



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



ANAPLAZMOSİSLİ KOYUNLARDA BAZI İNFLAMASYON MARKIRLARININ ARAŞTIRILMASI

Hemşire Gönül TATU
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Dr.Öğr. Üyesi Leyla MİS

İKİNCİ DANIŞMAN
Prof. Dr. Ali ÇINAR

VAN-2019

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANAPLAZMOSİSLİ KOYUNLARDA BAZI İNFLAMASYON
MARKIRLARININ ARAŞTIRILMASI**

Hemşire Gönül TATU
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Dr.Öğr. Üyesi Leyla MİS

İKİNCİ DANIŞMAN
Prof. Dr. Ali ÇINAR

VAN-2019

Bu araştırma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından TYL-2019-8141 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

KABUL VE ONAY

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalında Gönül TATU tarafından hazırlanan “ANAPLAZMOSİSLİ KOYUNLARDA BAZI İNFLAMASYON MARKIRLARININ ARAŞTIRILMASI” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 28/06/2019

Prof. Dr. Dide KILIÇALP KILINÇ
Adnan Menderes Üniversitesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Devrim SARIPINAR AKSU
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Jüri Üyesi



Dr. Öğr. Üyesi Leyla MİS
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Jüri Üyesi



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



iii

ETİK BEYAN

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum "*ANAPLAZMOSİSLİ KOYUNLARDA BAZI İNFLAMASYONMARKIRLARININ ARAŞTIRILMASI*" başlıklı tezimin; 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: Gönül TATU

Tarih: 28.06.2019

İmza: 

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans döneminde tez çalışmalarımda tez danışmanlığımı üstlenerek tez konumun belirlenmesinden sonuçlandırılmasına kadar geçen uzun soluklu bu yolda bana desteğini veren, sonsuz anlayışını ve yardımlarını esirgemeyen, benim için bu süreçte emeği çok büyük olan danışman hocalarım Prof. Dr. Dusun Ali Çınar 'a, Dr. Öğr. Üyesi Leyla MİS'e, Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Devrim Sarıpınar AKSU'ya ve Parazitoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Dr. Öğr. Üyesi Bekir OĞUZ'a teşekkür ederim.

Bu zor eğitim süresince benden desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, her türlü zorluğa birlikte katlandığımız sevgili eşime, çocuklarıma sonsuz sevgilerimi sunarım.

Gönül TATU

ÖZET

Gönül T. Anaplazmosisli koyunlarda bazı inflamasyon markırlarının araştırılması, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2019. Kan parazit hastalıkları koyunlarda sıklıkla görülmekte olup, Türkiye’de de oldukça yaygındır. Anaplazma ovis küçükbaş hayvanlarda eritrositleri enfekte eden artropod kaynaklı bir patojendir. Bu çalışma anaplasmasizli koyunlarda bazı serum inflamasyon markır seviyelerini değerlendirmek için planlanmıştır. Pozitifliği elisa kiti ile tespit edilen 20 koyunda GM-CSF, IL-1, IL-6, TNF- α düzeyleri de elisa kiti ile tespit edilmiştir. Anaplasmosiz pozitif olan grupların GM-CSF, IL-1, IL-6, TNF- α düzeylerinin yükseldiği tespit edilmiştir. IL-1, TNF- α , GM-CSF düzeylerindeki artış istatistiksel olarak önemlidir. ($p < 0.05$) Anaplasmaya karşı gelişen immün yanıtta mekanizmalar ve etkileyen faktörler hakkındaki bilgilerin artmasının, ileride geliştirilecek immünoterapi araştırmaları için gerekli bilgi birikimine ve Anaplasma enfeksiyonlarına karşı çalışmalara önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Anaplasmosis, GM-CSF, IL-1, IL-6, TNF- α .

ABSTRACT

Gönül T. Investigation of some markers of inflammation in sheep with anaplasmosis, Van Yuzuncu Yıl University, Institute of Health Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Physiology, Master Thesis, Van, 2019. Blood parasitic diseases is seen frequently in sheep, it is also quite common in Turkey. *Anaplasma ovis* is a arthropod-derived pathogen that infects erythrocytes in small ruminants. This study was planned to evaluate some serum inflammation marker levels in sheep infected with anaplasmosis. GM-CSF, IL-1, IL-6, TNF- α levels were also detected in 20 sheep whose positivity was determined by elisa kit. GM-CSF, IL-1, IL-6, TNF- α levels of anaplasmosis positive groups were increased. Increases in IL-1, TNF- α , GM-CSF levels are statistically significant. ($p < 0.05$) Increasing knowledge about the mechanisms of the immune response to anaplasma and the factors affecting it is thought to make significant contributions to the accumulation of knowledge required for future immunotherapy research and studies against *Anaplasma* infections.

Key Words: : Anaplasmosis, GM-CSF, IL-1, IL-6, TNF- α .



İÇİNDEKİLER

Kabul Ve Onay	II
Etik Beyan	III
Teşekkür	IV
Özet	V
Abstract	VI
İçindekiler	VII
Simgeler Ve Kısaltmalar	IX
Şekiller Listesi	X
Tablolar Listesi	XI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Anaplasmozis.....	2
2.2. Anaplasma Türlerinin Morfolojileri	3
2.3. Anaplasma Türlerinin Biyolojileri	4
2.4. Küçük Ruminantlarda Anaplazmozisin Epidemiyolojisi.....	5
2.5. Küçük Ruminantlarda Anaplazmozisin Patolojisi.....	6
2.6. Anaplazmozisin Semptomları, Patogenezi ve Bağışıklık.....	6
2.7. Anaplazmozisin Tedavisi ve Hastalığın Kontrolü	7
2.8. Sitokinler	8
2.9. İnterlöykin I.....	8
2.10. IL 6	10
2.11. Tümör Nekrozis Faktör (TNF- α).....	14
2.12. GM-CS	15
2.12.1. GM-CSF'in Biyolojik Özellikleri	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	17
3.1. Gereç	17
3.1.1. Çalışma materyali.....	17
3.1.2. Kullanılan Malzeme ve Cihazlar	17
3.1.3. Kullanılan Kitler	17
3.2. Yöntem	17

3.2.1. Hastaların değerlendirilmesi.....	17
3.2.2. Kan örneklerinin alınması.....	18
3.3. Parazitolojik Analiz.....	18
3.4. Tumor Necrosis Factor α (TNF- α) Tayini.....	18
3.5. IL-1, IL-6 ve GM-CSF Düzeyinin Tayini.....	20
3.6. İstatistiksel Analizler.....	20
4. Bulgular	22
5. Tartışma Ve Sonuç	29
Kaynaklar	37
Özgeçmiş	44
Ekler.....	45
EK 1. Etik Kurul Raporu.....	45
EK 2. Tez Orijinallik Raporu.....	46

.SİMGELER VE KISALTMALAR

AFC	:Akut faz cevabı
APP	:Akut faz proteinleri
BSF-2	: B hücresi uyarıcı faktör 2
HSP27	:Heat shock protein 27
CRP	: C-Reaktif Protein
CSF	:Colony stimulatingfactor
DC	: Dendritik hücreler
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
G-CSF	:Granülosit koloni sitümüle faktör
GM-CSF	:Granülosit makrofaj koloni stimüle faktör
Hp	:Haptoglobin
IFNγ	: İnterferon γ
IL-1	: İnterlöykin 1
IL 6	: İnterlöykin 6
M-CSF	: Makrofaj koloni sitümüle faktör
MMP	: Matriks metalloproteinaz
NO	:Nitrik oksit
PCR PZR	:Polimeraz zincir reaksiyonu
ROS	:Reaktif oksijen molekülleri
SAA	: Serum amiloid-A
TGF	: Trans büyüme faktörü
TLP	: Toll benzeri reseptör
TNF-α	: Tümör nekroz faktör

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. TNF- α standart seyreltme işlemi.....	19
Şekil 2. Kan frotilerinde Anaplasma spp türlerinin eritrosit içindeki görünümü (siyah oklar). Giemsa Boyama X 100.....	22
Şekil 3. Anaplasma spp türleri yönünden seropozitif ve seronegatif kan serumlarının ELISA pleytindeki görünümü.....	23
Şekil 4. IL-1 (ng/L) düzeyleri.....	25
Şekil 5. IL-1 (ng/L) standart eğrisi.....	25
Şekil 6. IL-6 (ng/L) düzeyleri.....	26
Şekil 7. IL-6 (ng/L) standart eğrisi.....	26
Şekil 8. TNF α (ng/L) düzeyleri	27
Şekil 9. TNF α (ng/L) standart eğrisi.....	27
Şekil 10. GM-CSF (ng/L) düzeyleri	28
Şekil 11. GM-CSF (ng/L) standart eğrisi.....	28

TABLÖLAR LİSTESİ

- Tablo 1.** TNF- α test kitindeki malzemeler..... 19
- Tablo 2.** Tüm gruplara ait IL-1 β (ng/L), TNF- α (ng/ml), IL-6 (ng/L), GM-CSF (ng/ml)
GM-CSF (değerleri ortalamaları ve standart sapmaları ($X \pm SX$ 24



1.GİRİŞ

Ülkemizin iklimi ve ekolojisinin Anaplasma, Babesia ve Theileria gibi kan protozoonlarını nakleden kene türlerinin üremesine elverişli olması, hayvancılığın genellikle bilinçsizce gerçekleştirilmesi ve hayvancılık düzenlemelerinin yetersiz kalması nedeni ile bu enfeksiyonlar geçmişten bugünlere kadar büyük oranlarda yayılmaya devam etmektedir. Anaplazma türleri, insan ve hayvan sağlığı üzerinde olumsuz etkisi olan keneler tarafından iletilen hücre içi rickettsial patojenlerdir. Anaplazma ovis koyunlar ile dünyanın birçok bölgesinde keçileri enfekte eder ve teşhisi için Giemsa boyama, PCR ve ELISA gibi yöntemler kullanılır.

Küçük ruminantlarda anaplazmozisin kontrol altında kalabilmesi amacıyla, epidemiyolojik çalışmaların açıklığa kavuşturulması, bölgelerin belirlenip etkenlerin transferinin olmaması için ciddi önlemler alınmalıdır.

Son zamanlarda immün yanıtın incelenmesi yönündeki araştırmalar çok önemlidir ve araştırmalar artarak devam etmektedir. Enfeksiyonlara karşı oluşan immün yanıtta etkileşimler ve etkileyen faktörler ile ilgili sonuçların artması, gelecekte özellikle immunoterapinin tedavi seçenekleri arasında yer alacağı anlamına gelmektedir. Bu nedenle yapılan çalışma ile önemli katkılar sağlanacağı düşünülmektedir.

Sunulan çalışma ile son zamanlarda tercih edilen immün sistem regülasyon mekanizmaları tartışılarak, anaplasma ile ilgili tanı ve tedavide destek olabilecek immün sistem ile ilgili bilgilere katkı sağlamak hedeflenmiştir. Aynı zamanda yapılan bu çalışma ile anaplasmosizli koyunlarda, birçok dejeneratif hastalığın hazırlayıcısı olan sistemik proinflamasyon faktörlerinin düzeyi belirlenerek gerekli önlemlerin alınması ve tedavi çeşitlerinin geliştirilmesi konusunda fayda sağlaması amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Anaplasmozis

Hayvanlarda subtropikal ve ılıman bölgelerde yaygın enfeksiyöz bir hastalık olan Anaplasmosis, Rickettsiales dizisine ait türler tarafından oluşturulmaktadır. Anaplasmosis; kenelerle taşınan, hayvancılıkta önemli ekonomik kayıplara sebep olan ve insan sağlığını da etkileyen bir hastalıktır. Predispose faktörleri arasında hava sıcaklığı, bağırsak parazitleri yoğun keneler, iyi olmayan sağlık koşulları vardır (Reneker ve ark., 2013). Genellikle subklinik seyreden anaplasmozisli hayvanlarda, zayıflama, abort, süt ve et veriminde azalma gibi belirtiler vardır (Rymaszewska ve Grenda, 2008).

Keçi ve koyunlarda anaplasmosis oluşturan başlıca türler *A. ovis* ve *A. phagocytophilum*'dur. Sığırlarda patojen etkisi olmasına rağmen koyunlarda klinik enfeksiyon oluşturmayan tür ise *A. marginale*' dir (Zobba ve ark., 2014). *Anaplasma ovis* etkeni yalnızca koyun ve keçileri enfekte ettiği bilinmesine rağmen (Kocan ve ark., 2010) yapılan araştırmalarda *A. ovis*' in sığır, insan ve tilkilerde de duyarlılık tespit edilmiştir (Hornok ve ark., 2012; Hosseini- Torina ve ark., 2013). Yapılan bir araştırmada, keçi kanında ve keçilerden toplanan kenelerde *Anaplasma capra* diye adlandırılan Anaplasma türü gösterilmiştir. Bu alanlarda yaşayan insanlarda klinik belirtiler ortaya çıkmıştır (Li ve ark., 2015).

Koyunlarda *A. phagocytophilum*" etkeninin dört farklı suşu vardır. Suşlar içinde nükleotid farklılığından dolayı biyolojik nitelikleri de farklı olabilmektedir. Bu suşların üç tanesi klinik semptomları az iken bir suşun oluşturduğu belirtiler oldukça şiddetlidir ve çok yaygındır (Stuen ve ark 2005).

Koyunlarda, 1924 yılında *Anaplasma ovis* olarak isimlendirme Cezayirde Lestoquard tarafından yapılmıştır. Anaplasma türlerini ilk olarak 1912 senesinde Bevan tespit etmiştir. *A.Ovis* dünyada pek çok bölgede koyunlarda yaygın olarak görüldüğü tespit edilmiştir (Reneker ve ark., 2013). Türkiye'de ise *A. ovis* ilk olarak 1931 yılında Karacabey Harasında Lestoquard tarafından tespit edilmiştir. (Reneker ve ark 2013).

Anaplasma ovis, etkilediği hayvanların eritrositlerinde canlılığını sürdüren zorunlu hücre içi patojenlerdir. Enfekte koyunların genel durumuna, genç oluşuna, ırk özelliğine göre hastalığın klinik semptomları değişebilmektedir (Rymaszewska ve Grenda, 2008). *Anaplasma ovis* ile enfekte hayvanlarda belirtiler çoğunlukla subklinik olarak seyretmektedir. Fakat bazı sekonder hastalıklar, beslenme düzensizliği ve stres faktörleri gibi etkenler ile birlikte olduğu durumlarda klinik belirtiler daha şiddetli görülebilmektedir. Koyunlarda akut anaplazmozun en önemli klinik belirtileri ikterus, depresyon, yüksek ateş, anemi, iştahsızlık, solgunluk, zayıflama, solunum almada zorlanma olarak sayılabilir (Smith ve Sherman, 2009). Hayvansal üretimin düşmesi sebebi ile ciddi ekonomik kayıplara sebep olan önemli kan parazitlerinden biridir (Rymaszewska ve Grenda 2008).

2.2. Anaplasma Türlerinin Morfolojileri

Anaplasma etkenleri omurgalı konak hücrelerinde zarla çevrilmiş intrasitoplazmik bir vakuol içinde gelişirler. *Anaplasma ovis* eritrositlerde bulunan türlerdendir ve minik koyu nokta biçiminde gözlenmektedir.

Giemsa ile boyanan örneklerde *A. ovis*' in morfolojik yapısı *A. marginale*' ye benzemektedir. *Anaplasma ovis* ile enfekte hayvanlarda inklüzyon cisimlerinin %60-65'i eritrositlerde marginal, diğerleri ise submarginal şekildedir (Rymaszewska ve Grenda, 2008; Smith ve Sherman, 2009). Yasini ve ark (2012) *A. ovis* ile deneysel olarak enfekte edilen koyunların eritrositlerinde inklüzyon cisimciklerinin %62,5-86'sının merkezi veya submarginal, %14-37,5'unun ise marginal olarak yerleştini tespit etmişlerdir.

Anaplasma ovis ile *A. marginale* birbirlerine inklüzyon cisimciklerinin yerleşim şekilleri ve konak spesifikliği haricinde özellikleri çok benzemektedir. *A. marginale*'de yer alan birçok gen *A. ovis*'in genomunda da yer almaktadır (Palmer ve ark., 1998). *Anaplasma ovis* ve *A. marginale*'nin 16S rRNA gen sekanslarındaki uyumluluk %99,6 düzeyindedir (Dumler ve ark., 2005).

