



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**RESPIRATUAR SİNSİTYAL VİRUS İLE DOĞAL ENFEKTE KUZU
PNÖMONİLERİNDE İNDÜKLENEBİLİR NİTRİK OKSİT
SENTETAZ, CD3 VE CD8 İMMUN-EKSPRESYONLARININ
ARAŞTIRILMASI**

Hemşire Ceyhun AYDEMİR
PATOLOJİ ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Dr. Öğr Üyesi Turan YAMAN

VAN- 2019

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RESPIRATUAR SİNSİTYAL VİRUS İLE DOĞAL ENFEKTE KUZU
PNÖMONİLERİNDE İNDÜKLENEBİLİR NİTRİK OKSİT
SENTETAZ, CD3 VE CD8 İMMUN-EKSPRESYONLARININ
ARAŞTIRILMASI**

Hemşire Ceyhun AYDEMİR
PATOLOJİ ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Dr. Öğr Üyesi Turan YAMAN

VAN- 2019

Bu Araştırma Van Yüzüncü Yıl Ünivertesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı Tarafından
(TYL-2019-8309) No'lu proje olarak desteklenmiştir

KABUL VE ONAY

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Patoloji Anabilim Dalında Hemşir Ceyhun AYDEMİR tarafından hazırlanan “*Respiratuar Sinsityal Virus İle Doğal Enfekte Kuzu Pnömonilerinde İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentetaz, CD3 Ve CD8 İmmun-Ekspresyonlarının Araştırılması*” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ/OY-ÇOKLUĞU ile kabul/ret edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 10/07/2019


İmza

Dr. Öğr. Üyesi Turan YAMAN
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Jüri Üyesi


İmza
Prof. Dr. Zalıt YENER
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Jüri Başkanı


İmza

Dr. Öğr. Üyesi Ahmet UYAR
Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi
Jüri Üyesi

TEZ KABUL TARİHİ .../.../2019

Tez hakkında alınan jüri kararı, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.


İmza

Prof. Dr. Semiha DEDE
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

T.C.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Yüksek Lisans olarak hazırlayıp sunduğum "*Respiratuar Sinsityal Virus İle Doğal Enfekte Kuzu Pnömonilerinde İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentetaz, CD3 ve CD8 İmmun-Ekspresyonlarının Araştırılması*" başlıklı tezim; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgiler akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak hazırlanıp, bu kural ve ilkeler gereği, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Ceyhun AYDEMİR

Tarih: 08.07.2019

İmza: 

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve katkılarından dolayı Prof.Dr. Zabit YENER, Dr.Öğr. Gör. Turan YAMAN ve Arş. Gör. Ömer Faruk KELEŞ hocalarımıza teşekkürlerimi sunarım. Tez konusunun belirlenmesinde ve tez çalışmaları boyunca bilgi, tecrübe, yardım ve fedakarlık dolaylı danışman hocam Dr.Öğr. Gör. Turan YAMAN hocama, eğitim hayatı boyunca desteklerini benden esirgemeyen aileme ve mesai arkadaşlarımda ayrıca teşekkür ve minnetlerimi sunarım.



ÖZET

AYDEMİR C. Respiratuar Sinsityal Virus ile Doğal Enfekte Kuzu Pnömonilerinde İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentetaz, CD3 ve CD8 İmmun-Ekspresyonlarının Araştırılması. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2019. Respiratorik Sinsityal Virus (RSV), Paramyxoviridae familyasının Pneumovirus genusuna dahil bir RNA virusudur. Sunulan bu çalışmanın amacı, RSV ile doğal enfekte kuzu akciğer dokularında indüklenebilir nitrik oksit sentetaz (iNOS), CD3 (Pan T hücre) ve CD8 (sitotoksik T hücre) ekspresyonlarını immunohistokimya (IHC) metodu ile değerlendirmektir. Bu amaçla, mezbananede kesilen kuzulardan, 100 adet pnömonili ve 10 adet kontrol akciğer doku örnekleri makroskopik olarak incelendikten sonra alındı ve %10'luk tamponlu formaldehitte tespit edildi. Rutin doku takibinden geçirilen dokular, histopatolojik incelemeler için Hematoksilen & Eozin (H&E) ile boyandı. Doku kesitleri ayrıca immunohistokimyasal incelemeler için poliklonal antikorlar kullanılarak Streptavidin-peroksidaz (ABC) prosedürüne göre boyandı. İmmunohistokimyasal incelemeler sonucunda onsekiz (18) dokuda RSV pozitif olarak tespit edildi. Daha sonra bu pozitif vakalar iNOS, CD3 ve CD8 immün-ekspresyonları açısından değerlendirildi. Bu vakaların tamamında iNOS ekspresyonunda kontrole göre artış belirlenirken, ondört (14) vakada CD3⁺ T lenfositlerin sayısında artış tespit edildi. CD8⁺ T lenfositler ise beş (5) vakada belirlendi. Sonuç olarak, RSV ile pozitif vakalarda iNOS immün-ekspresyonunda artış olması ve vakaların çoğunda CD3⁺ T lenfositlerin sayısında artış tespit edilmesi, RSV ile doğal enfekte kuzu pnömonilerinde meydana gelen immün yanıtta, iNOS ve CD3⁺ T lenfositlerin önemli rol aldıklarını gösterdi.

Anahtar Kelimeler: CD3, CD8, iNOS, İmmunohistokimya, RSV, Kuzu.

ABSTRACT

AYDEMİR C. Investigation of Inducible Nitric Oxide Synthetase, CD3 and CD8 Immune-Expressions in Naturally Infected Lamb Pneumonias with Respiratory Syncytial Virus. Van Yuzuncu Yil University, Institute of Health Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pathology, M.Sc. Thesis, Van, 2019. Respiratory syncytial virus (RSV) is an RNA virus that belongs to the Pneumovirus genus of the Paramyxoviridae family. The aim of this study was evaluating the expressions of inducible nitric oxide synthetase (iNOS), CD3 (pan T cells), and CD8 (cytotoxic T cells) in lamb lungs naturally infected with RSV using the immunohistochemistry (IHC) method. For this purpose, 100 pneumonia and 10 control lung tissue samples were taken from lambs slaughtered in the slaughterhouse after macroscopic examination. The samples were fixed in 10% neutral formalin and embedded in paraffin using routine methods. Sections of 5 µm in thickness were cut. The streptavidin–peroxidase method (ABC) was used for staining the sections for IHC examination, which revealed RSV positivity in 18 tissues. These positive cases were then evaluated for iNOS, CD3, and CD8 immunostaining. In all these cases, an increase in iNOS expression was detected compared with control, whereas CD3+ T lymphocytes were detected in 14 cases and CD8+ T lymphocytes were detected in five cases. Given the increase of iNOS immunoexpression in all RSV-positive cases and increase in the number of CD3 T lymphocytes in most cases, it was concluded that iNOS and CD3+ T lymphocytes play an important role in the immune response in lamb pneumonia arising due to natural infection with RSV.

Key Words: CD3, CD8, Immunohistochemistry, iNOS, Lamb, Rsv

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAYII
ETİK BEYAN.....	III
TEŞEKKÜR.....	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
İÇİNDEKİLER	VII
SİMGE VE KISALTMALAR	IX
ŞEKİLLER LİSTESİ	X
TABLO LİSTESİ.....	XII
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.Solunum Sistemi	3
2.1.1. Solunum sistemi hastalıklarının patogenezi	3
2.1.2. Akciğer anatomisi	4
2.2. Solunum Sistemi Hastalıkları	4
2.3.Pnömoni	5
2.4.Pnömonilerin Sınıflandırılması.....	5
2.4.1. Bronkopnömoni	5
2.4.2. Embolik-metastatik pnömoni.....	7
2.4.3. Granüloamatöz pnömoni	8
2.4.4.İnterstisyel pnömoni	9
2.5. Respiratuvar Sinsityal Virüs	10
2.5.1.Klinik muayene.....	11
2.5.2. Mikroskopik belirtiler	12
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	13
3.1. Histopatolojik İnceleme	13
3.2. İmmunohistokimyasal İnceleme	13
4. BULGULAR.....	15
4.1. Makroskopik Bulgular	15
4.2. Mikroskopik Bulgular	15

4.3. İmmunohistokimyasal Bulgular.....	16
4.3.1. Anti RSV boyamalar.....	16
4.3.2. Anti-iNOS boyamalar.....	19
4.3.3. Anti CD3 boyamalar.....	22
4.3.4. Anti CD8 boyamalar.....	25
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	29
KAYNAKLAR.....	35
ÖZGEÇMİŞ.....	43
EKLER.....	44
EK 1. Etik Kurul Kesin Sonuç Belgesi.....	44
EK. 2. Tez Orjinallik Raporu.....	45

SİMGE VE KISALTMALAR

μ	: Mikron
ABC	: Stepavidin Peroksidaz Metod
BHV1	: Sığır Herpes Virüsü
BRSV	: Bovine Respiratuar Sinsityal Virüs
CD3	: Yüzey Farklılaşma Antijeni-3
CD4	: Yüzey Farklılaşma Antijeni-4
CD8	: Yüzey Farklılaşma Antijeni-8
CRSV	: Caprine Respiratuar Sinsityal Virüs
DAB	: Diaminobenzidine
DNA	: Deoksiriboz Nükleik Asit
eNOS	: Endotelial Nitrik Oksit Sentez
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksidaz
HE	: Hematoksilen Eozin
IHC	: İmmunohistokimyasal Boyama
IL-1 α	: Makrofaj İnflamatuar Protein 1
IL-1 β	: İnterlökin-1 Beta
IL-6	: İnterlökin 6
İNOS	: İntüklenebilir Nitrik Oksit Sentez
nNOS	: Nöral Nitrik Oksit Sentez
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentez
ORSV	: Koyun Respiratuar Sinsityal Virüsü
PBS	: Phosphate Buffer Solusyon
PIV-3	: Paraiflenza Tip-3 Virüsü
PVM	: Fare Pnömoni Virüs
RNA	: Ribo Nükleik Asit
RSV	: Respiratuar Sinsityal Virüs
TNF- α	: Tümör Nekroz Faktör Alfa
TRTV	: Hindi Rinotakeit Virüs
α	: Alfa
β	: Beta

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Akciğerin sağ loblarında (kraniyal ve mediyal) lobar dağılımlı, sol loblarında ise lobar dağılımlı hepatize ve atelektazik pnömoni odakları (yıldızlar).....	15
Şekil 2. İntersitisyel pnömoni; Alveollerin lümeninde Sinsityal hücre oluşumları (oklar) ve alveollerin duvarında tip II epitel hücre proliferasyonu (epitelizasyon) izlenmekte (ok başları). H&E, bar: 50 µ.....	16
Şekil 3. Bronş epitelinde (siyah ok), submukozada ve bronşiyal bezler arasındaki yangısal hücrelerde (Kırmızı oklar) RSV immun-pozitifliği izlenmekte. ABC-P, bar: 200 µ.....	17
Şekil 4. Bronş epitelinde (okbaşları) ve submukozadaki yangısal hücrelerde (oklar) RSV immun-pozitifliği izlenmekte. ABC-P, bar: 100 µ.....	18
Şekil 5. Bronşiyol epitelinde (Kırmızı oklar) ve alveol lümenindeki yangısal hücrelerde (okbaşları) RSV immun-pozitifliği izlenmekte. ABC-P, bar: 100 µ.....	18
Şekil 6. Alveolar makrofajlarda RSV immün-reaktivitesi izlenmekte. ABC-P, bar: 100µ.....	18
Şekil 7. Alveol lümenindeki yangısal hücrelerde (oklar) ve eksudatta RSV immün-reaktivitesi izlenmekte. ABC-P, bar: 100 µ.....	19
Şekil 8. Kontrol grubu kuzularda iNOS immun-reaktivitesi. Bronşiyol epitelinde iNOS immun-reaktivitesi izlenirken (oklar), arter endotelinde reaktivite izlenmemekte (okbaşı). ABC-P, bar: 100 µ.....	20
Şekil 9. RSV pozitif kuzularda bronşların submukozaındaki kapillar damarlarda iNOS immun-reaktivitesi izlenmekte. ABC-P, bar: 100 µ.....	20
Şekil 10. RSV pozitif kuzularda bronşiyol epitelinde, submukozadaki kapillar damarlarda (okbaşları) ve arterlerde (oklar) iNOS immun-reaktivitesi izlenmekte. ABC-P, bar: 100 µ.....	21
Şekil 11. RSV pozitif kuzularda alveolar makrofajlarda iNOS immun-reaktivitesi izlenmekte. ABC-P, bar: 100 µ.....	21
Şekil 12. RSV pozitif kuzularda alveol lümenlerindeki yangısal hücrelerde iNOS immun-reaktivitesi izlenmekte. ABC-P, bar: 100 µ.....	22
Şekil 13. Kontrol grubu kuzularda bronşiyol submukozaında az sayıda CD3 ⁺ T lenfositler izlenmekte. ABC-P, bar: 100 µ.....	23

Şekil 14.A: RSV pozitif kuzularda, bronşiyal mukozada ve submukozada yaygın CD3 ⁺ T lenfositler izlenmekte ABC-P, bar: 500 µ; B: Epitelyal mukoza (oklar) ve propriya mukozada (okbaşı) CD3 ⁺ T lenfositler izlenmekte. ABC-P, bar: 100 µ.....	23
Şekil 15. RSV pozitif kuzularda peribronşiyoler alanda ve akciğer parankiminde yaygın CD3 ⁺ T lenfositler izlenmekte. ABC-P, bar: 500µ.....	24
Şekil 16. RSV pozitif kuzularda propriya mokoza ve submukozal alanda yaygın CD3 ⁺ T lenfositler izlenmekte. ABC-P, bar: 100 µ.....	24
Şekil 17. RSV pozitif kuzularda bronşiyollümeninde (okbaşı),epitelyal mukozada (oklar) ve submukozada yaygın yaygın CD3 ⁺ T lenfositler (yıldızlar) izlenmekte. ABC-P, bar: 100 µ.....	25
Şekil 18. Kontrol grubu kuzularda CD8 immun-boyaması. Reaktivite izlenmemekte. ABC-P, bar: 100 µ.....	26
Şekil 19. RSV pozitif kuzularda propriya mukoza (okbaşı) ve submukozada (oklar) CD8 ⁺ T lenfositler izlenmekte. ABC-P, bar: 100 µ.....	26
Şekil 20. RSV pozitif kuzularda bronşiyal bezlerin arasında CD8 ⁺ T lenfositler izlenmekte (oklar). ABC-P, bar: 100 µ.....	26
Şekil 21. RSV pozitif kuzularda alveol lümenlerinde CD8 ⁺ T lenfositler izlenmekte. ABC-P, bar: 100 µ.....	27

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. IHC boyamalarda antikorların vakalardaki immun-reaktivite yoğunluğu..... 28

Tablo 2. IHC boyamalarda antikorlara göre immun-reaktivitenin görüldüğü alanlar ... 28



1.GİRİŞ

Koyunlarda solunum yolu hastalıkları birçok ülkede koyun endüstrisinde büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Paramyxoviridae familyasına ait bir pnömovirüs olan respiratory sinsityal virus (RSV), insanlarda önemli solunum yolu patojeni olup (Dungworth, 1993) ruminantlarda bovin RSV, ovin RSV ve caprin RSV olarak tanımlanmıştır (Eleraky ve ark., 2001; Çeribaşı ve ark., 2013).

RSV enfeksiyonlarının kontrolü ve klirensi için adaptif bir immün yanıtın gerekliliği vurgulanmıştır (Sacco ve ark., 2014). Enfeksiyon bölgesinde toplanan hücrelerin işlevselliğinde potansiyel farklılıklar olabileceği ve bu farklılıkların RSV enfeksiyonunda kilit rol oynayabileceği belirtilmiştir (Sow ve ark., 2010). İnsan RSV suşu ile enfekte edilmiş yenidoğan kuzularda makrofajların, nötrofillerin, yardımcı ve sitotoksik T lenfosit hücrelerinin immün yanıtta görev aldıkları deneysel olarak gösterilmiştir (Sow ve ark., 2010). BRSV ile enfekte olmuş buzağular, akciğerlerde, trakeada ve nazofarinkste artmış CD8 T-hücre infiltrasyonu sergilemiştir (McInnes ve ark., 1999). Farelerde ve insanlarda, CD4 ve CD8 T hücrelerinin primer RSV enfeksiyonunun ortadan kaldırılmasına aracılık ettiği bildirilmiştir (Meyer ve ark., 2008).

Sellüler ve humoral immün yanıtın oluşumunda rol oynayan CD3 T lenfositler (Sözmen ve ark., 2010), çoğu virüs enfeksiyonuna karşı adaptif immün yanıt için kritik öneme sahiptir (Johnson ve ark., 2007). CD3 T hücrelerinin, RSV patogenezi anlamak için önemli olabileceği belirtilmiştir. RSV enfeksiyonunu önlemek için aşı yaklaşımlarında bu immün yanıt bileşeninin rolünün göz önünde bulundurulması gerektiği vurgulanmıştır (Johnson ve ark., 2007).

