

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**



FARKLI SIĞIR IRKLARINDA PON 1 AKTİVİTESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MÜBERRA DEMİR

BALIKESİR, ARALIK - 2017

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**



FARKLI SIĞIR IRKLARINDA PON 1 AKTİVİTESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MÜBERRA DEMİR

Jüri Üyeleri: Doç. Dr. Mikail ARSLAN (Tez Danışmanı)

Prof. Dr. Gülendamar TÜMEN

Doç. Dr. Hüseyin AKSOY

BALIKESİR, ARALIK - 2017

KABUL VE ONAY SAYFASI

MÜBERRA DEMİR tarafından hazırlanan “FARKLI SIĞIR IRKLARINDA PON 1 AKTİVİTESİ” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 8 aralık 2017 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

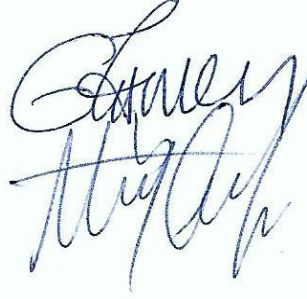
Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Doç. Dr. Mikail ARSLAN



Üye
Prof. Dr. Gülendamar TÜMEN



Üye
Doç. Dr. Hüseyin AKSOY

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Doç. Dr. Necati ÖZDEMİR

Bu tez çalışması Balıkesir Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından BAP 2015/18 nolu proje ile desteklenmiştir. Teşekkür ederiz.

ÖZET

**FARKLI SIĞIR IRKLARINDA PON 1 AKTİVİTESİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
MÜBERRA DEMİR
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. MİKAİL ARSLAN)**

BALIKESİR, ARALIK - 2017

Bu çalışmada, önemli stres kaynaklarından olan pestisitlerin, organofosfat ajanları ve sinir gazlarını hidroliz etme yeteneğinde olan ve LDL'nin oksidasyonu ile lipit peroksidlerinin oluşumunda koruyucu etkisi olan paraoksonaz 1 (PON 1) enziminin farklı sığır ırklarındaki ve farklı yaşlardaki aktiviteleri belirlenmiştir.

Çalışmada; holstein, simental ve jersey ırkı sığırların kan numuneleri kullanılmıştır. Sığırlar; genç (0-6 ay), orta yaş (6 ay-4 yaş), yaşlı (4 yaş ve üzeri) olmak üzere 3 yaş grubuna ayrılmış her bir sığırdan 5ml kan numunesi analiz edilip PON1 aktiviteleri belirlendikten sonra istatistiksel analizler yapılmıştır.

PON1 enzim aktivitesi yüksek olan hayvanların organofosfatlı bileşiklerle ilaçlama yapılan bölgelerde adaptasyon kabiliyeti bakımından PON1 aktivitesi düşük olan hayvanlara göre daha dirençli olacağı bilgisine dayanılarak ve marker destekli seleksiyonda (MAS) ön karakterizasyon çalışması olarak kullanılabilirliğini araştırdığımız bu çalışmamızda jersey ırkı sığırların, holstein ve simental ırkı sığırlara kıyasla daha dirençli olduğu sonucuna varılmıştır.

ANAHTAR KELİMELEER: Paraoksonaz (PON), stres, marker destekli seleksiyon (MAS).

ABSTRACT

**PON 1 ACTIVITY IN DIFFERENT CATTLE
MSC THESIS
MÜBERRA DEMİR
BALIKESİR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
BIOLOGY
(SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR.MİKAİL ARSLAN)**

BALIKESİR, DECEMBER 2017

In this study pesticides, which are important stress sources in animals, organophosphate agents and agents capable of hydrolyzing nerve gasses and of LDL oxidation and the protective effect of paraoxonase 1 in the formation of lipid peroxides (PON 1) enzymes in different cattle breeds and at different ages it has been identified.

Study; blood samples of holstein, simental, and jersey race cattle were used. Statistical analyzes were performed after analyzing 5 ml blood samples from each cattle divided into 3 age groups (0-6 months), middle age (6 months-4 years) and elderly (4 years and older) and PON1 activities were determined.

Based on the knowledge that animals with high PON1 enzyme activity are more resistant to adaptation in animals treated with high PON1 activity, and in our study we investigated the utility of marker assisted selection (MAS) as a pretargeting study. It is concluded that simental race is more resistant than cattle.

KEYWORDS: Paraoxonase (PON), stress, marker assisted selection (MAS).

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ	iv
TABLO LİSTESİ	v
SEMBOL LİSTESİ	vi
ÖNSÖZ	vii
1. GİRİŞ	1
1.1 Çiftlik Hayvanları ve Stres	2
1.1.1 Pestisitler	5
1.2 Paraoksonaz Enzimi	5
1.2.1 Paraoksonaz Enziminin Adlandırılması	6
1.2.2 Paraoksonaz Enziminin Gen Yapısı	8
1.2.3 Paraoksonaz Gen Ailesi	9
1.2.4 Paraoksonaz Enziminin Biyokimyasal Yapısı	9
1.2.5 PON 2 ve PON 3	9
1.2.6 PON 1'in HDL'ye Bağlanması	10
1.2.7 PON 1 Enziminin Sentezlenmesi ve Salgılanması	11
1.2.8 PON 1 Enziminin Fonksiyonel Önemi	12
1.2.9 PON 1 ve Çevresel Faktörler	13
1.3 PON 1 ve Hastalıklarla İlişkisi	13
2. AMAÇ	18
3. MATERYAL VE YÖNTEMLER	19
3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler	19
3.2 Kullanılan Alet ve Cihazlar	20
3.3 Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması	21
3.4 Hayvan Materyali	21
3.5 Kan Serumunun Ayrılması	22
3.6 Enzim Aktivite Tayini	22
4. BULGULAR	23
5. TARTIŞMA	35
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	38
7. KAYNAKLAR	39

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: Merkezi sinir sistemi tarafından potansiyel risk faktörleri olarak algılanan durumlar.....	4
Şekil 1.2: Paraoksonun kimyasal yapısı (O,O-dietil-O-p-nitrofenilfosfat).	7
Şekil 1.3: Paraoksonaz enziminin üç boyutlu görünümü	7
Şekil 1.4: Paraoksonaz enzim mekanizması.....	8
Şekil 1.5: PON1'in HDL'ye bağlanması (Harel, ve diğerleri, 2004)	12
Şekil 1.6: Sinir gazlarının hidrolizi.....	15
Şekil 4.1: Holstein ırkı yaş gruplarındaki PON1 aktivitesi (U/L)	24
Şekil 4.2: Jersey ırkı yaş gruplarındaki PON1 aktivitesi (U/L).....	28
Şekil 4.3: Simental ırkı yaş gruplarındaki PON1 aktivitesi (U/L)	25
Şekil 4.4: Genç yaş grubu sığırlarda PON1 enzim aktivitesi (U/L)	26
Şekil 4.5: Orta yaş grubu sığırlarda PON1 enzim aktivitesi (U/L)	28
Şekil 4.6: Yaşlı grup PON1 enzim aktivitesi (U/L).....	30
Şekil 4.7: Yaş gruplarına göre PON1 enzim aktivitesi (U/L).....	31
Şekil 4.8: Irk gruplarına göre PON1 enzim aktivitesi (U/L)	33

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1: Kullanılan kimyasal maddeler ve kullanım amaçları	19
Tablo 3.2: Kullanılan alet ve cihazlar ve kullanım amaçları.....	20
Tablo 3.3: Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması	21
Tablo 4.1: Holstein ırkı yaş gruplarındaki PON1 aktivitesi (U/L).....	23
Tablo 4.2: Jersey ırkı yaş gruplarındaki PON1 aktivitesi (U/L)	24
Tablo 4.3: Simental ırkı yaş gruplarındaki PON1 aktivitei (U/L).....	26
Tablo 4.4: Genç yaş gruplarındaki PON1 aktivitesi (U/L)	27
Tablo 4.5: Orta yaş gruplarındaki PON1 aktivitesi (U/L).....	28
Tablo 4.6: Yaşlı grup PON1 aktivitesi (U/L).....	30
Tablo 4.7: Yaş gruplarına göre PON1 aktivitesi (U/L)	31
Tablo 4.8: Irk gruplarına göre PON1 aktivitesi (U/L)	32

SEMBOL LİSTESİ

- PON** :Paraoksonaz enzimi
HDL :Yüksek yoğunluklu lipoprotein
LDL :Düşük yoğunluklu lipoprotein
E.C. :Enzim kodu
OP :Organofosfat ajanları
MAS :Marker destekli seleksiyon
KAH :Koroner arter hastalığı
PCR :Polimeraz zincir reaksiyonu
MDA :Malondialdehit
SNP :Single nucleotide polymorphism (tek nükleotid polimorfizm)
U :Enzim ünitesi
UV :Ultra viyole
TAS :Total antioksidant kapasite
TOS :Total oksidant kapasite
BHB :Beta hidroksi bütirat
FFA :Serbest yağ asitleri
ACTH :Adrenokortikotropikhormon
AChE :Asetilkolinesteraz
-AP :Negatif akut faz proteini
+AP :Pozitif akut faz proteini

ÖNSÖZ

Yüksek lisans çalışmalarım boyunca beni daima yönlendiren, yardımcı olan, beni kendi engin ve değerli bilimsel bilgilerinden mahrum bırakmayıp daima paylaşan ve yaptığı davranış ve tutumları dolayısıyla hayatıma kattığı değeri ve önemi hiçbir zaman unutmayacağım çok saygıdeğer danışman Hocam değerli insan Doç.Dr. Mikail ARSLAN'a bana verdiği emeklerinden dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Araştırmalarım süresinde sonsuz hoşgörüsünü gördüğüm, maddi ve manevi bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım kıymetli Hocam Prof.Dr. Oktay ARSLAN' a çok teşekkür ederim.

Deneysel çalışmalarım da her daim desteğini gördüğüm değerli Hocam Doç. Dr. Serap BEYAZTAŞ'a ve Biyoloji Bölümündeki hocalarıma çok teşekkür ederim.

Kan numunelerinin temininde desteklerini aldığım Karacabey Tarım İlçe Müdürlüğü'ne, Hasçetin ve Bilcanlar çiftliğine teşekkür ederim.

Öğrenimim sürecinde her daim destek olan çok kıymetli aileme teşekkürlerimi sunarım.

Müberra DEMİR

1. GİRİŞ

Dünyada insan ihtiyaçları sınırsız olmasına karşın ihtiyaçları karşılayacak kaynaklar sınırlıdır. İnsanoğlunun yerleşik hayata geçmesiyle birlikte bu sınırlı kaynaklar gittikçe çoğaltılmış ve çeşitlendirilmiştir (Ünsal, 2013). Dünya nüfusunun hızla artması diğer ihtiyaçlar yanında insanların besin madde ihtiyacını da artırmaktadır. İnsanlar besin maddelerini çeşitli bitkisel ve hayvansal kaynaklardan sağlamaktadır (Akçapınar ve Özbeyaz, 1999).

Tarımsal üretim alanlarının sınırlı olması nedeniyle artan gıda ihtiyacının karşılanması için hayvanlar ıslah edilerek birim hayvanlardan en yüksek düzeyde verim alınmaya çalışılmaktadır (Akçapınar ve Özbeyaz, 1999). Tarımda ve hayvancılıkta gelecekteki verim performanslarının artırılabilmesi için yetiştiricilik değerlerinin doğru ve hızlı bir şekilde tahmin edilmesi gerekir (Aksoy, 2003). 1990'lı yıllara kadar, çiftlik hayvanlarının damızlık değerlerinin tahmininde fenotip ve ebeveynlerine ait bilgiler kullanılmış, genetik ilerleme fenotipik seleksiyona bağlı olarak yapılmıştır (Montaldo ve Meza-Herrera, 1998).

Çiftlik hayvanlarında verimle ilgili karakterlerin genetik ilerlemesi; bazı verim özelliklerinin sadece tek cinsiyette ölçülebilmesi, çok sayıda genin toplamalı etkileri sonucu ifade edilmesi ve kantitatif karakterlere çevre faktörlerinin önemli etkilere sahip olması nedeniyle oldukça yavaştır. Bu durum genetik değerlendirmenin doğruluğunu da düşürmektedir. Ayrıca verim özelliklerinin sadece ergin hayvanlarda ölçülebilmesi sonucu generasyon aralığı uzamakta ve yıllık genetik ilerleme oranı düşmektedir (Lara ve diğerleri, 2002).

Son yıllarda verimle ilgili karakterlerde daha hızlı genetik ilerleme sağlamak için genom analizleri kullanılmaya başlanmıştır. Genom analizleri; yapısal, işlevsel ve karşılaştırmalı olarak yapılmaktadır. İşlevsel genomik; genlerin biyolojik işlevlerini, onların düzenlenmelerini ve ürünlerini çalışmaktadır (Bal ve Budak, 2013).

1.1 Çiftlik Hayvanları ve Stres

Çiftlik hayvanlarının verim performansı genel olarak genetik yapı ve çevre faktörleri tarafından kontrol edilmektedir. Hayvan yetiştiricileri hayvanlardan yüksek düzeyde verim elde edebilmek için onlar için uygun çevre faktörleri oluştururlar. Çevre faktörlerinin bazıları kontrol edilebilir olmasına rağmen bazı çevre faktörleri kontrol edilemez (Aksoy, 2003). Her bir çevre faktörü hayvanlar üzerinde stress oluşturur (Akçapınar ve Özbeyaz, 1999).

Stres, iç ve dış stres faktörlerinin etkisine karşılık hayvanlarda görülen spesifik olmayan reaksiyonlar (Selye, 1956), hayvan yetiştiriciliğinde verim düşüklüğü, hastalık ve ölüm gibi sonuçların oluşmasına neden olabilecek tüm çevre şartlarına canlı organizmanın gösterdiği tepki (Dantzer ve Mormede, 1983) ya da stres faktörleri ile canlı organizmanın savunma reaksiyonları arasındaki etkileşim olarak da ifade edilmektedir (Freeman, 1987). Bu tanımlar göz önüne alınarak stres, canlının homeostasisini tehdit eden tüm uyarılara karşı anatomik, fizyolojik ve davranışsal farklılaşmalar şeklinde verilen biyolojik bir yanıt şeklinde tanımlanabilir. Bununla birlikte stres faktörlerine verilen yanıt sonucunda, hayvanın bağışıklık sisteminde zayıflama, üreme ve büyüme fonksiyonlarında durma, sindirim problemleri, daha ileri durumlarda ise yorgunluğa bağlı ölümlere neden olabilmektedir (Kelley, 1980).

Stres yapıcı bir etkene karşı hayvanlarda oluşan fizyolojik reaksiyonlar;

1- Mücadele ve Alarm devresi: Merkezi sinir sisteminin harekete geçtiği, vücut savunma sistemlerinin harekete geçtiği evredir. Stres yapıcı etken hipofiz bezini ve sempatik sinir sistemini etkiler (Selye, 1956).

