

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

OKSİDATİF STRESİN THEİLERİOSİSLİ SİĞİRLARA ETKİSİNİN  
PARAOKSONAZ AKTİVİTESİ, ISI ŞOK PROTEİN DÜZEYİ VE  
LİPİD PROFİLİ İLE BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Vecihe TURUNÇ

**Danışman**

Yard. Doç. Dr. Tünay KONTAŞ AŞKAR

Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından

BAP-07G0102 nolu proje olarak desteklenmiştir.

**HATAY-2008**

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

**OKSİDATİF STRESİN THEİLERİOSİSLİ SIĞIRLARA ETKİSİNİN  
PARAOKSONAZ AKTİVİTESİ, ISI ŞOK PROTEİN DÜZEYİ VE  
LİPİD PROFİLİ İLE BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Vecihe TURUNÇ

Bu tez isimleri yazılı tez jürisi tarafından 12/11/ 2008 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oybirliği ile kabul edilmiştir.

**Tez Jürisi:** Jüri başkanı: Yard. Doç. Dr. Tünay KONTAŞ AŞKAR  
Üye: Doç. Dr. Suat ERDOĞAN  
Üye: Yard. Doç. Dr. Murat GÜZEL

Bu tez, Enstitümüz Biyokimya (Vet) Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Doç. Dr. Nizami Duran  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitiminin boyunca beni yönlendiren ve her türlü yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Yard. Doç. Dr. Tünay Kontaş Aşkar ve Biyokimya Anabilimdalı Başkanı Doç. Dr. Suat Erdoğan'a, protozoolojik analizleri gerçekteőirerek çalıőmamda yardımcı olan Doç. Dr. Galip Kaya'ya, desteklerinden dolayı Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne, laboratuvar çalıőmalarında yardımlarını esirgemeyen bütün arkadaşlarıma, tezin hazırlanması esnasında çekteğim sıkıntıları benimle paylaşan ve bana her türlü desteğini esirgemeyen sevgili eőim İlhan Turunç'a, yüksek lisans süresi boyunca zamanlarını çaldığım sevgili kızlarım Lina ve Rana'ya teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER	V
TABLolar	VI
SİMGELER ve KISALTMALAR	VII
ÖZET	VIII
ABSTRACT	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Theileriosis	2
2.1.1. Theileria Türlerinin Genel Biyolojisi	3
2.1.2. Theileriosisin Klinik Belirtileri	4
2.1.3. Theileriosisin Patolojisi	4
2.1.4. Theileriosiste Biyokimyasal Çalışmalar	5
2.1.5. Theileriosiste Bağışıklık	6
2.1.6. Theileriosisin Tanısı	7
2.1.6.1. Klinik Tanı	7
2.1.6.2. Mikroskopik Tanı	7
2.1.6.3. Serolojik Tanı	7
2.1.7. Theileriosiste Korunma	8
2.1.7.1. Vektör Kenelerle Mücadele	8
2.1.7.2. Preimmünizasyon Kazandırılması	8
2.1.7.3. Aşılama	8
2.2. Serbest Radikaller, Antioksidanlar ve Theileriosis	9
2.2.1. Serbest Radikaller	9
2.2.1.1. Serbest Oksijen Radikalleri	10
2.2.1.2. Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma	10
2.2.1.3. Theileriosiste Oksidatif Stres	12

2.3. Isı Şok Proteinleri	12
2.3.1. Isı Şok Protein Çeşitleri	13
2.3.1.1. Hsp 100	13
2.3.1.2. Hsp 90	13
2.3.1.3. Hsp 70	14
2.3.1.4. Hsp 60	14
2.3.1.5. Küçük Isı Şok Proteinleri	14
2.3.2. Isı Şok Proteinlerinin Görevleri	14
2.3.2.1. Isı Şok Proteinlerinin Hücre Dışı Görevleri	15
2.3.2.2. . Isı Şok Proteinlerinin Hücre İçi Görevleri	15
2.3.3. Isı Şok Protein Gen Transkripsiyonu	15
2.3.4. Isı Şok Proteinlerinin Artışına Sebep Olan Faktörler	16
2.3.5. Isı Şok Proteinlerinin Teşhis Yöntemleri	16
2.3.6. Isı Şok Proteinleri ve Bağışıklık	17
2.3.7. Isı Şok Proteinlerinin Oksidatif Stresteki Rolü	17
2.3.8. Isı Şok Proteinlerinin Theileriosisteki Rolü	18
2.4. Paraoksonaz Enzimi	18
2.4.1. Paraoksonaz Enziminin Alt Birimleri	19
2.4.2. Paraoksonaz Enziminin Kimyasal Yapısı	21
2.4.3. Paraoksonaz Enziminin Fonksiyonları	22
2.4.4. Theileriosis ve Paraoksonaz	23
2.5. Plazma Lipidleri ve Lipoproteinler	23
2.5.1. Trigliseridler	24
2.5.2. Kolesterol	24
2.5.3. Lipoproteinler	25
2.5.3.1. Şilomikronlar	25
2.5.3.2. Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein	26
2.5.3.3. Düşük Dansiteli Lipoprotein	26
2.5.3.4. Yüksek Dansiteli Lipoprotein	27
2.5.4. Lipid Profili ve Theileriosis	27
2.6. Amaç	28

3. GEREÇ VE YÖNTEM	29
3.1. Gereç	29
3.2. Protozoolojik ve Biyokimyasal Analizler	29
3.2.1. Kan Frotisinin Hazırlanması ve Boyanması	29
3.2.2. Malondialdehit (MDA) Analizi	29
3.2.3. Bazal PON1 Enzim Aktivitesinin Ölçümü	30
3.2.4. Total Kolesterol Analizi	30
3.2.5. Trigliserid Analizi	31
3.2.6. HDL Analizi	31
3.2.7. LDL Analizi	31
3.2.8. VLDL Analizi	31
3.2.9. Plazma HSP-27 Düzeyinin Belirlenmesi	32
3.2.10. İstatistiksel Analizler	32
4. BULGULAR	33
5. TARTIŞMA	38
6. SONUÇ	44
7. KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	52

## ŞEKİLLER

## Sayfa No

Şekil 2.1. Isı şok proteinlerin gen transkripsiyonu	16
Şekil 2.2. PON-1 proteininin üç boyutlu yapısı	20
Şekil 2.3. İnsan Serum Paraoksanaz (PON 1) Enziminin Yapısı	21
Şekil 3.1. PON1 enzimin Paraoksonaz aktivitesi	30
Şekil 4.1. Kontrol grubu ve Theileriosisli sığırlarda plazma MDA düzeyleri	33
Şekil 4.2. Kontrol grubu ve Theileriosisli sığırlarda plazma HSP-27 düzeyleri	34
Şekil 4.3. Kontrol grubu ve Theileriosisli sığırlarda serum PON düzeyleri	35
Şekil 4.4. Kontrol grubu ve Theileriosisli sığırlarda serum trigliserit düzeyleri	35
Şekil 4.5. Kontrol grubu ve Theileriosisli sığırlarda serum total kolesterol düzeyleri	36
Şekil 4.6. Kontrol grubu ve Theileriosisli sığırlarda serum VLDL düzeyleri	E336
Şekil 4.7. Kontrol grubu ve Theileriosisli sığırlarda serum LDL düzeyleri	37
Şekil 4.8. Kontrol grubu ve Theileriosisli sığırlarda serum HDL düzeyleri	37

## **TABLO LİSTESİ**

**Sayfa No**

**Tablo 1.** Kontrol grubu ve Theileriosisli sığırlarda MDA, Hsp-27, PON ve lipid profili düzeyleri

33



## SİMGELER VE KISALTMALAR

HSP:	Isı şok protein
LDL:	Düşük dansiteli lipoprotein
HDL:	Yüksek dansiteli lipoprotein
VLDL:	Çok düşük dansiteli lipoprotein
RES:	Retikülo endotelyal sistem
NK:	Doğal öldürücü
IFN- $\gamma$ :	İnterferon gama
NO:	Nitrik oksit
TNF- $\alpha$ :	Tümör nekroz faktör-alfa
IFN- $\alpha$ :	İnterferon alfa
MHC :	Büyük doku uyum kompleksi
IL-2:	İnterlökin -2
IFAT:	Immuno florasan antikor testi
ELISA:	Enzim bağımlı Immuno Sorbent Assay
PCR:	Polimeraz zincir reaksiyonu
RLB:	Reverse Line Blotting
ROS:	Reaktif oksijen radikali
MDA:	Malondialdehit
SOD:	Süperoksit dismutaz
CAT:	Katalaz
GPx:	Glutasyon peroksidaz
HSF-1:	Isı şok faktör-1
kDA:	Kilodalton
PON:	Paraoksonaz
Cys:	Sistein
DFP:	Diizopropil florofosfat
TBARS:	Tiyobarbitürik asit türleri
IL-1:	İnterlökin-1
IL-6:	İnterlökin-6
IDL:	Orta dansiteli lipoprotein
TBA:	Tiyobarbitürik asit
NaOH:	Sodyum hidroksit
Mm:	Milimolar
NaCl:	Sodyum klorür
nm:	Nanomolar
PEG:	Polietilen glikol
HSDA:	Dimetoksianilin

## ÖZET

### **Oksidatif Stresin Theileriosisli Sığırlara Etkisinin Paraoksonaz Aktivitesi, Isı Şok Protein Düzeyi ve Lipid Profili ile Belirlenmesi**

Theileriosis, yaygın olarak görülen ve büyük ekonomik kayıplara neden olan bir hastalıktır. Bu çalışmada; theileriosisli sığırlarda, akut dönemde oksidatif stres etkisinin ısı şok protein düzeyleri, paraoksonaz aktivitesi ve lipid profili analizi (trigliserid, total kolesterol, çok düşük dansiteli lipoprotein, düşük dansiteli lipoprotein, yüksek dansiteli lipoprotein ) ile ortaya konulması amaçlanmıştır. Araştırma, 1-3 yaş arasında 15 sağlıklı ve 15 theileriosisli sığırdan gerçekleştirilmiştir.

Theileriosisli sığırlarda plazma malondialdehit ( $p<0,001$ ) ve ısı şok protein 27 ( $p<0,01$ ) düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Serum paraoksonaz düzeyi ise, kontrol grubuna göre düşük ( $p<0,001$ ) bulunmuştur. Yapılan lipid profili analizlerinde ise, serum trigliserid ( $p<0,001$ ) ve çok düşük dansiteli lipoprotein ( $p<0,01$ ) düzeyleri, theileriosisli sığırlarda yüksek bulunurken, total kolesterol ( $p<0,001$ ), düşük dansiteli lipoprotein ( $p<0,001$ ) ve yüksek dansiteli lipoprotein ( $p<0,001$ ) düzeylerinin ise düşük olduğu tespit edilmiştir.

Artan enerji ihtiyacının karşılanması için yağların lipolizi ve karaciğer hasarının oluşması gibi çeşitli biyokimyasal değişimler nedeni ile plazma lipid profili theileriosisin patogenezinde rol oynayabilir. Ayrıca serum paraoksonaz aktivitesi ve ısı şok protein 27 düzeyinin belirlenmesi, theileriosisde oksidatif stres etkisinin belirlenmesinde, malondialdehid gibi yararlı bir indikatör olabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Theileriosis, Sığır, Paraoksonaz, Isı Şok Protein, Lipid Profili.

## ABSTRACT

### **The Determination of Oxidative Stress by Paraoxonase Activity, Heat Shock Proteins and Lipid Profile Levels in Cattle with Theileriosis Infection**

In this study we aimed to define the effect of oxidative stress by determining the changes in levels of heat shock protein, paraoxonase activity and lipid profile (triglycerides, total cholesterol, very low-density lipoprotein, low-density lipoprotein, high-density lipoprotein) in cattles with acut Theileriosis. Fifteen healthy and 15 bovine infected with theileriosis over 1-3 year old age were subjected in the present study.

Plasma malondialdehyd ( $p < 0,001$ ) and heat shock protein 27 ( $p < 0,01$ ) levels were determined to be significantly higher in cattles with theileriosis than the control group. On the other hand, serum paraoxonase activity was significantly lower than the control group. According to lipid profile analyses, while serum trigliserid ( $p < 0,001$ ) and very low-density lipoprotein, ( $p < 0,01$ ) levels were significantly highe in cattles with theileriosis, serum total cholesterol ( $p < 0,001$ ), low-density lipoprotein ( $p < 0,001$ ) and high-density lipoprotein ( $p < 0,001$ ) levels were found to be significantly lower than the control groups.

Plasma lipid profile could play a role in patogenesis of theileriosis because of the biochemical changes, such as degeneration of liver and increased levels of lipolysis to compensates the energy requirement which was increased due to theileriosis. In addition, measuring the paraoxonase activity and heat shock protein 27 levels may be useful tools in the determination of oxidative stress in acute theileriosis.

**Key Words:** Theileriosis, cattle, paraoxonase, heat shock protein, lipid profiles.

## 1.GİRİŞ

Theileriosis sığırlarda tropik ve subtropik bölgelerde yaygın olarak görülen, theileria soyuna bağlı parazitler tarafından oluşturulan, vektör keneler tarafından nakledilen protozoer bir hastalıktır (Brown 1989). Subtropikal iklim kuşağında bulunan Türkiye ekonomisinde, hayvancılık çok önemli bir yer tutmaktadır.

Tropikal theileriosis Türkiye’de bulunan paraziter hastalıkların en yaygın olanıdır ve bütün coğrafik bölgelerinde yetiştirilen sığırlarda görülmektedir. Dünya genelinde ise tropikal theileriosis, özellikle Avrupa’nın güneyi, Kuzey Afrika, Ortadoğu, Orta Asya ve Hindistan, Rusya’nın güneyinde yaygın olarak görülür.

Theileria türlerinden *Theileria annulata*, dünyada çok geniş bir alanda 250 milyondan fazla sığırı tehdit etmektedir. Genel olarak theileria enfeksiyonlarının neden olduğu ölümler, yavru atmalar, süttten kesilme, genç hayvanlarda gelişmenin yavaşlaması ve yetişkinlerde et verimliliğinde düşüş gibi kayıpların ekonomik boyutları çok yüksek olmaktadır. Tropikal theileriosis’in bugünkü ekonomik önemi, ölen her bir sığır için yaklaşık 2500 YTL, iyileşen her bir sığır için yaklaşık 100 YTL sağaltım gideri ve 300 litre süt kaybına tekabül eder.

Tropikal theileriosis; Türkiye’de özellikle damızlık amaçlı ithal edilen yüksek verimli sığırlarda ve melezlerinde gelişmekte ve yüksek oranda ölümlere neden olmaktadır. Hastalıkta ölüm oranı yerli ırklarda %50, kültür ve melez ırklarda ise %100'lere ulaşmaktadır.

Theileriosisli sığırlarda yapılan çalışmalarda serum AST, ALT, kreatin ve üre düzeylerinin arttığı, bilirubin, total protein, albumin, kolesterol, glikoz, Fe, Ca ve P düzeylerinin azaldığı belirlenmiştir (Kızıl ve ark. 2007). Ekonomik önemi olması nedeni ile theileriosisli sığırlarda hastalığın patogenezinin belirlenmesi ve tedavi sonrası prognozunun izlenebilmesi için yeni biyokimyasal parametrelere ihtiyaç vardır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1.Theileriosis

Theileriosis sığırlarda tropik ve subtropik bölgelerde yaygın olarak görülen, vektör keneler tarafından transstadial olarak nakledilen protozoer bir hastalıktır (Brown 1989). Theileriosise neden olan türler *Protozoa* alt aleminde, *Apicomplexa* kökünde, *Sporozoa* sınıfında, *Piroplasmida* dizisinde *Theileridae* ailesinde yer alırlar (Karaer ve ark. 1997).

Sığırlarda theileriosis'e sebep olan *Theileria* türleri *Theileria parva*, *Theileria annulata*, *Theileria mutans*, *Theileria tourotragi*, *Theileria velifera*, *Theileria sergenti* olmak üzere 6 türü bulunmaktadır. Tropikal theileriosis, *Theileria annulata*'nın duyarlı sığırlarda yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden, *Hyalomma* soyuna bağlı kene türleri tarafından nakledilen lenfoproliferatif karakterli bir hastalıktır (Kızıl ve ark. 2007). Bu hastalık Kuzey Afrika, Güney Avrupa, Hindistan, Çin ve Orta Asya ile Nil vadisi'nden Sudan'a kadar uzanan geniş bir coğrafyada yaygın olarak görülmekte ve *Hyalomma* soyuna bağlı 15 kene türü tarafından nakledilmektedir (Keleş ve ark. 2001; Çöl ve Uslu 2006).

Sığır theileriosisinin Türkiye'de yaygın olduğu bilinmekte ve sığır endüstrisi için büyük bir tehdit oluşturmaktadır. Hastalık özellikle verim oranı yüksek kültür ırklarında morbidite ve mortaliteye neden olarak büyük ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Karagenç ve ark. 2005). Türkiye'de hastalık *Hyalomma analiticum*, *Hyalomma excavatum*, *Hyalomma detritum* ve *Hyalomma marginatum* tarafında nakledilmektedir (Keleş ve ark. 2001).

*Theileria* etkenleri ilk kez 1897 yılında Robert Koch tarafından Doğu Afrika'da sığırların kanında eritrositler içinde görülmüş ve bu parazitler 'küçük piroplazma' olarak isimlendirilmiştir. 1904 yılında ise Doğu Sahil humması etkenine Theiler tarafından *Piroplazma parvum* adı verilmiştir. Aynı yıl Kafkasya'da Dschunkowsky ve Luhs sığırlarda ölümle seyreden bir hastalık tespit etmiş ve "Tropikal piroplazmosis" adını verdikleri hastalık etkenlerinin, eritrositler içinde şekillerinin yuvarlak görülmesi nedeni ile *Piroplazma annulatum* olarak isimlendirmişlerdir. Daha sonra theileria etkenlerinin iç organlardaki gelişme şekilleri ve diğer piroplazma'lar arasındaki farklar belirlenerek

1918'de theileridae ailesi teşkil edilmiştir. Daha sonra Eckert ve ark. (1992) *Theileria annulata*'nın sistematikteki yerini belirlemiştir.

### 2.1.1.Theileria Türlerinin Genel Biyolojisi

Hyalomma soyuna bağlı kenelerin ısırığı ile büyük ruminantlara aktarılan *Theileria annulata* hayat siklusunun bazı evrelerini sığırlarda (schizont, merozit ve piroplazm), diğerlerini ise vektör kenelerde (gamet ve sporozoit) tamamlar (Veteriner hekim net. 2006).