Nitrik oksit (NO), birkaç hücre ve dokuda endojen olarak üretilen gaz halindeki inorganik bir radikaldir. NO'nun dengeli bir şekilde salınması, kan damarı relaksasyonu, trombosit agregasyonunun inhibisyonu ve nöronal iletişim dahil olmak üzere birçok önemli fizyolojik fonksiyonda yer alır (Lowenstein ve ark., 1994). Deneysel bulgular, NO'in patojenlere karşı immünolojik konak savunma mekanizmalarında rol oynayabileceğini ve makrofajlar ve T hücreleri arasındaki

sinyallemeğe dahil olabileceğini ortaya koymuştur (Barnes ve Liew, 1995; Akaike ve ark., 1996). Ayrıca NO'nun, bağışıklık sisteminin antiviral bir efektörü olduğu (Mannick, 1995; Reiss ve Komatsu, 1998) ve NO'nun çeşitli virüslerin çoğalmasını inhibe edebileceği bildirilmiştir (Akaike ve ark., 1996; Komatsu ve ark., 1996; Tucker ve ark., 1996).NO, üç farklı NO sentazı ile katalize edilen bir reaksiyon ile L-arginin'den üretilir (Curran ve ark., 1990; Billiar ve ark., 1992). Bunlar; nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS), indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) (Lacza ve ark., 2003).

IHC boyama, antijen komponentlerinin kalıcı ve net olarak ortaya koyulmasını kolaylaştıran güvenli bir yöntem olup (Gülbahar ve ark., 2002), formalinle sabitlenmiş dokulardaki RSV antijenlerinin tanısal değerlendirmesinde sıkça kullanılmaktadır (Bryson ve ark., 1988; Çeribaşı ve ark., 2013). IHC yöntemi, pulmoner lezyonlarda viral antijenleri açıkça gösterme fırsatı sağlar (Bryson ve ark., 1988). Sığırlarda RSV ile ilgili detaylı immunperksidaz çalışmalar bildirilmiştir (Ciszewski ve ark., 1991; Özyıldız ve ark., 2018; Yaman ve ark., 2018). Ancak doğal enfekte keçi (Çeribaşı ve ark., 2013; Jarikre ve ark., 2017) ve koyunlarda (Gülbahar ve ark., 2002) RSV'nin varlığını IHC yöntemi ile ortaya koyan sınırlı sayıda çalışma mevcuttur.

Sunulan bu çalışmanın amacı, IHC metodu ile RSV pozitif olarak tespit edilen doğal enfekte kuzu pnömonilerinde iNOS,CD3 veCD8 immun-ekspresyonlarını değerlendirmektir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Solunum Sistemi

2.1.1. Solunum sistemi hastalıklarının patogenezi

Solunum sistemi; üst solunum yolu (sinüsler, nazofarinks, larinks, ve trakeyada) ve alt solunum yolu (bronş, bronşiyol ve alveoller)'dan oluşur (Erer ve ark.,2009; Yener ve ark., 2016).Solunum sistemi hastalıklarının patogenezi, etkenin giriş yolu, etkenin yapısı, etkenin yoğunluğu ile akciğer dokusunun etkene karşı duyarlılığı ile alakalıdır (Arda ve ark., 1998; Chirase ve Greene, 2001; Yener ve ark., 2016).

Solunum sistemi hastalıkları aerojen ve hematojen olmak üzere iki yolla meydana gelir. Aerojen yolla alınan hastalık etkenleri,etkilerini hava yollarında gösterirler. Hematojen yolla oluşan enfeksiyonlarda ise lezyonlarçoğunlukla diffuz, fokal veya dissemine multifokal özelliindedir.Alveoler septumlar ve intersitisyel dokular,bronş ve bronşiyollerden daha fazla etkilenirler(Yener ve ark., 2016).

Hastalık etkeni mikroorganizmalar ilk etapta solunum sisteminin savunma mekanizmasıyla karşılaşılır (solunum sistemini anatomik yapısı, mukosiliar sistem, öksürük ve burun akıntısıyla atılım).Etkenler burada bertaraf olmazsa alt solunum yollarına (bronş ve alveollar) ulaşılır. Alt sonunum yoluna ulaşan mikrobiyal etkenlere karşı immün sistem devreye girer ve etkenler alveolar makrofajlar tarafında fagosite edilir (bu durum etkenin virülansı ve türüne ve çevresel faktörlere göre değişiklik gösterebilir). Etkenler immün sistemi aşarsa solunum siteminin mukazal yüzeyinde çoğalıp hücrenin oksidasyon metabolizmasını bozarak mukozal yüzeylerde bulunan savunma bölgelerini ve surfaktan maddesinin koruyculuk etkisi ortadan kaldırır.Böylece lokal yangısal reaksiyonlar başlayıp akciğerde hiperemi, ödem ve pnömoni tablosu gelişir. Bu reaksiyonların sonucu oluşan anormal derece sekresyon, eksutat artışı, solunum sayısı ve değişikliği ve öksürük ile birlikte birçok faktör klinik tabloyu oluşturur (Arda ve ark.,1998; Chirase ve Greene,2001; Yener ve ark.,2016; Güneş, 2018).

2.1.2. Akciğer anatomisi

Akciğerler türlere göre değişmek üzere farklı loblara ayrılmaktadır. Ruminantlarda bu loblar önden arkaya doğru lobus cranialis'ler (sağda ve solda 2 şer adet), lobus medius (sadece sağda kariyak lop), lobus caudalis (diyaframatik lob) ve lobus accessorius şeklinde sınıflandırılmaktadır (Yener ve ark., 2016).

Kuzu akciğerleri üç bölgeden oluşur; kranial bölge, medial bölge ve kaudal bölgedir. Akciğer loblarında bulunan ana damarlar ve bronşlarda, merkezden periferine doğru gidildikçe incelmeler görülür (Çalışlar, 1986; Gençcelep ve ark.,2001).

2.2. Solunum Sistemi Hastalıkları

Solunum Sistemi hastalıkları çevremizde ve dünyada yaygın olarak gözlenmekle birlikte önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Davies, 1985; Özbey ve Muz, 2004; Kennerman, 2017).Kuzularda solunum sistemi hastalıkları, üst solunum yolunda; rhinitis, laringeal kondritis, üsye tümörleri, alt solunum yolunda; akut bakteriyel (pasteurella, mycoplasma) ve viral pnömoniler, akciğer apseleri, kronik viral hastalıklar ve paraziter pnömoniler olarak görülebilir (Kennerman, 2017).

Solunum sistemi hastalıklarında mikrobiyal ajanlarını yanı sıra dış çevrenin etkisi hastalık oluşmasına zemin hazırlamaktadır. Hayvanların bulunduğu ortam ısısının düşük olması, barınma alanlarının yetersiz havalanması, ortamın sık ve dar olması ve buna bağlı idrar ve amonyağın solunması vb gibi sonuçlar doğrultusunda hastalık akciğer dokularında farklılık arz edebilmektedir (Başoğlu, 1998; Gençcelep ve ark., 2001).

Yapılan bazı çalışmalarda solunum sistemine bağlı pnömoni vakaları şu şekilde bildirilmiştir; Bitlis yöresinde yapılan bir çalışmada 1505 keçinin akciğeri makrokobik olarak muane edilmiş olup, 74 vakada pnömoni tespit edilmiştir (%4.91) (Yener ve ark.,2001). Hindistan da yapılan mezbahane çalışmasında pnömoni oranı %4.4 olarak belirlenmiştir (Dheerandra ve ark.,1991). Erzurum ilinde 2017 de yapılan bir çalışmada mezbahanedan alınan 1462 koyunun akciğerlerin 100' ünde (%6.83) pnömoni vakası saptanmıştır (Eser,2019).

2.3.Pnömoni

Pnömoni, akciğerlerin eksudatif ve/veya proliferatif yangısı olup makroskopik olarak hepatize alanların oluşması ile karakterizedir (Hazıroğlu ve Milli, 2001; Çiftçi ve ark., 2015). Pnömonilerin etiyojisi değişkenlik gösterip birçok mikrobiyal etken, bakteriler, mantarlar, mikoplazmalar, virüsler, parazitler ve bazı maling hücrelere bağlı olarak meydana gelebilir (Metin ve ark., 1988; Hazıroğlu ve Milli, 2001; Zachary ve ark., 2006; Yener ve ark., 2016).

2.4.Pnömonilerin Sınıflandırılması

Pnömonilerin sınıflandırılması yapılırken yangının karakteri ve yangının yayılışı, patogenezi ve morfolojisi göz önünde bulundurulur. Pnömoniler yangının karakterine göre eksudatif pnömoni, proliferatif pnömoni ve proliferatif-eksudatif pnömoniler olarak sınıflandırılırken, yayılışı, patogenezi ve morfolojisine göre ise bronkopnömoni, embolik-metastatik pnömoni, intersitisyel pnömoni ve granümatöz pnömoni olarak sınıflandırılmıştır. (Hazıroğlu ve Milli, 2001; Zachary ve ark., 2006; Çiftçi ve ark., 2015; Yener ve ark., 2016).

2.4.1. Bronkopnömoni

Bu tip pnömonilerin etiyojisinde genellikle; bakteriler, virüsler ve mikoplazmalar gibi mikrobiyal ajanlarla birlikte, ağızdan alınan sıvının veya mide içeriğinin akciğere aspirasyonu sonucu gelişebilir. Lezyon akciğerlerin kranial bölgesinde görülür. Yangısal reaksiyon bronş, bronşiyal ya da alveolların sınırında başlayıp, daha sonra tüm bu alanları kaplayabilir. Bronkopnömoniler; kataral irinli (lobüler) pnömoni ve fibrinli bronkopnömoni (lober pnömoni) olmak üzere iki çeşidi vardır (Hazıroğlu ve Milli, 2001; Yener ve ark., 2016).

2.4.1.1. Fibrinli bronkopnömoni (lober pnömoni-plöropnömoni)

Bu yangı türü akciğerlerin bir veya birden fazla lobunda görülebilir. Yangı eksudatında fazla miktarda fibrin bulunur. Plörada yangı meydana geldiği için plöropnömoni de denilir. Akciğer makroskopisinde loblarda gri renten koyu kırmızı-siyah renge kadar değişen geniş hepatize alanlar görülür (Zachary ve ark., 2006; Yener ve ark., 2016).

Fibrinli pnömoniler etkenine göre yangı süreci 4 aşamada oluşmaktadır; yangısal hiperemi, kırmızı hepatizasyon, gri hepatizasyon ve lizis-organizasyon (Zachary ve ark., 2006; Yener ve ark., 2016).

Yangısal hiperemi; Etkilenen akciğerlerin makroskobisinde koyu kırmızı alanlar, mikroskobisinde ise kapiller hiperemi, alveollerden lümeneye dökülen epitel hücreleri, alveolar makrofaj ve eritsositler gözlenir (Erer ve ark., 2009; Yüzbaşıgöl, 2010; Çiftçi ve ark., 2015).

Kırmızı hepatize alanlar: Hiperemi sonucu eksudatta bulunan fibrinojen fibrine dönüşerek etkilenen alanda pıhtılaşma görülür (Erer ve ark.,2009). Eksudatta bulunan fibrin plörada toplanıp makroskobik olarak sarı renk oluşturur (Zachary ve ark., 2006). Mikroskobik olarak, interalveolar septumda hipereminin azaldığı gözlenirken, yoğun eritsositler ve makrofaj infiltrasyonu, alveol, bronş ve bronşiol lümenlerinde fibrinle karışık yoğun kan elemlerini görülür (Hazıroğlu ve Milli, 2001; Zachary ve ark., 2006; Yüzbaşıgöl, 2010).

Gri hepatize alanlar: Akciğer alveollerinde oluşan fibrinin, fibröz doku ile organizasyonu sonucu tüm alan fibröz bağ dokuya dönüşür (Erer ve ark.,2009). Makroskobik olarak lökositlerin infiltrasyonu ve kapiller dolaşım bozukluğu (alveolların eksudat ile dolup kapillere bası yapması) sonucu oluşan iskemi varlığı gri-sarımsı bir renk oluşturur (Milli ve Hazıroğlu, 2001; Zachary ve ark., 2006; Çiftçi ve ark., 2015).

Mikroskobisinde; bronş, bronşial ve alveoların lümeni fibrinli eksudatla doludur. Fibrinli eksudat sonucu, interlobüler septum, perivasküler alanlar, subplöral aralıklar ve lenf damarları genişler (Yüzbaşıgöl, 2010; Yener ve ark., 2016).

Lizis organizasyon evresi: Bu aşamda lökositlerden salgılanan lizis enzimleri, yangısal alanda oluşan kitleyi eriterek tromboz sonucu kapanan lenf damarlarını açar etkilenen lobda yangısal hiperemide olduğu gibi yeniden kanlanma sonucu koyu kırmızı alanlar oluşur. Canlı tarafından eritilemeyen pnömöni kitlesi çevresinde granülasyon dokusunu üreterek organize olur. Bu bölgeler sertleşip et görüntüsü alır. Bu olayada karnifikasyonda (etleşme) denir (Zachary ve ark., 2006; Erer ve ark.,2009; Çiftçi ve ark.,

2015). Bir çalışmada tüm fibrinli pnömonili vakalarda, plöranın ve interlobüler septumların fibrinli bir eksudatla kalınlaştığı ve bu eksudatın içerisinde nötrofil lökosit ve mononükleer hücrelerin bulunduğu tespit edilmiştir (Yüzbaşıgöl, 2010).

2.4.1.2. Kataral-irinli(prulent) bronkopnömoniler (lobüler pnömoni)

Genel etkenleri; *Streptococcus spp*, *Staph.*, *C.Pyogenes*, *E.coli* *Rodococcus equi*, *Salmonella spp*, *Pastörella multivida* ve *Bordetella bronchiseptica* gibi piyogen bakterilerdir. Etkenler, canlı savunma bariyerini aşip alt solunum yollarına ulaşarak; bronşitis, bronşiyolis şeklinde başlayıp, endobronşiyal ve peribronşiyal olarak yayılır. Bu pnömoni çeşidi yangısal eksudatta nötrofil lökositler bulunur. Ayrıca virüslerin neden olduğu intersitiyel pnömonilere ikincil bir etken olarak karışarak kataral irinli pnömonilere sebep olabilirler (Zachary ve ark., 2006; Cohrs, 2013; Yener ve ark., 2016).

Makroskopisinde, kranial loblarda sarı-kırmızı renkli, sert kıvamlı, sınırlı, hiperemik ve kesit yüzlerinde az seröz sızıntı bulunan alanlar (lobçuk büyüklüğünde) görülür, bu alanlar ilerleyen dönemlerde birleşerek daha geniş alanları (lober pnömoni) oluşturur. Bu pnömonilerde plöra sağlam olup etkilenmemiştir (Yüzbaşıgöl, 2010; Yener ve ark., 2016). Mikroskopisinde ise lezyonun etkileme şiddetine göre hafif derece, orta derece ve şiddetli derece olarak 3 guruba ayrılmıştır (Yüzbaşıgöl, 2010).

Hafif derece: Kısmi nötrofil, kapillar hiperemik ve alveolarde sınırlı ödem görülmüştür. Orta derece: Bronş ve alveolarde nötrofiller ile birlikte makrofajlar vardır. Şiddetli derecede ise, bronş, bronşial ve alveol lümenlerinde dökülmüş epitel hücreleri ile bol miktarda yangı hücreleri vardır (Yüzbaşıgöl, 2010; Yener ve ark., 2016).

2.4.2. Embolik-metastatik pnömoni

Genellikle akciğer dışı hastalık yapan; *Streptokok*, *Stafilokok*, *E.coli*, *Corynebacterium Pygenes* gibi bakterilerin kan yoluyla akciğere gelip multifokal granulosit infiltrasyonu ile karakterize abse odakları oluşturur. Bu etken alanında kalan alveol ve lobul septumları lizise olurlar (Milli ve Hazıroğlu, 2001; Yüzbaşıgöl,2010; Yener ve ark., 2016).

2.4.3. Granümatöz pnömoni

Hastalık etkeni akciğerde savunma sistemi tarafından fagosite edilemeyip, granülom oluşturmasıyla karakterize pnömoni çeşididir (Zachary ve ark., 2006; Çiftçi ve ark, 2015). Genellikle granümatöz pnömonilere bakterilerden *Mycobacterium* cinslerinden; *M.Avium*, *M.Tuberculosis*, *M.Bovis.*, Parazitlerden; *Dictyocauslus Viviparus*, *Protostrongylus ssp*, *Neostromyglus spp.*, *Muellerius spp.*, ve *Cystocaulus spp.* Mantarlarda ise; *A.funmigatusdi* neden olur (Yener ve ark., 2016).

Granümatöz pnömonide hastalık etkeni genellikle solunum ve sindirim sistemiyle alınır. Bakteriler alveolar makrofajlar tarafından fagozite edilir. Bu savunma hücrelerinin yetersiz kalması durumunda, basiller makrofaj içerisinde canlılığını sürdürüp çoğalırlar daha sonra ölen bu makrofajlardan basiller salınır ve vücut savunma sistemi tarafından ikincil bir savunma (makrofajlar epideloid ve langerhans tipi dev hücreler oluşturur) mekanizması devreye girer. Bu yangı alanında lenfosit, plazma hücreleri, yıkılanmış makrofajlar yer alır (Milli ve Hazıroğlu, 2001; Yener ve ark., 2016). Lezyon genişledikçe, alan ortasında nekroz görülür ve bu görülen alan çevresinde yangısal hücreler bu hücrelerin dıştan sardığı fibröz kapsül gelişir. Bu tür durum organizmanın savunmasının iyi olduğu gösterir (Yener ve ark., 2016). Bu tür pnömonilerde makroskopik olarak sınırları keskin, sert kıvamda granümler (kesitlerinde gri-sarı renkli ufalanır madde) görülür. Ayrıca lenf nodlarında kalsifiye alanlarda görülür.

