

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

99141

**RUMİNANTLARIN KAN VE KARACİĞER DOKUSUNDA
ANTIOKSİDAN ENZİM VE LİPİT PEROKSİDASYON
DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

Sema YARALIOĞLU

F.Ü. VETERİNER FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç.Dr.Necmi ÖZDEMİR

ELAZIĞ-2000

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Kısaltmalar.....	V
Tablo ve Şekil Listesi	VI
1.ÖN SÖZ	X
2.GİRİŞ	1
2.1 Genel Bilgiler.	1
2.1.1. Serbest Radikaller.....	1
2.1.2. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri.....	2
2.1.2.1.Süperoksit Radikali (O_2^-).....	2
2.1.2.2. Hidroksil Radikali ($\cdot OH$)	4
2.1.2.3. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	5
2.1.2.4. Singlet Oksijen (1O_2)	6
2.2. Serbest Radikallerin Kaynakları	7
2.2.1. Serbest Radikallerin Endojen Kaynakları	7
2.2.1.1. Küçük Moleküllerin Otooksidasyonu	7
2.2.1.2. Eriyebilir Enzimler ve Proteinler	7
2.2.1.3. Mitokondriyal Elektron Transportu	7
2.2.1.4. Endoplazmik Retikulum ve Nükleer Membran Transport Sistemleri.....	8
2.2.1.5. Peroksizomlar	8
2.2.1.6. Plazma Membranları	8
2.2.2. Serbest Radikallerin Eksojen Kaynakları	9
2.3. Serbest Radikal Harabiyeti Riski Altındaki Hücresel Komponentler	9
2.3.1. Proteinler	9
2.3.2. Nükleikasitler ve DNA	10
2.3.3. Membran Lipidleri	10
2.3.4. Karbonhidratlar	11
2.4. Reaktif Oksijen Türlerinin Teşekkülü	11
2.5. Serbest Radikallerin Reaksiyonları	12
2.6. Serbest Radikaller Tarafından Hasara Uğrayan Hücrelerin Birbirini Etkileyen Mekanizmaları	14
2.7. Radikallerin Çeşitli Patolojik Durumlarla İlişkisi	16
2.8. Lipid Peroksidasyonu	17

	Sayfa
2.8.1. Lipid Peroksidasyonu Aşamaları	19
2.8.1.1. Başlangıç Aşaması	19
2.8.1.2. Zincir Aşaması	20
2.8.1.3. Zincir Uzamasının Durması ve İkincil Ürünlerin Oluşması	21
2.9. Antioksidan Savunma Sistemleri	22
2.9.1. Enzimatik Antioksidanlar	24
2.9.1.1. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)	24
2.9.1.2. Katalaz (CAT)	25
3.0. Serbest Radikal Harabiyetine Karşı Hücrel Savunma	26
3.1. Antioksidan Basamaklar	26
3.2. Plazma ve Eritrosit Antioksidan Savunma Sistemleri	28
4.0. Transaminazlar	29
4.1. Alanin Amino Transferaz (ALT).....	29
4.2. Aspartat Amino Transferaz (AST)	30
4.3. Alkalen Fosfataz (ALP)	30
5. MATERYAL VE METOT	31
5.1. Materyal	31
5.1.1. Hayvan Materyali	31
5.1.1.1. Kan Örneklerinin Alınması	31
5.1.1.1.1. Kanın Eritrositlerde Katalaz Enzim Tayini İçin Hazırlanması	31
5.1.1.1.2. Kanın Eritrositlerde GSH-Px Enzim Tayini İçin Hazırlanması	31
5.1.1.2. Doku Örneklerinin Alınması	32
5.1.1.2.1. Doku Örneklerinin Homojenize Edilmesi	32
5.1.1.2.1.1. CAT Aktivite Tayini için Doku Örneklerinin Hazırlanması	32
5.1.1.2.1.2. GSH-Px Aktivite Tayini İçin Doku Örneklerinin Hazırlanması	32
5.1.1.2.1.3. Lipid Peroksidasyonu İçin Doku Örneklerinin Hazırlanması	33
5.1.1.2.1.4. AST, ALT, ALP Aktivite Tayini İçin Doku Örneklerinin Hazırlanması	33
5.1.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	33
5.2. Metot	33
5.2.1. CAT Aktivitesinin Tayini	33
5.2.2. GSH-Px Aktivitesinin Tayini	35
5.2.3.1. Plazma Lipid Peroksidasyon Düzeyinin Tayini	37
5.2.3.2. Doku Lipid Peroksidasyon Düzeyinin Tayini	39

	Sayfa
5.2.4. AST Aktivitesinin Tayini	40
5.2.5. ALT Aktivitesinin Tayini	41
5.2.6. ALP Aktivitesinin Tayini	42
5.2.7. Hemoglobın Tayini	43
5.2.8. Protein Tayini	44
5.2.9. Hematokrit Tayini	45
5.3. İstatistiksel Değerlendirme	46
6. BULGULAR	50
6.1. Türler Arası Karşılaştırmalar	50
6.2. Tür İçi Karşılaştırmalar	55
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	77
8. ÖZET	91
9. SUMMARY	93
10. KAYNAKLAR	95
11. ÖZGEÇMİŞ	105
10. TEŞEKKÜR	106

KISALTMALAR

ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
$O_2^{\cdot-}$: Süperoksit Radikali
$\cdot OH$: Hidroksil Radikali
R^{\cdot}	: Lipid Radikali
RO^{\cdot}	: Alkoksil Radikali
ROO^{\cdot}	: Peroksil Radikali
AH	: Antioksidan
A^{\cdot}	: Antioksidan Radikali
ROOH	: Lipid Hidroperoksit
H_2O_2	: Hidrojen Peroksit
HOCl	: Hipokloröz asit
1O_2	: Singlet Oksijen
HO_2^{\cdot}	: Hidroperoksil Radikali
GSH	: Glutasyon
GSSG	: Okside Glutasyon
MDA	: Malondialdehid
CAT	: Katalaz
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
SOD	: Süperoksit Dismütaz
GRaz	: Glutasyon Redüktaz
MPO	: Myelo Peroksidaz
Sit.C Oks.	: Sitokrom C Oksidaz
O_3	: Ozon
$ONOO^{\cdot}$: Peroksi nitrit
TBA	: Tiyobarbitürik asit
ALT	: Alanin Amino Transferaz
AST	: Aspartat Amino Transferaz
ALP	: Alkalen Fosfataz
Hb	: Hemoglobin
Htc	: Hematokrit
tBOOH	: t-Bütil hidroperoksit

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1 : Reaktif Oksijen Türlerinin Teşekkülü	11
Şekil 2 : Oksidan ve Antioksidan Denge	13
Şekil 3 : Serbest Radikaller tarafından Hasara Uğrayan Hücrelerin Birbirini Etkileyen Mekanizmaları	15
Şekil 4 : Bir Hücre Membranının Ana Yapısını Oluşturan Lipid Tabakası	18
Şekil5 : Lipid Peroksidasyonunun Başlama ve İlerleme Reaksiyonlarının Gösterilmesi	20
Şekil 6 : GSH-Px Enzimi ve E Vitamininin Antioksidan Rolü	24
Şekil7: Reaktif Oksijen Türleriyle Oluşturulan Hasara Karşı Savunma Mekanizmaları	27
Şekil 8 : Plazma Lipid Peroksidasyonu Standart Eğrisi	47
Şekil 9 : Doku Lipid Peroksidasyonu Standart Eğrisi	47
Şekil 10 : Aspartat Transaminaz Standart Eğrisi	48
Şekil 11 : Alanin Transaminaz Standart Eğrisi	48
Şekil 12 : Alkalen Fosfataz Standart Eğrisi	49
Şekil 13 : Türlerle Göre Erkek ve Dişilerde Eritrosit GSH-Px Düzeylerindeki Değişiklikler	69
Şekil 14 : Türlerle Göre Erkek ve Dişilerde Karaciğer Dokusu GSH-Px Düzeylerindeki Değişiklikler	69
Şekil 15 : Türlerle Göre Erkek ve Dişilerde Eritrosit CAT Düzeylerindeki Değişiklikler	70
Şekil 16 : Türlerle Göre Erkek ve Dişilerde Karaciğer Dokusu CAT Düzeylerindeki Değişiklikler	70
Şekil 17 : Türlerle Göre Erkek ve Dişilerde Plazma MDA Düzeylerindeki Değişiklikler	71
Şekil 18 : Türlerle Göre Erkek ve Dişilerde Karaciğer Dokusu MDA Düzeylerindeki Değişiklikler	71
Şekil 19 : Türlerle Göre Erkek ve Dişilerde Serum AST Düzeylerindeki Değişiklikler	72
Şekil 20 : Türlerle Göre Erkek ve Dişilerde Karaciğer Dokusu AST	

	Sayfa
Düzeylerindeki Değişiklikler	72
Şekil 21 : Türlerle Göre Erkek ve Dişilerde Serum ALT Düzeylerindeki Değişiklikler	73
Şekil 22 : Türlerle Göre Erkek ve Dişilerde Karaciğer Dokusu ALT Düzeylerindeki Değişiklikler	73
Şekil 23 : Türlerle Göre Erkek ve Dişilerde Serum ALP Düzeylerindeki Değişiklikler	74
Şekil 24 : Türlerle Göre Erkek ve Dişilerde Karaciğer Dokusu ALP Düzeylerindeki Değişiklikler	74
Şekil 25 : Türlerle Göre Erkek ve Dişilerde Hemoglobın Düzeylerindeki Değişiklikler	75
Şekil 26 : Türlerle Göre Erkek ve Dişilerde Hematokrit Düzeylerindeki Değişiklikler	75
Şekil 27 : Türlerle Göre Erkek ve Dişilerde Karaciğer Dokusu Protein Düzeylerindeki Değişiklikler.....	76
Tablo 1 : Oksijen Kaynaklı Serbest Radikaller ile İlişkili Olduğu İleri Sürülen Patolojik Durumlar	16
Tablo 2 : Endojen ve Eksojen Antioksidanlar	23
Tablo 3 : Erkek Sığır, Koyun ve Keçilerde Eritrosit GSH-Px, CAT ve Plazma MDA Düzeyleri ile 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistikî Önem Kontrolü	58
Tablo 4 : Dişi Sığır, Koyun ve Keçilerde Eritrosit GSH-Px, CAT ve Plazma MDA Düzeyleri ile 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistikî Önem Kontrolü	58
Tablo 5 : Sığır, Koyun ve Keçilerde Eritrosit GSH-Px, CAT ve Plazma MDA Düzeyleri ile 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistikî Önem Kontrolü	58
Tablo 6 : Erkek Sığır, Koyun ve Keçilerde Karaciğer GSH-Px, CAT ve MDA Düzeyleri ile 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistikî Önem Kontrolü	59
Tablo 7 : Dişi Sığır, Koyun ve Keçilerde Karaciğer GSH-Px, CAT ve MDA Düzeyleri ile 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistikî Önem Kontrolü	59
Tablo 8 : Sığır, Koyun ve Keçilerde Karaciğer GSH-Px, CAT ve MDA Düzeyleri İle 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistikî Önem Kontrolü	59
Tablo 9 : Erkek Sığır, Koyun ve Keçilerde Serum AST, ALT ve ALP Düzeyleri İle 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistikî Önem Kontrolü	60

Tablo 10 : Dişi Sığır, Koyun ve Keçilerde Serum AST, ALT ve ALP Düzeyleri ile 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü	60
Tablo 11 : Sığır, Koyun ve Keçilerde Serum AST, ALT ve ALP Düzeyleri ile 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü	60
Tablo 12 : Erkek Sığır, Koyun ve Keçilerde Karaciğer AST, ALT,ALP ve Protein Düzeyleri ile 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü	61
Tablo 13 : Dişi Sığır, Koyun ve Keçilerde Karaciğer AST, ALT,ALP ve Protein Düzeyleri ile 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü	61
Tablo 14 : Sığır, Koyun ve Keçilerde Karaciğer AST, ALT,ALP ve Protein Düzeyleri ile 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü	61
Tablo 15 : Erkek Sığır, Koyun ve Keçilerde Hemoglobun ve Hematokrit Değerleri ile 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü	62
Tablo 16 : Dişi Sığır, Koyun ve Keçilerde Hemoglobun ve Hematokrit Değerleri ile 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü	62
Tablo 17 : Sığır, Koyun ve Keçilerde Hemoglobun ve Hematokrit Değerleri ile 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü	62
Tablo 18 : Erkek ve Dişi Sığırlarda Eritrosit GSH-Px, CAT ve Plazma MDA Düzeyleri ile 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü	63
Tablo 19 : Erkek ve Dişi Koyunlarda Eritrosit GSH-Px, CAT ve Plazma MDA Düzeyleri ile 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü	63
Tablo 20 : Erkek ve Dişi Keçilerde Eritrosit GSH-Px, CAT ve Plazma MDA Düzeyleri ile 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü	63
Tablo 21 : Erkek ve Dişi Sığırlarda Karaciğer GSH-Px, CAT ve MDA Düzeyleri ile 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü	64
Tablo 22 : Erkek ve Dişi Koyunlarda Karaciğer GSH-Px, CAT ve MDA Düzeyleri ile 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü	64
Tablo 23 : Erkek ve Dişi Keçilerde Karaciğer GSH-Px, CAT ve MDA Düzeyleri ile 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü	64
Tablo 24 : Erkek ve Dişi Sığırlarda Serum AST,ALT ve ALP Düzeyleri ile 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü	65
Tablo 25 : Erkek ve Dişi Koyunlarda Serum AST,ALT ve ALP Düzeyleri ile 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü	65

Tablo 26 : Erkek ve Dişi Keçilerde Serum AST,ALT ve ALP Düzeyleri ile 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü	65
Tablo 27 : Erkek ve Dişi Sığırlarda Karaciğer AST,ALT,ALP ve Protein Düzeyleri ile 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü	66
Tablo 28 : Erkek ve Dişi Koyunlarda Karaciğer AST,ALT,ALP ve Protein Düzeyleri ile 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü	66
Tablo 29 : Erkek ve Dişi Keçilerde Karaciğer AST,ALT,ALP ve Protein Düzeyleri ile 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü	66
Tablo 30 : Erkek ve Dişi Sığırlarda Hemoglobin ve Hematokrit Değerleri ile 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü	67
Tablo 31 : Erkek ve Dişi Koyunlarda Hemoglobin ve Hematokrit Değerleri ile 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü	67
Tablo 32 : Erkek ve Dişi Keçilerde Hemoglobin ve Hematokrit Değerleri ile 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü	67
Tablo 33 : Sığır, Koyun ve Keçilerin Eritrosit ve Kan Serumlarında Tespit Edilen Çeşitli Biyokimyasal Parametrelerin Cinsiyetlere Göre Sınırları	68
Tablo 34 : Sığır, Koyun ve Keçilerin Karaciğer Dokusunda Tespit Edilen Çeşitli Biyokimyasal Parametrelerin Cinsiyetlere Göre Sınırları	68

ÖN SÖZ

Hayvancılık, ülkemiz ekonomisi bakımından, artan nüfusumuzun hayvansal protein ihtiyacının karşılanması, hayvanların doğrudan insan gıdası olarak değerlendirilemeyen bitkisel ürünleri ve artıklarını faydalı gıdalara dönüştürebilme yetenekleri, toprağın verimliliğinin muhafazası, sanayiye hammadde sağlanması ve istihdama olan katkıları nedeniyle önemli sektörlerden birisidir.

Sığır, koyun ve keçi gibi insanların temel gıdasını oluşturan hayvanlarda görülen paraziter, bakteriyel, viral, enfeksiyöz v.b hastalıkların kontrol altında tutulabilmesi, bir yandan halk sağlığının korunması diğer yandan beslenmede ve ülke ekonomisinde vazgeçilmez kaynaklar olan hayvansal ürünlerin kayıplara uğratılmaması yönünden çok önem arz etmektedir.

Gelişen modern tıp sayesinde artık insan ve hayvanlarda görülen hastalıkların büyük bir kısmı kontrol altına alınabilmişse de, henüz etiyojisi bile tam açıklık kazanmamış metabolik hastalıkların daha geniş kapsamlı olarak araştırılması gerekmektedir. Uzun süredir yapılagelmekte olan araştırmalarda serbest radikallerin ve lipid peroksidasyonu sonucu oluşan çeşitli ürünlerin, bazı patolojik durumların ve hastalıkların oluşumunda önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Bugünlerde belirli hasta grupları üzerinde elde edilen gelişmelerde, total antioksidan durumun önemli bir diagnostik ve prognostik rehber olduğu ispatlanmış , hücre membranlarının yapı ve bütünlüğünü bozan serbest radikallerin pek çok hastalıkla yakından ilgili olduğu ortaya çıkartılmıştır.

Kuzularda görülen beyaz kas hastalığında olduğu gibi , evcil hayvanlarda ortaya çıkan bazı hastalıklar antioksidan metabolizma bozuklukları sonucudur. Organizmada hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak , hem de sanayi artıkları , azot oksitler, ozon tabakasının delinmesi ile artan UV ışınları, radyasyon, hava kirliliği, sigara dumanı ve stres gibi etkenler neticesinde serbest radikaller oluşmakta, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan savunma sisteminin yetersiz kaldığı durumlarda ise hastalık kaçınılmaz olmaktadır. Serbest radikal hasarı sonucu ortaya çıkan lipid peroksidasyonunun göstergelerinden biri olan malondialdehit (MDA) düzeylerinde daha olayın başlangıcında bir artış meydana gelmekte, bu durum erken teşhise yardımcı olmaktadır.

Antioksidan enzimlerden GSH-Px , CAT aktiviteleri ile MDA düzeyinde meydana gelen değişimler, gerek veteriner hekimlikte ve gerekse beşeri hekimlikte

bir çok hastalığın teşhisinde önemli ip uçları olarak kabul edilmektedirler. Bazı durumlarda, hayvan hastalıkları uzun zaman ve hayvanın maliyetini aşacak harcamaları zorunlu kılan bir tedaviyi gerektirmektedir. Patolojik bozuklukların henüz başlangıç safhalarında antioksidan statü ve lipid peroksidasyonunda değişim gözlemlendiğinden, erken teşhiste ve koruyucu hekimlikte antioksidan statünün araştırılması büyük önem arz etmektedir.

Diagnostik önemi olan antioksidan ve karaciğer enzim aktivitelerinin, biyokimyasal ve hematolojik değerlerin hastalıkların yanı sıra ırk,tür,cinsiyet, beslenme durumu, çevre, gebelik ve mevsimsel değişiklikler gibi faktörlerden de etkilendiği pek çok çalışmayla gösterilmiştir.

Sunulan çalışmada, klinik ve postmortem muayene sonrası sağlıklı olduğu anlaşılan sığır, koyun ve keçilerin kan ve karaciğer dokusunda GSH-Px, CAT, aspartat amino transferaz (AST), alanin amino transferaz (ALT) ve alkalin fosfataz (ALP) aktiviteleri ile lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA düzeylerinin, biyokimyasal ve hematolojik değerlerin belirlenmesi ve tür ve cinsiyet faktörlerinin bu parametrelere etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yapılan literatür taramalarında sağlıklı ruminantlarda kan ve karaciğer dokusu parametrelerine ilişkin fazlaca yayına rastlanılmamıştır. Buradan hareketle sunulan çalışmanın hayvan sağlığını korumak ve kontrol altına almak bakımından yapılacak daha ileri çalışmalara bir temel teşkil edeceği, erken teşhis, tedavi ve koruyucu hekimlikte klinik açıdan yararlı olacağı ve ülkemiz hayvancılığına olumlu katkılarda bulunacağı inancındayız.

2.GİRİŞ

2.1. Genel Bilgiler

2.1.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, hücre metabolizması sırasında cereyan eden biyokimyasal redoks reaksiyonları ile ortaya çıkan çiftleşmemiş elektrona sahip, reaktif ve kısa ömürlü kimyasal bileşiklerdir. Bu geniş tanımın içine hidrojen atomu, metal iyonları ve oksijen molekülü gibi çok farklı yapılarıdaki atom ve moleküllerde girmektedir. Serbest radikallere, oksidan moleküller veya en doğru adlandırma ile "REAKTİF OKSİJEN PARTİKÜLLERİ" de denmektedir (34,110,122).

Bu açıklamalara göre oksidanlar, tek elektron eksiklikleri nedeniyle başka moleküller ile kolayca elektron alışverişi yapabilenler (Radikaller) ve elektron eksiklikleri olmadığı halde başka moleküller ile radikallerden daha zayıf bir şekilde birleşebilenler (Non-radikaller) olmak üzere 2 grupta toplanırlar (34,54).

Reaktif Oksijen Partikülleri

1-Radikaller

- Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)
- Hidroksil radikali ($\cdot OH$)
- Alkoksil radikali ($RO\cdot$)
- Peroksil radikali ($ROO\cdot$)

2-Non-Radikaller

- Hidrojen peroksit (H_2O_2)
- Lipid hidroperoksit ($ROOH$)
- Hipokloröz asit ($HOCl$)

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler. Organik veya inorganik moleküller şeklinde bulunabilirler. Cu^{+2} , Fe^{+3} , Mn^{+2} ve Mo^{+5} gibi geçiş metallerinin de ortaklanmamış elektronları olduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmezler. Fakat bu iyonlar, reaksiyonları katalize ettiklerinden dolayı serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar (54,56,122).

2.1.2 Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri

Reaktif oksijen türleri (ROS), oksijen radikallerini (O_2^- , $\cdot OH$, $ROO\cdot$ ve $RO\cdot$) ve radikallere kolayca dönüştürülen $\cdot HOCl$, ozon (O_3), peroksi nitrit ($ONOO^-$), singlet oksijen (1O_2) ve H_2O_2 gibi belli nonradikalleri içerirler. Biyolojik sistemlerde bulunan en önemli oksijen radikalleri O_2^- , H_2O_2 , $\cdot OH$ ve 1O_2 dir (20,122).

Endojen ROS, redoks reaksiyonları ve homolitik moleküler kırılmalar gibi sayısız kimyasal reaksiyonların son ürünleri olup, tüm hücre tiplerinde, özellikle solunum zinciri gibi genel metabolik proseslerde üretilirler. Mikrobiyal enfeksiyonlara karşı bir savunma mekanizması olarak görülen solunum patlaması sırasında, aktive makrofajlar tarafından yangılı dokuda geniş miktarlarda meydana gelirler (20,32).

Bundan başka oksijen radikalleri çok sayıda fiziksel ve biyolojik prosesle de üretilirler. Bir taraftan aşırı ROS akümüasyonu toksiktir ve belli koşullar altında neoplastik transformasyonlara yol açabilir ancak diğer taraftan bu türlerin bazal düzeyleri bazı hücre tiplerinin hayatta kalması için gereklidir. İntrasellüler reaktif oksijen konsantrasyonları sıkı bir şekilde regüle edilmektedir (20,32,122).

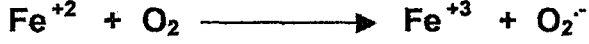
Günümüzde oksijen radikallerinin, kimyasal maddelerin toksisitesinde önemli mediatörler oldukları iyi bilinmektedir. Örn; oksijen radikallerini üreten bileşiklerin bir tümör promotörü olarak etki ettiği gösterilmiştir. ROS, hücresel makromoleküllerde lipit peroksidasyonu, DNA hasarı ve enzim inaktivasyonu gibi değişikliklere sebep olurlar(19,33,42). Aerobik organizmalarda oksijenin hasar yapıcı etkileri, yaş, fizyolojik durum ve diyet gibi organizmanın oksijeni kullanım tipine göre önemli ölçüde değişir. Oksijen toksisitesiyle başa çıkmak için çok yönlü savunma mekanizmaları geliştirilmiştir. Süperoksit dismutaz (SOD), CAT ve GSH-Px gibi diğer peroksidazlar, oksijen radikallerini ve anyonlarını uzaklaştırırlar (16,61).

2.1.2.1. Süperoksit Radikali (O_2^-)

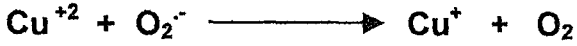
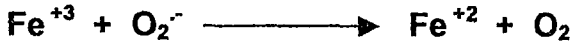
Biyolojik sistemlerde en fazla oksijen taşıyan primer serbest radikal, kendisinin protonlanmış şekli olan, hidroperoksil radikali ($HO_2\cdot$) durumundaki O_2^- 'dir. Bu radikalın en önemli kaynağı, mitokodri, kloroplast ve endoplazmik retikulum elektron transport zincirinden küçük elektron sızıntılarıdır. Hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu, serbest O_2^- meydana gelmektedir (17,32,80,110).



İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu da O_2^- 'ni meydana getirebilir.

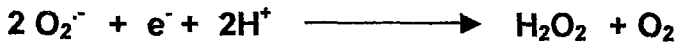


Bu reaksiyonlar geriye dönüşümlü olduğu için, geçiş metalleri iyonlarının oksijenle reaksiyonları geri dönüşümlü redoks reaksiyonları olarak düşünülebilir (24,55).

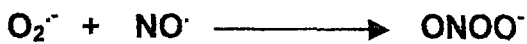


Hayvan hücrelerinde O_2^- 'in bir başka kaynağı da, askorbik asit, glutatyon (GSH), sistein gibi tioller, adrenalin ve flavin koenzimleri gibi bazı bileşiklerin otooksidasyonudur (54,56).

O_2^- , diğer bir çok radikalle karşılaştırıldığında nisbeten unreaktif olmasına rağmen, biyolojik sistemler bunu, $ROO\cdot$, $RO\cdot$ ve $\cdot OH$ radikalleri gibi daha reaktif türlere çevirebilir. Asıl önemi, H_2O_2 kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. O_2^- 'nin dismütasyon ürünü ya kendiliğinden yada enzimatik olarak oluşan H_2O_2 'tir (65,80,115).

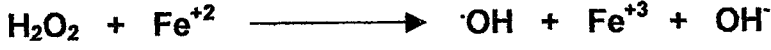


O_2^- 'nin, fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ($NO\cdot$) ile birleşmesi sonucu reaktif bir oksijen türevi olan $ONOO^-$ meydana gelir. Böylece NO 'nin normal etkisi inhibe edilir (20,56).

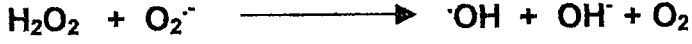


2.1.2.2. Hidroksil Radikali ($\cdot\text{OH}$)

Yarılma ömrü çok kısa, son derece reaktif bir oksidan olan $\cdot\text{OH}$, oluştuğu yerde büyük hasarlara sebep olmaktadır. $\cdot\text{OH}$ ya, H_2O_2 'in geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle (**Fenton reaksiyonu**) ;



yada $\text{O}_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2 'in ortamda serbestleşmiş halde bulunan Fe^{+3} veya Cu^{+2} katalizörlüğünde birbirleri ile reaksiyona girmesiyle meydana gelir (**Haber-Weis reaksiyonu**) (18,20,65).

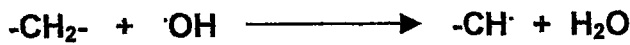
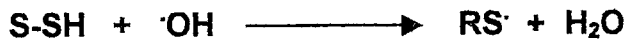


Canlı hücrelerin en önemli unsuru su olduğundan X- ışınları veya γ -ışınları gibi iyonize edici radyasyonun suya etkisi de $\cdot\text{OH}$ üretimiyle sonuçlanır (54,56).



$\cdot\text{OH}$, hücresel DNA hasarının oluşumundan ve iyonize radyasyonun membranlara etkisinden sorumludur. DNA'da tek yada çift iplik kırılmalarının çok önemli hasar yapıcı olaylara, özellikle çift iplik kırılmalarının hücre tarafından onarılamayan hasarlara sebep olduğu düşünülmektedir. $\text{O}_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2 'in hücresel hedeflere bağlı metal iyonları ile etkileşmesiyle oluşan $\cdot\text{OH}$ 'nin, hızla dokulara etki ettiği söylenmektedir (33,55,121).

Hidroksil radikali, tioller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikallerin oluşmasına sebep olmaktadır.

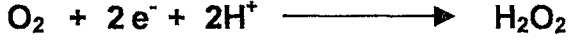


$\cdot\text{OH}$, MDA üretiminde artmayla sonuçlanan lipid peroksidasyonu prosesini de başlatmaktadır (35,54).

2.1.2.3. Hidrojen peroksit (H₂O₂)

H₂O₂, kaynama noktası 150 °C olan donuk mavi, kovalent, visköz likittir. Su ile kolayca karışan ve antibakteriyel özellikleri bulunan H₂O₂, aerobik hücrelerin çoğunda oluşmaktadır (54,56).

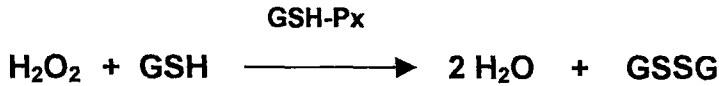
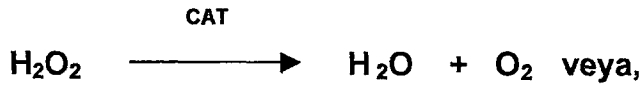
Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden 2 elektron alması veya O₂⁻ 'in bir elektron alması sonucu peroksitler oluşur. Peroksit molekülü 2 hidrojen atomu ile birleşerek H₂O₂ 'i meydana getirir.



Ancak, biyolojik sistemlerde H₂O₂ 'in asıl üretimi O₂⁻ 'in dismutasyonu ile olur. İki O₂⁻ molekülü iki proton alarak H₂O₂ ve moleküler oksijeni oluşturur. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler meydana getirildiğinden bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak değerlendirilir (16,80).

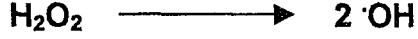


Bu dismutasyon ya spontandır ya da SOD tarafından katalizlenir (80). SOD aktivitesi sonucu ortaya çıkan H₂O₂, CAT ve GSH-Px enzimleriyle su ve oksijene çevrilir (60,65).

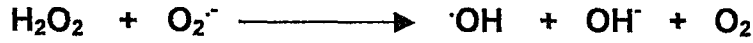


H₂O₂, zayıf okside edici bir ajandır ve genellikle esansiyel tiyol grubunun (-SH) oksidasyonu ile birkaç enzimi doğrudan inaktive edebilir. Glikolitik yolun bir enzimi olan Gliseraldehit 3-P dehidrogenaz, bu metabolik yolda H₂O₂ ile inaktive edilir (54,56).

Muhtemelen, UV ışığı, H₂O₂ 'in homolitik yıkımına sebep olabilir ve bu sebepten ·OH üretimi artar (54).



H₂O₂, bir serbest radikal olmadığı halde, ROS içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü O₂⁻ ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan ·OH' ni oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir (44,54).



H₂O₂ ·OH üretmek suretiyle canlı sistemlerde sık sık hasara sebep olduğu için, H₂O₂ akümüülasyonunun kontrolü, hücreler için biyolojik olarak önemlidir (54).

2.1.2.4. Singlet Oksijen (¹O₂)

¹O₂, ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olur. Oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbitale yer değiştirmesiyle oluşur. Delta ($\Delta^1\text{O}_2$) ve sigma ($\Sigma^1\text{O}_2$) olmak üzere 2 şekli vardır (18,20,78). ¹O₂' nin DNA hasarı oluşturduğu ve mutajenik olduğu gösterilmiştir. Proteinler üzerine olan ¹O₂' nin hasarı, sıklıkla esansiyel metiyonin, triptofan, histidin yada sistein rezidülerinin oksidasyonuna bağlıdır (54,65).

2.2. Serbest Radikallerin Kaynakları

2.2.1 Serbest Radikallerin Endojen Kaynakları

2.2.1.1. Küçük moleküllerin otooksidasyonu

Doku bileşenlerinin çoğu moleküler oksijenin varlığında kimyasal olarak stabil değildirler ve metabolik şartlar altında hızla az yada çok okside olurlar. Kolayca otookside olabilen bu bileşenler, doku ve hücrelerin son derece önemli komponentleridirler. Bunlar arasında, hemoglobin (Hb) gibi metaloproteinler, hormonlar, tiyoller ve doymamış membran lipidleri sayılabilir (24,85).

Çözünebilir özelliği olan ve nötral sıvı ortamda oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarına girebilen hücre komponentlerinden pek çoğu, intrasellüler olarak serbest radikalleri açığa çıkarırlar. Bunlar arasında tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler ve tetrahidropterinler bulunur (34). Yukardaki maddelerin tümü, dioksijenin redüksiyonunu sağlarken primer olarak O_2^- 'nin meydana gelmesine neden olurlar. O_2^- 'nin spontan yada enzimatik dismutasyonu ise ikinci bir ürünü, yani H_2O_2 'i açığa çıkarır. Böylece, O_2^- 'ni veren hücresel olaylar, dismutasyon nedeni ile H_2O_2 'i de meydana getirmiş olurlar. Bütün bu otooksidasyonlar sırasında, serbest radikal intermediyerleri kadar aktive oksijen türleri de üretilir. Böylece otooksidasyonlar vücudun radikal kaynaklarına katkıda bulunurlar (18,24,56,85).

2.2.1.2. Çözünür Enzimler ve Proteinler

Katalitik siklusları sırasında bir çok enzim, serbest radikallerin açığa çıkışını sağlar. Bunlardan, üzerinde en çok çalışılan ksantin oksidaz olup, oksijenin H_2O_2 'e redüksiyonu sırasında O_2^- 'ni meydana getirir. Benzer şekilde, flavoprotein dehidrogenaz, triptofan dioksijenaz, dihidroorotat dehidrogenaz ve aminoasit oksidaz gibi enzimler de radikal oluşumuna sebep olurlar (31,41,43).

2.2.1.3. Mitokondrial Elektron Transportu

Fizyolojik olarak reaktif oksijen türlerinin temel kaynağı normal oksijen metabolizmasıdır. Solunum yoluyla vücuda giren oksijenin yaklaşık % 98'i mitokondride suya çevrilir. Fakat % 2 kadarı mitokondri tarafından kullanılır ve solunum zincirindeki elektron taşıyıcılarından kaçan elektronlar tarafından kısmen indirgenir. Böylece fizyolojik koşullar altında, iyonize edici radyasyonun etkisi gibi nadir durumlar dışında, mitokondriyal elektron transport sistemi serbest radikal

üretiminin en önemli kısmını oluşturur. Bu reaksiyonlar, ya enzimlerin etkisiyle ya da non enzimatik geçiş metal iyonlarının redoks kimyası aracılığıyla cereyan ederler (17,54,115).

Mitokondrial H_2O_2 yapımı ilk kez 1966'da Jensen (63) tarafından saptanmış ve bundan sonra yapılan çalışmalarda mitokondrial H_2O_2 'in, tümü değilse bile çoğunluğunun, O_2^- 'nin dismütasyonundan meydana geldiği ve izole mitokondrilerle ve submitokondrial partiküllerle yapılan çalışmalarda, mitokondrial serbest radikallerin kaynağının, iç mitokondrial membranda yer alan elektron transport zinciri olduğu anlaşılmıştır (17,115).

2.2.1.4. Endoplazmik Retikulum ve Nükleer Membran Transport Sistemleri

Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda serbest radikaller, membrana bağlı sitokromların oksidasyonundan meydana gelirler. Oluşan serbest radikaller hem intraorganel ve hem de sitozolik reaksiyonları başlatabilirler. Nükleer membrandan açığa çıkmış olan radikallerin varlığında, özellikle DNA, serbest radikal harabiyetine maruz kalır (21,33,121).

2.2.1.5. Peroksizomlar

Peroksizomlar çok önemli hücre içi H_2O_2 kaynağıdır. Bu organeldeki D-aminoasit oksidaz, urat oksidaz, L-hidroksi asit oksidaz ve yağ asiti açıl-CoA oksidaz gibi oksidazlar O_2^- 'ni üretmeden, bol miktarda H_2O_2 üretimine sebep olurlar. Ancak peroksizomlarda katalaz aktivitesi de çok yüksek olduğu için bu organelden sitozole ne kadar H_2O_2 geçtiği bilinmemektedir (54,74) .

2.2.1.6. Plazma Membranları

Bir çok nedenden ötürü plazma membranı, serbest radikal reaksiyonları için kritik bir yerdir. Ekstrasellüler olarak açığa çıkan serbest radikaller, hücrenin diğer kompartmanları ile reaksiyona girebilmek için ya önce plazma membranını geçmelidir yada toksik reaksiyonlarını membranda başlatmalıdır. Membranda bulunan fosfolipidler, glikolipidler, gliseridler, steroller gibi doymamış yağ asitleri ve kolay okside olabilen aminoasitleri içeren transmembran proteinleri serbest radikal harabiyetine açıktır. Ayrıca serbest radikallerin başlattığı lipid peroksidasyonu ya da yapısal öneme sahip proteinlerin oksidasyonu, transmembran iyon gradientinin

bozulmasına, sekretuar fonksiyonların kaybına ve intrasellüler metabolik olayların inhibisyonuna yol açabilir (18,20,41,64).

2.2.2. Serbest Radikallerin Eksojen Kaynakları

Serbest radikallerin eksojen kaynakları şöyle sıralanabilir:

- | | |
|----------------------------------------|-----------------------------|
| -Radyasyon | -İlaçlar |
| -Hava kirliliği | -Pestisitler |
| -Hiperoksijenasyon | -Alışkanlık yapıcı maddeler |
| -Ultrason | -Sıcak şoku, güneş ışınları |
| -Tekrarlayan medikal lazer ışınlanması | -Karsinojen maddeler |

Eksojen kaynaklar serbest radikaller şeklinde etki edebilecekleri gibi, hücre içi metabolizma ve detoksifikasyon işlemleri sonucunda da serbest radikal türlerine dönüşebilirler (19,54,64).