Doğal şartlarda, enfekte kene konağa gelip kan emmeye başladıktan 24-48 saat sonra, kenenin tükruk bezlerinde *T.annulata* sporozoitleri oluşur ve bunlar sığırlara verilmeye başlar. Parazitin piroplazm formları keneler için, şizont formları ise sığırlar için enfektiftir. Parazit kenelerde bağırsak, hemolenf ve tükruk bezlerinde; sığırlarda lenfoit doku hücrelerinde ve eritrositlerde gelişimini devam ettirir. Kenelerde gamotogoni ve sporogoni, sığırlarda şizogoni görülür (Altay ve Aktaş 2004; Ahmed ve ark. 2008). *Theileria Annulata*'nın sporozoitleri hemen lenfositlere girerek trofozoit halini alırlar ve çekirdek bölünmesi geçirerek makroşizontları oluşturur. Makroşizontlar lenf yumrusu biyopsilerinde görülebilirler. Enfeksiyonun 8-10. günlerinde bir kısım makroşizontlar mikroşizont haline dönüşür ve konak hücreyi parçalayarak eritrositleri istila ederler. Eritrositlerde bölünme yoluyla parazitin eritrositer formları (piroplazm) meydana gelir (Çöl ve Uslu 2006). Sığır eritrositleri içindeki piroplazm formlarının %70-80'i oval veya yuvarlak, %20-30'u virgül şeklindedir. Giemsa boyası ile piroplazmların sitoplazmaları açık maviye, çekirdekleri kırmızıya boyanır, ortada belirgin vakuol bulunur. Bunlar eritrositler içinde, şizogonik bölünme ile gelişmelerine devam ederler ve bu hücrelerin %90'ını enfekte edebilirler (Dinçer 1985).

*Theileria annulata*'nın seksüel gelişmesi (gametogoni), enfekte hayvanlardan kan emen vektör kenelerin bağırsaklarında olmaktadır. Kene tarafından alınan piroplazmalı eritrositler kenenin bağırsaklarında parçalanır ve merozoitler açığa çıkar. Merozoitler parçalanarak makro ve mikrogametleri oluşturur. Mikrogametinin makrogameti döllemesi ile zigot oluşur. 12. günde zigotlar hareketli kinetleri oluştururlar. Kinetler tükruk bezlerinin asini hücrelerine girerek sporozoitleri oluştururlar. Sporozoitler kene tarafından tükruk salgısı ile birlikte sığırlara verilir (Veteriner hekim net. 2006; Çöl ve Uslu 2006; Ahmed ve ark. 2008). Sporozoitler anında bölgesel lenf yumrusuna taşınırlar ve buradan da kan

yoluyla Retikulo Endotelyal Sistem'e (RES) bağlı diğer organlara girerek hem lenf yumrusunda, hem de bu organlardaki lenfoid hücreslere girerler ve burada sporogonik çoğalma sonucunda binlerce sporozoit meydana gelir (Preston ve ark. 2001).

### **2.1.2. Theileriosis'in Klinik Belirtileri**

Theileriosis'in inkübasyon süresi 8-25 gün arasında değişmekle birlikte, ortalama 2 haftadır. Enfeksiyonun şiddeti konak duyarlılığına, yaşına ve etkenin patojenitesine göre değişiklik gösterir (Kızıl ve ark. 2007).

Hastalığın klinik belirtileri ateş (ilk günlerde 41-42°C), lenf bezlerinin asimetrik şişmesi, ağız, göz ve burun akıntısı, nabız ve solunum artışı, iştahsızlık, bazen hemoglobüri, konjunktiva ve mukozalarda peteşiyel kanamalar şeklinde ortaya çıkar. Hastalığın son dönemlerinde ise hemolitik anemi ve ikterus görülür. Ateş başlangıcında dışkı katı iken, hastalığın ilerlemesi ile kanlı ve mukuslu ishal olabilir. Bu semptom karakteristik olup abomasum ve sindirim sistemindeki kanamaların işaretidir (Kızıl ve ark. 2007; Osman ve Gaabary 2007).

Duyarlı hayvanlarda parazit süşunun virulansına bağlı olarak mortalite %40 ile %60 arasında değişmektedir. Duyarlı egzotik ırklarda mortalite en az %70 olarak bildirilmektedir (Karagenç ve ark. 2005; Osman ve Gaabary 2007).

### **2.1.3. Theileriosis'in Patolojisi**

Hastalığın patojenezi lenf hücreleri ile eritrositlerde parazitinin yaptığı tahribat sonucu ortaya çıkar. Hastalık belirtileri, sporozoitlerin vücuda girişinden ortalama 15 gün (9-25 gün) sonra ortaya çıkar. *T. annulata*'nın neden olduğu tropikal theileriosis'de, schizont (lenfosit evresi) ve piroplasm (eritrosit evresi) formları patojendir ve kenelerle iletilen hastalıklar arasında en önemli yeri tutmaktadır. Başlangıçta lenf hücrelerinin sınırsız çoğaldığı ve sonra lenf hücrelerinin tahribatına yol açan hastalık etkeninin en patojen dönemi schizont evresidir. Sığır makrofajları ve B-lenfositlerin *T. annulata* schizontlarının hedefi olduğu yakın zamanda yapılan çalışmalarla ortaya çıkarılmıştır (Glass ve ark. 2003). Bu çalışmalardan çıkan sonuçlara göre, schizont ve piroplasmik evrede parazitinin eş zamanlı olarak hayvanların genel durumları üzerine olan patojen etkileri (lökosit ve eritrosit değerlerinde önemli düşüşler; lenf bezleri, dalak, timus gibi doku ve organlarda tahribatlar, anemi, ikter, ishal ve hemoglobüri gibi) ortaya çıkar

(Veteriner hekim net. 2006). Bu tahribatlar, histopatolojik olarak, derialtı dokularında peteşiler, lenf yumrularında hiperplazi, splenomegali, hepatomegali, epi ve endokardiyal peteşi ve ekimozlar, böbrek korteksinde gri-beyaz odaklar ve obamasum ülserleri görülmektedir (Sayın 1985; Veteriner hekim net. 2006).

#### **2.1.4. Theileriosiste Biyokimyasal Çalışmalar**

*Theileria annulata* ile enfekte sığırlarda eritrosit sayısı, hemoglobin miktarı ve hematokrit değerlerde hastalığın süresi ve şiddetiyle ilişkili olarak önemli derecelerde azalmalar olduğu değişik çalışmalarda bildirilmiştir. Tropikal theileriosiste anemi en önemli semptom olmasına rağmen, kesin mekanizması halen bilinmemektedir (Kızıl ve ark. 2007). Adam ve ark. (1981) komplement aktivasyonunun eritrosit yıkımına neden olduğunu ileri sürmüştür. Özellikle hastalığın son dönemlerine doğru lenfositlerin yıkımı ve çeşitli organlara infiltrasyonu nedeni ile loköpeni görülmektedir (Kızıl ve ark. 2007).

Kızıl ve ark. (2007) *theileria* ile enfekte sığırlar üzerinde yaptıkları çalışmada, kontrol grubu sığırlara göre serum total protein, glikoz, albumin, globulin düzeylerinde azalma, bilirubin, BUN ve ürik asit düzeylerinde ise artma bildirmişlerdir. Theileriosisli sığırlarda serum total protein düzeyindeki azalmanın muhtemel karaciğer yetmezliği nedeni ile oluşan hipoalbuminemi ve hipoglobulinemiye bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Sandhu (1996) ise total protein ve albumin düzeylerindeki azalmanın hem gıda alımının hastalık süresince yetersiz olması, hemde ateşli hastalıklarda metabolik ihtiyaçların artması nedeni ile albuminin aşırı yıkımlanması nedeniyle oluştuğunu bildirmiştir.

Deneysel olarak *T. annulata* ile enfekte buzağılarda serum AST, ALP ve ALT seviyelerinde artış olduğu bildirilmiştir. Normal olarak bu enzimler kas dokusu ve karaciğerde bulunmaktadır. Artış dokularda meydana gelen hasara bağlıdır (Smith 2002). *Theileria* enfeksiyonunun karaciğerde koagülasyon negrozuna, periportal alanlarda yoğun lenfosit infiltrasyonuna ve anemi nedeniyle oluşan hipoksinin de hepatobilier sistemde hasara neden olduğu ifade edilmiş ve bu enzimlerdeki artışların nedeni olarak gösterilmiştir (Omer ve ark. 2003).



### 2.1.5. Theileriosis'e Bağışıklık

Theileriosis'e karşı immün yanıt oluşmasında, konağın türü, ırkı, yaşı, fizyolojik durumu ile parazitin suşu önem taşımaktadır. Kenelerle doğal şekilde bulaşmasının ardından *T. annulata* enfeksiyonu geçiren hayvanlar parazitin reenfeksiyonuna karşı bağışıklık kazanmaktadır. Enfeksiyondan kurtulan hayvanda şizont formlar hemen kaybolmaz, dokularda uzun süre kalır. Bu durum, parazite karşı oluşan bağışıklığın eritrositer formlara karşı oluşmadığı, şizont formlara karşı oluştuğunu göstermektedir (Altay ve Aktaş 2004).

Theileriosisli sığırlarda sporozoit, trofozoit, makroşizont ve merozoit olmak üzere parazite karşı immün yanıt oluşturur. Spesifik olarak şekillenmiş antikorlar sporozoitleri nötralize eder veya fagosite edilmelerini artırır. Bununla beraber tropikal theileriosis'e karşı korumada hücrel bağışıklık çok daha önemlidir. Bağışıklıkta asıl etkili olan hücreler makrofajlardır. Hastalığın üstesinden gelebilmek, makrofaj ve bu hücrelerin salgılarının etkilerine bağlıdır (Campbell ve ark 1997; Yaralı 2001).

*T. annulata*'ya karşı koruyucu bir bağışıklığın oluşabilmesinin, doğal bağışıklık ve kazanılmış bağışıklık arasındaki işbirliğine bağlı olduğu gösterilmiştir. Doğal bağışıklıkta makrofajlar sporozoit enfeksiyonundan sonra sürekli anti-makroşizont aktivitesi gösterirler. Doğal enfeksiyonun iyileşme döneminde doğal öldürücü hücreler (Naturel Killer-NK) şizontlarla enfekte hücreleri lize ederler. Theileriosisli sığırlarda doğal ve deneysel enfeksiyon sırasında alınan makrofajların tümör nekroz faktör-  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ve nitrik oksit (NO) ürettikleri saptanmıştır (Glass ve ark. 2005). Çoğalmakta olan parazitler NK hücrelerini interferon-  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) makrofajları ise TNF- $\alpha$  üretmek için stimüle etmekte ve böylece doğal enfeksiyonun erken döneminde NO sentezini hızlandırmaktadırlar. Çünkü makroşizontlarla enfekte hücreler NK hücre aktivitesinin bir stimülatörü olan IFN- $\alpha$ 'yı üretmektedirler (Ahmed ve ark. 2008).

Kenenin *T.annulata* sporozoitlerini konak hayvana vermesinden sonra, sporozoitler lökositleri istila eder. *T.annulata* sporozoitlerinin MHC (büyük doku uyum kompleksi) sınıf-II taşıyan makrofajları (monositleri) ve B hücrelerini enfekte ettiği, *T. parva*'nın aksine T- lenfositleri enfekte etmediği tespit edilmiştir. T-lenfositleri *invitro* olarak, *T.annulata* makroşizontlarıyla enfekte edilmiş hücreler tarafından uyarıldıkları zaman ürettikleri sitokinler IL-2 ve IFN- $\gamma$ 'dır (Veteriner hekim net. 2006; Ahmed ve ark. 2008).

### **2.1.6.Theileriosis'in Tanısı**

Theileria enfeksiyonlarının tanısında klinik, mikroskopik ve serolojik yöntemler uygulanmaktadır.

#### **2.1.6.1. Klinik Tanı**

Hastalığın görüldüğü bölgelerdeki hayvanlarda 41-42 °C ateş, lenf bezelerinin asimetrik şişmesi, ağız, göz, burun akıntısı, nabız ve solunum sayısında artış, konjiktiva ve mukozalarda peteşiyel kanamalar, daha sonra anemi, bilirubinemi, ve bilirubinuri çevredeki vektör kenelerin varlığı theileriosisi düşündürür. Hemoglobun miktarı ve eritrosit sayısındaki düşme, ayrıca sedimentasyon oranındaki artış tanıyı destekleyici kriterler olarak değerlendirilir (Kızıl ve ark. 2007).

#### **2.1.6.2. Mikroskopik Tanı**

Mikroskopik tanıda kan frotileri ve lenf bezi aspirasyon biyopsisinden yararlanılır. Alınan örnekler Giemsa boyası ile boyanır ve yapılan mikroskopik incelemelerde eritrositlerde piroplazmalar (merozoitler) ve lenfositlerde şizontlar aranır (Dumanlı ve ark. 2005). Mikroskopik bakıda, *T. annulata*'nın piroplazmik formlarının %80'ini oval, %20'si ise armut şeklinde görülür (Anon 1984).

#### **2.1.6.3. Serolojik Tanı**

*T. annulata* enfeksiyonunu teşhis etmek amacıyla birçok serolojik testten yararlanılmaktadır. Bu amaçla en çok Immuno Fluorescent Antibody Test (IFAT) ve Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) dolaşımdaki antikorları teşhis etmek amacıyla kullanılmaktadır (Karaer 2003).

Son yıllarda moleküler biyolojideki gelişmelerle birlikte, hastalık etkenlerinin DNA'sını ortaya koymaya yönelik olarak Polymerase Chain Reaction (PCR) kullanılmaya başlanmıştır. PCR testi theileria türlerinin duyarlı ve özgül biçimde teşhisini olanaklı kılmaktadır (Karaer 2003). Yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda PCR'ın gerek mikroskopik bakı, gerekse IFAT'a göre portör hayvanların belirlenmesinde çok daha duyarlı olduğu belirlenmiştir (Karaer 2003).

### **2.1.7. Theileriosis'de Korunma**

Theileria'de koruyucu önlemlerin alınması büyük önem taşımaktadır. Bu yöntemler arasında vektör kenelerle mücadele, suni preimmunizasyon ve aşılama önemlidir (Brown 1990).

#### **2.1.7.1. Vektör Kenelerle Mücadele**

Hastalık kenelerle nakledildiği için bu hastalıktan korunma ve kontrolde, kenelerle mücadele yapılması en etkili yoldur. Vektör kenelerle mücadele edilmedikçe, hastalığı eradike etmek mümkün değildir. Kenelerle mücadele için bölgenin kene faunası tespit edilmeli ve bu kenelerin biyo-ekolojik özellikleri araştırılmalıdır. Kene mücadelesi çeşitli akarisitlerle yapılabileceği gibi biyolojik ajanlarla da yapılabilir. Hayvanlarda kene mücadelesine ilkbahar mevsiminden itibaren başlanılmalı, 15 gün arayla bir ilaçlama tekrarlanmalı ve meraya çıkışlarının son gününe kadar devam edilmelidir (Campbell ve ark 1997).

#### **2.1.7.2. Preimmunizasyon Kazandırılması**

Enzootik alanlarda yetiştirilen sığırlar, theileriosise karşı ilk altı ayda preimmunizasyon kazanırlar. Bu hayvanlar az miktarda parazit taşırlar ve o bölgedeki lokal suşlara karşı belirli ölçüde bağışıklırlar. Buna bağlı olarak klinik belirti göstermezler. Parazitin bulunmadığı instabil bölgelerden, endemik bölgelere gelecek olan hayvanlara edinsel preimmunizasyon kazandırma uygulamaları yapılabilir. (Stepanova ve Zaplotsky 1989; Brown 1989).

#### **2.1.7.3. Aşılama**

Canlı attenüe *T. annulata* aşısı, tropikal theileriosis'in yaygın olduğu Irak, İran, eski Sovyetler Birliği, Hindistan, İsrail, Çin, Türkiye ve Fas'ta ithal hayvanlar ve bunların melezlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Uzun yıllar preimmun durumdaki hayvanların kanları aşılamada kullanılmıştır (Brown 1990).

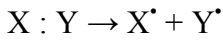
## 2.2. Serbest Radikaller, Antioksidanlar ve Theileriosis

### 2.2.1. Serbest Radikaller

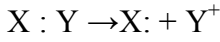
Serbest radikaller dış orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküllerdir. Kısa ömürlü olmalarına rağmen; bir dizi zincir reaksiyonu başlatıp birçok radikal oluşturabilirler (Köken ve ark. 2002).

Serbest radikaller başlıca üç yolla meydana gelirler:

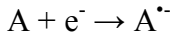
1- Kovalan bağlı bir molekülün her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi



2- Kovalan bağlı bir molekülden tek bir elektron kaybı veya molekülün heterolitik bölünmesi (Bu tipteki bölünmede iyonlar meydana gelir).



3- Normal bir moleküle tek bir elektron eklenmesi veya transferi ile.



Biyolojik sistemlerde serbest radikal oluşumu normal metabolik olayların seyri sırasında veya organizmanın çeşitli dış etkenlere maruz kalması ile meydana gelebilir (Halliwell ve Gutterich 1990).

Endojen serbest radikal kaynakları; mitokondriyal elektron transferi, enzimler ve proteinler (ksantin oksidaz, aldehit oksidaz gibi), membran elektron transfer zinciri (sitokrom P-450 gibi), peroksizomlar, fagositik hücreler ve küçük moleküllerin otooksidasyonudur (Freeman ve Crapo 1982; Halliwell ve Gutteridge 1990).

Ekzojen serbest radikal kaynakları ise; hava kirliliği, kimyasal maddelere maruz kalma, sigara, alkol, pestisit maddeler, stres ve metallerdir (Anderson ve ark. 1987).

Serbest radikaller hidroksil ( $OH^{\cdot}$ ), süperoksit ( $O_2^{\cdot-}$ ), nitrik oksit (NO) ve lipid Peroksit ( $LOO^{\cdot}$ ), radikalleri gibi değişik kimyasal yapıdadırlar (Kube ve ark. 2002). Ancak biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan serbest radikallerdir (Özkan ve Fışkın 2004).

### 2.2.1.1. Serbest Oksijen Radikalleri

Moleküler oksijenin dış yörüngesinde paylaşılmamış iki elektron bulunur. Oksijen atomunun dış yörüngesini oluşturan p orbitalinde iki elektron eksik olduğundan ‘diradikal’ olarak da isimlendirilir. Bu özelliği nedeni ile oksijen kuvvetli bir oksidan ajandır.

