

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İÇ HASTALIKLARI (VET.) ANABİLİM DALI

**ENZOOTİK PNEUMONİLİ BESİ
KUZULARINDA TEDAVİYE SELENYUM VE
VİTAMİN E EKLENMESİNİN TOTAL OKSİDAN
İLE ANTIOKSİDAN SEVİYELERİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Aydın DAŞ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Tekin ŞAHİN

ŞANLIURFA
2009

Aydın DAŞ

İÇ HASTALIKLARI (VET.)

YÜKSEK LİSANS

ŞANLIURFA - 2009

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İÇ HASTALIKLARI (VET.) ANABİLİM DALI

**ENZOOTİK PNEUMONİLİ BESİ KUZULARINDA
TEDAVİYE SELENYUM VE VİTAMİN E
EKLENMESİNİN TOTAL OKSİDAN İLE
ANTIOKSİDAN SEVİYELERİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Aydın DAŞ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Tekin ŞAHİN

Bu tez, Harran Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı Tarafından 797 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA
2009

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Aydın Daş'ın hazırladığı “Enzootik Pneumonili Besi Kuzularında Tedaviye Selenyum ve Vitamin E Eklenmesinin Total Oksidan İle Antioksidan Seviyeleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması”, konulu çalışma 08/ 05/ 2009 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek İç Hastalıkları (Vet.) Anabilim Dalında **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Gürbüz AKSOY
Harran Üniversitesi
BAŞKAN

Doç. Dr. Tekin ŞAHİN (Danışman)
Harran Üniversitesi
ÜYE

Doç. Dr. Nihat ŞINDAK
Harran Üniversitesi
ÜYE

...../...../ 2009

ONAY

Prof. Dr. Salih Zeki ZIYLAN

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince yanında çalışmaktan gurur duyduğum, klinik bilgi ve tecrübelerini paylaşarak yetişmemde büyük emeği olan, her zaman ilgi, anlayış ve desteğini gördüğüm danışman hocam sayın Doç. Dr. Tekin ŞAHİN'e,

Her zaman klinik bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım yakın ilgilerini esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Gürbüz AKSOY'a,

İhtisasım süresince desteğini ve bilgilerini esirgemeyen, bir abi kadar yakın gördüğüm değerli hocam Yrd. Doç. Dr. İlker ÇAMKERTEN'e,

Yüksek lisans eğitimim boyunca desteklerini esirgemeyen Biyokimya ve Cerrahi Anabilim Dalı'ndaki birbirinden değerli hocalarıma,

Laboratuvar analizleri sırasında yardımlarını gördüğüm araştırma görevlisi arkadaşım Abdullah TAŐKIN'a,

Ayrıca Tez materyalimin toplanması sırasında yardımlarını esirgemeyen meselektaşlarım sevgili Hüseyin DURMUŐ ve sevgili Adnan ÜÇKULAK'a,

Bu projenin gerçekleşmesinde maddi destek sağlayan Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Kurulu'na ,

Bütün eğitim hayatım boyunca desteklerini ve ilgilerini esirgemeyen aileme sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
TABLolar.....	v
KISALTMALAR.....	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
GİRİŞ	1
1. AKCİĞERİN SAVUNMA MEKANİZMALARI	3
1.1 Üst Solunum Yolları ve Bronşlar.....	3
1.1.1 Anatomik Bariyerler.....	3
1.1.2 Öksürük Refleksi.....	4
1.1.3 Mukosilyer Temizleme	4
1.1.4 Sekretuar IgA ve Diğer Ig'ler.....	5
1.1.5 Hava Yolu Epiteli.....	5
1.2 Alveolar Boşluk.....	6
1.2.1 Alveolar Makrofajlar ve Lenfoid Aracılı İmmunite.....	6
1.2.2 Kompleman Aktivasyonu	6
1.2.3 Nötrofiller	7
2. OKSİDANLAR.....	8
2.1 Biyolojik Sistemlerde Serbest Radikal Oluşturan Mekanizmalar	9
2.1.1 Endojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları.....	9
2.1.2 Ekzojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları	11
2.2 Serbest Oksijen Radikalleri.....	11
2.2.1 Süperoksit Radikali.....	11
2.2.2 Hidrojen Peroksit	12

2.2.3 Hidroksil Radikali	12
2.2.4 Singlet Oksijen.....	12
2.3 Serbest Radikallerin Oluşturduğu Oksidatif Hasar	13
2.3.1 Proteinler Üzerine Etkisi.....	13
2.3.2 Karbonhidratlar Üzerine Etkisi	13
2.3.3 Nükleik Asitler Üzerine Etkisi.....	14
2.3.4 Lipitler Üzerine Etkisi.....	14
3. ANTİOKSİDANLAR	15
3.1 Moleküler Antioksidatif Savunma Sistemleri.....	15
3.1.1 Vitamin E (α - tokoferol).....	15
3.1.2 β -Karoten (Vitamin A ön maddesi).....	16
3.1.3 Vitamin C (Askorbik asit).....	16
3.2 Enzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri.....	17
3.2.1 Süperoksit Dismutaz (SOD).....	17
3.2.2 Katalaz	17
3.2.3 Glutasyon Peroksidaz.....	17
3.3 Diğer Antioksidanlar	18
3.3.1 Melatonin	18
3.3.2 Glutasyon(GSH)	19
3.3.3 Ürat	19
3.3.4 Seruplazmin	19
3.3.5 Ebselen.....	19
3.3.6 Sitokinler.....	20
4. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
4.1 Materyalin Toplanması	21
4.2.1 Total antioksidan kapasitenin ölçülmesi	22

4.2.2 Total oksidan statünün ölçülmesi.....	23
5. BULGULAR.....	24
6. TARTIŞMA.....	27
7. SONUÇ.....	30
8. KAYNAKLAR	31

TABLÖLAR

TABLO 1 SOLUNUM SİSTEMİNİN SAVUNMA MEKANİZMALARI	3
TABLO 2 KUZULARIN KLİNİK BULGULARI	25
TABLO 3 ÇALIŞMA GRUPLARININ TOTAL ANTIOKSİDAN KAPASİTE BULGULARI	26
TABLO 4 ÇALIŞMA GRUPLARININ TOTAL OKSİDAN STATÜ BULGULARI	26

KISALTMALAR

Cu	: Bakır
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
Fe	: Demir
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
Ig	: İmmunoglobulin
IgA	: İmmunoglobulin A
IgE	: İmmunoglobulin E
IgG	: İmmunoglobulin G
IgM	: İmmunoglobulin M
MDA	: Malondialdehit
mM	: Mili Molar
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TAC	: Total Antioksidan Kapasite
TOS	: Total Oksidan Statü
μ M	: Mikro Molar

ÖZET

Enzootik Pnömonili Besi Kuzularında Tedaviye Selenyum ve Vitamin E Eklenmesinin Total Oksidan İle Antioksidan Seviyeleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Koyun ve keçilerde solunum sistemi hastalıklarının en önemli nedenleri fiziksel ve kimyasal stres faktörleri ile virüs ve bakterilerdir. Akciğer, oksidanlardan en çok etkilenen organdır. Oksidanların olumsuz etkilerinin önlenmesi amacıyla organizma antioksidatif savunma sistemleri geliştirmiştir. Bu çalışmada, enzootik pnömonili besi kuzularının tedavisine antioksidan olarak E vitamini ve selenyum eklenmesinin total oksidan statü (TOS) ve total antioksidan kapasite (TAC) üzerine etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışmada antibiyotik kullanılan 8 (I. grup), antibiyotik + vitamin E kullanılan 8 (II. grup) ve antibiyotik+vitamin E+ selenyum kullanılan 8 (III. grup) olmak üzere toplam 24 adet enzootik pnömonili kuzu kullanılmıştır. Tüm gruplardan 0, 1 ve 5. günlerde kan örnekleri alınmıştır. Grup içi günler arası TAC verilerinde I. grupta; 0. güne kıyasla 5. günde ($1,0 \pm 0,16 - 0,72 \pm 0,10$) aynı zamanda II. grupta; 0. güne kıyasla 1. günde ($0,99 \pm 0,15 - 0,82 \pm 0,10$) ve 5. günde ($0,99 \pm 0,15 - 0,79 \pm 0,08$) istatistikî olarak önemli düşüş görülmüştür. TOS verilerinde ise I. grupta; 0. güne kıyasla 5. günde ($7,78 \pm 2,38 - 6,55 \pm 1,04$) ve III. grupta; 0. güne kıyasla 1. günde ($6,94 \pm 1,73 - 5,83 \pm 1,27$) istatistikî olarak önemli düşüş görülmüştür. Yine III. grupta 1. güne göre 5. günde istatistikî olarak önemli ($5,83 \pm 1,27 - 7,25 \pm 1,11$) bir artış görülmüştür. Gün içi gruplar incelendiğinde ise TAC ve TOS değerleri yönünden herhangi bir fark görülmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Enzootik pnömoni, kuzu, total oksidan statü, total antioksidan kapasite

ABSTRACT

Efficacy of Vitamin E and Selenium Addition to the Treatment of Enzootic Pneumonia on Total Oxidant Status with Total Antioxidant Capacity in Lambs

Physical and psychological stress factors, viral, bacterial agents are the most common causes of respiratory system diseases in sheep and goats. Lung is the most affected organ from negative effects of oxidants. Organism develops antioxidative defense systems to prevent negative effects of oxidants. In this study, efficacy of Vitamin E and Selenium addition to the treatment of enzootic pneumonia on total Oxidant status (TOS) and total antioxidant capacity (TAC) in lambs were investigated.

