

**Türkiye Cumhuriyeti
Kırıkkale Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**KEÇİ VE KOYUNLARDA DOĞAL PESTE DES PETITS
RUMINANTS VİRÜS (PPRV) ENFEKSİYONUNDA
EPİTEL DOKUDA SİTOKİN YANITIN
İMMUNOHİSTOKİMYASAL TEKNİKLE
İNCELENMESİ**

**Hasan Tarık ATMACA
Veteriner Hekim**

**PATOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Oğuz KUL**

2010 - KIRIKKALE

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
İçindekiler	III
Önsöz	V
Simgeler ve Kısaltmalar	VI
Şekiller	IX
Çizelgeler	XII
ÖZET	1
SUMMARY	3
1. GİRİŞ	5
1.1 Hastalığın Tanımı ve Önemi	5
1.2 Tarihçe	6
1.3 Etiyoloji	7
1.4 Epidemiyoloji	9
1.4.1 Bulaşma	9
1.4.2 Konakçı Duyarlılığı	10
1.4.3 Hastalığın Coğrafi Yayılımı	11
1.5 Patogenez ve Bağışıklık	12
1.6 Sitokinler ve Özellikleri	13
1.6.1 İnterlökin 4 (IL-4)	17
1.6.2 İnterlökin 10 (IL-10)	19
1.6.3 Tümör Nekroz Faktörü Alfa (TNF- α)	21
1.6.4 İnterferon Gamma (IFN- γ)	22
1.7 Klinik Bulgular	24
1.8 Patolojik Bulgular	25
1.8.1 Makroskobik Bulgular	25
1.8.2 Mikroskobik Bulgular	27
1.9 Çalışmanın Amacı	29

2. GEREÇ VE YÖNTEM	30
2.1 Doğal PPRV Enfekte Epitel Dokuların Temini	30
2.2 Histopatolojik İncelemeler	30
2.2.1 Gram Boyama	31
2.3 İmmunoperoksidaz İncelemeler	32
2.3.1 PPRV Antijeninin İmmunoperoksidaz Teknikle Saptanması	32
2.3.1.1 Poliklonal anti-PPRV antikoru üretimi	32
2.3.1.2 Virus Nötralizasyon Testi	32
2.3.2 PPRV Antijeni saptamasına Yönelik İmmunoperoksidaz Test Prosedürü	33
2.3.3 IL-4, IL-10, TNF- α ve IFN- γ Antijenlerinin İmmunoperoksidaz Teknikle saptanması	33
2.3.3.1 Monoklonal IL-4, IL-10, TNF- α ve IFN- γ Antikorları	33
2.3.3.2 IL-4, IL-10, TNF- α ve IFN- γ Antijenlerinin Saptanmasına Yönelik İmmunoperoksidaz Test Prosedürü	34
2.4 Histomorfometrik ve İstatistik Analizler	35
3. BULGULAR	35
3.1 Histopatolojik Bulgular	35
3.1.1 Yanak mukozası ve dil epiteli	37
3.1.2 Akciğerler	39
3.2 Gram Boyama Bulguları	42
3.3 İmmunoperoksidaz Bulgular	44
3.3.1 PPRV antijeni immunoperoksidaz bulguları	45
3.3.2 Sitokin immunoperoksidaz bulguları	48
3.3.2.1 IFN- γ immunoperoksidaz bulguları	48
3.3.2.2 TNF- α immunoperoksidaz bulguları	56
3.3.2.3 IL-4 ve IL-10 immunoperoksidaz bulguları	61
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	64
KAYNAKLAR	73
ÖZGEÇMİŞ	85

ÖNSÖZ

Peste des Petits Ruminants (PPR), özellikle koyun ve keçilerde yüksek mortalite ve morbidite oranıyla ekonomik olarak ciddi kayıplara neden olabilen viral bir hastalıktır. Önceleri, Batı Afrika'da sınırlı kalan bir hastalık olarak düşünülen PPR zamanla geniş coğrafi dağılım göstererek Asya, Ortadoğu ve Sahara çöllerine kadar yayılım göstermiş, komşu bölgelerde, Güney Afrika ve Orta Asya'yı da içine alan bir tehdit olmuştur. Ülkemiz ise 1996 yılında resmi olmayan ilk vaka bildiriyle PPR ile tanışmıştır. Dünya'da ve Türkiye'de PPR hastalığına karşı mücadele devam etmekte ve aşılama stratejileri geliştirilmektedir. Peste des petits ruminants virüs, diğer morbillivirüsler gibi lenfotropik ve epitelyotropik özellik gösterir ve en şiddetli lezyonlarını bu dokularda şekillendirir. Hastalığın ağız mukozası ve akciğer epitel dokularında şekillendirdiği lezyonlarda, sitokinlerin rolüne yönelik daha önceden gerçekleştirilmiş bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada, PPR hastalığında yanak, dil ve akciğerlerde şekillenen epitel lezyonlarında IL-4, IL-10, TNF- α ve IFN- γ sitokin yanıtının immunohistokimyasal olarak incelenmesi ve lezyonsuz kontrol dokuları ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Bu çalışmanın her aşamasında bana destek olan, yapıcı eleştirileri ve olumlu yönlendirmelerinden dolayı, danışman hocam Doç. Dr. Oğuz KUL'a, poliklonal antikor üretimi için gerekli olan PPR virüsünü temin eden Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Aykut ÖZKUL'a, istatistiksel değerlerin analiz edilmesinde yardımını esirgemeyen Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootečni Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Yard. Doç. Dr. Serkan ERAT'a, ve her zaman gösterdiği fedakârlık, sabır ve teşviklerinden dolayı eşim Dr. Nurgül ATMACA'ya teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Simgeler ve Kısaltmalar

ABC	Avidin-biotin peroxidase complex
AEC	Aminoethyl carbasole
AL	Alveol lümenlerinde sinsityal hücre oluşumu
BH	Bronş ve bronşiyol epitel hiperplazisi
CDV	Canine distemper virus
CSIF	Sitokin sentez inhibitör faktör
DMV	Dolphin Morbillivirus
EN	Epitelyal nekroz
F	Tip II alveol epitel hiperplazisi (Fötalizasyon)
F protein	Füzyon Protein
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
GALT	Gut-associated lymphoid tissue
H protein	Hemaglutinin protein
HE	Hematoxylin-Eosin
HI	Epitelyal doku içinde yangısal hücre infiltrasyonu
HP	Hiperkeratoz
HVD	Hidropik, vakuoler dejenerasyon
H ₂ O ₂	Hydrogen peroxide
IC	İnklüzyon cisimcikleri
IFN τ	İnterferon tau
IFN- γ	İnterferon gamma

IL-1	İnterlökin 1
IL-1 α	İnterlökin 1 alfa
IL-1 β	İnterlökin 1 beta
IL-2	İnterlökin 2
IL-4	İnterlökin 4
IL-5	İnterlökin 5
IL-6	İnterlökin 6
IL-10	İnterlökin 10
IL-12	İnterlökin 12
IL-13	İnterlökin 13
IL-15	İnterlökin 15
IL-18	İnterlökin 18
IMH	İnterstisyel mononükleer hücre infiltrasyonu
İP	İnterstisyel pnömoni
ISC	İntrasitoplazmik ve intranükleer inklüzyon cisimcikleri
kd	Kilodalton
L protein	Large protein
M protein	Matrix ya da Membran protein
ml	Mililitre
MV	Measles Virus
N protein	Nükleoprotein
NK	Natural Killer
OIE	Uluslararası Salgın Hastalıkları Ofisi (World Organisation of Animal Health)

P protein	Polymerase associated protein
PBS	Phosphate buffer saline
PDV	Phocine (seal) distemper virusu
PL	Peribronşial, peribronşioler lenfoid manto oluşumu
PO	Psödomembran oluşumu
PPR	Peste des Petits Ruminants (Küçük Ruminant Vebası)
PPRV	Peste des Petits Ruminants Virus
pH	Power of Hidrogen (Bir çözeltinin derecesini tarifeden Ölçü birimi) asitlik veya bazlık
RNA	Ribonükleik asit
SBP	Sekonder bakteriyal pnömoni ve nekroz
SHF	Sinsityal hücre formasyonu
TCID ₅₀	%50 doku kültürü enfektif doz
TNF- α	Tümör nekroz faktörü alfa
TGF- β	Transforming growth factor beta
Th1	Yardımcı T hücre tip 1
Th2	Yardımcı T hücre tip 2
VCAM	Vasküler hücre adezyon molekülü
YM/DE	Yanak Mukozası / Dil epiteli
μm	Mikrometre
%	Yüzde işareti
$^{\circ}\text{C}$	Santigrad derece

Şekiller

Sayfa

Şekil 1.1	Peste des petits ruminants virüs izolatlarının filogenetik ilişkileri	8
Şekil 1.2	Peste des Petits Ruminants Virüs ve diğer morbillivirusların filogenetik ilişkisi	9
Şekil 1.3	PPRV enfeksiyonunun coğrafi yayılımı	11
Şekil 1.4	PPRV'nin 4 farklı genetik hattının coğrafi dağılımı	12
Şekil 1.5	Sitokinlerin genel özellikleri	15
Şekil 1.6	İnterlökin-4'ün görevleri	19
Şekil 1.7	IFN- γ 'nın kazanılmış bağışıklık hücreleri üzerine etki şekilleri	23
Şekil 3.1	Mukoza epitelinde hidropik ve vakuoler dejenerasyon (siyah oklar) ve intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri (beyaz oklar), dil, olgu no; 8, HE. Bar= 50 μ m.	37
Şekil 3.2	Mukozada sinsityal hücre (ok) , dil, yanak mukozası, olgu no; 8, HE. Bar= 50 μ m.	38
Şekil 3.3	Mukozada psödomebran oluşumu (siyah oklar) ve erozyona uğramış epitel katmanı (beyaz oklar arası) , dil, olgu no; 7, HE. Bar= 500 μ m.	38
Şekil 3.4	Mukoza epitel hücrelerinde intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri (oklar) , yanak mukozası, olgu no; 7, HE. Bar= 50 μ m.	39
Şekil 3.5	İnteralveolar septada kalınlaşma (siyah oklar) ve mononükleer hücre infiltrasyonları (beyaz oklar), akciğer, olgu no; 10, HE. Bar= 200 μ m.	40
Şekil 3.6	Bronş epitellerinde hiperplazi (siyah ok başları arası) ve intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri (beyaz oklar), akciğer, olgu no; 13, HE. Bar= 50 μ m.	40
Şekil 3.7	Sinsityal hücre oluşumu (siyah oklar) ve tip II alveol epitel hiperplazisi (beyaz oklar), akciğer, olgu no; 10, HE. Bar= 50 μ m.	41
Şekil 3.8	Peribronşiyal ve peribronşiyolar manşet oluşumu (oklar) akciğer, olgu no; 15, HE. Bar= 500 μ m.	41
Şekil 3.9	İnterstisyel dokuda ve alveol lümeninde bakteri kümeleri (oklar) , akciğer, olgu no; 7, Gram Boyama, Bar=20 μ m.	43
Şekil 3.10	Mukozada psödomebran oluşumunda bakteri kümeleri, olgu no; 8, Gram Boyama, Bar=20 μ m.	43
Şekil 3.11	Mukoza epitel hücrelerinde PPRV antijenine karşı immunopozitif boyanmalar (oklar), yanak mukozası, olgu no; 11, ABC metod (anti-PPRV), Bar= 200 μ m.	46
Şekil 3.12	Sinsityal hücrelerde immunopozitif boyanmalar (oklar), akciğer, olgu no; 13, ABC metod (anti-PPRV), Bar=50 μ m.	46
Şekil 3.13	İnteralveolar bölgede mononükleer hücrelerde immunopozitif boyanmalar (oklar), akciğer, olgu no; 11, ABC metod (anti-PPRV), Bar=50 μ m.	47

Şekil 3.14	İnteralveolar bölgede mononükleer hücrelerde (siyah oklar) ve bronşiyolar epitel hücrelerinde immunopozitif boyanmalar (beyaz oklar), akciğer, olgu no; 10, ABC metod (anti-PPRV), Bar=50µm.	47
Şekil 3.15	PPRV pozitif ve kontrol grubu hayvanlarında IFN-γ % pozitif alan değerleri (1-5 arası kontrol grubu, 6-22 arası hayvanlar PPRV pozitif hayvanlar).	49
Şekil 3.16	Sinsityal hücrelerde (siyah oklar) ve mononükleer hücrelerde immunopozitif boyanmalar (beyaz oklar) , akciğer, olgu no: 6, ABC metod (anti-IFN-γ), Bar=50µm.	50
Şekil 3.17	Sinsityal hücrelerde sitoplazmik immunopozitif boyanmalar (oklar), akciğer, olgu no; 10, ABC metod (anti-IFN-γ), Bar=50µm.	50
Şekil 3.18	Alveol epitel hücrelerinde (siyah oklar) ve alveolar makrofajlarda immunopozitif boyanmalar (beyaz oklar), akciğer, olgu no; 7, ABC metod (anti-IFN-γ), Bar=50µm.	51
Şekil 3.19	Peribronşiyal mononükleer hücrelerde immunopozitif boyanmalar (oklar) , akciğer, olgu no; 11, ABC metod (anti-IFN-γ), Bar=50µm.	51
Şekil 3.20	Alveol epitel hücrelerinde (siyah oklar) ve alveolar makrofaj benzeri hücrelerde (beyaz oklar) immunopozitif boyanmalar, akciğer, olgu no; 9, ABC metod (anti-IFN-γ), Bar=50µm.	52
Şekil 3.21	Bronşiyol epitel hücrelerinde (oklar) immunopozitif boyanmalar, akciğer, olgu no; 10, ABC metod (anti-IFN-γ), Bar=50µm.	52
Şekil 3.22	Mukoza epitel hücrelerinde (siyah oklar) ve submukozada endotel hücreleri (beyaz oklar) ve iğsi hücrelerde (mavi oklar) immunopozitif boyanmalar, dil, olgu no; 8, ABC metod (anti-IFN-γ), Bar=50µm.	53
Şekil 3.23	Submukozada damar endotel hücreleri (siyah oklar) ve iğsi hücrelerde (beyaz oklar) immunopozitif boyanmalar, dil, olgu no; 10, ABC metod (anti-IFN-γ), Bar=200µm.	53
Şekil 3.24	Submukozada musküler tabakada damar endotel hücreleri (siyah oklar) ve kas hücre çekirdeklerinde (beyaz oklar) immunopozitif boyanmalar, yanak mukozası, olgu no; 8, ABC metod (anti-IFN-γ), Bar=50µm.	54
Şekil 3.25	Submukozada bez epitel hücrelerinde immunopozitif boyanmalar (oklar), akciğer, olgu no; 6, ABC metod (anti-IFN-γ), Bar=50µm.	54
Şekil 3.26	İnteralveolar bölgede mononükleer hücrelerde tek tük immunopozitif boyanmalar (oklar), akciğer, olgu no; 1 (kontrol grubu), ABC metod (anti-IFN-γ), Bar=50µm.	55
Şekil 3.27	Submukozada mononükleer hücrelerde immunopozitif boyanmalar (oklar), akciğer, olgu no; 3 (kontrol grubu), ABC metod (anti-IFN-γ), Bar=50µm.	55

