



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
VBY-YL-2012-0002

**DENEYSEL İNFEKSİYÖZ VE NON-İNFEKSİYÖZ
YANGI OLUŞTURULMUŞ RATLARDA BAZI
AKUT FAZ PROTEİNLERİ DÜZEYLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Mürüvvet URAL

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Pınar Alkım ULUTAŞ**

AYDIN-2012

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
VBY-YL-2012-0002**

**DENEYSEL İNFEKSİYÖZ VE NON-İNFEKSİYÖZ
YANGI OLUŞTURULMUŞ RATLARDA BAZI
AKUT FAZ PROTEİNLERİ DÜZEYLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Mürüvvet URAL

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Pınar Alkım ULUTAŞ**

AYDIN-2012

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Mürüvvet Ural tarafından hazırlanan 'Dengysel İnfeksiyöz ve Non-İnfeksiyöz Yangı Oluşturulmuş Ratlarda Bazı Akut Faz Proteinleri Düzeylerinin Karşılaştırılması' başlıklı tez, 27/08/12 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Unvanı, Adı ve Soyadı :

Üniversitesi :

İmza:

Prof. Dr. Ayşegül BİLDİK

ADÜ Veteriner Fakültesi Biyokimya ABD



Prof. Dr. Bülent ULUTAŞ

ADÜ Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları ABD



Doç. Dr. Pınar Alkan ULUTAŞ ADÜ Veteriner Fakültesi Biyokimya ABD



Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun
..... Sayılı kararıyla..... tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Sacide KARAKAŞ
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Yangının ayrımının yapılması ve hastalığın tanısının konulması, etkin tedavi seçeneğinin belirlenmesi ve uygulanabilmesi, uzun süreçte ortaya çıkabilecek komplikasyonların önlenmesi ile gereksiz tedavi giderlerinin azaltılması açısından önemlidir. Son yıllarda üzerinde geniş çapta araştırılma yapılan akut faz proteinlerinin düzeylerinin belirlenmesi ise tanının konması, tedavi sürecinin izlenmesi ve hasta takibi ya da genel sağlık taramalarında kullanılmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada farklı etkenlerde oluşturulmuş akut enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz yangı modellerinde akut faz proteinlerinin durumunu ortaya koymak amaçlanmış ve bu parametrelerin farklı yangılarda değişiklik gösterip göstermediği belirlenmek istenmiştir.

Bu çalışma, Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından; VTF-12029 numaralı ve ‘Deneysel Enfeksiyöz ve Non-Enfeksiyöz Yangı Oluşturulmuş Ratlarda Bazı Akut Faz Proteinleri Düzeylerinin Karşılaştırılması’ isimli proje kapsamında desteklenerek gerçekleştirilmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL VE ONAY SAYFASI	i
ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
RESİMLER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Yangının Tarihçesi.....	1
1.2. Yangının Patogenezi.....	2
1.2.1. Akut Yangı.....	2
1.2.2. Kronik Yangı.....	4
1.2.3. Yangı Belirtileri	5
1.2.4. Yangının Başlıca Nedenleri.....	6
1.3. Akut Faz Yanıt.....	10
1.3.1. Akut Faz Yanıtın Başlatılması.....	11
1.3.2. Akut Faz Yanıtın Sürdürülmesi.....	14
1.3.3. Akut Faz Yanıtın Sonlandırılması.....	15
1.4. Akut Faz proteinleri.....	16
1.4.1. Akut Faz Proteinlerinin Sentezi.....	17
1.4.2. Akut Faz Proteinlerinin Sınıflandırılması.....	18
1.4.2.1. Pozitif Akut Faz Proteinleri.....	18
1.4.2.1.1. CRP.....	18
1.4.2.1.2. SAA.....	19
1.4.2.1.3. Haptoglobin.....	20
1.4.2.1.4. Seruloplazmin.....	21
1.4.2.1.5. Fibrinojen.....	22
1.4.2.2. Negatif Akut Faz Proteinleri.....	22
1.4.2.2.1. Albumin.....	22
1.4.3. Akut Faz Proteinlerinin Klinik Kullanımı	23

2. GEREÇ VE YÖNTEM	25
2.1. Gereç	25
2.1.1.Deney Hayvanı Materyali	25
2.1.2.Kullanılan Cihazlar	25
2.1.3.Kullanılan Kimyasal Maddeler	25
2.2. Yöntem	26
2.2.1. Deney Grupları ve Uygulanma protokolü	26
2.2.2. Serum ve kan örneklerinin hazırlanması	27
2.2.3.Biyokimyasal ve hematolojik analizler	27
2.2.3.1. Serum CRP Düzeyinin Belirlenmesi	27
2.2.3.2. Serum SAA Düzeyinin Belirlenmesi	29
2.2.3.3.Serum Haptogloblin Düzeyinin Belirlenmesi	30
2.2.3.4.Serum Seruloplazmin Düzeyinin Belirlenmesi	31
2.2.3.5.Plazma Fibrinojen Düzeyinin Belirlenmesi	32
2.2.3.6.Serum Total protein ve Albümin Belirlenmesi	33
2.2.3.7. WBC Analizi	33
2.2.3.8.Serum proteinlerinin Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid (SDS-PAGE) Elektroforezi	33
2.2.3.9. İstatistiksel Analiz	37
3.BULGULAR	38
4. TARTIŞMA	49
5.SONUÇ	54
ÖZET	55
SUMMARY	56
KAYNAKLAR	57
ÖZGEÇMİŞ	66
TEŞEKKÜRLER	67

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CRP: C-Reaktif Protein

E. coli: Escherichiacoli

Hp: Haptoglobin

IL-6: İnterleukin 6

IL-4: İnterleukin-4

IL-10: İnterleukin-10

IL-1: İnterleukin 1(inflamatör sitokin)

IFN- γ : Interferon Gamma

SAA: Serum Amiloid A

SDS-PAGE: Serum proteinlerinin Sodyum Dodesil Sülfat PoliakrilamidElektroforezi

Staph. aureus: Staphylococcus aureus

SPSS: Statistical Packages for the social Sciences

TNF- α : Tümornecrosisfactor- α

WBC: Lökosit

WHO: World HealtOrganization

ÇİZELGELER

	Sayfa
Çizelge 1.1. Yangının belirtileri.....	5
Çizelge 1.2. Yangının nedenleri.....	7
Çizelge 3.1. Gruplara ait ortalama Haptoglobin, seruloplazmin, fibrinojen ve WBC sonuçları	38
Çizelge 3.2. Gruplara ait ortalamaCRP, SAA değerleri.....	39
Çizelge 3.3. Gruplara ait ortalamaTotal protein ve Albümin.....	40

ŞEKİLLER

Sayfa

Şekil 1.1. Yara iyileşmesinde görevli olan hücreleri zamana bağımlı ortaya çıkışları	3
Şekil 1.2. Yangı sürecindeki lökosit olayları.....	4
Şekil 1.3. Mast hücre kaynaklı vasküler inflamatuar olaylar.....	9
Şekil 1.4. Akut faz yanıtın mekanizması.....	13
Şekil 1.5. İnflamatuar uyarıyı takiben bazı pozitif ve negatif akut faz proteinlerinin serum konsantrasyonundaki değişiklikler.....	17
Şekil 3.1. Serum Fizyolojik, Türbentin ve <i>Staph. aureus</i> gruplarının Haptoglobin sonuçları.....	41
Şekil 3.2. Serum Fizyolojik, Türbentin ve <i>Staph. aureus</i> gruplarının Serulopazmin sonuçları.....	42
Şekil 3.3. Serum Fizyolojik, Türbentin ve <i>Staph. aureus</i> gruplarının Fibrinojen sonuçları.....	42
Şekil 3.4. Serum Fizyolojik, Türbentin ve <i>Staph. aureus</i> gruplarının WBC sonuçları.....	43
Şekil 3.5. Serum Fizyolojik, Türbentin ve <i>Staph. aureus</i> gruplarının CRP sonuçları ...	44
Şekil 3.6. Serum Fizyolojik, Türbentin ve <i>Staph. aureus</i> gruplarının ortalama SAA sonuçları	44
Şekil 3.7. Serum Fizyolojik, Türbentin ve <i>Staph. aureus</i> gruplarının total protein sonuçları.....	45
Şekil 3.8. Serum Fizyolojik, Türbentin ve <i>Staph. aureus</i> gruplarının albümin sonuçları	45

RESİMLER

Sayfa

- Resim 3.1.** Molekül ağırlık tanımlayıcısı (Sigma) kullanılarak yapılmış serum fizyolojik (SF), Turbentin (T), *Staph. aureus* (S) grupları serumlarının SDS-PAGE elektroforegramları 46
- Resim 3.2.** Serum fizyolojik grubunun 0, 1, 4 ve 7. Gün örneklerinin SDS-PAGE Elektroforegramları..... 47
- Resim 3.3.** Turbentin grubunun 0, 1, 4 ve 7. gün örneklerinin SDS-PAGE Elektroforegramları..... 47
- Resim 3.4.** *Staph. aureus* grubunun 0, 1, 4 ve 7. gün örneklerinin SDS-PAGE Elektroforegramları..... 48

1.GİRİŞ

Akut faz yanıt herhangi bir doku hasarını takiben kısa sürede ortaya çıkan nonspesifik bir reaksiyondur. İnfeksiyöz, immunolojik, neoplastik, travmatik ya da paraziter nedenlerden dolayı oluşur (McLoughlin ve ark 2006, Gruys 1994). Bu yanıt; infekte ajanı uzaklaştırmak, izole etmek, konakçıdaki daha ileri yıkımlanmaları engellemek ve organizmayı tekrar normal fonksiyonuna döndürmek için ortaya çıkar. Akut faz yanıtın en önemli özelliği, karaciğerden C-reaktif protein (CRP), seruloplazmin, fibrinojen, haptoglobin, serum amiloid A (SAA) gibi akut faz proteinlerinin üretimidir. Karaciğerden bu proteinlerin üretimi proinflamatuvar sitokinler tarafından düzenlenir (Koj 1985, McLoughlin ve ark 2006, Çoşkun ve Şen 2008). Tanı amaçlı olarak akut faz proteinleri düzeylerindeki artışlar nonspesifik olmasına rağmen yangı tanısının konması ve izlenmesinde, tedavi takibinde prognoz belirleyici olarak kullanışlı parametreler arasındadır ve son yıllarda üzerinde oldukça fazla çalışma yapılmıştır (Habif 2005, Eckersall 2004, Eckersall ve Bell 2010).

Yangının ayrımının yapılması; hastalığın tanısının konması, etkin tedavinin uygulanması ve uzun süreçte ortaya çıkabilecek komplikasyonların önlenmesi açısından önemlidir. Çeşitli hastalıklarda düzeylerinin arttığı bilinen CRP, SAA, haptoglobin, seruloplazmin ve fibrinojen düzeyleri yangı tanısı açısından önemli parametrelerdir. Yapılan taramalarda infeksiyöz ve non-infeksiyöz yangılarda düzeyleri arttığı bildirilen bu akut faz proteinlerinin yangının ayrımının araştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada ratlarda deneysel infeksiyöz ve non-infeksiyöz yangı modelleri oluşturularak akut faz proteinlerindeki artışları karşılaştırmayı ve yangının ayırıcı tanısında kullanılabilirliğini araştırmayı amaçladık.

1.1. Yangının Tarihçesi

Yangı, antik çağlardan bu yana bilinen bir olgudur. Yangının temel bulguları olan “rubor (kızarıklık), tümör (şişlik), calor (ısı artışı) ve dolor (ağrı)” eski Mısır dökümanlarında (M.Ö. 3000) tanımlanmıştır. Milattan sonra 1. yüzyılda Romalı yazar Cornelius Celcus yangının bugün bile kabul gören ‘ateş ve ağrının eşlik ettiği kızarıklık ve şişkinlik’ şeklindeki tanımını yapmıştır (Dunne 1990 , Higgins 1985, Erer ve ark 2007).

John Hunter 1793' te yangının hastalık olmadığını ve uyarana karşı başlatılmış nonspesifik bir cevap olduğunu bildirmiştir. Modern anlamdaki çalışmalara ise 1860' larda başlamıştır. Bu dönemde patolog Julius Cohnheim canlı kurbağaların dilleri üzerine kostik (yakıcı, dağılayıcı) nitelikte maddeler vermiş ve meydana gelen değişimleri mikroskopik olarak incelemiştir. Julius Cohnheim mikroskop ile yangıda kapiller yatakta meydana gelen permeabilite artışını, lökosit göçünü ve ekstrasvazasyonu tespit etmiştir. 1882 yılında Elie Metchnikoff yangının asıl amacının fagositik hücrelerin hasarlı alana transferi olduğunu bildirmiştir. Buna ek olarak Paul Ehrlich ise uyarılara karşı sadece hücresel elemanların (fagositler) değil aynı zamanda serum faktörlerinin (antikorlar) da önemli rol oynadıklarını göstermiştir. Daha sonraki yıllarda Sir Thomas Lewis ise yangıda kimyasal mediatörlerin (histamin) etkisi ile vasküler alanda değişiklikler olduğunu vurgulamıştır (Majno 1975, Weissman 1992).

1.2. Yangının Patogenezi

Yangı, hücre ya da doku zedelenmesine neden olabilen endojen ve eksojen zararlı etkenlere karşı organizmanın kendisini koruma amaçlı gösterdiği vasküler, humoral ve hücresel reaksiyonların tümüne verilen isimdir. Bu reaksiyonlar genel hatlarıyla zararlı etkenin belirlenmesi, yok edilmesi ve homeostazinin yeniden kurulması olaylarını içerir (Hanada ve Yoshimura 2002). Yangı, akut ve kronik olmak üzere iki başlık altında incelenmektedir.

1.2.1. Akut Yangı

Akut yangı, genel olarak kısa zamanda ortaya çıkan ve kısa süren yangı tipidir. İncelendiğinde vasküler ve hücresel olaylar olmak üzere iki ana hatta ayrılmaktadır (Sessle 2001, Sies 1993).

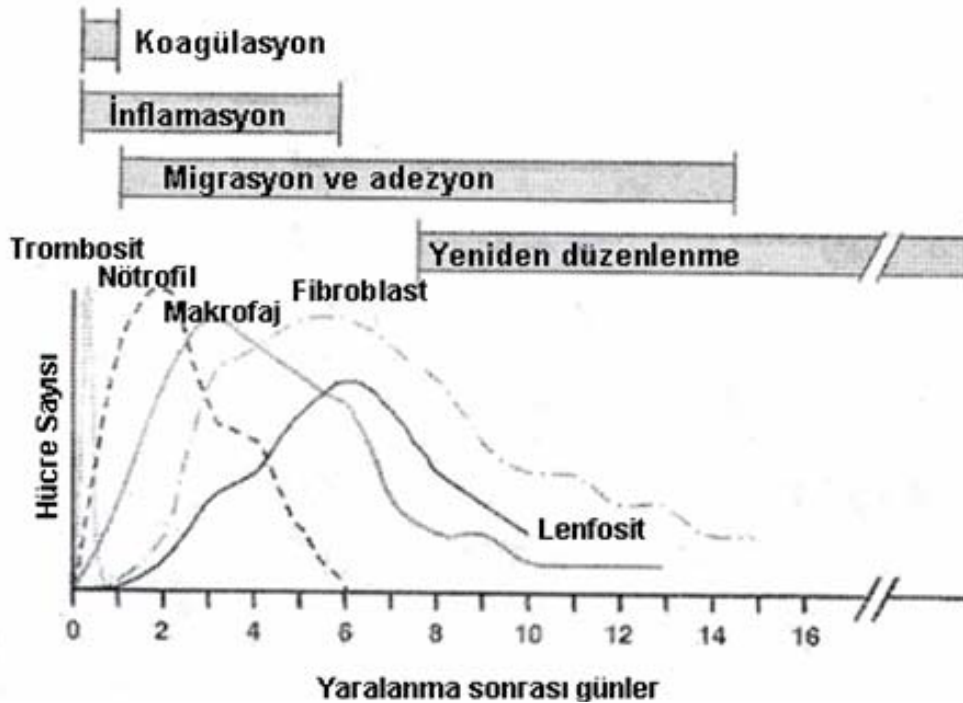
Akut yangının gelişimi ile oluşan değişiklikler;

A-Vasküler Değişiklikler (Dolaşım bozuklukları): Vasküler değişiklikler zedelenmeden hemen sonra başlar. Kısa süreli vazokonstriksiyon ve kan akımındaki azalmayı,

arteriyollerde ve venüllerde dilatasyon ve kan akışı takip eder (Dunne 1990, Bullok 1996, Maslinsk ve Gajewski 1998). Kan dolaşımındaki en fonksiyonel değişiklikler; vasküler akımda ve permeabilitede gözlenir.

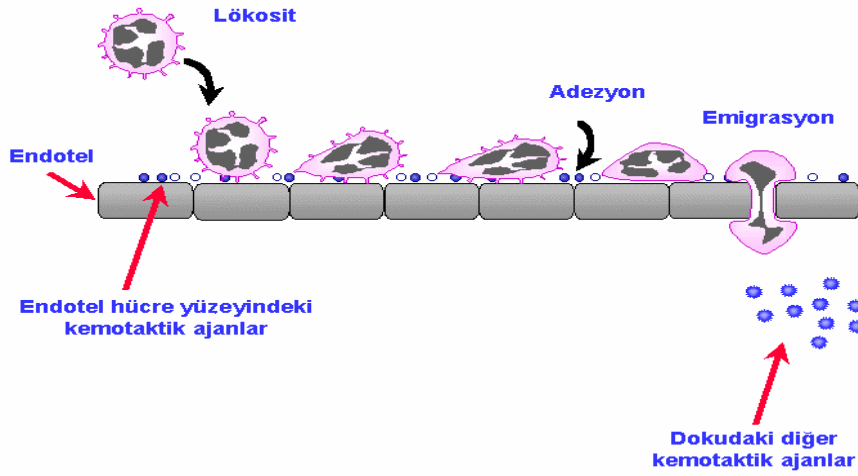
1- Vasküler akım ve damar çapındaki değişiklikler: Yangıyı yapan etki sonucunda ilk görülen kısa ve geçici damar daralmasıdır (vazokonstriksiyon). Arteriyollerde birkaç saniyelik vazodilatasyon oluşur. Erken dönemde ısı ve kızarıklığın artışına neden olur. Dolaşımdan ekstravasküler sıvıya protein göçü nedeniyle eritrosit stazı meydana gelir ve nötrofiller damar endoteline yaklaşırlar. Sonra emigrasyon ile interstisyel dokuya göç ederler (Mullington ve ark 2001).

2- Vasküler permeabilite artışı: Vazodilatasyon ve kan akımının artması intravasküler hidrostatik basıncı yükseltir. Bu da kapillerden sıvı filtrasyonunu artırır. Kapillerden geçen sıvı başlangıçta transudat niteliğinde olmakla birlikte, kısa sürede damar duvar geçirgenliğinin artmasıyla karakterini değiştirir. Proteinden zengin sıvı yani eksudatın oluşumuna neden olur. Sonuç olarak intravasküler ozmotik basınç azalır ve interstisyel ozmotik basınç artarak interstisyel ödeme neden olur. Bu, yangının tümör belirtisidir (Mullington ve ark 2001).



Şekil 1.1. Yara iyileşmesinde görevli olan hücreleri zamana bağlı ortaya çıkışları (Mullington ve ark 2001).

B- Lökositlerdeki Hücresel Olaylar: Akut yangıda önemli olaylardan biri de lökositlerin yangı bölgesine yaptıkları göçlerdir. Belirgin şekilde buralarda lökosit birikimleri gerçekleşmektedir (Higgins 1985, Imhorf ve Dunon 1997). Lökosit olayları sırasıyla: a) Marjinasyon ve yuvarlanma, b) Adezyon, c) Emigrasyon, d) Fagositoz ve intravasküler yıkım, e) Lökosit ürünlerinin ekstrasellüler salınımıdır. Yangı sürecindeki lökosit olayları Şekil 1.2' de gösterilmektedir (Sessle 2001, Sies 1993).



Şekil 1.2. Yangı sürecindeki lökosit olayları (Sessle 2001, Sies 1993).

Dokularda gerçekleşen yangısal olaylar sonucunda oluşan yangı etkenlerinin yaptıkları hasar bazı kimyasal maddelerin açığa çıkmasına, o bölgenin damarlarında bir takım değişikliklerin oluşmasına sebep olur (Erer ve ark 2007). Bu durum kanın şekilli (hücreler) ve şekilsiz (plazma) elemanlarının damar dışına çıkması ve dokularda koruma amacına yönelik bir infiltrasyon oluşturmasıyla devam etmektedir (Lehr ve ark 2000, Lentsch ve Ward 2000).

1.2.2.Kronik Yangı

Aktif yangı ve iyileşme süreçlerinin birlikte görüldüğü, uzun süreli yangı tipi olarak bilinir. Vasküler değişiklikler, ödem ve büyük miktarda nötrofil infiltrasyonu ile kendini göstermektedir (Dunne 1990, Kumar ve ark 2000). İnatçı enfeksiyonlarda, otoimmün

hastalıklarda ve toksik ajanlara maruz kalma ile kronik enfeksiyon oluşabilmektedir (Kumar ve ark 2000, Vervoordeldonk ve Tak 2002).

1.2.3. Yangı Belirtileri

Çizelge 1.1. Yangı Belirtileri (Kumar ve ark 2000).

YANGININ BELİRTİLERİ	
Kızarıklık (Rubor)	Yangılı alandaki mediatörlerin etkisi ile damar geçirgenliği ve damar genişliği artar. Bölge aktif olarak kanlanır, yani hiperemiktir. Rubor, yangının erken evresi ve hafif seyreden reaksiyonlarda, alerjilerde oldukça tipiktir (Samsar ve Akın 2002).
Isı artışı (Calor)	Damarların genişlemesi ile bölgedeki kan miktarı artar. Bununla birlikte sürtünme de artacağından ısı açığa çıkacaktır (Erer ve ark 2007).
Şişkinlik (Tumor)	Damar geçirgenliği artması sonucu bölgeye kan plazması sızar ve bu bölgede şişkinliğe neden olur. Kısaca sıvı eksüdasyonu sonucu ödem oluşmaktadır.
Ağrı (Dolor)	Damar dışına çıkan sıvı ve hücrelerin birikimi, bölgedeki sinirlerde sürekli bir ağrı uyarımı gerçekleşmesine neden olur. Ağrının şekillenmesinde; yangı tetikleyicilerinin yanında sıvı eksüdasyonunun sinir uçlarına yaptığı bası rol oynar (Erer ve ark 2007).
Kapsanan organlarda disfonksiyon yani işlev bozukluğu (Functio laesa)	Yangılı organlar doğal olarak işlevlerini yerine tam olarak getiremezler (Bayşu ve B. Sözbilir, 2008).

