changes in naturally occurring canine visceral leishmaniazis. *Pakistan Journal of Zoology*, 51(1). doi: 10.17582/journal.pjz/2019.51.1.301.306

Ayala, A., Llanes, A., Lleonart, R., Restrepo, C. M. (2024). Advances in Leishmania vaccines: current development and future prospects. *Pathogens*, 13(9), 812. doi: 10.3390/pathogens13090812

Ayele, A., Seyoum, Z. (2016). Review on canine leishmaniazis, etiology, clinical sign, pathogenesis, treatment and control methods. *Global Veterinaria*, 17(4), 343-352. doi: 10.5829/idosi.gv.2016.17.04.104151

Bates, P. A. (2007). Transmission of Leishmania metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. *International Journal for Parasitology*, 37(10), 1097-1106. doi:10.1016/j.ijpara.2007.04.003

Blanca, P. M., Luisa, F. R. M., Guadalupe, M., Fátima, C. L. (2024). Oxidative Stress in Canine Diseases: A Comprehensive Review. doi: 10.3390/antiox13111396

Breen, A. P., Murphy, J. A. (1995). Reactions of oxyl radicals with DNA. *Free Radical Biology and Medicine*, 18(6), 1033-1077. doi: 10.1016/0891-5849(94)00209-3

Ciftci, G., Ural, K., Aysul, N., Cenesiz, S., Guzel, M., Pekmezci, D., Sogut, M. Ü. (2014). Investigation of the 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine, total antioxidant and nitric oxide levels of serum in dogs infected with Babesia vogeli. *Veterinary Parasitology*, 204(3-4), 388-391. doi: 10.1016/j.vetpar.2014.05.002

de Castro, R. B., de Moraes, J. V. B., Bressan, G. C., de Souza Vasconcellos, R., Silva-Júnior, A., Fietto, J. L. R. (2022). Antigens and their diagnostic performance for Canine Visceral Leishmaniazis: A critical review. *Veterinary Parasitology*, 301, 109638. doi:10.1016/j.vetpar.2021.109638

EFSA Panel Animal Health and Welfare. (2015). Scientific opinion on canine leishmaniosis. *EFSA Journal*, 13(4), 4075.doi: 10.2903/j.efsa.2015.4075

Ercan, N., Fidancı, U. R. (2012). Urine 8-hydroxy-2’-deoxyguanosine (8-OHdG) levels of dogs in pyoderma. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 59(3), 163-168. doi: 10.1501/Vetfak\_0000002520

Ercan, N., Yüksel, M., Koçkaya, M. (2020). Determination of 8-hydroxy-2’deoxyguanosine, malondialdehyde levels and antioxidant enzyme activities in Kangal dogs with venereal tumour. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 67;121-125. doi:10.33988/auvfd.492765

Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, 38(12), 1103-1111. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2005.08.008

Ferreira, T. M. V., Oliveira, A. T. C., de Carvalho, V. M., Pinheiro, A. D. N., de Carvalho Sombra, T. C. F., Ferreira, T. C., Nunes-Pinheiro, D. C. S. (2021). Leukocytes and albumin in canine leishmaniasis. *Acta Scientiae Veterinariae*, 49.. doi: 10.22456/1679-9216.111869

Ferrer, L. (2002). The pathology of canine leishmaniasis. In Proceedings of the Second International Canine Leishmaniasis Forum, Seville, Spain (pp. 21-24).

Gomes, Y. M., Cavalcanti, M. P., Lira, R. A., Abath, F. G. C., Alves, L. C. (2008). Diagnosis of canine visceral leishmaniasis: biotechnological advances. *The Veterinary Journal*, 175(1), 45-52.doi: 10.1016/j.tvjl.2006.10.019

Graille, M., Wild, P., Sauvain, J. J., Hemmendinger, M., Guseva Canu, I., Hopf, N. B. (2020). Urinary 8-OHdG as a biomarker for oxidative stress: a systematic literature review and meta-analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(11), 3743. doi: 10.3390/ijms21113743

Gültekin, M., Paşa, S., Ural, K., Balıkçı, C., Aşıcı, G. S. E., Gültekin, G. (2017). Visseral leishmaniazis’ in farklı evrelerindeki köpeklerde oksidatif durum ve lipid profili. *Türkiye Parazitolojii Dergisi*, 41(4), 183. doi: 10.5152/tpd.2017.5398