2.3. Anaplasma Türlerinin Biyolojileri

Anaplasma etkenlerinin enfekte bir konaktan etkilenen diğer bir konağa taşınması keneler ve çeşitli kan emen artropodlarla biyolojik yolla, cerrahi aletler aracılığı ile, iatrojen şekilde ve kan transferi gibi yollar ile gerçekleşmektedir. Mekanik ve biyolojik vektörlerin mevsime bağlı aktivitelerine paralel gelişen bulaşıcı hastalıklar görülebilir. Keneler haricinde kan emici bazı artropodlar, veteriner cerrahi malzemeler, kontamine olmuş enjektörler bulaşmada mekanik olarak vektörlükte rol alırlar (Dik ve Sevinç 2002). Hornok ve ark (2010) sığırlardan elde edilen *Linognathus vituli* türü bitlerde *A. ovis* 'in bulunduğunu belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada *A. ovis* tilkilerden toplanan pirelerde (*Xenopsylla cheopis*) tespit edilmiştir (Torina ve ark., 2013). Yine koyunlarda *Melophagus ovinus* sineklerinin toplandığı bir çalışmada, bütün numunelerde *A. ovis* tespit edilmiştir (Hornok ve ark., 2011).

Anaplasma etkenlerinin anne sütü ile taşınabilmesi ile ilgili bir çalışmada, alınan süt örnekleri incelenmiş ve 120 örnekten 12 süt örneğinde *A. ovis* etkenine rastlanmıştır. (Zhang ve ark 2016). Araştırmacılar, koyunlarda transplasental yol ile *A. ovis*'in taşınabileceğini belirtmişlerdir (Barry ve Van Niekerk, 1990).

Keneler Anaplasma etkenlerinin bildirilen biyolojik vektörleridir. *Rhipicephalus bursa*, *Dermacentor andersoni*, *Dermacentor silvarum*, *Dermacentor marginatus*, *Rhipicephalus turanicus* ve *Haemaphysalis sulcata* gibi keneler Anaplasma etkenleri için yer alan yaşam döngüsündeki çok rastlanan türlerdir (Torina ve ark., 2013).

Enfekte hayvandan kan emen keneler aldıkları etkenler ile ilki bağırsak epitel hücrelerinde ikincisi ise tükürük bezlerinde olmak üzere iki üreme dönemi olmaktadır. Bu etkenler tükürük bezlerinde çoğalarak kenenin omurgalı konaktan kan emmesi esnasında tükürük salgısı ile birlikte duyarlı hayvana taşınır. Anaplasma etkenleri türüne bağlı olarak konaklarda, hücrelere yerleşirler (Yu Xue ve Walker 2006). Anaplazmoziste biyolojik transfer, transtadial, transovarial ve intrastadial olmak üzere üç şekilde tespit edilmektedir.

Anaplasmosisten iyileşen koyunlar hayatları süresince etkenin taşıyıcısı olmaktadır. Taşıyıcı koyunlar vektör kene türlerinin olduğu sürece rezervuar olarak görev yaparlar (Rymaszewska ve Grenda, 2008).

Enfekte keneler koyunların buldukları yerlerden farklı mekanlara taşınma ile nakledilerek enfeksiyonun bulaşmasına sebep olurlar (Stuen ve ark., 2013). Yapılan araştırmalar, göçmen kuşların enfekte kene türlerini uzak bölgelere naklettiklerini tespit etmişlerdir (Stuen ve ark., 2013a). Fakat kuşlardan toplanan kenelerde belirlenen etkenlerin prevalansının az olması sebebiyle daha fazla çalışma yapılmasının gerekliliği belirtilmiştir (Palomar ve ark., 2012).

2.4. Küçük Ruminantlarda Anaplazmozisin Epidemiyolojisi

Anaplasma etkenleri insanlarda ve hayvanlarda önemli kene kaynaklı türler olarak rapor edilmektedir (Altay ve ark., 2014). Anaplazmozis ruminantlarda endemik bir enfeksiyondur (Selçuk ve ark., 2015). Küçük ruminantlarda *A. ovis* 'in prevalansı bölgeler arasında büyük ölçüde farklılıklar göstermektedir. Kontrol önlemlerinin dikkatsizliği, çiftlik hayvanlarının endemik bölgelere taşınması gibi etkenler hastalığın değişik bölgelerdeki prevalansını etkileyebilmektedir. Bu hastalıkta ölümü arttıran ve aynı zamanda prevalansı yükselten önemli etkenler arasında immun sistem zayıflığı ile sonuçlanan çevresel ve bireysel faktörler gelmektedir (Stoltz, 2004).

Türkiye 'de anaplazmozis ile ilgili çalışmalar az sayıda olduğu için hastalığın epidemiyolojisi çok fazla anlaşılamamıştır. Akdeniz İç Anadolu, Karadeniz ve Marmara yörelerinde mikroskopik teşhis yöntemi ile yapılan bir çalışmada küçük ruminantlarda *A. ovis* klinik ve subklinik şekilleri bildirilmiştir (Göksu, 1967; Anon, 1976). PZR yöntemi kullanılarak Elazığ ilinde Ixodid keneler çeşitli ruminant barınaklarından ve insanlardan toplanıp yapılan bir çalışmada *A. ovis*, Ehrlichia spp. ve Anaplasma spp. teşhis edilmiştir (Aktas ve ark., 2009). Koyulardan Ege ve Akdeniz yöresinde toplanan örneklerde PZR metodu ile rapor edilen bir başka çalışmada 624 koyundan 236'sı (%37,8), Güneydoğu Doğu Bölgelerindeki koyunlardan toplanan 132 kandan 14'ü (% 10,6) , iç Anadolu yöresinden toplanan örneklerin ise %14,9'unda *A.*

ovis saptanmıştır (Renneker ve ark., 2013). Yine Marmara bölgesinde de yapılan çalışmalarda pozitif örnekler tespit edilmiştir. (Ataş, 2015).

2.5. Küçük Ruminantlarda Anaplazmozisin Patolojisi

Koyun ve keçilerdeki patolojik belirtiler anaplazmozis nedeni ile ölen sığırların bulgularına benzerlik göstermektedir. Lezyonların boyutları anaplazmozisin derecesi ve zamanına göre farklılıklar gösterebilir (Stoltz, 2004). Anaplasmozisli hayvanlarda nekropside farklı dokularda solukluk, seröz salgılarda birikimler tespit edilmektedir. Kan daha sulu ve rengi açık renkte gözlenmektedir (Stoltz, 2004, Stuen ve Longbottom 2011). Karaciğer ve safra kesesi büyümüştür. Karaciğer sarımsı-kahverengindedir. Safra kesesi ise koyu kıvamlı yeşilimsi sıvı ile kaplıdır. Şiddetli kilo kaybı, yağ doku azalması, susuz kalma, genel bir ödem tablosu görülebilir. Lenf düğümlerinde ve böbrek üstü bezlerinde büyüme gözlenebilir. Akciğerler ise renkleri solmuş ve hemorojik bir tipte görülmektedir. Genel olarak kırmızı kemik iliğinin hiperplastik durumu göze çarpar (Stoltz, 2004). Kalp dokusunda peteşi kanamalar ve kalp kasında sertleşmenin azalması belirtiler arasındadır. Kan preparatlarının incelenmesinde rejeneratif şekilde aneminin ispatı olarak Howell-Jolly cisimcikleri gözlenmektedir. Ayrıca, anizositozis ile polikromazis ve bazofilik noktalı alyuvarlara rastlanmaktadır. Monositlerde ve eozinofil düzeylerinde yükselme de olmaktadır (Stoltz, 2004).

Deneysel olarak koyunlarda yapılan bir çalışmada dalak makrofaj ve nötrofil düzeyinde yükselme, lenf düğümlerinde büyüme, akciğerlerde alveollerde hasarlar, kalp ve beyinde ise lezyon tespit edilmemiştir (Lepidi ve ark., 2000).

2.6. Anaplazmozisin Semptomları, Patogenezi ve Bağışıklık

Küçük ruminantlarda *A. ovis* ile enfeksiyon çoğunlukla subkliniktir. Fakat birlikte başka hastalıklar, beslenme bozukluğu ve stres faktörleri katkısı ile klinik belirtiler oldukça şiddetli geçebilmektedir. *Anaplasma ovis* bulunan keçilerde koyunlar ile kıyaslandığı zaman belirtiler klinik olarak daha şiddetli görülmektedir (Stoltz, 2004). Klinik olarak, hareketlerde yavaşlama, solgunluk, bağırsak hareketlerinde azalma, iştah kaybı, abortlar, süt veriminde düşme, yüksek derecelerde ateş, solunum

sıkıntılarını, sarılık ve anemi tespit edilir (Stoltsz, 2004; Yasini ve ark., 2012). Enfeksiyondan etkilenen koyun ya da keçiler hareket ettirildiklerinde hipoksi sebebi ile ölümlere rastlanabilmektedir (Karatepe ve Karatepe, 2013). Selenyum eksikliği ile birlikte anaplazmosisli hayvanlarda hemoglobinin düşmesi olabilir (Smith ve Sherman, 2009).

Anaplazmosisin prepatent süresi 1-3 hafta arasındadır. Parazitli eritrositler inokülasyondan hemen hemen 15 gün içinde perifer kanda tespit edilebilir. Yaklaşık onbeş gün ile otuz gün arasında riketsiemi en yüksek düzeye ulaşır. Bu maksimum düzey ile birlikte ateş yükselmektedir (Stoltszn, 2004). Eritrosit düzeyleri, hematokrit değeri ve hemoglobin düzeyi normal düşme eğilimindedir. Enfekte eritrositler ile birlikte parazitsiz hücreleri de immun sistemin ortadan kaldırması sebebi ile anemi görülmektedir. Yaşı büyük hastaların eritrosit düşmesi daha şiddetlidir. Enfeksiyonlar persiste şeklinde taşıyıcı olarak sürmektedir.

Anaplazmosisli keçilerde, *A. ovis*'in yirmibir ay kadar persiste şekilde olduğu bildirilmiştir. Stres faktörleri sebebi ile persiste haldeki enfeksiyon akut enfeksiyona dönüşebilmektedir (Palmer ve ark., 1998; Hornok ve ark., 2007; Smith ve Sherman, 2009).

2.7. Anaplazmosisin Tedavisi ve Hastalığın Kontrolü

Anaplazmosis ile enfekte hayvanların tedavisinde özellikle ilk aşamalarında daha etkili olan tetrasiklinler, gloxazone ve imidocarb dipropionatlar kullanılmaktadır (Karatepe ve Karatepe, 2013). Oksitetrasiklin grubu ilaçlar tek dozluk ya da 4-5 günlük dozlarda bölünerek uygulanabilmektedir (Stoltsz, 2004).

Hastalığın destekleyici tedavisinde de kan transfüzyonu ile hipoksi kontrol altına alınabilmektedir. Ayrıca dehidrasyondan korunması için sıvı elektrolit takviyesi verilmektedir. Oksijenli ortamlar tercih edilmelidir (Karatepe ve Karatepe, 2013). Anemili hastalar istirahat ettirilmeli, eritrosit yapıcı ilaçlar verilmelidir (Stoltsz,2004).

Anaplazmosisten korunmak amacı ile keneler ile mücadele önemlidir. Bu amaçla çeşitli araştırıcılar tarafından akaristler ile ilaçlanmalar, otlaklara gitmeden önce tetrasiklin uygulamaları önerilmektedir (Stuen ve Longbottom, 2011; Stuen ve ark.,

2013). Akarisit uygulamaları dikkatli yapılmalı ve tüm hayvanlara uygulanmalıdır (Richey ve Palmer, 1986; Hoşgör, 2011). Akarisitler fazla süre ile verildiği zaman direnç gelişebilmektedir ve kalıntı bırakabilmektedir (Stuen ve ark., 2012; Stuen ve ark., 2013; Stuen ve ark., 2015). Keneler ile mücadelede aşı uygulamaları da yer almaktadır. Aşılar daha yüksek maliyete sahip olmasına rağmen çevre ve sağlık için avantaj teşkil etmektedir. Kullanımı gün geçtikçe artmaktadır (Stuen ve ark., 2013a). Yine enfeksiyonlardan korunmak amacı ile düzenli ve sık aralıklar ile kan testleri yapılmalıdır. Hasta hayvanlar taşıyıcı hayvanlar belirlenmelidir. Tedaviye sonuç vermeyen hayvanlar sürüden ayıklanmalıdır (Richey ve Palmer, 1986).

2.8. Sitokinler

Sitokinler hücreler arasındaki etkileşimler ve iletişim üzerinde belirli bir etkiye sahip olan hücreler tarafından salgılanan küçük proteinlerdir. Sitokin genel bir isimdir; diğer isimlendirmeler ise lenfokin (lenfositler tarafından yapılan sitokinler), monokin (monositler tarafından yapılan sitokinler), kemokin (kemotaktik aktiviteye sahip sitokinler) ve interlökin (diğer lökositlere etki eden ve lökositler tarafından yapılan sitokinler) şeklindedir. Sitokinler, kendilerini salgılayan hücrelere (otokrin etki) ve yakındaki hücrelerde (parakrin etki) veya bazı durumlarda uzak hücrelerde (endokrin etki) etkisini göstermektedir. Farklı hücre tiplerinin aynı sitokin salgılaması veya tek bir sitokinin birkaç farklı hücre tipinde (pleiotropi) etki etmesi yaygındır. Farklı sitokinler benzer fonksiyonlar gösterebilmektedir. Sitokinler antagonist ve sinerjik etkili olabilirler. Sitokinler farklı hücreler tarafından üretilir, ancak baskın üreticiler yardımcı T hücreleri ve makrofajlardır. Sitokinler, makrofajlar, mast hücreleri, endotel hücreleri ve periferik sinir dokusunda Schwann hücreleri tarafından fizyolojik ve patolojik işlemler sırasında üretilebilir. Proinflamatuvar sitokinler ağırlıklı olarak aktive edilmiş makrofajlar tarafından üretilir ve enflamatuvar reaksiyonların regülasyonunda rol oynar. Patolojik ağrı sürecinde pro-enflamatuvar sitokinler olan IL-1 β , IL-6, and TNF- α önemli rol oynamaktadır (Zhang ve ark., 2007).

2.9. İnterlöykin I

İnterleukin-1 (IL-1) prototipik pro-enflamatuar sitokindir. IL-1, IL-1alfa ve IL-1beta olmak üzere iki formu vardır ve çoğu çalışmada biyolojik aktiviteleri ayırt edilemez. IL-1, hemen hemen her hücre tipini etkiler, sıklıkla başka bir inflamasyon sitokini olan tümör nekroz faktörü (TNF) ile uyumludur. Her ne kadar IL-1 konak savunmasını düzenleyebilse ve bir immünajan olarak işlev görse de, IL-1 oldukça inflamatuvar bir sitokindir. İnterlökin 1 (IL-1) temel olarak, enflamatuar uyarıcılara cevap olarak aktive edilmiş makrofajlar tarafından üretilir. Bağışıklık sistemi üzerinde sistemik ve lokalize etkilere sahiptir. Septik şoktaki pirojen rolü için endojen pirojen olarak kabul edilir. Enflamatuar bölgelerde, T ve B hücre aktivasyonunu indükler. Proteolitik ve kemotaktik maddelerin makrofajlardan salınmasını sağlar. İnsanlarda klinik yarar toksisite arasındaki sınır oldukça dardır. Buna karşılık, IL-1'in üretimini ve aktivitesini azaltan ajanların klinikte kullanılmaktadır. IL-1'in, özellikle IL-1 beta'nın sentezi, işlenmesi, salgılanması ve aktivitesi, sıkı bir şekilde regüle edilmiş olaylardır. İnterlökin-1 (IL-1), enflamatuar işlemlerin üretilmesi ve sürdürülmesine odaklanan geniş bir biyolojik fonksiyon yelpazesine sahip 17-20 kDa sitokin grubunu temsil eder. En iyi bilinen üyeler, IL-1a, IL-1 ve IL-1Ra'dır (reseptör antagonisti). Sitokin biyolojisinin benzersiz bir yönü doğal olarak oluşan IL-1 reseptör antagonistidir (IL-1Ra). IL-1Ra, yapısal olarak IL-1beta'ya benzer, ancak agonist aktivitesi olmayan, hastalık şiddetini azaltmak için klinik denemelerde kullanılır. IL-1 aile üyeleri arasındaki benzerlik nispeten küçüktür. Birincil protein yapısına göre, IL-1a ve IL-1, birbirlerinden yaklaşık %30 farklıdır. Sekresyondan önce, aktif formlar öncüllerden kaspaz kompleksi 1/5 ile yapılıdır (Dinarello, 1997).

