

T.C.
MUSTAFA KEMALÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA (VET) ANABİLİM DALI

***DIROFILARIA IMMITIS'* Lİ KÖPEKLERDE PARAOKSONAZ AKTİVİTESİ VE
LİPİD PROFİLİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Osman KINA

Danışman

Yard. Doç. Dr. Tünay KONTAŞ AŞKAR

HATAY-2009

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca beni yönlendiren ve her türlü yardımını esirgemeyen danışman hocam Yard. Doç. Dr. Tünay KONTAŞ AŞKAR ve Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Suat Erdoğan'a, parazitolojik analizleri gerçekleştirerek çalışmamda yardımcı olan Doç. Dr. Mehmet Yaman'a, tezin hazırlanması esnasında çektiğim sıkıntıları benimle paylaşan ve bana her türlü desteğini esirgemeyen sevgili aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER	VI
TABLolar	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR	VIII
ÖZET	IX
ABSTRACT	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Dirofilariosis	2
2.1.1. Dirofilaria Etkenlerinin Yaşam Siklusu	3
2.1.2. Dirofilariosisin Klinik Belirtileri	4
2.1.3. Dirofilariosiste Biyokimyasal Çalışmalar	6
2.1.4. Dirofilariosisin Tanısı	7
2.1.5. Dirofilariosis Tanısında Enzimlerin Rolü	8
2.2. Paraoksonaz Enzimi	9
2.2.1. Paraoksonaz Enziminin Kimyasal Yapısı	10
2.2.2. Paraoksonaz Enziminin Alt Birimleri	11
2.2.3. Paraoksonaz Enziminin Fonksiyonları	12
2.3. Plazma Lipidleri ve Lipoproteinler	14
2.3.1. Trigliseridler	14
2.3.2. Kolesterol	15
2.3.3. Lipoproteinler	15
2.3.3.1. Şilomikronlar	15
2.3.3.2. Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein	16
2.3.3.3. Düşük Dansiteli Lipoprotein	16
2.3.3.4. Yüksek Dansiteli Lipoprotein	16
2.4. Amaç	18

3. GEREÇ VE YÖNTEM	19
3.1. Gereç	19
3.2. Parazitolojik Ve Biyokimyasal Analizler	19
3.2.1. Modifiye Knott Metodu	19
3.2.2. ELİSA ile Teşhis	19
3.2.3. AST Ölçüm Yöntemi	19
3.2.4. ALT Ölçüm Yöntemi	20
3.2.5. LDH Ölçüm Yöntemi	20
3.2.6. CK Ölçüm Yöntemi	21
3.2.7. CK- MB Ölçüm Yöntemi	21
3.2.8. Bazal PON1 Enzim Aktivitesinin Ölçümü	22
3.2.9. NaClPON1 Enzim Aktivitesinin Ölçümü	22
3.2.10. ARE Ölçüm Yöntemi	23
3.2.11. Total Kolesterol Ölçüm Yöntemi	23
3.2.12. Trigliserid Ölçüm Yöntemi	23
3.2.13. HDL Hesaplama Yöntemi	24
3.2.14. LDL Hesaplama Yöntemi	24
3.2.15. VLDL Hesaplama Yöntemi	24
3.2.16. İstatiksel Analizler	24
4. BULGULAR	25
5. TARTIŞMA	34
6. SONUÇ	39
7. KAYNAKLAR	40
ÖZGEÇMİŞ	45

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Modifiye Knott ile Tespit Edilen <i>D. immitis</i> Mikrofilerleri	2
Şekil 2.2. <i>Dirofilaria immitis</i> 'in Hayat Siklusu	4
Şekil 2.3. İnsan Serum Paraoksanaz (PON 1) Enziminin Yapısı	11
Şekil 2.4. PON-1 proteininin üç boyutlu yapısı	12
Şekil 3.1. PON1 enzimin Paraoksonaz aktivitesi	23
Şekil 4.1. Sağlıklı köpeklerde ve <i>Dirofilaria immitis</i> köpeklerde serum AST düzeyleri	26
Şekil 4.2. Sağlıklı köpeklerde ve <i>Dirofilaria immitis</i> köpeklerde serum ALT düzeyleri	27
Şekil 4.3. Sağlıklı köpeklerde ve <i>Dirofilaria immitis</i> köpeklerde serum LDH düzeyleri	27
Şekil 4.4. Sağlıklı köpeklerde ve <i>Dirofilaria immitis</i> köpeklerde serum CK düzeyleri	28
Şekil 4.5. Sağlıklı köpeklerde ve <i>Dirofilaria immitis</i> köpeklerde serum CK-MB düzeyleri	28
Şekil 4.6. Sağlıklı köpeklerde ve <i>Dirofilaria immitis</i> köpeklerde serum PON düzeyleri	29
Şekil 4.7. Sağlıklı köpeklerde ve <i>Dirofilaria immitis</i> köpeklerde serum PON-NaCl düzeyleri	30
Şekil 4.8. Sağlıklı köpeklerde ve <i>Dirofilaria immitis</i> köpeklerde serum ARE düzeyleri	30
Şekil 4.9. Sağlıklı köpeklerde ve <i>Dirofilaria immitis</i> köpeklerde serum Trigliserid düzeyleri	31
Şekil 4.10. Sağlıklı köpeklerde ve <i>Dirofilaria immitis</i> köpeklerde serum Total Kolesterol düzeyleri	32
Şekil 4.11. Sağlıklı köpeklerde ve <i>Dirofilaria immitis</i> köpeklerde serum VLDL düzeyleri	32
Şekil 4.12. Sağlıklı köpeklerde ve <i>Dirofilaria immitis</i> köpeklerde serum LDL düzeyleri	33
Şekil 4.13. Sağlıklı köpeklerde ve <i>Dirofilaria immitis</i> köpeklerde serum HDL düzeyleri	34

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Dirofilariosisin Aşamalarına Göre Klinik Belirtileri	5
Tablo 2. Dirofilariosisin Hastalık Aşamalarına Göre Tanısı	7
Tablo 3. Dirofilariosisli ve Sağlıklı Köpeklerin Enzim Aktivite Düzeyleri	26
Tablo 4. Sağlıklı Köpeklerin ve Dirofilariosisli Köpeklerin Lipid Profil Düzeyleri	31

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALP:	Alkalin fosfataz
ALT :	Alanin aminotransferaz
AST:	Aspartat aminotransferaz
ARE:	Ariesteraz
BUN:	Kan üre Nitrojen
Ca:	Kalsiyum
CaCl ₂ :	Kalsiyum Klorür
CK:	Kreatin kinaz
Cys:	Sistein
DFP:	Diizopropil florofosfat
ELISA:	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
GGT:	Gama Glutamil Transpeptidaz
HK:	Hekzokinaz
HPD:	İnsan Pulmoner Dirofilariosis
HDL:	Yüksek Dansiteli Lipoprotein
IDL:	Orta Dansiteli lipoprotein
LDH :	Laktat dehidrogenaz
LDL:	Düşük Dansiteli Lipoprotein
MDH:	Malat dehidrogenaz
NAD:	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NaCl:	Sodyum klorür
NaOH:	Sodyum Hidroksit
PON:	Paraoksonaz
TBARS:	Tiyobarbitürik asit reaktif substrat
VLDL:	Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein

ÖZET

***Dirofilaria immitis*'li Köpeklerde Paraoksonaz Aktivitesi ve Lipid**

Profilinin Belirlenmesi

Bu çalışmada *D. immitis* ile enfekte köpeklerde paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesi, lipid profili (trigliserit, total kolesterol, VLDL, LDL, HDL kolesterol) ve enzim aktivite (AST, ALT, LDH, CK, CK-MB) değişimlerinin ortaya konulması amaçlanmaktadır. Çalışma, 4-6 yaş arası 30 sağlıklı ve 30 dirofilariosisli köpekte gerçekleştirilmiştir.

Dirofilariosisli köpeklerde serum aspartat aminotransferaz ($p < 0.001$), alanin aminotransferaz ($p < 0.001$), kreatin kinaz ($p < 0.001$) ve laktat dehidrogenaz ($p < 0.01$) aktivitesi ile kreatin kinaz-MB izoenzim ($p < 0.001$) aktivitesi, sağlıklı köpeklere göre yüksek bulunmuştur. Serum bazal paraoksonaz ($p < 0.01$) ve sodyum klorür ile uyarılmış paraoksonaz aktivitesi ($p < 0.05$) aktivitesi ise sağlıklı köpeklere göre düşük bulunmuştur. Serum arilesteraz aktivitesinde ise dirofilariosisli ve sağlıklı köpekler arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark bulunamamıştır. Yapılan lipid profili analizlerinde ise, dirofilariosisli köpeklerde serum trigliserid ($p < 0.01$), çok düşük dansiteli lipoprotein ($p < 0.05$) ve düşük dansiteli lipoprotein ($p < 0.001$) düzeyleri sağlıklı köpeklere göre yüksek bulunurken, serum total kolesterol ($p < 0.001$) ve yüksek dansiteli lipoprotein ($p < 0.01$) aktivitesi ise düşük bulunmuştur.

Araştırmadan elde edilen verilerin ışığında, serum bazal paraoksonaz ve sodyum klorür ile uyarılmış paraoksonaz aktivite düzeyi ölçümlerinin, dirofilariosisli köpeklerde meydana gelen kardiyak hasarın belirlenmesinde, LDH ve CK-MB gibi yararlı bir indikatör olabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Dirofilariosis, Köpek, Paraoksonaz, Lipid profili

ABSTRACT

The Determination of Paraoxonase Activity and Lipid Profile Levels in Dogs with *Dirofilaria immitis*

In this study we aimed to define the changes in enzyme activities (AST, ALT, LDH, CK, CK-MB) with paraoxonase and arylesterase activity and lipid profile (triglycerides, total cholesterol, very low-density lipoprotein, low-density lipoprotein, high-density lipoprotein) in dogs with dirofilariosis. Thirteen healthy and 30 dirofilariosis infected dog over 4-6 year old age were subjected in the recent study.

Serum aspartate aminotransferase ($p < 0.001$), alanin aminotransferase ($p < 0.001$), creatine kinase ($p < 0.001$), creatine kinase MB fraction ($p < 0.001$) and laktat dehidrogenase ($p < 0.01$) activities were determined significantly higher in dogs with dirofilariosis than the healthy dogs. On the other hand, serum basal paraoxonase ($p < 0.01$) and sodium chlorine induced paraoxonase ($p < 0.05$) activities were significantly lower than the control group. There was no statistical difference in serum arylesterase activity between healthy and dogs with dirofilariosis. According to lipid profile analyses, while serum trigliserid ($p < 0.01$), very low-density lipoprotein ($p < 0.05$), and low-density lipoprotein ($p < 0.001$) levels were found significantly higher in dogs with dirofilariosis, however, serum total cholesterol ($p < 0.001$) and high-density lipoprotein ($p < 0.01$) levels were found significantly lower than the healthy dogs.

According to the results obtained in the study, serum bazal paraoxonase and sodium chlorine induced paraoxonase activity measurement may be useful tools, like LDH and CK-MB, in the determination of cardiac damage in dirofilariosis.

Key Words: Dirofilariosis, Dog, Paraoxonase, Lipid profile

1.GİRİŞ

Dirofilariosis, sivrisineklerle bulaşan özellikle kardiyopulmoner hastalıklara yol açan dirofilaria türlerinin neden olduğu zoonoz bir paraziter hastalıktır (Montoya 2006; Sevimli ve ark. 2007). Hastalık genellikle köpek ve köpekgillerde enfeksiyona neden olmakla birlikte nadiren kedi ve insanlarda da enfeksiyon meydana getirebilmektedir. İnsanlarda, insan pulmoner dirofilariosis (HPD) olarak literatüre geçen ve pulmoner nodüllerle karakterize hastalığa neden olur.

Dirofilariosis tüm dünyada yaygın olarak bulunmasına rağmen tropik, subtropik ve sıcak ülkelerde daha yaygın olarak bulunmuştur (Sarıtaş ve ark. 2003). Dünyanın birçok yerinde çeşitli hayvanlarda ve insanlarda *Dirofilaria* cinsine bağlı yaklaşık 40 tür bulunmaktadır. Bunlar arasında köpeklerde en yaygın olarak görülen ve insanlarda da hastalık yapabilen türler *D. immitis* ve *D. repens* olup, bu iki parazite de Türkiye'deki köpeklerde rastlanılmıştır (Şahin ve ark. 2004). Hastalığın bulaşma ve yayılmasında dışı sivrisinekler ara konakçı olarak görev yapmaktadırlar. Arakonakçının sivrisinekler olması nedeniyle genellikle nehir veya bataklık kıyısında yaşayan ve hatta köpeklerle hiçbir teması olmayan insanlarda da gözlenmektedir (Çakıroğlu ve Meral 2007).

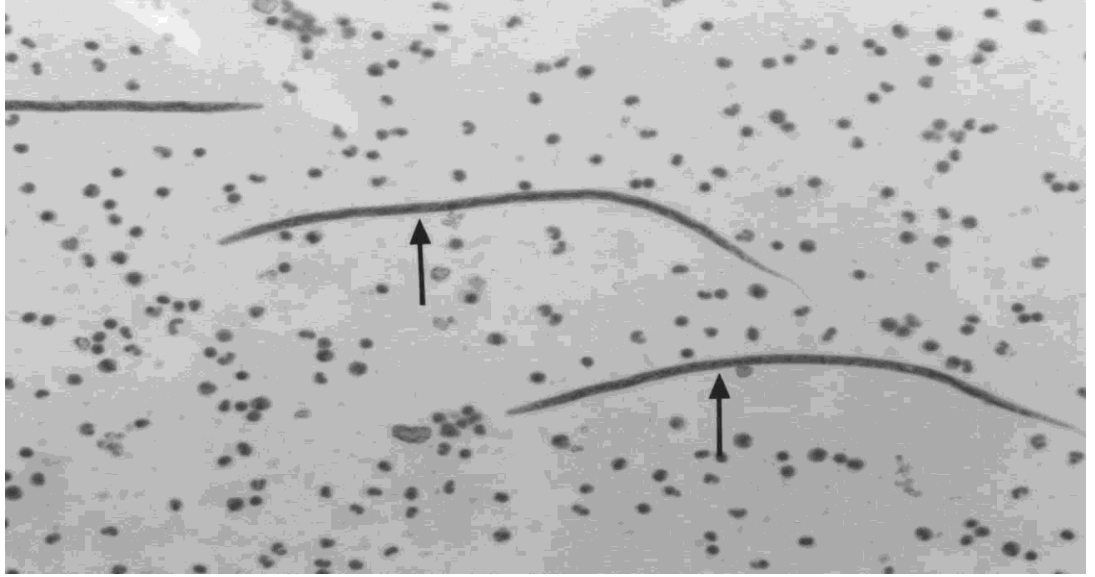
Dirofilariosis, diğer adı ile Kalp kurdu hastalığı, bütün dünyayı kapsayan önemli ve küresel dağılımıyla yalnızca köpeklerin değil, insan hayatını da tehdit eden bir zoonoz hastalıktır (Niwetpathomwat ve ark. 2007). Türkiye'nin farklı bölgelerinde yapılan çalışmalarda, dirofilariosisin prevalansının % 1.52-65.4 arasında değiştiği ve hastalığın hala ülkemizde hayvan ve insan sağlığı açısından büyük risk oluşturduğu bildirilmiştir (Göz ve ark. 2007). Köpeklerin bu en önemli kardiyopulmoner hastalığının zoonoz olması nedeni ile, enfekte köpeklerin belirlenerek eliminasyonu ve sağaltımlarının yapılması, insan ve köpek sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır (Voyvada ve Paşa 2004).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Dirofilariosis

Dirofilariosis, filarial bir nematod olan *Dirofilaria immitis*'in neden olduğu, ara konakçı sivrisinekler tarafından nakledilen paraziter bir hastalıktır (Göz ve ark. 2007). Köpeklerde en yaygın olarak görülen ve insanlarda da hastalık yapabilen türler *D. immitis* ve *D. repens* olup, her iki parazite Türkiye'deki köpeklerde rastlanılmıştır.

D. immitis köpekler başta olmak üzere kedi, tilki, kurt ve bazen de insanlarda, *D. repens* ise köpek, kedi, aslan ve kırmızı tilkilerde hastalık oluşturmaktadır (Şahin ve ark. 2004). *D. immitis*'in mikrofilimleri son konakçının perifer kanında, olgun parazitleri ise son konakçının sağ ventrikulus, pulmoner arterlerinde, seyrek olarak da vena cava, periton boşluğu ve camera oculi anteriorunda bulunmaktadır (Şahin ve ark. 2004). *D. repens*'in olgunları ise son konakçının derialtı bağ dokusunda, mikrofilimleri ise perifer kan ve lenf aralıklarında görülmektedir (Balıkçı ve Sevgili 2005).



Şekil 2.1 Modifiye Knott ile tespit edilen *D. immitis* mikrofilimleri (Voyvoda ve Paşa 2004).

Dirofilariosis, tüm dünyada görülmekle birlikte, özellikle tropikal ve subtropikal ülke ve bölgelerde endemik olarak görülmektedir (Voyvoda ve ark. 2002). Tropikal iklime sahip bölgelerde yıl boyunca görülmesine karşın, sıcak iklime sahip bölgelerde bu durum

sivrisineklerin aktivitesine bağlı olarak değişim göstermektedir. (Yıldırım ve ark. 2007). *Dirofilaria* türlerinin gelişmesinde, *Culex*, *Aedes*, *Anopheles*, *Ayzorhynchus*, *Avmigenes*, *Taeniorhynchus* ve *Mansonia* cinslere bağlı çeşitli sokucu sinek türleri ara konakçılık yapmaktadır (Şahin ve ark. 2004).