2- Dinlenme ve Adaptasyon Devresi: Adrenokortikotropik hormonun (ACTH) hipofiz ön lobundan salınımı ile kortikosteronun üretimi artar, dalakta, timusda ve periferik lenf düğümlerinde küçülme; hipofiz lobunda ise büyüme meydana gelir. Ayrıca adrenal bezlerde ağırlık artışı gözlenir. Kan dolaşımında heterofillerin sayısında artma, lenfositlerin sayısında ise azalma gözlenir (Siegel, 1985).

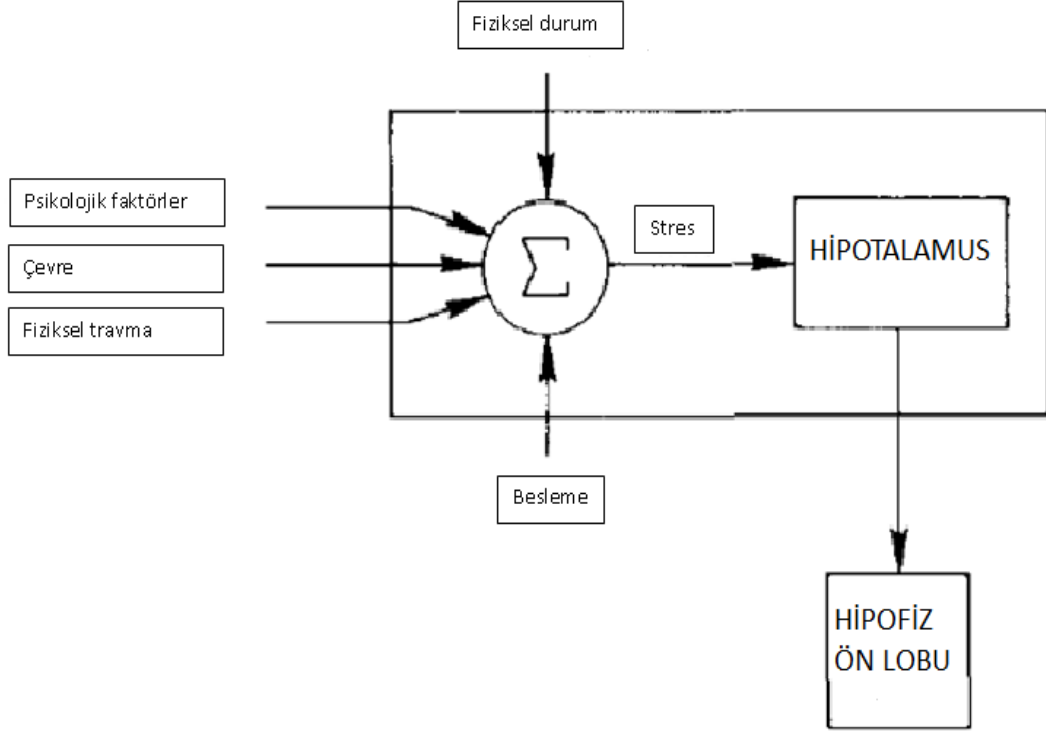
3- Bitkinlik Devresi: Hayvanın strese neden olan etkene karşı adaptasyonda başarısız olunmasıyla başlar. Bu devrede böbrek üstü bezleri yetersiz kalır ve hayvan tamamen bitkinleşir (Dantzer ve Mormede, 1983).

Belirli hedef organlar üzerine stres faktörlerinin direkt etkisi ile organizmada şekillenen spesifik reaksiyonlar, fonksiyon bozukluğuna ve organ hastalıklarına yol açar. Bu bozuklukların meydana gelişi stres faktörünün türüne ve yoğunluğuna hedef organın duyarlılığına bağlıdır. Örneğin yem partikül büyüklüğünün az olması, su miktarının fazla olması gibi beslenme faktörleri besi danaları ve besi domuzlarında yaygın mide yangısına neden olmaktadır (Akçapınar ve Özbeyaz, 1999).

Canlı organizmalar hayatlarının her döneminde değişen düzeylerde psikolojik ve fizyolojik stresle karşılaşır. Bu stres faktörleriyle etkin bir şekilde mücadele edilebilmesi için stresi oluşturan etkenlerin objektif ölçütlere bağlı olarak belirlenmesi zorunludur. Canlı organizmanın stres faktörlerinin etkisi altında kaldığı dönem doğru bir şekilde yönetilebilirse, verim düşüklüğünün aksine bu hayvanların verimine olumlu yansıtacağı ve refahını da artıracığı bilinmelidir. Stresin ölçülmesi, hormon ve enzim konsantrasyonu, homeostasisdeki vücut sıcaklığı, solunum ve nabız hızı gibi fizyolojik parametrelerde oluşan farklılıkların belirlenmesine dayanır (Altınçekiç Öziş ve Koyuncu, 2012). Vücut dengesinin bozulması şeklinde olan bu değişimler canlı organizmada hastalıklara karşı direnç, büyüme ve döl verimi gibi yaşam için önemli fonksiyonları etkilemektedir (Sapolsky ve diğerleri, 2000).

Canlı organizma korku, açlık, gürültü, sıcaklık, sıkışıklık, enfeksiyonlar gibi iç ve dış çeşitli faktörlerinin etkisi altındadır. Bu faktörlere stres faktörleri denir (Akçapınar ve Özbeyaz, 1999). Başlıca stres faktörleri, aşırı soğuk ve sıcak koşullar, çeşitli toksinlerin yemle alınması, birim alana düşen hayvan sayısı, nakil sırasındaki hatalar gibi standartlara uymayan bakım koşulları, bazı enfeksiyöz hastalıklar ve çeşitli kimyasal maddelerdir. Canlı organizmanın sağlıklı ve verimli olmaları için onların bu stres koşullarından mümkün olduğunca uzak tutulması gerekir (Mench ve diğerleri, 1986; El-Lethey ve diğerleri, 2000).

Şekil 1.1'de, canlı organizma üzerinde strese neden olan ve normal üreme faaliyetlerinin bozulmasıyla sonuçlanan çeşitli faktörler gösterilmiştir. Bu faktörlerin canlı organizmada strese neden olup olmayacağı kesin olarak hayvanın konstitüsyon ve kondisyonu tarafından belirlenir. Canlı organizmanın merkezi sinir sistemi tarafından bu stress faktörleri bir stres gibi kabul edilirse, sonrasında davranış, sempatik sinir sistemi ve hipotalamus-hipofiz eksen fizyolojik sistemleri ile bu sorunları en aza indirmeye çalışır.



Şekil 1.1: Merkezi sinir sistemi tarafından potansiyel stres faktörleri olarak algılanan durumlar (Moberg G. , 1976).

Hayvanlarda stresi belirlemede sağlık, verim, davranış ve fizyoloji olmak üzere dört parametre kullanılır (Mench, 1992).

Stresin biyolojik maliyeti stres esnasında canlı organizmanın gösterdiği biyolojik fonksiyonlardaki değişikliklerdir. Çoğu stres etmeninin süresi kısa olduğu sürece biyolojik maliyeti çok önemli değildir. Biyolojik maliyet stres faktörlerinin uzun ve şiddetli olduğu durumlarda önem taşır. Biyolojik fonksiyonlardaki değişiklik bağışıklık, büyüme ve üreme gücünü baskılar. Biyolojik maliyet konstitüsü iyi olan canlılarda vücut depolarından karşılandığı için diğer biyolojik fonksiyonları etkilemez. Örnek olarak, canlı organizma stres altında olduğu sürece gerekli glikozu glikojen depolarından kullanır. Stres altında salgılanan katekolaminler glikojeni hem hazır olarak kullanılabilir hem de glikoza ya da glikoneogenezis için gerekli diğer metabolik ürünlere dönüştürebilir. Stres etmeni baskılandığında glikojen depoları, en kısa sürede glikoneogenezis tarafından stres öncesi düzeyine döndürülür (Moberg ve Mench, 2000).

1.1.1 Pestisitler

Hayvanlarda önemli stres kaynaklarından birisi tarımda zararlılara karşı kullanılan ilaçların (pestisit) ya direk olarak ya da yedikleri yemlerle alınmasıdır.

Latince “hastalık öldürücü” anlamına gelen pestisitler, insan ve hayvan vücudu ile bitkiler üzerinde veya çevresinde yaşayan, besin kaynaklarının üretim, depolanma ve tüketimi sırasında besin değerini düşüren ya da zarara uğratan böcek, kemirici, yabancı ot, mantar gibi canlı formlarının yıkıcı etkilerini azaltmak için bilinçli ve istemli olarak kullanılan kimyasal maddelerdir (Anonim, 2003). Pestisit sözcüğü kısaca, pest (haşarat) anlamına gelen zararlıları öldürmek amacıyla kullanılan madde anlamına gelir (Öğüt, 2012). Bu bileşikler, zararlı organizmalara karşı yüksek etkinliklerinin olması, hızlı sonuç vermeleri, bilinçli ve kontrollü kullanılmaları halinde ekonomik olmalarından dolayı tarımda sıklıkla kullanılmaktadır (Karakoç ve Nakiboğlu, 2010).

Pestisitler uygulandıktan sonra %0,015-6 oranında hedeflenen zararlıya etki etmekte, geriye kalan %94-99,9luk kısmı çevreye, toprağa ve hedeflenmeyen canlılara ulaşmaktadır (Tiryaki ve Temur, 2010). Pestisitlerin püskürtülerek uygulanması sırasında bir kısmı buharlaşma ve dağılma nedeniyle kaybolurken, bir kısmı da bitki üzerinde ve toprakta kalmaktadır. Havaya karışan pestisitler kar, yağmur veya sis ile birlikte tekrar yeryüzüne dönebilir. Bu yollarla hedef olmayan diğer canlılara ulaşarak kalıntı ve toksin problemlerine neden olabilirler (Karakoç ve Nakiboğlu, 2010; Tiryaki ve Temur, 2010).

Pestisitlerin canlılar üzerinde zararlı etkileri akut ve kronik olmak üzere iki şekilde incelenebilir. Akut olarak hafif alerjik reaksiyondan ölüme kadar değişebilen çok çeşitli sonuçlarla karşılaşılabilir. Kronik etkiler ise; nörotoksisite, davranış bozuklukları, üreme ve fertilité düşüklüğü, mutajenik, teratojenik ve kanserojenik etkilerdir (Tarakçı ve Türel, 2009; Nougadere A., 2014).

1.2 Paraoksonaz Enzimi

Çok uzun yıllardan beri tarımda, insan sağlığına verdiği zararlar göz ardı edilerek, sadece ürün verimini arttırmak amaçlı çeşitli zararlılara karşı organofosfatlı pestisitler kullanılmaktadır. Tarımda ürün verimini arttırma amaçlı kullanılan insektisit olan paration bileşiğinin katabolik ürünü sonucu oluşan paraoksan, ilk olarak sinir uyarılarının iletiminde önemli rol oynayan asetilkolin esteraz ve diğer bazı enzimleri inhibe etmektedir. Fakat; organizma bu etkilerin çoğuna karşı savunma sistemleri oluşturmuştur. Bunlardan biri de paraoksonaz (PON) enzimidir. Bu enzim paraoksonu hidroliz ederek zararlı etkilerini ortadan kaldırmaktadır (Costa ve diğerleri, 1999; La Du BN, 1999). Enzimin detoksifikasyon özelliğini ortaya koyan bu aktivitesi çevresel faktörlerden kaynaklanan kansere karşı önemlidir. Ayrıca paraoksonaz enzimi antioksidan aktiviteye de sahiptir. PON enziminin bu özelliği ile LDL fosfolipidlerinin oksidasyonunu önlediği bilinmektedir. LDL'nin oksidasyonunun arteroskleroz sürecinin başlangıç evresini oluşturması enzimin antioksidan özelliğinin önemli olduğunu ortaya koymaktadır (Graham ve diğerleri, 1997; Aviram ve diğerleri, 1999).

Paraoksonaz (PON), paraoksonaz (E.C. 3.1.8.1) ve arilesteraz (E.C. 3.1.1.2.) aktivitesine sahip, glikoprotein yapısında olan kalsiyum bağımlı bir ester hidrolazdır (Durrington ve diğerleri, 2001).

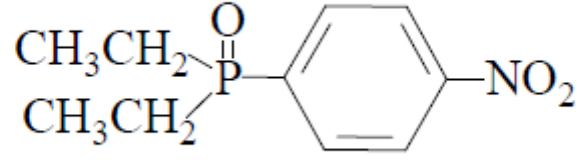
Paraoksonaz aktivite ölçümünde iki farklı substrat kullanılır. Paraoksonaz aktivitesinin ölçümünde paraokson kullanılırken, arilesteraz aktivitesinin ölçümü için fenil asetat kullanılır (Davies, ve diğerleri, 1996).

1.2.1 Paraoksonaz Enziminin Adlandırılması

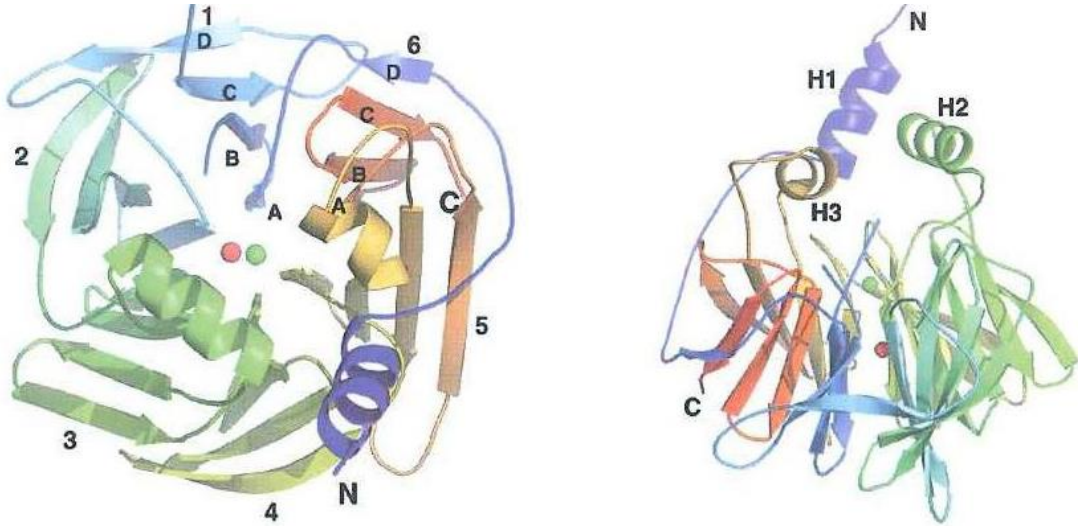
Paraoksonaz enzimine “Biyokimya ve moleküler biyolojinin uluslararası nomenklatür komitesi “IUBMB” tarafından 2 numara [E.C. (3.1.1.2.) ve E.C.(3.1.8.1)] verilmiştir. Sonraki yıllarda paraoksonazın arilesterazdan farklı olarak fosforik ve fosfinik asit esterlerini de hidroliz ettiği anlaşıldığından E.C. (3.1.8.1.) olarak tanımlanmıştır (Erden, 2004).