İnterlökin 1 (IL-1), IL-2, IL-4, IL-6 ve interferon γ (IFN γ), antijenlerle birlikte enjekte edildiğinde immün tepkileri uyarır. İmmün sistemi uyarıcı olan ancak enflamatuar olmayan bir aktiviteye sahip olan IL-1p'nin sentetik olmayan bir peptidi tanımlanmıştır. Diğer sitokinler, immün sistemin belirli kollarını spesifik olarak uyararak aşuların geliştirilmesi için çekici adaylardır. Örneğin, IL-12, TH1 yanıtlarının güçlü bir uyarıcısıdır ve bu nedenle leishmaniasis gibi bazı paraziter hastalıklar veya bu T hücresi

yanıtlarının önemli bir rol oynadığı viral enfeksiyonlar için bir aşı bileşeni olarak faydalı olabilir (Warrena ve Leclercb, 1998).

İnterlökin1 ve diğer proinflamatuvar sitokinler, prostaglandin üretiminin güçlü indükleyicileridir. Prostaglandinlerin sentezini kaldıran dozlarda indometasin gibi siklooksijenaz inhibitörlerinin uygulanması, IL-1'in pirojenik ve anoreksik etkilerini hafifletir. İndometasin veya piroksikam ile yapılan ön muamele, periferik olarak enjekte edilen rhIL-1β'nin sıçanlarda gıda kaynaklı davranışlar ve farelerde sosyal araştırmalar üzerindeki baskılayıcı etkilerini bloke etmiştir. Sürekli olarak IL-1a ile aşılınmış sıçanlarda, piroksikam içirme davranışının uyarılmasını tamamen inhibe etmiştir, ancak yeme aktivitesindeki ve sitokin tarafından indüklenen lokomotor aktivitesindeki azalma üzerinde bir etkisi olmamıştır. Aynı şekilde, indometasin ile yapılan ön muamelenin, genel aktivitenin depresyonuna ve farelerde, IFN-a'nın periferik enjeksiyonu ile indüklenen gıda alımına etkisi olmamıştır. Bu çelişkili sonuçlar karşısında, prostaglandinlerin sitokinlerin davranışsal etkileri üzerindeki rolü konusunda daha fazla çalışmaya açıkça ihtiyaç vardır (Dantze ve ark., 1993).

IL-1, başlangıçtaki aktivasyonlarına ve sonuçta T hücrelerini aktive etme kabiliyetlerine izin vererek, DC'lerin dinlendirilmesiyle antijene spesifik tepkilerin başlatılmasında önemli bir faktör olarak tanımlanmıştır. Dendritik hücrelerin kendileri hem insanda hem de farede nispeten zayıf üreticilerdir. Dişi sıçanlarda, IL-1, lokomotor geciktirme, uyku bozuklukları, soporifik etkiler, anoreksi, kilo kaybı, hiperaljezi, azalmış sosyal keşif ve cinsel davranışın engellenmesi ile karakterize edilen hastalık davranışı olarak adlandırılan bir davranış kompleksi yaratabilir. Major depresyon ve distimisi olan hastalarda artan IL-1 üretimi bildirilmiştir. Diğer sitokinler gibi IL-1 de HPA ekseninin hiperaktivitesine ve sonuçta depresyonun başlamasına neden olan 5-HT seviyelerinde azalmaya neden olabilir. (Dantzer ve ark., 1998).

2.10. IL 6

IL-6, bağışıklık ve hematopoez üzerinde pleiotropik etkiye sahip çözünür bir mediatördür. Önceleri IL-6'nın farklı fonksiyonları çalışılmış ve biyolojik etkinliklerine göre farklı isimler verilmiştir. Örneğin, B hücresi uyarıcı faktör 2 (BSF-2) ismi; aktif B

hücrelerinin antikor üreten hücelere, hepatosit uyarıcı faktör gibi isimler verilmiştir. BSF-2 cDNA 1986'da başarılı bir şekilde klonlandığında, farklı gruplar tarafından incelenen farklı isimlerdeki moleküllerin aslında aynı olduğu ve tek bir IL-6 ismiyle sonuçlandığı bulunmuştur. İnsan IL-6'sı, 28-aminoasitlik bir sinyal peptidi dahil 212 amino asitten oluşur ve geni, 7p21 kromozomuna eşlenmiştir. Çekirdek proteinin ~20 kDa olmasına rağmen, glikosilasyon, 21-26 kDa doğal IL-6'nın boyutunu oluşturur (Nemeth ve ark., 2004).

Enfeksiyonun ilk aşamasında lokal bir lezyonda IL-6 sentezlenir, kan dolaşımı ile kadar karaciğere gelir, bunu takiben serum C-reaktif protein (CRP), amiloid A (SAA), fibrinojen, haptoglobulin ve α 1-antichymotrypsin gibi çok çeşitli akut faz proteinleri hızlı bir şekilde indüklenir. Öte yandan, IL-6, fibronektin, albümin ve transferrin üretimini azaltır. Yüksek seviyeli SAA konsantrasyonları uzun süre devam ettiğinde, amiloid A amiloidozunun oluşmasıyla birkaç kronik inflamatuvar hastalığın ciddi bir komplikasyonuna yol açar. Bu komplikasyon çeşitli organlarda progresif bozulmaya neden olan amiloid fibril birikimi ile sonuçlanır. IL-6 ayrıca taşıyıcılarının kontrolü ile serum demir ve çinko seviyelerinin düzenlenmesinde de rol oynar. Serum demiri için, IL-6 demir taşıyıcı ferroportin'in bağırsak üzerindeki etkisini bloke eden ve dolayısıyla serum demir seviyelerini azaltan hepcidin üretimini indükler. Bu durum IL-6-hepcidin ekseninin kronik inflamasyon ile ilişkili hipoferremi ve anemiden sorumlu olduğu anlamına gelir. IL-6 kemik iliğine ulaştığında, megakaryosit olgunlaşmasını artırır ve böylece trombositlerin serbest bırakılmasına neden olur. Akut faz protein seviyelerindeki bu değişiklikler ile kırmızı kan hücresi ve trombosit sayıları rutin klinik laboratuvar incelemelerinde inflamatuvar şiddetin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (Liuzzi ve ark., 2005).

Ayrıca IL-6, CD4 + T hücrelerinin spesifik farklılaşmasını destekler, böylece doğuştan gelen kazanılmış bağışıklık tepkisine bağlanmada önemli bir işlev gerçekleştirir. Trans-büyüme faktörü (TGF) - β ile kombinasyon halinde IL-6'nın, saf CD4 + T hücrelerinden Th17 farklılaşması için vazgeçilmez olduğu gösterilmiştir. Ancak, IL-6'nın aynı zamanda uyarılmış Treg farklılaşmasını TGF-P'yi de inhibe ettiği gösterilmiştir. Th17 / Treg dengesinin yükseltilmesinin immünolojik toleransın bozulmasından sorumlu olduğu düşünülmektedir ve bu nedenle otoimmün ve kronik

enflamatuar hastalıkların gelişiminde patolojik olarak rol oynamaktadır (Kimura ve Kishimoto 2010). Ayrıca IL-6'nın, ayrıca immünoglobülin (Ig) sentezini ve özellikle IgG4 üretimini düzenleyen T-foliküler yardımcı hücre farklılaşmasının yanı sıra IL-21 üretimini de arttırdığı gösterilmiştir. IL-6 ayrıca CD8 + T hücrelerinin sitotoksik T hücrelerine farklılaşmasını da indükler. BSF-2, IL-6'nın aktive edilmiş B hücrelerinin Ab üreten plazma hücrelerine farklılaşmasını indükleyebildiği, böylece IL-6'nın sürekli olarak aşırı sentezlenmesinin hipergamaglobülinemi ve otoantikor üretimi ile sonuçlandığı görülmüştür (Ma ve ark., 2012).

IL-6, hepatositler ve lenfositler dışındakiler dışında çeşitli etkiler yapar ve bunlar kronik enflamatuar hastalıklarda sıklıkla saptanır. Etkilerden biri, IL-6'nın kemik iliği stromal hücrelerinde üretildiği zaman osteoklastların farklılaşması ve aktivasyonunu uyarmasıdır. Bu durum kemik erimesine ve osteoporoza yol açar (Poli ve ark., 1994). IL-6 ayrıca, artmış anjiyogenez ve artmış vasküler geçirgenliğe yol açan maddelerin üretimine neden olur (Hashizume ve ark., 2009).

IL-6, ortaya çıkan bazı olayların meydana geldiğinin bildirilmesi için aracı olarak işlev görür. IL-6 bulaşıcı bir lezyonda üretilir ve tüm vücuda bir uyarı sinyali gönderir. Patojene bağlı moleküler paternler olarak bilinen eksojen patojenlerin imzası, enfekte olmuş lezyonda monositler ve makrofajlar gibi immün hücrelerin patojen tanıma reseptörleri tarafından tanınır. Bu reseptörler, Toll benzeri reseptörleri (TLR'ler), retinoik aside uyarılabilir gen-1 benzeri reseptörleri, nükleotit bağlayıcı oligomerizasyon bölgesi benzeri reseptörleri ve DNA reseptörlerini içerir. NF- κ B dahil olmak üzere çeşitli sinyal yollarını uyarırlar ve IL-6, tümör nekroz faktörü ve IL-1 gibi enflamatuar sitokinlerin mRNA'sının transkripsiyonunu artırırlar. TNF- α ve IL-1 β ayrıca IL-6'yı üretmek için transkripsiyon faktörlerini aktive eder (Kumar ve ark. 2011).

İmmün aracılı hücelere ek olarak, mezenkimal hücreler, endotel hücreleri, fibroblastlar ve diğer birçok hücre, çeşitli uyaranlara cevap olarak IL-6'nın üretilmesine katılmaktadır. Cis-düzenleyici elemanların IL-1, TNF, TLR aracılı sinyal ve forskolin ile uyarılmasıyla aktivasyonu, IL-6 promotörünün aktivasyonuna yol açar. İlginç bir bulgu, bazı viral ürünlerin, transkripsiyon faktörlerinin DNA bağlama aktivitesini arttırması ve böylece IL-6 mRNA transkripsiyonunda bir artışa yol açmasıdır. Bunun

bir örneği, insan T lenfotropik virüs 1'den türetilen Verginin NF-B ile etkileşiminin, IL-6 üretimini arttırdığıdır. Başka bir örnek, insan immün yetmezlik virüsü 1'in bazı proteinlerin işlemleştircisi tarafından hem transkripsiyon faktörlerini ve böylece DNA bağlama aktivitesinin geliştirilmesidir. Ayrıca, NF-IL-6'nın DNA bağlanmasının insan hepatit B virüsü X proteini ile geliştirilebileceği gösterilmiştir (Ohno ve ark. 1999).

Enfeksiyonlar ve doku yaralanmaları gibi çevresel stres faktörlerine cevap olarak hızlı ve geçici bir IL-6 ekspresyonu görülür. Bu alarm sinyali tetikler ve strese karşı konak savunma mekanizmalarını etkinleştirir (Naka ve ark. 1997). Aynı zamanda, IL-6 mRNA'nın regnaz-1 ile parçalanması ve IL-6 üretiminin sonlandırılmasına yol açar.

Ayrıca, IL-6'nın hastalık gelişimindeki patolojik rolü, hastalıkların birçok hayvan modelinde olduğu gibi IL-6'nın gen inaktivasyonu veya anti-IL-6 veya anti-IL-6R uygulaması yoluyla bloke edilmesi olgusunda gösterilmiştir. Örneğin, IL-6 blokajı, IL-6 transgenik farelerde Castleman'ın hastalık benzeri semptomlarına karşı duyarlılıkta gözle görülür bir azalma ile sonuçlanmıştır (Katsume ve ark. 2002).

IL-6'nın biyolojik aktiviteleri ve çeşitli hastalıklarda patolojik rolü göz önüne alındığında, IL-6 hedeflemesinin çeşitli immün aracılı hastalıklar için yeni bir tedavi stratejisi oluşturmaktadır. Tocilizumab'ın gelişimi bu hipotezin doğrudan bir sonucudur. Tocilizumab, bir fare antihuman IL-6R Ab'nin tamamlayıcılık belirleyici bölgelerinin insan IgG1'ine aşılmasıyla oluşturulmuştur (Sato ve ark., 1993) ve IL-6'yu bloke eder. TNF inhibitörleri, T hücreli stimülatör bloke edici, B hücreli depletory veya IL-1R antagonisti dahil olmak üzere diğer biyolojik maddeler günümüzde RA için kullanılmasına rağmen, tocilizumab orta ile şiddetli aktif RA için monoterapi olarak üstün etkinliğini kanıtlamıştır ve birinci basamak biyolojik olarak önerilmektedir. Üstelik, sistemik juvenil idiyopatik artrit için tocilizumab'ın olağanüstü etkinliği, uzun zamandır en inatçı juvenil hastalıklardan biri olarak kabul edilen bu hastalığın tedavisinde yeni bir çağın başlamasına neden olmuştur (Sandborg ve Mellins, 2012).

2.11. Tümör Nekrozis Faktör (TNF- α)

Tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) ilk olarak 1975 yılında endotoksine uğramış farelerin serumlarında tespit edilmiştir ve tümörlerde nekroz oluşturduğu için de böyle adlandırılmıştır (Carswell ve ark., 1975).

TNF- α , TNF/TNFR (Tümör Nekrozis Faktör Reseptör) üst ailesi içerisinde yer alan 51kDa ağırlığında, immün sistemde, apoptosizde, vücut ısısının yükselmesinde ve kaşeksi gelişimde rolleri olan güçlü bir proinflamatuvar sitokindir. Temel olarak aktive edilmiş makrofajlar gibi enflamatuvar hücreler tarafından üretilmektedir. T hücreleri ayrıca antijenik uyarılara cevap olarak TNF- α üretebilir ve TNF- α , T hücresi aktivasyonunun bir uyarıcısıdır. T hücrelerinde interferon γ (IFN γ) ve IL-2 reseptörü ekspresyonunu ifade eder. B hücresi aktivasyonunu ve immünoglobulin (Ig) üretimini indüklemektedir. Kemoatraktan özelliklere sahip olan TNF- α , IL-15 dahil olmak üzere diğer birçok proinflamatuvar sitokin ile etkileşime girmektedir. Bu yükseltici etki özellikle romatoid artrit patogenezinde önemli olabileceği düşünülmektedir (Camcıoğlu ve Deniz, 2007).

TNF- α birkaç farklı sinyal yolunda etkilidir. Bu etkilerden biri apoptotik yolları düzenlemek için iki hücre yüzey reseptörü TNFR1 ve TNFR2, diğeri NFkB inflamasyonun aktivasyonu ve stresle aktive olan protein kinazlarını (SAPK) aktive ettiği yollar olarak sayılabilmektedir. TNF- α reseptörler hem nöronlarda hem de glia'da bulunur. TNF- α 'nın reseptörlerine bağlandığı zaman çeşitli immün sistem hücrelerinin gelişimini ve aktivasyonunu sağlarken hemde duyarlı tümör hücrelerinin ve virusla enfekte hücrelerin apoptozis yoluyla ölümüne yol açmaktadır. Sistemik olarak pirojen etkisi gösteren ve yüksek ateşe neden olan bu sitokinin aşırı uyarımı şiddetli doku yıkımına hatta şoka neden olabilmektedir. TNF- α birçok doku ve hücrelerde geniş etkileri olan hücre proliferasyonunu engelleyici ve arttırıcı yönde rol oynadığı gibi kendisinin de düzenleyebilen bir proteindir. İnflamasyon esnasında nötrofillerde TNF-R55 reseptörüne bağlandığında apoptozu başlatırken nötrofil proliferasyonunu tetiklemektedir (Murray ve ark., 1997).

2.12. GM-CSF

Başlıca hematopoetik büyüme faktörleri olan "Colony stimulating factor", eritropoetin ve "Stem cell factor" kan hücrelerinin proliferasyon ve farklılaşmasını uyaran sitokinlerdir. CSF'ler içinde "Granulocyte macrophage colony stimulating factor" (GM-CSF), "Macrophage colony stimulating factor" (M-CSF) ve "Granulocyte colony stimulating factor" (G-CSF) yer almaktadır. Lenfokinlerden olan "interleukin-3" (IL-3) bir CSF olarak bilinmektedir ve kemik iliğini uyarmaktadır (Liles ve Voorhis, 1995).

GM-CSF, 127 aminoasitten oluşan makrofaj, nötrofil, monosit ve eozinofillerin artması ile diferansiasyonunda rol oynayan bir glikoproteindir. "Sargramostim" adlı rekombinant şekli "Leukine" ve "Prokine" şeklinde ticari formları piyasa şartlarına sunulmuştur. Türkiye'de "Molgramostim" (Leucomax) rekombinant GM-CSF şekli ile bulunmaktadır (Frank ve Mandell, 1995).