Mikroskopik incelemelerinde ise yangısal reaksiyon sonucu oluşan, kazeifikasyon nekroz alanları ve bu alanın çevresinde makrofajlar, epiteloid hücreler, langhans tipi dev hücreleri, yabancı cisim dev hücreleri, lenfosit ve plazma hücrelerinin ve en dışta fibröz kapsülle çevrilmiş olan ve granülom adı verilen yapılar göze çapraktadır (Milli ve Hazıroğlu, 2001; Çiftçi ve ark, 2015; Yener ve ark.,2016).

2.4.3.1.Verminöz pnömoni

Koyun, keçi ve sığırlarda parazitler nedeniyle oluşan pnömoni türüdür. Sindirim yoluyla alınan parazit larvaları hematojen yolla bronş ve bronşiyollere ulaşır, kataral

irinli bronşit ve bronşiyolit, obstrüksiyon amfizemi ve atelettaziye neden olur (Çiftçi ve ark, 2015; Yener ve ark., 2016).

Makroskobisinde, dorsokaudal ve ventrokaudal loplara yerleşen etken bazen tüm akciğerdede görülür (Çiftçi ve ark, 2015; Yener ve ark., 2016). Lezyon açık-kahve rengli veya gri-yeşil rengde görülebilir, lezyon sınırı belirgin olup, düzensiz bir dağılıma gösterir (Çiftçi ve ark, 2015; Yener ve ark., 2016).

Mikroskobisinde, granülamatöz pnömonideki yangısal olay sonrası görünen mikroskobik alana ek, parazitlerin yerleştiği alveol ve bronşiyolde etkenin larva ve yumurtalarının görülmesi verminöz pnömonilerdeki tipik bulgudur (Çiftçi ve ark, 2015; Yener ve ark., 2016).

2.4.4.İnterstisyel pnömoni

İntersitisyel pnömoni; alveol duvarlarında (interalveolerseptumlarda) meydana gelen eksudatif ve proliferatif olaylardır. İntersitisyel pnömoniler başlangıçta akut eksudatif yangıyla başlar. İlerleyen dönemlerde ise alveol tip-1 hücrelerin yerine tip-2 hücreler proliferatif olur, böylelikle proliferatif yangı başlamış olur (Zachary ve ark., 2006; Yener ve ark.,2016).

Makroskobisinde tipik bir özelliğe rastlanmaz, pnömoni akciğerin tüm alanlarında görülebilir ama çoğunlukla kauda dorsal kısmında gözlenir (Milli ve Hazıroğlu, 2001; Zachary ve ark., 2006; Yüzbaşıoğlu, 2010; Çiftçi ve ark., 2015).

İntersitisyel pnömonilerin mikroskobik incelemelerinde, akut devrede hastalık etkeni tip-1 alveol hücrelerini zarara uğratar. Supakut ve kronik dönemde alveol tip-1 hücreler yerlerine alveol tip-2 hücreler alır. Bazı vakalarda ise sınırsız dev hücreler görülmüştür. (Milli ve Hazıroğlu, 2001; Çiftçi ve ark.,2015; Zachary ve ark., 2006; Yüzbaşıoğlu, 2010; Yener ve ark.,2016).

İntersitisyel pnömonilerin nedenlerine baktığımız zaman genellikle; viral, bakteriyel, mikoplazmal, fungal ve çeşitli parazitler gibi enfeksiyöz ajanlarla oluşmaktadır. Ayrıca, solunan bazı kimyasal maddeler (saf oksijen, duman), sindirilen toksin ya da partiküller, ilaç reaksiyonları, endojen metabolik toksik maddelerinin açığa

çıkması (üremi, panreatitis, şok) gibi durumlarda da intersitisyel pnömoni oluşmaktadır (Zachary ve ark., 2006; Caswel ve Williams, 2006; Yener ve ark., 2016).

2.4.4.1. Viral etkenlere bağlı interstisyel pnömoniler

Virüsler tek başlarına akciğerde hastalık etkeni oldukları zaman intersitiyel pnömoniye sebep olurlar ayrıca vücut savunma sistemini baskılayarak sekonder bir bakteriyel enfeksiyonun oluşmasına neden olabilirler (Milli ve Hazıroğlu, 2001; Gençay, 2002; Yener ve ark.,2016).

Makroskobik olarak, kraniyovertral bölgede lobüler dağılımlı, kırmızı hepatize alanların oluşması ile karakterizedir. Viral pnömonilerde bronşitis, bronşiyolit, bronkointersitiyel pnömoni şekiller (Yüzbaşıgül,2010 ; Yener ve ark.,2016). Bronş, bronşiyol ve alveol epitelinde nekroz ve yangısal eksudat gözlenir. Sonraki dönemde tip-1 alveolar epitel hücreleri yerine tip-2 alveol hücreler prolifere olur. Peribronşiyoller ve komşu alveollerin intersitiumunda lenfositlerin infiltrasyonu gözlenir. Ayrıca bazen alveol tip-2 epitel hücrelerden oluşan sınırsız ya da çok çekirdekli dev hücreler görülebilir. Akut safhada çoğunlukla bronş, bronşiyol ve alveol epitel hücrelerinde (tip-2) sitoplazmik ve/veya nükleer inklüzyonlar bulunur (Yüzbaşıgül,2010 ; Yener ve ark.,2016).

İntersitiyel pnömonilere neden olan virüsler; Parainfluenza virüsü (PI3), Respiratorik sınırsız virüs (RSV), Canine distemper virüs, At influenza (Hoppegarten öksürü), Feline kalısivirüs, Adenovirüs, Equine adenovirüsequine Herpervirüs-4, Koyun progressif pnömonisi (maedi) ve keçilerin artritisi-Ensafalitisi olarak belirtilmiştir(Yener ve ark.,2016).

2.5. Respiratuvar Sınırsız Virüs

Rsv virüsü segmentsiz negatif iplikli olup, Mononegavirales takımına ait Paramyxoviridae familyasının Pneumovirus genusuna dâhil bir RNA virüsüdür (Hall,1994; Mandel ve ark., 1995; Murphy, 1996; Collins, 2001). Paramyxovirus virionları pleomorfik, zarflı, 150-300 nm çapında, küre veya filamentöz yapıda, tek zincirli ve negatif polariteli RNA'lı viruslardır (Chang ve Rebecca, 2012). Rsv virüsü

akciğerde sitopatolojik etkileri sonucunda, intersitiyal pnömoni ve özellikle sinsityal hücre oluşumuna neden olduğu için bu ismi almıştır (Caswett ve Williams, 2006).

Çeşitli yayın ve kaynaklarda pneumovirüs çeşitleri şu şekilde alınmıştır (Hall, 1994; Mandel ve ark.,1995; Murphy,1996; Collins ve ark., 2001):

RSV; Respiratorik sinsityal virüs (insan solunum sinsityal virüs),

BRSV; Bovine respiratory syncytial virüs (sığır solunum sinsityal virüsü),

ORSV; Ovine respiratory syncytial virüs (koyun solunum sinsityal virüsü)

CRSV; Caprine respiratory syncytial virus (keçi solunum sinsityal virüs),

PVM; Pneumonia virus of mice (fare pnömoni virüsü),

TRTV; Turkey rhinotracheitis virüs (hindi rinotrakeit virüs)

Respiratory sinsityal virüsü, Adenovirüs, Parainfluenza-3 ve Reovirus tip-1 gibi virüsler kuzularda intersitiyel pnömoniyeye neden olur (Davies ve ark., 1981; Davies, 1985; Bryson ve ark., 1988; Yener ve ark., 2016). Ayrıca bu virüsler vücut savunma mekanizmasını optimal düzeyde çalışmasını engellediğinden dolayı akciğerde sekonder bakteriyel enfeksiyonların oluşumuna neden olurlar (Davies,1985; Milli ve Hazıroğlu, 2001; Gençay, 2002; Yener ve ark., 2016; Güneş, 2018). Koyun ve kuzuların respiratuvar sinsityal virüsün etken olduğu pnömollerde intersiteiyel pnömoni yaptığı çeşitli araştırmalar göstermiştir (Sharp ve Martin, 1983; Davies, 1985; Bryson ve ark., 1988; Aytuğ, 1992).

2.5.1.Klinik muayene

İnterstisyel pnömoni düşünülen hastaların klinik muayenelerinde; yüksek ateş, iştahsızlık, hareket kısıtlılığı, burun akıntısı, solunum seslerinde değişiklik ve solunum sayısında artışın olduğu bildirilmiştir (İmren ve Şahal, 1994; Davies, 1985; Başoğlu, 1998; Gençcelep ve ark., 2001; Özbey ve Muz, 2004).Akciğerin makroskosinde çoğu zaman intersitiyel pnömoni gözlemlenmiştir (Sharp ve Martin,1983; Davies, 1985; Aytuğ, 1992).Rsv virüsünün insanlardaözelikle kış aylarında, yenidoğan ve küçük

yaşlarındaki çocukların alt solunum yolu olan akut bronşiyolit ve viral pnömoniler gibi akciğer enfeksiyonuna neden olduğu gösterilmiştir(Perk ve Özdil, 2018).

2.5.2. Mikroskobik belirtiler

İntersitiyal pnömonili akciğer vakalarının mikroskobisinde; bronş, bronşiyol ve alveol epitelinde nekroz ve yangısal eksudat gözlenir. Sonraki dönemde tip-1 alveolar epitel hücreleri yerine tip-2 alveol hücreler prolifer olur. Peribronşiyoller ve komşu alveollerin intersitiyumunda lenfositlerin infiltrasyonu gözlenir. Ayrıca bazen alveol tip-2 epitel hücrelerden oluşan sinsiitiyal ya da çok çekirdekli dev hücreler görülebilir. Akut safhada çoğunlukla bronş, bronşiyol ve alveol epitel hücrelerinde (tip-2) sitoplazmik ve/veya nükleer inklüzyonlar bulunur (Yener ve ark.,2016).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmanın materyalini Van ilinde özel bir mezbahada kesilen kuzulardan alınan akciğer doku örnekleri oluşturdu. Bu amaçla, makroskopik olarak incelenen yaklaşık 1200 akciğerden 100 (%12) adet pnömoni ve 10 adet kontrol doku örnekleri alındı ve %10'luk tamponlu formaldehitte tespit edildi. Bu doku örnekleri daha sonra histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak incelendi. 3 er aylık periyotlar halinde farklı dört dönemde mezbahadan doku örnekleri alınarak mevsimsel faktörlerin hastalığın oluşumundaki etkisi incelenerek, tek seferde belirli bir yöre ya da sürüye ait enfeksiyonun değerlendirilmesinin önüne geçilmeye çalışılmıştır.

3.1. Histopatolojik İnceleme

Kesilen kuzulardan alınan akciğer doku örnekleri %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonuna konuldu. Doku örnekleri tespit edildikten sonra rutin takip yapılarak paraffin bloklara gömüldü ve mikrotomla (Leica RM 2135) 4µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler Hematoksilen-Eozin (H &E) ile boyanarak ışık mikroskopunda (Nikon 80i-DS-RI2) incelendi ve fotoğraflandı (DS-U3, Nikon, Japan).

3.2. İmmunohistokimyasal İnceleme

İmmunohistokimyasal inceleme, streptavidin-peroxidase metoduna (ABC) göre streptavidin/biotin immunoperoxidaz kit (Histostain-Plus Bulk Kit; Zymed, South San Francisco, CA, USA) kullanılarak RSV, CD3, CD8 ve iNOS ekspresyonları belirlendi. Hazırlanan kesitler adezivli lamalar üzerine alındıktan sonra, ksilen ve alkol serilerinden geçirildi. Kesitler PBS (phosphate buffer solution) ile yıkandıktan sonra %3'lük H₂O₂ de 20 dakika tutularak endojen peroksidaz inaktive edildi. Antijen retrieval solüsyonuna (sitrat buffer) konulup üzeri kapatıldıktan sonra 20 dakika süreyle ikişer kez ısıya tabi tutuldu. Fırından çıkarıldıktan sonra oda sıcaklığına gelinceye kadar bekletildi. Dokular yeniden PBS ile yıkandıktan sonra 20 dakika protein bloking (nonimmun serum) ile bloke edildi. Dokular RSV (ThermoFisher Scientific, USA; 1/100 sulandırma), anti-iNOS (abcam-ab15323, 1/100 sulandırma), anti-CD3 (Ventana-790-4341) ve CD8 (Novocastra-NCL-L-CD8-4B11, 1/100 sulandırma) poliklonal antikorları damlatılıp +4°C de bir gece boyunca inkübasyona bırakıldı. Kesitler PBS ile yıkayıp biotinize

sekonder antikor ile oda sıcaklığında 20 dakika inkübe edildi. PBS ile tekrar yıkanan kesitler, streptavidin-peroksidaz da 20 dakika bekletildikten sonra PBS ile aynı şekilde yıkandı. Yıkama işleminden sonra diaminobenzidine (DAB) damlatılıp 1-2 dakika bekletildi. Daha sonra tüm dokular hematoksilende 1-2 dk bekletilip musluk suyunda yıkandı. Tekrar alkol ve ksilen serilerinden geçirilen kesitler entellan kullanılarak kapatıldı. Boyama işlemini doğrulamak için negatif kontroller kullanıldı; Bu slaytlar primer antikorlar yerine PBS ile reaksiyona sokuldu. Kesitler ışık mikroskopunda (Nikon 80i-DS-RI2) incelendi ve fotoğraflandı.

İmmunohistokimyasal sonuçlar, dokudaki boyanma yoğunluğuna göre; (-) : negatif; (+) : hafif; (++) : orta; (+++) : yoğun şeklinde değerlendirildi.



4. BULGULAR

4.1. Makroskobik Bulgular

İncelenen akciğerlerde makroskobik lezyonların genellikle kraniyal loblarda lokalize olduğu görüldü. Bu lezyonların koyu kırmızı yada gri-beyaz renkli konsolide alanlar oldukları belirlendi. İnterlobuler septumaların genişlediği belirlenirken pnömonik loblar ve etkilenmeyen alanlar arasında demarkasyon hattının belirgin olduğu görüldü (Şekil 1).

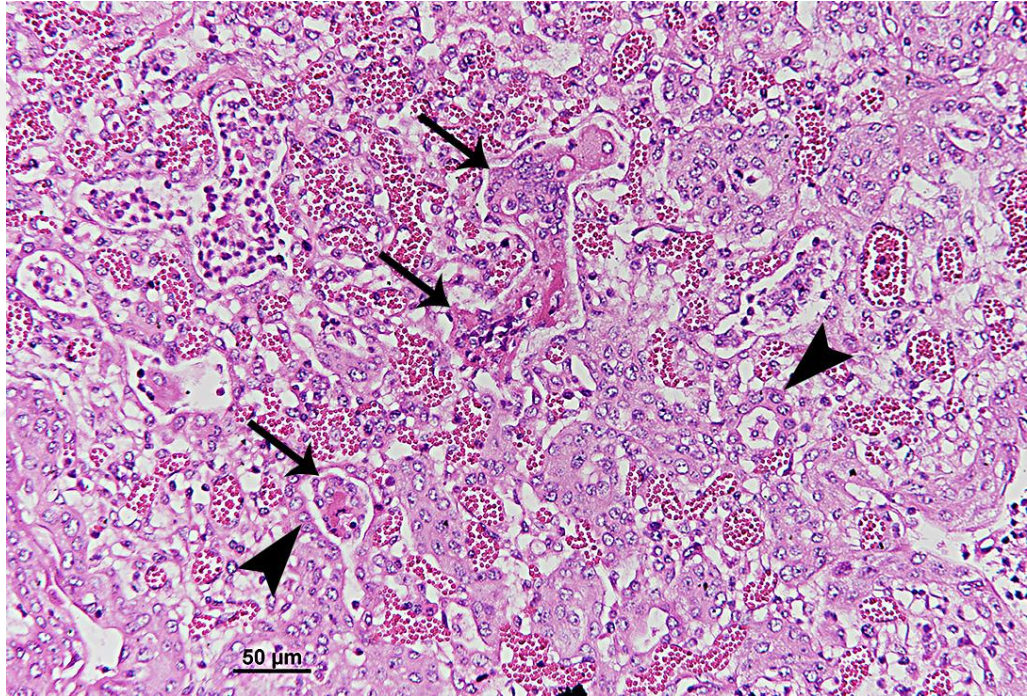


Şekil 1. Akciğerin sağ loblarında (kraniyal ve mediyal) lobar dağılımlı, sol loblarında ise lobar dağılımlı hepatize ve atelektazik pnömoni odakları (yıldızlar).