2.3. Serbest Radikal Harabiyeti Riski Altındaki Hücresel Komponentler

2.3.1. Proteinler

Radikallerle ilgili protein hasarı elektron sızıntısı, metal iyon bağımlı reaksiyonlar, lipid ve şekerlerin otooksidasyonu ile başlatılabilir. Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme dereceleri, aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür ihtiva eden moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin, sistein gibi aminoasitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler (19,82). Papain ve gliseraldehit 3 fosfat dehidrogenaz gibi reaktiviteleri için yukarıdaki aminoasitlere bağımlı olan enzimler serbest radikallere maruz kaldıklarında inhibe edilirler. Bu reaksiyonlar sonucu fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler (19,31).

Proteinler serbest radikal etkisine karşı, poliansature yağ asitlerinden daha az hassastırlar ve başlayan zarar verici zincir reaksiyonlarının hızla ilerleme ihtimali daha azdır. Radikalin toksisite gücüne ve protein molekülünün hücresel lokalizasyonuna göre protein hasarının boyutları değişebilmektedir.

Proteinler üzerine olan serbest radikal hasarı birikmişse yada belirgin proteinlerin spesifik bölgesi üzerinde yoğunlaşmışsa, hücrenin canlılığı bakımından zararlı etki yapar (31,65).

2.3.2. Nükleik Asitler ve DNA

Radyasyonla hücre içinde enerji depolanması sonucu, iyonlar, serbest radikaller ve aktif moleküller meydana gelir. İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyon ve ölüme yol açarlar. Sitotoksiste büyük oranda, ya nükleik asit baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine ya da DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır (65,121).

Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan H_2O_2 , membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir. Bu yüzden DNA serbest radikallerden kolay zarar görebilen önemli bir hedeftir. DNA üzerine olan serbest radikal hasarı, spesifik oksidatif hasara karşı koyan enzimler ve aerobik organizmalar için sürekli ve önemli bir tehdit oluşturmaktadır (33,121).

DNA'ya karşı oksidatif hasar, normal metabolik durumlarda da yüksek oranda meydana gelir. Vücudumuzun her bir hücresindeki DNA her gün 10^4 oksidatif hasara maruz kalarak 20 den fazla farklı oksidatif DNA lezyonlarının oluşumuna yol açar. Bu lezyonların çoğu mutajenik olarak bilinir ve lezyonları iyileştirilebilen spesifik glikozilaz, endonükleaz gibi birkaç tane DNA tamir enzimleri vardır. DNA' dan oksidatif hasarın uzaklaştırılmasına katılan onarıcı enzimler, bu hasarların, potansiyel sitotoksik, mutajenik ve karsinojenik etkilerinin önlenmesine yardımcı olurlar. Bununla birlikte bu tamir mekanizmaları mükemmel değildir. Bu mekanizmalar lezyonların %99'unu temizlemesine rağmen %1'i kalır ve bu da zamanla lezyonların birikimine yol açar (33,54).

2.3.3. Membran Lipidleri

Hücre ve dokuların özelliklerini büyük ölçüde membranların özellikleri tayin eder. Her hayvan hücresinin yaşaması, membran ve subsellüler yapılarının yapısal ve fonksiyonel bütünlüğüne bağlıdır (54).

Membranların labil bileşiği, globüler proteinlerle birlikte, tüm biyolojik membran komplekslerinin temel yapısal komponenti olarak görülen, fosfolipidlerdeki esterifiye, ansature yağ asitleridir. Membranların ansature yağ asitlerinin, küçük fragmentlere non enzimatik peroksidatif yıkımı, lipoprotein membranlarındaki fonksiyonlarını bozar yapısal ve fonksiyonel bütünlüklerini ciddi şekilde hasara uğratar (42,68,108). NADPH'in sebep olduğu lipid peroksidasyonu sırasında, rat karaciğerinden izole

edilen mikrozomal fraksiyonların, spesifik membran fosfolipidlerinin harap olduğu May ve Mc Cay (76) tarafından gösterilmiştir.

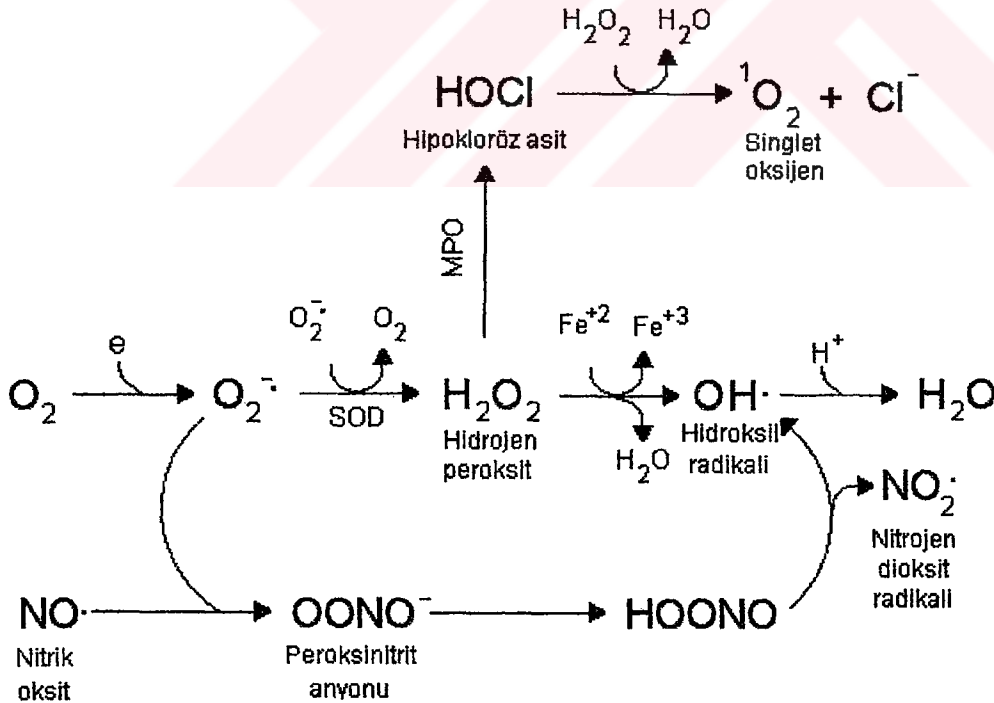
Biyolojik membranların temel yapı taşları olan fosfolipidler, eritrosit membranlarının yarısından daha fazlasını oluştururlar. Membranların lipid içeriğinin, özellikle de fosfolipidlerdeki esterifiye poliansature yağ asitlerinin, kimyasal, fiziksel ve biyolojik katalistlerin etkilerine karşı çok hasas oldukları tespit edilmiştir (42,47,68).

2.3.4. Karbonhidratlar

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Fizyolojik pH ve sıcaklıkta glikoz gibi monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucunda hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler oluşmaktadır (54).

2.4. Reaktif Oksijen Türlerinin Teşekkülü

Oksijen radikalleri, zigot döneminden itibaren natal ve postnatal dönemlerde organizmanın canlılığı devam ettiği sürece, bir çok metabolik yol ile oluşturulurlar (18,20) (Şekil 1).



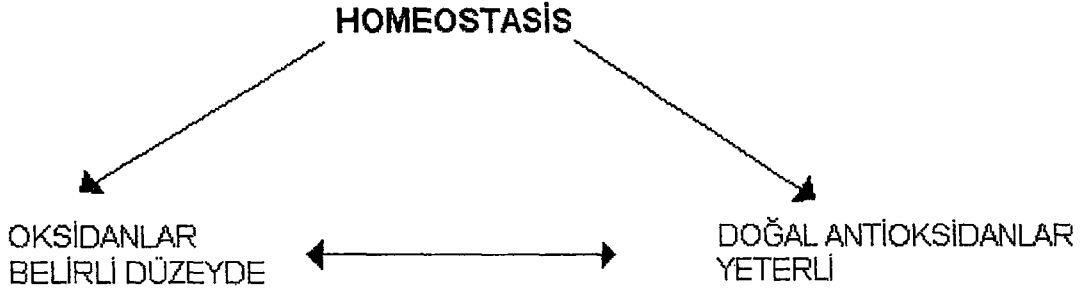
Şekil 1. Reaktif oksijen türlerinin teşekkülü (18).

Sitokrom oksidaz miktarını azaltan elektron taşıma zinciri elemanları, O_2 tarafından $O_2^{\cdot-}$ oluşturmak üzere oksidasyona uğratılır. Meydana gelen $O_2^{\cdot-}$ i SOD enzimi tarafından H_2O_2 'e dönüştürülürken oluşan H_2O_2 , CAT ve peroksidaz enzimleri ile suya yada myeloperoksidaz (MPO) enzimiyle HOCl' a metabolize edilir. Yıkımdan kurtulan H_2O_2 ise , $\cdot OH$ formunu oluşturmak için redükte geçiş metal iyonlarıyla (özellikle Fe^{+2} veya Cu^{+1}) tepkimeye girer. Memeli makrofajları tarafından üretilen $NO\cdot$, $O_2^{\cdot-}$ ile reaksiyona girerek $ONOO^{\cdot-}$ i oluşturur. $NO\cdot$ aynı zamanda diğer farklı hücre tipleri tarafından intrasellüler sinyallerle üretildiğinden, $ONOO^{\cdot-}$, radikal hasarının yaygın biyolojik bir ajanı olabilir. Hücrelerde serbest radikal üretimi, bazı yabancı toksik maddeler tarafından da büyük oranda arttırılabilir. Bu maddeler ya doğrudan serbest radikal üretirler veya antioksidan aktiviteyi düşürürler (18,32,65).

2.5. Serbest Radikallerin Reaksiyonları

Normal olarak metabolizmada, bazı biyokimyasal olayların çeşitli basamaklarında serbest radikaller oluşmaktadır. Her ne kadar serbest radikal yapısına sahip maddelerin organizmaya zarar verme potansiyelleri varsa da, bazı metabolik olayların ilerleyebilmesi için bunların oluşması kaçınılmazdır (20,34,54).

Oksidanlar, organizmada başlıca glikozun oksidasyonu sırasında olmak üzere tüm anabolik ve katabolik reaksiyonlar sırası ve sonrasında sürekli bir oluşum ve "Endojen antioksidanlar" adı verilen moleküller tarafından sürekli etkisizleştirilme süreci içindedirler. Çünkü canlı organizma, gerek iç ve gerekse dış etkenlerin uyarılması ile her an zorlanmakta ve travmatize edilmektedir. İşte bu zorlanmalar sırasında veya kirli havanın içindeki moleküllerin etkisi ile normal yaşam süreci içinde zaman zaman oksidan moleküller belirli düzeyin üstüne çıkmaktadır. Belirli üst düzeye kadar olabilen oksidan molekül artışı, yine vücutta daima belirli bir düzeyde bulunan doğal endojen antioksidan moleküller tarafından etkisiz hale getirilmekte ve yaşam bu antioksidatif sistemlerle serbest radikal üretimi arasındaki denge sayesinde normal bir şekilde sürdürülmektedir (**Homeostazis**) (56,65,96) (Şekil 2.).



Şekil 2. Oksidan ve antioksidan denge (96).

Esasında oksidan moleküller, belirli düzeyde kaldıkları sürece, organizmanın yabancı maddeler ve enfeksiyöz ajanlara karşı savaşmasında önemli savunma molekülleridir. Fagositozda nötrofil, monosit ve granulositler tarafından salınarak bakterisidal etki gösterirler. Ancak belirli düzeyin üstünde oluşur veya antioksidanlar yetersiz olur ise, yani homeostazis bozulursa, söz konusu oksidan moleküller, organizmanın yapı elemanları olan protein, lipit, karbonhidrat, nükleik asitler ve yararlı enzimleri bozarak zararlı etkilere yol açarlar. Dokularda normal olarak bulunan antioksidan enzimlerin miktarları, O_2^- , H_2O_2 ve NO' in her zamanki olağan üretim oranları ile başa çıkmak için yeterlidir. Eğer bu reaktif türlerin miktarları, normalden daha yüksek ise, hücrenin cevabı, koruyucu enzim aktivitelerini artırmak, onarıcı sistemleri aktive etmek olacaktır, ancak hasar durdurulamıyor ise, aktif hücre ölümü gerçekleşecektir (18,20,65,110).

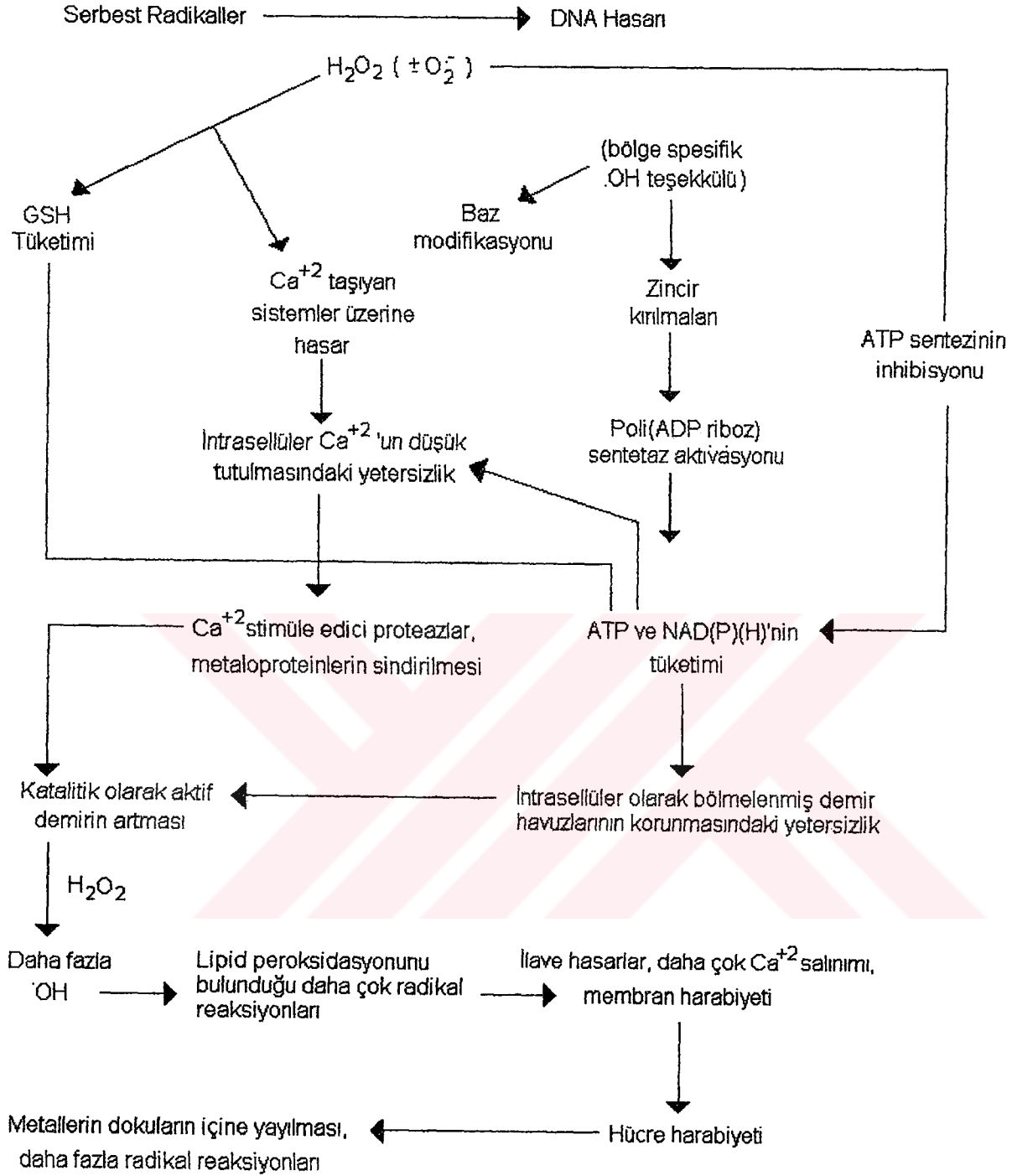
Oksidanların ilk etkileyip yapısını bozduğu moleküller, ne kadar yaşamsal öneme sahipse, doku lezyonu da o kadar erken başlayacak ve geniş olacaktır. Ayrıca antioksidan metabolizması zayıf olan organ, ilk etkilenecek organ olacaktır. Dolayısıyla, herhangi bir nedenle doku lezyonu oluşunca uygulanacak tedavi stratejisi, oksidan ve antioksidan homeostaziste bozulan ve aksayan yönü erkenden düzeltmeye yönelik olmalıdır. Bu arada hastayı, oksidan artışı yapabilecek etmenlerden uzak tutmak, buna karşılık antioksidan etki yapabilecek girişimlere ve maddeleri almaya yöneltmekte önemli bir faktördür (54).

2.6. Serbest Radikaller Tarafından Hasara Uğrayan Hücrelerin Birbirini Etkileyen Mekanizmaları

Serbest radikaller sık sık hücreleri hasara uğratabilirler. Organizmaların çoğu, yüksek oksijen konsantrasyonlarına maruz kaldıkları zaman SOD ve H_2O_2 'i uzaklaştıran enzim aktivitelerinde artış meydana gelir. Bazı dokularda normalde bulunan bu enzimlerin miktarları, sadece olağan miktarlardaki O_2^- ve H_2O_2 üretimiyle başa çıkabilecekleri kadar yeterlidir (20,65).

Hücre sistemlerine bağlı olarak, artan oksidan stresin primer hedefi değişir. Nitekim, memeli hücrelerine H_2O_2 ilave edildiği zaman, ilk önemli hedef DNA'dır. Artan DNA hasarı, ATP ve NAD^+ tüketimi, GSH/GSSG oranlarında düşme ve "serbest" intrasellüler Ca^{+2} iyonlarında artış meydana getirir (111,121).

Ca^{+2} toksisitesi, Ca^{+2} pompalanmasının artmasıyla sonuçlanan ATP tüketimine bağlı olabilir veya proteazlar, fosfolipazlar ve endonükleazlar gibi Ca^{+2} ile aktive edilen enzimlerle ilgili olabilir. Oksidan stres, normal olarak intrasellüler Ca^{+2} düzeylerini düşük tutan enzimleri hasara uğratabilir. İnasellüler serbest Ca^{+2} 'deki artışlar, mevcut geçiş metal iyonlarının artmasına ve buna bağlı olarak da lipid peroksidasyon oranının artmasına yol açabilir (54,56,65)(Şek.3).



Şekil. 3 Serbest Radikaller tarafından hasara uğrayan hücrelerin birbirini etkileyen mekanizmaları (54).

2.7. Radikallerin Çeşitli Patolojik Durumlarla İlişkisi

Serbest radikallerin ve lipit peroksidasyonu sonucu oluşan çeşitli ürünlerin bazı patolojik durumların ve hastalıkların oluşumunda önemli bir rol oynadığı kabul edilmektedir.

AIDS, nörolojik ve inflamatuvar hastalıklar, diabet ve diabet komplikasyonlarının gelişimi, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, psoriasis, romatoid artrit, Behçet hastalığı, çeşitli deri, kas ve göz hastalıkları, kanser ve yaşlılık gibi birçok hastalıkta serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu gösterilmiştir. Ancak, bu hastalıkların çoğunda serbest radikallerin hastalığın sebebi mi yoksa bir sonucu olarak mı meydana geldikleri tam olarak bilinmemektedir (2,4,23,37,47,105).

Serbest radikallerle ilgili ilişkili olduğu ileri sürülen patolojik durumlar tablo 1'te gösterilmiştir (54).

Tablo 1. Oksijen Kaynaklı Serbest Radikaller İle İlişkili Olduğu İleri Sürülen Patolojik Durumlar (54)

Yangısal ve İmmun Hasarlar	Akciğerler
Glomerulonefritler (İdiyopatik, membranöz)	Hiperbarik oksijen
Vaskülitler (Hepatit B virüsü, ilaçlar)	Erişkin respiratuvar distres sendromu
Otoimmün Hastalıklar	Amfizem
Romatoit artrit	Kimyasal ajanlar (sigara, hava kirliliği, ozon, silikon)
İskemi-reperfüzyon Sendromları	Bleomisin toksisitesi
Miyokard enfarktüsü	Kalp ve kardiyovasküler sistem
Organ transplantasyonu	Alkol kardiyomiyopatisi
Stres ülserleri	Keshan hastalığı (selenyum eksikliği)
Serebral İskemi	Ateroskleroz
Akut renal tübüler nekroz	Adriyamin kardiyotoksitesisi
Ekzojen toksinler	
İyonlaştırıcı radyasyon	

Kemoterapötik ajanlar
 Karbon tetraklorür
 Kimyasal karsinojenler
 Paraquat
 Alkolizm
 Alloksan

Demir yüklenmeleri

İdiyopatik hemokromatozis
 Talasemi ve diğer kronik anemilerin
 tedavisi için transfüzyonlar
 Kwashiorkor ve diğer beslenme
 yetersizlikleri

Eritrositler

Fenilhidrazin
 Primaquin vb. ilaçlar
 Kurşun zehirlenmesi
 Sıtma
 Oral hücre anemisi
 Fankoni anemisi
 Favizm

Böbrek

Otoimmün nefrotik sendromlar
 Ağır metal nefrotoksitesisi

Gastrointestinal sistem

Endotoksinlere bağlı karaciğer hasarı
 Halojenli hidrokarbonlara bağlı
 karaciğer hasarı
 Pankreatitler
 Antiinflamatuvarlara bağlı hasarlar
 Oral demir zehirlenmesi
 Nekrotizan enterokolit
 Mide mukozası ülserleri

Göz

Katarakt oluşumu
 Oküler hemoraji
 Dejeneratif retina hasarı
 Retinopatiler

Deri

Güneş ışınları, termal hasarlar
 Porfirinler, Kontakt dermatitler

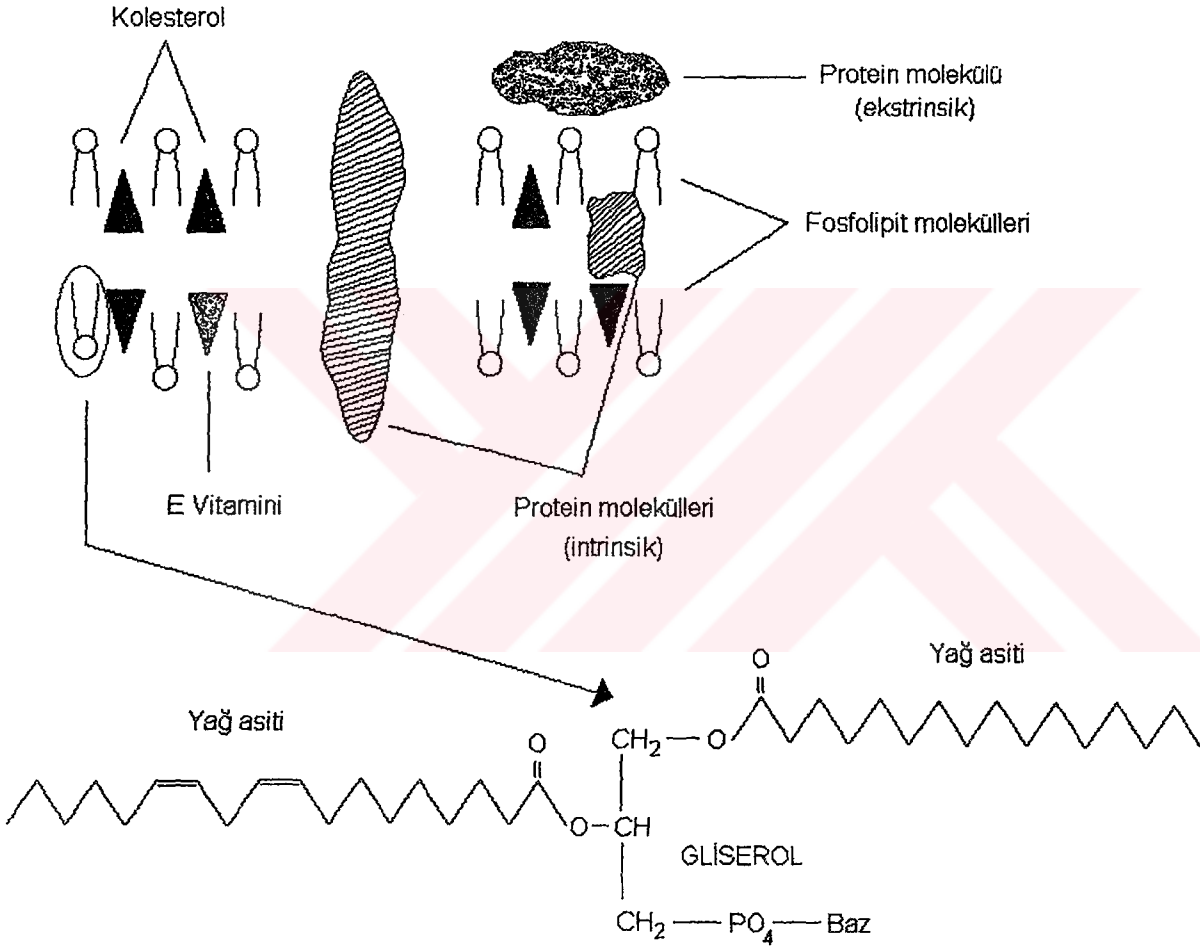
2.8. Lipid Peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonu membranda bulunan fosfolipid, glikolipid, gliserit ve sterol yapısında yer alan poliansature yağ asitlerinin, serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur. Serbest radikaller reaktif yapıları nedeniyle, başta lipidler, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere yükseltgenebilen tüm hücre elemanları ile etkileşirler (42,50,74).

Hücreleri saran membranlar ve hücre organelleri, geniş miktarlarda poliansature yağ asiti ihtiva ederler. Serbest radikaller hücre membranındaki bu poliansature yağ asitlerine saldırır ve lipid peroksitleri teşekkülüne yol açan lipid

radikallerinin oluşumuna sebep olurlar. Lipid peroksidasyonundaki artış serbest radikal aktivasyonunun indirekt bir işaretidir (18,54,81,93).

Biyolojik membranların en önemli unsurları lipid ve proteinlerdir. Lipid peroksidasyonu, lipidler kadar membran proteinlerini de hasara uğratabilir. Hayvan hücre membranlarında, dominant lipidler, gliserol içeren fosfolipidlerdir, ancak bazı membranlar özellikle plazma membranları önemli oranlarda sfingolipidleri ve hidrofobik molekül olan kolesterolü de içerirler (54,81) (Şekil 4).



Şekil 4. Bir hücre membranının ana yapısını oluşturan lipid tabakası (54).

Çeşitli patolojik durumlar sırasında bir çok hücre tipinde, O₂'nin redüksiyonundan oluşan türlerin olağan dışı ve şiddetli üretimiyle karakterize oksidatif stresin meydana geldiği günümüzde iyi bilinmektedir. Bu oksidatif stresin

genel bir sonucu, hücre organizasyonunun az yada çok degradesyonuyla sonuçlanan hücre lipidlerinin peroksidasyonudur (42,74,93).

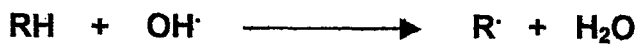
Oksijen molekülünün lipidlere karşı yüksek afinitesi vardır. Bu molekül hemoglobinden ayrıldıktan sonra plazmadaki lipoproteinler ile eritrosit zarındaki lipidlerde çözünmekte ve daha sonra dokularda kullanılmaktadır. Bu sırada dokularda bulunan doymamış yağ asitlerindeki çift bağlara oksijen bağlanması sonucu lipid peroksidasyonu kimyasal reaksiyonu meydana gelmektedir. Lipid peroksidasyonunun zar yapı ve bütünlüğünün bozulması, oluşan serbest radikallerin çeşitli hücre bileşenleri üzerine zararlı etkileri ve son ürünlerin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına neden oldukları düşünülmektedir (32,54,65).

Lipit peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve indirekt olarak reaktif aldehitler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Böylece, bir çok hastalığa ve doku hasarına sebep olurlar. Peroksidasyonla oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna sebep olur. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler, MDA'nın niçin mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Hem insanlardaki ve hem de doğadaki lipid peroksidasyonunu kontrol etmek ve azaltmak için antioksidanların kullanılmasından yarar umulmuştur (42,50,74).

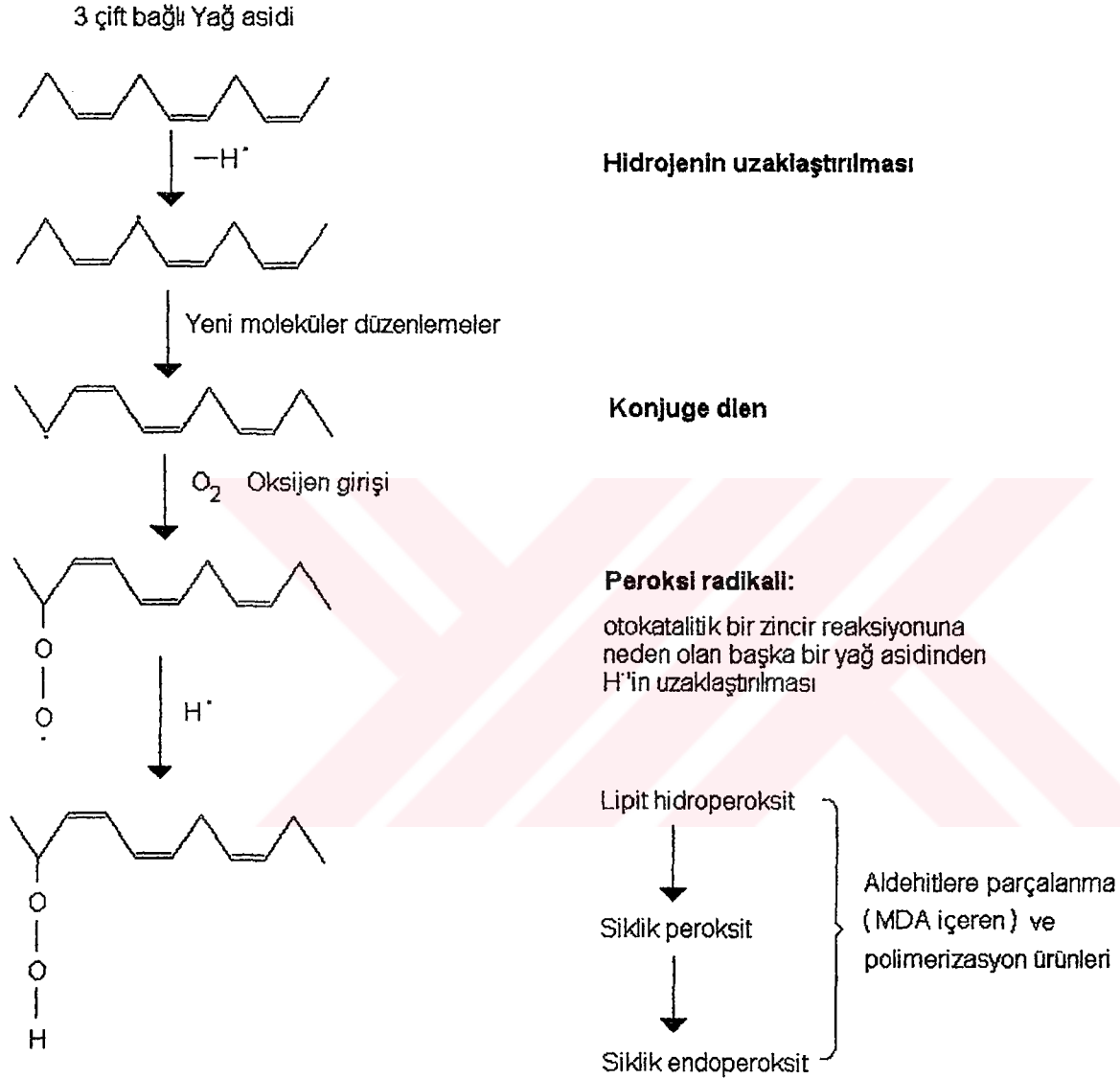
2.8.1. Lipit Peroksidasyonu Aşamaları

2.8.1.1. Başlangıç aşaması; Lipit peroksidasyonu, doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerle etkileşmesi sonucu, doymamış yağ asidindeki metilen grubundan bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Biyolojik sistemlerde bu radikallerin O_2^- ile $\cdot OH$ olduğu kabul edilmektedir. Oluşan O_2^- ve diğer metabolik yollardan ileri gelen H_2O_2 $\cdot OH$ ne dönüştükten sonra lipit peroksidasyonuna katılmaktadırlar (54,56,81).

Radikal, lipit molekülünden bir H atomu çıkartarak karbon merkezli lipit radikalinin ($R\cdot$) oluşmasına yol açmaktadır.



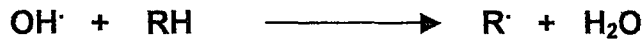
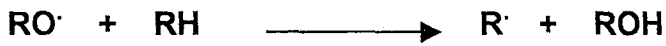
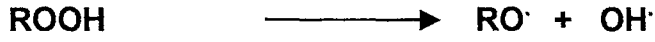
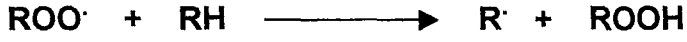
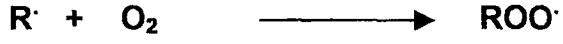
2.8.1.2. Zincir aşaması: Bu aşamada H atomunun koparılmasıyla oluşan serbest yağ asiti radikali moleküler oksijen ile reaksiyona girerek ROO \cdot oluşturmaktadır (54) (Şekil 5.).



Şekil 5. Lipit peroksidasyonunun başlama ve ilerleme reaksiyonlarının gösterilmesi (54).

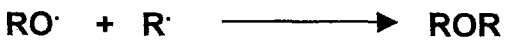
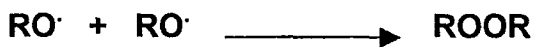
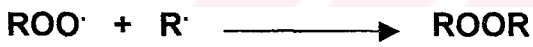
Oluşan ROO \cdot yüksek reaksiyon yeteneğine sahip olup, başka bir yağ asiti molekülü ile yeni bir ROOH ve yeni bir R \cdot oluşturacak şekilde reaksiyona girer. Oluşan bu R \cdot yeniden oksijen ile birleşir ve RH dan yeniden bir H \cdot ayrılmasını sağlar. Bir çok olayda bu şekilde oluşan ROOH , RO \cdot ve \cdot OH verecek şekilde parçalanır ve

bu oluşan radikaller hemen substrat ile reaksiyona girerek yeni zincir reaksiyonlarını başlatacak olan R[•] radikallerini oluştururlar. Böylece oluşan bir radikal sürekli olarak yeni radikallerin oluşmasına neden olur (42,81,93).

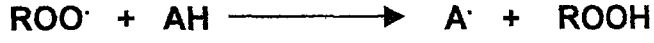
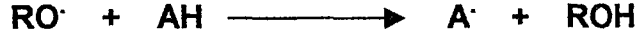
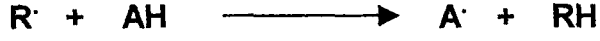


2.8.1.3. Zincir Uzamasının Durması ve İkincil Ürünlerin Oluşması

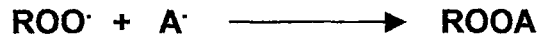
Hidroperoksitler ve bunlara bağlı olarak oluşan serbest radikaller (ROO[•], RO[•] ve R[•]), ya birbirleri ile reaksiyona girerler ve inaktif kondenzasyon ürünlerini verirler ve zincir uzaması durur (42,81,93),



ya da zincir uzamasının durması değişik yapı ve yetenekteki bazı bileşikler tarafından gerçekleştirilir. Bu bileşiklere oksidasyona karşı oldukları için antioksidan adı verilir. Antioksidanlar, bu maddelerdeki istenmeyen değişiklikleri önler yada ortadan kaldırır (42,81,93).



Burada oluşan antioksidan radikalleri yeni bir reaksiyonu başlatmaz. Aksine ikinci bir radikal ile birleşir (42,81,93).



2.9. Antioksidan Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta bir çok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler (32,56).

Antioksidanlar, okside olabilir bir substratla mukayese edildiğinde, düşük konsantrasyonlarda bulunan ve substratın oksidasyonunu önemli derecede geciktiren ya da inhibe eden "herhangi bir substrat" olarak tanımlanmaktadırlar. Endojen (doğal) ve eksojen (ilaçlar) antioksidanlar olmak üzere başlıca 2 ana gruba ayrılırlar. Hücrelerin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler (32,54,96)(Tablo 2).