2.12.1. GM-CSF'in biyolojik özellikleri

GM-CSF vücutta, fibroblast, T lenfosit, endotel hücreleri ve monositlerde sentez edilmektedir (Liles ve Voorhis, 1995). Fizyolojik şartlarda olgun kan hücrelerinin görevlerini düzenlemede merkezi rol oynadığı bildirilmektedir. GM-CSF nötrofil hücrelerinde "oksidatif burst" metabolizmasını artırır, bakteri ve mayaların fagositoz yeteneğini yükseltir.

İn vitro GM-CSF'in nötrofil göçünü inhibe etmektedir. Nötrofilleri infeksiyon yerinde immobilize hale getirmek GM-CSF'in fizyolojik bir görevi olarak görünmektedir. Yine GM-CSF'in invitro olarak eozinofil sitotoksitesini yükselttiği, bazofil hücrelerinden histamin ortaya çıkmasını uyardığı bildirilmiştir. Mononükleer fagositlerde sitotoksitesite oranını, fagositoz yeteneğini ve "oksidatif burst" metabolizmasını yükseltmektedir. Tümör hücrelerinde tespit edilmiştir. İn vitro araştırmalarda GM-CSF'nin monositlerin fungisidal etkisini arttırdığı bildirilmiştir. Makrofajların böylece protozoaları etkisiz bırakma, öldürme etkileri artmıştır (Scarffe, 1991).

Sağlıklı bir insana subkutan veya intravenöz olarak GM-CSF kullanıldığında önce nötrofil düzeyinin azaldığı, 4-6 saat sonra yeniden arttığı tespit edilmiştir. İlaç kullanımı bittikten sonra 3-5 gün içinde nötrofiller yeniden normal düzeylerine ulaşırlar. Eozinofil, monositlerde de önce hafif azalma ama sonra yükselme gözlenir. Zaman zaman ise lenfosit düzeyinde de hafif bir yükselmeye rastlanabilmektedir. GM-CSF nötrofil hücrelerinin kemik iliğinde gelişme zamanını yükselttiğini ve nötrofil yaşam süresini uzattığı belirtilmiştir. Yüksek dozlarda uygulandığı durumlarda reversibl trombositopeni gözlenmiştir (Scarffe, 1991).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Çalışma materyali

Bu çalışmanın materyalini Van Büyükşehir Belediyesi mezbahanesine getirilen 91 koyundan alınan kan örnekleri oluşturdu.

3.1.2. Kullanılan Malzeme ve Cihazlar

Derin dondurucu

ELİSA okuyucu(Awarenes Stat Fax 2100,USA)

Elisa yıkayıcı (Awareness Stat Fax 2600,USA)

Elisa shaker inkubatör (Awareness Stat Fax 2200,USA)

Disile su cihazı

3.1.3.Kullanılan Kitler

YL Biont Koyun IL 1 ELISA kiti

YL Biont Koyun IL 6 ELISA kiti

YL Biont Koyun TNF- α kiti

YL Biont Koyun GM-CSF kiti

Anaplasma antibody test kiti (Katalog no: 282- 2VMRD)

3.2. Yöntem

3.2.1. Hastaların değerlendirilmesi

Bu çalışmada incelemeye tabi tutulan hayvanlar öncelikle klinik görünümleri dikkate alınarak yüksek ateş, iştahsızlık, kilo kaybı, uyuşukluk ve sarılık gibi semptomlar yönüyle incelendi.

3.2.2. Kan örneklerinin alınması

Her bir hayvanın vena jugularisinden hem antikoagülantlı hem de antikoagülantsız tüplere kan alındı. Ayrıca her keçinin kulak ucundan alınan kan örneğinden kan sürme frotisi hazırlandı daha sonra bu frotiler Giemsa yöntemiyle boyandı. Antikoagülantsız tüplere alınan kanlar 30000 rpm devirde 10 dk santrifüj edildikten sonra serumları ayrıldı. Elde edilen bu serumlar anaplasma antikorlarının tespiti için yapılan cELISA testinde ve IL-1,IL-6,GM-CSG, TNF-parametrelerinin tespitinde kullanıldı.

3.3. Parazitolojik Analiz

Kan frotisinin hazırlanması ve boyanması: Koyunların kulak uçlarından alınan kanlardan yapılan sürme ince kan frotisi, giemsa boyama yapılarak x100 büyütmede piroplasmik formlar yönünden incelendi.

Competitive- ELISA testi: Çalışma için ticari kompetitif ELISA (c-ELISA) kiti (Anaplasma antibody test kit, c-ELISA, no: 282- 2VMRD-USA) kullanıldı. c-ELISA testi, üretici firmanın test prosedürüne göre yapıldı. c-ELISA yönteminin prensibi antijen antikor reaksiyonuna dayanır.

3.4. Tumor necrosis factor α (TNF- α) tayini

Serumdaki Tumor necrosis factor α (TNF- α) tayini, Sheep Tumor necrosis factor α (TNF- α) ELISA Kit (YL Biont Sheep Tumor necrosis factor α (TNF- α) ELISA Kit) (Katalog No: CK-E30635) kullanılarak gerçekleştirildi. ELISA kitleri, Statfax 2600 otomatik yıkayıcı ve Statfax 2100 okuyucu kullanılarak çalışıldı.

Test prensibi: Kit, örneklerde SheepTumor necrosis factor α (TNF- α) seviyesini belirlemek için çift antikor sandviç enzime bağlı immunosorbent deneyi (ELISA) kullanmaktadır. Önceden sheep Tumor necrosis factor α (TNF- α) monoklonal antikor ile kaplanmış monoklonal antikor enzim kuyucuğuna sheep Tumor necrosis factor α (TNF- α) eklenip, inkübasyon yapılır; daha sonra, immün kompleks oluşturmak için biotinle işaretlenmiş ve Streptavidin-HRP ile kombine edilmiş sheep Tumor necrosis

factor α (TNF- α) eklendi; ardından inkübasyon ve kombine edilmemiş enzimi yıkama işlemlerini yürütüldü. Ardından A, B kromojen solüsyonu eklendiğinde, sıvının rengi maviye döner ve asidin etkisiyle renk sonunda sarı oldu. Rengin parlaklığı ve 86 numunenin sheep Tumor necrosis factor α (TNF- α) konsantrasyonu pozitif biçimde ilişkilidir.

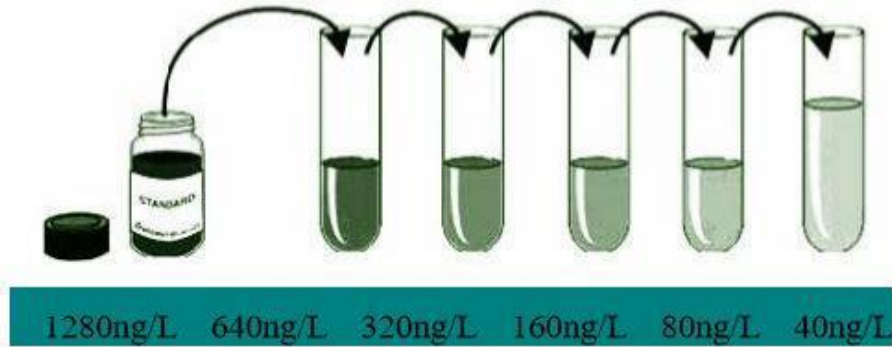
Tablo 1. TNF- α test kitindeki malzemeler

1	Standard(1280ng/L)	0.5ml	7	Chromogen Solution A	6ml
2	Standard diluent	3ml	8	Chromogen Solution B	6ml
3	Microelisa Stripplate	12w×8s	9	Stop Solution	6ml
4	Str- HRP-Conjugate Reagent	6ml	10	Instruction	1
5	30×wash solution	20ml	11	Closure plate membrane	2
6	Biotin-TNF-A Ab	1ml	12	Sealed bags	1

Deney prosedürü: TNF- α tayini uygulama adımları şu şekilde yapılır.

Standart seyreltme işlemi şekildeki gibi yapılır.

640ng/L	Standard No.5	120 μ l Original Standard + 120 μ l Standard diluents
320ng/L	Standard No.4	120 μ l Standard No.5 + 120 μ l Standard diluents
160ng/L	Standard No.3	120 μ l Standard No.4 + 120 μ l Standard diluent
80ng/L	Standard No.2	120 μ l Standard No.3 + 120 μ l Standard diluent
40ng/L	Standard No.1	120 μ l Standard No.2 + 120 μ l Standard diluent



Şekil 1. TNF- α standart seyreltme işlemi.

- Boş kuyucuk: Biotinle işaretlenmiş Sheep Tumor necrosis factor α (TNF- α) antikor, Streptavidin-HRP ve örnek eklemeyen, sadece A ve B kromojen solüsyonu ve stop solüsyonu eklendi.
- Standart kuyucuklar: Standart 50 μ l, Streptavidin-HRP 50 μ l eklendi (standart zaten biotin antikor ile kombine edildiği için, antikor eklemeye gerek yoktur).
- Test kuyuları: 40 μ l örnek eklenip, ardından hem 10 μ l Sheep Tumor necrosis factor α (TNF- α) antikor hem de 50 μ l Streptavidin-HRP eklendi. Daha sonra 37°C'de 60 dk. inkübe edilmiş sızdırmaz membranı yumuşak bir şekilde sallayarak kilitlendi.
- Hazırlama: Beklemedeyken 30x konsantrasyona yıkama tamponunu distile su ile 30 kez seyreltildi.
- Yıkama: Membranı dikkatlice kaldırıldı ve sıvı boşaltıldı, kalan su çalkalandı.
- Her bir kuyucuğa A 50 μ l kromojen solüsyonu, ardından B 50 μ l kromojen solüsyonu eklendi. Yumuşakça karıştırarak 37°C'de ışıktan uzakta 10 dk. inkübe edildi.
- Stop: Reaksiyonu durdurmak için her bir kuyucuğa 50 μ l Stop solüsyonu eklendi (mavi renk hemen sarıya döner).
- Son ölçüm: Boş kuyucuk sıfır olarak alınıp, stop solüsyonu ekledikten sonra 15 dk. içinde optik yoğunluk (OD) 450 nm dalga boyunda ayarlandı.
- Standart konsantrasyonlarına ve uygun OD değerlerine göre, ölçüm eğrisi doğrusal bağlanım denklemi hesaplandı ve uygun örneğin konsantrasyonunu hesaplamak için bağlanım denklemindeki örneğin OD değeri uygulandı.

Analiz aralığı: 5ng/L→1000ng/L'dir.

Duyarlılık: 2.51ng/L'dir.

3.5. IL-6, IL-1, GM-CSF Düzeyinin Tayini

Koyun serumlarında IL-6, IL1, GM-CSF düzeyleri ticari ELİSA kiti ile ölçüldü. Standart eğrisi çizilerek sonuçlar değerlendirildi.

3.6. İstatistiksel analizler

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi amacıyla SPSS (for Windows Release 14 Standart Version Copyright©Spss Inc.) hazır paket programı kullanıldı. Kontrol ve deney grubunun serum IL-6, TNF- α , GM-CSF ve IL-1 düzeylerinin karşılaştırılmasında

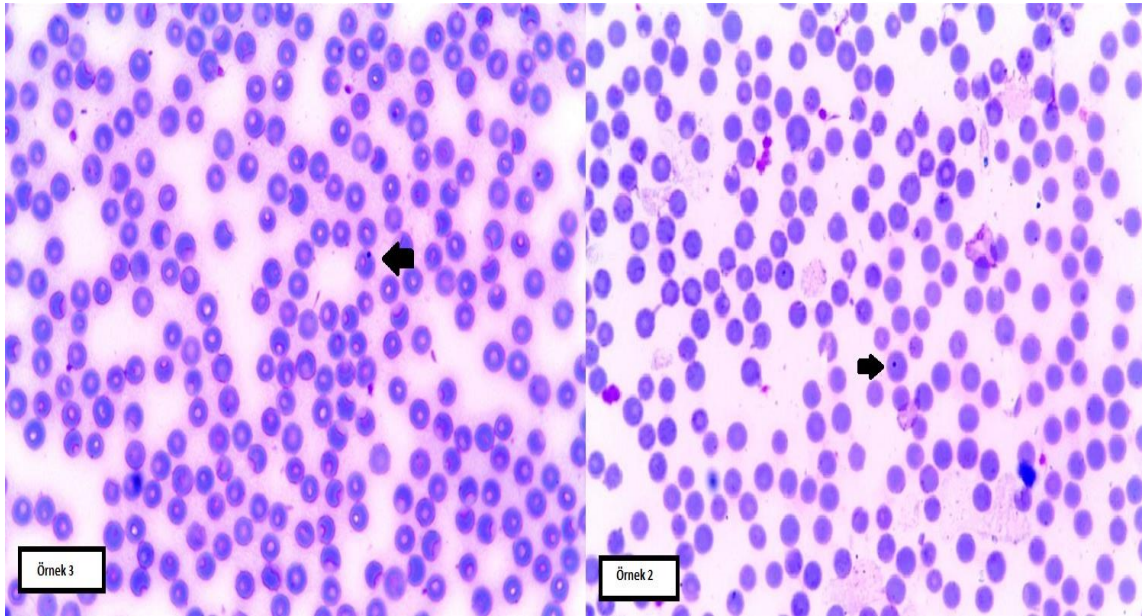
Mann Whitney U testi, kullanılmıştır. P değeri 0.05 den küçük olan parametreler anlamlı olarak kabul edilmiştir.



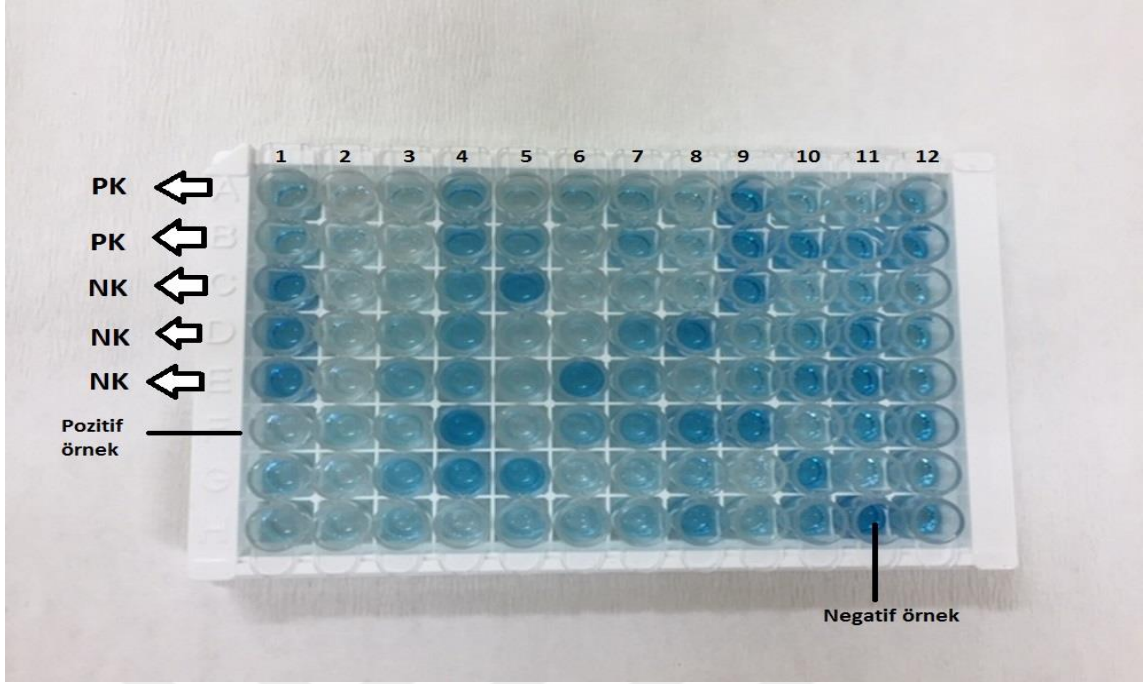
4. BULGULAR

Bu çalışma için kullanılacak olan kan örnekleri, Van Büyükşehir Belediyesi Mezbahanesine getirilen 20 sağlıklı ve 20 Anaplasmosis'li koyundan sağlandı. Kontrol ve hasta gruplarının belirlenmesi, hastalığın klinik belirtileri, giemsa boyalı kan frotileri ve serolojik yöntem (cELISA) yardımıyla yapıldı.

Perifer kandan yapılan ve giemsa ile boyanan preparatların mikroskopik muayenesi ile eritrositler içerisinde mavi-mor renge boyanmış Anaplasma spp. türleri görüldü.



Şekil 2. Kan frotilerinde Anaplasma spp. türlerinin eritrosit içindeki görünümü (siyah oklar). Giemsa Boyama X 100.