A grubu arildialkil fosfataz sınıfı bir ester hidrolaz olan paraoksonaz enziminin sistematik adı arildialkilfosfatazdır. Bu enzim aktivitesinin ölçümünde ilk olarak

paraokson substrat kullanıldığı için paraoksonaz adını almıştır (Mackness, Durrington, ve Mackness, 1998). Paraoksonun kimyasal yapısı Şekil 1.2’de ve paraoksonaz enziminin üç boyutlu yapısı ise Şekil 1.3’te gösterilmiştir.

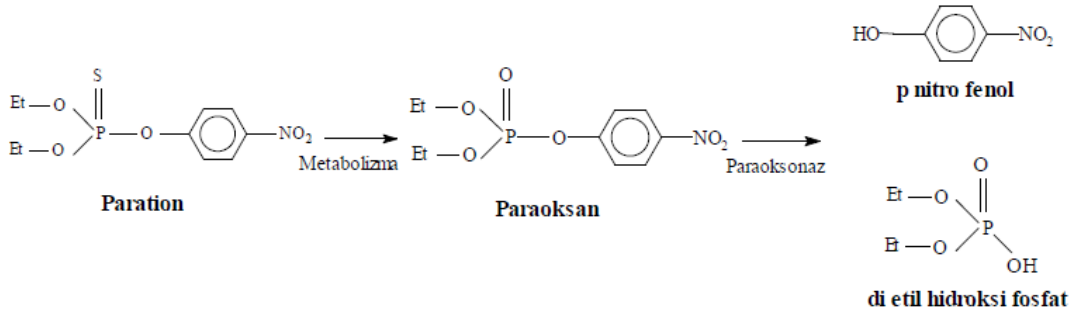


Şekil 1.2: Paraoksonun kimyasal yapısı (O, O-dietyl-O-p-nitrofenil fosfat).



Şekil 1.3: Paraoksonaz enziminin üç boyutlu görünümü.

Paraoksonaz enziminin yıkımı sonucu ortaya çıkan paraokson göreceli olarak daha az zararlı p-nitfenol ve di-etil hidroksifosfat bileşikleri oluşturur (Azarsız ve Sözman, 2000). Paraoksonaz enzim mekanizması Şekil 1.4’te gösterilmiştir.



Şekil 1.4: Paraoksonaz enzim mekanizması.

1.2.2 Paraoksonaz Enziminin Gen Yapısı

Paraoksonaz gen ailesi insanlarda kromozom 7'nin uzun kolunda q21.3 ve q22.1 arasında bulunmaktadır (Aviram ve diğerleri, 1999; Robertson ve diğerleri, 2003). Sığırlarda 33000 baz çifti büyüklüğündeki PON1 geni ise 4. kromozoma lokalize olmuştur (Pedro ve diğerleri, 2015).

PON1 sentezi karaciğerde gerçekleştiği için serumdaki seviyesini karaciğer fonksiyonları belirler. Serum paraoksonaz aktivitesi ve miktarı bireyler arasında farklılıklar gösterir. Bu farklılığın sebebi PON1 geninin kodlanma ve promotor bölgesinde birçok polimorfizm göstermesidir (Deakin ve diğerleri, 2003).

PON1 geninin 160'dan fazla polimorfizmi tespit edilmiştir. Enzimin aktivitesindeki polimorfizm substrat bağımlıdır. Bu polimorfizm PON1 geninin kodlanma bölgesinde kendiliğinden oluşan mutasyonlar sonucu iki aminoasidin yer değiştirmesiyle ilgilidir. Birinci mutasyon kodlanma bölgesinde 192. kodonda glutaminden (Q), arginine (R) olan değişimdir. İkinci mutasyon ise 55. pozisyondaki lösinden (L), metiyonine (M) olan değişimdir. PON1 enziminin R allelinin kodlandığı proteinin paraoksonu hidroliz aktivitesi Q allele kıyasla sekiz kat daha yüksektir. Bunun yanında Q alleli yükseltgenmiş HDL ve LDL'nin metabolize edilmesinde R allelinden daha etkilidir. Homozigot Q bireyler homozigot R bireylere göre daha düşük enzim konsantrasyonuna sahiptir. PON1 geninin polimorfik dağılım göstermesi farklı popülasyonlarda varyasyona neden olur (Aviram ve diğerleri, 1999).

1.2.3 Paraoksonaz Gen Ailesi

Paraoksonaz gen ailesi; PON1, PON2 ve PON3 olmak üzere bilinen üç üyeye sahiptir. Bu genler büyük yapısal benzerlikler göstermektedir ve ortak evrimsel öncülünden gen dublikasyonlarının meydana gelmesiyle oluşur. Memeli türleri içerisinde PON1, PON2 ve PON3 aminoasit düzeyinde % 60, nükleotid düzeyinde % 70 benzerlik gösterir. Bununla birlikte memeli türleri arasında bu üç genin her biri aminoasit düzeyinde % 79-90, nükleotid düzeyinde % 81-91 benzerlik göstermektedir. PON1, PON2 ve PON3 ile karşılaştırıldığında 4. ekzonda kodlanan 105 aminoasit içinde üç nükleotid rezidüsüyle ayrılır (Aviram ve diğerleri, 1999; Hong- Liang ve diğerleri, 2003).

1.2.4 Paraoksonaz Enziminin Biyokimyasal Yapısı

Karaciğerde sentezlenen PON1 enzimi 43-45 kilo-dalton moleküler ağırlıkta, 354 aminoasit içeren kalsiyum bağımlı glikoproteindir (Gan ve diğerleri, 1991). İnsan kan serumunda ilk olarak 1953 yılında Aldigre tarafından bulunan PON 1 enzimi, üç karbonhidrat zinciri içerir. Zincirler toplam ağırlığının %15,8'ini oluşturur, izoelektrik noktası 5,1'dir. Aminoasit içeriği bakımından çok miktarda bulunan lösin dışında bir özellik göstermez. Üç tane sistein içerir. Bunlardan; 42. ve 352. pozisyondaki sisteinler arasında disülfid bağı bulunurken, 284. pozisyondaki sistein serbesttir. Serbest olan sistein substrat tanınması ve bağlanması bakımından gereklidir (Rodrigo ve diğerleri, 2001). Enzimin merkezinde bulunan iki adet kalsiyum atomu vardır. Biri yapısal aktivitenin diğeri ise katalitik aktivitenin korunmasında görevlidir. Lipit peroksitlerinin oluşumunun önlenmesinde kalsiyum gerekli değil iken organofosfat substratlarına karşı olan hidrolitik aktivite için kalsiyum gereklidir. PON2 ve PON3 genleri de PON1 geni gibi 7. kromozomun uzun kolu üzerinde q21- q22 üzerinde bulunur (Harel ve diğerleri, 2004).

1.2.5 PON 2 ve PON 3

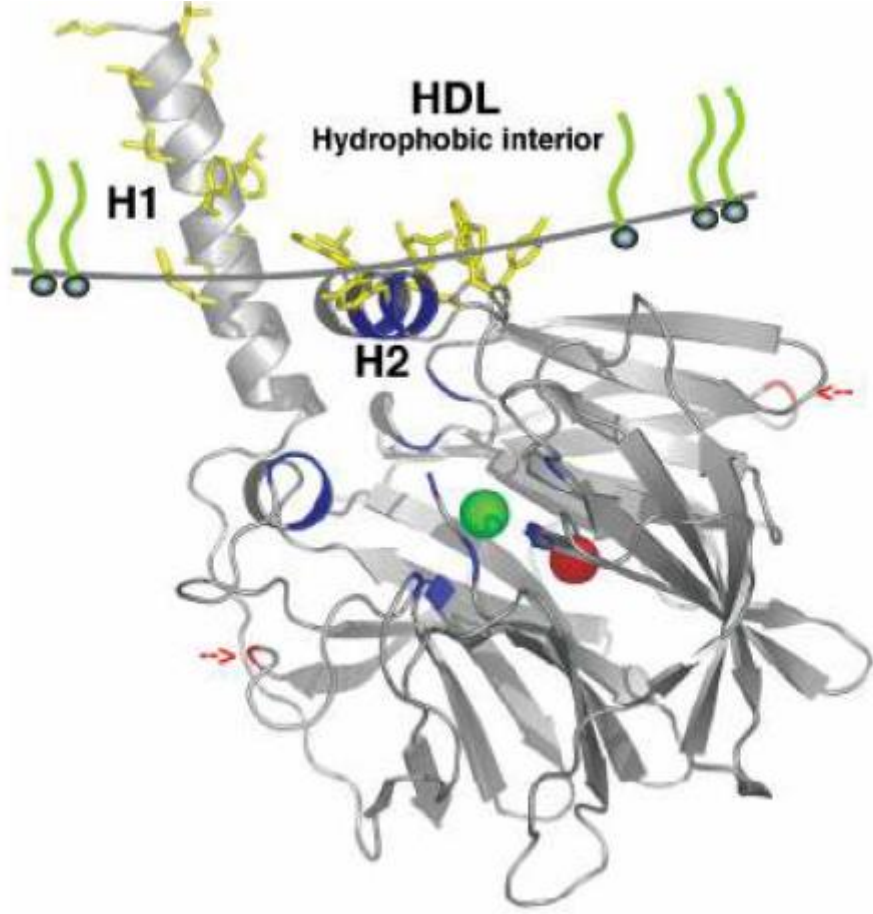
PON2 en fazla ekspresyonu karaciğer, böbrek, plasenta, testis ve kalpte olmakla birlikte insan dokusunun her bölgesinden elde edilebilir (Carey ve diğerleri, 2005).

PON2 enzimi lipit metabolizması üzerinde yararlı etkileri nedeniyle hücrel antioksidant olarak bilinmektedir. PON2 ayrıca makrofajları oksidatif stres ve lipit birikiminden korumakta arteriosklerozisin gelişimini de zayıflatmaktadır (Rosenblat ve diğeri, 2016).

PON3 endoplazmik retikulumda ve mitokondriyal mebranlarda bulunur ve tümör hücrelerinde apoptotik direnç kazandırır (Zhou ve diğeri, 2016).

1.2.6 PON 1'in HDL'ye Bağlanması

Karaciğerde sentezlenen PON1 ve PON3 kana salınımından sonra spesifik olarak HDL'ye bağlanır. HDL kolesterolün taşınmasını sağlayan PON1 ve PON3 gibi enzimler ile LDL'nin oksidasyonunu önler (Navab ve diğeri, 1998; Lund-Katz ve diğeri, 2003). HDL'ye bağlı enzimlerden PON1'in 3 boyutlu yapısı ortaya çıkarılmıştır. PON1 hidrofobik N-terminal ucuyla sonlanmakta ve H2 ve H1 hidrofobik heliksler bir araya gelip mebranlara bağlanma yüzeyi oluştururlar. Oluşan heliksler lizin, triptofan ve tirozin yan zincirleri ile oluşturdukları spesifik yapı ile HDL ara yüzeyine bağlanır (Sinan, 2005). PON1'in HDL'ye bağlanması Şekil 1.5'te gösterilmiştir.



Şekil 1.5: PON1'in HDL'ye bağlanması (Harel ve diğerleri, 2004).

1.2.7 PON1 Enziminin Sentezlenmesi ve Salgılanması

PON1 enziminin sentezi ve salgılanması karaciğer bağımlıdır. Karaciğer fonksiyonları PON1 enziminin aktivite ve konsantrasyonunu belirler. Karaciğerden sentezlenen PON enziminin HDL'ye veya karaciğerde mikrozomlara bağlanabilmesi için sentez sırasında N-terminal hidrofobik bölgeye sahip olması gerekmektedir (Akçay, 2006).

PON1 polimorfizmleri; 55. kodonda M/L55 ve 192. kodonda Q/R 192 olmak üzere çok bilinen iki polimorfizime sahiptir (Heinecke ve Lusic, 1998; Schmidt ve Schmidt, 1998).

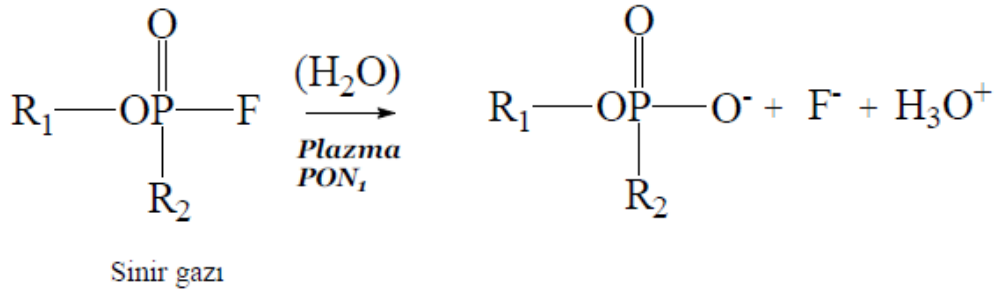
1.2.8 PON1 Enziminin Fonksiyonel Önemi

PON1 enzimi organofosfor bileşiklerin oluşturduğu toksinlerin organizmaya verdiği zararı önleyici özelliğe sahiptir. Bunun yanında çeşitli bakteri endotoksinlerine ve plazma LDL'nin lipitleri oksitlemesine karşı koruyucu role sahiptir (La Du, 1999).

Paraoksonazın en önemli fonksiyonlarından birisi organofosfatlara karşı organizmayı koruma sağlamasıdır (Azarsız ve Sözmén, 2000). Organofosfatlar sinir sistemi içerisinde asetilkolinesterazı (AChE) inhibe ederek etki oluşturular. AChE merkez, somatik ve parasempatik sinir sistemindeki asetilkolinleri ve bazı nörotransmitterleri hidroliz eden bir enzimdir. Paraoksonaz da asetilkolinleri yıkan kolin esterazların potent inhibitörüdür, ardışık nöron uyarılması ile sinaptik bileşelerde asetilkolin birikimine yol açar. Memelilerde karaciğerdeki detoksifikasyondan kaçan herhangi bir okson organofosfat etki alanına ulaşmadan önce kanda serum PON1 enzimiyle hidroliz edilebilir. Bu enzimin inhibisyonu ile organofosfat ajanları (OP) zehirlenmeleri ve sinir sisteminde bozukluklar meydana gelir (Vera Lucia ve diğerleri, 1998).

Paraoksonaz enzimi soman, sarin ve tabun gibi organofosfat sinir gazlarını hidroliz ederek bunları daha az zararlı bileşiklere dönüştürmektedir (Hughes ve diğerleri, 2002).

Ayrıca paraoksonaz enzimi parathion, diazinon ve klorpirifos gibi çok sayıda insektisit toksik okson metabolitlerini hidrolizlemektedir (La Du, 2002). Sinir gazlarının hidroliz denklemi Şekil 1.6'da gösterilmiştir.



Şekil 1.6: Sinir gazlarının hidrolizi (La Du, 2002).