Halliwell B., J.M.C. Gutteridge Oxidative stress B. Halliwell, J. M. C Gutteridge (Eds.), *Free Radicals in Biology and Medicine* (3rd ed.), Oxford University Press, New York (1999),

Heidarpour, M., Soltani, S., Mohri, M., Khoshnegah, J. (2012). Canine visceral leishmaniasis: relationships between oxidative stress, liver and kidney variables, trace elements, and clinical status. *Parasitology Research*, 111, 1491-1496.doi: 10.1007/s00436-012-2985-8

Henriques, J., Felisberto, R., Almeida, B., Ramos, J., Constantino‐Casas, F., Dobson, J., Alves, M. (2021). Canine lymphoma and vector‐borne diseases: Molecular and serological evaluation of a possible complicity. *Veterinary and Comparative Oncology*, 19(1), 183-190. doi: 10.1111/vco.12658

Herbas M.S., O.M.M. Thekisoe, N.Inoue, X. Xuan, H. Arai, H. Suzuki The effect of α- tocopherol transfer protein gene disruption on Trypanosoma congolense infection in mice *Free Radical Biology and Medicine,* 47 (2009), pp. 1408-1413. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.08.009

International Canine Leishmaniazis Forum, Seville, Spain (pp. 21-24).Investigation of DNA damage and protein damage caused by oxidative stress in canine visceral leishmaniazis. doi: 10.21521/mw.6559

Killick-Kendrick, R. (2002). The life-cycles of Leishmania in the sand fly and transmission of leishmaniasis by bite. In R. Killick-Kendrick M. Killick-Kendrick (Eds.), Canine leishmaniasis: Moving towards a solution (p. 57). Intervet International B.V.

Kiral, F., Karagenc, T., Pasa, S., Yenisey, C., Seyrek, K. (2005). Dogs with Hepatozoon canis respond to the oxidative stress by increased production of glutathione and nitric oxide. *Veterinary Parasitology*, 131(1-2), 15-21. doi: 10.1016/j.vetpar.2005.04.017

Kiral, F., Sekkin, S., Pasa, S., Ertabaklar, H., Ulutas, P. A., Asici, G. S. E. (2021). Investigation of DNA damage and protein damage caused by oxidative stress in canine visceral leishmaniasis.doi: 10.21521/mw.6559

Leite, J. C., Gonçalves, A. A. M., de Oliveira, D. S., Resende, L. A., Boas, D. F. V., Ribeiro, H. S., Giunchetti, R. C. (2023). Transmission-blocking vaccines for canine visceral leishmaniasis: new progress and yet new challenges. *Vaccines*, 11(10), 1565.doi:10.3390/vaccines11101565

Lima, W. G., Michalick, M. S. M., de Melo, M. N., Tafuri, W. L., Tafuri, W. L. (2004). Canine visceral leishmaniazis: a histopathological study of lymph nodes. *Acta Tropica*, 92(1), 43-53. doi: 10.1016/j.actatropica.2004.04.007

Maia, C., Ramada, J., Cristóvão, J. M., Gonçalves, L., Campino, L. (2009). Diagnosis of canine leishmaniazis: conventional and molecular techniques using different tissues. *The Veterinary Journal*, 179(1), 142-144. doi: 10.1016/j.tvjl.2007.08.009

Martín‐Sánchez, J., Rodríguez‐Granger, J., Morillas‐Márquez, F., Merino‐Espinosa, G., Sampedro, A., Aliaga, L., Díaz‐Sáez, V. (2020). Leishmaniazis due to Leishmania infantum: integration of human, animal and environmental data through a one health approach. *Transboundary and Emerging Diseases*, 67(6), 2423-2434. doi: 10.1111/tbed.13580

Masamba, P., Kappo, A. P. (2021). Immunological and biochemical interplay between cytokines, oxidative stress and schistosomiasis*. International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 7216. doi: 10.3390/ijms22137216

Meléndez-Lazo, A., Ordeix, L., Planellas, M., Pastor, J., Solano-Gallego, L. (2018). Clinicopathological findings in sick dogs naturally infected with Leishmania infantum: Comparison of five different clinical classification systems. *Research in Veterinary Science*, 117, 18-27. doi: 10.1016/j.rvsc.2017.10.011

