



ISSN:1306-3111
e-Journal of New World Sciences Academy
2009, Volume: 4, Number: 2, Article Number: 3B0003

Fulya Benzer
Ayşe Kılıç
Mine Erişir
Mehtap Özçelik
Halil Şimşek
P.Sema Temizer Ozan
fulyabenzer@yahoo.com
Elazığ-Türkiye

VETERINARY SCIENCES

Received: September 2008
Accepted: February 2009
Series : 3B
ISSN : 1308-7339
© 2009 www.newwsa.com

Veterinary Control and Research Institute
fulyabenzer@yahoo.com
Elazığ-Türkiye

BRUSELLOZİSLİ SIĞIRLARDA SERBEST RADİKAL HASARI VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTE İLE MİNERAL MADDE DÜZEYLERİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLER

ÖZET

Bu çalışmanın amacı brusella ile enfekte sığır serumunda reaktif oksijen ve reaktif nitrojen türleri, bazı antioksidanlar ile bazı mineral madde düzeylerini ölçmektir. Kontrol ve brusellozisli gruplardaki sırasıyla malondialdehit (MDA) düzeyi 2.09 ± 0.18 ve 4.69 ± 0.09 nmol/ml; glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi 32.02 ± 2.34 ve 28.38 ± 2.69 IU/g protein; paraoksonaz (PON1) aktivitesi 274.53 ± 11.10 ve 200 ± 21.11 IU/L; Vitamin E seviyesi 7.58 ± 0.83 ve $8.90 \pm 0,62$ μ mol/L; Vitamin A seviyesi 0.47 ± 0.09 ve $0.93 \pm 0,11$ μ mol/L; β -karoten düzeyi 0.33 ± 0.09 ve 0.25 ± 0.06 μ mol/L; Fe konsantrasyonu 188.33 ± 7.90 ve 150 ± 7.07 μ g/dl; Cu konsantrasyonu 78.10 ± 1.48 ve 95.56 ± 2.07 μ g/dl olarak bulunmuştur. Brusellalı sığırlarda serum MDA, vitamin A ve Cu düzeyleri kontrole göre artmış ($p < 0.05$), serum PON1 aktivitesi ile Fe konsantrasyonu kontrole göre düşmüş ($p < 0.05$), GSH-Px, NO, vitamin E ve β -karoten düzeyleri ise değişmemiştir ($p > 0.05$). Sonuç olarak brusella enfeksiyonu, sığır serumundaki serbest radikal düzeyinde, mineral madde konsantrasyonunda ve antioksidan aktivitede değişiklikler meydana getirmiştir.

Anahtar Kelimeler: Sığır, Brusellozis, Lipid Peroksidasyon, Mineral Madde, Antioksidant

ALTERATIONS IN ANTIOXIDANT ACTIVITY AND MINERAL LEVELS AND FREE RADICAL DAMAGE IN CATTLE INFECTED WITH BRUCELLOSIS

ABSTRACT

The objective of this study was to determine levels of serum reactive oxygen and nitrogen species, some antioxidant and mineral levels in cattle infected with brucellosis. In infected group and control group, malondialdehyde (MDA) level was 2.09 ± 0.18 and 4.69 ± 0.09 nmol/ml; glutathione peroxidase (GSH-Px) activity 32.02 ± 2.34 and 28.38 ± 2.69 IU/g protein; paraoxonase (PON1) activity 274.53 ± 11.10 and 200 ± 21.11 IU/L; Vitamin E level 7.58 ± 0.83 and $8.90 \pm 0,62$ μ mol/L; Vitamin A level 0.47 ± 0.09 and $0.93 \pm 0,11$ μ mol/L; β -karoten level 0.33 ± 0.09 and 0.25 ± 0.06 μ mol/L; Fe concentration 188.33 ± 7.90 and 150 ± 7.07 μ g/dl; Cu concentration 78.10 ± 1.48 and 95.56 ± 2.07 μ g/dl, respectively. Serum MDA, vitamin A and Cu levels in cattle infected with brucellosis were higher than control animals ($p < 0.05$); serum PON1 activity and Fe concentration decreased in infected group ($p < 0.05$); GSH-Px, NO, vitamin E and β -karoten levels didn't change ($p > 0.05$). In conclusion, brucellosis infection caused the changes in free radical level, some mineral concentration and antioxidant activity in cattle.