Oksijen metabolizmada en son suya indirgenirken, kısmi olarak indirgenmesi ile de çok sayıda reaktif oksijen türleri oluşmaktadır (Cheeseman ve Slater 1993). Eğer moleküler oksijen, bir atom veya molekül ile reaksiyona girerse, ondan bir elektron alarak indirgenmemiş reaktif oksijen türleri (ROS) meydana getirir (Özkan ve Fıskın 2004). Eğer ROS hücre içinde bulunan antioksidan maddelerin detoksifiye etme kapasitelerini aşan miktarlarda olursa, oksidatif hasar meydana gelir (Choi ve ark. 2004).

Reaktif oksijen radikalleri tek elektron eksiklikleri nedeni ile başka moleküller ile kolayca elektron alıp-verebilenler (radikaller) ve elektron eksiklikleri olmadığı halde, başka moleküller ile radikallerden daha zayıf bir şekilde birleşenler (nonradikaller) olmak üzere iki grupta toplanırlar (Cheeseman ve Slater 1993).

#### **Radikaller**

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

#### **Non-Radikaller**

- Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ )
- Lipit Hidroperoksit ( LOOH)
- Hipoklorus (HOCl)
- Singlet Oksijen ( $O_2^{\cdot}$ )
- Ozon ( $O_3$ )

### 2.2.1.2. Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma

Reaktif oksijen türleri kontrolsüz bir şekilde üretildiğinde, nükleik asit, protein ve lipit gibi biyomolekülleri oksitler ve genetik bilginin (DNA) değişmesine, protein yapısının bozulmasına, enzim aktivitesinin engellenmesine ve hücrel membranların zedelenmesine neden olur ve oksidatif stresi meydana getirir (Clarkson ve Thompson 2000). Vücudun antioksidan savunma sistemi ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikallerin üretimi arasındaki dengesizlik “oksidatif stres” olarak isimlendirilmektedir (İnal ve ark. 2001).

Tüm biyomoleküller serbest radikal atağına maruz kalır. Ancak bunlar arasında lipitler en kolay etkilenenlerdir (Cheeseman ve Slater 1993). Hücreleri saran membranlar

ve hücre organelleri, çok miktarda doymamış yağ asitleri ihtiva ederler. Oksijen molekülünün hücre membranındaki bu doymamış yağ asitlerine lipidlere karşı yüksek affinitesi vardır. Dokularda bulunan doymamış yağ asitlerindeki çift bağlara oksijen bağlanması sonucu lipid peroksidasyonu meydana gelmektedir. Lipid peroksidasyonu membranda bulunan fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterol yapısında yer alan doymamış yağ asitlerinin, serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehidler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur (Serarslan ve ark. 2007).

Lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve indirekt olarak reaktif aldehidler üreterek, diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler ya da başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup, hücrenin diğer kısımlarına hasarı yayarlar. Böylece, birçok hastalığa ve doku hasarına sebep olurlar. Lipid peroksidasyonun ürünleri lipid hidroperoksit, konjuge dienler, MDA ve uçucu hidrokarbonlardır. Bu reaksiyonlar, hücre membranındaki lipidlerin yapısını bozar, iyonlara karşı geçirgenlik artar ve hücre ölümü gerçekleşir (Romero ve ark. 1998).

Canlı organizmalar, serbest radikaller ile baş edebilmek için antioksidanlardan yararlanır. Antioksidanlar, serbest radikalleri nötralize ederek vücudun onlardan etkilenmemesini sağlar. Bunu da serbest radikallerin oluşumunu önleyerek veya zincir kırarak yaparlar (Halliwell ve Gutteridge 1990). Normal şartlar altında antioksidanlar, oksidanlara elektron verebilirler, böylece onların yeniden aktive olmalarını baskılar ve hücrel makromoleküllere karşı zararsız hale getirirler (Lykkesfeldt ve ark. 2003).

Canlı organizmalarda bulunan belli başlı hücre içi antioksidanlar; süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutasyon peroksidaz (GPX), glutasyon S transferaz, glukoz 6 fosfat dehidrogenaz ve paraoksonaz enzimleridir. Hücre dışı ortamda antioksidan savunmada ise E ve C vitamini, ferritin, transferrin, haptoglobulin, ürik asit, seruloplazmin, glutasyon, albumin, bilirubin ve  $\beta$ -karoten görevlidir (Halliwell ve Gutteridge 1990). Güzel ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada theileriosisli sığırlarda total antioksidan kapasitenin, lipid peroksidasyonu nedeni ile azaldığını belirtmişlerdir.

### **2.2.1.3. Theileriosiste Oksidatif Stres**

Oksidatif stresin çeşitli metabolik hastalığın patogeneğinde önemli role sahip olduğu bildirilmiştir (McCord 1993; Halliwell 1994). Son yıllarda, oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki dengesizliğe bağlı olarak reaktif oksijen ve azot türlerinin üretiminin artması olarak tanımlanan oksidatif stresin önemini destekleyen birçok kanıt ortaya çıkmıştır (Erdoğan ve ark. 2003).

Theileriosis ile enfekte olan sığır eritrositlerinde lipid peroksidasyonunun önemli düzeyde arttığı Grewall ve ark. (2005) tarafından belirlenmiştir. Eritrosit membranı poliansature yağ asidi yönünden zengindir, bu doymamış yağ asitleri kolayca oksitlenebilmektedir. Bu nedenle eritrosit membranı lipid peroksidasyonuna çok hassastır (Rezaei ve Nakhadeh 2006).

Serbest oksijen radikalleri lipid peroksidasyonuna sebep olur ve lipid peroksidasyonu ürünleri; lipid hidroperoksit, konjuge dienler, MDA, uçucu hidrokarbonlardır (Lykkesfeldt ve Svendsen 2007). MDA'nın belirlenmesi lipid peroksidasyon dercesinin ve serbest oksijen radikallerinin indirekt yoldan tespitine olanak sağlar. Son yıllarda, MDA lipid peroksidasyonunun bir belirteci gibi kullanılarak lipid peroksidasyonun çeşitli hastalıklarda oynadığı rolü belirlemede önemlidir. Sığırlarda eritrositlerin parçalanması ve aneminin meydana gelmesine bağlı olarak, MDA konsantrasyonundaki artış, theileria enfeksiyonunda oksidatif stres hasarının bir belirtisidir (Rezaei ve Nakhadeh 2006).

### **2.3. Isı Şok Proteinleri (Hsp)**

Stres proteinleri olarak da isimlendirilen ısı şok proteinler, bütün canlılarda ve hücrelerde bulunan bir grup proteindir. Yüksek sıcaklık, soğuk ve oksijen yetersizliği gibi çeşitli çevresel stres faktörleri altında, hücrede bu proteinlerin sentezi artar (Moseley 2000).

Yüksek sıcaklık, pH değişiklikleri, oksijen eksikliği gibi stres faktörleri altında proteinlerin uygun yapısının korunması oldukça zordur. Protein katlanmalarında açılmalar meydana gelir. Bu proteinler içte karşı karşıya geldiği proteinlere yapışabilir ve kümeler meydana getirir. Bu da onları fonksiyon dışı yapar. Isı şok proteinleri bu denatüre proteinleri tutarak toplanmalarını engeller (Anonim 2006).

Isı şok proteinleri; kuvvetli hidrojen bağları, güçlü hidrofobik etkileşimleri ve çift kutuplu heliks stabilitesinden dolayı denatüre olmazlar (Anonim 2006). Proteinlerin stabil yapısında ve denatüre olmuş proteinlerin katlanmalarında gereklidir (Moseley 2000).

Stres koşullarında hücrede ATP seviyesi hızla düşer ve proteinlerin korunmasında ilk olarak ATP'den bağımsız olarak çalışan Hsp 27 ve  $\beta$  -kristallin gibi küçük moleküler ağırlığa sahip şaperonlar proteinlerin korunmasında görev alır, daha sonra hücre enerji bakımından toparlandığında ATP bağımlı Hsp 70 gibi büyük moleküler ağırlığa sahip stres proteinleri devreye girer (Jaattela 1999).

### **2.3.1. Isı şok proteinleri çeşitleri**

Isı şok proteinler molekül ağırlıkları, yapıları ve fonksiyonlarına göre 5 sınıfa ayrılırlar. Bunlar Hsp 100, Hsp 90, Hsp 70, Hsp 60 ve küçük ısı şok proteinleridir. Hsp10, Hsp60 ve Hsp75 hücrede mitokondride, diğer Hsp grupları fizyolojik koşullarda sitoplazma ve çekirdekte lokalizedir (Henle 1998).

#### **2.3.1.1. Hsp 100**

Fizyolojik koşullar altında bu protein moleküler şaperonlar gibi fonksiyon göstererek, proteinlerin yeniden düzenlenmesinde görev alır. Hsp 100 protein kümelerini ayırmak için onları eritir. Özellikle Hsp 104 yeni toplanan proteinleri kurtarma yeteneğine sahiptir. Ayrıca Hsp 100 mayalarda sıcaklık toleransının kazanılmasında ve prion çoğalmasında da görev alır (Pockley 2001).

#### **2.3.1.2. Hsp 90**

Hsp 90 proteinlere bağlanarak onların aktivasyonunu ve katlanmasını düzenler. Geri katlanan peptidlerin kümeleşmesini önler. Sitoplazma ve endoplazmik retikulumda bulunur. Endoplazmik retikulumda en fazla bulunan ısı şok proteindir (endoplazmik versiyon). Hsp 90, HSF1 (Isı şok faktör-1)'in fizyolojik koşullarda durumunun dengelenmesinde görev alır (Anonim 2006).



### **2.3.1.3. Hsp 70**

Hsp 70 sitoplazma, çekirdek, endoplazmik retikulum ve mitokondride protein taşınmasına katılır (Moseley 2000). Stres altında proteinleri korur. Katlanmamış proteinlerin kümeleşmesini önler. Katlanmamış ve yanlış katlanmış proteinler arasındaki dengeyi sağlar. Polipeptitleri birbirine bağlar. Hsp 70 HSF'nin aktivitelerini düzenler ve ısı şok proteinlerin transkripsiyonunun kontrolünü sağlar (Pockley 2001; Anonim 2006). Hücresel korumada şaperon işlevi gören en önemli protein olan Hsp72 diğer büyük moleküler ağırlığa sahip şaperonlar gibi ATP bağımlı olarak çalışır. Yeni sentezlenen proteinlerin stabilizasyonunu sağlayarak endoplazmik retikulum ve mitokondriye taşınımını gerçekleştirir (Jaattela 1999).

### **2.3.1.4. Hsp 60**

Hsp 60, 7 üye halka içinde 14 alt üniteden meydana gelir. Mitokondri ve sitoplazmada bulunur. Hsp 70 ile birlikte proteinin doğal katlanmasına aracılık yapar. Stresten korunma ve protein katlanması için gereklidir. Hatalı katlanan polipeptidlere bağlanarak doğru katlanmalarına yardım eder (Landry 1998).

### **2.3.1.5. Küçük ısı şok proteinler (sHsp)**

Küçük ısı şok proteinler monomer molekülü 15-40 kDA'luk kütleler halinde bulunur ve Hsp27,  $\alpha\beta$ -kristallin, ubiquitine ve p20 gibi proteinleri içerir. Futbol topu görünümündedirler. Tüm sHsp'ler yaklaşık 100 kalıntı aminoasit ve C ucunda hakim olan bir kristallin ile belirtilir. Sitoplazma ve çekirdekte bulunur. Isı stresi görülen hücrelerde anlamlı düzeyde üretimi artar. Ayrıca antioksidan özellik de gösterirler. Bu proteinler yapısal olarak bozulmuş proteinleri korumada ATP'den bağımsız olarak çalışırlar (Pockley 2001; Anonim 2006). Memeli hücrelerinde, sHsp'ler sadece strese karşı korunmada değil, aynı zamanda diğer hücresel fonksiyonların (apoptozis ve farklılaşma gibi) modülasyonunda görev aldığı bilinmektedir (Wang ve ark. 2004).

## **2.3.2. Isı Şok Proteinlerin Görevleri**

Isı şok proteinleri hem hücre içerisinde ve hücre dışında fonksiyon gösterirler.

### **2.3.2.1. Isı Şok Proteinlerin Hücre Dışı Görevleri**

Hsp'ler hücre içerisinde normal olarak bulunurlar. Hücre dışında bulduklarında sinyal veren hasta hücreler ölür ve içeriği dışarı atılır. Bu dağıntık hücrelerin planlanmamış ölümü nekroz olarak adlandırılır ve hücrede sadece hatalı eylemler meydana getirir. Hücre dışındaki Hsp'ler hastalık veya enfeksiyona karşı bağışıklık sistemini uyarmak için çok güçlü tehlike sinyali gönderirler (Pockley 2001).

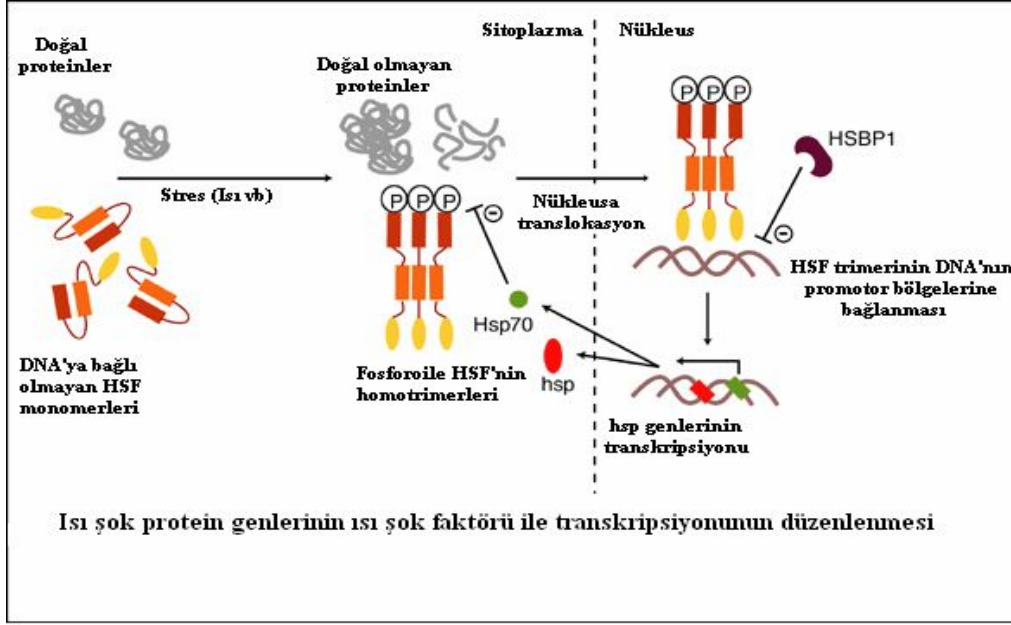
### **2.3.2.2. Isı Şok Proteinlerin Hücre İçi Görevleri**

Hsp'lerin normal görevleri hücre içerisinde (proteinlerin katlanmasına yardım ederek ve proteinlerin hazırlanmasını düzenleyerek) her proteinin bağlayıcı olmasını sağlamaktadır. Hsp'ler hücre içerisindeki peptidleri kuşatarak sınırlandırılmalarını sağlar. Hücre içerisine peptitler Hsp'ler ile alınır. Bu proteinler hücrel şaperonlar gibi fonksiyon görürler, protein sentezinde ve taşınmasında rol oynarlar. Çünkü bu proteinler benzersiz hücrel yerleşime sahiptir (Pockley 2001).

Stres süresince çok sayıdaki enzim ve yapısal proteinde zararlı yapısal ve fonksiyonel değişim meydana gelmektedir. Bu sebeple stres altında bulunan hücrelerin hayatta kalmasında, proteinlerin kendi fonksiyonel konformasyonlarını sürdürmek, doğal olmayan proteinlerin toplanmasını önlemek, denatüre proteinlerin yeniden yapılanması ile tekrar fonksiyonel yapılarına dönmeleri ve fonksiyonel olmayan ama zararlı olma ihtimalindeki peptidlerin ortadan kaldırılması önemlidir. Böylece, Hsps/şaperonlar hücrel korumada tamamlayıcı rol oynamak ve bazen bir arada çalışmak suretiyle proteinleri stresten korumaktadır (Wang ve ark. 2004).

### **2.3.3. Isı Şok Protein Gen Transkripsiyonu**

Normal koşullar altında ısı şok faktör 1 (HSF1) sitoplazma içinde DNA'ya bağlı olmayan bir monomer molekül gibi bulunur. Stres koşulları altında HSF1, DNA'ya bağlanma kapasitesine sahip olmak için üç fosfatlı forma dönüştürülür ve sitoplazmadan çekirdeğe geçer. Çekirdekte HSF DNA'nın promotör bölgelerine bağlanır. Böylece Hsp geninin transkripsiyonunu sağlayarak, Hsp sentezini artırır (Pockley 2001).



**Şekil 2.1.** Isı şok proteinlerin gen transkripsiyonu (Pockley 2001).

### 2.3.4. Isı Şok Proteinlerinin Artışına Sebep Olan Faktörler (Anonim 2006)

Çevresel Faktörler	Hastalık Durumu	Normal Hücre Etkileşimi
- Isı şoku (Yüksek ve düşük sıcaklık)	- Ateş	- Normal hücre döngüsü
- Ağır metal geçişleri	- Yangı	- Büyüme faktörleri
- Enerji metabolizması inhibitörleri	- İskemi	- Gelişme ve farklılaşma
- Kemoterapötik ajanlar	- Hipertrofi	
	- Hücresel hasar	
	- Malignensi	

### 2.3.5. Isı Şok Proteinlerinin Teşhis Yöntemleri

- Elektroforez
- PCR
- ELISA
- Western Blotting (Pockley 2001).

### 2.3.6. Isı şok proteinleri ve Bağışıklık

Hücre dışındaki Hsp'ler hastalık veya enfeksiyona karşı bağışıklık sistemini uyarmak için çok güçlü tehlike sinyali gönderirler (Pocley 2001). Pek çok patolojik ajanın

konakta immün cevap oluşturmada rol oynayan antijenlerdir. Stres proteinlerine karşı gelişen immün cevaplar çapraz reaksiyonlar vasıtasıyla hücrenin kendisine karşı da (anti-self) reaksiyon oluşmasına neden olabilmektedir. Sağlıklı bireylerin, enfeksiyon veya herhangi bir şekilde strese maruz kalmış kendi hücrelerinden arınmak için, kendi stres proteinlerine karşı immün cevap verebilme yeteneklerinden yararlanabildikleri ileri sürülmektedir. İşte bu yeteneklerin düzenlenmesindeki bozukluklar bazı otoimmün hastalıklara yol açabilir. Stres proteinleri, immün cevapta hedef olmanın yanı sıra, antijen sunulmasında da önemli rol oynarlar (Laad ve ark. 1999).