4.2. Mikroskobik Bulgular

Akciğer kesitlerinin histopatolojik değerlendirmesinde, bronko-intersitisyel, kataral-purulent ve fibrinli pnömoni bulguları gözlemlendi. İmmunohistokimyasal olarak RSV ile pozitif kesitlerin histopatolojik incelemesinde, viral pnömonilerde görülen intersitisyel pnömoni bulgularının (proliferatif lezyonların ön planda olduğu) yanında muhtemel sekonder enfeksiyonların etkisiyle şekillenen bronkopnömoni bulgularıyla kendini gösteren bronkointersitisyel pnömoni tablosu mevcuttu. Bu kesitlerde interalveolar duvarların mono-nükleer hücre infiltrasyonları, konjesyon ve tip-2

epitelyal hücre proliferasyonları sonucu genişlemesi ile karakterize intersitisyel değişiklikler görüldü. Alveol duvarları tip 2 pnömositlerle döşeli olup viral pnömonilere özgü “epitelizasyon” ya da “fötalizasyon” diye tabir edilen görünüm mevcuttu. Bronş, bronşiyol ve alveol lümenlerinde sinsityal hücre oluşumları görüldü. Bazı alveol duvarlarında fibromuskuler hiperplazi gözlemlendi. Ayrıca, İnterlobuler septumlar mononükleer hücre infiltrasyonları ve ödemden dolayı genişlemişti (Şekil 2). Eksudatif lezyonların ön planda olduğu kesitlerde ise nötrofil lokistli infiltrasyonlar ile karakterize değişiklikler izlendi. Hava yollarında, içinde çok sayıda nötrofil, dökülmüş hücreler, fibrin, eritrositler ve makrofaj içeren eksudat görüldü.



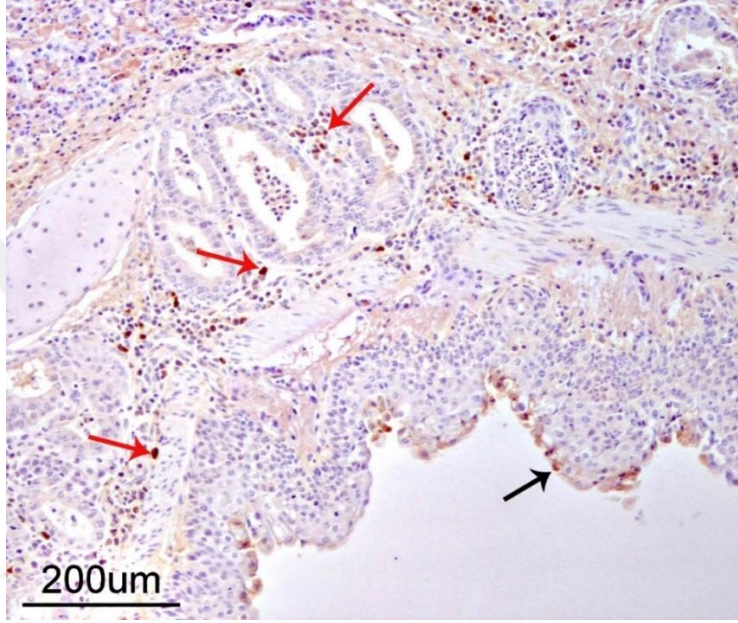
Şekil2. İntersitisyel pnömoni; Alveollerin lümeninde Sinsityal hücre oluşumları (oklar) ve alveollerin duvarında tip II epitel hücre proliferasyonu (epitelizasyon) izlenmekte (ok başları). H&E, bar: 50 µ.

4.3. İmmunohistokimyasal Bulgular

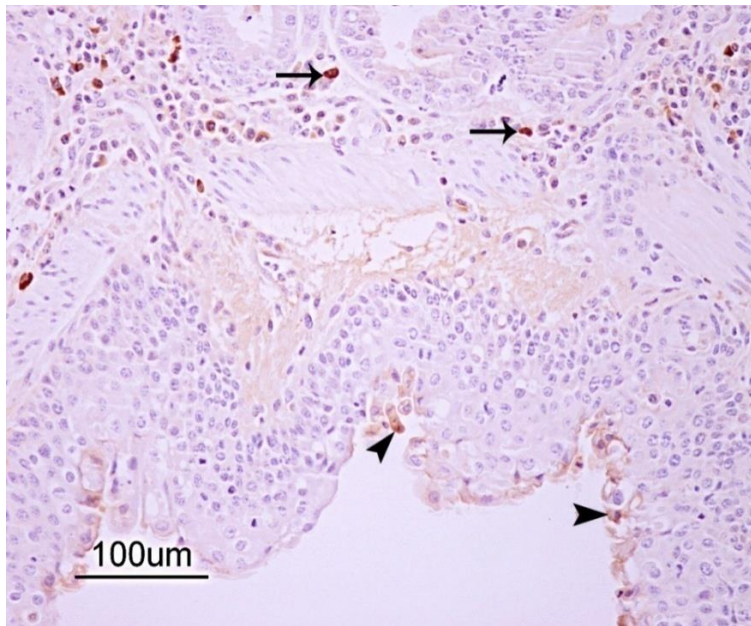
4.3.1. Anti RSV boyamalar

İmmunohistokimyasal inceleme sonucunda 18 (onsekiz) kesitte sitoplazmik RSV pozitifliği belirlendi. Pozitif immun-boyama, proliferatif ve eksudatif komponentler ile çoğunlukla miks seyreden bronko-intertitisyel pnömonilerde tespit edildi. Bu kesitlerde bronş ve bronşiyol epitelinde, propriyave submokozada, bronşiyal bezlerin çevresinde

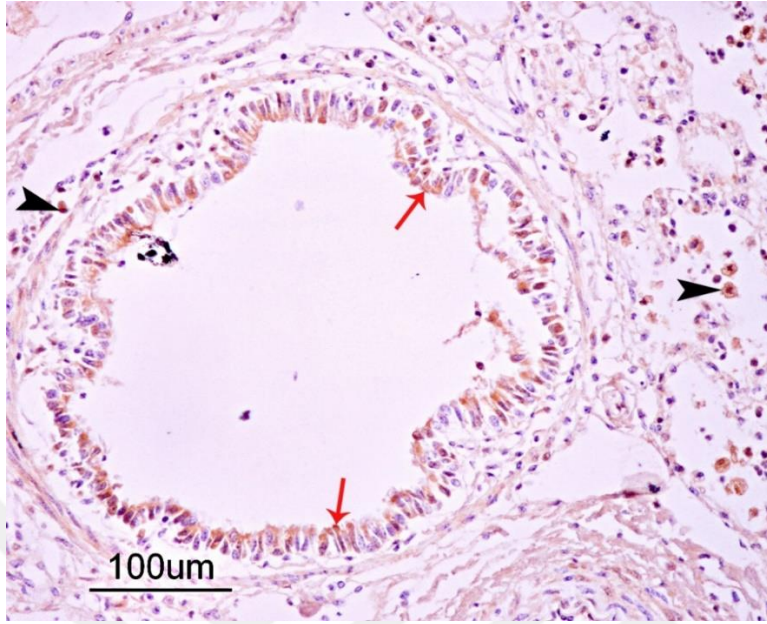
ve bronş ve bronşiyol lümeninde bulunan hücresel döküntülerde ve eksudatta immun-reaktivite görüldü. Ayrıca interlobuler ve interalveolar septumlarda, alveol lümenlerindeki yangısal eksudat, hücre döküntüleri, makrofaj ve lenfositler ile sınırsız hücre formasyonlarında yoğun immunopozitiflik belirlendi. Bronşiyal lenf nodlarında reaksiyon tespit edilmedi. Kontrol grubu dokularında ise pozitif boyanma görülmedi (Şekil 3-7).



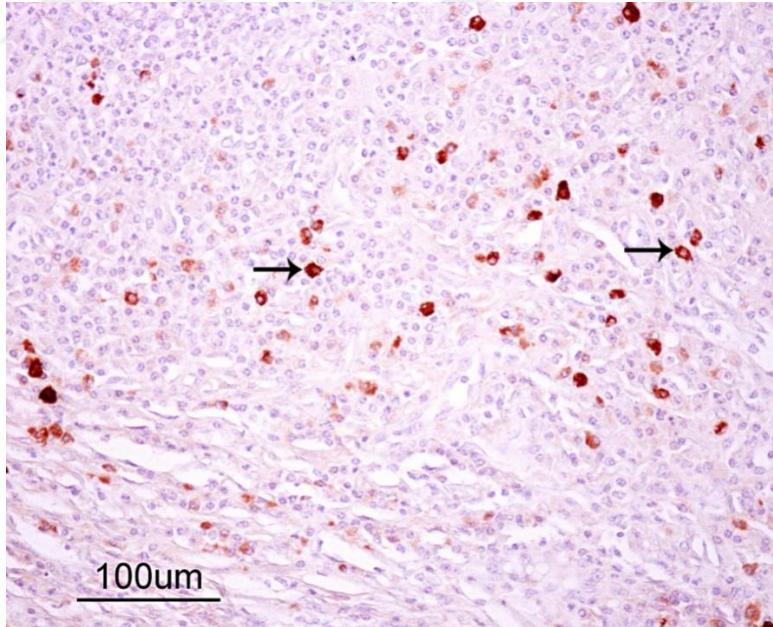
Şekil 3. Bronş epitelinde (siyah ok), submukozada ve bronşiyal bezler arasındaki yangısal hücrelerde (Kırmızı oklar) RSV immun-pozitifliği izlenmekte. ABC-P, bar: 200 µ.



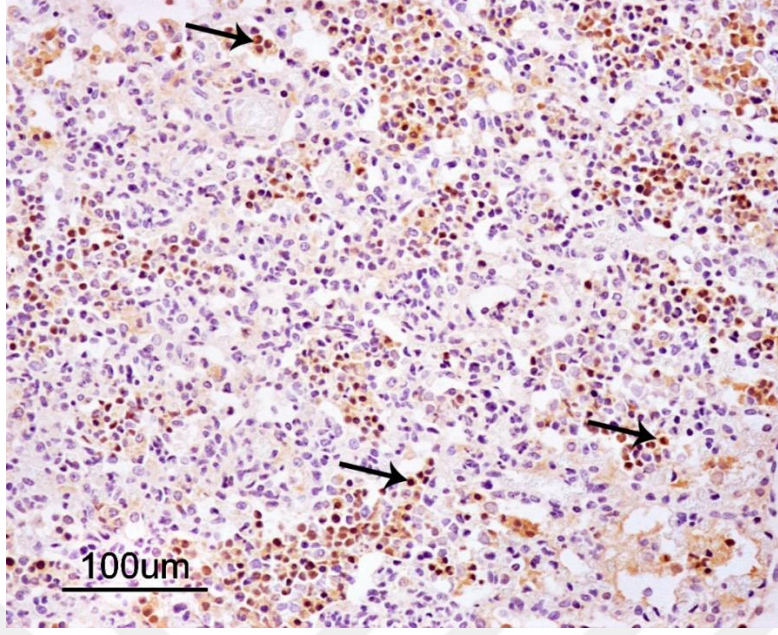
Şekil 4.Bronş epitelinde (okbaşları) ve submukozadaki yangısal hücrelerde (oklar) RSV immun-pozitifliği izlenmekte. ABC-P, bar: 100 μ .



Şekil 5.Bronşiyol epitelinde (Kırmızı oklar) ve alveol lümenindeki yangısal hücrelerde (okbaşları) RSV immun-pozitifliği izlenmekte. ABC-P, barr: 100 μ .



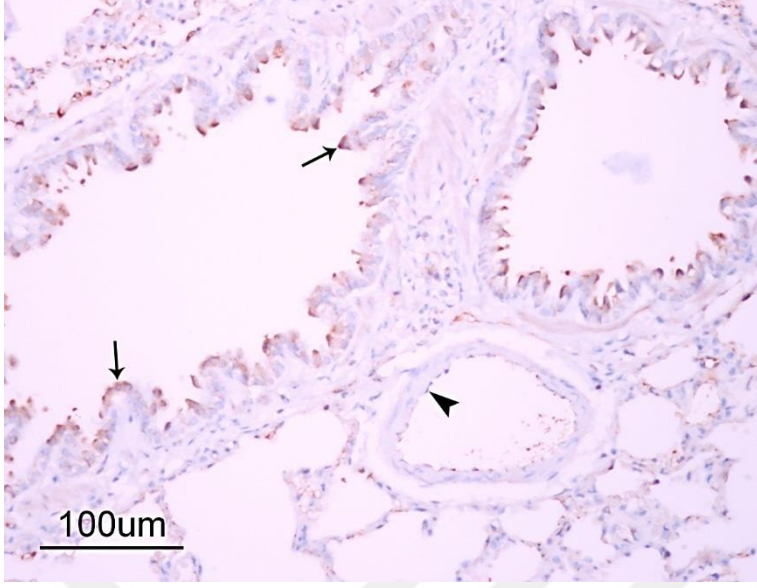
Şekil 6.Alveolar makrofajlarda RSV immün-reaktivitesi izlenmekte. ABC-P, bar: 100 μ



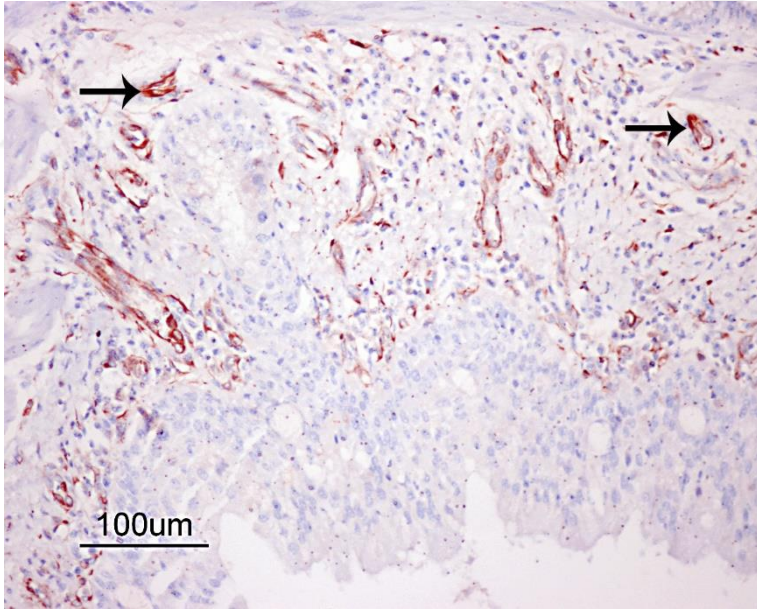
Şekil 7.Alveol lümenindeki yangısal hücrelerde (oklar) ve eksudatta RSV immün-reaktivitesi izlenmekte. ABC-P, bar: 100 μ .

4.3.2. Anti-iNOS boyamalar

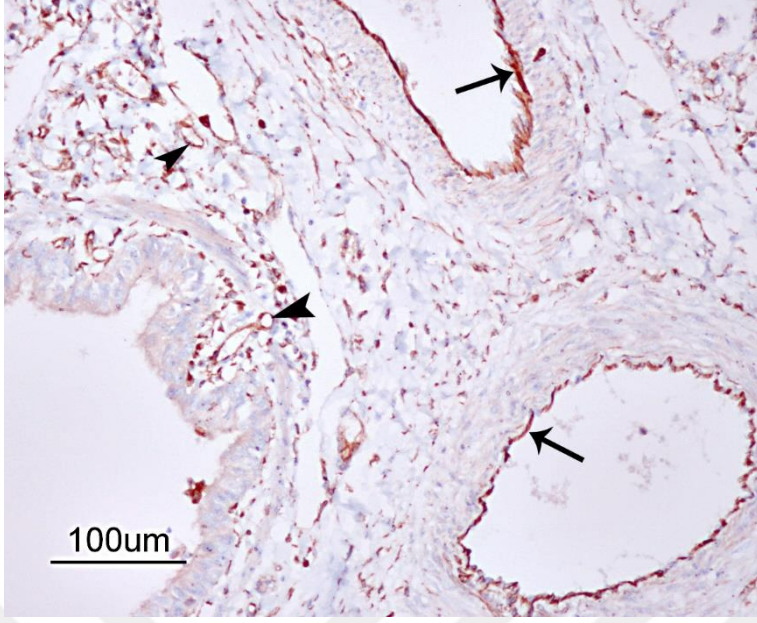
Kontrol grubu akciğer kesitlerinde bronş ve bronşiyol epitel hücrelerinde güçlü iNOS ekspresyonu görüldü. Ayrıca kapillar damar endotelinde iNOS immün-reaktivitesi izlenirken, arterlerin çoğunda reaktivite izlenmedi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm RSV pozitif kesitlerde, iNOS immün-reaktivitesindeki artışın özellikle arter endotelinde yoğun şekilde gerçekleştiği görüldü. Özellikle peribronş ve peribronşiyal alandaki arter ve kapillar damar endotelinde yoğun reaktivite izlendi.iNOS immün-reaktivitesinin alveol lümenlerinde bulunan alveolar makrofajlarda yoğun olarak gerçekleştiği belirlendi. Ayrıca, alveol lümeninde ve intersitisyel ve bronş ve bronşiyol lümenlerindeki yangısal hücrelerde reaktivite tespit edildi. Ancak, nötrofillerde reaktivite görülmedi. iNOS immün-reaktivitesinin sitoplazmik olduğu belirlendi (Şekil 8-12).



