

T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

A VİTAMİNİNİN KIZAMIK HASTALARININ POLİMORF NÜVELİ
LÖKOSİT FONKSİYONLARI ÜZERİNE ETKİSİNİN EX VİVO
ARAŞTIRILMASI

Biyolog Serkan AKARSU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

T 91552

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

DANIŞMAN

Yard.Doç.Dr. Ümran SOYOĞUL GÜRER

İSTANBUL, 2000

TEŐEKKÜR

Tezimin her aŐamasında bilgi ve deneyimlerini benimle paylaŐan, sevgi ve ilgisini daima hissettiğim çok değerli hocam, danıŐmanım Yard.Doç.Dr. Sayın Ümran Soyoğul Gürer'e göstermiŐ olduğu sabır, moral ve destek için ne kadar teŐekkür etsem azdır.

Yüksek Lisans yaptığım 3 yıl süresince çok değerli bilgi ve deneyimleri ile beni yönlendiren ve hiç bir zaman destek ve ilgilerini benden esirgemeyen çok değerli hocalarım Prof.Dr. Sayın Adile evikbaŐ'a ve Prof.Dr. Sayın Candan Johansson'a sonsuz teŐekkürlerimi sunarım.

Tezimin tamamlanmasında ve hasta temininde ilgi ve yardımlarını esirgemeyen GATA İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Servisi'nde görevli Yard.Doç.Dr. Sayın Hüsnü Altunay'a, ayrıca çalıŐmam süresince yakın ilgi ve yardımlarını benden esirgemeyen tüm klinik çalıŐanlarına teŐekkür ederim.

Deneyleirim sırasında bana yardımcı olan çalıŐma arkadaşlarıma, gönüllü deneklere ve daha önceki çalıŐmalarıyla araŐtırmama ışık tutan bütün bilim adamlarına teŐekkürü bir borç bilirim.

Bu tezin hazırlanmasında çok emeği olan, meslektaŐım ve niŐanlım Uzm. Bio. Sayın Burçak Gürbüz'e; eğitim hayatım süresince her zaman maddi ve manevi desteklerini gördüğüm aileme, gösterdikleri sevgi, anlayıŐ, sabır, moral ve destek için ne kadar teŐekkür etsem azdır.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	1
SUMMARY	3
GİRİŞ VE AMAÇ	5
GENEL BİLGİLER	7
Kızamık Virüsü Hakkında Genel Bilgiler	7
A Vitamini Hakkında Genel Bilgiler	13
Candida albicans Hakkında Genel Bilgiler	18
Fagositoz Hakkında Genel Bilgiler	19
1. Fagositik Hücreler	19
1. a. Polimorf Nüveli Lökositler (PNL)	19
1. a. 1. Nötrofiller	20
1. a. 2. Eozinofiller	22
1. a. 3. Bazofiller	23
2. Fagositoz	23
3. Mikroorganizmaların Hücre İçinde Öldürülmesi	25
3. a. Oksijene Bağımlı Öldürme Mekanizması	25
3. b. Oksijene Bağımlı Olmayan Öldürme Mekanizması	27
GEREÇ VE YÖNTEM	28
1.GEREÇLER	28
1.1. Hasta Grubu	28
1.2. Mikroorganizma	28
1.3. Besiyerleri	28
1.4. Tamponlar	28
1.5. Çözeltiler	29
1.6. Boyalar	29
1.7. A Vitamini	29

1.8. Mc Farland Tüpleri	30
1.9. Kimyasal Maddeler	30
1.10. Kullanılan Araç ve Aygıtlar	30
2. YÖNTEMLER	32
2.1. A Vitamini Tedavisi	32
2.2. Polimorf Nüveli Lökositlerin Elde Edilmesi	32
2.3. Polimorf Nüveli Lökositlerin Canlılık Deneyi	32
2.4. A vitamininin Polimorf Nüveli Lökositlerin Fagositik ve Hücre İçi Öldürme Aktivitesi Üzerine Etkisi	33
2.4.1. Candida albicans Kökeninin Hazırlanması	33
2.4.2. Candida albicans'ın Opsonizasyonu	33
2.4.3. A vitamininin Kızamık Hastalarının PNL'lerinin Fagositik ve Hücre İçi Öldürme Aktivitesi Üzerine Ex Vivo Etkisi	34
BULGULAR	35
TARTIŞMA ve SONUÇ	38
KAYNAKLAR	43
ÖZGEÇMİŞ	51

KISALTMALAR VE SİMGELER

AIDS	:	Acquired Immuno-deficiency Syndrome
CRBP	:	Selüler Retinol Bağlayıcı Protein
ECF-A	:	Eozinofil Kemotaktik Faktör-Anaflaksi
EDTA	:	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
ELISA	:	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FTS	:	Fizyolojik Tuzlu Su
HBSS	:	Hank's Balanced Salt Solution
HIV	:	Human Immuno-deficiency Virus
HPLC	:	High Performance Liquid Chromatography
Ig	:	İnsan Gama Globulini
IL	:	Interlökin
IU	:	International Unit
MeV	:	Measles Virus
mRNA	:	Messenger RNA
NAD	:	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NBT	:	Nitroblue Tetrazolium
PAHO	:	Amerikan Sağlık Örgütü
PBS	:	Phosphate Buffered Salin Solution
PEM	:	Protein Enerji Malnütrisyonu
PNL	:	Polimorf Nüveli Lökosit
RA	:	Retinoik Asit
RBP	:	Aporetinol Bağlayıcı Protein
RES	:	Retükulo Endotelial Sistem
RNA	:	Ribonükleik Asit
SRS-A	:	Anaflakside yavaş etkiyen madde
SSPE	:	Subakut Sklerozan Panensefalit
TNF	:	Tümör Nekroz Faktör
WHO	:	Dünya Sağlık Örgütü
UNICEF	:	Union National Children Education Federation

ÖZET

Kızamık, Measles virüsün (MeV) neden olduğu öksürük, nezle, ateş ve makülopapüler döküntüler ile karakterize, akut seyreden bulaşıcı bir enfeksiyondur.

Kızamıkta A vitamini desteğinin enfeksiyonlara karşı direnci artırdığı; diyare, pnömoni, protein-enerji malnütrisyonu ve körlük gibi sekonder komplikasyonlarla ilişkili mortaliteyi azalttığı bilinmektedir.

A vitamininin, kızamıklı hastaların immün sistem hücreleri üzerine olası immünomodülatör etkilerini göstermek amacıyla; yaş ortalaması 20 olan 15 kızamıklı erkek hastaya 2 gün süre ile A vitamini (195.000 IU/gün/oral) uygulanmış ve hastaların polimorf nüveli lökosit (PNL) fonksiyonları (fagositik ve hücre içi öldürme aktivitesi) üzerine etkisi ex vivo olarak araştırılmıştır.

Hastaların tedavi öncesi ve tedavi sonrası PNL'leri (1×10^7 hücre/ml), Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (EDTA) içine alınan venöz kandan Ficoll-hypaque gradient santrifüj yöntemi ile ayrılmış ve canlılık %98 olarak tespit edilmiştir. PNL'lerin fagositik ve hücre içi öldürme aktivitesi tayininde *Candida albicans* ATCC 10231 kökeni kullanılmıştır. Son hücre yoğunluğu 5×10^6 PNL/ml ve 5×10^6 maya/ml; PNL/maya oranı ise 1:1 olarak ayarlanmıştır.

PNL'lerin fagositik aktivitelerinin tayininde, *Candida albicans* hücrelerini fagosit etmiş olan PNL'ler sayılarak, yüzde cinsinden ifade edilmiştir. Hücre içi öldürme aktivitesi tayininde ise, PNL'ler tarafından öldürülmesi sonucu maviye boyanan *Candida albicans* hücrelerini içeren PNL'ler sayılarak, yüzde cinsinden ifade edilmiştir.

Kızamık hastalarının tedavisinde hastaya 2 gün süre ile uygulanan A vitamini (195.000 IU/gün/oral) hasta PNL'lerinin fagositik aktivitesini ve hücre içi öldürme aktivitesini anlamlı olarak artırmıştır ($p < 0.05$).

Sonuç olarak kızamık hastalarının tedavisinde 2 gün süre ile uygulanan A vitamini (195.000 IU/gün/oral) PNL fonksiyonları üzerine immünomodülatör etki göstererek, hastaların daha çabuk ve komplikasyonsuz iyileşmelerini sağlamıştır.



SUMMARY

EX VIVO INVESTIGATION OF THE EFFECT OF VITAMIN – A ON POLYMORPHONUCLEAR LEUKOCYTE FUNCTIONS OF PATIENTS WITH MEASLES

Measles is an acute infection caused by the measles virus. It is a highly contagious disease. The illness is characterized by cough, coryza, fever and maculopopular rash. It has been known that vitamin A supplementation in measles increases resistance against infection and decreases mortality related with secondary complications as blindness, protein-energy malnutrition, pneumoniae and diarrheae.

Vitamin A (195000 IU/day/oral) has been administered for 2 days to 15 male patients with measles (average of age is 20) to observe it's immunomodulatory effects on immun system cells. The effect of vitamin A on patient PMN functions (phagocytic and intracellular killing activity) was investigated ex vivo.

PMNs (1×10^7 cells/ml) were isolated by Ficoll-hypaque gradient centrifuge method from venous blood in Ethylene diamine tetra acetic acide of patients with measles. Viability of PMNs was determined as 98 %. *Candida albicans* (ATCC 10231) was used to determine the phagocytic and intracellular killing activities of PMNs. Final cell density was adjusted to 5×10^6 PMN/ml. and 5×10^6 yeast/ml; PMN yeast ratio was 1:1.

For the determination of phagocytic activitiy of PMNs, phagocytosed yeast cells were counted on a slide under the microscope and the result was expressed as percentage. Intracellular killing activities of PMNs were determined by counting the PMNs that contain killed yeast cells (blue in colour) by PMNs. The result was expressed as percentage.

Vitamin A (195000 IU/day/oral) which was administered for 2 days in the treatment of patients, increased phagocytic and intracellular killing activities of PMNs significantly ($p < 0.05$).

In conclusion, vitamin A (195000 IU/day/oral) administered for 2 days in the supportive treatment of measles, produced immunomodulating effects on PMN functions without any complication.



GİRİŞ ve AMAÇ

Kızamık akut, çok bulaşıcı, ateş, solunum yolları belirtileri ve deride makülopapüler döküntülerle karakterize bir infeksiyon hastalığıdır (2, 9, 44, 53, 60).

Hastalık çok eski tarihlerden beri bilinmekte olup klinik tablosu ilk kez X. yüzyılda, Razi tarafından etraflıca tanımlanmıştır. Geçmiş yüzyıllarda, özellikle Avrupa'da büyük kızamık salgınlarının olduğu, bunlardan bazılarında ölüm oranının yüksek bulunduğu tarih kayıtlarından anlaşılmaktadır. XVIII. yüzyılda İngiliz hekimi Sydenham, kızamığı diğer döküntülü hastalıklardan ayırmış ve bağımsız bir infeksiyon hastalığı olduğunu göstermiştir. Kızamığın etkeni hakkında yapılan araştırmalar ancak 1911'de sonuç vermiştir. Goldberger ve Anderson hastalardan alınan solunum yolları salgılarını filtrelerden geçirip maymunlara inoküle ederek hastalığı meydana getirebilmiş ve etkenin filtrelerden geçebilen bir virüs olduğunu ortaya koymuşlardır. 1954'de Enders ve arkadaşları virüsü doku kültürlerinde üretmişler ve bundan sonra kızamık virüsünün her yönden incelenmesi kolaylaşmış, patojenite ve immünolojisi kesin olarak anlaşıldığı gibi hastalığa karşı etkili aşılardan yapımına da olanak bulunmuştur (53).

Son yıllarda biyolojik yanıt değiştirici ajan olarak kabul edilen antimikrobik ilaçların dışında, antimikrobik olmayan bazı ilaçların da insan immün sistemini olumlu veya olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir. Son on yıldır yapılan epidemiyolojik, immünolojik ve moleküler çalışmalar infeksiyon hastalıklarına karşı immünitede, A vitamininin önemli rolü olduğunu göstermektedir. A vitamini desteğinin, çocuklarda sağ kalım üzerine olumlu etki yarattığı savunulmaktadır. WHO ve UNICEF gibi resmi kurumlar, A vitamini eksikliğinin endemik olduğu bölgelerde, kızamığın başlangıcında tek doz 200.000 IU. A vitamini (100.000 IU. süt çocukları) uygulanmasını önermektedir (47).

A vitamininin T hücre bağımlı antijenlere karşı antikor yanıtını güçlendirdiği, antijen ve mitojenlere yanıtta lenfosit proliferasyonunu artırdığı, apoptosizi inhibe ettiği ve mukoza yüzeylerinin fonksiyon ve bütünlüğünü restore ettiği gösterilmiştir (11).

Mikroorganizma, ilaç ve konak immün sistemi arasındaki karşılıklı ilişkileri konu alan araştırmalar, özellikle immün sistemi bozuk ve baskılanmış kişilerde görülen hastalıkların tedavisinde önemli rol oynamaktadır. A vitamini eksikliği, T ve B hücre fonksiyonlarında ve lenfosit alt gruplarında değişiklik, antijenik proteinlere karşı bozulmuş antikor yanıtı ve mukozal yüzeylerdeki patolojik değişiklikleri de içine alan immünitede yaygın bozuklukla karakterize bir immün yetmezliktir. İnfeksiyon etkeni mikroorganizma, konak vücuduna girdiğinde konağın immün sistemi harekete geçer ve karmaşık bir etkileşim mekanizması ile yabancı etkeni yıkıma uğratar. Bakteriyel infeksiyonlarda polimorf nüveli lökosit (PNL)'lerin konağın non spesifik savunma mekanizmasında anahtar rolü oynadığı bilinmektedir (19, 48).

Kızamığın akut evresinde, virüs antijeninin PNL'ler içinde lokalize olduğu, indirekt immünoperoksidaz tekniği ile periferik kan yaymalarında gösterilmiştir (1).

Bu çalışmada; kızamıkla infekte, yaş ortalaması 20 olan 15 hastaya 2 gün süre ile uygulanan A vitamini (195.000 IU/gün/oral) desteğinin, hasta PNL fonksiyonları (fagositik ve hücre içi öldürme aktivitesi) üzerine immünomodülatör etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır.