Micangeli, G., Menghi, M., Profeta, G., Tarani, F., Mariani, A., Petrella, C., Fiore, M. (2022). The impact of oxidative stress on pediatrics syndromes. *Antioxidants*, 11(10), 1983. doi: 10.3390/antiox11101983

Morales-Yuste, M., Martín-Sánchez, J., Corpas-Lopez, V. (2022). Canine leishmaniazis: Update on epidemiology, diagnosis, treatment, and prevention. Veterinary Sciences, 9(8) of urinary 8-hydroxydeoxyguanosine as a biomarker of oxidative DNA damage in diabetic nephropathy patients. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 36(1), 101-104. doi:10.1016/j.jpba.2004.04.016

Omari Shekaftik, S., Nasirzadeh, N. (2021). 8-Hydroxy-2′-deoxyguanosine (8-OHdG) as a biomarker of oxidative DNA damage induced by occupational exposure to nanomaterials: A systematic review. *Nanotoxicology*, 15(6), 850-864.doi: 10.1016/j.vetimm.2014.11.011

Peña, M. T., Roura, X., Davidson, M. G. (2000). Ocular and periocular manifestations of leishmaniazis in dogs: 105 cases (1993–1998). *Veterinary Ophthalmology*, 3(1), 35-41.doi: 10.1046/j.1463-5224.2000.00106.x

Perego, R., Proverbio, D., Bagnagatti De Giorgi, G., Spada, E. (2014). Prevalence of dermatological presentations of canine leishmaniazis in a nonendemic area: a retrospective study of 100 dogs. *Veterinary Medicine International*, 2014(1), 374613. doi:10.1155/2014/374613

Peștean, C. P., Pocquet, H., Dumitraș, D. A., Morohoschi, A. G., Ștefănuț, L. C., Andrei, S. (2024). Correlation between Oxidative Stress Markers and Periodontal Disease in Dogs. *Veterinary Sciences*, 11(3), 99. doi: 10.3390/vetsci11030099pp. 246-350

Priolo, V., Ippolito, D., Rivas-Estanga, K., De Waure, C., Martínez-Orellana, P. (2024). Canine leishmaniosis global prevalence over the last three decades: a meta-analysis and systematic review. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 102211. doi: 10.1016/j.cimid.2024.102211

Ready, P. D. (2014). Epidemiology of visceral leishmaniazis. *Clinical Epidemiology*, 147-154. doi: 10.2147/CLEP.S44267

Ribeiro, R. R., Silva, S. M. D., Fulgêncio, G. D. O., Michalick, M. S. M., Frézard, F.J. G. (2013). Relationship between clinical and pathological signs and severity of canine leishmaniazis. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 22, 373-378. doi:10.1590/S1984-29612013000300009

Rubio, C. P., Escribano, D., Hernández, J., Cerón, J. J., Tvarijonaviciute, A., Martínez- Subiela, S. (2019). Blood Biomarkers of Oxidative Stress in Human and Canine Leishmaniosis. Oxidative Stress in Microbial Diseases, 21-31. doi:10.1007/978-981-13-8763-0\_

Sanz, C. R., Sarquis, J., Daza, M. Á., Miró, G. (2024). Exploring the impact of epidemiological and clinical factors on the progression of canine leishmaniosis by statistical and whole genome analyses: from breed predisposition to comorbidities. *International Journal for Parasitology*, 54(8-9), 401-414. doi: 10.1016/j.ijpara.2024.03.006

Saridomichelakis, M. N., Koutinas, A. F., Olivry, T., Dunston, S. M., Farmaki, R., Koutinas, C. K., Petanides, T. (2007). Regional parasite density in the skin of dogs with symptomatic canine leishmaniosis. *Veterinary Dermatology*, 18(4), 227-233. doi: 10.1111/j.1365-3164.2007.00597.x

Sasani, F., Javanbakht, J., Samani, R., Shirani, D. (2016). Canine cutaneous leishmaniazis.*Journal of Parasitic Diseases*, 40, 57-60. doi: 10.1007/s12639-014-0444-4

Serarslan, G., Yılmaz, H. R., Söğüt, S. (2005). Serum antioxidant activities, malondialdehyde and nitric oxide levels in human cutaneous leishmaniazis. *Clinical and Experimental Dermatology*, 30(3), 267-271. doi: 10.1111/j.1365-2230.2005.01758.x