Şekil 3.28	PPRV pozitif ve kontrol grubu hayvanlarında TNF- α % pozitif alan değerleri (1-5 arası kontrol grubu, 6-22 arası hayvanlar PPRV pozitif hayvanlardır).	56
Şekil 3.29	Alveol lümenlerinde immunopozitif boyanmalar (oklar), akciğer, olgu no; 10, ABC metod (anti-TNF- α), Bar= 100 μ m.	57
Şekil 3.30	Alveol lümenlerinde immunopozitif boyanmalar (oklar), akciğer, olgu no; 15, ABC metod (anti-TNF- α), Bar= 100 μ m.	57
Şekil 3.31	İnteralveolar mononükleer hücrelerde immunopozitif boyanmalar (oklar), akciğer, olgu no; 9, ABC metod (anti-TNF- α), Bar= 50 μ m.	58
Şekil 3.32	Mukozada mononükleer hücrelerde immunopozitif boyanmalar (oklar), yanak mukozası, olgu no; 13, ABC metod (anti-TNF- α), Bar= 50 μ m.	58
Şekil 3.33	Submukozada bez epitellerinde immunopozitif boyanmalar (oklar), yanak mukozası, olgu no; 12, ABC metod (anti-TNF- α), Bar= 50 μ m.	59
Şekil 3.34	Mukozada bazal membranın hemen üzerindeki hücrelerde immunopozitif boyanmalar (oklar), yanak mukozası, olgu no; 13, ABC metod (anti-TNF- α), Bar= 50 μ m.	59
Şekil 3.35	İnteralveolar bölgede immunopozitif boyanma (ok), akciğer, olgu no; 2 (kontrol grubu), ABC metod (anti-TNF- α), Bar= 50 μ m.	60
Şekil 3.36	Submukozada bazı hücrelerde immunopozitif boyanmalar (oklar), yanak mukozası, olgu no; 4 (kontrol grubu), ABC metod (anti-TNF- α), Bar= 100 μ m.	60
Şekil 3.37	PPRV pozitif ve kontrol grubu hayvanlarında IL-4 % pozitif alan değerleri (1-5 arası kontrol grubu, 6-22 arası hayvanlar PPRV pozitif hayvanlardır).	61
Şekil 3.38	PPRV pozitif ve kontrol grubu hayvanlarında IL-10 % pozitif alan değerleri (1-5 arası kontrol grubu, 6-22 arası hayvanlar PPRV pozitif hayvanlardır).	61
Şekil 3.39	İnteralveolar mononükleer hücrelerde immunopozitif boyanmalar (oklar), akciğer, olgu no; 11, ABC metod (anti-IL-4), Bar= 50 μ m.	62
Şekil 3.40	Mukozada mononükleer hücrelerde immunopozitif boyanmalar (oklar), dil, olgu no; 13, ABC metod (anti-IL-4), Bar= 50 μ m.	62
Şekil 3.41	İnteralveolar mononükleer hücrede immunopozitif boyanma (ok), akciğer, olgu no; 11, ABC metod (anti-IL-10), Bar= 50 μ m.	63
Şekil 3.42	İnteralveolar hücrelerde immunopozitif boyanmalar (ok), akciğer, olgu no; 3 (kontrol grubu), ABC metod (anti-IL-10), Bar= 50 μ m.	63

Çizelgeler

		Sayfa
Çizelge 1.1	Enfekte bölgelere göre risk altındaki küçük ruminant sayıları	6
Çizelge 1.2	Doğal bağışıklıkta rol alan sitokinler	16
Çizelge 1.3	Kazanılmış bağışıklıkta rol alan sitokinler	17
Çizelge 2.1	İmmunohistokimyasal testlerde kullanılan antikorlar	34
Çizelge 3.1	Histopatolojik skorlamada göz önüne alınan lezyonların PPRV pozitif hayvanlar ve kontrol grubu hayvanlarda yanak mukoza, epitel, dil ve akciğer dağılımı	36
Çizelge 3.2	Dokularda Gram boyama ile gösterilen bakterilerin varlığı	42
Çizelge 3.3	İmmunoperoksidaz testte Peste des Petits Ruminants Virus antijeni boyanma sonuçları	44
Çizelge 3.4	Akciğer, yanak mukozası ve dil epiteline yapılan immunoperoksidaz testler sonucunda elde edilen istatistiksel veriler ve önemlilik dereceleri	48

ÖZET

Peste des Petits Ruminants (PPR), koyun ve keçilerde eroziv-ülseratif oral lezyonlar, interstisyel pnömoni ve diyare ile seyreden, yüksek mortalite ve morbidite oranıyla ekonomik olarak ciddi kayıplara neden olabilen akut veya subakut seyirli viral bir hastalıktır. Peste des petits ruminants virüs, lenfotropik ve epitelyotropik özellik gösterir, en şiddetli lezyonlar lenfoid ve epitelyal dokuların baskın olduğu organlarda şekillenir. Hastalıkta immün cevabın oluşmasında başlıca lenfoid, fagositik ve hemopoyetik hücreler rol alırlar. Bu hücreler arasındaki etkileşim ve koordinasyon ile konak yanıtının idaresi, bir grup protein olan sitokinler tarafından gerçekleştirilir. Hastalığın ağız mukozası ve akciğer epitel dokularında şekillendirdiği lezyonlarda, sitokinlerin rolüne yönelik daha önceden gerçekleştirilmiş bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada, PPR ilişkili yanak, dil ve akciğerlerde şekillenen epitel lezyonlarında IL-4, IL-10, TNF- α ve IFN- γ sitokin yanıtının immunohistokimyasal olarak incelenmesi ve lezyonsuz kontrol dokuları ile karşılaştırılması amaçlanmıştır. Çalışmanın materyalini, PPR tanısı konulan 11 koyun, 6 keçi ve sağlıklı 5 keçiden alınan yanak mukozası, dil ve akciğer dokuları oluşturdu. Parafine gömülen dokulardan alınan 5 μ m kalınlığındaki kesitler, hematoksilen eozin, gram boyama ve immunoperoksidaz tekniğiyle muayene edildi. Histopatolojik incelemede, ağız ve dil mukozası için; epitel hücrelerinde hidropik ve/veya vakuoler dejenerasyon, hiperkeratoz, sinsityal hücre formasyonu, epitelyal nekroz, psödomembran, intrasitoplazmik ve intranükleer inklüzyon cisimcikleri, epitelyal doku içinde yangısal hücre infiltrasyonu değerlendirildi. Akciğer epiteli için ise; bronş ve bronşiyol epitel hiperplazisi, peribronşiyal, peribronşiyolar lenfoid manto oluşumu, tip II alveol epitel hiperplazisi, alveol lümenlerinde sinsityal hücre oluşumu, interstisyel mononükleer hücre infiltrasyonu, inklüzyon cisimcikleri, sekonder bakteriyel pnömoni ve nekroz bulguları dikkate alınarak lezyonlar şiddetine göre skorlandı. İmmunoperoksidaz testlerinde, PPR Tu00 suşu kullanılarak tavşanda immunizasyon ile elde edilen rabbit-anti PPRV poliklonal antikorları, sitokin yanıtın araştırılması için ise ticari firmalardan temin edilen rabbit anti-bovine IL-4, IL-10, TNF- α ve IFN- γ antikorları kullanıldı. Histopatolojik lezyonların hafif şekillendiği ve PPRV antijeninin immunohistokimyasal olarak gösterilemediği epitel dokularında sitokin yanıtının kontrol gruplarından farklı olmadığı dikkati çekti. Bu çalışmada,

PPRV pozitif hayvanlardaki akciğer, dil ve yanak mukozasında IFN-gamma ve TNF-alfa immunopozitif boyanma yüzde alanlar, kontrol grubu hayvanlardakine oranla istatistiksel önemlilik ($p<0.05$) gösterdi. Her iki sitokin için de ortalamada en yüksek pozitif alan oranı, yanak mukozasında görüldü. Çalışmada kontrol grubu ve PPRV pozitif hayvanlara ait IL-4 ve IL-10 oranları arasında herhangi bir istatistiksel öneme rastlanmadı ($p>0.05$). Sinsityal hücreler ve alveolar makrofajlarda IFN-gamma ve TNF-alfa ekspresyonu bu çalışmayla ilk defa gösterildi. Sonuç olarak, PPRV ile enfekte dil, yanak mukozası epitel ve akciğer dokusunda IFN-gamma ve TNF-alfa gibi proinflatuar sitokin yanıtın belirgin düzeyde olduğu, PPR ile etkilenmiş epitel dokunun yangı hücrelerine ilave olarak sitokin yanıtta rol alabileceği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Epitel, IFN- γ , IL-4, IL-10, immunoperoksidaz, keçi, koyun, küçük ruminant vebası, Peste des Petits Ruminants, PPR, sitokin, TNF- α

SUMMARY

Peste des Petits Ruminants (PPR) is an acute or subacute viral disease that cause huge economic losses associated with high mortality and morbidity rate in sheep and goats. The resulting pathology included erosive-ulcerative oral lesions, interstitial pneumonia and diarrhoea. Peste des petits ruminants virus exhibits lymphotropic and epitheliotropic features. Thus, the most prominent lesions occur in lymphoid and epithelial tissues. Lymphoid, phagocytic and haemopoietic cells play an important role in the immune response. Cytokines, a group of proteins, work in coordinates the interaction among immune cells and host immune response. Cytokine profiles of oral mucosa and lung epithelia in PPR have not been documented before. In this study, we aimed to study expression of IL-4, IL-10, TNF- α and IFN- γ in tongue, buccal mucosa and lung epithelial tissue using immunoperoxidase technique and to compare with the tissues of healthy control animals. The tissues used in this study were collected from PPR positive 11 sheep and 6 goats and healthy 5 goats. The tissues embedded in paraffin blocks were cut at a thickness of 5 μ m and stained with haematoxylin eosin, gram staining and immunoperoxidase technique. In histopathological examination, the tongue and buccal mucosa lesions were scored as follows; hydropic degeneration and/or vacuolar degeneration in epithelial cells, hyperkeratosis, syncytial cell formation, epithelial necrosis, pseudomembran, intracytoplasmic and intranuclear inclusion bodies, inflammatory cells in epithelial tissue, and in lung epithelium; bronchial and bronchioler epithelia hyperplasia, peribronchial lymphoid cuffing, type II alveol epithelium hyperplasia, syncytial cell formation in alveoli, interstitial mononuclear cell infiltration, inclusion bodies, secondary bacterial pneumonia and necrosis. PPR Tu00 isolate was used for immunization of the rabbit to obtain rabbit anti-PPRV polyclonal antibodies for immunoperoxidase tests. Commercial rabbit anti-bovine IL-4, IL-10, TNF- α and IFN- γ antibodies were used for investigation for cytokine response. There was no differences between control tissues and mildly affected tissues by means of cytokine expression. In PPRV positive animals, the lung, tongue and buccal mucosa had statistically significant ($p < 0.05$) higher IFN-gamma and TNF-alpha expression compared to control group. The most intensive expression for both cytokines was seen in the buccal mucosa. There was no significant difference between PPRV

positive and control groups for IL-4 and IL-10 expressions. Importantly, presence of IFN-gamma and TNF-alpha expressions in syncitial cells and alveolar macrophages were illustrated for the first time through this study. As a result, the PPRV infected tongue, buccal mucosa and lung tissues have significant IFN-gamma and TNF-alpha expressions, molecules of proinflammatory cytokine response. PPR affected epithelial cells may also play a role in cytokine response in addition to inflammatory cells.

Keywords: Cytokine, epithelium, goat, IFN- γ , IL-4, IL-10, immunoperoxidase, pest of small ruminants, Peste des Petits Ruminants, PPR, sheep, TNF- α

1. GİRİŞ

1.1. Hastalığın Tanımı ve Önemi

Peste des Petits Ruminants (PPR), özellikle koyun ve keçilerde, ateş, iştahsızlık, rinitis, konjunktivitis, seröz-mukopurulent nazo-oküler akıntı, pnömoni, öksürük, dispne, eroziv-ülseratif oral lezyonlar ve diyare ile seyreden, yüksek mortalite ve morbidite oranıyla ekonomik olarak ciddi kayıplara neden olabilen akut veya subakut seyirli viral bir hastalıktır (Furley ve ark. 1987, Diallo 1988, Scott 1990, Barker ve ark. 1993, Dungworth 1993, Alçığır ve ark. 1996, Dhar ve ark. 2002, Toplu 2004, Kul ve ark. 2007). Peste des Petits Ruminants virus (PPRV) enfeksiyonu; kata, pnömoenteritis kompleks, pseudorinderpest, abu nini, keçilerin enteritis ve erozyonlu stomatitisi, keçi vebasası veya stomatitis-pnömoenteritis kompleks gibi isimlerle de anılmaktadır (Otte 1960, Rowland ve ark. 1969, Rowland ve Bourdin 1970, Hamdy ve ark. 1976, Braide 1981, Scott 1990).

Peste des petits ruminants, özellikle keçilerde ağır kayıplarla seyreden bir hastalıktır. Önceleri, Batı Afrika'da sınırlı kalan bir hastalık olarak düşünülen PPR zamanla Asya, Ortadoğu ve Sahara çöllerine kadar yayılım göstermiş, komşu bölgelerde, Güney Afrika ve Orta Asya'yı da içine alan bir tehdit olmuştur. Peste des petits ruminants geniş coğrafik dağılım göstererek yayılmaktadır (FAO 2009).

Hastalığın ağır ekonomik kayıpları; morbidite, mortalite, canlı ağırlık kaybı, yemden yararlanamama, süt, süt ürünleri ve yavru kaybı ile şekillenmektedir (Durojaiye ve ark. 1983, Nawathe 1984). Hastalıktan meydana gelen önemli ekonomik kayıplar, hayvan hareketlerinin kontrolü ve ticari yan ürünlerinin sınırlararası geçişlerinde uygulanan sağlık tedbirleri nedeniyle daha da ağırlaşmıştır. Bu hastalık, Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) Acil Önleyici Sistem (EMPRES) programının öncelikli başlıkları arasında yer almaktadır (FAO 2009). Benzer şekilde, 2000'li yılların başlarında, yoksulluk hafifletme politikaları içinde kabul edilmiştir (FAO 2009).

Uluslararası Salgın Hastalıkları Ofisi (OIE) verilerine göre; ülkemizde 2006-2007 yıllarında 3.653.718 koyun ve keçinin PPR'a karşı aşılandığı rapor edilmiştir

(Anonim 2009). Çizelge 1.1’de PPRV enfeksiyonunun rapor edildiği farklı coğrafi bölgelerde risk altındaki evcil küçük ruminant sayıları verilmiştir.

Çizelge 1.1. Enfekte bölgelere göre risk altındaki küçük ruminant sayıları (FAO 2009).

Orta Asya	43.118.821
Yakın Doğu	171.997.500
Uzak Doğu	647.518.989
Afrika	264.275.400
Risk altındaki toplam popülasyon	1.126.910.710
Global küçük ruminant popülasyonu	1.801.434.416
Risk altındaki evcil küçük ruminant popülasyonunun dünyadaki küçük ruminant sayısına oranı	62.5%

1.2. Tarihçe

Peste des petits ruminants enfeksiyonu ilk defa 1942 yılında Batı Afrika’da Cote d’Ivoire’de (Fildişi Sahilleri) tanımlanmıştır (Gargadennec ve Lalanne 1942). Uzun yıllar Batı Afrika ile sınırlı kalan bir hastalık olarak düşünülmüş, ancak Sudan’da 1972 yılında sığır vebası tanısı konulan keçilerin aslında PPR olduklarının ortaya konulmasından sonra hastalığın Doğu’ya doğru ilerlediği gösterilmiştir (Diallo 1988). Enfeksiyon daha sonra Doğu Afrika’dan, Orta Doğu ülkeleri, Türkiye, Güney Asya, Bangladeş, Fas ve Çin’e kadar uzanan geniş bir coğrafyaya yayılmıştır (Taylor 1984, Diallo 1988, Alçığır ve ark. 1996, Shaila ve ark. 1996, OIE 2008, Wang ve ark. 2009).