Organizmada yangının belirlenmesinde; kızarıklık, şişlik, sıcaklık, ağrı ve fonksiyon kaybı ortaya çıkacak vücut içinde de bu durumların oluşumunu gerçekleştiren biyokimyasal olaylar oluşmaktadır. Vücutta yangının olduğu duruma göre; belirli tanıma mekanizmaları

gelişmektedir. Bu şekilde organizma çeşitli yollarla yangının oluşumuna müdahale etmektedir (Erer ve ark 2007).

Organizmaya zarar veren etkenin ilk olarak tanınması ve yangı sürecinin yönlendirilmesi doku makrofajları, dendritik hücreler ve mast hücreleri tarafından gerçekleştirilir. Sadece canlı organizmada ve canlı dokuda görülen lokal dinamik bir korunma reaksiyonudur.

1.2.4. Yangının Başlıca Nedenleri

Yangının mikroorganizmalar, fiziksel ve kimyasal etkenler, tümörler, immunolojik etkenler gibi çeşitli nedenleri vardır. Yangının başlıca nedenleri Çizelge 1.2 de sıralanmıştır.

Çizelge 1.2. Yangının başlıca nedenleri (Erer ve ark 2007).

YANGININ BAŞLICA NEDENLERİ	
Canlı etkenler	Yangıya sebep olan en önemli etken mikroorganizmalardır. Bakteri, virüs, riketsiya, mantar, protozoon ve helmintler bu gruba girer. Bu gibi etkenler sahip oldukları antijenler ve yüzey reseptörleri aracılığıyla nötrofilik kemotaksise neden olurlar ve sonuçta yangı gelişir. Yangısal değişikliğin karakterini özellikle canlı etkenler belirler. Birçok mikroorganizma özellikle de bakteriler (örneğin Streptokoklar, Pseudomonaslar) irin oluşumuna neden olurlar
Fiziksel etkenler	Mekanik travmalar (kesici ve delici cisimler, vurma, çarpma gibi darbeler vs.) sıcak ve soğuk etkiler, elektrik, ultraviyole ışınlar, iyonizasyon yapan ışınlar, çeşitli yabancı cisimler (silika, asbest, kıymık, tel vb.). Bu tür etkilerde yangısal reaksiyon klasik olarak oluşur. Organizmaya yabancı bir durum gelişmiştir ve şekillenen yangı adeta standart bir cevaptır.
Kimyasal nedenler	Asitler, alkaliler, dezenfektanlar, ağır metal bileşikleri (örneğin sublime), organizmada fazlaca oluşan metabolizma ürünleri, endojen ve eksojen toksinler ve bazı ilaçlar yangıya neden olan önemli sebeplerdendir.
İmmunolojik reaksiyona neden olan maddeler	Yabancı proteinler (örneğin katgüt dikiş ipliği), hipersensibilite yaratan eksojen ve endojen kaynaklı maddeleri transplantasyon' da doku, organ reddi, otoimmün hastalıklar. Vücuda görev yeri dışında farklı bir dokunun başka bir bölgeye nakli durumu da yangı başlamasına sebep olur.
Anoksemi ve nekroz	Dokulara gelen kanın azalması veya kesilmesi bu bölgenin çevresinde yangısal reaksiyon oluşur ve bu nekrozun yayılmasını önler (demarkasyon).
İdiopatik (sebebi bilinmeyen) yangılar	Bazı yangısal hastalıkların sebebi tam olarak ortaya konulamamıştır.
Tümörler	Bazı tümörlerin etrafında yangısal reaksiyonlar şekillenir.

Yangı basit gibi görünen bir olgu olmasına rağmen harekete geçirdiği mekanizmalar ve vücutta meydana getirdiği biyokimyasal değişiklikler ile pek çok mekanizmayı içinde barındırmaktadır (Erer ve ark 2007). Yangıyı başlatan olaylar dokularda değişiklikler oluşturur. Dolaşımdaki ve dokulardaki birçok hücre ile dinamik olarak reaksiyona girerler. Bunun sonucunda da birçok mediatör salgılanır (Lehr ve ark 2000, Lentsch ve Ward 2000). Yangısal yanıt, mediatörlerin art arda salınımını takiben oluşur (Hanada ve Youshimura 2002).

Yangının Kimyasal Mediatörleri: İnflamatuvar doku yanıtı oluşturulmasında aracılık eden kimyasal mediatörlerden, ilk keşfedilen histamin olmakla birlikte, sayıları giderek artmaktadır. Mediatörler, hasarlı dokudan, hücrelerden veya plazmadan köken alan çeşitli kimyasal maddelerdir (Bienvenu 1995). Genel özellikleri:

1- Plazmadan köken alanlar (örneğin: komplemanlar) biyolojik aktivitelerini kazanmak için bir dizi proteolitik değişiklikler geçirirler. Hücreden köken alan mediatörler normalde intrasellüler granüllerde (örneğin: histamin mast hücrelerinde) bulunur; ihtiyaç olduğunda salgılanır veya bir uyarıya karşı yeniden sentez edilirler (örneğin: prostaglandinler).

2- Aktive edilince ve hücreden salınıncı bu mediatörlerin çoğu kimyasal değişikliğe uğrar (örneğin: araşidonik asid metabolitleri) veya enzimler tarafından inaktive edilir (örneğin: kinaz bradikininini inaktive eder).

3- Hemen tümü hedef hücrelerdeki spesifik reseptörlere bağlanarak aktivite gösterirler.

4- Bir kimyasal mediatör hedef hücreye etkiyerek ikincil mediatör çıkışını uyarabilir. Bu ikincil mediatörler başlangıçtaki mediatörlere benzeyebilir veya aynı olabilir. Bununla birlikte karşıt aktivite gösterebilirler (Bienvenu 1995).

Spesifik kimyasal mediatörler aşağıda sınıflandırılmıştır:

1- Vazoaktif aminler: Histamin, serotonin

2- Plazma proteazları:

a) Kininler: Bradikinin, kallikrein

b) Kompleman sistemi: C3a, C5a, C5b-9

c) Koagülasyon-fibrinolitik sistem: fibrinopeptidler ve fibrin yıkım ürünleri

3- Araşidonik asit metabolitleri:

3-1- Siklooksijenaz yolu (prostaglandinler, tromboksanlar, endoperoksitler)

3-2- Lipoksigenaz yolu (lökotrienler, hidroperoksieikozatetraenoik asit (HPETE), hidroksieikozatetraenoik asit (HETE))

4- Lökosit ürünleri (Lizozomal proteazlar, serbest oksijen radikalleri)

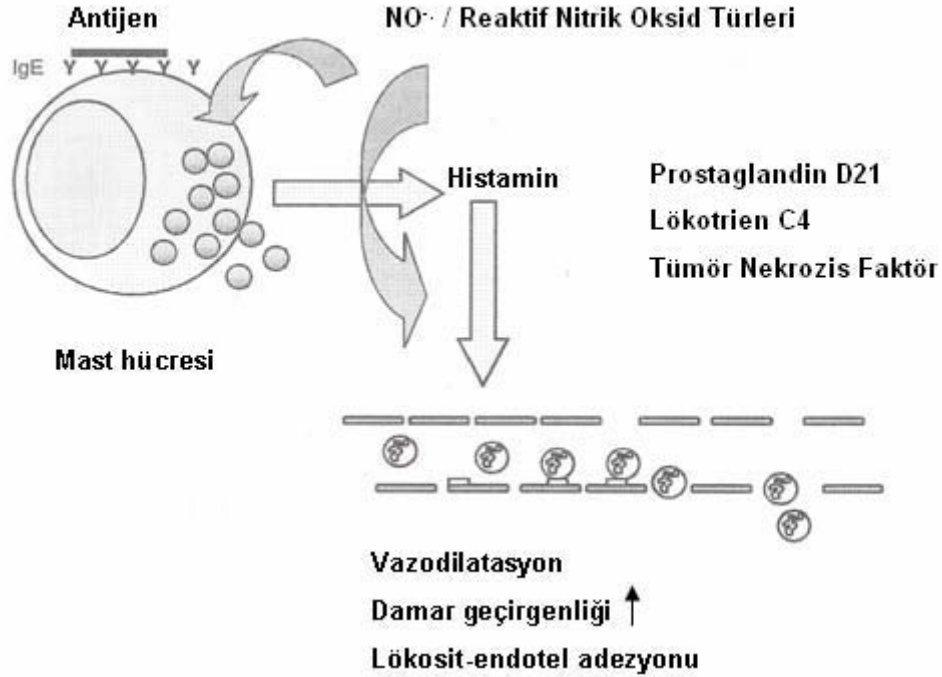
5- Trombosit aktive eden faktör (TAF)

6- Sitokinler

7- Büyüme faktörleri

8- Diğer mediatörler (Bienvenu 1995)

Mast hücreleri tarafından salınan kimyasal mediatörler damarlarda dilatasyona, endotel hücrelerinde kontraksiyona yol açar. Permeabilitenin artmasıyla yangı alanına nötrofil lökositlerin kemotaksisine gerçekleşir (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Mast hücre kaynaklı vasküler inflamatuvar olaylar (Metcalf ve ark 1997)

Dokuda gerçekleşen yangı durumunda ise makrofajların aktivasyonu ile süreç başlar. Doku makrofajları iki yol ile aktive olurlar. Bunlardan ilki immün olmayan aktivasyon yolu (endotoksin, fibronektin ve kimyasal mediatörler), ikincisi ise spesifik immünite ile aktive olmuş T lenfositlerden salınan sitokinlerin (örn: IFN- γ) aracılık ettiği yoldur. Aktive olan makrofajlardan ise oluşacak olan immün reaksiyonun çeşidine göre sitokinler salınır (IL-1,

TNF α) ya da bu makrofajlar işledikleri antijenleri T lenfositlere sunarak yangının seyrini belirler. Böylece yangısal reaksiyonların ne yönde ve nasıl gelişeceği makrofajlar tarafından belirlenmiş olur. Salınan bu sitokinlerin hem yersel hemde sistemik etkileri vardır. Yersel etki ile lenfositler, endotel hücreleri, fibroblastlar ve tekrar nötrofil lökositler uyarılır. Böylece

yangısal cevabın devamında endotelde PGI₂ (prostoglandin I₂) sentezi, IL-1, IL-6, IL-8

sentezi, lökositlerde ise IL-1 ve IL-6 gibi sitokinlerin üretiminde artış sağlanır (Hanada ve Youshimura 2002). Sistemik etkiyle ise vücut ısısının yükselmesi, iştah merkezinin baskılanması, belirgin bir uyku hali ve akut faz proteinlerinin artışı gerçekleşir. Akut faz proteinleri immünolojik hastalıklarda, doku yaralanmalarında veya enfeksiyonların sebep olduğu lokal veya sistemik hemostazisin bozulmasına karşı oluşan önemli sistemik bir reaksiyondur. Mikroorganizmalar veya travmalar tarafından etkilenen dokular kendi başına çok sayıda cevabı başlatır. İlk olarak proinflamatuvar sitokinler salınır, vasküler sistem ve yangısal hücreler aktive edilir. Bu cevapların oluşması ile sitokin ve dolaşımdaki diğer yangısal mediatörlerin üretimi artar (Dinarello 1989, Gruys ve ark 1994, Niewold ve ark 2003).

Görüldüğü gibi ilk olarak yangısal hücrelerden salınan çeşitli sitokinler bu hücrelerin yangı sırasında birbirleri üzerinde karşılıklı etki göstermelerini sağlamaktadır. Aktive olmuş lenfosit ve makrofajların her biri diğerini etkiler ve her iki hücre tipi, diğer hücreleri etkileyen yangısal mediatörleri salgılar. Bu şekilde birbirini sitokinlerle uyan hücreler yangının devamını sağlarlar. Makrofajlar ayrıca çeşitli büyüme faktörleri (trombosit derive edilen büyüme faktörleri-PDGF, fibroblast büyüme faktörü-FGF, transforming büyüme faktörü-TGF β), angiogenez faktörleri-FGF, kollegenazlar ve fibrojenik sitokinler salınımında görev alarak fibrozisi uyarabilirler. Bununla birlikte, yangıya yol açan etkeni ortadan kaldırmak için gerçekleşen bu reaksiyonlar sırasında aktive olan makrofajlardan organizmaya zarar verebilecek bir takım kimyasal ajanlar da salınabilir. Aktive olan makrofajlardan salınan toksik metabolitleri, proteazları, nötrofil kemotaktik faktörler, pıhtılaşma faktörleri, araşidonik asit metabolitleri gibi maddeler yangı alanında zararlı etken ve hedef doku arasında ayırım yapmadığı için önemli doku zedelenmelerine yol açabilir (Hanada ve Youshimura 2002).

1.3.Akut Faz Yanıt

Akut faz yanıt; doku hasarını sınırlandırmada, travma, enfeksiyon veya yangıyı takiben iyileştirmeyi stimüle etmede rol oynayan doğal bir savunma mekanizmasıdır. Klinik olarak ise ateş ve anoreksi ile kendini gösterir (McGrotty ve ark 2003). Ayrıca doku hasarına bağlı olarak ortaya çıkan yangı sürecindeki farklı sistemik ve lokal olayları tanımlamak için kullanılır. Diğer bir bakış açısından; akut faz proteini terimi, vücuttaki yanıtla ilişkili olarak bir dizi plazma proteinlerinin konsantrasyonlarındaki değişimleri ifade etmektedir. Bu değişimler karaciğerdeki protein sentezinde meydana gelen etkileşimlerin bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (Pannen ve Robotham 1995). Akut faz yanıtla bir organın daha fazla hasara uğramasının engellenmesi, enfeksiyöz ajanın izolasyonu ve yok edilmesi, zararlı moleküllerin ve artıkların uzaklaştırılması ve organın normal fonksiyonlarına dönebilmesi için gerekli olan onarım sürecinin başlatılması sağlanmaktadır (Baumann ve Gauldie 1994).

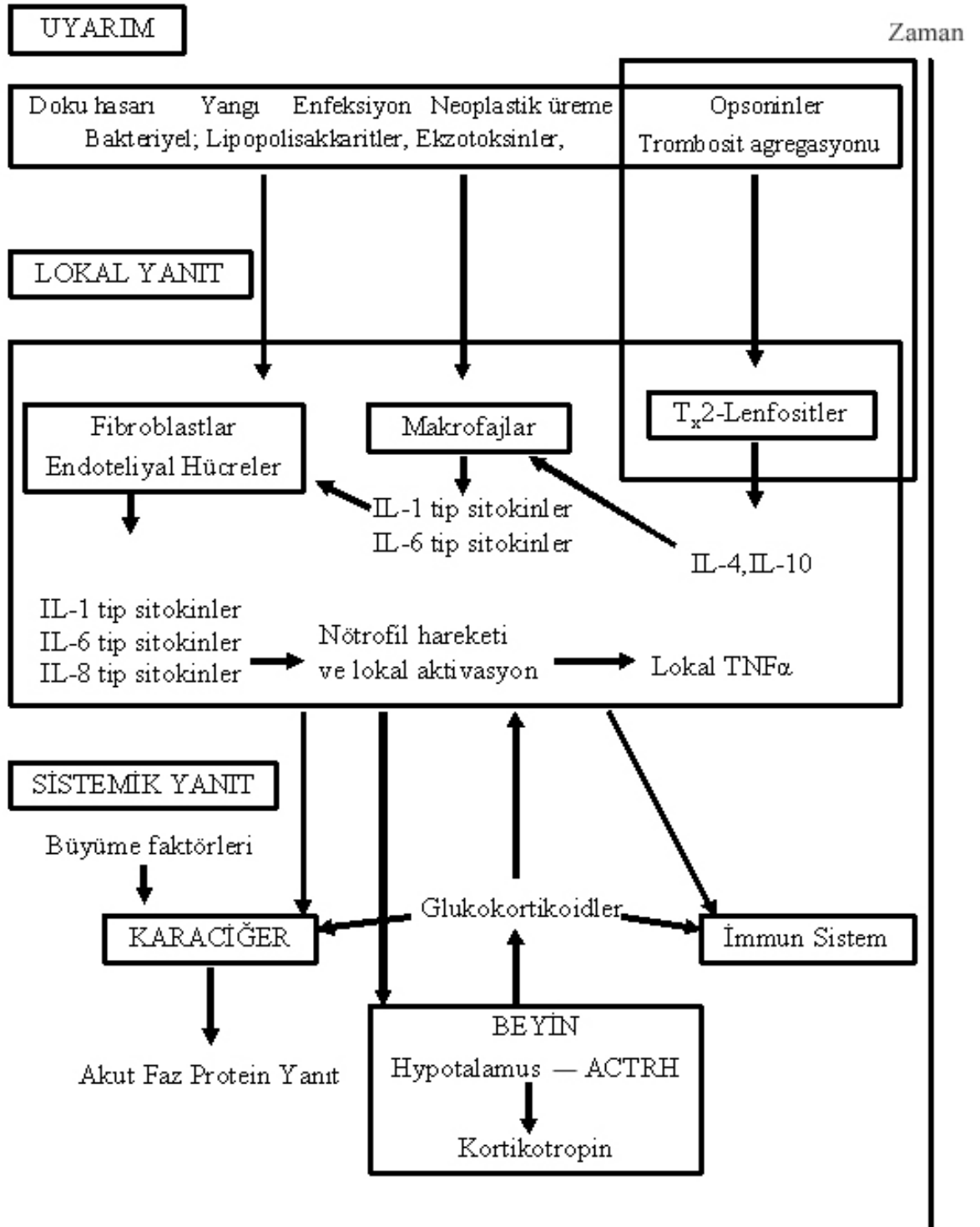
Akut faz yanıt gelişen doku hasarı sonrasındaki süreçte fizyolojik homeostazisin sağlanması ve yaşamın sürdürülebilmesi için ilk koşul olarak değerlendirilmektedir. Akut faz yanıt nonspesifik immün yanıtın bir parçasıdır ve uyarıcı durumların geniş bir dağılım göstermesinden dolayı bazı komponentleri değişkenlik göstermektedir. Akut faz yanıtı daha seçici olan sistemik yanıt takip etmektedir. Sistemik akut faz yanıtın karakteristik özellikleri arasında (i) ateş, (ii) nötrofili, (iii) lipid metabolizmasındaki değişiklikler, (iv) demir ve çinko düzeylerinde azalmalar, (v) glukoneogenezide artma, (vi) protein katabolizmasında artış ve kastan karaciğere aminoasit transferi, (vii) komplement ve koagülasyon sistemlerinin aktivasyonu, (viii) hormonal değişiklikler ve akut faz protein sentezi yer almaktadır (Kushner 1982, Baumann ve Gauldie 1994).

1.3.1. Akut Faz Yanıtın Başlatılması

Hasara uğrayan dokuda yangısal süreç genellikle doku makrofajları veya kandaki monosit hücreleri gibi mononükleer hücreler tarafından başlatılır. Bu hücreler; sitokinler, lipid mediatörler, vazoaktif aminler, komplement ve pıhtılaşma ürünleri, proteazlar, reaktif oksijen türleri ve nitrik oksit gibi geniş spektrumlu yangısal mediatörleri salarak lokal ve sistemik yangısal reaksiyonları oluştururlar (Olson ve ark 1995). Lokal reaksiyonlar, kapillar geçirgenlikteki artışı ve yangı bölgesine lökosit infiltrasyonunu kapsar. Artan kapillar geçirgenlik, dolaşım ve hasarlı doku alanı arasında proteinaz inhibitörleri, transport proteinler

ve iyonlar gibi birçok farklı moleküllerin geçmesine izin verir. Fagositik hücreler olan nötrofilik granülositler ve makrofajlar yabancı antijenlerin uzaklaştırılmasında anahtar rol oynar. Yangı bölgesine lökosit infiltrasyonu için lökositlerin endotele adhezyonları gerekir. Lökositlerin endotele adhezyonunu diapedezis takip eder. Yangısal odağa göçleri, farklı kemotaktik faktörlerin rehberliğinde gerçekleştirilebilir (Olson ve ark 1995).

Sitokinler farklı hücre tipleri tarafından oluşturulan multipotent polipeptidlerdir. Sentezleri yukarıda anlatılan yangısal mediatörler tarafından başlatılır. Tümör nekrosiz faktör- α (TNF- α), interlökin-1, interlökin-6 ve interferon- γ (IFN- γ) gibi proinflamatuvar sitokinler sistemik yangısal yanıtın başlatılabilmesi için gerekli olan başlıca maddelerdir (Kushner ve Mackiewicz 1993, Baumann ve Gauldie 1994, Murtaugh ve ark 1996). Lokal reaksiyon bölgesinde bu sitokinler fibroblastlar ve endotel hücreleri gibi stromal hücreleri aktive eder ve sitokinlerin ikinci salınımını başlatır (Baumann ve Gauldie 1994). İkinci dalga ve bu erken sitokinlerin dolaşımında görülmesi sistemik yangısal yanıtın başlatılmasından sorumludur (Şekil 1.4).



Şekil 1.4. Akut faz yanıtın mekanizması (Petersen ve ark 2004).

1.3.2. Akut Faz Yanıtın Sürdürülmesi

Akut faz yanıt klinik olarak; yangısal bulgular, ateş, iştahsızlık ve depresyon ile karakterizedir. Bu bulgular hasta hayvanlardaki homeostatik kontrol mekanizmalarındaki değişiklikler sonucu ortaya çıkmaktadır. Bunlar;

a) Endokrinolojik Değişiklikler: Akut faz yanıt süresince hormonal etkileşimler tartışılmakta ve farklı hayvan türlerinden elde edilen sonuçlar farklılıklar göstermektedir (Hirvonen 2000). Akut faz yanıtına bağlı olarak adreno-kortikotropik hormon, kortizol, adrenal katekolaminler, glukagon, insulin, büyüme hormonu, aldosteron, vasopressin ve prolaktin hormonlarının serum konsantrasyonları artış gösterirken (Paape ve ark 1974, Kushner 1982, Boosman ve ark 1990), akut dönemde renin, tiroksin ve gonadal steroidlerin serum konsantrasyonlarında azalmalar gözlemlendiği bildirilmektedir (Mandrup-Poulsen ve ark 1995). Akut faz yanıtta gelişen endokrinolojik değişikliklerin temel nedenleri tam anlamıyla açıklığa kavuşturulamamış olmakla birlikte, değişikliklerin vücuttaki enerji metabolizmasının uyarılması sonucunda oluştuğu düşünülmektedir (Hirvonen 2000).

b) Metabolik Değişiklikler: Akut faz yanıtın oluştuğu süreç içerisinde temel metabolik değişimler; protein metabolizmasında artma ve glukoneogenezisin gerçekleşmesidir. Gıda alımının azalmasıyla birlikte kas proteinleri yeni proteinlerin sentezi için gerekli olan aminoasitlere yıkımlanırlar bu doku yenilenmesi için gerekli olan kollojenlerin, immunoglobulinlerin ve hepatik akut faz proteinlerinin sentezi için gereklidir. Lenfosit ve fibroblastların proliferasyonunda da rol oynarlar (Jennings ve Elia 1996).