In the study; antibiotic administered 8 lambs (group I), antibiotic-Vitamin E administered 8 lambs (Group II), antibiotic+Vitamin E+ Selenium combination administered 8 lambs (group III), totally 24 lambs with enzootic pneumonia were used as material. In all groups, blood samples were obtained at 0, 1st and 5th days. In intragroup TAC data; between days; compared with day 0, significant decrease ($1,0 \pm 0,16 - 0,72 \pm 0,10$) at day 5 in group I; compared with day 0, significant decreases ($0,99 \pm 0,15 - 0,82 \pm 0,10$) at 1st day at day 5 ($0,99 \pm 0,15 - 0,79 \pm 0,08$) were determined in group II. According to TOS data; compared with day 0, significant decrease ($7,78 \pm 2,38 - 6,55 \pm 1,04$) at 5th day in group 1 and significant decrease in day 1 ($6,94 \pm 1,73 - 5,83 \pm 1,27$) was observed. Also; compared with day 1, significant increase ($5,83 \pm 1,27 - 7,25 \pm 1,11$) at 5th day was determined in group III. According to daily changes; regarding TAC and TOS values, no significant differences were determined.

Key words: Enzootic pneumonia, lamb, total oxidant status, total antioxidant capacity

GİRİŞ

Solunum sistemi, aerojen yolla vücuda girebilecek enfeksiyon etkenlerine karşı bir savunma mekanizmasına sahiptir. Doğumdan sonraki 3-5 hafta içinde maternal antikörlerin giderek azalması, organizmanın direncini etkileyen fizyolojik faktörler, kalitatif ve kantitatif açlık, ani iklim değişikliklerine bağlı olarak ortamın çok soğuk, çok sıcak ve rutubetli oluşu, transport, stres, sıkışık-kapalı ve havalandırma koşulları kötü olan ahırlar gibi dispozisyon yaratan faktörlerle, bu özel savunma mekanizmasının bozulması sonucu mikoplazmal, viral ve sekonder bakteriyel etkenlerin solunum sistemi enfeksiyonlarını meydana getirdiği bildirilmektedir (1, 9, 35, 52).

Solunum sistemi hastalıklarının etiolojisinde enfeksiyon etkenlerinin yanı sıra, kış mevsiminin uzun sürmesi, kapalı ve yetersiz havalandırma yapılan ahırlarda idrar ve amonyak buharlarının solunması, soğuk hava, yemlerin tozlu olması gibi nedenler predispoze faktör olarak yer almaktadır (10).

Akciğer dokusu etiyojik faktörlere göre değişen boyutlarda etkilenmektedir. Akciğer hastalıklarının klinik tanısında ilk olarak yüksek ateş, iştahsızlık, halsizlik gibi genel semptomlar belirlenir. Öksürük, serömüköz- mukopurulent burun akıntısı, solunum güçlüğü, mukozalarda hiperemi veya solgunluk ile tipik oskültasyon ve perküsyon bulguları akciğer dokusunun büyük oranda etkilendiğini gösterir (10, 34, 46).

Enzootik Pnömoni, kapalı barınaklarda ve özellikle bir arada barındırılan kuzu, buzağı ve danalarda görülen; viruslar, bakteriler ve mikoplazmalar tarafından meydana getirilen ve büyük ekonomik kayıplara yol açan önemli bir solunum sistemi hastalığıdır (5, 7, 14, 28). Hastalığın ortaya çıkışında çevre, bakım ve beslenme hataları ile stres faktörleri de rol oynamaktadır (6, 13, 53).

Enzootik pnömoni hastalığının etiolojisinde yer alan stres; hayvanların bir arada sıkışık tutulması, hareketsiz kalmaları, soğuğa maruz kalmaları, bakım ve beslenmenin iyi olmaması gibi durumlarda artmaktadır. Stres hastalıkların ortaya çıkmasına bir neden olurken

aynı zamanda hastalıkların sonucu olarak da artmaktadır. Bu artan stres ise genelde oksidatif stres düzeylerini arttırırken, antioksidan düzeylerini de azaltmaktadır (30).

Doku hasarı oluşumundaki rolleri ile serbest oksijen radikalleri (oksidanlar), son yıllarda hekimliğin en ilgi çekici konularından biri haline gelmiştir. Oksidanlar ve bunların diğer reaktif türevleri yaşam süreleri çok kısa olmasına rağmen hücrelerdeki protein, lipid ve nükleik asitler gibi hücre için önemli makro moleküllerle etkileşmekte, hücrelerin yapı ve fonksiyonlarında önemli değişikliklere yol açmaktadır (38).

Oksidanların olumsuz etkilerinin önlenmesi amacıyla organizma antioksidatif savunma sistemleri geliştirmiştir. Sağlıklı bireylerde, oluşan serbest radikallerle antioksidan savunma sistemi hemen hemen dengededir. Bu dengenin oksidanların artması ya da antioksidanların azalması sonucu bozulması vücutta çeşitli rahatsızlıkların oluşumuna sebebiyet verir (38).

1. AKCİĞERİN SAVUNMA MEKANİZMALARI

Üst ve alt solunum yolları, dış ortama maruz kalan en büyük epitelyal yüzeyi oluşturmaktadır. Akciğerlerdeki gaz alışverişinin sürdürülmesi için solunan edilen havayla birlikte gelen yabancı maddelerin yangıya yol açmalarını durdurmak ve bunları vücuttan uzaklaştırmak gereklidir. Bu nedenle, burun deliklerinden, alveollere kadar karmaşık bir savunma sistemi mevcuttur. Şematik olarak; akciğer savunma mekanizmaları, üst hava yollarında yer alanlar ve alveoldekiler olmak üzere ikiye ayrılabilir (Tablo 1) (22, 43).

Tablo 1: Solunum sisteminin savunma mekanizmaları

Savunma Mekanizmaları	
Üst solunum yolları ve bronşlar Anatomik bariyerler Öksürük refleksi Mukosilyer temizlenme Sekretuar IgA ve diğer Ig'ler Hava yolu epiteli	Alveoler boşluk Alveoler makrofajlar Lenfosit aracılı immünite Kompleman aktivasyonu Nötrofiller

1.1 Üst Solunum Yolları ve Bronşlar

1.1.1 Anatomik Bariyerler

Solunan hava üst solunum yollarında uygun ısıya ulaştırılır ve %95 su buharı ile doymuş hale getirilir. Solunan edilen havanın ısıtılıp nemlendirilmesi siliyer fonksiyon için gereklidir. Savunma mekanizması dış havanın filtrasyonu ile başlar. Filtrasyonda ilk barajı burun oluşturur. Nazal pasajlar, farenks, krikoid kıkırdağa kadar olan üst hava yolları büyük

partikülleri filtre ederler, büyük partiküller burunda tutulur. Küçük partiküller küçük hava yollarına ve alveollere kadar ulaşabilir (45, 50). Aerosoller ise havada asılı olarak stabilitesini bir miktar koruyabilen yeterince küçük çaplı, katı ya da sıvı partiküllerin oluşturduğu sistem olarak tanımlanır (54).

1.1.2 Öksürük Refleksi

Yangısal, mekanik, kimyasal ve termal nedenler öksürüğe yol açar. Öksürük sırasında karın içi basınç göğüs içi basınçtan daha yüksek olduğunda, diyafragma hızla yukarı kalkarak akım hızı artan havayı mukus tıkaçları ve yabancı cisimlerle birlikte aşağı solunum yollarından yukarıya doğru iter. Sekresyonun viskozitesi, hava yolu direnci ve akciğer dokusu öksürük için gerekli olan akım hızlarını etkiler (45, 50).

1.1.3 Mukosilyer Temizleme

Solunum yolları yabancı çok katlı siliyalı epitel ile döşelidir. Submukozal bezler, goblet hücreleri ve Clara hücrelerinin salgıladığı mukusun asıl görevi, örtü üzerine oturan partikülleri mukosilyer yolla temizlemektir. Ayrıca, mukus solunan havayı nemlendirir, kayganlığı sağlar, epitelin dış ortamla ilişkisini engeller, mikroorganizmaları tutar. Siliyanın içinde bulunduğu mukus iki tabaka halindedir. Miktar ve içeriği siliyer aktivite ve transport için gereklidir. Fiziki, kimyasal ve biyolojik bir bariyer olarak görev yapar, fibriler yapısından dolayı partikülleri yakalar. Yüksek su içeriği ile havayı nemlendirir. Yüksek lipid içeriği su geçirgenliğini önler. Mukus içine gömülü olan siliyalar grup halinde bulunur ve koordine çalışır. (20, 43, 45, 54).

1.1.4 Sekretuar IgA ve Diğer Ig'ler

IgA, bronşiyal sekresyonların en önemli immünglobulinidir (Ig) ve vücut sıvılarında IgG ve IgM ile birlikte antijenlerin (Ag) opsonizasyonunda, aglütinasyonunda rol alır ve kompleman fiksasyonuna katılır. Serum IgG, transüstasyon yoluyla respiratuar sekresyonlara geçer veya bazı durumlarda lokal olarak sentezlenebilir. Partikülleri aglütine eder. Fagositoz için bakteri opsonizasyonu yapar. İmmünglobulinler içinde en güçlü opsonik aktiviteye sahiptir. Kompleman yolunu aktive eder. Belirli bakteriyel ekzotoksinleri ve virüsleri nötralize eder. IgG'nin bu biyolojik fonksiyonları mukozal yüzeylerde ortaya çıkar ve solunan materyallere özellikle mikroorganizmalara karşı konakçı savunmasında önemli rol oynar. IgM, antijenlerin aglütinasyonunda ve kompleman fiksasyonunda etkilidir. Belirli bakterileri eritme kabiliyetine sahiptir. Sekresyonlardaki düşük konsantrasyonlarına rağmen IgM'nin yangısal hastalıklarda mukozal yüzeyin immünolojik savunmasının önemli bir bileşeni olduğu görülmektedir (22, 36). Akciğer savunmasında IgE'nin rolü tam olarak bilinmemektedir. Parazitik infeksiyonlara özellikle nematodlara karşı konakçı direncinde önemli olduğu görülmektedir. Asıl rolünün hipersensitivite reaksiyonlarında olduğu bilinmektedir (22, 36).