Türkiye’de PPR, resmi olarak ilk kez Eylül 1999’da rapor edilmiştir (OIE 1999, EMPRES 2000). Bu tarihten önce Alçığır ve ark. (1996), patomorfolojik ve immunohistolojik olarak, Tatar (1998), serolojik ve virolojik olarak enfeksiyonun varlığını göstermişlerdir. Sonradan hastalığın epidemiyolojisi saha çalışmalarıyla desteklenmiş ve Türkiye’nin bazı bölgelerinden bildirilen PPR salgınlarıyla, hastalığın endemik olduğu saptanmıştır (Özkul ve ark. 2002, Toplu 2004, Çam ve ark. 2005, Yeşilbağ ve ark. 2005, Kul ve ark. 2007).

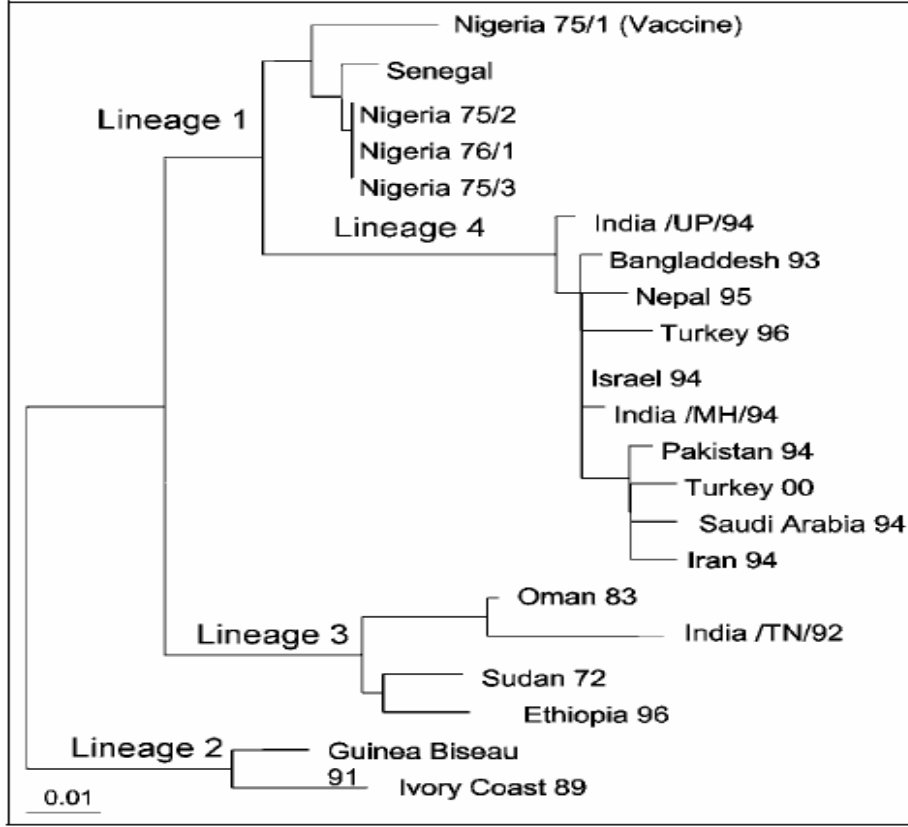
1.3. Etiyoloji

Peste des petits ruminants virus, *Paramyxoviridae* familyasının *Morbillivirus* genusu içinde yer alır. PPRV linear, negatif polariteli, tek iplikçikli, segmentsiz RNA içerir ve replikasyonları sitoplazmada gerçekleşir. Viral genom 15948 nt büyüklüğündedir (Gibbs ve ark. 1979, Bailey ve ark. 2005).

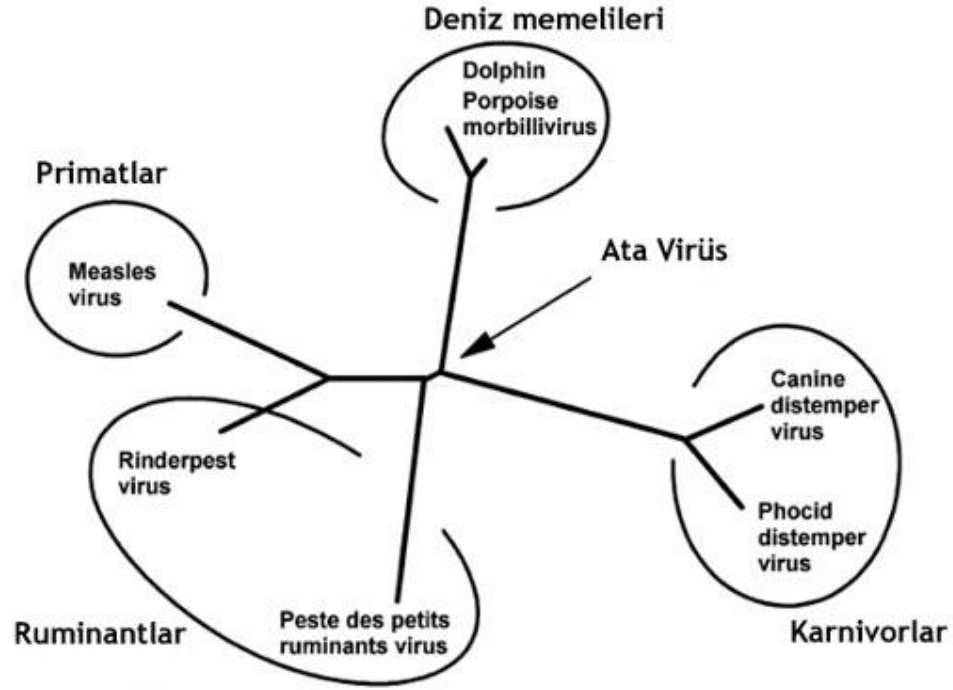
Peste des petits ruminants virus fizikokimyasal özellikler yönünden sığır ve bası virusu (RPV)'ndan farklı bir virus olduğu, biyolojik ve antijenik özellikleri yönünden ise RPV ve morbillivirus genusuna dahil, canine distemper virus (CDV), measles virus (MV), dolphin distemper virusu (DMV), phocine distemper virusu (PDV) ve porpoise distemper virusu ile yakınlığı olduğu belirlenmiştir (Şekil 1.2) (Gibbs ve ark. 1979, Barrett ve ark. 1995, Murphy ve ark. 1995, Barrett 1999). Bu gruptaki virus üyeleri altı yapısal protein içerirler. Bunlar, virus genomik RNA'sını saran nükleokapsid protein (N), polimeraz protein (L) ile ilişkili Fosfoprotein (P), Matrix (M) protein, Füzyon (F) protein ve Hemaglütinin (H) proteindir. Matrix Protein, viral genomu saran N proteini ile H ve F proteinlerinden oluşan yüzey proteinleri arasında köprü oluşturmaktadır (Diallo 1990). Bunların haricinde, enfekte hücrelerde tespit edilen C ve V proteinler yapısal olmayan proteinlerdir ve replikasyonda rol alırlar (Baron ve Barrett 2000). Bu proteinler enfeksiyonda interferon antagonisti olarak rol oynarlar ve hücrel immün yanıtı düzenlerler (Gotoh ve ark. 2001, Horvath 2004).

Farklı coğrafik bölgelerden elde edilen PPRV izolatlarının genetik yakınlıkları F-protein geninin sekansı temel alınarak yapılmıştır (Dhar ve ark. 2002). Peste des petits ruminants virüs izolatlarının filogenetik ilişkileri Şekil 1.1'de gösterilmiştir. Buna göre 1,2,3 ve 4 olmak üzere dört farklı genetik hat belirlenmiştir. Genetik hat 1, 1970'li yıllarda Afrika'dan izole edilen virüsleri (Nijerya 75/1, 75/2, 75/3, 76/1, Senegal), Genetik hat 2 ise 1980'li yıllarda Afrika'dan izole edilen virüsleri (Ivory Coast/89, Guinea 91) içerir. Genetik hat 3, Afrika ve Asya kıtalarında ortak bulunan virüsleri (Oman 72 Dorcas, Oman 72 Ibri, Oman 83, India 92, Sudan 72, Etiyopya 96), Genetik hat 4 ise Asya virüslerini (Banglades 93, İsrail 94, İran 94, Nepal 95, India 94 UP, India 94 MAH, India 94 RAJ, Pakistan 94, Suudi Arabistan 94, Turkey 96, India 96 Bengal, India 96 Orissa, Turkey 00) içerir (Shaila ve ark.

1996, Dhar ve ark. 2002, Özkul ve ark. 2002, Abraham, 2005, Couacy-Hymann ve ark. 2005).



Şekil 1.1. Peste des petits ruminants virüs izolatlarının filogenetik ilişkileri (Özkul ve ark. 2002)



Şekil 1.2. Peste des Petits Ruminants Virüs ve diğer morbillivirusların filogenetik ilişkisi (Barrett, 1999).

1.4. Epidemiyoloji

1.4.1. Bulaşma

Peste des petits ruminants virüsünün dış ortama dayanıksızlığından dolayı bulaşma bir hayvandan diğerine yakın temasla ve ateşli dönemde meydana gelir (Braide 1981). Göz, burun, ağız akıntısı ve sulu dışkı bol miktarda virus içerir. Enfekte hayvanlar öksürme ve aksırma sırasında havaya enfekte damlacıklar saçarak (Taylor 1984, Bundza ve ark. 1988). Yakın temas halindeki hayvanlar, bu damlacıkları solunum ile alarak enfekte olurlar. Ayrıca kontamine su, yem ve altlıklar virüsün yayılmasında önemli rol oynarlar (Lefèvre ve Diallo 1990). Hayvan ticareti yapılan pazarlarda, değişik bölgelerden bir araya getirilen ve yakın temasta bulundurulmuş hayvanlar, PPR'ın yayılması için en uygun ortamı oluştururlar (FAO 1999).

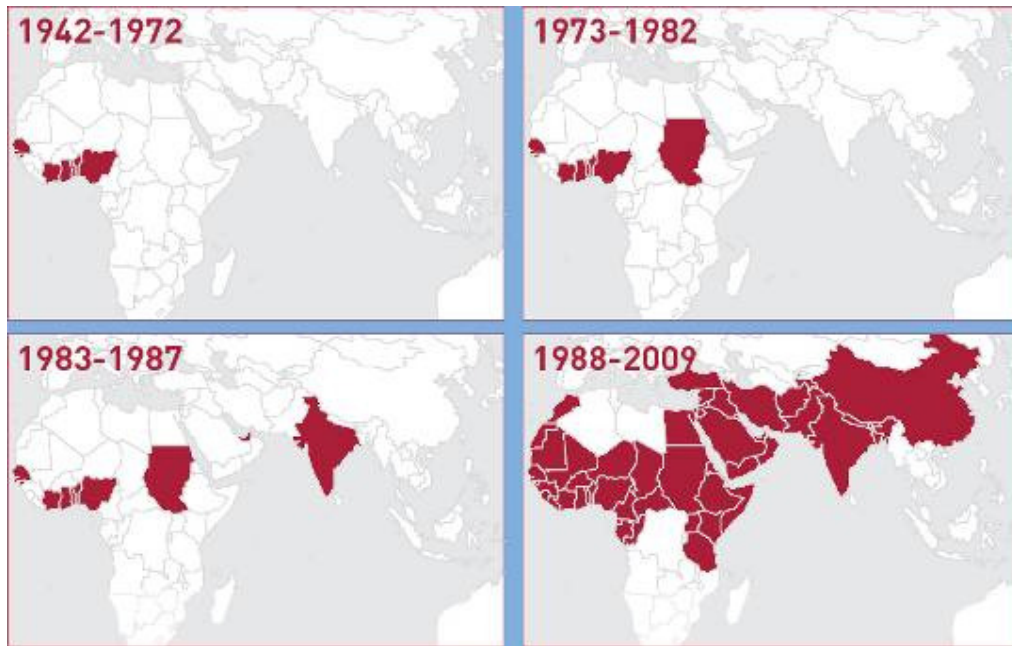
1.4.2. Konakçı Duyarlılığı

Peste des petits ruminants küçük ruminantların bir hastalığıdır, başlıca koyun ve keçileri etkiler. PPR virüsü koyun ve keçilerde farklı şiddette virülans gösterir. Keçilerde bulgular daha şiddetli seyrederken koyunlar daha az derecede etkilenirler (El Hag Ali ve Taylor 1988, Abu Elzein ve ark. 1990, Lefèvre ve Diallo 1990, Roeder ve ark. 1994).

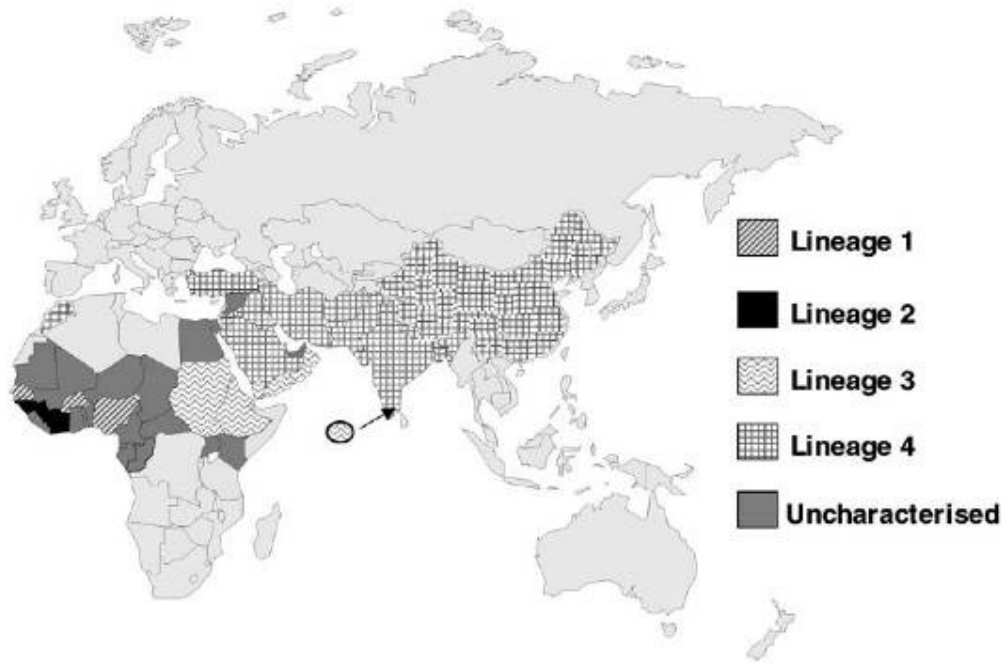
Koyunların hastalığın klinik etkilerine karşı kalıtsal olarak dirençli oldukları, fakat nadiren saha suşlarının bu direnci aşarak yüksek mortaliteye neden oldukları düşünülmektedir (Taylor 1984). Hastalığın ilk olarak tanımlandığı bölge olan Batı Afrika'da, yerel keçi ırklarının PPRV enfeksiyonuna daha duyarlı oldukları bildirilmiştir (Lefèvre ve Diallo 1990). Toplu (2004), hastalığın yaşlı keçilerde daha yüksek oranına rağmen, özellikle genç keçilerde karakteristik olmayan, belirsiz klinik bulgular ve yüksek ölüm oranıyla kendini gösterdiğini bildirmiştir. PPRV ile enfekte keçi ve koyunlarla temas halindeki sığırlar salgınlardan etkilenmemektedir. Sığırlarda PPRV ile deneysel olarak enfeksiyon oluşturulmaya çalışılmış fakat enfeksiyon gerçekleştirilememiştir (Taylor, 1984). Bununla birlikte, virüsün deneysel inokülasyonu sonucu oluşan sessiz veya subklinik enfeksiyon, takip eden virulent RPV suşlarına karşı koruma sağlamaktadır (Gibbs ve ark. 1979, Taylor 1984). Bir kaç çalışmada, develerde PPRV'a karşı oluşmuş antikorların varlığı gösterilmiştir (Ismail ve ark. 1995, Haroun ve ark. 2002). Yabani ruminantlarda deneysel ve saha koşullarında PPRV enfeksiyonunun şekillendiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Amerikan beyaz geyikleri (*Odocoileus virginianus*), Dorkas ceylanları (*Gazella dorcas*), Nubian dağ keçileri (*Capra ibex nubiana*), Laristan koyunları (*Ovis orientalis laristani*), Güney Afrika ceylanları (*Oryx gazellaa*) ve Antiloplar enfeksiyona karşı duyarlıdır (Hamdy ve ark. 1976, Furley ve ark. 1987, Abu Elzein ve ark. 1990, Abu Elzein ve ark. 2004). Yabani ruminantların, hastalığın epidemiyolojisinde ve kıtalararası yayılmasında ne derecede önemleri bulunduğu konusunda ise yeterli bilgi bulunmamaktadır (CFSPH 2008).