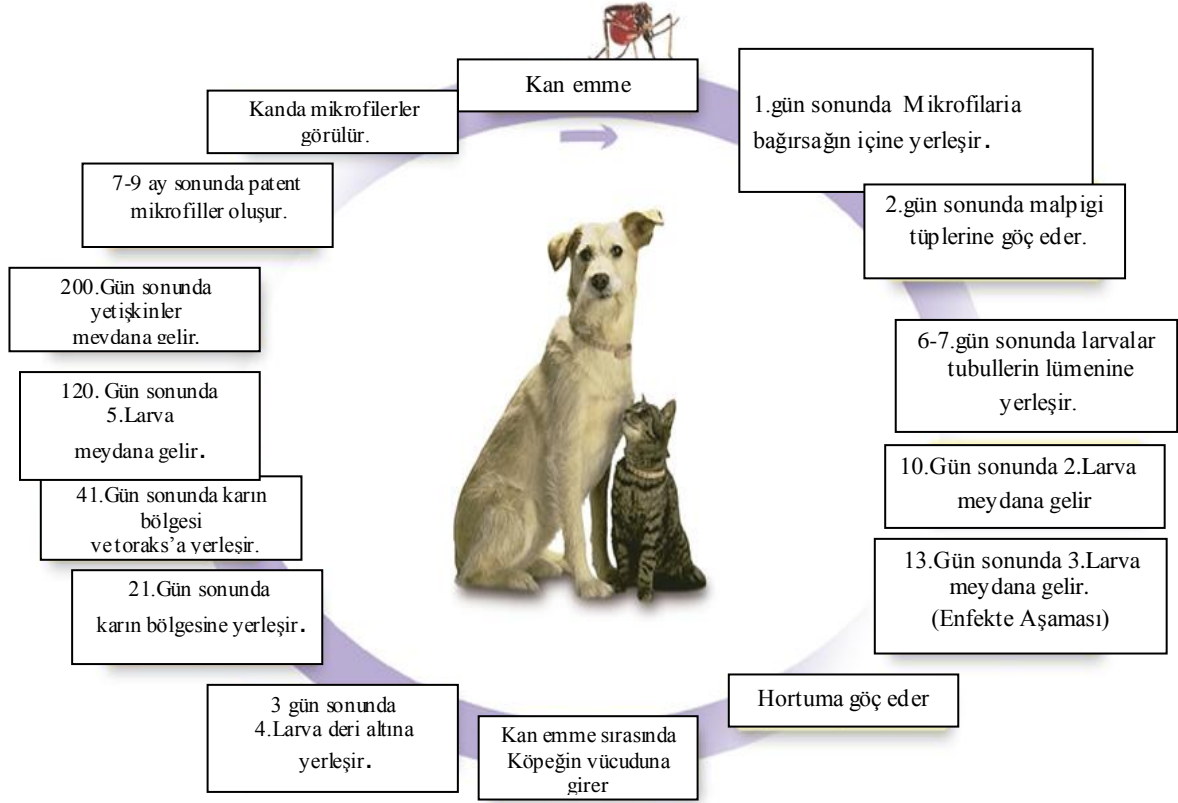
Dirofilariosis hakkındaki ilk makaleler 1938 yılında Itagaki ve Kuma tarafından yayınlanmıştır. Türkiye’de ise ilk olarak 1951 yılında bir köpeğin perifer kanında *D. immitis* mikrofilerleri tespit edilmiştir. 1957 yılından bugüne kadar ise kediler üzerinde *Dirofilaria immitis*’in etkisi incelenmektedir (Ağaoğlu ve ark. 2000).

Dirofilariosis köpeklerde genellikle asemptomatik seyrederek (Köse 2005). Köpeklerde *D. immitis* enfeksiyonunun oluşmasında sivrisinekler ve sıcaklık gibi çevre şartları yanında, köpeklerin yaşı da önem taşımaktadır. Hastalık bir yaşı altındaki köpeklerde nadir olarak görülürken, 4-7 yaşındaki köpekler en riskli grubu oluşturmaktadır. 8-9 yaşından büyük köpeklerin immun sistemlerinin parazitin olgunlaşmasını engellemesi nedeniyle yaşlı köpeklerde enfeksiyon riski az olmaktadır (Mc Call ve ark. 2004; Öncel ve Vural 2007). Ayrıca sokak köpeklerinin evde beslenen köpeklere göre daha fazla kan emici sivrisineklere maruz kalması nedeni ile hastalık sokak köpeklerinde daha sık görülür (Ağaoğlu 2000).

2.1.1.Dirofilaria Etkenlerinin Yaşam Siklusu

Dirofilaria’nın yaşam siklusu, dişi sivrisineğin, enfekte konakçı hayvanı ısırarak mikrofileri (Larva 1) yutmasıyla başlar. Mikrofilerler enfekte konakların perifer kanında bulunur. Alınan mikrofilerler sineğin malpigi tüplerine geçerek 2. dönem larva haline dönüşürler. Mikrofilerler dişi sivrisineğin vücudundaki gelişimlerini tamamlarlar ve takibeden 2-2.5 hafta içinde enfektif larvalar meydana gelir (Larva 3). Sivrisinek bir köpeği ısırduğında, bu larvalar yeni konağa girer. Larvalar deri altında 9-12 gün dolayarak Larva 4 ve daha sonrada Larva 5 safhasına erişirler. Oluşan genç kalp kurtları, mikrofilerlerin konakçıya girişinden ortalama 100 gün sonra dolaşım sistemine girerler ve öncelikle kaudal akciğer loblarının perifer pulmoner arterlerine sonra kas ve yağ dokularına yerleşirler. Parazit sayısı arttıkça sağ ventriküle, sayı 50’yi aştığında sağ atriya ve vena kavaya ulaşırlar. Parazit sayısı daha fazla artarsa, peritoneal boşluk, beyin ve gözde de görülebilir (Çakıroğlu ve Meral 2007; Nelson 2008). Erişkin erkek parazitler

12-16 cm, dişiler 25-30 cm uzunlukta ve beyaz renklidir. Mikrofilerleri ise 290-340 µm uzunlukta ve 6-7 µm kalınlıktadır (Fırat ve ark. 2005).



Şekil 2.2 *Dirofilaria immitis*'in Hayat Siklusu (Niwetpathomwat ve ark. 2007).

2.1.2. Dirofilariosisin Klinik Belirtileri

Dirofilariosis genel olarak klinik ve subklinik olarak seyrederek. Subklinik olayların çoğunda perifer kanda mikrofilerler bulunmasına rağmen köpeklerde herhangi bir semptom göstermeyebilir (Balıkçı 2005). Klinik semptomların şiddeti, köpekte bulunan ergin parazit sayısı ile ilgilidir. Hastalıkta ilk bulgular, hareket yeteneğinde azalma ve ağırlık kaybı ile karakterizedir. Ağır enfeksiyonlarda solunum ve dolaşım sistemlerine ait ciddi klinik semptomlar gözlenebilmekte, hatta ani ölümler meydana gelmektedir (Çakıroğlu ve Meral 2007; Meral 2007).

En sık görülen belirtiler; akciğerde oluşan yangıyla ilişkili olarak sağ ventriküler dilatasyon veya hipertrofi, öksürük, dispne, egzersize intolerans ve bitkinliktir. Şiddetli vasküler yaralanması bulunan köpekler öksürükleri ile kan çıkarabilirler. Ayrıca sağ kalp yetmezliğine bağlı olarak asites ve hepatomegali de görülebilir (Balıkçı 2005; Çakıroğlu ve Meral 2007). Hastalarda, nadiren posterior vena cava'nın tıkanması sonucu caval sendrom gelişmekte, bu sendromun geliştiği köpeklerde anemi, hemoglobinemi ve hemoglobinuri şekillenmektedir. Şiddetli vasküler yaralanması olan köpekler öksürükleri ile kan çıkarabilirler. Hastalık ilerledikçe kardiyak kaşeksi ortaya çıkar ve nadiren ikterus görülür (Çakıroğlu ve Meral 2007). Pulmoner hipertansiyon dirofilariosisli köpeklerin çoğunda oluşmaktadır. Hastalarda glomerulonefritis ve glomeruler protein kaybı gelişmektedir (Öcal ve ark. 2003). İnsanlarda, larva seksüel olgunluğa ulaşmadan öldüğünden, *D. immitis* için son konak olmaktadır. İnsan immun sistemi, sağ ventrikülde paraziti olgunlaşmadan öldürmekte, ölü mikrofilerler daha sonra pulmoner arterde emboliye yol açabilmektedir (Ağaoğlu 2000).

Tablo 2.1 Dirofilariosiste hastalık aşamalarına göre klinik belirtiler (Schrey ve Trautvetter 1998).

	Kronik dirofilariosisin klinik belirtileri			Akut dirofilariosisin klinik belirtileri	
	I. Aşama	II. Aşama	III. Aşama	Vena Cava Sendrom	Alerjik Punomonitis
Semptomlar	Aseptomatik	Egzersiz intolerans	Letarji	Akut Zayıflık	Şiddetli Kronik Öksürük
		Öksürük	Şiddetli Öksürük	Anoreksi	Dispne
			Kilo Kaybı	Dispne	Anoreksi
			Dispne		Kilo Kaybı
Klinik Belirtiler	Yok	Anemi	Anormal akciğer sesleri	Hemolitik Anemi	Anormal akciğer Sesleri
		Precordial etki	Venöz Tıkanıklık	Pulmoner hipertansiyon	
			Kalp Hırıltısı	Ikterus	
			Asitez	Asitez	
			Böbrek Yetmezliği	Holostolik Hırıltı	

2.1.3. Dirofilariosiste Biyokimyasal Çalışmalar

D. immitis ile enfekte olan köpeklerde sağ kalp yetmezliğine bağlı olarak, kalpte dilatasyon ve hipertrofi, asites ve karaciğer bozuklukları meydana geldiği değişik çalışmalarda bildirilmiştir (Rawlings ve Lewis 1978; Sasaki ve ark. 1992; Yalçın ve ark. 2007). Hasta köpeklerde posterior vena cava'nın tıkanması sonucu anemi, hemoglobinemide ve hemoglobinüriye şekillenmesine bağlı olarak, toplam eritrosit sayısı, ortalama korpusküler volüm, hematokrit ve hemoglobin değerlerinde düşüş, lökositoz, trombositopeni, eozinofili ve bazofilik görölür (Waner ve ark. 1995; Balıkçı 2005; Meral 2007).

Dirofilariosisli köpeklerde akciğer, kalp, karaciğer ve böbrek lezyonları ile birlikte, proteinüri ve üremi gözlemlendiği bildirilmiştir (Buoro ve Atwell, 1983). İştahsızlık, yetersiz su tüketimi ve etkenine bağlı oluşan renal hasarın bir göstergesi olarak dirofilariosisli köpeklerde serum üre nitrojen düzeyinin sağlıklı köpeklerden daha yüksek olduğunu bildirilmiştir (Kitagawa ve ark. 1989; Yalçın ve ark. 2007).

Sodikoof (1995) dirofilariosisli köpeklerin serumlarında yaptığı çalışmada BUN ve kreatin düzeyinin yanında AST, ALP, ALT, CK, GGT enzim düzeylerinin de arttığını bildirmiştir. Aynı şekilde Balıkçı (2005) dirofilariosisli köpeklerde serum total protein ve glikoz değerlerinde önemsiz, karaciğer için spesifik olan AST, ALT ve ALP enzimlerinde ve kalp için spesifik olan CK enziminde, kontrol grubuna göre önemli derecede artış saptanmıştır. Karaciğer hastalıklarının tanısı için önem taşıyan enzimlerin (AST, ALT ve ALP) hastalıklı köpeklerde daha yüksek bulunması, bu köpeklerin karaciğerlerinin hastalıktan değişik oranlarda etkilendiğini göstermektedir (Lombart 1987). Meral ve Bakırel (2007) ile ise dirofilariosisli köpeklerde CK ile birlikte LDH enzim düzeyinin de yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Karadeniz ve ark. (2008) serum CK ve LDH aktivite ölçümlerinin kalp yetmezliğinin erken teşhisinde kullanışlı olduğunu bildirmişlerdir.

Ayrıca *D. immitis* ile enfekte olan köpeklerin serum örneklerinde trigliserid, total safra asitleri, Aspartat aminotransferaz (AST), Alkalen fosfataz (ALP), Alaninamino transferaz (ALT) enzimlerinin önemli derece arttığı, yüksek yoğunluktaki lipoprotein (HDL) düzeylerinde ise azalma meydana geldiği de bildirilmiştir (Jacobs ve ark. 1992; Niwetpathomwat ve ark. 2007).

2.1.4. Dirofilariosisin Tanısı

Dirofilariosisin tanısı; klinik belirtiler, perifer kanda natif muayene veya modifiye Knott tekniği ile mikrofiler aranması veya ELİSA gibi serolojik testlerle kesin tür teşhisi ile konulabilir.

Perifer kanda yapılan mikrofiler taraması, mikrofilerlerin uzun süre deri altında yaşaması ve kalbe gittikten sonra da görülebilmeleri nedeniyle çok güvenilir bir yöntem değildir. Olgun parazitler canlı hayvanda radyografi ve arteriografi ile tespit edilebilir. Diğer taraftan köpeklerde kalp kurdu hastalığının belirlenmesinde ekokardiyografi de önemli bir tanısal yöntemdir (Meral ve Bakirel 2007).

Tablo 2.2 Dirofilariosiste hastalık aşamalarına göre laboratuvar ve radyografik tanı (Schrey ve Trautvetter 1998).

	Kronik dirofilariosisin aşamalara göre belirtileri			Akut dirofilariosisin aşamalara göre belirtileri	
	I. Aşama	II. Aşama	III. Aşama	Vena Cava Sendrom	Alerjik Punomonitis
Laboratuvar Tanı	Yok	Normokromik Anemi	Hemolitik Anemi	Hemoglobinemi	Eozinofil
		Proteinüri (+)	Hipoksi	Hiperglisemi	Hiperglobulinemi
			Karaciğer enzim yoğunluklarında değişim	Stres Lökogram	Granülosit Ve Makrofajlar
Radyografi	Yok	Pulmoner damarların zedelenmesi	Sağ ventrikül ve kardiyomegali	Hepatomegali	
		Sağ ventrikülde kardiyomegali	Pulmoner arterlerde genişleme ve hasar		
		Pulmoner arterlerin genişlemesi	Pulmoner damar sertliği		

Serolojik olarak *D. immitis* enfeksiyonunun teşhisinde florasan antikor, ELİSA, Latex agglutinasyon, komplement fikzasyon gibi yöntemler kullanılmaktadır (Courtney ve

ark. 1988). Bu yöntemler arasında en güvenilir olan yöntemin ELISA testi olduğu bildirilmiştir (Çakıroğlu ve Meral 2007; Nash 2007).

2.1.5. Dirofilariosis Tanısında Enzimlerin Rolü

Dirofilariosisli köpeklerde akciğer, kalp, karaciğer ve böbrek hem fonksiyonel hem de morfolojik olarak çeşitli oranlarda etkilenmektedir. Bu nedenle karaciğere spesifik olan AST, ALT ve ALP enzimleri ile kalp için spesifik olan CK ve LDH enzimlerinin aktivite tayinlerinin insan ve köpekte hastalığın tanısının konulmasında büyük önemi vardır.

Aspartat aminotransferaz (AST; E.C.2.7.1.1), hepatositlerde aspartik asidin amino grubunun alfa ketoglutarik aside transferini sağlayan enzimdir. Enzim karaciğerden sonra en fazla olarak miyokard hücresinde bulunur. Dolayısı ile bu dokuların hasarında bu enzimin serum düzeyleri erkenden yükselir (Şentürk ve ark. 2004). AST düzeyindeki artış vücuttaki hücre hasarının düzeyi ile orantılıdır ve bu nedenle, hasarın ilerlemesi veya iyileşme sürecinin takibinde önemli bir izleme belirtecidir. Miyokard infarktüsünü takiben 6-8 saat içinde serum AST düzeylerinde belirgin artış olur ve 48-60 saat içinde en yüksek düzeylerine ulaşır (Lott ve Stang 1980).

Alanin aminotransferaz (ALT; E.C.2.7.1.2) ise alaninin alfa amino grubunun ketoglutarik asite transferini sağlayan bir enzimdir. Hepatositlerde, kalp ve iskelet kasında yoğun olarak bulunur (Günşar 2004). ALT düzeyleri hepatit, tıkanma sarılığı ve siroz gibi karaciğer parankim hastalıklarının yanı sıra, kalp yetmezliği, akut miyokard infarktüsü, bazı perikardit ve miyokardit olguları ve kas distrofilerinde artar (Duman ve Erden 2004).

Laktat dehidrogenaz (LDH; E.C.1.1.1.27) enzimi, laktik asidi piruvik aside çeviren sitoplazmik bir enzimdir. Hücre içi LDH düzeyleri serumdakinden 500 kat daha fazla olduğu için, serumdaki en ufak bir artış hücre hasarının bir göstergesidir (Karaçalıoğlu ve ark. 2006). LDH'nin dört alt grubu ve 5 izotipi vardır. LDH vücuttaki hemen hemen her dokuda bulunsa da, LDH1 miyokard dokusuna özgüdür ve total LDH aktivitesine paralel bir seyir gösterir (Collinson 2000). Total LDH seviyesi; akut miyokard infarktüsü olmak üzere kalp kası hastalıkları, iskelet kası hastalıkları, akut viral hepatitler, tıkanma sarılığı, enfeksiyöz mononükleoz, siroz, kolestaz, karaciğerin primer ya da metastatik tümörleri, megaloblastik ve pernisiyöz anemi, hemolitik anemiler, akciğer hastalıkları, şok ve dolaşım yetmezliği, böbrek hastalıkları, akut pankreatit, bağırsak obstrüksiyonları durumlarında artar. Bu nedenle AST ve CK ile birlikte miyokard hasarının belirlenmesinde kullanılmaktadır (Duman ve Erden 2004).

Kreatin kinaz (CK, E.C.2.7.3.2) oksidatif inaktivasyona oldukça duyarlı, sülfidril içeren bir enzim olup, sistematik adı ATP: kreatinfosfotransferaz'dır (Çelik ve ark. 1996). Kreatin kinaz enzimi fosfokreatinden fosfat grubunun ADP'ye transfer edilmesini ve enerjinin hemen kullanılabilir şekli olan ATP'nin oluşumunu katalizler (Çelik ve ark.1996). Kreatin kinaz enzimi özellikle iskelet kası, kalp kası ve beyinde bulunur. Her biri 40 kD olan iki alt üiteden (M ve B) oluşur (Küçükercan 2003).

Kas metabolizmasının temel bir enzimi olan CK'nın üç izoenzimi vardır: CK-BB, CK-MM, CK-MB. CK-BB izoenzimi beyin, gastrointestinal sistem, prostat, plasenta ve akciğerde bulunur. CK-MB kalp kasında, CK-MM ise iskelet kasında bulunur (Duman ve Erden, 2004). CK-MB, miyokard total CK aktivitesinin % 20'sini oluşturur (Ercan ve ark. 2001). Akut miyokard infarktüsü, miyokardit, kalp ameliyatları, konjestif kalp yetmezliği; iskelet kası travması ve kas distrofisi, aşırı egzersiz, malign hipotermi, hipotiroidi, geniş beyin enfarktı, prostat, mesane ve sindirim sistemi maligniteleri CK düzeyinde yükselmelere neden olur (Taşkiran ve ark. 2004). Bu nedenle CK ve izoenzimlerinin ölçümü, kalp hastalıklarının tanısında son 10-20 yılda en çok kullanılan laboratuvar metodu olmuştur.