1.1.5 Hava Yolu Epiteli

Hava yolundaki epitelyal hücreler çok sayıda bağlantılarla birbirine yapışıktır. Bunlar; sıkı bağlantılar, gevşek bağlantılar ve desmosomlardır. Sıkı bağlantılar, luminal yüzeyin hemen altındaki hücreler arası aralığı tam olarak tıkar. Böylece, luminal yüzeyle parankim arasında efektif mekanik bir bariyer oluşturarak küçük iyonların bile transepitelyal geçişini engeller. Ayrıca, pek çok maddenin sekresyonu için iyonik gradientin sürdürülmesine izin verir. Gevşek bağlantılar, epitelin elektriksel bağlantılı bir ünite olarak fonksiyon yapmasını ve hücreler arasında küçük moleküllerin geçişini sağlar. Böylece, hücrelerin komşu hücrelere antioksidanlar gibi savunma moleküllerini geçirmesi mümkün olur. Desmosomlar ise hücrelerle komşuları arasındaki mekanik adhezyona aracılık eder ve hücrelerin birbirine destek görevi görmesini sağlar (22, 42).

1.2 Alveolar Boşluk

1.2.1 Alveolar Makrofajlar ve Lenfoid Aracılı İmmünite

Hava yollarındaki savunma mekanizmalarından kaçarak alveoler boşluklara kadar inebilen küçük partiküller, alveollerdeki temizlenme ve hücrel-humoral immünfaktörler sayesinde ortadan kaldırılır. İmmünreaksiyonların oluşmasında makrofajlar ve lenfositler en önemli hücrel bileşenlerdir. Pulmoner makrofajlar akciğerde, hava yollarında, alveoler aralıkta, interstisyumda, pulmoner vasküler yatakta, plevral aralıkta bulunur (37, 49). Bronkoalveoler hücreler %80-85 makrofajlardan, %12-15 lenfositlerden oluşur (12). Alveollere kadar ulaşan partiküller için değişik olasılıklar sözkonusudur. Alveoler makrofajlar tarafından fagosite edilip parçalanabilir, makrofajlar içinde mukosilyer aktiviteyle atılmak üzere proksimale doğru taşınabilir veya lenfatik drenaj ile uzaklaştırılabilir (37). 0.5-5 µ çapları arasında olan bir bakteri alveol duvarı ile kontakt kurar ve alveol sıvısında yuvarlanır. Böylece, bakterinin fagositozu ve inaktivasyonu için bazı maddeler harekete geçer. Bunlar, lipoproteinler, IgG, C3b ve immün olmayan opsoninlerdir (49). Sürfaktan şeklindeki lipoproteinler opsonik etki gösterebilir. Ayrıca, makrofaj aktivasyonuna yol açabilir (12). Fagositoz için partiküllerin adhezyonu ve içeri alınması gerekir (37).

1.2.2 Kompleman Aktivasyonu

Kompleman bileşenleri bazı sorumlu bakterileri direkt lizis yoluyla öldürebilir. Kemotaktik faktörler için kaynak olmasının yanında ısıya dayanıksız opsonin kaynağıdır ki, bu opsoninler mikroorganizmanın fagositik hücreler tarafından tanınma ve öldürülmesini kolaylaştırır. Birçok bölümde bir kompleman bileşeninin aktive olması kendinden bir önceki komponentin bir sıra içinde aktivasyonuna bağlıdır. Klasik kompleman yolu tipik olarak antijen-antikor kompleksleri tarafından aktive olur. Klasik yolu birçok Ig aktive edebilir. Bunlar, IgM ve IgG'nin G1, G2 ve G3 alt sınıfıdır (22, 31).

1.2.3 Nötrofiller

İnsan ve birçok gelişmiş organizmada mikroorganizmalara konakçı savunmasını sağlamada primer sorumlu nötrofillerdir. Nötrofiller de yabancı düşmanları bulmak, tanımak ve yok etmek için birbiriyle ilişkili bir seri işlem mevcuttur. Bunlar, sirkülasyon, endotele yapışma, damar dışına çıkma, kemotaksis, partikül membranının tanınması ve bağlanması, fagositoz, degranülasyon ve serbest radikallerin oluşumudur. Uygun partikülle nötrofil arası ilişki sağlandığında partikül hücre tarafından alınır. Nötrofillerin çeşitli partikülleri fagositozu sonrası oksidatif metabolizmada belirgin değişiklikler olur (22, 31).

2. OKSİDANLAR

Serbest radikaller, en dış elektron zarfında bir elektron kaybetmiş ve dolayısıyla bu elektron açığını kapatabilmek için başka atomların elektronlarını paylaşmaya çalışan atomlardır. Serbest radikal yaratan kaynaklar; radyasyon, virüsler, güneş ışınlarının bir kısmı olan ultraviyole ışınları, hava kirliliğini yaratan fosil kökenli yakıtların yanma sonundaki ürünleri, sigara dumanı, enfeksiyon, stress, yağ metabolizması sonunda ortaya çıkan hücre metabolizmasının toksik ürünleri, bazı tahrip edici kimyasallar, insektisitler ve daha birçok etken sayılabilir (33).

Serbest radikaller etkilediği atomun dolayısıyla o atomun bulunduğu maddenin görevini yapamamasına sebep olur. Sonuç olarak, etkilenen maddenin biyolojik önemine ve onun tamir edilip edilmemesine bağlı olarak önemli veya önemsiz kalıcı veya geçici etkiler gösterir (33).

Oksijen molekülü iki paylaşılmamış elektron taşır. Taşdığı bu paylaşılmamış elektronlardan dolayı indirgenme eğilimindedir (4).

Oksijenin canlı dokularda suya kadar indirgenmesi iki yolla olur:

1-Oksijen dört elektron alarak suya indirgenir. Bu yol dokularda oksijen tüketiminin %95'ini oluşturur (4).

2-Oksijenin basamak basamak tek değerli indirgenmesidir. Dokulardaki oksijen tüketiminin %5'lik kısmı da bu şekilde gerçekleşmektedir. Bu basamaklı indirgenme sırasında oksijenin aksine oldukça reaktif olan oksidan ara ürünler oluşur. Bu ara ürünler oksijenin tam olarak indirgenmemiş halleridir ve oksijen radikali olarak tanımlanır (4).

2.1 Biyolojik Sistemlerde Serbest Radikal Oluşturan Mekanizmalar

Serbest radikal oluşturan kaynaklar endojen ve ekzojen olmak üzere iki gruba ayrılabilir(4).

2.1.1 Endojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları

Normal olarak metabolizmada, bazı biyokimyasal olayların çeşitli basamaklarında serbest radikaller oluşmaktadır. Her ne kadar serbest radikal yapısına sahip maddelerin organizmaya zarar verme potansiyelleri varsa da, bazı metabolik olayların ilerleyebilmesi için bunların oluşması kaçınılmazdır (4).

Biyokimyasal mekanizmalar arasında şunlar sayılabilir:

- Hücresel oksijen metabolizması (mitokondriyal elektron transportu)
- Fagositoz
- Lipit peroksidasyonu
- Enzimatik aktivite (çeşitli oksidazlar ve dehidrogenazlar)
- Otooksidasyon (4).

Hücresel oksijen metabolizması

Solunum yoluyla vücuda giren oksijenin yaklaşık %98'i mitokondride suya çevrilir. Fakat %2 kadarı mitokondri tarafından kullanılmaz ve solunum zincirindeki elektron taşıyıcılarından kaçan elektronlar tarafından kısmen indirgenir. Böylece fizyolojik koşullar altında mitokondriyal elektron transport sistemi serbest radikal üretiminin en önemli kısmını oluşturur (32).

Lipit Peroksidasyonu

Doymamış yağ asidi zincirindeki alfa-metilen gruplarından bir hidrojen uzaklaşmasıyla başlar. Lipit peroksidasyonu, potansiyel olarak yıkıcı etkilerle dallanan bir zincir reaksiyonudur (38). Serbest radikallerden etkilenen membran yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucunda lipid peroksidasyonu gelişir. Oluşan lipid hidroperoksitlerinin aldehit ve karbonil bileşiklerine dönüşmesi sonucunda gelişen malondialdehit (MDA), oksidatif hasarın, sistemik dolaşımda düzeyi saptanabilen dolaylı bir göstergesidir (55).

Otooksidasyon

Doku bileşenlerinin çoğu moleküler oksijenin varlığında kimyasal olarak stabil değildirler ve metabolik şartlar altında hızla az ya da çok otooksidasyona uğrayabilirler. Hemoglobin, doymamış membran lipitleri, hormonlar kolayca otookside olabilen yapılar arasında sayılabilirler (40, 44).