1.2.9 PON 1 ve Çevresel Faktörler

PON1 enzim aktivitesi insanlarda yaş, ırk, diyet, yaşam şekli ve fizyolojik ya da patolojik durumlar gibi faktörlerle birlikte değişiklik gösterir (Seres ve diğerleri, 2004). PON1 enzim aktivitesinin insanlarda yaşla birlikte azaldığı tespit edilmiştir (Deakin ve James, 2004).

1.3 PON1 ve Hastalıklarla İlişkisi

Geniş substrat özgüllüğü gösteren paraoksonaz enziminin fizyolojik substratlarının belirlenmesiyle arterosklerozis ile ilişkisi ortaya çıkarılmaya başlanmıştır. Paraoksonaz enziminin arterosklerozise karşı koruyucu özelliğini laktonaz aktivitesiyle göstermektedir (Jakubowski, 2000). Serumda HDL'ye bağlı bulunan paraoksonaz enzimi karaciğer tarafından sentezlenir. Antiaterojenik aktiviteye sahip paraoksonaz enzimini plazma lipoproteinlerinin oksidasyonunu önlemede önemli role sahiptir. HDL, hücrelerden kolesterolün taşınmasını sağlar ve paraoksonaz gibi enzimler ile LDL'nin yükseltgenmesini önler (Mackness ve diğerleri, 1991; Rausellot ve diğerleri, 1999).

Antioksidan enzim olması nedeniyle paraoksonaz enziminin; kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, sepsis, alzheimer ve parkinson gibi bir çok hastalığın gelişmesinde koruyucu rolü olduğu düşünülmektedir (Draganov ve La Du, 2004).

Peripetal ineklerin immüno metabolik durumu; karaciğer fonksiyonlarına inflomasyona ve oksidatif stres değişikliklerine bağlı olarak değişir. Rumeni metiyonin veya kolin ile desteklenerek korunan holstein ırkı ineklerin immüno-metabolik durumunun değerlendirildiği çalışmada rasyonlarına metiyonin katılan ineklerde daha büyük paraoksonaz aktivitesi kaydedilmiştir (Zhou ve diğerleri, 2016).

Farklı ırklardaki sığırlarda laktasyonun pik devresinde incelenen bireylerin hepsinde standart PON1 azalması gözlenmiştir (Kulka ve diğerleri, 2016).

Akciğer kıl kurtları ile enfekte olan buzağılarda asetilkolin esteraza bağlı artış görülürken, PON1, kolesterol, HDL ve LDL seviyeleri azalmıştır (de Cezaro ve diğerleri, 2016).

Geçiş dönemlerinde sütçü düvelerdeki metabolik bozukluklar ve oksidatif stresin belirlenmesinde farklı yaş aralıklarındaki düvelerden alınan kanlarda beta hidroksi bütirat (BHB), serbest yağ asitleri (FFA), PON1 ve total antioksidant kapasite (TAS) analizleri yapılmış HDL-C, total oksidant kapasite (TOC) ve PON1 aktivitesi arasında pozitif korelasyonlar gözlenmiştir. PON1 aktivitesi lipit metabolizmasıyla değişir ve negatif enerji dengesinden etkilenir (Turka ve diğerleri, 2013).

Oksidatif stres over foliküllerde ve normal metabolik olaylara ve oositlere zarar verir. Erken emzirme döneminde holstein ineklerde plazma PON1 aktivitesi foliküler sıvıdaki PON1 aktivitesinden iki kat yüksek bulunmuştur. Sağlıklı aktif östrojen olan sığır foliküllerinde PON1 yüksek bulunmuştur (Schneider ve diğerleri, 2013).

Uterus enfeksiyonu görülen ineklerde serum paraoksonaz aktivitesinde doğum sonrası azalma görülmüştür (Schneider ve diğerleri, 2013).

Buzağılamadan 42 gün sonra 21 verimli süt ineğiyle yapılan incelemede post-partum ineklerin negatif akut faz proteini (-AP) düşük PON aktivitesi göstermiştir. Geriye dönük sınıflandırmada güçlü - AP düşüşünden sonra inekler yüksek pozitif akut faz proteini (+AP) ve karaciğer fonksiyon değişimi göstermiş ve diğer ineklere göre hastalık insidansında hafif azalma tespit edilmiştir (Bossaert ve diğerleri, 2012).

Yağlı karaciğerli sığırlarda paraoksonaz, laktonaz, arilesteraz aktivitesinin ölçüldüğü deneyde ise yağlı karaciğerli bireylerin serum PON, laktonaz, arilesteraz aktivitelerinin sağlıklı bireylerden yüksek bulunduğu gösterilmiştir (Farid ve diğerleri, 2013).

Serum PON1 aktivitesinin sığırlarda yaşa bağlı olarak değişikliğini gösteren çalışmada PON1 aktivitesinin sağlıklı bireylerde hasta bireylere nazaran daha düşük olduğu ve yeni doğan buzağuların PON1 aktivitesinin düşük olduğu bildirilmiştir. Yeni doğan buzağılardaki bu düşüklüğün nedeni karaciğer olgunlaşmaması olduğu düşünülmektedir (Giordino ve diğerleri, 2013).

Gebe olmayan düvelerle emziren inekler arasında PON1 aktivitesinin araştırıldığı çalışmada ise laktasyondaki ineklerin düvelere oranla düşük PON1 aktivitesi gösterdiği izlenmiştir. Doğum sırasındaki çabaların ve laktasyona bağlı oluşan oksidatif stresin PON aktivitesini azalttığı düşünülmektedir (Antonic-Svetina ve diğerleri, 2011).

Sığır karaciğer PON1 enziminin insan ve rat kaynaklı PON1 enzimine göre çok daha düşük substrat konsantrasyonlarında bile antioksidan aktivite gösterebildiğini, toksik bileşikleri detoksifiye edebildikleri ortaya konulmuştur (Aşkın ve diğerleri, 2012).

Brusella enfeksiyonu, sığır serumundaki serbest radikal düzeyinde, mineral madde konsantrasyonunda ve antioksidan aktivitede değişiklikler meydana getirdiği gözlenmiştir (Benzer ve diğerleri, 2009).

Paraoksonaz aktivitesi, HDL'ye bağlı olup, kalp damar hastalıklarıyla ilişkisinin yanı sıra, pek çok klinik yayınlarda gösterildiği gibi enzimin aktivitesinin diğer hastalıklarla da ilişkili olduğu bildirilmiştir. Kolon polipli hastalarda paraoksonaz ve indüklenbilir paraoksonaz aktivitesi sağlıklı popülasyondan düşük bulunmuştur. Bunun nedeni olarak, oksidan-antioksidan dengenin oksidan yönde bozulmasının polipli hastalarda polip gelişimi ile yakından ilişkili olduğu düşünülmektedir (Aydın ve diğerleri, 2013).

Epilepsili hastalarda serum PON1 aktivitesi ve malondialdehit (MDA) düzeyleri ile ilgili yapılan araştırmada, serum PON1 aktivitesi istatistiksel açıdan önemli oranda düşük, MDA seviyelerinde artış gözlenmiştir (Çevik ve diğerleri, 2012).

Metabolik sendromda PON1 aktivitesi ve koroner arter hastalığı (KAH) ilişkisi üzerinde yapılan bir çalışmada, KAH olan metabolik sendromlu hastalarda PON1 aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunurken, oksidatif stres için karşılaştırılan MDA düzeyleri yüksek bulunmuştur (Aydın ve diğerleri, 2008).

Kolorektal kanserli hastalarda serum PON1 aktivitesini araştıran bir çalışmada ise; hasta grubun serum PON1 seviyesi istatistiksel olarak çok anlamlı, çok düşük bulunmuştur (Yılmaz ve diğerleri, 2015).

Fototerapinin yeni doğan sarılığında serum paraoksonaz aktivitesi ve total antioksidan kapasiteye etkileri üzerinde yapılan araştırmada, fototerapiden serum PON1 aktivitesinin etkilenmediği ancak sonrasında TAC seviyesinin düştüğü gözlenmiştir. Bu düşünün oksidatif stresten kaynaklandığı düşünülmektedir (Kurban ve diğerleri, 2014).

Travmalı hastalarda da artmış oksidatif stersin etkisi olarak PON1 aktivitesinde azalma görülmüştür (Yıldırım ve diğerleri, 2007).

Metabolik sendromlu hastalarda PON1 ve arilesteraz aktivite düzeyleri ile ilgili yapılan bir çalışmada metabolik sendromlu hastaların daha düşük PON1 aktivitesine ve artan lipit ve glikoz düzeylerine ve azalan HDL seviyesine rastlanmıştır (Türkoğlu ve diğerleri, 2008).

Metabolik sendromda leptin, adenopektin, okside LDL düzeyleri ve PON aktivitesi arasında ilişki bulunamadığı ve adenopektinlerin obezitenin artması ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Solak veTuncel, 2009).

Nonalkolik karaciğer yağlanması hastalığında oksidatif stres ve PON1 aktivitesi ile ilgili yapılan bir çalışmada nonalkolik karaciğer yağlanması olan hastalarda oksidatif stresin arttığı ve düşük PON1 aktivitesi olduğu gözlenmiştir (Selek ve diğerleri, 2012).

Yaşlı sıçanlarda tekrarlanan desfluran anestezi uygulamalarının karaciğer üzerinde etkisinin, plazma ve doku PON1 düzeyi ile ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada yaşlı sıçanlarda tekrarlanan desfluran anestezi, hücresel düzeyde oksidan-antioksidan dengesini bozarak lipit peroksidasyonu yoluyla histopatolojik olarak tespit edilen karaciğer hasarına neden olabileceği, ancak hasarın PON düzeyi ile korelasyon göstermediği tespit edilmiştir (Cüce ve diğerleri, 2013).

Serum arilesteraz aktivitesi düşük ağırlıklı yeni doğanlarda belirgin olarak düşük olduğu arilesteraz aktivitesi ile düşük doğum arasında anlamlı korelasyon görüldüğü PON1 için serum laktonaz aktivitesinde düşük ağırlıklı yeni doğanlarda azaldığı ve laktonaz aktivitesi ve düşük doğum ağırlığı arasında işaret ettiği yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (Mogarekar ve Rojekar, 2014). PON enziminin mutasyonu ile kanser riski arasında pozitif korelasyonlar saptandığı gösterilmiştir (Memişoğulları ve Orhan, 2010).

PON1 yalnızca insan serumunda değil hayvanlarda da farklı seviyelerde ve farklı dokularda keşfedilmiştir. Yapılan çalışmalarda tavşan, sıçan, koyun, sığır, balık ve fare gibi hayvanlardan paraoksonaz saflaştırılmış yapısal ve kinetik özellikleri araştırılmıştır (Furlong ve diğerleri 1991; Vera Lucia ve diğerleri, 1998; Clement ve diğerleri, 2002; Arslan ve diğerleri, 2011; Erol ve diğerleri, 2013; Erzenin ve diğerleri, 2014). Ayrıca sığırlarda ırk, yaş, verim dönemi, sağlık gibi faktörler PON1 enzim aktivitesinde değişime neden olduğu tespit edilmiştir (Antonic-Svetina ve diğerleri, 2011; Giordino ve diğerleri, 2013; Erzenin ve diğerleri, 2014;).

Paraoksonaz aktivitesi yeni doğanlarda ve prematüre bebeklerde yetişkin bireylerin yarısı kadardır. Doğumdan yaklaşık bir yıl sonra erişkindeki düzeyine gelir ve hayat boyu değişmeden devam eder ya da 40 yaşından sonra yaşa bağlı azaldığı ve cinsiyete bağlı değiştığı (erkeklerde daha yüksek) ya da cinsiyet farkından etkilenmediği sonuçlarına ulaşılmıştır. PON1 aktivitesi yaş, çevresel kimyasallar, diyet, yaşam şekli ve fizyolojik ve patalojik durumlar gibi faktörlere bağlı değişkenlik gösterir. Yapılan çalışmalarda PON1 aktivitesi ile yaş arasındaki korelasyon sonucu yaşlı bireylerin genç bireylere göre HDL oksidasyonundan daha çok etkilendiği gösterilmiştir. Yaş ile birlikte PON1 aktivitesindeki azalmada PON1-192 (Q/R) polimorfizimi etkin rol oynamaktadır (Deakin ve James, 2004).

2. AMAÇ

Bu çalışmada da farklı ırk ve yaştaki sığırlarda PON1 enzim aktivitesi ortaya konularak ve önceki çalışmalarda belirlenen yüksek PON1 aktivitesi gösteren canlıların organofosfat zehirlenmelerine ve bazı hastalıklara karşı daha dirençli olduğu bilgisine dayanılarak adaptasyon kabiliyeti ve hastalıklara direnç bakımından işlevsel genomik yöntemi ile genom analizi yapılma olanaklarının belirlenmesi ve marker destekli seleksiyona (MAS) ön karakterizasyon çalışması olarak değerlendirmesi imkanları araştırılmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEMLER

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bu çalışmada kullanılan kimyasal madde ve amaçları Tablo 3.1’de gösterilmiştir.

Tablo 3.1: Kullanılan kimyasal maddeler ve kullanım amaçları.

Kullanılan kimyasal maddeler	Kullanım amaçları
Tris-Base	Çözelti hazırlama
NaOH	Çözelti hazırlama
HCl	Çözelti hazırlama
Paraoxon	Çözelti hazırlama
Buz	Sıcaklık
Saf su	Sterilizasyon
%70’lik Etil Alkol	Sterilizasyon

3.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Bu çalışmada kullanılan alet ve cihazlar Tablo 3.2’de gösterilmiştir.

Tablo 3.2: Kullanılan alet ve cihazlar ve kullanım amaçları.

Kullanılan Alet ve Cihazlar	Kullanım amaçları
UV spektrofotometre	Aktivite Ölçümü
Magnetik Karıştırıcı	Çözelti Hazırlama
pH Metre	pH Ölçümü
-70 ⁰ C buzdolabı	Serumların Saklanması
Soğutmalı Santrifüj	Enzim kısmının Ayrımı
Enjektör	Kan Alma
Otomatik Pipetler	Aktivite Ölçümü
Hassas Terazî	Çözelti Hazırlama
Buz Makinesi	Soğutma
Falkon Tüp	Enzim Saklanması
Damlalık	Pellet ve Enzim Ayrımı
Beher	Çözelti Hazırlama
Vakumlu Tüp	Kan Alma

3.3. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması

Bu çalışmada kullanılan çözeltiler ve hazırlanması Tablo 3.3’de gösterilmiştir.

Tablo 3.3: Kullanılan çözeltiler ve hazırlanması.

Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanması	
Tuzsuz aktivite tampon	3,0275 gram Tris-Base 200 ml saf suda çözüldü, pH 8’e getirildi ve son hacim 250 ml’ye tamamlandı.
Substrat çözeltisi	10,8 µl paraokson 1 ml asetonda çözüldükten sonra üzerine 1 ml bazal aktivite tamponu eklendi ve iyice karıştırıldıktan sonra kullanıldı.