Aminoasitler ayrıca glukoneogenezis ve enerji üretimi için de kullanılmaktadır. Anabolik süreç dışında kas proteinlerinin katabolizması hasta hayvanda kilo kaybı ve negatif azot dengesi ile sonuçlanır. Böbrek, karaciğer ve akciğer gibi bazı merkezi organlar seçici olarak bu katabolizmadan korunmaktadırlar. Bunun nedeni tam olarak açık olmamakla birlikte, bu dokular akut faz yanıt sürecinde aktiviteleri sıklıkla artış gösteren retiküloendotelial sistemin önemli komponentleri olması ile ilişkilendirilmektedir (Jennings ve Elia 1996).

c) Hematolojik ve Biyokimyasal Değişiklikler: Akut faz yanıtın ilk saatlerindeki en önemli bulgulardan biri lökopeni ve sola kaymadır. Lökopeni, strese bağlı ortaya çıkan lenfosit azalmasından ve yangısal odağa nötrofil göçünden kaynaklanmaktadır. Erişkin nötrofillerin tükendiği noktada genç nötrofiller dolaşıma geçmekte ve belirgin bir sola

kaymaya neden olmaktadır (Kidd 1991, Jain 1993). Erişkin nötrofillerin azalmasından sonraki birkaç saat içinde kemik iliğinden granülopoz uyarılmaktadır. Bu durum akut yangının başlangıcından sonraki 1 veya 2. günlere denk gelmekte ve belirgin bir lökositoya neden olmaktadır (Jain 1993).

Akut faz yanıt sürecinde serumda bazı iz element konsantrasyonlarında değişimler meydana gelmektedir (Kushner 1982). Çinko ve demir düzeyleri azalmalar gösterirken plazma bakır konsantrasyonunda artışlar gözlenebilmektedir (Lohuis ve ark 1988, Otabe ve ark 2000). Bu iyon değişiklikleri katyonların bağlandıkları plazma proteinlerinde meydana gelen değişikliklerden, daha da önemlisi, hücresel mekanizmalardaki değişimlerden kaynaklanmaktadır (Otabe ve ark 2000).

d) Nörolojik Değişiklikler: Merkezi sinir sistemini baskılamasına bağlı olarak, akut faz yanıtın oluşması sürecinde uyku hali gelişebilmektedir. Yangısal alan sıklıkla ağrılıdır. Bradikinin gibi vazoaktif aminler akut faz yanıtta ağrı oluşumundan sorumludur (Baumann ve Gauldie 1994).

e) Immunolojik Değişiklikler: Akut faz yanıtın lenfosit aktivitesi, nötrofillerin bakterisidal etkinliği ve makrofajların fagositik aktivitelerinde azalma gibi immun sistemi baskılayıcı etkinlikleri bulunmaktadır (Kohler ve Prokop 1978, Kushner 1982).

1.3.3. Akut Faz Yanıtın Sonlandırılması

Akut faz yanıtın sonlandırılması için glukokortikoidler, interlökin-4 (IL-4), interlökin-10 (IL-10) ve belirli proinflamatuvar sitokinler için reseptör antagonistleri gibi birçok yangısal mediatörlere gereksinim duyulmaktadır. Akut faz yanıtın sonlanması ve organizmanın normal fonksiyonlarına dönebilmesi 1-2 günü bulabilmektedir. Akut yangı kronikleştiği takdirde akut faz yanıt da uzayabilmektedir (Baumann ve Gauldie 1994). Bu sürecin sonlanması ve organizmanın normal fonksiyonlarına ulaşabilmesi birkaç gününü alabilmektedir. Kısaca akut faz yanıt süreci birçok fizyolojik veya patofizyolojik olayı etkilemektedir (Jennings ve Elia 1996)

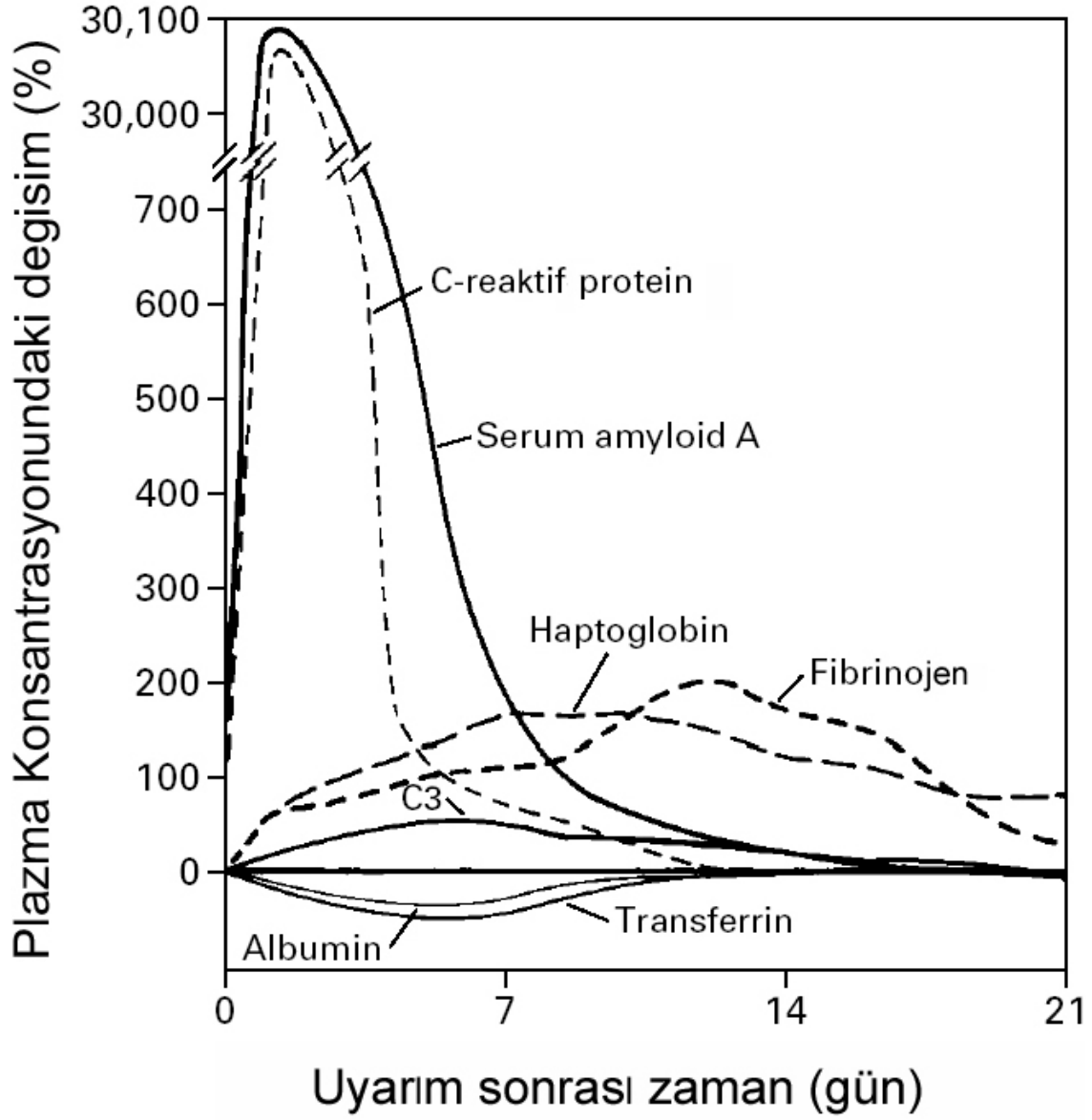
1.4. Akut Faz Proteinleri

İlk olarak Francis ve Tillet, 1930' lu yıllarda *Streptococcus pneumonia* enfeksiyonlarında bir proteinin plazma konsantrasyonunun arttığını göstermiş ve akut enfeksiyon anında artan bu proteine bakterinin C polisakkaritine karşı sentez edildiğini düşünerek CRP adını vermiştir (Kushner 1982). Daha sonraki araştırmacılar CRP ile birlikte bazı proteinlerin de konsantrasyonlarının arttığını bildirmişlerdir. Bunlardan bazıları, serum amiloid A protein(SAA), α_1 -antitripsin, seruloplazmin, haptoglobin gibi proteinlerdir. Akut uyarı sonucu konsantrasyonları değişen bu proteinlere Akut faz proteinleri denilmiştir. Bu proteinlerin sentezi genellikle karaciğerde olur. Akut faz proteini, immunoglobulinler gibi enfeksiyon ya da travma esnasında oluşan yangıya cevap olarak sentez edilirler. Ancak immunoglobulin değildirler. Konakçı savunma mekanizmasında önemli bazı görevler üstlendikleri bildirilmektedir (McGrotty ve ark 2003).

Herhangi bir inflamatuvar hastalık süresince plazma miktarları en az % 25 kadar artanlar pozitif akut faz proteini ve azalanlar negatif akut faz proteini olarak tanımlanır (Gruys ve ark 1994). Bu proteinler fagosit kaynaklı proteazların inhibisyonunda, hücrel atıkların temizlenmesinde, inflamatuvar olayın yönlendirilmesi ve inhibisyonu şeklinde fonksiyon görürler (Gruys ve ark 1994, Krüger ve ark 1995).

Akut faz proteini miktarında önemli değişikliğe neden olan durumlar ise; enfeksiyonlar, travmalar, cerrahi girişimler, yanıklar, nekrotik doku oluşumları ve çeşitli immünolojik hastalıklardır. Akut faz proteinlerinin miktarındaki artışın büyüklüğü ise; molekülün büyüklüğüne, yayılım hacmine, uyarının miktarına ve duyarlılığına, katabolizma oranına bağlıdır (Habif 2005). Plazma düzeyinde değişiklik görülen akut faz proteinleri, türler arasında farklılıklar olmasına rağmen genel olarak şu şekilde sınıflandırılabilir: (Gruys ve ark 1994, Krüger ve ark 1995, Diker 1998).

1. Düzeyi % 50 artanlar: Seruloplazmin, kompleman 3 (C 3)
2. Düzeyi 2-4 kat artanlar: Haptoglobin, fibrinojen, α -1 antitripsin, α -1asit glikoprotein
3. Düzeyi 100 kat artanlar: CRP, SAA
4. Düzeyi Azalanlar: Transferrin, Albümin, Prealbümin



Şekil 1.5. İnflamatuar uyarıyı takiben bazı pozitif ve negatif akut faz proteinlerinin serum konsantrasyonundaki değişiklikler (Clayes ve ark 2002).

1.4.1. Akut Faz Proteinlerinin Sentezi

Pekçok pozitif akut faz proteininin karaciğerden sentezi ve kana salınımı proinflamatuar sitokinlerin uyarımı ile başlatılır (Ceron ve ark 2005). Sitokinler farklı hücre tipleri tarafından oluşturulan multipotent polipeptitlerdir. TNF - α , IL-1, IL-6 ve interferon - γ

gibi proinflamatuvar sitokinler sistemik yangısal yanıtın başlatılabilmesi için gerekli olan başlıca maddelerdir (Baumann ve ark 1994, Murtaugh ve ark 1996).

Lokal reaksiyon bölgesinde bu sitokinler fibroblastlar ve endotel hücreleri gibi stromal hücreleri aktive eder ve sitokinlerin ikinci salınımını başlatır. İkinci dalga ve bu erken sitokinlerin dolaşımında görülmesi sistemik yangısal yanıtın başlatılmasından sorumludur (Baumann ve ark 1994). Hedef hücreler üzerine sitokinlerin etkileri; diğer sitokinler, hormonlar, reseptör antagonistleri ve dolaşan reseptörlerle artırılır veya azaltılabilir. bakteriyel infeksiyonların sebep olduğu akut faz cevapta; makrofajlardan salınan TNF- α ve sistemik endotoksinlere bağlı IL- 1 ve IL-6' nın salınımı önemlidir. (Baumann ve ark 1994).

Akut faz proteinleri konsantrasyonlarındaki artış basit inflamatuvar uyarımı takiben 4-5 saat içinde ölçülmeye başlar ve minimum 24 saat içinde anlamlı şekilde yükselme görülür (Regessa ve Noakes 1999, Subiela ve ark 2002). İlk yükselmeye başlayan akut faz proteini CRP ve α -1 Antikimotripsindir. CRP 6-8 saat içinde yükselmeye başlar ve 24 saat içinde pik seviyeye ulaşır. α -1 Antikimotripsin ve α -1 Antitripsin pik seviyeye 24 saat içinde ulaşır. Haptoglobin, C4 ve α -1 Asitglikoprotein düzeylerinde artış 3-5 gün içinde ortaya çıkar. Seruloplazmin düzeylerinde artış daha yavaş şekillenir. Pik seviyeye 4-10 gün içinde ulaşır (Burtis ve Ashwood 1999).

1. 4. 2. Akut Faz Proteinlerinin Sınıflandırılması

1. 4. 2. 1. Pozitif Akut Faz Proteinleri

1. 4. 2. 1. 1. C-reaktif protein (CRP)

CRP ilk kez Tillet ve Francis tarafından tanımlanmış ve pnömokok C polisakkariti ile presipite olma yeteneğinden dolayı C-presipitin adı verilmiştir. Önceleri antikor sanılan bu protein, değişik inflamatuvar durumlarda kanda ortaya çıkan bir protein olduğunun saptanması ve C polisakkariti ile tepkime verme özelliğinden yola çıkılarak CRP' nin yangının çok spesifik ve duyarlı bir göstergesi olduğu bulunmuştur. Hepatositlerde depolanmış olmadığından ilk uyarandan 6-10 saat sonra yeni sentezlenen CRP de görülmeye başlar ve 48 saat içerisinde maksimal seviyeye ulaşır. Kısa sürede normal değerlerine döner. CRP' nin dondurularak saklanmış serumlarda bakılabilmesi önemli bir üstünlüğüdür. Akut faz yanıtının büyüklüğü ile reaktanların miktarındaki artış genellikle doğru orantılıdır. Ancak bunu

etkileyen çeşitli faktörler olabilir. Örneğin, kronik yangılarda aktivitede artış dönemlerinde yanıtın büyüklüğü klinik tabloya göre beklenenden daha az olabilir (Ishak ve Hassan 1989).

CRP, karaciğerde IL-6' nin denetimi altında hepatositlerde sentezlenir ve akut faz yanıtının önemli mediatörlerinden biridir. CRP yangının nonspesifik bir göstergesi olmasının yanı sıra enfeksiyon, malignite ve otoimmün hastalıklar gibi birçok durum bu protein düzeylerinde artışa yol açabilir. CRP' nin kemotaksis ve nötrofillerin yıkımını engellediği, yangısal cevabının düzenlenmesinde, otoimmunizasyonun önlenmesinde, hasarlı dokuların temizlenmesinde, toksik otojen maddelerin detoksifiye edilip uzaklaştırılmasında ve enfeksiyonlardan korunmada önemli rol oynadığı belirtilmektedir (Mold ve ark 2002). CRP' nin arteosklerotik hastalık belirteçleri ile birlikteliğini konu alan bir çalışmada yükselmiş CRP trombotik risk için güçlü bir belirteç olarak nitelendirilmiştir (Folsom ve ark 2001).

CRP klasik akut faz proteindir ve yangısal süreçlerde genellikle şiddetli bir yükselme gösterir, normal değerın 1000 katı gibi değerlere ulaşabilir. Periton sıvısı, plevral sıvı, perikardial sıvı ve sinoviyal sıvıda da yüksek miktarlarda bulunabilir. CRP inflamatuvar olaylarda kanda en geç 18-24 saat içinde ortaya çıkar (Ishak ve Hassan 1989). İnfeksiyon hastalıkları açısından CRP düzeyi ölçümleri başlıca 3 durumda klinikte yararlı olmaktadır:

- a. Araya giren enfeksiyonların saptanması: Özellikle çok az akut yanıt uyandıran organik hastalıkların varlığında araya giren enfeksiyonların gösterilmesinde önemlidir.
- b. Başka hastalıklarla eş zamanlı seyreden enfeksiyonların tanısında değerlidir.
- c. Komplikasyonların izlenmesinde lökosit, sedimentasyon, ateş ve kalp hızından daha duyarlıdır.

1. 4. 2. 1. 2 Serum Amiloid A

Serum amiloid A (SAA), CRP gibi pentamer yapıdadır. Molekül ağırlığı 15 kD dur (Ceron ve ark 2005). Dolaşımında SAA1, SAA2 ve SAA4 olmak üzere 3 tipi vardır. SAA karaciğerde sentez edilir. Hücre dışına çıkan SAA HDL' ye bağlı olarak kanda taşınmaktadır. SAA üzerinde kalsiyum, laminin, heparin/heparan sülfat için bağlanma bölgeleri tanımlanmış olup bu bağlanmalarla ilişkili olarak yeni işlevlerden söz edilmektedir (Urieli ve ark 2000). İnfamatuvar durumlarda dolaşımdaki konsantrasyonunda çok yüksek artışlar meydana gelen

SAA lenfositlerce antikor oluşumunu engellemekte, trombosit aglütinasyonunu inhibe etmekte, kollojenazı inhibe etmekte, endotel hücrelerinde lökosit adezyonunu arttırmaktadır. Ayrıca hücre adezyonunu, migrasyon, proliferasyon ve agresyonunu da etkilediği gösterilmiştir (Jensen ve Whitehead 1998, Habif 2005).

İnflamatorik durumlarda, HDL yapısındaki Apo AI ve Apo AII düzeyi düşmekte ve SAA düzeyi artmaktadır (VanLenten ve ark 1995, Yamada 1999). Yapılan deneysel çalışmalar SAA' dan zengin HDL' nin makrofajlara bağlanma afinitesini arttırdığını göstermiştir. Bu durum doku tamiri için lipidlerin doku hasarı bölgesine taşınmasına aracılık eder (Cunnane ve Whitehead 1999).

Akut faz yanıtta en hızlı ve en fazla yükselen proteinlerden olan SAA ve CRP arasında bir kıyaslama yapıldığında SAA' daki artışın şiddetinin CRP' den fazla olduğu görülmüştür. SAA' nın fizyolojik düzeyleri CRP' den daha yüksek olduğu için hafif düzeydeki artışları saptamakta mümkün olmaktadır. Ayrıca SAA düzeyindeki artış CRP' den daha uzun sürmektedir (Orro ve ark 2008).

1. 4. 2. 1. 3. Haptoglobin

Haptoglobin, hemoglobin bağlayıcı protein olarak bilinmektedir. Haptoglobin, doku hasarı, enfeksiyon ve yangı sonucu karaciğerde üretilen bir akut faz proteindir (Young ve ark 1996, Nakagawa 1997, Petersen ve ark 2002). Bu protein kanın hemolizi ile oluşan plazmadaki serbest hemoglobini bağlayarak hem vücudun demir kaybını önlemek hem de serbest hemoglobinin böbrek tübülüslerinde çökmesine engel olmaktadır. Karaciğerden salgılanması; glikokortikoidler ve sitokinlerin kombinasyonu ile başlatılır (Higuchi ve ark 1994, Petersen ve ark 2002). Haptoglobin demir bağlar ve enfeksiyon boyunca demir kaybını önler ayrıca bakterinin kullanabileceği demir düzeyini en düşük düzeye indirir. Hp-Hb kompleksinin retikuloendotelial sistem aracılığıyla karaciğere yönlendirildiği ve Kupfer hücreleri tarafından metabolize edildiği düşünülmektedir (Petersen ve ark 2004).

1. 4. 2. 1. 4. Seruloplazmin

Tek bir polipeptid zincirinden oluşan ve bir α_2 -globulin olan seruloplazmin molekül başına altı bakır atomu bağlamaktadır (Eckersal ve Conner 1988). Yapısındaki bakır atomlarından dolayı saf protein mavi renklidir ve adını bu özelliğinden alır (Tietz 1989, Burtis ve Ashwood 1999). Seruloplazmin toksik ferro demirin, toksik olmayan ferri demire oksitlenmesini sağlar (Ceron ve ark 2005). Seruloplazmin demirle ilişkili serbest radikal yaralanmalardan dokuları korumakta, çeşitli antioksidatif ve sitoprotektif olaylarda da görev almaktadır (Murata ve ark 2004). Seruloplazmin plazmada antioksidan olarak görev yapmaktadır. Organik bileşiklerin oksijen ile kendiliğinden oksidasyonu sonucu oluşan, yaşam için tehlike oluşturan bileşikler, plazma ve dokularda bulunan antioksidanlar tarafından ortadan kaldırılmaktadır. Seruloplazminin sentezi bakır atomları tarafından stimüle edildiği gibi akut faz protein olarak bazı hastalıklarda seruloplazmin seviyesi yükselmektedir (Ceron ve ark 2005).

Seruloplazminin, plazmada bakır taşıyan bir proteindir (Silverman ve Christenson 1994, Wittum ve ark 1996). En önemli görevinin bakır vericisi olduğu düşünülmektedir (Silverman ve Christenson 1994, Krüger ve ark 1995, Wittum ve ark 1996). Plazma bakır içeriğinin %95' i diyalizle ayrılamayan bir formda seruloplazmine bağlı şekilde, kalan %5' lik kısım ise diyalizle ayrılabilir formda albümin ve histidin ile bağlı şekilde bulunur. Bakırın karaciğer ve barsak arasındaki taşınmasında bu diyalizle ayrılabilen formunun rol oynadığına inanılır (Krüger ve ark 1995, Wittum ve ark 1996).

Seruloplazmin organizmada bir antioksidan olarak görev yapar. Spontan olarak oluşan oksidasyon ürünleri pek çok organik madde ile reaksiyona girer ve yaşam için tehlikeli olabilir, fakat dokularda ve plazmada bulunan antioksidanlar bu zararı engeller. Seruloplazmin serbest oksijen radikallerinin oluşumunu ve lipid peroksidasyonunu engeller (Eckersal ve Conner 1988, Silverman ve Christenson 1994, Wittum ve ark 1996). Bir akut faz proteini olan seruloplazminin, akut faz yanıt sırasında konsantrasyonu artar ve bu artış %50' ye ulaşmaktadır (Silverman ve ark 1994, Wittum ve ark 1996, Regessa ve ark 1999). Yangıyı izleyen 3. günden itibaren yükselmeye başlar ve 4. günde pik seviyeye ulaşır (Yamamoto ve ark 1996, Kluge-Beckerman ve ark 1997).