### **2.3.7. Isı şok proteinlerinin oksidatif stresteki rolü**

Oksidasyon ve toksik bileşenlerin parçalanması gibi pek çok stres faktörleri bütün hücrelerde cevap olarak ısı şok proteinlerinin sentezine neden olur (Clark 2000).

Moleküler şaperonlar olarak da adlandırılan stres proteinleri, herhangi bir stres uyarınının olmadığı durumlarda da sinyal iletimi ve proteinlerin hedef bölgelere güvenle ulaştırılmalarından sorumludurlar. Ancak, hücre stres altında olduğunda koruyucu işlevlerine duyulan gereksinim artar. Bütün Hsp'ler hücreyi birincil olarak denature olmuş proteinlerin katlanmalarını sağlayarak, yeni sentezlenen proteinlerin hücre içerisindeki yolculuklarında hedef bölgelere güvenli taşınmalarını sağlayarak, geri dönüşümsüz olarak denature olmuş proteinlerin temizlenmelerine olanak vererek ve makromolekülleri stabilize ederek korurlar (Locke 1997).

Oluşan hücresel yanıtın ilk basamağını bu proteinlerin gen aktivasyonu oluştururken, sonraki aşamada bu proteinlerin miktarlarında artış meydana gelir. Hsp'lerin hücre içerisindeki ekspresyonu ısı şok faktör (HSF) olarak adlandırılan transkripsiyon faktörü yolu ile gerçekleşir (Pockley 2001).

Stres proteinleri büyüme, farklılaşma, bölünme ve hatta hücre ölümü dahil hücre metabolizmasının tüm evrelerinde hayati önem taşır. Stres proteinleri, pek çok patolojik ajanın konakta immün cevap oluşturmada rol oynayan antijenlerdir. Stres proteinlerine karşı gelişen immün cevaplar çapraz reaksiyonlar vasıtasıyla hücrenin kendisine karşı da (anti-self) reaksiyon oluşmasına neden olabilmektedir. Sağlıklı bireylerin, enfeksiyon veya herhangi bir şekilde stres maruz kalmış kendi hücrelerinden arınmak için, kendi stres proteinlerine karşı immün cevap verebilme yeteneklerinden yararlanabildikleri ileri

sürülmektedir. Stres proteinleri, immün cevapta hedef olmanın yanı sıra, antijen sunulmasında da önemli rol oynarlar (Laad ve ark. 1999).

### **2.3.8. Isı şok proteinlerinin theileriosisteki rolü**

Kan paraziti hastalıkları gibi çoğu yangısal hastalıkta görülen yüksek ateş, yangı ve hücrel hasar durumları stres proteinlerinin ekspresyonuna sebep olur (Anonim 2006). *T. annulata* etkeninde (Mason ve ark. 1989) *B. divergens* etkeninde (Carcy ve ark. 1991) Toxoplazma gondi etkeninde (Weiss ve ark. 1998) Hsp 70 düzeyinin enfeksiyon sırasında arttığı bildirilmiştir. Bu çalışmalarla parazit hsp 70'inin akut faz reaksiyonu sırasında konak immün sisteminin erken bir uyarını olduğu belirlenmiştir. Ayrıca malarya, trypanosomiasis, schistosomiasis ve filariaziste de parasitik Hsp'lere karşı oluşan antikorların bağışıklığı indükleyebileceği gösterilmiştir (Carcy ve ark 1991). Yapılan literatür taramalarında kan paraziti hastalıklarında Hsp 27 düzeyinin akut enfeksiyon sırasında değişimi hakkında herhangi bir çalışmaya rastlanamamıştır.

### **2.4. 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).

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 noktası 5.1'dir. Aminoasit içeriği, yüksek miktarda bulunan lösin dışında bir özellik göstermez. Yapısında bulunan üç sistein aminoasidinden 284. pozisyondaki 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). Organik fosforlu paraoksonları substrat olarak kullandığı için paraoksonaz ismi verilmiştir (Juretic ve ark. 2001).

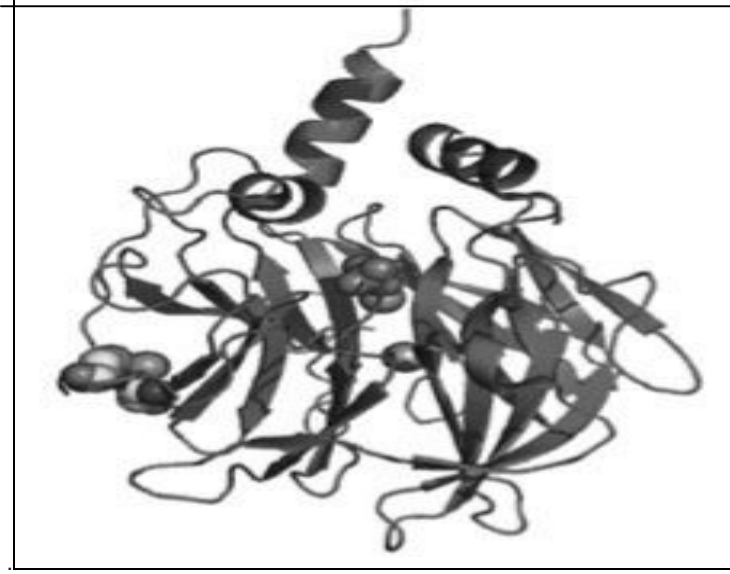
Paraoksonaz enzimine (PON1) ilk olarak 1961 yılında insan serumunun elektroforezi sonrası yüksek yoğunluklu lipoproteinlerde rastlanılmıştır. (Mackness ve Mackness 2004). Ardından, özellikle saflaştırılmış sığır serum paraoksonazının lipitlerle ilişkili olduğu ve lipit kompleksi ile aynı moleküler kütleyle sahip oğlunu göstermişlerdir (La Du ve ark. 1993). İnsan serumunun ultrasantrifüjlenmesi ile Mackness ve ark.(1985)

yılında paraoksonazın kanda HDL yapısında taşındığını ortaya koymuşlardır. Koyunlarda enzim aktivitesi apo A1 içeren HDL partikülleri ile ilişkili bulunmuştur (Bayrak ve ark. 2005). Son çalışmalarla, insan serum paraoksonazının apo AI ve apo J içeren HDL tipleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Bayrak ve ark. 2005; Azarsız ve Sözmen 2000).

Paraoksonaz enzimi karaciğer, böbrek, ince bağırsak başta olmak üzere birçok dokuda ve serumda bulunur (Ali ve ark. 2003). Diyet, gebelik, sigara kullanımı ve yaş serum PON1 düzeyini etkiler. Yaşla beraber serum PON1 düzeyi azalmaktadır (Biasiolive ve ark. 2003; Seres ve ark. 2004). Enzim aktivitesinde cinsiyete bağlı değişiklik gözlenmemiştir (Azarsız ve Sözmen 2000). Paraoksonaz enzimi, paration dışında diizopropil florofosfat (DFP) gibi organik fosforlu intektisitlerle, yine aynı kimyasal gruptan olan sarin, tabun gibi sinir gazlarının, çeşitli karbamatların hidrolizini de katalize etmektedir (Bayrak ve ark. 2005).

#### **2.4.1. Paraoksonaz Enziminin Alt Birimleri**

İnsan 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 (Bayrak ve ark. 2005). Üç PON proteininin aminoasit dizileri yaklaşık %53 oranında benzerdir ve dokulardaki ekspresyonları ile dağılımları birbirinden farklılık gösterir. PON-1 ve PON-3 karaciğer ve plazmada bulunurken, PON-2 karaciğer, böbrek, kalp, beyin, testis dokularında özellikle endotel tabakasında bulunur (Bayrak ve ark. 2005).



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

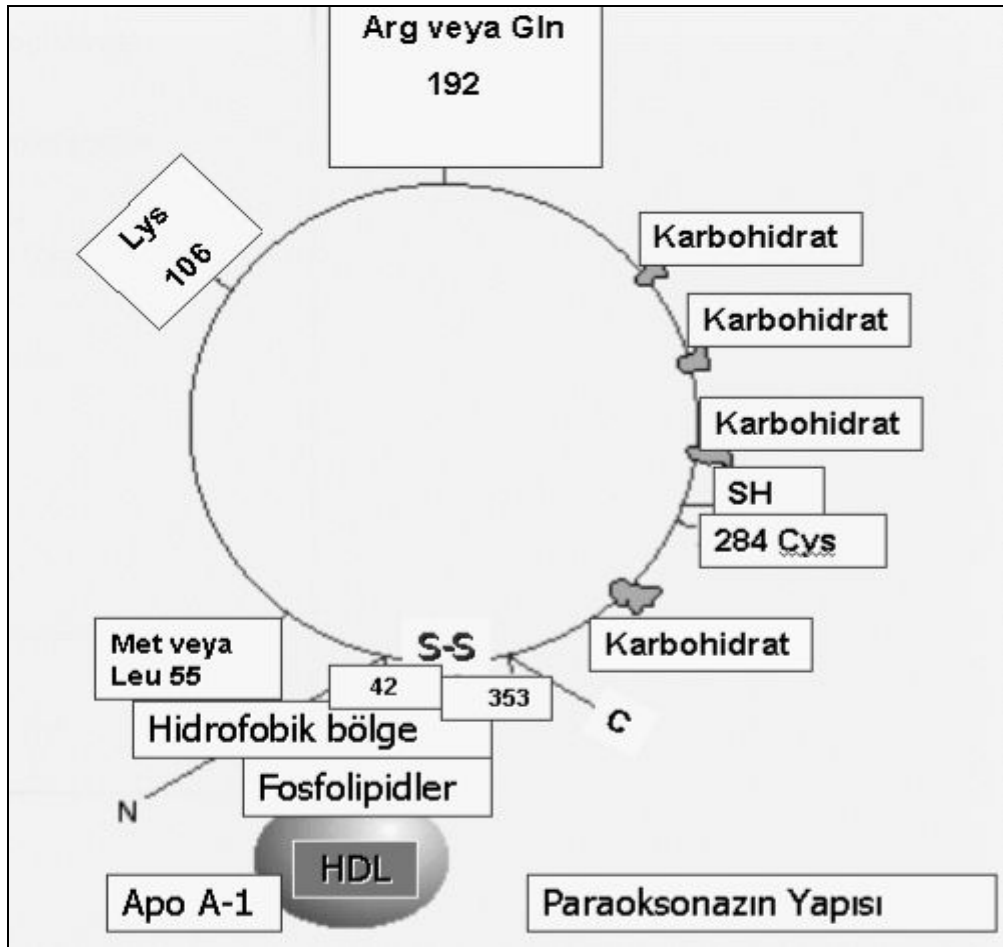
PON2, PON1'den sonra tanımlanmış ve daha az çalışılmış olmasına rağmen, endotel ve vasküler duvar hücrelerinde antioksidan aktivite göstermesi nedeniyle büyük ilgi odağı olmuştur (Bayrak ve ark. 2005). PON-2'nin karaciğer, böbrek, kalp, beyin, testis dokularında özellikle endotel tabakasında bulunduğu ve aortik düz kas hücrelerinde de yer almaktadır (Bayrak ve ark. 2005). PON2 ve PON3'ün 105. pozisyonda lizin rezidüsü bulunmadığından paraoksonu hidroliz edemezler (Ekmekçi 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 (Bayrak ve ark. 2005).

Maksimum PON1 aktivitesi için kalsiyum gereklidir. Üç boyutlu yapıda  $\beta$ -tabakaların merkezinde iki adet kalsiyum iyonu bulunur. Bunlardan bir tanesi yapısal kalsiyum olup yapıdan uzaklaştırılması denatürasyona neden olur. Diğeri ise katalitik etkinlikte görev alan kalsiyumdur. PON-1'in organofosfat substratlarına karşı hidrolitik aktivitesi kalsiyuma bağımlı iken, lipid peroksitlerin birikimini önlemede kalsiyum gerekli değildir (Şekil 4) (Khersonsky ve Tawfik 2005). Kalsiyum, enzimin hem aktivitesi hem de stabilitesi için gerekmektedir ve katalitik mekanizmada da rol oynamaktadır (Lee ve ark. 2001).

## 2.4.2. Paraoksonazın Kimyasal Yapısı

Karaciğerde sentezlenen ve dolaşıma verilen PON-1 HDL'nin yapısında yer alır. Paraoksonaz enzimi yapısında bulunan N-terminal hidrofobik sinyal peptidi vasıtasıyla HDL'ye bağlanır. PON-1'i bağlayan HDL alt birimleri, Apolipoprotein A1 ve Apo J (klusterin)'dir (Başkol ve Köse 2004).



Şekil 2.5. İnsan Serum Paraoksanaz (PON 1) Enziminin Yapısı (Aviram 1999).

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 sisteinin, LDL'yi oksidasyondan korumada önemli bir fonksiyona sahip olmasına karşın organofosfatların hidrolizinde bir etkisi yoktur (Aviram 1999; Bayrak ve



ark. 2005). Enzim yapısında bulunan tek disülfid bağı, polipeptid zincirinin siklik yapıda olmasına neden olmaktadır (Şekil 5) (Başkol ve Köse 2004).

### 2.4.3. Paraoksonaz Enziminin Fonksiyonları

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 (Bayrak ve ark. 2005). 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).

PON 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).

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).

Paraoksonaz LDL kolesterolü serbest radikallerin indüklediği oksidasyondan korumaktadır. HDL kolesterol yapısında bulunan PON 1 enzimi, LDL'deki aktif lipidleri yıkar ve böylece arter duvarında yer alan hücrelerde inflamatuvar cevap oluşumuna karşı koruyucu etki gösterir. Paraoksonaz okside LDL'deki kolesteril linoleat hidroperoksitleri ve spesifik okside fosfolipidleri hidroliz eder (Aviram 1999). HDL'den saflaştırılan PON'un TBARS düzeylerini ve lipoperoksit oluşumunu önlediğini gösterilmiştir. PON1 LDL'nin yanı sıra HDL'yi de korumaktadır (Bayrak ve ark. 2005). Ayrıca akut faz reaksiyonu sırasında PON1 aktivitesinde belirgin kayıp olmaktadır (Van ve ark. 1995).

Peroksidasyona uğramış lipitler bu enzim tarafından metabolize edildiğinden, lipit peroksitlerin 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).

Oksidatif stres altında sadece lipoproteinler değil, hücrenin yapısındaki lipidler de peroksidasyona uğramaktadır. Paraoksonaz lipid peroksitlerinin aterosjenik etkilerini nötralize eder, hücre membranlarını koruyucu etki gösterir (Mackness ve ark. 2000). Bu nedenle PON 1 bir antioksidan enzim olarak tanımlanmaktadır (Çelik ve ark. 2005). PON1, lipid peroksitlerin yanı sıra hidrojen peroksit üzerine de etkilidir. Aterojenez sırasında arter duvarı hücreleri tarafından üretilen majör toksik oksijen metaboliti olan hidrojen peroksit, oksidatif koşullarda daha potent ürünlere dönüşerek LDL oksidasyonuna neden olur. PON1'in okside LDL'deki kolesteril linoleat hidroperoksitlerini ve hidroksitleri indirgemesi nedeni ile peroksidaz benzeri aktivitesi olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, 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 (Salonen ve ark. 1999). Böylece Gram (-) bakteri enfeksiyonu sırasında endotoksemi gelişimine karşı korumayı sağlar. Bazı bilinmeyen yollarla makrofaj hücre yüzeyindeki spesifik bağlayıcı protein ile bakteri yüzeyinden köken alan lipoprotein polisakkaridin etkileşimini önler; bu şekilde TNF- $\alpha$ , IL-1 ve IL-6 gibi sitokin salınımının başlanmasını önler (Azarsız ve Sözman 2000).

#### **2.4.4. Theileriosis ve Paraoksonaz**

Oksidatif stres ve antioksidan sistem değişimleri PON1 aktivitesinde düşüş ile ilişkilidir. Antioksidan özelliği olan PON1, hidrolaz, arilesteraz, diyaoksonaz fonksiyonlarından başka lipid peroksidasyon ürünlerini hidroliz ederek ROS miktarının artmasını engeller (Aslan ve ark. 2007). PON1 lipid peroksitlerin yanı sıra hidrojen peroksit üzerine de etkilidir. Özellikle kolesteril linoleat hidroperoksit ve hidroksitleri indirgemesi nedeni ile peroksidaz benzeri etki gösterir (Bayrak ve ark. 2005).

#### **2.5. Plazma Lipidleri ve Lipoproteinler**

Plazmadaki temel lipidler kolesterol, trigliseridler ve fosfolipidlerdir. Bu lipidler yalnız başına suda çözünmeyen ve plazmada çözülmüş olarak taşınamayan bileşiklerdir.

Plazmada, özel apoproteinler ile birleşerek oluşturdukları çözünmüş lipoprotein (lipid-protein kompleksi) partikülleri halinde bulunurlar (Champe ve Harvey 1994).

### **2.5.1. Trigliseridler**

Trigliseridler gliserol ile 3 tane yağ asidinin ester bağ ile birleşmesinden oluşur (Mayes 1990). Yağ dokusu depolarının %95'ini oluştururlar ve plazmada bulunan gliserol esterlerinin en büyük bölümüdürler. Sindirimleri düodenum ve proksimal ileumda gerçekleşir. Lipaz ve safra asidlerinin etkisi ile 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).

### **2.5.2. Kolesterol**

Kolesterol hayvanlarda en yaygın bulunan steroldür ve 27 karbon atomundan oluşur. 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. Birçok dokuda kolesterol asetil CoA'dan sentez edilir ve sonunda vücuttan safra içinde, kolesterol veya safra tuzları şeklinde atılır (Champe ve Harvey 1994)

Vücutta belli sayıda bir grup işleve sahiptir; Bütün hücre zarlarının bileşenidir. Kortikosteroidler, seks hormonları, safra asitleri ve D vitamini gibi diğer steroidlerin ön maddesidir (Champe ve Harvey 1994). Membranların ve plazma lipoproteinlerinin dış tabakasının gerekli bir bileşenidir. Ayrıca lipoproteinler, membranlarda ve diğer lipoproteinlerde bulunan kolesterol ile kolayca dengeye giren serbest kolesterolü de dolaşımda taşır (Vance 1985). Ester kolesterol, kolesterolün birçok dokuda bulunan depo şeklidir.

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).