GENEL BİLGİLER

KIZAMIK VİRÜSÜ HAKKINDA GENEL BİLGİLER

Kızamık akut olarak başlayan, solunum yolu belirtileri ile birlikte, ateş ve deride makülopapüler döküntülerle karakterize olan, çok bulaşıcı bir infeksiyon hastalığıdır (2, 9, 44, 60).

Hastalığın etkeni Paramyxoviridae ailesinin, Morbilivirus genusunun, insanlarda hastalık yapan tek üyesi olan kızamık (Rubeola, Measles) virüsüdür (2,9, 23, 40, 44, 64).

Kızamık virüsü (MeV) 120-250 nm çapında olup, tek parça halinde tek iplikli RNA; heliks şeklinde bir nükleokapsid ve dış lipoprotein zarftan kuruludur (29, 60). Virionda, negatif kutuplu genomu mRNA'ya transkripsiyon yapan RNA'ya bağımlı bir RNA polimeraz vardır. Dolayısıyla genom infektif değildir (9, 29, 64).

Virüs yapısal ve fonksiyonel özellikleri olan en az 6 adet protein ihtiva eder. Bunlar ; nükleoprotein (NP), polimeraz fosfoprotein (P), matriks (M), füzyon faktör (F), hemaglutinin (H) ve large proteindir (L). M proteini virüsün olgunlaşması, H proteini virüsün hücreye tutunması, F proteini virüsün hücreye girişi ve hücre füzyonundan sorumludur (2, 9, 29, 44, 60, 64).

Kızamık virüsünün değişkenlik göstermeyen tek bir antijenik serotipi vardır. Bu antijen, hemaglutinin nötralizan antikorun yöneldiği bir antijendir (9, 29, 44, 60).

Kızamık virüsü sıcağa çok duyarlıdır. Virüs 0° C - 25° C arasındaki ısıda, pH: 7-8 arasında optimal stabilite göstermektedir. Virüs aynı sıcaklık dereceleri arasında pH: 2-4 veya pH: 11'de infektivitesini hızla kaybeder. Sulandırma sıvısında protein bulunduğu zaman, soğuk ortamda uzun süre tutulabilir. Serumlu ortamlarda 4° C'de 5 ay saklanabilir. Proteinsiz ortamlarda ise 4° C'de 2 haftada infektivitesi kaybolur. Virüs oda

ısısında 3-5 günde infektivitesinin % 60'ını, 37° C'de % 50'sini, 56° C'de 30 dakikada ise infektivitesinin tamamını kaybeder (2).

Genellikle dayanıksız olan kızamık virüsü, birçok fizik ve şimik etkenlerle inaktive olabilir. Oda ısısında % 20 eter ve % 50 aseton ile muamele edildiğinde, 10-30 dakikada infektivitesinin tamamını kaybeder. Ultraviyole, tripsin, formalin ve β -propiolakton ile de inaktive olur (2, 60).

Kızamık virüsü insan embriyonu böbrek hücre kültürlerinde ürer ve hücrelerarası sinsityalar yaparak en az 36 saat canlı kalabilir. İnsanlar, kızamık virüsünün tek doğal konağıdır. Bununla beraber maymun, köpek, fare gibi hayvanlar da deneysel olarak infekte olabilirler (2, 9, 23, 40, 44, 60).

Kızamık virüsü, aksırık ve öksürükle atılan kontamine damlacıkların nefes yoluyla alınmasıyla üst solunum yolu mukozasından organizmaya girer. Organizmaya giren virüs, önce solunum yollarında lokal olarak çoğalır. Hemaglütinini ile hücre yüzeyine adsorbe olan virüs hücreye penetre olup örtüsünü çıkarır. Virion RNA polimerazı, negatif iplikli genomu, mRNA'ya transkripsiyona uğratar. Her biri özgün viral proteinler haline translasyona uğratılan çok sayıda mRNA sentez edilir. Heliks şeklinde nükleokapsid derlenir, M proteini zarfla etkileşmeye aracılık eder ve virüs hücre zarından tomurcuklanarak dışarı salınır (2, 9, 29, 44, 60, 64).

Solunum sistemi hücrelerinde lokal olarak çoğalan virüs bölgesel lenfoid dokuya ulaşarak üremeye devam eder (2, 9, 44, 60). Burada da çoğalan virüs, lökositler içinde retikülo endoteliyal sistem (RES)'e yayılarak primer viremi oluşturur. Bu ilk viremiden 10-11 gün sonra virüs yayıldığı vücut bölgelerinde ürer. Bunu takiben hastalığın semptom ve belirtileri meydana gelir. Hastalık belirtilerinin ortaya çıkışını takiben, infekte RES hücrelerinin nekrozuna bağlı fazla miktarda virüsün açığa çıkması ve lökositlere invazyonu ile yayılımı da sekonder viremiyi oluşturur. Bunun sonucunda virüs, lenfatik yayılım ve viremi ile vücuda yayılarak deri, solunum yolları, konjunktiva,

üriner ve gastrointestinal kanal, kapiller damarlar, lenfatik sistem ve santral sinir sistemine yerleşir (2, 9, 29, 44, 60, 64).

Virüs duyarlı hücrelerde sinsitya formasyonu, kromozomal organizasyon bozukluğu, nukleus ve sitoplazmada inklüzyon cisimciklerinin oluşumu ile hücre füzyonuna ve vücuttaki tüm lenf düğümlerinde tonsilla, apendiks gibi lenfoid dokularda intranükleer inklüzyon cisimciği ihtiva eden çok nukleuslu dev hücrelerin (Warthin Finkeldey dev hücreleri) oluşumuna neden olur. Ayrıca hastalık için tanımlayıcı bir lezyon olan koplik lekeleri (ortasında beyaz bir nokta bulunan parlak kırmızı lezyonlar), yanak submukozal salgı bezlerinde mononükleer hücre infiltrasyonu ve mukozanın fokal veziküler lezyonlarının nekrozu sonucu oluşur (2, 9, 44, 60, 64).

Virüsün inkübasyon süresi çocuklarda genellikle 10-14 gündür. Yetişkinlerde bu süre 3 haftaya kadar uzayabilir. Enfeksiyon sırasında 3 dönem gözlenir (2, 9, 29, 44,60).

1- Ön Dönem: Virüsle temastan sonra, 11. günde başlayan ön dönem bulguları ortalama 3-4 gün sürer ve sekonder viremiyle çakışır. Ateş, miyalji, kırıklık, kuru öksürük, konjunktivit ve nezle tablosundan ibarettir. Bu dönemin sonunda ağız ve yanağın iç kısmında, özellikle alt azı dişlerin hizasında koplik lekeleri gözlenir. Koplik lekelerinden başka yanak mukozası dışında konjunktiva, vajinal ve intestinal mukozada da enantemler görülebilir. Koplik lekeleri aniden ortaya çıkar, genellikle 1-2 gün nadiren 3 gün içinde matlaşarak kaybolur. Bu lekelerin ağızda gözlenmesi hastalık için tanı koydurucudur. Ayrıca kan incelemesinde lenfopeni dikkati çeker. Virüs bu dönemde burun ve boğaz sekresyonları, idrar ve kanda bulunur. Hastalar virüsü bulaştırıcı özelliktedir.

2- Ekzantem Dönemi: Koplik lekelerinin belirmesinden 12-24 saat sonra, hastalığın döküntülerle karakterize olan ekzantem dönemi başlar. Döküntüler makülopapüler karakterde olup ilk önce sönük maküler şekilde alın ve kulak arkasından saç çizgisi boyunca başlar. İlk 24 saat içinde tüm boyuna, yüze, kolların ve göğsün üst kısımlarına yayılırken makülopapüler şekle döner. Sonraki günde süratle tüm kollara,

sırta, karına ve uyluğa yayılır. İki veya üçüncü günde ayaklara ulaşır ve görünüm sırasını izleyerek solmaya başlar. Döküntülerin rengi dönemine göre soluk pembeden parlak kırmızıya kadar değişir. Üzerine basınca kaybolan döküntüler, 6-7 günde kahverengileşir ve pullanarak kaybolur. Bu dönemde virüs kandan kaybolur, ateş düşer ve antikorlar saptanabilecek düzeye ulaşır.

3- Nekahat Dönemi: Hastalığın hafiflediği, döküntülerin kaybolduğu ve iyileşmenin başladığı dönemdir. Bu dönemde antikorlar maksimum düzeye yükselir ve hastalık sona erer (2, 9, 23, 29, 44, 60).

Kızamık komplikasyon oluşturmamış olgularda genellikle iyi seyirli ve spontan olarak düzelme gösteren bir hastalıktır. Ancak virüsün direkt olarak hastaya verdiği zararlar yanında, immünsupresyon yapması ve sekonder bakteriyel infeksiyonlara zemin hazırlaması hastalığın önemini artırmaktadır (2, 9, 40, 44, 60).

Ateşin sebatı veya düştükten sonra tekrar yükselmesi ve lökositöz bakteriyel komplikasyonu düşündürür. Özellikle Haemophilus influenza, streptokok, pnömokok ve stafilokokların etken olduğu laringotrakeit, bronşit, bronkopnömoni, otitis media, mastoid gibi sekonder bakteriyel infeksiyonlar, virüsün immün supresyon yapması sonucu gelişir (2, 23, 40, 44, 60).

Virüsün direkt etkili olduğu komplikasyonlar ise interstisiyel pnömoni, ensefalomyelit, subakut sklerozan panensefalit (SSPE) ve infeksiyonun gebelikte geçirilmesi durumunda düşükler, ölü doğumlar ve anomalili doğumlardır (2, 9, 23, 29, 39, 40, 44, 60).

Kızamığa bağlı olarak hastalarda A Vitamini eksikliği oluşmakta ve süt çocuklarında gastroenterit görülme sıklığı artmaktadır (40). Buna bağlı olarak mortalitede A vitamini eksikliğinin rol oynadığı belirtilmektedir (26). Beslenme bozukluğu olan çocuklarda kızamığın ağır seyrettiği bilinmektedir. Çocuklara kızamık

tanısı konar konmaz 2 gün süre ile 400.000 IU/gün oral A vitamini verilmesi mortalite ve körlük gelişme riskini azaltmaktadır (29, 60).

Kızamık, bağışıklık sistemi için güçlü bir testtir. Hücresel bağışıklık sisteminde bozukluk olan çocuklar, sıklıkla döküntü gelişmeden, primer dev hücreli pnömoni veya inklüzyon cisimcikli ensefalitten ölümler (19).

Hücresel bağışıklıkta virüslere bağlı bozukluk, gelişmiş ülkelerde bile olağan bir bulgu olup yaygın görülen komplikasyonların nedenidir. Buna karşılık, otoimmün demiyelinizan (miyelin kaybı) bir hastalık olan ve kızamık sonrasında görülen ensefalomiyelitte binde bir-iki vakada rastlanır. Kızamık sonrası gelişen ensefalomiyelitte beyinde virüs saptanamamaktadır; ancak serebrospinal sıvıda yüksek düzeyde CD8'in olması, bu komplikasyonun, sitotoksik T hücreleri tarafından belki de miyelin yapan hücrelere karşı, otoimmün bir atak sonucu geliştiğini düşündürmektedir. Bu immünolojik tehlikeleri uzak tutan "ödül" niteliğindeki olay, daha sonraki ataklara karşı yaşam boyu koruyuculuğun oluşmasıdır. Fagositik sistemin mononükleer hücreleri tarafından viral antijenlerin prezantasyonunu, antijen spesifik T lenfositlerinin ekspansiyonu izler. Bu sürecin erken bir olayı, yüksek afiniteli interlökin-2 (IL-2) reseptörünün yüzeyde ekspresyonudur. Serumda saptanabilen bu molekül IL-2'nin indüklediği lenfositik proliferasyonun bir göstergesidir. Kızamıkta, döküntü görülmeden önceki haftada IL-2 düzeyi yükselir ve en az dört hafta yüksek kalır (19).

Kızamık virüsü oldukça bulaşıcı karakterde olup, hastalığı geçiren kişilerde yaşam boyu süren kalıcı bağışıklık görülür ve ikinci bir kızamık enfeksiyonu görülmez (2, 9, 29, 44).

Kızamık, aşı ile korunulabilen hastalıklardandır (9, 26, 40). Bu amaçla genellikle canlı attenüe aşılardan kullanılır. Bununla birlikte inaktive aşılardan da bulunmaktadır. Aşılama ile % 90-97 oranında bağışıklık elde edilmektedir. Bu bağışıklık en az 16 yıl, genellikle yaşam boyu sürmektedir (2, 9, 44, 60).

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde kızamığın morbidite ve mortalite oranları farklılık göstermektedir. Kızamığa bağlı olarak dünyada yılda 2.5 milyon çocuğun öldüğü tahmin edilmektedir. Ülkemizde de yıllara göre olgu sayısında azalma veya artış görülmektedir. Bu nedenle dünyada aşılama da değişik yaklaşımlar uygulanmaktadır (26).

Kızamık hastalığının görülme yaşı az gelişmiş ve gelişmiş ülkelerde farklılık göstermektedir. Az gelişmiş ülkelerde bir başka ifade ile aşılamanın yetersiz veya yapılmadığı ülkelerde kızamık infeksiyonunun görülme insidansı 1-2 yaş grubunda artmış olarak görülürken, aşılamanın başarı ile yapıldığı gelişmiş ülkelerde 5-9 yaş grubu veya daha yukarı yaş gruplarında görülmektedir. Amerika'da yapılan bir çalışmada kızamık olgularının % 67'sinin okul dönemindeki çocuklarda, % 26'sının okul öncesi yaşlarda görüldüğü bildirilmektedir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada hastalığın 3-5 yaş grubu çocuklarda daha sık görüldüğü ve 6. aydan itibaren yakalanma olasılığının arttığı belirtilmiştir. Güney Afrika'da yapılan bir çalışmada kızamık geçirme zamanınının 10. ay olduğu bildirilmiştir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada erken yaşta da (4 yaşın altında) kızamık olgularına rastlanıldığını ancak hastalığın daha sık olarak okul çağı çocuklarında görüldüğü belirtilmiştir.(26)

Kızamığa karşı geçici bir koruyuculuk oluşturmak amacıyla, kızamık antikorlarına sahip insan gama globulini uygulanması, kızamığı önlemekte veya hafif geçirilmesini sağlamaktadır (29, 44, 60).