1. 4. 2. 1. 5. Fibrinojen

Kanın pıhtılaşmasında önemli görevi vardır. Yangıda plazma düzeyi yükseldiği için akut faz yanıtta hasta teşhis ve takibinde de sıklıkla kullanılmaktadır. Fibrinojen (plazma koagülasyon faktör 1) karaciğer parenşim hücreleri mikrozomlarında sentezlenir. Plazma molekül ağırlığı en fazla olan proteindir. Bazı durumlarda hemostazı sağlamak için fibrine dönüşebilir (Kaneko 1980, Irish 1998). Fibrinojen eritrosit sedimantasyon hızı ile birlikte, yangı ve doku hasarının takibinde nonspesifik bir belirleyicidir. Disülfid bağlarıyla kovalent olarak bağlanmıştır ve birbirinden farklı üç çift polipeptit zincirinden oluşmaktadır. Glikoprotein yapıda bir hekzamerdir. Fibrinojenin artış nedenleri arasında; kanser, yanıklar, miyokard infarktüsü, artrit ve bakteriyel enfeksiyonlar yer alır (Thomas 2000). Fibrinojen karaciğer parenşim hücreleri mikrozomlarında sentezlenen, plazma molekül ağırlığı en fazla olan proteindir. Fibrinojen gerektiğinde hemostazı sağlamak için fibrine dönüşebilir. Bu çözünabilir fibrin pıhtının temelini oluşturduğu için pıhtılaşma işleminde önemli role sahiptir (Kaneko 1980, Irish 1998).

Fibrinojen konsantrasyonu, hepatik yetmezliklerde ve fibrinojenin kullanıldığı intravasküler koagülasyon hastalıklarında azalır. Bununla birlikte akut yangının pozitif göstergesi olarak kabul edilir (Tamzali ve ark 2001). Yangı ya da travmayı takiben düzeyinin %100 ' e yakın arttığı gösterilmiştir (Pfeffer ve Rogers 1989, Tamzali ve ark 2001). Fibrinojen yüzeysel fagositozu arttırarak fibrinöz eksudatların antibakteriyel savunmasına katkıda bulunur. Ayrıca ekstrasvasküler bölgeye geçerek hastalık gelişimini lokalize etmeye yardımcı olur (Kaneko 1980). Fibrinojenin artış nedenleri arasında kanser, yanıklar, miyokard infarktüsü, artrit ve bakteriyel enfeksiyonlar vardır (Thomas 2000).

1. 4. 2. 2. Negatif Akut Faz Proteinleri

1. 4. 2. 2. 1. Albümin

Albümin; plazmada en yüksek oranda (% 35-50) bulunan ve onkotik basıncın en önemli belirleyicisi olan proteindir (Thomas 2000). Serum albümin düzeyi sıklıkla beslenme durumunun değerlendirilmesi ve hastalığın ciddiyetinin belirlenmesinde kullanılmaktadır (Kaneko 1980). Ayrıca albümin, dokular için amino asit kaynağı olmasının yanı sıra birçok molekül ve iyonun transportunda rol almaktadır (Thomas 2000). Albüminin yarılanma süresi

türlere göre değişiklik gösterdiği ve değerlerin köpeklerde 8,2 gün, sığırlarda 16,5 gün ve atlarda 19,4 gün olduğu bildirilmektedir (Jain 1993).

Albümin düzeylerinde dehidrasyonla birlikte artışlar gözlemlenmektedir. Bu duruma hipoalbüminemi denilmektedir. Hipoalbüminemi; albümin kaybını (nefrotik sendrom veya glomerulonefritis), ekstrasvasküler boşluklara geçtiğini (vücut boşluklarında efüzyonlar, vaskülopati) veya üretiminin azaldığını (Karaciğer yetmezlikleri, malnutrisyon, malabsorbsiyon, maldigesyon, artan globülin üretimiyle ilişkili akut faz yanıt) göstermektedir (Thomas 2000). Eğer hastada bu durumlardan herhangi biri yoksa düşük albümin düzeyinin nedeni muhtemelen yangıdır (Kaneko 1980). Albüminin katabolizması doku hasarı ve yangısal durumlarda artar. Yıkılım ile beraber serum albümin oranı % 20-50 oranında azalabilir. Akut faz reaksiyon sırasında pozitif akut faz proteinlerinin hepatik mRNA' lardan sentezindeki artışa albüminin serum konsantrasyonundaki azalma eşlik eder (Gruys ve ark 1994).

1.4.3. Akut Faz Proteinlerinin Klinik Kullanımı

İnsan hekimliğinde sık kullanılan ve veteriner hekimlikte giderek artan oranda kullanılan bu proteinlerin düzeylerinin izlenmesi infeksiyonların ve yangı lezyonların belirlenmesinde değerli katkılar sağlar (Subiela ve ark 2002, Eckersall 2010). Doku hasarında artan akut faz proteinlerinin belirlenmesi yangının tanısının yapılmasına yardımcı olur (Conner ve ark. 1989, Kent 1992, Gruys ve ark 1994, Skinner ve Roberts 1994, Horadogada ve Eckersall 1994, Young ve ark 1996). Akut faz proteinleri kanın hücresel bileşenlerinden daha stabildir ve geçici fizyolojik değişikliklerden az etkilenir. Deneyler dondurulmuş serum örneklerinden yapılabilir. Akut faz proteinlerinin belirlenmesi doku travmalı ya da yangılı hayvanın izlenmesi kadar tedaviye verilen yanıtın izlenmesinde de kullanılabilir (Sellar ve ark 1991). Ayrıca akut faz proteinlerinin, et kontrolü açısından kesimden önce ölçülmesi infekte karkasın ortaya çıkarılmasında yarar sağlar (Kent 1992, Gruys ve ark 1994).

Akut faz proteinlerinin kullanım alanları türlere göre değişmekle beraber birçok alanda araştırmalarda yardımcı olmaktadır. Türlere özgü temel akut faz proteinlerinin ölçülmesiyle teşhiste, prognozda ve uygulanan tedavinin etkinliğinin gözlenmesinde önemli bilgiler sağlayacaktır. Fakat hastalığın dönemi (akut veya kronik) birden fazla AFP'lerin ölçülmesiyle daha iyi değerlendirilebileceği vurgulanır (Eckersall 2004). Son yıllarda yapılan araştırmalar

plazma veya serumdaki Akut faz protein konsantrasyon seviyelerinin hastalığın gözlenmesinde, prognozunda ve tespitinde önemli diagnostik bilgiler sağlandığı gözlenmiştir (Eckarsall 2000).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1.Gereç

2.1.1. Deney Hayvanı Materyali

Bu çalışmaya, Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulundan 1 Mart 2011 tarih ve 2011/018 sayılı etik kurul onayı alınarak başlandı. Tüm hayvan deneyleleri, Nisan-Mart 2012 tarihlerinde yapıldı. Bu çalışmada, ortalama 250-300 g ağırlığında 70 adet Wistar dişi rat kullanıldı. Deneme süresince hayvanlar Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesinde kontrollü odalarda (Isı 24± °C; ışık 12 saat aydınlık/12 saat karanlık) tutuldu. Hayvanlara yem ve su ad libitum olarak verildi.

2.1.2. Kullanılan Cihazlar

Bu çalışmada Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarlarında bulunan -20°C Derin Dondurucu (Ariston), ELISA okuyucu (Optik İvyemen System, İspanya); santrifüj (Nüve NF800R, Türkiye), spektrofotometre (Shimadzu UV1601, Avusturalya), benmari (Nüve, ST402, Türkiye), pH metre (Hanna, Amerika), hassas terazi (Sartorius, Almanya), SDS Elektroforez sistemi, güç kaynağı (Biorad, Amerika) ve otomatik pipetler (2-20 µl, 20-200 µl, 5-50 µl, 100-1000 µl) kullanıldı. İç Hastalıkları Anabilim Dalında bulunan veteriner kalibrasyonlu kan sayım cihazı olarak (Abacus, Junior Vet, Diatron MI LTD, Macaristan) kullanıldı. Total protein ve albümin analizleri İç Hastalıkları Anabilim Dalında bulunan otoanalizör (Sinnowa D280 Biyokimya Oto Analizörü, Çin) kullanılarak ticari kitlerle çalışıldı.

2.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler

Ratlarda nonenfeksiyöz yangı oluşturmak amacıyla Türbentin; enfeksiyöz yangı oluşturmak amacıyla *Staph. aureus* (10⁶ CFU) kullanıldı. Seruloplazmin analizinde, sodyum asetat, asetik asit, p-fenilendiamin; haptogloblin ve SAA analizlerinde ticari ELISA test kiti (Tridelta LTD, İrlanda); CRP analizi için rat spesifik ticari ELISA test kiti (AssayPro, Assay Max Rat CRP, Amerika) kullanıldı. Elektroforetik analizlerde %30 acrylamide/bis (37,5:1), (Merck, 1.00639.1000), amonyumpersülfat (Serva, 13375), temed (N, N,N,N, Tetra-methyl-

ethylenediamine) (Sigma 019K1140), trizma baz [Tris(hydroxymethyl) aminomethan] (Merck, 737 K00758282), sodyumdodesilsulfat (SDS) (Serva, 20760), gliserol (Merck, 534 K1001191), glisin (Merck, K27061401 007), brom fenol mavisi (Merck, 9714942), metanol (%96) (Merck, 106009), commasie brilliant blue R 250 (Merck, 102085), asetik asit (Riedel de Haen, 27225), adenozin (Sigma, A9251), sodyum dihidrojen fosfat (Merck, 106345), sodyum hidrojen fosfat (Merck, 159323) kullanılmıştır. WBC, hemoglobin ve hematokrit düzeyleri Adnan Menderes Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalında bulunan veteriner kalibrasyonlu kan sayım cihazında (Abacus, Junior Vet, Diatron MI LTD, Macaristan), total protein ve albümin analizleri İç Hastalıkları Anabilim Dalında bulunan otoanalizör (Sinnowa D280 Biyokimya Oto Analizörü, Çin) ile yapılmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. Deney Grupları ve Uygulama Protokolü:

Hayvanlar çalışma başlamadan üç hafta önce deney hayvanları ünitesinde alınarak ortama adapte olmaları beklendi. Çalışmada her biri 21 hayvandan oluşan 3 grup ve 7 hayvandan oluşan uygulama öncesi grubu oluşturuldu ve gruplardaki hayvanlara aşağıdaki işlemler uygulandı:

1.Grup: Enfeksiyon grubunda bulunan 21 rata *Staph. aureus* 10^6 CFU derialtı olarak verildi.

2.Grup: Non-infeksiyöz yangı grubunda bulunan 21 rata (Grup 2) 0,5 mg/kg türbentin yağı derialtı yolla uygulandı.

3.Grup: Kontrol grubundaki 21 rata derialtı serum fizyolojik verildi.

Uygulama öncesi (n=7) hayvandan örnekler alındı ve 0. gün olarak kabul edildi.

Kan örnekleri 1, 4 ve 7. günlerde rastgele seçilen 7' şer hayvandan eter anestezisi altında kalp içi olarak alındı.

2.2.2. Serum ve kan örneklerinin hazırlanması

Tüm hayvanlardan toplanan kan örnekleri 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri küçük porsiyonlara ayrıldı ve analiz yapıncaya kadar -20°C de saklandı. EDTA' lı kan örnekleri bekletilmeden kan sayım cihazında lökosit sayımları yapıldı.

2.2.3. Biyokimyasal ve Hematolojik Analizler

2.2.3.1.Serum CRP Düzeyinin Belirlenmesi

Prensip: Bu analiz rat CRP düzeyini ölçmek için kullanılan kantitatif kompetatif bir enzim immunoassay tekniğidir (AssayPro, Assay Max Rat CRP, Amerika). Rat CRP spesifik poliklonal antikor ile kaplı 96 kuyucuk bulunmaktadır CRP içeren standart ve örnekler kaplı kuyucuklarda peroksidaz konjugatı ve immobilize antikor ile bağlanma yapabilmek için biyotinlenmiş CRP ile yarışır. Daha sonra bağlı olmayan materyal yıkanır ve peroksidaz enzimi eklenir. Renk oluşumu durdurulur ve rengin şiddeti ölçülür.

Ayırıklar:

1. Rat CRP'sine karşı oluşmuş poliklonal antikor kaplı mikropate.
2. Rat CRP standardı (25 µg, liyofilize)
3. Biotinylated Rat CRP (liyofilize)
4. EIA Seyreltme solüsyonu (10×)
5. Yıkama solüsyonu (20×):
6. Streptavidin-Peroksidaz Konjugatı (SP Conjugate)
7. Kromojen Substrat
8. Durdurma solüsyonu: 0,5 N HCl.

Hazırlık:

1. Tüm ayırıklar ve serumlar oda ısısına getirildi.
2. EIA Seyreltme solüsyonu (10×): 1: 10 oranında sulandırıldı.

3. CRP Standart: 25 µg CRP standardı 1,25 ml EIA seyreltme solüsyonu ile sulandırılıp 20 µg/ml standart elde edildi. Standart solüsyon (20 µg/dl) 1: 4 oranında seyreltme solüsyonu ile seri sulandırılarak sırasıyla 5, 1.25, 0.313, 0.078 µg/ml konsantrasyonlarında seri standartlar elde edildi. Son tüpe standart çözeltiden konulmadı (0 µg/dl).

4. Biotinylated CRP: Liyofilize Biotinylated CRP 4 ml seyreltme solüsyonu ile sulandırıldı.

5. Yıkama solüsyonu konsantrasyonu (20x): 1: 20 oranında sulandırılıp kullanıldı.

6. SP conjugate (100x) 1: 100 oranında sulandırılarak kullanıldı.

Testin Yapılışı :

1. Tüm ayıraçların oda ısısına gelmesi beklendi.
2. Kuyucuklara hazırlanan standart ve örnekler konuldu (10 µl).
3. Tüm kuyucuklara 25 µl Biotinylated CRP eklendi. Bu ayıraçlar eklendikten sonra üzeri kapatılarak oda ısısında 2 saat bekletildi.
4. Daha sonra her bir kuyucuk 200 µl' lik yıkama solüsyonu ile 5 kez çok kanallı pipet yardımıyla yıkandı. Son yıkama yapıldıktan sonra plate üzerinde kalan solüsyonun fazlası kurutma kağıdı ile çektilirdi.
5. Kuyucukların üzerine 50 µl Streptavidin-Peroxsidase eklendi (Streptavidin-Peroxsidaz EIA içinde çözülür). 30 dakika oda ısısında inkübe edildi. Tekrar her bir kuyucuk 200 µl' lik yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı. Yıkama sonrasında yıkama solüsyonunun fazlası kurutma kağıdı ile alındı. Kuyucuklara 50 µl kromogen substrat eklenip 10 dakika beklendi.
6. Son işlem olarak tüm kuyucuklara 50 µl stop solüsyonu eklendi ve 450 nm dalga boyunda absorbansı ölçüldü.

Hesaplaması:

Standart çözeltiler kullanılarak grafik çizildi. Bilinmeyen örneğin konsantrasyonu standart eğriden belirlendi, çıkan sonuç sulandırma faktörü ile çarpıldı.

2.2.3.2. Serum Amiloid A Düzeyinin Belirlenmesi

Prensip: SAA ticari kiti kullanıldı (Tridelta LTD, İrlanda). Örnekler ve bilinen miktarda SAA içeren standartlar kuyucuklara eklendiğinde kuyucuktaki SAA spesifik monoklonal antikorla bağlanırlar, konjugat antikorla işaretlenir ve yıkama ile bağlanmamış materyal uzaklaştırılır. Konjugat eklenip inkübasyona bırakıldığında oluşan rengin şiddeti örnekteki SAA konsantrasyonu ile orantılıdır.

Ayırıcılar:

1. SAA kaplı plate
2. Yıkama solusyonu
3. Seyreltme solusyonu
4. SAA kalibratörü
5. Biotinylated anti SAA
6. Streptavidin-HRP
7. TMB Substrat
8. Durdurma Solusyonu

Testin Yapılışı :

1. Her kuyucuğa 50 µl seyreltilmiş Biotinylated anti-SAA eklendi.
2. Her kuyucuğa 50 µl 1:500 oranında sulandırılmış serum örnekleri ve standartlar kondu.
3. Plate kapatılarak 1 saat 37° C' de inkübe edildi.

4. İnkübasyondan sonra 4 kez yıkama işlemi yapıldı ve kurutuldu.
5. Her kuyucuğa 100 µl streptavidin-peroksidaz eklendi.
6. Kapatılarak, karanlıkta 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
7. Yıkama işlemi tekrarlandı.
8. Kuyucuklara 100 µl TMB substrat eklendi.
9. Plate kapatılarak 30 dakika oda ısısında inkübe edildi.
10. 50 µl durdurma solusyonu eklenerek reaksiyon durduruldu ve 450 nm dalga boyunda okundu.

Hesaplanması: Her örneğin, kontrol ve standardın absorbansı belirlendi. Standart grafik kağıdı kullanılarak kalibrasyon eğrisi hazırlandı ve örneklerin konsantrasyonu bu eğriden yararlanılarak belirlendi. Elde edilen sonuçlar sulandırma faktörü ile çarpıldı.

2.2.3.3 Serum Haptoglobin Düzeyinin belirlenmesi

Prensip: Serbest hemoglobin, düşük pH da peroksidaz aktivitesini inhibe eder. Haptoglobin hemoglobin ile bağlanır ve bağlı hemoglobin peroksidaz aktivitesini düşük pH da korur. Hemoglobinin peroksidaz aktivitesini koruması haptoglobin miktarını gösterir (ELİSA ticari kit-Tridelta LTD, İrlanda).

Ayırıcılar:

- 1.Hemoglobin
- 2.Hemoglobin diluent
- 3.Kalibratör
- 4.Kromojen
- 5.Substrat
- 6.Örnek sulandırıcı

Testin Yapılışı :

1. 7,5 µl örnek ve hazırlanmış standartlardan her kuyucuğa konuldu.

2. Standartlara ve örneklere 100µl Hemoglobin solüsyonu eklendi. Plate karıştırılarak örnek, standart ve hemoglobinin birleşmesi sağlandı.

3. Tüm kuyucuklara 140µl kromojen/substrat solüsyonu eklendi.

4. 5 dakika oda ısısında inkübe edildi ve 630 nm’de okundu.

Hesaplanması: Her örneğin, kontrol ve standardın absorbansı belirlendi. Standart kalibrasyon eğrisi hazırlandı ve örneklerin konsantrasyonu bu eğriden yararlanılarak belirlendi.

2.2.3.4. Serum Seruloplazmin Düzeyi Ölçümü

Sunderman ve Numato’ nun (1970) bildirdiği yöntem ile spektrofotometrik olarak yapılmıştır.

Prencip: Seruloplazmin, p-fenilendiaminin oksidasyonunu katalize ederek mavi-viyole renkli bir oksidasyon ürünü oluşturur. Renkli ürünün meydana gelme oranı serum seruloplazmin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

Ayırıcılar:

1. Substrat çözelti: 144 mg p-fenilendiamin (Sigma P-6001)100 ml asetat tamponda eritildi. (pH= 5,6)

2. Asetat tampon:1,34 ml asetik asit (Merck818755) 26,49 sodyum asetat (Merck 106264) 1 L distile suda eritildi. (pH=5,6)

3.Sodyum Azid (Merck 106688): 3g /100 ml sodyum azid içermektedir.

İşlem:

	Kör	Test
Sodyum azid	1 ml.	-
Substrat	5 ml.	5 ml.
Test serumu	0.1 ml.	0.1 ml.

37 °C de 15 dakika inkübe edildi

Sodyum azid	-	1 ml.
-------------	---	-------

546 nm de distile suya karşı kör ve test örneklerinin absorbansları okundu.

Hesaplanması

$$\% \text{ mg Seruloplazmin} = 237 \times (A \text{ test} - A \text{ kör})$$

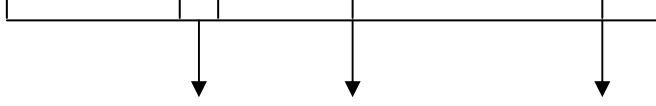
2.2.3.5. Plazma Fibrinojen Düzeyi Ölçümü:

Prensip: Millar Yöntemi kullanılarak belirlendi (Benjamin 1979). Fibrinojen 56-58 °C' de çöker ve diğer plazma proteinlerinden ayrılır. Bu şekilde mikrohematokrit kapiller tüpte çöktürülen fibrinojen ölçülerek plazma fibrinojen düzeyi belirlenebilir.

Testin Yapılışı: Alınan EDTA'lı kan örnekleri mikrohematokrit tüplere çekildi. Tüplerin ağzı kapatılıp mikrohematokrit santrifüjde 5 dakika çevrildi. Daha sonra tüpler 58°C' de su banyosunda 3 dakika tutuldu ve tekrar mikrohematokrit santrifüjde 3 dakika çevrildi. Daha sonra çökmüş fibrinojen tabakası oküler mikrometrik mikroskop yardımı ile ölçüldü ve gerekli hesaplamalar yapılarak fibrinojen düzeyi belirlendi.

Hesaplanması:

RBC F Serum



A B C

$$(AB/AC) \times 100 = \text{ml/dl}$$

$$(\text{ml/dl}) \times 100 = \text{mg/dl}$$

2.2.3.6. Total Protein ve Albümin analizi

Serum total protein ve albümin analizleri ticari kitler kullanılarak (Sinnowa D280 – China) biyokimya oto analizörü ile yapıldı.

2.2.3.7. WBC Analizi

EDTA' lı kan örneklerinden veteriner kalibrasyonlu kan sayım cihazı (Abacus, Junior Vet, Diatron MI LTD, Macaristan) kullanılarak lökosit sayımları yapıldı.

2.2.3.8. Serum Protein Elektroforezi:

Serum Proteinlerinin Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamit Jel (SDS-PAGE) Elektroforezi Laemmli (1970) tarafından geliştirilen yöntem ile yapıldı.

Prensip: SDS, anyonik bir deterjandır ve proteinlerdeki her iki aminoasitten birine bağlanarak proteini parçalar. Negatif yük taşıdığı için proteinin negatif yüklenmesine neden olur ve karışım içerisindeki tüm proteinler aynı yüke sahip olduklarından elektrik alanında tüm

proteinler pozitif yüklü kutba göç ederler. Molekül ağırlığı yüksek olan proteinler yavaş, düşük olanlar hızlı hareket edeceklerinden moleküllerin ağırlıklarına göre ayrılması sağlanır.

Kullanılan Ayıraçlar:

- 1. % 30 akrilamid-bisakrilamid solüsyonu:** 87,5 g akrilamid, 2,4 g N’N’ bismetilenakrilamid, Toplam hacim 300 ml ye tamamlandı. +4 °C de saklandı.
- 2. 4x Tris-HCL solüsyonu/SDS, pH: 8,8:** 18,2 g Tris baz 40 ml distile suda çözüldükten sonra 1 N HCl ile pH 8,8’ e ayarlandı. Toplam hacim 100 ml’ ye tamamlandı. 0,4 g SDS eklenip buzdolabında saklandı.
- 3. 4x Tris-HCL, pH: 6,8:** 6,05 g Tris baz 40 ml distile suda çözüldükten sonra 1 N HCl ile pH 6,8’ e ayarlandı. Toplam hacim 100 ml’ ye tamamlandı. 0,4 g SDS eklenip buzdolabında saklandı.
- 4. % 20 SDS:** 20 g SDS 100 ml distile suda çözüldü.