Tablo 2. Endojen ve Eksojen Antioksidanlar (32,54,96)

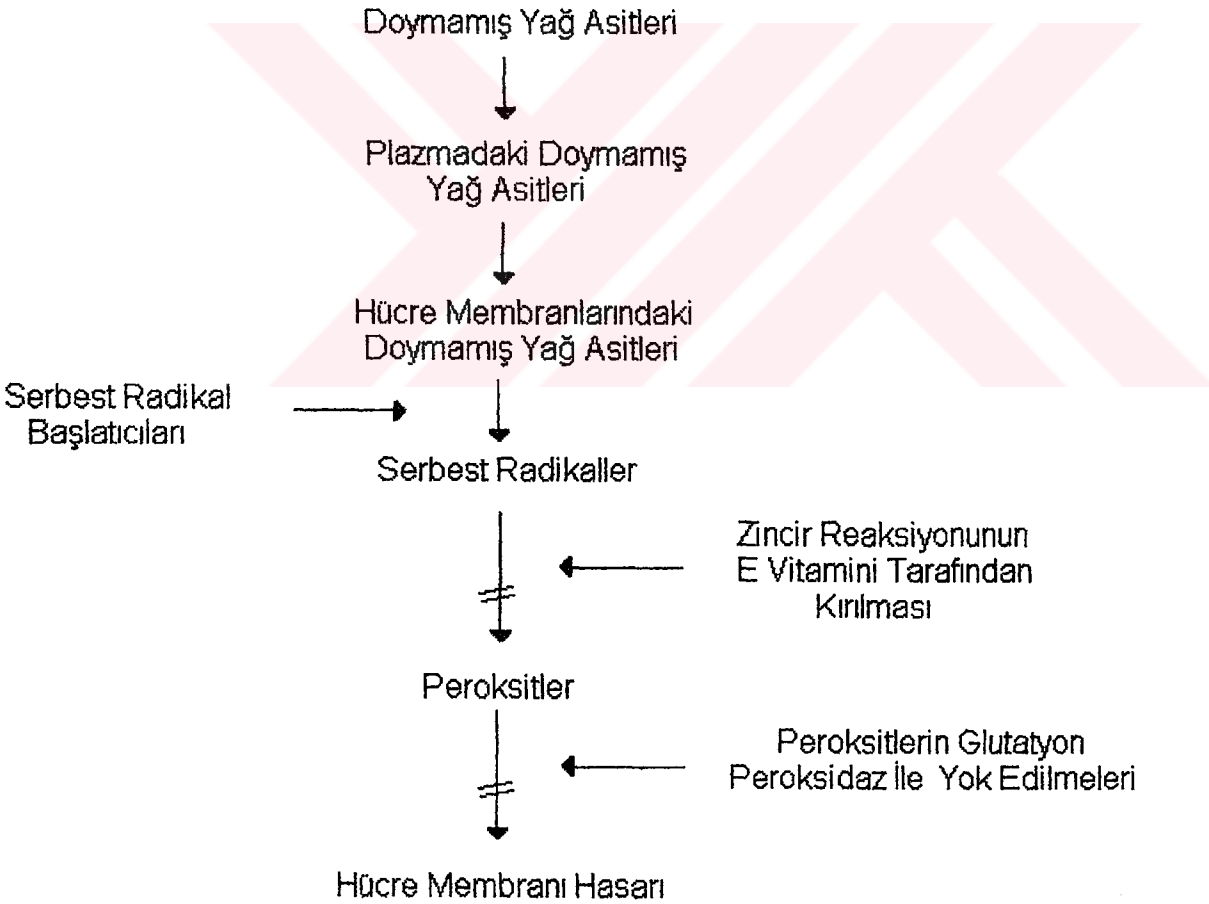
A-Endojen (Doğal) Antioksidanlar		
I-Enzimler	II- Makromoleküller	III- Mikromoleküller
-Süperoksid dismütaz (SOD)	-Seruloplazmin	- E Vitamini ve analogları
-Katalaz	-Transferrin	-C vitamini
-Glutasyon peroksidaz	-Ferritin	-Tiyol içerenler: GSH,
-Glutasyon redüktaz	-Hemoglobin	N-asetil sistein, Metiyonin
-Hidroperoksidaz	-Miyoglobin	Kaptopril
-Sitokrom-C oksidaz		-A Vitamini-Beta karoten
		-Glikoz
		-Ürik asit
		-Ubiquinon
		-Bilirubin
B-Eksojen Antioksidanlar (İlaçlar)		Gıda Antioksidanları
-Soya fasulyesi inhibitörleri		-Butylated hydroxytoluene (BHT)
-NADPH oksidaz inhibitörleri		-Butylated hydroxyanisole (BHA)
-Endojen antioksidan aktiviteyi artıran maddeler		-Sodium benzoate
-Non-enzimatik serbest radikal toplayıcıları		-Ethoxyquin
-Demir redoks döngüsü inhibitörleri		-Propylgalate
-Nötrofil adezyon inhibitörleri		
-Rekombinant h-SOD		
-21-Aminosteroidler, Indopamid		
-Sitokinler, Flavonoidler		
-Ksantin oksidaz inhibitörleri		
-Barbitüratlar, Trimetazidin		

2.9.1. Enzimatik Antioksidanlar

2.9.1.1. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

GSH-Px (EC 1.11.1.9), hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu, tetramerik, 4 selenyum atomu ihtiva eden sitozolik bir enzimdir. Enzimin'in molekül ağırlığı yaklaşık olarak 85.000 Dalton 'dur. GSH-Px, 1957 yılında Amerika'da G.C. Mills tarafından hayvan dokularında keşfedilmiştir. Bazı alg ve fungi'lerde bildirilmesine rağmen yüksek bitki yada bakterilerde genelde mevcut değildir (40,54,56).

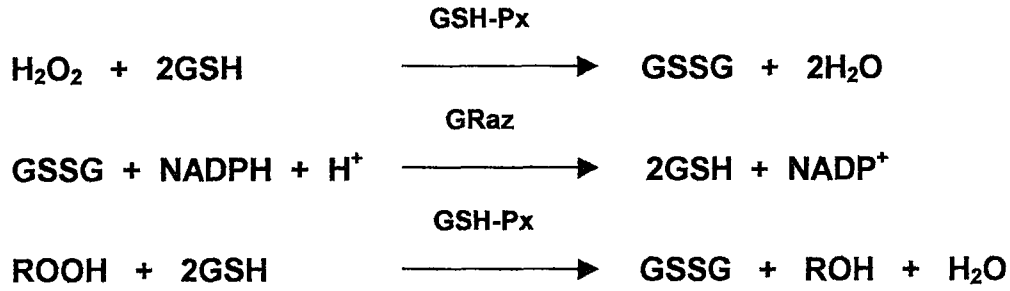
GSH-Px, sitozol ve mitokondriyel matriks te yer alır ve E vitamini ile birlikte serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki göstererek membran ve diğer hücre komponentlerinin hasarına yol açan zincir reaksiyonlarıyla teşekkül eden peroksitlere karşı ikinci bir savunma hattını oluşturur. Enzim, teşekkül etmiş olan peroksidleri ortadan kaldırırken, E vitamini peroksidlerin sentezini engeller (26,39,40,107).



Şekil 6. GSH-Px enzimi ve E vitaminin antioksidan rolü (107).

GSH-Px, hücrelerin oksidatif hasardan, özellikle biyolojik membranların lipid peroksidasyonundan korunmasında önemli bir rol oynar. Substrat olarak GSH için spesifiktir ve H₂O₂'e ilaveten, kumen hidroperoksit, t-bütil hidroperoksit (t-BOOH), progesteron 17 α -hidroperoksit ve diğer çeşitli steroid hidroperoksitler gibi peroksit serisi üzerine in vivo etki gösterir (40,91).

GSH-Px aşağıdaki reaksiyonları katalizler:



GSH-Px, eritrositlerde de oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. Enzim aktivitesindeki azalma, peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar (91).

GSH-Px enziminin selenyuma bağımlı ve bağımsız olmak üzere iki farklı tipi bulunmaktadır. İkinci enzim, glutatyon transferaz enziminin bir izoenzimi olup yalnızca ROOH' lerinin metabolizmasını sağlamaktadır. Selenyuma bağımlı olan GSH-Px ise hem H₂O₂ hem de ROOH' ni metabolize etmektedir. Her iki GSH-Px' den selenyum içeren GSH-Px, tüm GSH-Px aktivitesinin önemli bir bölümünden sorumludur (40,54,91).

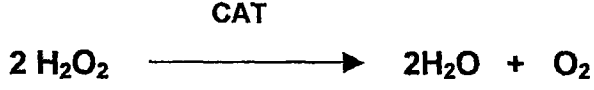
GSH-Px, karaciğerde yüksek aktivitede, kalp, akciğer ve beyinde orta aktivitede ve kaslarda düşük aktivitede bulunmuştur (54,56).

2.9.1.2. Katalaz (CAT)

CAT (EC 1.11.1.6) aktif bölgesine bağlanmış her biri hem grubu içeren 4 protein subünitesinden ibarettir. Her bir subünite , genelde enzimin dayanıklılığına yardımcı olan, kendisine bağlı bir molekül NADPH içerir. CAT, depolama, liyofilizasyon, asit yada alkaliye maruz bırakılmasıyla kolayca subünitelerine ayrılır, bu da CAT aktivitesinin kaybına yol açar (54,56,65).

H₂O₂'in parçalanması, H₂O ve O₂ oluşturmak üzere ya katalitik yada peroksidatik olarak meydana gelebilir. CAT' ın indirgeyici aktivitesi H₂O₂ , metil, etil

hidroperoksitleri, nitritler, kinonlar ve format gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü ROOH' lerine ise etki etmez (24).



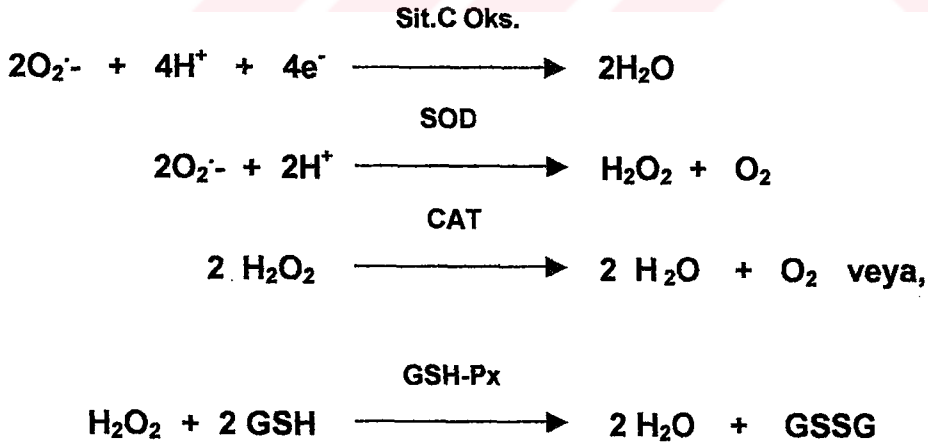
CAT, hemen hemen tüm hayvan hücreleri ile organlarında, bitki dokularında ve aerobik mikroorganizmalarda katalitik aktiviteye sahip olup çift zarla çevrili, peroksizom olarak bilinen subsellüler organellerde yaygın olarak lokalize olmuştur (24).

Hayvanlarda CAT belli başlı vücut organlarında vardır, özellikle karaciğer ve eritrositlerde yoğunlaşmıştır. İnsanların eritrosit, karaciğer ve böbreklerinde daha yüksek aktivitelere olmak üzere, tüm hücre ve organlarında hemen hemen mevcuttur (24,56).

3.0. Serbest Radikallerin Zararlı Etkilerine Karşı Hücresel Savunma

3.1. Antioksidan Basamaklar

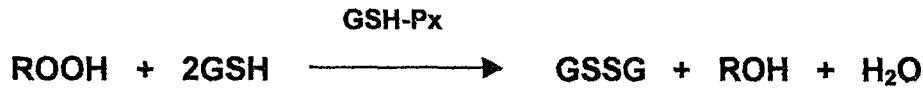
Organizmada sürekli bir oksidan molekülü yapımı söz konusu olup bu moleküller, doğal endojen enzimlerle daha ilk basamakta etkisiz hale getirilmektedir. Dolayısıyla bu basamağa "Endojen Enzimler Basamağı" adı verilmektedir (24,65,96).



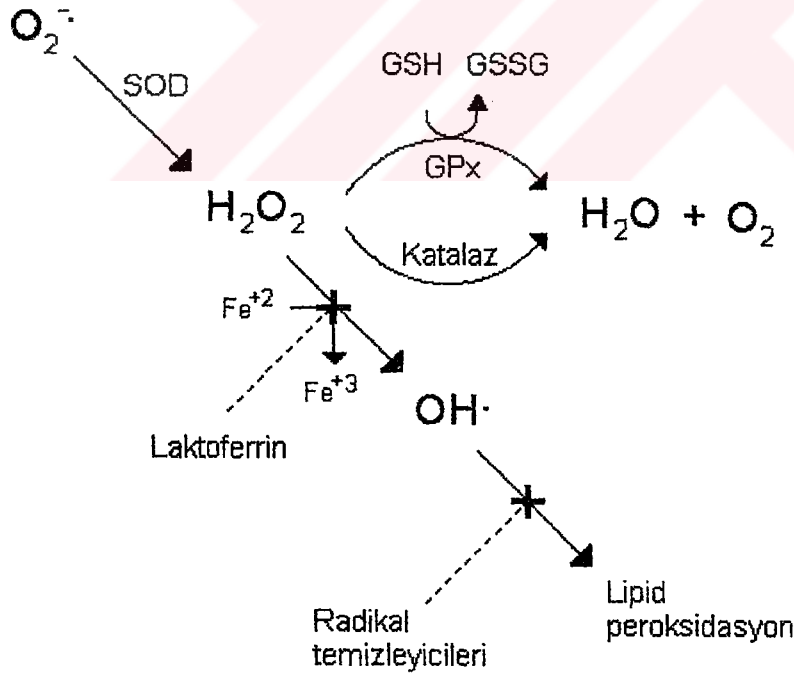
Reaksiyonlarda görüldüğü gibi $2 \text{O}_2^{\cdot-}$, 4H^+ ve 4e^- ile birleşip 2 molekül suya veya 2H^+ ile reaksiyona girip daha zayıf oksidan olan H_2O_2 'e dönüştürülür. Bu reaksiyonda SOD ve Sitokrom C oksidaz (Sit.C oks.) enzimleri katalizördür. Normal

koşullarda mitokondrilerde bulunan sitokrom sistem, hücre içi sitoplazmik yapıları sürekli olarak oksidanların zararlı etkilerinden korumakta, bunun yetersiz kaldığı durumlarda SOD ve diğer doğal enzimler devreye girerek yardım etmektedirler. H_2O_2 ise, CAT' in katalizörlüğü ile su ve oksijene dönüştürülür veya GSH-Px aracılığıyla GSH molekülü ile etkileşime girer ve su molekülüne çevrilir (20,54,65).

SOD, CAT ve GSH-Px enzimleri, radikallerin birikmesini ve lipid peroksidasyonunun başlamasını önleyen enzimlerdir. SOD, O_2^- 'nin, CAT ve GSH-Px ise H_2O_2 ' in metabolize olmasını sağlarlar. GSH-Px enzimi, yalnız lipid peroksidasyonunun başlamasını önleyici etki yapmaz, aynı zamanda lipid peroksidasyonu sonucu oluşan, ROOH' lerinin metabolizmasını da gerçekleştirir.



Bu enzimlerin aktif oluşu en zararlı oksijen kaynaklı radikal olan 'OH' nin oluşumunu engellemektedir (20,24,65) (Şekil7).



Şekil. 7 Reaktif oksijen türleriyle oluşturulan hasara karşı savunma mekanizmaları (24).

Enzimsel savunma sisteminin yeterli olmadığı hallerde, düşük molekül ağırlıklı serbest radikal tutucuları lipit radikalleri ile etkileşerek reaksiyonların ilerlemesini önlemeye çalışırlar. En önemli serbest radikal tutucuları tokoferoller, karotenler, askorbik asit ve GSH'dur (24,54,65).

3.2. Plazma ve eritrositlerdeki antioksidan savunma sistemleri

Plazma lipit peroksit düzeylerinin çeşitli dokulardaki lipit peroksidasyonundan etkilendiği ve dokulardaki harabiyeti yansıttığı ileri sürülmektedir. Bunun yanısıra, eritrosit zarının lipit peroksidasyonuna çok duyarlı olduğu ve herhangi bir odaktaki aşırı lipit peroksidasyonunun, eritrositleri kolaylıkla etkilediği kabul edilmektedir. Ayrıca, eritrositlerdeki antioksidan savunma sistemi düzeylerindeki değişikliklerin, diğer dokulardaki değişikliklerle yakından ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu nedenle plazma ve eritrositlerdeki antioksidan savunma sisteminin belirlenmesi, çeşitli patolojik durumlarla serbest radikal hasarı ve lipit peroksidasyonunun ilişkisini tanımlamak açısından önem kazanmaktadır (68,114).

Bir eritrosit, yüksek konsantrasyonlarda poliansature yağ asitleri, moleküler oksijen ve bağlı durumda demir iyonları içeren eşsiz bir biyolojik yapıdır. Eritrositlerin bu sebeple, peroksidasyona çok hassas olmaları beklenebilir. Ancak normal eritrositler, etkili koruyucu mekanizmaları sayesinde oksidatif hasara yüksek derecede dirençlidirler (28,114).

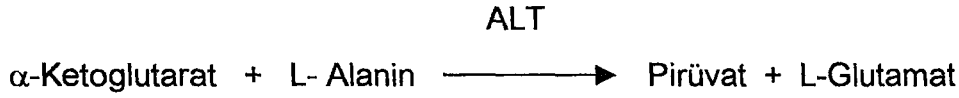
İnsan eritrositlerinde, antioksidan enzimler ve serbest radikallere karşı eritrositleri korumak için görev yapan bazı stoplazmik radikal temizleyicileri vardır. Nitekim eritrositler, serbest radikal sitotoksitesini önlemek suretiyle, oksidan reaksiyonların düzenlenmesinde önemli olmaktadır (28,47).

4.0. TRANSAMİNAZLAR

Transaminazlar; bir amino asitin α -amino grubunun bir α -keto asite transferi ile yeni bir α -keto asiti ve yeni bir α -amino asiti meydana getiren reaksiyonu katalize eden enzimlerdir. Reaksiyona iştirak eden maddelerden her ikisi önce bir ara madde meydana getirirler. Bu ara madde de hidrolitik olarak yeni bir amino asite ve yeni bir keto asite parçalanır (1,11,127).

4.1. Alanin Amino Transferaz (ALT)

ALT enzimi alaninden bir amino grubunu, α -ketoglutarata transfer etmekte ve pirüvat oluşurken L-glutamat ortaya çıkmaktadır (127).



ALT karaciğerde ve daha az derecede olmak üzere iskelet kası, böbrek ve kalpte yüksek konsantrasyonlarda bulunur (127).

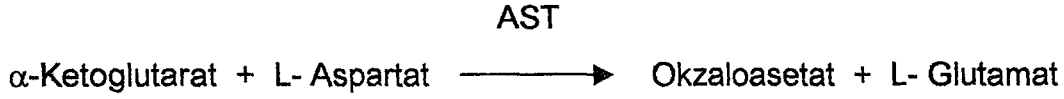
Serum ALT düzeyindeki artışın çeşitli nedenleri vardır. Belirgin derecede yüksek olduğu durumlar; viral hepatit, toksik karaciğer nekrozu, şok ve hipoksi ile beraber olan dolaşım yetmezliğidir. ALT'nin yükselmesi için hepatik nekrozun olması zorunlu değildir. Hücre zarı geçirgenliğindeki değişikliklerden dolayı bu stoplazmik enzimler kan içine sızarlar (11,127).

Serum ALT seviyesinin orta derecede yükseldiği durumlar ; siroz, kolestatik sarılık, kalp yetmezliği sonucu oluşan karaciğer konjesyonu, enfeksiyöz mononükleoz, geniş travma ve kas hastalığıdır (11,127).

Spesifik hastalıklarda da serum ALT seviyesinde yükselmeler görülür. Leptospirozis, enfeksiyöz canin hepatitis, felin enfeksiyöz peritonitis, yağlı karaciğer bozuklukları (diabetes, hipotiroidizm, hipoksi), karaciğer neoplazisi ve ilaçlar da (kortikosteroidler, antibiyotikler, salisilatlar) serum ALT seviyesinde artışa neden olur (11).

4.2. Aspartat Amino Transferaz (AST)

Aspartat amino transferaz, amino gruplarını transfer ederek amino asitlerle keto asitlerin birbirine dönüşümünü katalizleyen bir enzimdir (11).



AST en fazla kas hücrelerinde lokalize olmuştur. Daha az miktarlarda kalp kası ve karaciğerde bulunur. AST organ-spesifik enzim değildir. Küçük miktarlarda bulunduğu yerler ise böbrekler, pankreas, beyin ve eritrositlerdir (1,11).

AST'nin serumdaki seviyesi çeşitli nedenlerden dolayı yükselir. Bariz şekilde arttığı durumlar; myokard infarktüsü, viral hepatit, toksik karaciğer nekrozu, şok ve hipoksi ile beraber olan dolaşım yetmezliğidir. Orta derecede yükseldiği durumlar ; siroz, kolestatik sarılık, karaciğerin malign infiltrasyonu, iskelet kası hastalıkları, travma ve cerrahi müdahaleden sonra, şiddetli hemolitik anemi ve enfeksiyöz mononükleoz'dur (127).

Çeşitli ilaçlar da AST seviyesinin yükselmesine neden olur. Bu ilaçlar salisilatlar, kortikosteroidler, östrojenler, androjenler, antibiyotikler, fenotiyazin ve karaciğer hasarına neden olan anestezi ilaçlarıdır (11).

4.3. Alkalen Fosfataz (ALP)

Alkalen fosfatazlar, fosfatları alkali bir pH'da hidroliz eden bir grup enzimlerdir. Vücuttaki tüm hücrelerin fosfat içeren enerji kaynağı glukozdan faydalanabilmeleri için bulunması zorunlu bir enzimdir. Hemen hemen tüm dokular ALP içerirler. Yüksek konsantrasyonlarda ALP içeren dokular şunlardır; osteoblastlar ve kondroblastlar, karaciğer-safra sistemi, mide-barsak mukozası, böbrek tubulusları, plasenta ve dalaktır. ALP mikrozomal bir enzimdir, başlıca hücre içi aktiviteye sahiptir (1,11,127).

Fizyolojik olarak genç hayvanlarda ve gebe hayvanlarda plazma ALP düzeyleri yüksektir. Patolojik olarak arttığı durumlar ise; kemik hastalıkları, safra kanalı tıkanıklıkları, karaciğer hastalıkları, barbitürat gibi ilaçlarla indüksiyonlardır. Kemik gelişmesinde durma, hipofosfatazi gibi durumlarda ise plazma ALP düzeyinde düşme meydana gelir (11,127).

5. MATERYAL VE METOT

5.1. Materyal

5.1.1. Hayvan Materyali

Araştırma materyalleri olarak kan ve karaciğer dokusu , Elazığ Elet Tesisleri'ne kesim için getirilen ve klinik ve postmortem muayene sonrası sağlıklı olduğu anlaşılan sığır, koyun ve keçilerin erkek ve dişilerinden temin edilmiştir.

5.1.1.1. Kan Örneklerinin Alınması

Kesim sırasında, kan örnekleri, EDTA'lı, Heparinli ve antikoagülansız olmak üzere üç farklı deney tüpünde toplanarak en kısa zamanda laboratuvara getirilip analizler için hazırlanmıştır. Antikoagülanlı kanlarda ilk olarak hematokrit (Htc) ve Hb düzeyleri ölçülmüştür.

EDTA'lı ve Heparinli kanlar santrifüj edildikten sonra plazmaları ayrılarak en geç üç gün içerisinde plazma MDA düzeylerine bakılmıştır.

5.1.1.1.1. Kanın eritrositlerde CAT tayini için hazırlanması

Plazması ayrılan heparinli kan örnekleri, serum fizyolojik ile üç kez yıkandıktan sonra, eritrositler 1:20 oranında β -Merkaptoetanol Na₂EDTA (0.05 ml β -Merkaptoetanol, 10 ml Na₂EDTA) ile dilüe edilmiştir. Bunu takiben hemolizatlar 1:100 oranında saf suyla seyreltilerek hemolizata stabilize etmek için içerisine 1 ml hemolizata karşılık gelecek şekilde 20 μ l etanol katılmıştır. Hemolizat böylece 1:2000 oranında sulandırılmıştır. Elde edilen hemolizatta CAT aktivitesi düzeyleri tayin edilmiştir. Hb ölçümleri için 1:20 oranında sulandırılan hemolizat kullanılmıştır .

5.1.1.1.2. Kanın eritrositlerde GSH-Px tayini için hazırlanması

Plazması ayrılan EDTA'lı kan örnekleri, serum fizyolojik ile üç kez yıkanarak eritrositler 1:20 oranında distile suyla sulandırılmıştır. Hazırlanan hemolizatta en geç üç gün içerisinde GSH-Px enzim aktivitesi ve Hb tayinleri yapılmıştır.

Antikoagülansız kanlar santrifüj edilerek serumları ayrılmış, en geç bir hafta içerisinde serum AST, ALT ve ALP enzim aktivite tayinleri yapılmıştır.

Hazırlanan plazma , serum ve hemolizatlar kullanılmak üzere +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

5.1.1.2. Doku Örneklerinin Alınması

Kesimden hemen sonra alınan karaciğer örnekleri % 0.9'luk NaCl içerisine konarak en kısa sürede laboratuvara getirilmiş ve CAT, GSH-Px, AST,ALT,ALP enzim aktiviteleri ile MDA tayinleri için hazır hale sokulmuştur.

5.1.1.2.1. Doku Örneklerinin Homojenize Edilmesi

5.1.1.2.1.1. CAT aktivite tayini için doku örneklerinin hazırlanması

Laboratuvara getirilen karaciğer örnekleri 1'er gr tartılarak, iki süzgeç kağıdı arasında suyu alındıktan sonra % 1.15 KCl içinde 1:10 oranında (ağırlık/hacim) sulandırılmıştır.

Daha sonra 1:10 oranında sulandırılmış materyaller, kırılmış buz içerisinde Potter-Elvehjem cam-cam homojenizatörle homojenize edilerek elde edilen homojenatlar 50 ml'lik polipropilen tüplerde, soğutmalı yüksek devirli santrifüjde (Sorvall RC-5B) 14 000 rpm'de +4 °C'de 30 dakika santrifügasyon işlemine tabi tutulmuştur. Bu işlemden sonra süpernatant ve pellet kısımları birbirinden ayrılmış, süpernatantlar alınarak 1:50 oranında saf su ile dilüe edilmiştir. Daha sonra hemolizati stabilize etmek için 1 ml süpernatant başına 20 µl etanol ilave edilerek hazırlanan karışımda CAT ve protein tayinleri yapılmıştır.

5.1.1.2.1.2. GSH-Px aktivite tayini için doku örneklerinin hazırlanması

Karaciğer örnekleri 1'er gr tartılarak, iki süzgeç kağıdı arasında suyu alındıktan sonra Tris tamponu (50mM Tris, 0.1 mM EDTA , pH7.6) içinde 1:10 oranında (ağırlık/hacim) sulandırılmıştır.

Sulandırılan bu materyal, kırılmış buz içerisinde Potter-Elvehjem cam-cam homojenizatörle homojenize edilerek, elde edilen homojenatlar 50 ml'lik polipropilen tüplerde, soğutmalı santrifüjde (Sorvall RC-5B) 20.000 rpm de 58 dakika santrifügasyon işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra süpernatant ve pelletler ayılmış, süpernatantlar alınarak 1:20 oranında saf su ile sulandırılmıştır. Sulandırılan kısımda GSH-Px enzimi ve protein tayinleri yapılmıştır.

5.1.1.2.1.3. Lipit Peroksidasyonu için doku örneklerinin hazırlanması

Karaciğer örnekleri 1'er gr tartılarak iki süzgeç kağıdı arasında suyu alındıktan sonra % 1.15'lik KCl içinde 1:10 oranında (ağırlık/hacim) sulandırılmıştır.

Sulandırılan bu materyaller, kırılmış buz içerisinde Potter-Elvehjem cam-cam homojenizatörle homojenize edilerek homojenatta doku MDA ölçümü yapılmıştır.

5.1.1.2.1.4. AST, ALT, ALP aktivite tayini için doku örneklerinin hazırlanması

Alınan karaciğer örnekleri 1'er gr tartılarak iki süzgeç kağıdı arasında suyu alındıktan sonra distile su ile 1:10 oranında (ağırlık/hacim) sulandırılmıştır.

Sulandırılan materyal, kırılmış buz içerisinde Potter-Elvehjem cam-cam homojenizatörle homojenize edilmiş, elde edilen homojenatlar 50 ml'lik polipropilen tüplerde, soğutmalı santrifüjde (Sorvall RC-5B) 15 000 rpm'de 10 dakika santrifüj yapılarak, süpernatantlarda AST, ALT ve ALP enzim ve doku protein düzeylerine bakılmıştır.

5.1.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Araştırmamızda kullanılan bütün kimyasal maddeler analitik saflıkta olup Merck ve Sigma firmalarından temin edilmiştir.

5.2. Metot

5.2.1. CAT Aktivitesinin Tayini

Enzim aktivite tayinlerinde ya kaybolan substrat miktarı ya da meydana gelen ürün miktarı ölçülerek, enzimlerin aktiviteleri saptanmaktadır. CAT enzim aktivitesini ölçmek için de bir çok metot geliştirilmiştir.

Prensip: Eritrosit ve doku CAT aktivitesi ölçümü için Beutler metodu kullanılmıştır (13). CAT aşağıdaki tepkimeye göre H_2O_2 ' in yıkımını katalize eder.



H_2O_2 ' in CAT tarafından yıkım hızı, H_2O_2 'in 230 nm'de ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak spektrofotometrik olarak ölçülür.

Metodun Ayraçları:

- 1- Tris tamponu (pH:8) ;1 M Tris-HCl, 5 mM Na₂EDTA tamponu
- 2- 10 mM H₂O₂ ; % 30'luk H₂O₂'ten hazırlanmıştır
- 3- Stabilize edici çözelti ; 0.05 ml β- Merkoptoetanol, 10 ml % 10'luk Na₂EDTA
- 4-% 95'lik etanol

Metot:

	<u>Kör (μl)</u>	<u>Örnek (μl)</u>
Tris tamponu	50	50
10 mM H ₂ O ₂	—	900
Distile su	930	30

İyice karıştırılır. 37 °C'de 10 dakika inkübe edilir.

Etanol ile 1:2000 Hemolizat (yada homojenat)	20	20
-------------------------------------------------	----	----

Sistemin optik dansitesindeki azalma 230 nm'de 0. ve 10. dk.da kaydedilir.

Eritrositte CAT Aktivitesinin Hesaplanması:

$$\frac{\left(\frac{OD_2 - OD_1}{t} \times \frac{1}{0.071 \times 0.02} \right) \times 1000}{Hb (gr / dl)} = \text{Ü / gHb}$$

Dokuda Katalaz Aktivitesinin Hesaplanması:

$$\frac{\frac{OD_2 - OD_1}{t} \times \frac{1}{0.071 \cdot 0.02}}{\text{Protein (mg/ml)}} = \text{Ü / mg protein}$$

OD₂ : 10 dakika sonundaki absorbans

OD₁ : 0. dakikadaki absorbans

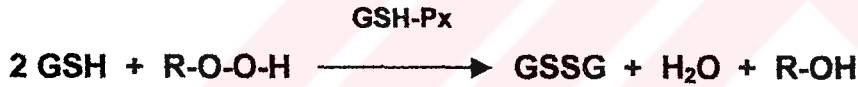
t : 10 dakika

0.071 : Ekstinksiyon katsayısı

0.02 : Hemolizatın hacmi

5.2.2. GSH-Px Aktivitesinin Tayini

Prensip: Eritrosit ve doku GSH-Px aktivitesi ölçümü için Beutler metodu kullanılmıştır (13). GSH-Px, H₂O₂ vasıtasıyla GSH' nun , okside glutatyona (GSSG) oksidasyonunu katalize eder.



Burada R-O-O-H bir peroksittir. t-bütil hidroperoksit (t-BOOH) enzim analizi için en uygun substrattır. GSSG'nin oluşum oranı, glutatyon redüktaz (GRaz) reaksiyonu vasıtasıyla ölçülür.



H₂O₂ olarak t-BOOH'in bulunduğu ortamda GSH-Px'in oluşturduğu GSSG, GRaz ve NADPH yardımıyla GSH'a indirgenir. GSH-Px aktivitesi NADPH'in NADP⁺'ye yükseltgenmesi sırasındaki absorbans farkınının 340 nm'de spektrofotometrik olarak okunmasıyla tayin edilir.

Metodun Ayraçları:

1-Tris tamponu (pH : 8) ; 1 M Tris-HCl, 5 mM EDTA

2- 0.1 M GSH ; GSH solüsyonları taze hazırlanmış olmalıdır.

3- 10 Ü/ml Glutasyon Redüktaz

4- NADPH (2 mM)

5- 7 mM t-BOOH ;(% 70'lik t-BOOH'in yaklaşık 1:1000 sulandırılmasından elde edilmiştir) Reaksiyon oranı, güçlü bir şekilde t-BOOH konsantrasyonuna bağlıdır. 7 mM t-BOOH günlük olarak hazırlanmalıdır.

GSH-Px tayininde EDTA'lı kan kullanılmıştır. Çünkü heparin interferans vermekte ve heparinize kanda GSH-Px aktivitesi anlamlı derecede yüksek gözlenmektedir.

Metot:

	Kör (µl)	Örnek (µl)
Tris tampon (pH:8)	100	100
0.1 M GSH	20	20
10 Ü/ ml Glutasyon redüktaz	100	100
2 mM NADPH	100	100
Hemolizat (yada Homojenat)	10	10
Distile su	670	660

37 °C 'de 10 dakika preinkübe edilir.

7 mM t-BOOH	—	10
-------------	---	----

Sistemin optik dansitesindeki azalma 340 nm'de, 0. ve 2.5 .dk da kaydedilir.

Eritrositte GSH-Px Aktivitesinin Hesaplanması

$$\frac{OD_2 - OD_1}{t} \times \frac{1}{6.22 \times 0.01} = \text{Ü/g Hb}$$

Hb (g / ml)

MEB T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
MİLLÎ HASTANE VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
MİKROBİYOLOJİ LABORATUVARI

Dokuda GSH-Px enzim Aktivitesinin Hesaplanması

$$\frac{\frac{OD_2 - OD_1}{t} \times \frac{1}{6.22 \times 0.01}}{\text{Protein (g / ml)}} = \text{Ü / g Hb}$$

OD₂ : 2.5 dakika sonundaki absorbans

OD₁ : 0. dakikadaki absorbans

t : 2.5 dakika

1 : Küvetteki toplam hacim

6.22 : 1 µmol NADPH'in verdiği OD değeri

0.01 : Hemolizatın hacmi

5.2.3.1. Plazma MDA Düzeyinin Tayini

Prensip: Plazmada lipit peroksit (MDA) ölçümü Satoh (98) ve Yagi (125)' den modifiye edilen yöntemle göre spektrofotometrik olarak yapılmıştır.

Üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiyo barbütirik asit (TBA) ile ölçülebilen MDA meydana gelir. Yağ asiti peroksidasyonunun son ürünü olan MDA , TBA ile reaksiyona girerek pembe renkli bir kompleks oluşturmakta ve 532 nm'de maksimum absorbans göstermektedir. MDA, yağ asiti oksidasyonunun spesifik yada kantitatif bir indikatörü değildir fakat lipit peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu yöntem lipit peroksit düzeylerinin saptanmasında en sık kullanılan yöntemlerden biridir (35,50,87,93).

Metodun Ayraçları:

1- 0.084 N (N/12) Sülfirik asit (H₂SO₄)

2-% 10 Fosfotungstik asit (PTA)

3-Tiyobarbitürik asit (TBA) ayracı ; 33.5 mg TBA, 5 ml distile suda çözünür ve 5 ml Glasiyel asetik asit eklenerek 10 ml ye tamamlanır. Ayraç günlük hazırlanır.

4- n- Bütanol

5-Standart ; 1,1,3,3- Tetraetoksipropan (TEP)

Metot:

	<u>Örnek (ml)</u>	<u>Kör (ml)</u>	<u>Standart (ml)</u>
Plazma	0.3	—	—
N /12 H ₂ SO ₄	4.0	—	—
İyice karıştırılır.			
% 10 PTA	0.5	—	—

İyice karıştırılır. Oda ısısında 5 dakika beklenir. 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir. Süpernatant atılır. Presipitat kullanılır.

Distile su	3.0	—	—
------------	-----	---	---

Presipitat iyice homojenize edilir. 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir. Presipitat alınır.

Standart	—	—	1.0
Distile su	4.0	4.0	4.0

Presipitat iyice homojenize edilir.

TBA ayıracağı	1.0	1.0	1.0
---------------	-----	-----	-----

İyice karıştırılır. Üstüne cam top konulan tüpler, kaynar suda 60 dakika tutulur. Soğuttuktan sonra,

n-bütanol	3.0	3.0	3.0
-----------	-----	-----	-----

tekrar vorteksle karıştırılır. 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek üst faz absorbansı 532 nm'de okunur.

Plazma MDA Düzeyinin Hesaplanması

$$\text{Plazma MDA (nmol/ml plazma)} = 4.1 \times \frac{\text{Örneğin Optik Dansitesi}}{\text{Standartın Optik Dansitesi}} \times \frac{1}{0.3}$$

4.1 : Standart katsayısı

0.3 : Örneğin hacmi

Plazma lipit peroksidasyon standart eğrisi Şekil 8. de gösterilmiştir .

5.2.3.2. Doku MDA Düzeyinin Tayini

Dokularda MDA ölçümü, Ohkawa ve ark. (87) 'nın geliştirdikleri yöntemle göre yapılmıştır.

Metodun Ayıraçları:

1-% 8.1 Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)

2-% 20 Glasiyel Asetik Asit (GAA); NaOH ile pH 3.5'a ayarlanır

3-% 0.8 TBA

4- n-Bütanol/Piridin karışımı ; 15/1 oranında, hacim/hacim

Metot:

	<u>Örnek(ml)</u>	<u>Kör (ml)</u>	<u>Standart(ml)</u>
Homojenat (% 10)	0.1	—	—
Standart	—	—	0.1
% 8.1 SDS	0.2	0.2	0.2
% 20 GAA	1.5	1.5	1.5
% 0.8 TBA	1.5	1.5	1.5
Distile su	0.7	0.8	0.7

Karıştırılır. Üstüne cam top konulan tüpler, 95°C'deki su banyosunda, 60 dakika bekletilir. 60 dakikanın sonunda soğutulduktan sonra,

Distile su	1.0	1.0	1.0
n-Bütanol/piridin	5.0	5.0	5.0

Vorteksle karıştırılır. 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir. Organik üst tabaka 532 nm'de okunur.