### **2.5.3. Lipoproteinler**

Lipoproteinler, nötral lipid çekirdek (triacilgliserol veya kolesterol esterleri) ve bunun çevresinde apoproteinler, fosfolipid ve serbest kolesterolden ibaret bir kabuktan oluşur (Champe ve Harvey 1994). Apoproteinler, lipoproteinlerin vücutta taşınmaları, dağılmaları ve metabolize edilmelerinde kritik bir öneme sahiptirler. Lipoprotein partikülündeki lipid ve apoprotein molekülleri stabil bir kompleks oluştururlar. Apoproteinlerin yapı ve fonksiyon farkı gösteren çeşitli tipleri belirlenmiştir, bunlar apo A-I, A-II, A-III, apo B 48, B 100, apo C-I, C-II, apo D ve apo E'dir. Vücutta lipoproteinlerin hücreler arasında taşınmasında ve hücrelere alınmasında en önemli rolü oynayan apoprotein apoprotein B (apo-B)'dir.

Lipoproteinler lipidleri plazmada taşınırken çözünür tutmak ve kendilerinin lipid içeriklerini dokulara verebilmek için etkili bir mekanizma yürütürler. Plazmada yoğunlukları, molekül ağırlıkları, kolesterol, trigliserid ve fosfolipid oranlarına göre 5 tip lipoprotein molekülü bulunmaktadır (Champe ve Harvey 1994).

#### **2.5.3.1. Şilomikronlar**

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

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).

### **2.5.3.2. 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). Fonksiyonel açıdan Apo B-100 en önemli apolipoproteindir. VLDL'nin yapısında bulunan trigliserit ve fosfolipit endoplazmik retikulumda sentezlenir (Schaefer 1984).

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 (Menteş ve Mentem 1986). 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).

### **2.5.3.3. Düşük dansiteli Lipoprotein (LDL)**

LDL tüm dokulara kolesterolü taşıyan major lipoproteindir. Plazmadaki toplam kolesterolün yaklaşık %70' i LDL'de bulunur. Yapısının %75' i lipid ve %25' i proteinden oluşur. Temel apolipoproteini ApoB-100'dür. LDL kolesterolün membran ve steroid hormonların sentezinde kullanılmak üzere ekstrahepatik dokulara taşınmasında görevlidir. LDL'nin Uzun ömürlü bir partikül olması dokular için kolesterol kaynağı olarak işlev görmesini sağlar ( Bhagavan 2002).

Ekstrahepatik dokular, LDL'nin ApoB-100'nü tanıyan spesifik yüzey reseptörlerine sahiptirler. ApoB-100'ü tanıyan reseptörler, kolesterol ve kolesterol esterlerinin dokular tarafından alınmasına aracılık ederler (Altınışik 2006).

Bütün hücreler kolesterol sentezleyebilir. Bununla beraber, LDL de bir çok hücrede kolesterol kaynağı olarak kullanılır. 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. Adrenal, ovaryum ve testisler hormon sentezinde, diğer dokular ise hücre tamiri ve proliferasyonunda kullanırlar (Champe ve Harvey 1994).

#### **2.5.3.4. Yüksek Dansiteli Lipoprotein (HDL)**

HDL karaciğer ve ince bağırsak duvarında sentezlenir. Yapısında yaklaşık %50 lipid ve %50 protein içerir (Altınışık 2006). En küçük molekül ağırlığına sahip olan lipoproteindir. HDL'nin başlıca apolipoproteinleri Apo A1 (%65), Apo A2 (%25) ve daha küçük miktarlarda Apo C ve Apo E'dir. Plazmadaki kolesterolün %20-25'ini taşırlar. HDL'ler trigliseridlerin ve kolesterolün plazmadan temizlenmesinde (klerensinde), kolesterolün dokulardan karaciğere geri taşınmasında ve metabolizmasında önemli rol oynarlar.

HDL'ler yoğunluklarına göre 3'e ayrılır: HDL 1, kolesterolden zengin diyet alan insanlarda ve deney hayvanlarında görülür ve ateroskleroz oluşmasını hızlandırır. HDL 2 ve HDL3 ise HDL'nin, plazmanın lipidlerden temizlenmesi görevinden sorumludur.

Düzenli egzersiz yapanlarda veya sürekli alkol alanlarda HDL düzeyinin 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).

#### **2.5.4. Lipid Profili ve Theileriosis**

Akut enfeksiyonlarda kan akımındaki parazitler enerji olarak glikozu kullanır bu da kısmen hipoglisemi oluşmasına sebep olur. Hipoglisemide konak hayvanda bazı önemli enerji ihtiyacının karşılanması lipid katabolizmasının artışıyla sonuçlanır. Lipidlerin glikoneogeneziste kullanılması lipid ve kolesterol seviyelerini düşürür. Lipolizis theileria enfeksiyonunda ateşe bağlı olarak ortaya çıkan yüksek enerji ihtiyacının karşılanması için esas mekanizmadır. Lipolizis sonucunda serbest yağ asitleri oluşur, bu yağ asitlerinin sitotoksik ve hemolitik olduğu invitro olarak gösterilmiştir (Adamu ve ark. 2008).

Çöl ve Uslu (2007) *Theileria annulata* ile enfekte sığırlarda serum kolesterol ve trigliserid seviyelerinde düşüş olduğunu belirlemiştir. Bu düşüşün hastalıkta meydana gelen anoreksi ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.

## **2.6. Amaç**

Bu çalışmada akut dönemde oksidatif stresin theileriosisli sığırlara etkisinin ısı şok protein (Hsp-27) düzeyleri, paraoksonaz aktivitesi ve lipid profili (trigliserit, total kolesterol, VLDL, LDL, HDL kolesterol) ile ortaya konulması amaçlanmaktadır. Theileriosiste oksidatif stres ile ilgili çeşitli çalışmalar bulunmakla birlikte, bu çalışma ısı şok protein (Hsp-27) düzeyleri, paraoksonaz aktivitesi düzeyleri bakımından bir ilki oluşturacaktır. Böylece çalışma ile elde edilecek sonuçlar ile ülkemizde önemli ekonomik kayıplara sebep olan theileriosisin prognozu açısından yeni bilgiler ortaya konulacaktır. Ayrıca çalışma literatür alanında bulunan boşluğun doldurulmasına da katkıda bulunacaktır.

### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

#### **3.1. Gereç**

Bu çalışmada kullanılan kan örnekleri, 2006-2007 yıllarına ait yaz dönemlerinde MKÜ Veteriner Fakültesi Kliniğine gelen 1-3 yaş arasında sağlıklı ve theileriosisli sığırlardan alınmıştır. Hastalığın klinik belirtileri ve Giemsa boyalı perifer kan frotileri yardımıyla 15'i kontrol ve 15'i hasta olmak üzere 2 grup oluşturulmuştur.

Sığırların vena jugularisinden tekniğine uygun olarak, heparinli tüplere ve serum tüplerine 10 ml kan alınmış, serum ve plazmaları çıkarılarak MDA analizleri yapıldıktan sonra, diğer analizler için -20 °C'de saklanmıştır. Kan frotileri de hayvanların kulak uçlarından hazırlanmış ve Giemsa ile boyanmıştır. Frotilerde piroplasmik formlar araştırılmıştır.

Araştırmada MDA, trigliserit, total kolesterol, LDL, HDL kolesterol düzeyleri ve paraoksanaz enzim aktivitesinin analizinde spektrofotometrik yöntemler kullanıldı. HSP-27 düzeyi ise ticari ELISA kiti kullanılarak yapıldı.

#### **3.2. Protozoolojik ve Biyokimyasal analizler**

##### **3.2.1. Kan frotisinin hazırlanması ve boyanması**

Sığırların kuyruk uçlarından hazırlanan sürme kan frotileri laboratuara getirildikten sonra metil alkol ile 5 dk. tespit edildi ve kurutuldu. Bu işlemi takiben %5 Giemsa solusyonu (pH: 7,2) ile 30 dk. boyandı. Preparatlar kurutulduktan sonra x100 büyütmede bakılarak etken teşhisi yapıldı.

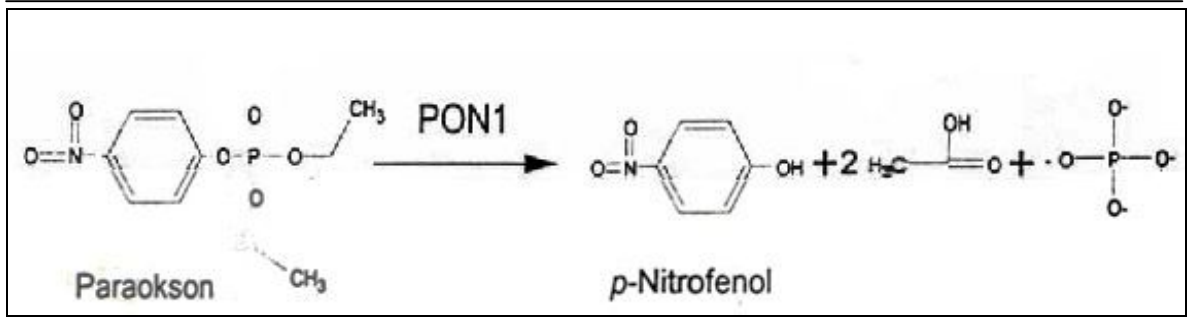
##### **3.2.2. Malondialdehit (MDA) Analizi**

Kan plazma örneklerinde MDA tayini Yoshiko ve ark. (1979) tarafından modifiye edilen yöntemle spektrofotometrik olarak yapıldı. Bu yöntem lipid peroksidasyonunun aldehit ürünlerinden biri olan MDA ile tiyobarbütirik asidin (TBA, Merck) reaksiyonu temeline dayanmaktadır. MDA, TBA ile pembe renkli bir kompleks oluşturmakta ve bu çözeltinin absorbansının 535 nm'de spektrofotometrik ölçümü (UV mini-1240 Shimadzu) ile lipid peroksidasyonunun derecesi saptanmaktadır. Elde edilen sonuçlar  $\mu\text{mol}/\text{L}$  cinsinden verildi.



### 3.2.3. Bazal PON1 Enzim Aktivitesi Ölçümü

Serum bazal PON1 enzimi aktivite ölçümü, Eckerson ve ark. (1983)'in 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 ayıracağı 50 Mm glisin-NaOH buffer'da 1 mM paraokzon, 1M NaCl ve 1mM CaCl<sub>2</sub>'den ibarettir. 1 ünite paraoksonaz aktivitesi dakikada 1 nmol p-nitrofenol oluşturur. Elde edilen sonuçlar U/L olarak verildi.



Şekil 3.1. PON1 enzimin Paraoksonaz aktivitesi

### 3.2.4. Total Kolesterol Analizi

Total Kolesterol analizi, 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 konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve spektrofotometrik olarak 505 nm'de belirlendi.

### 3.2.5 Trigliserid Analizi

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 konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve spektrofotometrik olarak 505 nm’de belirlenir.

### 3.2.6 HDL Analizi

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, peroksidaz 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 konsantrasyonu ile direkt orantılıdır ve spektrofotometrik olarak 600 nm’de belirlenir.

### 3.2.7. LDL Analizi

LDL, *Friedewald formülü* ile hesaplandı (Friedewald ve ark. 1972).

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

### 3.2.8. VLDL Analizi

VLDL= Trigliserid/5 formülü ile hesaplandı.

### **3.2.9 Plazma HSP-27 Düzeyinin Belirlenmesi**

Plazma Hsp 27 düzeyi ticari kit (Catalog No: KH00331, BIOSOURCE, USA) kullanılarak ELISA (Enzim bağlı immün assay) yöntemi ile belirlendi. ELISA pleytinde Hsp 27'ye spesifik poliklonal antikorlarla kaplı kuyucuklara konsantrasyonu bilinen Hsp 27 standartları ve plazma örnekleri konuldu. Birinci inkübasyon süresince Hsp 27 antijenleri ve Hsp 27'ye spesifik tavşan poliklonal antikorlar eş zamanlı olarak inkübe edilip ilk yıkamadan sonra anti-rabbit IgG-HRP enzimi eklendi. Bağlanmayan enzim ikinci inkübasyon ve yıkamadan sonra ayrıştırıldı. Daha sonra, substrat solusyonu renk reaksiyonu oluşturmak için eklendi. Hsp 27 bulunan örneklerde yoğunluğa bağlı olarak renk değişimi gözlemlendi. Örnekler ELISA okuyucusunda ( $\mu$ Quant, Bio-Tek Instruments) 450 nm dalga boyunda okundu, standart yardımıyla hesaplama yapıp sonuçlar ng/ml cinsinden verildi.

### **3.2.10. İstatistiksel Analizler**

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde 'SPSS 11.0' 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.

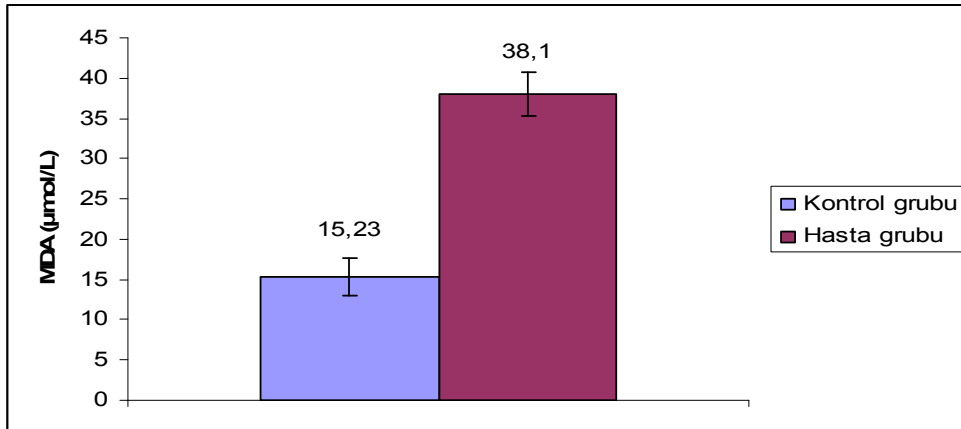
## 4. BULGULAR

Theileriosisli sığırların akut enfeksiyonunda (hasta grubu) ve kontrol grubunda MDA, Hsp-27, PON aktivite ve lipid profili (Trigliserit, Total kolesterol, VLDL, LDL, HDL) düzeyleri Tablo 4.1.'de verilmiştir. Buna göre Theileriosisli sığırlarda ve kontrol grubunda MDA kan plazma düzeyi, kontrol grubu sığırlarda ortalama 15,23  $\mu\text{mol/L}$  olarak ölçülürken, theileriosisli sığırlarda 38,10  $\mu\text{mol/L}$  olarak ölçülmüştür. Theileriosisli sığırların plazma MDA düzeyi, kontrol grubundaki sığırlardan istatistik olarak  $p<0,001$  önem düzeyinde yüksek bulunmuştur (Tablo 4.1., Şekil 4.1).

**Tablo 1.** Kontrol grubu ve theileriosisli sığırlar'ın MDA, Hsp-27, PON ve lipid profili düzeyleri

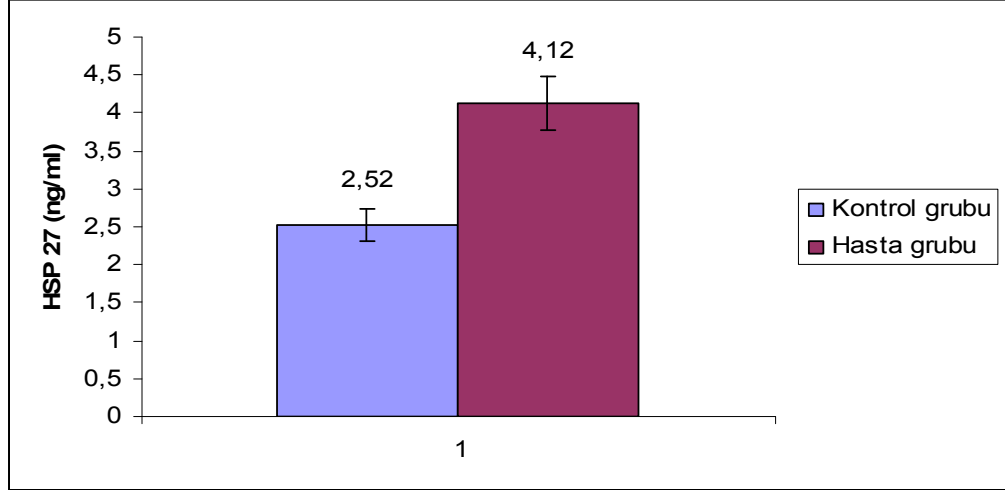
Testler	Kontrol grubu n=15	Hasta grubu n=15
MDA ( $\mu\text{mol/L}$ )	15,23 $\pm$ 2,33	38,10 $\pm$ 2,71*
HSP-27 (ng/ml)	2,52 $\pm$ 0,21	4,12 $\pm$ 0,35 <sup>¶</sup>
PON (U/L)	66,65 $\pm$ 13,37	32,34 $\pm$ 9,77*
Trigliserid (mg/dl)	30,7 $\pm$ 4,3	59,2 $\pm$ 9,8*
Total kolesterol (mg/dl)	184,8 $\pm$ 39,4	104,5 $\pm$ 20,1*
VLDL (mg/dl)	5,2 $\pm$ 0,7	8,5 $\pm$ 1,1 <sup>¶</sup>
LDL (mg/dl)	114,3 $\pm$ 22,4	52,0 $\pm$ 12,9*
HDL (mg/dl)	77,6 $\pm$ 2,0	42,8 $\pm$ 12,1*

Kontrol grubu ile hasta grubu arasında \*  $p<0,001$ , <sup>¶</sup>  $p<0,01$  ve <sup>†</sup>  $p<0,05$  derecesinde önemlilik olduğunu göstermektedir.