5. Örnek Tampon Çözeltisi:

0,5 Tris HCl pH=6,8	1 ml
Gliserol	0,8 ml
% 20 SDS	0,8 ml
Distile Su	4,8 ml
Betamerkaptoetanol	0,4 ml
% 0,05 Brom Fenol Mavisi	0,2 ml

6. Elektrot tampon Çözeltisi:

Trizma Baz	4,5 g
SDS	1 g
Glisin	21,6 g

Distile su ile 300 ml’ ye tamamlandı ve pH 8,5’ e ayarlandı. Kullanılincaya kadar +4 °C’ de saklandı.

Testin Yapılışı:

Protein kontaminasyonunu önlemek için deneyin yapılışı esnasında eldiven giyildi. Deneyde kullanılan cam ve diğer malzeme test öncesinde alkolle iyice temizlendi. Biri küçük diğeri daha büyük olan kendinden 0,75 mm aralıklı (Biorad) iki cam düzgün zeminde kısaçalı düzenek kullanılarak ayarlandı ve elektroforez standına yerleştirdi. Cam levhalardan sızıntı olup olmadığını kontrol etmek için camların arasında oluşan aralığa alkol ve distile su dolduruldu ve sızıntı olmadığı gözlemlendikten sonra sıvı düzenekten döküldü. Fazlalıklar kurutma kağıdı ile emdirilerek uzaklaştırıldı. Jellerin hazırlanmasında toksik maddeler kullanıldığı için çeker ocak içinde çalışıldı.

Ayrırma Jeli (%12) :

% 30 akrilamid, % 0,8 Bisakrilamid	6,0 ml
4x 1,5 MTris-HCL (pH8,8); %0,4 SDS	3,75 ml
Distile Su	5,25 ml
% 10 Amonyum persülfat	100 µl

Ayrırma jeli içerisine eklenen TEMED ve amonyum persülfat polimerizasyon işlemini başlattıkları için en son karışıma eklendi. Bir pipet yardımı ile karışım iki cam arasına aktarıldı. Cam aparatların yaklaşık 3/4' ü dolacak kadar hazırlanan karışımdan döküldü. Jelin polimerizasyonunu sağlamak için jelin üzerine havayla teması kesecek izo-bütanol enjekte edildi. Polimerizasyonu kontrol etmek için hazırlanan karışımın fazlalık kalan kısmından yararlanıldı. Karışım hava ile temas halindeyken donduğu zaman jelin tam anlamıyla polimerize olduğu anlaşıldı. Bütanol önce sistemden döküldü fazlalıklar da kurutma kağıdı ile sistemden uzaklaştırıldı.

Konsantrasyon Jeli (%4) :

% 30 akrilamid, % 0,8 Bisakrilamid	670 µl
4x 1,5 MTris-HCL (pH6,8); % 0,4 SDS	1225 µl
Distile su	40 µl
% 10 Amonyum persülfat	4 µl

Kalan boşluğa konsantrasyon jeli döküldü ve kuyucuk oluşturmak için tarak yerleştirildi ve bir saat beklendi. Konsantrasyon jeli dökülürken hava kabarcığı kalmaması için jel yavaşça

karıştırıldı. Oluşan kabarcıklar pipet ucuyla uzaklaştırıldı. Taraklar yavaşça kabarcık oluşturmuyacak şekilde takıldı.

Serum örneklerinin hazırlanması:

Total protein düzeyleri belirlenen serum örnekleri her bir örnekte 10 µg protein olacak şekilde sulandırıldı ve 0,25 µl örnek 0,25 µl örnek tampon çözeltisi ile karıştırıldı. 95 °C 3 dakika beklendi.

Arasında jel bulunan levhalar elektroforez tankına yüklendi ve elektrot tampon çözeltisi jelin üzerinden taşmayacak şekilde dolduruldu. Taraklar çıkarıldıktan sonra hazırlanan örneklerden 10 µl kuyuculara konuldu. Her jelde 1. kuyucuğa protein standardı (marker-Sigma) eklendi. 20 Ma sabit akım ile elektroforez işlemi başlatıldı ve 1 saat boyunca, örnek tampon çözeltisi içinde bulunan brom fenol mavisinin jeli terk etmesine izin verilmeden, işlem sürdürüldü.

Jellerin Boyanması (Brilliant-Coomassie Blue ile boyama) :

Boyama solüsyonu (staining solution)

% 10 asetik asit

% 0,1 Coomassie Blue

% 50 Metanol

Arıtma Solüsyonu (destaining solution)

% 7asetik asit

% 10 metanol

Jelimiz boyama solüsyonu içerisinde 1 saat bekletildikten sonra mavi boyanın uzaklaştırılıp, bantların görünür hale gelmesine kadar arıtma solüsyonu içerisinde bekletildi.

Değerlendirilmesi:

Bantların tam anlamıyla görünür olması için bekletildikten sonra özel zemin üzerinde fotoğrafları çekildi.

2.2.3.9. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS 11,5 Paket program 2 kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenler Ortalama±Standart Hata şeklinde sunuldu. $p < 0,05$ 'den küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Gruplar arası farklılıkların belirlenmesinde one-way ANOVA (Analysis of Variance) testi kullanıldı.

3.BULGULAR

Çalışmada bulunan deneme gruplarının günler ve gruplar arası ortalama Haptoglobin, seruloplazmin, fibrinojen, WBC sonuçları Çizelge 3.1' de gösterildi.

Çizelge 3.1.Gruplara ait ortalama serum haptoglobin, seruloplazmin, fibrinojen, WBC sonuçları

Parametreler	Gruplar	0.GÜN X±Sx	1.GÜN X±Sx	4.GÜN X±Sx	7.GÜN X±Sx	P
Haptoglobin (g/L)	Serum Fizyolojik	0,84±0,08 ^d	1,28±0,27 ^{cdBC}	1,32±0,26 ^{cd}	2,23±0,10 ^{aA}	***
	Türbentin		1,90±0,13 ^{bcAB}	1,35±0,22 ^{cd}	2,41±0,23 ^{aA}	***
	<i>Staph. aureus</i>		2,10±0,2 ^{abA}	1,43±0,25 ^{bcd}	1,81±0,14 ^{bcB}	***
	P		**	ÖD	***	
Seruloplazmin (mg/dl)	Serum Fizyolojik	26,51±1,78 ^e	33,62±2,38 ^{cde}	42,32±3,36 ^{bcB}	26,88±1,21 ^{eB}	***
	Türbentin		32,50±2,26 ^{de}	57,18±5,34 ^{aA}	42,42±3,36 ^{bcA}	***
	<i>Staph. aureus</i>		32,12±3,20 ^{de}	45,60±3,98 ^{bb}	38,93±1,89 ^{bcdA}	***
	P		ÖD	***	***	
Fibrinojen (mg/dl)	Serum Fizyolojik	395,04±47,11 ^d	450,13±51,42 ^{cdC}	390,84±39,28 ^{cdB}	438,06±20,23 ^{dB}	ÖD
	Türbentin		680,96±85,69 ^{bb}	747,07±46,77 ^{bA}	616,96±54,92 ^{bA}	***
	<i>Staph. aureus</i>		947,48±49,15 ^{aA}	734,48±53,33 ^{bA}	590,73±53,45 ^{bcA}	***
	P		***	***	**	
WBC (10³/µl)	Serum Fizyolojik	5,88±0,89 ^{bc}	6,43±0,84 ^{bcA}	4,69±0,61 ^{cB}	4,91±0,51 ^{cB}	***
	Türbentin		2,58±0,56 ^{dB}	5,55±0,89 ^{cB}	5,84±0,68 ^{bcB}	***
	<i>Staph. aureus</i>		5,01±0,60 ^{cA}	8,02±0,47 ^{bA}	10,24±0,93 ^{aA}	***
	P		**	*	***	

abc: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arası (0, 1, 4,7. günler arası) istatistiki fark önemli (**p<0,001; *p<0,01; *p<0,05)ABC: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arası(Serum Fizyolojik, Türbentin, *Staph. aureus*) istatistiki fark önemli (**p<0,001; *p<0,01; *p<0,05)

Çalışmada bulunan deneme gruplarının günler ve gruplar arası ortalama serum CRP ve SAAdeğerleri Çizelge 3.2’ de gösterildi.

Çizelge 3.2. Gruplara ait ortalama serum CRP, SAA değerleri.

Parametreler	Gruplar	0.GÜN X±Sx	1.GÜN X±Sx	4.GÜN X±Sx	7.GÜN X±Sx	P
CRP (µg/ml)	Serum Fizyolojik	2,59±0,66	4,14±1,27	4,37±1,12	3,27±0,51	ÖD
	Türbentin		3,32±0,54	3,96±0,62	4,58±1,54	ÖD
	<i>Staph. aureus</i>		5,94±2,45	2,93±0,19	4,96±2,19	ÖD
	P		ÖD	ÖD	ÖD	
SAA (ng/ml)	Serum Fizyolojik	3,80±0,45	5,04±0,72	4,71±0,84	4,81±0,69	ÖD
	Türbentin		5,34±0,78	5,14±0,69	5,07±0,91	ÖD
	<i>Staph. aureus</i>		5,01±0,85	5,14±0,69	4,88±0,72	ÖD
	P		ÖD	ÖD	ÖD	

ÖD: İstatistiki olarak önemli değil.

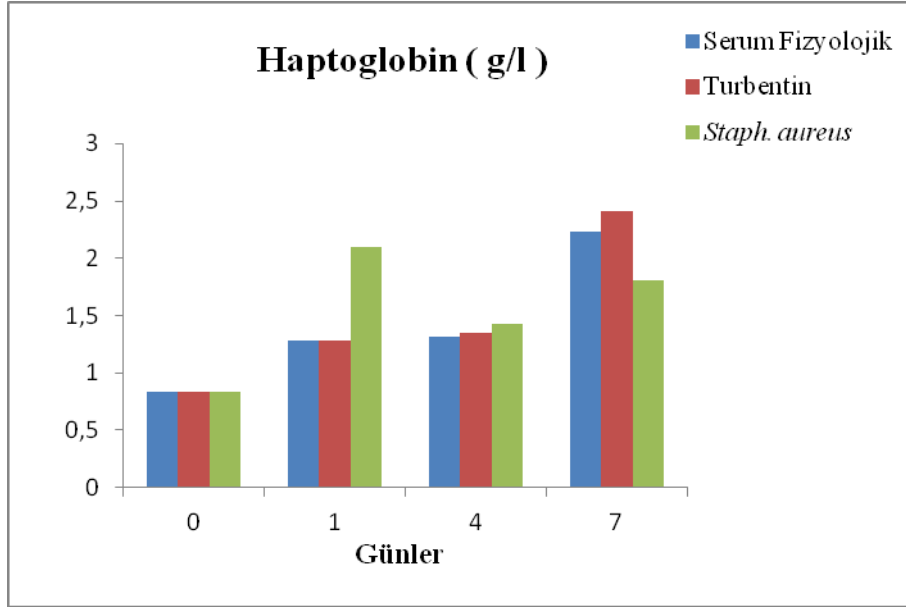
Çalışmada bulunan deneme gruplarının günler ve gruplar arası ortalama serum total protein ve albümin ise Çizelge 3.3’ de gösterildi.

Çizelge 3.3. Gruplara ait ortalama Total Protein ve Albümin sonuçları.

Parametreler	Gruplar	0.GÜN X±Sx	1.GÜN X±Sx	4.GÜN X±Sx	7.GÜN X±Sx	P
Total Protein(mg/dl)	Serum Fizyolojik	8,75±0,13 ^a	8,70±0,11 ^a	8,33±0,22 ^{abcA}	7,12±0,15 ^{efB}	***
	Türbentin		8,71±0,15 ^a	7,6±0,36 ^{deB}	6,95±0,19 ^{fB}	***
	<i>Staph. aureus</i>		8,41±0,10 ^{ab}	7,80±0,09 ^{cdB}	7,82±0,21 ^{bcdA}	***
	P		ÖD	***	***	
Albümin (mg/dl)	Serum Fizyolojik	5,20±0,13 ^a	5,21±0,07 ^a	4,88±0,13 ^{abAB}	4,06±0,08 ^{cC}	***
	Türbentin		5,14±0,06 ^a	4,42±0,14 ^{bcBC}	4,34±0,09 ^{bcBC}	***
	<i>Staph. aureus</i>		5,32±0,04 ^a	5,53±0,67 ^{aA}	4,90±0,17 ^{abA}	ÖD
	P		ÖD	***	***	

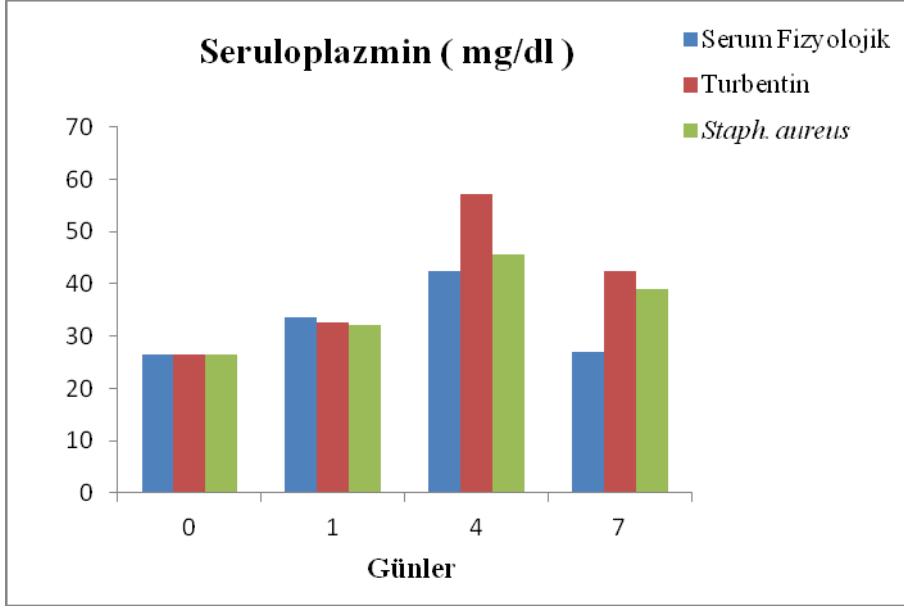
abc: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arası (0, 1, 4, 7. günler arası) istatistiki fark önemli (**p<0,001)ABC: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arası(Serum Fizyolojik, Türbentin, *Staph. aureus*) istatistiki fark önemli (**p<0,001)

Ortalama serum Haptoglobin konsantrasyonları sonuçları Çizelge 3.1’de ve Şekil 3.1’de gösterildi. Uygulama sonrası türbentin ve *Staph. aureus* grubunda 1, 4 ve 7. günlerde 0. Güne göre istatistiki önemde bir artış görülmesine rağmen serum fizyolojik grubunda sadece 7. günde istatistiki önemde bir artış olduğu belirlendi. Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında ise sadece 1. gün *Staph. aureus* grubunun ortalama haptoglobin değerinin diğer gruplardan yüksek olduğu belirlendi.



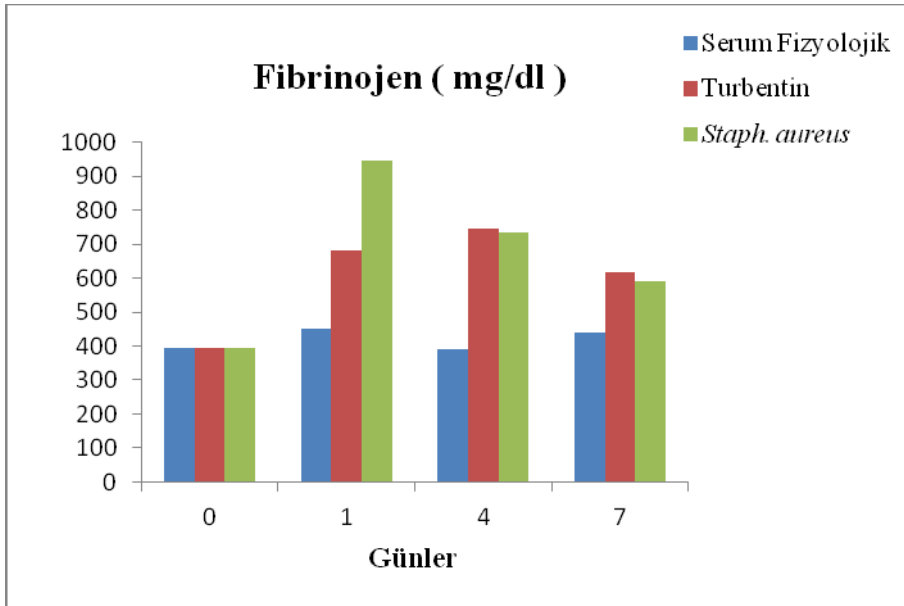
Şekil 3.1. Serum Fizyolojik, Türbentin ve *Staph. aureus* gruplarının haptoglobin sonuçları

Ortalama serum seruloplazmin konsantrasyonları sonuçları Çizelge 3.1’ de ve Şekil 3.2’ de gösterildi. Ortalama serum seruloplazmin sonuçları uygulamaları takiben her 3 grupta yükseldi ve artışın oranı istatistiki olarak anlamlı ($p < 0,001$) bulundu. Serum seruloplazmin konsantrasyonu serum fizyolojik grubunda 7. günde normal düzeye inerken, türbentin ve *Staph. aureus* gruplarında 7. günde de yüksek seyretti. Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında her üç grup uygulamalara benzer yanıt verirken 4. gün türbentin grubunu seruloplazmin konsantrasyonunun oldukça yüksek ($57,18 \pm 5,32$ mg/dl) düzeyde olduğu görüldü. 7. günde ise serum fizyolojik grubu ortalama seruloplazmin düzeyinin uygulama öncesi düzeye indiği ve bu düzeyin; 7. gün türbentin ve *Staph. aures* gruplarından istatistiki düzeyde düşük olduğu belirlendi.



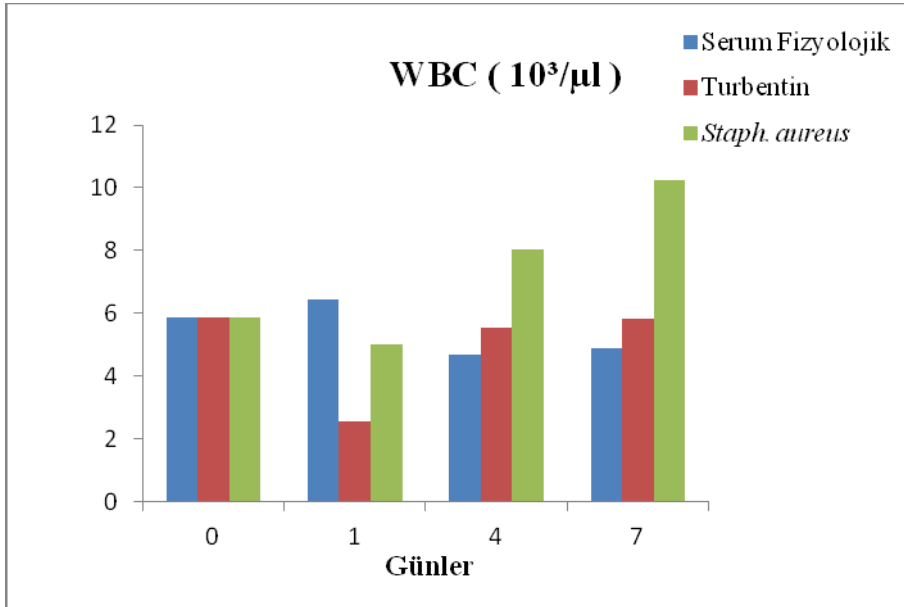
Şekil 3.2.Serum Fizyolojik, Türbentin ve *Staph. aureus* gruplarının seruloplazminsonuçları.

Ortalama kan fibrinojen konsantrasyonları sonuçları Çizelge 3.1’ de ve Şekil 3.3’ de gösterildi. Kan fibrinojen düzeyleri türbentin ve *Staph. aureus* gruplarında uygulamaları takiben istatistiki düzeyde önemli artışlar gösterirken serum Fizyolojik grubunda 0, 1, 4 ve 7. günler arasında herhangi bir farklılık belirlenemedi. Bu parametredeki en şiddetli artış eğilimi *Staph. aureus* grubunda 1. günde, türbentin grubunda 4. günde gözlemlendi. Her iki grupta da 7. gün fibrinojen değerlerinin azalma eğilimine geçtiği gözlemlendi.



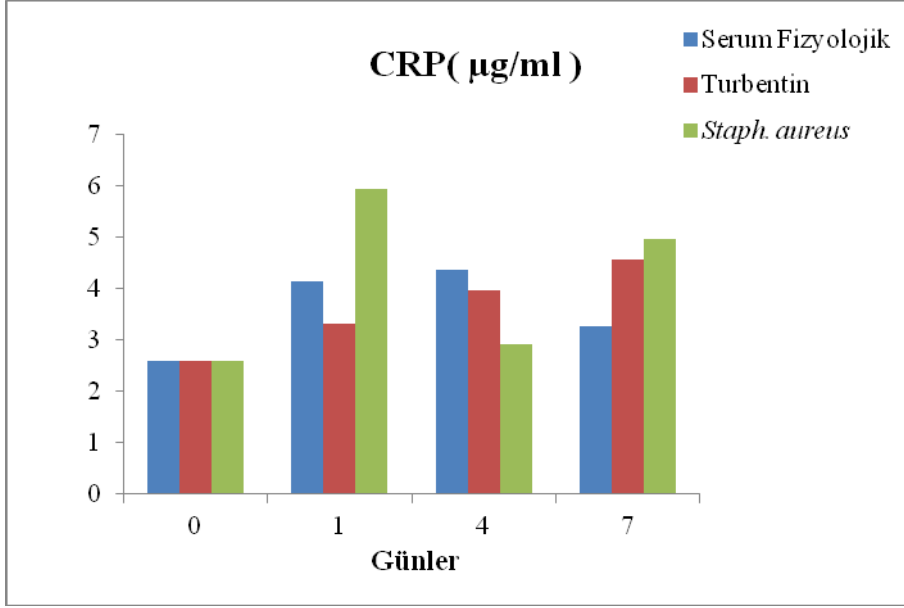
Şekil 3.3.Serum Fizyolojik, Türbentinve*Staph. aureus* gruplarının fibrinojen sonuçları

Ortalama kan WBC düzeyleri sonuçları Çizelge 3.1' de ve Şekil 3.4'de gösterildi. Elde edilen sonuçlara göre serum fizyolojik uygulanan grubun günler arası WBC değerleri karşılaştırıldığında herhangi bir istatistiki fark belirlenemedi. Türbentin ve *Staph. aureus* uygulanan gruplarda ise uygulama sonrası değişiklikler istatistiki olarak önemli bulundu ($p < 0,001$). Türbentin uygulanan grupta uygulama sonrası 1. gün WBC düzeyinin azaldığı fakat 4 ve 7. günlerde önemsiz miktarda yükselme belirlendi. *Staph. aureus* uygulanan grupta ise artış 1. gün başlayıp, giderek artan şekilde devam etti. 7. günde WBC düzeyi pik yaparken tüm günlerde, serum fizyolojik, türbentin ve *Staph. aureus* grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiki önemde bir fark belirlendi ($p < 0,001$). En yüksek WBC düzeyinin infeksiyöz yangı grubu olan *Staph. aureus* grubunda olduğu görüldü.