Doku MDA Düzeyinin Hesaplanması

$$\text{Doku MDA (nmol/g yaş doku)} = 4.1 \times \frac{\text{Örneğin Optik Dansitesi}}{\text{Standartın Optik Dansitesi}}$$

4.1 : Standart katsayısı

Doku lipid peroksidasyon standart eğrisi Şekil 9. da gösterilmiştir.

5.2.4. AST Aktivitesinin Tayini

Prensip : AST aktivitesinin tayini 2,4-dinitrofenil hidrazinle, Reitman ve Frankel (95) metoduna göre yapılmıştır. Bu metotla AST aktivitesinin tayininin esası aşağıdaki gibidir:



Bu reaksiyonda oluşan okzaloasetat alkali ortamda 2,4-dinitrofenil hidrazin ile reaksiyona sokulur. Sonuçta oluşan okzaloasetat fenilhidrazonların renk şiddeti transaminaz aktivitesi ile orantılıdır.

Metodun Ayıraçları:

1- Fosfat tamponu ; 11.92 gr anhidroz Na_2HPO_4 ve 2.18 gr anhidroz KH_2PO_4 tartılarak suda çözünür ve 1 lt'ye tamamlanır (pH 7.4) . Buzdolabında muhafaza edilir.

2- AST substrat ; 0.0584 gr α -ketoglutarik asit ve 5.32 gr DL-aspartik asit tartılarak 250 ml'lik behere konur. 40 ml 1 N NaOH eklenir ve solüsyon homojen hale gelinceye kadar karıştırılır. Damla damla 1 N NaOH eklemek suretiyle pH 7.4 ± 0.1 'e ayarlanır. Solüsyon 200 ml'lik bir balona fosfat tamponu ile yıkanarak aktarılır. Tampon ile 200 ml'ye tamamlanarak 2 ml kloroform konulup buzdolabında saklanır.

3- Renk ayracı ; 0.0396 gr dinitrofenil hidrazin $[(\text{NO}_2)_2\text{-C}_6\text{H}_3\text{NHNH}_2]$ tartılarak 200 ml 1 N HCl içinde çözünür. Manyetik karıştırıcı ile karıştırılıp buzdolabında muhafaza edilir.

4- 0.4 N NaOH

Metot :

	<u>Kör (ml)</u>	<u>Örnek (ml)</u>
AST substrat	1.0	1.0
Tüplerin ısı 37 °C'ye getirilir.		
Serum	—	0.2
Distile su	0.2	—
Yavaşça karıştırılır ve 37 °C'de 1 saat inkübe edilir.		
Renk ayracı	1.0	1.0
Yavaşça karıştırılır. 20 dakika beklenir.		
0.4 N NaOH	10	10
Karıştırılır. En az 5 dakika beklenir. 505 nm'de absorban okunur.		

AST'nin Hesaplanması : AST aktivitesi standart eğri yardımıyla tayin edilmiştir.

(şek 10)

5.2.5. ALT Aktivitesinin Tayini

Prensip : ALT aktivitesinin tayini 2,4-dinitrofenil hidrazinle, Reitman ve Frankel (95) metoduna göre yapılmıştır. Bu metotla ALT aktivitesinin tayini aşağıdaki gibidir.



Bu reaksiyonda oluşan pirüvat alkali ortamda 2,4-dinitrofenil hidrazinle reaksiyona sokulur. Sonuç olarak meydana gelen pirüvat fenil hidrazonların renk şiddeti transaminaz aktivitesi ile orantılıdır.

Metodun Ayıraçları :

1-Fosfat tamponu ; 11.92 gr anhidroz Na_2HPO_4 ve 2.18 gr anhidroz KH_2PO_4 tartılıp suda çözünerek 1 lt'ye tamamlanır (pH 7.4). Buzdolabında muhafaza edilir.

2-ALT substrat ; 0.0292 gr α -ketoglutarik asit ve 1.78 gr DL-alanin tartılarak 100 ml'lik behere konur. 20 ml su eklenir ve solüsyon tamamlanana kadar karıştırılır. 1 N NaOH damla damla eklenerek pH 7.4 ± 0.1 'e ayarlanır. Solüsyon 100 ml'lik balona fosfat tamponu ile yıkanarak transfer edilir. 100 ml'ye tamponla tamamlanıp 2 ml kloroform eklenerek buzdolabında muhafaza edilir.

3- **Renk ayracı** ; 0.0396 gr dinitrofenil hidrazin $[(NO_2)_2-C_6H_3NHNH_2]$ tartılarak 200 ml 1 N HCl içinde çözünür. Daha sonra manyetik karıştırıcı ile karıştırılıp buzdolabında muhafaza edilir.

4- 0.4 N NaOH

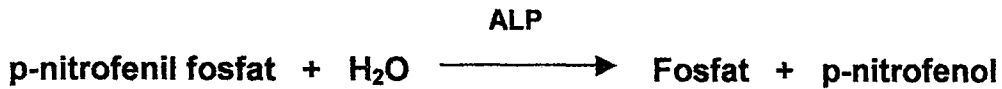
Metot :

	<u>Kör (ml)</u>	<u>Örnek (ml)</u>
ALT substrat	1.0	1.0
Tüplerin ısısı 37 °C'ye getirilir.		
Serum	—	0.2
Distile su	0.2	—
Yavaşça karıştırılır ve 37 °C'de 30 dakika inkübe edilir.		
Renk ayracı	1.0	1.0
Yavaşça karıştırılır. 20 dakika beklenir.		
0.4 N NaOH	10	10
Karıştırılır. En az 5 dakika beklenir. 505 nm'de absorbans okunur.		

ALT'nin Hesaplanması : ALT aktivitesi standart eğri yardımıyla tayin edilmiştir. (şek.11)

5.2.6. ALP Aktivitesinin Tayini

Prensip : ALP aktivitesinin tayini Bessey, Lowry ve Brock (12) metoduyla yapılmıştır. Bu metotla ALP aktivitesi tayininin esası aşağıdaki gibidir.



Reaksiyonda oluşan p- nitrofenol renkli bir bileşik olduğu için direkt olarak ölçülür. Reaksiyon sonunda meydana gelen renk şiddeti ile ALP aktivitesi orantılıdır.

Metodun Ayıraçları

1- 1 N NaOH

2- 0.02 N NaOH

3- **Glisin buffer** ; 0.1 M pH 10.6 ; 0.2 g $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ ve 7.5 g Glisin tartılarak yaklaşık 700 ml suda çözünür. Daha sonra 85 ml 1 N NaOH eklenip 1 N NaOH veya 1 N HCl kullanılarak pH 10.6 ± 0.1 'e ayarlanır. Distile su ile litreye tamamlanır. Prezervatif olarak birkaç damla kloroform damlatılıp plastik şişede ve buz dolabında muhafaza edilir.

4- **Buffer'lı substrat** ; 100 mg disodyum p-nitrofenil fosfat tartılarak 25 ml suda çözünür. Sonra 25 ml glisin buffer eklenip 1 ml 'lik porsiyonlar halinde dondurularak saklanır.

5- **Konsantre HCl**

Metot :

	<u>Kör (ml)</u>	<u>Örnek (ml)</u>
Buffer'lı substrat	1.0	1.0
Distile su	0.1	—
Serum	—	0.1
Karıştırılır, 37 °C'de 30 dakika inkübe edilir.		
0.02 N NaOH	10	10
İyice karıştırılır. Kör ile sıfır ayarı yapıldıktan sonra testin absorbanası (A1) 410 nm'de okunur.		
Konsantre HCl	0.1	0.1
Karıştırılır. Tekrar absorbanas okunur. (A2)		

Her bir absorbanas için kalibrasyon eğrisinden ALP değeri tespit edilir.(Şekil.12)
A1, A2'den çıkarılarak Bessey, Lowry ve Brock üniteleri hesaplanır.

5.2.7. Hb Tayini

Prensip: Siyanomethemoglobin Yöntemi (112) ile yapılmıştır. Ferrisiyanür Hb' deki Fe^{+2} 'yi oksitleyerek Fe^{+3} 'e çevirir ve Hb'in methemoglobine dönüşmesini sağlar. Bunu takiben potasyum siyanid ile stabil bir pigment olan siyanmethemoglobin meydana gelir. Siyanmethemoglobinin absorbanası 546 nm'de okunur.

Metodun Ayıraçları

1-Drabkin Çözeltisi ; 50 mg KCN, 200 mg $K_3Fe(CN)_6$ ve 1 gr $NaHCO_3$ tartılarak bir miktar distile suda çözülür ve litreye tamamlanır. Koyu renkli şişede saklandığında oda ısısında 1 yıl dayanır.

2-Hb Standartı ;18 gr liyofilize Hb standartı 100 ml distile suda çözülür.Bu standart 18 g/dl Hb içerir.

Metot :

	<u>Kör (ml)</u>	<u>Standart (ml)</u>	<u>Örnek (ml)</u>
Drabkin Çözeltisi	5.0	5.0	5.0
Hemoglobin Standartı	—	0.02	—
Hemolizat	—	—	0.02

Tüpler iyice karıştırılır. Oda ısısında 20 dakika bekletilir. 546 nm'de köre karşı diğer tüplerin absorbansı okunur.

Hesaplama:

$$\text{gr / dl Hb} = (\text{Örnek abs. / standart Abs.}) \times 18$$

5.2.8. Protein Tayini

Prensip: Çalışmamızda kullanılan homojenatlardaki protein miktarları Lowry (73) yöntemine göre ölçülmüştür. Alkali bakır tartarat ayıracı peptid bağları ile kompleks yapar.



Her 7 veya 8 amino asit artığı 1 atom bakır bağlar. Fenol ayıracı, bakır ile muamele edilmiş karışıma ilave edildiğinde mor-mavi renk şekillenir. Bu renk 650 nm'de okunur.

Metodun Ayıraçları

1-Alkali Bakır Ayıracı ; 10 g Na₂CO₃, 0.1 g Potasyum tartarat ve 0.05 g Bakır sülfat tartılarak, 0.5 N NaOH içinde çözülür ve 100 ml'ye tamamlanır. Bu çözelti oda ısısında 30 gün dayanıklıdır.

2-Fenol Ayıracı ; 2 N Folin-Ciocalteu-Fenol ayıracından 3.75 ml alınır su ile 67.5 ml'ye tamamlanır. Çözelti günlük olarak hazırlanır.

3-Protein Standartı ; 50 µg BSA (Sığır serum albumin) / ml

Metot :

	<u>Kör (ml)</u>	<u>Standart (ml)</u>	<u>Örnek (ml)</u>
Alkali Bakır Ayıracı	1.0	1.0	1.0
Protein Standartı	—	1.0	—
Örnek	—	—	1.0
Distile su	1.0	—	—

Tüpler iyice karıştırılır ve 10 dakika oda ısısında bekletilir.

Fenol Ayıracı	4.0	4.0	4.0
---------------	-----	-----	-----

Tüpler hemen vorteks mikserde iyice karıştırılır ve 5 dakika 55 °C'de bekletilir. İnkübasyon sonrası musluk suyu altında hemen soğutulur. Daha sonra 650 nm'de standart ve örnek tüplerinin absorpsiyonu kör tüpüne karşı okunur.

Hesaplama:

$$\mu\text{g protein / ml} = (\text{Örnek Abs.} / \text{Std. Abs.}) \times \text{Std. Konsantrasyonu}$$

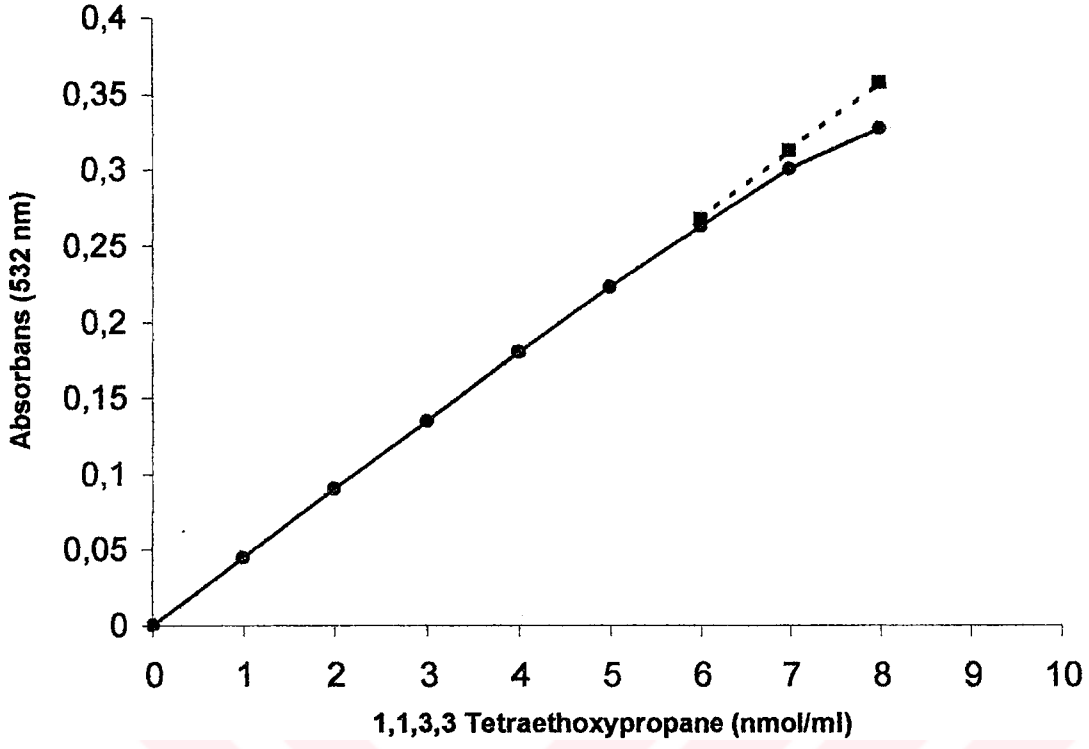
5.2.9. % V Htc Tayini

Yüzde hematokrit değerler, usulüne göre cam borulara ¾ oranında alınan kanın, dakikada 13.000 devirli mikrohematokrit santrifüjünde, 5 dakika döndürüldükten sonra özel skalasında okunmasıyla saptanmıştır.(100)

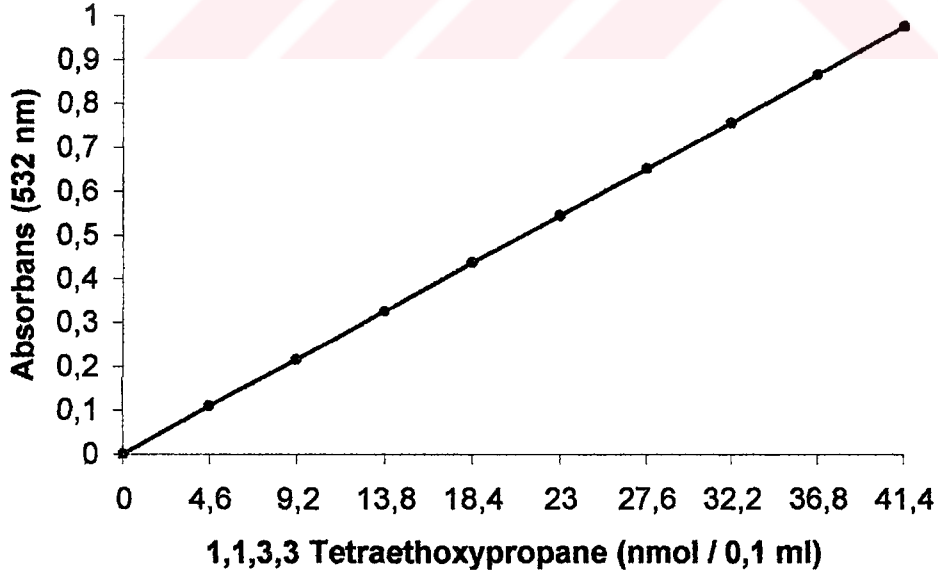
5.3. İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışmadaki bütün istatistiksel analizler, SPSS istatistik proğramı ile yapılmıştır. Deneysel alışmalar sonunda elde edilen veriler, ortalama \pm standart hata olarak gösterilmiştir. Araştırmada ngrlen parametreler bakımından yapılan karşılaştırmalarda Varyans Analizi Metodu kullanılmıştır. Analiz sonrası önemli çıkan parametreler için gruplar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile ortaya konmaya çalışılmıştır. Söz konusu parametreler için, türlerin ayrı ayrı cinsiyete göre karşılaştırılmalarında Student-t Testi'den yararlanılmıştır. (36)

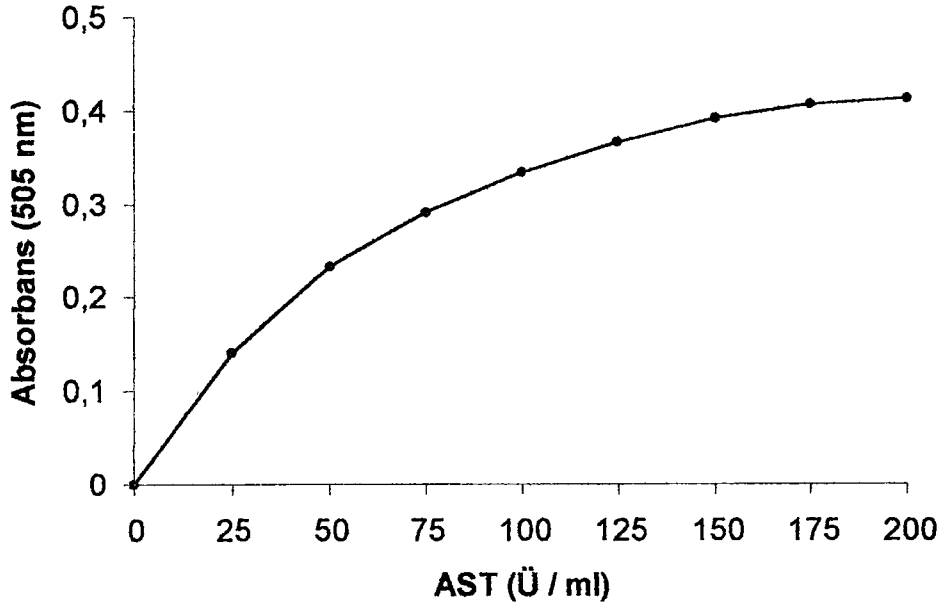




Şekil 8 : Plazma Lipit Peroksidasyonu Standart Eğrisi

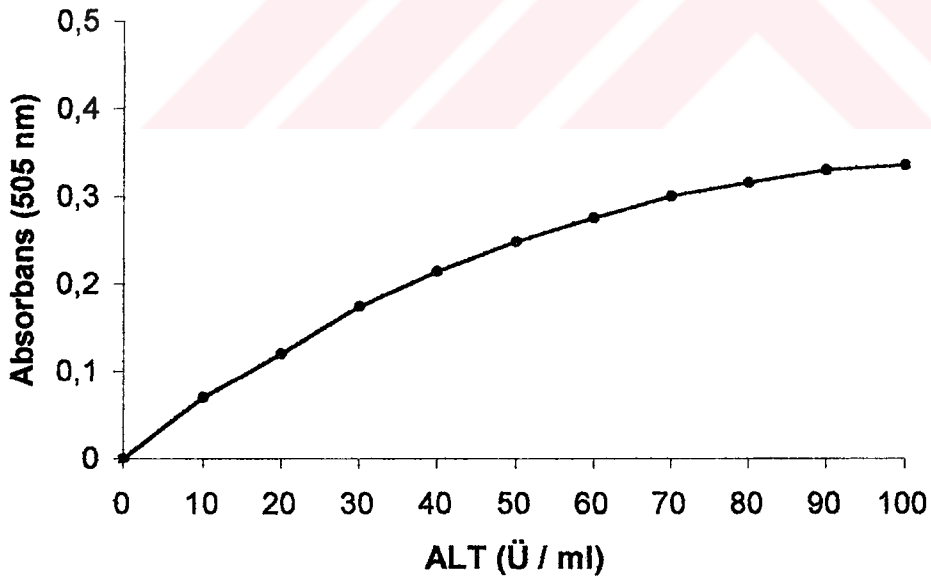


Şekil 9 : Doku Lipit Peroksidasyonu Standart Eğrisi



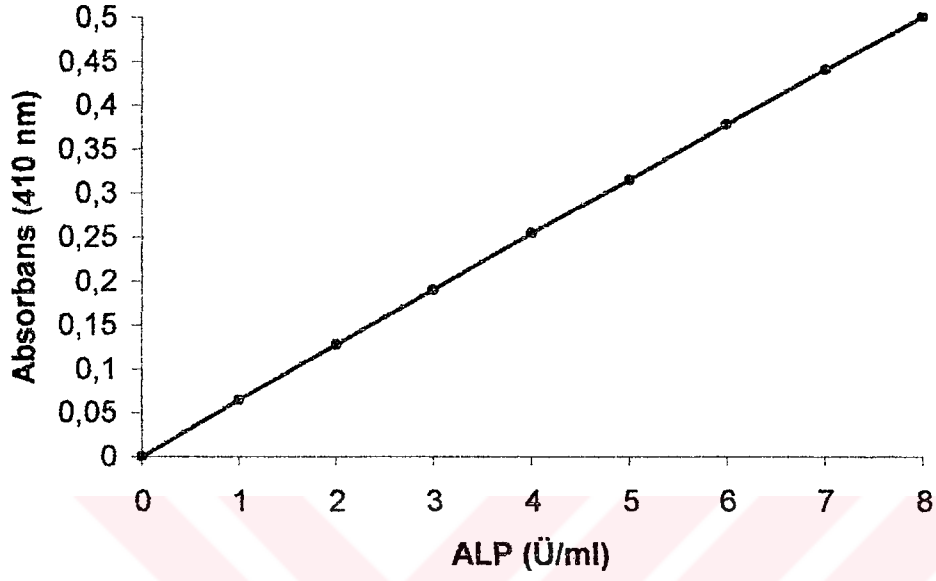
Ünite: 25 °C ' de pH 7.5 'da dakikada 4.82×10^{-4} μ mol glutamat oluşturan AST aktivitesidir.

Şekil 10 : Aspartat Amino Transferaz Standart Eğrisi



Ünite: 25 °C ' de pH 7.5 'da dakikada 4.82×10^{-4} μ mol glutamat oluşturan ALT aktivitesidir.

Şekil 11 : Alanin Amino Transferaz Standart Eğrisi



Ünite : 1 saatte 1 μ mol p-nitrofenol açığa çıkaran ALP aktivitesidir.

Şekil 12 : Alkalen Fosfataz Standart Eğrisi

6. BULGULAR

Elde edilen bulgular türler arasındaki ve tür içindeki ilişkiler olmak üzere 2 bölümde verilmiştir.

Sığır, koyun ve keçilerin eritrosit ve karaciğer dokusu GSH-Px, CAT, MDA, AST, ALT, ALP, Hb, Htc ve protein değerleri bakımından türler arası erkek ve dişilerin karşılaştırılmaları tablo 3-17'de aynı parametreler bakımından tür içi erkek ve dişiler arasındaki karşılaştırılmaları ise tablo 18-32'de gösterilmiştir. Tablo 33,34'de de aynı hayvanlardaki bu parametrelerin minimum ve maksimum sınırları verilmiştir.

6.1. Türler Arası Karşılaştırmalar

Eritrosit GSH-Px Aktivitesi

Sığır, koyun ve keçilerdeki ortalama eritrosit GSH-Px aktiviteleri Tablo 5 ve Şekil 22. de, ilaveten aynı hayvanların erkek ve dişilerine ait ortalamalar Tablo 3, Tablo 4. ve Şekil 13. de gösterilmiştir.

Erkek ve dişi keçilerdeki eritrosit GSH-Px aktiviteleri, sığır ve koyun türünün erkek ve dişilerinden anlamlı farklılıklar göstermiş, erkek sığır ve koyunlar arasında ise anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır. Cinsiyet ayrımı olmadan türler arasında yapılan karşılaştırmalarda ise 3 grup arasında da istatistiki olarak anlamlı farklılıklara rastlanamamıştır.

Karaciğer Dokusu GSH-Px Aktivitesi

Sığır, koyun ve keçilerdeki ortalama karaciğer dokusu GSH-Px aktiviteleri Tablo 8 ve Şekil 23. de, aynı hayvanların erkek ve dişilerine ait ortalamalar ise Tablo 6, Tablo 7 ve Şekil 13. de gösterilmiştir.

Sığır, koyun ve keçilerin erkek ve dişileri arasında yapılan karşılaştırmalarda hem erkek hem de dişi grubunda karaciğer dokusu GSH-Px aktiviteleri bakımından anlamlı farklılıklar saptanmış, cinsiyet farkı gözlemlenmediğinde, koyun karaciğer dokusu GSH-Px aktivitesi sığır ve keçilerinkinden istatistiki açıdan anlamlı derecede düşük bulunurken, sığır ve keçi türleri arasında anlamlı bir değişiklik gözlemlenmemiştir.

Eritrosit CAT Aktivitesi

Sığır, koyun ve keçilerdeki ortalama eritrosit CAT aktiviteleri Tablo 5 ve Şekil 22. de, aynı hayvanların erkek ve dişilerine ait ortalamalar Tablo 3, Tablo 4 ve Şekil 14. da gösterilmiştir.

Her üç türün erkek ve dişileri arasında ve cinsiyet ayrımı olmadan sığır, koyun ve keçiler arasında eritrosit CAT aktiviteleri yönünden yapılan karşılaştırmalarda fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur.

Karaciğer Dokusu CAT Aktivitesi

Sığır, koyun ve keçilerdeki ortalama karaciğer dokusu CAT aktiviteleri Tablo 8 ve Şekil 23. de, aynı hayvanların erkek ve dişilerine ait ortalamalar ise Tablo 6, Tablo 7 ve Şekil 14. da gösterilmiştir.

Sığır, koyun ve keçi türlerinin erkekleri arasında yapılan karşılaştırmalarda, keçilerin CAT aktivitelerinin, sığır ve koyunlarınkinden anlamlı derecede düşük olduğu saptanmış, sığır ve koyunlar arasında ise CAT aktiviteleri yönünden fark anlamlı bulunamamıştır.

Dişi sığır, koyun ve keçiler arasında yapılan karşılaştırmalarda ise koyunların CAT aktiviteleri sığır ve keçilerinkinden anlamlı derecede yüksek bulunmuş, sığır ve keçiler arasında ise bir değişiklik saptanamamıştır.

Cinsiyet ayrımı olmadan yapılan değerlendirmelerde her üç tür arasında karaciğer dokusu CAT aktivite farklılıkları istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur.

Plazma MDA Düzeyi

Sığır, koyun ve keçilerdeki ortalama plazma MDA düzeyleri Tablo 5 ve Şekil 22. de , aynı hayvanların erkek ve dişilerine ait ortalamalar Tablo 3, Tablo 4 ve Şekil 15. da gösterilmiştir.

Her üç türün erkek ve dişileri arasında plazma MDA düzeyleri yönünden anlamlı farklılıklar saptanmış, cinsiyet ayrımı olmadan yapılan karşılaştırmalarda da sığır, koyun ve keçi türleri arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur.

Karaciğer Dokusu MDA Düzeyi

Sığır, koyun ve keçilerdeki ortalama karaciğer dokusu MDA düzeyleri Tablo 8 ve Şekil 23. de, aynı hayvanların erkek ve dişilerine ait ortalamalar ise Tablo 6, Tablo 7 ve Şekil 15. da gösterilmiştir.

Erkek sığırlar, koyun ve keçi türünün erkekleriyle karşılaştırıldığında, karaciğer dokusu MDA düzeyleri yönünden önemli düşüşler saptanmış, koyun ve keçilerin erkekleri arasında ise karaciğer dokusu MDA düzeylerinde anlamlı bir değişiklik gözlenememiştir.

Sığır, koyun ve keçi türlerinin dişileri arasında yapılan karşılaştırmalarda, dişi keçilerin MDA düzeyleri, sığır ve koyunlarınkinden anlamlı derecede yüksek saptanmış, dişi sığır ve koyunlar arasında ise istatistiksel olarak önemli bir fark bulunamamıştır.

Cinsiyet ayrımı olmadan yapılan değerlendirmelerde ise her üç tür arasında karaciğer dokusu MDA düzeyleri yönünden anlamlı farklılıklar saptanmıştır.

Hb Düzeyi

Sığır, koyun ve keçilerdeki ortalama Hb düzeyleri Tablo 17 ve Şekil 22.de, aynı hayvanların erkek ve dişilerine ait ortalamalar Tablo 15, Tablo 16 ve Şekil 19. de gösterilmiştir.

Sığır, koyun ve keçilerin erkekleri arasında yapılan karşılaştırmalarda her üç tür arasında eritrosit Hb düzeyleri yönünden anlamlı farklılıklar saptanmış, dişi sığır, koyun ve keçiler arasında yapılan karşılaştırmalarda ise keçilerin Hb düzeyleri dişi sığır ve koyunlarınkinden anlamlı derecede düşük bulunurken, sığır ve koyunların dişileri arasında ise anlamlı bir değişiklik gözlenememiştir.

Cinsiyet ayrımı olmadan yapılan değerlendirmelerde her üç tür arasında da Hb düzeyleri yönünden fark önemli bulunmuştur.

% V Htc Düzeyi

Sığır, koyun ve keçilerdeki ortalama Htc düzeyleri Tablo 17 ve Şekil 22. de, aynı hayvanların erkek ve dişilerine ait ortalamalar Tablo 15, Tablo 16 ve Şekil 20. de gösterilmiştir.

Erkek sığırlar ile koyun ve keçilerin erkekleri arasında kan Htc düzeyleri anlamlı derecede yüksek bulunurken, erkek koyun ve keçiler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunamamıştır.

Sığır, koyun ve keçilerin dişileri arasında ve cinsiyet ayrımı olmadan yapılan karşılaştırmalarda her üç tür arasında Htc düzeylerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmiştir.

Karaciğer Dokusu Protein Düzeyi

Sığır, koyun ve keçilerdeki ortalama karaciğer dokusu protein düzeyleri Tablo 14 ve Şekil 23. de, aynı hayvanların erkek ve dişilerine ait ortalamalar ise Tablo 12, Tablo 13 ve Şekil 21. da gösterilmiştir.

Sığır, koyun ve keçilerin erkekleri arasında karaciğer dokusu protein düzeyleri bakımından yapılan karşılaştırmalarda bir farklılığa rastlanamamıştır.

Dişi sığır, koyun ve keçiler arasında ve cinsiyet ayrımı olmadan türler arasında yapılan karşılaştırmalarda ise sığırların protein düzeyleri koyun ve keçilerin dişilerinden anlamlı derecede düşük bulunurken, dişi koyun ve keçiler arasında istatistiki olarak anlamlı bir değişikliğin meydana gelmediği görülmüştür.

Serum AST Aktivitesi

Sığır, koyun ve keçilerdeki ortalama serum AST aktiviteleri Tablo 11 ve Şekil 22. de, aynı hayvanların erkek ve dişilerine ait ortalamalar ise Tablo 9, Tablo 10 ve Şekil 16. de gösterilmiştir.

Erkek sığırlar, koyun ve keçilerin erkekleriyle karşılaştırıldığında, serum AST aktiviteleri önemli ölçüde yüksek bulunurken, erkek koyun ve keçiler arasında serum AST aktivitelerinde anlamlı farklılıklara rastlanmamıştır.

Her üç türün dişileri arasında ve cinsiyet ayrımı olmadan sığır, koyun ve keçiler arasında serum AST aktiviteleri yönünden yapılan karşılaştırmalarda üç tür arasındaki farklılık da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Karaciğer Dokusu AST Aktivitesi

Sığır, koyun ve keçilerdeki ortalama karaciğer dokusu AST aktiviteleri Tablo 14 ve Şekil 23. de, aynı hayvanların erkek ve dişilerine ait ortalamalar ise Tablo 12, Tablo 13 ve Şekil 16. de gösterilmiştir.

Erkek koyun ve keçilerin karaciğer dokusu AST aktiviteleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmuş, sığırların erkekleriyle diğer türlerin erkekleri arasında ise anlamlı bir değişiklik gözlenememiştir.

Sığır, koyun ve keçilerin dişileri arasında ve cinsiyet ayrımı olmadan her üç tür arasında karaciğer AST aktivitelerinde anlamlı bir fark saptanmıştır.

Serum ALT Aktivitesi

Sığır, koyun ve keçilerdeki ortalama serum ALT aktiviteleri Tablo 11 ve Şekil 22. de, aynı hayvanların erkek ve dişilerine ait ortalamalar ise Tablo 9, Tablo 10 ve Şekil 17. de gösterilmiştir.

Sığır, koyun ve keçilerin erkekleri arasında ve cinsiyet ayırmadan her üç tür arasında serum ALT aktivitelerinde anlamlı değişiklikler gözlenmiştir.

Sığır, koyun ve keçilerin dişileri arasında yapılan karşılaştırmalarda dişi sığırların serum ALT aktiviteleri dişi koyun ve keçilerinkinden anlamlı derecede yüksek saptanmış, dişi koyun ve keçiler arasında ise anlamlı farklılıklara rastlanmamıştır.

Karaciğer Dokusu ALT Aktivitesi

Sığır, koyun ve keçilerdeki ortalama karaciğer dokusu ALT aktiviteleri Tablo 14 ve Şekil 23. de, aynı hayvanların erkek ve dişilerine ait ortalamalar ise Tablo 12, Tablo 13 ve Şekil 17. de gösterilmiştir.

Sığır, koyun ve keçilerin erkekleri arasında ve cinsiyet ayrımı olmadan her üç tür arasında karaciğer ALT aktivitelerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmiştir.

Dişi sığır, koyun ve keçiler arasında ise istatistiksel olarak önemli bir fark bulunamamıştır.

Serum ALP Aktivitesi

Sığır, koyun ve keçilerdeki ortalama serum ALP aktiviteleri Tablo 11 ve Şekil 22. de, aynı hayvanların erkek ve dişilerine ait ortalamalar ise Tablo 9, Tablo 10 ve Şekil 18. de gösterilmiştir.

Sığır, koyun ve keçilerin erkekleri arasında ve cinsiyet ayrımı olmadan her üç tür arasında yapılan karşılaştırmalarda koyunların serum ALP aktiviteleri, sığır ve keçilerinkinden anlamlı derecede yüksek dişi koyunların serum ALP aktiviteleri ise sığır ve keçilerinkinden anlamlı derecede düşük saptanmıştır.

Karaciğer Dokusu ALP Aktivitesi

Sığır, koyun ve keçilerdeki ortalama karaciğer dokusu ALP aktiviteleri Tablo 14 ve şekil 23. de, aynı hayvanların erkek ve dişilerine ait ortalamalar ise Tablo 12, Tablo 13 ve Şekil 18. de gösterilmiştir.

Karaciğer dokusu ALP aktiviteleri bakımından yapılan karşılaştırmalarda, erkek sığır, koyun ve keçiler arasında anlamlı farklılıklara rastlanmamıştır.

Sığır, koyun ve keçilerin dişileri arasında yapılan karşılaştırmalarda dişi koyunların karaciğer dokusu ALP aktivitelerinin dişi sığır ve keçilerinkinden anlamlı derecede yüksek saptanmış, dişi sığır ve keçiler arasında ki fark ise önemsiz bulunmuştur.

Cinsiyet ayrımı olmadan yapılan karşılaştırmalarda karaciğer dokusu ALP aktivitesi yönünden sığır ve koyunlar arasında anlamlı bir değişiklik gözlenmiş, keçiler, sığır ve koyunlarla karşılaştırıldığında ise önemli bir fark bulunamamıştır.

6.2. Tür İçi Karşılaştırmalar

Eritrosit GSH-Px Aktivitesi

Sığır türünün erkeklerinde eritrosit GSH-Px aktivitesi dişilere göre anlamlı derecede yüksek, keçi türünün erkeklerinde ise anlamlı derecede düşük saptanmıştır. Koyun türünün erkek ve dişileri arasında anlamlı farklılıklar bulunamamıştır (Tablo 18,19,20, Şekil 13.).

Karaciğer Dokusu GSH-Px Aktivitesi

Sığır, koyun ve keçilerin, erkek ve dişileri arasında yapılan tür içi karşılaştırmalarda erkeklere göre dişilerdeki karaciğer dokusu GSH-Px aktivitesi istatistiksel açıdan önemli derecede yüksek bulunmuştur (Tablo 21,22,23, Şekil 13.).

Eritrosit CAT Aktivitesi

Sığır ve keçi türünün erkeklerinde eritrosit CAT aktivitesi dişilere göre anlamlı derecede düşük, koyun türünün erkeklerinde ise anlamlı derecede yüksek saptanmıştır (tablo 18,19,20, Şekil 14.).

Karaciğer Dokusu CAT Aktivitesi

Koyun ve keçi türünün erkeklerinde karaciğer dokusu CAT aktivitesi dişilere göre istatistiksel açıdan önemli düşüş göstermiş, erkek ve dişi sığırlar arasında ise önemli bir fark bulunamamıştır (tablo 21,22,23, Şekil 14.).

Plazma MDA Düzeyi

Sığır, koyun ve keçilerin erkek ve dişileri arasında yapılan tür içi karşılaştırmalarda plazma MDA düzeylerinde anlamlı farklılıklara rastlanamamıştır (Tablo 18,19,20, Şekil 15.).

Karaciğer Dokusu MDA Düzeyi

Sığır ve keçi türünün erkek ve dişileri arasında yapılan tür içi karşılaştırmalarda karaciğer MDA düzeylerinde anlamlı bir fark saptanamamış, erkek koyunlardaki karaciğer dokusu MDA düzeyleri ise dişilere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Tablo 21,22,23, Şekil 15.).