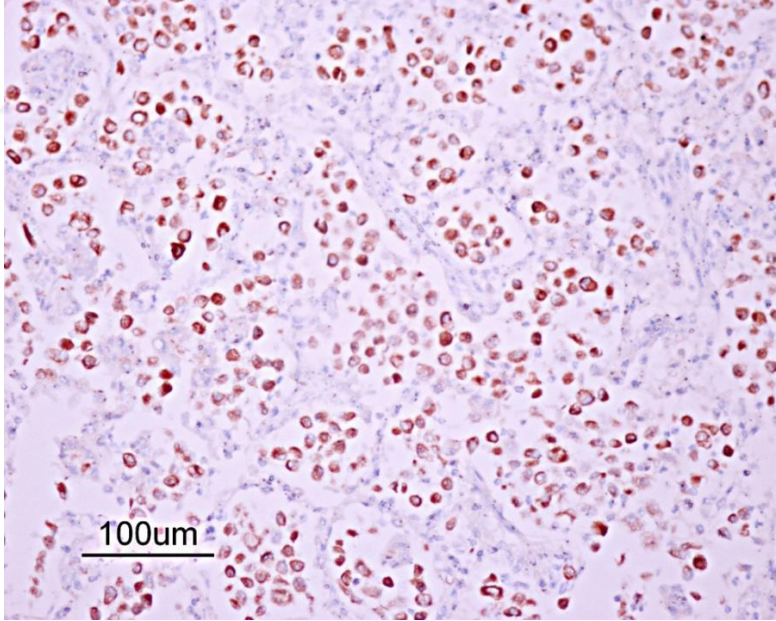
Şekil 8.Kontrol grubu kuzularda iNOS immun-reaktivitesi. Bronşiyol epitelinde iNOS immun-reaktivitesi izlenirken (oklar), arter endotelinde reaktivite izlenmemekte (okbaşı). ABC-P, bar: 100 µ.



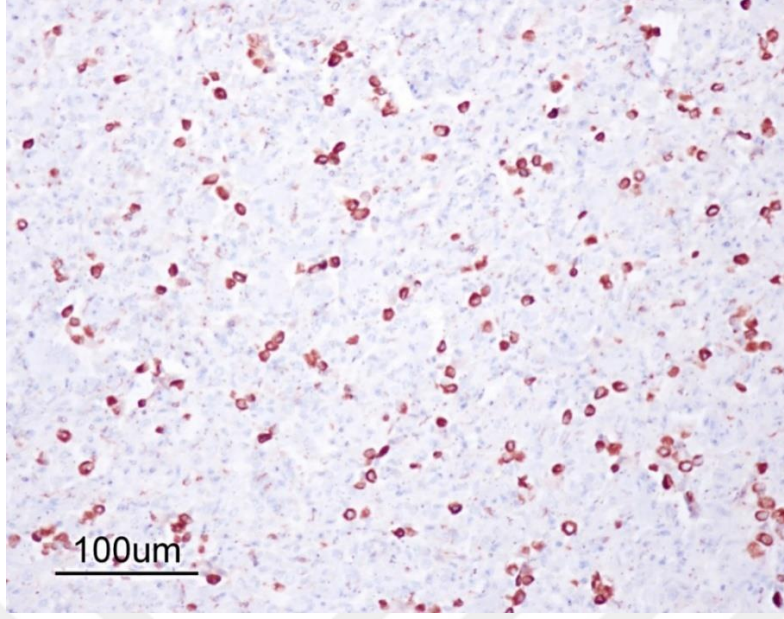
Şekil 9.RSV pozitif kuzularda bronşların submukozasındaki kapillar damarlarda iNOS immun-reaktivitesi izlenmekte. ABC-P, bar: 100 µ.



Şekil 10. RSV pozitif kuzularda bronşiyol epitelinde, submukozadaki kapillar damarlarda (okbaşları) ve arterlerde (oklar) iNOS immun-reaktivitesi izlenmekte. ABC-P, bar: 100 μ .



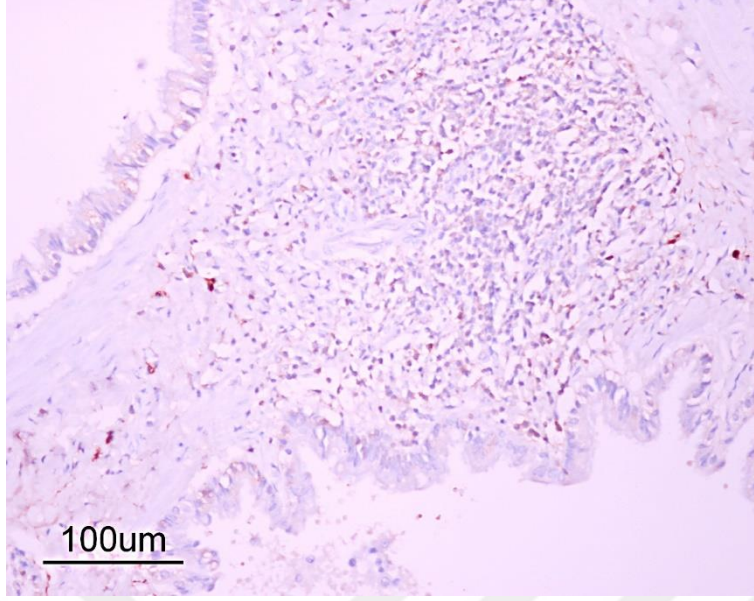
Şekil 11. RSV pozitif kuzularda alveolar makrofajlarda iNOS immun-reaktivitesi izlenmekte. ABC-P, bar: 100 μ .



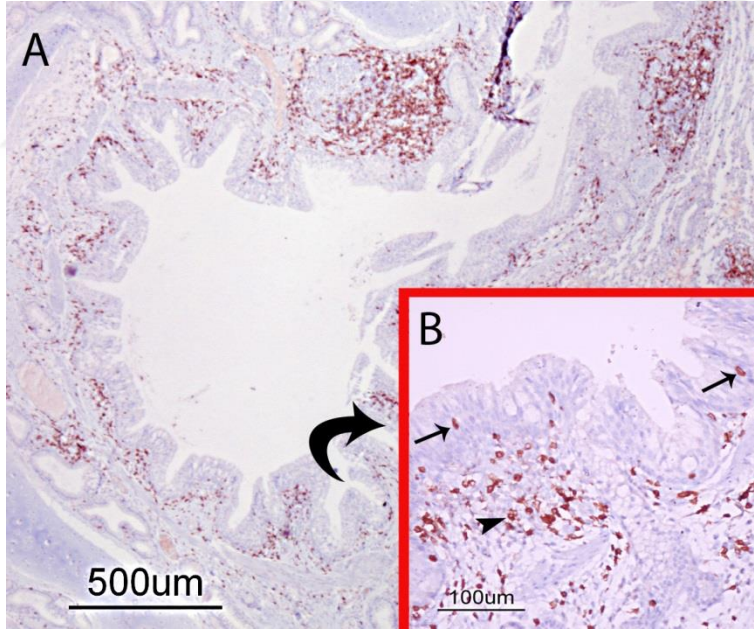
Şekil 12.RSV pozitif kuzularda alveol lümenlerindeki yangısal hücrelerde iNOS immun-reaktivitesi izlenmekte. ABC-P, bar: 100 μ .

4.3.3. Anti CD3 boyamalar

Kontrol grubuna ait akciğer kesitlerinde CD3⁺ T hücreleri bronşiyal lenf nodlarında görüldü. CD3⁺ T hücre aktivitesinde artış olan RSV pozitif pnömonik akciğer doku kesitlerde ise bronşiyal lenf nodlarında, peribronş ve peribronşiyoller alanda, bronş ve bronşiyollerin epitelyal ve propriya mukozasında, submukozada, bronşiyal bezlerin çevresinde, tüm havayollarında ve intersitisyel alanda immun-reaktif CD3⁺ T hücreleri belirlendi. İmmun-reaktivite sitoplazmik lokalizasyona sahipti (Şekil 13-17).



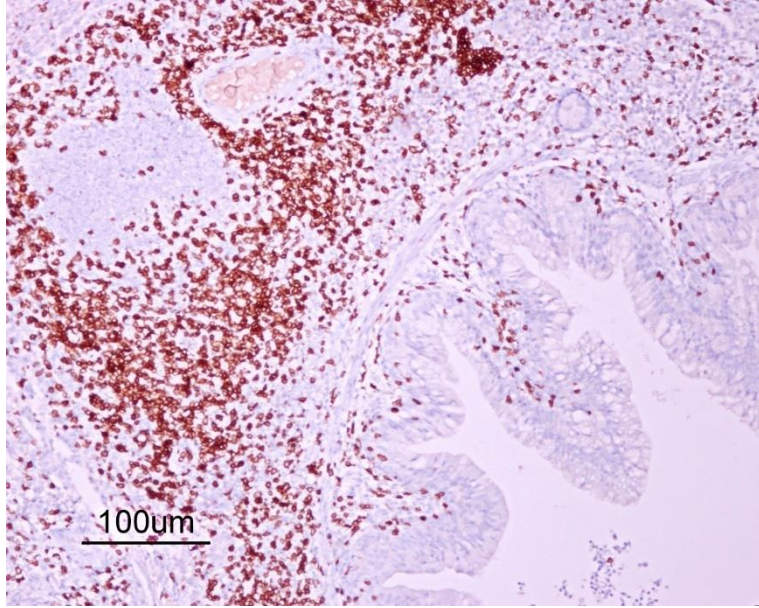
Şekil 13.Kontrol grubu kuzularda bronşiyol submukozasında az sayıda $CD3^+$ T lenfositler izlenmekte. ABC-P, bar: 100 μ .



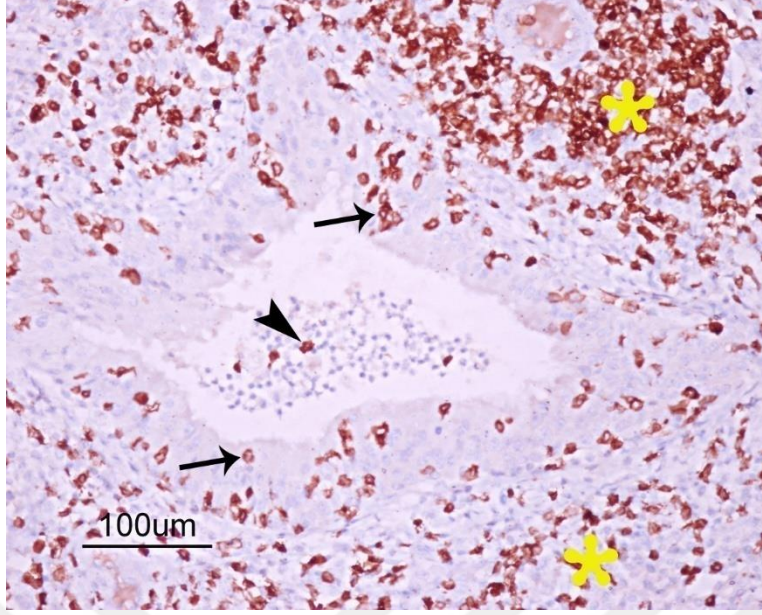
Şekil 14.A: RSV pozitif kuzularda, bronşiyal mukozada ve submukozada yaygın $CD3^+$ T lenfositler izlenmekte ABC-P, bar: 500 μ ; **B:** Epitelyal mukoza (oklar) ve propriya mukozada (okbaşı) $CD3^+$ T lenfositler izlenmekte. ABC-P, bar: 100 μ .



Şekil 15. RSV pozitif kuzularda peribronşiyoler alanda ve akciğer parankiminde yaygın CD3⁺ T lenfositler izlenmekte. ABC-P, bar: 500µ.



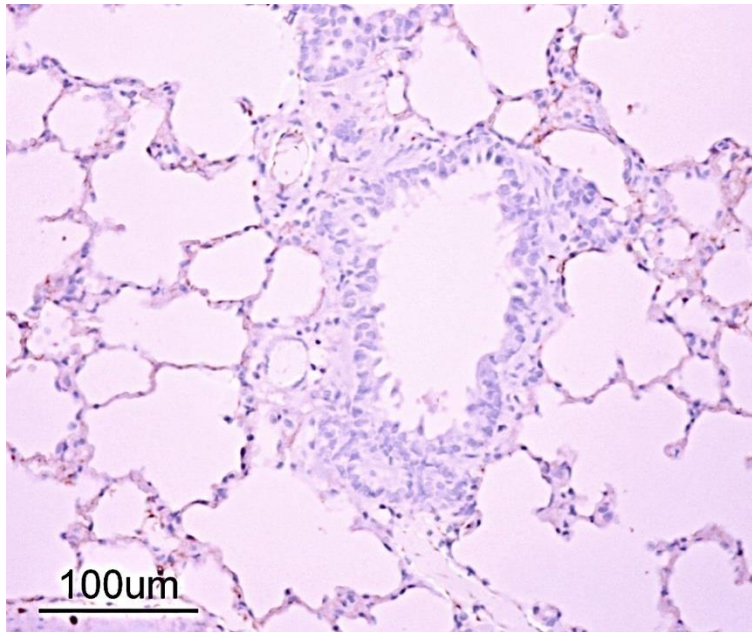
Şekil 16. RSV pozitif kuzularda propriya mkozada ve submukozal alanda yaygın CD3⁺ T lenfositler izlenmekte. ABC-P, bar: 100 µ.



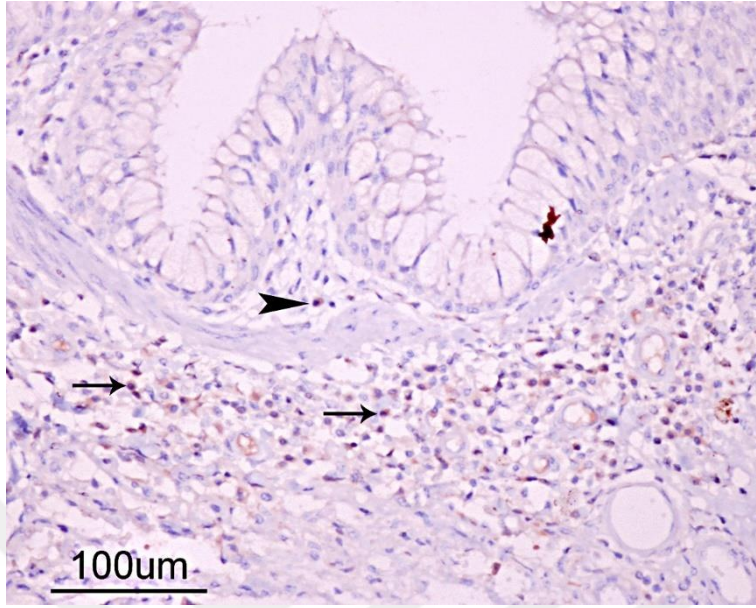
Şekil 17. RSV pozitif kuzularda bronşiyollümeninde (okbaşı),epitelyal mukozada (oklar) ve submukozada yaygın yaygın CD3⁺ T lenfositler (yıldızlar) izlenmekte. ABC-P, bar: 100 µ.

4.3.4. Anti CD8 boyamalar

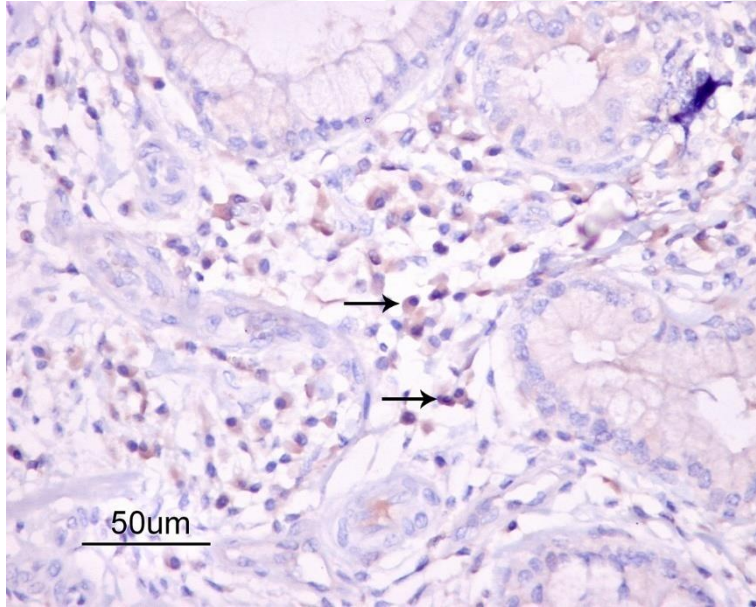
Kontrol grubuna ait akciğer kesitlerinde CD8⁺ T hücreleri görülmedi. RSV pozitif kesitlerin dört tanesinde bronşların propriya mukoza ve submukozasında, bronşiyal bezlerin çevresinde ve alveol lümenlerinde CD8⁺ T hücreler tespit edildi. İmmun-reaktivitenin sitoplazmik lokalizasyona sahip olduğu belirlendi (Şekil 18-21).