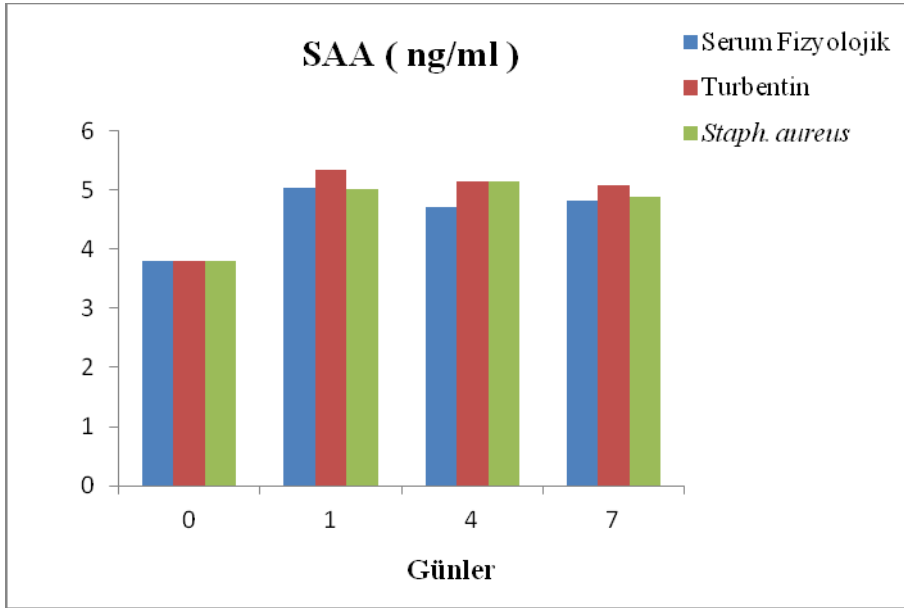


Şekil 3.4. Serum fizyolojik, Türbentin ve *Staph. aureus* gruplarının ortalama WBC düzeyleri

Serumlardaki ortalama CRP ve SAA sonuçlarının günlere göre değişimleri Çizelge 3.2' de ve Şekil 3.5 ve 3.6'de gösterildi. Ortalama CRP düzeylerinin her üç grupta uygulamayı takiben 1. ,4. ve 7. günlerde arttığı gözlemlendi ancak bu artışın istatistiki olarak önemli olmadığı belirlendi. Serum CRP düzeylerindeki en belirgin artış, *Staph. aureus* grubunda olduğu gözlenirken yine bu yüksekliğin istatistiki açıdan önemli olmadığı bulundu. Benzer şekilde ortalama serum SAA düzeyleri de her 3 grupta artış eğilimi gösterdi ancak istatistiki anlamda bir fark saptanamadı. SAA düzeylerinde en belirgin artışın türbentin uygulanan grupta, uygulama sonrası 1. günde önemsiz bir artış ortaya çıktığı görüldü.

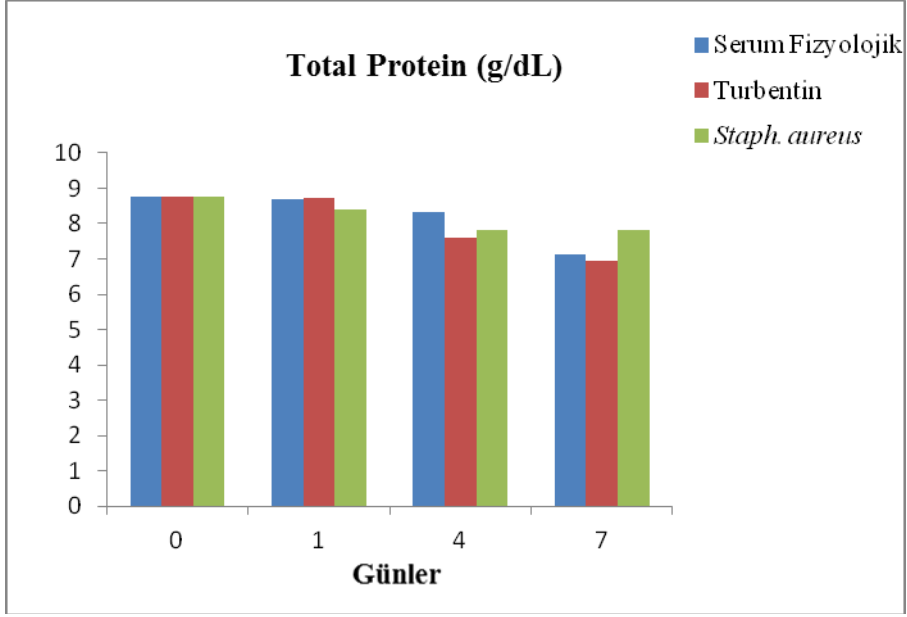


Şekil 3.5. Serum Fizyolojik, Turbentin ve *Staph. aureus* gruplarının CRP sonuçları



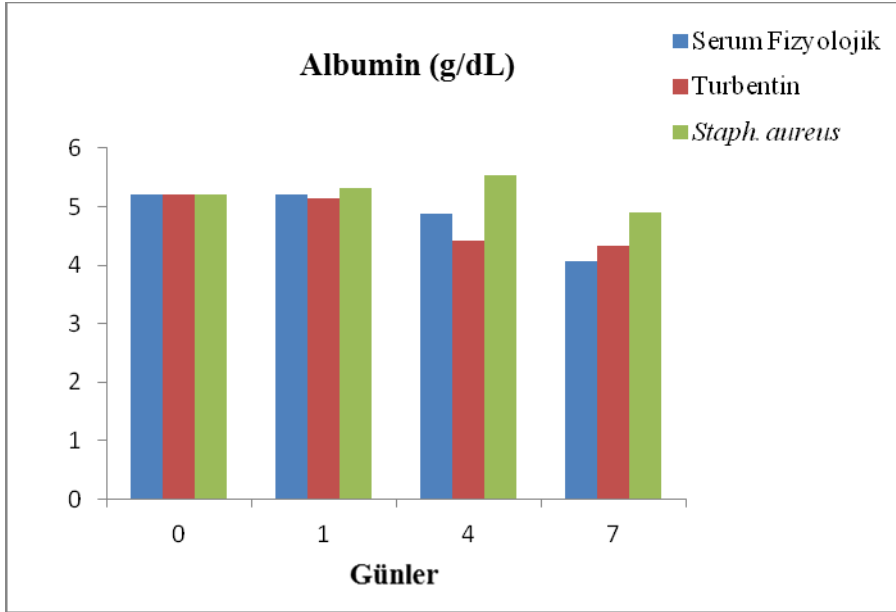
Şekil 3.6. Serum Fizyolojik, Turbentin ve *Staph. aureus* gruplarının SAA sonuçları.

Ortalama serum Total protein düzeyleri sonuçları Çizelge 3.3' de ve Şekil 3.7'de gösterildi. Elde edilen bulgulara göre serum fizyolojik grubunda 1 ve 4. günlerde uygulama öncesine göre bir fark belirlenemezken 7. gün total protein değerlerinin anlamlı düzeyde azaldığı saptandı. Turbentin ve *Staph. aureus* gruplarında 4 ve 7. günlerde önemli düzeyde azalma görüldü.



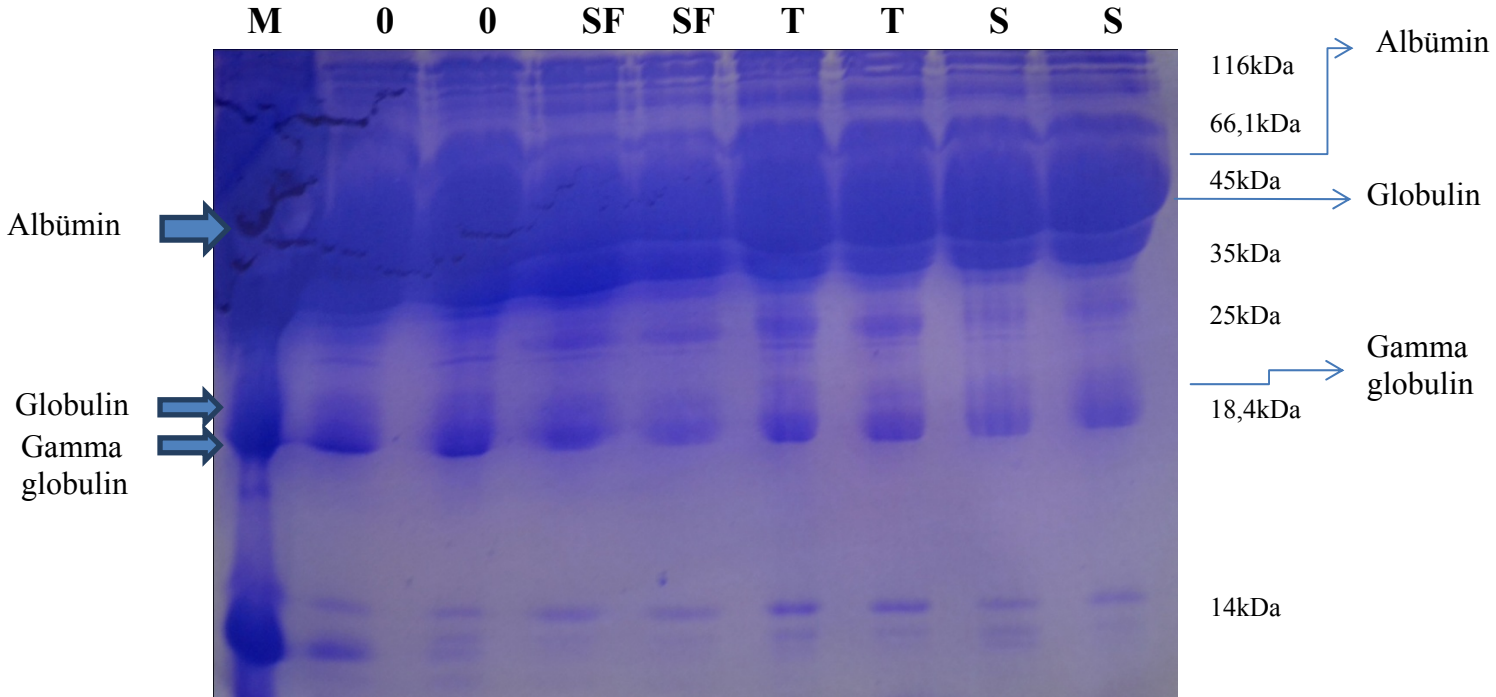
Şekil 3.7. Serum Fizyolojik, Türbentinve*Staph. aureus* gruplarının total protein sonuçları

Gruplara ait ortalama albümin konsantrasyonları Çizelge 3.8’ de ve Şekil 3.3’de verildi. Serum fizyolojik grubunda 7. gün bir azalma görülürken türbentin grubunda 4 ve 7. gün albümin konsantrasyonlarının düştüğü belirlendi. *Staph. aureus* grubunda 7. günde bir azalma görülmesine rağmen bu değer istatistiki olarak uygulama öncesinden farklı bulunamadı.

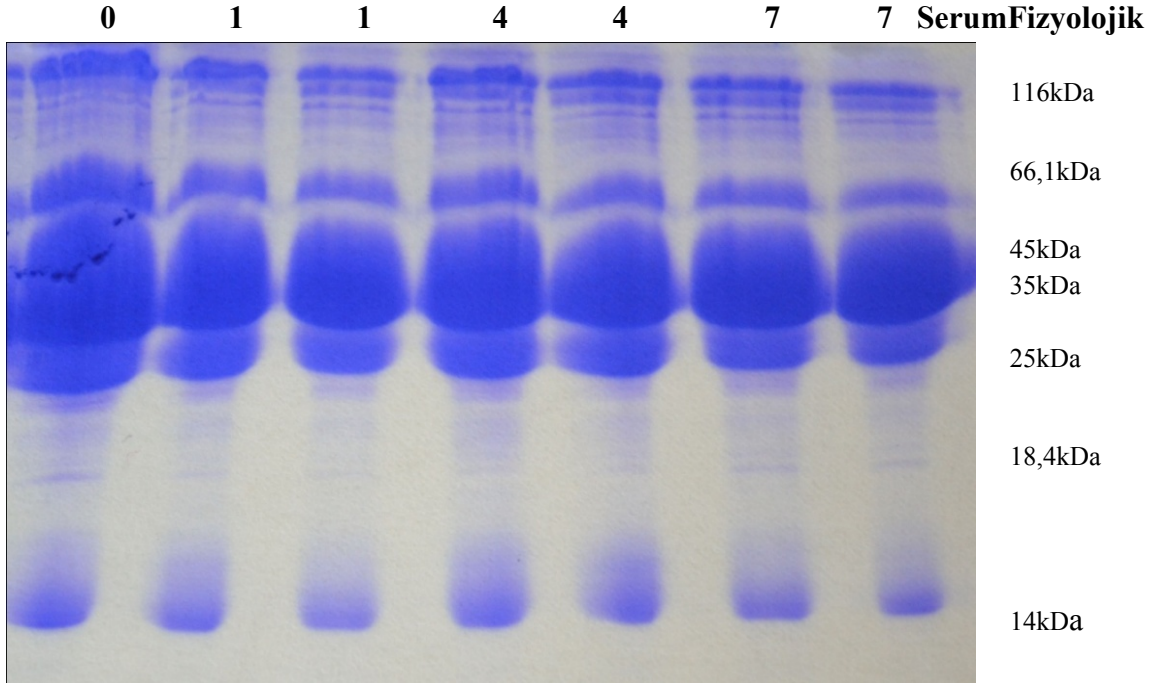


Şekil 3.8. Serum Fizyolojik, Türbentin ve *Staph. aureus* gruplarının albümin sonuçları

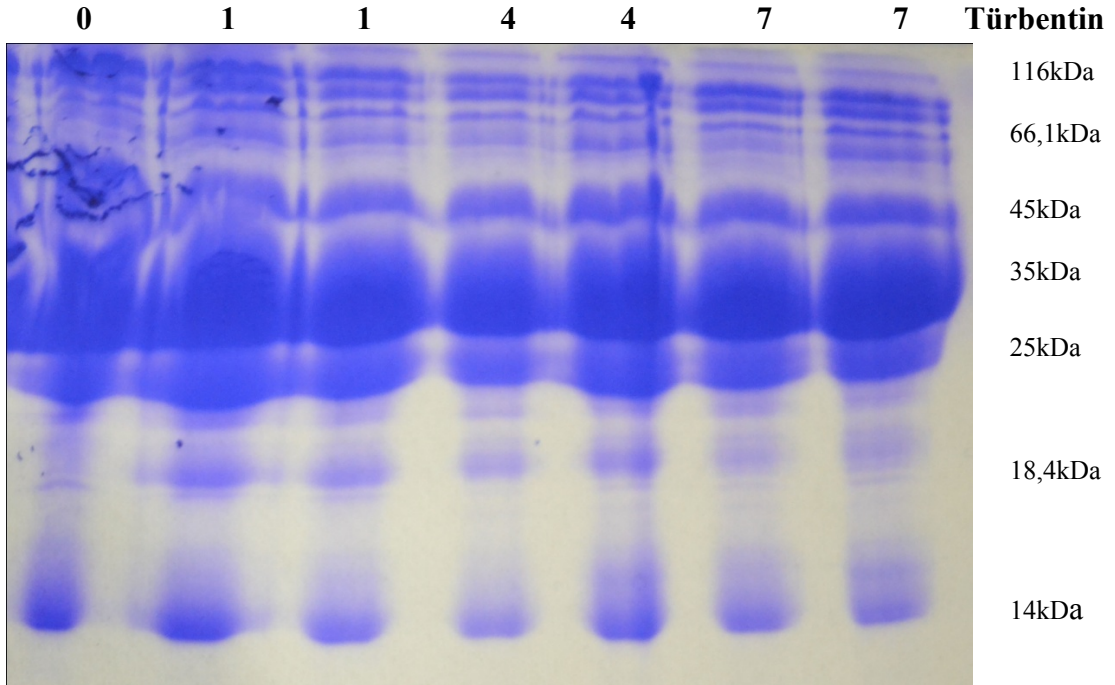
Serum örneklerinin SDS-PAGE yöntemi ile protein elektroferogramları resim 3.1, 3.2, 3.3 ve 3.4' de gösterildi. Albümin ve globülin açısından resim 3.1'de tüm gruplardan (Serum fizyolojik, Türbentin, *Staph. aureus*) rastgele seçilen örneklerden uygulama öncesi ve uygulama sonrası 1. günler elektroforez jeline uygulandı ve fotoğraf üzerinde görülen farklılıklar gözlemlendi. Türbentin grubu gamma globulin bantlarının daha belirgin olduğu *Staph. aureus* grubunda ise bu bantların uygulama öncesine göre silikleştiği belirlendi. Tüm gruplarda günlerin karşılaştırılması amacıyla uygun görülen örneklerden uygulama öncesi, 1, 4 ve 7. gün örneklerinin elektroforez jeline uygulanması sonucu resim 3.2, 3.3 ve 3.4' deki görüntüler elde edildi. *Staph. aureus* grubunda 1. gün gamma globulin bantlarının silikleştiği ancak daha sonra uygulama öncesine benzer hale geldiği; albümin bantlarının uygulama öncesine göre yoğunluklarının daha az olduğu, globulin bantlarının ise 4 ve 7. günlerde yoğunlaştığı gözlemlendi. Türbentin grubunda da benzer değişiklikler gözlenirken serum fizyolojik grubu elektroforez görüntüleri uygulama öncesi ve sonrası benzer bulundu.



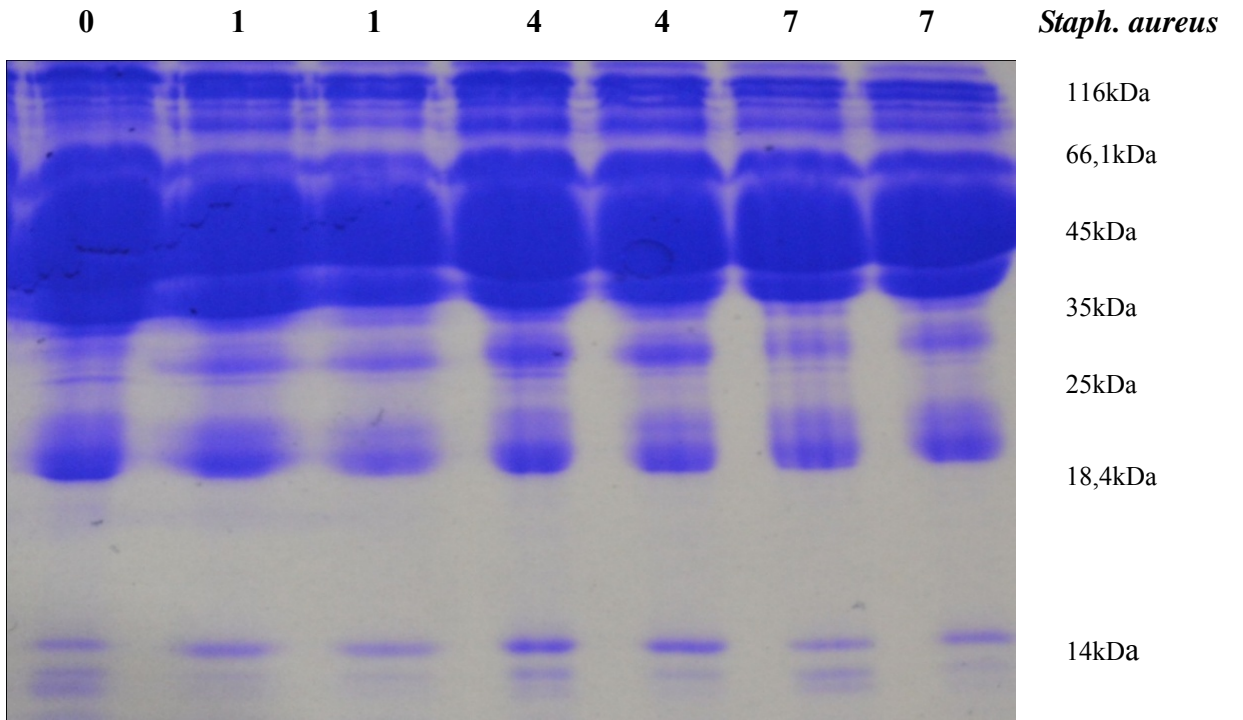
Resim 3.1. Molekül ağırlık tanımlayıcısı (Sigma) kullanılarak yapılmış serum fizyolojik (SF), Türbentin (T), *Staph. aureus* (S) grupları serumlarının SDS-PAGE elektroferogramları



Resim 3.2. Serum fizyolojik grubunun 0, 1, 4 ve 7. Gün örneklerinin SDS-PAGE Elektroforegramları



Resim 3.3.Türbentin grubunun 0, 1, 4 ve 7. gün örneklerinin SDS-PAGE Elektroforegramları



Resim 3.4. *Staph. aureus* grubunun 0, 1, 4 ve 7. gün örneklerinin SDS-PAGE Elektroforegramları