Keywords: Cattle, Brucellosis, Lipid Peroxidation, Minerals, Antioxidant



1. GİRİŞ (INTRODUCTION)

Brusellozis, hem insan hem de hayvan sağlığını yakından ilgilendiren ve hayvansal üretim üzerine önemli etkileri olan bulaşıcı, akut, subakut veya kronik seyirli zoonoz bir enfeksiyondur [20]. Brusellozis, hayvanlarda ekonomik kayıplara neden olmasıyla birlikte enfekte hayvanların süt ve süt ürünleri ile tüketicileri de etkilemesi sebebiyle halk sağlığı açısından da önemli bir hastalıktır [49].

Oksijenden tek elektron indirgenmesi sonucu oluşan süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil ve peroksit radikalleri gibi serbest radikaller birçok değişik reaksiyonlarla hücre ve dokularda meydana gelirler. Normal koşullar altında serbest radikallerin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta enzimatik [Zn, Cu-süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi] ve enzimatik olmayan [glutatyon (GSH), A ve E gibi vitaminler] savunma mekanizmaları gelişmiştir ki bunlar antioksidanlar olarak bilinirler [11]. Hücre ve dokuların yapısal bütünlüğünün korunmasında ve normal fonksiyonlarını yerine getirmelerinde oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki mevcut dengenin korunması büyük önem taşımaktadır. Bu dengenin bozulması organizmada oksidatif strese neden olur, bu oksidatif strese bağlı olarak oluşan serbest radikaller proteinler, lipitler, karbonhidratlar ve nükleik asitler gibi vücudumuzun temel yapısal moleküllerinin oksidatif hasarlanmasına neden olurlar [1 ve 43].

Lipit peroksidasyonu, organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan poliansatüre yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlar [1 ve 9]. Lipit peroksidasyonu, lipit peroksitlerin aldehitler, hidrokarbonlar ve hidroperoksitler gibi istenmeyen ürünlere dönüşmesi ile sona ermektedir. Lipit peroksidasyonunun aldehit ürünlerinden biri olan malondialdehit, lipit peroksidasyonunun ve oksidatif stresin bir göstergesi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır [1].

Paraoksonaz(PON1)enzimi, karaciğer, böbrek, ince bağırsak başta olmak üzere birçok dokuda ve serumda bulunur [3 ve 34]. PON1 enziminin, LDL-kolesterolü bakır (Cu) iyonunun ve serbest radikallerin indüklediği oksidasyondan korumak suretiyle antioksidan özellik gösterdiği bildirilmektedir [6, 19 ve 24]. Ateroskleroz gelişiminde, oksidatif stres altında oluşan hidrojen peroksiti %25 oranında hidroliz eder. Bu özellik PON1'in peroksidaz aktivitesine sahip olduğunu da göstermektedir [7 ve 44].

Makrofajlarda nitrik oksit (NO) sentezlenmesi, bakteriyel enfeksiyonlara ilk yanıttır. Bakteri endotoksinleri, protozoa ve parazit antijenleri ile uyarılan makrofajlar NO üreterek bakteri, tümör ve virüs hücreleri üzerine öldürücü sitotoksik etki yapar, yani NO spesifik olmayan immunitede rol oynar [25 ve 36].

Metal iyonlarının serbest radikal reaksiyonlarındaki asıl önemleri lipid peroksidasyonundaki etkileridir. Geçiş metalleri lipid peroksidasyonu başlatmaktan ziyade sentezlenmiş olan lipid hidroperoksitlerinin parçalanmalarını ve lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonlarını katalize ederek serbest radikallerin zararlarını artırırlar [1].

2. ARAŞTIRMANIN ÖNEMİ (RESEARCH SIGNIFICATION)

Bu çalışmada Brusella abortus (*B.abortus*) ile enfekte sığırların serumundaki serbest radikal hasarı, antioksidan aktivite ve mineral madde değişiminin ölçülmesi amaçlanmıştır. Araştırma kullanılan yöntem ve elde edilen bulgular bu konu çerçevesinde yapılacak çalışmalara ışık tutması açısından önem arz etmektedir.



3. GEREÇ VE YÖNTEM (MATERIAL AND METHOD)

Bu çalışmada; çeşitli köy ve işletmelerden gelen 15 adet sağlıklı 15 adet brusellalı olmak üzere toplam 30 adet kan örneği kullanılmıştır. Alınan kan serumu örnekleri kullanılıncaya kadar -20°C'de saklandı.