Serum AST Aktivitesi

Sığır ve keçi türünün dişilerine göre erkeklerinde serum AST aktiviteleri anlamlı derecede yüksek, koyun türünde ise aksine anlamlı derecede düşük saptanmıştır (Tablo 24,25,26, şekil 16.).

Karaciğer Dokusu AST Aktivitesi

Karaciğer dokusu AST aktivitesi sığır ve koyunların erkeklerinde dişilere göre istatistiksel açıdan önemli derecede yüksek, keçilerin erkeklerinde ise düşük bulunmuştur (Tablo 27,28,29, Şekil 16.).

Serum ALT Aktivitesi

Sığır ve koyun türünün erkeklerinde serum ALT aktivitesi dişilere göre anlamlı derecede yüksek saptanmış, erkek keçilerde serum ALT aktivitesinde dişilere göre hafif bir artış meydana gelmiş bu artış istatistik olarak önemsiz bulunmuştur (Tablo 24,25,26, Şekil 17.).

Karaciğer Dokusu ALT Aktivitesi

Sığırların erkeklerinde karaciğer dokusu ALT aktivitesi dişilere göre önemli bir yükselme göstermiş, koyun ve keçi türlerinin erkek ve dişileri arasında ise karaciğer ALT aktivitesi yönünden anlamlı farklılıklara rastlanamamıştır (Tablo 27,28,29, Şekil 17.).

Serum ALP Aktivitesi

Sığır, koyun ve keçi türünün erkeklerinde serum ALP düzeyleri dişilere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Tablo 24,25,26, şekil 18.).

Karaciğer Dokusu ALP Aktivitesi

Erkeklerle karşılaştırıldığında dişi koyunlarda karaciğer dokusu ALP düzeyleri önemli derecede yüksek saptanmış, sığır ve keçi türünün erkek ve dişileri arasında ise karaciğer ALP aktivitesinde anlamlı bir değişiklik gözlenememiştir (Tablo 27,28,29, Şekil 18.).

Hb Düzeyi

Dişi koyunlarda eritrosit hemoglobin düzeyleri erkeklere göre istatistiksel açıdan önemli yükselme göstermiş, sığır ve keçi türünün erkek ve dişileri arasında ise anlamlı bir değişiklik saptanamamıştır (Tablo 30,31,32, Şekil 19.).

% V Htc Düzeyleri

Koyun türünün dişilerinde eritrosit hematokrit düzeyleri erkeklere göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek bulunurken, sığır ve keçi türlerinin erkek ve dişileri arasında hematokrit düzeylerinde anlamlı bir değişiklik gözlenememiştir (Tablo 30,31,32, Şekil 20.).

Karaciğer Dokusu Protein Düzeyi

Erkek ve dişi keçilerde karaciğer protein düzeyleri erkeklere göre anlamlı derecede yüksek saptanmış, koyun ve sığır türünün erkek ve dişileri arasında ise istatistiksel olarak önemli bir fark bulunamamıştır (Tablo 27,28,29, şekil 21.).

Tablo 3 : Erkek Sığır, Koyun ve Keçilerde Eritrosit GSH-Px (Ü/g Hb), CAT (1×10^4 Ü/g Hb) ve Plazma MDA (nmol/ml plazma) Düzeyleri İle 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü

	GSH-Px			CAT			MDA		
	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$
Sığır	30	54,81	2,93 ^a	30	89,72	2,69 ^a	30	3,01	0,10 ^b
Koyun	38	48,09	3,94 ^a	41	68,71	1,83 ^b	39	2,57	0,07 ^c
Keçi	40	35,84	3,23 ^b	30	53,47	4,10 ^c	33	3,46	0,17 ^a
F	7,588			36,947			15,275		
P	***			***			***		

*** : $p < 0,001$

a, b, c : Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir.

Tablo 4 : Dişi Sığır, Koyun ve Keçilerde Eritrosit GSH-Px (Ü/g Hb), CAT (1×10^4 Ü/g Hb) ve Plazma MDA (nmol/ml plazma) Düzeyleri İle 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü

	GSH-Px			CAT			MDA		
	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$
Sığır	30	43,10	1,96 ^b	30	102,82	2,96 ^a	30	2,91	0,14 ^b
Koyun	36	42,49	2,57 ^b	47	42,47	2,48 ^c	43	2,44	0,14 ^c
Keçi	30	58,50	2,27 ^a	59	78,69	3,98 ^b	43	3,61	0,16 ^a
F	14,732			63,553			16,503		
P	***			***			***		

*** : $p < 0,001$

a, b, c : Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir.

Tablo 5 : Sığır, Koyun ve Keçilerde Eritrosit GSH-Px (Ü/g Hb), CAT (1×10^4 Ü/g Hb) ve Plazma MDA (nmol/ml plazma) Düzeyleri İle 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü

	GSH-Px			CAT			MDA		
	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$
Sığır	60	48,96	1,91	60	96,22	2,16 ^a	60	2,96	0,09 ^b
Koyun	74	45,37	2,38	88	54,70	2,10 ^c	82	2,50	0,08 ^c
Keçi	70	45,56	2,47	89	70,19	3,23 ^b	76	3,54	0,12 ^a
F	0,713			54,656			31,084		
P	-			***			***		

- : Önemli Değil, *** : $p < 0,001$

a, b, c : Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir.

Tablo 6 : Erkek Sığır, Koyun ve Keçilerde Karaciğer GSH-Px (Ü/g protein), CAT (Ü/mg protein) ve MDA (nmol MDA/g yaş doku) Düzeyleri İle 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü

	GSH-Px			CAT			MDA		
	n	\bar{x}	\bar{Sx}	n	\bar{x}	\bar{Sx}	n	\bar{x}	\bar{Sx}
Sığır	30	40,44	1,30 ^a	30	51,81	2,14 ^a	30	38,87	1,83 ^b
Koyun	30	33,66	1,01 ^b	30	52,99	0,59 ^a	30	53,74	1,04 ^a
Keçi	30	28,11	1,62 ^c	30	45,83	1,84 ^b	30	53,03	3,30 ^a
F	21,512			5,326			13,754		
P	***			***			***		

*** : p<0,001

a, b, c : Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir.

Tablo 7 : Dişi Sığır, Koyun ve Keçilerde Karaciğer GSH-Px (Ü/g protein), CAT (Ü/mg protein) ve MDA (nmol MDA/g yaş doku) Düzeyleri İle 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü

	GSH-Px			CAT			MDA		
	n	\bar{x}	\bar{Sx}	n	\bar{x}	\bar{Sx}	n	\bar{x}	\bar{Sx}
Sığır	30	48,57	1,57 ^b	30	55,62	1,10 ^b	30	37,57	1,23 ^b
Koyun	30	36,90	1,25 ^c	30	66,08	1,00 ^a	30	38,95	1,82 ^b
Keçi	30	54,91	1,69 ^a	30	53,31	1,36 ^b	30	56,28	2,69 ^a
F	36,258			34,182			27,026		
P	***			***			***		

*** : p<0,001

a, b, c : Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir.

Tablo 8 : Sığır, Koyun ve Keçilerde Karaciğer GSH-Px (Ü/g protein), CAT (Ü/mg protein) ve MDA (nmol MDA/g yaş doku) Düzeyleri İle 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü

	GSH-Px			CAT			MDA		
	n	\bar{x}	\bar{Sx}	n	\bar{x}	\bar{Sx}	n	\bar{x}	\bar{Sx}
Sığır	60	44,51	1,14 ^a	60	53,72	1,22 ^b	60	38,22	1,10 ^c
Koyun	60	35,28	0,82 ^b	60	59,53	1,03 ^a	60	46,35	1,42 ^b
Keçi	60	41,51	2,10 ^a	60	49,57	1,24 ^c	60	54,65	2,12 ^a
F	10,427			18,484			26,255		
P	***			***			***		

*** : p<0,001

a, b, c : Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir.

Tablo 9 : Erkek Sığır, Koyun ve Keçilerde Serum AST (Ü/L), ALT (Ü/L) ve ALP (Ü/L) Düzeyleri İle 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistikî Önem Kontrolü

	AST			ALT			ALP		
	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$
Sığır	34	37,53	2,02 ^a	30	12,62	0,75 ^a	33	88,43	4,97 ^b
Koyun	47	32,11	1,30 ^b	45	8,45	0,35 ^b	38	137,6	5,53 ^a
Keçi	64	31,20	0,87 ^b	50	6,43	0,22 ^c	41	87,48	6,05 ^b
F	5,932			52,423			26,213		
P	***			***			***		

*** : p<0,001

a, b, c : Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir.

Tablo 10 : Dişi Sığır, Koyun ve Keçilerde Serum AST (Ü/L), ALT (Ü/L) ve ALP (Ü/L) Düzeyleri İle 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistikî Önem Kontrolü

	AST			ALT			ALP		
	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$
Sığır	48	25,77	1,15 ^b	36	10,24	0,57 ^a	51	54,40	3,60 ^a
Koyun	57	36,79	1,71 ^a	55	6,23	0,35 ^b	32	37,20	2,88 ^b
Keçi	58	22,03	0,80 ^c	57	6,27	0,34 ^b	43	63,57	4,51 ^a
F	36,967			27,355			10,138		
P	***			***			***		

*** : p<0,001

a, b, c : Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir.

Tablo 11 : Sığır, Koyun ve Keçilerde Serum AST (Ü/L), ALT (Ü/L) ve ALP (Ü/L) Düzeyleri İle 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistikî Önem Kontrolü

	AST			ALT			ALP		
	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$
Sığır	82	30,64	1,25 ^b	65	11,28	0,48 ^a	84	67,77	3,44 ^b
Koyun	104	34,68	1,13 ^a	100	7,23	0,27 ^b	73	91,7	6,84 ^a
Keçi	122	26,84	0,72 ^c	107	6,35	0,21 ^c	84	75,24	3,95 ^b
F	16,619			64,457			6,336		
P	***			***			***		

*** : p<0,001

a, b, c : Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir.

Tablo 12 : Erkek Sığır, Koyun ve Keçilerde Karaciğer AST (Ü/g yaş doku), ALT (Ü/g yaş doku), ALP (Ü/g yaş doku) ve Protein(mg/ml) Düzeyleri İle 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistikî Önem Kontrolü

	AST			ALT			ALP			Protein		
	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$
Sığır	30	7,20	0,42 ^{ab}	30	0,28	0,01 ^a	30	106,05	9,27	30	12,84	0,44
Koyun	30	8,23	0,57 ^a	30	0,22	0,01 ^b	30	127,59	11,24	30	13,79	0,88
Keçi	30	6,85	0,16 ^b	30	0,12	0,03 ^c	30	131,66	8,74	30	12,57	0,16
F	2,92			18,158			1,968			1,252		
P	**			***			-			-		

- : Önemli Değil ** : p< 0,01 *** : p<0,001

a, b, c : Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir.

Tablo13 : Dişi Sığır, Koyun ve Keçilerde Karaciğer AST (Ü/g yaş doku), ALT (Ü/g yaş doku), ALP (Ü/g yaş doku) ve Protein Düzeyleri (mg/ml) İle 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistikî Önem Kontrolü

	AST			ALT			ALP			Protein		
	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$
Sığır	30	6,22	0,3 ^b	30	0,22	0,01	30	106,67	10,08 ^b	30	12,73	0,21 ^b
Koyun	30	2,76	0,07 ^c	30	0,18	0,02	30	147,63	9,02 ^a	30	14,76	0,25 ^a
Keçi	30	9,65	0,57 ^a	40	0,18	0,02	30	116,38	7,77 ^b	30	15,43	0,32 ^a
F	85,654			1,818			5,649			28,582		
P	***			-			***			***		

- : Önemli Değil *** : p<0,001

a, b, c : Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir.

Tablo 14 : Sığır, Koyun ve Keçilerde Karaciğer AST (Ü/g yaş doku), ALT (Ü/g yaş doku),ALP(Ü/g yaş doku) ve Protein (mg/ml) Düzeyleri İle 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistikî Önem Kontrolü

	AST			ALT			ALP			Protein		
	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$
Sığır	60	6,71	0,26 ^b	60	0,25	0,01 ^a	60	106,36	6,79 ^b	60	12,79	0,24 ^b
Koyun	60	5,49	0,46 ^c	60	0,20	0,01 ^b	60	137,61	7,26 ^a	60	14,28	0,46 ^a
Keçi	60	8,25	0,34 ^a	70	0,15	0,02 ^c	60	124,02	5,88 ^{ab}	60	14,00	0,26 ^a
F	14,435			13,351			5,521			5,635		
P	***			***			***			***		

*** : p<0,001

a, b, c : Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir.

Tablo 15 : Erkek Sığır, Koyun ve Keçilerde Hemogloblin (gr/dl) ve Hematokrit (% Hacim) Değerleri İle 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü

	Hemogloblin			Hematokrit		
	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$
Sığır	39	11,86	0,29 ^a	38	35,74	0,85 ^a
Koyun	54	10,42	0,20 ^b	54	30,26	0,55 ^b
Keçi	84	8,96	0,13 ^c	74	28,85	0,47 ^b
F	55,779			32,421		
P	***			***		

*** : p<0,001

a, b, c : Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir.

Tablo 16 : Dişi Sığır, Koyun ve Keçilerde Hemogloblin (gr/dl) ve Hematokrit (% Hacim) Değerleri İle 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü

	Hemogloblin			Hematokrit		
	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$
Sığır	34	11,08	0,32 ^a	33	35,33	1,04 ^a
Koyun	59	11,42	0,28 ^a	36	31,94	0,56 ^b
Keçi	41	8,70	0,23 ^b	39	27,92	0,80 ^c
F	27,028			21,028		
P	***			***		

*** : p<0,001

a, b, c : Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir.

Tablo 17 : Sığır, Koyun ve Keçilerde Hemogloblin (gr/dl) ve Hematokrit (% Hacim) Değerleri İle 3 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü

	Hemogloblin			Hematokrit		
	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$
Sığır	73	11,49	0,22 ^a	71	35,55	0,66 ^a
Koyun	113	10,94	0,18 ^b	90	30,93	0,40 ^b
Keçi	125	8,87	0,11 ^c	113	28,53	0,41 ^c
F	70,664			51,815		
P	***			***		

*** : p<0,001

a, b, c : Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir.

Tablo 18 :Erkek ve Dişi Sığırlarda Eritrosit GSH-Px(Ü/gHb),CAT(1×10^4 Ü/gHb) ve Plazma MDA(nmol/ml) Düzeyleri İle 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü

Parametreler	Cinsiyet						t	P
	Erkek			Dişi				
	n	\bar{x}	S \bar{x}	n	\bar{x}	S \bar{x}		
GSH-Px	30	54,81	2,93	30	43,1	1,96	3,33	***
CAT	30	89,72	2,69	30	102,82	2,96	-3,24	***
MDA	30	3,01	0,1	30	2,91	0,14	0,61	-

- : Önemli Değil *** : $p < 0,001$

Tablo19 :Erkek ve Dişi Koyunlarda Eritrosit GSH-Px(Ü/gHb),CAT(1×10^4 Ü/gHb)ve Plazma MDA(nmol/ml) Düzeyleri İle 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü

Parametreler	Cinsiyet						t	P
	Erkek			Dişi				
	n	\bar{x}	S \bar{x}	n	\bar{x}	S \bar{x}		
GSH-Px	38	48,09	3,94	36	42,49	2,57	1,19	-
CAT	41	68,71	1,83	47	42,47	2,48	8,5	***
MDA	39	2,57	0,07	43	2,44	0,14	0,84	-

- : Önemli Değil *** : $p < 0,001$

Tablo 20 : Erkek ve Dişi Keçilerde Eritrosit GSH-Px(Ü/gHb),CAT(1×10^4 Ü/gHb) ve Plazma MDA(nmol/ml) Düzeyleri İle 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü

Parametreler	Cinsiyet						t	P
	Erkek			Dişi				
	n	\bar{x}	S \bar{x}	n	\bar{x}	S \bar{x}		
GSH-Px	40	35,84	3,23	30	58,5	2,27	-5,74	***
CAT	30	53,47	4,1	59	78,69	3,98	-4,42	***
MDA	33	3,46	0,17	43	3,61	0,16	-0,61	-

- : Önemli Değil *** : $p < 0,001$

Tablo 21 : Erkek ve Dişi Sığırlarda Karaciğer GSH-Px(Ü/g protein), CAT (Ü/mg protein) ve MDA (nmol/g yaş doku) Düzeyleri İle 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü

Parametreler	Cinsiyet						t	P
	Erkek			Dişi				
	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$		
GSH-Px	30	40,44	1,3	30	48,57	1,57	-3,99	***
CAT	30	51,81	2,14	30	55,62	1,1	-1,59	-
MDA	30	38,87	1,83	30	37,57	1,23	0,59	-

- : Önemli Değil *** : p<0,001

Tablo 22 : Erkek ve Dişi Koyunlarda Karaciğer GSH-Px(Ü/g protein), CAT (Ü/mg protein) ve MDA (nmol/g yaş doku) Düzeyleri İle 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü

Parametreler	Cinsiyet						t	P
	Erkek			Dişi				
	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$		
GSH-Px	30	33,66	1,01	30	36,9	1,25	-2,02	**
CAT	30	52,99	0,59	30	66,08	0,99	-11,31	***
MDA	30	53,74	1,04	30	38,95	1,82	7,04	***

** : p<0,01 *** : p<0,001

Tablo 23 : Erkek ve Dişi Keçilerde Karaciğer GSH-Px(Ü/g protein), CAT (Ü/mg protein) ve MDA (nmol/g yaş doku) Düzeyleri İle 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü

Parametreler	Cinsiyet						t	P
	Erkek			Dişi				
	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$		
GSH-Px	30	28,11	1,62	30	54,91	1,69	-11,45	***
CAT	30	45,83	1,84	30	53,31	1,36	-3,27	***
MDA	30	53,03	3,3	30	56,28	2,69	-0,76	-

- : Önemli Değil *** : p<0,001

Tablo 24 : Erkek ve Dişi Sığırlarda Serum AST (Ü/L), ALT (Ü/L) ve ALP (Ü/L) Düzeyleri İle 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü

Parametreler	Cinsiyet						t	P
	Erkek			Dişi				
	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$		
AST	34	37,53	2,02	48	25,77	1,15	5,39	***
ALT	28	12,62	0,75	36	10,24	0,57	2,57	**
ALP	33	88,43	4,97	51	54,4	3,6	5,67	***

** : p<0,01 *** : p<0,001

Tablo 25 : Erkek ve Dişi Koyunlarda Serum AST (Ü/L), ALT (Ü/L) ve ALP (Ü/L) Düzeyleri İle 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü

Parametreler	Cinsiyet						t	P
	Erkek			Dişi				
	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$		
AST	47	32,11	1,3	57	36,79	1,71	-2,1	*
ALT	45	8,45	0,35	55	6,23	0,35	4,43	***
ALP	38	137,6	5,53	32	37,2	2,88	16,11	***

* : p<0,05 *** : p<0,001

Tablo 26 : Erkek ve Dişi Keçilerde Serum AST (Ü/L), ALT (Ü/L) ve ALP (Ü/L) Düzeyleri İle 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü

Parametreler	Cinsiyet						t	P
	Erkek			Dişi				
	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$		
AST	64	31,2	0,87	58	22,03	0,8	7,71	***
ALT	50	6,43	0,22	57	6,27	0,34	0,38	-
ALP	41	87,48	6,05	43	63,57	4,51	3,19	***

- : Önemli Değil *** : p<0,001

Tablo 27 : Erkek ve Dişi Sığırlarda Karaciğer AST (Ü/g yaş doku),ALT (Ü/g yaş doku),ALP (Ü/g yaş doku) ve Protein (mg/ml) Düzeyleri ile 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü

Parametreler	Cinsiyet						t	P
	Erkek			Dişi				
	n	\bar{x}	S \bar{x}	n	\bar{x}	S \bar{x}		
AST	30	7,2	0,42	30	6,22	0,3	1,89	-
ALT	30	0,28	0,01	30	0,22	0,01	3,84	***
ALP	30	106,05	9,27	30	106,67	10,08	-0,05	-
Protein	30	12,84	0,44	30	12,73	0,21	0,23	-

- : Önemli Değil *** : p<0,001

Tablo 28 : Erkek ve Dişi Koyunlarda Karaciğer AST (Ü/g yaş doku), ALT (Ü/g yaş doku),ALP (Ü/g yaş doku) ve Protein (mg/ml) Düzeyleri ile 2 Grup Farkın İstatistiki Önem Kontrolü

Parametreler	Cinsiyet						t	P
	Erkek			Dişi				
	n	\bar{x}	S \bar{x}	n	\bar{x}	S \bar{x}		
AST	30	8,23	0,57	30	2,76	0,07	9,56	***
ALT	30	0,22	0,01	30	0,18	0,02	1,71	-
ALP	30	127,59	11,24	30	147,63	9,02	-1,39	-
Protein	30	13,79	0,88	30	14,76	0,25	-1,05	-

- : Önemli Değil *** : p<0,001

Tablo 29 : Erkek ve Dişi Keçilerde Karaciğer AST (Ü/g yaş doku), ALT (Ü/g yaş doku) ve ALP (Ü/g yaş doku) ve Protein (mg/ml) Düzeyleri ile 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü

Parametreler	Cinsiyet						t	P
	Erkek			Dişi				
	n	\bar{x}	S \bar{x}	n	\bar{x}	S \bar{x}		
AST	30	6,85	0,16	30	9,65	0,57	-4,73	***
ALT	30	0,12	0,03	40	0,18	0,02	-1,49	-
ALP	30	131,66	8,74	30	116,38	7,77	1,31	-
Protein	30	12,57	0,16	30	15,43	0,32	-8,05	***

- : Önemli Değil *** : p<0,001

Tablo 30 : Erkek ve Dişi Sığırlarda Hemogloblin (gr/dl) ve Hematokrit (% Hacim) Değerleri İle 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü

Parametreler	Cinsiyet						t	P
	Erkek			Dişi				
	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$		
Hemogloblin	39	11,86	0,29	34	11,08	0,32	1,79	-
Hematokrit	38	35,74	0,85	33	35,33	1,04	0,3	-

- : Önemli Değil

Tablo 31 : Erkek ve Dişi Koyunlarda Hemogloblin (gr/dl) ve Hematokrit (% Hacim) Değerleri İle 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü

Parametreler	Cinsiyet						t	P
	Erkek			Dişi				
	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$		
Hemogloblin	54	10,42	0,2	59	11,42	0,28	-2,88	***
Hematokrit	54	30,26	0,55	36	31,94	0,56	-2,08	**

** : $p < 0,01$ *** : $p < 0,001$

Tablo 32 : Erkek ve Dişi Keçilerde Hemogloblin (gr/dl) ve Hematokrit (% Hacim) Değerleri İle 2 Grup Arasındaki Farkın İstatistiki Önem Kontrolü

Parametreler	Cinsiyet						t	P
	Erkek			Dişi				
	n	\bar{x}	$S\bar{x}$	n	\bar{x}	$S\bar{x}$		
Hemogloblin	84	8,96	0,13	41	8,7	0,23	1,06	-
Hematokrit	74	28,85	0,47	39	27,92	0,8	1,07	-

- : Önemli Değil

Tablo 33 : Sığır, Koyun ve Keçilerin Eritrosit ve Kan Serumlarında Tespit Edilen Çeşitli Biyokimyasal Parametrelerin Cinsiyetlere Göre Sınırları

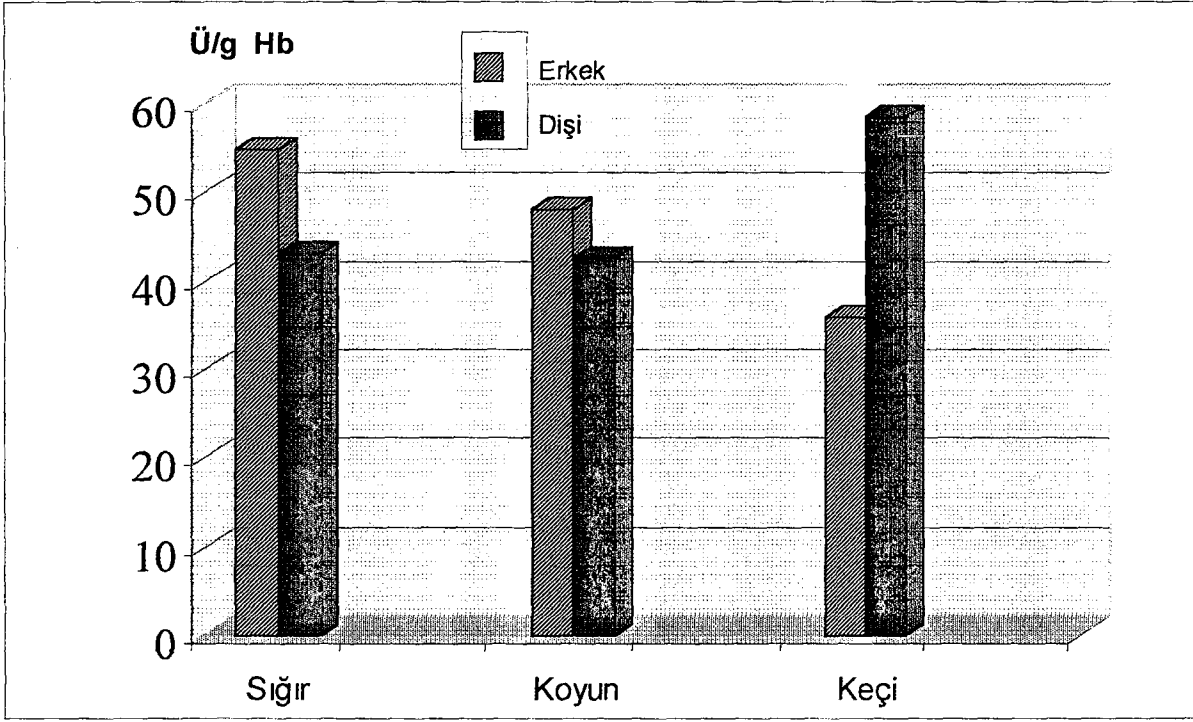
	Sığır				Koyun				Keçi			
	Erkek		Dişi		Erkek		Dişi		Erkek		Dişi	
	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max
GSH-Px	21,73	88,27	26,89	69,25	16	104,5	20,1	81,5	13,97	81,13	32,95	74,49
CAT	57,89	119,1	53,89	138,5	48,6	106,6	10,9	86,5	24,85	149,9	20,03	128
MDA	1,99	3,98	1,4	4,06	1,92	3,39	1,4	4,5	1,03	4,94	1,99	5,84
AST	16,8	69,12	11,52	46,56	21,1	55,2	18,7	84,4	20,16	48,96	12,96	35,04
ALT	6,48	22,8	4,08	17,04	4,5	17,5	1,4	12,4	3,84	11,28	1,2	12,48
ALP	40,08	147	20,8	128,6	65,1	187,8	3	75,1	31,73	181,1	20,87	135,2
Hb	8,12	15,62	6,21	15,55	7,24	14,1	5,55	17,42	6,61	11,58	4,22	11,25
% V Htc	22	46	21	48	24	41	20	38	22	37	22	40

GSH-Px : Ü/gHb (eritrosit), CAT : 1×10^4 Ü/gHb (eritrosit), MDA : nmol/ml plazma, AST : Ü/L (serum)
ALT : Ü/L (serum), ALP : Ü/L (serum) Hb : gr/dl, Htc : % Hacim

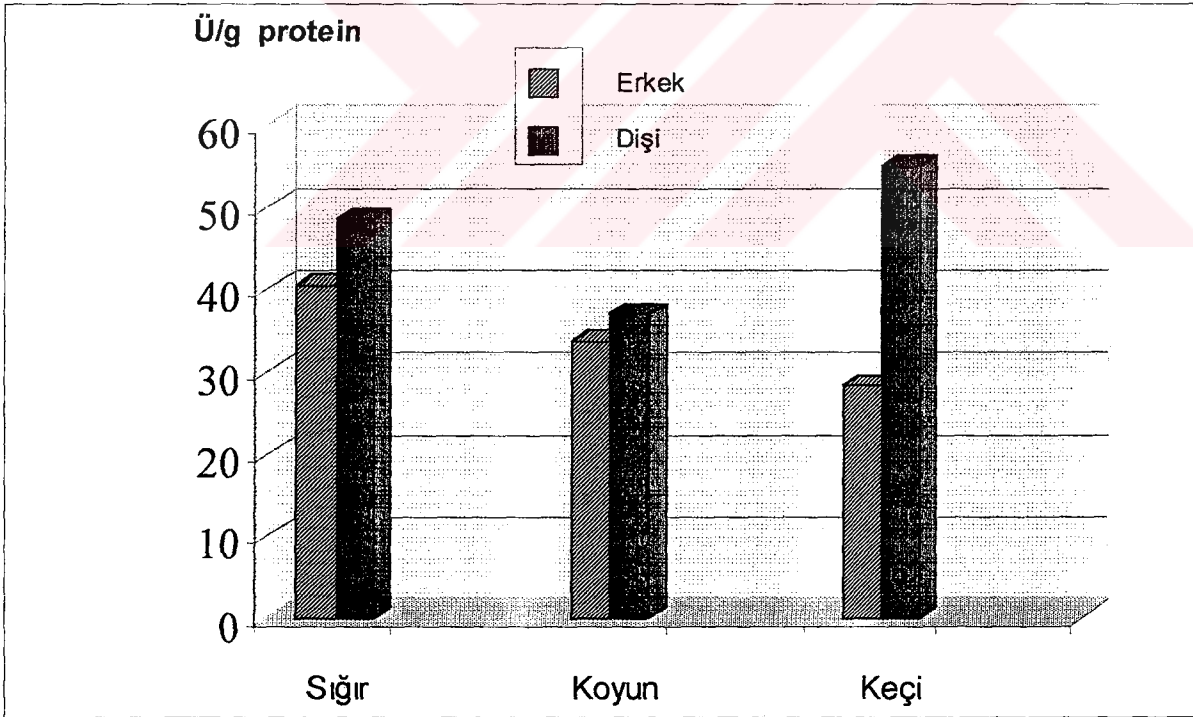
Tablo 34 : Sığır, Koyun ve Keçilerin Karaciğer Dokusunda Tespit Edilen Çeşitli Biyokimyasal Parametrelerin Cinsiyetlere Göre Sınırları

	Sığır				Koyun				Keçi			
	Erkek		Dişi		Erkek		Dişi		Erkek		Dişi	
	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max
GSH-Px	26,65	52,05	25,16	58,27	26,31	42,67	23,25	49,1	16,27	43,48	34,48	70,57
CAT	36,25	75,7	48,77	68	48,78	59,78	58,98	77,03	34,36	68,39	45,65	71,03
MDA	23,5	61,4	25,7	47,4	45,4	63,2	26,1	64,1	24,8	85,4	32,7	82,8
AST	2,88	13,2	2,4	8,4	5,04	13,56	2,2	3,36	5,76	10,08	6,48	20,04
ALT	0,14	0,46	0,17	0,32	0,14	0,42	0,09	0,74	0,07	0,91	0,01	0,7
ALP	33,9	196	28	230	53,98	280	80	269,9	70,89	325,9	60	236
Protein	9,5	19,5	10,5	14,5	11	36	13	18	11,5	14,25	11,75	18,5

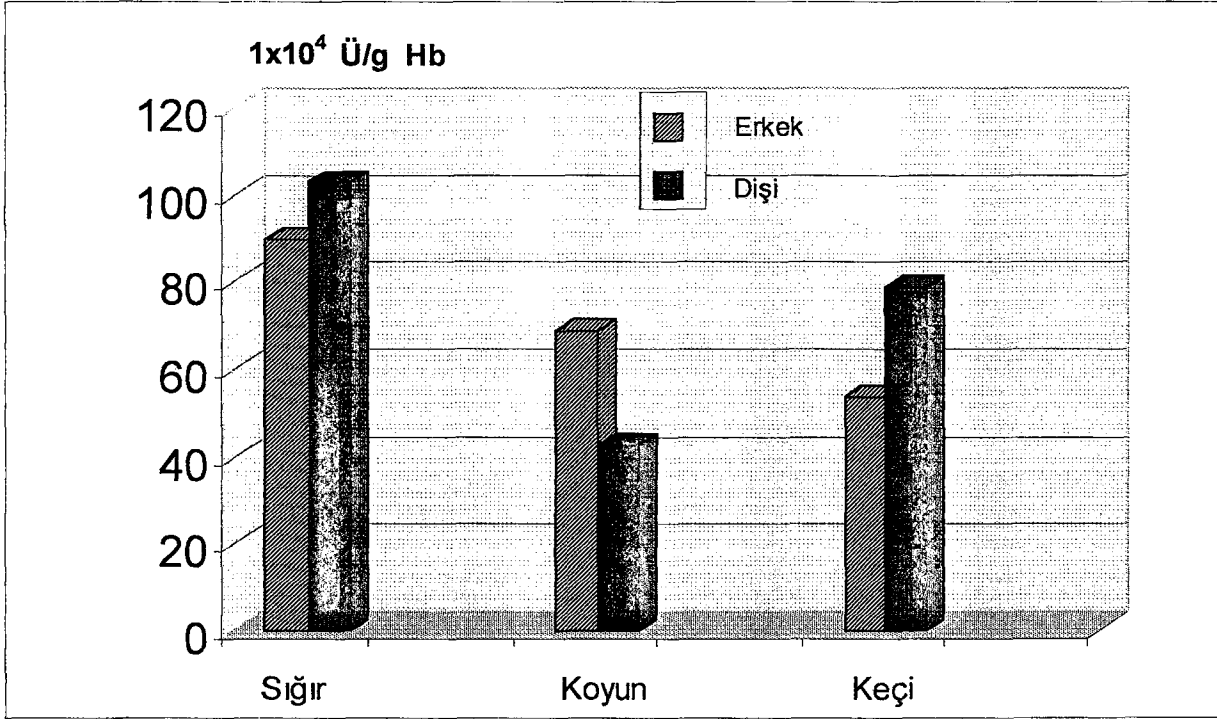
GSH-Px : Ü/g protein, CAT : Ü/ mg protein, MDA : nmol MDA/g yaş doku, AST : Ü/g yaş doku,
ALT : Ü/g yaş doku, ALP : Ü/g yaş doku, Protein : mg/ml



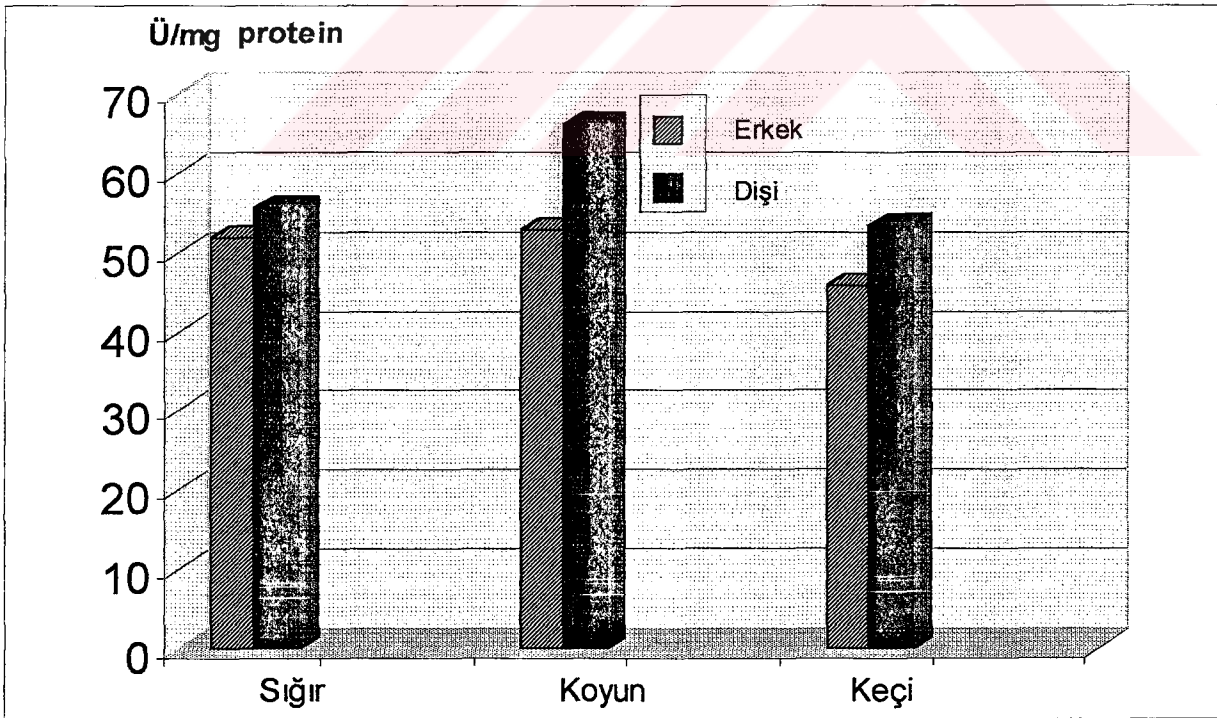
Şekil13: Türlerle Göre Erkek ve Dişilerde Eritrosit GSH-Px Düzeylerindeki Değişiklikler