1.4.3. Hastalığın Coğrafi Yayılımı

Peste des petits ruminants virüs enfeksiyonu ilk olarak bildirilmesinden sonra yıllar içinde adım adım geniş bir coğrafyaya yayılmıştır (Şekil 1.3) ve halen de yeni ülke raporları yayımlanmaktadır (http://www.oie.int/wahis/public.php?page=disease_immediate_summary). Hastalık son 20 yıldır, Türkiye, Arap Yarımadası, Orta Doğu, Hindistan ve Kuzey Afrika ülkelerinde yaygın şekilde bildirilmektedir. PPR virüsü dünyada, Nijerya (Taylor ve Abegunde 1979), Sudan (El Hag Ali ve Taylor 1984, Haroun ve ark. 2002), Arap Yarımadası (Abu Elzein ve ark. 1990, Taylor ve ark. 1990, Moustafa 1993), Hindistan (Shaila ve ark. 1989, Shaila ve ark. 1990, Kulkarni ve ark. 1996, Nanda ve ark. 1996), Etiyopya (Roeder ve ark. 1994, Abraham ve ark. 2005), Orta Doğu Ülkeleri (Lefevre ve ark. 1991, Hessami ve ark. 1994, Durajoie ve Lefevre 1996, Libeau 1997, Eligulashvili ve ark. 1999), Pakistan (Amjad ve ark. 1996, Abu Bakar ve ark. 2008), Afganistan, Bangladeş ve Nepal (Shaila ve ark. 1996, Libeau 1997), Fas (OIE 2008), Çin (Wang ve ark. 2009) ve Türkiye’de (Alçığır ve ark. 1996, Tatar ve Alkan, 1999, Gül ve ark. 2001, Özkul ve ark. 2002, Tatar ve ark. 2002, Toplu 2004, Yeşilbağ ve ark. 2005, Kul ve ark. 2007) gösterilmiştir. PPR virüsünün 4 farklı genetik hattının coğrafi dağılımı Şekil 1.4’te gösterilmiştir.



Şekil 1.3. PPRV enfeksiyonunun coğrafi yayılımı (FAO 2009).



Şekil 1.4. PPRV'nin 4 farklı genetik hattının coğrafi dağılımı (Dhar ve ark. (2002)'den modifiye edildi).

1.5. Patogenez ve Bağışıklık

Peste des petits ruminants virüs, diğer morbillivirüsler gibi lenfotropik ve epitelyotropik özellik gösterir. Bu özelliğinden dolayı, en şiddetli lezyonlar lenfoid ve epitelyal dokuların baskın olduğu organlarda şekillenir (Abraham 2005). PPR virüsü lenforetiküler dokular, solunum sistemi müköz membran epitel hücreleri, akciğer dokusu ve sindirim sistemine büyük affinite gösterir (Abegunde ve Adu 1977). PPRV solunum yoluyla alınır ve ilk replikasyonu farengeal, mandibular lenf düğümleri ve tonsilde gerçekleşir. Viremi, enfeksiyondan sonraki 2-3 gün içinde ve ilk klinik bulguların görülmesinden 1-2 gün önce şekillenir. Daha sonra virüs viremi ile dalak, kemik iliği, gastro-intestinal sistem ve solunum sistemine yayılır (Abraham 2005).

Morbillivirüslerde oldukça immunojenik olan yüzey H ve F proteinleri bağışıklığın oluşmasında oldukça önemlidir. PPRV, RPV ile antijenik yakınlığa sahiptir (Taylor 1979). RPV'nin H ve F glikoproteinlerini eksprese eden çift rekombinant çiçek virüsü ile yapılan immunizasyon denemelerinin, keçileri PPR hastalığına karşı koruduğu gösterilmiştir (Jones ve ark. 1993). Ancak hayvanların

sadece RPV'e karşı virus-nötralizan antikor oluşturduğu, PPRV'e karşı ise oluşturmadığı belirtilmiştir. RPV'nin H proteini veya F proteini ya da PPRV'nin F proteinini eksprese eden Capripox virus rekombinantları, keçilerde PPR hastalığına karşı, PPRV nötralizan antikor oluşumu olmadan koruma sağlarlar (Romero ve ark. 1995). Bu deneme sonuçlarından, hücre aracılı immün cevabın hastalığa karşı koruma sağlamasında çok önemli bir rol oynadığı anlaşılmaktadır. Keçiler, H glikoproteinini eksprese eden baculovirus rekombinantı ile aşılandığında hem humoral hem de hücre aracılı immün cevabın oluştuğu ve aşılanan keçilerde oluşan antikorların hem PPRV hemde RPV'ü in vitro kuşullarda nötralize ettiği ortaya konulmuştur (Sinnathamby ve ark. 2001). RPV doku kültürü ile aşılanmış annelerden doğan kuzu ve oğlaklarda 3-4 ay boyunca kolostrum ile aldıkları maternal antikorlar saptanabilir düzeylerde kalır (Libeau ve ark. 1992).

1.6. Sitokinler ve özellikleri

İmmün cevabın oluşmasında başlıca lenfoid hücreler, fagositoz hücreler ve hemopoyetik hücreler rol alırlar. Bu hücreler arasındaki etkileşim ve koordinasyon ile konak yanıtının idaresi bir grup protein olan sitokinler tarafından gerçekleştirilir (Abbas ve Lichtman 2005). Sitokinler, düşük moleküler ağırlıklı protein veya glikoproteinlerdir. Bu proteinler immün sistemde efektör hücrelerinin gelişimini ve diğer sitokinlerin etkilerinin ayarlanmasında rol alırlar (Goldsby ve ark. 2000).

İnterlökinler, interferonlar (IFN α , β , γ), tümör nekroz faktörü α , β ve γ (TNF α , β ve γ), granülosit koloni stimülan faktör (G-CSF), monosit koloni stimülan faktör (M-CSF) ve granülosit makrofaj koloni stimülan faktör (GM-CSF) gibi koloni stimülan faktörler, transforming growth faktör β (TGF- β , Dönüştürücü büyüme faktörü) ailesi, nöron gelişim faktörü, eritropoietin, epidermal gelişim faktörü, fibroblast gelişim faktörleri, insülin benzeri gelişim faktörleri ve trombositlerden elde edilen gelişim faktörü gibi büyüme faktörleri sitokin sınıfı içerisinde yer almaktadır (Trotta 1991).

Sitokinler hedef hücre membranındaki özel reseptörlere bağlanır. Sitokinler ve reseptörleri birbirlerine çok yüksek ilgi gösterirler ve bundan dolayı biyolojik

olarak şekillendirdikleri etkileri pikomolar konsantrasyonlarda gösterirler (Goldsby ve ark. 2000).

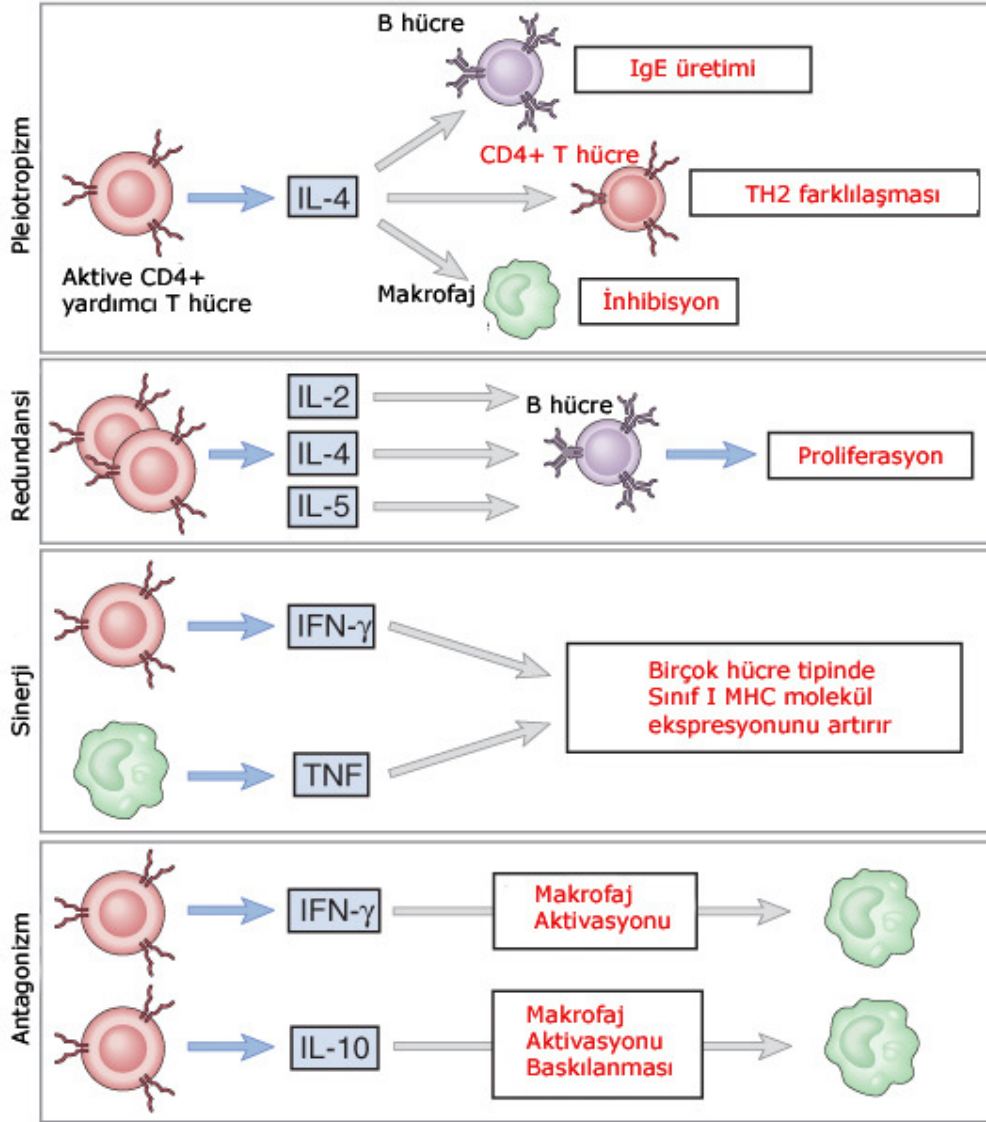
Sitokinler otokrin etki ile salındıkları hücreleri, parakrin etki ile yakınındaki hücreleri, endokrin etki ile de dolaşıma girerek uzaktaki hücreleri etkilerler. Genellikle depo edilmezler ve üretimleri yeni gen yazılması ile başlatılır (Akyol ve ark. 1994). Sitokinler işlevsel olarak hormonlara benzerler, ancak özelleşmiş bir dokudan değil de çeşitli hücreler tarafından yapıldıkları için hormon olarak kabul edilmezler (Baykal ve ark. 1998).

Sitokinlerin salınımı kısa ve sınırlıdır, diğer sitokinlerin sentez ve işlevlerini etkileyebilirler. Etkileri lokal veya sistemik olabilir. Antagonizm, sinerji, redundansi ve pleiotropizm özellikleri vardır (Abbas ve Lichtman 2005). Bu özellikleri Şekil 1.5'te gösterilmiştir.

Sitokinler, enfeksiyöz ajanlara karşı şekillenen doğal bağışıklıkta rol oynayan mononükleer fagositlerden salınan aracı ve düzenleyici maddelerdir. Doğal bağışıklıkta, lipopolisakkarit (LPS) ve viral ürünler makrofajları direkt etkileyerek sitokin salınımını uyarır. Antijenle uyarılmış T hücrelerle aktive olmuş makrofajlar da sitokin salgılar. Bu grup sitokinler, endotel hücreleri ve lökositler üzerine etki ederek erken yangısal reaksiyonu uyarır. NK hücreleri de doğal bağışıklıkta sitokin üretir ve ayrıca kazanılmış bağışıklıkta da rol oynar. T lenfositlerce salınan sitokinler, mononükleer fagositler, nötrofil, eozinofil lökositlerin aktivasyonu, düzenlenmesi ve etkilerinin arttırılmasını sağlar. Hematopoiezinin uyarılmasındaki görevleri, olgunlaşmamış lökositlerin farklılaşması ve büyümenin uyarılması yönündedir (Abbas ve Lichtman 2005). Doğal bağışıklıkta rol oynayan sitokinlerin özellikleri Çizelge 1.2'de, kazanılmış bağışıklıkta rol oynayan sitokinlerin özellikleri Çizelge 1.3'de gösterilmiştir.

Yardımcı T hücre 1 (Th1) ve yardımcı T hücre 2 (Th2) grubu sitokinler, CD4+ T-hücreleri tarafından sentezlenirler. Th1 hücreler; interlekin-2 (IL-2), TNF alpha, interferon γ (IFN- γ) ve lenfotoksinleri, Th2 hücreleri; IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 ve IL-13 sentezlerler. Bazı sitokinler hem Th1 ve Th2 hücreleri tarafından salınır. Bunlar IL-3, tümör nekrozis faktör α (TNF- α), granulosit-makrofaj koloni stimule edici faktör (GM-CSF)'dür (Mosmann ve Sad 1996). Th1 sitokin salgılayan hücreler, hücre aracılı yangısal reaksiyonlarda görev alırken, Th2 grubu sitokin

salgılayan hücreler ise daha çok antikor üretimi uyarıcı olarak rol oynarlar (Mosmann ve Sad 1996). Sitokinlerin bazıları yangıyı şiddetlendirirken (proinflamatuvar), bazıları proinflamatuvar sitokinlerin aktivitesini baskılar (anti-inflamatuvar) (Dinarello 2000). IL-1 reseptör antagonisti, IL-4, IL-6, IL-10, IL-11 ve IL-13 anti-inflamatuvar sitokinlerdir (Opal ve DePalo 2000). IL-1 ve TNF- α ise proinflamatuvar sitokinlerdendir (Dinarello 2000).



Şekil 1.5. Sitokinlerin genel özellikleri (Abbas ve Lichtman 2005).

Çizelge 1.2. Doğal bağışıklıkta rol alan sitokinler (Abbas ve Lichtman 2005).