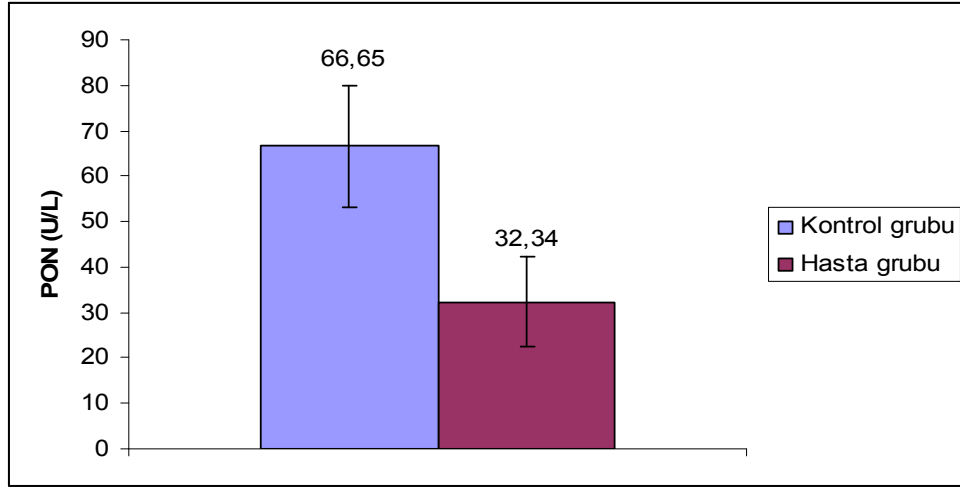
**Şekil 4.1.** Kontrol grubu ve theileriosisli sığırlarda plazma MDA düzeyleri ( $p<0,001$ )

Kan plazma Hsp-27 düzeyi, kontrol grubu sığırlarda ortalama 2,52 ng/ml olarak ölçülürken, theileriosisli sığırlarda 4,12 ng/ml olarak ölçülmüştür. Sığırların kan plazma Hsp-27 düzeyi theileriosisli sığırlarda kontrol grubundan, istatistiksel olarak  $p<0,01$  önem düzeyinde yüksek bulunmuştur (Tablo 4.1., Şekil 4.2).



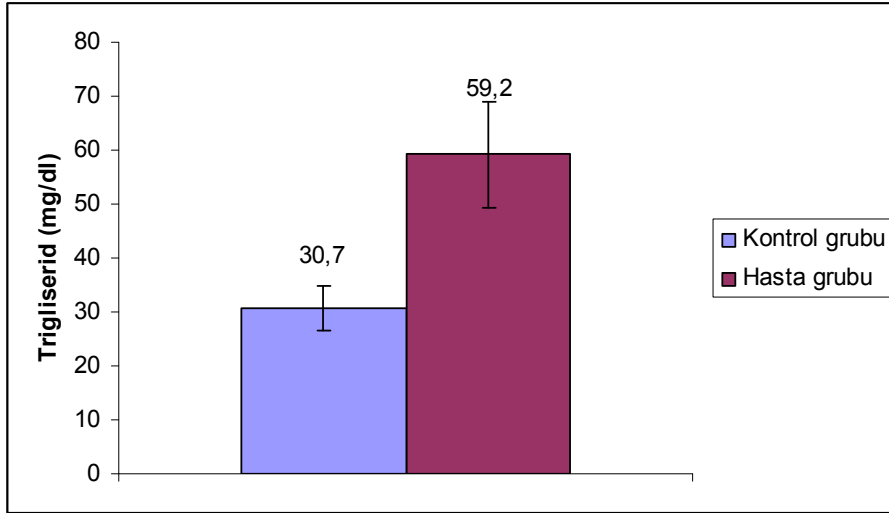
#### 4.2. Kontrol grubu ve theileriosisli sığırlarda plazma Hsp-27 düzeyleri ( $p<0,01$ )

Serum PON aktivitesi ise, kontrol grubu sığırlarda ortalama 66,65 U/L olarak ölçülürken, theileriosisli sığırlarda 32,34 U/L olarak ölçülmüştür. Theileriosis'li sığırların serum PON aktivitesi, kontrol grubundaki sığırlardan istatistik olarak istatistik olarak  $p<0,001$  önem düzeyinde düşük bulunmuştur (Tablo 4.1., Şekil 4.3).



**Şekil 4.3.** Kontrol grubu ve theileriosisli sığırlarda serum PON düzeyleri ( $p<0,001$ )

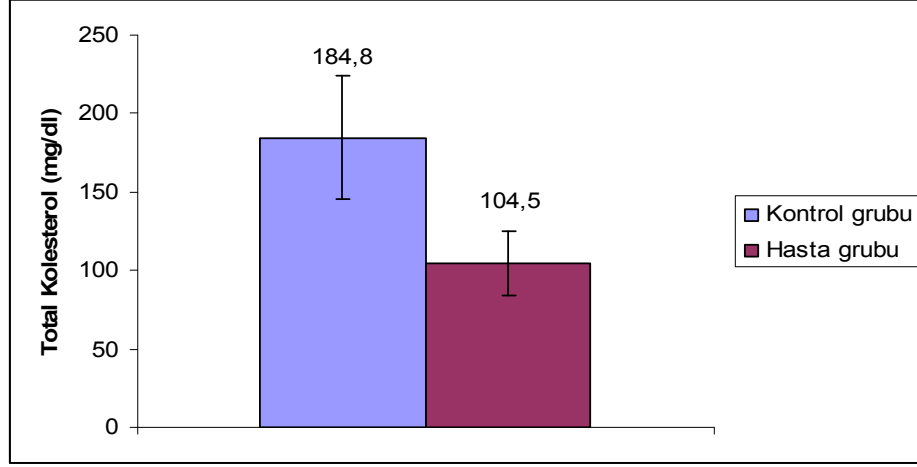
Serum trigliserid düzeyi, kontrol grubu sığırlarda ortalama 30,7 mg/dl olarak ölçülürken, theileriosisli sığırlarda 59,2 mg/dl olarak ölçülmüştür. Theileriosisli sığırların serum trigliserid düzeyi, kontrol grubundaki sığırlardan istatistik olarak  $p<0,001$  önem düzeyinde yüksek bulunmuştur (Tablo 4.1, Şekil 4.4).



**Şekil 4.4.** Kontrol grubu ve theileriosisli sığırlarda serum trigliserit düzeyleri ( $p<0,001$ )

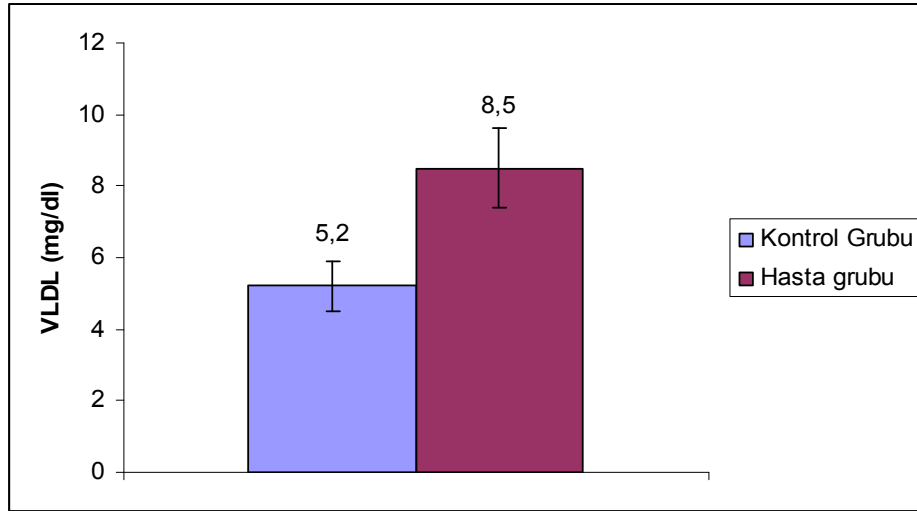
Serum total kolesterol düzeyi ise kontrol grubu sığırlarda ortalama 184,8 mg/dl olarak ölçülürken, theileriosisli sığırlarda 104,5 mg/dl olarak tespit edilmiştir.

Theileriosisli sığırların serum total kolesterol düzeyi, kontrol grubundaki sığırlardan istatistik olarak  $p<0,001$  önem düzeyinde düşük bulunmuştur (Tablo 4.1, Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Kontrol grubu ve theileriosisli sığırlarda serum total kolesterol düzeyleri ( $p<0,001$ )

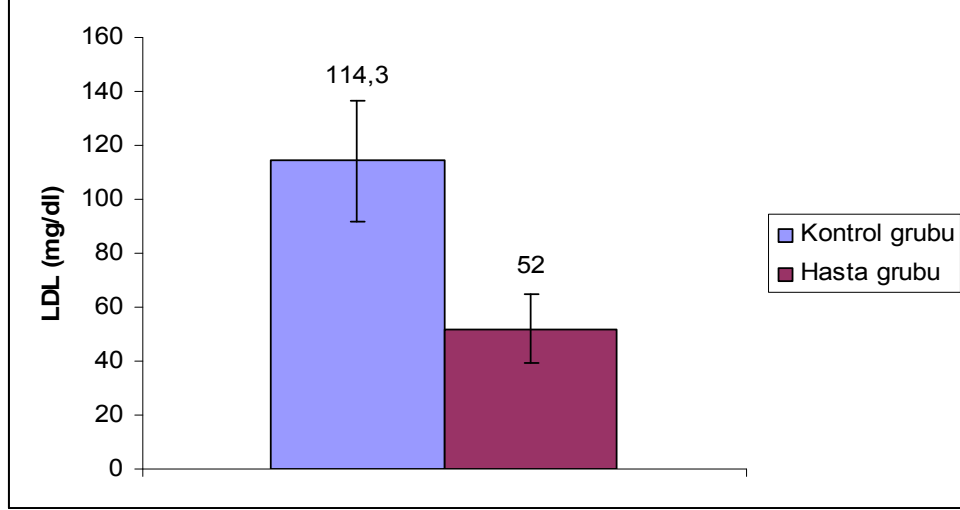
Theileriosisli sığırların akut enfeksiyonunda kan serum VLDL, kontrol grubu sığırlarda ortalama 5,2 mg/dl olarak ölçülürken, theileriosisli sığırlarda 8,5 mg/dl olarak ölçülmüştür. Theileriosis'li sığırların serum VLDL, kontrol grubundaki sığırlardan istatistik olarak  $p<0,01$  önem düzeyinde yüksek bulunmuştur (Tablo 4.1, Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Kontrol grubu ve theileriosisli sığırlarda serum VLDL düzeyleri ( $p<0,01$ )

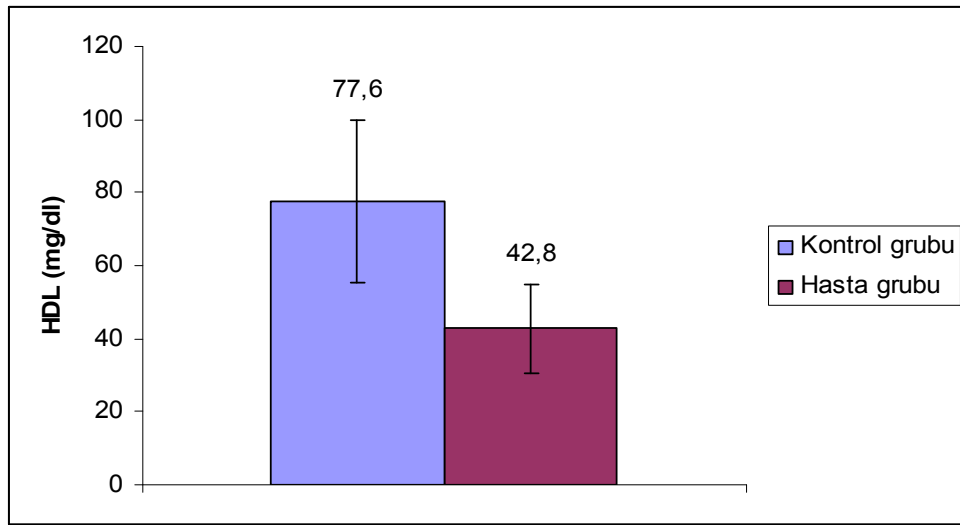
Kan serum LDL düzeyi, kontrol grubu sığırlarda ortalama 114,3 mg/dl olarak ölçülürken, theileriosisli sığırlarda 52,0 mg/dl olarak ölçülmüştür. Sığırların kan serum

LDL düzeyi, theileriosisli sığırlarda, kontrol grubundan, istatistiksel olarak  $p<0,001$  önem düzeyinde düşük bulunmuştur (Tablo 4.1, Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Kontrol grubu ve theileriosisli sığırlarda serum LDL düzeyleri ( $p<0,001$ )

Yapılan biyokimyasal analizler sonucunda, kan serum HDL örneklerinde kontrol grubu sığırlarda ortalama 77,6 mg/dl olarak ölçülürken, theileriosisli sığırlarda 42,8 mg/dl olarak ölçülmüştür. Theileriosisli sığırların serum HDL düzeyi, kontrol grubundaki sığırlardan istatistik olarak  $p<0,001$  önem düzeyinde düşük bulunmuştur (Tablo 4.1, Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Kontrol grubu ve theileriosisli sığırlarda serum HDL düzeyleri ( $p<0,001$ )



## 5. TARTIŞMA

Türkiye ekonomisinde sığır yetiştiriciliği önemli bir yer tutmaktadır. Bununla beraber sığır başına elde edilen verim miktarı çok düşüktür. Theileriosis özellikle verim oranı yüksek kültür ırklarında yüksek oranda ölüme neden olarak büyük ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Karagenç ve ark. 2005).

Oksidatif stresin çeşitli metabolik hastalığın patogenezinde önemli role sahip olduğu bildirilmiştir (McCord 1993; Halliwell 1994). Theileriosis ile enfekte olan sığır eritrositlerinde lipid peroksidasyonunun önemli düzeyde arttığı Grewall ve ark. (2005) tarafından belirlenmiştir. Grewal ve ark. (2005) *theileria annulata* ile doğal enfekte sığırlarda, belirgin bir şekilde eritrositlerde lipid peroksidasyonunun, dolayısıyla antioksidan enzim aktivitelerinin ve eritrositlerde osmotik frajiletenin arttığını bildirmişlerdir. Eritrosit membranı poliansature yağ asidi yönünden zengindir ve bu doymamış yağ asitleri kolayca oksitlenebilmektedir. Bu nedenle eritrosit membranı lipid peroksidasyonuna karşı çok hassastır (Rezaei ve Naghadeh 2006).

Serbest oksijen radikalleri lipid peroksidasyonuna sebep olur ve lipid peroksidasyonunun son ürünü bir aldehit olan MDA'dır (Lykkesfeldt ve Svendsen 2007). MDA'nın belirlenmesi lipid peroksidasyon dercesinin ve serbest oksijen radikallerinin indirekt yoldan tespitine olanak sağlar. Son yıllarda MDA lipid peroksidasyonunun bir belirteci gibi kullanılarak lipid peroksidasyonun çeşitli hastalıklarda oynadığı rolü belirlemede önemlidir (Rezaei ve Naghadeh 2006).

Rezaei ve Naghadeh (2006) theileriosisli sığırlarda yaptıkları çalışmada, MDA düzeyinin arttığını bildirmişlerdir. Serbest oksijen radikalleri lipid peroksidasyonuna sebep olmakta ve MDA ortaya çıkmaktadır. Yagi ve ark. (1989) ile Haider (1992) ise *Theileria sergenti* ile yaptıkları çalışmada theileriosisli sığırlarda gözle görünür bir şekilde parazitemi ve MDA'nın arttığını rapor etmişlerdir.

Theileriosisli sığırlarda MDA düzeylerindeki artışın sebebi, sığırlarda parazitemiye bağlı olarak, eritrositlerin parçalanması ve aneminin meydana gelmesi sonucu lipid peroksidasyonu ve oksidatif stres hasarının meydana gelmesidir. Yani artan MDA konsantrasyonu, theileriosisli sığırlarda oksidatif stresin belirtisidir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarla birçok enfeksiyon ve paraziter hastalıkta oksidan ve anti-oksidan sistemler arasındaki dengesizliğe bağlı olarak reaktif oksijen

türlerinin üretimini arttırdığı, yani oksidatif stresin meydana geldiği belirlenmiştir (Ece ve ark. 2007). Oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunun meydana gelmesi gibi pek çok stres faktörleri bütün hücrelerde cevap olarak ısı şok proteinlerinin sentezine neden olur ( Clark 2000).

Stres proteinleri olarak da isimlendirilen ısı şok proteinler, bütün canlılarda ve hücrelerde bulunan bir grup proteindir. Çeşitli stres faktörleri altında, hücrede bu proteinlerin sentezi artar (Moseley 2000). Kan paraziti hastalıkları gibi çoğu yangısal hastalıkta görülen yüksek ateş, yangı ve hücresel hasar durumları stres proteinlerinin ekspresyonuna sebep olur (Anonim 2006).

*Theileria annulata* etkeninde Hsp 70 düzeyinin enfeksiyon sırasında artış gösterdiği Mason ve ark. (1989) tarafından bildirilmiştir. Aynı şekilde Carcy ve ark. (1991) insan babesiosisi ile yaptıkları çalışmada *Babesia divergens* etkeninde Hsp 70 düzeyinin arttığını ve parazit hsp 70'inin akut faz reaksiyonu sırasında konak immun sisteminin erken bir uyarını olduğunu belirlemişlerdir. Weiss ve ark. (1998)'ın yaptıkları hücre kültürü çalışmasında *Toxoplasma gondii* etkeninde Hsp 70 düzeylerinin arttığı western blotting ile gösterilmiştir. Çalışma ile HSP'lerin bradizoit farklılaşmasında önemli olduğu belirlenmiştir.

Yapılan benzer çalışmalarla malarya, trypanosomiasis, schistosomiasis ve filariaziste de parazitik HSP'lere karşı oluşan antikorların bağışıklığı indükleyebileceği gösterilmiştir (Carcy ve ark. 1991). Yapılan literatür taramalarında paraziter hastalıklarda son konak Hsp düzeylerinin, özellikle Hsp 27 düzeyinin akut enfeksiyon sırasında değişimi hakkında herhangi bir çalışmaya rastlanamamıştır. *Theileria annulata* ile enfekte sığırlarda Hsp 27 düzeyleri belirlenmemiş olmasına rağmen, vasküler hastalıklar, hipertermi, apoptozis ve çeşitli kanser hastalıklarında HSP 27 üretimini arttırdığı belirlenmiştir (Ciocca ve ark. 1993).

Oksidatif stres esnasında Hsp 27'nin hücre içi ekspresyonu artar ve fosforile olur. Hücre içinde Hsp 27'nin ekspresyonu artması ROS'a karşı koruma sağlar. Artan Hsp 27 ekspresyonu hidroksil radikal oluşumunda katalizör olan hücre içi demir içeriğini düşürür ve buna bağlı olarak hidroksil radikallerinin ve okside proteinlerin oluşumunu azaltır. Böylece Tnf- $\alpha$  aracılı lipid peroksidasyonu ve ROS miktarındaki artışa bağlı olarak gelişen çeşitli negatif etkiler (ateş, yangı vs.) küçük hsp'ler tarafından inhibe edilir. Ayrıca Hsp 27'nin hücre içi ekspresyonunun artması hücre içi glutatyon seviyesinin artışı ile

ilişkilidir. Hsp 27'nin artan ekspresyonu glikoz-6-fosfat dehidrogenaz ve glutatyon redüktaz enzimleri üzerine etki ederek, hücre içinde glutatyonun redükte formda tutulmasına aracı olur. Bu Tnf- $\alpha$ 'nın indüklediği hasara karşı hücrelerin korunmasında ve Hsp 27'nin aracı olduğu ROS miktarı düşüşü için gereklidir (Ferns ve ark. 2006).