Virüsün laboratuvar tanısında klinik belirtiler genellikle yeterlidir. Spesifik tanı için hücre kültürü ya da serolojik testlere gerek vardır. Virüs, döküntülerin 1. günü, boğaz çalkantı suyu, kan veya idrar örneklerinin uygun doku kültürlerine ekilmesi ile izole edilebilir. Kızamık antijeni respiratuvar veya üriner epitel hücrelerinde, floresan ya da peroksidazla işaretli antikor boyama yöntemi ile kısa sürede gösterilebilir (2, 9, 23, 44, 60).

Kızamığın rutin spesifik laboratuvar tanısında, kızamık (M) antikorlarını (IgG ve IgM) gösteren ELISA testi kullanılır. Tek serum örneğinde spesifik IgM antikorlarının

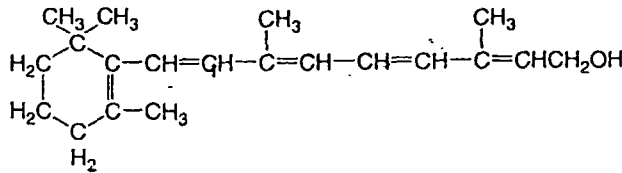
gösterilmesi tanıyı kesinleştirir (2, 9, 44, 60). Kızamıklı hastalarda ELISA yöntemiyle serumda M IgM'nin döküntüden sonra saptanabildiği, 7-11. günlerde pik yaptığı ve 1 ay sonra ise saptanamayacak düzeylere düştüğü belirtilmektedir. Toplumda insanların bağışık olup olmadığı, serumda MIgG düzeylerine bakılarak belirlenebilmektedir. Yapılan bir çalışmada hastalık geçirmemiş ve aşılanmamış çocuklarda serumda MIgG negatif saptanırken yetişkinlerde pozitif bulunmuştur (26).

Kızamığın özel bir tedavisi yoktur, genellikle semptomatik tedavi yapılır. Hastanın ateşinin düşmesi için antipiretikler, bol sıvı; öksürük, miyalji ve baş ağrısının hafiflemesi için de kodeinli preparatlar verilmektedir. Bakteriyel komplikasyonlar oluştuğunda da uygun antibiyotikler tedaviye eklenmektedir (2, 9, 29, 60).

A VİTAMİNİ HAKKINDA GENEL BİLGİLER

1913 yılında Mc Colum ve Davis'in bazı belirli besinler içinde bulunan ve yağda eriyen bir maddenin farelerde büyümeyi hızlandırdığını bildirmelerinden sonra, pek çok araştırmacı bu maddenin yalnızca büyüme olayını devam ettirmekle kalmadığını bunun yanı sıra kseroftalmi ve gece körlüğünü de önlediğini kanıtlamış ve bu maddeyi "A vitamini" olarak tanımlamışlardır (6, 13, 15).

A vitamini (retinol), içinde bir sikloheksenil halkası taşıyan bir poli-izoprenoid bileşiğidir (Şekil 1)(22, 38, 55, 59).



Şekil 1: Retinol (A vitamini)

A vitamini, önceden hazır duruma geçmiş retinolü ve barsak mukozasında retinal ve retinole dönüştürülen ön vitamin olan beta karoteni kapsayan bir terimdir. Retinoid terimi ise retinolün hem doğal hem de sentetik analoglarını tarif etmek için kullanılmıştır (13, 15, 22, 38, 66).

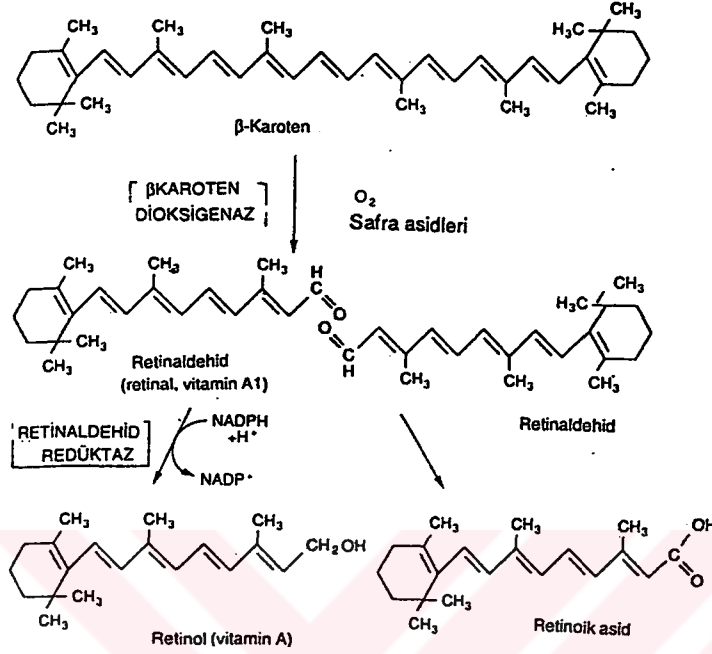
Hayvan ürünleri içinde diyetle alınan A vitamini, retinolün uzun zincirli yağ asidi esterleri halinde mevcuttur. Bitkiler içinde A vitamini, karbon zincirlerinin aldehit ucunda iki molekül retinalin birleşmesinden ibaret olan, sarı pigment beta karoten formunda bir provitamin olarak bulunur (13, 15, 22, 35, 38, 50, 55, 58).

A vitamini sindirimi lipitlerin sindirimine eşlik eder ve sindirimi intestinal mukozadaki transformasyonlar izler. Besinlerdeki yağda çözünmüş retinol esterlerinin safra damlacıklarında dağılımları ve intestinal lümendeki hidrolizlerinin ardından intestinal epitele direkt emilimleri meydana gelmektedir. Gıda ile alınan beta karotenler, “beta karoten dioksijenaz” enzimi ile oksidatif parçalanmaya uğrarlar. Bu parçalanmada moleküler oksijenden yararlanır ve safra tuzlarının varlığında hızlanan olay sonucunda iki molekül retinal aldehit (retinal) açığa çıkar (13, 15, 22, 35, 38, 50, 55, 69).

Retinal, intestinal mukozada nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH)’dan yararlanan spesifik bir “retinaldehit redüktaz” tarafından retinole indirgenir. Retinalin küçük bir bölümü retinoik aside okside olur. Retinolün büyük bir kısmı ise, doymuş yağ asitleri ile ester oluşturur ve kan dolaşımına giren lenf şilomikronlarının yapısına dahil olur. Bunlar içerdikleri retinol ile birlikte karaciğer tarafından alınan şilomikron kalıntılarına dönüşürler (Şekil 2) (13, 22, 38, 55, 59).

A vitamini karaciğerde depolanır ve bağlayıcı proteinleri ile birlikte kana salınır. Karaciğerde A vitamini, muhtemelen bir lipoglikoprotein kompleksi şeklinde lipozitlerde ester formunda depolanır. Dokulara ulaşımı için hidrolize olmakta ve retinol, “aporetinol bağlayıcı protein (RBP)’e” bağlanmaktadır. Sonuçta meydana gelen holo RBP golgi aygıtında işlenerek plazmaya salgılanır. Retinoik asid plazmada albumine bağlı olarak aktarılır. Retinol bir kez ekstra hepatik hücrelere girince, bir selüler retinol bağlayıcı

protein (CRBP) tarafından bağlanmaktadır. RBP kapasitesi aşıldıktan sonra hücreler bağlı olmayan retinole maruz kalırlarsa A vitamini toksisitesi (hipervitaminöz A) meydana gelir (6, 13, 15, 22, 35, 38, 55, 59).



Şekil 2. Beta karotenin, retinaldehite parçalanışı. Retinaldehidin retinole indirgenmesi ve retinaldehidin retinoik aside oksidasyonu.

Organizma A vitamini ihtiyacını retinol esterleri şeklinde balık eti ve karaciğeri, hayvan eti ve karaciğeri, yumurta, süt, tereyağı, ve diğer süt ürünleri olmak üzere hayvansal kaynaklardan; provitamin (Beta karoten) olarak da sarı veya kırmızı renkli sebze ve meyvelerden (havuç, domates, patates, elma, kayısı, şeftali ve bazı yeşil yapraklı sebzelerden (ıspanak, pancar yaprağı) karşılar(6, 22, 34, 35, 50, 55, 58, 59).

A vitamini evrim düzeyinin yüksek basamaklarında bulunan hayvanlarda büyümenin, sağlığın ve yaşamın desteklenmesi için kesinlikle gereklidir. Görme fonksiyonu farklılaşmış epitelin bu özelliğinin korunması, mukus salgısının devam edebilmesi, dişi ve erkeklerde gonadların ve genital kanal epitel hücrelerinin normal durumlarının sürdürülmesi ve üreme fonksiyonu, büyüme ve farklılaşmada kemiklerin ve yumuşak dokuların gelişmesi ve immün sistemin düzenlenmesinde A vitamini önemli rol oynamaktadır. Bunun yanında beta karotenin bizzat kendisi oksijeni baskı altına alıp,

serbest radikalleri tutarak oksidasyon reaksiyonlarını önlemekte ve böylece DNA'nın tahribine engel olmaktadır (13, 15, 22, 55, 58, 66, 69).

Amerikan Sağlık Örgütü (PAHO)'nün kriterlerine göre A vitamini eksikliğinin toplumsal sağlık problemi haline gelmesi, popülasyonun % 15'inde serum A vitamini seviyesinin 20 µg/dl'nin altına düşmesi sonucu ortaya çıkmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün kriterlerine göre ise; popülasyonun % 5'inden fazlasında, serum A vitamini düzeyinin 10µg/dl'nin altına düşmesi sağlık problemi olarak kabul edilmektedir .

HPLC (High Performance Liquid Chromatography) yöntemi ile yapılan bir çalışmada 2 yaşın altındaki 80 sağlıklı çocuğun % 30'unda serum A vitamini seviyesinin 20 µg/dl'nin altında, kızamıklı çocukların % 52'sinde ise 10 µg/dl'nin altında olduğu gösterilmiştir (16).

Yapılan çalışmalar, iyi beslenmiş kızamıklı çocuklardaki serum A vitamini konsantrasyonunun, kızamığı olmayan kötü beslenmiş çocuklarınkinden düşük olduğunu göstermektedir (10).

Erişkinlerde ortalama günlük A vitamini ihtiyacı 2500-5000 ünedir. A vitamini noksanlığının klinikteki en önemli etkileri gözlerde ortaya çıkar. Göz yaşı ifrazının azalması sonucu konjunktiva epitelini kurur ve bozulur (kseroftalmi), bazen de ülserasyon ve infeksiyon meydana gelir (keratomalasi). Ayrıca gözde karanlığa karşı adaptasyon bozulur ve gece körlüğü (niktalopi) meydana gelir. Bunların yanında A vitamini eksikliğinde vücudun epitelial yapıları keratinize olmaya başlar. A vitamini eksikliği derinin pullanması, bazen akne oluşumu, genç hayvanlarda iskelet gelişiminin duraklamasını içeren büyüme yetersizliği, özellikle testislerde germinal epitelin atrofisi ile birlikte üremenin bozulması, dişide bazen cinsel siklusun kesintiye uğraması, mide ve barsakları örten mukozalarda zayıflama, ülserlerin ve emilme bozukluklarının oluşumu ile kendini gösterir. Ayrıca göz, böbrek ve solunum yollarındaki epitelial yapılar sıklıkla infeksiyona uğrar. Bu sebepten ötürü A vitaminine "anti-infeksiyon" vitamini adı da verilmiştir (6, 13, 15, 22, 35, 55, 58, 59, 67).

A vitaminini yüksek dozda ve uzun süre ilaç şeklinde alan kişilerde, akut ve kronik zehirlenme tablosu oluşabilir. Zehirlenme, retinol şeklinde A vitamini alınması ile; yorgunluk, irritabilite, iştahsızlık, bulantı, dudaklarda çatlama, deskuamasyonla birlikte cilt ve mukozaların kuruması, kusmalar, baş ağrıları, saçlarda dökülme, kemik ve eklem ağrıları, hepatosplenomegali ve buna bağlı olarak karaciğer fonksiyon bozuklukları gibi belirtilerle ortaya çıkar. Yüksek miktarda beta karoten alınımında ise karotenin fazlası ciltte toplanır ve deriye sarı bir renk verir (6, 13, 15, 22, 34, 38, 55, 66).

A vitamini eksikliği bulunan hayvanlar deneysel infeksiyonlara daha duyarlıdır. A vitamini düzeyi normal olan hayvanlara A vitamini takviyesi yapıp, çeşitli patojenlerle karşılaştıklarında ciddi infeksiyonlara daha az yakalandıkları saptanmıştır. A vitamininden yoksun hayvanlarda timus, lenf düğümleri, peyer plakları ve dalak atrofisi görülmektedir. Solunum ve intestinal yolların mukozal yüzeylerinde meydana gelen patolojik değişiklikler, pul pul metaplazi ve goblet hücreleri mukus kaybıdır. A vitamini yetersizliği olan hayvanlarda tanımlanan belli immün değişiklikler, zayıflatılmış fagositoz, T öldürücü hücrelerin aktivitesinin azalması, immünooglobulinlerin antijen yanıtında zayıflama, antijen ve mitojenlere proliferasyon yanıtının baskılanmasıdır. Farelerle yapılan son çalışmalar A vitamini yetersizliğinde interferon gama üretiminin kontrol edilemediğini göstermektedir. A vitamini ve metabolitlerinin immüniteyi artırmasının diğer bir yolu immün efektör hücrelerinin apoptosisinin inhibisyonudur. Bu mekanizmalar özellikle HIV-1 infeksiyonları ve AIDS gibi oksidatif stres ile karakterize edilen hastalıklarda önem kazanmaktadır. Hayvanlarda yapılan çalışmalar A vitamininin periton içi deriden veya ağızdan verilen antijenlerin antikor yanıtını güçlendirdiğini ve aşı antijenlerine karşı hücrelerarası immün yanıtı artırdığını göstermiştir. Diğer retinoidler de antijenik mücadelede immün yanıtı güçlendirmektedir. Buna ek olarak A vitamini doğal öldürücü hücrelerin üretimini teşvik etmekte ve hücrelerarası toksisiteyi artırmaktadır. A vitamininin immün sistem üzerindeki spesifik ve spesifik olmayan etkileri daha çok transkripsiyon düzeni üstüne etkilidir. Bu yüzden A vitamini immün yanıtı artırıcı, immünomodülatör etkiye sahiptir (52).