4. TARTIŞMA

Doku hasarı ve enfeksiyonu takiben metabolizmada oluşan hasarı düzeltmek için çeşitli mekanizmalar ortaya çıkar (Eckersal ve Bell 2010). Bu mekanizmalardan en önemlisi akut faz yanıtıdır (Gruys ve ark 2005). Bu reaksiyon sırasında sentezlenen ve kanda düzeyleri artan akut faz proteinlerinin; uyarılara karşı duyarlılıkları, sentez hızları, molekül büyüklükleri, serum konsantrasyonları ve katabolizmaları büyük farklılıklar gösterir (Eckersal ve Bell 2010). İnsanlarda ve hayvanlarda CRP, haptoglobin, SAA, seruloplazmin ve CRP'nin akut yangı ve doku tavgmalarında belirteç olarak kullanılabilirdiği ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır (Ulutaş 2003, Ulutaş ve ark 2005, Ulutaş ve ark 2008). Tanı amaçlı olarak akut faz proteinleri düzeylerindeki artışlar nonspesifik olmasına rağmen yangı tanısının konması ve izlenmesinde gerekli parametreler olarak kabul edilmektedir. Akut faz proteinlerin dolaşımdaki konsantrasyonlarının belirlenmesi devam eden yangısal reaksiyon hakkında bilgi vermektedir. Bu kapsamda farklı türlerde farklı patolojilerde akut faz protein düzeylerinin belirlenmesi önem arz etmektedir (Orro ve ark 2008). Yangının ayırımının yapılması da; hastalığın tanısının konması, etkin tedavinin seçilip uygulanabilmesi ve uzun süreçte ortaya çıkabilecek komplikasyonların önlenmesi açısından önemlidir. Bu nedenle bu çalışmada ratlarda deneysel olarak oluşturulmuş enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz yangı modelinde akut faz proteinlerinden CRP, SAA, haptoglobin, seruloplazmin ve fibrinojen düzeyleri ile lökosit sayıları incelenmiş ve bu parametrelerin yangı ayırımında kullanılabilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Haptoglobin, yangı sonucu inflamatuvar sitokinlerin etkisiyle karaciğerde sentezlenen bir glikoproteindir. Haptoglobinin hemoglobin ile stabil bir bileşik oluşturarak böbreklerden serbest hemoglobin kaybını engellediği, mikroorganizmaların kullanabileceği demir miktarını düşürerek çoğalmalarını önleyici etki yaptığı bilinmektedir (Gruys ve ark 1994, Regessa ve Noakes 1999, Subiela ve ark 2002). İnsanlarda (Giffen ve ark 2003) ve ruminantlarda (Gruys ve ark 1994, Horadogada ve Eckersal 1994, Regessa ve Noakes 1999) haptoglobin önemli akut faz proteinlerinden biri olarak rapor edilmiş ve akut inflamasyon ve doku hasarının belirteci olarak kullanılabilirdiği bildirilmiştir. İnsanlarda doku hasarı ya da inflamasyondan sonra düzeylerinin 2-10 kata arttığı görüldüğü ve orta şiddette artış gösteren bir akut faz proteini olduğu (Giffen ve ark 2003); tavşan, rat domuz ve ruminantlarda ise orta/şiddetli artış gösteren akut faz proteini olduğu bilinmektedir (Bauman ve ark 1990; Heegard ve ark 1998). Bu çalışmada da haptoglobin düzeyi tüm gruplarda uygulamayı takiben istatistiki

olarak önemli artışlar göstermiş ve yüksek düzey tüm örnek alım günlerinde gözlenmiştir. Özellikle infeksiyöz grup 1. gün düzeyinin noninfeksiyöz 1. gün düzeyinden yüksek olduğu ve yaklaşık 3 katlık bir artış şekillendiği görülmüştür. Benzer şekilde Gilbertsen ve arkadaşlarının (1986) ratlarda artrit oluşturdukları bir çalışmada 5 katlık bir artışı 14. günde belirlerken, Giffen ve arkadaşları (2003) 24-36. saatlerde pik düzeyde artışın olduğunu (yaklaşık 10 kat) ve yüksek düzeylerin 21 gün boyunca devam ettiğini bildirmişlerdir. Diğer çalışmalardakine benzer artış görülmesi de bu çalışmada haptoglobin istatistiki önemde artış gösterdiği saptanmış ve infeksiyöz yangı modelinde haptoglobin düzeyinin daha fazla etkilendiği kanısına varılmıştır. Daha düşük şiddette cevap ortaya çıkmasının nedeni ise yangı şiddeti, yangı oluşturuca etkenlerin uygulama yolu ve ratlarda haptoglobinin orta düzeyde artış gösteren bir akut faz proteini olması nedeniyle olduğu düşünüldü.

Seruloplazmin akut faz yanıt sırasında konsantrasyonu artan bir proteindir. Konsantrasyonundaki artış akut faz yanıt sırasında % 50'ye ulaşmaktadır (Ulutaş 2003, Memişoğulları ve ark 2004). Seruloplazmin, plazmada bakır bağlayan proteindir. Organizmada antioksidan olarak görev yapar serbest oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyonunu engeller (Gruys ve ark 1994, Ulutaş 2003, Kahyaoğlu 2011). Ratlarda deneysel karaciğer harabiyeti ve akciğer fibrozisi (Ertekin1996, Çelikezen ve Ertekin 2008) oluşturulan deneysel iki çalışmada seruloplazmin düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı bildirilmiştir. Bu çalışmada da uygulama öncesi $26,51 \pm 1,78$ mg/dl iken uygulama sonrası tüm gruplarda arttığı ve bu değerlerin serum fizyolojik grubu dışında tüm kan alım günlerinde yüksek seyrettiği belirlenmiştir. Serum fizyolojik grubunda 7. gün seruloplazmin düzeyinin başlangıç seviyesine indiği tespit edilmiştir. Bu parametre açısından infeksiyöz ve noninfeksiyöz gruplar arası önemli bir farklılığa rastlanmamıştır. Seruloplazmin düzeylerindeki artışın şiddeti ve süresi diğer deneysel modellerdekiyle uyumludur bunun da seruloplazminin antioksidan özelliği ile de ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Fibrinojen, karaciğer parenşim hücreleri mikrozomlarında sentezlenen, plazma molekül ağırlığı en fazla olan proteindir (Ulutaş 2003). Fibrinojen akut yangısal eksudatın en önemli komponentlerinden biridir. Tipik bir akut faz protein olarak değerlendirilen fibrinojenin artışının eritrosit sedimentasyon hızındaki değişimle ve yangıyla sonuçlanan her türlü doku hasarlarıyla ilişkili olduğunu bildirilmektedir (Bayramlı 2004). Ratlarda FCU adjuvantı verilerek akut inflamasyon oluşturulan bir çalışmada fibrinojen düzeylerinin önemli düzeyde artış gösterdiği belirlenmiştir (Giffen ve ark 2003). Bu çalışmada fibrinojen düzeyi

serum fizyolojik grubunda hiçbir kan alım gününde değişiklik göstermemesine rağmen türbentin (noninfeksiyöz) ve *Staph. aureus* (infeksiyöz) yangı gruplarında önemli düzeyde artış gözlenmiştir. Özellikle infeksiyöz yangı grubu 1. gün düzeyi uygulama öncesine göre yaklaşık 3 katlık bir artış göstermiş ve yüksek düzey tüm kan alım günleri devam etmiştir. Bu sonuçlar Giffen ve arkadaşlarının (2003) sonuçlarıyla paralellik göstermektedir ki onlarda yaptıkları çalışmada fibrinojen düzeyindeki pik artışın 24. saatte ortaya çıktığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde Myers ve Fleck (1988), derialtı türbentin uygulayarak yangı oluşturdukları bir modelde uygulama sonrası 18-20. saatlerde fibrinojen konsantrasyonlarının 2 kata kadar arttığını bildirmişlerdir. Gardner ve arkadaşlarının (2000) akut akciğer hasarı oluşturdukları ratlarda fibrinojen düzeylerinin yangı oluşumundan 24 saat sonra 2 kat arttığını, Larson ve arkadaşlarının (1997) deneysel artrit oluşturdukları bir modelde ise uygulama sonrası yaklaşık 4 katlık bir değişiklik olduğunu bildirmişlerdir. Tüm bunlardan yola çıkarak fibrinojen düzeylerinde görülen artışlardaki farklılıkların yangının çeşidi ve şiddeti ile ilişkili olduğu söylenebilir. Ancak ratlarda yangının belirlenmesinde ve infeksiyöz yangılarda diğer tüm akut faz proteinlerinden daha duyarlı olduğu söylenebilir.

Lökositosis tablosu yangısal değişikliklerin tipik bulgularındandır ve IL-1'e en duyarlı yanıtların başında gelir (Dinerello, 1984). Akut yangıyı takiben kısa süreçte lökosit sayısındaki artış temel olarak nötrofil havuzundan dolaşıma hücrelerin verilmesi ve daha sonra uyarılan granulopoesis sonucu dolaşımdaki bant nötrofillerin sayısının artmasından kaynaklanır (Jain, 1993). Bu çalışmada Turbentin grubunda 1. gün WBC sayısının azaldığı, daha sonra arttığı belirlenmiştir. Bunun nedeninin, dolaşımdaki nötrofillerin periferden yangı odağına göçü ve dolaşım kanında düzeyinin azalmasıyla ilişkili olduğu düşünülmüştür. Turbentin grubunda 4 ve 7. günlerde, *Staph. aureus* grubunda 1, 4 ve 7. günlerdeki lökositosis tablosunun akut yangıyı takiben ortaya çıkan spesifik yangısal yanıtın oluştuğu kanısına varılmıştır. Lökosit sayısındaki en belirgin artışın 7. gün *Staph. aureus* grubunda oluştuğu ve bunun da enfeksiyöz yangısal modelin daha belirgin ve sistemik bir yanıt oluşturmasından kaynaklandığı sonucuna varılmıştır.

CRP, insan ve köpeklerde majör akut faz proteini olarak rapor edilmiştir (Gruys 1994, Ceron ve ark 2005, Eckersal ve Bell, 2010, Giffen ve ark 2003). Karaciğer fonksiyonları normal kişilerde serum düzeyleri inflamatuvar aktiviteyi gösteren iyi bir parametredir (Giffen ve ark 2003). CRP sentez ve salgılanması IL-1, IL-6 ve TNF- α tarafından tetiklenir (Ceron ve ark 2005, Gruys ve ark 2005). Ratlarda CRP'nin başlıca majör bir akut faz proteini olmadığı ve insan CRP'sine göre bazal durumlarda da düzeyinin daha yüksek olduğu rapor

edilmiştir (Nunomura ve ark 1994, Podilla ve ark 2003). Ancak yapılan pek çok deneysel çalışmada rat CRP'sinin yangı belirteci olarak kullanıldığı ve yangı gösterdiği bildirilmiştir (Foddo ve ark 2010, Atli ve ark 2012, Kahyaoğlu 2011). Bu çalışmada uyarımları takiben her üç deneme grubunda uygulamayı takiben artış gösterdiği ancak CRP düzeylerinin günler arası karşılaştırılmasında istatistiki yönden bir önem olmadığı saptanmıştır. Bununla birlikte kontrol grubu ratlarda uygulama öncesi $2,59 \pm 0,66$ $\mu\text{g/ml}$ iken *Staph. aureus* (İnfeksiyöz yangı) grubunda 1. gün düzeyinin ortalama $5,94 \pm 2,45$ $\mu\text{g/ml}$ 'ye yükseldiği ve daha sonra tekrar düştüğü gözlenmiştir. Türbentin grubunda ise günden güne artan bir CRP düzeyi belirlenmiştir. Connolly ve arkadaşlarının (1988) adjuvant vererek artrit oluşturdukları bir çalışmada, CRP düzeyinin 17. günde % 138 oranında arttığını, Bürger ve arkadaşlarının ise (1987) CRP düzeylerindeki artışların 4. ve 15. günlerde olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada CRP düzeyi sadece *Staph. aureus* (infeksiyöz yangı) grubunda 1. gün 2 katlık bir artış göstermiş diğer günlerde ve gruplarda artış saptanamamıştır. Benzer şekilde Myer ve arkadaşları (1988) türbentini deri altı vererek yangı oluşturdukları bir çalışmada 1. gün 2-3 katlık bir artış saptamışlardır. Giffen ve arkadaşlarının (2003) intraperitoneal adjuvantenjeksiyonu ile akut yangı çalıştıkları bir çalışmada CRP ve albümin düzeylerinde hafif şiddette bir değişiklik belirlemişlerdir. Bunun nedeninin; CRP'nin ratta major bir akut faz proteini olmamasına, yangının şiddetine, kullanılan yangı modeline, uygulama yoluna ve belirleme sistemlerine göre değişebileceğine yorumlamışlardır.

SAA ruminantlarda haptoglobin ile birlikte major akut faz proteini olarak bildirilmiştir (Orro ve ark 2008). Köpek, insan, fare, kedi, sığır ve tavşanda yangısal durumlarda SAA konsantrasyonunun belirgin olarak arttığı ve bu artışın yangısal durumların erken dönemde belirlenmesinde kullanılabileceği bildirilmektedir (Petersen ve ark 2004). Bu çalışmada tüm gruplarda uygulamaları takiben 1. günlerde düzeylerinde artış görülmesine rağmen bu değişiklik istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır. Bunun nedeninin CRP de olduğu gibi inflamasyon şiddeti ve yeri ile ilişkili olduğu söylenebilir. Sultan ve arkadaşlarının (2012) yaptıkları bir çalışmada türbentin ile steril apse oluşturdukları bir çalışmada SAA'nın karaciğer ekspresyonlarının iki kat arttığını bildirmişlerdir. Ancak ratlarda daha dramatik artışların farklı akut faz proteinlerinde olduğunu da rapor etmişlerdir (Sultan ve ark 2012).

Akut yangısal durumlarda karaciğerden akut faz proteinlerinin sentezi artmakta buna karşın albümin sentezi azalmaktadır (Thomas, 2000). Bu çalışmada albümin konsantrasyonunda uygulama sonrası türbentin grubunda 4. günde *Staph. aureus* grubunda 7. günde bir azalma gözlenmiştir. Benzer şekilde total protein düzeylerinde de Türbentin ve

Staph. aureus gruplarında 4 ve 7. günlerde azalma ortaya çıktığı belirlenmiştir. Albümin konsantrasyonlarında belirlenen azalma negatif akut faz yanıtı gösterir (Giffen ve ark 2003). İnsanlarda akut faz reaksiyon sırasında % 30-60'lık bir azalma belirlenirken Connolly ve arkadaşlarının (1988) ratta artrit modelinde % 47; Lioa ve arkadaşları (1986) deri altı türbentin vererek yangı oluşturdukları bir denemede % 45'lik bir azalma saptamışlardır. Giffen ve arkadaşlarının (2003) ip adjuvant vererek akut yangı oluşturdukları araştırmada uygulama sonrası 3 ve 7. günlerde % 57'lik bir azalma belirlemişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları da yapılan benzer çalışmalarla uygunluk göstermekte ve albüminin yangı oluşumu ile birlikte hepatik sentezinde azalma oluştuğunu ve negatif bir akut faz proteini olarak davrandığını ortaya koymaktadır. Total protein düzeylerinde ortaya çıkan düşüşün nedeninin ise albümindeki azalmayla paralel olarak oluştuğu, globulin fraksiyonundaki artışın total protein düzeyleri üzerinde çok etkili olmaması sonucu ortaya çıktığı düşünüldü.

Ratlarda deneysel yangı oluşturulmuş bir çalışmada albümin fraksiyonlarının azaldığı buna karşın globulin bantlarının yoğunluklarının arttığı elektroforetik olarak gösterilmiştir (Giffen ve ark 2003). Bu çalışmada da elektroforetik olarak albümin bantlarının *Staph. aureus* grubunda yoğunluklarının azaldığı, benzer şekilde türbentin grubunda da albümin bantlarının uygulama sonrası günlerde silikleştiği gözlenmiştir. Bu görüntülerin nedeninin, albümin konsantrasyonunun dolaşım kanındaki düzeyinin azalmasıyla ilişkili olduğu düşünülmüştür. Bir negatif akut faz proteini olan albüminin akut yangıyı takiben karaciğerde sentezi azalır ve kan konsantrasyonu düşer (Thomas 2000). Her iki grupta uygulama sonrası globulin bantlarının uygulama öncesine göre belirgin olduğu görülmüştür. Karaciğerde sentezi artan globulin fraksiyonundaki akut faz proteinlerinin, her iki yangı grubunda elektroforez görüntülerinde globulin bantlarının belirginleşmesine neden olduğu sonucuna varılmıştır.

5. SONUÇ

Akut faz proteinlerin (AFP) plazma konsantrasyonlarındaki artışın düzeyi, yangının büyüklüğü ve aktivitesi ile ilişkilidir. Dolayısıyla bu proteinlerin dolaşımdaki konsantrasyonlarının belirlenmesi devam eden yangısal reaksiyon hakkında bilgi vermektedir. Akut faz protein ile klinik semptomlar ve/veya hastalığın dönemi arasında korelasyon bulunduğu ve tedavi etkinliğinin izlenmesi veya nükslerin belirlenmesinde kullanılabileceği bildirilmektedir. Yangının ayrımının yapılması ve hastalığın tanısı, etkin tedavinin uygulanabilmesi ve uzun süreçte ortaya çıkabilecek komplikasyonların önlenmesi açısından önemlidir. Yangı sonrası akut faz yanıt sırasında sentezlenen ve kan düzeyleri artan akut faz proteinlerinin belirlenmesi; tanı, monitorizasyon, tedavi sürecinin takibi ya da genel sağlık taraması gibi durumlarda kullanılabilmektedir

Bu çalışmanın verilerine dayanılarak infeksiyöz ve noninfeksiyöz yangı oluşturulan ratlarda yangının tanısının konmasında ve takibinde akut faz proteinlerinin tercih edilebileceği sonucuna varıldı ve gelecekte yapılacak çalışmalarda referans olarak kullanılabileceği düşünüldü. Ayrıca bu çalışmada haptoglobin, fibrinojen ve seruloplazminin ratlarda akut infeksiyöz ve noninfeksiyöz yangılarda CRP ve SAA ya göre daha yüksek seyrettiğini görüldü ve haptoglobin ve fibrinojenin akut yangı oluşturulan ratlarda CRP ve SAA ya göre daha duyarlı bir belirteç olduğunu kanısına varıldı. Aynı zamanda bu çalışmanın sonuçlarından haptoglobin ve fibrinojen düzeylerinin infeksiyöz yangı modeli oluşturulan ratlarda noninfeksiyöz gruba göre daha yüksek olduğu ve yangı ayrımında kullanılabileceği ancak bu şekilde kullanılabilmesi için yangının şiddetinin histopatolojik olarak da değerlendirildiği daha detaylı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünüldü.

ÖZET

Ural M. Deneysel infeksiyöz ve non-infeksiyöz yangı oluşturulmuş ratlarda bazı akut faz proteinleri düzeylerinin karşılaştırılması

Akut faz cevap infeksiyöz, immunolojik, neoplastik, travmatik ya da paraziter olarak ortaya çıkan nonspesifik bir reaksiyondur. Akut faz reaksiyonun en önemli özelliği, karaciğerden C-reaktif protein (CRP) , seruloplazmin, fibrinojen, haptoglobin, serum amiloid A (SAA) gibi akut faz proteinlerinin üretimidir.

Bu çalışmada ratlarda deneysel olarak oluşturulmuş farklı yangı modellerinde akut faz proteinleri düzeyleri araştırılmıştır. Akut noninfeksiyöz yangı modeli oluşturmak amacıyla 0,5 mg/kg dozda turbentin yağı 1. gruptaki ratlara derialtı olarak tek doz uygulanmıştır. İnfeksiyöz yangı modeli için 10^6 CFU *Staph. aureus* yine derialtı yolla 2. grupta bulunan 21 hayvana, kontrol grubu olarak aynı sayıda hayvana deraltı serum fizyolojik verilmiştir. Ayrıca çıkış değerleri olarak sağlıklı 7 hayvandan kan örnekleri hiçbir uygulama yapmadan toplanmıştır. 1., 4. ve 7. günlerde her gruptan rastgele seçilen 7 hayvandan kan örnekleri eter anestezisi altında kalp içi alınmış ve servikal dislokasyon ile ötenazi uygulanmıştır. Elde edilen tam kan örneklerinden fibrinojen analizi ve tam kan sayımı; serum örneklerinden CRP, haptoglobin, SAA ELISA yöntemi ile seruloplazmin analizi, albümin ve total protein analizleri spektrofotometrik olarak yapılmıştır. Ayrıca serum protein fraksiyonları da elektroforetik olarak gösterilmiştir.

Bu çalışmada haptoglobin, fibrinojen ve seruloplazminin ratlarda akut infeksiyöz ve noninfeksiyöz yangılarda günler arası değerlendirme yapıldığında uygulama öncesine göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükseldiği belirlenmiştir. CRP ve SAA ise uygulama öncesine göre yükselmiş ancak istatistiki bir önem saptanamamıştır. Ayrıca haptoglobin ve fibrinojenin infeksiyöz grupta daha yüksek olduğu da gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler; Yangı, infeksiyöz, noninfeksiyöz, akut faz proteinleri, rat.

SUMMARY

Ural M. Comparison of some acute phase protein levels in rats with experimentally induced infectious and noninfectious inflammation

Acute phase reaction is a nonspecific reaction that occurs infectious, immunologic, neoplastic, traumatic or parasitic causes. Most important features of acute phase reaction is the production of some acute phase proteins such as CRP, SAA, haptoglobin, ceruloplasmin, fibrinogen in liver.

In this study, it was investigated that the levels of acute phase proteins in rats with experimentally induced different inflammation models. In first groups rats were treated with 0,5 mg/kg turbentin oil (single dose, ip) for noninfectious inflammation. For infectious inflammation model, 21 rats that were in second group were treated by 10^6 CFU Staph. aureus (ip). 21 rats in control group were given FTS in same way. Additionally, blood samples were collected to 7 healthy animals for 0 days. Days of 1., 4. ve 7., blood samples were collected intracardiac way in randomly selected 7 rats under ether anesthesia and applied othenasia by cervical dislocation. Whole blood samples were used for fibrinogen analyses and blood counting; serum samples were analysed CRP, SAA, haptoglobin in ELISA reader, ceruloplasmin, total protein and albumin analyses were measuring by spectrophotometric methods. Serum protein fractions were determined with electrophoresis.

As a result of this study, haptoglobin, fibrinogen and ceruloplasmin levels were significantly increased in rats with acute infectious and noninfectious inflammation group when compare between blood samplind days and in day before induction. CRP and SAA levels were increased but were not determined any statistically significance. There were also observed that haptoglobin and fibrinogen concentrations were higher in infectious.

Key Words; Inflammation, infectious, noninfectious, acute phase proteins

KAYNAKLAR

Atli M, Erikoğlu M, Kaynak A, Esen HH, Kurban S, The effects of selenium and vitamin E on lung tissue in rats with sepsis 2012 erişim <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22469104> Erişim Tarihi: 2012

Baumann H, Gauldie J The acute phase response, Immunology Today 1994; 15:74-80.