Oksidan enzimlerin reaksiyonu

Aerobik organizmalarda oksijenin katıldığı birçok reaksiyonda süperoksit anyonu meydana gelebilir. Glikolat oksidaz, aldehit oksidaz, ksantin oksidaz gibi enzimler bu enzimlerden bazılarıdır.(4)

Prostoglandinler

Prostoglandinler membranların doymamış yağ asitlerinin lipit peroksidasyonuna uğraması sonucu oluşur. Bu reaksiyonlar sırasında da serbest radikaller oluşur (41).

2.1.2 Ekzojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları

Serbest radikaller, ekzojen nedenlerle de oluşabilir.

-Radyasyon,

-Sigara dumanı,

-Zehirli gazlar,

-İlaçlar,

-Karsinojen maddeler,

-Pestisitler (4, 32).

-Ksenobiyotikler en önemli ekzojen serbest radikal üretim kaynağını oluşturur (48).

2.2 Serbest Oksijen Radikalleri

Biyolojik sistemlerde bulunan en önemli oksijen radikalleri süperoksit anyon radikali, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve singlet oksijen'dir (4).

2.2.1 Süperoksit Radikali

Basamaklı indirgenme olayında oksijen tek elektron alarak süperoksit radikalini oluşturur. Süperoksit radikali düşük pH da katyon, nötral ve yüksek pH da anyon şeklinde bulunur. Bu nedenle de biyolojik sistemlerde hemen daima süperoksit anyon radikali

şeklindedir ve bu şekli ile organik ve inorganik yapılarla reaksiyona girebilir. Örneğin sitokrom C' yi redükleyebilir, tokoferol, askorbik asit gibi yapıları oksitleyebilir (4, 32).

2.2.2 Hidrojen Peroksit

Oksijenin iki elektron ile redüksiyonu, hidrojen peroksidi verir (4). Hidrojen peroksit, bütün elektronları çiftleştirdiğinden radikal değildir ancak kolayca oksijenin serbest radikallerini oluşturabilir. Bu nedenle de serbest radikaller sınıfında bulunur (4, 32). Hidrojen peroksitin canlı sistemlerdeki etkileri direkt ya da indirektir. İndirekt etki hidrojen peroksitten hidroksil oluşumuyla meydana gelir (32). Hidrojen peroksidin direkt etkisi ise bazı enzimlerin inaktivasyonunu kapsar. Örneğin glikolitik yolun bir enzimi olan gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz hidrojen peroksit tarafından inaktive edilir(19).

2.2.3 Hidroksil Radikali

Hidroksil radikali süperoksit anyon radikali ve hidrojen peroksitten daha güçlü oksidan olup hemen hemen bütün biyolojik yapıları etkileyebilir (4, 32, 41).

2.2.4 Singlet Oksijen

Singlet oksijen, süperoksit ve hidroksil radikallerinin reaksiyonlarından oluşabilir. Singlet oksijen mutajenik etkilidir ve DNA hasarı oluşturur (41).

2.3 Serbest Radikallerin Oluşturduğu Oksidatif Hasar

Serbest radikaller lipit, protein, karbonhidrat, nükleik asit gibi çeşitli biyolojik makromoleküllerin oksidatif hasarına neden olurlar (37).

Oksijen toksisitesi, inflamasyon, yaşlanma, aterosklerozis, hipertansiyon, iskemik hasar, karsinogenezis, mutagenesis, immunolojik, nörolojik, enfeksiyon, göz, deri, akciğer, karaciğer, üriner ve sindirim sistemi hastalıkları serbest radikallerle ilgili oldukları kanıtlanan hastalıklardandır (38).

2.3.1 Proteinler Üzerine Etkisi

Serbest radikallerin etkisiyle proteinlerde agregasyon, fragmentasyon, karşı bağ ve floresan oluşumu gözlenir (32). Proteinler üzerine olan yıkıcı etkileri özellikle kükürt içeren metiyonin ve sistein ile histidin, tirozin, triptofan, fenilalanin gibi aminoasitlerin sülfidril gruplarını oksitleyerek yükseltgenirler ve enzim proteinlerini de risk altına sokarlar (38).

2.3.2 Karbonhidratlar Üzerine Etkisi

Fizyolojik pH ve sıcaklıkta glikoz gibi monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucunda, peroksitler ve oksoaldehitler oluşur. Glikozaminoglikan olan ve sinoviyal sıvının vizkozitesinde önemli rol oynayan hyaluronik asit, süperoksit radikali tarafından depolimerize olarak, bağ dokunun stabilitesinin bozulmasına ve sıvının vizkozitesinin kaybına neden olur (4).

2.3.3 Nükleik Asitler Üzerine Etkisi

Serbest radikaller DNA'yı etkileyerek nükleik asit modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine bağlı olarak hücrede mutasyona yol açarlar. DNA ya karşı oksidatif hasar, normal metabolik durumlarda da yüksek oranda meydana gelir. DNA her gün 10^4 oksidatif hasara maruz kalarak çoğu mutajenik olan 20'den fazla farklı oksidatif DNA lezyonlarının oluşumuna yol açar. Bu lezyonları iyileştirebilen spesifik glikozilaz, endonükleaz ve ekzonükleaz gibi birkaç tane DNA tamir enzimleri vardır. Bununla birlikte bu tamir mekanizmaları yeterli değildir. Bu mekanizmalar lezyonların %99'unu temizlemesine rağmen %1'i kalır ve zamanla lezyonların birikimine yol açar. Sonuç olarak oksidatif DNA hasarı ve mutasyonları yaşlanmayla paralel olarak artar (32).

2.3.4 Lipitler Üzerine Etkisi

Serbest radikallerin en önemli etkisi lipitler üzerine yaptığı etkidir ki, bu lipit peroksidasyonu olarak adlandırılır (11, 16, 42).

Lipit peroksitleri hücre zarlarının önemli komponentleridirler ve Fe, Cu gibi geçiş metallere varlığında serbest radikal verirler. Bu nedenle Fe veya Cu tuzları lipit peroksidasyonunun hızını artırırlar. Sonuçta hücre zarının akışkanlığı ve permabilitesini artırarak zar bütünlüğünün bozulmasına yol açarlar. Lizozomal membranların tahribi hidrolitik enzimlerin salınmasına ve intrasellüler sindirime neden olurlar. Biriken hidroperoksitler direkt olarak ya toksiktirler ve duyarlı aminoasit kalıntılarını (methionin, histidin, sistein, lizin) okside eder veya zincir polimerizasyon reaksiyonlarıyla enzimleri inaktive edebilirler (15, 17, 41).

3. ANTiOKSiDANLAR

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için canlı organizmada birçok savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar antioksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak bilinirler. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipit peroksidasyonunu inhibe ederler (2). Radikallerin oluşumunun engellenmesi ya da bunlar tarafından başlatılan reaksiyonların durdurularak bildirilen olumsuz etkilerinin önlenmesi amacıyla organizmada moleküler ve enzimatik korunma sistemleri bulunmaktadır (32).

3.1 Moleküler Antioksidatif Savunma Sistemleri

3.1.1 Vitamin E (α -tokoferol)

Vitamin E'nin biyolojik olarak en aktif formu α -tokoferoldür. α -tokoferol lipoproteinlerde ve biyolojik membranlar içinde bulunan yağda çözünen bir bileşiktir (3, 32).

Tokoferolün antioksidan özelliği yüksek oksijen konsantrasyonlarında etkilidir. Bundan dolayı en yüksek oksijen kısmi basınçlarına maruz kalan lipit yapılarında örneğin eritrosit ve solunum sistemi membranlarında etkileri belirgindir (17).

3.1.2 β -Karoten (Vitamin A ön maddesi)

Yağda çözünen bir antioksidan olan β -karoten, serbest radikaller biyolojik hedeflerle interaksiyona girmeden önce, direkt olarak onları yakalayabilir. Aynı zamanda zincir kıran bir antioksidan olarak etki ederek peroksit radikallerinin oluşumunu önler (16, 39).

Tek bir β -karoten molekülü, 1000 adet singlet oksijen molekülünü etkisiz hale getirebilir. Bu özellik β -karoteni, çok kuvvetli bir singlet oksijen yok edicisi yapar (39).

β -karoten mükemmel bir antioksidan olmasına karşın bu özelliği vitamin E'nin aksine düşük basınçlarda etkilidir. β -karoten dokunun parsiyel oksijen basıncına bağlı olarak vitamin E'nin antioksidan etkisini tamamlar (11, 1, 39).

3.1.3 Vitamin C (Askorbik asit)

Biyolojik sistemlerde askorbat olarak bulunan L-askorbik asit, extrasellüler sıvılar içindeki en önemli suda çözünen antioksidandır (42). Demirin emiliminde enzimatik olmayan bir yol ile indirgeyici rol oynar. Midede ferri demiri ferro demire indirgeyerek emiliminde görev alır. İmmunite ve yara iyileşmesinde etkilidir. Süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler. C vitamininin bitkisel ve hayvansal yağları, balık, margarin ve süt gibi yağ içeren yiyecekleri oksidatif bozulmaya karşı koruduğu bilinmektedir (2).

Oksidatif patlama sırasında, reaktif moleküller çevreye yayılarak; mutasyonlara, hücre hasarına, inflamasyona, koruyucu enzimlerin inaktivasyonuna ve lenfosit proliferasyonunun inhibisyonuna sebep olurlar. C vitamini, reaktif bakterisidal moleküllerin intraselüler konsantrasyonlarında azalmaya sebep olmadan oksidatif parçalanma ürünlerinin zarar verici etkilerini engeller (2).