Şekil 3. Anaplasma spp türleri yönünden seropozitif ve seronegatif kan serumlarının ELISA pleytindeki görünümü. (PK: Pozitif kontrol; NK: Negatif kontrol).

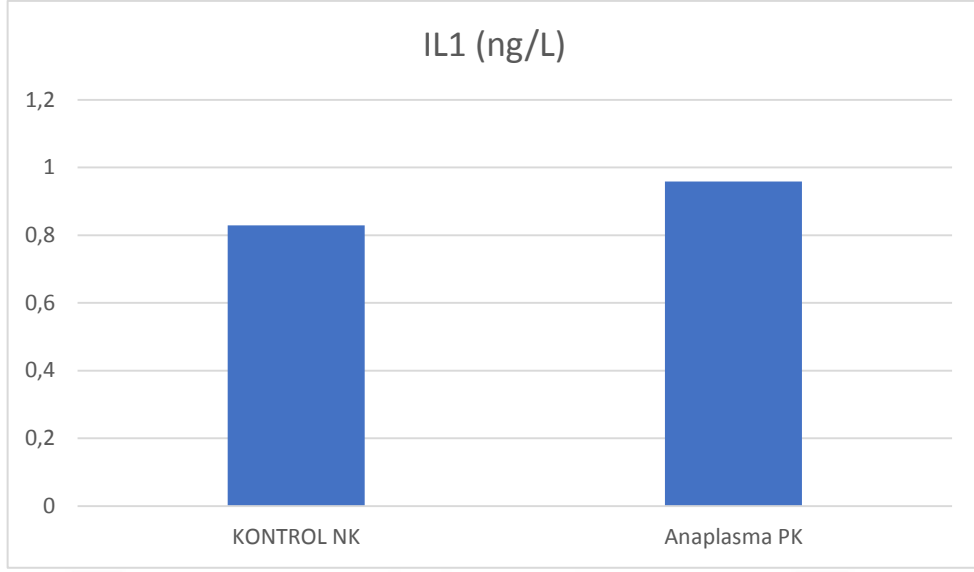
Toplanan 91 koyunların ait serum örneği Anaplasma spp. türlerinin antikorlarının varlığı yönünde serolojik olarak incelendiğinde %73.6'sı (67/91) anaplasmosis yönünden seropozitif bulundu. Kan frotisinde anaplasma etkenleri görünen ve ELISA inhibisyon değeri yüksek çıkan koyunların kanları analizler için kullanıldı.

Anaplasmosisli koyunlar teşhis edildikten sonra pozitif ve negatif olarak gruplandırılarak serum IL-1 (ng/L), TNF- α (ng/L), IL-6 (ng/L), GM-CSF (ng/L) düzeyleri gruplar arası istatistiksel değerlendirilmesi belirlendi. (Tablo 2) Gruplara ait her parametrenin karşılaştırılması ise Şekil 3,5,7,9' da verildi.

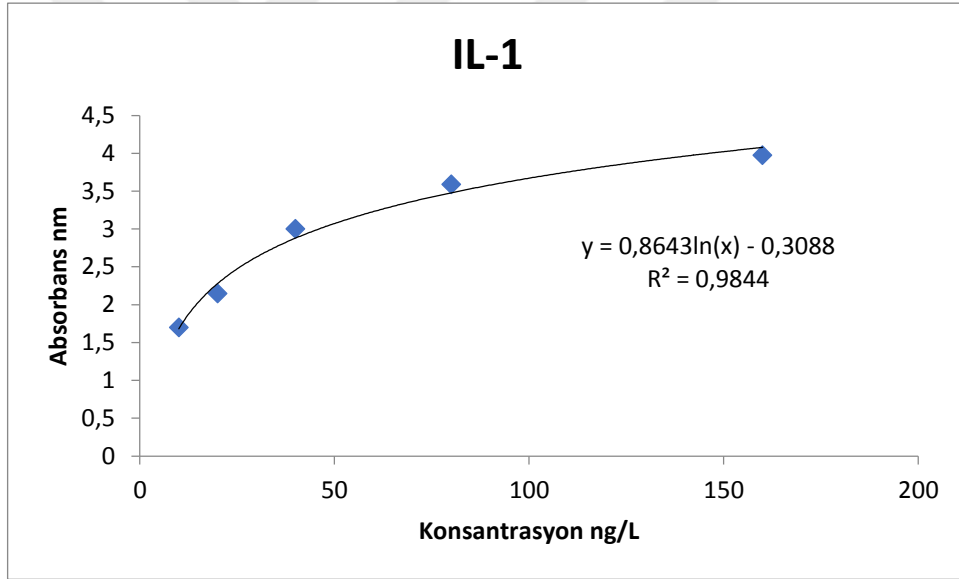
Tablo 2. Tüm gruplara ait IL-1 β (ng/L), TNF- α (ng/ml), IL-6 (ng/L), GM-CSF (ng/ml) GM-CSF (değerleri ortalamaları ve standart sapmaları (X \pm SX)

PARAMETRELER	KONTROL (NK) (n=20) X\pmS_X	Anaplazma pozitif (PK) (n=20) X\pmS_X
IL-1 (ng/L)	0,9587 \pm 0,13702 ^a	0,8297 \pm 0,19805 ^b
IL-6 (ng/L)	3,14910 \pm 08414	3,1733 \pm 0,03860
TNF- α (ng/L)	1,2104 \pm 0,25144 ^a	1,4913 \pm 0,33207 ^b
GM-CSF (ng/L)	1,4691 \pm 0,23632 ^a	1,7087 \pm 0,19920 ^b

^{a,b}Her uygulama grubu içinde bulunan bazı kan parametrik ortalamasının karşılaştırılması (ilgili kan parametresi için, aynı satırda farklı harf taşıyan grup ortalamaları arasındaki istatistiksel fark önemlidir (P<0.05).



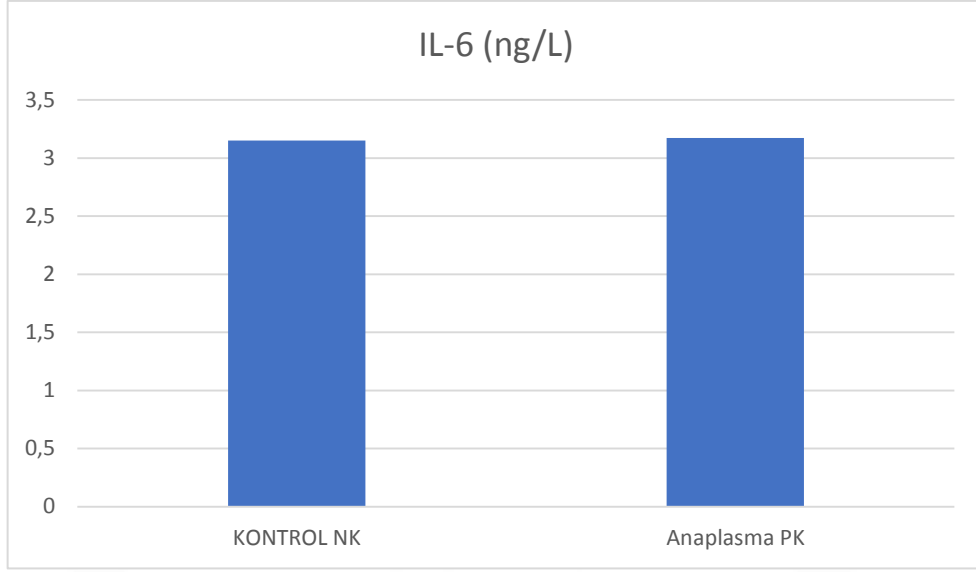
Şekil 4. IL-1 (ng/L) düzeyleri.



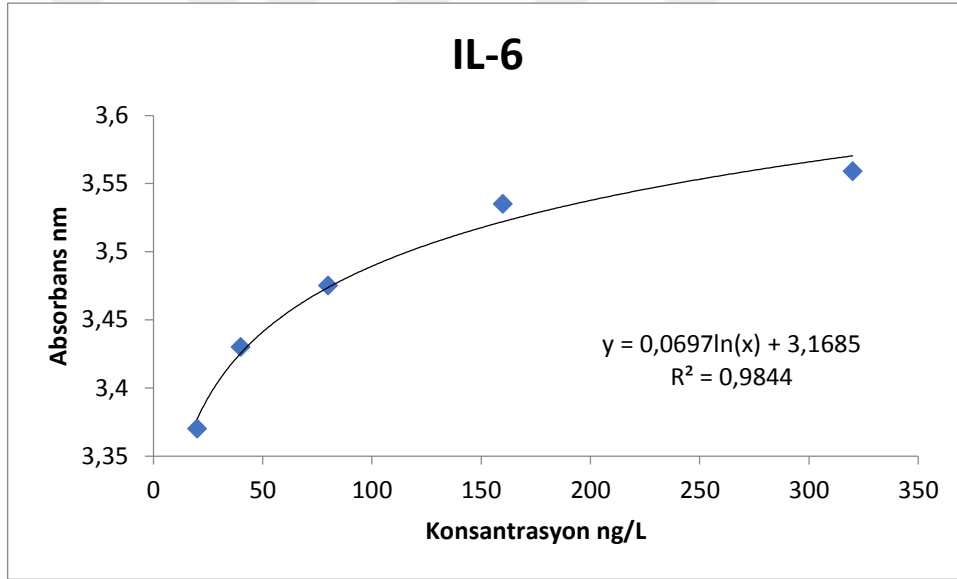
Şekil 5. IL-1 (ng/L) standart eğrisi.

Koyun serumlarındaki IL- 1 konsantrasyonları Tablo 2' de ve standart eğrisi şekil 4'te verilmiştir. Anaplasma seropozitif koyunların serum IL-1 değerleri 0,9587 iken seronegatif koyunların 0,8297 olarak bulunmuştur. İstatistiksel olarak pozitif grubun

IL-1 değerleri negatif gruba göre daha yüksek bulunmuştur ($P < 0.05$).

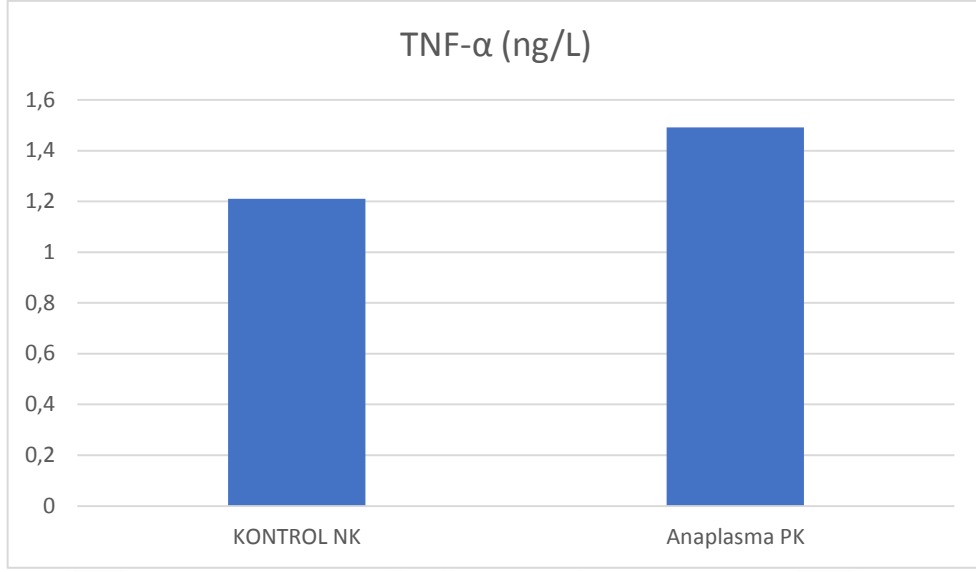


Şekil 6. IL-6 (ng/L) düzeyleri.

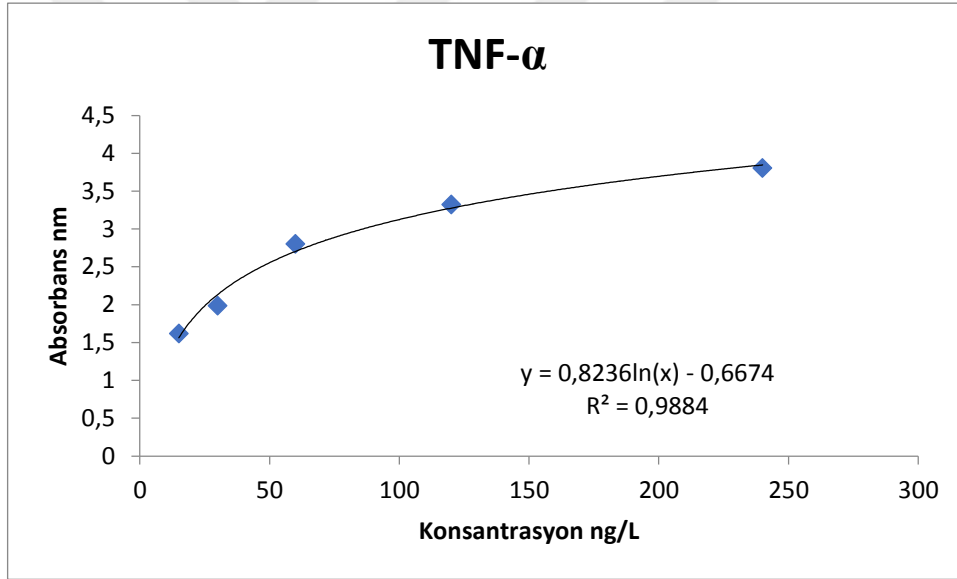


Şekil 7. IL-6 (ng/L) standart eğrisi

Koyunlara ait IL-6 konsantrasyon düzeyleri Tablo 2’de verilmiştir. Oluşturulan IL-6 standart eğrisi şekil 6’da gösterilmiştir. Anaplasmaosisli ve kontrol grubu koyunların serum IL-6 seviyeleri sırasıyla 3,1733 ve 3,1491 olarak bulunmuştur. İstatistiksel olarak iki grup arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

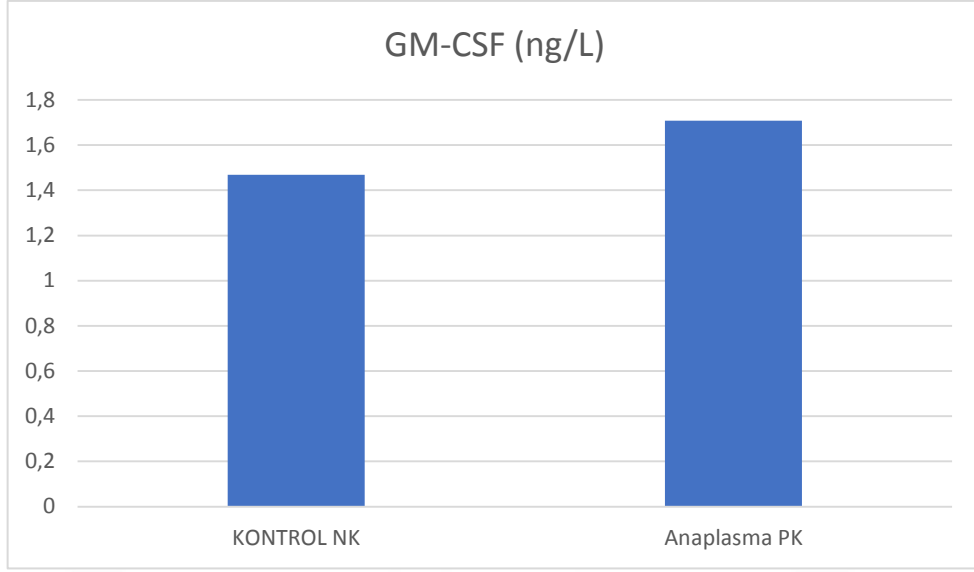


Şekil 8. TNF- α (ng/L) düzeyleri

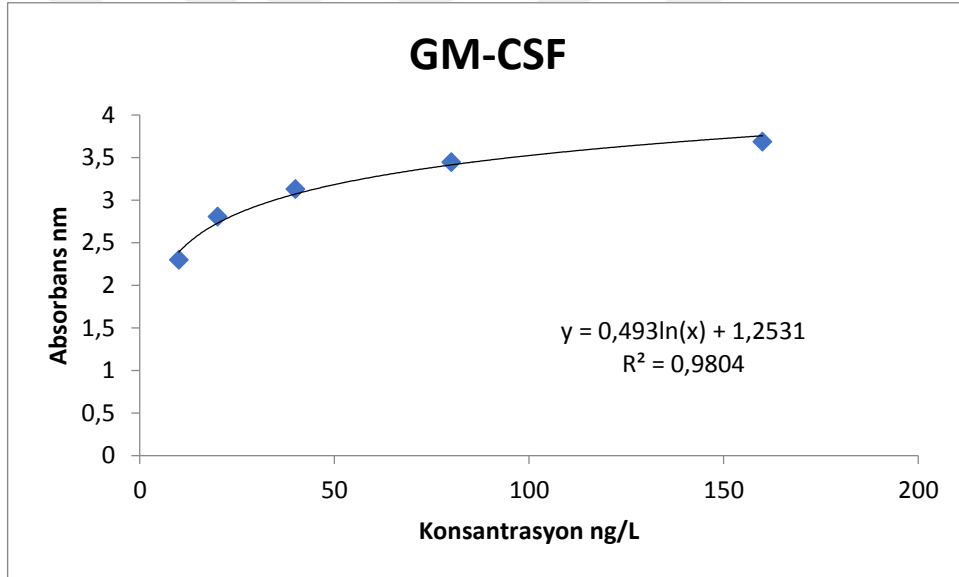


Şekil 9. TNF - α . (ng/L) standart eğrisi

Koyun serumlarındaki TNF- α konsantrasyon düzeyleri Tablo 2’de verilmiştir. TNF- α standart eğrisi şekil 8’de gösterilmiştir. Anaplasmosis ile enfekte olan koyun serum TNF- α seviyeleri 1,4913 kontrol grubu koyunlarda 1,2104 olarak hesaplanmıştır. Anaplasmosisli gruptaki yükselme istatistiki olarak önemli çıkmıştır.