Sitokin	Ağırlık	Kaynağı	Hedef hücre ve biyolojik etkileri
TNF-α	17 kd	Makrofajlar, T hücreleri	Endotelial hücrelerde aktivasyon (yangı ve koagülasyon), Nötrofil aktivasyonu, Hipotalamus (ateş), Karaciğerde akut-faz protein sentezi, Kas ve yağ dokuda (katabolizma-kaşeksi), Birçok hücre tipinde apoptozis
IL-1	17 kd	Makrofajlar, endotel, bazı epitel hücreleri	Endotelial hücrelerde aktivasyon (yangı ve koagülasyon), Hipotalamus (ateş), Karaciğer (akut-faz protein sentezi)
Kemokinler	6-12 kd	Makrofaj, endotel, T hücreleri, fibroblastlar, kan pulcukları	Lökositlerin kemotaksisi, aktivasyonu ve dokulara göçü
IL-12	35-40 kd	Makrofajlar, dentritik hücreler	Th1 farklılaşması, NK hücreleri ve T hücrelerinin IFN- γ sentezi, sitotoksik aktivitenin artması
Tip I IFN'lar (IFN-α, IFN-β)	IFN- α , 15-21 kd IFN- β , 20-25 kd	IFN- α : makrofajlar IFN- β : fibroblastlar	Bütün hücrelerde antiviral etki, sınıf I MHC ekspresyonunun artması, NK hücrelerde aktivasyon
IL-10	34-40 kd	Makrofajlar ve daha çok Th2 hücreleri	Makrofajlar ve dentritik hücrelerde IL-12 üretiminin baskılanması ve sınıf II MHC moleküllerinin ve kostimulatörlerin ekspresyonunun baskılanması
IL-6	19-26 kd	Makrofajlar, endotel, T hücreleri	Karaciğerde akut-faz protein sentezi, B hücrelerinde antikor sentezleyen hücrelerin proliferasyonu
IL-15	13 kd	Makrofajlar ve diğer hücreler	NK hücrelerinin ve T hücrelerinin proliferasyonu,
IL-18	17 kd	Makrofajlar	NK hücreleri ve T hücrelerinde IFN- γ sentezi

Çizelge 1.3. Kazanılmış bağışıklıkta rol alan sitokinler (Abbas ve Lichtman 2005).

Sitokin	Ağırlık	Kaynağı	Hedef hücre ve biyolojik etkileri
IL-2	14-17 kd	T hücreleri	T hücrelerinde proliferasyon, sitokin sentezinin artırılması, Fas-aracılı apoptozis, B hücrelerinde apoptozis ve in vitro olarak antikor sentezi
IL-4	18 kd	CD4+ T hücreleri (Th2) ve mast hücreleri	B hücrelerinde IgE t hücrelerine izotip dönüşümü, Th2 farklılaşması, proliferasyonu, makrofajlarda IFN- γ aracılı aktivasyonun baskılanması ve in vitro olarak mast hücre proliferasyonu
IL-5	45-50 kd	CD4+ T hücreleri (Th2)	Eozinofil aktivasyonu ve salınımının artırılması, B hücrelerinde proliferasyon ve IgA üretimi
IFN-γ	50 kd	T hücreleri (Th1, CD8+), NK hücreleri	Makrofaj aktivasyonu, sınıf I ve II MHC moleküllerinin ekspresyonunun artışı, T hücrelerine antijen sunumu ve işlemlerinin artışı,
TGF-β	25 kd	T hücreler, makrofajlar ve diğer hücre tipleri	T hücrelerin efektör ve proliferasyon fonksiyonlarının baskılanması, B hücrelerin proliferasyonunun baskılanması, IgA üretiminin baskılanması, Makrofajların baskılanması
Lenfotoksinler	21-24 kd	T hücreleri	Nötrofil aktivasyonu lenfoid organogenezis
IL-13	15 kd	CD4+ T hücreleri (Th2)	B hücrelerinde IgE izotip dönüşümü, Epiteltal hücrelerde mukus üretiminin artışı, makrofaj baskılanması

1.6.1. İnterlökin 4 (IL-4)

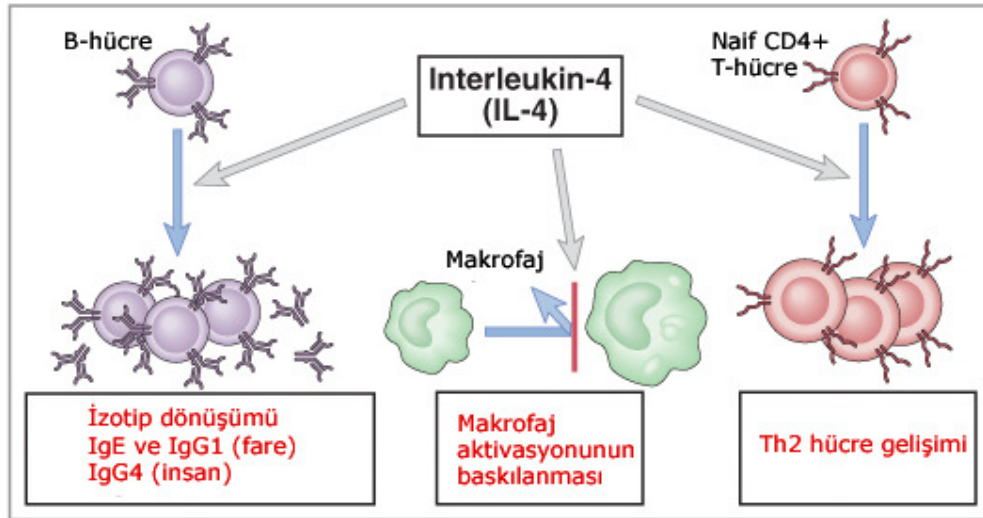
İnterökin-4, anti-IgM-stimüle edici fare B lenfositlerinde, DNA sentezini uyarıcı bir molekül olarak tanımlanmıştır. Bu nedenle başlangıçta B hücre büyüme faktörü (BCGF) olarak adlandırılmıştır (Howard ve ark. 1982). Bununla birlikte, LPS ile aktive B hücrelerinin IgG1 üretmesine neden olan protein olduğu gösterilmiş ve bu

faaliyet B hücre farklılaşma faktörü (BCDF) olarak isimlendirilmiştir (Isakson ve ark. 1982). IL-4, hareketsiz B hücrelerinin sınıf II MHC molekülünün ekspresyonunu artırmaktadır. Bu yüzden, ilkin bu proteinin ismine B hücre uyarıcı faktör-1 (BSF-1) denilmesi önerilmiştir (Mire-Sluis 1998) ve bu öneri bazı araştırmacılar tarafından da kabul görmüştür (Fitzgerald ve ark. 2001). Proteini kodlayan komplementer DNA'nın klonlanmasını takiben de IL-4 adı verilmiştir (Noma ve ark. 1986). Sonraki çalışmalarda IL-4 'ün T lenfositler, mast hücreleri ve hemopoietik ve endotelial hücre tiplerinin gelişimi gibi farklı ve karışık biyolojik aktiviteleri tanımlanmıştır (Mire-Sluis 1998). IL-4'ün başlıca görevleri Şekli 1.6' da gösterilmiştir.

İnterlökin 4 başlıca T lenfositler, mast hücreleri ve bazofillerce salgılanır (Mire-Sluis 1998, Opal ve DePalo 2000). IL-4 tek başına hareketsiz B hücrelerin çoğalmasına neden olmaz ama hücre hacminde hafif artış ve fenotipik değişiklikler yapar. (Yokota ve ark. 1988, Valle ve ark. 1989). IL-4, yüzey IgM, CD23, çözünebilir CD23, CD40 ve sınıf II MHC'de az oranda artışa neden olur. (Mire-Sluis 1998). Yüzey IgM artışı, anti-IgM'ye karşı duyarlı IL-4'ün neden olduğu bir artış değildir (Shields ve ark. 1989). Ayrıca IL-4 T ve B hücre kemotaksisinde rol oynar (Komai-Koma ve ark. 1995, Tan ve ark. 1995). IL-4 anti-IgM ile B hücre çoğalmasının kostimulatörü olarak rol alır. Antijenle uyarılmış B hücreleri IL-4'e yanıt olarak çoğalırlar. IL-4, sadece CD4+ T hücreleri veya mononükleer hücrelerin varlığında, B hücrelerden IgE üretilmesini uyarır. IL-4, IgM üreten hücrelerden IgG1 ve/veya IgE'ye ekspresyon değişimine neden olur (Mire-Sluis 1998). IL-4 monositlerde sınıf II MHC antijenleri, CD11b, CD11c CD13, CD18, CD23 ekspresyonunu artırır (Mire-Sluis 1998). Aynı zamanda CD14, CD16, CD32 ve CD64 ekspresyonunu azaltır. Th2 hücreleri tarafından üretilen IL-4, anti-inflamatuar aktivite gösterir (Opal ve DePalo 2000). Monositlerin makrofajlara farklılaşmasına neden olur, ancak makrofaj çoğalmasını baskılar. IL-4, uyarılmış monositlerden salınan sitokinlerin üretimini engeller, aynı zamanda IFN gamma tarafından uyarılmış monosit aktivasyonunu da iptal eder (Te Velde ve ark. 1990). IL-4 antitümör makrofaj aktivitesini genişletir (Mire-Sluis 1998). Ayrıca makrofajların sitotoksik aktivitesi ile makrofajlardan salınan nitrik oksit üretimini baskılar ve parazitlerin öldürülmesini sağlar (Opal ve DePalo 2000). IL-4, IL-2 tarafından oluşturulan CD69 ekspresyonunu ve NK hücrelerince IFN gamma üretimini baskılar

(Mire-Sluis 1998). Proinflamatuvar sitokinlerin salınımını ve ekspresyonunu engelleyen IL-4, makrofaj inflamatuvar protein (MIP)-1 α , IL-6, IL-8, IL-1 ve TNF- α gibi monosit-kökenli sitokinleri baskılar (Opal ve DePalo 2000). IL-4 ile NK hücrelerinin preinkübasyonu hücrelerin vasküler endotel hücrelere yapışmasını engeller (Paganin ve ark. 1994). IL-4, eozinofil lökositler üzerindeki CD23 ekspresyonunu artırır ve Fc gamma reseptör ekspresyonunu azaltır. Buda IgG bağlanmasını azaltır (Mire-Sluis 1998). IL-4 myelositlerin nötrofillere dönüşmesi için güçlü bir olgunlaşma faktörüdür ve hareketsiz olgun nötrofilleri uyarır (Bober ve ark. 1995), ve endotel hücrelerdeki adezyon molekül ekspresyonunu uyarır (Mire-Sluis 1998).

İnterlökin 4 seviyesi skleroderma, bronşiyal astım, alerji, multiple skleroz, otoimmün tiroid hastalıkları, atopik dermatitis, inflammatory bowel disease, endometriosis ve sistemik sklerozda artar (Mire-Sluis 1998).



Şekil 1.6. İnterlökin-4'ün görevleri (Abbas ve Lichtman 2005).

1.6.2. İnterlökin-10

Sitokin sentez inhibitör faktör (CSIF) olarak ta isimlendirilir (Fitzgerald ve ark. 2001). Th2 hücrelerinden salınan IL-10 (Mosmann ve Sad 1996), anti-inflamatuvar bir sitokindir (Opal ve DePalo 2000). IL-10, yardımcı T lenfositler, B lenfositler, mast

hücreleri, eozinofiller, monositler, makrofajlar ve keratinositler tarafından üretilmektedir. IL-10'un, interferonlar, GM-CSF, GCSF, IL-1 α ve β , IL-2, IL-3, IL-6, ve IFN γ , TNF α ve β gibi sitokinlerin üretimini ve makrofajların antijen sunma yeteneklerini azalttığı kaydedilmektedir (Önder ve Keskin 2006). Endotelial hücrelerden salınan sitokinler ve eksprese edilen vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM), IL-10'un etkisiyle herhangi bir değişiklik göstermez (Pugin ve ark. 1993).

İnterlökin 10 NK hücrelerinin güçlü bir uyarıcısıdır. IL-10'un uygulanması CD4+ T hücrelerinde uzun süreli antijen spesifik anerjiyi meydana getirir. Ayrıca NK hücrelerinin aktivasyonu ve hedef hücrelerin yıkılmasını kolaylaştırıcı etkisini uyarır. İn vivo çalışmalarda IL-10 ile uyarılan NK hücrelerinin sitotoksik aktivitesi önemli derecede artmış ancak proliferasyonu etkilenmemiştir. Ayrıca CD8+ sitotoksik T lenfosit sitotoksitesini artırır (Fujii ve Lotze 2006).

İnterlökin 10'un öncelikli hedef hücreleri antijen sunan hücreler ve lenfositlerdir (Moore ve ark. 2001). IL-10 makrofajlar ve dendritik hücrelerden proinflamatuvar sitokin üretimini engeller (Mosser ve Zhang 2008) ve bu hücrelerin antijen sunma kapasitelerini kısıtlar. IL-10 monositlerin immün cevapta önemli role sahip olan myeloid dendritik hücrelere farklılaşmasını engeller (Moore ve ark. 2001).

İnterlökin 10, CD4+ ve CD8+ T lenfositlerde IFN- γ üretiminin baskılanmasıyla Th2 sitokin gelişimini destekler. Hücrel immün cevabın önemli baskılayıcıdır. IL-10 CD4+ T hücrelerin salgıladığı IL-2, IFN- γ , IL-4 and IL-5 sitokinlerinin ve CXCR4 kemokininin sentezini direkt olarak kısıtlar (Fujii ve Lotze 2006).

İnterlökin 10 sadece immün yanıtı baskılayan bir sitokin değildir. B hücrelerin aktivasyonunu uyarma, hayatta kalma sürelerini uzatma ve B hücre sınıf dönüşümünde kostimüle olma görevleri vardır (Mosser ve Zhang 2008).

İlave olarak IL-10'un antitümöral immün cevabı deneysel çalışmalarda gösterilmiştir. Ancak IL-10'un dendritik hücrelerin ve antijen sunan hücrelerin fonksiyonlarını baskılamasıyla şekillenen immünsupresif mekanizmalarla da tümör oluşumunda rol oynadığı düşünülmektedir (Vicari ve Trinchieri 2004).

1.6.3. Tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α)

Tümör nekroz faktörü-alfa, kaşektin, makrofaj sitotoksin, nekrozin, sitotoksin, hemorajik faktör, makrofaj sitotoksik faktör, farklılaşmayı uyarıcı faktör olarak ta isimlendirilir (Fitzgerald ve ark. 2001).

Tümör nekroz faktörü-alfa; keratinositler, dermal dendrosit, monosit ve makrofajlar, mast hücresi, aktif B ve T hücreleri tarafından salınır. Aktif makrofajlar TNF- α 'nın en önemli kaynağıdır. Yangının geç döneminde Substans P tarafından uyarılan mast hücreleri TNF- α salınımını artırabilir. Yangı şekillenmemiş derideki keratinositler ultraviyole ışığa veya bakteriyal antijenlere maruz kaldığında TNF- α üretebilmektedir (Malerich ve Elston 2006).

Tümör nekroz faktörü-alfa salınımı, interlökin-1, interlökin-2, interlökin-6, interlökin-8, GM-CSF, TGF- β ve interferon- γ gibi sitokinlerin salınımıyla da şekillenebilmektedir (Malerich ve Elston 2006). Lenfositlerin apoptozisinde de rol aldığı bildirilmiştir (Grupta ve Gollapudi 2005).