3.2 Enzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri

3.2.1 Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD, süperoksit radikalini hidrojen perokside dönüştüren dismutasyon reaksiyonunda etkili metalloprotein yapısındaki enzimlerdir(11). Memeli hücrelerde bulunan SOD'nin iki farklı tipi bulunmaktadır. Bakır-çinko içeren SOD, sitoplazmada ve damar endotelinde bulunur. Manganez içeren SOD ise mitokondriyal matrikste lokalize olmuştur (32).

SOD enzimi bütün dokularda mevcuttur. %100 oksijene sahip bir atmosferle karşı karşıya kalan hayvanlarda enzim miktarında buna paralel olarak bir artış meydana gelir. Ancak bu durum uzun süre devam ederse akciğerlerde hasar ve ölüm gözlenebilir (32).

3.2.2 Katalaz

Katalaz enzimi kanda, kemik iliğinde, müköz membranlarda, böbrek ve karaciğerde bulunur. Dört tane hem grubu içeren bir hemoproteindir. Peroksidaz aktivitesine sahip olmasına ilaveten bu enzim iki hidrojen peroksit molekülünden birini elektron vericisi bir substrat olarak diğerini de oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanabilir. Katalazın görevi oksidaz etkisiyle oluşan hidrojen peroksidin yıkımıdır (32).

3.2.3 Glutasyon Peroksidaz

Glutasyon peroksidaz sitozol ve mitokondriyal matrikste yer alır. Vitamin E ile birlikte lipid peroksidasyonuna karşı vücudun antioksidan savunma sisteminin bir kısmını oluşturur (32). Eritrositlerde glutasyon peroksidaz, oksidan strese karşı en etkili antioksidandır.

Glutasyon peroksidaz aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksitin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar (2).

Eritrosit glutasyon peroksit aktivitesi yaşlılarda yüksek, prematürelde düşük, lökosit glutasyon peroksit aktivitesi ise hem yaşlılarda hemde hipertansiyonlu hastalarda yüksek bulunmaktadır. Glutasyon peroksidazın, fagositik hücrelerde önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmelerine engel oluşturur (2).

3.3 Diğer Antioksidanlar

3.3.1 Melatonin

En zararlı radikal olan hidroksil radikalini ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır (2).

Serbest radikal oluşturmak suretiyle kansere sebep olan safrol'ün DNA üzerindeki hasarını çok etkili bir şekilde inhibe eder. Melatonin lipofilik olduğundan dolayı hücrenin hemen bütün organellerine ve hücre çekirdeğine kolayca ulaşır. Kan beyin bariyeri gibi bariyerleri de rahatlıkla geçer. Bu nedenle çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterir. Melatoninin bir başka avantajı, diğer antioksidanların aksine çok yüksek dozlarda ve uzun süre kullanımında bile toksik bir etkisinin olmamasıdır. Ayrıca bazı antioksidanlar belli oranda prooksidan aktiviteye sahip oldukları halde melatoninin böyle bir etkisi yoktur (2).

Melatonin hücre çekirdeğine girer ve hücre DNA'sını oksidatif hasara karşı korur. Bu durum diğer antioksidanlara göre çok daha üstün bir özelliktir (2).

3.3.2 Glutasyon(GSH)

Karaciğerde, genetik bilgiye ihtiyaç olmadan sentezlenebilen bir tripeptiddir. Önemli bir antioksidan olan glutasyon, fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. Hemoglobinin methemoglobine dönüşmesini önlemede rol oynar (2).

Glutasyon, eritrositleri, lökositleri ve göz lenslerini oksidatif strese karşı korumada hayati öneme sahiptir. Eritrosit zarını hidrojen peroksitten, lökositleri fagositozda kullanılan oksidan maddelerden ve lens proteinlerini oksidatif hasardan korur (2).

3.3.3 Ürat

Normal plazma konsantrasyonunda hidroksil, süperoksit, peroksi radikallerini ve singlet oksijeni temizler. Fakat lipid radikalleri üzerine etkisi yoktur. Ayrıca C vitamininin oksidasyonunu engelleyici etkiside bulunmaktadır (2).

3.3.4 Seruplazmin

Muhtemelen SOD'e benzer mekanizma ile etki gösterir. Ferro demiri (Fe^{+2}) ferri demire (Fe^{+3}) yükseltir ve böylece serbest radikal oluşumunu inhibe eder (2).

3.3.5 Ebselen

Selenyumlu bir bileşik olup iyi bir antioksidandır. Glutasyon peroksidaz aktivitesini güçlendirir. Ayrıca lipooksijenaz yolunu inhibe eder (2).

3.3.6 Sitokinler

Başta katalaz olmak üzere antioksidan enzimleri aktive eder. Ancak bu faydalı etkileri yanında, proteolitik enzimleri aktive ettiklerinden dolayı, zararlı da olabilirler (2).

Bunların dışında sistein, bilirubin, albumin, transferin ve laktoferrin, ferritin, demir şelatörleri, oksipürinol, mannitol, probukol ve desferroksamin gibi yapılar da antioksidan olarak sayabilir (2).

Akciğer, oksidanlardan en çok etkilenen organdır. Oksidan maddeler, hücre dışı matriksin yapısını, biyolojik membranları, DNA hasarı yaparak hücrenin genetik yapısını ve siliyer fonksiyonu bozar. Enzimatik olayları etkiler, sürfaktan aktivitesini azaltır, mukus yapımını, sitokinlerin ve proteazların etkinliğini artırır(47).

Oksidanların plazma veya serumdaki konsantrasyonları ayrı ayrı ölçülebilmektedir.. Plazmadaki oksidan komponentlerinin etkileri ortaya konulduğundan beri TOS' un ölçülmesi plazma veya serumdaki oksidatif durumu kesin gösterir. SerumTOS düzeyi ölçümünde son zamanlarda Erel (25) tarafından geliştirilmiş ölçüm metodu kullanılmaktadır(18).

Plazma veya serum antioksidanları birebir ölçülebilir ama bu işlem uzun zaman, geniş ve pahalı laboratuar ve komplike teknik ve malzemeler gerektirir (26). Öte taraftan son zamanlarda belirtilen ve geliştirilen total antioksidan kapasite, plazmanın TAC'ni gösterebilir (26). Bu metotla, lipit, protein ve DNA gibi biyomoleküllerdeki oksidatif hasara yol açan potansiyel serbet radikal reaksiyonlarına karşı özellikle hareket eden serum TAC ölçülebilir. (18).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1 Materyalin Toplanması

Çalışmanın materyalini, Şanlıurfa merkezde yaklaşık 1000 başlık bir besi işletmesinde bulunan ve bir mağarada barındırılan bronkopnömoni, erkek ve yaşları 4 ile 6 ay arasında değişen, 24 adet Morkaraman ırkı besi kuzusu oluşturdu. Bu besi işletmesinde rutin paraziter ilaçlama yapılmaktaydı.

Hayvanların sistematik klinik muayeneleri yapılarak bronkopnömoni tanısı konan hastalar 1'den 24'e kadar spreylenerek numaralandırıldı ve sekizerli 3 gruba ayrıldı. Hasta hayvanlar sağlamlardan ayrılarak ayrı bir bölmeyle alındı.

Her üç gruba da antibiyotik olarak %10'luk enrofloksasin çözeltisinden 2,5 mg/kg, Amoksisilinden 15 mg/kg dozda parenteral olarak yapıldı. Çalışmada II. gruba antibiyotiğin yanında her hayvana 300 mg E vitamini, III. gruba da antibiyotiğin yanında her bir hayvana 300 mg E vitamini + 2 mg sodyum selenit parenteral uygulandı. Amoksisilin, E vitamini ve sodyum selenit tek doz, enrofloksasin iki doz uygulandı.

Tedaviye başlamadan önce bakteriyolojik muayeneler için bronkoalveolar lavaj yapıldı. Lavaj sonucu alınan materyal bakteriyolojik muayene için özel bir laboratuara gönderildi.

Biyokimyasal analizler için, tedavi öncesi, tedavi sırasında ve tedavi sonrasında olmak üzere toplam üç kez kan örnekleri alındı. Vakumlu jelli cam tüplere alınan kan örnekleri 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Ayrılan serumlar ephendorph tüplerine doldurulup numaralandırıldı ve hiç bekletilmeden soğuk zincirde Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında bulunan -80 °C'deki derin donduruculara bırakıldı. Serumlar bakılacağı ana kadar burada muhafaza edildi.

Çalışmanın istatistiki analizleri SPSS paket programında Anova ve Tukey yöntemiyle yapıldı.

4.2 Yöntem

4.2.1 Total antioksidan kapasitenin ölçülmesi

TAC ölçülmesinde kullanılan yöntem, Erel(26) tarafından geliştirilen tam otomatik bir yöntem olup, güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen bir metoddur.

Reaktifler

Reaktif 1: 75 mM Clark tamponu (pH=1.8) içerisinde 10 mM o-Dianisidine ve 45 AM $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ çözülerek hazırlandı.

Reaktif 2: 7,5 mM hidrojen peroksit 75 mM Clark tamponu (pH=1.8) içerisinde karıştırılarak hazırlanır.

Prensip

Fe^{2+} -o-dianisidine kompleksi hidrojen peroksit ile fenton tipi reaksiyon oluşturarak hidroksil radikalini oluşturur. Bu güçlü reaktif oksijen türü indirgenerek düşük pH'da renksiz o-dianisidine molekülü ile reaksiyona girerek sarı-kahverengi dianisidyl radikallerini oluştururlar. Dianisidyl radikalleri ileri oksidasyon reaksiyonlarına katılarak renk oluşumu artmaktadır. Ancak örneklerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırarak renk oluşumunu durdurmaktadırlar. Bu reaksiyon otomatik analizörde spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuç vermektedir

4.2.2 Total oksidan statünün ölçülmesi

TOS ölçülmesinde kullanılan bu yöntem, Erel(25) tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir.