Rose Bengal Plate Test (RBPT): Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsünden temin edilen RBPT antijeninin 0.03ml'si aynı miktar kan serumu ile lam üzerinde karıştırıldı ve sonuçlar 4 dakika içinde değerlendirildi. Serum Aglütinasyon Testi (SAT): Bu testte kullanılan antijen Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsünden temin edildi. Serum örnekleri fenollü fizyolojik tuzlu su ile (pH 7.2) 1/10'dan başlayarak 1/640'a kadar sulandırıldıktan sonra tüplere, 0.5 ml SAT antijeni ilave edilerek 16-18 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonrası sonuçlar, pozitif ve negatif kontrol örnekleri ile karşılaştırılarak gözle değerlendirildi. Değerlendirmede 1/40 ve üzeri serum dilüsyonlarındaki ++'lık reaksiyonlar pozitif olarak kabul edildi [4].

Serumda lipit peroksit ölçümü Satoh [41] ve Yagi [51]'den modifiye edilen yönteme göre spektrofotometrik olarak yapılmıştır. Bu yöntem üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda son ürün olarak oluşan MDA'nın tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girerek oluşturduğu kompleksin pembe renginin 532 nm'de okunması esasına dayanır. MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü olmamasına karşın, lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi bir korelasyon gösterir.

GSH-Px aktivitesinin ölçümleri Lawrence ve Burk [27] tarafından tanımlanan şekilde gerçekleştirildi. Spesifik aktivite IU/g protein olarak hesaplandı. Plazma PON1 aktivitesi ölçümü substrat olarak kullanılan paraoksonun enzimatik hidrolizi sonucu oluşan 4-nitrofenolün ölçümü esasına dayanan Eckerson ve ark. [13]'lerinin metodu ile ölçüldü. NO düzeyinin ölçümü ise enzimatik Greiss [33] yöntemine göre, total nitrit düzeylerinin endojen NO üretiminin göstergesi olarak kabul edilmesi nedeniyle total nitrit olarak ölçüldü.

Mineral madde ölçümlerinde standart stok solüsyonlardan her bir element için standart çözeltiler hazırlanmış, kör olarak distile su kullanılmıştır. Alette her elemente ait dalga boyunda ışık veren Hallow Cathod lambaları (HCL) ile yine her elemente uygun hava-asetilen gaz karışımı, slit aralığı HCL ve Back Ground Correction (BGC) modları seçilmiştir. Bu şartlarda kör ve standart çözeltiler alete (Shimadzu AA-660, Flame Fotometre) verilerek kalibrasyon eğrileri çizdirilmiş ve alınan örneklerin ölçümü yapılmıştır.

Plazma A vitamini ve β-karoten düzeylerinin belirlenmesi için, askorbik asitle presipite edilen plazma lipoproteinlerinden hekzan ilavesi ile A vitamini ve β-karoten'in ayrılması esasına dayalı Suzuki ve Katoh [46]'un tanımladığı spektrofotometrik yöntem kullanıldı. Plazma E vitamini düzeyleri, Kayden [23]'inin belirttiği Emmeria-Engel reaksiyonu esasına dayalı spektrofotometrik metot kullanılarak ölçüldü.

Veriler Windows ile uyumlu SPSS 10.0 programı kullanılarak değerlendirildi. İki grup arasındaki farklılıklar "bağımsız t testi" [12] kullanılarak karşılaştırıldı. Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak belirtildi ve p<0.05 değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR (FINDINGS)

Brusellalı sığırlarda serum MDA, vitamin A ve Cu düzeyleri kontrole göre artmış (p<0.05), serum PON1 aktivitesi ile Fe konsantrasyonu kontrole göre düşmüş (p<0.05), GSH-Px, NO, vitamin E ve β-karoten düzeyleri ise değişmemiştir (p>0.05) (Tablo 1).

Tablo 1. *B.abortus* ile enfekte sığırlarda serumdaki bazı biyokimyasal parametrelerdeki değişiklikler.
(Table 1. Changes in some serum biochemical parameters in cattle infected with *B.abortus*)

Biyokimyasal Parametreler	Kontrol	Brusellozis	P
MDA (nmol/ml)	2.09±0.18 ^a	4.69±0.09 ^b	<0.05
GSH-Px (IU/g protein)	32.02±2.34	28.38±2.69	>0.05
PON1 (IU/L)	274.53±11.10 ^b	200±21.11 ^a	<0.05
Nitrit (µmol/L)	57.58±0.46	58.45±0.12	>0.05
Vit E (µmol/L)	7.58±0.83	8.90±0,62	>0.05
Vit A (µmol/L)	0.47±0.09 ^a	0.93±0,11 ^b	<0.05
β-karoten (µmol/L)	0.33±0.09	0.25±0.06	>0.05
Fe (µg/dl)	188.33±7.90 ^b	150±7.07 ^a	<0.05
Cu (µg/dl)	78.10±1.48 ^a	95.56±2.07 ^b	<0.05