CANDIDA ALBİCANS HAKKINDA GENEL BİLGİLER

Candida albicans, 2-5 µm büyüklüğünde tek hücreli ve tomurcuklanma ile çoğalan, oval bir mayadır. Deuteromycetes sınıfının Blastomycetes alt sınıfına ait olup; insanda üst solunum yolu, sindirim ve genital kanal mukozalarının ve derinin normal flora üyesidir (23, 29, 51, 60, 63).

C. albicans ve diğer *Candida* türleri anatomik, hormonal, mikrobiyal veya immünolojik çevre şartları değiştiğinde konakta enfeksiyon yapabilirler. Bu yüzden fırsatçı patojen olarak tanımlanmışlardır (20, 56, 57, 60).

Kandidalar epitel hücrelerine tutunarak mukoza yüzeylerinde kolonize olurlar. *C. albicans* invaziv kandida enfeksiyonlarında en sık rastlanan etiyolojik etkidir. *C. albicans* mukoza yüzeyinde kolonize olduktan sonra tomurcuklanma ile ürer ve "Blastospor" adı verilen tek bir yavru hücre meydana getirir. Tomurcuklanan hücreler birbirlerinden ayrılmayıp ardışık dizilerek hiflere benzer yapılar (yalancı hifler) oluştururlar (5, 20, 28, 57, 60).

Gram olumlu özellik gösteren *C. albicans* hücreleri, Sabouraud agarında oda ısısında inkübe edildiğinde, bakteri kolonilerine benzeyen yuvarlak, yumuşak, krem rengi ve parlak görümlü koloniler meydana getirirler. *C. albicans*' in 24 saatlik kültürlerinde tomurcuklanan hücreler, serum içinde 37° C' de, 2-3 saat bekletildiğinde çimlenme borusu meydana getirirler. Mısır unlu, Tween 80'li agarda 24° Cde 72 saat içinde yalancı hiflerin uçlarında kalın duvarlı tek yada bir kaç tane klamidospore oluştururlar. Ayrıca glikoz ve maltozu fermente ederek asit ve gaz oluştururlar. Fakat laktozu etkilemezler. Bütün bu özellikler *C. albicans*' in ayırımında önemlidir (5, 20, 23, 24, 28, 29, 31, 61).

C. albicans' in neden olduğu her türlü enfeksiyon "Kandidamikoz" olarak tanımlanır. Çok terleme, aşırı nem, şişmanlık, diabetes mellitus, geniş spektrumlu antimikrobiklerin, kortikosteroidlerin veya başka immünosupresif ilaçların ve sitotoksiklerin kullanımı, vücut direncini kıran kronik hastalıklar, immün yetmezlik,

uyuşturucu bağımlılığı, sürekli ven kateteri ve sonda kullanımı gibi kandidamikoz oluşumunu kolaylaştırıcı faktörlerin varlığında yüzeysel (deri ve mukozal) ve derin kandidamikozlar oluşmaktadır. Kandidaların normal florada bulunması nedeniyle infeksiyonların çoğu iç kaynaklıdır (endojen infeksiyon). Dışarıdan, başka hastalardan bulaşma yolu ile de infeksiyon meydana gelebilir (eksojen infeksiyon) ; ancak bu durum nadir olarak görülür (5, 23, 31, 37, 51).

İmmün sistem hücrelerinden nötrofiller, monositler ve eozinofiller *C. albicans* infeksiyonlarına karşı savunmada rol oynarlar. PNL' lerin savunmadaki rolü yabancı hüflere zarar vermek, blastosporları fagosite etmek ve öldürmektir. Monositlerin in vitro öldürme kapasitesi PNL' lerden daha etkilidir. *C. albicans'* in PNL' ler tarafından alınımı ısıya duyarlı ve ısıya dirençli serum opsoninleri ile artırılır. IgG ve diğer serum bileşikleri *C. albicans'* ı opsonize ederler. *C. albicans'* in hücre içinde öldürülmesinden sorumlu en büyük mekanizma miyeloperoksidaz, hidrojen peroksid (H₂O₂) ve süperoksid anyon(O₂⁻) sistemidir (32, 56, 57).

FAGOSİTOZ HAKKINDA GENEL BİLGİLER

1. FAGOSİTİK HÜCRELER

İmmünoloji' de temelde çok önemli rolleri olan fagositik hücreler; polimorf nüveli lökositler (nötrofiller, bazofiller, eozinofiller) ve mononükleer fagositler (monositler ve makrofajlar)' dir (25).

1.a. Polimorf Nüveli Lökositler (PNL)

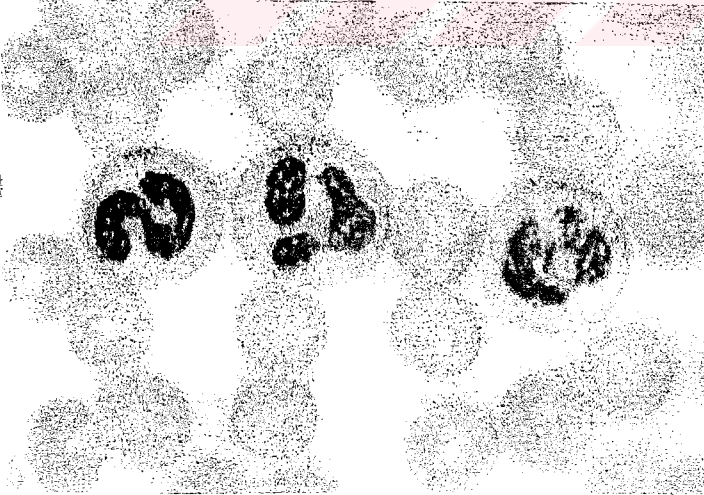
Polimorf nüveli lökositler kan dolaşımındaki lökositlerin % 60-70' ini oluşturur. PNL'ler çekirdeklerinin çok loblu olması nedeni ile bu adı, sitoplazmalarındaki bol granüller nedeni ile de "granülosit" adını almışlardır (56).

PNL' ler kemik iliğinde çok hızlı oluşurlar (yaklaşık dakikada 80 milyon). Monosit ve makrofajlara göre oldukça kısa ömürlü olan bu hücrelerin kan dolaşımındaki yaşam süreleri 2-3 gündür (12, 39). Sitoplazmalarında içerdikleri granüllerin histolojik boyalarla farklı boyanmaları nedeni ile nötrofiller, eozinofiller ve bazofiller olmak üzere 3 gruba ayrılırlar (12, 39, 56, 57).

PNL'ler antijenler için özgüllük göstermezler ancak antikor ve kompleman ile birlikte akut inflamasyonda, mikroorganizmalara karşı korunmada, önemli rol oynamaktadırlar. İnfeksiyonlarda sayıları artan bu hücrelerin asıl görevi mikroorganizmaları fagosite etmektir (39, 56, 57).

1.a.1. Nötrofiller

Nötrofiller insan kan dolaşımında bulunan beyaz kan hücrelerinin % 60' ını, PNL'lerin ise % 90' ını oluştururlar. Nötrofiller, 10-20 μm çapında ve bağlantılı 3-4 loblu çekirdeği olan hücrelerdir. Periferik kanda yarı ömürleri 6-20 saattir, dokularda 4-5 gün kadar yaşayabilirler (Şekil 3) (3, 12, 39, 46).



Şekil 3: Nötrofil

Nötrofillerin sitoplazma miktarı oldukça fazladır ve çapları 0.3-0.8 µm arasında değişen 50-200 kadar granül içerir. Bu granüller hücre zarının hemen altındaki dar bir saha hariç, bütün sitoplazmaya dağılmışlardır. Nötrofillerin sitoplazmik granülleri, çeşitli enzimler içeren özel tip lizozomlardır. Bu sitoplazmik granüller iki çeşittir:

1- Azurofilik granüller (A granülleri, Primer granüller); Azurofilik granüller total granüllerin % 20'sini oluştururlar, boyca daha büyüktürler ve içerikleri yoğundur. Katepsin, elastaz, kollagenaz, miyeloperoksidaz, asit fosfataz, 5-nükleotidaz, β-glukuronidaz, D-amino asit oksidaz, α-mannosidaz ve β-galaktosidaz içeren azurofilik granüller kan boyları ile kırmızımsı-pembe renkte boyanırlar.

2- Spesifik granüller (B granülleri, Sekonder granüller) ; Spesifik granüllerin sayısı azurofilik granüllerden çok daha fazladır. Bunlar boyca küçük olup içerikleri az yoğundur. Spesifik granüller, alkalın fosfataz, lizozim, laktoferrin, kollagenaz içerirler ve kan boyları ile açık pembe renkte boyanırlar (37, 39, 56, 57).

Bu hücreler, içerdikleri lizozim gibi antibakteriyel etkili maddelerle, organizmayı yabancı antijenlere karşı savunmada görevli hücrelerdir. Nötrofillerin asıl görevleri organizmaya giren mikroorganizmaları fagosite etmek, öldürmek ve ortadan kaldırmaktır. Nötrofiller özellikle küçük parçacıkları fagosite etmelerinden ötürü "mikrofajlar" olarak da adlandırılır (3, 31, 37, 39, 57).

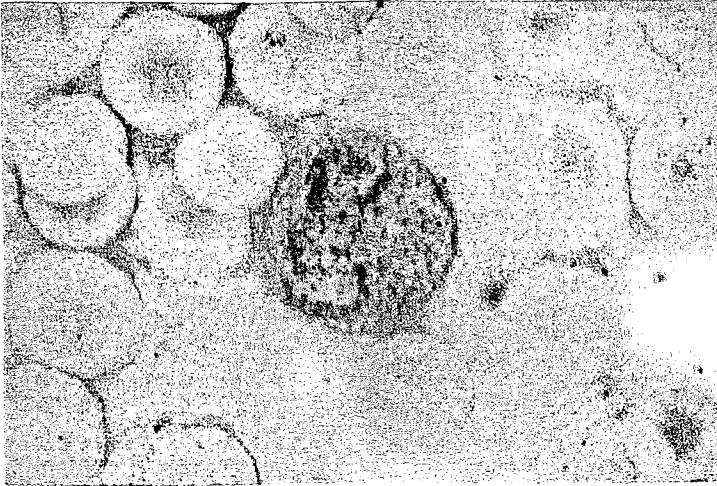
Nötrofillerin zarında (yüzeyinde) komplemanın C3 komponenti ve Ig G'nin Fc parçası ile birleşebilen algaçlar bulunmaktadır. Bu hücreler infeksiyon sırasında bakteri ürünleri, doku proteazları ve kompleman komponentleri (C3a / C5a) gibi kemotaktik faktörlerin bulunduğu infeksiyon odağına göç ederler (Kemotaksi). İltihap bölgesinde lokalize olan nötrofiller, uygun şekilde opsonize edilmiş yabancı antijen moleküllerine bağlanıp onları sindirir. Fagositozu takiben morfolojik ve biyokimyasal olaylar da birbiri ardına eklenir. Hücre içinde fosfolipid metabolizmasındaki artışı takiben, heksoz monofosfat yolunun aktivasyonu sonucu hidrojen peroksit oluşumu, fagositozun en önemli biyokimyasal sonuçlarını içerir (3, 39, 57).

1.a.2. Eozinofiller

Periferik kan lökositlerinin % 2-5' ini oluşturan eozinofiller, kemik iliğinde olgunlaşırlar. Yarı ömürleri kanda çok kısa (1 saat), dokuda biraz daha uzundur (1 hafta). Bu hücreler yaklaşık 12 µm çapında, yuvarlak, nötrofillere nazaran daha az fagositoz yeteneği olan hücrelerdir ve antijen-antikor komplekslerini fagosit etme özelliğine sahiptirler (3, 31, 39, 43, 57).

Eozinofiller asidik eozin boyası ile kırmızı, Romanowsky boyası ile sarıya boyanan granülleri ile karakterizedir. Bu granüllerde miyeloperoksidaz, asit fosfataz, katepsin, β glukuronidaz, fosfolipaz, histaminaz, RNaz enzimleri bulunmaktadır. Bu hücreler atopik alerjide, helmint infeksiyonlarında önemli rol oynarlar ve bu infeksiyonlarda sayıları artar (Şekil 4) (37, 39, 43).

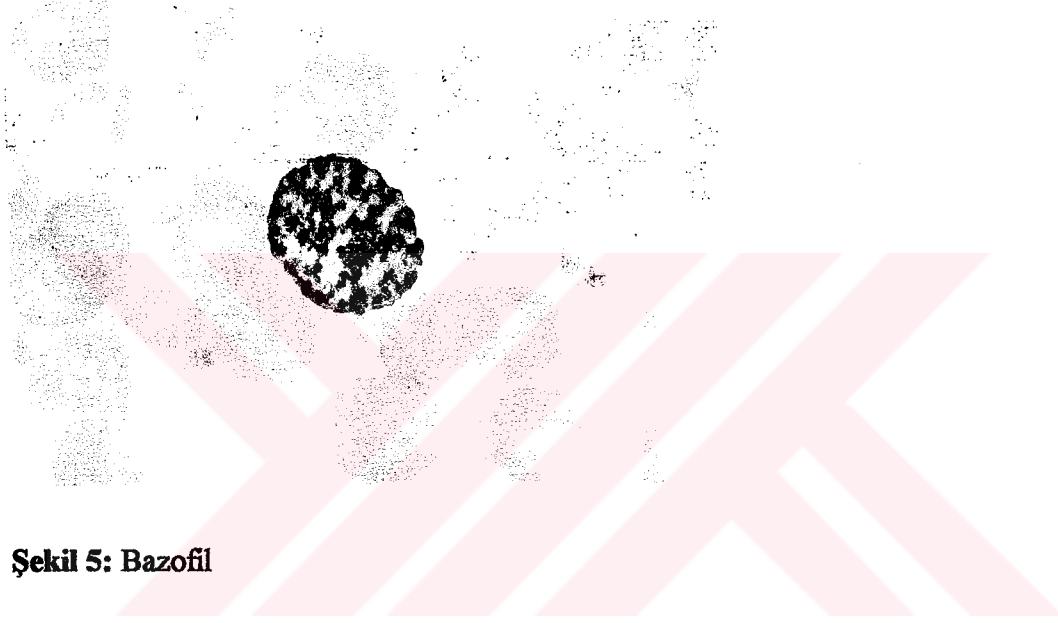
Eozinofiller, T lenfositleri, mast hücreleri ve bazofiller tarafından salınan eozinofil kemotaktik faktör ile harekete geçmektedir. IgG veya IgE ile kaplı antijenlere bağlanan eozinofillerden histaminaz ve aril sülfataz salgılanmaktadır. Bu maddeler allerjik reaksiyonlarda mast hücrelerinden açığa çıkan ara maddeleri (histamin ve anaflekside yavaş etken madde) etkisizleştirmektedirler (39, 57).