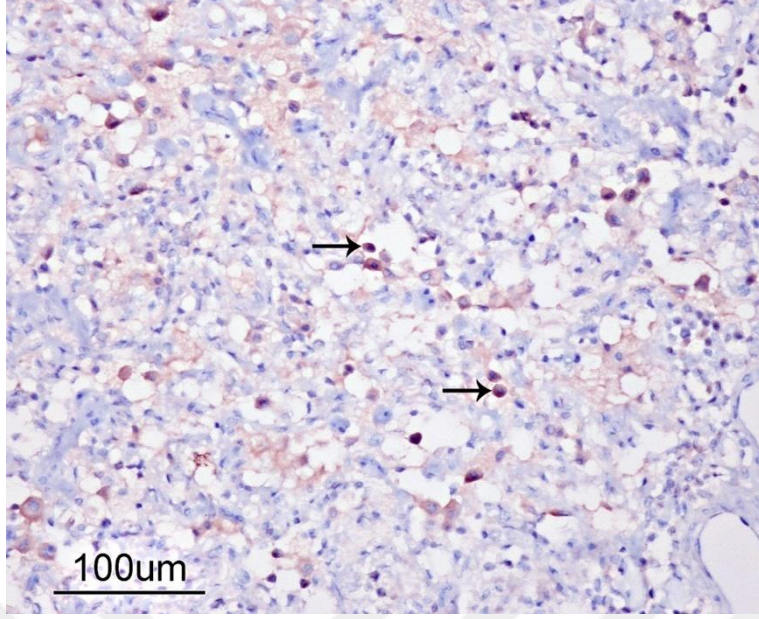
Şekil 18.Kontrol grubu kuzularda CD8 immun-boyaması. Reaktivite izlenmemekte. ABC-P, bar: 100 µ.



Şekil 19.RSV pozitif kuzularda propriya mukoza (okbaşı) ve submukozada (oklar) CD8⁺ T lenfositler izlenmekte. ABC-P, bar: 100 µ.



Şekil 20.RSV pozitif kuzularda bronşiyal bezlerin arasında CD8⁺ T lenfositler izlenmekte (oklar). ABC-P, bar: 100 µ.



Şekil 21.RSV pozitif kuzularda alveol lümenlerinde CD8⁺ T lenfositler izlenmekte. ABC-P, bar: 100 µ.

RSV pozitif akciğer dokularında tüm antikorların vakalardaki yoğunluğu tablo 1’de sunuldu (Tablo 1). Ayrıca, IHC boyamalarda antikorlara göre immun-reaktivitenin görüldüğü alanlar Tablo 2’de sunuldu (Tablo 2).

Tablo 1. IHC boyamalarda antikorların vakalardaki yoğunluğu

Vaka	RSV	iNOS	CD3	CD8
1	+	++	+++	-
2	++	++	-	-
3	+	+	-	-
4	+	++	+++	+
5	++	+++	+++	+
6	+++	+++	+++	-
7	+++	++	+	-
8	++	+++	++	-
9	+	+	+++	+
10	++	++	+++	-
11	++	+++	+++	+
12	+++	+++	++	-
13	++	++	-	-
14	+	++	+++	++
15	++	++	+++	-
16	++	+	-	-
17	+++	++	+	-
18	++	+	++	-

Tablo 2. HC boyamalarda antikorlara göre immun-reaktivitenin görüldüğü alanlar

Antikor	Alveol duvarı	Alveol lümeni	Bronş, bronşiyol epiteli	Peribronş, peribronşiler alan	Bronş, bronşiyol lümeni	Bronşiyal lenf nodu	Damar endoteli
RSV	10	12	15	17	8	0	0
iNOS	7	9	8	18	3	12	18
CD3	7	6	9	14	11	14	0
CD8	0	3	0	5	0	0	0

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Birçok hayvan türünde deneysel RSV enfeksiyonu çalışmaları yapılmıştır (Dreizin ve ark., 1971; Prince ve Porter 1976; Belshe ve ark., 1977; Collier ve Clyde 1977; Richardson ve ark., 1978). Ayrıca, RSV ile deneysel enfekte kuzularda (Sharma ve Woldehiwet, 1990; Sharma ve ark., 1990), sığırlarda (Gaddum ve ark., 2003, Taylor ve ark., 1997) ve deney hayvanlarında (Graham ve ark., 1991) solunum yollarında enflamatuvar hücreleri tanımlamayan çalışmalar mevcuttur. Ancak, RSV ile doğal enfekte kuzularda bu çalışmalar yapılmamıştır. Deneysel RSV enfeksiyonlarının, doğal RSV enfeksiyonundakine benzer klinik belirtiler ve lezyonların gösterilmesine olanak sağladığı halde, doğal olarak meydana gelen hastalığı tam olarak yansıtmadığı vurgulanmıştır (Belknap ve ark., 1995). Çünkü yaş, bağışıklık durumu, pulmoner savunma mekanizmaları, eşzamanlı enfeksiyonların varlığı ve stres gibi konakçı faktörlerin hepsi solunum yolu enfeksiyonlarının sonucunu belirleyebilir. Bundan dolayı, tüm hayvanları iyice değerlendirerek ve bu değişkenlerin çoğunu elimine ederek deneysel bir popülasyon elde edilebilmenin önemi vurgulanmıştır (Belknap ve ark., 1995). İlaveten, deneysel RSV enfeksiyonu oluşturularak yapılan çalışmalarda inokulasyonda farklılıkların olabileceği vurgulanmıştır. Hacim, titre ve patojenitenin modelin etkinliğini belirleyebileceği belirtilmiştir (Belknap ve ark., 1995). Sunulan bu çalışmada, doğal RSV enfeksiyonunda şekillen inflamasyonda iNOS, CD3 ve CD8 ekspresyonları IHC yöntemiyle araştırıldı.

RSV'nin tanısı klinik bulgular, makroskobik inceleme, histopatolojik bulgular ve etkilenen doku kesitlerinde viral antijenin IHC yöntemiyle gösterilmesine dayanılarak yapılır (Baker, 1986, Haines ve ark., 1989). Ancak, koyunların özellikle parainflüenza tip-3 (PIV-3) ve RSV gibi virüslere duyarlı oldukları bildirilmiştir (Gülbahar ve ark., 2002; Çeribas ve ark., 2013). Bu virüslerin teşhisi makroskobik olarak sınırlıdır ve çoğu solunum virusünün silier aktiviteyi tahrip ettiği ve solunum yolundaki mukosilyer temizliği önemli ölçüde azalttığı bilindiğinden, benzer akciğer lezyonlarına bağlı histopatolojik bulgular sergilerler (Jericho, 1983; Çeribas ve ark., 2014). Dolayısıyla, PIV-3 ve RSV enfeksiyonlarında akciğerdeki patolojik değişiklikler birbirine benzediği için, H&E kesitlerin histolojik incelemesi etken teşhisi için yeterli olmadığı belirtilmiştir (Dungworth, 1993). İlaveten, özellikle RSV'nin, hücre

kültüründe yavaş ilerleyen sorunlu bir virüs olduğu, bu nedenle, virüs izolasyonunu gerçekleştirmenin zor olduğu belirtilmiştir (Ciszewski ve ark., 1991; Pulat, 1992). Dahası, RSV virüsü koyunlarda doğal enfeksiyonlarda nadir olarak izole edilmiş (Everman ve ark.,1985) ve bir RSV suşunun, belirgin klinik belirtiler olmadan kuzu akciğerlerinde ciddi patolojik değişikliklere neden olabileceği belirtilmiştir (Sharma ve Woldehiwet, 1990). Tüm bu nedenlerden dolayı IHC tekniği solunum yolu hastalıklı hayvanlarda RSV antijenlerinin tespitinde hızlı ve güvenilir bir yöntem olarak sıklıkla kullanılmıştır (Gülbahar ve ark., 2002; Yaman ve ark., 2018; Özyıldız ve ark., 219).

Sunulan bu çalışmada, immunohistokimyasal olarak interalveolar septumlarda, alveollümenindeki eksudatta, alveoler makrofajlarda, bronş ve bronşiyol epitelinde ve bronş ve bronşiyol lümeninde bulunan eksudatta ve hücresel döküntülerde intrasitoplazmik olarak RSV replikasyonu saptandı (Gülbahar ve ark., 2002; Çeribaşı ve ark., 2013; Sacco ve ark., 2014; Jarikre ve ark., 2017; Yaman ve ark., 2018). RSV ile ilgili benzer bulgular, deneysel olarak enfekte olmuş balb/c farelerde de bildirilmiştir (Almeida ve ark., 2004).

NO'nin sitotoksik veya sitostatik etkileri ile çeşitli patojenlere karşı antimikrobiyal etkilere sahip olduğu rapor edilmiştir (Akaike ve ark., 1996). In vivo NO üretiminin, bazı virüslerin temizlenmesine önemli ölçüde katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Adler ve ark., 1997; Sanders ve ark., 1998). İnflüenza virüsü (Akaike ve ark., 1996), adenovirüs (Zsengeller, 2001) ve rinovirüs (Sanders ve ark., 2001) dahil olmak üzere bir grup virusun hem in vitro hem de in vivo olarak solunum epitelinde NO üretimini attırdığı rapor edilmiştir. Solunum epiteli hücre kültürünün RSV enfeksiyonunda, iNOS ekspresyonunda artış meydana geldiği bildirilmiştir (Kao ve ark., 2001; Stark ve ark., 2005). RSV enfeksiyonu sonrası nNOS veya eNOS'un yoğunluğunda veya dağılımında immunohistokimyasal olarak kontrol farelerindeki kıyasla belirgin bir değişiklik oluşmadığı, buna karşılık, iNOS boyanmasının, esas olarak solunum epitelinde ve RSV enfeksiyonundan sonraki 4. ve 7. günlerde, önemli ölçüde artış gösterdiği bildirilmiştir (Stark ve ark., 2005). Dolayısıyla, IHC analizi, solunum epitelindeki iNOS'u akut RSV enfeksiyonu sırasında değişen ana NOS enzimi olarak açıkça ortaya koymuştur. Western blot analizi ile, RSV enfeksiyonundan sonraki 4. ve 7. günlerde iNOS izoformlarında bir artış olduğunu ve iNOS'un RSV

enfeksiyonundan sonra birincil olarak artan NOS izoformu olduğunu ve bu artışın asıl lokasyonunun solunum epitel hücrelerinde gerçekleştiği gösterilmiştir (Stark ve ark., 2005). Sunulan bu çalışmada, damar endotelinde kontrole göre iNOS ekspresyonunda artış gözlenirken bronş ve bronşiyol epitelinde artış tespit edilmedi.

Solunum epitel hücrelerinin RSV ile enfeksiyonunun, sitokin ve kemokinler (TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, RANTES, ve MIP-1 α (Noah ve Becker, 1993; Stark, 2000) dahil bazı proinflamatuvar proteinlerin, reseptör proteinlerinin (Chini ve ark., 1998, O'Donnell ve ark., 1999) ve NO'yu da içeren diğer bazı önemli hücre sinyal moleküllerinin ekspresyonunu uyardığı ortaya konmuştur. Makrofajlarda, nötrofillerde, endotelial ve düz kas hücrelerinde ve respiratoryal epitelyumda iNOS ekspresyonu tanımlanmış ve transkripsiyonel olarak TNF-a, interferon (IFN)- γ , IL-1 β ve NF-k β gibi bir dizi proinflatuvar sitokin tarafından düzenlendiği rapor edilmiştir (Nathan, 1992; Xie ve Nathan 1994). Ayrıca, NO'nun solunum yolları yangılarında birden fazla hücre tipinin etkileşimini ve inflamatuvar hücrelerin solunum yollarına göçünü kolaylaştıran anahtar bir mediyatör olduğu bildirilmiştir (Ricciardolo, 2003).iNOS inhibisyonundan sonra makrofaj, lenfosit ve nötrofillerin sayılarında azalma meydana geldiği belirtilmiştir. Dolayısıyla, NO baskılanmasının en büyük etkisi,inflamatuvar hücrelerin azalması olmuştur (Stark ve ark., 2005). Sunulan bu çalışmada, hava yollarında ve intersitisyel alandaki yangı hücrelerinde yoğun iNOS ekspresyonun görülmesi, doğal RSV enfeksiyonunda iNOS'un yangı hücrelerindeki etkisini ortaya koymuştur. Özellikle, lenfositlerde ve alveolar makrofajlarda iNOS immun-ekspresyonunun şekillendiği görülürken, nötrofillerde immun-ekspresyon görülmedi(Choi ve ark.,2002). Tüberküloz graülomlarının inflamasyon kuşağında iNOS'u eksprese eden başlıca hücre tiplerinin makrofaj ve çok çekirdekli dev hücreleri olduğu, ancak, beklediği gibi lenfositlerde iNOS ekspresyonu olmadığını bildirmişlerdir (Choi ve ark., 2002). Dolayısıyla, enfeksiyondaki etkenin türüne bağlı olarak iNOS'un eksprese olduğu hücre tiplerinin değişebileceği anlaşılabilir.

Tüm bunlarla birlikte NO'nun akut akciğer hasarındaki rolü tartışmalı bir konu olup, NO'nun astım, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, kistik fibroz ve akut akciğer hasarı gibi çeşitli akciğer hastalıklarında faydalı ve zararlı roller oynadığı gösterilmiştir (Eynott ve ark., 2002; Nevin BJ ve Broadley, 2002). Akciğerdeki NO aktivitesinin iki

ucu keskin bir bıçak olduğu bildirilmiştir: Çünkü NO ve NOS aktivitesinin üretimini RSV'nin klirensini arttırmakla birlikte hem hava yolu enflamatuvar değişikliklerine hem de solunum yolu işlev bozukluğuna katkıda bulunduğu rapor edilmiştir. RSV'nin neden olduğu NO üretiminin karmaşık konak yanıtlarına katıldığını ve klinik hastalığın önemli yönlerine aracılık edebileceği belirtilmiştir (Stark ve ark., 2005).

T lenfositlerin RSV enfeksiyonunun primer hücrel immün yanıtları olduğunu bildirilmiştir (Sow ve ark., 2010). İmmunohistokimyasal olarak, RSV pnömonilerinde öncelikle pulmoner arteriyoller ve küçük distal hava yolları arasındaki alanda büyük yoğunlukta olmak üzere zaman zaman RSV ile enfekte hava yolu epitelinde intraepitelyal CD3 T hücrelerin varlığı belirlenmiştir. Zaman zaman bronşiyol epitelinin bazal hücre tabakası içinde görülen bu hücreler aynı zamanda alveolar intersitisyumda da mevcut oldukları bildirilmiştir. Ayrıca, CD3⁺ T lenfositler, küçük bronşiyollerin çevresindeki submüsküler yangısal infiltrasyonun önemli bir bileşeni olarak raporlanmıştır (Johnson ve ark., 2007). Sunulan bu çalışmada, benzer alanlarda CD3⁺ T lenfositlerin varlığı belirlendi.

Sitotoksik CD8⁺ T hücreleri, RSV enfeksiyonunun kontrolünde ve temizliğinde kritik bir rol oynar (Woodland, 2003). Kontrol grubu kuzularından elde edilen sıvıya kıyasla, BRSV ile enfekte olmuş kuzulardan akciğer lavaj sıvısında, CD8⁺ T lenfosit varlığı bildirilmiştir (Sharma ve Woldehiwet, 1990). Sığır CD8 T hücreleri, BRSV'nin M2, F, N ve G proteinlerini hedef alır (Gaddum ve ark., 2003, Taylor ve ark., 1997). Farelerde ve insanlarda, CD4 ve CD8 T hücrelerinin tepkilerinin, N, M, NS2, M2-1, F ve G de dahil olmak üzere birçok RSV proteini içindeki epitoplara yönelik olduğu bildirilmiştir (Meyer ve ark., 2008). Enfeksiyon sırasındaki öneminin bir kanıtı olarak, CD8 T hücrelerinin bRSV ile enfekte buzağılardan tükenmesi, daha ciddi hastalıklara yol açmakta ve kontrol hayvanlarına kıyasla artan viral dökülmeye neden olmaktadır (Thomas ve ark., 1996). Sunulan bu çalışmada, CD8 T lenfositlerin varlığı beş vakada tespit edildi.

Sunulan bu çalışmada, tespit edilen CD8 pozitif vaka sayısının CD3 pozitif vakalara nispeten daha az olduğu görülmekte. Bunun nedeni enfeksiyonun süresi ile ilgili olabilir. İnsan RSV A2 suşu ile enfekte edilen kuzuların akciğerlerinde, RSV titreleri enfeksiyon sonrası 3. günde düşük iken, 6. günde belirgin bir şekilde arttığı ve

14. günde bazal seviyelere düştüğü bildirilmiştir. Flow sitometri ile yapılan değerlendirmede 6. günde CD1⁺, CD4⁺, ve CD8⁺ hücre düzeylerinde önemli yükseliş tespit edilmiştir (Sow ve ark., 2010). Diğer bir çalışmada sitotoksik T-hücre aktivitesi, enfeksiyondan 7 ile 10 gün sonra zirveye ulaştığı bildirilmiştir (Woolums ve ark., 2004). Ayrıca, her ne kadar BRSV sitotoksik bir T hücre yanıtı ortaya çıkarsa da, bunun zayıf ve geçici olduğu bildirilmiştir (Gaddum ve ark., 1996, Woolums ve ark., 2004). İlaveten, memory T hücrelerinin büyük popülasyonları solunum yollarında ve akciğer parankimi içerisinde kalır ve birkaç ay içinde yavaş yavaş azalır ve daha sonra düşük bir seviyede stabilize olur (Moldoveanu ve ark., 2009). Sonuç olarak, örneklerin alındığı hayvanlar doğal enfekte olduğu için, enfeksiyonun süresi belirlenemediğinden, enfeksiyonda görev alan lenfositlerin buna bağlı olarak değişkenlik gösterebileceğini düşünüyoruz.