5. TARTIŞMA (DISCUSSION)

B.abortus, fakültatif, hücre içi gram negatif bir bakteridir. Bütün aerobik organizmalar oksidatif bileşiklere karşı koruyucu mekanizmalara sahiptir. Bununla birlikte fagositik hücreler bakterileri yok etmek için serbest radikallerini kullanırlar [1]. Lipit peroksidasyon, serbest radikaller tarafından başlatılan ve zar yapısındaki yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olaydır. Olay otokatalitik olarak bir kez başladığında zincirleme olarak devam eder [9]. Lipit peroksidasyonu, lipit peroksitlerin aldehitler, hidrokarbonlar ve hidroperoksitler gibi istenmeyen ürünlere dönüşmesi ile sona ermektedir. Lipit peroksidasyonunun aldehit ürünlerinden biri olan malondialdehit, lipit peroksidasyonunun ve oksidatif stresin bir göstergesi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır [1]. Çalışmamızda brusellalı sığır serum MDA seviyesinin kontrole göre yüksek bulunması lipid peroksidasyonunun artmış olduğunu göstermektedir. Lipid peroksidasyonundaki artış sıklıkla serbest radikal aktivitesinin fazla olması ile açıklanmaktadır [45].

Reaktif oksijen türlerinin organizmada neden olduğu doku hasarları, bir ya da birkaç basamakta antioksidan savunma sistemleri ile engellenebilir [1]. GSH-Px hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu bir enzimdir. GSH-Px'in, fagositik hücrelerde önemli fonksiyonları vardır. Eritrositlerde de GSH-Px oksidan strese karşı etkili antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar [1]. Ratlara 7 gün boyunca tek doz *Brusella melitensis* inokülasyonu yapılarak oluşturulan deneysel çalışmada, brusellozis sonucu lipid peroksidasyonda artış, GSH-Px ve SOD aktivitesinde ise azalma olduğu gözlenmiştir [15]. Çalışmamızda GSH-Px aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir düşüş gözlenmiştir. GSH-Px aktivitesinin kontrole göre bir değişiklik göstermemesi enfeksiyonun kronik olmasından kaynaklanmış olabilir.

Doku hasarına yol açan en önemli mekanizmalardan birisi reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi olarak tanımlanan oksidatif strestir [18]. Oksidatif sistemdeki Cu^{1+}/Cu^{2+} iyonlarının oksidasyon esnasında, PON1'in paraoksonaz/ arilesteraz aktivitesi için gerekli olan Ca iyonunun yerine geçmesinin PON1'in kısmen inaktive etmektedir. Ayrıca hidrojen peroksidin PON1'in güçlü inaktivatörü olduğu gösterilmiştir [7]. *H. Pylori* enfeksiyonunda serum PON1 aktivitesiyle ilgili yapılan araştırmada *H. pylori* pozitif gruptaki serum PON1 aktivitesi *H. Pylori* negatif gruptaki PON1 aktivitesine göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur [5]. Serum PON1 enzim aktivitesinin düşük olmasının sebebi



kesin olarak bilinmemesine rağmen, iki önemli görüş ileri sürülmektedir. Bunlardan birincisi, düşük PON1 aktivitesinin, HDL kolesterol ile ilişkili bir enzim olmasından dolayı, azalmış HDL-kolesterol seviyeleri ile ilişkili olabileceği, diğer bir görüş ise, antioksidan bir enzim olan PON1 aktivitesinin serum lipoproteinlerini oksidasyona karşı korumakta ve bunun sonucu olarak da bu enzim aktivitesinin azalmış olabileceğidir [5 ve 7]. Yapılan bu çalışmada PON1 aktivitesinin düşüşü, Cu konsantrasyonu ve lipid peroksidasyondaki artıştan kaynaklanmış olabilir.

Bakteriyel enfeksiyonlara bağlı olarak NO salınımını bildiren çalışmalar mevcuttur [22, 37 ve 39]. NO bakteri, parazit gibi birçok patojenin ve tümör hücrelerinin ATP üreten oksidatif fosforilasyonun (ubikinon redüktaz'ı), glikolizinin (gliseraldehid-3-fosfat dehidrojenez'ı), TCA siklusunun (Cis-akonitaz'ı) Fe içeren bazı enzimlerini inhibe etmekte ve sonuçta bakteri, parazit, tümör hücrelerini öldürmektedir. NO hedef hücrelerde (bakteri, parazit, tümör hücresi) DNA sentezinin hız kısıtlayıcı enzimi olan ribonükleotid redüktazı bloke eder ve hücre DNA'sının deaminasyonu ile bu hücrelerin büyümesine engel olur [28, 47 ve 52].