Şekil 4: Eozinofil

1.a.3. Bazofiller

Bazofiller kemik iliği kökenli, 8-12 µm çapında hücrelerdir (B1,38). Periferik kanda bulunan lökositlerin % 0.2' sini oluşturan bazofiller, oval ve elektrondan yoğun, büyük granüllere sahiptirler. Heparin, histamin, anafilakside yavaş etkiyen madde (SRS-A) ve anafilakside eozinofil kemotaktik faktör (ECF-A) gibi maddeler içeren bu granüller bazik metilen mavisi boyası ile koyu mavi renkte boyanırlar. Bazofiller fagositik hücreler değildir. Bu hücreler parazitlere karşı bağışıklıkta rol oynarlar (Şekil 5) (39, 43, 56)



Şekil 5: Bazofil

2. FAGOSİTOZ

Fagositoz, mikroorganizmalar da dahil olmak üzere yabancı maddelerin, fagositik hücreler tarafından hücre içine alınarak parçalanması ve sindirilmesidir. İnvazyonla derin dokulara, ya da doğrudan kan veya lenfatik sisteme giren mikroorganizmaları ortadan kaldırmada en etkili yol fagositozdur (25, 60).

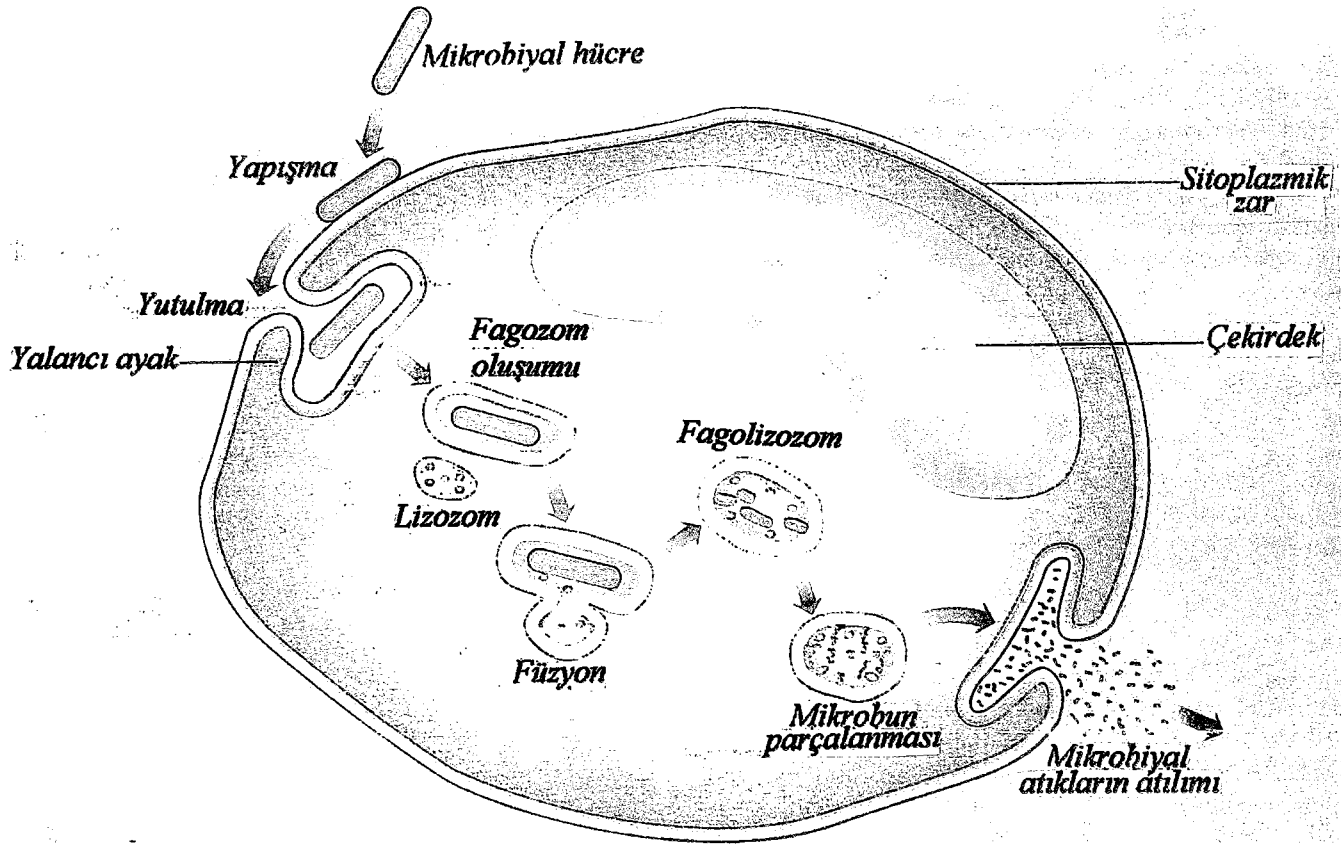
Dokularda sabit bulunan makrofajlar ve kandaki monositler ile nötrofiller daha çok, eozinofiller ise daha az oranda fagositoz yapmaktadır. Fagositoz olayında; antikorlar, aktif kompleman ve duyarlı T lenfositleri de rol oynamaktadır (39).

Ayrıca insan vücudunda, mononükleer fagositik sistem adıyla adlandırılan, fagositik özelliğe sahip, farklı organ veya dokularda yerleşmiş yedi çeşit hücre vardır. Bunlar; esas bağ dokusu makrofajları, kan dokusu monositleri, karaciğer sinüzoidlerinin duvarındaki kupffer hücreleri, dalak, kemik iliği, timüs bezi ve lenf düğümlerinin sinüzoidlerini döşeyen hücreler, akciğerlerdeki alveolar makrofajlar, beyin ve omurilikteki mikroglialar, seröz boşlukları döşeyen makrofajlardır (37).

Mikroorganizmalar, fagositik hücrelere zayıf da olsa direkt olarak bağlanabilmektedir. Ancak kuvvetli bağlanabilmeleri için genellikle aracı moleküllere ihtiyaç duymaktadırlar. Oponize olan mikroorganizmalar fagositik hücrelere kolayca bağlanmaktadır. Oponizasyon, komplemanın C3b parçası veya mikroorganizmaya özgül oluşan antikorlar ile ya da hem komplemanın C3b parçası hem de antikorlar ile olmaktadır (39).

Sitokinlerin özellikle interlökin -1 (IL -1), interlökin -3 (IL -3) ve tümör nekroz faktörü - alfa (TNF - α)'nın salınımı, fagositik hücrelerin kemik iliği ana hücrelerinden hem daha fazla sayıda olgun şekle dönüşmelerine hem de bu hücrelerin fagositik fonksiyonlarının artmasına neden olur. Bu sitokinler, aynı zamanda C3b (CR1) ve İC3b (CR3) algaçlarının fagositik hücre yüzeyinde daha fazla miktarda belirmesine ve böylece komplemanla oponize olmuş mikroorganizmaların daha kolay fagosite edilmesine olanak sağlar (60).

İnflamasyon bölgesine kemotaksi ile gelen nötrofiller fagosite edilecek olan yabancı parçacığı uygun algaçlar aracılığı ile tanır. Nötrofiller doğrudan ya da opsoninlerin yardımı ile yabancı parçacığa tutunur, çıkardıkları yalancı ayaklarla hücre içine aldıkları parçacığı "fagozom" adı verilen bir kesecik içine hapsederler. Kısa bir süre sonra nötrofil sitoplazmasında bulunan lizozom granülleri, plazma zarı yapısındaki fagozom içine girerler. Granüller, içlerinde bulunan lizozom enzimlerini fagozom içine boşaltırlar. Lizozom adlı sitoplazmik granüllerin fagozom zarı ile birleşmesi (füzyon) fagolizozom yapısını oluşturur. İki zarın birleşmesi sırasındaki enzimatik aktivite süperoksit (O_2^-) oluşumu ile sonlanır (Şekil 6) (39, 60).



Şekil 6. Fagositoz Mekanizması

3. MİKROORGANİZMALARIN HÜCRE İÇİNDE ÖLDÜRÜLMESİ

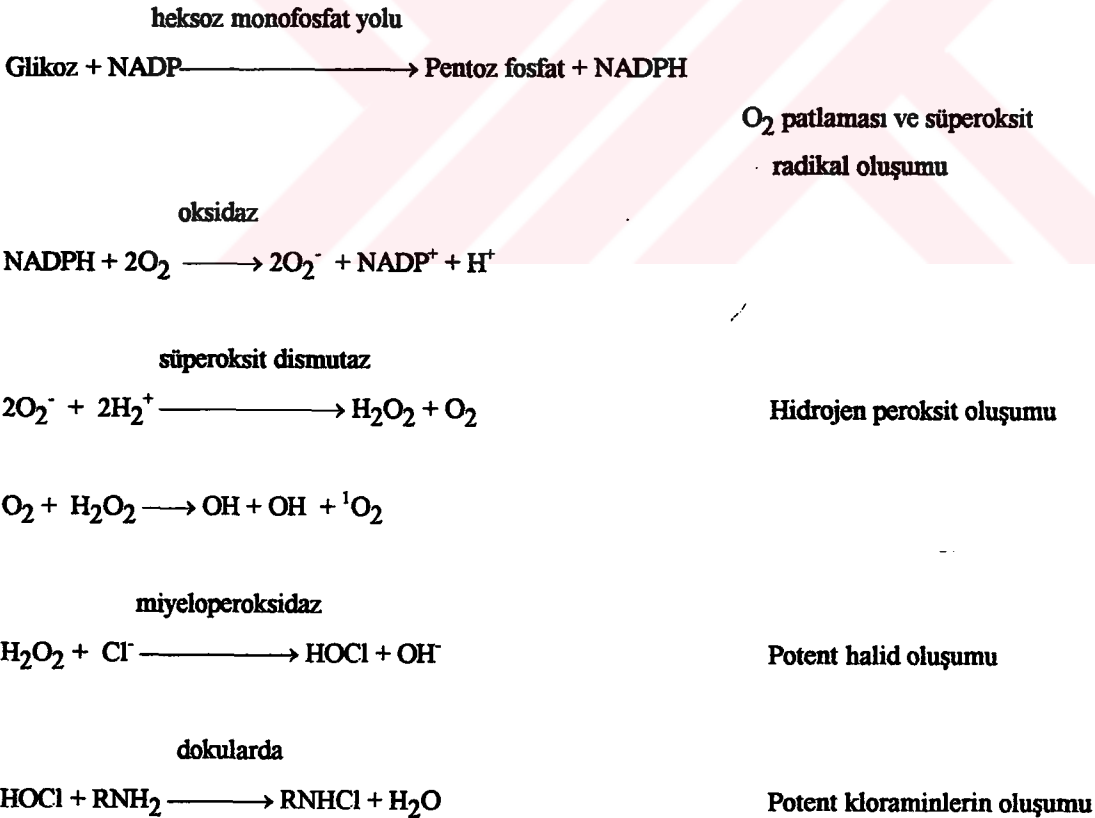
Fagositler mikroorganizmaları 2 yolla öldürür. Birinci yol oksidatif metabolizma patlamasıdır. Oksijene bağımlı öldürme mekanizması adı verilen bu yolla hidrojen peroksit ve mikroorganizmaları öldürücü diğer maddeler üretilir. İkinci yol ise oksijene bağımlı olmayan öldürme mekanizması adını alır. Bu mekanizmada fagositoz, diğer mekanizmadan farklı olarak toksik maddelerin granüllerden fagozom içine boşaltılmasıyla da sonuçlanır (39).

3.a. Oksijene Bağımlı Öldürme Mekanizması:

Bu mekanizma için lizozom granüllerinin füzyonuna gereksinim yoktur (39). Fagosite edilmiş mikroorganizmaların, fagozomlar içinde öldürülmesi esas olarak, süperoksit-miyeloperoksidaz sisteminin kombine çalışması ile başılır (24). Metabolik solunum patlaması, oksijeni hücre içi öldürme aktivitesi için gerekli olan aktif

metabolitlere çevirmek için, stimüle fagositler tarafından kullanılan bir seri enzimatik reaksiyondur (31). Bu zorlu ve adeta patlayıcı nitelikteki metabolik değişme, NADPH oksidaz denen ve istirahatteki fagositlerde uyur durumda bulunan bir enzimin aktivasyonu ile başlar (24).

Fagozomun oluşmasıyla nötrofil zarındaki oksidaz enzimleri; indirgenmiş NADPH - NADH ya da sitokrom b558 aktive olur ve plazma zarına bağlı oksijen molekülü indirgenerek süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), tekli oksijen (1O_2) ve hidroksil (OH^\cdot) kökleri oluşur. Bütün bunlar kuvvetli mikrop öldürücü maddelerdir. Daha sonra lizozom granüllerinin fagozoma açılmasıyla içeriye miyeloperoksidaz girer. Halojen moleküllerinin varlığı ile hipoklor (OCl^\cdot) denilen toksik maddeler oluşur. Oksijene bağımlı öldürme mekanizması kimyasal denklemlerle aşağıda görüldüğü gibi olmaktadır (24, 56).



Toksik Moleküller: O₂⁻ Süperoksit anyonu, ¹O₂ tekli oksijen, OH⁻ ve OH hidroksil serbest kök, H₂O₂ hidrojen peroksit, OCl⁻ hipoklor.