Şekil 10. GM-CSF (ng/L) düzeyleri.



Şekil 11. GM-CSF (ng/L) standart eğrisi

Koyun serumlarındaki GM-CSF konsantrasyonları Tablo 2’de standart eğrisi şekil 10’ da verilmiştir. Anaplasma seropozitif koyunlar ve kontrol grubu koyunların GM-CSF seviyeleri (ortalama) sırasıyla 1,7087 ve 1,469 olarak tespit edilmiştir. Anaplasmosis pozitif koyunlar negatif gruba göre istatistiksel olarak yüksek ($P < 0.05$) bulunmuştur.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Koyun yetiştiriciliğinde keneler ile taşınan paraziter hastalıklar Türkiye’de ve dünyada oldukça yaygındır ve azımsanmayacak ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Anaplasmosis, insanları ve hayvanları etkileyen kene kaynaklı olan intra-eritrositik paraziter bir enfeksiyondur (Torina ve diğerleri, 2000).

Küçük ruminantlarda *A. ovis* ve *A. phagocytophilum* anaplasmosise neden olmaktadır. Bu hayvanlarda *A. ovis* enfeksiyonları çoğunlukla klinik belirtileri hafif seyrederek ancak savunma sistemi zayıflatan bazı kötü şartların varlığında ölüme sonuçlanacak kadar hastalığın şiddeti artmaktadır (Hornok ve ark 2009; Ataş M, 2015).

Parazitemi düzeyi taşıyıcı hayvanlarda ve uzun süren enfeksiyonlarda genellikle az olduğundan dolayı mikroskopik muayene ile yapılan muayenelerde yanılgılar olabilmektedir. Bu durumlarda teşhis için serolojik testlerden ve moleküler yöntemlerden faydalanılması gerekmektedir (Dik ve Sevinç, 2002). cELISA metodu, *A. ovis*'in serolojik teşhisinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

A. ovis'in Türkiye'deki ilk raporu 1931 gibi erken bir tarihte Lestoquard tarafından yapılmıştır (Lestoquard ve Ekrem, 1931). Bundan sonra 520 klinik olarak şüpheli olan koyunlarda Giemsa boyama ile teşhis edilerek *A. ovis*'in % 1.3'ünün yaygınlığını bildirilmiştir. Klinik olarak sağlıklı koyunlarda, *A. Ovis* 236 hayvanın dördünde (% 1,7) bulunmuş ve o da *A. ovis*'in birlikte bulaştığını gözlemlenmiş ve araştırılan koyunların % 0.4'ünde *B.ovis* tespit edilmiştir. Anaplasmosis insidansı daha yüksek olmasına rağmen göreceli olarak şimdiye kadar spesifik olmayan tespit yöntemleri ile göz ardı edilmiştir. Türkiye'deki koyun ve keçiler arasında da klinik olarak splenektomi sonrası Anaplasmosis insidansı daha yüksek bulunmuştur (Goksu, 1965).

Ayrıca 1955 yılında yapılan önceki bir çalışmada, Türkiye'de *A. ovis*'in ve *B. Ovis* ile koenfeksiyonu, koyunlarda bulundu (Myalo, 1957). Küçük ruminantlarda *A. ovis* enfeksiyonu ile ilgili, pozitif test edilen hayvanların sayısı çalışmada %31,4 tür. Bu bildirilenden çok daha yüksek daha önce ve istila oranının görüldüğünü göstermektedir.

Parazit veya diğerk enfeksiyonun sebep olduğu doku hasarının oluşması sonucu spesifik olmayan bir reaksiyonu olan akut faz cevabı (AFC) aktive olmaktadır. Akut faz cevabı, bazı proinflatuvar sitokinler (IL-6, TNF- α ve IL-1) vasıtası ile aktive edilir. Birtakım plazma proteinlerinin üretilmesi AFC döneminde artmaktadır. Sentezi uyarılarak artan bu proteinler, dokuların daha fazla zarar görmesine engel olur ve böylece iyileşme hızlanmaktadır.

Ancak AFC olması gerektiğinden uzun sürdüğü zamanlarda da istenmeyen etkiler meydana gelmektedir. Bu meydana gelen metabolik değışikliklerde etkili esas mediatörler ise sitokinlerdir (Khowidhunkit ve ark., 2000). Ruminantlarda ana akut faz protinleri (APP) olan Serum haptoglobin (Hp) ve serum amiloid-A (SAA) nın pek çok çalışmada, çeşitli koşullarda klinik olarak yararlı parametreler olarak önemi vurgulanmıştır. Sığırlarda enfekte theileriosisde bu parametrelerin artmış olduğu gözlenmiştir (Nazifi ve ark., 2009). Yine anaplazma ile enfekte ruminantlarda da bu parametrelerin sağlıklı sığırlara kıyasla Hp seviyelerinde 10 kattan fazla arttığı bildirilmiştir. Hp ve SAA konsantrasyonları, *A. marginale* ile ilişkili parazitemi ile sığırlarda inflamasyonun iyi göstergeleri olabilir. Anaplazma enfeksiyonu sonrası inflamasyonda APP sentezinin önemli uyarılmasına neden olur. Bu nedenle, *A. marginale* ile sığırlarda akut faz yanıtının değıerlendirilmesi inflamasyonun belirlenmesi için önemlidir (Coşkun ve ark., 2012). Murata ve ark., temel APP'leri, enfeksiyon veya travma gibi bir uyarının bir sonucu olarak bazal seviyelere göre seviyeleri 10 ila 100 kat artan proteinler olarak tanımlamaktadır (Murata ve ark.,2004). Skinner ve ark. Hp konsantrasyonlarının 200 /g / mL'den yüksek olduğunda hafif inflamasyona, 400 μ g / mL'de şiddetli inflamasyona ve 1-2 mg / dL seviyelerinde genişlemiş patolojik lezyonlara işaret ettiğini belirtmiştir (Skinner ve ark., 1991). Yüksek mortalite oranı perakut anaplazmoz, en sık safkan hayvanlarda ve yüksek üretimli süt ineklerinde gelişen birkaç saatlik klinik belirtiler ile karakterizedir (Kocan ve ark., 2010).

Sitokinler canlılarda genellikle lenfoid doku ve kan hücrelerinden salınmaktadır. Dokularda sergiledikleri etkilerine göre inflamasyonu aktive eden proinflatuvar sitokinler (IL-6, Tümör nekrozis faktör, IL1) ve yangıyı engelleyen antiinflatuvar sitokinler (IL-10) şeklinde sınıflandırılır (Tsai ve ark., 2013). TNF konakçı immun sistemin düzenlenmesinde önemli rolü vardır (Qiu ve ark., 2011). TNF α sadece

bakteriyal etkenli enfeksiyonlarda değil öbür enfeksiyonlarda hızlı salındığı ve meteboizmada çeşitli etkileri olan ama genellikle proinflamatuvar sitokin yanıtın ana regülatörü olduğu rapor edilmiştir (Parameswaran ve Patial, 2010).

Proinflamatuvar sitokinlerin konsantrasyonları sepsisin prognozu ve çoklu organ fonksiyon bozukluğu gelişimi ile korreledir (Edith ve ark., 2004). Ayrıca, tavşanlarda yüksek konsantrasyonlarda pro-enflamatuar sitokin infüzyonu çoklu organ disfonksiyonu sendromu ile ilişkilendirilmiştir (Kusawa ve ark., 1988). Çeşitli çalışmalarda, bazı hastalıkların şiddetinin anlaşılması ve klinik sonuçların öngörülmesinde dolaşımdaki proinflamatuvar sitokin seviyelerinin değerlendirilmesinin yararlı olabileceği ileri sürülmüştür (Orro ve ark. 2011; El-Ashker ve ark. 2013; El-Ashker ve ark., 2014).

Yapılan çalışmalarda, TNF- α 'nın makrofajları uyarak NO ve ROS miktarını artırdığı bildirilmiştir. Yine başka araştırmalarda, 25 adet akut inflamasyon sırasında aktif haldeki makrofajların parazitleri fagositozla ve süperoksit, NO, peroksinitrit gibi toksik maddeleri üreterek etkisiz hale getirildiği rapor edilmiştir (Shoda ve ark.2000 ve Goff ve ark., 2002). İmmun sistemde paraziter enfeksiyonlara karşı ve akut hastalıklarda IL-6 ve TNF- α , klinik semptomların meydana gelmesinde rol oynamaktadır (Grab ve ark., 2007). Savunma sistemi tarafından sentezlenen IL-1 β , canlılarda IL-6 salınımını aktive etmektedir (Dinarello 2005). Mevcut çalışmada, benzer şekilde TNF- α ve IL-1 düzeyinin yükseldiği tespit edilmiştir.

IL-6 ise inflamasyonda önemli rolleri olan mediatördür ve amiloid-A ile C-reaktif proteinin sentezlenmesine neden olur. Aynı zamanda T hücrelerinin gelişmesi ve farklılaşmasını da sağlar (Kishimoto 2006). Enfeksiyon durumlarında antiinflamasyon ve inflamasyon arasındaki ilişkinin dengeli olması canlılar için oldukça önemlidir. Makrofajlar ve granüositlerce salgılanan ve sitokin üretimini engelleyen antiinflamatuvar etkili IL-10, proinflamatuvar sitokinlerin (IL-6, TNF α , IL-1 β ,) oluşumuna baskı yapmaktadır (Tsai ve ark 2013).

IL-6 seviyesinin *Anaplasma phagocytophilumun* sebep olduğu anaplazma hastalığında yükseldiği tespit edilmiştir. Sığırlarda yapılan bir başka çalışmada da IL-6 düzeyi yükseldiği rapor edilmiştir (Ergönül ve Kontaş, 2009). Bu artışın sebebi,

anaplasmozis etkenlerinin makrofajları aktive etmesi ile IL-6 düzeyindeki yükselmesi şeklinde açıklanabilir. Bu çalışmada da sayısal olarak yükselmiştir ama istatistiki önem çıkmamıştır. Bunun sebebi IL 10' nun artık baskılamaya başlaması olarak düşünülebilir.

IL-6 hem doğal kazanılmış bağışıklıkta etkilidir, hem de T lenfositlerinde IL-10 sentezini aktive etmektedir. IL-10 ise hücre aracılı immün cevabı inhibe etmektedir. Sitokinler öncelikli olarak enfeksiyonlar için savunma siteminde rol alırlar (Naka ve ark., 2002). Proinflamasyon sitokinlerinden biri olan interlökin-6 (IL-6) hücre savunmasında çeşitli görevlere aracılık etmektedir. T lenfositleri uyarır ve B lenfositlerde ise farklılaşma faktörü olarak etkisini göstermektedir ve B hücrelerinde antikor yapımını uyarmaktadır. IL-6, T lenfositleri uyarması sonucu sentezi artan IL-10 ise IL-1 TNF- α ve IL-6 üretimini baskılamaktadır. Bu etkisini IL-6, TNF- α ve IL-1 gibi sitokinlerin üretimini transkripsiyonel olarak ve posttranskripsiyonel seviyede baskılayarak meydana getirir. Sonuç olarak IL-10 genel inflamasyon öncesi sitokinleri ve konakların akut faz cevabını baskılayarak, yangının şiddetinin azalmasına neden olmaktadır (Bortesi ve ark., 2009). İnterlökinler parazit enfeksiyonlarına karşı immün sitemde önemli rol oynamaktadır fakat dengesiz ve fazla sentezleri zararlı olabilmektedir. Bu zararlı etkiler; dokularda hasar, lipid peroksidasyonu, kilo kaybı ve şok olarak sayılabilir (Dinerallo CA,2000).

Brown ve ark.(1996), B. Bovis enfeksiyonunda Abbott ve ark. (2005), ise anaplasmosiste IL-10 düzeyinin arttığını bildirmişlerdir. Yapılan bir çalışmada; A.fagositofil ile enfekte koyunların bakteriyemi süresince proinflamatuvar sitokinleri kodlayan bazı apoptotik genlerin düzenlenmesi ile karakterize olduğu gösterilmiştir (Woldehiwet and Yavari, 2014).

A. fagositofilum ile enfekte olmuş nötrofiller, vasküler geçirgenlikte arttırılmış değişiklikler de dahil olmak üzere birçok etkiye sahip biyolojik olarak aktif bileşikler olan kemokinlerin (IL-8) ve sitokinlerin (IL-6) (Choi ve ark. ,2005) üretimi için belirgin şekilde aktive edilmektedir. Endotel hücre sito-iskeletindeki değişiklikler ile ilişkili olarak örneğin, IL-8 ve TNF-a, Rho ve Rac GTPaz- yoluyla aktin yeniden düzenlemelerini (F-aktin polimerizasyonu / stres lifi oluşumu) değiştirerek serebral vasküler endotelial hücrelerde ve beyin dışı mikrovasküler hücrelerde geçirgenlik

değişikliklerine neden olur. (Talavera ve ark., 2004). IL-6 ayrıca parankim hasarına katkıda bulunurken, hem IL-6 hem de IL-10 telafi edici nöroprotektif faktörler olarak etki edebilir (Sternberg ve ark., 2005). Tester ve arkadaşları koinfeksiyon sırasında insan BMEC'sinde geçici parçalanmaya doğrudan katkıda bulunabilecek kemokinlerin (IL-8 ve MIP-1a) ve sitokinlerin (IL-6, IL-10 ve TNF- α) salgılanmasını göstermiştir. Arttırılmış kemokin / sitokin salgılanmasının biyolojik sonuçları, ifadesi de arttırılmış olan bir MMP'nin doğrudan etkisi ile daha da arttırılabilir (Tester ve ark., 2007). Ek olarak, *A. fagocytophilum* enfeksiyonu nötrofillerin fagositozu bozar. Sinir sisteminde bir hastalık virüsü ile koinfekte edilmiş koyunlarda güçlendirilmiş bir klinik hastalık olan *Anaplazma fagositofilum* bulunduğu bir gösterilmiştir (Garyu ve ark., 2005).

Ruminantlarda deneysel *T.annulata* etkeni ile enfekte olduğu zaman, makrofajlardan TNF- α ve NO sentezlendiği; her iki mediatörün sentezinin kültür hücrelerinr INF- γ 'ya eklenmesi ile yükseldiği bildirilmiştir. Aynı zamanda *T. annulata* etkenleri ile enfekte hücreler, IFN- α 'yı sentezlerler. Bu yol ile sentezlenen IFN- α ve üreyen parazitlerle aktive olan NK hücreler ve yardımcı T lenfositleri yine CD8 ve CD4 gibi reseptörlere sahip T lenfositleri, IFN- γ 'yi sentezlerler. Bu sentezlenen IFN- γ sayesinde aktive olan makrofajlar ise nitrik oksiti ve TNF- α 'yı sentezlerler (Visser ve ark., 1995).

Anaplasmosisli sığırlarda yapılan bir araştırmada, lipid peroksidasyonun, IL-6, NO, ısı protein seviyesindeki yükselmenin sebebi anaplasma etkeni olan parazitler ile konak immun sisteminin stimüle etmesidir ve meydana gelen inflamasyon ile beraber oksidatif stres ortaya çıktığından dolayı HSP 27, MDA, IL-6 ve NO seviyelerinin tespiti, anaplasmosisin teşhisinde fayda sağlayacağı bildirilmiştir (Ergönül ve Aşkar, 2009).