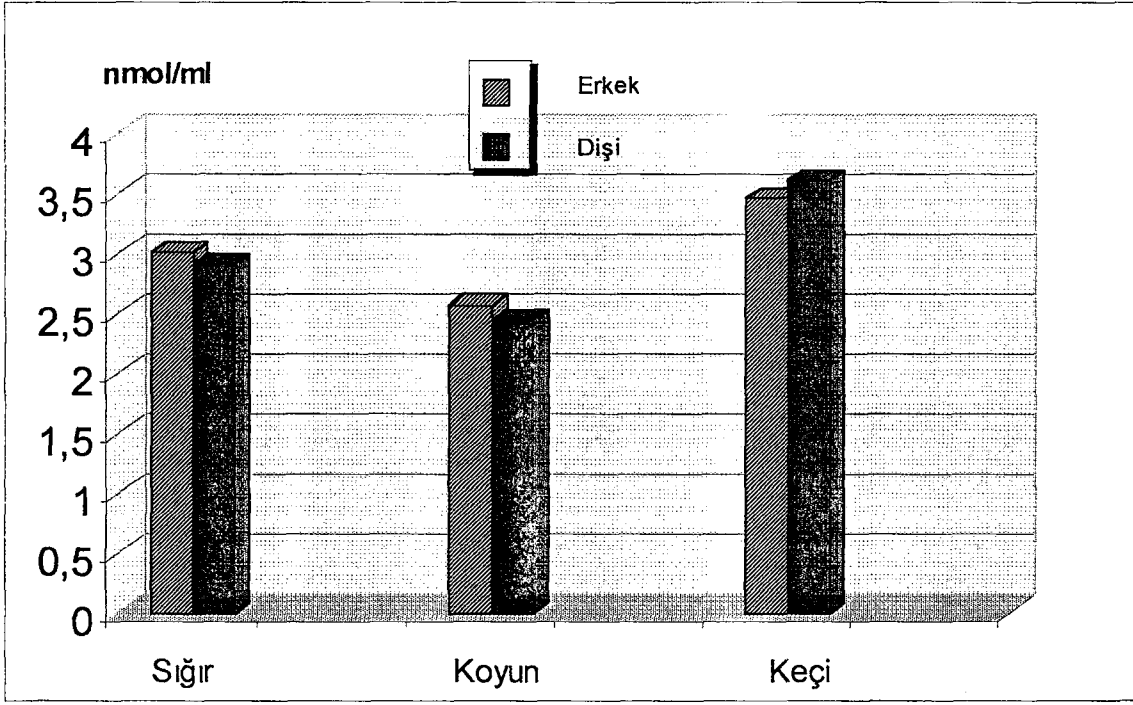
Şekil14: Türlerle Göre Erkek ve Dişilerde Karaciğer Dokusu GSH-Px Düzeylerindeki Değişiklikler



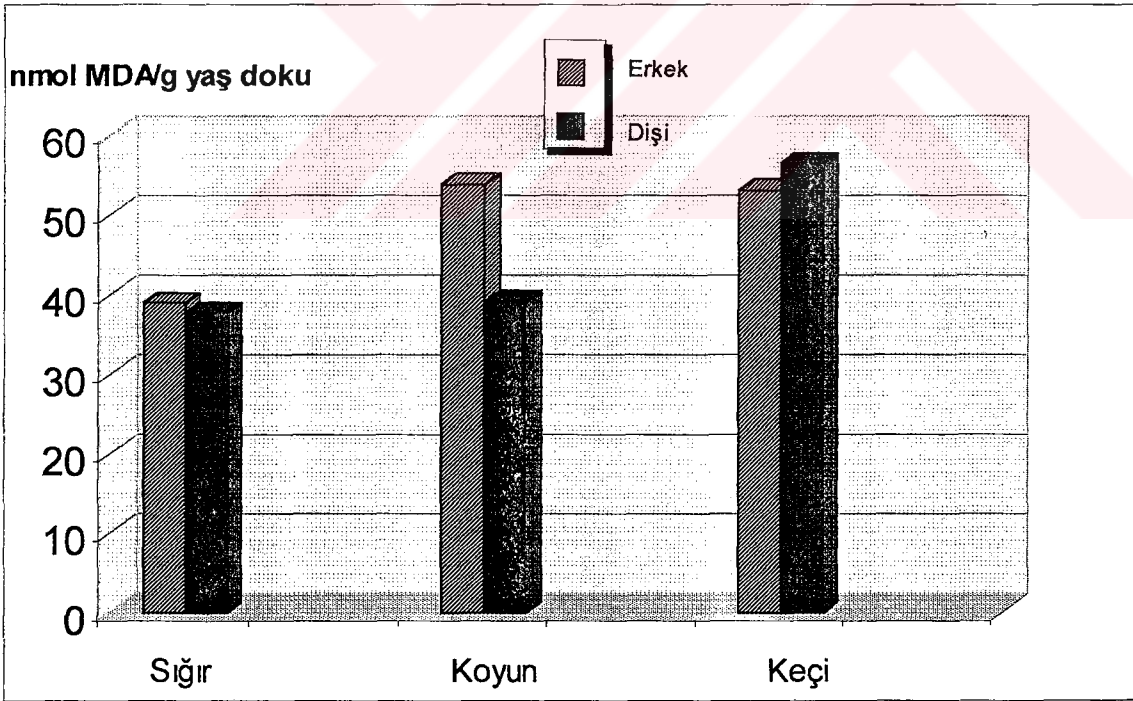
Şekil15: Türlerle Göre Erkek ve Dişilerde Eritrosit CAT Düzeylerindeki Değişiklikler



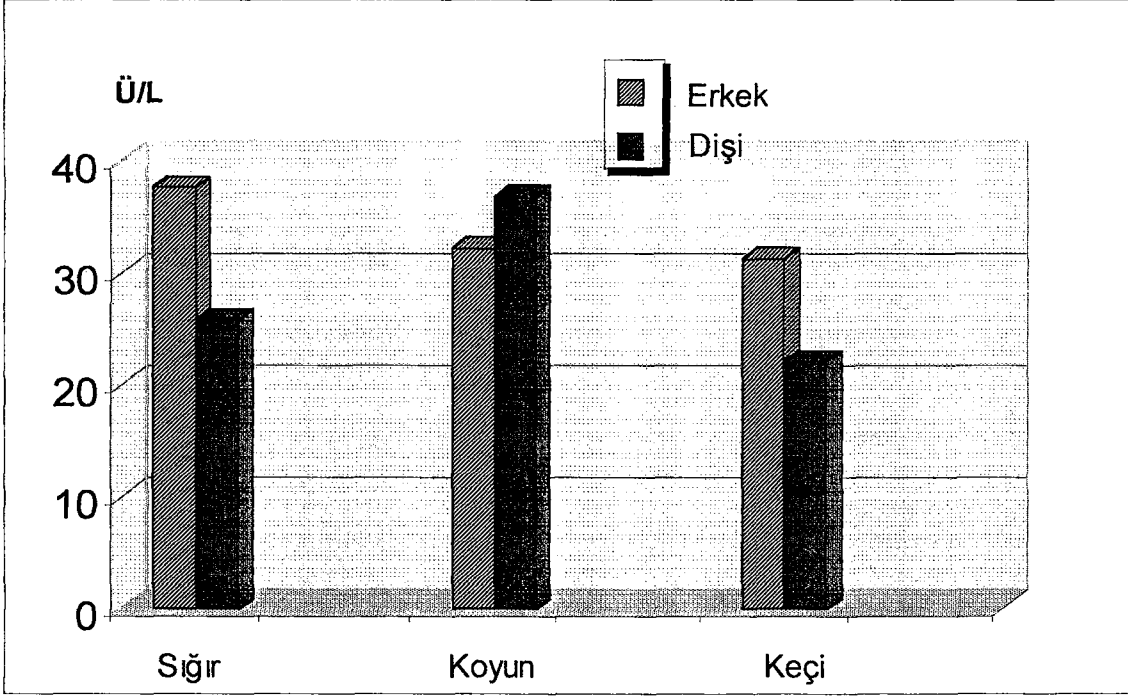
Şekil16: Türlerle Göre Erkek ve Dişilerde Karaciğer Dokusu CAT Düzeylerindeki Değişiklikler



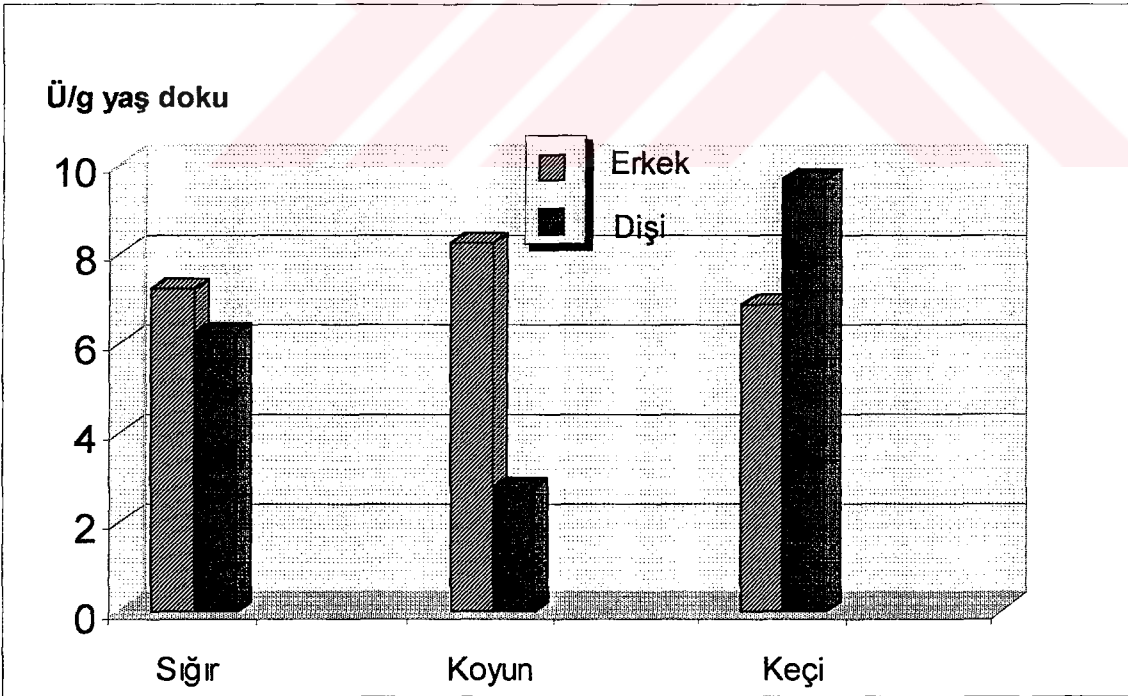
Şekil 17: Türlerle Göre Erkek ve Dişilerde Plazma MDA Düzeylerindeki Değişiklikler



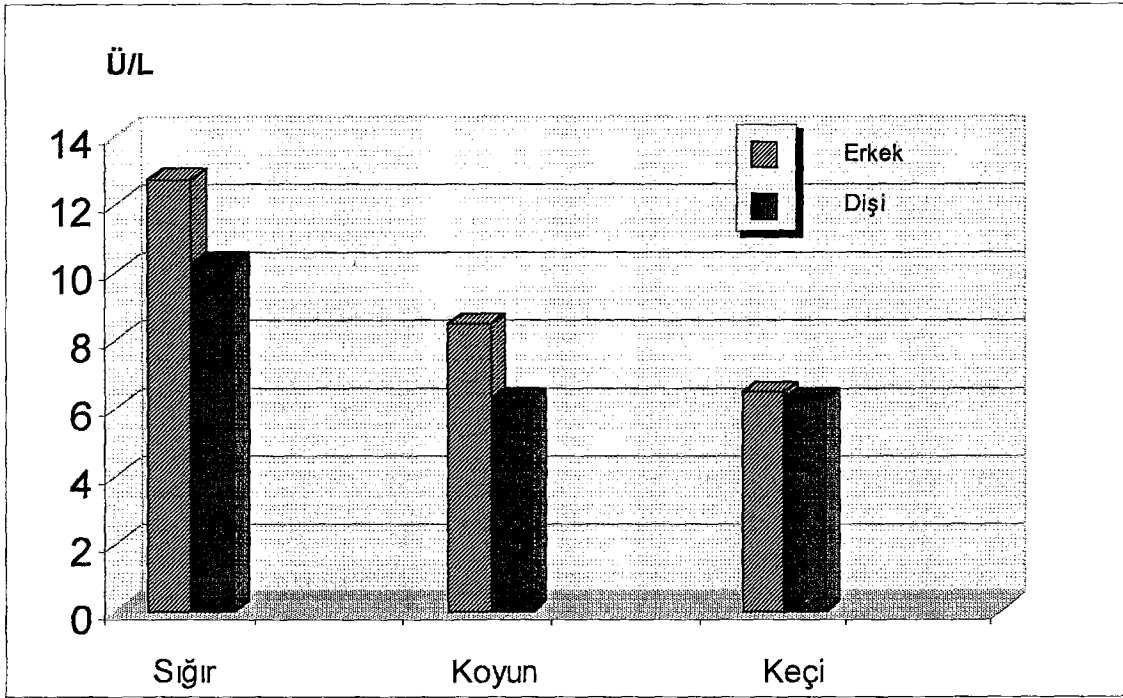
Şekil 18: Türlerle Göre Erkek ve Dişilerde Karaciğer Dokusu MDA Düzeylerindeki Değişiklikler



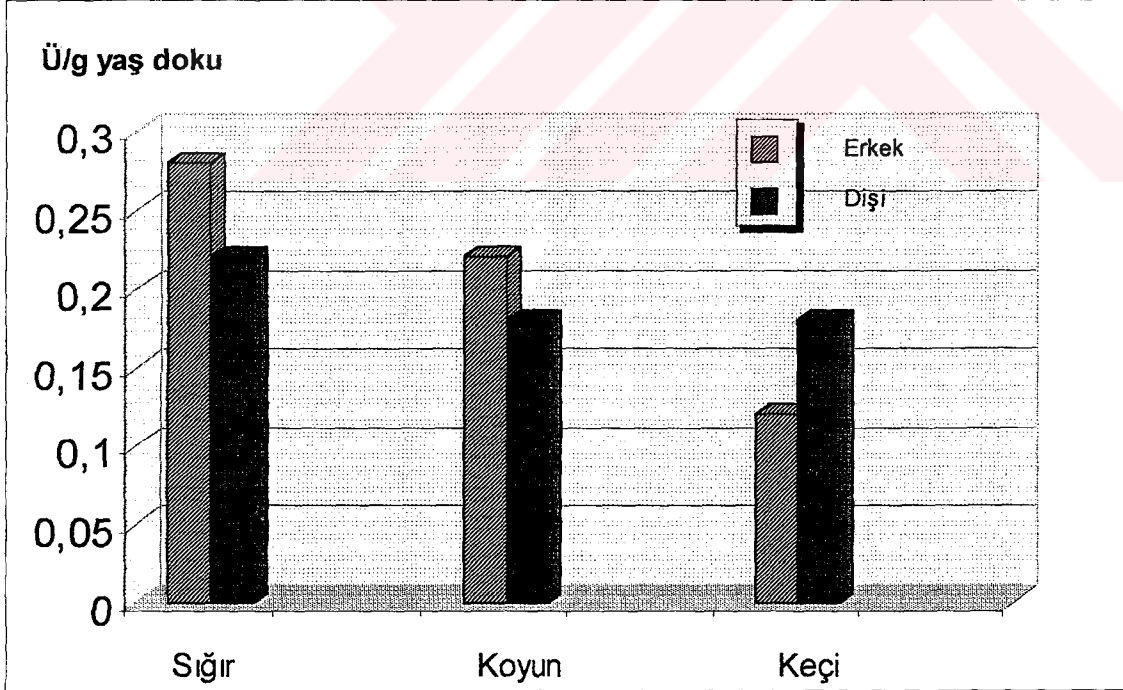
Şekil 19: Türler'e Göre Erkek ve Dişilerde Serum AST Düzeylerindeki Değişiklikler



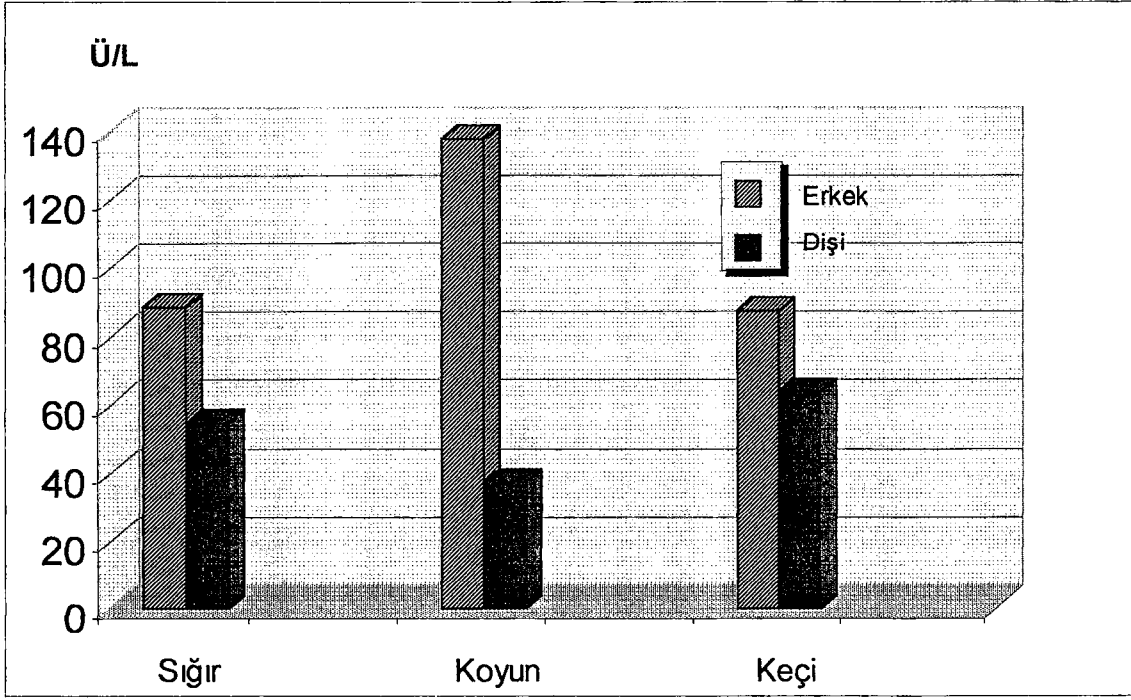
Şekil 20: Türler'e Göre Erkek ve Dişilerde Karaciğer Dokusu AST Düzeylerindeki Değişiklikler



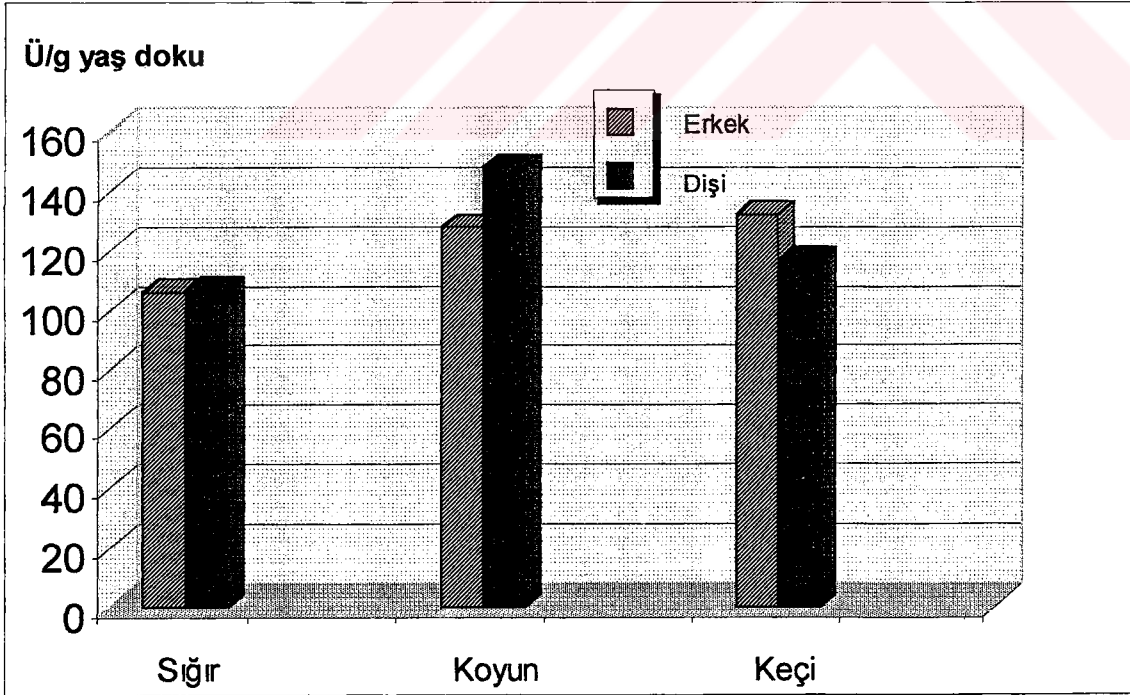
Şekil 21: Türlele Göre Erkek ve Dişilerde Serum ALT Düzeylerindeki Değişiklikler



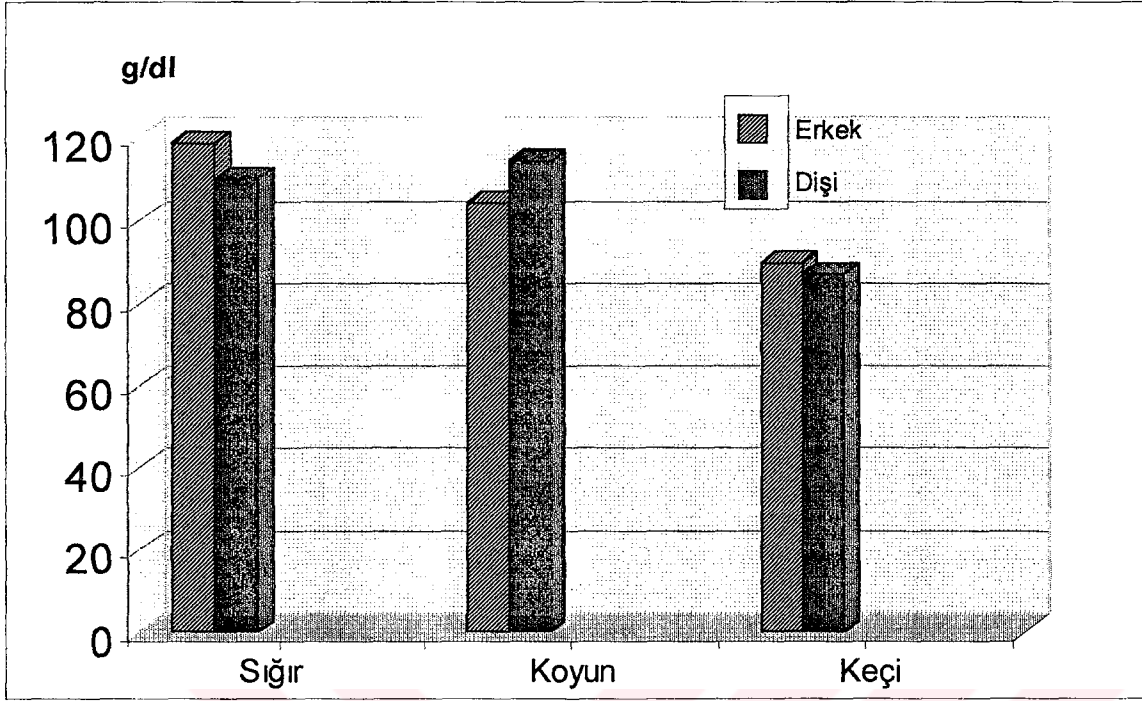
Şekil 22: Türlele Göre Erkek ve Dişilerde Karaciğer Dokusu ALT Düzeylerindeki Değişiklikler



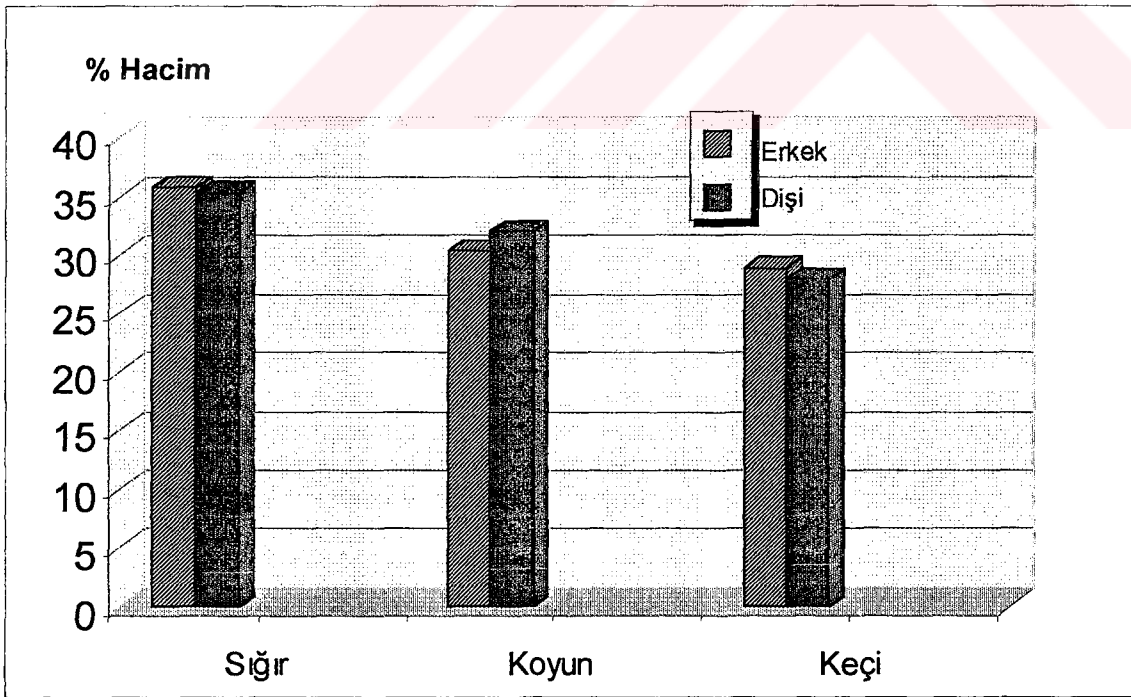
Şekil 23: Türlerle Göre Erkek ve Dişilerde Serum ALP Düzeylerindeki Değişiklikler



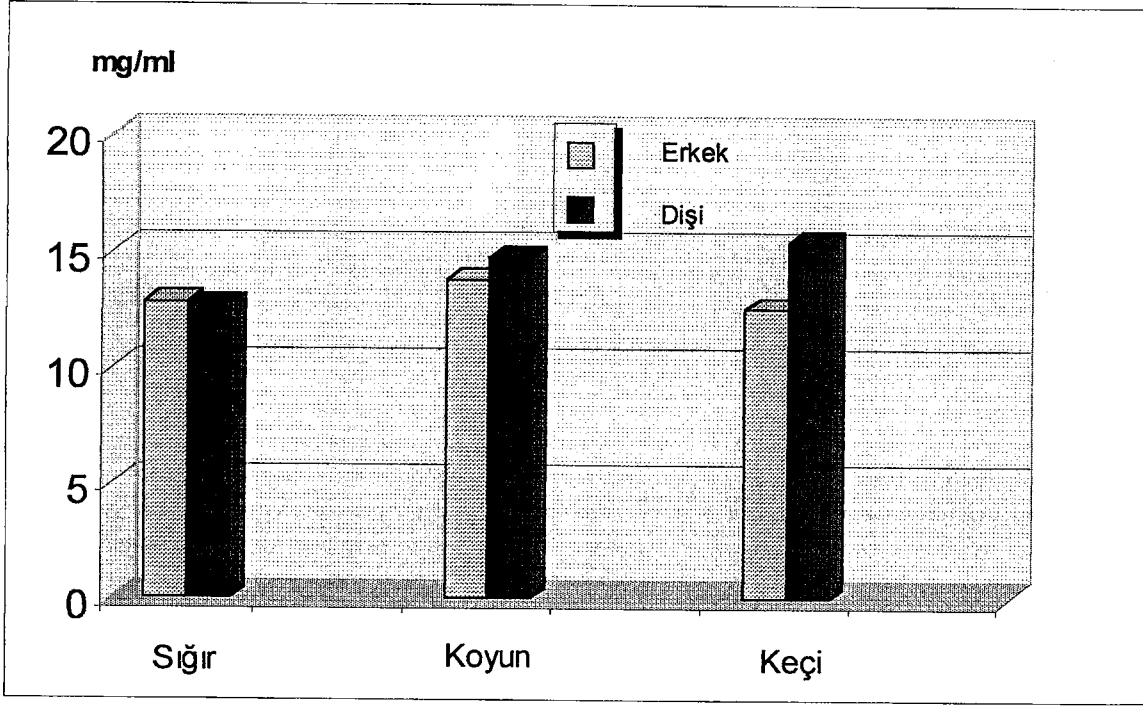
Şekil 24: Türlerle Göre Erkek ve Dişilerde Karaciğer Dokusu ALP Düzeylerindeki Değişiklikler



Şekil 25: Türlele Göre Erkek ve Dişilerde Hemogloblin Düzeylerindeki Değişiklikler



Şekil 26: Türlele Göre Erkek ve Dişilerde Hematokrit Düzeylerindeki Değişiklikler



Şekil 27: Türlerine Göre Erkek ve Dişilerde Karaciğer Dokusu Protein Düzeylerindeki Değişiklikler

7.TARTIŞMA ve SONUÇ

Son yıllarda dünya nüfusunda meydana gelen artış ve 2000'li yıllarda Türkiyenin ulaşacağı 100 milyon rakamı, beslenme konusuna daha dikkatlice eğilmek zorunda olduğumuzu göstermektedir. Fizyolojik faaliyetleri düzenli ve sağlıklı bir bedene sahip olmak için dengeli beslenmek gereklidir. İnsan beslenmesinde ise hayvansal kökenli gıdalar önemli yer tutmaktadır (6).

Çeşitli hastalıkların teşhisi, prognozu ve tedavilerinin kontrolü bakımından şüpheli durumlarda klinikçinin başvuracağı kaynak biyokimyasal verilerdir. Biyokimyasal çalışmalarda elde edilen değerlerin artışı veya azalışı çeşitli hastalıkların teşhisinde klinikçiye önemli ip uçları vermektedir (45,66). Erken sağaltım ve profilaktik önlemlerin alınarak ekonomik kayıpların önlenmesi için erken ve doğru tanı zorunludur. Bunun da kolay ve güvenilir bir şekilde kan serumunda bazı enzim aktivitelerinin belirlenmesi ile sağlanabileceği bildirilmektedir (45,116). Serum enzim aktivitelerinin referans değerleri, ırk, yaş, egzersiz, gebelik, laktasyon ve özellikle ölçüm metoduna bağlı olarak büyük farklılıklar göstermektedir (64,116). Bir klinikçinin, herhangi bir diagnostik amaçla serum enzim aktivitelerini yorumlaması için, enzimlerin organik orjinleri, serumdaki normal düzeyleri ile biyokimyasal ve biyofiziksel karakteristikleri hakkında bir takım bilgilere sahip olması gerekmektedir (66).

Serbest radikaller son yıllarda üzerinde en çok durulan ve araştırmaların yoğunlaştığı bir konudur. Serbest radikallerin hücrel kaynakları, rol oynadıkları reaksiyonlar ve serbest radikallere karşı hücrel savunma mekanizmalarının açıklığa kavuşması, bugün bilinmeyen pek çok klinik durumun patogeneze açıklık getirecektir (78). Bu nedenle, hücrel sistemlerde güçlü ROS kaynaklarının tespit edilmesi çok önemlidir (41,47,105).

GSH'u, GSSG'a dönüştüren GSH-Px' in, H_2O_2 ' in indirgenmesinde ve lipid peroksidasyonunun sona ermesinde diğer enzimlerle birlikte görev yaptığı yapılan araştırmalarda tespit edilmiştir (39,40). GSH-Px, predominant olarak sitozolde yer alan, GSH redoks döngüsündeki anahtar enzimdir. GSH-Px, H_2O_2 'i redükte eden bir sistem olarak CAT'ı tamamlar (24,54). GSH-Px aktivitesinin, yaşa, mevsime, diyete, GSH-Px üzerine belli elementlerin antagonistik etkisine, diyetel Se'un kullanılabilirliğine, E vitamini düzeylerine, toprağın yapısına, pH'sına ve içermiş

olduğu kalsiyum, fosfor, nitrojen, demir ve sülfat gibi belli elementlere bağlı olarak önemli derecede değişken olabileceği gösterilmiştir (26,70,88,94,102).

GSH-Px'in substrat spesifisitesine dayanan, genellikle Se bağımlı ve Se bağımsız enzimler olarak tanımlanan iki tipi vardır. H_2O_2 sadece Se bağımlı enzimle ilgili GSH-Px aktivitesini tespit edebilir. Se-bağımsız GSH-Px, H_2O_2 ile tepkimeye girmez, organik hidroperoksit substratlarıyla aktivite gösterir. Total GSH-Px aktivitesi tayininde ise hem Se bağımlı hem de Se bağımsız enzimleri aktive eden t-BOOH kullanılır(71,91,101). Bu araştırmada GSH-Px enzim tayini için t-BOOH kullanılmış, dolayısıyla total GSH-Px aktivitesi ölçülmüştür.

Samson ve ark. (97) Ram ve Allan dağındaki yabani koyunlarda, veteriner laboratuvarındaki ve hayvanat bahçesindeki evcil koyunlarda, Alberta bölgesi keçilerinde, evcil ve yabani dağ keçilerinde, ilaveten evcil ineklerde GSH-Px enzim aktivitelerini rapor etmişler ve GSH-Px aktivitesinin minimum ve maksimum değerlerini yabani Ram dağı koyunlarında 6.03 - 31.84 U/g Hb, Allan dağı koyunlarında 18.66 - 54.43 U/g Hb, veteriner laboratuvarı evcil koyunlarında 47.10 - 56.76 U/g Hb, hayvanat bahçesi koyunlarında 15.14 - 37.27 U/g Hb, Alberta bölgesi keçilerinde 18.00 - 51.00 U/g Hb, yabani keçilerde 12.40 - 124.30 U/g Hb, evcil keçilerde 165.00 - 220.00 U/g Hb ve evcil ineklerde 9.00 - 66.00 U/g Hb olarak bildirmişlerdir. Buna göre, dağ keçilerinin GSH-Px aktivitesini Ram dağı ve hayvanat bahçesi koyunlarınınkinden önemli derecede yüksek bulmuşlar ($p<0.05$), koyunlardaki GSH-Px aktivitesini ise evcil inekler için bulunandan daha düşük tespit etmişlerdir.

Scholz ve ark. (102) kan GSH-Px aktivitesini buzağılarda 20 - 50 U/gHb, Wilson ve ark. (123) koyunlarda 2 - 50 U/g Hb, sığırlarda ise 2 - 30 U/gHb olarak rapor etmişlerdir. Ozan ve ark. (89), sağlıklı sığırlarda ortalama eritrosit GSH-Px aktivitesini 75.62 ± 4.62 U/gHb, Allen ve ark.(3) sağlıklı koyunlarda GSH-Px aktivitesini 48 - 68 U/gHb bildirmişlerdir.

Bu çalışmamızda sığır, koyun ve keçilerin erkek ve dişilerinde ortalama eritrosit GSH-Px aktiviteleri sırasıyla 54.81 ± 2.93 (21.73 -88.27) U/g Hb, 43.10 ± 1.96 (26.89 - 69.25) U/g Hb, 48.09 ± 3.94 (16 - 104.5) U/g Hb, 42.49 ± 2.57 (20.1 - 81.5) U/g Hb, 35.84 ± 3.23 (13.97 - 81.13) U/g Hb, 58.50 ± 2.27 (32.95 - 74.49) U/g Hb bulunmuştur. Elde ettiğimiz sonuçlar yukarıdaki sonuçları desteklemektedir. Eritrosit

GSH-Px aktivitelerindeki ufak farklılıkların nedeni ise, büyük ihtimalle her laboratuvar tarafından farklı bir ölçüm metodunun kullanılmasıdır.

Araştırmamızda , eritrosit GSH-Px aktivitesinin tür ve cinsiyet faktöründen etkilendiği, en yüksek eritrosit GSH-Px düzeylerinin ise dişi keçilerde bulunduğu tespit edilmiştir.

GSH-Px çeşitli hayvan dokularından izole edilmiş ve bu enzim aktivitesi dokular ve türler arasında önemli farklılıkta bulunmuştur (61,70,91,101,102). Doku ve tür farklılıkları nedeniyle, Ganther ve ark.(48) bir hayvan türünden diğerine GSH-Px aktivitesinin tespit edilen sonuçlarına karşı uyarılmışlardır. Ayrıca GSH-Px analiz metotlarında laboratuvarlar arası büyük farklılıklar olduğundan, kesin aktivitelerinin karşılaştırılmalarında dikkatli olunmalıdır.Farklı dokularda GSH-Px aktivitesi ratlarda (70), kümes hayvanlarında (88) ve koyunlarda (71) bildirilmiştir. Ancak bu araştırmaların çoğunda, doku GSH-Px aktivite tayini için sadece lipid hidroperoksit substratları kullanılmıştır. Kontrollü koşullar altında sığırlar için özellikle de bu türlerin gençleri için benzer veriler sınırlıdır (102).

Lawrence ve Burk (71) koyun karaciğerindeki total GSH-Px'in % 81'inin Se bağımsız olduğunu bildirmişlerdir. Mevcut deneyler, buzağılarda, Se bağımlı ve bağımsız GSH-Px aktivitesinin dağılımında belirli dokularda farklılıklar ortaya çıkarmıştır. Karaciğer, akciğer, adrenal glandlar, testisler, böbrek medullası ve böbrek korteksinin de dahil olduğu dokular her iki enzimi de ihtiva ederler. Buzağı dalağı, kardiyak kasları, eritrositleri,beyni, timusu, adipoz dokusu ve çizgili kasları sadece Se bağımlı GSH-Px ihtiva etmektedir (101).