Özetle miyeloperoksidaz, H_2O_2 , halojenler ve asit pH; antibakteriyel, antiviral, antifungal ve antimikoplazmal etki gösterir (56). Oksijene bağımlı olan bu fagositik öldürme, özellikle Gram olumlu mikroorganizmalar için geçerlidir (39, 60).

3.b. Oksijene Bağımlı Olmayan Öldürme Mekanizması

Bu mekanizmada; lizozom içindeki lizozim, laktoferrin, katyonik proteinler gibi çeşitli maddeler bakterilerin dış zar proteinlerini parçalar, bu tür öldürme daha çok Gram olumsuz mikroorganizmalar ve anaeroplara için geçerlidir. Mikroorganizmaların sindirimi fagolizozom içinde tamamlanır (39, 60).



GEREÇ VE YÖNTEM

1. GEREÇLER

1.1. Hasta Grubu

GATA İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Servisi'nde, kızamık tanısı konulan, takibi ve tedavisi burada tamamlanıp, taburcu edilen ve yaş ortalaması 20 olan 15 erkek hasta çalışmamıza alınmıştır.

1.2. Mikroorganizma:

Bu çalışmada, *C. albicans* ATCC 10231 standart kökeni kullanılmıştır.

1.3. Besiyerleri:

Katı besiyeri: Sabouraud Dextrose Agar (SDA) Difco

Sıvı besiyeri: Sabouraud Dextrose Broth (SDB) Difco.

1.4. Tamponlar:

0.1M PBS (Phosphate Buffered Saline Solution) (pH:7.2)

NaCl	8 g
KCl	0.2 g
Na ₂ HPO ₄	1.15 g
KH ₂ PO ₄	0.4 g
Distile su	1000 ml.

HBSS (Hanks's Balanced Salt Solution) (pH:7.4)

NaCl	8 g
KCl	0.4 g
Na ₂ HPO ₄	0.048 g
KH ₂ PO ₄	0.06 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.1g
Glikoz	1g
NaHCO ₃	0.35g
Fenol Kırmızısı	17 mg.
Distile su	1000 ml.

1.5. Çözeltiler

0.1 g/ml	EDTA
% 0.9	NaCl
% 1	BaCl ₂ .2H ₂ O
% 1	H ₂ SO ₄

1.6. Boyalar

Tripan Mavisi	(% 0.5)
Metilen Mavisi	(% 0.01)

1.7. A Vitamini

Ticari adı Avicap (yumuşak kapsül, 30000 IU) olan Koçak İlaç A.Ş.'ne ait A vitamini preparatı, GATA İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Servisi tarafından sağlanmıştır.

1.8. Mc. Farland Tüpleri

Standart bulanıklık elde etmek için laboratuvarımızda hazırladığımız Mc Farland 1 standart tüpü esas alınmış olup; 0.1 ml %1 BaCl₂'e, 9.9 ml %1 H₂SO₄ ilave edilerek hazırlanmıştır (56).

1.9. Kimyasal Maddeler

EDTA	(Sigma)
NaCl	(Merck)
KCl	(Merck)
Na ₂ HPO ₄	(Merck)
KH ₂ PO ₄	(Merck)
MgSO ₄ .7H ₂ O	(Merck)
NaHCO ₃	(Merck)
Glikoz	(Merck)
Tripan Mavisi	(Merck)
Metilen Mavisi	(Merck)
Fenol Kırmızısı	(Merck)
Ficoll -hypaque	(Sigma)
Polymorphprep	(Nycomed)
BaCl ₂	(Merck)
H ₂ SO ₄	(Merck)

1.10. Kullanılan Araç ve Aygıtlar

Hassas Terazı	(0.0001 g Bosch)
Kaba Terazı	(0.1 g Mettler)
Etüv	(EN 500 Nüve)
Pastör Fırını	(Electro-mag)

Otoklav	(Kermanlar)
Santrifüj	(NF-815 Nüve)
Vorteks	(Kermanlar)
Mikroskop	(Olympus BH)
Buzdolabı	(Arçelik 475T)
Derin Dondurucu	(Bosch)
Otomatik Pipetler	5-50µl,50-200µl,200-1000µl (Scorex)
Cam Pipetler	0.5,1,2,5,10 ml.(Prescicolor)
Pastör Pipeti	Marienfeld
Thoma Lamı	Labart
Enjektörler	2.5,5,10,20 ml.(Becton Dickinson)
Steril Membran Filtre	0.22-0.45 µm (Milipore)
pH İndikatörü	0-14 (Merck)
Silikon kaplı deney tüpleri	(Becton Dickinson)
Petri Kutuları	(Anubra)

2.YÖNTEMLER

2.1. A Vitamini Tedavisi

Kızamıklı hasta grubuna, A vitamininin PNL fonksiyonları üzerine etkisini incelemek için döküntülerin başlangıcından sonraki 1.gün 210.000 IU (7x1), 2. gün 180.000 IU (6x1) olmak üzere 2 gün boyunca toplam 390.000 IU A vitamini oral verilmiştir.

2.2. PNL Elde Edilmesi

Yaş ortalaması 20 olan kızamık hastalarından alınan 10 ml venöz kan, içinde 0.1 g/ml EDTA bulunan silikon kaplı tüplere aktarılmıştır. Alınan kan 2500 rpm'de 30 dak. çevrilmiştir. Sürenin bitiminde tüpün dibine çöken eritrositler ile tüpün üst kısmında bulunan plazma arasında, sarımsı beyaz renkte görülen tabaka (buffy coat) pastör pipeti ile alınıp, içinde 2.5 ml Ficoll-hypaque ve 2.5 ml Polymorphprep bulunan bir tüpe konularak 3000 rpm'de 30 dak. çevrilmiştir (56, 65). İşlem sonunda tüpün dibine çöken eritrositler ile en üstteki monosit tabakasının arasında kalan PNL'ler yine pastör pipeti ile başka bir tüpe alınmıştır. PNL' ler daha sonra 3 kez 2000 rpm'de, 3 ml (buz soğukluğunda) PBS ile yıkanmıştır (30). Son aşamada PNL' ler Ca^{++} ya da Mg^{++} içermeyen HBSS ile 1×10^7 hücre/ml (Thoma lamı ile sayılarak) olacak şekilde süspansiyon haline getirilmiştir (8, 46, 56).

2.3. PNL Canlılık Deneyi

Lökositlerin canlılık tayini için, % 0.9 Fizyolojik Tuzlu Su (FTS) içinde hazırlanmış % 0.5 tripan mavisi kullanılmıştır. Bir hacim PNL süspansiyonu, bir hacim tripan mavisi ile eşit oranda karıştırılmıştır. Oda ısısında 5 dakika bekletilip, mikroskop altında, boya almayan hücreler sayılmıştır (36, 56).

2.4. A Vitamini'nin Polimorf Nüveli Lökositlerin Fagositik ve Hücre İçi Öldürme Aktivitesi Üzerine Etkisi

Bu çalışmada aşağıdaki yöntemler kullanılmıştır (4, 36).

2.4.1. Candida albicans Kökeninin Hazırlanması

PNL'lerin fagositik ve hücre içi öldürme aktivitesinin değerlendirilmesinde, PNL'ler içinde boyalı ve boyasız görünüşleri mikroskopta iyi izlendiğinden *C. albicans* kökeni kullanılmıştır.

C. albicans kökeninin SDA besiyerine pasajı yapılarak 48 saat 37° C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyonun sonunda oluşan maya kolonilerinden, SDB besiyerine tekrar pasaj yapılmış ve 24 saat 37° C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyonun bitiminde, deneylere başlamadan 1 saat önce bu pasajda üreyen maya kültüründen SDB besiyerine tekrar pasaj yapılmış ve 37° C'de 1 saat inkübe edilmiştir (41, 45). Sonraki aşamada 1 saatlik bu kültür, besiyeri bileşenlerinin maya hücrelerinden uzaklaştırılması için 2000 rpm'de 10 dakika çevrilerek 2 kez FTS ile yıkanmıştır. Son aşamada ise maya hücrelerinin canlılığı metilen mavisi (% 0.01) boyama yöntemi ile saptanmış ve maya hücrelerinin sayısı HBSS içinde 1×10^7 maya/ml olacak şekilde (Mc Farland 1'e göre) sulandırılarak maya süspansiyonu hazırlanmıştır (4, 14, 36, 42, 46).

2.4.2. C.albicans'ın Oponizasyonu

C. albicans süspansiyonu ayrı bir tüp içinde sağlıklı kişilerden elde edilen taze insan serumu ile (3:1) 37° C' de 30 dakika opsonize edilmiştir (4, 14, 36, 41).

2.4.3. A Vitamini'nin Tedavi Öncesi ve Tedavi sonrası Kızamıklı Hasta PNL'lerinin Fagositik ve Hücre İçi Öldürme Aktivitesi Üzerine Ex Vivo Etkisi

A vitamini destek tedavisi alan kızamıklı hasta PNL'lerinin fagositik ve hücre içi öldürme aktivitesi 2 ayrı seri tüpte araştırılmıştır.

1. Seri (Tedavi Öncesi)

(Kontrol) Kızamıklı Hasta PNL'leri (300µl) + HBSS (300µl) + C.albicans (400µl)
(1x10⁷ hücre/ml) (1x10⁷ maya/ml)

2.Seri (A Vitamini tedavisi sonrası)

(Ex vivo) Kızamıklı Hasta PNL'leri (300µl) + HBSS (300µl) + C.albicans (400µl)
(1x10⁷ hücre/ml) (1x10⁷ maya/ml)

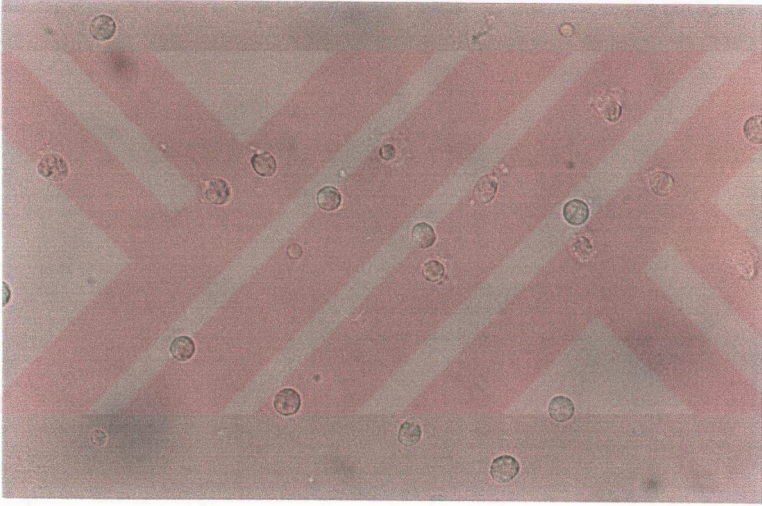
Hazırlanan seri tüpler 37°C'de opsonize maya ilave edilmeden çalkalayıcı etüvde 30 dak. inkübe edilmiştir. İnkübasyonun sonunda her bir deney tüpüne 400µl opsonize maya konulup, aynı ortamda tüpler tekrar 37°C'de 30 dak. inkübe edilmiştir. Her bir tüpteki son hücre yoğunluğu 5x10⁶ PNL/ml ve 5x10⁶ maya/ml olmuştur. İnkübasyonun 25. dakikasında her bir tüpe fagosite olan ve PNL'ler tarafından öldürülen mayaların boyanması için 1 ml metilen mavisi (% 0.01) ilave edilmiştir. İnkübasyonun 30. dakikasının sonunda her bir tüpten lam-lamel arası preparat hazırlanmış, 100 adet PNL içinde fagositik ve hücre içi öldürme aktivitesi gösteren PNL'ler mikroskop altında (x 40 büyütme) sayılmıştır.

Fagositik aktivite tayininde; 100 adet PNL içinde canlı (boya almayan) maya hücrelerini fagosite etmiş olan PNL'ler sayılmış, hücre içi öldürme aktivitesi tayininde ise 100 adet PNL içinde fagosite olan maya hücrelerinden PNL'ler tarafından öldürülen (mavi boyanmış) maya hücreleri sayılarak sonuçlar % cinsinden ifade edilmiştir (4, 36, 41).

BULGULAR

2.2.3. PNL'lerin Elde Edilmesi ve Canlılık Deneyi:

Her bir kızamıklı hastadan alınan kandan 5×10^6 PNL/ml elde edilmiş ve canlı PNL sayısı % 98'den büyük bulunmuştur (Resim 1).



Resim 1. PNL'ler (x 40 büyütme)

2.4.3. A Vitamini'nin Tedavi Öncesi ve Tedavi sonrası Kızamıklı Hasta PNL'lerinin Fagositik ve Hücre İçi Öldürme Aktivitesi Üzerine Ex Vivo Etkisi

Ex vivo koşullarda A vitamini (195.000 IU/gün/oral/2gün) kızamıklı hasta PNL'lerinin fagositik ve hücre içi öldürme aktivitesini, aynı hastaların tedavi öncesi kontrol PNL'lerine göre anlamlı olarak artırmıştır ($p < 0.05$) (Tablo I) (Resim 2,3).

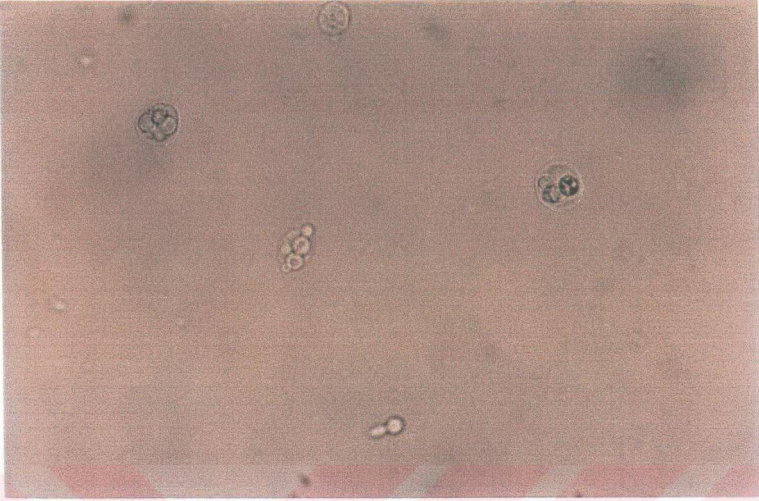
Tablo I. A Vitamini'nin Tedavi Öncesi ve Tedavi sonrası Kızamıklı Hasta PNL'lerinin Fagositik ve Hücre İçi Öldürme Aktivitesi Üzerine Ex Vivo Etkisi (n =15).