Tümör nekroz faktörü-alfa yangıyı lokal damarlaşmadaki değişikliklerle başlatır. Endotelial hücreler TNF- α 'nın etkisiyle prostaglandin ve nitrik oksit gibi vazodilatörlerin üretiminde artışa neden olmaktadır. Bu da yangı hücrelerinin bölgedeki yoğunluğunun artışına neden olur. Endotelial hücre yüzeyi L-selektin, E-selektin, P-selektin ve ICAM-1'i artırmaktadır (Keystone 2004, Yang ve ark. 2005). Endotelial hücreler sitokin salarak lökositlerin aktivasyonu ve göçünü destekler. TNF- α vasküler endotelial büyüme faktörü uyararak vasküler geçirgenlik, lökosit göçü ve yeni damar ağlarının şekillenmesine yardım eder (Malaguamera ve ark. 2005). Tümör nekroz faktörü-alfa makrofajların başlıca aktivatörüdür ve nitrik oksit, proinflamatuvar sitokinler ve kemokin üretimini artırır (Horney ve ark. 2000). TNF- α proinflamatuvar sitokinlerdendir (Dinarello 2000). Th1 tip hücreler tarafından salınan TNF- α makrofajları aktive ederek hücre aracılı immün cevabın oluşmasına neden olmaktadır (Opal ve DePalo 2000).

TNF- α , aktin sitoskeleton düzenleyiciler ve integrinleri uyarır ve keratinositlerin motilite ve bağlantısını artırır (Banno ve ark. 2004).

Farelerdeki MethA sarkomu TNF'nin antitümör aktivitesinin gösterildiği ilk sistemdir. TNF'nin antiproliferatif etkisi IFN, IL-1 ve IL-2'nin etkisiyle artmaktadır.

Doxorubicin gibi antitümöral ilaçların TNF'nin antitümör etkisini arttırdığı belirtilmiştir (Beyaert ve Fiers 1998).

1.6.4. İnterferon gamma (IFN- γ)

İnterferon gamma, immün interferon, tip II interferon, T hücre interferon, makrofaj aktive edici faktör (MAF) olarak ta adlandırılır (Fitzgerald ve ark. 2001). Th1 hücrelerinden salınan IFN- γ , Th2 hücrelerinin proliferasyonunu baskılar (Mosmann ve Sad 1996). Fibroblast, endotelial hücre, NK hücre, makrofaj, B hücre ve T hücrelerin aktivasyonu, farklılaşması ve büyümesi gibi yangısal ve immün cevabın ayarlanmasında görev alan bir sitokindir. Antijen sunan hücrelerde MHC ekspresyonunu artırır. Antiviral ve antiproliferatif aktiviteye sahiptir. CD8+ ve CD4+ T hücreler ve NK hücreleri IFN- γ kaynağıdır. Eritrositer hariç tüm hücrelerde IFN- γ reseptörü eksprese edilir (Fitzgerald ve ark. 2001).

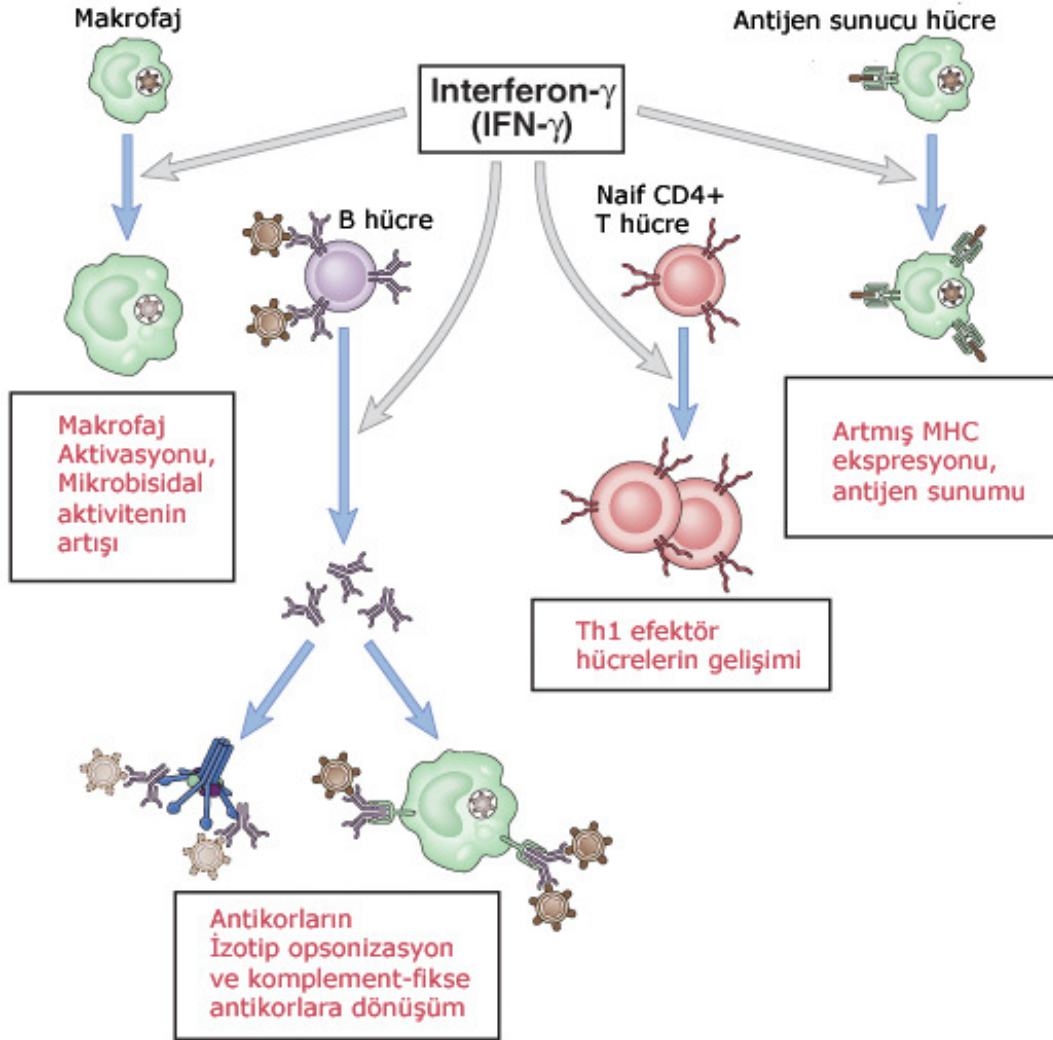
İnterferonlar (IFN) esasında, viral replikasyona engel olan bir etmen olarak bulunmuş, Tip I (İnterferon alpha, beta, omega ve tau) ve Tip II (IFN- γ) IFN'lar olarak iki gruba ayrılmıştır (Schroder ve ark. 2004). Tip I interferonlar bütün hücre tiplerince salınmalarına rağmen, hemopoietik hücreler, IFN alfa ve omega 'nın başlıca üreticileridir. Fibroblastlar ise başlıca IFN beta kaynağıdır (Bach ve ark. 1997). IFN τ (İnterferon tau) salınımı sadece ruminantlarda rapor edilmiştir (Bazer ve ark. 1997).

Tip II IFN'un tek üyesi IFN- γ ise; başlıca CD4+ T yardımcı hücreleri, CD8+ sitotoksik lenfositler ve NK hücreleri tarafından salınırken ,B hücreleri, NKT (Natural Killer T cell) hücreleri ve antijen sunan hücrelerinin de IFN- γ salınımı yaptığı gösterilmiştir (Schroder ve ark. 2004).

Natural killer hücreleri ve antijen sunan hücrelerce salınan IFN- γ 'nın, enfeksiyonlara karşı erken konak korumasında önemli rolü vardır (Frucht ve ark. 2001). T lenfositler ise IFN- γ 'nın adaptif immün cevaptaki önemli kaynağıdır (Sen 2001). IFN- γ 'nın kazanılmış bağışıklık hücreleri üzerine etki şekilleri Şekil 1.7'de gösterilmiştir. İnterferon gamma üretimi antijen sunan hücrelerden salınan sitokinlerce, özellikle IL-12 ve IL-18 ile kontrol edilir. Bu sitokinler doğal immün

cevapta IFN- γ üretimi ile enfeksiyon arasında köprü olarak hizmet verir. Makrofaj inflamatuvar protein-1 (MIP-1) kemokini NK hücrelerinin yangı bölgesine gelmesini sağlar ve IL-12 bu hücrelerde IFN- γ sentezini uyarır (Schroder ve ark. 2004). IL-12 ve IL-18 kombinasyonu, makrofajlarda, NK ve T hücrelerde ileri IFN- γ üretimini artırır (Schroder ve ark. 2004).

IL-4, IL-10, TGF- β ve glukokortikoidler IFN- γ üretimini negatif olarak etkilerler (Schroder ve ark. 2004).



Şekil 1.7. IFN- γ 'nın kazanılmış bağışıklık hücreleri üzerine etki şekilleri (Abbas ve Lichtman 2005).

1.7. Klinik bulgular

Peste des petits ruminants, klinik bulgular, makroskopik bulgular ve immünolojik cevap bakımından sığır vebasına benzerlik gösterir (Wohlsein ve Saliki 2006). PPR'ın koyun ve keçilerde klinik olarak perakut, akut ve subklinik olmak üzere 3 formu vardır. Hastalığın en karakteristik klinik bulguları akut formda şekillenir (Lefevre ve Diallo 1990, Diallo 2006). Hastalığın perakut formu, kolostrumun sağladığı maternal immünite 4 aydan fazla devam etmediği için daha çok 4 aylıktan büyük oğlaklarda görülür (Diallo 2006). İki gün kadar kısa inkübasyon periyodundan sonra 40-42 °C 'ye kadar yükselen beden ısısı ve buna eşlik eden okülo-nazal akıntı, mukozal konjesyon, depresyon, dispne, anoreksi ve kabızlık gözlenir (Wohlsein ve Saliki 2006). İki ile 4 gün içinde sulu ishal başlar ve kollapsı takiben ölümler şekillenir. Morbidite %100, mortalite ise % 90' a kadar ulaşabilmektedir (Taylor 1984, Lefevre ve Diallo 1990, Scott 1990, Kulkarni ve ark. 1996).

Peste des petits ruminants'ın akut formunda, beden ısısı 39,5-41 °C'ye yükselir. Seröz burun akıntısı ve hızlı bir solunum gözlenir. Başlangıçta seröz karakterde olan göz, burun ve ağız akıntıları sekonder bakteriyel enfeksiyonlarla birlikte sarı ve sulu olmayan yapıya dönüşür (Bundza ve ark. 1988, Brown ve ark. 1991). Bu süreden itibaren solunum güçlüğü ve bronkopnömoniyle birlikte hayvanlarda ıslak ve sürekli öksürük görülür (Diallo 2006).

Depresyon ve anoreksi dikkati çeker ve hasta hayvanlar belirgin bir şekilde yeme karşı ilgisiz kalırlar. Merme kurur, dudak, diş etleri, yanak, dil ve damakta erozyon, ülser ve nekrozlar görülür (Gül ve ark. 2001, Ahmad ve ark. 2005, Diallo 2006). Hayvanlarda şekillenen ishal, bağırsak mukozası parçaları içerebilir (Aruni ve ark. 1998). Hayvanlar klinik belirtilerin görülmesini takiben 10-12 gün içinde ölürlür. Gebe hayvanlarda abortlar görülebilir (Diallo 2006). Kul ve ark. (2008), ilk kez PPRV ve Border hastalığı (BDV) ile enfekte olarak zayıf doğmuş ikiz kuzularda, PPRV'nin in-utero enfeksiyona neden olabileceğini ve transplasental bulaşmanın şekillenebileceğini göstermişlerdir.

Klinik bulguların şiddetiyle ilişkili olarak lökopeni görülmektedir (Abdollahpour ve ark. 2006, Wohlsein ve Saliki 2006). PPRV, lökopeni ve

lenfopeninin göstergesi olan belirgin bir immünoşupresyona neden olur (Rajak ve ark. 2005).

Peste des petits ruminants virüs enfeksiyonunun subklinik formunda belirgin bir klinik belirti gözlenmez. Hayvanlarda 1-2 gün süren 39-40 °C olan orta derecede hipertermi gözlenir. Hayvanların zayıf, durgun ve halsiz olduğu, hareket etmektan kaçındığı gözlenir. Hasta hayvanlarda ishal çok belirgin değildir. Ayrıca diş etleri, dil ve yanaklarda nekrotik lezyonlar ile geç dönemde kontagiyöz karakterde ektima benzeri papül ve püstüller görülebilir (Lefevre ve Diallo 1990, Diallo 2006, Gül ve ark. 2006).

Klinik bulgular farklı sekonder patojenlerin dahil olmasıyla daha karmaşık bir durum alır. Sıklıkla *Pasteurella* sp. veya *Mycoplasma* sp.'nin neden olduğu sekonder bakteriyel enfeksiyonlarla şiddetli pnömoniler şekillenebilir. *Escherichia coli*'nin enterotoksinleri de klinik bulguları şiddetlendirir ve ölüm oranını artırır. Deri lezyonları ise sıklıkla *Dermatophilus congolensis* enfeksiyonu ile komplike olur (Wohlsein ve Saliki 2006). Klinik olarak keçi ciğer ağrısı (Contagious caprine pleuropneumonia), mavidil, kontagiyöz ektima, keçi veya koyun çiçeği, şap, Nairobi sheep disease, respiratorik ve enterik bakteriyel enfeksiyonlar, bağırsak ve kan endoparazitleri, bitki ve mineral zehirlenmelerinden ayrılmalıdır (Wohlsein ve Saliki 2006).

Peste des petits ruminants virüs ve RPV deneysel olarak farelerde, diğer morbillivirus üyelerinde olduğu gibi nörovirulens sergilemektedir (Galbraith ve ark. 2002).

1.8. Patolojik Bulgular

1.8.1. Makroskopik Bulgular

Perakut PPRV enfeksiyonundan ölen hayvanlarda makroskopik bulgular görülmez. Ancak zaman zaman ağız mukozasında ve ileosekal valvülde konjesyon ve oral mukozada erozyonlar görülmektedir (Wohlsein ve Saliki 2006).

Akut formda ölen hayvanların zayıf ve dehidre olduğu görülür (Toplu 2004). Perianal bölge yeşilimsi-grimsi dışkı ile kirli durumdadır. Göz kapakları, burun delikleri ve dudaklarda kurumuş muko-purulent akıntı vardır. Dudak mukozasının hiperemik olduğu gözlenir (Roeder ve ark. 1994, Abdollahpour ve ark. 2006, Wohlsein ve Saliki 2006). Konjunktivada mukopurulent bir konjunktivit talosu vardır (Wohlsein ve Saliki 2006).

Hayvanların ağız ve burun delikleri çevresindeki fibrinopurulent nazal akıntı ve kabuklanmalar kaldırıldığında ülser ve kanama dikkati çeker. Dilin alt, yan ve üst yüzeyi, dudak, yumuşak ve sert damakta 1-5 mm çapında grimsi-sarı psödomembranöz ve nekrotik alanlar oluşur (Abdollahpour ve ark. 2006, Kul ve ark. 2007). Nazal konka mukozasında diffuz hiperemi ve multifokal erozyonlar vardır. Orofarengiyal mukoza ve tonsil bölgesi fibrinli eksudatla örtülüdür (Kul ve ark. 2007). Tonsillerde yoğun kanama alanları seçilebilir (Toplu 2004).

Trakeya açıldığında lümende köpüklü eksudat vardır ve mukozasında yaygın kanamalar ile fibrinonekrotik trakeitis görülebilir (Aruni ve ark. 1998, Toplu 2004, Abdollahpour ve ark. 2006, Kul ve ark. 2007). Retrofarengeal lenf düğümleri genişlemiş, konjesyone ve ödemli görünümündedir (Aruni ve ark. 1998).