Reaktifler

Reaktif 1: 140 mM'lık NaCl çözeltisi içerisine 25 mM H₂SO₄ çözülerek ana solüsyon hazırlanır. Ana solüsyonda önce % 10 oranında gliserol çözülüp daha sonra total volümde 250 µM Xlenol orange çözülerek hazırlanır.

Reaktif 2: Ana solüsyon içeriside önce 10 mM o-Dianisidine dihydrochloride çözülüp sonra 5 mM amonyom ferröz sülfat çözülerek reaktif hazırlanır.

Prensip

Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyona oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xlenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir

5. BULGULAR

Bu çalışmada, kuzuların tedavi öncesi, tedavi sonrası ve tedavi sırasında beden ısısı, burun akıntısı, akciğer oskultasyon bulguları, konjunktivaların görünümü, solunum sayısı, kalp frekansı gibi veriler tablo 2’de gösterildi. Tablo 2’de görüldüğü gibi; tedavi öncesi yapılan klinik muayenelerde hastalarda ölçülen beden ısılarının 39.8-41.1 °C, solunum frekansının 68-76 /dk ve kalp frekansının 85-98 /dk arasında değiştiği saptandı. Ayrıca iştahın azaldığı, değişen karakterlerde (seröz, serömüköz, müköz, mukopulent) burun akıntısı ve öksürüğün bulunduğu, oskultasyonda patolojik akciğer seslerinin (sert veziküler sesler, kuru ve yaş raller) alındığı ve konjunktivaların hiperemik olduğu tespit edildi.

Bakteriyolojik muayenede; *Pasteurella haemolytica*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas spp.* ve *Escherichia coli* izole edildi.

İlk ilaç uygulamasından 24 saat sonra yapılan klinik muayenede tüm hastalarda hafif iyileşme belirtileri gözlenmesine karşın ikinci doz enrofloksasin kullanımına gerek duyuldu. Beden ısılarında düşüş, dakikadaki solunum ve nabız sayısında azalma, konjunktivaların muayenesinde, rengin genelde hiperemiden hafif hiperemiye döndüğü gözlemlendi. Tedavi uygulamasından sonraki 3. günde hayvanlar tekrar muayene edildi. Muayene sonucunda hayvanların iştahının tamamen düzeldiği, öksürük ve burun akıntısının kalmadığı gözlemlendi. Ayrıca beden ısısının normale döndüğü, nabız ve solunumun düzenli ve normal aralıkta olduğu görüldü.

Tablo 2: Kızuların klinik bulguları

SEMPTOMLAR																				
0. Gün (Tedavi Öncesi)							1. Gün (Tedavi)							5. Gün (Tedavi Sonrası)						
T ⁰ (C)	R(dk)	P(dk)	K	B.A	A.O	Ö	T ⁰ (C)	R(dk)	P(dk)	K	B.A	A.O	Ö	T ⁰ (C)	R(dk)	P(dk)	K	B.A	A.O	Ö
Grup																				
39,9	65	105	Hh	S	YR	V	39,4	42	96	N	Y	YR	Y	38,7	25	80	N	Y	N	Y
40,5	63	110	H	M	SV	V	40,1	44	92	Hh	S	YR	V	38,9	26	82	N	Y	N	Y
40,0	59	99	H	SM	SV	V	39,1	42	91	Hh	S	KR	V	39,0	29	81	N	Y	N	Y
39,8	59	112	Hh	S	YR	V	39,5	41	85	N	Y	YR	Y	39,1	28	79	N	Y	N	Y
40,1	52	120	H	M	SV	V	39,0	40	89	Hh	S	YR	V	39,1	32	78	N	Y	N	Y
40,1	60	105	H	M	SV	V	39,0	45	88	Hh	S	YR	V	39,0	30	79	N	Y	N	Y
40,3	64	99	H	M	YR	V	39,3	48	89	Hh	S	YR	V	38,8	25	80	N	Y	N	Y
40,5	62	98	H	MP	KR	V	39,3	42	90	Hh	M	KR	V	39,1	28	83	N	Y	N	Y
39,9	58	100	Hh	SM	YR	V	39,1	41	85	N	Y	YR	Y	39,0	26	81	N	Y	N	Y
40,3	61	106	H	MP	KR	V	39,3	40	89	H	M	YR	V	39,0	28	80	N	Y	N	Y
40,8	62	110	H	SM	KR	V	39,3	48	97	H	M	YR	V	38,7	28	79	N	Y	N	Y
40,1	65	112	H	M	YR	V	39,2	42	99	Hh	S	YR	V	38,7	25	77	N	Y	N	Y
40,0	64	99	H	MP	KR	V	39,0	40	89	Hh	S	YR	V	38,9	29	78	N	Y	N	Y
41,0	70	96	H	MP	SV	V	39,3	42	99	H	M	KR	V	38,8	30	80	N	Y	N	Y
40,7	66	99	H	M	SV	V	39,8	41	90	H	M	YR	V	39,0	30	82	N	Y	N	Y
40,5	62	120	H	SM	YR	V	39,5	42	97	H	S	YR	V	39,1	31	80	N	Y	N	Y
40,0	72	106	H	S	YR	V	39,0	41	88	H	S	YR	V	39,1	26	79	N	Y	N	Y
40,0	72	100	H	S	SV	V	39,1	40	86	H	S	YR	V	39,0	28	78	N	Y	N	Y
41,1	65	99	Hh	S	SV	V	39,8	57	98	H	M	KR	V	38,6	27	72	N	Y	N	Y
39,9	69	98	H	MP	KR	V	39,5	49	84	N	S	YR	Y	38,5	25	80	N	Y	N	Y
40,3	70	108	Hh	M	YR	V	39,5	48	85	Hh	S	YR	V	38,9	24	81	N	Y	N	Y
40,0	70	99	H	SM	YR	V	39,1	50	85	Hh	S	YR	V	39,0	26	79	N	Y	N	Y
40,5	71	120	H	M	SV	V	39,1	52	88	Hh	S	YR	V	38,6	29	70	N	Y	N	Y
40,2	72	99	H	S	SV	V	39,3	54	88	Hh	S	YR	V	38,7	28	75	N	Y	N	Y

A.O: Akciğer oskultasyonu B.A: Burun akıntısı H: Hiperemik Hh: Hafif hiperemik K: Konjuktivalar KR: Kuru raller M: Müköz N: Normal
MP: Mukoprüvent P(dk): Dakikadaki nabız sayısı R(dk): Dakikadaki solunum sayısı S: Sertöz SM: Seromüköz SV: Sert veziküller sesler
T⁰(C): Beden ısı Y: Yok YR: Yağ raller Ö: Öksürük V: Var

Araştırmada ortaya konulan TAC sonuçları tablo 3’de TOS sonuçları ise tablo 4’te verilmiştir.

Tablo 2: Çalışma gruplarının total antioksidan kapasite bulguları

	0. Gün	1. Gün	5. Gün
I. Grup	1,0 ± 0,16 ^a	0,93±0,20 ^a	0,72±0,10 ^{b*}
II. Grup	0,99 ± 0,15 ^a	0,82±0,10 ^{b*}	0,79±0,08 ^{b*}
III. Grup	0,92 ± 0,27 ^a	0,84±0,10 ^a	0,83±0,05 ^a

Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. *: p<0,01

Grup içi günler arası farka baktığımızda (Tablo 3) I. grupta 0. gün ile 5. gün arasında TAC değerlerinde önemli bir düşüş görülmüştür (p<0,01). II. grupta 0. gün ile 1. gün arasında ve 0. gün ile 5. gün arasında aynı şekilde önemli (p<0,01) bir düşüş tespit edilmiştir. III. grupta ise herhangi bir fark görülmemiştir. Gün içi gruplar arası farka baktığımızda ise gruplar arasında TAC değerleri yönünden önemli bir fark tespit edilememiştir.

Tablo 3: Çalışma gruplarının total oksidan statü bulguları

	0. Gün	1. Gün	5. Gün
I. Grup	7,78±2,38 ^a	6,88±1,03 ^a	6,55±1,04 ^{b*}
II. Grup	7,20±3,21 ^a	7,10±1,77 ^a	6,47±1,55 ^a
III. Grup	6,94±1,73 ^a	5,83±1,27 ^{b*}	7,25±1,11 ^{ac**}

Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. *: p<0,05, **: p<0,01,

ac: Aynı satırda birinci güne göre farklı bulunmuştur.

Tablo 4’de görüldüğü gibi grup içi günler arası farka baktığımızda I. grupta 0. gün ile 5. gün arasında TOS değerlerinde önemli (p<0,05) bir azalma saptanmıştır. III. grupta 0. gün ile 1. gün arasında önemli (p<0,05) bir düşüş görülürken, 1. gün ile 5. gün arasında ise önemli (p<0,01) bir artış saptanmıştır. II. grupta ise istatistiki olarak önemli bir fark tespit edilememiştir. Gün içi gruplar arası farka baktığımızda ise gruplar arasında TOS değerleri yönünden önemli bir fark görülmemiştir.