2.2. Paraoksonaz Enzimi

Paraoksonaz enzimi (PON; arildialkil fosfataz; E.C. 3.1.8.1); karaciğerde sentezlenen, Ca bağımlı, HDL ile ilişkili ve 43-45 kDa molekül ağırlığına sahip, glikoprotein yapılı bir enzimdir (Başkol ve Köse 2004). Organik fosforlu paraoksonları substrat olarak kullandığı için paraoksonaz ismi verilmiştir (Juretic ve ark. 2001). Enzim, paration dışında diizopropil florofosfat (DFP) gibi organik fosforlu insektisitlerle, yine aynı kimyasal gruptan olan sarin, tabun gibi sinir gazlarının, çeşitli karbamatların, fenilasetat, 4-nitrofenil asetat, 2-naftil asetat gibi bir çok aromatik karboksilik asit esterlerinin hidrolizini de katalize etmektedir (Gülcü ve Gürsu 2003).

Enzim 354 aminoasit içerir ve kodlayan gen 7. kromozomun q 21-22 bölgesinde bulunur (Gülcü ve Gürsu 2003). Total ağırlığının % 15.8' ini oluşturan üç karbonhidrat zinciri içerir. İzoelektrik nokta pH'sı 5.1'dir. Aminoasit içeriği, yüksek miktarda bulunan lösin dışında bir özellik göstermez. Yapısında bulunan üç sistein aminoasidinden 284. pozisyonda bulunan sistein aminositi serbest iken, diğer ikisi (Cys 42-352) arasında disülfid bağı bulunur. Serbest sistein, substrat tanınması ve bağlanması için gereklidir (Azarsız ve Sözmen 2000; Bayrak ve ark. 2005).

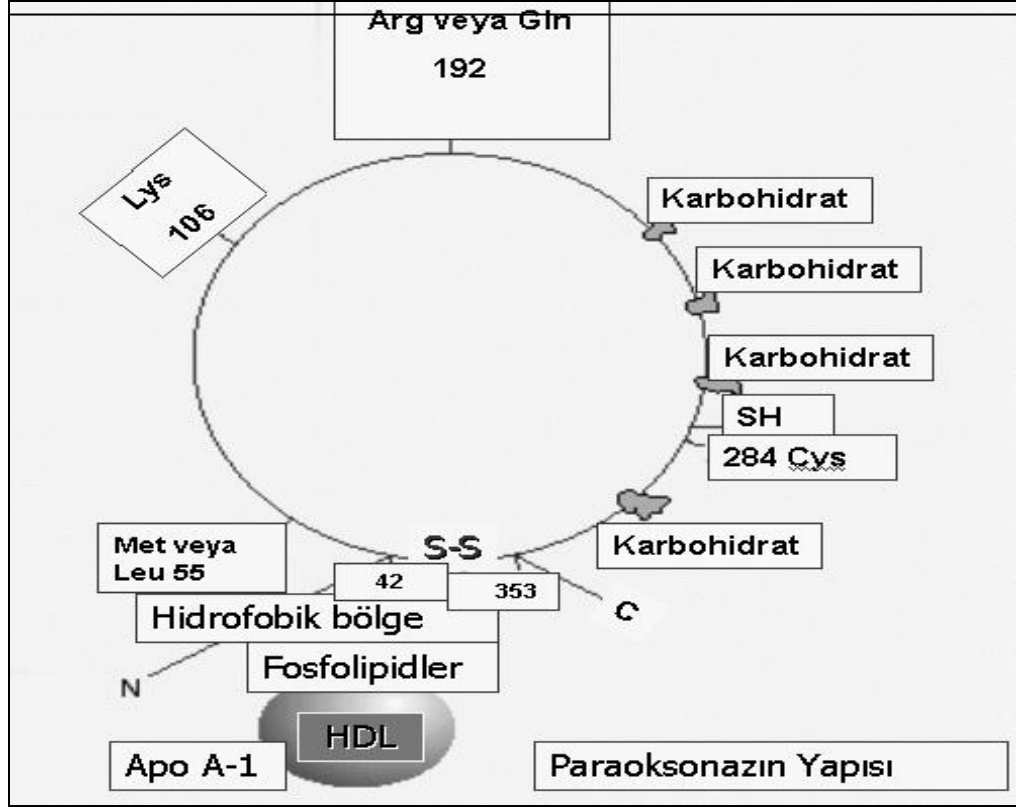
Paraoksonaz enzimine (PON1) ilk olarak 1961 yılında insan serumunun elektroforezi sonrası yüksek yoğunluklu lipoproteinlerde rastlanılmıştır. (Mackness 2004). Ardından, özellikle saflaştırılmış sığır serum paraoksonazının lipitlerle ilişkili olduğu ve lipit kompleksi ile aynı moleküler kütleyle sahip olduğu gösterilmiştir (La Du ve ark. 1993). İnsan serumunun ultrasantrifüjlenmesi ile Mackness ve ark. (1985) paraoksonazın kanda HDL yapısında taşındığını ortaya koymuşlardır. Son çalışmalarla, insan serum paraoksonazının apo AI ve apo J içeren HDL tipleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Mackness ve ark. 1996; Azarsız ve Sözmén 2000).

PON enzimi arilesteraz, fosfotriesteraz, laktonaz, fösfolipaz A2 gibi çok çeşitli enzim aktivitesine sahip bir multienzimdir (Efrat ve ark. 2009). Paraoksonaz ve arilesteraz (ARE, E.C. 3.1.1.2) aynı gen tarafından kodlanan ve aktif merkezleri benzer olan esterazlardır. Her iki enzimin doğal substratları farklı olmasına karşın PON enzimi ARE'nin doğal substratı olan fenil asetatı hidroliz edebilme yeteneğine sahiptir. PON'un genetik polimorfik değişim göstermesine rağmen, ARE enzimi genetik polimorfik değişim göstermez. Yani Ayrıca PON ve ARE'nin iyi bilinen ortak özellikleri organofosfatları, aril ve alkil halojenürleri hidroliz etme yeteneğidir. PON1 enzimi LDL'yi oksidasyondan koruyucu özelliği ve hidrojen peroksit de dahil olmak üzere diğer radikalleri nötralize etme kapasitesi nedeniyle antioksidan işlevde de bulunmaktadır. ARE ise, PON1'deki değişimlerden etkilenmeyen asıl proteinin göstergesi olarak kabul edilmektedir (Türkoğlu ve ark. 2008).

2.2.1. Paraoksonaz Enziminin Kimyasal Yapısı

Karaciğerde sentezlenen ve dolaşıma verilen paraoksonaz enzimi HDL'nin yapısında yer alır. Paraoksonaz enzimi yapısında bulunan N-terminal hidrofobik sinyal peptidi vasıtasıyla HDL'nin alt birimleri olan Apo A1 ve Apo J (klusterin)'ye bağlanır (Başkol ve Köse 2004; Öztürk 2008).

Paraoksonaz, 3 tane sistein molekülü içerir, bunlardan iki tanesi molekül içi disülfid bağının oluşumuna katılırken, 284. pozisyondaki sistein molekülü ise serbest halde bulunur. Serbest sistein, substrat tanınması ve bağlanması için gereklidir. 284. pozisyondaki sistein, LDL'nin oksidasyondan korumasında önemlidir (Aviram 1999; Lourdes ve ark. 2001). Enzim yapısında bulunan tek disülfid bağı, polipeptid zincirinin siklik yapıda olmasına neden olmaktadır (Başkol ve Köse 2004).



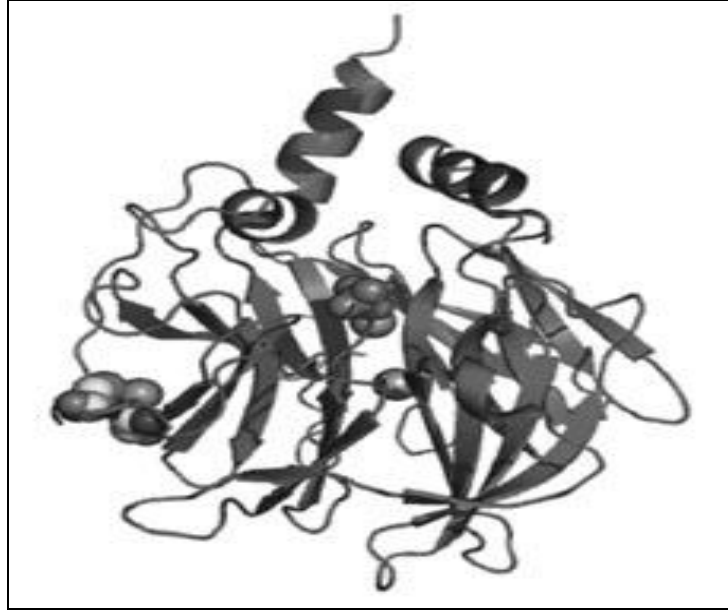
Şekil 2.3. İnsan Serum Paraoksanaz (PON 1) Enziminin Yapısı (Aviram, 1999).

2.3. Paraoksonaz Enziminin Alt Birimleri

İnsanlarda ve farelerde aynı kromozom üzerinde, birbirine komşu üç ayrı PON geni (PON-1, PON-2, PON-3) bulunmaktadır. Farelerde altıncı kromozom üzerine yerleşen PON genlerinin, insanlarda yedinci kromozomun, q 21-22 bölgesinde yer alır (Camps ve ark. 2009). Üç PON proteininin aminoasit dizileri yaklaşık % 53 oranında benzerdir ve dokulardaki ekspresyonları ile dağılımları birbirinden farklılık gösterir.

PON1 karaciğerde sentez edilir ve karaciğer, böbrek, ince bağırsak başta olmak üzere birçok dokuda ve plazmada bulunur. Enzim plazmada HDL'nin yapısında yer alır (Ali ve ark. 2003). Maksimum PON1 aktivitesi için kalsiyum gereklidir. Kalsiyum, enzimin hem aktivitesi hem de stabilitesi için gerekmektedir ve katalitik mekanizmada da rol oynamaktadır. Aktif bölgeden dietilfosfatın uzaklaştırılması bu bölgenin uygun konformasyonel yapı kazanmasını sağlar (Bayrak ve ark. 2005; Öztürk 2008). PON-1'in organofosfat substratlarına karşı hidrolitik aktivitesi kalsiyuma bağımlı iken, lipid peroksidlerin birikimini önlemede kalsiyum gerekli değildir (Khersonsky ve Tawfik 2005).

PON1 son yıllarda antioksidan etkileri nedeniyle güncellik kazanmıştır (Azarsız ve Sözmen 2000).



Şekil 2.4. PON-1 proteininin üç boyutlu yapısı. (Molekülün ortasındaki küreler kalsiyum iyonlarını temsil etmektedir) (Khersonsky ve Tawfik 2005).

PON-2'nin karaciğer, böbrek, kalp, beyin, testis dokularında özellikle endotel tabakasında bulunur ve aortik düz kas hücrelerinde de yer almaktadır (Bayrak ve ark. 2005). PON2, PON1'den sonra tanımlanmış ve daha az çalışılmıştır. PON2 endotel ve vasküler duvar hücrelerinde antioksidan aktivite gösterir (Martinelly ve ark. 2004).

PON3 esas olarak karaciğerde sentez edilir ve serumda HDL ile birlikte bulunur. PON1'in aksine PON3'ün arilesteraz aktivitesi sınırlıdır ve PON aktivitesi yoktur (Reddy 2001). PON2 ve PON3'ün 105. pozisyonda lizin rezidüsü bulunmadığından paraoksonu hidroliz edemezler (Ekmekçi ve ark. 2004).

2.2.3. Paraoksonaz Enziminin Fonksiyonları

Paraoksonaz enziminin organizmada çok önemli fonksiyonları vardır:

a-) Organofosfatlara karşı koruma (Hidrolitik Aktivite)

Serum paraoksonaz enziminin en iyi bilinen fonksiyonu; aromatik karboksilik asit esterlerini, sarin ve soman gibi sinir gazlarını, paraokson ve diazookson gibi organofosfat türevlerini ve insektisitleri hidrolize etme yeteneğidir (Öztürk 2008). Enzim, organik fosforlu insektisit olan parathionun oksidatif desülfürasyonu ile oluşan paraoksonu hidroliz ederek p-nitrofenol ve dietilfosfat oluşumuna yol açar. Paraokson oluşumu karaciğer ve

diğer dokularda mikrozomal sitokrom p-450 enzim sistemi ile kataliz edilmektedir. Paraoksonaz enzimi, paraoksondaki O-P ester bağının hidrolizinden sorumlu olan esterazdır (Ekmekçi ve ark. 2004). Memelilerde karaciğerdeki detoksifikasyondan kaçan herhangi bir okson organofosfat etki alanına ulaşmadan önce kanda serum PON1 enzimi ile hidrolize edilebilir (Azarsız ve Sözman 2000).

PON1 eksikliği gösteren böcekler organofosfatlar için hedef organizmalardır. Memelilere oranla kuşlarda organofosfat zehirlenmesine yatkınlık daha yüksek bulunmuştur, çünkü kuşlarda PON1 enzimi sentezlenmemektedir. Benzer durum balık ve sürüngenlerin de zehirlenmeye yatkınlığını açıklar (Azarsız ve Sözman 2000).

b) LDL oksidasyonunun önlenmesi (Antiaterojenik aktivite)

PON1'in belirlenen ikinci önemli fonksiyonu antiaterojenik aktiviteye sahip olmasıdır. Serum PON1 plazmada HDL ile birlikte bulunur ve plazma lipoproteinlerinin oksidasyonunu önlemede görevlidir. Bu enzimin plazmada her zaman HDL ile birlikte bulunması nedeni ile HDL'nin antiaterojenik etkisine önemli katkısı vardır (Aviram 1999; Öztürk 2008). Macknes (1991), serum PON'un ateroskleroz sürecinin başlangıç evresi olan LDL fosfolipitlerinin oksidasyona karşı korunmasında önemli olduğunu ilk gösteren araştırmacıdır. Ateroskleroza karşı koruyucu etkisinde başlangıçta ters kolesterol transportundaki rolüne odaklanılmış, 1990'larda arter duvarında LDL'nin oksidatif modifikasyondan korunması ve oksidatif LDL'nin zararlı etkilerine karşı koruma gibi farklı antiaterojenik özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir. Paraoksonaz LDL kolesterolü serbest radikallerin indüklediği oksidasyondan korumaktadır (Aviram 1999). LDL'nin yanı sıra lipit peroksidlerin taşıyıcısı olan HDL'yi de koruduğu, böylece makrofajlardan kolesterol çıkışını arttırdığı belirlenmiştir (Azarsız ve Sözman 2000). Mackness ve ark. (1991), HDL'nin bakırla inkübe edilen LDL'de lipit peroksid oluşumunu %90 inhibe ettiğini; HDL'den saflaştırılan PON'un TBARS düzeylerini ve lipoperoksid oluşumunu önlediğini göstermiştir (Azarsız ve Sözman 2000).

PON1 LDL oksidasyonunu önleyerek inflamatuvar yanıtı bloke eder. HDL kolesterol yapısında bulunan PON1 enzimi, LDL'deki aktif lipitleri yıkar ve böylece arter duvarında yer alan hücrelerde inflamatuvar cevap oluşumuna karşı koruyucu etki gösterir (Aviram 1999). Peroksidasyona uğramış lipitler bu enzim tarafından metabolize edildiğinden, lipit peroksidlerin hem HDL'de hem de LDL'de birikimi önlenir. Bu özelliği nedeniyle,

HDL'nin LDL'yi oksidasyona karşı koruyucu etkisinden PON1 sorumludur ve bu açıdan A ve E vitaminlerinden daha etkilidir (Bayrak ve ark. 2005).

c) Bakteriyel endotoksinlere karşı koruma (Lipopolisakkarid inaktivasyonu)

İnsan serumunda HDL'nin yapısında bulunan bir proteinin bakteriyel lipopolisakkaritleri inaktive ederek, endotoksemik semptomları önlediği daha önceden yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Ancak lipopolisakkarit inaktivasyonundan sorumlu olan enzimin PON1 olduğu yeni saptanmıştır (Bayrak ve ark. 2005).

PON1 lipopolisakkarid inaktivasyonu yolu ile bakteriyel endotoksinlere karşı da koruma sağlamaktadır (Bayrak ve ark. 2005). PON1 bakteriyel lipopolisakkaridi, lipid A molekülündeki 4' fosfat üzerine fosfataz etkisi göstererek hidroliz eder. Böylece Gram (-) bakteri enfeksiyonu sırasında endotoksemi gelişimine karşı korumayı sağlar (Soran ve ark. 2009).

2.3. Plazma Lipidleri ve Lipoproteinler

Plazmadaki temel lipidler kolesterol, trigliseridler ve fosfolipidlerdir. Bu lipidler yalnız başına suda çözünmeyen ve plazmada çözünmüş olarak taşınamayan bileşiklerdir. Plazmada, özel apoproteinler ile birleşerek oluşturdukları çözünmüş lipoprotein (lipid-protein kompleksi) partikülleri halinde bulunurlar (Champe ve Harvey 1994).

2.3.1. Trigliseridler

Trigliseritler yağ dokusu depolarının % 95'ini oluştururlar ve plazmada bulunan gliserol esterlerinin en büyük bölümüdürler. Lipaz ve safra asidlerinin etkisi ile düodenum ve proksimal ileumda gliserol ve yağ asidlerine hidrolize olurlar. Emilimden sonra tekrar sentezlenirler ve kolesterol ve apolipoproteinlerle birleşerek şilomikronları meydana getirirler. Şilomikronlar lenfatik sistemde ductus thoracicus yolu ile taşınırlar ve jugular ven aracılığı ile sistemik dolaşıma taşınırlar (Champe ve Harvey 1994). Hipertrigliseridemi, hiperkolesterolemiye oranla daha az anlamlı risk faktörü olarak görülse de, erken ateroskleroz gelişimi ile bağlantılı olduğu bilinmektedir (Mackness ve ark. 1991).

2.3.2. Kolesterol

Kolesterol hayvanlarda en yaygın bulunan steroldür. Birçok dokuda kolesterol asetil CoA'dan sentez edilir. Karaciğer, bağırsak, adrenal korteks, yumurtalıklar ve testisler vücudun kolesterol havuzuna en büyük katkıyı yapmasına rağmen, tüm vücut dokuları tarafında sentezlenir. Dokularda ve plazma lipoproteinlerinde ya serbest kolesterol halinde veya uzun zincirli yağ asidi ile birleşmiş şekli olan ester kolesterol halinde bulunur (Champe ve Harvey 1994).