Yapılan bir çalışmada koyunlara immun sistemi uyaran *Corynebacterium cutis* lizati (CCL) verilmiş ve sitokinler üzerinde dalgalanmalara neden olduğu fakat TNF, IL-1 ve IL-6 düzeylerinde istatistiki önem çıkmadığı tespit edilmiştir.

Hematopoetik büyüme faktörü olan granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör (granulocyte makrophage colong stimulating factor, GM-CSF) kan hücrelerinin çoğalması ve farklılaşmasını uyaran sitokinlerdir. Hematopoetik büyüme faktörleri

ticari olarak kliniklerde infeksiyon hastalıklarında kullanılmaktadır. Kanser kemoterapisi sonucu gelişen akut nötropeni vakalarında, sarkoma, lenfoma ve solid tümörlü hastalarda kemoterapi sonrası nötropeniye azalttığı bazı çalışmalarda gösterilmiştir. GM-CSF parasetamol ile kontrol edilebilen IL-1 artışına bağlı ateş yanıtına neden olabilir. Periferik kan kök hücre transplantasyonlarında G-CSF ve GM-CSF ile uyarılan periferik kan hücreleri lökoforezle toplanarak sitotoksik tedavi sonucu gelişen kemik iliği aplazilerinde uygulanmaktadır. Bu hastalarda nötropenik ve trombositopenik süre kısalmış, antibiyotik kullanım süresi azalmıştır. Bu uygulama relaps ve mortalite oranını değiştirmemiştir (Scarffe,1991; Lieschke ve Burgess, 1992).

Kronik nötropenik hastalıklarda siklik nötropenili ve konjenital nötropenili hastalarda yapılan az sayıda çalışmada eozinofili oluşturması ve yan etkileri nedeniyle GM-CSF yerine G-CSF'in daha uygun olabileceği sonucuna varılmıştır. Aplastik anemilerde çok ağır olmayan olgularda nötrofil düzeyini arttırdığı gösterilmiştir. Retikülosit sayısı artmakla birlikte hastaların transfüzyon gereksinimi değişmemiştir. Ağır aplazilerde yanıt çok daha düşüktür. Myeloid lösemi ve myelodisplastik sendromlarda ise GM-CSF lösemik hücreleri aktive ederek, kemoterapötik ajanın bu hücreler üzerine etkinliğinin artmasına neden olarak olumlu etki oluşturabileceği bildirilmiştir (Lieschke ve Burgess, 1992). HIV infeksiyonlarında, GM-CSF'in, nötrofil, eozinofil ve monosit düzeylerini arttırarak bazı nötrofil fonksiyon defektlerini düzelttiği bildirilmektedir (Scarffe,1991; Frank ve Mandell, 1995).

GM-CSF'in en önemli etkilerinden biri, kemik iliği transplantasyonları ve lösemi tedavisinden sonra gelişen invazif kandida ve fusarium infeksiyonlarının tedavisindeki başarısıdır. Bu etkisini olasılıkla monosit ve makrofaj aktivasyonu ile sağlamaktadır. GM-CSF'in lokal uygulamalarda Dendritik hücreler ve Langerhans hücrelerinin çoğalmasını ve matürasyonunun sağladığı, antijen sunan hücreleri aktive ettiği, sistemik uygulamada antikor yapımını arttırdığı gösterilmiştir. Bu immünomodülatör özellikleri nedeniyle, aşılarda antijenik özelliklerini arttırarak ve özellikle immünosupresif hastalarda aşılara yanıtı güçlendirerek etkili olabileceği düşünüldüğünden, aşı çalışmalarında denemeye başlanmıştır. Hepatit B aşısı ile yapılan bir pilot çalışmada, GM-CSF ile yüksek anti- HBs yanıtı elde edilmiştir. İnfluenza, HIV, malaria ve tümör aşılarda etkisi araştırılmaktadır (Jones ve ark., 1994). Hayvan

çalışmalarında lokal GM-CSF'in yara kontraksiyonunu hızlandırdığı ve kontamine yara iyileşmesini kolaylaştırdığı belirlenmiştir (Maurer ve Stingl, 1996). Bu sonuçlar, gelecekte ilginç bir uygulama sahası olabileceğini düşündürmektedir.

Aspergillus enfeksiyonlarında ise kısmi bir düzelme görülmüştür (Karp ve ark., 1994; Frank ve Mandell, 1995). İn vitro parazitler üzerine de etkisi Trypanosoma cruzi ve Leishmania tropica hücre kültür modellerinde gösterilmiştir (Scarffe,1991; Karp ve ark., 1994). Ancak GM-CSF'in paraziter enfeksiyonlarda etkisinin klinik düzeyde araştırılması gereklidir.

Sunulan çalışmada GM-CSF değerleri anaplasmaosiste yüksek bulunmuştur. Yüksek bulunması anaplasmosis etkeninin kan hücrelerinde yaptığı etkiyi düzeltmeye yönelik immün sistemin verdiği cevap olarak değerlendirilmiştir. Ticari formu hastalık belirtilerini hafifletmek için ek olarak kullanılması faydalı olabilir.

Sonuç olarak, Anaplazma enfeksiyonundaki bulgularımız açıkça göstermektedir ki, ölçülen inflamatuvar belirteçlerinin yüksek seviyeleri ve tepkilerin kapsamı önemli bir prognostik gösterge görevi görmektedir. Arasında İncelenen farklı biyokimyasal değişkenler arasında IL-1 ile parazitemi düzeyleri ile en fazla yükselmeyi gösterdi ve bu nedenle inflamasyon için biyobelirteç olarak görev yapabilir. Anaplazma enfeksiyonu ile ilişkili, ölçülen inflamatuvar belirteçler, hastalığın sonucunu önceden belirlemek için faydalı bir araç olabilir. Anaplazmozis enfeksiyonlarında tedavi ve korunma için hasta hayvanların tedavi edilmesi, taşıyıcı olan hayvanların teşhisi ve bu hayvanların barınak içinde idaresi, tehlikeli vektörlerin ortaya konması ve keneler ile mücadelesinin güçlü bir şekilde olması mutlaka gereklidir.

Küçük ruminantlar birçok alanda et, süt, deri ve yün kaynağı olarak kullanılmaktadır. Gün geçtikçe artan talepler bu hayvanların hastalıklarının daha iyi anlaşılması ve epidemiyolojik olarak sağlam verilerin oluşturulmasına izin verilmelidir. İleride yapılacak çalışmalar küçük ruminantlarda bakterilerin sağlık üzerindeki etkilerini değerlendirmek, koinfeksiyon üzerindeki etkisine özel önem vermek daha önce tarif edildiği gibi diğer patojenlerle ve ovine anaplasmosis'in sosyo-ekonomik etkisini değerlendirme üzerine yoğunlaşılmalıdır. Ayrıca, iletim yolları eklem bacaklı vektörler dahil, açıkça belli olan alanların ortaya konulması gereklidir.

İmmun Sistem parametrelerinin nasıl etkilendiği ile ilgili çalışmalar hastalıklara karşı alınabilecek önlemlerde ve tedavide izlenen yollarda ciddi katkılar sağlamaktadır. Geliştirilebilecek aşı, ilaç vb.için faydalanılacak bilgiler sunulacaktır.

Sunduğumuz alışma ile immun sistemdeki Anaplazmosiz ile ilgili gelişmeler ve hastalığın oluşmasını etkileyen faktörler ile ilgili araştırmaların artması, gelecekte geliştirilecek immunoterapi çalışmaları için faydalı olabilecek bilgi birikimine ve Anaplasmaya karşı yapılacak yeni araştırmalarda önemli katkılarda bulunacağı düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- Abbott JR, Palmer GH, Kegerreis KA, Hetrick PF, Howard CJ, Hope JC, Brown WC. Rapid and long-term disappearance of CD4 T lymphocyte responses specific for *Anaplasma marginale* major surface protein-2 (MSP2) in MSP2 vaccinates following challenge with live *A. marginale*. *J Immunol.* 2005; 174: 6702-15.
- Aktas M, Altay K, Dumanlı N, Kalkan A. Molecular detection and identification of *Ehrlichia* and *Anaplasma* species in ixodid ticks. *Parasitol Res.* 2009; 104(5): 1243-48.
- Altay K, Dumanlı N, Aktas M, Özübek S. Survey of *Anaplasma* infections in small ruminants from East part of Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2014; 20: 1-4.
- Anon A. Anaplasmosis, piroplasmosis and theileriosis amongs cattle and sheep in Turkey and the control of the disease. *B Office Int Epizoo.* 1976; 86: 27-33.
- Ataş M. Şanlıurfa yöresindeki koyun ve keçilerde *Anaplasma phagocytophilum*'un moleküler yöntemlerle araştırılması. [Yüksek Lisans Tezi] Elazığ: Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2015.
- Barry DM, Van Niekerk CH. Anaplasmosis in improved boer goats in South Africa artificially infected with *Anaplasma ovis*. *Small Ruminant Res.* 1990; 3(2): 191-97.
- Bortesi L, Rossato M, Schuster F, Raven N, Stadlmann J, Avesani L ve ark. Anaplasmosisli Sığırlarda Isı Şok. M: Viral and murine interleukin-10 are correctly processed and retain their biological activity when produced in tobacco. *BMC Biotechnology.* 2009; 9(22): 1-13.
- Brown WC, McElwain TF, Ruef BJ, Suarez CE, Shkap V, Chitko-mckown CG ve ark. *Babesia bovis* rhoptry-associated protein 1 is immunodominant for T helper cells of immune cattle and contains Tcell epitopes conserved among geographically distant *B. bovis* strains. *Infect Immun.* 1996; 64 (8): 3341-50.
- Camcıoğlu Y, Deniz G. Doğal Bağışıklık. In: Abbas AK, Lichtman AH. (Eds). *Temel İmmünoloji: İmmün Sistemin İşlev ve Bozuklukları* 7. Baskı. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık; 34-36, 2007.
- Carswell E, Old L, Kassel R, Green N, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *PNAS.* 1975; 72(9): 3666-70.
- Choi KS, Park JT, Dumler JS. *Anaplasma phagocytophilum* delay of neutrophil apoptosis through the p38 mitogen-activated protein kinase signal pathway. *Infect. Immun.* 2005; 73: 8209-18.
- Coskun A, Ekici OD, Guzelbektes H, Aydo GDU, Sen I. Acute phase proteins, clinical, haematological and biochemical parameters in dairy cows naturally infected with *Anaplasma marginale*. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2012; 18(3): 497-502

- Dantzer R, Bluthé R, Kent S, Goodall G.8 - Behavioral Effects of Cytokines: An Insight into Mechanisms of Sickness Behavior. *Methods in Neurosciences*. 1993; 17: 130-150.
- Dik B, Sevinç F. Veteriner protozooloji. Selçuk Unv Vet Fak Yayın Ünüt. 2002; 1-145.
- Dinarello CA. Interleukin-1 β . *Crit Care Med*. 2005; 33: 460-62.
- Dinerallo CA. Proinflammatory cytokines. *Chest*. 2000; 118 (2):503-508.
- Dumler JS, Choi KS, Garcia-Garcia JC, Barat NS, Scorpio DG, Garyu JW. Humangranulocytic anaplasmosis and *Anaplasma phagocytophilum*. *Emerg Infect Dis*. 2005; 11: 1824-34.
- Edith MS, Jonathan H, Sezer MT, Chertow GM Plasma cytokine levels predict mortality in patients with acute renal failure. *Offic J Int Soc Nephrol*. 2004; 65: 1357–65.
- El-Ashker M, Salama M, El Boshy M. Traumatic reticuloperitonitis in water buffalo (*Bubalus bubalis*): Clinical findings and the associated inflammatory response. *J Vet Med*. 2013; 8086: 56, 6.
- El-Ashker M, Salama M, Rizk A, El-Boshy M. The use of inflammatory markers as a prognostic aid for traumatic reticuloperitonitis in water buffalo (*Bubalus bubalis*) *Vet Medicina*. 2014; 59: 239–46.
- Ergönül S, Aşkar T. Anaplasmosisli Sığırlarda Isı Şok Protein (HSP), Malondialdehit (MDA), Nitrik Oksit (NO) ve İnterlökin (IL-6, IL-10) Düzeylerinin Araştırılması. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 2009; 15(4): 575-79.
- Frank MO, Mandell GL. Adwunct to anti bacterial therapy. *Infect Dis Clin N Am*. 1995; 9: 769-81.
- Garyu, JW, Choi KS, Grab DJ, Dumler JS. Defective phagocytosis in *Anaplasma phagocytophilum*-infected neutrophils. *Infect. Immun*. 2005; 73: 1187-90.
- Goff WL, Jonhson WC, Valdez RA. 12-14 and TL-10 inhibition of IFN-gama and TNF-alfa dependent nitric oxide production from bovine mononuclear phagocytes exposed to *Babesia bovis* merazoites. *Vet Immun Immunopathol*. 2002; 84(3-4): 237-51.
- Göksu K. Yerli koyunlarımızda Babesidae ve Theileridae'nin epizootiyolojik durumlarıyla biyolojilerine dair araştırmalar. *Ankara Unv Vet Fak Yayınları*. 1967; 205.
- Göksu K. Review of anaplasmosis and observations of infections in sheep and goats. *Turk Vet Hek Dern Derg*. 1965; 35, 399–17.
- Grab DJ, Elvis Nyarko, Barat NC, Nikolskaia OV, Dumler JS. *Anaplasma phagocytophilum*-*Borrelia burgdorferi* coinfection enhances chemokine, cytokine, and matrix metalloprotease expression by human brain microvascular endothelial cells. *Clin Vaccine Immunol*. 2007; 14(11): 1420-24.

- Hashizume M, Hayakawa N, Suzuki M, Mihara M. IL-6/sIL-6R trans-signalling, but not TNF- α induced angiogenesis in a HUVEC and synovial cell co-culture system. *Rheumatol Int.* 2009; 29: 1449–54.
- Hornok S, de la Fuente J, Biró N, Fernández de Mera IG, Meli ML, Elek V. First molecular evidence of *Anaplasma ovis* and *Rickettsia* spp. in keds (Diptera: Hippoboscidae) of sheep and wild ruminants. *Vector-borne Zoonot.* 2011; 11: 1319-21.
- Hornok S, Meli ML, Erdos A. Molecular characterization of two different strains of haemotropic mycoplasmas from a sheep flock with fatal haemolytic anemia and concomitant *Anaplasma ovis* infection. *Vet Microbiol.* 2009; 136: 372-7.
- Hornok S, Micsutka A, Fernández de Mera IG, Meli ML, Gönczi E, Tánzos B. Fatal bovine anaplasmosis in a herd with new genotypes of *Anaplasma marginale*, *A. ovis* and concurrent haemoplasmosis. *Res Vet Sci.* 2012; 92: 30-5.
- Hornok S, Micsutka A, Fernández de Mera IG, Meli ML, Gönczi E. Fatal bovine anaplasmosis in a herd with new genotypes of *Anaplasma marginale*, *A. ovis* and concurrent haemoplasmosis. *Res Vet Sci.* 2012; 92: 30-5.
- Hosseini-Vasoukolaei N, Oshaghi MA, Shayan P, Vatandoost H, Babamahmoudi F, Yaghoobi-Ershadi MR ve ark. *Anaplasma* infection in ticks, livestock and human in Ghaemshahr, Mazandaran Province. *J Arthropod-Borne Dis.* 2014; 8(2): 204-11.
- Kalinski P, Lotze M, Kapsenberg M. Dendritic cell-related immunoregulation: signals and mediators *Dendritic Cells (Second Edition) Biology and Clinical Applications.* 2001; 51-74.
- Karatepe M ve Karatepe B. Koyun ve keçilerde görülen parazit hastalıkları (Kan ve dokularda görülen protozoon hastalıkları-anaplasmosis), In: Veteriner hekimliğinde parazit hastalıkları. Eds: Özcel MA, Yukarı BA. İzmir. Türkiye Parazitol Dern Yayın; 812-15. 2013.
- Katsume A, Saito H, Yamada Y, Yorozu K, Ueda O, Akamatsu K, Nishimoto N, Kishimoto T, Yoshizaki K, Ohsugi Y. Anti-interleukin 6 (IL-6) receptor antibody suppresses Castleman's disease like symptoms emerged in IL-6 transgenic mice. *Cytokine.* 2002; 20, 304–11.
- Khovidhunkit W, Memon RA, Feingold KR, Grunfeld C. Infection and inflammation-induced proatherogenic changes of lipoproteins. *J Infect Dis.* 2000; 181: 462-72.
- Kimura A, Kishimoto T. IL-6: Regulator of Treg/Th17 balance. *Eur J Immunol.* 2010; 40: 1830–35.
- Kishimoto T. Interleukin-6: Discovery of a pleiotropic cytokine. *Arthritis Res Ther.* 2006; 8: 1-6.
- Kocan KM, de la Fuente J, Blouin EF, Coetzee JF, Ewing SA. The natural history of *Anaplasma marginale*. *Vet Parasitol.* 2010; 167: 95-107.