Deneye başlamadan önce ısıya dayanıklı pipet uçları, ependorflar ve diğer malzemeler 121 °C’de 20 dakika (1,02 atm basınçta) otoklavda steril edilmiştir. Cam malzemeler 180 °C’de pastör fırınında 90 dakika steril edilmiştir. Çalışmaya başlamadan önce pipetler ve çalışılan yüzey % 70’lik alkol ile temizlendi.

3.4. Hayvan Materyali

“Bu tez çalışmasının deneylerinin yürütülmesinde Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulundan izin alınmıştır.”

Deneyisel çalışma için üç farklı sığır ırkından alınan kan örnekleri genç sığırlar için 0-6 ay, orta yaşlar için 6 ay-4 yaş, yaşlı sığırlar içinde 4 yaş ve üzeri olmak üzere gruplandırılarak temin edilmiştir. Jersey sığırlar için Bursa Karacabey Bayramdere

Köyünde, simental sığırlar için Balıkesir Çayırpınar Köyü Bilcanlar Çiftliğinde holstein sığırlar için ise Balıkesir Yakupköy Hasçetin Çitliğinde her yaş grubu için her ırktan 6 baş, toplamda 54 baş sığırdan kan numuneleri genç yaş sığırlarda Vena coccygea (kuyruk venası) diğer gruplarda Vena jugularisten 5 ml kan alınmıştır.

3.5. Kan Serumunun Ayrılması

Kan numuneleri 5000 rpm'de +4 °C'de 10 dk santrifüj edildikten sonra damlalıklar yardımıyla üstte kalan serum kısmı falkon tüplere alınıp aktivite ölçümüne kadar -70 °C bekletilmiş ve enzim kaynağı olarak kullanılmıştır.

3.6. Enzim Aktivite Tayini

850 µL tampon çözelti, 100 µL paraoxon çözeltisi ve 100 µl serum hızlıca eklendikten sonra 412 nm'de 37 °C'de 1 dakikada meydana gelen absorbans okundu, aynı işlem enzim olmadan tekrarlanarak aradaki fark enzim ünitesi olarak belirlendi. Bir ünite paraoksonaz dakikada meydana gelen p-nitrofenolün nmol'ü olarak tayin edildi.

4. BULGULAR

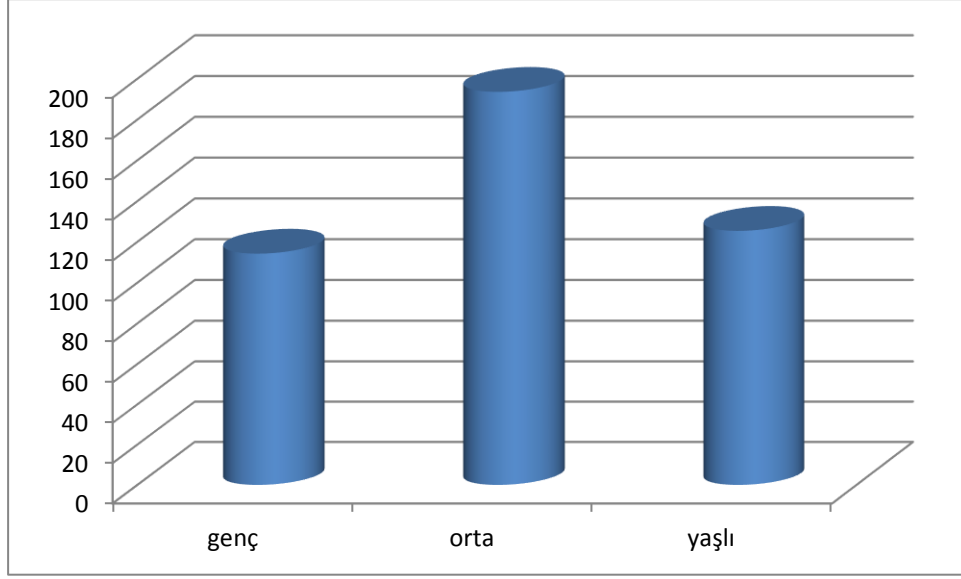
Holstein ırkı yaş gruplarındaki PON1 aktivitesi: Holstein ırkı sığırlar genç (0-6 ay) orta (6 ay-4 yaş) ve yaşlı (4 yaş ve üzeri) olarak gruplara ayrılmış olup, her bir gruba ait PON1 enzim aktivite ortalama, standart sapma, standart hata, minimum ve maksimum değerleri Tablo 4.1'de; anılan özelliğe ait grafik ise Şekil 4.1'de sunulmuştur.

Tablo 4.1: Holstein ırkı yaş gruplarındaki PON1 aktivitesi (U/L).

Holstein	Ortalama	Standart sapma	Standart hata	Minimum	maximum
Genç	114,24 ^a	26,19	10,69	63,64	133,33
Orta	193,60 ^b	86,44	35,29	91,78	347,14
Yaşlı	125,41 ^{ab}	47,32	19,32	71,43	202,44
F değeri	3,195 [*]				

*:P<0,05, a, b: Aynı sütundaki farklı harfler taşıyan değerler birbirlerinden farklı bulunmuştur (P<0,05).

Tablo 4.1 incelendiğinde; PON1 aktivite ortalamaları gençlerde 114,24, orta yaş grubunda 193,60 ve yaşlı grupta da 125,41 olarak bulunmuştur. Holstein ırkında yaşın PON1 enzim aktivitesine etkisi önemli (p<0,05) olarak bulunmuştur. Orta yaş grubu sığırların PON1 aktivitesi genç yaşa göre yüksek bulunmuştur.



Şekil 4.1: Holstein ırkı yaş gruplarındaki PON1 aktivitesi (U/L).

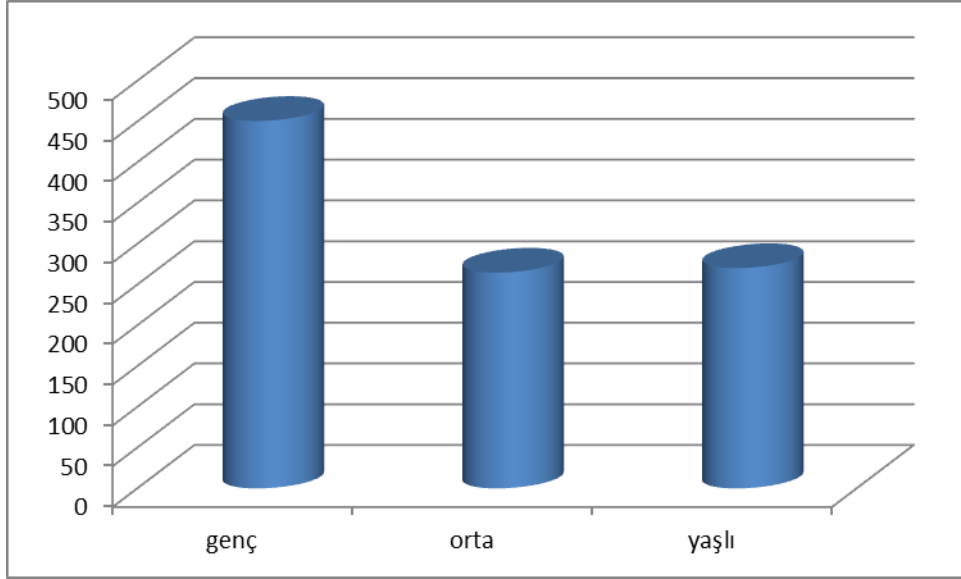
Jersey ırkı yaş gruplarındaki PON1 aktivitesi: Jersey ırkı sığırlar; genç (0-6ay), orta (6ay-4yaş), yaşlı (4 yaş ve üzeri) olmak üzere üç yaş grubuna ayrılmıştır. Her bir yaş grubuna ait PON1 enzim aktivite ortalama, standart sapma, standart hata, minimum ve maksimum değerleri Tablo 4.2’de sunulmuştur. Tablo 4.2’de verilen özelliklere ait grafik Şekil 4.2’de belirtilmiştir.

Tablo 4.2: Jersey ırkı yaş gruplarındaki PON1 aktivitesi (U/L).

Jersey	ortalama	Standart sapma	Standart hata	Minimum	maximum
Genç	450,80 ^a	125,65	51,29	226,53	570,04
Orta	264,73 ^b	8,02	3,27	256,99	280,00
Yaşlı	270,25 ^b	74,18	30,28	158,79	392,83
F değeri	9,448 ^{**}				

** : P<0,01, a, b: Aynı sütundaki farklı harfler taşıyan değerler birbirlerinden farklı bulunmuştur (P<0,01).

Tablo 4.2 incelendiğinde, jersey ırkı genç sığırlar PON1 aktivitesi; 450,80, orta yaş sığırlar; 264,73, yaşlı sığırlar 270,25 bulunmuştur. PON1 enzim aktivitesi genç sığırlarda orta ve yaşlı gruplara göre istatistiki olarak daha yüksek tespit edilmiştir ($P<0,01$). Orta ve yaşlı gruplar arasındaki farklılık ise istatistiki açıdan önemsizdir ($P>0,05$).



Şekil 4.2: Jersey ırkı yaş gruplarındaki PON1 aktivitesi (U/L).

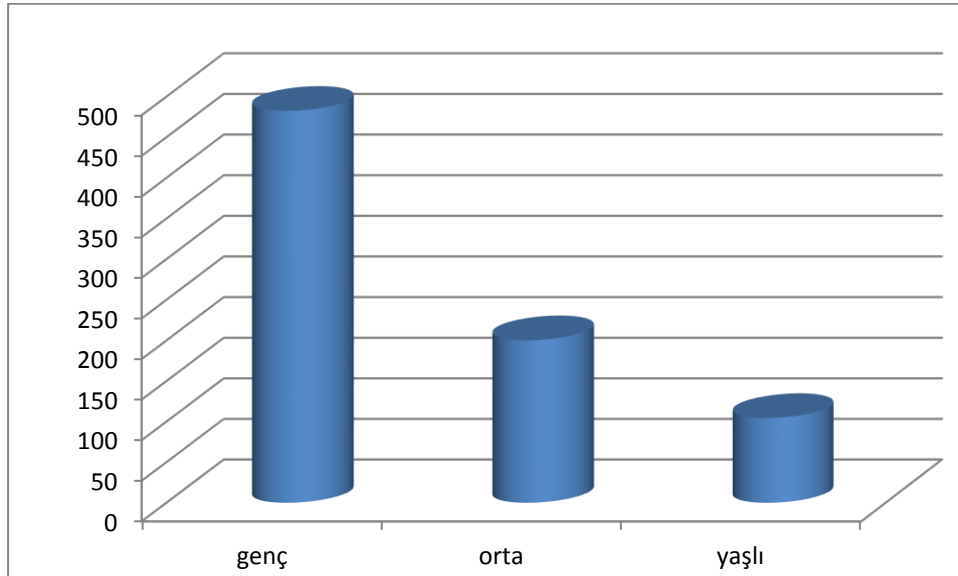
Simental ırkı yaş gruplarındaki PON1 aktivitesi: Simental ırkı sığırlarda aynı şekilde genç (0-6 ay), orta (6 ay-4 yaş), yaşlı (4 yaş ve üzeri) olarak gruplara ayrılmıştır. Anılan gruplara ait ortalama, standart sapma, standart hata, minimum ve maksimum değerlerine ait bilgiler Tablo 4.3'de gösterilmiştir. Şekil 4.3'de ise Tablo 4.2'de gösterilen özelliklere ait grafik sunulmuştur.

Tablo 4.3: Simental ırkı yaş gruplarındaki PON1 aktivitesi (U/L).

simental	Ortalama	Standart sapma	Standart hata	Minimum	Maximum
Genç	482,53 ^a	157,63	64,35	236,84	702,20
Orta	200,25 ^b	103,57	42,38	86,90	393,88
Yaşlı	104,53 ^b	15,36	6,27	88,24	13,33
F değeri	19,414 ^{**}				

**: $P < 0,01$, a, b: Aynı sütundaki farklı harfler taşıyan değerler birbirlerinden farklı bulunmuştur ($P < 0,05$).

Tablo 4.3 incelendiğinde simental ırkı sığırlar için genç yaş ortalama; 482,53, orta yaş ortalama; 200,25, yaşlı ortalama; 104,53 olarak bulunmuş olup; gruplar arasındaki farklılık istatistiki açıdan önemli olarak tespit edilmiştir. ($p < 0,05$). Yapılan Duncan testi sonucunda gruplar arasındaki farklılıkların kaynağı genç gruptaki hayvanların PON1 aktivitesinin yüksek düzeyde olmasından kaynaklandığı ortaya konulmuştur.



Şekil 4.3: Simental ırkı yaş gruplarındaki PON1 aktivitesi (U/L).

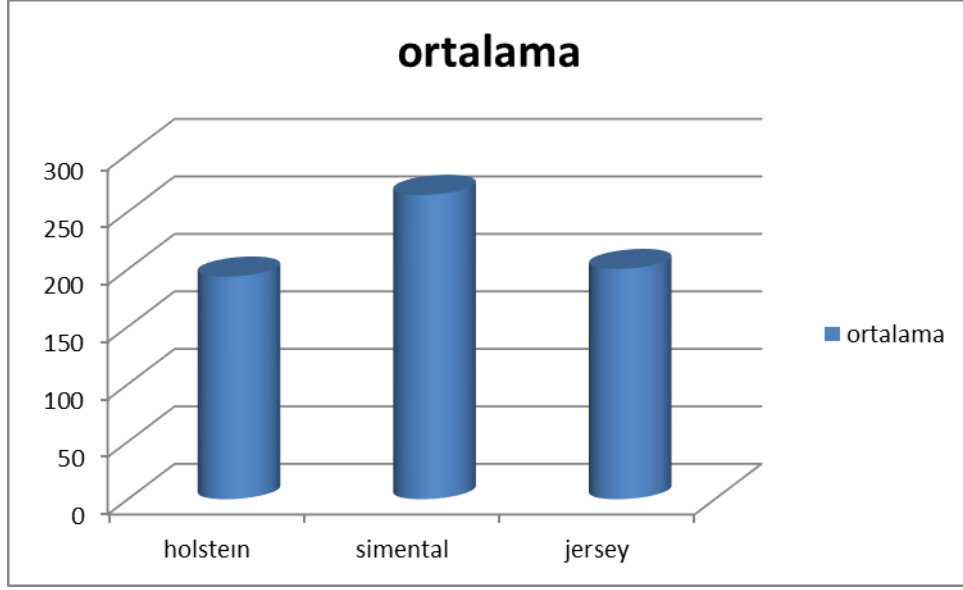
Genç sığırlar ırk gruplarındaki PON1 aktivitesi: Holstein, simental ve jersey sığır ırklarının genç ırk sığırlar 0-6 ay yaş aralığında belirlenmiş olup PON1 enzim aktivite değerleri ortalama, standart sapma, standart hata, minimum ve maksimum değerleri Tablo 4.4’de; anılan özelliğe ait grafik ise Şekil 4.4’de sunulmuştur.

Tablo 4.4: Genç yaş gruplarındaki PON1 aktivitesi (U/L).