Deney Grubu	PNL + İlaç	Fagositik aktivite (%)	Hücre içi öldürme aktivitesi (%)
Tedavi Öncesi			
n	Kızamıklı Hasta PNL (Kontrol)	55.26 ± 9.40	3.86 ± 2.64
Tedavi Sonrası			
n	Kızamıklı Hasta PNL (390.000 IU/2gün/oral, A Vitamini)	75.73 ± 8.98*	7.53 ± 3.56 *

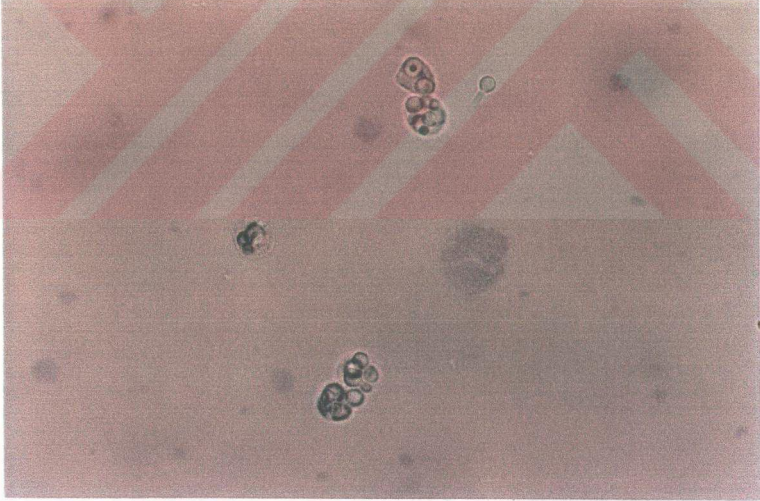
Değerler yüzde oranı ± standart sapma olarak kızamıklı hastalarda 15 ayrı deney ortalamaları alınarak verilmiştir.

* $p < 0.05$ Wilcoxon Eşleştirilmiş İki Örnek Testi

n= 15 (Kızamıklı Hastalar)



Resim 2: A Vitamininin Kızamıklı Hasta PNL' lerinin Fagositik Aktivitesi Üzerine Etkisi. (x 40 büyütme).



Resim 3: A Vitamininin Kızamıklı Hasta PNL' lerinin Hücre İçi Öldürme Aktivitesi Üzerine Etkisi. (x 40 büyütme) (Ölü *C. albicans* hücreleri metilen mavisi ile mavi boyanmış).

TARTIŞMA

Mikroorganizmalar ve immün sistem çok yönlü olarak birbirini etkilemektedir. Mikroorganizma ve konak arasındaki etkileşim konak savunmasını harekete geçirmektedir. Mikroorganizmalar hücreyel, hümoral ya da sistemik immün yanıtın herhangi birini hemen hemen aktif olarak bloke edebilen çeşitli mekanizmalar geliştirirler. Mikroorganizmaların immün sistem ile ilişkide olduğu farklı mekanizmaların iyice öğrenilmesi ile yeni terapötik immünomodülatörlerin geliştirilmesi yanısıra canlı aşı modelleri de oluşturulabilir (27).

1913 yılında keşfedilen A vitamini insan organizmasında görme, üreme, gelişme, epitel hücrelerin integrasyonu ve immün sisteme adjuvan etkisi gibi metabolik fonksiyonlara sahiptir. A vitamini antikor yanıtını etkilediği gibi fagositik fonksiyonları ve properdin seviyelerini de değiştirebilmektedir. A vitamini zayıf immünojenlere karşı immün yanıtı ve bilinen çoğu adjuvanın insanlar için bir çok yan etkisi olmasına karşın, yan etkisi olmaksızın antikor ve hücre aracılı immüniteyi artırmaktadır. A vitamini eksikliği ise gelişmiş ülkelerde infeksiyon-kötü beslenme siklusunda önemli rol oynayan beslenme eksikliklerinden biridir (11, 16).

Hof ve ark.(18) çalışmalarında, koyun eritrositleri ile immünize edilmiş, *Listeria monocytogenes* ile infekte edilmiş ve 6 ay A vitamininden yoksun diyet ile beslenen farelerin karaciğer içeriklerinin belirgin bir şekilde azaldığını ancak ne immün sistemin ne de mononükleer fagositik sistemin olaya karışmadığını; buna karşın yüksek doz A vitamini ile tedavi olan farelerde koyun eritrositlerine karşı antikor üretiminin arttığını ve aynı zamanda *L. monocytogenes* ile infeksiyona karşı artan bir direnç gösterdiklerini ve sonuç olarak da A vitamininin bazı anti-infektif özelliklerinin bulunduğunu göstermişlerdir.

Dennert ve ark. (11), A vitamini metaboliti olan retinoik asidin (RA) farelerin immün sistemi üzerine in vivo ve in vitro etkilerini inceledikleri bir çalışmada yüksek doz RA (1000 µg/gün)'nın toksik etki gösterdiğini, düşük doz RA (25-300 µg/gün)'nın ise

hücre aracılı sitotoksitenin indüksiyonu üzerine güçlü adjuvan etki gösterdiğini ve bunun anti-tümör aktiviteden de sorumlu olabileceğini göstermişlerdir.

Aktif viral infeksiyonlarda, PNL fonksiyonları, kemotaksi ve miyeloperoksidaz aktivitesi akut periyod süresince göze çarpacak şekilde baskılandığından, bakteriyel süper infeksiyonlara eğilim kısmen de olsa artmaktadır. A vitamini eksikliğinin neden olduğu immün bozukluk, lenfosit membran glukoproteinlerindeki değişiklikler, yardımcı T hücre fonksiyonları, epitel dokusu ya da diğer mekanizmalar üzerine ters etkileri yüzünden olabilmektedir. Çocuklarda A vitamini, kızamık ve beslenme arasındaki ilişkiyi açıklayan bir çalışmada, kornea ülserinin genellikle kızamık ile ilişkisi olduğu, ayrıca kızamık ve kötü beslenmenin plazma retinol ve albümin konsantrasyonunu da baskıladığı gösterilmiştir. (48, 49).

Bluhm ve ark.(7), kızamık infeksiyonlu ve protein enerji malnutrisyon (PEM)'lu çocuklarda serumda düşük retinol seviyeleri ile mortalite ve morbiditeyi anlamlı olarak azaltan A vitamini desteğinin ilişkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada A vitamini desteğinin hasta çocukların serum retinol düzeyleri üzerine etkisi amaçlanmıştır. Her iki hasta grubuna (kızamık infeksiyonlu ve PEM'li) rutin tedavilerine ek olarak, 1.gün intramüsküler yoldan 150.000 IU A vitamini, 1. günü takiben de 7 gün boyunca her gün, oral olarak 15.000 IU A vitamini verilmiştir. Hasta çocukların hepsinin plazmasındaki retinol seviyeleri A vitamini uygulamasından önce ve sonra (1., 2. ve 8.günlerde) ölçülerek karşılaştırılmıştır. Her iki hasta çocuk grubunda (kızamık ve PEM'li) plazma retinol seviyeleri ortalaması 1. günde 11µg/dl'den daha düşük bulunmuştur. Sekizinci günün sonunda A vitamini desteği alan hasta çocuk ve kontrol grubunda plazma retinol düzeyleri >30 µg/dl bulunmuştur. Sonuç olarak araştırmacılar kızamık infeksiyonlu ve PEM'li çocuk hastalarda, dikkati çeken plazmadaki düşük retinol düzeyini, 8 gün süre ile bildirdikleri dozlarla normal retinol düzeyine getirmişlerdir. A vitamininin morbidite ve mortalitenin azaltılmasındaki önemini, plazma retinol seviyesi ölçümleri ile aydınlatmışlardır.

Markowitz ve ark. (33) çalışmalarında, 5 yaş ve 5 yaşın altındaki kızamıklı çocukların, serumdaki A vitamini seviyesini HPLC yöntemi ile tayin etmişler ve 5 µg/dl'nin altında bulmuşlardır. Araştırmacılar ölümle sonuçlanan vaka oranının %26 olduğunu bildirmişlerdir. İki yaşın altındaki çocuklarda, hastanede kaldıkları süre içinde görülen, lenfopeni, düşük A vitamini seviyesi ve pnömoni komplikasyonları takip edilip ölüm ile olan ilişkileri gösterilmiştir. Bu konuda yapılan retrospektif çalışmalarda da; 5µg/dl'den düşük A vitamini seviyesinin, 2 yaş altı kızamıklı çocuklardaki mortalite ile ilişkisi saptanmıştır. Araştırmacılar çocuklardaki düşük A vitamini seviyesini ve kızamığa bağlı ölümü önlemede, A vitamini desteğinin tedavideki rolünü gösterecek, daha ileri çalışmalara gerek olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Sijtsma ve ark. (54), 1 günlük piliçlerin diyetlerine 4 hafta süre ile A vitamini desteği (120 retinol equivalent/kg, 1200 retinol equivalent/kg) vermişler ve hiç A vitamini verilmeyen (avitaminoz) piliçleri de 4. hafta sonunda *Newcastle disease virus* (NDV) ile infekte etmişlerdir. İnfeksiyondan 11-12 gün sonra piliç periton makrofajlarında fagositik aktiviteyi ölçmek için, fagositik aktivite indikatörü olarak fluorescein isothiocyanate ile işaretli maya hücrelerini saymışlar, hücrelerde nitroblue tetrazolium (NBT) redüksiyonunu ölçerek mikroorganizmanın oksijene bağımlı öldürülmesini araştırmışlardır. Araştırmacılar bu çalışmalarında avitaminoz olan infekte ve infekte edilmemiş piliçlerde NBT redüksiyonunun ve fagositozun bozulduğunu, A vitamini desteği alan infekte ve infekte olmayan piliçlerin makrofajlarında fagositoz ve NBT redüksiyonunun arttığını, bu artışın infekte grupta daha çok olduğunu bildirmişlerdir.

Karan ve ark. (21), tıkanma sarılıklı Wistar-Albino sıçanlar ile yaptıkları çalışmada, bozulmuş peritoneal nötrofil kemotaksisi ile mononükleer hücrelerin fagositik fonksiyonları üzerine A vitamininin etkisini araştırmışlardır. 20 gün gram başına 200 IU A vitamini verilen, laparotomi altında safra kanalı bağlanan deney sıçanları, serum fizyolojik verilen laparotomi altındaki kontrol sıçanlar ile karşılaştırıldıklarında; A vitamini alan sıçanların nötrofil kemotaksisinin arttığını ($p < 0.05$) ve mononükleer hücrelerin fagositik fonksiyonlarında stimüle olduğunu göstermişlerdir.

Wiedermann ve ark. (68), avitaminoz sıçanları enterotoksin A oluşturan stafilokok ile infekte ettikten 18 gün sonra, sıçanlarda oluşan artritin görülme sıklığını %86, kontrol sıçanlarda ise % 44 bulmuşlardır. A vitamini desteği alan sıçanlarda *S. aureus*'a karşı T hücre yanıtının kontrol sıçanlarına göre daha yüksek olduğunu, avitaminöz sıçanlarda fagositik hücrelerin sayısında bir değişim olmamasına karşın fagositoz ve hücre içinde öldürme kapasitesinin anlamlı olarak azaldığını göstermişlerdir.

Hidiroglou ve ark. (17), 56 gün A vitamini desteği ile beslenen 40 dana üzerinde yaptıkları bir çalışmada, günlük 10.000 IU oral A vitamini dozlarının plazma immünoglobulin konsantrasyonlarında küçük geçici değişimlere neden olduğunu, 50. günden sonra verilen günlük 20.000 IU oral A vitamini dozlarının ise plazmadaki immünoglobulin seviyesini anlamlı olarak artırdığını bildirilmişlerdir.

Twining ve ark. (62), avitaminoz sıçanlarda , terapötik dozda A vitamini uygulanan sıçanlarda ve yüksek doz A vitamini uygulanan sıçanlarda, A vitamininin PNL kemotaksisi üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, avitaminoz sıçanların ve yüksek doz A vitamini desteği alan sıçanların PNL kemotaksisini, terapötik dozda A vitamini alan sıçanların PNL kemotaksisine göre anlamlı olarak düşük bulmuşlardır. Aynı çalışmada avitaminoz sıçanlarda *P. aeruginosa*'nın nötrofillere adezyonunun, fagositozun ve oluşan oksidatif moleküller oranının, A vitamini desteği alan sıçan nötrofillerine göre daha düşük olduğu bildirilmiştir. Aynı araştırmacılar avitaminoz sıçanlara 8 gün süre ile A vitamini desteği uyguladıklarında; sıçanların nötrofillerindeki aktif oksidan maddelerin artışı ile birlikte, nötrofiller tarafından *P. aeruginosa*'nın fagositozunda da artış olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca avitaminoz sıçanların nötrofillerinde katepsin G'nin, kontrol nötrofillere göre anlamlı olarak azaldığını da bildirilmişlerdir.

Abramowitz ve ark. (1), kızamıkta, PNL'ler ile makrofajların viral antijenik materyali fagosite etme yeteneklerini basit ve hızlı tanı yöntemi olan immünoperoksidaz boyama ile göstermişlerdir. İnfeksiyonun ekzantem döneminde, hastaların periferik kan yaymalarında, MeV antijeninin PNL'ler içinde lokalize olduğunu, iyileşme döneminde ise yok olduğunu göstermişlerdir. Aynı araştırmacılar, antijenik olarak MeV ile yakın ilişkili olan *Canine Distemper Virüs* ile infekte ettikleri köpeklerin PNL'lerinde de, viremi sonrası viral antijenin varlığını göstermişlerdir. İnsan PNL'lerinde MeV antijeninin gösterildiği gibi, köpek PNL'lerinde de *Canine Distemper Virüs* antijeni varlığı, viral antijenin fagositozla ilişkili olabileceğini göstermektedir. T ve B lenfositleri ve monositlerin MeV'in replikasyonuna duyarlı oldukları da belirtilmiştir.