Farmakolojik bir çalışmada, makrofajların antibrusella aktivitelerinde NO'nin rolü olduğunun bildirilmesine rağmen [21], brusella enfeksiyonlarında NO'nin rolü tam olarak belli değildir [42], ve bazı yazarlar reaktif oksijen türlerinin antibrusella aktivitesinde major rol oynadığını, NO'nin ise minör role sahip olduğunu bildirmişlerdir [21 ve 26]. Buna ilaveten yüksek miktardaki NO üretimi enfeksiyonun erken fazında brusella etkeninin öldürülmesi açısından konakçının faydasıdır. Bununla birlikte enfeksiyonun ileri aşamasında NO brusellanın eliminasyonunda rol oynamayabilir ve bakterinin çoğalmasının lehine olabilir [39].

Brusella türleri insanlar dahil olmak üzere bütün memelilerde kronik hale dönüşmeye meyillidir. Melek ve ark.[35]'ları tarafından yapılan çalışmada ratlarda *B. melitensis* ile enfeksiyon oluşturulmuş ve enfeksiyonun 7., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde hayvanlar öldürülerek plazma, karaciğer ve dalak dokularındaki MDA ve NO düzeylerine bakılmıştır. MDA ve NO konsantrasyonunun 45. günden itibaren plazma, karaciğer ve dalakta bazal seviyeye düşmeye başladığı görülmüştür. Çalışmamızda brusellalı sığır serumlarında NO düzeylerinin kontrollerden farklı olmamasının sebebi enfeksiyonun kronik olmasından kaynaklanmış olabileceği fikrini akla getirmektedir.

Gram negatif bakterilerle oluşan enfeksiyonlara bağlı olarak serumda mineral madde düzeyini araştıran çalışmalar mevcuttur [16, 29, 30 ve 31]. Lohuis ve ark.[30]'ları meme içine verilen *E. Coli* infuzyonuna bağlı olarak plazmadaki Fe ve Zn'nun düştüğünü, benzer şekilde Erskine ve Bartlett [16] meme içine minimum dozda verilen *E.coli*'nin serumdaki Zn, Fe ve Cu konsantrasyonunun azalttığını, ancak Cu'daki azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını bildirmiştir. Serumdaki Zn ve Fe konsantrasyonlarının azalması bakteriyel enfeksiyona karşı konakçının spesifik olmayan savunması ile ilgili olabilir. Lohuis ve ark.'ları [31] plazmadaki Fe ve Zn konsantrasyonları ile *E.coli* sayısı arasında bir orantı olduğunu göstermişlerdir. Mikrobial enfeksiyon sırasında Fe'in barsaklardan emiliminin azalması, Fe'in makrofajlardan salınımının azalması, Fe bağlayan bir glikoprotein olan laktoferrinin nötrofil ve barsak epitelyum hücrelerinden salınımının artması ve idrarla Fe atılımının artması serumdaki Fe azalmasının sebeplerinden olabileceği ileri sürülmüştür [50].

Gram negatif bakterilere ya da endotoksin kullanımına bağlı olarak serum Cu konsantrasyonlarında değişim olduğu bildirilmiştir [8, 16 ve 17]. Rat ve hamsterlerde parenteral endotoksin verilmesinin



ardından serum Cu konsantrasyonunda artış olduğu gözlenmiş ve bu artışın karaciğer tarafından seruloplazmin sentezinin artışından kaynaklanabileceği öne sürülmüştür [8 ve 17]. Brusella ile ilgili olarak insan [10] ve koyun [14] serumlarında Cu konsantrasyonu yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda brusella enfeksiyonuna bağlı olarak serum Cu konsantrasyonunda artış, Fe konsantrasyonunda ise azalma görülmesi bazı çalışmalar ile uyum içerisindedir.

Araştırmalar hem humoral hem de immün cevabın E, A vitaminleri ile β -karotenin antioksidan etkinliği sayesinde artırılabilirliğini bildirmektedir [38 ve 48]. Çeşitli çalışmalarda [2, 32 ve 40] A vitamininin brusella enfeksiyonuna karşı periferik monosit fonksiyonunu ve monosit-makrofaj sistemini desteklemek suretiyle etkin bir cevap oluşturduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada da bruselloziste E vitamini ve β -karoten düzeylerinin değişmemesine rağmen, A vitamininin belirgin artış gösterdiği tespit edilmiştir. Bu artış bruselloziste oluşan oksidatif hasara karşı diğer vitaminlerden ziyade A vitamininin daha etkin bir rol oynayabileceği şeklinde yorumlanabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER (CONCLUSION AND SUGGESTS)