Genç	ortalama	Standart sapma	Standart hata	Minimum	maximum
holstein	114,24 ^b	26,19	10,69	63,64	133,33
simental	482,53 ^a	148,06	34,90	236,84	702,20
jersey	450,80 ^a	246,17	71,06	213,41	926,67
F değeri	10,19 ^{**}				

**: $P<0,01$, a, b: Aynı sütundaki farklı harfler taşıyan değerler birbirlerinden farklı bulunmuştur ($P<0,01$).

Tablo 4.4 incelendiğinde; sırasıyla holstein, jersey ve simental ırkı sığırların PON1 enzim aktiviteleri 114,24, 450,80, 482,53 olarak bulunmuştur. Anılan gruplar arasında istatistiki farklılığın $P<0,01$ düzeyinde önemli olduğu ortaya konulmuştur. Yapılan çoklu karşılaştırma testi sonucunda farklılığın kaynağının holstein sığır ırkının PON1 enzim aktivitesinin diğer ırklara oranla daha düşük olarak tespit edilmesinden kaynaklandığı ortaya konulmuştur.



Şekil 4.4: Genç yaş grubu sığırlarda PON1 enzim aktivitesi (U/L).

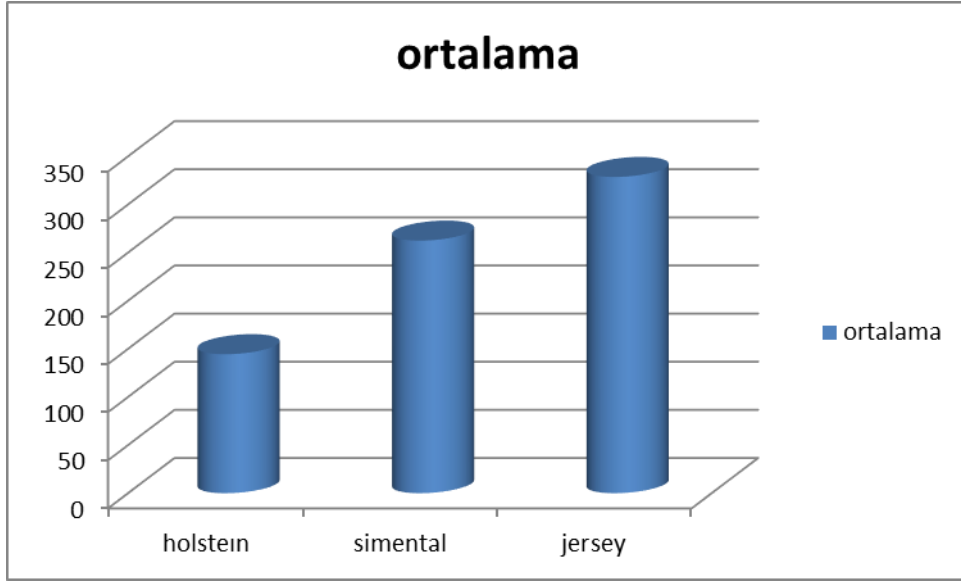
Orta yaş sığırlar ırk gruplarındaki PON1 aktivitesi: Orta yaş ırk grubundaki sığırlar 6 ay-4 yaş arasında belirlenmiş olup, ırklara ait ortalama, standart sapma, standart hata, minimum ve maximum değerleri Tablo 4.5'te sunulmuştur. Tablo 4.5' e ait grafik Şekil 5.5'te gösterilmiştir.

Tablo 4.5: Orta yaş grubu sığırlarda PON1 aktivitesi (U/L).

orta	ortalama	Standart sapma	Standart hata	Minimum	Maximum
Holstein	193,60	86,44	35,29	91,78	347,14
Simental	200,25	97,29	22,93	86,90	393,88
Jersey	264,73	76,69	22,14	134,43	387,50
F değeri	2,208				

-.P >0,05

Tablo 4.5 incelendiğinde; orta yaş holstein ortalama 193,60, jersey ortalama 264,73 simental ortalama 200,25 olarak bulunmuştur. Orta yaşlı gruplarda jersey ırkı diğer gruplara göre daha yüksek PON1 aktivitesine sahip olmasına rağmen bu farklılık istatistiki açıdan önemsiz bulunmuştur.



Şekil 4.5: Orta yaş grubu PON1 enzim aktivitesi (U/L).

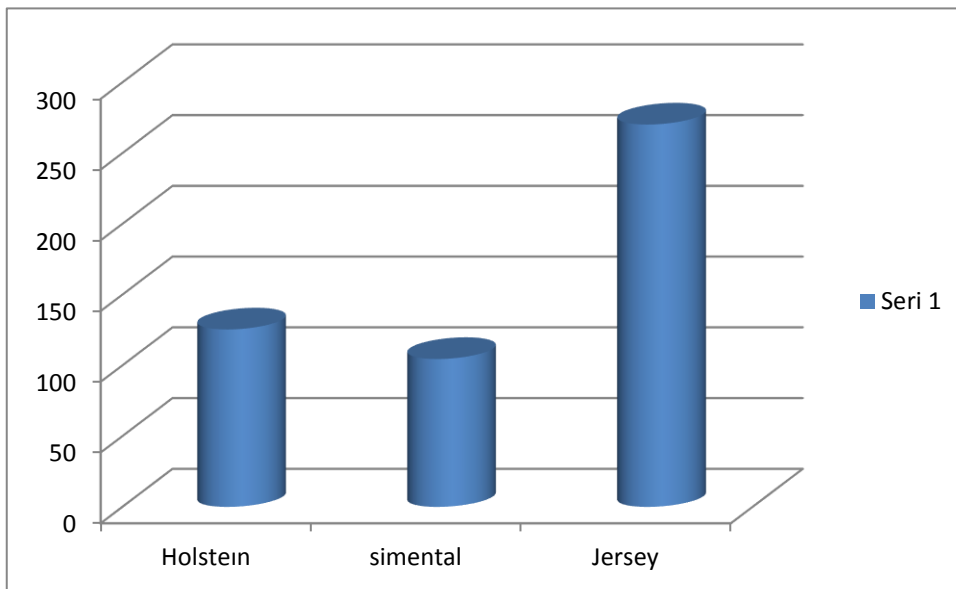
Yaşlı sığırlar ırk gruplarındaki PON1 aktivitesi: Yaşlı grup 4 yaş ve üzeri yaş aralığında seçilmiş olup ortalama, standart sapma, standart hata, minimum ve maximum değerleri Tablo 4.6'da belirtilmiştir. Tablo 4.6'da belirtilen özelliklere ait grafik Şekil 4.6'da gösterilmiştir.

Tablo 4.6: Yaşlı sığır ırklarındaki PON1 aktivite değerleri (U/L).

Yaşlı	ortalama	Standart sapma	Standart hata	Minimum	maximum
Holstein	125,41 ^b	47,32	19,32	71,43	202,44
simental	104,53 ^b	14,43	3,40	88,24	133,33
Jersey	270,25 ^a	128,03	36,96	87,71	441,67
F değeri	17,601**				

**: $P < 0,01$, a, b: Aynı sütundaki farklı harfler taşıyan değerler birbirlerinden farklı bulunmuştur ($P < 0,01$).

Tablo 4.6’da yaşlı holstein ortalama; 125,41, yaşlı jersey ortalama; 270,25, yaşlı simental ortalama; 104,53 olarak bulunmuştur. Yaşlı grup jersey ırkı sığırlarda tespit edilen PON1 aktivitesi holstein ve jersey ırkı sığırlara göre daha yüksek bulunmuş ve bu farklılıkta istatistiki açıdan önemli ($P < 0,01$) olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.6: Yaşlı grup PON1 aktivitesi (U/L).

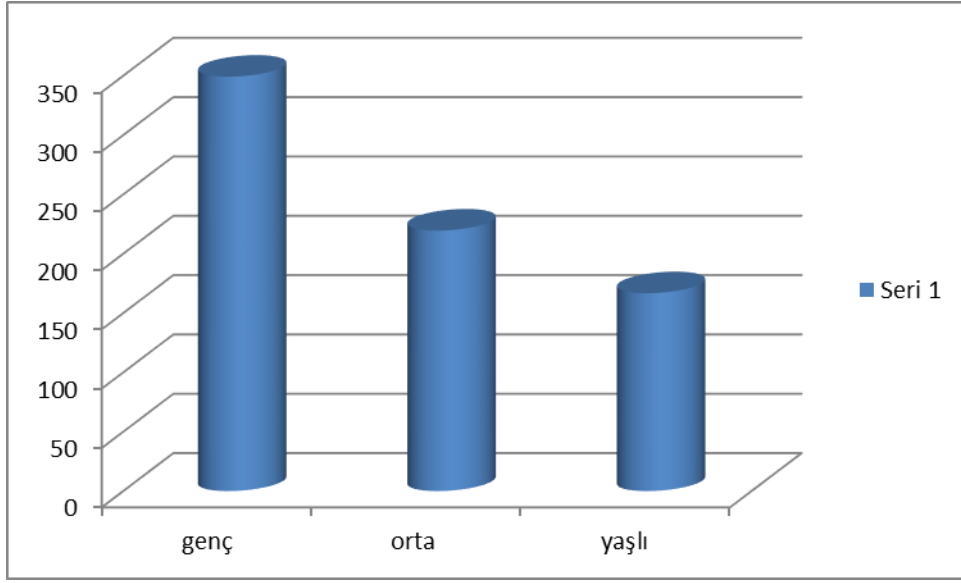
Yaş gruplarına göre PON1 Aktivitesi: Irk farklılıkları dikkate alınmadan yaş grupları birbirleri ile karşılaştırma yapılmış ve veriler Tablo 4.7’de verilmiştir. Tablo 4.7’de verilen özelliklere ait değerler Şekil 4.7’de gösterilmiştir.

Tablo 4.7: Yaş gruplarına göre PON1 aktivitesi (U/L).

Yaş grupları	ortalama	Standart sapma	Standart hata	Minimum	maximum
Genç	349,19 ^a	237,73	56,03	63,64	926,67
Orta	219,53 ^a	91,35	21,53	86,90	393,88
Yaşlı	166,73 ^b	108,54	25,58	71,43	441,67
Chi Square	8,937**				

**: $P < 0,01$, a, b: Aynı sütundaki farklı harfler taşıyan değerler birbirlerinden farklı bulunmuştur ($P < 0,05$).

Tablo 4.7 incelendiğinde PON1 aktivite değerleri genç yaş ortalama; 349,19, orta yaş ortalama; 219,53, yaşlı grup ortalaması; 166,73 bulunmuştur. Genç yaştaki sığırların ortalaması orta yaş ve yaşlı grup sığırların ortalamasına göre yüksek bulunmasına rağmen; yapılan çoklu karşılaştırma sonucunda gruplar arası farklılığın yaşlı grupta PON1 aktivite değerinin düşük olmasından kaynaklandığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.7: Yaş gruplarına göre PON1 enzim aktivitesi (U/L).

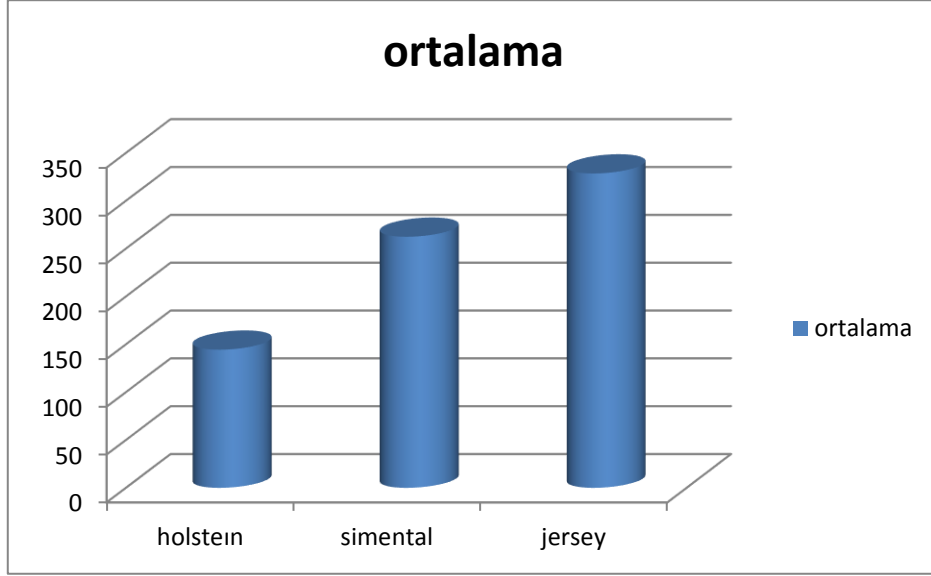
Irk gruplarına göre PON1 aktivitesi: Irk gruplarına göre PON1 aktivitesine ait ortalama, standart sapma, standart hata, minimum ve maximum değerleri Tablo 4.8’de gösterilmiştir. Şekil 4.8’de Tablo 4.8’e ait değerlerin grafiği sunulmuştur.

Tablo 4.8: Irk gruplarına göre PON aktivitesi (U/L).

Irk grupları	ortalama	Standart sapma	Standart hata	Minimum	maximum
holstein	144,42 ^b	66,03	15,56	63,64	347,14
simental	262,44 ^{ab}	194,41	45,82	86,90	702,20
jersey	328,59 ^a	186,34	43,92	87,71	926,67
CHI Square	14,07 ^{**}				

****:**P<0,01, a, b: Aynı sütundaki farklı harfler taşıyan değerler birbirlerinden farklı bulunmuştur (P<0,01).

Tablo 4.8’de holstein, simental ve jersey ırkı sığırların ortalama değerleri gösterilmiştir. Holstein ırkı ortalaması; 144,42, simental ırkı ortalaması 262,44, jersey ırkı ortalaması 328,59 olarak bulunmuş olup jersey ırkı ortalaması diğer ırkların ortalamasına üstünlük sağlamıştır. Irk grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ($P<0,01$) olduğu belirlenmiştir.



şekil 4.8: Irk gruplarına göre PON1 aktivitesi (U/L).

Yaş ile PON1 aktivitesi arasındaki korelasyon ve regresyon değerleri: Farklı yaşlardaki sığırların PON1 aktivitesi ile yaş arasında korelasyon katsayısı, -408 olarak bulunmuştur. Orta derecede negatif ilişki olarak kabul edilen bu değer istatistiki açıdan $P<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Bu sonuca göre yaş arttıķa PON1 aktivite düzeyinde önemli düzeyde azalış ortaya çıkmıştır.

Farklı yaşlardaki sığırların PON1 aktivitesi ile yaş arasındaki regresyon katsayısı ise 0,430 olarak bulunmuştur. Sığırların yaşlarında bu çalışmadaki her 1 birim artışa karşılık PON1 enzim aktivitesi düzeyinde -91,229 birimlik azalış tespit edilmiş olup; bulunan regresyon katsayısı istatistiki açıdan önemli bulunmuştur. Yaş ve PON 1 enzimi arasında

PON1=427,608-91,229* Yaş regresyon denklemi elde edilmiştir.