6. TARTIŞMA

Enzootik pnömoni, kapalı barınaklarda ve özellikle bir arada barındırılan kuzu, buzağı ve danalarda görülen; viruslar, bakteriler ve mikoplazmalar tarafından meydana getirilen ve büyük ekonomik kayıplara yol açan önemli bir solunum sistemi hastalığıdır (5, 7, 14, 28). Hastalığın ortaya çıkışında çevre, bakım ve beslenme hataları ile stres faktörleri de rol oynar (6, 13, 53).

Hastalığın etiolojisinde yer alan stres; hayvanların bir arada sıkışık tutulması, hareketsiz kalmaları, soğuşa maruz kalmaları, bakım ve beslenmenin iyi olmaması gibi durumlarda artmaktadır. Stres, hastalıkların ortaya çıkmasına önemli bir neden olurken aynı zamanda hastalıkların sonucu olarak ta artmaktadır. Bu artan stres ise genelde oksidatif stres düzeylerini arttırırken, antioksidan düzeylerini de azaltmaktadır (30).

Hücre ve dokuların yapısal bütünlüğünün korunmasında ve normal fonksiyonlarını yerine getirmelerinde oksidan ve antioksidan sistem arasındaki mevcut dengenin korunması büyük önem taşımaktadır. Bu dengenin bozulması organizmada oksidatif strese; oluşan serbest radikaller ve reaktif oksijen molekülleri ise vücudumuzun temel yapısal molekülleri olan lipidlerin, proteinlerin ve DNA'nın oksidatif hasar görmesine neden olur (27). Organ ve dokularda ortaya çıkan birtakım hastalıkların aşırı yükselttiği oksidatif strese karşı koruyucu antioksidan sistem yetersiz kalmakta, bu da hastalığın daha da ilerlemesine hatta pek çok komplikasyonun hızlı bir şekilde ortaya çıkmasına neden olmaktadır (27). Sürekli oksijene maruz kalan solunum yolları ve akciğerlerde bu ihtimal çok daha fazla ortaya çıkmaktadır.(27)

Son yıllarda yapılan çalışmalar oksidatif hasarın, hastalıkların etiyopatogenezindeki yeri ve önemi üzerine yoğunlaşmaktadır. Bununla birlikte enzootik pnömonli kuzularda TAC'nin ve TOS' un ölçüldüğü bir yayına rastlanmamıştır.

Oksidanların plazma veya serumdaki konsantrasyonları ayrı ayrı ölçülebilmektedir. Plazmadaki oksidan komponentlerinin etkileri ortaya konulduğundan beri, TOS' un ölçülmesi plazma veya serumdaki oksidatif durumun kesin bir göstergesi haline gelmiştir(18).

TAC, serumda bulunan antioksidan özellikli maddelerin toplam aktivitesini yansıttığı için daha doğru bir yaklaşım sağlamaktadır. Nitekim SOD, GSH-Px artarken, antioksidan özellikli vitaminler azalmakta; TAC ise net etkiyi belirleyebilmektedir (29).

Çelikezen ve ark.(24) ratlarda oluşturdukları deneysel akciğer fibrozisinde, β - karoten ve seruloplazmin ile retinol miktarı artarken redükte glutasyon (GSH) miktarında ise bir düşüş olduğunu belirlemişlerdir. Çemek ve ark.(21) ise akut pnömonili çocuklarla ilgili yapmış oldukları bir araştırmada, serum seruloplazmin ve total bilirubin seviyelerini kontrol grubuna göre yüksek olduğunu tespit ederlerken, SOD, GSH-Px, vitamin E ve A gibi antioksidan özellik gösteren enzim ve vitaminler düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada ise, grup içi günler arası TAC verilerinde, sadece antibiyotik uygulanan I. grupta; tedavi öncesine göre tedavi sonrasında önemli ($p < 0,01$) bir düşüş görülmüş olmasına rağmen, antibiyotik + E vitamini + selenyum verilen grupta ise herhangi bir fark görülmemiştir.

Bununla birlikte Cottin ve ark.(23)'nin intersitisyel akciğer hastalığı belirlediği visna-maedi'li koyunlarda yaptıkları bir çalışmada, kontrol grubuna göre hasta grupta GSH-Px ve SOD aktivitelerinde önemli sayılabilecek bir değişikliğin olmadığı kanaatine varmışlardır. Bu çalışmada ise grup içi günler arası TAC verileri incelendiğinde antibiyotik + E vitamini + selenyum verilen III. grupta herhangi istatistiki bir farkın olmayışı bu çalışmayı destekler niteliktedir.

Selek ve ark.(51) aktif pulmoner tüberkülozlu hastalar üzerinde yaptıkları bir çalışmada kontrol grubuna göre çalışma grubunda TOS seviyesinin yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu çalışmada ise grup içi günler arası TOS değeri, antibiyotik uygulanmış olan I. grupta, tedavi öncesine göre tedavi sonrasında istatistiki olarak önemli bir düşüş göstermiştir. Bu sonuç Selek ve ark.(51)'nin çalışmalarıyla örtüşürken, antibiyotik + E vitamini uygulanan II. grupta herhangi istatistiki bir fark görülmemesi, III. grupta (antibiyotik

+ E vitamini + selenyum) ise tedavinin ilk gününe göre tedavi sonrasında önemli ($p<0,01$) bir artışın tespit edilmesi aynı araştırıcıların çalışmaları ile farklılık arz etmektedir.

Ayçiçek ve Erel(8) yeni doğanların sarılığında fototerapi uygulayıp, öncesi ve sonrasında TAC ve TOS değerlerini ölçmüşlerdir. Buna göre fototerapi öncesi ve sonrası TAC seviyesinde herhangi istatistiki bir fark olmadığını ileri sürmektedirler. Bu sonuç, yapılan bu çalışmadaki III. grubun yani antibiyotik, E vitamini ve selenyum uygulanan grubun, grup içi günler arası TAC seviyelerinde istatistiki olarak herhangi bir fark olmayışını destekler niteliktedir. Ayçiçek ve Erel(8) fototerapi sonrası TOS seviyesinde ise önemli bir yükseliş elde etmişlerdir. Bu çalışmada ise III. grupta, grup içi günler arası TOS seviyelerinde tedavinin ilk gününe göre tedavi sonrasında istatistiki olarak önemli ($p<0,01$) bir artış görülmüş olmasına rağmen, I. grupta bunun aksine tedavi öncesine göre tedavi sonrasında önemli bir düşüş ($p< 0,05$) saptanmıştır.

7. SONUÇ

Bu çalışmada, grup içi günler arası TAC verilerinde antibiyotik I. grupta; 0. güne kıyasla 1. günde bir değişiklik görülmezken, 5. günde önemli bir düşüş tespit edilmiştir. II. grupta; 0. güne kıyasla 1. günde ve 5. günde istatistiki olarak önemli düşüş görülmüştür. III. grupta ise herhangi bir fark görülmemiştir. TOS verilerinde ise I. grupta; 0. güne kıyasla 1. günde bir değişiklik saptanmazken, 5. günde istatistiki olarak önemli bir düşüş görülmüştür. II. grupta ise herhangi bir fark görülmemiştir. III. grupta da; 0. güne kıyasla 1. günde istatistiki olarak önemli düşüş görülürken, 1. güne göre 5. günde ise istatistiki olarak önemli bir artış görülmüştür. Gün içi gruplar incelendiğinde ise TAC ve TOS değerleri yönünden herhangi bir fark görülmemiştir.

Sonuç olarak;

-Enzootik pneumonili kuzuların tedavisinde antibiyotiğe ilave olarak E vitamini eklemenin TAC seviyesi lehinde herhangi bir değişikliğe yol açmadığı hatta seviyeyi düşürdüğü, E vitamini ile birlikte selenyum eklenmesinin ise TAC seviyesinin düşmesini önlediği,

-Yine antibiyotiğe ilave olarak tedaviye E vitamini ve selenyum eklenmesinin TOS seviyeleri yönünden olumlu bir katkı sağlamadığı göz önüne alındığında,

Enzootik pneumonili kuzularda antibiyotikle birlikte vitamin E ve selenyum uygulamalarının tedaviye önemli bir katkı sağlamadığı kanısına varılmıştır.