Kolesterol, kortikosteroidler, seks hormonları, safra asitleri ve D vitamini gibi steroidlerin ön maddesidir (Champe ve Harvey 1994). Membranların ve plazma lipoproteinlerinin dış tabakası için gerekli bir bileşendir (Vance 1985). Kolesterolün birçok dokuda bulunan depo şekli ester kolesteroldür. LDL, kolesterol ve kolesterol esterinin birçok dokuya alınmasında aracı rol oynar. Serbest kolesterol dokulardan HDL aracılığı ile ayrılır ve safra asitlerine dönüştürülmek üzere karaciğere taşınır (Champe ve Harvey 1994).

2.3.3. Lipoproteinler

Lipoproteinler lipidlerin plazmada taşınırken çözünür tutulması ve kendi lipid içeriklerinin dokulara verilmesinde rol oynarlar. Plazmada yoğunlukları, molekül ağırlıkları, kolesterol, trigliserid ve fosfolipid oranlarına göre 5 tip lipoprotein molekülü bulunmaktadır (Champe ve Harvey 1994).

2.3.3.1. Şilomikronlar

Şilomikronlar ince bağırsak epitel hücreleri tarafından üretilirler ve besinsel triaçilgliserol, kolesterol ve kolesterol esterlerini periferik dokulara taşırlar. % 84 kadarını trigliseridler ve % 5'e yakın bir kısmını kolesterol oluşturur. Besin kaynaklı trigliseridleri taşıyan en büyük moleküllu lipoproteinlerdir. Yemeklerden sonra incebarsak mukozasından absorbe edilen kolesterol ve trigliseridlerin, apo-B 48 ile birleşmesi ile oluşur (Biggerstaff 2004).

Periferik dokulardaki kapillerlerin endoteline yerleşmiş olan lipoprotein lipaz tarafından trigliserid kısımları koparılır ve gliserol ile serbest yağ asitlerine ayrıştırılırlar. Geriye şilomikron kalıntısı kalır ve bu da karaciğer hücreleri tarafından kandan temizlenir (Champe ve Harvey 1994).

2.3.3.2. Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein (VLDL)

VLDL karaciğerde sentezlenen, trigliserid içeriği zengin bir lipoproteindir. Trigliserid ve kolesterolün taşınmasından sorumludur. Yapısında % 85-90 lipit (% 60 trigliserit, % 15 kolesterol ve % 15 fosfolipid) ve % 10-15 protein bulunur (Başkal 1989). Bu lipoprotein, olgunlaşmamış bir partikül olarak salgılanır ve yüzeyinde apo B100 ve apo E bulundurulur. VLDL partikülleri dolaşırken HDL'den kolesterol esterlerini, apo C ve apo E'leri alırlar (Oğuz 2001). Fonksiyonel açıdan Apo B-100 en önemli apolipoproteinidir. VLDL'nin yapısında bulunan trigliserit ve fosfolipit endoplazmik retikulumda sentezlenir (Naito 2003). VLDL trigliseridleri lipoprotein lipaz etkisiyle hidrolize edilirler. Hidrolize edilen VLDL, giderek kolesterolden zengin hale gelerek ve küçük partiküllere dönüşür. Küçülen VLDL'nin dansitesi artar ve ara dansiteli lipoproteine (IDL) dönüşür (Fortmann ve Maron 1993). Kolesterol ve trigliseridi eşit miktarda içeren IDL'nin majör lipoproteinleri Apo B ve E 'dir. Bunların bir kısmı karaciğer hücre membranındaki Apo E reseptörleri sayesinde içeri alınarak düşük dansiteli lipoproteine (LDL) dönüşür (Champe ve Harvey 1994).

2.3.3.3. Düşük dansiteli Lipoprotein (LDL)

LDL tüm dokulara kolesterolü taşıyan esas lipoproteindir. Plazmadaki toplam kolesterolün yaklaşık % 70' i LDL'de bulunur. Yapısının % 75' i lipid ve % 25' i proteinden oluşur. LDL kolesterolün membran ve steroid hormonların sentezinde kullanılmak üzere ekstrahepatik dokulara taşınmasında görevlidir.

Bütün hücreler kolesterol sentezleyebilir. Bununla beraber, LDL'nin uzun ömürlü bir partikül olması dokular için kolesterol kaynağı olarak işlev görmesini sağlar (Bhagavan 2002). LDL' nin yaklaşık % 75' i karaciğer parankim hücreleri tarafından alınmaktadır. Diğer birçok doku da küçük miktarlarda LDL almaktadır. Karaciğer aldığı kolesterolü membran biyosentezi için, VLDL biyosentezi için, safra asidi yapımı için kullanabilir (Champe ve Harvey 1994).

2.5.3.4. Yüksek Dansiteli Lipoprotein (HDL)

En küçük molekül ağırlığına sahip olan lipoproteindir. Plazmadaki kolesterolün % 20-25'ini taşırlar. Yapısında yaklaşık % 50 lipid ve % 50 protein içerir. Ayrıca serbest

kolesterol, kolesterol esterleri, trigliserit, fosfolipidler, antioksidanlar, Apo AI, Apo AII, Apo J gibi proteinler ve LCAT ve PON1 gibi çeşitli enzimleri içerir (Efrot ve ark. 2009). Karaciğer ve ince bağırsak duvarında sentezlenir (Altınışik 2006). HDL'ler trigliseridlerin ve kolesterolün plazmadan temizlenmesinde (klerensinde), kolesterolün dokulardan karaciğere geri taşınmasında ve metabolizmasında önemli rol oynarlar (Schaefer 2007).

Düzenli egzersiz yapanlarda veya sürekli alkol alanlarda HDL düzeyi yükselir. Sigara içme, obezite, diyabet, hareketsiz yaşam, hipertrigliseridemi, genetik faktörler (primer hipoalfalipoproteinemi gibi), androjenler, anabolik steroidler, androjenik yan tesirli progesteronlar (bazı kombine oral kontraseptif haplar gibi) ve beta adrenerjik blokörler HDL düzeyini azaltır (Champe ve Harvey 1994).

HDL'ler yoğunluklarına göre 3'e ayrılır: HDL 1, düşük konsantrasyonuna rağmen metabolik açıdan aktif alt grubu oluşturur. Kolesterolde zengin diyet alan insanlarda ve deney hayvanlarında görülür ve ateroskleroz oluşmasını hızlandırır. HDL3 de iyi bir kolesterol alıcısıdır ve kolesterol esteri içeriğini artırarak boyut olarak daha büyük olan HDL2'ye dönüşür. Kolesterolde zengin diyet alan insanlarda ve deney hayvanlarında görülür, ateroskleroz oluşmasını hızlandırır. HDL 2 ve HDL3, HDL'nin, plazmanın lipidlerden temizlenmesi görevinden sorumludurlar (Naito 2004).

2.4. Amaç

Bu çalışmada *D. immitis* ile enfekte köpeklerde paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesi, lipid profili (trigliserit, total kolesterol, VLDL, LDL, HDL kolesterol) ve enzim aktivite (AST, ALT, LDH, CK, CK-MB) değişimlerinin ortaya konulması amaçlanmaktadır. Dirofilariosisin teşhisine yardımcı olabilecek biyokimyasal çalışmalar sınırlı ve eksiktir. Bu çalışma ile Dirofilariosisli köpeklerde paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesi belirlenerek, ülkemizde köpekler için önemli olan bu hastalığın tanısında yeni teşhis parametreleri ortaya konulacaktır. Ayrıca çalışma literatür alanında bulunan boşluğun doldurulmasına da katkıda bulunacaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM :

3.1. Gereç

Bu çalışmada kullanılan kan örnekleri, Hatay ili ve çevresinde yaşayan, 4-6 yaş arasında sağlıklı ve dirofilariosisli büyük ırk köpeklerden alınmıştır. Hastalığın klinik belirtileri, modifiye knott metodu ve antijen-ELİSA yöntemi yardımıyla 30'u kontrol ve 30'u hasta (olgun antijeni pozitif-mikrofilarya negatif bulunanlar) olmak üzere 2 grup oluşturulmuştur.

Kan örnekleri heparinli tüplere ve serum tüplerine alındıktan sonra, serum ve plazmaları elde edilerek -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Araştırmada trigliserit, total kolesterol, LDL, HDL kolesterol düzeyleri ve paraoksanaz, arilesteraz, AST, ALT, LDH, CK ve CK-MB enzim aktivite analizlerinde spektrofotometrik yöntemler kullanıldı.

3.2. Parazitolojik Ve Biyokimyasal Analizler

3.2.1. Modifiye Knott Metodu

1 ml heparinli kan örneği, 9 ml % 2'lik formolin ile karıştırıldı ve 2000 devirde 3.5 dk. Santrifüj edilerek üzerindeki sıvı dökülmüş ve dipte kalan tortu miktarı kadar % 0.1'lik metilen mavisi ilave edilmiştir. Daha sonra bu karışımdan birkaç damla alınarak 10 ve 40'lık objektiflerle mikrofilerler yönünden incelenmiştir (Lian-Chen 1997).

3.2.2. ELİSA ile Teşhis

Serolojik olarak olgun *D. immitis* parazitlerinin belirlenmesinde *D. immitis* için spesifik DiroCHEK® ELISA kiti (Synbiotics, San Diego, USA) ile ticari firmanın direktiflerine uygun olarak *D. immitis* olgun antijenleri arandı.

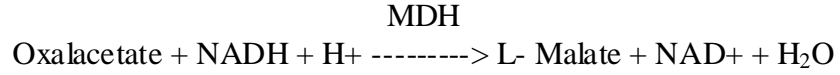
Modifiye Knott Metodu ve ELİSA sonuçlarına göre, kontrol ve hasta grupları belirlendikten sonra biyokimyasal analizler gerçekleştirildi.

3.2.3. AST Ölçüm Yöntemi

Serum örneklerinde AST tayini Roche Moduler Sistem otoanalizöründe Roche Diagnostic firmasının reaktifi kullanılarak kinetik olarak ölçüldü.

AST

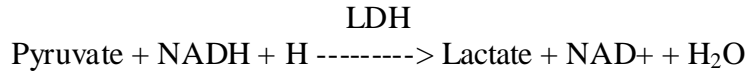
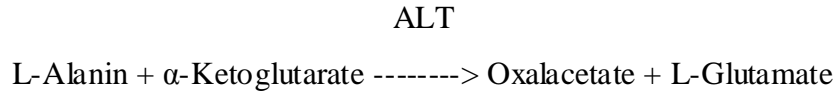
L-Aspartate + 2-Oxoglutarate -----> Oxalacetate + L-Glutamate



AST, L-aspartat ile 2-Okzoglutarat arasında bir amino grubunun transferini katalizler. İlk reaksiyon sonucu oluşan okzalasetat malat dehidrogenaz varlığında NADH ile reaksiyona girerek NAD'ı oluşturur. AST'nin aktivitesi 340 nm'de NADH oksidasyon oranının ölçülmesi ile belirlenir.

3.2.4. ALT Ölçüm Yöntemi

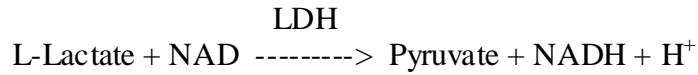
Serum örneklerinde ALT tayini Roche Moduler Sistem otoanalizöründe Roche Diagnostic firmasının reaktifi kullanılarak kinetik olarak ölçüldü.



ALT varlığında ilk reaksiyon sonucu oluşan piruvat, LDH varlığında NADH ile reaksiyona girerek laktatı oluşturur. ALT'nin aktivitesi 340 nm'de NADH oksidasyon oranının ölçülmesi ile belirlenir.

3.2.5. LDH Ölçüm Yöntemi

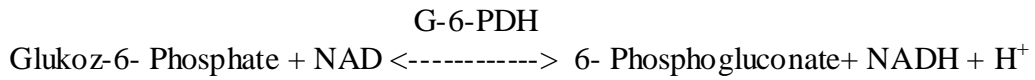
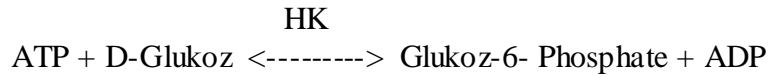
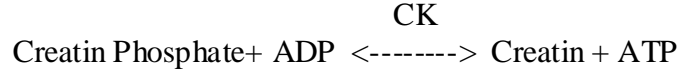
Serum örneklerinde LDH tayini Roche Moduler Sistem otoanalizöründe Roche Diagnostic firmasının reaktifi kullanılarak kinetik olarak ölçüldü.



LDH, NAD varlığında laktatın piruvata oksidasyonunu katalizler. Bu esnada NAD NADH'ya indirgenir. LDH aktivitesi NADH oluşumunun 340 nm'de ölçülmesi ile belirlenir.

3.2.6. CK Ölçüm Yöntemi

Serum örneklerinde CK tayini Roche Moduler Sistem otoanalizöründe Roche Diagnostic firmasının reaktifi kullanılarak kinetik olarak ölçüldü.

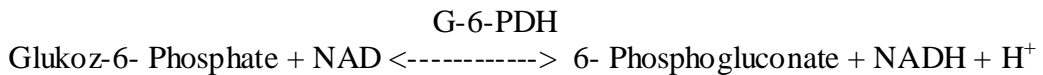
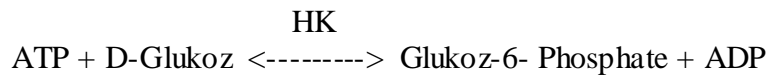


CK, kreatin fosfataz varlığında ADP'nin fosforilasyonunu geri dönüşümlü olarak katalizleyerek, ATP ve kreatin oluşturur. Daha sonra heksokinaz varlığında, glikozun fosforilasyonunu ve ATP oluşumunu katalizler. Oluşan ADP ve glukoz-6-fosfattan glukoz-6-fosfat dehidrogenaz varlığında, NADH ve 6-fosfoglukonat oluşur. CK aktivitesi NADH oluşumunun 340 nm'de ölçülmesi ile belirlenir.

3.2.7. CK-MB Ölçüm Yönteni

Serum örneklerinde CK-MB tayini Roche Moduler Sistem otoanalizöründe Roche Diagnostic firmasının reaktifi kullanılarak kinetik olarak ölçüldü.

Serum örnekleri anti CK-M antikorlarını içeren CK-MB ayırıcı ile muamele edilerek, inhibe olmayan CK-B aktivitesinin ölçülmesine bağlı olarak CK-MB aktivitesi belirlenebilir.



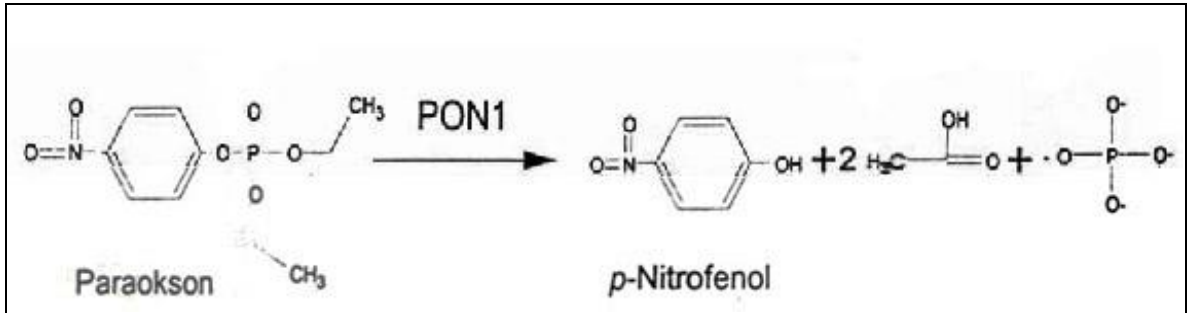
CK-B, kreatin fosfataz varlığında ADP'nin fosforilasyonunu geri dönüşümlü olarak katalizleyerek, ATP ve kreatin oluşturur. Daha sonra heksokinaz varlığında, glikozun

fosforilasyonunu ve ATP oluşumunu katalizler. Oluşan ADP ve glukoz-6-fosfattan glukoz-6-fosfat dehidrogenaz varlığında, NADH ve 6-fosfoglukonat oluşur. CK-B aktivitesi NADH oluşumunun 340 nm’de ölçülmesi ile belirlenir.

CK-MB Aktivitesi (U/L) = CK-B Aktivitesi x 2 formülü ile hesaplanır.

3.2.8. Bazal PON1 Enzim Aktivitesinin Ölçümü

Serum bazal PON1 enzimi aktivite ölçümü; Eckerson ve ark.(1983)’ın kullandığı yöntem ile gerçekleştirildi. Bu yöntem PON1 enziminin paraokson substratını enzimatik olarak dietil fosfata ve p-nitrofenole hidroliz etmesine dayanır. 25 °C’de oluşan p-nitrofenolün bir dakikada oluşturduğu absorbans artışının, 412 nm’de spektrofotometrik olarak ölçümü ile PON1 enzim aktivite tayini gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon ayırıcı 50 Mm glisin-NaOH buffer’da 1 Mm paraokzon, 1M NaCl ve 1Mm CaCl₂’den ibarettir. 1 ünite paraoksonaz aktivitesi dakikada 1 nmol p-nitrofenol oluşturur. Elde edilen sonuçlar IU/L olarak verildi.



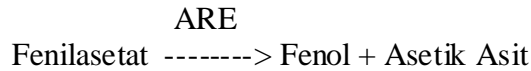
Şekil 3.1. PON1 enzimin Paraoksonaz aktivitesi

3.2.9. NaCl-PON1 Enzim Aktivitesinin Ölçümü

Serum NaCl-PON1 enzimi aktivite ölçümü; Eckerson ve ark.(1983)’ın kullandığı yöntem ile gerçekleştirildi. Bu yöntem PON1 enziminin paraokson substratını enzimatik olarak dietil fosfata ve p-nitrofenole hidroliz etmesine dayanır. 37 °C’de oluşan p-nitrofenolün bir dakikada oluşturduğu absorbans artışının, 412 nm’de spektrofotometrik olarak ölçümü ile NaCl-PON1 enzim aktivite tayini gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon ayırıcı 50 Mm glisin-NaOH buffer’da 1 Mm paraokzon, 1M NaCl ve 1Mm CaCl₂’den ibarettir. 1 ünite paraoksonaz aktivitesi dakikada 1 nmol p-nitrofenol oluşturur. Elde edilen sonuçlar IU/L olarak verildi.