R^2 (Determinasyon katsayısı) ise 0,185 olarak tespit edilmiştir. Bu değere göre PON1 enzim aktivitesindeki değişimin %18,5lik kısmının sığırların yaşlarına bağlı olarak değiştiğini ifade etmektedir.

5.TARTIŞMA

Organofosfat toksisitesine ya da bazı hastalıklara duyarlılığı ile ilgili birçok çalışma sadece PCR tabanlı nükleotid polimorfizm (Q192R,L55M,C-108T) olarak ortaya konulmuştur. Bu analiz metodu daha bilgilendirici olmakla birlikte fonksiyonel genomik analizi olarak PON1 enzim aktivitesinin doğrudan ölçümü de aktiviteyi etkileyebilecek tüm polimorfizimlerin miktarını da gösterir. Paraoxon ve diazokson PON1 enzim substratları ile enzim tayini yüksek bir verimle gerçekleştirilebilir (Richter ve Clement, 1999; Richter ve diğerleri, 2004). PON1 enzim aktivitesi ne kadar yüksek ise organofosfat zehirlenmelerini engellemeleri o kadar yüksektir. Bu nedenle bir populasyonda PON1 enzim aktivitesini bilmek oldukça önemlidir (Eckerson ve diğerleri, 1983; Mueller ve diğerleri, 1983; Davies ve diğerleri, 1996; Richter ve Clement,1999). Her ne kadar her birey için PON1 ve SNP belirlenebilirse de; bu bireylerdeki PON1 aktivitesinin durumunu ve etkinliğini tam olarak sağlamaz. Diğer bir ifade ile iki substratlı bir enzimatik analiz, PON1 seviyesini ve fonksiyonel durumunu tam olarak ortaya koyar (Costa ve diğerleri, 2005). Bu çalışmalarda elde edilen sonuçların biyo-belirteç olarak kullanılabilmesi için PON1 enzim aktivitesini etkileyen faktörlerin ortaya konulması gerekmektedir. PON1 enzim aktivitesini tür, ırk, yaş, cinsiyet, sağlık durumu, hayvan refahı gibi faktörler etkilemektedir (Hillel ve diğerleri, 1992; Nicholas, 1996).

Bu çalışmada sığırlarda PON1 enzim aktivitesi üzerine ırk ve yaşın etkisi belirlenmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre holstein ırkı sığırlarda PON1 aktivitesi 144,42 bulunmuştur. Holstein ırkı sığırlarda kuru dönem (97.17), postpartum dönem (83.17) ve laktasyonun pik döneminde (90.93) elde edilen PON1 enzim aktivite değerlerinden büyük (Kulka ve diğerleri, 2014); Holstein-Friesian (178.69), Polish Red (168.54) ve Norwegian (145.8) ırkı sığırlarda elde edilen bulgulara ve (Erzengin ve diğerleri, 2014; Kulka ve diğerleri, 2016) holstein ırkı için bulunduğu PON1 enzim aktivite değerlerine (152.29) benzer; holstein ırkı ineklerin gebe (gebeliğin ilk 3 ayı (283), gebeliğin 3-6 ayı (257) ve kuru dönem (216) ve gebe olmayan erken lohusalık (223), geç lohusalık (189) ve pik laktasyon (329)) gruplara ayrıldığı çalışmalarda bulunan değerlerden düşük düzeyde bulunmuştur (Turk ve diğerleri, 2008).

Simental ve jersey ırkı sığırlarda ise PON1 enzim aktivite değerleri sırasıyla 262,44 ve 328,59 olarak bulunmuştur. Yapılan literatür taramalarında anılan ırklara ait PON1 enzim aktivite değerlerine rastlanılmamıştır. Ancak Turk ve arkadaşlarının (2008) (Turk ve diğerleri, 2008) holstein ırkı ineklerin gebe (gebeliğin ilk 3 ayı (283), gebeliğin 3-6 ayı (257) ve pik laktasyon (329) PON1 enzim değerleri ile benzer; holstein ırkı ineklerde yapılan aynı çalışmada kuru dönem (216)) ve gebe olmayan (erken lohusalık (223), geç lohusalık (189)) dönemlerinde bulunan PON1 enzim aktivitesi değerlerinden yüksek bulunmuştur.

Simental ve jersey ırkı ineklerin orta kaliteli meralarda bile holsteinlerden başarılı şekilde yetiştiriciliğinin yapılabilmesi ve adaptasyon kabiliyetlerinin holstein ırkına göre daha iyi olması bu özelliğine bağlı olarak oluşabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada ortaya konulan yaşla birlikte PON1 enzim aktivitesinin azaldığı sonucu; 17-19 aylık düve ve 3-4 yaş holstein ineklerde yapılan çalışma (Antonic-Svetina ve diğerleri, 2011); wistar ratlarında yaşa bağlı olarak PON1 enzim aktivitesi değişiminin incelendiği çalışma (Dileep ve Syed, 2014); ve Taha ve arkadaşlarının (2010) dişi develer üzerinde yapmış olduğu çalışma ile benzer bulunmuştur (Taha ve arkadaşları,2010).

Bu bilgilere göre bu araştırmada PON1 enzim aktivitesi yüksek olan sığır ırklarının pestisitlere karşı dayanıklılıkta biyo-belirteç olarak kullanılabilmesi için gerekli ön şartların yerine geldiği sonucuna varılmıştır. Varılan bu sonuçla ilgili farklı türlerde yapılan çalışmalar bulunmasına rağmen sığırlarda biyo-belirteç olarak kullanılabilmesi konusunda bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Wan-Fen ve arkadaşlarının 1993 yılında yaptıkları araştırmada PON1 enzim aktivitesinin insanlarda pestisitlere karşı dayanıklılıkta biyolojik belirteç olarak kullanılabilmesi ortaya konulmuştur (Wan-Fen ve diğerleri, 1993).

Ayrıca; PON enzimlerinden yoksun olan *Drosophila melanogaster* üzerinde yapılan bir çalışmada öncelikle transgenic sinekler elde edilerek gram (-) bakteri olan *Pseudomonas aeruginosa* virulansı üzerindeki etkileri araştırılmış; oluşan transgenik PON1 sinekleri *Pseudomonas aeruginosa* ölümcül etkisinden koruduğu ve organofosfat toksisitesine direnç gösterdiği tespit edilmiştir (Stoltz ve diğerleri, 2008).

Serum PON1 enzim aktivitesi ile ilgili bugüne kadar insanlarda ve çeşitli memeli hayvanlarda yapılan çalışmalarda enzim aktivitesi ile ilgili pestisitlerin canlı vücudunda oluşturabileceği zararlı etkileri ortadan kaldırdığı ve çeşitli hastalıklara direnç oluşturabileceği konusunda çok sayıda çalışmalar mevcuttur (Furlong ve diğerleri, 1991 ; Vera Lucia ve diğerleri, 1998; Costa,ve diğerleri, 1999; Clement ve diğerleri, 2002; Arslan ve diğerleri, 2011; Erol ve diğerleri, 2013; Erzenin ve diğerleri, 2014).

Genomik seleksiyonda kullanılan işlevsel genomün daha pratik ve ekonomik yapılması araştırmacıları işlevsel genomün önemini ve bu konuda daha fazla çalışma yapmaya yöneltmiştir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sonuç olarak; yapılan bu çalışmada sığırlarda PON1 enzim aktivitesi ile pestisitlere karşı dayanıklılıkta biyo-belirteç olarak kullanılabilmesi için PON1 enzim aktivitesini etkileyen faktörler benzer çalışmalarının yapılması gerekliliği ortaya çıkmıştır.

7.KAYNAKLAR

Akçapınar, H., Özbeyaz, C. (1999). *Hayvan Yetiştiriciliği Temel Bilgileri*. Nadir Kitap.

Akçay, F. (2006). İnsan serum paraoksonaz enzim (PON1) 192 GLN-ARG gen polimorfiziminin belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.

Aksoy, A. R. (2003). *Hayvan Islahı Ders Notları*. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi.

Altınçekiç Öziş, Ş., Koyuncu, M. (2012). Çiftlik Hayvanları ve stres. *Hayvansal üretim*, 53(1), 27-37.

Anonim. (2003). Türkiye'nin Çevre Sorunları. *T.Ç.S.V. yayını*.

Antonic-Svetina, M., Turk, R., Svetina, A., Geres, D., Rekić, B., Juretić, D. (2011). Lipid status, paraoxonase-1 activity and metabolic parameters in serum of heifers and lactating cows related to oxidative stress. *Research in Veterinary Science*, 90(2), 298-300.

Arslan, M., Erzen, M., Demir, D. (2011). Comparison of serum paraoxonase 1 (PON1) activities among different sheep breeds in Turkey. *Journal of Animal Veterinary Advances*, 10(4), 489-494.

Aşkın, U., Karataş, F., Türköz, Y., Aydın, S. (2012). Paraoksonaz-1 enziminin bazı kinetik özelliklerinin incelenmesi ve ghrelin hormonu ile ilişkisi. *İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 1, 21-8.

Aviram, M., Hardak, E., Vaya, J., Mahmood, S. (1999). Human serum paraoxonase (PON1) Q and R electively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid lesions. *Circulation*, 101, 2510-17.

Aydın, C., Saydam, G. S., Yazıhan, N., Selçuk, H., Temizhan, A. (2008). Metabolik sendromda paraoksonaz-1 aktivitesi ve koroner arter hastalığı ile ilişkisi. *Yeni Tıp Dergisi*, 25, 174-177.

Aydın, M., Tülübaş, F., Ballı, İ., Mete, R., Oran, M., Yıldırım, O., Turan, F., Gürel, A. (2013). Adenomatöz kolon polipli hastalarda oksidatif stres mekanizmasının paraoksonaz ve arilesteraz üzerinden değerlendirilmesi. *Genel Tıp Dergisi*, 3, 120-3.

Azarsız, E., Sözman, E. Y. (2000). Paraoksonaz ve klinik önemi. *Türk Biyokimya Dergisi*, 25(3), 109-119.

Bal, S. H., Budak, F. (2013). Genomik, Proteomik Kavramlarına Genel Bakış ve Uygulama Alanları. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 39(1), 65-69.

Benzer, F., Kılıç, A., Erişir, M., Özçelik, M., Şimşek, H., Temizer Ozan, S. P. (2009). Brusellozisli sığırlarda serbest radikal hasarı ve antioksidant aktivite ile mineral madde düzeylerindeki değişiklikler. *e-journal of new World sciences Academy*, 4(2).

Bossaert, P., Trevisi, E., Opsomer, G., Bertoni, G., De Vlieghe, S., Leroy, J. L. (2012). The association between indicators of inflammation and liver variables during transition period in high yielding dairy cows: an observational study. *Veterinary Journal*, 192(2), 222-5.

Carey, J., Diana, M., Susan, Y., Villa, N., Navab, M., Srinivas, T. (2005). The paraoxonase gene family and atherosclerosis. *Free Radical Biology Medicine*, 38(2), 153-163.

Clement, E., Toby, B., Gail, P., Lucio, G. (2002). Pharmacogenomic considerations of the paraoxonase polymorphisms. *Pharmacogenomics*, 3, 341-348.

Costa, L., Cole, T., Vitalone, A., Furlong, C. (2005). Measurement of paraoxonase (PON1) status as a potential biomarker of susceptibility to organophosphate toxicity. *Clinica Chimica Acta*, 352(1-2), 37-47.

Costa, L., Li, W., Richter, R., Shih, D., Lusi, A., Furlong, C. (1999). The role of paraoxonase (PON1) in the detoxication of organophosphates and its human polymorphisms. *Chemico Biological Interactions*, 429, 119-120.

Costa, L., Vitalone, A., Cole, T., Clement, E. (2005). Modulation of paraoxonase (PON1) activity. *Biochemical Pharmacology*, 69, 541-550.

Cüce, N., Yosunkaya, A., Borazan, H., Esen, H., Bodur, S. (2013). Tekrarlanan desfluran anestezi uygulamalarının yaşlı sıçanların karaciğer histopatolojisi üzerindeki etkisinin paraoksonaz deneyi ile ilişkisinin belirlenmesi. *Türkiye Klinikleri Journal Medical Sciences*, 33(3), 716-25.

Çevik, M. U., Sefer, V., Yücel, Y., Akıl, E., Çelepkolu, T., Arıkanoğlu, A., Yüksel, H., Aluçlu, M. U. (2012). Epilepsili hastalarda serum paraoksonaz-1 aktivitesi ve malondialehit düzeyleri. *Dicle Tıp Dergisi/Dicle Medical Journal*, 39(4), 557-560.

Dantzer, R., Mormede, P. (1983). Stress in farm animals: A need for Reevaluation. *Journal of Animal Science*, 57, 6-18.

Davies, H. G., Richter, R. J., Keifer, M., Broomfield, C. A., Sowalla, J., Clement, E. (1996). The effect of the human serum paraoxonase polymorphism is reversed with diazoxon soman and sarin. *Nature Genetics*, 14(3), 334-336.

De Cezaro, M. C., Tvarijonaviciute, A., Tecles, F., Ceron, J. S., Eckersall, D. P., Ferreira, J. C., Schmidt, E. M. (2016). Changes in biochemical analytes in calves infected by nematode parasites in field conditions. *Veterinary Parasitology*, 30;219, 1-6.

Deakin, S. P., James, R. W. (2004). Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1. *Clinical Science*, 107, 435-447.

Deakin, S., Leviev, I., Brulhart-Meynet, M. C., James, R. W. (2003). Paraoxonase-1 promoter haplotypes and serum paraoxonase: A predominant role for polymorphic position-107, implicating SP1 transcription factor. *Biochemical Journal*, 372(2), 643-49.

Dileep, K., Syed, I. R. (2014). Age-Dependent Paraoxonase 1 (PON1) Activity and LDL Oxidation in Wistar Rats during Their Entire Lifespan. *The Scientific World Journal*, 1-6.

Draganov, D., La Du, B. (2004). Pharmacogenetics of paraoxonases: A Brief Review. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 369(1), 78-88.

Durrington, P., Mackness, B., Mackness, M. (2001). Paraoxonase and atherosclerosis. *Atherosclerosis Thromb Vasc Biol*, 21, 473-480.

Eckerson, H. W., Romson, J., Wyte, C., La Du, B. (1983). The Human Serum Paraoxonase Polymorphism: Identification of Phenotypes by Their Response to Salts. *American J Society of Human. Geneicst*, 35(2), 214-227.

El-Lethey, H., Aerni, V., Jungi, T. W., Wechsler, B. (2000). Stress and feather pecking in laying hens in relation to housing conditions. *British Poultry Science*, 41, 22-28.

Erden, İ. (2004). ST Elevasyonlu miyokard infarktöslü (stemi) hastalarda insan paraoksonaz geni Met-Leu/55 polimorfizimi. *Uzmanlık tezi*, T.C. Sağlık Bakanlığı Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Merkezi.