Silva, D. T. D., Starke-Buzetti, W. A., Alves-Martin, M. F., Paixão, M. D. S., Tenório,M. D. S., Lopes, M. L. M. (2014). Comparative evaluation of several methods for Canine Visceral Leishmaniazis diagnosis. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 23(02), 179-186. doi:10.1590/S1984-29612014033

Silva, K. R. D., Mendonça, V. R. R. D., Silva, K. M., Nascimento, L. F. M. D., Mendes- Sousa, A. F., Pinho, F. A. D., Cruz, M. D. S. P. E. (2017). Scoring clinical signs can help diagnose canine visceral leishmaniazis in a highly endemic area in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 112(1), 53-63. doi: 10.1590/0074-02760160305

Solano-Gallego, L., Koutinas, A., Miró, G., Cardoso, L., Pennisi, M. G., Ferrer, L., Baneth, G. (2009). Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Veterinary Parasitology*, 165(1-2), 1-18. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.05.022

Valavanidis A., T. Vlachogianni, C.Fiotakis 8-Hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG): a critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis Journal of Environmental Science and Health Part C: Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Reviews. 27 (2)(2009), pp. 120-139 doi: 10.1080/10590500902885684

Vilas-Boas, D. F., Nakasone, E. K. N., Gonçalves, A. A. M., Lair, D. F., Oliveira, D. S. D., Pereira, D. F. S., Giunchetti, R. C. (2024). Global Distribution of Canine Visceral Leishmaniazis and the Role of the Dog in the Epidemiology of the Disease. *Pathogens*, 13(6), 455. doi: 10.3390/pathogens13060455

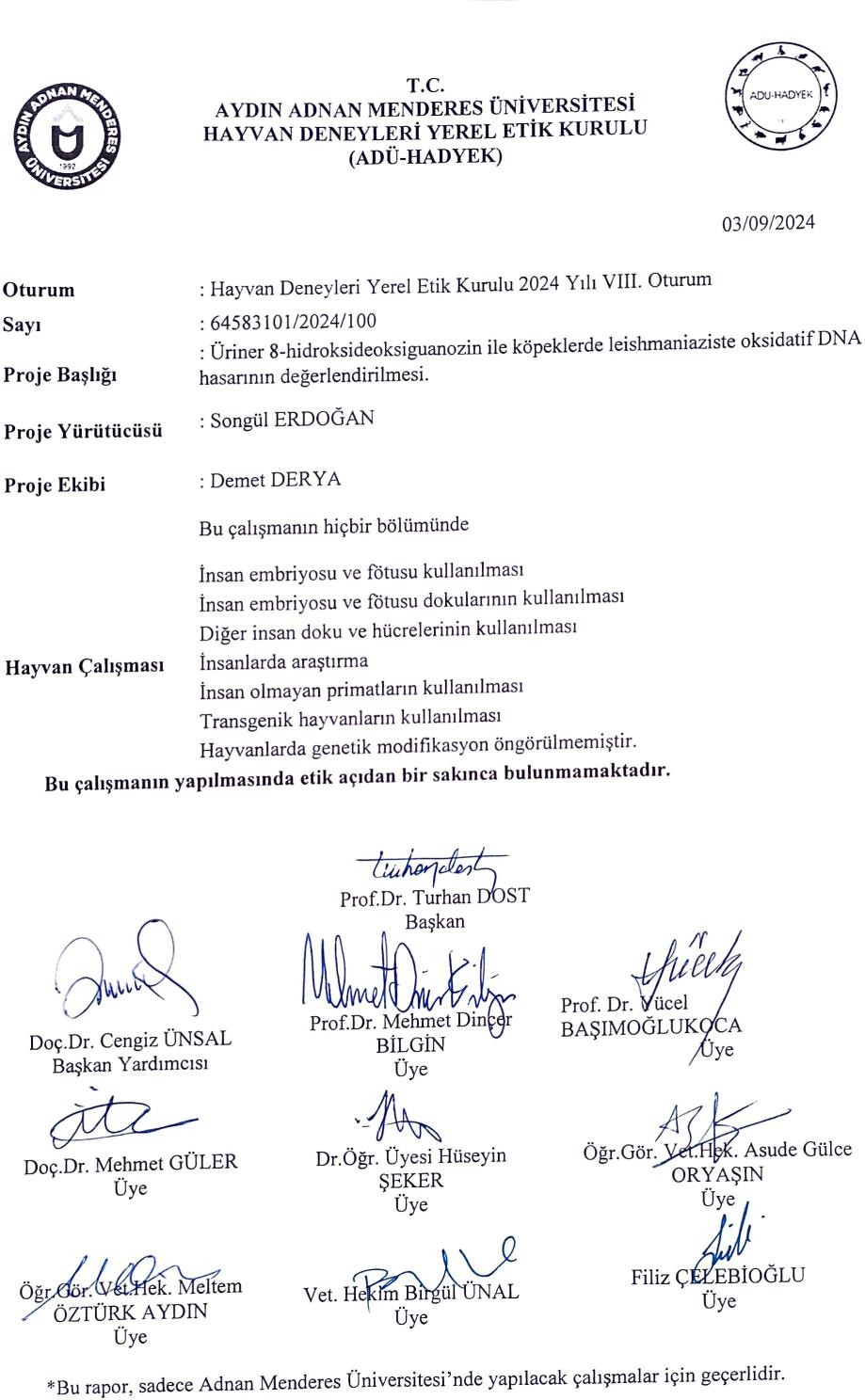
Wu, L. L., Chiou, C. C., Chang, P. Y., Wu, J. T. (2004). Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics. *Clinica Chimica Acta*, 339(1-2), 1-9. doi: 10.1016/j.cccn.2003.09.010 10.1016/j.cccn.2003.09.010