Akciğerlerin kranial ve daha az olarak kaudal loblarında koyu kırmızı hepatizasyon ve amfizem alanları görülür (Brown ve ark. 1991, Losos, 1994, Toplu 2004). Akciğerin derin kısımları açıldığında, sekonder bakteriyel enfeksiyonlar nedeniyle purulent veya mukopurulent eksudatla dolu olduğu görülür (Wohlsein ve Saliki 2006). Torasik duvarda, parietal ve viseral plöra arasında sıkı yapışmalar görülebilir ve bu durumda akciğer yüzeyi fibrinli kitleyle örtülüdür (Toplu 2004).

Dalak genişlemiş, konjesyone, ödemli ve ayrıca gevşek görünümündedir (Aruni ve ark. 1998, Toplu 2004).

Rumen, retikulum ve omazumda nadiren lezyona rastlanır. Bazen rumen papilları arasında erozyonlar olabilir. Omazumda çizgisel tarzda, düzenli genellikle de kanla sıvanmış halde yaygın erozyonlara rastlanır. (Brown ve ark., 1991; Losos, 1994, Wohlsein ve Saliki 2006). Abomazum mukozası şiddetli konjesyonedir ve erozyonlar içerir (Wohlsein ve Saliki 2006).

Mezenterik lenf düğümleri genişlemiş ve ödemli görünümündedir (Abdollahpour ve ark. 2006, Wohlsein ve Saliki 2006).

Bağırsak mukozası konjesyonedir ve mukus ile örtülüdür. Bağırsaklarla ilişkili lenfoid doku (GALT), Peyer plakları nekrotik ve kanamalıdır (Wohlsein ve Saliki 2006, Kul ve ark. 2007). Bağırsak duvarı kalınlaşır ve yaygın konjesyon görülebilir (Toplu 2004). Genellikle ince bağırsaklardaki lezyonlar şiddetli değildir ve sınırlı hemorajik çizgiler ile ileumun başlangıcı ve duodenumun ilk kısmında erozyonlar görülür (Brown ve ark. 1991, Losos 1994). Duodenum, ileum, sekum ve üst kolonda diffuz konjesyon vardır. İleosekal valvülde kanama gözlenir (Wohlsein ve Saliki 2006). Kalın bağırsaklarda “zebra çizgileri” olarak tanımlanan karakteristik şiddetli konjesyone alanlar vardır (Brown ve ark. 1991, Losos 1994).

Karaciğer solgundur ve bazen gevrek kıvamda olabilir. Kesit yüzünde küçük beyazımsı gri renkte nekrotik alanlar ile yaygın solgun görünümde de olabilir (Toplu 2004, Kul ve ark 2007).

1.8.2. Mikroskopik bulgular

Eroziv ülseratif lezyonlar oral mukoza, nazal konka ve trakeyada görülür (Kul ve ark 2007). Oral mukozadaki histopatolojik değişiklikler stratum granülozumdaki epitel hücrelerinin hidropik ve balonumsu dejenerasyonu ve çok çekirdekli sinsityal hücrelerin eşlik ettiği epitel hücre nekrozunu içerir (Toplu 2004, Wohlsein ve Saliki 2006). Üroziv ve ülseratif alanlarda 2-10 çekirdekli sinsityal hücreler ve eozinofilik inklüzyon cisimcikleri görülür (Brown ve ark. 1991, Kul ve ark. 2007). Lezyonlara çok sayıda nötrofil lökosit infiltrasyonu eşlik eder (Toplu 2004, Abdollahpour ve ark 2006). Submukozada ödem, lenfosit ve makrofajlardan oluşan mononükleer hücre infiltrasyonu görülür (Toplu 2004).

Akciğerde interstisyel pnömoniyle birlikte hiperemi, mononükleer hücre ve granülosit infiltrasyonu gözlenir (Wohlsein ve Saliki 2006). Bronş/bronşioler epitel hücrelerinde skuamöz hücre metaplazisi şekillenir. Alveolar septa ödemli görünümde olup histiyosit, plazma hücresi ve lenfositlerce kalınlaşmıştır (Aruni ve ark. 1998). Alveollerdeki sinsityal hücreler, alveolar makrofajlar, bronşiyal/bronşioler epitelde ve peribronşiyal bezlerde inklüzyon cisimcikleri görülür (Kul ve ark. 2007). Sıklıkla, yoğun nötrofil lökosit infiltrasyonu olan fibrinli veya supuratif brokopnömoni, sekonder bakteriyel enfeksiyonlar sonucu şekillenir (Wohlsein ve Saliki 2006).

Dalak, lenf düğümleri, tonsil ve GALT'ta yaygın lenfoid nekroz ve retiküler çatının açığa çıktığı görülür. Retikülo-endotelyal hücreler hiperplastiktir ve nükleer inklüzyon cisimciği içerirler (Wohlsein ve Saliki 2006, Kul ve ark. 2007). Lenfosit nekrozu piknoz ve karyoreksis ile kendini gösterir (Rowland ve ark. 1971). Tonsillerdeki kript epitellerinde çok sayıda intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri görülebilir (Kul ve ark. 2007). Tonsillerde şiddetli kanamanın görüldüğü bildirilmiştir (Toplu 2004). Dalağın hiperplastik retiküloendotelyal hücreler, amorf eozinofilik sitoplazmalı makrofajlar, plazma hücreleri ve dev hücrelerden yoğun olduğu görülebilir (Aruni ve ark. 1998).

Karaciğerde multifokal midzonal ve periportal koagülasyon nekrozları ve fokal kalsifikasyonlar bildirilmiştir (Kul ve ark. 2007). Hepatosit sitoplazmalarında vakuoler değişikliklerle birlikte, nekrotik bölgelerdeki hepatosit çekirdeklerinin piknotik ve/veya karyorektik olduğu görülür. Ayrıca nekrotik bölgelerde yaygın nötrofil infiltrasyonu vardır (Aruni ve ark. 1998, Toplu 2004). Nekrotik alanların etrafında hepatositlerce oluşturulan sinsityal hücrelere rastlanabilir ve sinsityal hücreler ile hepatositler eozinofilik intranükleer inklüzyon cisimcikleri içerebilirler (Alçıgır ve ark. 1996, Kul ve ark. 2007). Bazı olgularda, karaciğerde periportal fibrozisin şekillendiği de bildirilmiştir (Aruni ve ark. 1998).

Rumen ve abomazum mukoza epitelinde vakuoler ve hidropik dejenerasyonun yanı sıra intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri görülebilmektedir (Kul ve ark. 2007). Ayrıca abomazumdaki bezlerin nekrotik olduğu gösterilmiştir (Wohlsein ve Saliki 2006).

Bağırsak mukoza kriptleri hücre sel debristen dolayı genişler. Lamina propriyada lenfosit, makrofaj ve eozinofil lökosit infiltrasyonu mevcuttur (Wohlsein ve Saliki 2006). Glandular epitel hücrelerinde nekroz, Peyer plaklarında lenfositolizis ve karyoreksis ile karakterize lenfoid foliküllerinin yıkımı gözlenir (Aruni ve ark. 1998, Bundza ve ark. 1988, Toplu 2004).

Hastalıktan ölen hayvanlarda renal pelvis değişken epitel hücrelerinde vakuoler dejenerasyon ve eozinofilik inklüzyon cisimcikleri gösterilmiştir. Ayrıca kalp kası hücrelerinde parçalanma ve hyalinizasyon ile birlikte makrofaj ve lenfosit infiltrasyonunun varlığı bildirilmiştir (Kul ve ark. 2007).

Gerek deneysel, gerekse doğal PPRV enfeksiyonlarında; ağız mukozası, konjunktiva, trakeya, bronş, bronşiyol ve ileum yüzey epitel hücreleri, tip II pnömositler, sinsityal hücreler, alveolar makrofajlar, mezenterik lenf düğümü, dalak, bağırsak ve karaciğer dokularında PPRV antijenleri immunohistokimyasal olarak tespit edilmiştir (Saliki ve ark. 1994, Alçıgır ve ark. 1996, Eligulashvili ve ark. 1999, Toplu 2004, Yener ve ark. 2004, Wohlsein ve Saliki 2006, Kul ve ark. 2007). Kul ve ark. (2007) ilave olarak böbrek, rumen, abomazum, trakeya, kalp ve beyinde de PPRV antijeni pozitif immunohistokimyasal boyanmalar göstermişlerdir.

1.9. Çalışmanın Amacı

Peste des Petits Ruminants virus enfeksiyonlarında görülen histopatolojik bulgular psödomembranöz, eroziv ve ülseratif stomatitis, nekrotik tonsillitis, fibrinohemorajik enteritis ve proliferatif interstisyel pnömonidir (Barker ve ark. 1993, Dungworth 1993, Alçıgır ve ark. 1996, Toplu 2004, Kul ve ark. 2007). Lezyonlu ağız mukozası epitel ve akciğerlerde sinsityal hücreler, özellikle solunum ve/veya sindirim sistemi epitelinde eozinofilik inklüzyon cisimcikleri PPRV enfeksiyonunun karakteristik histopatolojik bulguları olarak değerlendirilmektedir. Hastalığın ağız mukozası ve akciğer epitel dokularında şekillendirdiği lezyonlarda, sitokinlerin rolüne yönelik daha önceden gerçekleştirilmiş bir araştırmaya rastlanılmamıştır. PPRV enfeksiyonunda, özellikle ağız mukoza epitel ve akciğerlerde viral etkiyle hasar gören epitel dokuda şekillenen reaktif sinsityal hücrelerin, oluşan lezyonlarda sitokin salıverme özelliğinin olup olmadığı merak edilen konular arasındadır. Bir diğer önemli konu da; PPRV enfeksiyonunda -eğer varsa- epitel dokudaki sitokin yanıtının, lezyonun şiddeti ve yaygınlığı ile herhangi bir ilişkisinin bulunup bulunmadığının ortaya konulmasıdır. Böylelikle, epitel dejenerasyon ve nekrozu, nötrofil lökosit ve makrofaj infiltrasyonunda keratinositlerin aktif görev alıp almadıkları anlaşılabilir. Bu konuda, doğal PPRV enfeksiyonu sonrası ölen hayvanlardan alınan lezyonlu epitel dokuda sitokin yanıtının ortaya konulabilmesi için immunoperoksidaz teknikle dokular incelenecek ve elde edilecek bilgiler sağlıklı kontrol dokulardan elde edilenlerle karşılaştırmalı olarak değerlendirilecektir. Bu çalışmada, PPR hastalığında yanak, dil ve akciğerlerde şekillenen epitel

lezyonlarında IL-4, IL-10, TNF- α ve IFN- γ sitokin yanıtının immunohistokimyasal olarak incelenmesi ve lezyonsuz kontrol dokuları ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Doğal PPRV Enfekte Epitel Dokuların Temini

Çalışmanın materyalini, ölüm nedeninin anlaşılabilmesi amacıyla nekropsi için getirilen ve sonrasında PPR tanısı konulan; Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'ndan 7 koyun, 6 keçi ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'ndan 4 koyun, toplam 17 adet küçük ruminant oluşturdu. Kontrol amacıyla, Kırıkkale Belediye mezbahasında kesilen sağlıklı 5 keçi çalışmaya dahil edildi. Her bir olguya ait yanak mukozası, dil ve akciğer dokuları % 10'luk tamponlu formalinde 48-72 saat süreyle tespit edildikten sonra, 7-8 saat süre ile akan çeşme suyu altında yıkandı. Doku takip işlemlerinde bilinen yöntemlerle, sırasıyla alkol (70°, 80°, 90°, 96° ve 100°) ve ksilol serilerinde işlem gördükten sonra parafinde bloklandı.

2.2. Histopatolojik İncelemeler

Yanak mukozası, dil ve akciğer dokuları parafin blok arşivinden seçildikten sonra herbir dokudan 4-5 μ m kalınlığında 10'ar adet kesit 3-aminopropyl triethoxysilane kaplı lamlara alındı. Hematoksilen ve eozin (HE) ile boyanan kesitler ışık mikroskopunda (Olympus BX51) histopatolojik yönden incelendi ve aşağıdaki kriterler göz önüne alınarak lezyonlarına göre hafif, orta ve şiddetli olmak üzere skorlandı. Histopatolojik semikantitatif skorlamada Moussalem ve ark. (2007) tarafından belirlenen kriterler modifiye edilerek uygulandı. Buna göre 1,2,3 puan: Hafif, 4 ve 5 puan: Orta, 6 ve 7 puan: Şiddetli olarak sınıflandırıldı. Histopatolojik muayenede incelenen dokularda tespit edilen aşağıdaki bulguların her biri için birer puan verildi ve herbir olgu için toplam skor belirlendi.

Ağız ve Dil mukoza epiteli için,

- Epitel hücrelerinde hidropik, vakuoler dejenerasyon (1 puan)
- Hiperkeratoz (1 puan)
- Sinsityal hücre formasyonu (1 puan)
- Epitelyal nekroz (1 puan)
- Psödomembran oluşumu (1 puan) (bakteri, keratin ve nekrotik hücre kalıntıları)
- İntrasitoplazmik ve intranükleer inklüzyon cisimcikleri (1 puan)
- Epitelyal doku içinde yangısal hücre infiltrasyonu (1 puan) (nötrofil lökosit, makrofaj ve plazmosit vb.)

Akciğer epiteli için,

- Bronş ve bronşiyol epitel hiperplazisi (1 puan)
- Peribronşiyal, peribronşiyolar lenfoid manto oluşumu (1 puan)
- Tip II alveol epitel hiperplazisi (Fötalizasyon) (1 puan)
- Alveol lümenlerinde sinsityal hücre oluşumu (1 puan)
- İnterstitiyel mononükleer hücre infiltrasyonu (1 puan)
- İnküzyon cisimcikleri (sinsityal hücre, bronş/bronşiyol epitelleri) (1 puan)
- Sekonder bakteriyel pnömoni ve nekroz (Bronkopömoni/fibrinli pnömoni) (1 puan)

2.2.1. Gram Boyama

Gram boyama için ticari kit kullanıldı ve tüm işlemler kit protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi (BTR, Gram Boya seti, Lot No:02, Kimsan Kimyevi Maddeler, Ankara). Kısaca; kesitler üçer ksilol serisinde beşer dakika parafinden uzaklaştırıldı. Absolu alkolden %50 lik alkole ve ardından distile suya kadar üçer dakika tutulan kesitler birkaç dakika oda ısısında kurumaya bırakıldı. İlk olarak kesitler kristal violet ile 1 dakika boyandı. Kesitlerdeki kristal violet döküldükten sonra yıkama olmaksızın, gram iyod solusyonu ile bir dakika boyandı. Ardından kesitlerin üstündeki gram iyod solusyonu dükülerek %70 lik alkolde dokuların renkleri açık maviye gelinceye kadar yapılan dekolorizasyon işleminin ardından, çeşme suyu

altında yıkandı ve fazla boya kalıntılarını uzaklaştırdı ve yıkama işleminin ardından kurutuldu. Kesitler Olympus BX-51 mikroskobu altında immersiyon objektifinde incelendi ve mikrofotografı çekildi.

2.3. İmmunoperoksidaz İncelemeler

2.3.1. PPRV Antijeninin İmmunoperoksidaz Teknikle Saptanması

2.3.1.1. Poliklonal anti-PPRV antikorı üretimi

Poliklonal anti-PPRV antikorı üretimi için bir adet beyaz Yeni Zelanda ırkı tavşan kullanıldı. Bu tavşana birer hafta aralıklarla 0,1 ml 10^3 TCID₅₀/ml titrede PPRV Tu00 isolatı eşit miktarda Freund complete adjuvantı eklenerek beş hafta boyunca uygulandı. Bunun için birinci hafta sol ayak tabanı, ikinci hafta sağ ayak tabanı, üçüncü hafta sağ göğüs bölgesi, dördüncü hafta sol göğüs ve beşinci hafta sağ göğüs bölgesi derialtına enjekte edildi. PPRV Tu00 suşu Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalından temin edildi (Prof. Dr. Aykut ÖZKUL).