- Kocan KM, De La Fuente J, Blouin EF, Coetzee JF, Ewing SA. The natural history of *Anaplasma marginale*. *Vet Parasitol.* 2010; 167: 95-107.
- Kumar H, Kawai T, Akira S. Pathogen recognition by the innate immune system. *Int Rev Immunol.* 2011; 30: 16–34.
- Kusawa S, Gelfand JA, Ikejima T. Interleukin 1 induces a shock-like state in rabbits. Synergism with tumornecrosis factor and the effect of cyclooxygenase inhibition. *J Clin Invest.* 1988; 81: 1162–72.
- Lepidi H, Bunnell J, Martin M, Madigan J, Stuen S, Dumler J. Comparative pathology and immunohistology associated with clinical illness after Ehrlichia phagocytophila-group infections. *Am J Trop Med Hyg.* 2000; 62: 29-37.
- Li H, Zheng Y, Ma L, Jia N, Jiang B, Jiang R veark. Human infection with a novel tick-borne *Anaplasma* species in China: a surveillance study. *Lancet Infect Dis.* 2015; 15(6): 663-70.
- Liles W, Voorhis W. Nomenclature and biologic significance of cytokines involved in inflammation and the host immune response. *J Infect Dis.* 1995; 172: 1573-80.
- Liuzzi JP, Lichten LA, Rivera S, Blanchard RK, Aydemir TB, Knutson MD, Ganz T, Cousins RJ. Interleukin-6 regulates the zinc transporter Zip14 in liver and contributes to the hypozincemia of the acute-phase response. *Proc Natl Acad Sci.* 2005; 102: 6843–48.
- Ma CS, Deenick EK, Batten M, Tangye SG. The origins, function, and regulation of T follicular helper cells. *J Exp Med.* 2012; 209: 1241–53.
- Murata H, Shimada N, Yoshioka M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: An overview. *Vet J.* 2004; 168: 28-40.
- Murray J, Barbara J, Dunkley S, Lopez A, Van Ostade X, Condliffe I, Haslett C, Chilvers E. Regulation of neutrophil apoptosis by tumor necrosis factor-alpha: requirements for tnfr55 and tnfr75 for induction of apoptosis in vitro. *Blood.* 1997; 90(7): 2772-83.
- Myalo II. Material on the study of anaplasmosis and babesiellosis of sheep after a mixed infestation. *Trudy Vsesoyuz. Inst. Eksper. Vet. Moskva and Leningrad.* 1957; 21: 177–94.
- Naka T, Nishimoto N, Kishimoto T. The paradigm of IL-6: from basic science to medicine. *Arthritis Res.* 2002; 4 (3): 233-42.
- Nazifi S, Razavi SM, Esmailnejad Z, Gheisari H. Study on acute phase proteins (haptoglobin, serum amyloid A, fibrinogen, and ceruloplasmin) changes and their diagnostic values in bovine tropical theileriosis. *Parasitol Res.* 2009; 105: 41-46.
- Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, Ganz T. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest.* 2004; 113: 1271–1276.

- Ohno H, Kaneko S, Lin Y, Kobayashi K, Murakami S. Human hepatitis B virus X protein augments the DNA binding of nuclear factor for IL-6 through its basic-leucine zipper domain. *J Med Virol.* 1999; 58: 11–18.
- Orro T, Pohjanvirta T, Rikula U, Huovilainen A, Alasuutari S, Sihvonen L. Acute phase protein changes in calves during an outbreak of respiratory disease caused by bovine respiratory syncytial virus. *CMID.* 2011; 34: 23–29.
- Palmer GH, Abbott JR, French DM, McElwain TF. Persistence of *Anaplasma ovis* infection and conservation of the msp2 and msp3 multigene families within the genus *Anaplasma*. *Infect Immun.* 1998; 66(12): 6035-39.
- Palomar AM, Santibáñez P, Mazuelas D, Roncero L, Santibáñez S, Portillo A. ve ark. Role of birds in dispersal of etiologic agents of tick-borne zoonoses. Spain. *Emerg Infect Dis.* 2012; 18, 1188-91.
- Parameswaran N, Patil S. Tumor necrosis factor- α signaling in macrophages. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 2010; 20: 87-103.
- Poli V, Balena R, Fattori E, Markatos A, Yamamoto M, Tanaka H, Ciliberto G, Rodan GA, Costantini F. Interleukin-6 deficient mice are protected from bone loss caused by estrogen depletion. *EMBO J.* 1994; 13: 1189–96.
- Qiu P, Cui X, Barochia A, Li Y, Natanson C, Eichacker PQ. The evolving experience with therapeutic TNF inhibition in sepsis: considering the potential influence of risk of death. *Expert Opin Investig Drugs.* 2011; 20: 1555-64.
- Renneker S, Abdo J, Salih DE, Karagenç T, Bilgiç H, Torina A. Can *Anaplasma ovis* in small ruminants be neglected any longer? *Transbound Emerg Dis.* 2013; 60: 105-12.
- Rymaszewska A, Grenda S. Bacteria of the genus *Anaplasma*-characteristics of *Anaplasma* and their vectors: a review. *Veterinari Medicina.* 2008; 53 (11): 573-84.
- Sandborg C, Mellins ED. A new era in the treatment of systemic juvenile idiopathic arthritis. *N Engl J Med.* 2012; 367: 2439–40.
- Sato K, Tsuchiya M, Saldanha J, Koishihara Y, Ohsugi Y, Kishimoto T, Bendig M. Reshaping a human antibody to inhibit the interleukin 6-dependent tumor cell growth. *Cancer Res.* 1993; 53: 851–56.
- Scarffe JH. Emerging clinical uses for GM-CSF. *Eur J Cancer.* 1991; 27: 1493-504.
- Selçuk Ö, Alver O, Çatık S, Aydın L, Şenlik B, 2015. Determination of diagnostic value of cELISA for the diagnosis of anaplasmosis in clinically suspected ruminants. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2015; 21(5): 691-5.
- Shoda KM, Palmer GH, Florin-christensen J, Forinchristensen M, Godson DL. *Babesia bovis*-stimulated macrophages express interleukin-1 β , interleukin-12, tumor necrosis factor alpha, and nitric oxide and inhibit parasite replication in vitro. *Infect Immun.* 2000; 68(9): 5139-5145.

- Skinner JG, Brown RA, Roberts L. Bovine haptoglobin response in clinically defined field conditions. *Vet Rec.*1991; 16: 147-49.
- Smith MC, Sherman DM. Blood, lymph and immune systems. In: *Goat medicine*. Ed: Ames IA, Wiley-Blackwell; 287-90, 2009.
- Sternberg JM, Rodgers B, Bradley L, Maclean M, Murray P, Kennedy G. Meningoencephalitic African trypanosomiasis: brain IL-10 and IL-6 are associated with protection from neuro-inflammatory pathology. *J. Neuroimmunol.* 2005; 167: 81-89.
- Stoltz WH. Ovine and caprine anaplasmosis. In: *Infectious disease of livestock*. Ed: Coetzer JAW, Tustin RC, 2nd ed. Oxford University; 617-24. 2004.
- Stuen S, Enemark JMD, Artursson K, Nielsem B. Prophylactic treatment with flumethrin, a pyrethroid (BayticolW, Bayer), against *Anaplasma phagocytophilum* infection in lambs. *Acta Vet Scand.* 2012; 54, 31.
- Stuen S, Longbottom D. Treatment and control of chlamydial and rickettsial infections in sheep and goats. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2011; 27: 213-33.
- Stuen S, Granquist EG, Silaghi C. *Anaplasma phagocytophilum*-a widespread multi-host pathogen with highly adaptive strategies. *Front Cell Infect Mi.* 2013; 3, 31.
- Stuen S, Okstad W, Artursson K, Al-Khedery B, Barbet A, Granquist EG. Lambs immunized with an inactivated variant of *Anaplasma phagocytophilum*. *Acta Vet Scand.* 2015; 57, 40.
- Stuen S, Whist SK, Bergström K, Moum T. Possible exclusion of genotypes in *Anaplasma phagocytophilum*-infected lambs. *Vet Rec.*2005; 156(16): 518-20.
- Talavera D, Castillo A, Dominguez MC, Gutierrez E. IL8 release, tight junction and cytoskeleton dynamic reorganization conducive to permeability increase are induced by dengue virus infection of microvascular endothelial monolayers. *J Gen Virol.* 2004; 85: 1801-13.
- Tester A, Cox MJ, Connor AR, Starr AR, Dean RA, Puente XS et al. Overall. LPS responsiveness and neutrophil chemotaxis in vivo require PMN MMP-8 activity. *Plus One.* 2007; 2: 312.
- Torina A, Blanda V, Antoci F, Scimeca S, D'Agostino R, Scariano E. A Molecular survey of *Anaplasma* spp., *Rickettsia* spp., *Ehrlichia canis* and *Babesia microti* in foxes and fleas from Sicily. *Transbound Emerg Dis.* 2013; 60: 125-30.
- Tsai TT, Chuang YJ, Lin YS, Wan SW, Chen CL, Lin CF. An emerging role for the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 in dengue virus infection. *J Biomed Sci.* 2013; 20, 40.
- Tsai TT, Chuang YJ, Lin YS, Wan SW, Chen CL, Lin CF. An emerging role for the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 in dengue virus infection. *J Biomed Sci.* 2013; 20, 40.

Visser AE, Abraham A, Sakyi LJ. Nitric Oxide inhibits establishment of macroschizont-infected cell lines and is produced by macrophages of calves undergoing bovine Tropical Theileriosis or East Coast Fever. *Parasite Immunol.* 1995; 17: 91-102.

Warrena S, Leclercb C. Adjuvants *Encyclopedia of Immunology.* 1998; 36-39.

Woldehiwet Z, Yavari C. *Anaplasma phagocytophilum* Up-regulates some Anti-apoptotic Genes in Neutrophils and Pro-inflammatory Genes in Mononuclear Cells of Sheep. *Comp. Path.* 2014; 150: 351-56.

Yasini SP, Khaki Z, Rahbari S, Kazemi B, Amoli JS, Gharabaghi A, Jalali SM. Hematologic and clinical aspects of experimental ovine anaplasmosis caused by *Anaplasma ovis* in Iran. *IJP,* 2012; 7: 91-8.

Yu Xue J, Walker DH. The Order Rickettsiales. *Prokaryotes.* 2005; 493-528.

Zhang Q, Raouf M, Chen Y, Sumi Y, Sursal T, Junger W, Brohi K, Itagaki K, Hauser CJ. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature.* 2010; 464: 104–107.

Zobba R, Anfossi AG, Parpaglia MLP, Dore GM, Chessa B, Spezzigu A. Molecular investigation and phylogeny of *Anaplasma* spp. in Mediterranean ruminants reveal the presence of neutrophil-tropic strains closely related to *A. platys*. *Appl Environ Microbiol.* 2014; 80(1): 271-80.

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Iğdır'da doğdu. İlköğretimimi 1991-1996 yılları arasında cumhuriyet ilkokulunda, 1996-1999 yıllarında arasında Ziya Gökalp Ortaokulunda, 1996-2002 yılları arasında Iğdır Lisesinde lise eğitimimi tamamladı. Üniversite eğitimime 2006 yılında Kütahya Dumlupınar Üniversitesi Sağlık Yüksek Okulu Hemşirelik bölümünde başladı. Mezun olduktan sonra dört ay süresince Kütahya Lokman Hekim Tıp Merkezi Hastanesinde çalıştım. 2011 yılında Erçiş Devlet Hastanesinde çalışmaya başladı. Aynı yıl içinde Van Yüzüncü Yıl Üniversitesinde Veterinerlik Fakültesi Fizyoloji Bölümünde yüksek lisansına başladı. Evli ve iki çocuk annesidir. Halen Erçiş Devlet Hastanesinde hemşire olarak görev yapmaktadır.


Gönül BAYRAM

EKLER

EK-1 ETİK KURUL ONAY BELGESİ

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
ONAY BELGESİ

VAN YUZUNCU YIL UNIVERSITY (TURKEY)
ANIMAL RESEARCHES LOCAL ETHIC COMMITTEE
APPROVAL CERTIFICATE

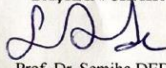
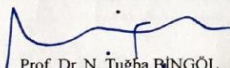
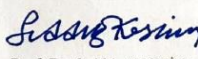
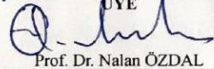
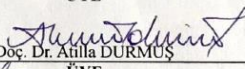

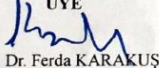


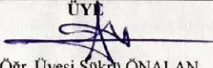
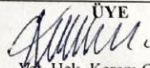


Araştırmanın Adı / *Anaplasma ovis* ile doğal enfekte koyunlarda bazı serum inflamasyon markırlarının araştırılması
Title of the Research Investigation of some serum inflammation markers in naturally infected sheep with *Anaplasma ovis*.

Araştırmacı(lar) / *Chief investigator*: Dr. Öğretim Üyesi Leyla MİS
Investigator(s) Yardımcı Araştırmacı(lar) / *Co-investigator(s)*: Hemşire Gönül Tatu

Araştırmada kullanılacak hayvanlar / *Animals to be used in the research*: Koyun/Sheep
Tür / *species*: Ratgele seçilecek Sayı / *Numbers*: 40
Yaş / *Age*: Ratgele seçilecek Cinsiyet / *Sex*: Ratgele seçilecek
Araştırmanın Öngörülen Başlama Tarihi / *Proposed Research Starting Date*: 15.04.2019
Araştırmanın Öngörülen Bitiş Tarihi / *Proposed Research Completion Date*: 15.09.2019
Dosya no / *File no*:

Karar:
Yukarıda bilgileri verilen planlanan araştırma projesi için Hayvan Deneyleri Etik Kurul Onayı gerekmemektedir.
Tarih:31/01/2019 ; Karar no: 2019/01
Decision:
The proposed research project detailed above does not need Animal Researches Ethic Committee Approval.
Date:31/01/2019 Decision number 2019/01

	BAŞKAN/CHAIR  Prof. Dr. Semiha DEDE	
ÜYE  Prof. Dr. N. Tuğba BİNGÖL	ÜYE  Prof. Dr. Sıddık KESKİN	ÜYE Prof. Dr. Suphi DENİZ
ÜYE  Prof. Dr. Nalan ÖZDAL	ÜYE  Doç. Dr. Atilla DÜRMÜŞ	ÜYE  Doç. Dr. Yıldırım BAŞBUĞAN
ÜYE  Doç. Dr. Ferda KARAKUŞ	ÜYE  Dr. Öğr. Üyesi Oruc ALLAHVERDİYEV	ÜYE Dr. Öğr. Üyesi Canser Yılmaz DEMİR
ÜYE  Dr. Öğr. Üyesi Hacer ŞAHİN AYDINYURT	ÜYE  Dr. Öğr. Üyesi Şukru ONALAN	ÜYE  Vet. Hek. Kerem OĞRAK
ÜYE Vet. Hek. İsmail Hakkı BEHÇET	ÜYE Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU	

EK-2 TEZ ORJİNALLİK RAPORU

	T.C. VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ Sağlık Bilimleri Enstitüsü	
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU		

Tarih: <u>17.06/2019</u>
Tez Başlığı / Konusu: ANAPLAZMOSİSLİ KOYUNLARDA BAZI İNFLAMASYON MARKIRLARININ ARAŞTIRILMASI
<p>Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 30 sayfalık kısmına ilişkin, 17/06/2019 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 7 (yedi) 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 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words) <p>Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik 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 style="text-align: right;">Gereğini bilgilerinize arz ederim.</p> <p style="text-align: right;">Gönül TATU Öğrencinin Adı Soyadı</p>

Öğrencinin Adı Soyadı	Gönül TATU	
Anabilim Dalı	: FIZYOLOJİ	
Öğrenci No	11930810011	
Programı	: <input checked="" type="checkbox"/> Yüksek Lisans <input type="checkbox"/> Doktora	
DANIŞMAN ONAYI UYGUNDUR (Unvan, Ad Soyad, İmza)	ENSTİTÜ ONAYI UYGUNDUR (Unvan, Ad Soyad, İmza)	
Dr. Öğr. Üyesi Leyla Mir		