Reffett ve ark. (94) demir ilaveli diyetle beslenen kuzuların karaciğerinde Se-bağımlı GSH-Px'in azaldığını, Se-bağımsız GSH-Px'in ise arttığını rapor etmişlerdir. Demir akciğer ve dalakta GSH-Px aktivitesini etkilememiş, ancak karaciğerdeki GSH-Px formunu değiştirmiştir.

Sohn ve ark. (109) kontrol grubu ratlarda akciğer GSH-Px aktivitesinin $68.6 \times 10^3 \pm 0.9$ U/g prot. , Hansen ve ark. (57) kuzularda akciğer GSH-Px aktivitesinin 44.5 ± 8.0 U/mg DNA, Reffett ve ark. ise (94) kuzularda karaciğer total GSH-Px aktivitesinin 133 U/g protein , Se-bağımlı GSH-Px aktivitesinin 71 U/g protein ve Se-bağımsız GSH-Px aktivitesinin 61 U/g protein olduğunu belirtmişlerdir.

Holovska ve ark. (61) aynı bölgenin temiz ve kirli meralarında yetiştirilen koyunların karaciğer, böbrek ve akciğerlerinde antioksidan enzim aktivitelerine bakmışlar ve yüksek oranda serbest radikal üreten dokulardan biri olması, yüksek

metabolik kabiliyeti ve detoksifiye kapasitesi nedeniyle aktiviteleri karaciğerde gözlemişlerdir. Temiz meralarda yetiştirilen koyunların karaciğer GSH-Px aktivitesini 50 U/g protein, kirli meralarda yetiştirilen koyunların karaciğer GSH-Px aktivitesini 98 U/g protein olarak rapor etmişlerdir.

Araştırmamızda sağlıklı sığır, koyun ve keçilerin erkek ve dişilerinde karaciğer dokusu GSH-Px aktivitesinin ortalama değerleri sırasıyla 40.44 ± 1.30 (26.65 - 52.05) U/g protein, 48.57 ± 1.57 (25.16 - 58.27) U/g protein, 33.66 ± 1.01 (26.31 ± 42.67) U/g protein, 36.90 ± 1.25 (23.25 ± 49.1) U/g protein, 28.11 ± 1.62 (16.27 ± 43.48) U/g protein, 54.91 ± 1.69 (34.48 ± 70.57) U/g protein olarak tespit edilmiştir. Bulgularımız Reffett ve ark.'nın ve Holovska ve ark.'nın bulgularıyla paralellik göstermiştir. Ancak sığır ve keçilerde karaciğer dokusu GSH-Px aktivitesiyle ilgili literatürlere rastlanamamış bu nedenle elde edilen verileri karşılaştırma olanağı olmamıştır.

Bu çalışmada karaciğer dokusu GSH-Px aktivitesinin tür ve cinsiyet faktöründen etkilendiği, en yüksek karaciğer GSH-Px düzeylerinin ise dişi keçilerde olduğu saptanmıştır.

H₂O₂ ve diğer hidrojen donörleri yıkılımını katalizleyen CAT enzimi, eritrosit, karaciğer ve böbreklerde daha yüksek aktivitelerde olmak üzere insanların ve hayvanların tüm hücre ve organlarında hemen hemen mevcuttur (24,56). Yapılan araştırmalarda CAT ve GSH-Px' in karaciğerdeki ve diğer dokulardaki H₂O₂ için yarıştığı gösterilmiştir (60,94). Bu nedenle GSH-Px düzeyleri düşük olursa, doku stres altındayken CAT artabilir. CAT, H₂O₂ için düşük affiniteye ancak yüksek kapasiteye sahiptir ve bu sayede H₂O₂ oluşum oranlarını daha önemli oranlarda azaltır(94). İlerleyen yıllarda elde edilen bilgiler, farklı dokuların antioksidan aktivitesinin, oksidan saldırılarına farklı şekillerde karşı durduğunu göstermiştir. Glutasyon redoks döngüsü, düşük düzeydeki oksidan strese karşı korunmanın en önemli kaynağıdır. Oysa CAT, şiddetli oksidan strese karşı korunmada çok önemli olur (60,94).

Gaal ve ark. (46) gebe olmayan Merinos koyunlarında, üç günlük perhizden sonra tekrar yem verilmesinin bazı kan metabolitleri ve lipid peroksidasyonu üzerine etkilerini araştırmışlar, diyet esnasında hemolizatta CAT'ın sürekli olarak arttığını rapor etmişlerdir. Merinos koyunlarında CAT bazal değerini ise 68.15 ± 4.09 U/gHb olarak saptamışlardır.

Araştırmamızda koyunların erkek ve dişilerinde eritrosit CAT aktiviteleri sırasıyla 68.71 ± 1.83 (48.6 - 106.6) U/gHb ve 42.47 ± 2.48 (10.9 - 86.5) U/gHb bulunmuştur. Elde ettiğimiz bu bulgu Gaal ve ark.'nın bulgularıyla uyum sağlamıştır. Eritrosit CAT aktivitesinin sığırların erkek ve dişilerinde sırasıyla 89.72 ± 2.69 (57.89 - 119.1) U/gHb ve 102.82 ± 2.96 (53.89 - 138.5) U/gHb iken keçilerin erkek ve dişilerinde sırasıyla 53.47 ± 4.10 (24.85 - 149.9) U/gHb ve 78.69 ± 3.98 (20.03 - 128) U/gHb olduğu tespit edilmiştir. Ancak sığır ve keçi türleri için normal değerlerle ilgili literatürlere rastlanamamış ve elde ettiğimiz verileri karşılaştırma olanağı bulunamamıştır.

Araştırmada eritrosit CAT aktivitesinin tür ve cinsiyet faktöründen etkilendiği, en yüksek eritrosit CAT aktivitesinin ise dişi sığırlarda bulunduğu belirlenmiştir.

Daryani ve ark. (30) 26 erişkin koyunda akciğer ve karaciğer lipid peroksidasyonu ile CAT aktivitesi üzerine yanığın etkilerini araştırmışlar ve doku CAT aktivitesinin yanıktan sonra akciğer ve karaciğerde kontrollere göre önemli derecede azaldığını bildirmişlerdir. Kontrol grubu koyunlarında karaciğer CAT aktivitesini 193 ± 63 k(sec⁻¹)/ 0.5 gm doku olarak tespit etmişlerdir.

Reffett ve ark. (94) 24 adet iğdiş edilmiş kuzuda, oksidatif doku hasarının önlenmesinde görevli enzim aktiviteleri ve lipid peroksidasyonu üzerine diyetle yüksek oranda demir alınmasının uzun süreli etkilerini araştırmışlar ve sadece akciğer dokusu CAT aktivitesinde artış tespit ederken karaciğer dokusu CAT aktivitesindeki artışı önemsiz bulmuşlardır. Kontrol grubu karaciğer dokusu CAT aktivitesini 2486 U/g yaş doku olarak rapor etmişlerdir.

Nemccsok ve ark. (83) hava keseleri yangılı sazan balıkları üzerine yaptıkları araştırmada, hastalıklı balıklarda, hava kesesi CAT aktivitesinde 2 kat artış olduğunu bildirmişlerdir.

Araştırmamızda sığır, koyun ve keçilerin erkek ve dişilerinde karaciğer dokusu CAT aktiviteleri sırasıyla 51.81 ± 2.14 (36.25 - 75.7) U/mg protein, 48.57 ± 1.57 (48.77 - 68) U/mg protein, 52.99 ± 0.59 (48.78 - 59.78) U/mg protein, 66.08 ± 1.00 (58.98 - 77.03) U/mg protein, 45.83 ± 1.84 (34.36 - 68.39) U/mg protein, 53.31 ± 1.36 (45.65 - 71.03) U/mg protein olarak bulunmuştur. Ayrıca karaciğer dokusu CAT aktivitesinin tür ve cinsiyet faktöründen etkilendiği, en yüksek karaciğer CAT aktivitesinin ise dişi koyunlarda bulunduğu tespit edilmiştir.

Ancak her 3 türe ait hayvanlar için normal değerlerle ilgili yeterli literatür verisine rastlanılmadığı için ve mevcut literatürlerde de farklı laboratuvar metotları kullanıldığı için elde edilen verileri karşılaştırma imkanı bulunamamıştır.

Bir radikal zincir reaksiyonu olan lipid peroksidasyonu, poliansature yağ asitlerinin oksidatif bozulması şeklinde tanımlanmaktadır. Biyolojik membranlarda lipid peroksidasyonunun oluşması, membran fonksiyonlarının bozulmasına, akışkanlığın azalmasına, membrana bağlı reseptörlerin ve enzimlerin inaktivasyonuna ve Ca^{+2} gibi iyonlara karşı non spesifik permeabilitenin artmasına yol açmaktadır (42,93). Rat karaciğerinden elde edilen mikrozomal fraksiyonların NADPH'in sebep olduğu lipid peroksidasyonu sırasında, spesifik membran fosfolipidlerinin harap olduğu May ve Mc Cay (76) tarafından gösterilmiştir.

Serbest radikallerle indüklenen lipid peroksidasyonu, hücre membranı hasarında, aterosklerozda, kanser ve yaşlanmada etiyolojik bir faktör olarak öne sürülmektedir (2,23,24). Biyolojik numunelerdeki serbest radikal aktivitesinin ve lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak en yaygın ve kolay uygulanan metotlardan birisi TBA metodudur. Bu metot lipid peroksidasyonunun aldehid ürünlerinden biri olan MDA ile TBA'nın reaksiyonu temeline dayanır. MDA ölçümü lipid peroksidasyonu ve dolayısıyla oksidan stresin göstergesi olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (35,50,87,93). Yüksek plazma MDA düzeyinin, membran lipid peroksidasyonundaki bir artışla veya antioksidan savunma sisteminin zayıflamasıyla ilgili olduğu kaydedilmiştir (50,93).

Bildik ve ark. (14) tavşanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada akut ve kronik dozda karbontetraklorürün (CCl_4) lipid peroksidasyonu üzerine etkilerini araştırmışlar ve kontrol grubu tavşanlarında MDA düzeylerini 3.29 ± 0.39 nmol/ml rapor etmişlerdir. Gaal ve ark. (46) 8 Merinos koyununda yapmış oldukları bir araştırmada, açlığın derhal kan glikozunda azalmaya, plazma serbest yağ asidi, total lipid, total kolesterol, üre ve MDA düzeylerinde ise artışa neden olduğunu bildirmişler ve koyunların bazal plazma MDA değerlerini 1.49 ± 0.11 nmol/ml bulmuşlardır.

Ak ve ark. (2) sağlıklı insanlarda plazma MDA düzeylerini 1.35 ± 0.41 nmol/ml, Köse ve ark. (68) ise kontrol grubu ratlarda eritrosit MDA düzeylerini 1.71 ± 0.37 nmol MDA/gHb bildirmişlerdir.

Bu çalışmamızda sığır, koyun ve keçilerin, erkek ve dişilerinde plazma MDA düzeyleri sırasıyla 3.01 ± 0.1 (1.99 - 3.98) nmol/ml, 2.91 ± 0.14 (1.4 - 4.06) nmol/ml,

2.57 ± 0.07 (1.92 - 3.39) nmol/ml, 2.44 ± 0.14 (1.4 - 4.5) nmol/ml, 3.46 ± 0.17 (1.03 - 4.94) nmol/ml, 3.61 ± 0.16 (1.99 - 5.84) nmol/ml saptanmıştır. Koyunlarda elde ettiğimiz bulgu Gaal ve ark.'nın bulgularını desteklemektedir. Sığır ve keçi türleri için normal değerlerle ilgili literatür verilerine rastlanmadığı için elde edilen verileri karşılaştırma imkanı bulunamamıştır.

Araştırmamızda plazma MDA düzeylerinin tür faktöründen etkilenirken cinsiyet faktöründen etkilenmediği, en yüksek plazma MDA düzeylerinin ise dişi keçilerde bulunduğu tespit edilmiştir.

Urbanova karaciğerin lipid peroksidasyonunun tespiti için en uygun doku olduğunu ortaya koymuştur (117). Peroksidasyonun erken safhalarında ilerleyen bir şekilde MDA üretildiği, bu nedenle bu safhaların teşhisinde MDA tespitinin çok değerli olacağı belirtilmiş (93,108) ve karaciğer lipid peroksidasyonu ile karaciğer hücre hasarı arasında bir bağlantı olduğu gösterilmiştir (30).

Seekamp ve ark. (103) koyunlarda endotoksinlerin neden olduğu akciğer hasarında, lipid peroksidasyonunun hasta hayvanlarda kontrollere göre arttığını ve kontrol grubu koyunlarda akciğer MDA düzeylerinin 42 ± 7 nmol MDA/g doku olduğunu bildirmişlerdir. Refrett ve ark. (94) yüksek oranda demir içeren diyetle beslenen kuzularda, demirin karaciğerde lipid peroksidasyonunu artırmadığını ve normal karaciğer MDA düzeylerinin 0.41 ± 0.07 nmol MDA/mg protein olduğunu tespit etmişlerdir.

Daryani ve ark. (30) 26 erişkin koyunda akciğer ve karaciğer lipid peroksidasyonu üzerine yanık ve endotoksinlerin etkilerini araştırmışlar ve kontrollerle karşılaştırıldığında, hasta grupta akciğer ve karaciğer dokusu MDA düzeylerinin daha yüksek olduğunu bildirmişler, kontrol grubu akciğer ve karaciğer dokusu MDA düzeylerini ise sırasıyla 42 ± 7 nmol MDA/g doku ve 110 ± 20 nmol MDA/g doku bulmuşlardır.

Nemcsok ve ark. (83) sazan balıklarında hava kesesi yangısında serbest radikallerin rolünü araştırdıklarında, hastalıklı balıkların hava kesesinde lipid peroksidasyonunun 3 kat artmış olduğunu, solungaç, karaciğer ve beyindeki düzeylerinde ise önemli bir değişiklik bulunmadığını rapor etmişlerdir. Bu araştırmacılar tarafından kontrol grubu balıkların karaciğer dokusu MDA düzeylerinin 48 - 50 nmol MDA/g yaş doku olduğu gösterilmiştir.

Bu çalışmamızda sığır, koyun ve keçilerin erkek ve dişilerinde karaciğer dokusu MDA düzeyleri için sırasıyla, 38.87 ± 1.83 (23.5 - 61.4) nmol MDA/g yaş doku, 37.57 ± 1.23 (25.7 - 47.4) nmol MDA/g yaş doku, 53.74 ± 1.04 (45.4 - 63.2) nmol MDA/g yaş doku, 38.95 ± 1.82 (26.1 - 64.1) nmol MDA/g yaş doku, 53.03 ± 3.3 (24.8 - 85.4) nmol MDA/g yaş doku, 56.28 ± 2.69 (32.7 - 82.8) nmol MDA/g yaş doku sonuçları ortaya konulmuştur.

Koyunlarda elde edilen bulgular Seekamp ve ark. ile Refrett ve ark. 'nın bulgularını desteklemektedir. Ancak sığır ve keçi türüne ait hayvanlar için normal değerlerle ilgili literatür verilerine rastlanamadığı için elde edilen verileri karşılaştırma imkanı bulunamamıştır.

Araştırmamızda, karaciğer dokusu MDA düzeyleri bakımından her üç tür arasında önemli farklılıklar oluşurken, cinsiyet faktörünün sadece koyun türünde etkili olduğu, en yüksek karaciğer MDA düzeylerinin ise dişi keçilerde bulunduğu tespit edilmiştir.

Transaminazlar ketoasitlerin aminoasitlere çevrilmesini katalizleyen enzimlerdir. AST ve ALT hayvansal dokularda bulunan önemli transaminaz enzimleridir (1,11,127). Diagnostik önemi olan ve çevreye adaptasyon ölçüsü olarak kullanılabilen transferaz aktivitelerinin hastalıkların yanısıra yaş, ırk, beslenme durumu, çevre, gebelik ve mevsimsel değişiklikler gibi faktörlerden de etkilendiği pek çok çalışmayla gösterilmiştir (10,51,62,77,119).

Sağlıklı süt ineklerinde AST değerini Sel ve ark.(104), 37.7 ± 2.56 IU/L, Yılmaz ve ark.(126) sağlıklı sığırlarda serum AST değerini 32.35 (21.25 - 57.5) IU/L olarak tespit etmişlerdir. Koyunlarda, Keller (66) 23.9 ± 17.4 IU/L AST, Wright ve ark.(124), 30.27 ± 4.87 IU/L AST, Bayşu ve ark.(10), $18.2 - 24.9$ IU/L AST aktivitesi bildirmişlerdir Chhabra ve Mehta (25) erkek toklularda serum AST aktivitesini 14.9 ± 9.9 (7.2- 36) IU/L bildirmişlerdir.

Araştırmamızda, sığır, koyun ve keçilerin erkek ve dişilerinde serum AST düzeyleri sırasıyla, 37.53 ± 2.02 (16.8 - 69.12) IU/L, 25.77 ± 1.15 (11.52 - 46.56) IU/L, 32.11 ± 1.30 (21.1 - 55.2) IU/L , 36.79 ± 1.71 (18.7 - 84.4) IU/L, 31.20 ± 0.87 (20.16 - 48.96) IU/L, 22.03 ± 0.80 (12.96 - 35.04) IU/L bulunmuştur. Sığır ve koyunlarda elde edilen bulgular literatür bulgularını desteklemektedir. Keçilerin kan serumunda AST değerine ilişkin literatür verisine rastlanamamış bu nedenle karşılaştırma olanağı olmamıştır.

Bu çalışmada serum AST aktivitesinin tür ve cinsiyet faktöründen etkilendiği, en yüksek serum AST aktivitesinin ise erkek sığırlarda bulunduğu tespit edilmiştir.

ALT en çok karaciğerde, daha az olarak iskelet kası, böbrek ve kalpte bulunur, geniş travma ve kas hastalıklarında çok az yükselir (11,127). Karaciğer, metabolizmanın ana kontrol organıdır. Serum AST ve ALT karaciğer için spesifik enzimlerdir. Akut karaciğer hastalıklarında, hücre zarının yıkımı veya hücre nekrozu sonucunda AST ve ALT'nin plazmadaki aktiviteleri artar(127).

Normal koyunlarda serum ALT düzeyini, Abderhalden (1) 7.6 (2.4–14.4) IU/L , Bayşu ve ark.(10) ise 2.8 – 5.2 IU/L arasında bulmuşlardır.

Wright ve ark.(124) normal sığırların serumlarında 6.2 (3.3 – 9.1) IU/L ALT , Sel ve ark.(104) sağlıklı süt ineklerinin serumlarında 7.1 ± 0.56 IU/L ALT aktivitesi tespit etmişlerdir.

Chhabra ve Mehta (25) erkek toklularda, serumda ALT'nin 6.8 ± 5.2 (4.3 –9.6) IU/L 'lik , Özdemir ve ark. (90) koyunlarda serumda ALT'nin 10.92 ± 2.44 IU/L'lik aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir.

Güldür ve ark. (53) sağlıklı sığır ve koyun serumlarında sırasıyla 15.3 ± 5.8 IU/L ALT ve 9.9 ± 3.7 IU/L ALT aktivitesi rapor etmişlerdir.

Bu çalışmada sığır, koyun ve keçilerin erkek ve dişilerinde serum ALT düzeyleri sırasıyla , 12.62 ± 0.75 (6.48 - 22.8)IU/L, 10.24 ± 0.57 (4.08 - 17.04) IU/L, 8.45 ± 0.35 (4.5 - 17.5) IU/L, 6.23 ± 0.35 (1.4 -12.4) IU/L, 6.43 ± 0.22 (3.84 - 11.28) IU/L, 6.27 ± 0.34 (1.2 - 12.48) IU/L bulunmuştur.

Bulgularımız yukarıdaki araştırmacıların bulgularıyla uyum içerisindedir. Keçilerin kan serumunda ALT değerine ilişkin literatür verisine ratlanamamış bu nedenle elde edilen verileri karşılaştırma olanağı bulunamamıştır.

Araştırmamızda, serum ALT aktivitesinin tür ve cinsiyet faktöründen etkilendiği, en yüksek serum ALT altivitesinin ise erkek sığırlarda bulunduğu tespit edilmiştir.

Hayvanların verim özelliklerinin ortaya çıkartılmasında, biyokimyasal çalışmalardan kıymetli bilgiler elde edilebilmektedir. Özellikle regülasyon mekanizmasında rol oynayan enzimler, çeşitli özellikleri belirten önemli faktörlerdir (49). Bir çok araştırmacılar, hayvanların kimi verim özellikleri ile, kan ve dokulardaki çeşitli enzimlerin aktiviteleri arasında pozitif korelasyonlar bulmuşlardır (38,49,69). ALP'de bu enzimler arasında bulunmaktadır.

Fletcher ve ark.(38), Krüger ve Lukanc (69), kan serumundaki ALP değeri ile sığırların canlı ağırlık artışı arasında pozitif bir korelasyon olduğunu bildirmektedirler. Normal ALP düzeyi sınırlarının oldukça geniş olduğu ve bir çok türde 300IU/L'ya kadar normal olduğu belirtilmiştir (67).

Lode (72) keçilerde yapmış olduğu araştırmalarda , ALP'nin genetik olarak kontrol edildiğini göstermiş ve Norveç keçilerindeki serum ALP 'sinin ,geniş sınırlar içinde değiştiğini ve bunun da 2 - 38 Sigma Ünitesi olduğunu bildirmiştir.

Öte yandan , Castro ve ark.(22) da dişi Pygmy keçilerinde, ortalama serum ALP değerini 48.9 IU/L, Güldür ve ark.(53) normal sığır ve koyunlarda serum ALP değerini sırasıyla 78.5 ± 25.1 IU/L ve 103.5 ± 36.7 IU/L bulmuşlardır.

Gücüs ve ark.(51) Akkaraman koyunlarında serumda 65.66 ± 19.80 IU/L ALP, Ankara keçilerinde 65.04 ± 18.46 IU/L ALP ve Özdemir ve ark. (90) Akkaraman toklularında 152.73 ± 18.60 IU/L ALP, Healy ve ark. (58) kuzularda 96 ± 21 IU/L ALP aktivitesi rapor etmişlerdir.

Sağlam ineklerde ortalama serum ALP değerini Nizamlıoğlu ve ark.(84) 39.44 ± 3.97 IU/L, Sel ve ark.(104) 24.88 ± 3.17 IU/L bildirmişler , sığırlarda serum ALP değerini Batmaz ve ark.(9) 89.80 ± 8.79 U/L rapor etmişlerdir.

Bu çalışmada sığır, koyun ve keçilerin erkek ve dişilerinde serum ALP düzeyleri sırasıyla , 88.43 ± 4.97 (40.08 -147) IU/L, 54.40 ± 3.60 (20.08 - 128.6) IU/L, 137.6 ± 5.53 (65.1 - 187.8) IU/L, 37.20 ± 2.88 (3 - 75.1) IU/L, 87.48 ± 6.05 (31.73 -181.1) IU/L, 63.57 ± 4.51 (20.87 - 135.2) IU/L saptanmıştır. Elde edilen bulgular yukarıdaki araştırmacıların bulgularını desteklemektedir.

Araştırmada, serum ALP aktivitesinin tür ve cinsiyet faktöründen etkilendiği, en yüksek serum ALP düzeylerinin ise erkek koyunlarda bulunduğu tespit edilmiştir.

Baetz ve ark. (7) sığır fötusunda gebelik dönemlerine bağlı olarak doku enzim modellerinde meydana gelen değişiklikleri incelemişler, doku AST ve ALT aktivitelerinin gebeliğin ilerlemesiyle büyük değişiklik gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Karaciğer, böbrek, dalak ve eritrosit AST aktivitesinin fetal yaşla birlikte azaldığını, oysa, kalp, beyin ve iskelet kası ALT aktivitesinin ve adrenal , beyin ve iskelet kası AST aktivitesinin fetal yaşla birlikte arttığını rapor etmişlerdir.

Keller ve ark. (66) klinik olarak normal koyunların, böbrek korteksinde önemli ALP aktivitesi saptamışlar, karaciğer ve beyinde düşük fakat ölçülebilir düzeyde ALP aktivitesi olduğunu ancak iskelet kası ve myokardiyumda hemen hemen hiç ALP

aktivitesi bulunmadığını bildirmişlerdir. AST'nin ise iskelet kası (57.9 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$) ve myokardiyumda (57.7 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$) maksimum aktivitede olmak üzere hemen her yerde mevcut olduğunu ve diğer organlarda da teşhis açısından önemli AST aktivitesi bulunduğunu göstermişlerdir.

Bu çalışmada sığır, koyun ve keçilerin erkek ve dişilerinde saptanan karaciğer dokusu AST, ALT,ALP düzeylerini (Tablo.27,28,29), söz konusu türlerle ilgili literatür verilerine rastlanmadığı için karşılaştırma olanağı olmamıştır.

En yüksek karaciğer AST düzeyi dişi keçilerde, en yüksek ALT düzeyi erkek sığırlarda ve en yüksek ALP düzeyi dişi koyunlarda saptanmıştır.

Cinsiyet faktörü sığırlarda sadece ALT, koyun ve keçilerde ise sadece AST düzeyleri üzerine etkili olmuştur.Tür faktörü sığır, koyun ve keçilerin erkeklerinde ALP, dişilerinde ise ALT düzeyleri üzerine etkili bulunmamıştır.

Hayvanların hematolojik muayeneleri, sağlık ve hastalık hallerinin belirlenmesi için önemli bir kriterdir. Hastalık hallerinde hematolojik değerlerde bir takım değişiklikler meydana gelmektedir. Öte yandan hayvanlar sağlıklı olduğu zaman bile fizyolojik olarak hematolojik değerlerde bazı değişiklikler görülmektedir. Ayrıca hayvan ırkı, cinsiyet, mevsim, yaş, coğrafik yerleşim gibi faktörlerde hematolojik değerler üzerinde etkili olmaktadır (62,116). Sağlıklı hayvanların hematolojik muayenelerinde, hayvanın çalışma kabiliyeti, verim yeteneği ve beslenme durumu belirgin şekilde açığa çıkar. Hastalıklarda ise diğer klinik metotlar yanında, hematolojik muayeneler tanı için büyük bir yardımcıdır ve hastalığın seyri izlenerek sağlığının uygunluğunu anlamada büyük önem taşır (5,15,29).

Htc, kan hücreleri hacminin kan hacmine oranıdır. Htc değer plazma hacmine, alyuvarların şekline ve büyüklüğüne bağlıdır (62). Alyuvarlar bileşimlerindeki Hb aracılığıyla işlev görürler. Hb eritrositlerin içerisinde bulunan ve demir kapsayan bir bileşik proteindir. Fizyolojik fonksiyonu O_2 ve CO_2 'nin taşınmasıdır. Alyuvar sayılarının azalması ile birlikte Hb konsantrasyonu da düşer. Hb değerinin ölçülmesiyle bir aneminin varlığını saptamak mümkündür (62). Alyuvar sayısı, Hb miktarı ve Htc değerinin ilerleyen yaş ile azaldığı, dişi oğlaklarda erkeklerden bir miktar yüksek olduğu soğukta metabolizmanın artmasından dolayı değerlerin kışın yüksek , yazın düşük olduğu belirtilmektedir (116).

Sel ve ark.(104) süt ineklerinde ortalama % V Htc değerini 30.4 ± 2.0 , Hb değerlerini $10.09 \pm 0.6 \text{ gr}/\text{dl}$, Ozan ve ark. (89) Elazığ ve yöresi sığırlarında ortalama

% V Htc değerini 28.73 ± 0.69 , Hb değerini 12.13 ± 0.43 gr/dl, Ası(5) Elazığ yöresi tosunlarına ait Hb değerini 9.0 ± 0.23 (4.4 -13.7) gr/dl arasında bulmuşlardır.

Mert (79) buzağılarda %V Htc değerini 36.0 ± 1.7 , Gül ve ark. (52) danalarda %V Htc değerini 30.8 ± 1.9 (19 - 42), Hb değerini 11.0 ± 0.5 (8.6 - 14) gr/dl saptamışlardır.

Çamaş (29) Ankara keçilerinde ortalama Hb değerini 9.45 ± 0.12 (7.3 -11.93) gr/dl, Türkoğlu (116) Elazığ yöresi Kıl keçisi dişi oğlaklarında % V Htc değerini 29.3 - 33.7, Hb değerini 9.2 - 11.4 gr/dl arasında bulmuşlardır.

Bildik ve ark.(15) % V Htc değerini Hamdani koçlarında 36 ± 1.3 (33 - 39), Hamdani koyunlarında ise, 33 ± 0.37 (30 - 37), Tiğın ve ark.(113) erkek Akkaraman koyunlarında %V Htc değerini 31.5 - 36.2 bildirmişlerdir.

Araştırmamızda sığır, koyun ve keçilerin erkek ve dişilerinde %V Htc değerleri sırasıyla, 35.74 ± 0.85 (22 - 46), 35.33 ± 1.04 (21 - 48), 30.26 ± 0.55 (24 -41), 31.94 ± 0.56 (20 - 38), 28.85 ± 0.47 (22 - 37), 27.92 ± 0.80 (22 - 40) , sığır, koyun ve keçilerin erkek ve dişilerinde Hb değerleri ise sırasıyla 11.86 ± 0.29 (8.12 - 15.62) gr/dl, 11.08 ± 0.32 (6.21 - 15.55) gr/dl, 10.42 ± 0.20 (7.24 - 14.1) gr/dl , 11.42 ± 0.28 (5.55 - 17.42) gr/dl, 8.96 ± 0.13 (6.61 - 11.58) gr/dl, 8.70 ± 0.23 (4.22 - 11.25) gr/dl bulunmuştur.

Çalışmada, sağlıklı sığır, koyun ve keçilerin erkek ve dişilerinde bulunan %V Htc ve Hb değerleri, diğer araştırmacıların ki ile paralellik göstermektedir.

Bu araştırmada, % V Htc ve Hb düzeylerinin tür faktöründen etkilendiği, cinsiyet faktörünün sadece koyun türünde etkili olduğu, en yüksek % V Htc ve Hb düzeylerinin ise erkek sığırlarda bulunduğu tespit edilmiştir.

Çeşitli nedenlerden kaynaklanan patolojik durumların tanısında, hastalıkların seyri ve uygulanan sağıtımın, hayvanların fizyolojik ve beslenme durumunun izlenmesinde serum protein konsantrasyonlarının önem taşıdığı bilinmektedir. Diagnostik önemi olan ve çevreye adaptasyon ölçüsü olarak kullanılabilen serum proteinlerinin hastalıkların yanısıra yaş, ırk, beslenme durumu, çevre, gebelik ve mevsimsel değişiklikler gibi faktörlerden de etkilendiği gösterilmiştir (64,67,77). Plazma proteinlerinde normalden sapmalar bir grup patolojik olaylar sonunda ortaya çıkmaktadır. Çeşitli enfeksiyon hastalıkları, karaciğer bozuklukları, akut yangısal ve proliferatif olaylar, travma gibi doku bütünlüğüne zarar veren durumlar ve bir çok fizyolojik bozukluklar bu arada

sayılabilir.

Batmaz (8) normal sığırlarda 82.5 ± 1.8 mg/ml, Uyanık ve ark.(119) ineklerde 60.9 ± 2.2 mg/ml total protein düzeyi bildirmişlerdir.

Metabolizmanın en önemli organı olan karaciğer, disfonksiyonlarından özellikle, protein sentezinin inhibisyonundan doğrudan etkilenir. Bu nedenle karaciğer dokusu protein düzeylerinin ölçülmesi amaçlanmıştır.

Araştırmada sığır, koyun ve keçilerin erkek ve dişilerinde karaciğer dokusu protein düzeyleri sırasıyla 12.84 ± 0.44 (9.5 - 19.5) mg/ml, 12.73 ± 0.21 (10.5 - 14.5) mg/ml, 13.79 ± 0.88 (11 - 36) mg/ml, 14.76 ± 0.25 (13 - 18) mg/ml, 12.57 ± 0.16 (11.5 - 14.25) mg/ml, 15.43 ± 0.32 (11.75 - 18.5) mg/ml bulunmuştur.

Biyokimyasal parametrelerde meydana gelen değişikliklerin doğru değerlendirilebilmesi için klinik olarak sağlıklı hayvanlardaki değerlerin iyi bilinmesi gerekmektedir. Kan serumundaki ALP değeri ile sığırların canlı ağırlık artışı arasında pozitif bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (38,69). Öte yandan kandaki GSH düzeyleri ile hayvanların bazı verim özellikleri arasında ilişkiler bulunmuştur (106). Bu ise, GSH metabolizmasında önemli rol sahibi GSH-Px' in de çeşitli verim özellikleri bağlantılı olabileceğini akla getirmektedir.

Lipid peroksidasyonunun tespiti için en uygun dokunun karaciğer olduğu kaydedilmiştir (117). Memelilerde karaciğer, genellikle vücuttaki en yüksek GSH konsantrasyonlarına sahip olduğu için, GSH metabolizmasının merkezidir ve GSH'un interior sirkülasyon yoluyla diğer dokulara gitmesini sağlamaktadır. Total GSH içeriğindeki ve GSH-Px aktivitesindeki azalma karaciğer hastalıklarına iştirak edebilir. GSH-Px düzeyleri düşük olursa, doku stres altındayken CAT düzeyi artacaktır (94). GSH-Px'in dokularda, lipid peroksidasyonuna karşı, önemli bir koruyucu unsur olarak görev yapmakta olduğu, Flohe ve Zimmermann (39), Omaye ve Tappel (88), Chow ve ark.(26) tarafından gösterilmiştir.

Biyolojik bir antioksidan olan E vitamininin ve GSH-Px'in yapısına giren Se'un yetersizliğinde AST, ALT ve ALP gibi bazı enzim düzeylerinin ve lipid peroksidasyonunun arttığı, GSH-Px enzim düzeyinin azaldığı, bazı biyokimyasal ve hematolojik değerlerde değişikliklerin meydana geldiği, örn; alyuvar ve akyuvar sayılarında azalma, alyuvarların ozmotik direncinde azalma, eritrositlerin sedimentasyon hızında artma, dolayısıyla Htc ve Hb değerlerinde azalma olduğu, toplam protein düzeylerinin düştüğü belirlenmiştir (27,128).

Yukarıdaki neticelerden anlaşıldığı gibi, oksidatif stres durumunda GSH-Px, CAT ve klinik yönden önemli AST, ALT ve ALP aktivitelerinin, biyokimyasal ve hematolojik değerlerin hepsinde ya da bir kaçında aynı anda bir değişim beklenebilir. Antioksidan sistemlerin tür, organ, yaş, cinsiyet ve çevresel faktörlerden etkilendiği bilinmektedir (26,70,88). Nitekim bu araştırmada tür ve cinsiyet faktörlerinin etkisiyle bu parametrelerde önemli derecede farklılıklar olduğu anlaşılmaktadır. Bu farklılıkların sebebi, organizmaların aynı yaşam koşullarına farklı cevap vermeleriyle ilgili olabileceği gibi, türler ve cinsiyetler arasında farklı bir oksidan hasar mekanizmasının bulunmasıyla ya da eritrosit ve karaciğerde farklı konsantrasyonlarda bulunan H₂O₂ üzerine etki eden diğer endojen antioksidanların varlığıyla da ilgili olabilir. Sunulan çalışmada, antioksidan enzim aktivitelerinin ve MDA düzeylerinin dişi hayvanlarda erkeklerden, dişi keçilerde de diğer türlerden daha yüksek olduğu, cinsiyet ayrımı olmadan yapılan türler arası karşılaştırmalarda ise sığır türünde eritrosit GSH-Px ve CAT aktiviteleri ile karaciğer dokusu GSH-Px aktivitesinin koyun ve keçi türünden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Keçiler, sığırlara ve koyunlara göre kontrolü ve zaptedilmesi zor, dış uyarılara ani cevaplar veren daha atik hayvanlardır. Buradan hareketle dişilerin ve keçilerin oksidatif strese ve serbest radikal saldırılarına karşı daha hassas oldukları ve GSH-Px ve CAT aktivitesi yüksek olan türlerde, serbest radikal teşekkülünde yüksek düzeyde olabileceği, bu nedenle yüksek GSH-Px ve CAT aktivitesine ihtiyaç duyulmuş olabileceği söylenebilir.

Sonuç olarak ; sunulan çalışmada sığır, koyun ve keçilerin kan ve karaciğer dokusunda GSH-Px, CAT, AST, ALT, ve ALP aktivitelerinin, MDA, protein, Htc ve Hb düzeylerinin türlere ve cinsiyete göre farklılık gösterdiği saptanmıştır. Söz konusu parametrelerin, hayvan sağlığını korumak ve kontrol altına almak bakımından yapılacak daha ileri çalışmalara bir temel teşkil edeceği, erken teşhis, tedavi ve koruyucu hekimlikte klinik açıdan yararlı olacağı ve ülkemiz hayvancılığına olumlu katkılarda bulunacağı kanaatindeyiz.

ÖZET

Bu çalışmada, Elazığ ili ve çevresinde yetiştirilen ruminantların kan ve karaciğer dokusunda, antioksidan enzimlerden GSH-Px ve CAT'ın, lipid peroksidasyonu göstergelerinden biri olan MDA'in, klinik yönden önemli AST, ALT ve ALP aktivitelerinin, karaciğer dokusu protein düzeyi ile hemoglobin ve hematokritin normal değerleri araştırılmış, tür ve cinsiyet faktörlerinin bu parametrelere olan etkilerine bakılmıştır.

Araştırma materyalleri Elazığ ELET Tesislerine kesim için getirilen ve klinik ve postmortem muayene sonrası sağlıklı olduğu anlaşılan ruminantlardan temin edilmiştir. Hayvanlar önce sığır, koyun ve keçi olmak üzere 3 gruba, daha sonra her bir grup kendi arasında erkek ve dişi olmak üzere 2 alt gruba ayrılmıştır.