Sonuç olarak, brusella enfeksiyonu sığırların serumlarında serbest radikal hasarı, antioksidan aktivite ve mineral madde düzeylerinde değişikliklere sebep olmuştur. Brusellozisli sığırlarda serbest radikal hasarını önlemek ve antioksidan sistemi desteklemek amacıyla tedavi eşliğinde vitaminlerin verilmesinin uygun olacağı kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR (REFERENCES)

1. Akkuş, İ., (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Konya. ss:1-60.
2. Albers, R., Bol, M., Bleumink, R., Willems, A.A., and Pieters, R.H., (2003). Effects of Supplementation with Vitamins A, C and E, Selenium, and Zinc on Immune Function in a Murine Sensitization Model. *Nutrition*, 19(11-12), ss: 940-6.
3. Alı, A.B., Zhang, Q., Lım, Y.K., Fang, D., Retnam, L., and Lım, S.K., (2003). Expression of Major HDL-Associated Antioxidant PON-1 is Gender and Regulated During Inflammation. *Free Rad Bio & Med*, 34, ss: 824-9.
4. Alton, G.G., Jones, L.M., Angus, R.D., and Verger, J.M., (1988). *Techniques for the Brucellosis Laboratory*. I.N.R.A., Paris.
5. Aslan, M., Nazligul, Y., Horoz, M., Bolukbas, C., Bolukbas, F.F., Gur, M., Çelik, H., and Erel, O., (2008). Serum Paraoxonase-1 Activity in Helicobacter pylori Infected Subjects. *Atherosclerosis*, 196(1), ss: 270-4.
6. Aviram, M., Hardak, E., Vaya, J., Mahmood, S., Milo, S., Hoffman, A., Billicke, S., Draganov, D., and Rosenblat, M., (2000). Human Serum Paraoxonases (PON1) Q and R Selectively Decrease Lipid Peroxides in Human Coronary and Carotid Atherosclerotic Lesions. *Circulation*, 101, ss: 2510-17.
7. Aviram, M., Rosenblat, M., Scott, B., Eroglu, J., Sorenson, R., Bisgaier, C.I., Newton, R.S., and La Du, B., (1999). Human Serum Paraoxonase (PON 1) is Inactivated by Oxidized Low Density Lipoprotein and Preserved by Antioxidants. *Free Rad Biol Med*, 26, ss: 892-904.
8. Barber, E.F. and Cousins, R.J., (1988). Interleukin-1 Stimulated Induction of Ceruloplasmin Synthesis in Normal and Copper Deficient Rats. *J Nutr*, 118, ss:375-381.
9. Basaga, H.S., (1990). Biochemical Aspects of Free Radicals. *Biochem Cell Biol*, 68, ss: 989-998.