3.2.10. ARE Enzim Aktivitesinin Ölçümü

Serum ARE enzimi Juretic ve ark.'a (2001)göre gerçekleştirildi. Bu yöntem ARE enziminin fenilasetat substratını 37 °C'de enzimatik olarak fenol ve asetik asite hidroliz etmesine dayanır. Örnekteki ARE aktivitesi, reaksiyonda oluşan fenol miktarı ile doğru orantılıdır. ARE enzim aktivitesinin bir ünitesi (IU) dakikada oluşan fenolün mikro mol sayısı olarak kabul edilmektedir. Sonuçlar IU/L olarak verildi.



3.2.11. Total Kolesterol Ölçüm Yöntemi

Total Kolesterol ölçümü, enzimatik kolorimetrik yöntem kullanılarak yapıldı. Serum örnekleri Roche Moduler Sistem otoanalizöründe Roche Diagnostic firmasının reaktifi kullanılarak çalışıldı.

Total kolesterol düzeyi, kolesterol esteraz ve kolesterol oksidaz kullanılarak enzimatik olarak belirlenir. Kolesterol esterleri, kolesterol esteraz enzimi etkisiyle serbest kolesterol ve yağ asitlerine ayrılır. Kolesterol, kolesterol oksidaz enziminin etkisiyle kolest-4-en-3-on ve hidrojen peroksit'e çevrilir. Hidrojen peroksit, peroksidaz enziminin etkisiyle 4-aminofenazon ve fenol ile etkileşerek pembe renkli bir ürün oluşturur. Rengin yoğunluğu kolesterol konsantrasyonuyla doğru orantılıdır ve spektrofotometrik olarak 505 nm'de belirlenir.

3.2.12. Trigliserid Ölçüm yöntemi

Trigliserid ölçümü, enzimatik kolorimetrik yöntem kullanılarak yapıldı. Serum örnekleri Roche Moduler Sistem otoanalizöründe Roche Diagnostic firmasının reaktifi kullanılarak çalışıldı.

Trigliserid düzeyinin ölçümü, lipoprotein lipaz tarafından trigliseridlerin gliserol ve yağ asitlerine dönüşümü izleyen, gliserol kinaz, gliserol fosfat oksidaz ve peroksidaz enzimlerinin katalizlediği reaksiyonlar sonucunda gerçekleşir. Hidrojen peroksit, peroksidaz enziminin etkisiyle 4-aminofenazon ve 4-klorofenol ile etkileşerek pembe bir ürün oluşturur. Rengin yoğunluğu trigliserid konsantrasyonuyla doğru orantılıdır ve spektrofotometrik olarak 505 nm'de belirlenir.

3.2.13. HDL ölçüm yöntemi

HDL ölçümü, enzimatik kolorimetrik yöntem kullanılarak yapıldı. Serum örnekleri Roche Sistem otoanalizöründe Roche Diagnostic firmasının reaktifi kullanılarak çalışıldı. HDL düzeyi, polietilenglikol (PEG) kolesterol esteraz ve PEG kolesterol oksidaz kullanılarak enzimatik olarak belirlenir. PEG ile modifiye edilmiş kolesterol esteraz ve kolesterol oksidaz lipoprotein fraksiyonlarına karşı selektif katalitik aktivite gösterir. Kolesterol esterleri, PEG kolesterol esteraz enzimi etkisiyle serbest kolesterol ve yağ asitlerine ayrılır. Kolesterol, kolesterol oksidaz enziminin etkisiyle D4-Kolestenon ve hidrojen peroksit'e çevrilir. Hidrojen peroksit, peroksitaz enziminin etkisiyle 4-aminofenazon ve N-(2-hidroksi-3-sülfopropil)-3,5-dimetoksianilin (HSDA) ile etkileşerek pembe mavi renkte bir bileşik oluşturur. Rengin yoğunluğu HDL konsantrasyonuyla direkt orantılıdır ve spektrofotometrik olarak 600 nm'de belirlenir.

3.2.14. LDL hesaplama yöntemi

LDL, *Friedewald formülü* ile hesaplandı.

$$\text{LDL} = \text{Total Kolesterol} - [(\text{HDL}) + (\text{Trigliserid}/5)]$$

3.2.15. VLDL hesaplama yöntemi

VLDL= Trigliserid/5 formülü ile hesaplandı.

3.2.16. İstatistiksel Analizler

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde 'SPSS 13.0' paket programı kullanıldı. Gruplar arasındaki istatistiksel farklar *student t test* kullanılarak değerlendirildi. Elde edilen sonuçlar $X \pm SE$ olarak verildi. $p < 0,05$ ve altı istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

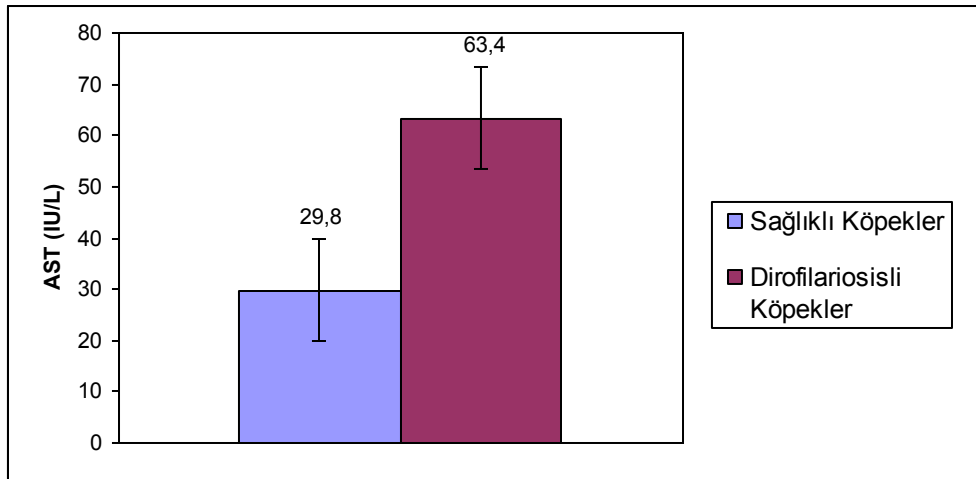
4. BULGULAR

Sağlıklı ve dirofilariosisli köpeklerin paraoksonaz PON1, PON-NaCl, ARE, AST, ALT, LDH, CK ve CK-MB aktivite düzeyleri Tablo-1 de verilmiştir. Buna göre sağlıklı köpeklerde AST düzeyi, ortalama 29,8 IU/L olarak ölçülürken, dirofilariosisli köpeklerde 63,4 IU/L olarak ölçülmüştür. Dirofilariosisli köpeklerin serum AST düzeyi sağlıklı köpeklerden istatistik olarak $p < 0.001$ önem düzeyinde yüksek bulunmuştur (Tablo 4.1, Şekil 4.1).

Tablo 4.1. Dirofilariosisli ve sağlıklı köpeklerin enzim aktivite düzeyleri

Parametre	Sağlıklı Köpekler n=15	Dirofilariosisli Köpekler n=15
ALT (IU/L)	35,4 ± 7,6	70,7 ± 12,5*
AST (IU/L)	29,8 ± 6,1	63,4 ± 13,7*
LDH (IU/L)	197,7 ± 26,3	272,3 ± 32,8 [¶]
CK (IU/L)	92,4 ± 28,6	158,5 ± 41,5*
CK-MB (IU/L)	18,5 ± 5,7	54,1 ± 22,5*
Bazal PON1 (IU/L)	53,9 ± 15,4	33,2 ± 12,1 [¶]
PON1 + NaCl (IU/L)	116,8 ± 37,3	85,9 ± 20,2 [†]
ARE (IU/L)	40,7 ± 14,6	37,4 ± 9,8

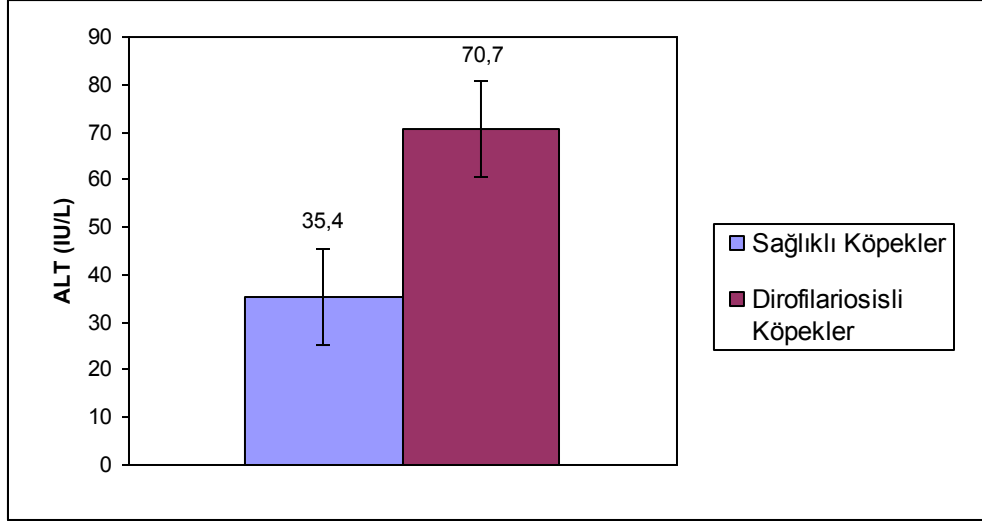
Kontrol grubu ile hasta grubu arasında * $p < 0,001$, [¶] $p < 0,01$ ve [†] $p < 0,05$ derecesinde önemlilik olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.1. Sağlıklı ve dirofilariosisli köpeklerde serum AST düzeyleri ($p < 0,001$)

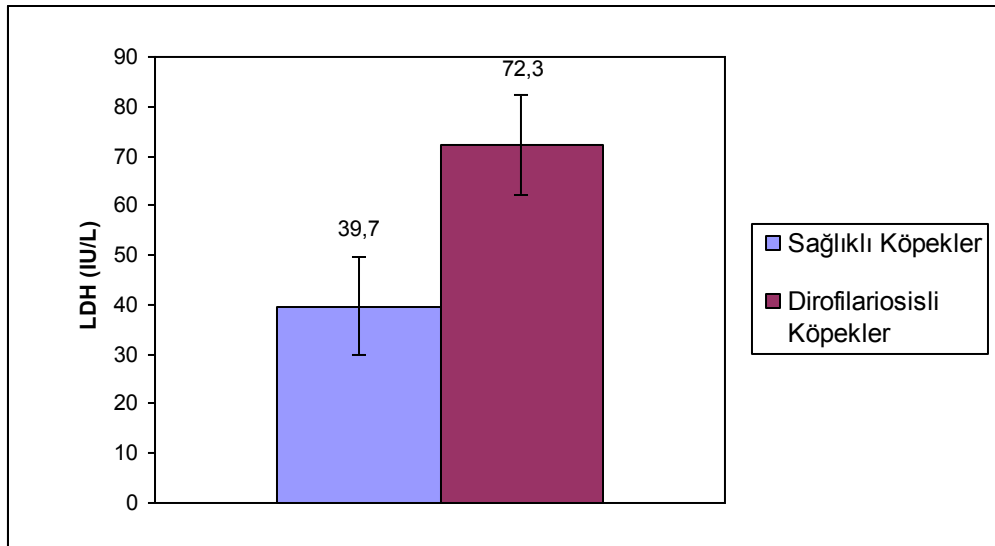
Serum ALT aktivitesi sağlıklı köpeklerde ortalama 35,4 IU/L olarak ölçülürken, Dirofilariosisli köpeklerde 70,7 IU/L olarak ölçülmüştür. Serum ALT aktivitesi, kontrol

grubundaki köpeklerden istatistik olarak $p < 0,001$ önem düzeyinde yüksek bulunmuştur (Tablo 4.1, Şekil 4.2).



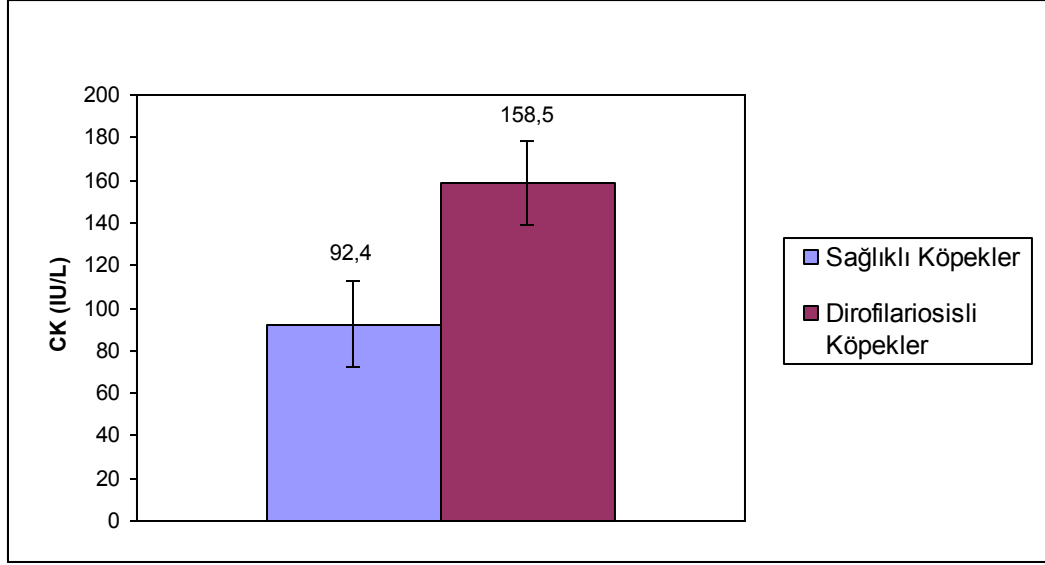
Şekil 4.2. Sağlıklı ve dirofilariosisli köpeklerde serum ALT düzeyleri ($p < 0,001$)

Serum LDH aktivitesi ise sağlıklı köpeklerde 197,7 IU/L olarak ölçülürken, Dirofilaria immitis köpeklerde 272,3 IU/L olarak ölçülmüştür. Serum LDH aktivitesi, dirofilariosisli köpeklerde sağlıklı köpeklerden istatistik olarak $p < 0,01$ önem düzeyinde yüksek bulunmuştur (Tablo 4.1, Şekil4.3).



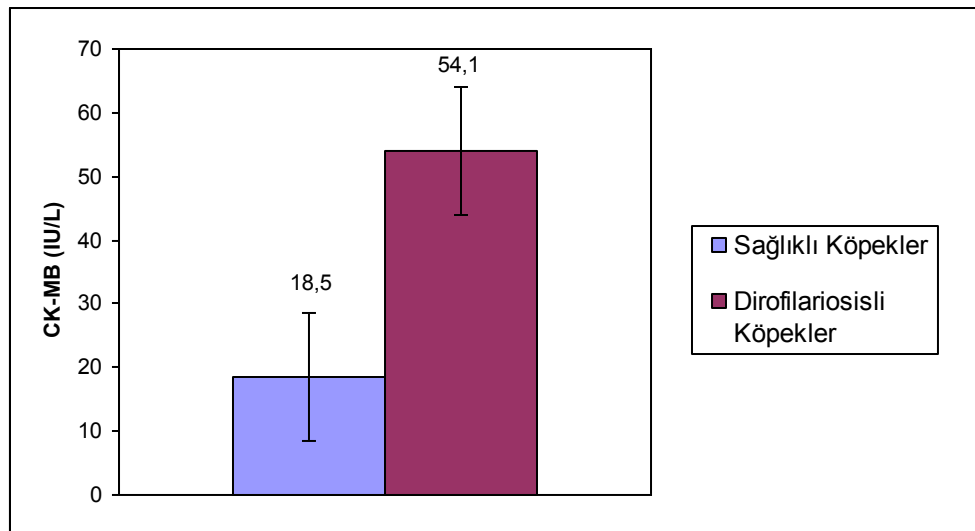
Şekil 4.3. Sağlıklı ve dirofilariosisli köpeklerde serum LDH düzeyleri ($p < 0,01$)

Serum CK aktivitesi, sağlıklı köpeklerde 92,4 IU/L olarak llrken, Dirofilariosisli köpeklerde 158,5 IU/L olarak llmştr. Dirofilariosisli köpeklerin serum CK aktivitesi, sağlıklı köpeklerden istatistik olarak $p < 0.001$ önem düzeyinde yüksek bulunmuştur (Tablo 4.1, şekil 4.4).



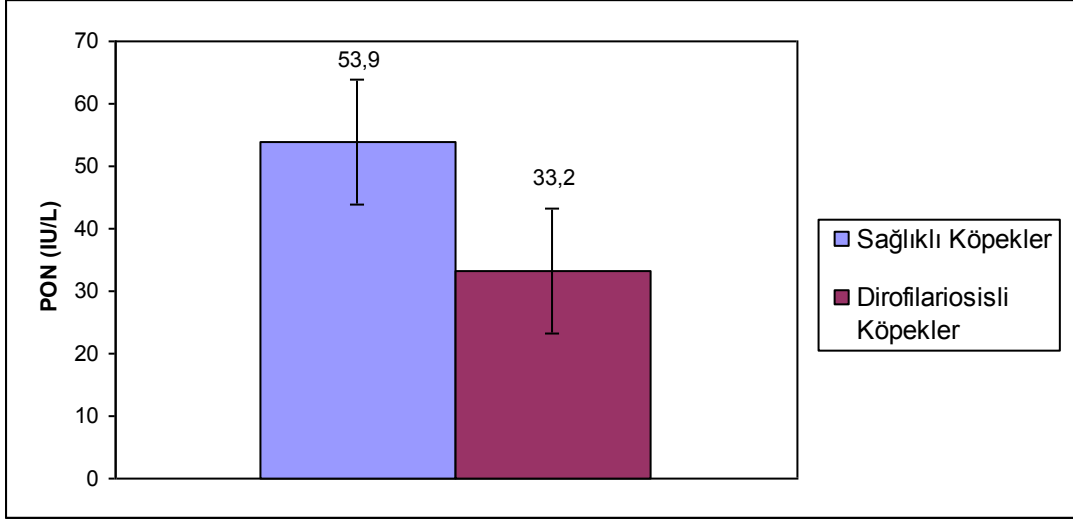
şekil 4.4. Sağlıklı ve dirofilariosisli köpeklerde serum CK düzeyleri ($p < 0,001$)

Serum CK-MB aktivitesi ise, sağlıklı köpeklerde 18,5 IU/L olarak llrken, Dirofilariosisli köpeklerde 54,1 IU/L olarak llmştr. Dirofilariosisli köpeklerin serum CK-MB aktivitesi, sağlıklı köpeklerden istatistik olarak $p < 0.001$ önem düzeyinde yüksek bulunmuştur (Tablo 4.1, şekil 4.5).