CAT ve GSH-Px aktivite tayininde Beutler, AST ve ALT aktivite tayininde Reitman ve Frankel, ALP aktivitesinin tayininde Bessey, Lowry ve Brock metodu, plazma MDA düzeyi tayininde Satoh ve Yagi'den modifiye edilen metot, doku MDA düzeyinin tayininde Ohkawa ve ark.nın geliştirdiği metot, protein tayininde Lowry, hemoglobin tayininde siyanomethemoglobin metodu kullanılmıştır.

Türler arasında yapılan karşılaştırmalarda, eritrosit GSH-Px aktivitesinde önemli bir değişiklik görülmezken, eritrosit CAT, serum AST, ALT ve ALP aktiviteleri ile, plazma MDA, kan hemoglobin ve hematokrit düzeyleri üzerine türün etkileri önemli bulunmuştur. Karaciğer dokusu GSH-Px, CAT, AST, ALT, ALP aktiviteleri, MDA ve protein düzeyleri bakımından da yine türler arasında önemli farklılıklar saptanmıştır. En yüksek eritrosit CAT ($p<0.001$) aktivitesi sığırlarda, en yüksek plazma MDA ($p<0.001$) düzeyleri ise keçilerde gözlenmiştir. Karaciğer dokusu için en yüksek GSH-Px ($p<0.001$) aktivitesi sığırlarda, en yüksek CAT ($p<0.001$) aktivitesi koyunlarda, en yüksek MDA ($p<0.001$) düzeyleri ise keçilerde saptanmıştır.

Tür içi yapılan karşılaştırmalarda, sığırlarda eritrosit GSH-Px ve CAT aktiviteleri, serum AST, ALT ve ALP aktiviteleri ile karaciğer GSH-Px ve ALT aktiviteleri üzerine cinsiyetin etkileri önemli bulunmuştur. Erkek sığırlarda eritrosit GSH-Px ($p<0.001$) aktivitesi, dişi sığırlarda ise eritrosit CAT ($p<0.001$) aktivitesi ile karaciğer dokusu GSH-Px ($p<0.001$) aktivitesi daha yüksek bulunmuştur. Koyunlarda eritrosit CAT aktivitesi, serum AST,ALT, ALP aktiviteleri, hemoglobin ve hematokrit düzeyleri, karaciğer dokusu GSH-Px, CAT ve AST aktiviteleri ile MDA düzeyleri bakımından erkek ve dişiler arasında önemli farklılıklar saptanmıştır. Eritrosit CAT

($p<0.001$) aktivitesi ve karaciğer dokusu MDA ($p<0.001$) düzeyi erkek koyunlarda, karaciğer dokusu GSH-Px ($p<0.01$) ve CAT ($p<0.001$) aktiviteleri ise dişi koyunlarda yüksek saptanmıştır. Erkek ve dişi keçiler arasında yapılan karşılaştırmalarda ise eritrosit GSH-Px ve CAT aktiviteleri, serum AST, ALP aktiviteleri, karaciğer GSH-Px, CAT ve AST aktiviteleri ile protein düzeyleri arasındaki farklılık önemli bulunmuştur. Özellikle keçi türünün dişilerinde hem eritrosit hem de karaciğer dokusu GSH-Px ($p<0.001$) ve CAT ($p<0.001$) aktivitelerinin erkeklere göre istatistiksel olarak önemli derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Bu araştırmada tür ve cinsiyet faktörlerinin etkisiyle söz konusu parametrelerde önemli derecede farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılıkların sebebi, organizmaların aynı yaşam koşullarına farklı cevap vermeleriyle ilgili olabileceği gibi, türler ve cinsiyetler arasında farklı bir oksidan hasar mekanizmasının bulunmasıyla ya da eritrosit ve karaciğerde farklı konsantrasyonlarda bulunan H_2O_2 üzerine etki eden diğer endojen antioksidanların varlığıyla da ilgili olabilir.

Sonuç olarak; söz konusu parametrelerin, hayvan sağlığını korumak ve kontrol altına almak bakımından yapılacak daha ileri çalışmalara bir temel teşkil edeceği, erken teşhis, tedavi ve koruyucu hekimlikte klinik açıdan yararlı olacağı ve ülkemiz hayvancılığına olumlu katkılarda bulunacağı kanaatindeyiz.

SUMMARY

In the present study, erythrocyte and liver antioxidant enzymes GSH-Px and CAT; plasma and liver MDA concentration, an indicator of lipid peroxidation; clinically important AST, ALT, and ALP enzyme activities in the liver and serum; liver protein, blood hemoglobin, and PVC concentrations of ruminants in Elaziğ and its vicinity were investigated. In addition, species and sex factors were also compared.

Samples were obtained in the Elaziğ ELET slaughter house from healthy ruminants determined based upon postmortem examination. The ruminants were divided into 3 groups as cattle, sheep, and goats, also into 2 subgroups as males and females.

The Beutler's method was used for measuring activities of CAT and GSH-Px; the method of Reitman and Frankel for activities of AST and ALT; the Bessey, Lowry and Brock methods for ALP activity; a modified method of Satoh and Yagi for plasma concentration of MDA; the Ohkawa et al. method for tissue MDA concentration; the Lowry method for protein concentration; and siyanomethemoglobin method for concentration of hemoglobin.

Species differences were observed for erythrocyte CAT; serum AST, ALT and ALP activities; and plasma MDA; blood hemoglobin, and PVC concentrations; but species differences were not found for erythrocyte GSH-Px activity. Liver samples of different species were also detected for GSH-Px, CAT, AST, ALT, and ALP activities, as well as MDA and protein concentrations. Cattle had the greatest CAT activity and liver GSH-Px activity, whereas goats had the greatest MDA plasma and liver concentration. Sheep also had the greatest liver CAT activity.

Sex differences within species manifested itself on erythrocyte GSH-Px and CAT activities, serum AST, ALT, and ALP activities, also liver GSH-Px and ALT activities of cattle. Erythrocyte GSH-Px activity in cattle was higher in males, whereas erythrocyte CAT activity and liver GSH-Px activity were found to be greater in females. In sheep, sex differences were seen on erythrocyte CAT activity, serum AST, ALT, and ALP activities; blood concentrations of hemoglobin and PVC; liver tissue activities of GSH-Px, CAT, and AST; and liver MDA concentrations. Erythrocyte CAT activity and liver MDA concentrations of rams while liver GSH-Px and CAT activities of sheep were greater. In addition, sex differences in goats were observed on erythrocyte activities of GSH-Px and CAT; serum AST and ALP activities; liver GSH-Px, CAT and AST activities, and liver protein concentrations.

Female goats had significantly greater both erythrocyte and liver GSH-Px and CAT activities.

Comparison of intra and inter species showed that species and sex have effects on these parameters in different degrees. Results of this study suggested that discrepancy of antioxidant levels between species and sexes may be due to a different response of different species to the same environment, as well as due to the presence of different oxidation mechanisms or the presence of endogenous antioxidant influencing H_2O_2 that different erythrocyte and liver concentrations.

In conclusion, the parameters measured herein provide important tools and bases for preventive medicine, control of animal health, as well as early diagnosis contributing to the development of the country's agriculture.



KAYNAKLAR

- 1-**Abderhalden,R.(1958)**. Klinische Enzymologie. Verlag Thieme,Stuttgart.
- 2-**Ak, H. Dingiloğlu, T.N. Habif, S. Kültürsay, H. Bayındır, O. Onat, T.(1996)**. Plasma Lipid Peroxides, Vitamin E, Superoxide Dismutase and Glutathione Alterations in Coronary Atherosclerosis. Tur k. J. Med. Sci.,26,11-15.
- 3-**Allen,J.G. Steele,P. Masters,H.G. and D'antuono,M.F.(1986)**. A Study of Nutritional Myopathy in Weaner Sheep. Australian Veterinary Journal., Vol.63,No.1,January.
- 4-**Ansari, H.N. Wang,L. Erwin, A.A. and Church, F.D. (1996)**. Glucose-Dependent Formation of Free Radical Species in Lens Homogenate. Biochemical and Molecular Medicine., 59,68-71.
- 5-**Ası,T. (1978)**. Normal ve Kene ile Enfeste Tosunlarda Kanda Hemoglobin ve Bilirubin Değerleri ile Transaminaz (GOT ve GPT) Aktiviteleri Yönünden Araştırmalar. İ.Ü.Vet.Fak. Derg., 4,(2), 9-13.
- 6-**Aytuğ,C.N. Alaçam, E. ve Görgül,S. (1989)**. Sığır Hastalıkları. TÖM-VET Hay. Hizm.Yay., Bursa.
- 7-**Baetz, A.L. Hubbert, W.T. and Graham, C.K. (1975)**. Changes of Tissue Enzyme Patterns in The Bovine Fetus with Gestational Age. Biol.Neonate., 26, 232-240.
- 8-**Batmaz,H. (1990)**. Klinik Olarak Normal Sığırlar İle Reticulo-Peritonitis Traumatica'lı Sığırların Teşhis ve Prognozunda Serum Protein Elektrofrezisi ve SGOT,SGPT İle LDH Enzim Düzeyleri Üzerinde Karşılaştırmalı Araştırmalar. Doğa Tr.J. of Veterinary and Animal Sciences., 14, 467-478.
- 9-**Batmaz, H. Çarlı, K.T. Mert, N. ve Müftüoğlu, A. (1992)**. Some Biochemical Parameters in Cattle With Enzootic Bovine Leucosis. Veterinarium., Cilt 3, Sayı 1, 27-29.
- 10-**Bayşu, N. (1975)**. Çeşitli Hayvanların (Tavşan, Köpek, Toklu, Dana, Merkep, At) Organik Fosforlu İnektisidlerle Zehirlenmeleri ve Bunun Çeşitli şekillerdeki Tedavileri Sırasında Serum Transaminaz (Glutamik Okzalasetik Transaminaz-GOT ve Glutamik Piruvik Transaminaz –GPT) Aktiviteleri ile Anorganik Fosfor Değerleri Yönünden Deneysel Çalışmalar.Ankara Üniv.Vet.Fak.Dergisi., 35-52.
- 11-**Benjamin, M.M. (1978)**. Outline of Veterinary Clinical Pathology. Third Ed. Colarado State University, U.S.A.

- 12-Bessey,O.A. Lowry, O.H. and Brock, M.J. (1946).** A Method for The Rapid Determination of Alkaline Phosphatase with Five Cubic Millimeters of Serum. J. Biol.Chem., 164, 321.
- 13-Beutler,E. (1975).** A Manual of Biochemical Methods.2nd Ed. Grunef Strottan, New York.
- 14-Bildik, A. Ertekin, E. Yur,F. ve Dede, S. (1997).** Karbon Tetraklorür Toksikasyonunun Lipid Peroksidasyonu , Glutasyon ve Vitamin C Üzerine Etkileri. Y.Y.Ü. Vet.Fak.Derg., 8, (1-2), 6-8.
- 15-Bildik, A. Yur, F. Belge, F. Değer,Y. ve Dede,S. (1997).** Hamdani Koyunlarında Bazı Kan Parametrelerinin Araştırılması. Vet.Bil.Derg.,13,1, 17-21.
- 16-Bors, W. Saran, M. Czapski,G. (1980).** In : Biological and Clinical Aspects of Superoxide and Superoxide Dismutase. N.Y.Elsevier / North Holland.
- 17-Boveris,A. (1977).** Mitochondrial Generation of Superoxide and Hydrogen Peroxide. Adv.Exp.Biol.Med., 78, 67.
- 18-Brody,EJ.(1988).** The Destructive Potential of Free Oxygen Radicals. International Herald Tribune., 2, 4-5.
- 19-Buchanan, JD. Armstrong, DA. (1978).** The Radiolysis of Glyceraldehyde-3-phosphate Dehydrogenase.Int.J.Radiat.Biol., 33,409.
- 20-Cadenas, E. (1989).** Biochemistry of Oxygen Toxicity. Annu. Rev. Biochem., 58, 79-110.
- 21-Capdevila, J. Parhill, L. Chacos, N. (1981).** The Oxidative Metabolism of Arachidonic Acid by Purified Cytochromes P450-b5. Biochem.Biophys.Res.Comm., 101,1357.
- 22-Castro, A. Dhindsa, D.S. Hoversland, A.J. et al.(1977).** Serum Biochemistry Values in Normal Pygm Goats. Am.J.Vet.Res., 38,12, 2085-2087.
- 23-Ceballos, P.I. Trivier, J.M. Nicole, A. Sinet, P.M. and Thevenin, M. (1992).** Age-Related Modifications of Copper-Zinc Superoxide Dismutase and Glutathione-Related Enzyme Activities in Human Erythrocytes. Clin. Chem., 38, 66-70.
- 24-Cheeseman, K.H. Slater, T.F. (1993).** An Introduction to Free Radical Biochemistry. Br. Med. Bull., 49, (3), 479-480.
- 25-Chhabra, R.S. and Mehta, R.K. (1967).** Normal Serum Glutamic Oxalacetic Transaminase and Serum Glutamic Pyruvic Transaminase Activities in Domestic Animals. Ind.Vet.J., 44,38-41.

- 26-Chow, C.K. Reddy, K. and Tappel, A.L.(1973).** Effect of Dietary Vitamin E on The Activities of The Glutathione Peroxidase System in Rat Tissue. *J.Nutr.*, 103, 618-624.
- 27-Combs, G.F. Combs, B.S. (1986).** The Role of Selenium Nutrition. Academic Press.Inc.(London) Ltd., 206-312.
- 28-Clemens, MR. Waller,HD. (1987).** Lipid Peroxidationin Erythrocytes. *Chem. Phys. Lipids.*, 45, 251-268.
- 29-Çamaş, H.(1986).** Ankara Keçilerinin Kanlarında Glutatyon Peroksidaz ve Kan Serumlarında Glutatyon Redüktaz, Alkali Fosfataz Aktiviteleri ile Keçilerin Bazı Verim Özellikleri Arasındaki İlişkiler Üzerinde Araştırmalar. *Doğa Bilim Dergisi.*, D1,10,1.
- 30-Daryani, R. Lalonde, C. Zhu, D. Weidner, M. Knox, J. and Demling, R.H.(1990).** Effect of Endotoxin and a Burn Injury on Lung and Liver Lipid Peroxidation and Catalase Activity. *The journal of Trauma.*, 30, No 11,1330-1334.
- 31-Dean, R. T. Fu, S. Stocker R. and Davies, J. M. (1997).** Biochemistry and Pathology of Radical – Mediated Protein Oxidation. *Biochem. J.*, 324, 1-18.
- 32-Deby, C. and Pincemail, J. (1988).** Oxygen Toxicity, Free Radicals and Defense Mechanism. In Fünfgeld E.W. Rökan (Ginkgo Biloba) Recent Result in Pharmacology and Clinic Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.,56-70.
- 33-Demple, B. and Harrison, L. (1994).** Repair of Oxidative Damage to DNA: Enzymology and Biology. *Annu. Rev. Biochem.*, 63, 915-48.
- 34-Dormandy, T.L. (1983).** An Approach to Free Radicals. *The Lancet.*, 1010-14.
- 35-Draper, H.H. and Hadle, M. (1990).** Malondialdehyde Determination as Index of Lipid Peroxidation. *Methods Enzymol.*, 186, 421-431.
- 36- Düzgüneş, O. Kesici, T. ve Gürbüz, F. (1983).** İstatistik Metotları. I. A.Ü. Ziraat Fak. Yayınları., No: 861, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.
- 37-Fernandez, V. Ximena, B. Kipreas, K. Valenzuela, A. Videlo, L.A. (1985).** Superoxide Radical Generation, NADPH Oxidase Activity and Cytocrome p-450 Content of Rat Liver Microsomal Fractions in an Experimental Hyperthyroid State : Relation to Lipid Peroxidation. *Endocrinology.*, 117, 496-501.
- 38-Fletcher,J.L. Shorode, R.R. and Kunkel, H.O. (1956).** Serum Alkaline Phosphatase and Gain in Brahman cattle. *J. Anim.Sci.*,15,1119-1124.

- 39-Flohe, L. and Zimmerman, R. (1970).** The Role of Glutathione Peroxidase in Protecting The Membrane of Rat Liver Mitochondria. *Biochem.Biophys. Acta.*, 223, 210-213.
- 40-Flohe, L. Günzler, W.A. and Schock, H.H. (1973).** Glutathione Peroxidase: A Selenoenzyme. *FEBS Letter.*, 32, 132-134.
- 41-Freeman, BA. Crapo, JD. (1982).** Biology of Disease. Free Radicals and Tissue Injury. *Lab. Invest.*, 47, 5, 412.
- 42-Frei, B. Stocker, R. Ames, BN. (1988).** Antioxidant Defenses and Lipid Peroxidation in Human Blood Plasma. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85, 9748 – 9752.
- 43-Fridovich, I. (1970).** Quantative Aspect of Production of Süperoxide Anion Radical by Milk Xanthine Oxidase. *J.Biol.Chem.*, 245, 4035.
- 44-Frimer,A.A. (1983).** In *The Chemistry of Functional Groups, Peroxides.* Wiley, New York.
- 45-Fry, J.M. Allen, J.G. Speijers, E.J. and Roberts, W.D. (1994).** Muscle Enzymes in The Diagnosis of Ovine Weaner Nutritional Myopathy. *Aust. Vet.J.*, 71, 146-150.
- 46-Gaal,T. Mezes, M. and Miskucza, O. (1993).** Effect of Fasting on Blood Lipid Peroxidation Parameters of Sheep. *Research in Veterinary Science.*, 55, 104-107.
- 47-Gambhir, J.K. Lali, P. and Jain, K.A. (1997).** Correlation Between Blood Antioxidant Levels and Lipid Peroxidation in Rheumatoid Arthritis. *Clinical Biochemistry.*, Vol.30, No.4, 351-355.
- 48-Ganther,H.E. Hafeman, D.G. Lawrence, R.A. et al.(1976).** Selenium and Glutathione Peroxidase in Health and Disease . A Review, 2,165-234. Ed. Prasad AS, Oberlas D :” Trace Elements in Human Helth and Disease”. New York, Academic Press Inc.
- 49-Gelderman, H. (1976).** Biochemische Aspecte İnder Haustiergenetik, Züchtungskunde., 48, 4, 254-263.
- 50-Gutteridge, J.M.C. and Halliwell, B.(1990).** The Measurement and Mechanism of Lipid Peroxidation in Biological Systems. *Trends. Biochem.Sci.*, 15, 129-135.
- 51-Gücüş,A.İ. Tükenmez,İ. ve Karakaya, S. (1988).** In Vitro Eritrosit Radyo-Çinko (⁶⁵Zn) Alımı, Serum Çinko Konsantrasyonu ve Alkalın Fosfataz Enzim Aktivitesinin Ruminantların Çinko Durumlarını Saptamadaki Önemleri. *Doğa T.Vet. ve Hay. D.*,191-195.

- 52-Gül, Y. Özdemir,H. Can,R. ve Özcan, C. (1993).** Danalarda Serebrospinal Sıvı Basıncı ile Bazı Hematolojik ve Biyokimyasal Parametrelerin Botulismusun Tanısındaki Önemi. F.Ü. Sağlık.Bil.Dergisi., 7, 2.
- 53-Güldür,T. Ozan,S. ve Doğrul,M. (1995).** Koyun ve Sığır Karaciğerinde Yerleşen Bazı Paraziter Hastalıklarda Lipoprotein Profili . F.Ü. Sağlık. Bil. Dergisi., 2, 147-155.
- 54-Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. (1989).** Free Radicals in Biology and Medicine. 2nd ed, Clarendon Press, Oxford.
- 55-Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. (1990).** Role of Free Radicals and Catalytic Metal Ions in Human Disease. An Overview Methods Enzymol., 186,1-85.
- 56-Halliwell, B. (1991).** Reactive Oxygen Species in Living Systems: Source, Biochemistry and Role in Human Disease. Am.J.Med., 91, 14-21.
- 57-Hansen, T.N. Smith, C.V. Gest, A.L. Smith, H.W. and Giesler, M. (1990).** Biochemical Manifestation of Oxygen Toxicity in the Newborn Lamb. Pediatric Research.Vol. 28 No. 6613-6617.
- 58-Healy, P.J. and Davis, C.H. (1975).** An Interaction Between Diet and Blood Group upon Serum Alkaline Phosphatase Activity in Lambs. Research in Veterinary Science .,18, 161-164.
- 59-Hennekens, C.M. (1994).** Health Promotion and Disease Prevention: The Role of Antioxidant Vitamins. The American J.of Medicine., Vol. 97. Suppl. 3A.
- 60-Hochs, P. and Utley, H. (1968).** Hydrogen Peroxide Detoxication by Glutathione Peroxidase and Catalase in Rat Liver Homogenates. Mol. Pharmacol., 4, 574.
- 61-Holovska, K. Lenortova, V. Pedrajas, J.R. Peinado, J. Lopez-Barea, J. Rosival, I. and Legath, J. (1996).** Superoxide Dismutase, Glutathione Peroxidase, and Glutathione Reductase in Sheep Organs. Comp. Biochem. Physiol., 115, No 4 , 451-456.
- 62-İmren, A.H. Turan, O. (1985).** Klinik Tanıda Metodlar Bulguların Değerlendirilmesi Fonksiyon Testleri. Tıp Fakültesi Yayınları. Ankara.
- 63-Jensen, P.K. (1966).** Antimycin Insensitive Oxidation of Succinate and Reduced Nicotinamid Adenine Dinucleotide in Electron Transport Particles. Biochem. Biophys. Acta. 122,157.
- 64-Jones,D. (1988).** Diagnostic Enzymology in Veterinary Medicine. In Practice., 10, 241-244.
- 65-Kavas,G.Ö. (1989).** Serbest Radikaller ve Organizma Üzerine Etkileri.Türkiye Klinikleri. 9, 1, 1-8.

- 66-Keller, P. (1973).** The Activity of Enzymes in Serum and Tissues of Clinically Normal Sheep. *New Zealand Veterinary Journal.*, 21, No 10, 221-227.
- 67-Ker, M.G.(1991).** *Veterinary Laboratory Medicine, Clinical Biochemistry and Haematology.* Black Well Scientific Publications.
- 68-Köse,K. Doğan, P. ve Saraymen, R. (1994).** Lipid Peroxidation in Erythrocyte Membranes of Whole Blood Stored for Transfusional Use. *Tr. J. Of Medical Science.*, 20,119-120.
- 69-Krüger,L. Lukanc, A. and Über, K. (1967).** Zuordnungen Zwischen Aktivitat der Aklalischen Phosphatase im Blut Serum und Mastleistungsfahigkeit von Jungrindern. 2. Tierzüchtung und Züchtungsbiol., 84, 66-72.
- 70-Lawence,R. A. Sunde, R.A. Schwartz, G.L. et al. (1974).** Glutathione Peroxidase Activity in Rat Lens and Other Tissues in Relation to Dietary Selenium in Take. *Exp. Eye. Res.*,18 , 563-569.
- 71-Lawrence, R.A. and Burk, R.F. (1978).** Species Tissue and Subcellular Distribution of Non Se-Dependent Glutathione Peroxidase Activity. *J. Nutr.*, 108, 211.
- 72-Lode,T. (1970).** Genetic Dominant Serum Alkaline Phosphatase Activity in Goats. *Acta.Vet.Scand.*,11, 181-185.
- 73-Lowry,O.H. Rosenbrough, N.J. Farr, A.L. and Ranndall R.J. (1951).** Protein Measurements with The Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.*193 , 265-275.
- 74-Mansuy, D. Dansette, M.P. and Plat, M. (1986).** A New Potent Inhibitor of Lipid Peroxidation in Vitro and in Vivo, The Hepatoprotective Drug Anisyldithiolthione. *Biochemical and Biophysical Research Communications.*, Vol. 135. No3, 1015-1021.
- 75-Masters, C. Holmes, R. (1977).** Peroxisomes. A New Aspact of Cell Physiology and Biochemistry. *Physiol.Rev.*, 58, 816.
- 76-May, H.E. and Mc Cay, P.B. (1968).** Reduced Triphosphopyridine Nucleotide Oxidase-Catalyzed Alteration of Membrane Phospholipids. I. Nature of The Lipid Alterations. *J. Biol.Chem.*, 243, 2288-2295.
- 77-Mbassa,G.K. and Poulsen, J.S.D. (1991).** Profile of Some Plasma Enzyme Activities in Growimg Dwarf and Landrace Kids. *J. Vet. Med. A.*, 37, 571-579.
- 78-Mc Cord, J.M. (1985).** Mechanism of Disease, Oxygen-Derived Free Radicals in Post Ischemic Tissue İnjury. *N. Eng.J.Med.*, 312, 159-163.
- 79-Mert, N. Batmaz, H. ve Tanrıverdi, M.(1990).** İshalli Buzağılarda Kanda Meydana Gelen Değişimler Üzerinde Klinik-Biyokimyasal Araştırmalar. *U.Ü. Veteriner Fak. Dergisi.*, Sayı1-2-3, Cilt:8-9,105-110.

- 80-Misra, HP. Fridovich, I. (1972).** The Role of Superoxide Anion in The Autoxidation of Epinephrine and a Single Assay for Superoxide Dismutase. J. Biol.Chem., 247, 2170.
- 81-Murray, R.K. Mayes, P.A. Granner, D.K. and Rodwell, V.W. (1993).** Harper'ın Biyokimyası. Barış Kitabevi, İstanbul.
- 82-Nalçacı, E. (1991).** Kan-Beyin Bariyerinin Yıkılışında Serbest Oksijen Radikallerinin Rolü. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı.Uzmanlık Tezi Ankara.
- 83-Nemccsok, J. Vig, E. Baska, F. and Kufcsak, O. (1993).** Role of Free Radicals in Swimbladder İnflammmation of Carp. Journal of Fish Disease., 16,131-136.
- 84-Nizamlıoğlu, M. Tekeli,T. Erganiş, O. ve Başıpnar, N. (1989).** İneklerde Subklinik Mastitislerin Biyokimyasal ve Mikrobiyolojik Yönden İncelenmesi . S.Ü. Vet. Fak. Derg., Cilt 5,1,137-143.
- 85-Notarajan,V.(1995).**Oxidants and Signal Transduction in Vasculer Endothelium. JI Lob.Clin. Med., 125, 26-37.
- 86-O'Donnel, B.V. and Angelo, A.(1996).** High Rates of Extracellular Superoxide Generation by Cultured Human Fibroblasts: Involvement of a Lipid-Metabolizing Enzyme. Biochem., 318, 805-812.
- 87-Ohkawa,H. Ohishi,N. and Yagi,K. (1979).** Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction . Anal. Biochem., 95, 351-358.
- 88-Omaye, S.T. and Tappel, A.L. (1974).** Effect of Dietary Selenium on Glutathione Peroxidase in The Chick. J.Nutr., 104, 747-752.
- 89-Ozan,S.T., Yaralıoğlu, S. Yılmaz,S. Özer, E. Şaki,C.E. ve Sevgili,M. (1999).** Theileria annulata ile Enfekte Siğırlarda GSH-Px, G6PD, Arginaz Aktiviteleri ile Bazı Biyokimyasal Parametreler.Tr.J.of Veterinary and Animal Sciences. 23 Ek Sayı 3 ,553-557.
- 90-Özdemir,N. Karadaş, E. ve Yaman, İ.(1997).** Koyunlarda Deneysel Pıtrak otu Toksikasyonu Üzerine Patolojik ve Biyokimyasal Araştırmalar. Tr. J. of Veterinary and Animal Science ., 21,167-178.
- 91-Pehrson, B. (1985).** Selenium-Dependent and Non-Selenium Dependent Glutathione Peroxidase Activity in Tissues From Young Bulls. Zbl. Vet. Med. A.,32, 488-491
- 92-Pehrson, B. (1993).** Diseases and Diffuse Disorders Related to Selenium Deficiencies in Ruminants. Norwegian J. Agr.Sci., No 11, 79-93.

- 93-Porter, N.A. (1984).** Chemistry of Lipid Peroxidation Methods Enzymol., 105, 273-282.
- 94-Reffett, J.K. Spears, J.W. and Prabowo A. (1986).** Lipid Peroxidation and Glutathione Peroxidase, Catalase and Superoxide Dismutase Activities in Lambs Fed High Dietary Iron. Nutrition Reports International., Vol.34, No 6, 977-984.
- 95-Reitman,S. Frankel, S. (1957).** A Colorimetric Method for The Determination of Serum Glutamic Oxalacetic and Glutamic Pyruvic Transaminases. Am.J.Clin.Pathol., 28,56.
- 96-Repine, J.E. (1991).** Oxidant-Antioxidant Balance : Some Observation From Studies of Ischemia Reperfusion in Isolated Perfused Rat Hearts. The Am.J. of Med., 91, 45-53.
- 97-Samson, J. Jargenson, J.T. and Wishard, W.D. (1988).** Glutathione Peroxidase Activity and Selenium Levels in Rocky Mountain Bighorn Sheep and Mountain Goats. Can. J.Zool., 67, 2493 - 2496.
- 98-Satoh, K. (1978).** Serum Lipid Peroxide in Cerebrovascular Disorders Determined by a New Colorimetric Method. Clin.Chim. Acta.,90, 37-43.
- 99-Schallreuter, U. K . Wood M. J. (1986).** The Role of Thioredoxin Reductase in The Reduction of Free Radicals at The Surface of The Epidermis. Biochemical and Biophysical Research Communications., Vol.136, No.2, pp 630-637.
- 100-Schalm,O.W. (1971).** Veterinary Hematology. 2nd Ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- 101-Scholz, R.W. Cook, L.S. and Todhunter, D.A. (1981).** Distribution of Selenium-Dependent Nonselenium-Dependent Glutathione Peroxidase Activity in Tissues of Young Cattle. American Journal of Veterinary Research.,42, No 10, 1724-1729.
- 102-Scholz, R.W. Todhunter, D.A. Cook, L.S. (1981).** Selenium Content and Glutathione Peroxidase Activity in Tissues of Young Cattle Fed Supplemented Whole Milk Diets. American Journal of Veterinary Research ., 42, No 10, 1718-1723.
- 103-Seekamp, A. Lalonde, C. Zhu, D. and Demling, R. (1988).** Catalase Prevents Prostanoid Release and Lung Lipid Peroxidation After Endotoxemia in Sheep. The American Physiological Society., 88, 1210-1216.
- 104-Sel,T. Karagül, H. Altıntaş, A. Sulu, N. Kırvar, E. Maraşlı, N. Maraşlı, Ş. (1996).** Chloramphenicol Verilen Metritisli Süt İneklerinde Biyokiyasal ve Hematolojik Çalışmalar. Biyokimya Dergisi.

- 105-Seven,A. Seymen, O. Hatemi, S. Hatemi, H. Yiğit, G. Candan, G. (1995).** Lipid Peroxidation and Vitamin E Supplementation in Experimental Hyperthyroid State. *Tr.J. of Medical Sciences.*, 25, 257-259.
- 106-Shunkla,S.P. Misra, B.S. and Singh, B.P. (1978).** Studies on Wool Yield and Wool Quality Traits in Relation to Glutathione Activity in Sheep. *Indian Vet.J.*, 4, 291-295.
- 107-Sies, H. Stahl, W. Sundquist, A. (1994).** Antioxidant Function of Vitamins *Annals New York Academy of Sciences.*, p 7,20.
- 108-Smutna, M. Synek, O. (1979).** Lipid Peroxidation in Semen of The Boar. *Acta Vet. Brno.*, 48, 35-43.
- 109-Sohn, H.O. Lim, H.B. Lee, Y.G. and Kim, Y.T. (1993).** Effect of Subchronic Administration of Antioxidant Against Cigarette Smoke Exposure in Rats. *Arch.Toxicol.*, 67, 667-673.
- 110-Stoian, I., Oros, A. and Moldoveanu, E. (1996).** Apoptosis and Free Radicals. *Biochemical and Molecular Medicine.*, 59, 93-97.
- 111-Stumpe,K.H. Schreiber, R. Grolik, M. Schulz, U.H. Haussinger, D. and Niederau, C. (1997).** Effect of Oxidative Stress on Cellular Functions and Cytosolic Free Calcium of Rat Pancreatic Acinar Cells. *The American Physiological Society.*, G1489-98.
- 112-Tietz, NW. (1986).** *Textbook of Clinical Chemistry* . WB. Saunders Company, Philadelphia ,pp 1532-1534.
- 113-Tiğın, Y. Bayşu,N. Güralp,N.(1972).**Fasciola Gigantica ile Enfekte Edilmiş Koyunların Serumunda Spesifik Karaciğer Enzimlerinin Diagnoz Yönünden Önemi ve Bu Enfeksiyon Dolayısıyla Kan Tablosunda Meydana Gelen Değişiklikler. *A.Ü. Vet. Fak. Der.*, pp 81-95.
- 114-Toker, N.K. Seçkin, S. Sever, M. Kocak, N.(1990).** Erythrocyte Lipid Peroxidation and Ca^{+2} -ATPase Activity in Chronic Renal Failure . *Turk O. Med. Biol.Res.*,Vol.1, No1.
- 115-Turrens, JF. Freeman, BA. Leyitt, JG. Crapo, JD. (1982).**The Effect of Hyperoxia on Superoxide Production by Lung Submitokondrial Particles. *Arch. Biochem. Biophys.* 217,401.
- 116-Türkoğlu, A. (1987).** Elazığ Yöresinde Dişi Oğlakların Alyuvar Sayısı, Hemoglobin Miktarı, Hematokrit Değeri ve Sedimentasyon Hızında Yaşla ve Mevsimsel Faktörlerle Oluşan Değişmeler.*Fırat Üniv.Dergisi.* 1 (1-A) ,169-180.

- 117-Urbanova, J.(1974).** Lipoperoxidation in Pig Liver Tissue in Vitro. Acta Vet. Brno., 43, 13-17.
- 118-Urbanova, J. and Taulova, M. (1975).** Lipid Peroxidation in Vitro and Tocopherol Levels in The Tissues of Suckling and Weaned Piglets. Acta. Vet. Brno., 44, 17-22.
- 119-Uyanık, F. Mengi, A. ve Koçak, Ö. (1998).** Holstein, Montafon ve Simmental Irkı İneklerde Serum Protein Konsantrasyonları ve Transferaz Aktiviteleri. Vet. Hek. Dern. Derg., Cilt 69, Sayı 3.
- 120-Van, Ye, TM. Roza, AM. Pieper, GM. et al. (1993).** Inhibition of Intestinal Lipid Peroxidation Does Not Minimize Morphologic Damage. J. Surg. Res., 55, 553-558.
- 121-Ward, JF. (1977).** Molecular Mechanism of Radiation-Induced Damage to Nucleic Acids. Adv. Radiat. Biol., 5, 181.
- 122-Webster, N.R. and Nunn, J.F. (1988).** Molecular Structure of Free Radicals and Their Importance in Biological Reactions. Br. J. Anaesth., 60, 98-108.
- 123-Wilson, P.S. and Judson, G.J. (1976).** Glutathione Peroxidase Activity in Bovine and Ovine Erythrocytes in Relation to Blood Selenium Concentration. Br. Vet. J., 132, 428-434.
- 124-Wright, M.C. et al. (1966).** The Biochemical Effects of Caumaphos and Three Oximes on Certain Enzyme Systems and Blood Protein Elements in Sheep. Amer. J. Vet. Res., 27, 177.
- 125-Yagi, K. (1984).** Assay for Blood Plasma or Serum, Methods in Enzymol., 105, 328-31.
- 126-Yılmaz, K. Erkal, N. ve Gül, Y. (1992).** Deneysel Akut Botulismuslu Sığırların Bazı Enzim Değerlerinin Araştırılması. F.Ü. Sağlık .Bil. Dergisi. 7(2), 112-117.
- 127-Zilva, J.F. Pannol, P.R. (1978).** Çeviri: Özgünen, T. Tanı ve Tedavide Klinik Biyokimya. Second Edition. London.
- 128-Zintzen, H. (1978).** A Summary of Vitamin E / Selenium Problem in Ruminants. News and Reviews, Roche., 1-18.

ÖZ GEÇMİŞ

1970 Elazığ doğumluyum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 1988 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ni kazandım, 1993 yılında aynı fakülteden mezun oldum. 1994 yılında Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü bünyesinde Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda doktora başladım. Halen Biyokimya Anabilim Dalında Araş.Gör. olarak görev yapmaktayım.



TEŞEKKÜR

Tez konumun seçiminde ve araştırmamın her aşamasında yakın ilgi ve desteği ile yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam Doç.Dr. Necmi Özdemir'e, çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr. Sema Ozan'a, Doç.Dr. Tayfun Güldür'e, Dr. Mine Erişir'e, araştırmamın uygulama dönemindeki içten yardımlarından dolayı Dr.Seval Yılmaz'a, materyal temininde yardımlarını esirgemeyen Elazığ Eilet Tesisleri Veteriner Hekimi Mustafa Tamser başta olmak üzere tüm çalışanlarına, istatistik işlemlerindeki yardımlarından dolayı Dr.İbrahim Şeker'e, oda arkadaşım Araş.Gör. Tülay İleri'ye, diğer çalışma arkadaşlarıma ve tüm Biyokimya A.B.D. alışanlarına, ayrıca araştırmamın her safhasında maddi manevi desteklerini yanımda hissettiğim aileme içtenlikle teşekkür etmeyi bir borç bilirim.



TEŞEKKÜR
Doç.Dr. Necmi Özdemir'e
Prof.Dr. Sema Ozan'a
Doç.Dr. Tayfun Güldür'e
Dr. Mine Erişir'e
Dr.Seval Yılmaz'a
Dr.İbrahim Şeker'e
Tülay İleri'ye
Araş.Gör. Tülay İleri'ye
Biyokimya A.B.D. alışanlarına