10. Cesur, S., Kocaturk, P.A., Kavas, G.O., Aksaray, S., Tezeren, D., and Ciftci, U., (2005). Serum Copper and Zinc Concentrations in Patients with Brucellosis. *J Infect*, 50(1), ss:31-3.
11. Deby, C. and Pincemail, J., (1988). Oxygen toxicity, free radicals, and defense mechanisms. *Mol Cell Biochem* 1988 In: Recent Results in Pharmacology and Clinic. Fünfgeld EW, Rökan (ginko Bitoba), Eds. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. New York. ss: 56-70.
12. Düzgüneş, O., Kesici, T. ve Gürbüz, F., (1983). İstatistik Metotları I, Ankara Üniversitesi. Ziraat Fakültesi Yayınları: 861 Ders Kitabı, Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi.
13. Eckerson, E.W., Romson, J., Wyte, C., and La Du, B.N., (1983). The Human Serum Paraoxonase Polymorphism: Identification of Phenotypes by Their Response to Salts. *Am J Hum Genet*, 35, ss: 214-27.
14. Ekin, S., Kozat, S., Gunduz, H., Mert, N., and Karakaya, C., (2004). Levels of Some Trace Elements and Rheumatoid Factor in Sheep with Brucellosis. *Biol Trace Elem Res*, 99(1-3), ss:123-8.
15. Erdogan, S., Aslantas, O., Çelik, S., and Atik, E., (2008). The effects of Increased cAMP Content on Inflammation, Oxidative Stress and PDE4 Transcripts During *Brucella melitensis* Infection. *Res Vet Sci*, 84(1), ss: 18-25.
16. Erskine, R.J. and Bartlett, P.C., (1993). Serum Concentrations of Copper, Iron, and Zinc During *Escherichia coli*-Induced Mastitis. *J Dairy Sci*, 76, ss:408-413.
17. Etzel, K.R., Swerdel, M.R. Swerdel, J.N., and Cousins, R.J. (1982). Endotoxin-Induced Changes in Copper and Zinc Metabolism in the Syrian Hamster. *J Nutr*, 112, ss:2363-2373.
18. Halliwell, B., (1984). Lipid Peroxidation, Oxygen Radicals, Cell Damage, and Antioxidant Therapy. *Lancet*, 23, ss:1396-1397.
19. Heijmans, B.T., Westendorp, R.G.J., Lagaay, A.M., Knook, D.L., Klufft, C., and Slagboom, P.E., (2000). Common Paraoxonase Gene Variants, Mortality Risk and Fatal Cardiovascular Events in Elderly Subjects. *Atherosclerosis*, 149, ss: 91-7.
20. İzgür, M., Akay, Ö., Arda, M. ve Erdeğer, J., (1992). Sığıır Brucellosis'inin Teşhisinde EDTA ve 56°C'de Aglutinasyon Testlerinin Kullanılması. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 39, ss: 191-200.
21. Jiang, X., Leonard, B., Benson, R., and Baldwin, C.L., (1993). Macrophage Control of *Brucella abortus*: Role of Reactive Oxygen Intermediates and Nitric Oxide. *Cell Immunol*, 151(2), ss: 309-19.
22. Kandemir, Ö., Eskandari, G., Çamdeviren, H., Şahin, E., Kaya, A. ve Atik, U., (2002). Plasma Malondialdehyde and Nitrate Levels in Patients With Brucellosis. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 4, ss: 405-409.
23. Kayden, H.J., (1973). Spectrophotometric Method for Determination of Tocopherol in Red Blood Cells. *J Lipid Res*, 14(5), ss:533-540.
24. Kelso, G.J., Stuart, W.D., Richter, R.J., Furlong, C.E., Jordan-Starck, T.J., and Harmony, J.A.K., (1994). Apolipoprotein J is Associated With Paraoxonase in Human Plasma. *Biochemistry*, 33, ss: 832-39.
25. Komarov, A.M. and Reddy, M.N., (1998). Effect of Septic Shock on Nitrate, Free Amino Acids and Urea in Murine Plasma and Urine. *Clin Biochem*, 31, ss:107-11.
26. Ko, J., Gendron-Fitzpatrick, A., and Splitter, G.A., (2002). Susceptibility of IFN Regulatory Factor-1 and IFN Consensus



- Sequence Binding Protein-Deficient Mice to Brucellosis. *J Immunol*, 168(5), ss: 2433-40.
27. Lawrence, R.A. and Burk, R.F., (1976). Glutathione Peroxidase Activity in Selenium-Deficient Rat Liver. *Bioch Biophys Res Commun*, 71, ss: 952-958.
 28. Lepoivre, M., Feischi, F., Coves, J., Thlander, L., and Fontecave, M., (1991). Unactivation of Ribonucleotide Reductase by Nitric Oxide. *Biochem Biophys Res Commun*, 179, ss: 442-448.
 29. Lohuis, J.A., Van Leeuwen, W., Verheijden, J.H., Smit, J.A., Brand, A., and Van Miert, A.S., (1988a). Growth of *Escherichia coli* in whole and Skim Milk From Endotoxin-Induced Mastitic Quarters: In Vitro Effects of Deferoxamine, Zinc and Iron Supplementation. *J Dairy Sci*, 71, ss: 2772-2781.
 30. Lohuis, J.A., Van Leeuwen, W., Verheijden, J.H., Van Miert, A. S., and Brand, A., (1988b). Effect of Dexamethasone on Experimental *Escherichia coli* Mastitis in the Cow. *J Dairy Sci*, 71, ss: 2782-2789.
 31. Lohuis, J.A., Schukken, Y.H. Verheijden, J.H., Brand, A., and Van Miert, A.S., (1990). Effect of Severity of Systemic Signs During the Acute Phase of Experimentally Induced *Escherichia coli* Mastitis on Milk Production Losses. *J Dairy Sci*, 73, ss: 333-341.
 32. Lopez, M.C. and Giraudó Conesa, L.C., (1982). Importance of the Retinoids in Malnutrition, the Immune Response in Cancer. *Medicina (B Aires)*, 42(4), ss: 438-44.
 33. Lyall, F., Young, A., and Greer, I.A., (1995). Nitric Oxide Concentrations are Increased in the Fetoplacental Circulation in Preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 173(3), ss: 714-718.
 34. Mackness, B., Durrington, P.N., and Mackness, M.I., (1998). Human Serum Paraoxonase. *Gen Pharm*, 3, ss: 329-36.
 35. Melek, I.M., Erdogan, S., Çelik, S., Aslantas, O., and Duman, T., (2006). Evaluation of Oxidative Stress and Inflammation in Long Term *Brucella melitensis* Infection. *Mol Cell Biochem*, 293(1-2), ss: 203-9.
 36. Munoz-Fernandez, M.A., Fernandez, M.A., and Fresno, M., (1992): Synergism Between Tumor Necrosis Factor-Alpha and Interferon-Gamma on Macrophage Activation for the Killing of Intracellular *Trypanosoma cruzi* Through a Nitric Oxide-Dependent Mechanism. *Eur J Immunol*, 22, ss: 301-307.
 37. Nisbet, C., Yarım, G.F., Çiftci, A., Çenesiz, S., and Çiftci, G., (2007). Investigation of Serum Nitric Oxide and Malondialdehyde Levels in Cattle Infected with *Brucella abortus*. *Ankara Üniv, Vet Fak Derg*, 54, ss: 159-163.
 38. Nockels, C.F., (1979). Protective Effects of Supplemental Vitamin E Against Infection. *Fed Proc*, 38(7), ss: 2134-8.
 39. Orozco, G., Sánchez, E., López-Nevot, M.A., Caballero, A., Bravo, M.J., Morata, P., Colmenero, J.D., Alonso, A., and Martin, J., (2003). Inducible Nitric Oxide Synthase Promoter Polymorphism in Human Brucellosis. *Microbes Infect*, 5, ss: 1165-1169.
 40. Ritacco, K.A., Nockels, C.F., and Ellis, R.P., (1986). The influence of Supplemental Vitamins A and E on Ovine Humoral Immune Response. *Proc Soc Exp Biol Med*, 182(3), ss: 393-8.
 41. Satoh, K., (1978). Serum Lipid Peroxide in Cerebrovascular Disorders Determined by a New Colorimetric Method. *Clin Chim Acta*, 90, ss: 37-43.
 42. Schneemann, M., Schoedon, G., Hofer, S., Blau, N., Guerrero, L., and Schaffner, A., (1993). Nitric Oxide Synthase is not a