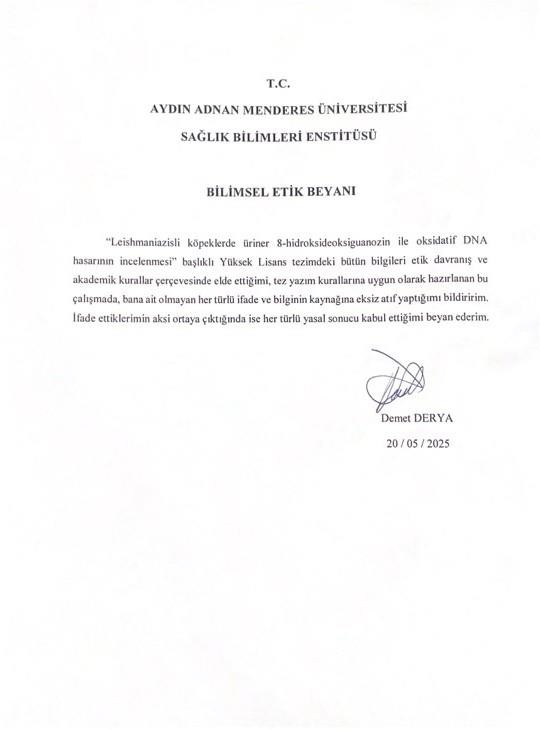
Xu, G. W., Yao, Q. H., Weng, Q. F., Su, B. L., Zhang, X., Xiong, J. H. (2004). Study of urinary 8-hydroxydeoxyguanosine as a biomarker of oxidative DNA damage in diabetic nephropathy patients. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 36(1), 101-104.doi: 10.1016/j.jpba.2004.04.016

Yano, K., Otsuki, H., Arai, M., Komaki-Yasuda, K., Tsuboi, T., Torii, M., Kawazu, S. I. (2008). Disruption of the Plasmodium berghei 2-Cys peroxiredoxin TPx-1 gene hinders the sporozoite development in the vector mosquito. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 159(2), 142-145.doi: 10.1016/j.molbiopara.2008.03.002

# EKLER

**Ek 1.** Etik Kurul Belgesi





# ÖZ GEÇMİŞ

**Soyadı, Adı** : DERYA Demet

**Uyruk** : T.C.

**Doğum yeri ve tarihi** : Aydın / 01.05.2000

**Telefon** 0 553 378 55 34

**E-posta** : [demetderya09@yandex.com](mailto:demetderya09@yandex.com)

**Yabancı dil** : İngilizce

**EĞİTİM**

## Derece Kurum Mezuniyet tarihi

Lisans Aydın Adnan Menderes Üniversitesi/ Veteriner Fakültesi

16.06.2023

**AKADEMİK YAYINLAR**

**1. MAKALELER**

Erdoğan S, Derya D. Diyabetik Nöropatide Ağrı Yönetimi / Türkiye Klinikleri; 2024.