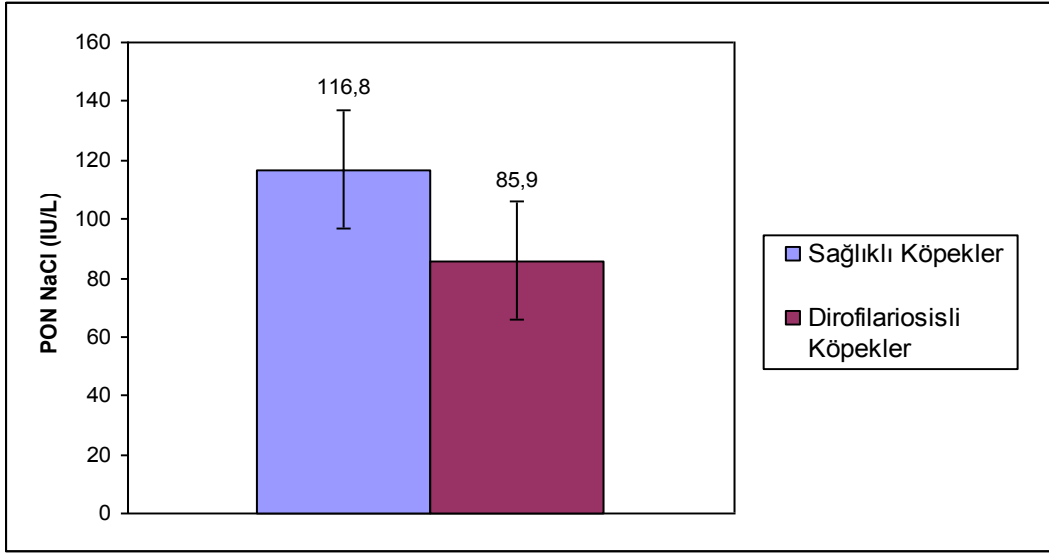
şekil 4.5. Sağlıklı ve dirofilariosisli köpeklerde serum CK-MB düzeyleri ($p < 0,001$)

Yapılan analizler sonucunda, serum PON1 aktivitesi sağlıklı köpeklerde 53,9 IU/L olarak ölçülürken, Dirofilariosisli köpeklerde 33,2 IU/L olarak ölçülmüştür. Dirofilariosisli köpeklerde serum PON1 aktivitesi, sağlıklı köpeklerden istatistik olarak $p < 0.01$ önem düzeyinde düşük bulunmuştur (Tablo 4.1, Şekil 4.6).



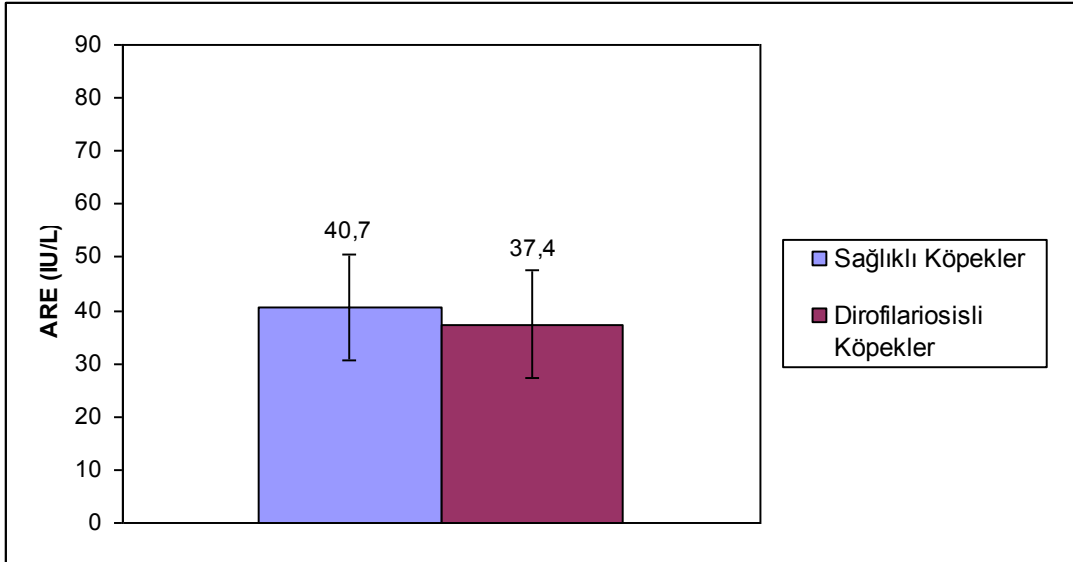
Şekil 4.6. Sağlıklı ve dirofilariosisli köpeklerde serum PON1 düzeyleri ($p < 0,01$)

Serum NaCl ile uyarılmış PON1 aktivitesi ise sağlıklı köpeklerde 116,8 IU/L olarak ölçülürken, Dirofilariosisli köpeklerde 85,9 IU/L olarak ölçülmüştür. NaCl ile uyarılmış PON1 aktivitesi, dirofilariosisli köpeklerde sağlıklı köpeklerden istatistik olarak $p < 0.01$ önem düzeyinde düşük bulunmuştur (Tablo 4.1, Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Sağlıklı grubu ve dirofilariosisli köpeklerde serum PON1+ NaCl düzeyleri ($p < 0,01$)

Serum ARE aktivitesi sağlıklı köpeklerde 40,7 IU/L olarak ölçülürken, Dirofilariosisli köpeklerde 37,4 IU/L olarak ölçülmüştür. Serum ARE aktivitesinde, dirofilariosisli ve sağlıklı köpekler arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark bulunamamıştır (Tablo 4.1, Şekil 4. 8).



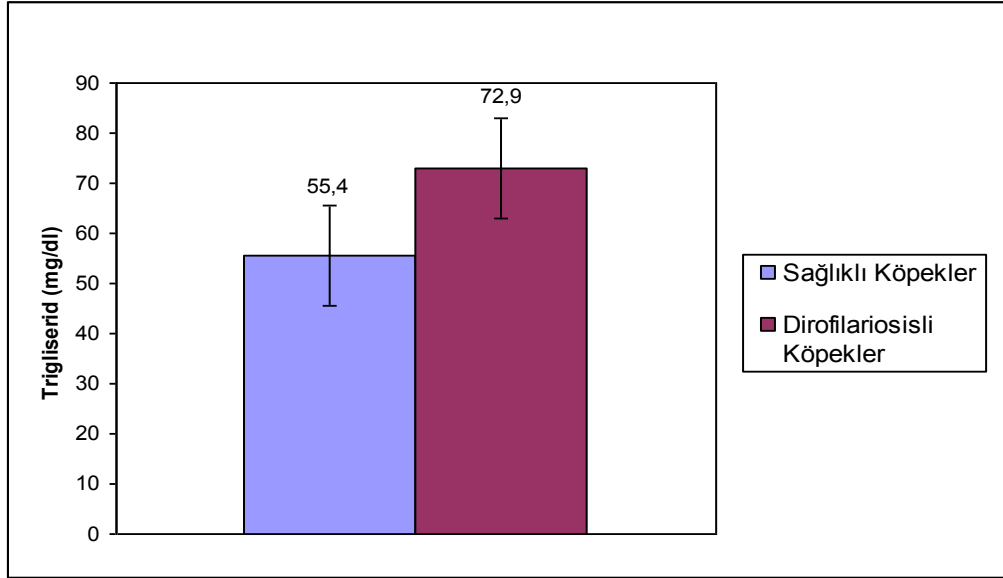
Şekil 4.8. Sağlıklı ve dirofilariosisli köpeklerde serum ARE düzeyleri

Tablo 4.2. Kontrol grubu ve Dirofilariosis'li köpeklerin lipid profil düzeyleri

Parametre	Kontrol Grubu n=15	Drofilariosisli Köpekler n=15
Trigliserid (mg/dl)	55,4 ± 16,3	72,9 ± 19,6 [¶]
Total kolesterol (mg/dl)	170,6 ± 25,1	137,0 ± 18,2 [*]
VLDL (mg/dl)	9,2 ± 0,8	11,6 ± 1,3 [†]
LDL (mg/dl)	78,7 ± 9,2	103,4 ± 11,7 [*]
HDL (mg/dl)	81,7 ± 15,4	56,3 ± 8,6 [¶]

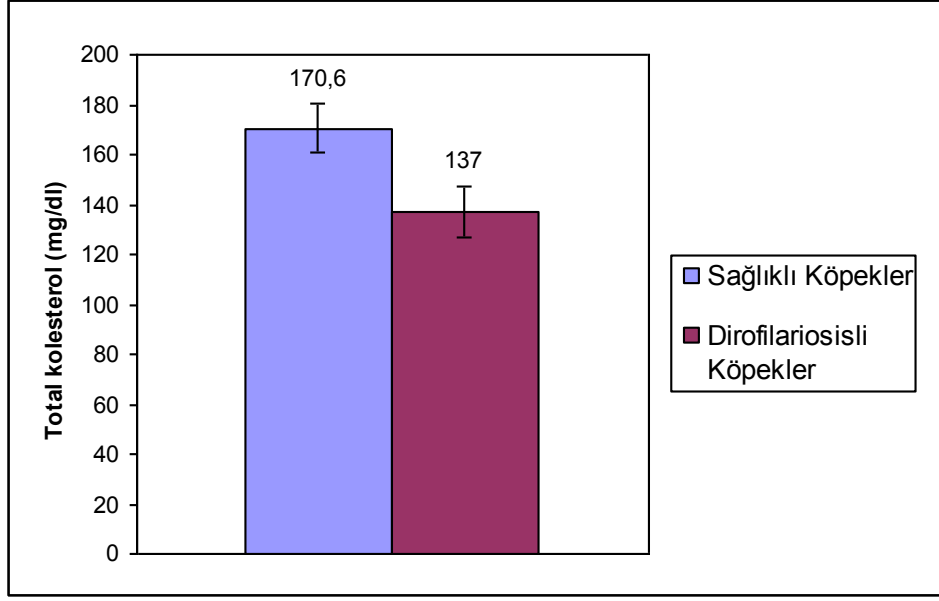
Kontrol grubu ile hasta grubu arasında * p < 0,001, [¶] p < 0,01 ve [†] p < 0,05 derecesinde önemlilik olduğunu göstermektedir.

Sağlıklı ve Dirofilariosisli köpeklerin lipid profili düzeyleri Tablo-2'de verilmiştir. Buna göre sağlıklı köpeklerde trigliserid düzeyi, ortalama 55,4 mg/dl olarak ölçülürken, dirofilariosisli köpeklerin serum trigliserid düzeyi 72,9 mg/dl olarak ölçülmüştür. Dirofilariosisli köpeklerin serum trigliserid düzeyi, sağlıklı köpeklerden istatistiksel olarak p<0,01 önem düzeyinde bulunmuştur (Tablo 4.2, Şekil 4.9).



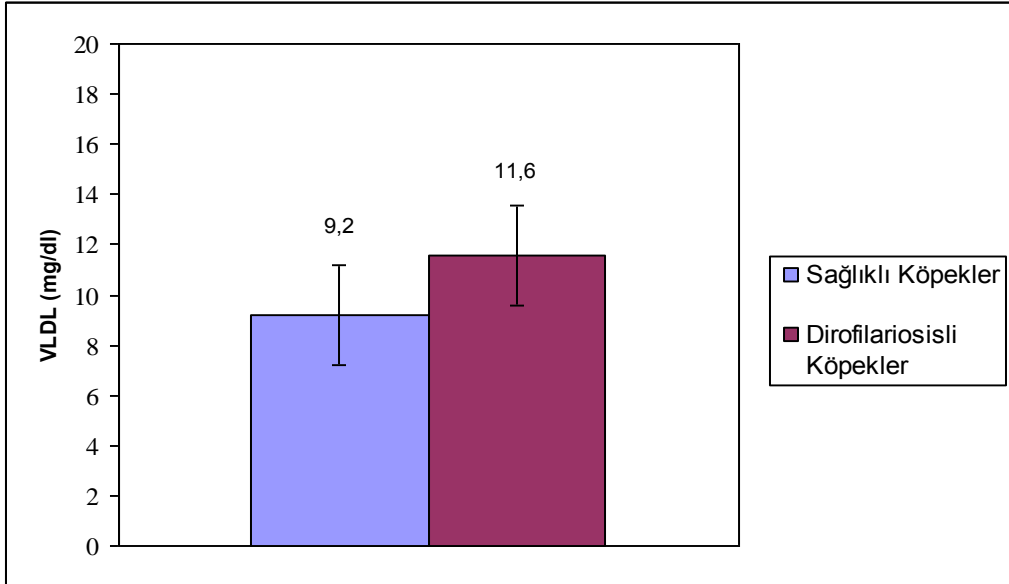
Şekil 4.9. Sağlıklı ve dirofilariosisli köpeklerde serum trigliserid düzeyleri (p < 0,01)

Serum total kolesterol düzeyi ise sağlıklı köpeklerde ortalama olarak 170,3 mg/dl olarak ölçülürken, dirofilariosisli köpeklerde 137 mg/dl olarak ölçülmüştür. Dirofilariosisli köpeklerin serum total kolesterol düzeyi, kontrol grubundaki köpeklerden istatistik olarak p < 0,001 önem düzeyinde bulunmuştur (Tablo 4.2, Şekil 4.10).



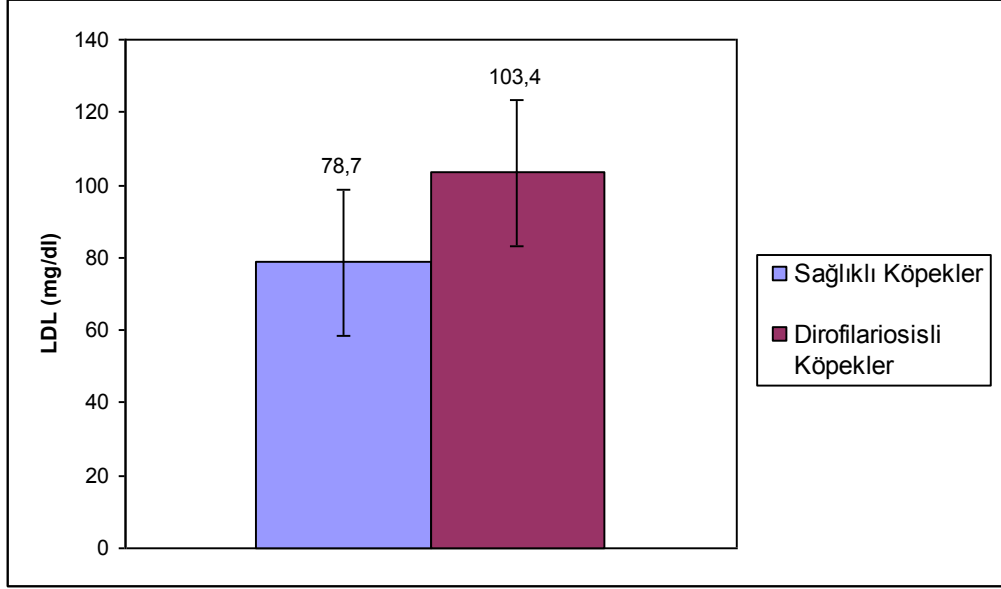
Şekil 4.10. Sağlıklı ve diro filariosisli köpeklerde serum total kolesterol düzeyleri ($p < 0,001$)

Dirofilariosisli köpeklerin kan serum VLDL düzeyi 11,6 mg/dl olarak ölçülürken, sağlıklı köpeklerde ortalama olarak 9,2 mg/dl ölçülmüştür. Dirofilaria immitisli köpeklerin serum VLDL düzeyleri sağlıklı köpeklerden istatistiksel olarak $p < 0,05$ önem düzeyinde bulunmuştur (Tablo 4.2, Şekil 4.11).



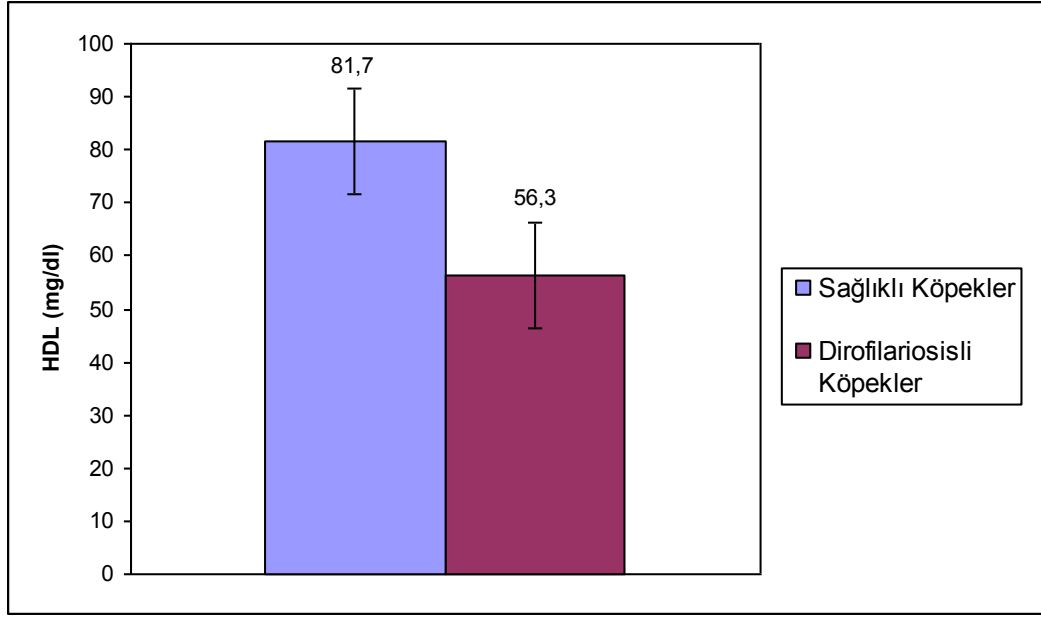
Şekil 4.11. Sağlıklı ve diro filariosisli köpeklerde serum VLDL düzeyleri ($p < 0,05$)

Serum LDL düzeyi ise, sağlıklı köpeklerde ortalama olarak 78,7 mg/dl ölçülürken, dirofilariosisli köpeklerde 103,4 mg/dl olarak ölçülmüştür. Dirofilariosisli köpeklerde serum LDL düzeyi, sağlıklı köpeklerden istatistiksel olarak $p < 0,001$ önem düzeyinde yüksek bulunmuştur (Tablo 4.2 Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Sağlıklı ve dirofilariosisli köpeklerde serum LDL düzeyleri ($p < 0,001$)

Yapılan biyokimyasal analizler sonucunda, serum HDL düzeyi sağlıklı köpeklerde ortalama olarak 81,7 mg/dl ölçülürken, dirofilariosisli köpeklerde 56,3 mg/dl olarak ölçülmüştür. Dirofilariosisli köpeklerin serum HDL düzeyi, sağlıklı köpeklerden istatistiksel olarak $p < 0,01$ önem düzeyinde düşük bulunmuştur (Tablo 4.2, Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Sağlıklı ve dirofilariosisli köpeklerde serum HDL düzeyleri ($p < 0,01$)

5. TARTIŞMA

Dirofilariosis, diğler adı ile kalp kurdu hastalığı, Türkiye'nin de içinde bulunduğu tropik, subtropik ve sıcak bölgelerde yaygın olarak bulunan önemli zoonoz bir hastalıktır (Balıkçı 2005). Adından da anlaşılacağı gibi, hastalık etkeni olan *D. immitis* nematodunun erişkinleri köpeklerin sağ ventrikulusu ve pulmoner arterlerine yerleşerek, endotel hasarı, pulmoner tromboemboli, pulmoner hipertansiyon, miyokard dejenerasyonu ve arterioskleroza sebep olur. Hastalığın ilerleyen aşamalarında ise konjestif kalp yetmezliği, hepatik konjesyon, ascites ve glomerulonefritis ve ölüm görülür (Schrey ve Trautvet 1998; Balıkçı ve ark. 2005).