Bu çalışmada kan plazma Hsp 27 düzeyi, kontrol grubu sığırlarda ortalama 2.52 ng/ml olarak ölçülürken, theileriosisli sığırlarda 4.12 ng/ml olarak ölçülmüştür. Sığırların kan plazma Hsp-27 düzeyi theileriosisli sığırlarda kontrol grubundan, istatistiksel olarak  $p \leq 0,01$  önem düzeyinde yüksek bulunmuştur (Tablo 4.1., Şekil 4.2). Bunun sebebi, konak immun sisteminin parazit Hsp'leri tarafından uyarılması ile Tnf- $\alpha$  salınımının artması ve buna bağlı olarak meydana gelen yüksek ateş, yangı gibi stres faktörlerinin Hsp 27 ekspresyonunu arttırması olabilir.

Paraoksonaz enzimi (PON1) HDL ile ilişkili glikoprotein yapılı bir enzimdir (Başkol ve Köse 2004). Theileriosisli sığırların plazmalarında lipid peroksidasyon ürünlerinin arttığı bilinmektedir (Rezaei ve Naghadeh 2006). Son yıllarda yapılan çalışmalar, PON1'in serum ve dokularda oksidatif stresi azalttığını göstermektedir (Aviram ve Rosenblat 2005). HDL'den saflaştırılan PON1 enziminin lipid peroksitlerinin yanı sıra TBARS oluşumunu önlediği saptanmıştır (Macknes ve ark. 1993). Peroksit ve aldehit gibi serbest radikallerin oluşumu PON1 enzimi ile önlenir. Bu nedenle PON1 bir antioksidan enzim olarak tanımlanmaktadır (Çelik ve ark. 2005). Ayrıca oksidatif stres altında PON1 aktivitesinin düşmesi proteinsiz sülfidril grupların redoks durumundaki değişimleri yardımcı olur. Çünkü sülfidril (-SH) grupları ROS'un sebep olduğu PON1 aktivitesindeki inhibisyonu önler. (Selek ve ark. 2008).

Bu çalışmada serum PON1 aktivitesi, kontrol grubu sığırlarda ortalama 66.65 U/L olarak ölçülürken, theileriosisli sığırlarda 32.34 U/L olarak ölçülmüştür. Theileriosis'li sığırların serum PON1 aktivitesi, kontrol grubundaki sığırlardan istatistik olarak  $p \leq 0,001$  önem düzeyinde düşük bulunmuştur (Tablo1, Şekil 4.3 ). Behcet hastalığı (Karaküçük ve ark. 2004) ülseratif kolit (Başkol ve ark. 2006) romatoid artrit (Altındağ ve ark. 2007) ve akut purpura (Ece ve ark. 2007) N. brasiliensis paraziti ile enfekte Farid ve ark. (2008) gibi yangı koşulları ve oksidatif stres altında ROS patogenezinine bağlı olarak PON1 aktivitesinin düştüğü yapılan çalışmalarla belirlenmiştir.

Yapılan literatür taramalarında ateroskleroz, diabetes mellitus, hipertansiyon ve kalp damar hastalıklarında PON1'in aldığı rol çok iyi ortaya konmasına rağmen, kan

paraziti hastalıklarında PON1 düzeylerinin değişimi ile ilgili herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır. Yapılan bu çalışmada PON1 enzim düzeyindeki azalmanın oksidatif stres oluşumu ile bağlantılı olabileceği düşünülmektedir. Bu düşük PON1 enzim aktivitesi, ROS'un zararlı etkilerinin önlenmesi için bu antioksidan enzimin kullanılmasına bağlıdır.

Bu çalışmada PON1 ile ilişkili olarak theileriosisli sığırlarda serum trigliserid, total kolesterol, VLDL, LDL ve HDL düzeyleri de ölçülmüştür. Çoğu akut enfeksiyonda serum trigliserid düzeyi farklı şekilde değişiklik göstermektedir. Goodger ve ark. (1981) ve Cunha ve ark. (2000) B. bovis ile enfekte sığırlarda yaptıkları çalışmada serum trigliserit düzeylerinde artış saptamışlardır. Ayrıca Kontaş ve ark. (2008) da babesia etkenleri ile doğal enfekte sığırlarda yaptıkları çalışmada akut enfeksiyon sırasında babesiosisli sığırlarda serum trigliserit düzeyinin artış gösterdiğini belirlemişlerdir. Singh ve ark. (2001) theileriosisli sığırlarda serum trigliserid ve total kolesterol düzeylerinde düşüş bulmuşlardır.

Bu çalışmada theileriosisli sığırların serum trigliserid düzeyi Singh ve ark. (2001)'den farklı olarak, kontrol grubundaki sığırlardan  $p \leq 0,001$  önem düzeyinde yüksek bulunmuştur (Tablo 4.1, Şekil 4.4). Hasta grubundaki yüksek trigliserid düzeyi konak savunma sisteminin bir uyararı olabilir. Ayrıca hasta grubundaki glikolizise bağlı olarak trigliseridlerin karaciğerde üretiminin artması ve dolaşımdan uzaklaştırılmasında bir sorun olmasına bağlı olarak meydana gelebilir.

Akut enfeksiyonlarda lipoliz sonucunda serbest yağ asitleri oluşur, bu yağ asitlerinin sitotoksik ve hemolitik olduğu *invitro* olarak gösterilmiştir (Adamu ve ark. 2008). Theileria ile enfekte hayvanlarda serbest yağ asitleri miktarı artışı konak eritrositlerinde sitotoksik etki yapar. Bu da aneminin gelişmesine yardımcı bir faktör olabilir.

Bu çalışmada Theileriosisli sığırların serum total kolesterol düzeyi, kontrol grubundaki sığırlardan istatistik olarak  $p \leq 0,001$  önem düzeyinde düşük bulunmuştur (Tablo 4.1, Şekil 4.5). Benzer şekilde Singh (2001) theileriosis ile akut enfekte sığırlarda, Elissade ve ark. (1983), Cunha ve ark. (2000) ve Kontaş ve ark. (2008) ise babesiosis ile enfekte sığırlarda total kolesterol düzeyinin düşük olduğunu bildirmişlerdir. Theileria annulata ile enfekte sığırlarda serum kolesterol ve trigliserid seviyelerinde düşüş olduğunu belirlemişlerdir. Bu düşüşün hastalıkta meydana gelen anoreksi ile ilişkili olduğunu

belirtmişlerdir (Çöl ve Uslu 2007). Malarya enfeksiyonunda da total kolesterol, LDL ve HDL kolesterol düzeylerin düşük olduğunu Kim ve ark. (2008) göstermişlerdir.

Çalışmada theileriosisli sığırlarda total kolesterol düzeylerinin düşük bulunması parazitin sebep olduğu eritrosit hücre harabiyeti ve karaciğer hasarına bağlı olarak hepatositler tarafından kolesterolün normal sentezinin sağlanamamasına bağlı olabilir. Bu nedenle yapısında kolesterol bulunan HDL, LDL kolesterol gibi lipoproteinler yeterince sentezlenemediğinden, hastalık sürecinde oluşan oksidatif stres ve hücre hasarına karşı da yeterince koruma sağlanamaz.

Theileriosisli sığırların akut enfeksiyonunda kan serum VLDL, kontrol grubu sığırlarda ortalama 5.2 mg/dl olarak ölçülürken, theileriosisli sığırlarda 8.5 mg/dl olarak ölçülmüştür ( $p \leq 0,01$ ). Literatürde theileriosisli sığırlarda serum VLDL düzeyleri hakkında bir veriye rastlanamamıştır. Fakat Kontaş ve ark.(2008) babesiosisle enfekte sığırlarda serum VLDL düzeyinin yüksek olduğunu göstermişlerdir. Benzer şekilde bu çalışmada theileriosisli sığırlarda serum VLDL düzeyinin yüksek olmasının sebebi trigliseritlerin ve VLDL kolesterolün karaciğerde yapımını stimule eden yağ doku lipolizisi olabilir.

LDL kolesterol kanda kolesterolün esas taşıyıcısıdır ve kolesterolün karaciğerden organlara taşınmasından sorumludur (Adamu ve ark. 2008). Kan serum LDL düzeyi, kontrol grubu sığırlarda ortalama 114,3 mg/dl olarak ölçülürken, theileriosisli sığırlarda 52.0 mg/dl olarak ölçülmüştür ( $p \leq 0,001$ ). Benzer şekilde Faucher ve ark. (2004) ve Kim ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada *P. falciparum* enfeksiyonlarında LDL'de düşüş saptamışlardır. Goodger ve ark. (1981) *Babesia bovis* ile enfekte sığırlarda plazma lipoproteinlerinde düşüş meydana geldiğini göstermişlerdir. Adamu ve ark. (2008) koyunlarda akut deneysel tripanosoma enfeksiyonunda total kolesterol, LDL ve HDL kolesterol seviyelerinde düşüş göstermişlerdir. Çalışmada akut enfekte theileriosisli sığırlarda LDL kolesterolün düşük bulunması total kolesterolün karaciğer hasarına bağlı olarak yeterince sentezlenememesi bağlı olduğu düşünülmektedir.

HDL kolesterol kolesterolün çeşitli organ ve dokulardan karaciğere taşınmasından sorumludur (Adamu ve ark. 2008). Total plazma kolesterolünün %90'ını oluşturur. Bu çalışmada serum HDL düzeyleri kontrol grubu sığırlarda ortalama 77,6 mg/dl olarak ölçülürken, theileriosisli sığırlarda 42,8 mg/dl olarak ölçülmüştür. Theileriosisli sığırların serum HDL düzeyi, kontrol grubundaki sığırlardan istatistik olarak  $p \leq 0,001$  önem düzeyinde düşük bulunmuştur (Tablo 4.1, Şekil 4.8).

Trypanosoma congolense ile enfekte sığırlarda serum HDL kolesterol düzeylerinin düştüğünü ve tedavi sonrası parazit eliminasyonuna bağlı olarak tekrar kontrol grubu seviyelerine döndüğünü Traore-Leroux ve ark. (1987) bildirmişlerdir. Valentin ve ark. (1991) babesia divergens ile enfekte insan eritrositlerinde yaptıkları çalışmada Babesia divergensin gelişmesi için lipidlere ihtiyaç olduğunu ve HDL kolesterolun esas kaynak olduğunu göstermişlerdir.

Serum PON1 plazmada HDL ile birlikte bulunur ve plazma lipoproteinlerinin oksidasyonunu önlemede görevlidir. HDL kolesterol yapısında bulunan PON 1 enzimi, LDL'deki aktif lipidleri yıkar ve böylece paraoksonaz LDL kolesterolü serbest radikallerin indüklediği oksidasyondan korumaktadır (Aviram 1999). PON1 LDL'nin yanı sıra HDL'yi de korumaktadır. HDL'den saflaştırılan PON'un TBARS düzeylerini ve lipoperoksit oluşumunu önlediğini gösterilmiştir (Bayrak ve ark. 2005).

Bu çalışmada serum PON ve HDL kolesterol düzeylerinin önemli düzeyde ( $p<0,001$ ) düşük bulunması, theileriosiste oksidatif stresin oluşturduğu lipid peroksidasyonuna karşılık, antioksidan savunma sisteminin PON1 enzimi ve dolayısı ile HDL'nin kullanılmasına bağlı olabilir. Akut enfeksiyon sırasında karaciğer hasarına bağlı olarak total kolesterolün yeterince sentezlenmemesi, HDL kolesterol seviyelerinin düşmesine sebep olabilir.

## 6. SONUÇ

Theileriosis tropik ve subtropik bölgelerde yaygın olarak görülen ve kenelerle nakledilen protozoer bir hastalıktır. Özellikle kenelerin aktif olduğu Mayıs-Eylül ayları arasında görülmektedir. Theileriosis, yerli ve kültür ırkı sığırlarda mortalite oranı yüksektir. Tedaviye cevap veren hayvanlarda et ve süt veriminin düşmesi, tedavide kullanılan ilaçların pahalı olması nedeniyle hayvancılık sektöründe önemli bir yere sahiptir.

Bu çalışmada theileriosis ile akut enfekte sığırlarda lipid peroksidasyonu (MDA) ( $p<0,001$ ), ısı şok protein düzeyi (Hsp 27) ( $p<0,01$ ) düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. PON1 düzeyi ise, kontrol grubuna göre düşük ( $p<0,001$ ) bulunmuştur. Yapılan lipid profili analizlerinde ise serum trigliserid ( $p<0,001$ ) ve çok düşük dansiteli lipoprotein ( $p<0,01$ ) düzeyleri akut enfekte sığırlarda yüksek bulunurken, total kolesterol ( $p<0,001$ ), düşük dansiteli lipoprotein ( $p<0,001$ ) ve yüksek dansiteli lipoprotein ( $p<0,001$ ) düzeyleri düşük bulunmuştur.

Akut enfeksiyonlarda kan akımındaki parazitler enerji olarak glikozu kullanır bu da kısmen hipoglisemi oluşmasına sebep olur. Hipoglisemide konak hayvanda lipidlerin glikoneogeneziste kullanılması lipid ve kolesterol seviyelerini düşürmektedir. Lipolizis theileria enfeksiyonunda ateşe bağlı olarak ortaya çıkan yüksek enerji ihtiyacının karşılanması için esas mekanizmadır. Theileriosiste plazma lipid profilinin değişimi hastalığın patogenezinde rol oynayabilir. Ayrıca serum paraoksonaz aktivitesi ve ısı şok protein 27 düzey ölçümlerinin, theileriosisdeki oksidatif stresin belirlenmesinde, malondialdehid gibi yararlı bir indikatör olabileceği düşünülmektedir.

## 7.KAYNAKLAR

1. **Adam C, Geniteau M, Gougerot-Pocidallo M.** Cryoglobulins, circulating immune complexes and complement activation in cerebral malaria. *Infect Immun*, **1981**, 31: 530-535.
2. **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.
3. **Ahmed JS, Glass EJ, Salih DA, Seitzer U.** Innate immunity to tropical theileriosis. *Innate Immun*, **2008**, s 14(1):5-12.
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 & Med*, **2003**, 34: 824-829.
5. **Altay K, Aktaş M.** Sığır Theileriosisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi (Veteriner)*, **2004**, 18-2, s. 079-086.
6. **Altındağ Ö, Karakoç M, Soran N, Çelik H, Çelik N ve ark.** Paraoxanase and arylesterase activities in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatism*, **2007**, 22: 132-6.
7. **Altınışık M.** Plazma lipidleri ve ateroskleroz. [www.mustafaalinisik.org.uk/67-shmyo-203-11.ppt](http://www.mustafaalinisik.org.uk/67-shmyo-203-11.ppt). **2006**, Erişim Tarihi: 30.11.2006.
8. **Anderson R, Theron AJ, Ras GJ.** Cysteine and dapsona of the increased extracellular and intracellular generation of reactive oxidants by activated phagocytes from cigarette smokers. *Am Rev Respir Dis*. **1987**, 135(5): 1027-32.
9. **Anon.** Tick and Tick- Borne Disease Control. A Practical Field Manuel. Vol. I and II, Food and Agriculture Organization (FAO), Rome, **1984**, pp 621.
10. **Anonim.** Heat shock proteins-structure and overview.  
Erişim adresi: <http://www.cs.stedwars.edu/chem/Chemistry/CHEM43/CHEM43/HSP/STRUCTURE>.  
Erişim Tarihi:03.03.2006.
11. **Aviram M, Rosenblat M.** Paraoxonases and cardiovascular diseases: Pharmacological and nutritional influences. *Curr Opin Lipidol*, **2005**, 16:393-399.
12. **Aviram M.** Does paraoxonase play a role in susceptibility to cardiovascular disease. *Mol Med Tod*, **1999**, 5: 381-6.
13. **Aslan M, Kosecik M, Horoz M, Selek S, Celik H ve ark.** Assessment of paraoxonase and arylesterase activities in patients with iron deficiency anemia. *Atherosclerosis*, **2007**, 191:397-402.
14. **Azarsız E, Sözmén EY.** Paraoksonaz ve klinik önemi. *Türk biyokimya dergisi*, **2000**, Cilt:25, sayı:3, s.109-119.
15. **Baskol G, Baskol M, Yurci A, Ozbakır O, Yucesoy M.** Serum papoxonase I activity and malondialdehyde levels in patients with ulcerative colitis. *Cell Biochem Funct*, **2006**, 24:283-86.
16. **Başkal N.** Lipoprotein Metabolizması ve Hiperlipidemi Tedavisindeki Yenilikler. *Optimal Tıp Dergisi*, **1989**, 2(1): 34-42.