Bizim çalışmamızda; MeV ile duyarlı hasta PNL'lerinin fagositik ve hücre içi öldürme aktivitesi ex vivo olarak araştırılmıştır. Kızamık infeksiyonlu hastalara 2 gün süre ile uygulanan A vitamini (195.000 IU/gün/oral) desteği, hasta PNL'lerinin fagositik ve hücre içi öldürme aktivitesini anlamlı olarak artırmıştır ($p < 0.05$). Ayrıca hastaların daha çabuk ve komplikasyonsuz iyileşmelerini sağlamıştır.

Gerek kaynak bilgilerin gerekse çalışmamızdan aldığımız sonuçların ışığı altında; A vitamininin kızamıklı hastalarda dikkate değer şekilde önemli bir immünomodülatör olduğu görülse de, kızamığın şiddeti ve sonraki klinik belirtileri üzerine A vitamininin biyolojik etkileri konusunda, daha fazla aydınlatıcı araştırmalar yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Abramowitz A., Tamir I., Livni N., Lotan C., Morag A.: Polymorphonuclear Leukocyte-Associated Antigenemia in Measles, *J Med Virol*, 13: 293-299, 1984.
2. Akan E.: Genel ve Özel Viroloji. Hekimler Birliđi Vakfı Türkiye Klinikleri Yayınevi. 2. Baskı, s:371-380. (T.Y.)
3. Akan E.: Genel Mikrobiyoloji ve İmmünoloji. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, s: 322-324, 1992.
4. Alexander J.W., Windhorst D.B., Good R.A.: Improved tests for the evaluation of neutrophil function in human disease. *J Lab Clin Med*, 72(1): 136-148, 1968.
5. Baron E.J., Finegold S.M: *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. The C.V. Mosby Company, Eight edition, p:681-775, 1990.
6. Baysal A.: Beslenme. II. Baskı, Bölüm 1, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, s:132-145, 1977.
7. Bluhm D.P., Summers R.S.: Plasma Vitamin A Levels in Measles and Malnourished Pediatric Patients and Their Implications in Therapeutics. *J Trop Pediatr*, 39(3): 179-182, 1993.
8. Boyum A.: Isolation of Mononuclear Cells and Granulocytes from Human Blood: Isolation of Mononuclear Cells by One Centrifugation and of Granulocytes by Combining Centrifugation and Sedimentation at 1 g. *Scand J Clin Lab Invest*, 97: 77-89, 1968.

9. Brooks G.F., Butel J.S., Morse S.A. : Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology, 21.Edition, A Lange Medical Book, p: 507-528,1998.
10. Chan M.: Vitamin A and Measles In Third World Children. BMJ, 301. p: 1230-1231, 1990.
11. Dennert G., Lothan R.: Effect of Retinoic Acid on the Immune System: Stimulation of T Killer Cell Induction. Eur J Immunol, 8 (1): 23-29,1978.
12. Ertem E.: Fagositozda Rol Oynayan Hücreler Granülositler. Türk Mikrobiol Cem Derg 20(3-4): 304-308, 1990.
13. Goodman D.S.: Vitamin A and Retinoids In Health and Disease, Ed: Epstein F.H.: Mechanisms of Disease. N Engl J Med, 310 (16):1023-31,1984.
14. Gürer S.Ü., Çevikbaş A., Johansson C., Derici K., Yardımcı T.: Effect of Fluconazole on Human Polymorphonuclear Leucocyte Functions Ex Vivo Against Candida albicans. Chemotherapy, 45: 277-283, 1999.
15. Hardman J.G., Limbird L.E.: Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. Ninth Edition, Mc Graw-Hill, p: 1573-1582, 1211-1214, 1996.
16. Hatun Ş., Teziç T.: Vitamin A Status of Healthy Infants In Ankara, Turkey. Türk J Pediatr, 37: 187-192, 1995.
17. Hidiroglou M., Markham F.: Effect of Oral Supplements of Vitamin A on The Plasma Retinol Levels in Calves and Their Immunological Unresponsiveness. Reprod Nutr Dev, 36(5): 467-472, 1996.

18. Hof H., Wirsing C.H.: Anti-Infective Properties of Vitamin A. *Ernahrungswiss*,18 (4):221-232,1979.
19. Immunology of Measles. *Lancet*, 8666: 780-781, 1989.
20. Jawetz E., Melnick J.L., Adelberg E.A.: Review of Medical Microbiology. Middle East Edition, 1982.
21. Karan B, Kama N.A., Hasçelik G., Ercan M.: Effects of Vitamin A on Immunological Deficiencies in Rats With Obstructive Jaundice. *Eur J Surg*, 162(3): 217-222, 1996.
22. Kayaalp S.O.: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 3. Cilt, Yedinci Baskı, s: 2859-2883, 1997.
23. Kayser H.F., Bienz A.K., Eckert J., Lindenmann J.: Tıbbi Mikrobiyoloji, 8. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, s: 281-554, 306-555, İstanbul,1997.
24. Kılıçturgay K.: Temel Mikrobiyoloji ve Parazitoloji, Onur Yayıncılık, 1992.
25. Kılıçturgay K.: İmmünoloji, Güneş & Nobel Tıp Kitabevleri, s: 15-21, 1997.
26. Koçak A.K., Mutluyılmaz S., Akgün Y., Bolatlı T., Tekin N., Akgün N.: Kızamıkta Aşılama ve A Vitamini. *Türk Mikrobiol Cem Derg*, 29:82-85, 1999.
27. Kotwal G.J.: Microorganisms and Their Interaction With the Immune System. *J Leukoc Biol*, 62: 415-429, 1997.
28. Lennette E.H., Balows A., Hausler W.J., Shadomy H.J.: Manual of Clinical Microbiology, Fourth Edition, p: 526-541, 1985.

29. Levinson W., Jawetz E.: *Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji*, 4. Baskı, Barış Kitabevi, s:213-214, 230-282 (T.Y.)
30. Lohr K.M., Synderman R.: *Amphotericin B Alters the Affinity and Functional Activity of the Oligopeptide Chemotactic Factor Receptor on Human Polymorphonuclear Leukocytes*. *J Immunol*, 129 (4): 1594-1599, 1982.
31. Mandell G.L., Douglas R.G., Bennett J.E.: *Principles and Practice of Infectious Diseases, Third Edition, Vol. 1*, Churchill Livingstone Inc, 1990.
32. Mandell G.L., Douglas R.G., Bennett J.E.: *Principles and Practice of Infectious Diseases, Third Edition, Vol. 2*, Churchill Livingstone Inc, p: 1943, 1990.
33. Markowitz L.E., Nzilambi N, Driskell W.J., Sension M.G., Rovira E.Z., Nieburg P., Ryder R.W.: *Vitamin A Levels and Mortality Among Hospitalized Measles Patients*. *J Trop Pediatr* 35 (3): 109-112, 1989
34. Meyers F.H., Jawetz E., Goldfien A.: *Review of Medical Pharmacology, 2. Edition*, p: 393-395, 1970.
35. Montgomery R., Conway T.W., Spector A.A., Chappell D.: *Biochemistry, Sixth Edition*, p:13-16, 1996.
36. Moran F.J., Puente L.F., Perez-Giraldo C., Hurdato C., Blanco M.T., Gamez-Garcia A.C.: *Effect of Cefpirome in Comparison With Cefuroxime Against Human Polymorphonuclear Leukocytes In Vitro*. *J Antimicrob Chemother*, 33:57-62, 1994.
37. Murathanoğlu O. : *Histoloji. İ.Ü. Yayınları*, s: 99-112, 1996.

38. Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W.: Harper's Biochemistry, Twenty-Fourth Edition, p: 614-617, 1996.
39. Özbal Y.: Temel İmmünoloji. I.Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri., s: 34-38, 167, 1994.
40. Pahsa A., Özsoy M.F., Altunay H., Koçak N., Yıldırım A., Kocabeyoğlu Ö., Çavuşlu Ş., Yenen O.Ş: Erişkinlerde Kızamık: 284 Olgunun Retrospektif Değerlendirilmesi. İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi, 4(3):200-205,1999.
41. Pallister C.J., Warnock D.W.: Effect of Antimicrobial and Antineoplastic Drugs Alone and in Combination on the Phagocytic and Candidacidal Function of Human Polymorphonuclear Leukocytes. J Antimicrob Chemother 23:87-94, 1989.
42. Pascual A., Garcia I., Conejo C., Perea E.J.: Uptake and Intracellular Activity of Fluconazole in Human Polymorphonuclear Leukocytes. Antimicrob Agents Chemother 37(2): 187-290, 1993.
43. Pelczar M.J., Chan E.C.S., Krieg N.R.: Microbiology Concepts and Applications. International Edition, Mc Graw - Hill, Inc, p: 487-491, 1993.
44. Poyraz, Ö.: Genel ve Özel Tıbbi Viroloji, No:71, Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları, s.155-169, 1998.
45. Richardson M.D., Scott G., Shankland G.S.: Effect of Cilofungin on Phagocytosis and Intracellular Killing of Candida albicans by Human Neutrophils. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 11(1): 22-26, 1992.

46. Roilides E., Walsh T.J., Rubin M., Venzon D., Pizzo P.A.: Effects of Antifungal Agents on the Function of Human Neutrophils In Vitro. *Antimicrob Agents Chemother*, 34 (2): 196-201, 1990.
47. Rosales F.J., Kjolhede C., Goodman S.: Efficacy of a Single Oral Dose of 200.000 IU of Oil-Soluble Vitamin A in Measles-Associated Morbidity. *Am J Epidemiol*, 143 (5): 413-422, 1996.
48. Rumore M.: Vitamin A as an Immunomodulating Agent. *Clin Pharm*, 12 (7): 506-514, 1993.
49. Salmeron E., Ruiz A., Nunez J., Aguayo J., Molina J.: Reduction of the Function of Polymorphonucleocytes: Chemotaxis and Myeloperoxidases in Viral Infections in Childhood. *An Esp Pediatr*, 21 (2): 113-118, 1984.
50. Sauberlich H.E. : Bioavailability of Vitamins. *Progress in Food and Nutrition Science*, Vol. 9, p: 1-33, 1985.
51. Schaechter M., Medoff G., Einstein B.J.: *Mechanisms of Microbial Disease*, International Second Edition, p: 577, 1993.
52. Semba R.D. : Vitamin A, Immunity, and Infection. *Clin Inf Dis* 19: 489-499, 1994.
53. Serter D.: *Klinik Viroloji*, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, No: 122, s: 279-287, 1980.
54. Sijtsma S.R., Rombout J.H., Dohmen M.J., West C.E., Van Der Zijpp A.J.: Effect of Vitamin A Deficiency on The Activity of Macrophages in Newcastle Disease Virus-Infected Chickens. *Vet Immunol Immunopathol*, 28 (1): 17-27, 1991.

55. Smith E.L., Hill R.L., Lehman I.R., Lefkowitz R.J., Handler P., White A.: Principles of Biochemistry, Mc Graw-Hill International Editions, p: 669-674, 1988.
56. Soyogul Ü.: Candida albicans'a Karşı Flukonazol'un İnsan Polimorf Nüveli Lökosit Fonksiyonları Üzerine İn Vivo Etkisinin Araştırılması. Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, İstanbul, 1994.
57. Stites D.P., Stobo J.D., Wells J.V.: Basic and Clinical Immunology. Sixth Edition, p: 106-113, 554-556, 1987.
58. Sunam G.: Vitaminler, Genel Farmakoloji, s: 566-567, 1972.
59. Şimşek E., ed.: Biyokimya. s:286-290, 1992.
60. Topçu, A.W., Söyletir, G., Doğanay, M.: İnfeksiyon Hastalıkları, Nobel Tıp Kitabevleri, 1996.
61. Tümbay E.: Pratik Tıp Mikolojisi, I. Baskı, s: 45-61, 1983.
62. Twining S.S., Schulte D.P., Wilson P.M., Fish B.L., Moulder J.E.: Vitamin A Deficiency Alters Rat Neutrophil Function. J Nutr 127 (4): 558-565, 1997.
63. Unat E.K.: Temel Mikrobiyoloji, 2. Baskı, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, s: 41-47, 1993
64. Ustaçelebi Ş.: Genel Viroloji. Hacettepe Taş Kitapçılık, I. Baskı, s:2-110, 1992.
65. Vering E.M., Verhoef J.: Clindamycin at Subinhibitory Concentrations Enhances Antibody - and Complement - Dependent Phagocytosis by Human Polymorphonuclear Leukocytes of Staphylococcus aureus. Chemotherapy, 33: 243-249, 1987.

66. Vitamin A and Cancer. Lancet, p: 325-326, 1984.
67. Vitamin A and Teratogenesis. Lancet, p: 319-320, 1985
68. Wiedermann U., Tarkowski A., Bremell T., Hanson L.A., Kahu H., Dahlgren U.I.:
Vitamin A Deficiency Predisposes to Staphylococcus aureus Infection. Infect Immun,
64(1): 209-214, 1996.
69. Willett W.C., Macmahon B.: Diet and Cancer-An Overview . N Engl J Med, 310
(10): 633-38, 1984.



ÖZGEÇMİŞ

23.9.1972 tarihinde İstanbul'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi İstanbul'da tamamladım. 1991 yılında İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde okumaya hak kazandım ve 1997 yılında mezun oldum. Aynı yıl Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimime başladım. Halen aynı Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktayım.

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

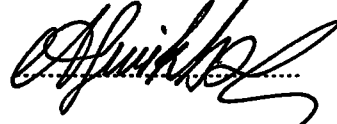
Yüksek Lisans öğrencisi Serkan AKARSU'nun, çalışması jürimiz tarafından Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans tezi olarak uygun görülmüştür.

İMZA

Tez Danışmanı : Yrd.Doç.Dr. Ümran SOYOĞUL GÜRER
Üniversitesi : Marmara



Üye : Prof.Dr. Adile ÇEVİKBAŞ
Üniversitesi : Marmara



Üye : Prof.Dr. Candan JOHANSSON
Üniversitesi : Marmara



ONAY

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 2.../.../2000 tarih ve5..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.


Prof.Dr. Sevim ROLLAS
Müdür

TC. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