8. KAYNAKLAR

1. Akdoğan Kaymaz A , Bakirel U, Bilal T. Enzootik pnömonili buzağılarda parapoxvirus ovis d 1701 susu ve enfrofloxacin kombinasyonunun tedavi etkinliği üzerine bir araştırma. İst. Üniv. Vet. Fak. Dergisi, İstanbul, 2001
2. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Basım Yayım ve Dağıtım, Konya, 1995.
3. Allard P, Royal D, Kurian R, Muggli D. Effect of W3 fatty acids and vitamin E supplements on lipid peroxidation measured by breath ethana and pentane out put :a randomized controlled trial. Fatty acids and lipid, 1994; 75: 162-165.
4. Arıcıoğlu A. Serbest oksijen radikalleri ve hücre hasarı, Doktor, 1994; 2/3. 139-242.
5. Arserim Kaya N B, Çimtay İ, Şahin T. Enzootik pnömonili besi sığırlarının tedavisinde amoksisilin'in etkinliğinin araştırılması. Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg. 2000, 11 (2): 113-116.
6. Arda M, Minbay A, Leloğlu N, Aydın N, Akay Ö. Özel Mikrobiyoloji. Epidemiyoloji, Bakteriyel ve Mikotik İnfeksiyonlar. Atatürk Üniv. Yay. No: 741, Ders Kitapları Serisi No: 1, Atatürk Üniv. Basım Evi, Erzurum, 1992.
7. Aslan V, Maden M, Hadimli HH. Dana enzootik pnömonilerinin etiyolojisi ve penisilin + streptomisin kombinasyonu ile tedavisi. Bültendif, 1998; sayı: 11, sayfa: 4-7.
8. Aycicek A, Erel O. Total oxidant/antioxidant status in jaundiced newborns before and after phototherapy. Jornal de Pediatria. 2007; 83(4): 319-322.
9. Aytuğ CN. Sığır Hastalıkları Solunum Sistemi Hastalıkları. TÜM VET. Hayvancılık Hizmetleri Yayını, Bursa, 1989.
10. Başoğlu A. Veteriner İç Hastalıklarında Klinik Muayene. Bahçıvanlar Basım San. A.Ş., Konya, 1998.
11. Ball S, Weindruch R, Walford L. Antioxidants and immun response. Free radicals. Aging and Degenerative Diseases, 1986; 427-456.
12. Berman J S, Center D M. Lymphocyte and macrophage mediated inflammation in the lung. In: Fishman A P, ed. Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders. 3rd ed., Mc Graw-Hill, New York, 1998; 275-87.
13. Blood DC, Radostits OM. Veterinary Medicine. Seventy Edition, Bailliere Tindall, London, 1989.
14. Bradford PS. Large Animal Internal Medicine. The C.V. Mosby Company, St. Louis, Baltimore, Philadelphia, Toronto. 1990.
15. Braughler M, Chose L, Pregonzer F. Oxidation of ferrous iron during peroxidation of lipid substrates. Biochimica and Biophysica Acta ,1987; 921: 457-464.
16. Burton G, Traber M. Antioxidants action of carotenoids. J. Nutr., 1989; 119: 109-111.
17. Burton G, Traber M. Vitamin E: Antioxidant activity biokinetics and bioavailability. Annu. Rev. Nutr., 1990; 10: 357-382.
18. Camkerten I, Sahin T, Borazan G, Gokcen A, Erel O, Das A. Evaluation of blood oxidant/antioxidant balance in dogs with sarcoptic mange. Vet. Parasitol., 2009; doi:10.1016/j.vetpar.2008.12.019.
19. Canbolat O. Karaciğer hücre kültüründe hidrojen peroksitin antioksidan enzimlerin aktivitelerine ve eritropoietinüretimine etkileri. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar Araştırma Derneği 1. Ulusal Kongresi, Antalya, 1997.

20. Clarke W S, Pavie D. Mucociliary clearance. In: Crystol G, West J B, eds. *The Lung Scientific Foundations*. Raven Press, New York, 1991;1845-59.
21. Cemek M, Çaksen H, Bayıroğlu F, Cemek F and Dede S. Oxidative stres and enzymic-non-enzymic antioxidant responses in children with acute pneumonia. *Cell Biochem. Funct.*, 2006; 24: 269-273.
22. Coşkun Ö, Saka D, Sarı A, Uçar N. Akciğerin Savunma Mekanizmaları, *Solunum Hastalıkları Dergisi*, 2002, Cilt 13, Sayı 2, Sayfa: 153-160.
23. Cottin V, Court-Fortune I, Crevon J, Mornex J F. Oxidant-antioxidant imbalance in the experimental interstitial lung disease induced in sheep by visna-maedi virus. *Eur Respir J.*, 1996; 9: 1983–1988.
24. Çelikezen F C, Ertekin A. Ratlarda akciğer fibrozisinde lipid peroksidasyonu (MDA), antioksidan madde (glutasyon, seruloplazmin) ve bazı antioksidan vitamin (β -karoten, retinol) duzeylerinin incelenmesi. *Y.Y.U. Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2008; (2): 17-20.
25. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, 2005 Dec;38(12):1103-11.
26. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin. Biochem.*, 2004;37:112-119.
27. Ertürk B. Akciğer kanserli hastalarda malondialdehit (MDA) ve total antioksidan kapasite (TAOK) düzeyi ölçümü ile oksidan-antioksidan dengenin araştırılması. *Süreyyapaşa Göğüs ve Kalp-Damar Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Uzmanlık Tezi*, İstanbul, 2006.
28. Gül Y, Dabak M, Kalandar H, Kızıl Ö, İssi M. Enzootik pnömonili dana ve kuzularda amoksisilin ile tedavi denemeleri. *Bültendif*, 1999. Sayı: 12, Sayfa: 12-15.
29. Güler T, Çelebi N, Sürer H, Yılmaz F M, Güler S, Şipit T, Duranay M, Yücel D. Pulmoner tüberkülozlu hastalarda serum total antioksidan kapasite. *Türkiye Klinikleri J Med. Sci.*, 2004; 24: 618-623.
30. Gümüşlü S, Kalafatoğlu E. Çeşitli stres modellerinin farklı dokulardaki antioksidan sistem üzerine etkileri, 20.02.0122.02 nolu proje, 2002.
31. Goldstain I M, Shak S. Host defenses in the lung: Neutrophils, complement and other humoral mediators. In: Murray J F, Nadel J A, eds. *Textbook of Respiratory Medicine*. 2nd ed. Philadelphia: W B Saunders Company, 1994; 402-18.
32. Hennekens C. M. D. Dr. P. M. Health promotion and disease prevention: The role of antioxidant vitamins. *The American J. Of Medicine*, 1994; 97 (suppl 3A)
33. <http://www.duzen.com.tr/index.makale>. Yahya Laleli Düzen Laboratuar Grubu-Antioksidanlar. Alındığı tarih:19/06/2006.
34. İmren HY, Şahal M. *Veteriner İç Hastalıkları*. 3. Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, 1994.
35. Jensen R, and Mockey DR. *Disease of Feedlot Cattle*. Lea and Febiger. Philadelphia, 1979; pp.65.
36. Kaltreider H B. Phagocytic, antibody and cell-mediated immune mechanisms. In: Murray J F, Nadel J A, eds. *Textbook of Respiratory Medicine*. W B Saunders Company, Philadelphia, 1988; 332-57.
37. Kaltraider H B. Macrophages, lymphocytes and antibody and cell mediated immunity. In: Murray J F, Nadel J A, eds. *Textbook of Respiratory Medicine*. 2nd ed., W B Saunders Company, Philadelphia, 1994; 370-401.
38. Kargin F. Köpeklerde böbrek hastalıkları ve antioksidatif metabolizma. *Ank. Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*, Ankara, 2000.
39. Liebner C D. Antioxidant reactions of carotenoids. *Annals New York Academy of Sciences*, 1994; 20-30.

40. Logani M K, Davies R E. Lipid oxidation : Biolojic effect and antioxidants. *Lipids*, 1985; 15: 6.
41. Mead J. Free radical mechanisms in lipit peroxidation and prostaglandins. *Free radical in moleculer biology, Aging and disease*, 1984; 53-66.
42. Niki E. Antioxidants in relation to lipid peroxidation chemistry and physics of lipids, 1987; 44: 227-253.
43. Nicod L P. Pulmonary defence mechanisms. *Respiration* 1999; 66: 2-11.
44. Notarajan V. Oxidants and signol transduction in vascular endothelium. *Jl lob.Clin.* 1995; 125: 26-37
45. Numanoğlu N. Solunum sistemi ve hastalıkları. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Antıp A.Ş. Yayınları, Ankara, 1997; 33-40.
46. Ok M, Koç Y, Aslan V, Maden M, Sevinç M, Ok Ü, Kuyucuoğlu Y. Kuzu enzootik pneumonilerinin teşhisinde kan proteinleri, radyografi ve bakteriyolojik yoklamaların önemi. *Tr. J. of Veterinary and Animal Science*, 1995; 19: 231-236.
47. Orhan Z, Köksal N, Gökırmak M, Hacıevliyagil S S, Hasanoğlu H C, Mehmet N, Yıldırım Z. KOAH akut alevlenmesinde oksidatif stres ve tedavinin oksidan-antioksidan denge üzerine etkisi. *Solunum Hastalıkları* 2003; 14: 5-10
48. Özkurt Borazan G. Marmara ve karadeniz bölgesi yüzey balıkları karaciğerinde vitamin A ile süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz enzim düzeyleri. *Ank. Üniv. Sağ. Bil. Ens.. Doktora Tezi*, Ankara, 2004.
49. Reynolds H Y, Elias J A. Pulmonary defense mechanisms against infections. In: Fishman A P, ed. *Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders*. 3rd ed., Mc Graw-Hill, New York, 1998; 265-74.
50. Seaton A, Seaton D, Leitch A D. Lung defences and immunology. *Crofton and Douglas's Respiratory Diseases*. 4th ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1989; 95-104.
51. Selek S, Cosar N, Kocycigit A, Erel O, Aksoy N, Gencer M, Gunak F and Aslan M. PON1 activity and total oxidant status in patients with active pulmonary tuberculosis. *Clinical Biochemistry*. 2008; 41(3): 140-144.
52. Smith J. Lower Respiratory Diseases, Bovine Respiratory System. In: *Large Animal Medicine*. The C.V. Mosby Company, Philadelphia, Toronto, 1990.
53. Scoot PR. Field Study of Undifferentiated Respiratory Disease in Housed Beef Calves. *Vet. Rec.* , 1994; 134, 325-327.
54. Steward W C, Donsuan B Y. Deposition and clearence. In: Murray J F, Nadel J A, eds. *Textbook of Respiratory Medicine*. 2nd ed. WB Saunders, Philadelphia, 1994; 345-70.
55. Tuğ T, Terzi S M, Özdemir N, Özçelik M. Akut atak ve atak sonrası stabil dönemdeki kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan hastalarda oksidatif mekanizmaların değerlendirilmesi. *Toraks Dergisi*, 2003; 4(1):12-15.