Nötrofiller, oksidanlar ve proteolitik enzimler dahil olmak üzere çok sayıda enflamatuar ürün üretirler ve akut ve kronik akciğer hastalığının oluşumunda rol oynarlar (Sibille ve Reynolds, 1990, Donnelly ve Haslett, 1992). RSV immün komplekslerinin ise nötrofil aktivitesini uyardığı gösterilmiştir (Faden ve Kaul, 1983). RSV enfeksiyonu, insan alveoler makrofajlarını (Becker ve ark., 1993) ve hava yolu epitel hücrelerini (Becker ve ark., 1991) büyük miktarlarda interlökin-8 üretmek için uyarır. İnterlökin-8'in nötrofiller için güçlü bir kemotaktan ve aktifleştirici olduğu bilinmektedir (Leonard ve Yoshimura 1990) ve bu sitokin, RSV enfeksiyonlarında görülen nötrofil akışında merkezi bir rol oynaması muhtemeldir. RSV'li çocuklardan bronşiyal lavaj ile elde edilen hücrelerin CD4 ve CD8 pozitif T lenfositler bulunmasına rağmen çoğunluğunu nötrofillerin oluşturduğu bildirilmiştir (Everard ve ark., 1994). Sunulan bu çalışmada, RSV pozitif hayvanların akciğer kesitlerinin H&E incelemesinde, nötrofillerin inflamasyon hücreleri içinde çoğunlukta olduğu görüldü. Hernekadar nötrofil varlığı RSV ile sinerjik olarak seyreden pasteurella ve mikoplazma gibi bakteriyel etkenlerin varlığına bağlı olarak arttığı bildirilsede (Yaman ve ark., 2018), yukarıdaki literatür bilgileri ışığında nötrofillerin RSV'ye karşı gelişen immün yanıtta rol aldıkları düşünülebilir.

Sunulan bu çalışmadaki makroskopik ve histopatolojik bulgular daha önce koyunlarda (Hazıroğlu ve ark., 1994; Gülbahar ve ark., 2002), keçilerde (Çeribaşı ve

ark., 2013), ve sığırlarda (Yaman ve ark 2018;Özyıldız ve ark., 2019) bildirilen çalışmalarile uyumluuydu. Makroskobik lezyonlar çoğu lobüler yapıya sahipti ve özellikle akciğerin kranial loplarını içeren, konsolide, kırmızı ya da grimsi-beyaz akciğer dokusundan oluşuyordu. Pnömonik loblar ve etkilenmeyen alanlar arasında demarkasyon hatları belirgindi. Bu akciğerlerin çeşitli kısımlarında amfizemler mevcuttu (Gülbahar ve ark., 2002; Özyıldız ve ark., 2018).Ancak daha önce doğal enfekte RSV enfeksiyonlarında yapılan çalışmalarda belirtildiği gibi tarif edilen lezyonların ne kadar birleşik patojenlerin ilave veya sinerjistik etkisinden kaynaklandığı belirsizdir (Gülbahar ve ark., 2002; Yaman ve ark., 2018).Çünkü, RSV ile eş zamanlı olarak enfeksiyona neden olan adenovirus, *P. haemolytica*, *P. Multocida* ve *Mycoplasma* sp gibi diğer pulmoner patojenlerin varlığı bildirilmiştir. Ayrıca, RSV'nin *P. Multocida* ve *M. Haemolytica* gibi sekonder bakteriyel enfeksiyonlara karşı duyarlılığı arttırığı belirtilmiştir (Yaman ve ark., 2018).

Sonuç olarak, pulmoner lezyonlarda viral antijenlerin tespitinde güvenle kullanılan bir yöntem olan IHC tekniği RSV varlığının ortaya konulduğu pnömonili vakalarda iNOS, CD3 ve CD8 immun-ekspresyonları değerlendirildi. RSV tespit edilen vakalarda, iNOS ve CD3 immun-ekspresyonlarında artış tespit edilmesi, RSV'ye karşı gelişen immun yanıtta iNOS ve CD3⁺ T lenfositlerinönemli rol aldıklarını ortaya koydu. Ancak, doğal enfekte vakalar incelendiğinden, muhtemel diğer patojenlerin varlığının bu ekspresyonlar üzerindeki etkileri belirlenemedi.

KAYNAKLAR

- Adler H, Beland JL, DelPan NC, Kobzik L, Brewer JP, Martin TR. et al. Suppression of herpes simplex virus type 1 (HSV-1)-induced pneumonia in mice by inhibition of inducible nitric oxide synthase (iNOS, NOS2). *J Exp Med.* 1997; 185: 1533-40.
- Akaike T, Noguchi Y, Ijiri S, Setoguchi K, Suga M, Zheng YM, Dietzschold B, Maeda H. Pathogenesis of influenza virus-induced pneumonia: Involvement of both nitric oxide and oxygen radicals. *Proc Natl Acad Sci ABD A.* 1996; 93(6): 2448-53.
- Almeida RS, Domingues HG, Coswig LT, d'Arce RCF, de Carvalho RF, Arns CW. Detection of bovine respiratory syncytial virus in experimentally infected balb/c mice. *Vet Res* 2004; 35:189-97.
- Arda M, Mimbay A, Aydın N, Akay Ö, İzgür M, Diker KS. Mukozal yüzeylerde bağışıklık mekanizması immunoloji. Ankara: Medisan Yayınevi; 1998.
- Aytug NC, Tavukçuoğlu F, Çöven F. Bursa yöresindeki enzootik buzagılarında
- Baker JC. Bovine respiratory syncytial virus: pathogenesis, clinical signs, diagnosis, treatment, and prevention. *Compend Food Anim.* 1986; 8: 31-8.
- Bakke T. The occurrence of mycoplasmas and bacteria in lungs from sheep in Southern Norway. *Acta Vet Scand.* 1982; 23: 235-47.
- Barnes PJ, Liew FY. Nitric oxide and asthmatic inflammation. *Immunol Today.* 1995; 16: 128-30.
- Başoğlu. Veteriner iç hastalıklarında klinik muane. Konya: Bahçıvanlar Basım San. AŞ; 1998.
- Becker S, Koren HS, Henke DC. Interleukin-8 expression in normal nasal epithelium and its modulation by infection with respiratory syncytial virus and cytokines tumour necrosis factor, interleukin-I and interleukin-6. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1993; 8: 20-7.
- Becker S, Quay J, Soukup J. Cytokine (tumour necrosis factor, IL-6 and IL-8) production by respiratory syncytial virus-infected human alveolar macrophages. *J Immunol.* 1991; 12: 4307-12.
- Belknap, EB, Ciszewski, DK, Baker JC. Experimental respiratory syncytial virus infection in calves and lambs. *J Vet Diagn Invest.* 1995; 7(2): 285-8.
- Belshe RB, Richardson LS, London WT, Sly DL, Lorfeld JH, Camargo E, et al. Experimental respiratory syncytial virus infection of four species of primates. *J Med Virol.* 1977; 1(3): 157-62.
- Beytut E, Otlu S, Sözmen M. Kars bölgesi koyunlarında gözlenen pnömoniler üzerine patolojik ve etiyolojik incelemeler. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2002; 8(1): 31-9.
- Billiar TR, Curran RD, Harbrecht BG, Stadler J, Williams DL, Ochoa JB. et al. Association between synthesis and release of cGMP and nitric oxide biosynthesis by hepatocytes. *Am J Physiol.* 1992; 262: C1077-82.

- Bryson DG, Cush PF, McNulty MS, Platten M, Allan GM. An immunoperoxidase method of detecting respiratory syncytial virus antigens in paraffin sections of pneumonic bovine lung. *Am J Vet Res.* 1988; 49(7): 1121-6.
- Bryson DG, Evermann JF, Liggitt HD, Foreyt WJ, Breeze RG. An immunoperoxidase method of detecting respiratory syncytial virus antigens in paraffin sections of pneumonic bovine lung. *Am J Vet Res.* 1988; 49: 1121-6.
- Bryson DG, Evermann JF, Liggitt HD, Foreyt WJ, Breeze RG. Studies on the pathogenesis and interspecies transmission of respiratory syncytial virus isolated from sheep. *Amer J Vet Res.* 1988; 49(8): 1424-30.
- Caswell JL, Williams KJ. Respiratory system Infectious disease of the respiratory system. In Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animal, Volume 3. 5th edition. Edited by Maxie MG. Elsevier Saunders, Edinburgh; 2006: 596-8.
- Chang A, Rebecca E, Paramyxovirus Fusion And Entry, Multiple Paths To A Common End, *Viruses*, Dutch, 2012; 4-4: 613-36.
- Chini BA, Fiedler MA, Milligan L, Hopkins T, Stark JM. Essential roles of NF- κ B and C/EBP in the regulation of intercellular adhesion molecule-1 after respiratory syncytial virus infection of human respiratory epithelial cell cultures. *J Virol.* 1998; 72: 1623-6.
- Chirase NK, Greene LW. Dietary zinc and manganese sources administered from the fetal stage onwards affect immune response of transit stressed and virus infected offspring steer calves. *Anim Feed Sci Technol.* 2001; 93: 217-28.
- Choi HS, Rai PR, Chu HW, Cool C, Chan ED. Analysis of nitric oxide synthase and nitrotyrosine expression in human pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002; 166(2): 178-86.
- Ciszewski DK, Baker JC, Slocombe RF, Reindel JF, Haines DM, Clark EG. Experimental reproduction of respiratory tract disease with bovine respiratory syncytial virus. *Vet microbiol.* 1991; 28(1): 39-60.
- Cohrs P. Textbook of special pathological anatomy of domestic animals. London: Pergamon Press; 2013.
- Collier AM, Clyde WA. Model systems for studying the pathogenesis of infections causing bronchiolitis in man. *Pediatr Res.* 1997; 11: 243-6.
- Collins P, Chanock R, Murphy B. Respiratory syncytial virus. in: Fields Virology. Eds: Knipe DM, Howley PM. 4th Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001: 1341-79.
- Curran RD, Billiar TR, Stuehr DJ, Ochoa JB, Harbrecht BG, Flint SG, et al. Multiple cytokines are required to induce hepatocyte nitric oxide production and inhibit total protein synthesis. *Ann Surg.* 1990; 212: 462-9, discussion 470-1.
- Çalışlar T. Evcil Hayvanların anatomisi. İstanbul: İÜ. Vet. Fak. Yayınları; 1986.
- Çeribaşı AO, Ozkaraca M, Ceribasi S, Ozer H. Histopathologic, Immunoperoxidase and Immunofluorescent Examinations on Natural Cattle Pneumonia Originated from Parainfluenza Type 3, Respiratory Syncytial Virus, Adenovirus Type 3 and Herpesvirus Type 1. *Revue Med Vet.* 2014; 165: 201-12.

- Çeribaşı S, Ozkaraca M, Ozer H, Ceribasi AO. Diagnosing respiratory syncytial virus using immunofluorescence and immunohistochemistry methods in caprine lungs with bronchopneumonia. *Rev Méd Vét.* 2013; 164(3); 120-4.
- Çiftçi MK, Ortatatlı M, Erer H, Hatipoğlu F, Özdemir Ö. *Veteriner sistemik patoloji.* cilt 1. Konya: Selçuk Üniversitesi Basımevi; 2015.
- Davies DH, Herceg M, Jones BAH, Thurley DC. The pathogenesis of sequential infection with parainfluenza virus type 3 and *Pasteurella haemolytica* in sheep. *Vet Microbiol.* 1981; 6: 173-82.
- Davies DH. Aetiology of pneumonia of young sheep. *Preg Vet Microbiol Immun.* 1985; 1: 229-48.
- Dheerandra N, Charan K, Chattopadhyay S K. Pathological studies on caprine pneumonia in goats. *Ind Vet J.* 1991; 68: 216-20.
- Donnelly SC, Haslett C. Cellular mechanisms of acute lung injury: implications for future treatment in the adult respiratory distress syndrome. *Thorax.* 1992; 47: 260-3.
- Dreizin RS, Vyshnevetskaia LO, Bagdamian EE, Iankevich OD, Tarasova LB. Study of experimental respiratory syncytial virus infection in cotton rats: virologic and immunologic studies. *Vopr Virusol.* 1971; 16(6): 670-6.
- Dungworth DL. The respiratory system. In: Jubb, K V F Kennedy PC, Palmer N. (Eds): *Pathology of domestic Animals*, 4th ed., Academic Press. New York pp. 1993; 539-699.
- Eleraky NZ, Kania SA, Potgieter LN. The Ovine Respiratory Syncytial Virus F Gene Sequence and its Diagnostic Application. *J Vet Diagn Invest.* 2001; 13: 455–61.
- Erer H, Kıran MM, Çiftçi MK. *Veteriner Patoloji.* 3. baskı. Konya: Bahçivan yayınları; 2009.
- Eser G. Koyun pnömonilerinde parainfluenza 3 virüs varlığının immünohistokimyasal yöntemlerle araştırılması (Yüksek lisans tezi). Erzurum. Atatürk Üniversitesi; 2019.
- Everard ML, Swarbrick A, Wright M, McIntyre J, Dunkley C, James PD, Milner AD. Analysis of cells obtained by bronchial lavage of infants with respiratory syncytial virus infection. *Arch Dis Child.* 1994; 71(5): 428-32.
- Evermann JF, Liggitt HD, Parish SM, Ward AC, LeaMaster BR. Properties of a respiratory syncytial virus isolated from a sheep with rhinitis. *Am J Res.* 1985; 46(4): 947-51.
- Eynott PR, Groneberg DA, Caramori G, Adcock IM, Donnelly LE, Kharitonov S. Role of nitric oxide in allergic inflammation and bronchial hyperresponsiveness. *Eur J Pharmacol.* 2002; 452: 123–33.
- Faden H, Kaul TN, Ogra PL. Activation of oxidative and arachidonic acid metabolism in neutrophils by respiratory syncytial virus antibody complexes: possible role in disease. *Infect Dis.* 1983; 148: 110-6.
- Gaddum RM, Cook RS, Thomas LH, Taylor G. Primary cytotoxic T-cell responses to bovine respiratory syncytial virus in calves. *Immunology.* 1996; 88: 421–7.
- Gençay A. Direkt immunofloresan ve mikronötralizasyon testleri ile koyunlarda

- Gençcelep M, Aslan L, Tütüncü M, Bakır B, Karaca M. Koyunlarda akciğer hastalıklarının tanısında direk radyografi ve bronkografi bulgularının değerlendirilmesi. YYÜ Vet Fak Derg. 2001; 12(1,2): 10-4.
- Graham BS, Bunton LA, Wright PF, Karzon DT. Role of T lymphocyte subsets in the pathogenesis of primary infection and rechallenge with respiratory syncytial virus in mice. J Clin Invest. 1991; 88(3): 1026-33.
- Gülbahar Y, Çabalar M, Ertürk A. Detection by immunoperoxidase technique of parainfluenza type-3 virus and respiratory syncytial virus antigens in naturally occurring pneumonia in lambs. YYÜ Vet Fak Derg. 2002; 13: 74-7.
- Haines DM, Clark EG, Chelack BJ. The detection of bovine respiratory syncytial virus in formalin fixed bovine lung with commercially available monoclonal antibodies and avidin biotin complex immunohistochemistry. Can J Vet Res. 1989; 53:366-8.
- Hall CB. Respiratory syncytial virus. In: Principles and Practice of Clinical Virology. Eds: Zuckerman AJ, Banatvala JE, Pattison JR. John Wiley and Sons, Chichester. 1994: 270-2.
- Haziroğlu R, Milli ÜH. Veteriner Patoloji. II. Baskı. Ankara: Medipress; 2001.
- Haziroğlu R, Diker KS, Turkarlan J, Gulbahar MY. Detection of Mycoplasma ovipneumoniae and Pasteurella haemolytica antigens by an immunoperoxidase technique in pneumonic ovine lungs. Vet Pathol. 1996;33:74-6.
- İmren HY, Şahal M. Veteriner İç Hastalıkları. 3. Baskı. Ankara: Medisan yayınevi; 1994.
- Jarikre TA, Emikpe BO. First report of immunohistochemical detection of Peste des petit ruminants, parainfluenza 3 and respiratory syncytial viral antigens in lungs of Nigerian goats. J Immunoass Immunoch. 2017; 38(5): 555-68.
- Jericho KWF. Histological Changes in the Respiratory Tract of Calves Exposed to Aerosols of Bovine Herpesvirus 1 and Pasteurella haemolytica. J Comp Pathol. 1983; 93: 73-82.
- Johnson JE, Gonzales RA, Olson SJ, Wright PF, Graham BS. The histopathology of fatal untreated human respiratory syncytial virus infection. Mod Pathol. 2007; 20(1): 108.
- Kao YJ, Piedra PA, Larsen GL, Colasurdo GN. Induction and regulation of nitric oxide synthase in airway epithelial cells by respiratory syncytial virus. Am J Respir Crit Care Med. 2001; 163: 532-9.
- Kennerman E. Koyunlarda solunum sistemi hastalıklarına klinik yaklaşım. Türkiye Klinikleri J Vet Sci. Intern Med-Special Topics. 2017; 3(1): 38-46.
- Komatsu T, Bi Z, Reiss CS. Interferon-gamma induced type I nitric oxide synthase activity inhibits viral replication in neurons. J. Neuroimmunol. 1996: 68; 101-8.
- Lacza Z, Snipes JA, Zhang J, Horváth EM, Figueroa JP, Szabó C, Busija DW. Mitochondrial nitric oxide synthase is not eNOS, nNOS or iNOS. Free Radic Biol Med. 2003: 35(10); 1217-28.
- Leonard EJ, Yoshimura T. Neutrophil attractant/activation protein-1 (NAP-1 [interleukin-8]). Am J Respir Cell Mol Biol. 1990; 2: 479-86.

- Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger. *Ann Intern Med.* 1994; 120: 227–37.
- Mandel GL, Bennett JE, Dolin R, Mandell Douglas and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases. 4th Ed. United States of America: Churchill Livingstone Inc. 1995: 1501-1519.
- Mannick JB. The antiviral role of nitric oxide. *Res Immunol.* 1995; 146: 693–7.
- McInnes E, Sopp P, Howard CJ, Taylor G. Phenotypic analysis of local cellular responses in calves infected with bovine respiratory syncytial virus. *Immunology.* 1999; 96: 396–403.
- Metin N, Özer H, Çiftçi MK. Elazığ ve çevresi keçilerinde pnömonilerinin yayılışı üzerine patolojik incelemeler. *SÜ Vet Fak Derg.* 1988; 4(1): 231-37.
- Meyer G, Deplanche M, Schelcher F. Human and bovine respiratory syncytial virus vaccine research and development. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2008; 31: 191–225.
- Milli ÜH, Hazıroğlu R. Veteriner Patoloji. 2. Baskı. Ankara: Tamer Matbaacılık; 2001.
- Moldoveanu B, Otmishi P, Jani P, Walker J, Sarmiento X, Guardiola J, Yu J. Inflammatory mechanisms in the lung. *J Inflamm Res.* 2009; 2: 1-11
- Murphy FA. Virus Taxonomy, Fields BN, Knipe DM, Howley PM. Fields Virology. Lipponcott-Raven Publishers: Philadelphia; 1996.
- Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J.* 1992; 6: 3051–64.
- Nevin BJ, Broadley KJ. Nitric oxide in respiratory diseases. *Pharmacol Ther.* 2002; 95: 259–93.
- Noah TL, Becker S. Respiratory syncytial virus-induced cytokine production by a human bronchial epithelial cell line. *Am J Physiol.* 1993; 265: L472–8.
- O'Donnell DR, Milligan L, Stark JM. Induction of CD95 (Fas) and apoptosis in respiratory epithelial cell cultures following respiratory syncytial virus infection. *Virology.* 1999; 257: 198–207.
- Özbey G, Muz A. Pnömonili koyun ve keçilerin akciğerlerinden aerobik bakteri izolasyonları ve izole Pasteurella Multocida ve Mannheimia haemolytica 'nin polimeraz zincir reaksiyonu ile saptanması. *Turk J Vet Anim Sci.* 2004; 209-16.
- Özyıldız Z, Özmen O, Serpin N, Dolu H, Kutlu T, Özsoy SY. Investigation of mannose-binding lectin, surfactant protein B and heat shock protein expression in bovine respiratory syncytial virus infection. *Rev Med Vet.* 2019; 170(1-3): 2-8.
- Parainfluenza -3 (PI-3) Virus Enfeksiyonunun araştırılması. Ankara Üniversitesi Sag Bil Enst. Doktora Tezi, 2002; Ankara.
- Parainfluenza-3 Virusunun insidensi ve asılamanın klinik pnömonilerin önlenmesindeki etkinliği üzerine bir araştırma. *Pendik Hayv Hast Merk Arast Enst Derg.* 1992; 23:51-7.
- Prince GA, Porter DD. The pathogenesis of respiratory syncytial virus infection in infant ferrets. *Am J Pathol.* 1976; 82: 339-52.

- Pulat H. Koyunlarda respiratory syncytial virüs izolasyonu ve seroepidemiolojisi. Doktora Tezi. Ankara Üniv. Sağlık Bil. Enst. Ankara. 1992.
- Reiss CS, Komatsu T. Does nitric oxide play a critical role in viral infections? *J. Virol.* 1998; 72; 4547–51.
- Ricciardolo FL. Multiple roles of nitric oxide in the airways. *Thorax.* 2003; 58: 175–82.
- Richardson LS, Belshe RB, Sly DL. Experimental respiratory syncytial virus pneumonia in cebus monkeys. *J Med Virol.* 1978; 2: 45-9.
- Ruth M, Gaddum, Roy S, Cook, Julie M, Furze, Shirley A, Ellis and Geraldine Taylor. Recognition of bovine respiratory syncytial virus proteins by bovine CD8 T lymphocytes. *Immunology.* 2003; 108: 220–9.
- Sacco RE, McGill JL, Pillatzki AE, Palmer MV, Ackermann MR. Respiratory syncytial virus infection in cattle. *Vet Pathol.* 2014; 51(2): 427-36.
- Sanders SP, Siekierski ES, Porter JD, Richards SM, Proud D. Nitricoxide inhibits rhinovirus-induced cytokine production and viral replication in a human respiratory epithelial cell line. *J Virol.* 1998; 72: 934-42.
- Sanders SP, Siekierski ES, Richards SM, Porter JD, Imani F, Proud D. Rhinovirus infection induces expression of type 2 nitric oxide synthase in human respiratory epithelial cells in vitro and in vivo. *J Allergy Clin Immunol.* 2001; 107: 235-43.
- Sharma R, Woldehiwet Z, Spiller DG, Warenus HM. Lymphocyte subpopulations in peripheral blood of lambs experimentally infected with bovine respiratory syncytial virus. *Vet Immunol Immunopathol.* 1990; 24: 383-91.
- Sharma R, Woldehiwet Z. Pathogenesis of bovine respiratory syncytial virus in experimentally infected lambs. *Vet Microbiol.* 1990; 23: 267-72.
- Sharp JM, Martin WB. Chronic respiratory virusinfections. In "Diseases of Sheep". Ed. by W.B. Martin. p. 12-17. Blackwell Scientific Publ.: London; 1983.
- Sibille Y, Reynolds HY. State of the art. Macrophages and polymorphonuclear neutrophils in lung defense and injury. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141: 471-501.
- Sow FB, Gallup JM, Olivier A, Krishnan S, Patera AC, Suzich J, Ackermann MR. (Respiratory syncytial virus is associated with an inflammatory response in lungs and architectural remodeling of lung-draining lymph nodes of newborn lambs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2010.
- Sözmen M, Tunca R, Beytut E, Gürbüz A. Brucella melitensis ile Doğal Enfekte Koyun Abortuslarında CD3 ve Lambda Hafif Zincir İmmunglobulin Ekspresyonu. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2010; 16(3): 353-63.
- Stark JM, Khan AM, Chiappetta CL, Xue H, Alcorn JL, Colasurdo GN. Immune and functional role of nitric oxide in a mouse model of respiratory syncytial virus infection. *J Infect Dis.* 2005; 191(3): 387-95.
- Stark JM. The induction of chemokines by viruses in allergic states. In: Rothenberg ME, ed. *Chemokines in allergic disease.* New York. Marcel Dekker. 2000: 263–87.
- Taylor G, Thomas LH, Furze JM, Cook RS, Wyld SG, Lerch R. Recombinant vaccinia viruses expressing the F, G or N, but not the M2, protein of bovine respiratory syncytial

virus (BRSV) induce resistance to BRSV challenge in the calf and protect against the development of pneumonic lesions. *J Gen Virol*. 1997; 78(12): 3195–206.

Thomas LH, Cook RS, Howard CJ, Gaddum RM, Taylor G. Influence of selective T-lymphocyte depletion on the lung pathology of gnotobiotic calves and the distribution of different T-lymphocyte subsets following challenge with bovine respiratory syncytial virus. *Res Vet Sci*. 1996; 61: 38–44.

Topçuoğlu H, Yoldaş A, Tekin M A. Adana bölgesinde küçük ruminantlarda görülen pnömonilerin patolojik olarak araştırılması. *AVKAE Dergisi*. 2014; 4: 19-24.

Tucker PC, Griffin DE, Choi S, Bui N, Wesselingh S. Inhibition of nitric oxide synthesis increases mortality in Sindbis virus encephalitis. *J Virol*. 1996; 70: 3972–7.

Vehbi Güneş. Buzağı solunum sistemi hastalıkları. *Lalahan Hay Araşt Enst Derg*. 2018; 58 (Özel Sayı): 35-40.

Woodland DL. Cell-mediated immunity to respiratory virus infections. *Curr Opin Immunol*. 2003; 15: 430–5.

Woolums AR, Gunther RA, McArthur-Vaughan K, Anderson ML, Omlor A, Boyle GA. Cytotoxic T lymphocyte activity and cytokine expression in calves vaccinated with formalin-inactivated bovine respiratory syncytial virus prior to challenge. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2004; 27: 57–74.

Xie Q, Nathan C. The high-output nitric oxide pathway: role and regulation. *J Leukoc Biol*. 1994; 56: 576–82.

Yaman T, Büyükbayram H, Özyıldız Z, Terzi F, Uyar A, Keleş ÖF, Yener Z. Detection of bovine respiratory syncytial virus, *Pasteurella multocida*, and *Mannheimia haemolytica* by immunohistochemical method in naturally-infected cattle. *J Vet Res*. 2018; 62(4); 439-45.

Yazıcıoğlu Ö. Koyunların viral pnömonileri ve histopatolojik diagnostik kriterleri. *Etlük Vet Mikrobiyol Derg*. 1992; 7(2): 179-200.

Yener Z, Gurturk K, Gülbahar Y, Sotmaz H. Bitlis mezbahasında kesilen keçilerde pnömoni olguları üzerinde patolojik ve bakteriyolojik çalışmalar. *Vet Bil Derg*. 2001; 17(1): 13-20.

Yener Z, Uyar A, Yaman T, Keleş ÖF. *Veteriner Özel Patoloji*. Van: Matus Basım Evi; 2016.

Yıldız Perk, Mine Özdil. Respiratory syncytial virüs infections in neonates and infants. *Turk Pediatri Ars*. 2018; 53(2): 63-70

Yüzbaşigül AF. Kuzu Pnömonilerinde patolojik ve bakteriyolojik incelemeler ile parainfluenza 3 (PI 3) virusunun etiyojideki rolü (Doktora Tezi). Konya. Selçuk Ünivertesi; 2010.

Zachary JF, Donald M, Gavin M. *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 4th . Elsevier Health Sciences; 2006.

Zsengeller ZK, Ross GF, Trapnell BC, Szabo C, WhitsettJA. Adenovirus infection increases iNOS and peroxynitrite production in the lung. *AmJ Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2001; 280: L503–11.




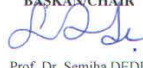
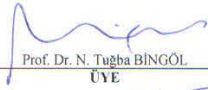

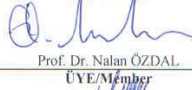


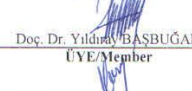

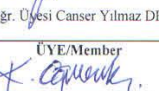
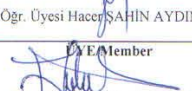
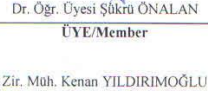
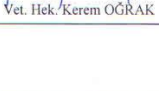
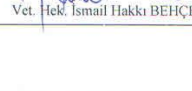
ÖZGEÇMİŞ

1991 yılında Şırnak Beytüşşebap Boğazören köyünde doğdu, ilk ve ortaokulu köy okulunda, lise eğitimini Şırnak ÇPL de 2007 yılında bitirdi. 2011 yılında Bingöl Üniversitesi Patoloji Laboratuvarı Teknikleri bölümünü bitirdi, aynı yıl içerisinde Van Eğitim Araştırma Hastanesi Patoloji Laboratuvarı bölümünde çalışmaya başladı. 2012 yılında başladığı Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Yüksek Okulu Hemşirelik bölümünü 2016 yılında bitirip aynı yıl içerisinde Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Patoloji Ana Bilim dalında tezli yüksek lisans bölümüne başladı.Halen Van Eğitim Araştırma Hastanesi Patoloji laboratuvarı bölümünde çalışmaktadır.



EKLER

EK 1. Etik Kurul Kesin Sonuç Belgesi

	VAN YÜHADYEK VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu	
ÇALIŞMA ONAY BELGESİ		
<i>VAN YUZUNCU YIL UNIVERSITY (TURKEY)</i> <i>ANIMAL RESEARCHES LOCAL ETHIC COMMITTEE</i> <i>APPROVAL CERTIFICATE</i>		
Araştırmannın Adı:	Respiratuar Sinsityal Virus ile doğal enfekte kuzu pnömonilerinde indüklebilir nitrik oksit sentetaz, CD3 ve CD8 immun-ekspresyonlarının araştırılması.	
Research Title:	Investigation of Inducible Nitric Oxide Synthase, CD3 and CD8 Immun-expressions in Lamb Pneumonia Naturally Infected With Respiratory Syncytial Virus.	
Araştırmacı(lar):	Yürütücü / Chief investigator: Dr. Öğr Üyesi Turan YAMAN	
Investigator(s)	Yardımcı Araştırmacı(lar) / Co-investigator(s): Yük. Lis. Öğr. Ceyhan AYDEMİR	
Araştırmada kullanılacak hayvanlar / Animals to be used in the research:		
Tür / species: Kuzu	Sayı / Numbers: 110	
Yaş / Age: 1-5 aylık	Cinsiyet / Sex: Erkek-dişi	
Araştırmannın Öngörülen Başlama Tarihi / <i>Proposed Research Starting Date:</i> 01.04.2019		
Araştırmannın Öngörülen Bitiş Tarihi / <i>Proposed Research Completion Date:</i> 01.07.2019		
Karar: Yukarıda bilgileri verilen planlanan araştırma projesi için Hayvan Deneyleri Etik Kurul Onayı gerekmemektedir. Tarih: 30/05/2019; Karar No: 2019/05		
Decision: <i>The proposed research project detailed above does not need Animal Researches Ethic Committee Approval. Date:30/05/2019 Decision number:2019/05</i>		
	BAŞKAN/CHAIR  Prof. Dr. Semiha DEDE ÜYE/Member	
ÜYE/Member  Prof. Dr. N. Tuğba BİNGÖL ÜYE	ÜYE/Member  Prof. Dr. Sıddık KESKİN ÜYE/Member	ÜYE/Member  Prof. Dr. Nalan ÖZDAL ÜYE/Member
ÜYE/Member  Prof. Dr. Atilla DÜRMÜŞ ÜYE/Member	ÜYE/Member  Doç. Dr. Ferda KARAKUŞ ÜYE/Member	ÜYE/Member  Doç. Dr. Yıldırım BAŞBUĞAN ÜYE/Member
ÜYE/Member  Dr. Öğr. Üyesi Oruc ALLAHVERDİYEV ÜYE/Member	ÜYE/Member  Dr. Öğr. Üyesi Canser Yılmaz DEMİR ÜYE/Member	ÜYE/Member  Dr. Öğr. Üyesi Hacer SAHİN AYDINYURT ÜYE/Member
ÜYE/Member  Dr. Öğr. Üyesi Şkrü ÖNALAN ÜYE/Member	ÜYE/Member  Vet. Hek. Kerem OĞRAK ÜYE/Member	ÜYE/Member  Vet. Hek. İsmail Hakkı BEHÇET ÜYE/Member
ÜYE/Member Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU		

EK. 2. Tez Orjinallik Raporu.

	<p style="text-align: center;">T.C. VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ Sağlık Bilimleri Enstitüsü</p>	
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU		

<p>Tez Başlığı / Konusu:</p> <p>Respiratuar Sinsiyal Virüs İle Doğal Enfekte Kuzu Pnömonilerinde İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentetaz, CD3 ve CD8 İmmun-Ekspresyonlarının Araştırılması</p> <p>Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 34 sayfalık kısmına ilişkin, 17/06/2019 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezin benzerlik oranı % 5 (beş) dir.</p> <p><u>Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:</u></p> <ul style="list-style-type: none">- Kabul ve onay sayfası hariç,- Teşekkür hariç,- İçindekiler hariç,- Simge ve kısaltmalar hariç,- Gereç ve yöntemler hariç,- Kaynakça hariç,- Alıntılar hariç,-Tezden çıkan yayınlar hariç,- 7 kelimededen daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words) <p>Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orjinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.</p> <p>Gereğini bilgilerinize arz ederim.</p>	<p>Tarih: 18/06/2019</p> <p>Ceyhan AYDEMİR</p>
--	--

Öğrencinin Adı Soyadı	Ceyhan AYDEMİR
Anabilim Dalı	: Patoloji
Öğrenci No	169301013
Programı	: <input checked="" type="checkbox"/> Yüksek Lisans <input type="checkbox"/> Doktora
DANIŞMAN ONAYI UYGUNDUR Dr. Öğr. Üyesi Turan YAMAN	ENSTİTÜ ONAYI UYGUNDUR Dr. Öğr. Üyesi Hacer SAHİN AYDINYURT