Baumann H, Morella KK, Jahreis GP, Marinkovic S Distinct regulation of the interleukin-1 and interleukin-6 response elements of the rat haptoglobin gene in rat and human hepatoma cells. Molecular Cell Biology 1990; 10: 5967–5976

Baykal, Akut Faz cevabı ve Proteinleri, erişim: <http://www.gata.edu.tr/dahilibilimler/ichastaliklari/files/dersler/6>. Erişim tarihi: 2006

Bayramlı, G., Köpeklerde aspirin ile oluşturulan akut gastrik mukozal hasarlarda akut faz yanıtın değerlendirilmesi Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, Türkiye. 2004.

Benjamin MM. Fibrinogen. Outline of Veterinary Clinical Pathology The Iowa State University Pres. Ames, Iowa, USA. 1979; Third edition. Chapter 12; 117.

Bienvenu J. Exploration of cytokines in biological fluids. Comptes Rendus des Seances de la Societe de Biologie et de Ses Filiales 1995;189:545-55

Bayşu N, Bayşu SÖZBİLİR N. Biyokimya Ankara Güneş Tıp Kitabevi ;2008. p. 584

Boosman R, Mutsaers CWAAM, Dieleman SJ. Sympathicoadrenal effects of endotoxaemia in cattle. Veterinary Record, 1990; 127: 11-14.

Bullok BL. Inflammation and repair. In:Pathophysiology, Lippincott New York: 1996. p. 276

Burtis CA, Ashwood ER Tietz Textbook of Clinical Chemistry WB.Sounders Company 3rd Ed. 1999 .p. 477- 507.

Bürger W, Schade R, Hirschelmann R The rat C-reactive protein isolation and response to experimental inflammation and tissue damage. AgentsActions 1987; 21:93–97

Ceron JJ, Eckersall PD, Martinez-Subiela S Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives, *Veterinary Clinical Pathology*, 2005; 34(2): 85-99.

Clayes R, Vinken S, Spapen H, Elst K, Decokhez K, Huyghens L, Gorus FK Plasma paracalsitonin and C-reactive protein acute septic shock: clinical and biological correlates, *Critical Care Medicine* 2002; 30: 757 - 762.

Connolly KM, Stecher VJ, Kent L. Examination of interleukin- 1 activity, the acute phase response, and leukocyte subpopulations in rats with adjuvant-induced arthritis. *Journal Laboratory Clinical Medicine*; 111: 341–347

Conner JG, Eckersall PD, Wiseman A, Bain RK, Douglas TA. Acute phase response in calves following infection with *Pasteurella haemolytica*, *Ostertagia ostertagi* and endotoxin administration, *Research Veterinary Science* 1989; 47: 203 - 207.

Coşkun A, lipopolisakkarid (*E.coli*) ile deneysel olarak endotoksemi oluşturulan buzağılarda akut faz proteinlerin klinik teşhisteki önemi, Doktora Tezi Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2008.

Coşkun A, Şen İ. Kedi ve köpek hastalıklarının teşhisinde akut faz proteinlerinin önemi. *Veteriner Cerrahi Dergisi* 2005; 11: 56-59.

Cunnane G, Whitehead As. Amiloid precursors and amiloidosis in rheumatoid arthritis, *Bailliers Best Practice & Research Clinical Rheumatology* 1999; 13(4): 615.

Çelikezen Çağlar F. , Ertekin Ali “Ratlarda Akciğer Fibrozisinde Lipid Peroksidasyonu (MDA), Antioksidan Madde (Glutasyon, Seruloplazmin) ve Bazı Antioksidan Vitamin (B Karoten, Retinol) Düzeylerinin İncelenmesi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 2008 19(2): 17–20.

Dinarello CA, İnterleukin-1 and the pathogenesis of the acute-phase response. *The New England Journal of Medicine*; 311: 1413-1418

Dinarello CA, İnterleukin-1 and its biologically related cytokines, *Advances in Immunology* 1989; 44: 153-205.

Diker S ,Arda M. İmmunoloji Medisan Tıp Kitabevi. Ankara. 1998

Dunne MW.Inflammation and repair in Prt CM,ed. *Pathophysiology: Concepts of Altered Health States with Contributors*, Philadelphia: Lippincott;1990: 165-176

Eckersall PD Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as marker of disease in animals, *Reflex Medicine Veterinary* 2000; 151: 577-584.

Eckersall PD, Conner JG Bovine and canine acute phase proteins, *Veterinary Research Communications* 1988; 12 (2-3): 169 - 178.

Eckersall PD. The time is right for acute phase protein assay, *The Veterinary Journal* 2004, 168, 3-5.

Eckersall P.D, Bell R. Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *Veterinary Journal* 2010. 185, 23-27.

Erer H, Kıran MM and Çiftçi MK Veteriner genel patoloji,2. Baskı Konya:Bahçivanlar Baskı; 2007 .p. 1-10

Ertekin A. Karbontetraklorür ile Deneysel Siroz Oluşturulan Tavşanlarda Sialik Asit, Lipit Bağlı Sialik Asit, Total Protein ve Bazı Spesifik Karaciğer Enzimlerinin Aktivitelerinin Araştırılması. Doktora Tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van. 1996.

Foddo ML, Baky NAA, Al-Rasheed NM, Fatani AJ, Atteya M. Role of Quercetin and orjnin in ameliorating nano zinc oxide induced nephrotoxicity in rats. *BMC complemantery and Alternative Medicine* 2010; 12:60

Folsom AR, Raankow JS, Tracy RP, Arnett DK, Peacock JM, Hong Y. Association of C-reactive protein with markers of prevalent atherosclerotic disease. *American Journal of Cardiology* 2001; 88(2):112-7.

Gardner SY, Lehmann JR, Costa DL. Oil fly ash-induced elevation of plasma fibrinogen in rats. *Toxicological Sciences* 2000; 56:175–180

Giffen P. S, J. Turton, Andrews C. M, Barrett P, Clarke C. J, Fung K. -W, Munday M. R, Roman I. F, Smyth R, Walshe K. Markers of experimental acute inflammation in the Wistar Han rat with particular referance to haptoglobin and C- reactive protein *Archives of Toxicology* 2003;77(7): 392-402

Gilbertsen RB. Rat haptoglobin: method of quantification and response to antiarthritic therapy in collagen arthritis. *Immunopharmacology* 1986; 11: 69–77

Gillis S, Williams DE. Cytokine therapy: lessons learned and future challenges. *Current Opinion in Immunology* 1998; 10, 501-3

Gruys E, Oblowo MJ, Toussaint JM Diagnosis significance of major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review, *Veterinary Bulletin* 1994 (64) 11: 1009 - 1015.

Gruys E, Toussaint JM, Niewold TA, Koopmans SJ Acute phase reaction and acute phase proteins. *Journal of Zhejiang University Science* 2005; 11: 1045-1056.

Habif S İnflamatuvar Yanıtta Akut Faz Proteinleri, *İzmir Atatürk Eğitim Hastanesi Tıp Dergisi* 2005;43 (2): 55-65.

Hanada T. ve Yoshimura A. Regulation of cytokine signaling and inflammation, *Cytokine & Growth Factor Reviews* 2002; 13: 413-421

Heegaard PMH, Klausen J, Nielsen JP, González-Ramón N, Pinheiro M, Lampreave F, Alava MA. The porcine acute phase response to infection with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Haptoglobin, C-reactive protein, major acute phase protein and serum amyloid A protein are sensitive indicators of infection. *Comparative Biochemistry and Physiology* 1998; 119B:365-373

Higgins AJ. The biology pathophysiology and control of eicosanoids in inflammation. *Journal Veterinary Pharmacology Therapy* 1985; 8:1-18

Higuchi H, Katoh N, Miyamoto T, Uchida E, Yuasa A, Takahashi K. Dexamethasone-induced haptoglobin release by calf liver parenchymal cells. *American Journal of Veterinary Research* 1994; (55) 8: 1080 - 1085.

Hirvonen J Acute phase response in dairy cattle. PhD Thesis. University of Helsinki 2000.

Horadogada A, Eckersall PD Immediate responses in serum TNF α and acute phase protein concentrations to infection with *Pasteurella haemolytica* A1 in calves. *Research in Veterinary Science* 1994; 57: 129 - 132.

Horadogada NU, Knox KMG, Gibbs HA, Reid SWJ, Horadogada A, Edwards SER, Eckersall PD Acute phase proteins in cattle discrimination between acute and chronic inflammation, *Veterinary Record* 1999; 144: 437 - 441.

Imhof BA, Dunon D. Basic mechanism of leukocyte migration. *Hormone Metabolic Research* 1997; 29(12): 614-621

Ishak R, Hassan K, The erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein, plasma fibrinogen and viscosity in chronic renal disease patients with infection, *Malaysian Journal of Pathology* 1989; 11: 29-31.

Irish A Cardiovascular disease, fibrinogen and the acute phase response associations with lipids and blood pressure in patients with chronic renal disease. *Arteriosclerosis* 1998; 137: 133 - 139.

Jain NC. *Essentials of veterinary hematology*. Lea & Febiger records, Philadelphia. 1993; 1st edn: 349-380.

Jennings G, Elia M. Changes in protein distribution in normal and protein deficient rats during an acute-phase “injury” respons. *British Journal of Nutrition* 1996; 76: 123-132.

Jensen LE, Whiehead AS. Regulation of serum amiloid A protein expression during the acute phase response. *Biochemical Journal* 1998; 15 (Pt 3):334 -489.

Kahyaoğlu A. Deneysel diabet oluşturulan ratlarda bazı akut faz proteinleri ve iz elementler arasındaki ilişkiler. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri, 2011.

Kaneko JJ. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 3rd Ed. Academic Press, New York, 1980

Kent J. Acute phase proteins: their use in veterinary diagnosis, *British Veterinary Journal* 1992; 148: 279 - 282.

Kidd R. Interpreting neutrophil numbers. *Veterinary Medicine* 1991; 86: 975-982.

Klue-Beckerman B, Yamada T, Hardwick J, Liepnieks JJ, Benson MD Differential plasma clearance of murine acute-phase serum amyloid A proteins SAA1 and SAA2. *Biochemical Journal* 1997; 322: 663-669.

Koj A. Cytokines regulating acute inflamation abd synthesis of acute phase proteins. Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2413928> 1985 Oct; 51(4): 267-74

Kohler W, Prokop O. Relationship between haptoglobin and *Streptococcus pyogenes* T4 antigens. *Nature* 1978; 271:373.

Krüger M, Schrödl W, Lindner A, Kunze R. C-reaktives protein akute phase protein mit labormedizinischer bedeutung in der veterinarmedizin, *Tierarztl Prax* 1995; 23: 236 -240.

Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Eds Basic pathology, Çeviri Çevikbaş 4. Temel Patoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2000, .p. 26-46

Kushner I. The phenomenon of the acute phase response. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1982; 389: 39-48.

Kushner I, Mackiewicz A. The acute phase response: an overview Acute phase proteins: molecular biology, biochemistry and clinical applications. CRC Press Boca Raton 1993; 3-19

Laemmle U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970; (227)5259: 680-685.

Larsson A, Bjork J, Lundberg C. Nephelometric determination of rat fibrinogen as a marker of inflammatory response. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1997; 59: 163-169

Lehr HA, Bihinger F, Kirkpatrick CJ. Microcirculatory dysfunction in sepsis: A pathogenetic basis for therapy. *The Journal of Pathology* 2000; 190: 373-86.

Lentsch AB, Ward PA. Regulation of inflammatory vascular damage. *The Journal of Pathology* 2000; 190: 343 -8.

Liao WSL, Jefferson LS, Taylor JM. Changes in plasma albumin concentration, synthetic rate, and mRNA level during acute inflammation. *American Journal of Physiology* 1986; 251: C928-C934

Lohuis JACM, Verheijden JHM, Burvenich C, Vanmiert ASJPAM. Pathophysiological effects of endotoxins in ruminants. 2. Metabolic aspects. *Veterinary Quarterly* 1988; 10(2): 117-125

Maslinska D, Gajewski M. Some aspects of inflammatory process. Department of Developmental Neuropathology, Polish Academy of Sciences. Warszawa Folia neuropathology 1998; 36(4): 199- 204

Majno G. The healing hand: Man and Wound In The Ancient World. Cambridge: Harvard University Press, 1st Edition. The United States of America 1975.

Mandrup-Poulsen T, Nerup J, Reimers JJ, Pociot F, Andersen HU, Karlsen A, Bjerre U, Bergholt R. Cytokines and the endocrine system. I. The immunoendocrine network. *European Journal of Endocrinology* 1995; 133:660-671.

McGroarty YL, Knottenbelt, Ramsey IK, Reid AWJ, Eckersall PD. Haptoglobin in a canine hospital population. *The Veterinary Record* 2003; 152: 562-564.

McLoughlin Rachel M, Solinga Robert M, Rich J.M, Zaleski Kathleen J, Cocchiari Jordan L, Risley Allison, Tzianabos Arthur O, and Lee. Jean C. T cells and CXC chemokines modulate the pathogenesis of *Staphylococcus aureus* wound infections *Proceeding of National Academy of Sciences* 2006;103 (27): 10408-10413.

Memisoğulları R, Bakan E. Levels of ceruloplasmin, transferrin, and lipid peroxidation in the serum of patients with Type 2 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Its Complications* 2004; 18: 193– 197.

Metcalf DD, Baram D, Mekori YA. Mast cells. *Physiological Reviews* 1997; 77: 1033-79.

Mold C, Rogriguez W, Rodic-Polic B, Du Clos TW. CRP mediates protection from lipopolysaccharide through interactions with Fc-gammaR. *Journal of Immunology* 2002; 169, 7019-7025.

Mullington JM, Hinze-Selch D, Pollmavher T. Mediators of inflammation. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2001; 933: 201-10.

Murata H, Shimada N, Yoshioka M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis,. *The Veterinary Journal* 2004; 168: 28-40

Murtaugh M. P, Baarsch M. J, Zhou Y, Scamurra R. W, Lin G. Inflammatory cytokines in animal health and disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1996; 54: 45-55.

Myers MA, Fleck A. Observations on the delay in onset of the acute phase protein response. *British Journal of Experimental Pathology* 1988; 69: 169–176.

Nakagawa H. Detection of serum haptoglobin by enzyme linked immunosorbent assay in cows with fatty liver. *Research Veterinary Science* 1997; 62: 137 - 141.

Niewold TA, Tousaint MJM, Gruys E, Monitoring health by acute phase proteins *Fourth European Colloquim on acute phase proteins, Segova, İspanya* 2003; 57-67.

Nunomura W, Takakuwa Y, Higashi T. Changes in serum concentration and mRNA level of rat CRP. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1994; 1227: 55-70

Olson NC, Hellyer PW, Dodam JR. Mediators and vascular effects in response to endotoxin. *British Veterinary Journal* 1995; 151: 489-522.

Orro T, Jacobsen S, LePage JP, Niewold T, Alasuutari S, Soveri T. Temporal changes in serum concentrations of acute phase proteins in newborn dairy calves. *The Veterinary Journal* 2008; 176: 182-187.

Otabe K, Ito T, Sugimoto T, Yamamoto S. C-reactive protein (CRP) measurement in canine serum following experimentally-induced acute gastric mucosal injury. *Laboratory Animal*, 2000; 34(4): 434-438.

Paape MJ, Schultze WD, Desjardins C, Miller RH. Plasma corticosteroid, circulating leucocyte and milk somatic cell responses to *Escherichia coli* endotoxin-induced mastitis. *Proceedings of Society for Experimental Biology and Medicine*. 1974; 3(2):183-197.

Pannen BHJ, Robotham JL. The acute phase response. *New horizons The Science and Practice of Acute Medicine* 1995; 3(2):183-197.

Petersen HH, Diderikson D, Christiansen BM, Nielsen JP. Serum haptoglobin concentration as a marker of clinical signs in finishing pigs. *Veterinary Record* 2002; 151: 85 - 82.

Petersen HH, Neilsen JP, Heegaard PMH. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Veterinary Research* 2004; 35(3): 1-25.

Pfeffer A, Rogers KM. Acute phase response of sheep: changes in the concentrations of ceruloplasmin, fibrinogen, haptoglobin and the major blood cell types associated with pulmonary damage. *Research in Veterinary Science* 1989; 46: 118 - 124.

Podilla ND, Blecker WK, Lubbers Y, Rigter GMM, Van GJ. Rat CRP activates the autologous complement system. *Immunology* 2003; 109: 564-571

Raynes JG. The acute phase respons. *Biochemical Society Transactions* 1994; 22(1): 69-74.

Regessa F, Noakes DE. Acute phase protein response of ewes and the release of PGFM in relation to uterine involution and the presence of intrauterine bacteria. *Veterinary Research* 1999; 144: 502 - 509.

Samsar E, Akın F. *Veteriner Genel Cerrahi Özel Cerrahi, Bölüm 9. Ankara Medipres Matbaacılık*. 2002

Sellar GC, Debeer MC, Leilas JM, Synder PW, Glickman LT, Felsburg PJ, Whitehead AS. Dog serum amyloid A protein. *The journal of Biological Chemistry* 1991; 266(6): 3505-3510.

Sessle BJ. New insights into peripheral chemical mediators of pain and inflammation. *Journal Orofacial Pain* 2001; 15: 1-5.

Sies H. Strategies of antioxidant defense. *European Journal of Biochemistry* 1993; 215: 213-9.

Silverman LM, Christenson RH. Aminoacid and proteins. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry (second edition)*, Edited by Burtis CA, Ashwood ER, Saunders Company, Philedelphia, 1994.

Skinner JG, Roberts L. Haptoglobin as an indicator of infection in sheep. *Veterinary Record* 1994; 134: 33 - 36.

Smith JE, Cipriano JE. Inflammation-induced changes in serum iron analyses and ceruloplasmin of Shetland ponies. *Veterinary Pathology* 1987; 24: 354 - 356.

Subiela SM, Tecles F, Eckersall PD, Ceron JJ. Serum concentrations of acute phase proteins in dogs with leishmaniasis. *Veterinary Record* 2002;150: 241 - 244.

Sultan S, Pascucci M, Ahmad S, Malik IA, Bianchi A, Ramadori P, Ahmad G, Ramadori G. LIPOCALIN-2 is a major acute-phase protein in a rat and mouse model of sterile abscess. *Shock*. 2012; 37(2): 191-6.

Sunderman FW, Numato S. Measurement of human serum ceruloplasmin by its p-phenylene diamine oxidase activity. *Clinical Chemisrty* 1970; 16: 903-910.

Tamzali Y, Guelfi JF, Braun JP. Plasma fibrinogen measurement in the horse:comparison of Millar's technique with a chronometric technique and the QBC-Vet Autereader. *Research in Veterinary Science* 2001; 71: 213 - 217.

Thomas JS. Overview of plasma proteins, In: *Schalm's Veterinary Hematology*. Ed, Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC Inc. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2000. p. 891-898.

Thompson D, Milford-Ward A, Whicher JT. The value of acute phase protein measurments in clinical practice, *Annals of Clinical Biochemistry* 1992; 26: 123-31.

Tietz WN, Fundamentals of Clinical Chemistry, Tietz, W.N. (ed). , Philadelphia, W.B. Saunders co., 1989.

Ulutaş B, Bayramlı G, Ulutaş P, Karagenc T Serum concentration of some acute phase proteins in naturally occurring canine babesiosis: a preliminary Veterinary Clinical Pathology 2005; 34(2): 147-144

Ulutaş PA. Deneysel *Pasteurella haemolytica* enfeksiyonlu koyunlarda kolostrum ve anne sütü ile beslemenin kan akut faz proteinleri ve bazı mineral düzeylerine etkisi. Doktora tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2003.

Ulutaş PA, Voyvoda H, Ulutaş B, Aypak S. Miks Helminth Enfeksiyonlu Keçilerde Haptoglobin, Serum Amiloid-A ve Seruloplazmin Konsantrasyonları. Türkiye Parazitoloji Dergisi 2008; 32 (3): 229 – 233.

Urieli-Shoval S, Linke RP, Matzner Y Expression and function of serum amyloid A a major acute-phase protein in normal and disease states. Current Opinion in Hematology 2000; 7: 64-69.

VanLenten BJ, Hama SY, Beer FC. Anti-inflammatory HDL becomes pro inflammatory during the acute phase response. Loss of protective effect of HDL against LDL oxidation in aortic wall cell cocultures The Journal of Clinical Investigation 1995;96: 2758–2767

Vervoordeldonk MJ, Tak PP. Cytokines in rheumatoid arthritis. Current Rheumatology Reports 2002; 4: 208-217.

Weissman G. Inflammation: Historical perspectives, in inflammation: Basic Principles and Correlates Gallin JI, et al (eds). Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates. Edited by JJ Gallin et al 2nd ed. New York: Raven Press, 1992:5-13.

Wittum TE, Young CR, Stanker LH, Griffin DD, Perino LJ, Littledike ET. Haptoglobin response to clinical respiratory disease in feedlot cattle. American Journal of Veterinary Research 1996; (57) 5: 646 - 649.

Yamada T. Serum amyloid A (SAA): a concise review of biology, assay methods and clinical usefulness. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine 1999; 37(4):381.

Young CR, Wittum TE, Stanker LH, Perino LJ, Griffin DD, Littledike ET. Serum haptoglobin concentrations in a population of feedlot cattle. American Journal of Veterinary Research 1996; (57) 2: 138

ÖZGEÇMİŞ

11.03.1986 tarihinde Manisa' nın Gördes ilçesinde doğdum. 1992 yılında girdiğim Ekrem Çifçi İlköğretim okulunda 8 yıllık eğitimimi tamamladıktan sonra 2000 yılında başladığım Yabancı Dil Ağırlıklı Aydın Lisesinde 4 yıllık lise eğitimimi tamamladım. 2005 yılında Pamukkale Üniversitesi Biyoloji Bölümüne girmeye hak kazandım. 2009 yılında bu bölümden mezun oldum. 2009 yılında ADÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladım.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca desteğini esirgemeyen, bilgi birikimini ve deneyimleriyle her zaman yanımda olan tez hocam Doç. Dr. Pınar Alkım ULUTAŞ'a ve tez çalışmalarım sırasında fikirleriyle bana yol gösteren, her zaman desteğini hissettiğim Prof. Dr. Funda KIRAL' a yardımları, gülyüzleri ve benzersiz kişilikleriyle yanımda oldukları için çok teşekkür ederim. Öğrencileri arasında hiçbirini ayırt etmeden eşit davranan, huzurlu ve güzel bir kürsü ortamı oluşmasını sağlayan Biyokimya ABD başkanımız Prof.Dr. Ayşegül BİLDİK' e, Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr Serap ÜNÜBOL AYPAK'a katkıları ve anlayışı için teşekkür ederim. Mikrobiyolojik materyal sağlamamdaki yardımları için mikrobiyoloji anabilim dalı öğretim üyesi Doç. Dr.Şükrü KIRKAN' a teşekkür ederim.

Bütün varlıklarıyla, maddi ve manevi destekleriyle beni hiç yalnız bırakmayan canım aileme, sabır ve özveriyle yanımda oldukları için çok teşekkür ederim.