- Constituent of the Antimicrobial Armature of Human Mononuclear Phagocytes. *J Infect dis*, 167(6), ss: 1358-63.
43. Serafini, M. and Del Rio, D., (2004). Understanding the Association Between Dietary Antioxidants, Redox Status and Disease: is the Total Antioxidant Capacity the Right Tool?. *Redox Report*, 9(3), ss: 145- 152.
 44. Shoji, T., Nishizawa, Y., Fukumato, M., Shimamura, K., Kimura, J., Kanda, H., Emoto, M., Kawagishi, T., and Morri, H., (2000). Inverse Relationship Between Circulating Oxidized Low Density Lipoprotein (OxLDL) and Anti-Oxidized LDL Antibody Levels in Healthy Subjects. *Atherosclerosis*, 148, ss: 171-7.
 45. Smith, M., Sandy, M., and Di Monte, D., (1987). Free Radicals, Lipid Peroxidations and Parkinson's Disease (letter). *The Lancet*, 3, SS:38.
 46. Suzuki, J. and Katoh, N., (1990). A Simple and Cheap Methods for Measuring Serum Vitamin A in Cattle Using only a Spectrophotometer. *Jpn Vet Sci*, 52(6), ss: 1282-1284.
 47. Taylor, A.W., Severn, A., and Philips, R.S., (1996). Kinetics of Nitric Oxide Production During Infection and Reinfection of Mice with *Plasmodium chabaudi*. *Parasite-Immunology*, 18, ss: 425-430.
 48. Tengerdy, R.P., Ameghino, E., and Riemann, H., (1991). Serological Responses of Rams to a *Brucella ovis*-Vitamin E Adjuvant Vaccine. *Vaccine*, 9(4), ss: 273-6.
 49. Türütoğlu, H., Mutluer, B., and Uysal, Y., (2003). Burdur Yöresinde Toplanan Sütlerin *Brucella* İnfeksiyonu Yönünden Araştırılması. *Turk J Vet Anim Sci*, 27, ss: 1003-1009.
 50. Weinberg, E.D., (1984). Iron Withholding: A Defense Against Infection and Neoplasia. *Physiol Rev*, 64, ss:65-102.
 51. Yagi K., (1984). Assay For Blood Plasma or Serum. *Methods in Enzymol*, 105, ss: 328-31.
 52. Zhang, J. and Snyder, S.H., (1992). Nitric Oxide Stimulates Auto-ADP-Ribosylation of Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 89, ss: 9382-9385.