17. **Başkol G, Köse K.** Paraoksanase: Biyokimyasal özellikleri, fonksiyonları ve klinik önemi. Erciyes Tıp Dergisi, **2004**, 26 (2) 75-80.
18. **Bayrak T, Bayrak A, Demirpençe E, Kılınç K.** Yeni bir kardiyovasküler belirteç adayı: Paraoksonaz. Hacettepe Tıp Dergisi, **2005**, 36:147-151.
19. **Bhagavan NV.** Plasma Lipoproteins. Medical Biochemistry. 4th edition, Harcourt Academic Press, **2002**, pp.429-452.
20. **Biasioli S, Schiavon R, Petrosino L, De Fanti E, Cavalcanti G ve ark.** Paraoxonase activity and paraoxonase 1 gene polymorphism in patients with uremia. ASAIO J, **2003**, 49: 295-9.
21. **Brown CG.** Vaccination against Tropical Theileriosis (Theileria annulata infection cattle). Pendik Hayv. Hast. Merk. Araş. Enst. Yay., **1989**, 10, pp. 69-75.
22. **Brown, CG.** Control of tropical theileriosis (Theileria annulata infection of cattle). Parasitologia, **1990**, 32: 23-31.
23. **Carcy B, Precigout E, Valentin A, Gorenflot A, Reese RT ve ark.** Heat shock response of Babesia divergens and identification of the hsp 70 as an immunodominant early antigen during ox, gerbil and human babesiosis. Biol Cell, **1991**, 72:93-102.
24. **Champbell JD, Nichani AK, Brown DJ, Howie SE, Spooner RL ve ark.** Parasite mediated steps in immune response failure during primary Theileria annulata enfektion. Trop Anim Health Prod, **1997**, 29 (4): 133-135.
25. **Champe PC, Harvey RA.** Lippincott's Illustrated Reviews. **1994**, J.B. Lippincott Company.
26. **Cheeseman KH, Slater TF.** An introduction to free radical biochemistry. Br Med Bull., **1994**, 49(3):481-93.
27. **Choi SW, Benzie FF, Collins DR.** Vitamin C and E, acute interactive effects on biomarkers of antioxidant deffence and oxidative stres. Fundamental and moleculer mechanism of mutogenesis, **2004**, 551(5): 109-117.
28. **Ciocca DR, Oesterreich S, Chamness GC, McGuire WL, Fugua SA.** Biological and clinical implications of heat shock protein 27,000 (Hsp27): J Natl Cancer Inst, **1993**, 6;85(19):1558-70.
29. **Clark JI, Muchowski PJ.** Small heat shock proteins and their potential role human disease. Curr Opin Biol, **2000**, 10(1); 52-9.
30. **Clarkson P M, and Thompson H S.** Antioxidants: What Role Do They Play In Physical Activity And Health?. Am. J. Clin. Nutr., **2000**, 72:637-646.
31. **Cunha BA, Crean J, Rosenbaum G.** Lipid abnormalities in babesiosis. Am. J. Med, **2000**, 108, 758-759.
32. **Çelik M, Gülcü F, Ozan G, Gürsu MF.** Paraoksonaz 1 ve arilesteraz aktivite düzeyleri. Türk Biyokimya Dergisi , **2005**, 30 (2); 194-199.
33. **Çöl R, Uslu U.** Changes in selected serum components in cattle naturally infected with theileria annulata. Bull Vet Inst Pulawy, **2007**, 51, 15-18.
34. **Dinçer Ş.** Theilerisis Etkenlerinin Taksonomisi ve morfolojisi. In: Sayın, F. Theileriosis, 4. Ulusal Parazitoloji Kongresi, **1985**, s. 5-28.

35. **Dumanlı N, Aktaş M, Çetinkaya B, Çakmak A, Köroğlu E ve ark.** Prevalence and distribution of tropical theileriosis in eastern Turkey. *Vet Parasitol*, **2005**, 127:9-15.
36. **Ece A, Kelekçi S, Kocamaz H, Hekimoğlu A, Balık H ve ark.** Antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation, and total antioxidant status in children with Henoch-Schönlein purpura. *Clin Rheumatol*, **2007**, 27:163-167.
37. **Eckert J, Kutzer E, Rommel M, Büeßer HJ, Und Körting W.** *Veterinärmedizinische Parasitologie*. 4. Auflage, Verlag Paul Parey, Berlin, **1992**, pp 905.
38. **Ekmekçi Balcı Ö, Donma O, Ekmekçi H.** Paraoxonase. *Cerrahpaşa J Med*, **2004**, 35: 78-82.
39. **Elissalde GS, Wagner GG, Craig TM, Rowe L.** Hypcholesterolemia and hypocortisolemia in acute and terminal *Babesia bovis* infections. *Vet Parasitol*, **1983**, 12(1): 1-11.
40. **Erdoğan Ö, Öner A, Aydın A.** Effect of vitamin E treatment on the oxidative damage occurring in Henoch-Schönlein Purpura. *Acta Paediatr*, **2003**, 92:546-550.
41. **Farid AS, Horii Y.** Gastrointestinal nematode infection increases organophosphate toxicity in rats. *Toxicol Lett.*, **2008**, 30;180(1):33-7.
42. **Faucher JF, Milama NE, Missinou M, Ngomo R, Kombila M ve ark.** The impact of malaria on common lipid parameters. *Biomedical and Life Sciences*, **2004**, p.1040-1043.
43. **Ferns G, Shams S, Shafi S.** Heat shock protein 27: its potential role in vascular disease. *Int J Exp Pathol*, **2006**, 87(4):253-74.
44. **Freeman BA, Crapo JD.** Free radicals and tissue injury. *Lab Invest*, **1982**, 47:412-425.
45. **Glass EJ, Preston PM, Springbett A, Craigmile S, Kirvar E ve ark.** *Bos taurus* and *Bos indicus* (Sahiwal) calves respond differently to infection with *Theileria annulata* and produce markedly different levels of acute phase proteins. *International J Parasitology*, **2005**, 1-11.
46. **Goodger GR, Wright IG, Mahoney DF.** *Babesia bovis* (Argentina): Studies of plasma lipids and lipoproteins during acute infections in cattle. *Z Parasitenkd*, **1981**, 65: 271-276.
47. **Grewal A, Ahuja CS, Singha SPS, Chaudhary KC.** Status Of Lipid Peroxidation, Some Antioxidant Enzymes and Erythrocytic Fragility of Crossbred Cattle Naturally Infected with *Theileria annulata*. *Vet Res Commun*, **2005**; 29(5):387-94.
48. **Gülcü F, Gürsu FM.** Paraoksanaz ve Aril Esteraz Aktivite Ölçümlerinin Standardizasyonu. *Türk Biyokimya Dergisi*, **2003**, 28 (2); 45-49.
49. **Güzel M, Aşkar TK, Kaya G, Atakişi E, Avcı GE.** Serum sialic acids, total antioxidant capacity, and adenosine deaminase activity in cattle with theileriosis. *Bull Vet Inst Pulawy*, **2008**, 52, 227-230.
49. **Haider MJ.** Hematological study of water buffalo (*Bubalus bubalis*) during theileriosis (*T. annulata*). *Ann. NY Acad. Sci*, **1992**, 653,191-193.
50. **Halliwell B.** Free radicals, antioxidants and human diseases: curiosity, cause or consequence? *Lancet*, **1994**, 344:721-724.
51. **Halliwell B, Gutteridge JMC.** Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. *Methods Enzymol*, **1990**, 186:1-85.

52. Henle KJ, Jethmalani SM, Nagle WA. Stres proteins and glycoproteins. *Int J Mol Med Jan*, 1998,1(1):25-32.
53. Inal M, Akyüz F, Turgut A, Getsfrid WM. Effect of Aerobic and Anaerobic Metabolism on Free Radical Generation Swimmers. *Med. Sci, Sports Exerc*, 2001, 33:564-567.
54. Jaattela M. Heat shock proteins as cellular lifeguards. *Annali medici*, 1999, 31: 261-271.
55. Juretic D, Tadijanovic M, Rekić B, Simeon-Rudolf V, Reiner E ve ark. Serum Paraoxonase activitiesin hemodialyzed uremic patients: cohort study. *Clinical science*, 2001, 42(2): 146-150.
56. Karaer Z, Yukarı BA, Aydın L. Türkiye Keneleri ve Vektörlükleri. In: *Artropod Hastalıkları ve Vektörler*. Editörler: M.Ali Özcel ve Nilgün Daldal. Türkiye Parazitoloji Derneği, Yayın No: 13. Ege Üniv. Basımevi, İzmir, 1997, s: 363-434.
57. Karaer Z. Sığırlarda theileria türlerinin reverse line blotting (RLB) ve indirek floresan antikor (IFAT) testi ile karşılaştırmalı tanısı üzerine araştırmalar. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, Ankara. Erişim Adresi: [papyrus.ankara.edu.tr/arastirma/2003/a2003\\_3/proje.pdf](http://papyrus.ankara.edu.tr/arastirma/2003/a2003_3/proje.pdf) . 2003, Erişim Tarihi: 10.10.2006.
58. Karagenc T, Ertabaklar H, Ulutaş B, Aypak S, Ertuğ S. Aydın Yöresinde Sığırlarda Toxoplasma Gondii'nin Seroprevalansı ,Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 2005, 16 ,67-70.
59. Karakucuk S, Baskol G, Oner AO, Baskol M, Mirza E ve ark. Serum paraoxanase activity is decreased in the active stage of Behcet's disease. *Br J Ophthalmol*, 2004, 88:1256-8.
60. Keleş İ, Değer S, Altuğ N, Karaca M, Akdemir C. Tick-borne diseases in cattle: Clinical and haematological findings, diagnosis, treatment, seasonal distribution, breed, sex and age factors and the transmitters of the diseases. *Yeni Yüzyıl Üniversitesi Vet. Fak. Derg*, 2001, 12 (1-2): 26-32.
61. Khersonsky O, Tawfik DS. Structure-reactivity studies of serum paraoxonase PON-1 suggest that its native activity is lactonase. *Biochemistry*, 2005, 44:6371-82.
62. Kızıl Ö, Karapınar T, Balıkcı E, Kızıl M. Tropikal Tayleriyozisli Sığırlarda Hemogram ve Bazı Serum Parametrelerindeki Değişiklikler. *F. Ü. Sağ. Bil. Derg*, 2007, 21 (1): 11 – 14 .
63. Kim JS, Oh JS, Chang EA, Bae SY, Nam DH ve ark. Alteration of platelet counts and lipid profiles after treatment of acute Plasmodium vivax. *Acta Tropica*, 2008, 106(1), p.39-43.
64. Kontaş AT, Salmanoğlu B, Çakmak A, Beşkaya A. Relative changes in serum lipid-lipoprotein and trace element levels in cattle babesiosis. *Medycyna Wet*, 2008, 64(9) p.1104-1106.
65. Köken T, Serteser M, Kahraman A. Sigaranın Hemodiyaliz hastalarında oksidatif stres üzerine etkisi. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 2002, 2(2): 121-124.
66. Kube H, Nokii A Kushi OT. Peroxidation levels and Antioxidant Enzymatic activities before and after delivery. *J. Nippon Med Sch*, 2002, 69(6): 542-548.
67. La Du BN, Adkins S, Kuo CL, Lipsig D. Studies on serum human paraoksonase/arylesterase. *Chem Biol Interactions*, 1993, 87, 25-34.
68. Laad AD, Thomas ML, Fakih AR, Chiplunkar SV. Human gamma delta T cells recognize heat shock protein-60 *Int j Cancer*, 1999, 1;80(5):709-14.
69. Landry J. Protein Interactions and Moleküler Chaperones. Erişim adresi: <http://www.tulane.edu/~biochem/med/hsp.htm>. 1998, Erişim Tarihi:03.03.2006.

- 70. Lee J, Prohaska JR, Thiele DJ.** Essential role for mammalian copper transporter Ctr 1 in copper homeostasis and embryonic development. *Proc Natl Acad Sci*, **2001**, 98: 6842-47.
- 71. Locke M.** The cellular stress response to exercise: role of stress proteins. *Exercise and sport sciences reviews*, **1997**, 25:105-136.
- 72. Lykkesfeldt J, Viscovich M, Poulsen HE.** Ascorbic acid recycling in human erythrocytes is induced by smoking in vivo. *Free Radical Biology and medicine*, **2003**, 35, 1439-1447.
- 73. Lykkesfeldt J, Svendsen O.** Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. *The Vet J*, **2007**, 173. 502-511.
- 74. Mackness MI, Harty D, Bhatnagar D, Winocour PH, Arrol S.** Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis*. **1991**, 86:193-199.
- 75. Mackness B, Durrington PN, Abuashia B, Boulton AJ, Mackness MI.** Low paraoxonase activity in type II diabetes mellitus complicated by retinopathy. *Clin. Sci*, **2000**, 98; 355–363.
- 76. Mackness MI, Arrol S, Abbott C, Durrington PN.** Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis*, **1993**, 104:129-135.
- 77. Mackness M, Mackness B.** Paraoxonase 1 and atherosclerosis: is the gene or the protein more important? *Free Radic Biol Med*, **2004**, 37, 1317–1323.
- 78. Mason PJ, Shiels BR, Tait A, Beck P, Hall R.** Sequence and expression of a gene from *Theileria annulata* coding for a 70-kilodalton heat-shock protein. *Mol Biochem Parasitol*, **1989**, 37(1):27-35.
- 79. Mayes PA.** Digestion and absorption. In: *Harpers Biochemistry*, 22nd Ed. (Ed.R R. K. Murray, D. K. Granner, P. A. Mayes and V. W. Rodwell). Appleton & Lange, Norwalk, Connecticut, **1990**, pp. 580-590.
- 80. McCord JM.** Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem*, **1993**, 26:351-357.
- 81. Menteş NK, Menteş G.** Harper'in Biyokimyaya bakışı. Ege üniversitesi tıp fakültesi yayınları, No:100, İzmir, (1986).
- 82. Moseley P.** Stress proteins and the immune response. Erişim adresi: [www.elsevier.com/locate/immpharm](http://www.elsevier.com/locate/immpharm), **2000**. Erişim Tarihi:03.03.2006.
- 83. Omer OH, El-Malik KH, Magzoup M.** Biochemical profiles in Frisian cattle naturally infected with *theileria annulata* in Saudi Arabia. *Vet Res Comm*, **2003**; 27: 15-25.
- 84. Osman SA, Al-Gaabary MH.** Clinical, haematological and therapeutic studies on tropical theileriosis in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Egypt. *Vet. Parasitol May*, **2007**, 31;146(3-4): 337-40.
- 85. Özkan A, Fışkın K.** Serbest oksijen radikalleri ve Karsinogenez ve antioksidan enzimler. *International journal of Hametology and Oncology*, **2004**, 14 (1): 52-60.
- 86. Pockley AG.** Heat shock proteins in health and disease:therapeutic agents?. Erişim adresi: <http://www-ermm.abcu.cam.ac.uk>, **2001**, Erişim Tarihi:03.03.2006.

- 87. Preston PM, Jackson LA, Sutherland IA.** Theileria annulata: Attenuation of a schizont-infected cell line by prolonged in vitro culture is not caused by the preferential growth of particular host cell types. *Exp Parasitol*, **2001**, 98: 188-205.
- 88. Rezaei Asri S, Dalir-Naghadeh B.** Evaluation of antioxidant status and oxidative stress in cattle naturally infected with Theileria annulata. *Veterinary parasitology*, 142, **2006**, 179-186.
- 89. Romero FJ, Bosch-Morell F, Romero MJ.** Lipid peroxidation products and antioxidants in human disease. *Environ Health Perspect*; **1998**, 106: 1229-34.
- 90. Salonen JT, Malin R, Tuomainen TP, Nyyssonen K, Lakka T ve ark.** Polymorphism in high density lipoprotein paraoxonase gene and risk of acute myocardial infarction in men: prospective nested case-control study. *Br. Med. J*, **1999**, 319, 487-489.
- 91. Sandhu GS.** Histopathological, biochemical and haematological studies and crossbred calves suffering from experimental tropical theileriosis. Thesis, Punjab Agricultural University, **1996**, Ludhiana.
- 92. Sayın F.** Theileria türlerinin morfolojik yapısı. 4. Ulusal Parazitoloji Kongresi, **1985**, p:11-19.
- 93. Selek S, Cosar N, Kocyigit A, Erel O, Aksoy N ve ark.** PON1 activity and total oxidant status in patients with active pulmonary tuberculosis. *Clinical Biochemistry* 41, **2008**, p.141-144.
- 94. Serarslan G, Altuğ E, Kontas T, Atik E, Avci G.** Caffeic acid phenethyl ester accelerates cutaneous wound healing in a rat model and decreases oxidative stress. *Clinical and Experimental Dermatology*, **2007**, 32, 709-715.
- 95. Seres I, Paragh G, Deschene E, Fulop TJ, Khalil A.** Study of factors influencing the decreased HDL associated PON1 activity with aging. *Exp. Gerontol*, **2004**, 39, 59-66.
- 96. Schaefer EJ.** Clinical, biochemical and genetic features in familial disorders of high density lipoprotein deficiency atherosclerosis. **1984**, 4:303.
- 97. Singh A, Singh J, Grewal AS, Brar RS.** Studies on some blood parameters of crossbred calves with experimental theileria annulata infections. *Veterinary research communications*, **2001**, 25, p.289-300.
- 98. Smith BP.** Large animal internal medicine, **2002**, Third edition, St Louis: Mosby.
- 99. Stepanova NL, Zaplotzky VT.** Bovine theileriosis in the U.S.S.R. In *Theileriosis*. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz; **1989**, 8(1), p.89-92.
- 100. Traore- Leroux T, Fumoux F, Pinder M.** High density lipoprotein levels in the serum of trypanosensitive and trypanoresistant cattle. Changes during Trypanosoma congolense infection. *Acta Tropica*, **1987**, 44: 315-323.
- 101. Valentin A, Rigomier D, Prcigout I, Carcyi B, Gorenflot A ve ark.** Lipid trafficking between high density lipoproteins and Babesia divergens-infected human erythrocytes. *Biolcell*, **1991**, 73, 63-70.
- 102. Van LB, Hama SY, Beer FC, Stafforini DM, Mclyntyre TM ve ark.** Anti-inflammatory HDL becomes pro-inflammatory during the acute phase response. *J Clin Invest*, **1995**, 96, 2758-67.
- 103. Vance DE, Vance JE.** *Ceditorol Biochemistry of lipids and membranes* Benjamin/Cummings, **1985**.
- 104. Wang W, Basia Shoseyov VO, Altman A.** Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the aëabeyotic stress response. *Trends in plant science*, **2004**, s. 9(5): 244-252.
- 105. Weiss LM, Ma YF, Takvorian PM, Tanowitz HB, Wittner M.** Bradyzoite Development in *Toxoplasma gondii* and the hsp70 Stress Response. *Infect Immun*, **1998**, 66(7): 3295-3302.

- 106. Veteriner Hekim Net.** Tropikal Theileriosis (Zehirli Sıtma). [www.veterinerhekim.net/ forum/ forum\\_posts.asp? TID=27](http://www.veterinerhekim.net/forum/forum_posts.asp?TID=27), **2006**, Erişim tarihi: 20.10.2007.
- 107. Yagi Y, Furuuchi S, Takahashi H, Koyama H.** Abnormality of osmotic fragility and morfological disorder of bovine erythrocytes infected with *T.sergenti*, Japan. *J. Vet. Sci.*, **1989**, 51, 389-395.
- 108. Yaralı C.** Polatlı yöresinde Tropikal Theileriosis'e karşı aşılanmış sığırlarda aşı sonrası seroprevalans çalışmaları. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara **2001**.

## ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Antakya'da doğdu. İlk orta ve lise öğrenimini Antakya'da tamamladı. 1996 yılında Trakya üniversitesi sağlık hizmetleri meslek yüksek okulunu bitirdi. Aynı yıl Abant İzzet Baysal Üniversitesi Düzce Araştırma ve Uygulama hastanesine hemşire olarak atandı. 2004 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Yüksekokulunu bitirdi. Halen Antakya Devlet Hastanesinde hemşire olarak görevine devam etmektedir. Evli ve iki çocuk annesidir.