Dirofilariosisli köpeklerde kalbin hem fonksiyonel, hem de morfolojik olarak etkilendiğı belirlenmiştir (Sarkar ve ark. 1978; Bakirel ve Güneş 2009). Bu nedenle bu çalışmada dirofilariosisli köpeklerde meydana gelen kalp ile ilgili bozuklukları belirlemek amacıyla, kalp için spesifik olan LDH ve CK enzimi ile kalbe özgü olan CK-MB izoenzimi aktivite düzeyleri belirlenmiştir. Ayrıca desteklemesi için karaciğere spesifik olduğu kadar, kalp ve iskelet kası hastalıklarında da artış gösteren AST ve ALT enzim aktivite tayinleri de yapılmıştır.

LDH ve CK, özellikle CK-MB insan ve hayvanlarda miyokard hücre hasarının önemli belirteçleridir (Church ve ark. 2007; Bakirel ve Güneş 2009). Benzer şekilde Diniz ve ark. (2007), troponin ve CK-MB serum aktivite tayininin, köpeklerde kardiyak hasarın spesifik ve duyarlı indikatörleri olduğunu bildirmişlerdir. Song ve ark.(2003), dirofilariosisli köpeklerde kardiyopulmoner lezyonlar sonucu CK enziminin yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Aynı şekilde Meral ve Bakirel (2007) ile Bakirel ve Güneş (2009) dirofilariosisli köpekler ile yaptıkları çalışmalarda, dirofilariosisli köpeklerde kardiyopulmoner lezyonlar sonucu serum LDH, CK ve CK-MB izoenzim düzeylerinin önemli derece artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Daha önce yapılan çalışmalara benzer olarak, bu çalışmada da serum LDH, CK ve CK-MB aktivite düzeyleri dirofilariosisli köpeklerde sağlıklı köpeklerden istatistiksel olarak önemli derecede yüksek bulunmuştur.

Dirofilariosisli köpeklerde karaciğer için spesifik olan AST, ALT ve ALP enzim aktivite düzeylerinin de yüksek olduğunu bildirilmiştir (Song ve ark. 2003; Balıkçı 2005; Sevimli ve ark., 2007). Yağm ve ark. (2007), dirofilariosisli köpeklerde karaciğer enzim aktivitelerinin artmasının, hastalıkta sağ kalp yetmezliğine bağlı olarak gelişen asites ve pasif konjesyona bağlı olduğunu bildirmiştir. Bu enzimler hücre içinde faaliyet

göstermeleri nedeni ile sağlıklı köpeklerde serum enzim aktiviteleri düşüktür. Karaciğer enzim aktivitelerindeki herhangi bir yükselme onların yerleştiği dokularda olan tahribatın bir göstergesidir (Niwetpathomwat ve ark. 2007). Daha önce yapılan çalışmalara benzer şekilde, bu çalışmada da dirofilariosisli köpeklerde serum AST ve ALT aktivitesi, sağlıklı köpeklerden istatistiksel olarak $p \leq 0.001$ önem düzeyinde yüksek bulunmuştur. Dirofilariosisli köpeklerde serum LDH, CK, CK-MB, AST ve ALT enzim aktivite düzeylerinin yüksek bulunması, *D. immitis* nematodunun erişkinlerinin köpeklerde sağ ventrikulus ve pulmoner arterlere yerleşerek, kardiyovasküler hasar meydana getirdiğinin göstergesidir (Bakırel ve Güneş 2009). Ayrıca hasta köpeklerde AST ve ALT enzim aktivite artışı, parazit nedeni ile meydana gelen kardiyovasküler hasarın veya hepatik hasarın göstergesi olabilir.

Paraoksonaz enzimi (PON1) karaciğerde sentezlenen, fiziksel olarak HDL'ye bağlı, 355 aminoasit içeren glikoprotein yapısında antioksidan etkili bir enzimdir. Behçet hastalığı (Karaküçük ve ark 2004), ülseratif kolit (Başkol ve ark 2006), romatoid artrit (Altındağ ve ark. 2007) ve akut purpura (Ece ve ark. 2007), ateroskleroz, koroner kalp hastalığı, miyokard infarktusu, hiperkolesterolemi ve diyabet gibi insan ve hayvan türlerini etkileyen çoğu hastalıkta, yangı koşulları ve oksidatif stres altında ROS patogenezine bağlı olarak PON1 aktivitesinin düştüğü belirlenmiştir (Farid ve ark. 2008; Efrad ve ark. 2009; Motta ve ark. 2009).

İnsan serum PON1 aktivitesinin kardiyovasküler hastalık riski ile ters ilişkili olduğu gösterilmiştir (Farid ve ark. 2008). Jarvik ve ark. (2003). PON1 aktivite düzeyi tayininin, vasküler hastalıkların tanısında en iyi indikatör olduğunu belirtmişlerdir. PON1 enzimi üzerine yapılan çalışmalar enzimin değişik mekanizmalarla aterosklerotik oluşumu engellediğini göstermiştir (Durrington 2001). PON1; LDL, HDL ve makrofajları oksidatif strese karşı koruyarak, makrofajlar tarafından okside-LDL'lerin alınımını uyararak, makrofajlarda kolesterol biyosentezini inhibe ederek ve HDL aracılığıyla hücrelerden kolesterolün geri transportunu uyararak ateroskleroz oluşumunu önler (Efrat ve ark 2009). PON1, HDL'nin aterosklerozdan koruyucu etkisine katkıda bulunarak, arteriyel hücreler ve LDL üzerinde lipid peroksit birikimini önleyerek ve hidrojen peroksit de dahil olmak üzere radikalleri nötralize ederek aterosklerotik süreçte antioksidan etki gösterir (Özkan ve ark. 2004; Türkoğlu ve ark. 2008). Son yıllarda yapılan çalışmalar, PON1'in serum ve dokularda oksidatif stresi azalttığını göstermektedir (Aviram ve Rosenblat 2005).

PON enzim ailesi (PON1, PON2, PON3) insanlarda birçok hastalıklarda çalışılmış olmasına rağmen, dirofilariosiste PON1 aktivitesi değişimi ile ilgili herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır. Fakat *D. immitis* gibi bir nematod olan *N. brasiliensis* enfeksiyonunda, ratlarda serum PON1 aktivitesinin düştüğü Farid ve ark. (2008) tarafından gösterilmiştir. Farid ve ark. (2008) parazitli ratlarda serum PON1 aktivitesindeki düşmenin, yangı öncesi sitokinlerin etkisi ile hepatik PON1 üretiminin azalmasına bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Motta ve ark. (2009) ise, köpeklerde egzersiz sonrası PON1 düzeyinin düştüğünü belirlemişlerdir. Köpeklerde PON1 düzeyinin ilk kez belirlendiği bu çalışmaya benzer şekilde bu çalışmada da dirofilariosisli köpeklerde serum PON1 aktivitesi, sağlıklı köpeklerden istatistiksel olarak $p \leq 0.001$ önem düzeyinde düşük bulunmuştur. Dirofilariosisli köpeklerde PON1 enzim aktivite düzeyindeki görülen azalma, olgun parazitlerin kalpte meydana getirdiği oksidatif hasarın zararlı etkilerinin önlenmesi için bu antioksidan enzimin kullanılmasına bağlı olduğu düşünülmektedir.

PON1 enzimi aynı zamanda arilesteraz, fosfotriesteraz, laktonaz, fosfolipaz A2 gibi çok çeşitli enzim aktivitesine sahip bir multienzimdir (Efrat ve ark. 2009). PON1 ARE'nin doğal substratı olan fenil asetatı hidroliz edebilme yeteneğine sahiptir. PON1 ve ARE'nin iyi bilinen ortak özellikleri organofosfatları, aril ve alkil halojenürleri hidroliz etme yeteneğidir ARE, PON1'deki değişimlerden etkilenmeyen asıl proteinin göstergesi olarak kabul edilmektedir (Türkoğlu ve ark. 2008). Çeşitli tuz solüsyonları paraoksonaz ve arilesteraz aktivitelerini etkilemektedir. Sodyum klorür, potasyum klorür ve amonyum klorür gibi çeşitli tuz ilavelerinin paraoksonaz aktivitesi üzerindeki stimulan etkileri araştırılmış ve en yüksek oranda stimülasyonun sodyum klorür ile gerçekleştiği tespit edilmiştir. PON1 ölçümünde kullanılan tampona 1 M NaCl ilavesi, PON1'i uyarıp tümüyle aktif, ARE'yi ise tümüyle inhibe etmektedir. Böylece sadece PON1 aktivite düzeyi belirlenebilmektedir (Gülcü ve Gürsu 2003). Bu çalışmada dirofilariosisli köpeklerde NaCl-PON aktivitesi sağlıklı köpeklerden istatistiksel olarak $p < 0.01$ önem düzeyinde düşük bulunurken, ARE aktivitesinde her iki grup arasında istatistiksel açıdan bir fark bulunamamıştır. Bu durum PON1'in ateroskleroz önleyici fonksiyonunun ve dolayısı ile antioksidan özelliğinin ARE'den bağımsız olduğunu gösterebilir.

PON1, serum lipidleri ve lipoproteinlerinin metabolizmasının önemli bir enzimidir. Bu nedenle lipid profili bozukluklarının belirlenmesinde önemlidir. HDL ile bağlı olan PON1'in total kolesterol, trigliseritler, LDL ve VLDL ile de ilişkili olduğu gösterilmiştir.

(Himbergen ve ark. 2008). Bu çalışmada PON1 ile ilişkili olarak dirofilariosisli köpeklerde serum trigliserid, total kolesterol, VLDL, LDL ve HDL düzeyleri de ölçülmüştür.

Miyokard infarktüsü kalbi besleyen koroner arterlerin aniden tıkanması sonucu oluşan ve şiddetli kalp yetmezliğine sebep olan bir bozukluktur. Akut koroner tıkanmasından sonra miyokarda iskemi ve hücrel metabolik değişimler meydana gelir (Salmanoğlu ve Bozdoğan 1991). Kalp kurdu hastalığında, erişkin *D. immitis*'lerin kalpte sağ ventrikulus ve pulmoner arterlere yerleşerek, endotel hasarı, miyokard infarktüsü ve arterioskleroza sebep olduğu bildirilmiştir (Bakırel ve Güneş 2009). Miyokard enfarktüsü olan köpeklerde serum lipid düzeylerinde artış olduğu Salmanoğlu ve Bozdoğan (1991) tarafından bildirilmiştir. Ayrıca Ağaçhan ve ark. (2005) da, insanlarda miyokard infarktüsünde, serum trigliserid, total kolesterol, LDL ve VLDL düzeylerinin arttığını, HDL düzeyinin ise azaldığını göstermişlerdir. Literatürde hipertrigliserideminin periferik arter hastalığı için risk faktörü olduğunu destekleyici çalışmalar vardır (Beşirli ve ark. 2002). Jacobs ve ark. (1992) dirofilariosis ile enfekte köpeklerde yaptıkları çalışmada serum trigliserid, serbest kolesterol ve total safra asitlerinde artma, HDL de ise azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada dirofilariosisli köpeklerde serum trigliserid düzeyi ve VLDL düzeyi sağlıklı köpeklerden yüksek bulunurken, yapılan çalışmalardan farklı olarak total kolesterol düzeyi düşük bulunmuştur. Dirofilariosisli köpeklerde serum trigliserid ve VLDL düzeylerinin yüksek olmasının sebebi, konakta meydana gelen glikolizise bağlı olarak trigliseritlerin ve VLDL kolesterolün karaciğerde yapımını stimule eden yağ doku lipolizisi olabilir. Hasta köpeklerde total kolesterol düzeylerinin düşük bulunması ise, parazitin sebep olduğu karaciğer hasarına bağlı olarak hepatositler tarafından kolesterolün normal sentezinin sağlanamamasına bağlı olabilir.

LDL kolesterol kanda kolesterolün esas taşıyıcısıdır ve kolesterolün karaciğerden organlara taşınmasından sorumludur (Adamu ve ark. 2008). LDL köpeklerde en fazla konsantrasyonda bulunan lipoproteindir. Plazmada kolesterol ve onun ana bileşeni olan LDL kolesterol aterosklerotik vasküler komplikasyonlarda iyi bilinen risk faktörlerindedir (Beşirli ve ark. 2002). Aterosklerotik lezyonların meydana geldiği endotel hücrelerinde, düz kas hücrelerinde, makrofajlar ve lenfositlerde LDL okside olabileme yeteneğine sahiptir. Aterojenik oluşumda LDL oksidasyonu önemli bir basamaktır. Ağaçhan ve ark. (2005) insanlarda miyokard infarktüsünde serum LDL düzeyinin arttığını bildirmişlerdir.

Kitagawa ve ark. (1987) dirofilariosisli köpeklerde, serum LDL düzeyinin yüksek, HDL düzeyinin ise düşük olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde bu çalışmada da, sağlıklı köpeklerde serum LDL düzeyi ortalama 78,7 mg/dl olarak ölçülürken, dirofilariosisli köpeklerde 103,4 mg/dl olarak ölçülmüştür ($p \leq 0.001$). Dirofilariosisli köpeklerde görülen yüksek LDL düzeyleri, parazit nedeni ile LDL reseptörlerinin baskılanmasına bağlı olarak, karaciğer ve diğer organlarda LDL'nin plazmadan hücreye girişinin azalması ile ilişkili olabilir (Kitagawa ve ark. 1987).

HDL, kolesterolün çeşitli organ ve dokulardan karaciğere taşınmasından sorumludur (Adamu ve ark. 2008). Total plazma kolesterolünün % 90'ını oluşturur. Yapısında serbest kolesterol, kolesterol esterleri, trigliserit, fosfolipidler, antioksidanlar, Apo AI, Apo AII, Apo J gibi proteinler ve LCAT ve PON1 gibi çeşitli enzimleri içerir (Efrat ve ark. 2009). Serum PON1 plazmada HDL ile birlikte bulunur ve plazma lipoproteinlerinin oksidasyonunun önlenmesinde HDL'nin antioksidan etki göstermesini sağlar. HDL kolesterol yapısında bulunan PON 1 enzimi, LDL'deki aktif lipidleri yıkar ve böylece paraoksonaz LDL kolesterolü serbest radikallerin indüklediği oksidasyondan korumaktadır (Aviram 1999). Diyabet ve periferik tıkaçıcı arter hastalığı bulunanlarda trigliserid düzeyinin yüksek ve HDL seviyelerinin ise düşük olduğu bildirilmiştir. HDL düzeyindeki belirgin azalmanın aterosklerotik periferik damar hastalıklarını arttırıcı etkisi olduğu bildirilmiştir. Ayrıca HDL düzeyinin koroner arter hastalığı ile ters orantılı olduğu gösterilmiştir (Beşirli ve ark. 2002). Dirofilariosisli köpeklerde HDL düzeyinin düştüğü bildirilmiştir (Kitagawa ve ark. 1981). Benzer şekilde bu çalışmada da dirofilariosisli köpeklerde serum HDL düzeyi, sağlıklı köpeklerden düşük bulunmuştur ($p \leq 0.001$). Çalışmada hasta köpeklerde HDL düzeyinin düşük bulunması, hastalık sırasında oluşan karaciğer hasarına bağlı olarak total kolesterolün yeterince sentezlenememesine bağlı olduğu düşünülmektedir.

6. SONUÇ

Ülkemizde, gerek kentlerde gerekse kırsal yörelerde insanlarla çok yakın ilişkisi olan köpeklerde bulunan parazitler, insan ve çevre sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır (Göz ve ark. 2007). Köpeklerin kalp kurdu hastalığı köpekler ve bazende insanlar için önemli olan zoonoz bir nematod hastalığıdır. Hastalık, dünyada ve ülkemizde yaygın olarak görülmekte ve ekonomik kayıplara neden olmasının yanısıra gittikçe artan oranlarda insan sağlığına da zarar vermektedir (Çakıroğlu ve Meral 2007). Ülkemizde gerek iklim, gerekse vektör sivrisinekleri yönünden dirofilariosisin yayılması için uygun bir ortam olması bu hastalığı önemli kılmaktadır.

Dirofilariosis genellikle asemptomatik seyrederek, bu nedenle subklinik hastalığın tanısının konulmasında, erişkin *D. immitis*'in kalpte yaptığı hasarın ölçümünde kullanılan kalbe özgü enzimler gibi, yeni spesifik biyokimyasal parametrelere ihtiyaç vardır. Çalışmada dirofilariosisli köpeklerde kalp için spesifik olan enzimlerin aktiviteleri artarken, lipid profili düzeyleri de hasta köpeklerde değişiklik göstermiştir. Dirofilariosiste görülen bu değişimler hastalığın patogenezi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Araştırmadan elde edilen verilerin ışığında, serum bazal PON1 ve NaCl-PON aktivite düzeyi ölçümlerinin, dirofilariosisli köpeklerde meydana gelen kardiyak hasarın belirlenmesinde, LDH ve CK-MB gibi yararlı bir indikatör olabileceği kanısına varılmıştır.