Erol, K., Gencer, N., Arslan, M., Arslan, O. (2013). Purification, characterization and investigation of in vitro inhibition by metals of paraoxonase from different sheep breeds. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 41(2), 125-30.

Erzengin, M., Demir, D., Arslan, M., Sinan, S. (2014). Purification and characterization of paraoxonase 1 (PON1) from Swiss Black holstein and montofon bovines. *Applied Biochemistry Biotechnology*, 173(7), 1597-1660.

Farid, A. S., Honkawa, K., Fath, E. M., Nonaka, N., Yoichiro, H. (2013). Serum paraoxonase-1 as biomarker for improved diagnosis of fatty liver in dairy cows. *BMC Veterinary Research*, 9:73, 2-11.

Freeman, B. (1987). The stress syndrome. *World's Poultry Science Journal*., 43(1), 15-19.

Furlong, C., Richter, R., Chapline, C., Crabb, J. (1991). Purification of Rabbit and human serum paraoxonase. *Biochemistry*, 30(42), 10133-10140.

Gan, K., Smolen, A., Eckerson, H. W., La Du, B. (1991). Purification of human serum paraoxonase /arylesterase. *Drug Metabolism Disposition January*, 19, 100-6.

Giordino, A., Veronesi, M., Rossi, G., Pezzia, F., Probo, M., Giori, L., Paltrinieri, S. (2013). Serum paraoxonase-1 activity in neonatal calves: Age related variations and comparison between healthy and sick animals. *The Veterinary Journal*, 197(2), 499-501.

Graham, A., Hassall, D. G., Rafique, S., Owen, J. S. (1997). Evidence for a paraoxonase-independent inhibition of low density lipoprotein oxidation by high-density lipoprotein. *Atherosclerosis*, 135(2), 193-204.

Harel, M., Aharoni, A., Gaidukov, L., Brumshtein, B., Khersonsky, O., Meged, R., Dvir, H., Ravelli, Raimmond. B. G., Andrew, M., Toker, L., Silman, J. L., Sussman, J. L., Tawfik, D. S. (2004). Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and antiatherosclerotic enzymes. *Nature Structural Molecular Biology*, 11, 412-419.

Heinecke, J. W., Lusis, A. J. (1998). Paraoxonase-gene polymorphisms associated with coronary heart disease: support for the oxidative damage hypothesis? *American J Society of Human. Geneticst*, 62, 20-24.

Hillel, J., Dunninton, E., Siegel, P. (1992). DNA Markers in poultry breeding and genetic analyses. *Poultry Science.*, 4, 169-186.

Hong-Liang, L., De-Pei, L., Chih-Chuan, L. (2003). Paraoxonase gen polymorphisms, oxidative stress and diseases. *Journal of Molecular Medicine*, 81(12), 766-79.

Hughes, J., Capleton, A., Courage, C. (2002). *A review of the effects of low-level exposure to organophosphate pesticides on fetal and childhood health.*

Jakubowski, H. (2000). Calcium-dependent human serum homocysteine thiolactone. *Journal of Biological. Chemistry.*, 275, 3957.

Karakoç, Ö., Nakiboğlu, N. (2010). Ditiyokarbomat pestisitleri ve tayin yöntemleri. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 12(1), 112-135.

Kelley, K. (1980). Stress and immune function: A bibliographic review. *Annales de Recherches Veterinaries.*, 11, 445-47.

Kulka, M., Beltowski, J., Klucinski, W., Orłowska, M., Kolodziejaska, j., Kleczkowski, M. (2014). Serum paraoxonase-1 activity of dairy Holstein-Fresian cows in different lactation stages – preliminary study. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 17(1), 143-147.

Kulka, M., Kolodziejska-Lesisz, J., Klucinski, W. (2016). Serum paraoxonase (PON1) activity and lipid metabolism parameters changes in different production cycle periods of holstein-friesian and Polish red and Norwegian breeds. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 19(1), 165-73.

Kurban, S., Anangür, A., Altunhan, H., Mehmetoğlu, İ., Örs, R., Erdem, S. S., Yerlikaya, F. H., Toker, A., Taşyürek, E. (2014). Effects phototherapy on serum paraoxonase activity and total antioxidant capacity in newborn caudice. *Nobel Medicus*, 10(3), 48-51.

La Du., (2002). Human serum paraoxonase/arylesterase. In: Kalow W(ed) Genetic factors influencing the metabolism of foreign compounds. (*International encyclopedia of pharmacology and therapeutics*) (s. 51-59). içinde New York: Pergamon Press.

La Du., Aviram, M., Billecke, S., Navab, M., Primo-Parmo, S., Sorenson, R. C., Standiford, T. J. (1999). On the physiological role(s) of the paraoxonase. *Chemico-Biological Interactions*, 119-120, 379-388.

Lara, M., Gama, L., Bufarah, G., Sereno, J., Celegato, E., De Abreu, U. (2002). Genetic polymorphisms at the k-casein in the pantaneiro cattle. *Archivos de Zootecnia*, 51, 99-105.

Lund-Katz, S., Liu, L., Thuahnai, S. T., Phillips, M. C. (2003). High density lipoprotein Structure. *Frontiers Bioscience*, 8, D1044-D1054.

Mackness, B., Durrington, P., Mackness, M. (1998). Human serum paraoxonase. *General Pharmacology*, 3, 329-36.

Mackness, M., Arrol, S., Durrington, P. (1991). Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *federation of european biochemical societies*, 286(1), 152-154.

Memişoğulları, R., Orhan, N. (2010). Paraoksonaz ve Kanser. *Korunulup Tıp Dergisi*, 2(2), 22-26.

Mench, J. (1992). The welfare of poultry in modern production systems. *Poultry Science*, 4, 107-128.

Mench, J., Van Tienhoven, A., Marsh, J., McCormick, C., Cunningham, D., Baker, R. (1986). Effects of cage and floor pen management of behavior, production and physiological stress responses of laying hens. *Poultry Science*, 65, 1058-1069.

Moberg, G. (1976). Effects of environment and management stress on reproduction in the dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 59(9), 1618-1624.

Moberg, G., Mench, J. (2000). *Biological response to stress: implications for animal welfare*. New York: CABI publishing.

Mogarekar, M. R., Rojekar, M. V. (2014). Harbingers of neonatal birth weight: The PON1 Arylesterase and lactonase activities. *Türk Biyokimya Dergisi*, 39(1), 25-29.

Montaldo, H. H., Meza-Herrera, C. A. (1998). Use of molecular markers and major genes in the genetic improvement of livestock Electron. *Journal of Biotechnology*, 1, 83-89.

Mueller, R., Hornung, S., Furlong, C., Anderson, J., Giblett, E., Motulsky, A. (1983). Plasma paraoxonase polymorphism: a new enzyme assay, population, family biochemical and linkage studies. *American Journal of Human Genetics*, 35, 393-408.

Navab, M., Hama, S. Y., Hough, G. P., Hedrick, C. C., Sorenso La Du, B. N. (1998). High density associated enzymes: Their role in vascular biology. *Current Opinion Lipidology*, 9(5), 449-456.

Nicholas, F. (1996). *Introduction to Veterinary Genetics*. Oxford University Press, U.K.

Nougadere, A., Merlo, M., Heraud, F., Rety, J., Truchot, E., Vial, G., Cravedi, J. P., Leblanc, J. (2014). How dietary risk assessment can guide risk management and food monitoring programmes: The approach and results of the French Observatory on Pesticide Residues (ANSES/ORP). *Food Control.*, 41, 32-48.

Öğüt, S. (2012). Isparta yöresinde kullanılan bazı pestisitlerin elma-kirazlarda pestisit kalıntıları ve bu ürünlerin tarımında çalışan tarım işçilerinin kan parametrelerine etkilerinin belirlenmesi. *Doktora Tezi*, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.

Pedro, A., Schwegler, E., Montagner, P., Krause, A., Acosta, D., Halfen, J., Garlet, T., Barros, C. C., Correa, M. N., Schneider, A. (2015). Characterization of single nucleotide polymorphisms in the promoter region bovine paraoxonase (PON1) gene affecting serum enzyme activity in dairy cows. *The Veterinary Journal*, 205(1), 101-3.

Rausellot, D., Therond, P., Beaudoux, J., Peynet, J., Legrand, A., Delattre, L. (1999). High density lipoproteins and the oxidative hypothesis of atherosclerosis. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 37, 939-949.

Richter, R., Clement, E. (1999). Determination of paraoxonase (PON1) status requires more than genotyping. *Pharmacogenetics*, 9, 745-53.

Richter, R., Jampsa, R., Jarvik, G., Costa, L., Clement, E. (2004). Determination of paraoxonase 1 status and genotypes at specific polymorphic sites. *Current Protocols in Toxicology*, p. 4.12.1 – 4.12.19.

Robertson, K. S., Hawe, E., Miller, G. J., Talmud, P. J., Humphries, S. E. (2003). Human Paraoxonase Gene Cluster Polymorphisms As Predictors of Coronary Heart Disease Risk in the Prospective Northwick Park Heart Study II. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1639(3), 203-212.

Rodrigo, L., Mackness, B., Durrington, P., Hernandez, A., Mackness, M. (2001). Hydrolysis of platelet-activating factor by human serum paraoxonase. *Biochemical Journal*, 354, 1-7.

Rosenblat, M., Rom, O., Volkova, N., Aviram, M. (2016). Nitro-oleic acid reduces J774A.1 Macrophage oxidative status and triglyceride mass: Involvement of paraoxonase 2 and triglyceride metabolizing enzymes. *Lipids*, 51(8), 941-953.

Rousselot, D. B., Therond, P., Louis Beaudoux, J., Peynet, J., Grang, A. L., Delattre, J. (1999). High density lipoproteins and the Oxidative hypothesis of atherosclerosis. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 37, 939-949.

Sapolsky, R., Romero, L., Munck, A. (2000). How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory and preparative actions. *Endocrine Reviews*, 21, 55-89.

Schmidt, H., Schmidt, R. (1998). PON-1 polymorphism Leu-Met54 is associated with carotid atherosclerosis: results of the Austrian Stroke Prevention Study. *Stroke*, 29, 2043-2048.

Schneider, A., Absalon-Medina, V., Esposito, G., Correa, M., Butler, W. (2013). Paraoxonase (PON1.2.3) expression in granulosa cells and PON1 activity in follicular fluid of dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 48(6), 984-96.

Schneider, A., Correa, M., Butler, W. (2013). Short communication: Acute phase proteins in Holstein cows diagnosed with uterine infection. *Research in Veterinary Science*, 95(1), 269-71.

Selek, S., Aslan, M., Nazlıgöl, Y. (2012). Serum PON1 activity and oxidative stress in non-alcoholic fatty liver disease. *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 9(3).

Selye, H. (1956). *The stress of life*. New York: McGraw Hill Book.

Seres, İ., Paragh, G., Deschene, E., Fulop Jr, T., Khalil, A. (2004). Study of factors influencing the decreased HDL associated PON1 activity with aging. *Experimental gerontology*, 39(1), 59-66.

Siegel, H. (1985). Immunological responses as indicators of stress. *World's Poultry Science Journal*, 41(1), 36-44.

Sinan, S. (2005). İnsan serum paraoksonaz enziminin ekspresyonu, saflaştırılması ve bazı antibiyotiklerin enzim üzerine etkilerinin araştırılması. *Doktora Tezi*, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı.

Solak, A., Tuncel, P. (2009). Metabolik sendromda leptin, adiponektin, okside LDL düzeyleri ve Paraoksonaz aktivitesi. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 7(1), 22-29.

Stoltz, D. A., Ozer, E. A., Taft, P. J., Barry, M., Liu, L., Kiss, P. J., Moninger, T. O., Persek, M. R., Zabner, J. (2008). Drosophila are protected from Pseudomonas aeruginosa lethality by transgenic expression of paraoxonase-1. *The Journal of Clinical Investigation*, 118(9), 3123 - 3131.

Taha, N., El-Noeman, S., Korshom, M., Mandour, A., El-Feky, M. (2010). Serum Glutathione Peroxidase and Paraoxonase-1 Enzyme Activities in Camel (Camelus dromedarius): Effect of age and sex differences. *Journal of Camel Practice and Research*, 17(1), 1-8.

Tarakçı, Ü., Türel, İ. (2009). Halk sağlığı amaçlı kullanılan pestisitlerin (Biyosidal) güvenilirlik standartlarının karşılaştırılması. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20(1), 11-18.

Tiryaki, O., Temur, C. (2010). The fate of pesticide in the environment. *Journal of Biological and Environmental Sciences*, 4(10), 29-38.

Turk, R., Juretic, D., Geres, D., Svetina, A., Turk, N., Flegar-Mestric, Z. (2008). Influence of oxidative stress and metabolic adaptation on PON1 activity and MDA level in transition dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 108(1-2), 98-106.

Turka, R., Podpecan, O., Mrkun, J., Kosec, M., Flegar-Mestric, Z., Perkov, S., Straric, J., Robic, M., Belic, M., Zrimsek, P. (2013). Lipid Mobilisation and oxidative stress as metabolic adaptation processes in dairy heifers during transition period. *Animal Reproduction Science*, 141(3-4), 109-115.

Türkoğlu, S., Gülcü Bulmuş, F., Parmaksız, A., Özkan, Y., Gürsu, F. (2008). Metabolik sendromlu hastalarda paraoksonaz-1 ve arilesteraz aktivite düzeyleri. *Fırat Tıp Dergisi*, 13(2), 110-115.

Ünsal, E. M. (2013). *Mikro İktisada Giriş*. İmaj Yayınları.

Vera Lucia, F., Cunha, B., Ana, R., Marcelo, V., Paulo, S., Jose, A., Ferraz, L., Jayma, C. B. (1998). Paraoxonase activity in sera from *Piaractus mesopotamicus holmberg* (Characidae) and *Hypostomus punctatus valenciennes* (Siluridae). *Revista brasiliense de Zoologia*, 15(3), 665-675.

Wan-Fen, L., Lucio, G., Clement, E. (1993). Serum paraoxonase status: A major factor in determining resistance to organophosphates. *Journal of Toxicology Environmental Health*, 40, 337-346.

Yıldırım, A., Aslan, Ş., Ocak, T., Yıldırım, S., Kara, F., Şahin, Y. N. (2007). Tramvalı hastalarda serum paraoksonaz/arilesteraz aktiviteleri ve serum malondialdehit düzeyleri. *The Eurasian Journal of Medicine*, 39, 85-88.

Yılmaz, İ., Akçay, M. N., Polat, M. F., Demiryılmaz, İ., Biçer, Ş. (2015). Kolekteral kanserli hastalarda serum paraoksonaz (PON) seviyesi. *Ok Meydanı Tıp Dergisi*, 31(2), 65-70.

Zhou, Z., Bulgari, O., Vailati-Riboni, M., Trevisi, E., Ballou, M., Cardoso, F., Luccini, D., Loo, J. (2016). Rumen-Protected methionine compared with rumen-protected choline improves immunometabolic status in dairy cows during the periparturition period. *Journal of Dairy Science*, 99(11), 8956-8969.