7.KAYNAKLAR

1. **Adamu S, Ige AA, Jatau ID, Neils JS, Useh NM ve ark.**, Changes in the serum profiles of lipids and cholesterol in sheep experimental model of acute African trypanosomosis. *African J Biotechnology* Vol, **2008**, 7(12), pp. 2090-2098.
2. **Ağaçhan B, Yılmaz H, Öztürk O, Ergen A, İşbir S.** Aterosklerozda Apolipoprotein E, Okside-Ldl Ve Lipid Profili İlişkisinin Araştırılması. *F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi*, **2005**, 19(3), 193-197.
3. **Ağaoğlu Z, Akgül Y, Ceylan E, Akkan H.** Van yöresi köpeklerinde *Dirofilaria immitis*'in yaygınlığı. *YYÜ.Vet. Fak. Derg.* **2000**, 11 (2): 41-43.1
4. **Alı AB, Zhang Q, Lım YK, Fang D, Retnam L ve ark.**, Expression of major HDL-associated antioxidant. PON-1 is gender and regulated during inflammation. *Free Rad Bio & Me.* **2003**, 34: 824-829
5. **Altındağ Ö, Karakoç M, Soran N, Çelik H, Çelik N, Selek Ş.** Paraoxanase and arylesterase activities in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatism*, **2007**, 22: 132-6.
6. **Altınışık M.** Plazma lipidleri ve ateroskleroz. www.mustafaalinisik.org.uk/67-shmyo-203-11.ppt. **2006**, Erişim Tarihi: 30.06.2009.
7. **Avıram M, Rosenblat M.** Paraoxonases and cardiovascular diseases: Pharmacological and nutritional influences. *Curr Opin Lipidol*, **2005**, 16:393-399.
8. **Avıram M.** Does paraoxonase play a role in susceptibility to cardiovascular disease. *Mol Med Tod*, **1999**, 5: 381-6.
9. **Azarsız E, Sözmen EY.** Paraoksonaz ve klinik önemi. *Türk biyokimya dergisi*, **2000**, Cilt:25, sayı:3, s.109-119.
10. **Balıkçı E, Sevgili M.** Elazığ ve çevresindeki köpeklerde *Dirofilaria immitis*'in seroprevalansı. *Fırat Üniv. Sağlık Bil. Derg.* **2005**, 19 (2): 103-106.
11. **Bakırel U, Güneş S.** Value Of Cardiac Markers In Dogs With Chronic Mitral Valve Disease. *Acta Veterinaria*, **2009**, Vol. 59, No. 2-3, 223-229.
12. **Başkal N.** Lipoprotein Metabolizması ve Hiperlipidemi Tedavisindeki Yenilikler. *Optimal Tıp Dergisi*, **1989**, 2(1): 34-42.
13. **Başkol G, Köse K.** Paraoksanase: Biyokimyasal özellikleri, fonksiyonları ve klinik önemi. *Erciyes Tıp Dergisi*, **2004**, 26 (2) 75-80.
14. **Baskol G, Baskol M, Yurci A, Ozbakır O, Yucesoy M.** Serum papoxonase 1 activity and malondialdehyde levels in patients with ulcerative colitis. *Cell Biochem Funct*, **2006**, 24:283-86.
15. **Bayrak T, Bayrak A, Demirpençe E, Kılınç K.** Yeni bir kardiyovasküler belirteç adayı: Paraoksonaz. *Hacettepe Tıp Dergisi*, **2005**, 36:147-151.
16. **Beşirli K, Köksal C, Arslan C, Kazımoğlu K, Şirin G, Bozkurt K, Kaynak K, Tüzün H.** Aterosklerotik damar hastalarında lipid ve lipoprotein değerlerinin irdelenmesi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, **2002**, 33 (3),160-162.

- 17. Biggerstaff KD, Wooten JS.** Understanding lipoproteins as transporters of cholesterol and other lipids. *AdvPhysiol Educ.* **2004**;28:105-106
- 18. Buoro J, Atwell R.** Urinalysis in canine dirofilariasis with emphasis on proteinuria. *Yet Rec,* **1983**, 112, 252-253.
- 19. Camps J, Marsillach J, Joven J.** Measurement of serum paraoxonase-1 activity in the evaluation of liver function. *World J Gastroenterol.* **2009**,15(16): 1929-1933.
- 20. Champe PC, Harvey RA.** Lippincott's Illustrated Reviews. **1994**, J.B. Lippincott Company.
- 21. Collinson PO.** Cardiac markers into the new millennium. *Ann Clin Biochem,* **2000**, 37: 109-113.
- 22. Courtney C, Cornell LA.** Evolution of Heartworm immunodiagnostic tests. *JAVMA,* **1990**, 197 (6): 724-729.
- 23. Çakıroğlu D, Meral Y.** Samsun Bölgesinde, Köpeklerde *Dirofilaria immitis* Enfestasyonu İnsidansı İncelenmesi. *JIVS,* **2007**, 2:1-12
- 24. Çelik İ, Kara M, Yeğin E, Köylü H.** Deneysel Hipertiroidizm Oluşturulan Tavşanlarda Keratin Kinaz ve Kalb Kası Kreatin Kinaz Değerleri. *Tr. J. of Biology,* **1996**,22, 1-5
- 25. Çelik M, Gülcü F, Ozan G, Gürsu MF.** Paraoksonaz 1 ve arilesteraz aktivite düzeyleri. *Türk Biyokimya Dergisi* , **2005**, 30 (2); 194-199.
- 26. Durrington P, Mackness B, Mackness M.** Paraoxonase and atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology,* **2001**, 21, 473-480.
- 27. Duman C, Erden F.** Birinci Basamak Sağlık Hizmetlerine Yönelik Biyokimyasal Laboratuvar Verilerinin Kısa Yorum. *Sürekli Tıp Eğitim Dergisi,* **2004**, Cilt 13:7;257-259.
- 28. Ece A, Kelekçi S, Kocamaz H, Hekimoğlu A, Balık H, Yolbaş İ, Erel Ö.** Antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation, and total antioxidant status in children with Henoch-Schönlein purpura. *Clin Rheumatol,* **2007**,27:163-167.
- 29. Efrat M, Rosenblat M, Mahmood S, Vaya J, Aviram M.** Di-oleoyl phosphatidylcholine (PC-18:1) stimulates paraoxonase 1 (PON1) enzymatic and biological activities, **2009**, *Atherosclerosis* 202, 461-469.
- 30. Eckerson H, Wyte C, La Du.** The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *A. m. J. Hum. Genet.* **1983**, 35, 1126-1138.
- 31. Ekmekçi Balcı Ö, Donma O, Ekmekçi H.** Paraoxonase. *Cerrahpaşa J Med,* **2004**, 35: 78-82.
- 32. Ercan M, Ahmet E, Aydan ÇM, Şevket D, Özsöz A, Kalenci D.** The evaluation of serum creatin kinase (total-CK) and creatin kinase MB (CK-MB) levels in lung cancer. *Türkiye Solunum Araştırmaları Dergisi,* **2001**, 3(4), 300-305.
- 33. Farid SA, Horii Y.** Gastrointestinal nematode infection increases organophosphate toxicity in rats. *Toxicology Letters,* **2008**, 180, 33-37.
- 34. Fırat İ, Gülçubuk A, Çetinkaya H.** İstanbul'da Üç Köpekte *Dirofilaria immitis* Olgusu, *İ. Ü. Vet. Fak. Derg,* **2005**, 31(1): 187-193.
- 35. Fortmann SP, Maron DJ.** Disorders of Lipid Metabolism. *Scientific American Medicine* **1993**, 9:II:1 24.

36. Göz Y, Kotlaş İS, Altuğ N, Demirkazık M, Yüksek N, Ağaoğlu Z. Van Yöresi Köpeklerinde *Dirofilaria immitis*'in Seroprevalansı. YYÜ Vet Fak Dergisi, 2007, 18(2):5-8
37. Gülcü F, Gürsu FM. Paraoksanaz ve Aril Esteraz Aktivite Ölçümlerinin Standardizasyonu. Türk Biyokimya Dergisi, 2003, 28 (2); 45-49.
38. Günşar F. Karaciğer Enzim Profilindeki Değişikliklerde Yaklaşımlar. Güncel Gastroenteroloji, 2003, 192-203.
39. Jacobs R.M, Lumsden, JH, Vernau W. Canine and feline reference values. In: Current Veterinary Therapy XI Small Animal Practice. Philadelphia, 1992, 1250-1278.
40. Jarvik GP, Jampsa R, Richter RJ, Carlson CS, Rieder MJ, Nickerson DA, Furlong CE. Novel paraoxonase (PON1) nonsense and missense mutations predicted by functional genomic assay of PON1 status. *Pharmacogenetics*. 2003; 13: 291–295.
41. Juretic D, Tadijanovic M, Rekec B, Simeon-Rudolf V, Reiner E ve ark., Serum Paraoxonase activities in hemodialyzed uremic patients: cohort study. *Clinical science*, 2001, 42(2): 146-150.
42. Karaçalıoğlu A, Kılıç S, Çelik T, Arslan Z, Yaman H, İlhan S, Özgüven M. Geri dönüşümlü iskeminin miyokard hasarı ile ilgil biyokimyasal belirteçlerin serum düzeyleri üzerine olan etkisinin araştırılması *Gülhane Tıp Dergisi*, 2006, 48: 87-93
43. Khersonsky O, Tawfik DS. Structure-reactivity studies of serum paraoxonase PON-1 suggest that its native activity is lactonase. *Biochemistry*; 2005, 44:6371-82.
44. Kitagawa H, Ishiao K, Kawokomi M. Cardiopulmonary function values before and after heartworm removed in dogs with caval syndrome. *Am J Vet Res*, 1981, 52 (1), 126-132.
45. Kitagawa H, Sasaki Y, Ishihara K. Clinical studies on canine dirofilarial hemoglobinuria: measured and calculated serum osmolarities and osmolar gap. *Jpn. J. Vet. Sci*, 1989, 51: 703- 710.
46. Köse K. Erzincan yöresindeki köpeklerde *Dirofilaria immitis*'in prevalansı üzerine araştırmaları, 2005, YYÜ Sağlık Bil. Enst., Yüksek Lisans Tezi. Van.
47. Küçükercan İ, Çakır Ö, Tokdemir G, Baloğlu G, Orçun A. Akut Miyokard Enfarktüsülü ve Sağlıklı Olgularda CK-MB Aktivite ve Kütle Ölçümü Yöntemlerinin Karşılaştırılması. *Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi*, 2003, Cilt XIV : 1;27-2
48. La Du BN, Adkins S, Kuo CL, Lipsig D. Studies on serum human paraoksanaz/arylesteraz. *Chem Biol Interactions*, 1993, 87, 25-34.
49. Lombard CW. Heartworm disease. In: Bonagura JD. (Editors), *Cardiology*. New York: Churchill Livingstone, 1987, 275-299.
50. Lott JA, Stang JM. Serum enzymes and isoenzymes in the diagnosis and differential diagnosis of myocardial ischemia and necrosis. *Clin Chem*. 1980, 26, 1241-1250.
51. Mackness M, Mackness B. Paraoxonase 1 and atherosclerosis: is the gene or the protein more important? *Free Radic Biol Med*, 2004, 37, 1317–1323.
52. Mackness MI, Arrol S, Abbott C, Durrington PN. Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis*, 1996, 104:129-135.
53. Mackness MI, Harty D, Bhatnagar D, Winocour PH, Arrol S. Serum paraoxonase activity in familial

- hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis*, **2001**, 86:193-199.
54. **Martinelli N, Girelli D, Oliveri O.** Interaction between smoking and PON-2 Ser311Cys polymorphism as a determinant of the risk of myocardial infarction. *Eur J Clin Invest*, **2004**, 34:14-20.
55. **McCall JW, Guerrero J, Genchi C, Kramer L.** Recent advances in heartworm disease. *Veterinary Parasitology*, **2004**,105–130
56. **Meral Y, Bakirel U.** BDR köpekte kalp kurdu hastalığının (dirofilaria immitis) Ekokardiyografik teşhisi. *JIVS*, **2007**,3:1-10.
57. **Montaya A, Morales M, Juste C, Simon F, Genchi C.** Seroprevalence of canine heartworm disease (Dirofilaria immitis) on Tenerife Island: an epidemiological update. *Parasitol Res*, **2006**, 100:103-105.
58. **Munoz P, hernandez O, Garcia J, Garcia R.** Haematological Lipid Profile of Working Dog Fed Metabolic Modifiers, **2007**, *Journal of Animal and Veterinary Advances* 6 (4),553-555.
59. **Naito HK.** Coronary Artery Disease and Disorders of Lipid Metabolism. *Clinical Chemistry*, **2003**, 603-638.
60. **Nelson CT.** Dirofilaria immitis in Cats: Anatomy of a Disease, **2008**, American Heart worm society.
61. **Niwetpathomwat A, Assarasakorn S, Techangamsuwan S.** Canine dirofilariasis and concurrent tick borne transmitted diseases in Bangkok, Thailand. *Comp Clin Pathol*, **2007**, 15:249–253.
62. **Oguz A.** Plazma lipoproteinleri ve ölçüm yöntemleri. In Tokgözoğlu L, ed. Hiperlipidemi ve Ateroskleroz. İstanbul ARGOS iletişim ve yayıncılık, **2001**, 30-40.
63. **Öncel T, Vural.** Seroprevalence of Dirofilaria immitis in stray dogs in İstanbul and İzmir. *Turk J Vet Anim Sci*, **2007**, 29, 785-789.
64. **Özkan Y, Koca S, Gürsu F, Sonkaya E, Dönder E.** Hiperlipidemik Hastalarda Atorvastatin tedavisinin Serum Paraoksonaz-1 Düzeyine Etkisi. *Fırat Tıp Dergisi*, **2004**, 9(4), 123-126.
65. **Öztürk H.** Diabetes Mellitus’da Paraoksonaz aktivitesi ve AOPP düzeyleri. Tıbbi Biyokimya Uzmanlık Tezi. paraoxonase activity in type II diabetes mellitus complicated by retinopathy. *Clin. Sci*, **2000**, 98.
66. **Salmanoğlu B, Bozdoğan Ö.** Köpeklerde Deneysel Miyokard Enfarktüsünde Serum Lipid, Kolesterol, Glikoz, Na, K, ve Ca Düzeyleri. **1991**, *A.Ü Vet. Fak. Derg.* 38 (3),266-283
67. **Sarıtaş Z, Akın F, Şahal M, Öcal N.** Open Heart Surgery Applications in Dogs Suffering from Natural Infection of Dirofilaria immitis. *Turk J Vet Anim Sci*, **2005**, 713-721.
68. **Sarkar P, Basak D, Bhattacharyya H.** Pathology of Dirofilaria immitis infection in dogs. *Indian Vet. J.* **1978**,53(1): 55-57.
69. **Sasaki Y, Kitagawa H, Hirano Y.** Relationship between pulmonary arterial pressure and lesions in the pulmonary arteries and paranchyma, and cardiac valve in canine dirofilariasis. *J. Vet. Med. Sci*, **1992**,54:757-764.
70. **Schaefer EJ, Asztalos BF.** Yüksek dansiteli lipoprotein yükseltilmesi ve kolesterol ester transferaz inhibisyonu ile kalp hastalığı risk azaltılmasında neredeyiz? *Current Opinion in Cardiology*, **2007**, Vol2.

71. **Schrey CF**. Epidemiologische Fallanalyse der kardiovaskulären Dirofilariose (Herzwurmerkrankung) bei Hunden in Deutschland. Dissertation for the degree of Doctor of Veterinary Medicine ,1998, der Freien Universität Berlin.
72. **Sevimli KF, Kozan E, Bülbül A, Birdane MF, Köse M, Sevimli A**. Dirofilaria immitis infection in dogs:unusually located and unusual findings. Parasitol Res, 2007,101:1487–1494.
73. **Song KH, Lee SE, Hayasaki M**. Seroprevalance of canine dirofilariosis in South Korea. Vet Parasitol. 2003,114: 231-236.
74. **Soran H, Younis N, Menys V, Durrington P**.Variation in paraoxonase-1 activity and atherosclerosis. Curr Opin Lipidol.2009, 20:265–274
75. **Şahin T, Sevgili M, Çamkerten İ**. Şanlıurfa yöresi köpeklerinde Dirofilaria sp.'nin yayılışı. T Parazitoloj Derg, 2004, 28,140-142.
76. **Şentürk H, Canbakan B, Hatemi İ**. Karaciğer Enzim Yüksekliklerine Klinik Yaklaşım. Gastroenterolojide Klinik Yaklaşım Sempozyum Dizisi, 2004, 9-13.
77. **Reddy ST, Wadleigh DJ, Grijalva V**. Human paraoxonase- 3 is an HDL-associated enzyme with biological activity similar to paraoxonase-1 protein but is not regulated by oxidized lipids. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2001, 21:542-7.
78. **Taşkıran A, Eskiocak S, Ege T, Duran E, Gülen Ş**. Koroner Bypass Operasyonunda Miyokard Doku Hasarının ve Oksidan Stresin Araştırılması. Türk Biyokimya Dergisi,2004, 29 (2): 193-198
79. **Türkoğlu S, Bulmuş F, Parmaksız A, Özkan Y, Gürsu F**. Metabolik Sendromlu Hastalarda Paraoksonaz 1 ve ArilesterazAktivite Düzeyleri. Fırat Tıp Dergisi, 2008, 13(2): 110-115
80. **Vance DE, Vance JE**. Ceditoro1 Biochemistry of lipida and membranes Benjamin/Cummings, 1985.
81. **Van Himbergen T, van Tits L, Roest M, Graaf J**. Paraoxonase (PON1) is associated with familial combined hyperlipidemia. Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology, 2008, 19, 87-94.
82. **Voyvoda H, Paşa S, Töz SÖ, Özbek Y, Ertabaklar H**. Aydın'ın bazı ilçe ve köyleri ile İzmir'in Selçuk ilçesindeki köpeklerde Leishmaniosis ve Dirofilariosis'in prevalansı. Turk J Vet Anim Sci, 2004,28,110
83. **Yalçın E, Şenlik B, Yılmaz Z, Alasonyalılar A, Akyol V**. Bursa'daki Köpeklerde Dirofilaria Immitis'in Prevalansı. Veteriner Cerrahi Dergisi, 2007, 13 (2), 23-27
84. **Yıldırım A, İca A, Atalay O, Duzlu O, İnci A**. Prevalence and epidemiological aspects of Dirofilaria immitis in dogs from Kayseri Province, Turkey. Research in Veterinary Science, 2007, 82 358–363.
85. **Waner T, Harrus S, Weiss D, Bark H, Keysary A**. Demonstration of serum antiplatelet antibodies in experimental acute canine ehrlichiosis. Vet. Immunol. Immunopathol. 1995, 48, 177–182.

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Hatay'ın Yayladağı İlçesinde doğdu. İlk ve orta öğrenimini Belen'de, lise öğrenimini Antakya'da tamamladı. 2006 yılında Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü bitirdi. Aynı yıl Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Biyokimya ABD dalında yüksek lisansa başladı.