2.3.1.2. Virus Nötralizasyon Testi

Elde edilen hiperimmün serumda spesifik antikor varlığının değerlendirilmesi için yapılan serum nötralizasyon testinde 1/16 titrede antikor varlığı saptandı. Bu test 24-kuyucuklu platelerde gerçekleştirildi. Kısaca; serum örnekleri 1:2 den başlanarak 2 kat sulandırılarak ve eşit miktarda 100 TCID₅₀ PPRV ile karıştırılarak, 1 saat 37 °C de nötralizasyon için inkübe edildi. Karışım daha sonra Vero hücre kültürüne inoküle edildi ve virus kontrol kuyucuklarında % 100 CPE görülünceye kadar 5-6 gün süreyle inkübe edildi. Virus infektivitesinin % 50 sini önleyen serum sulandırması ortalama nötralizasyon dozu (SN₅₀) olarak kabul edildi.

2.3.2. PPRV Antijeni Saptanmasına Yönelik İmmunoperoksidaz Test Prosedürü

Dokularda PPRV antijenlerinin gösterilmesi amacıyla ticari indirekt immunoperoksidaz streptavidin/biotin immunoperoxidaz kiti (Novacastra, HRP, Katolog no: RE7110-K, USA) kullanıldı ve tüm uygulamalar kit protokolüne uyularak gerçekleştirildi. Buna göre; kesitler üç ksilol serisinde 5'er dakika deparafinize edildi ve absolü alkol, % 95 ve % 70'lik alkol ve distile suda 5'er dakika tutularak rehidre edildi. Dokular metanolde hazırlanmış % 3'lük hidrojen peroksitte 15 dakika tutularak endojenaz peroksidaz aktivitesi giderildi. % 0,1'lik proteinase K ile 37 °C'de enzimatik digesyon uygulandı ve protein bloke edici serumda (Novacastra, Katolog no: RE7102, USA) 7 dakika bekletildi. Sonrasında her bir tavşan anti-PPRV antikoru ile oda ısısında 50 dk süreyle inkube edildi. Biotinle işaretli anti-mouse, rat, rabbit polivalent sekonder antiserumla (Novacastra, Katolog no: RE7103, USA) 15 dakika, streptavidin-peroksidaz enzimi ile 15 dakika tutulduktan sonra renk reaksiyonu için aminoethyl carbasole (AEC) kromojeni ile (Zymed, Lot: 60682605, USA) 15 dakika, karşıt boyama için de Mayer'in hematoksileni ile 1-2 dakika süreyle boyamaları yapıldıktan sonra su bazlı yapıştırıcı ile kapatıldı.

2.3.3. IL-4, IL-10, TNF- α ve IFN- γ Antijenlerinin İmmunoperoksidaz Teknikle Saptanması

2.3.3.1. Monoklonal IL-4, IL-10, TNF- α ve IFN- γ Antikorları

Kullanılan ticari antikorların özellikleri, katolog numaraları, kullanılan antijen gerialma yöntemi ve kullanıldıkları dilüsyonlar çizelge 2.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. İmmunohistokimyasal testlerde kullanılan antikorlar

Firma	Antikor	Ürün No	Antikor Türü	Antijen	Antikor Konağı	Antijen Geri Alma Yöntemi	Kullanılan Dilüsyon
Thermo Scientific	IL-4	PBOIL4I	Poliklonal	Rekombinant Bovine IL-4	Tavşan	Proteinaz K (%0.1)	1/100
Thermo Scientific	IL-10	PBOIL10	Poliklonal	Rekombinant Bovine IL-10	Tavşan	Proteinaz K (%0.1)	1/100
Thermo Scientific	Tnf- α	PBOTNF AI	Poliklonal	TNF- α	Tavşan	Proteinaz K (%0.1)	1/100
Thermo Scientific	IFN- γ	PBOIFN GI	Poliklonal	Rekombinant Bovine IFN gamma	Tavşan	Proteinaz K (%0.1)	1/100

2.3.3.2. IL-4, IL-10, TNF- α ve IFN- γ Antijenlerinin Saptanmasına Yönelik İmmunoperoksidaz Test Prosedürü

Dokularda IL-4, IL-10, TNF- α ve IFN- γ antijenlerinin gösterilmesi amacıyla ticari indirekt immunoperoksidaz streptavidin/biotin immunoperoksidaz kiti (Novacastra, HRP, Katolog no: RE7110-K, USA) kullanıldı ve tüm uygulamalar kit protokolüne uyularak gerçekleştirildi. Buna göre; kesitler üç ksilol serisinde 5'er dakika deparafinize edildi ve absolü alkol, % 95 ve % 70'lik alkol ve distile suda 5'er dakika tutularak rehidre edildi. Dokular metanolde hazırlanmış % 3'lük hidrojen peroksitte 15 dakika tutularak endojenaz peroksidaz aktivitesi giderildi. % 0,1'lik proteinase K ile 37 °C'de enzimatik dijesyon uygulandı ve protein bloke edici serumda (Novacastra, Katolog no: RE7102, USA) 7 dakika bekletildi. Sonrasında her bir kesit; sitokin yanıtın gösterilmesi için ayrı ayrı anti-IL-4, anti-IL-10, anti-TNF- α ve anti-IFN- γ (çizelge 1.4) ile oda ısısında 50 dk süreyle inkube edildi. Biotinle işaretli anti-mouse, anti-rat, anti-rabbit polivalent sekonder antiserumla (Novacastra, Katolog no: RE7103, USA) 15 dakika, streptavidin-peroksidaz enzimi (Novacastra, Katolog no: RE7104, USA) ile 15 dakika tutulduktan sonra renk reaksiyonu için aminoethyl carbasole (AEC) kromojeni ile (Zymed, Lot: 60682605, USA) 15 dakika,

karşıt boyama için de Mayer'in hematoksileni ile 1-2 dakika süreyle boyamaları yapıldıktan sonra su bazlı yapıştırıcı ile kapatıldı.

2.4. Histomorfometrik ve İstatistik Analizler

Çalışmada elde edilen immunohistokimyasal bulgular Olympus DP25 kamera ataçmanlı Olympus BX51 ışık mikroskop altında görüntüledi ve çekilen dijital mikrofotograflar kaydedildi. Pozitif boyanmaların derecesi, BAB Bs200Pro analiz programı ile kantitatif olarak analiz edildi. Buna göre, her dokudan rastgele çekilen en az üç alan fotoğrafı yüzde boyanma oranına göre hesaplandı ve ortalaması alınarak her bir dokunun yüzde boyanma oranı elde edildi. Sağlıklı ve enfekte hayvanlara ait dokuların immunohistokimyasal yöntemle boyanmasının ardından iki grupta elde edilen sonuçlar SPSS paket programı (Versiyon 11.5, Windows) kullanılarak Mann Withney U testi ile yapıldı.

3. BULGULAR

3.1. Histopatolojik Bulgular

Yanak, dil ve akciğer epitellerindeki lezyonların PPRV pozitif ve kontrol grubu hayvanlardaki dağılımı Çizelge 3.1'de verilmiştir.

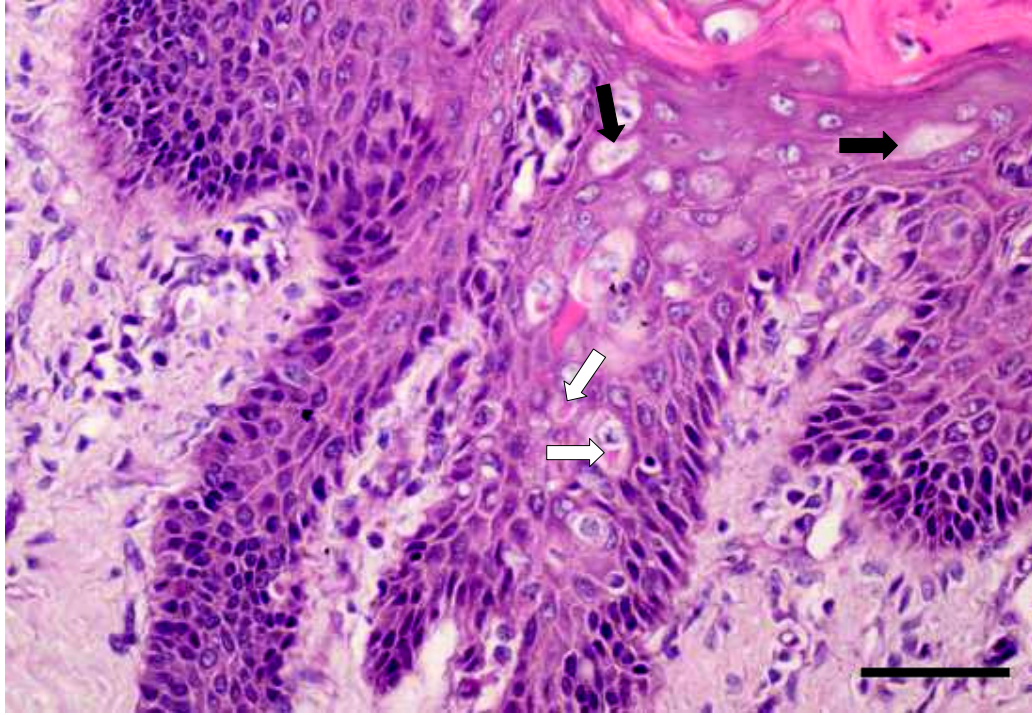
Çizelge 3.1. Histopatolojik skorlamada göz önüne alınan lezyonların PPRV pozitif hayvanlar ve kontrol grubu hayvanlarda yanak mukoza epiteli, dil ve akciğer dağılımı

Lezyonlar	Olgu no	Yanak Mukozası / Dil epiteli										YM/DE Toplam Lezyon skoru	Akciğer							Akciğer Toplam Lezyon skoru
		Tür	Yaş	HVD	HP	SHF	EN	PO	ISC	HI	BH		PL	F	AL	IMH	IC	SBP		
Kontrol grubu hayvanlar	1	Keçi	2 yaşlı	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0
	2	Keçi	2 yaşlı	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0
	3	Keçi	2 yaşlı	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0
	4	Keçi	2 yaşlı	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0
	5	Keçi	2 yaşlı	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0
PPRV pozitif hayvanlar	6	Koyun	1 yaşlı	1/1	1/0	1/0	1/1	1/0	1/1	1/0	7/3	0	0	1	1	1	1	1	1	5
	7	Koyun	4 aylık	1/1	1/0	1/0	1/0	0/0	1/0	1/0	6/1	0	0	1	1	1	1	1	1	5
	8	Koyun	3 aylık	1/0	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	7/6	1	0	0	0	1	0	1	1	3
	9	Koyun	4 aylık	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0	2/1	0	0	1	0	1	0	0	0	2
	10	Keçi	3 yaşlı	1/0	1/1	0/1	1/1	1/1	1/1	0/1	5/6	1	1	1	1	1	1	1	1	7
	11	Keçi	4 yaşlı	1/1	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	7/1	1	1	1	1	1	1	0	0	5
	12	Keçi	3 yaşlı	1/0	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	7/6	1	1	1	1	1	1	1	1	7
	13	Koyun	2 aylık	1/0	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	7/6	1	0	1	1	0	1	1	1	5
	14	Koyun	3 yaşlı	1/0	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	0	0	1	1	0	1	1	1	4
	15	Koyun	3 yaşlı	1/0	0/1	0/0	0/1	0/0	0/0	0/0	1/2	0	1	0	1	0	0	0	0	2
	16	Koyun	3 yaşlı	1/0	1/1	0/0	0/0	0/1	0/0	0/0	2/2	1	0	1	0	1	0	0	0	3
	17	Koyun	3 yaşlı	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	0	0	1	1	0	0	1	1	3
	18	Keçi	1 aylık	1/0	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	0	0	1	1	0	1	0	0	3
	19	Koyun	3 aylık	1/0	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	1	0	1	1	0	1	0	0	4
	20	Keçi	3 aylık	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	1	1	0	0	0	0	0	0	2
	21	Koyun	2 yaşlı	1/0	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	0	0	1	1	0	0	0	0	2
	22	Keçi	3 aylık	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	1	1	0	0	0	0	0	0	2

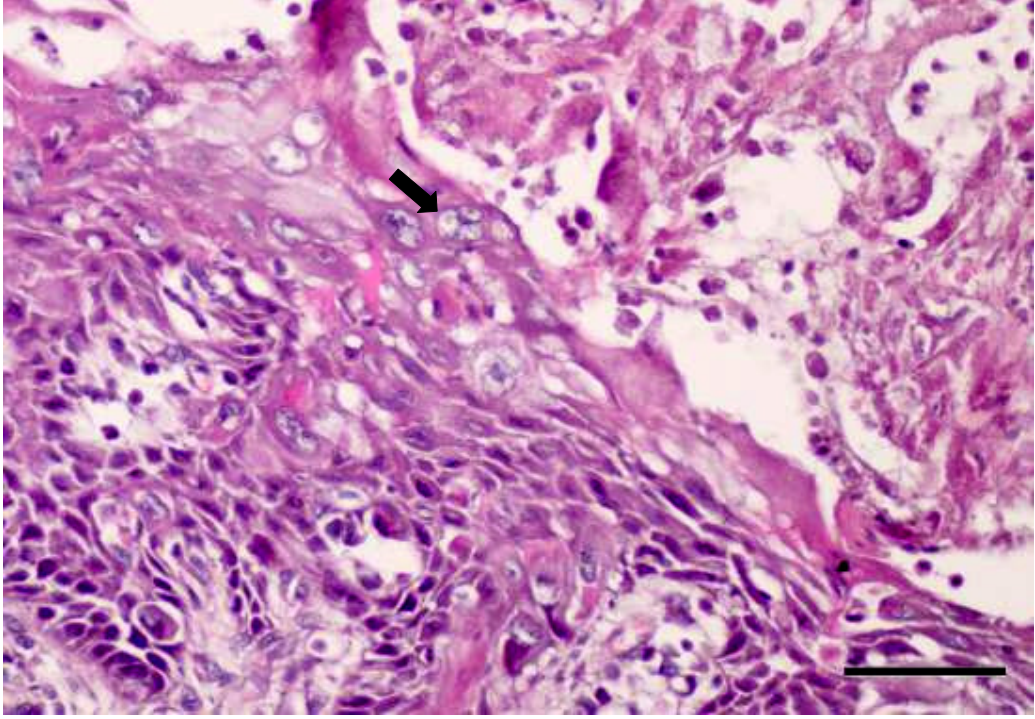
HVD; Hidropik, vakuoler dejenerasyon, HP; Hiperkeratoz, SHF; Sinsityal hücre formasyonu, EN; Epitelyal nekroz , PO; Psödomembran oluşumu, ISC; İntrasitoplazmik ve intranükleer inklüzyon cisimcikleri, HI; Epitelyal doku içinde yangısal hücre infiltrasyonu, BH; Bronş ve bronşiyol epitel hiperplazisi, PL; Peribronşial, peribronşiyol lenfoid manto oluşumu , F; Tip II alveol epitel hiperplazisi (Fötalizasyon), AL; Alveol lümenlerinde sinsityal hücre oluşumu, IMH; İnterstitiyel mononükleer hücre infiltrasyonu, IC; İnküzyon cisimcikleri SBP; Sekonder bakteriyel pnömoni ve nekroz, YM/DE ; Yanak Mukozası / Dil epiteli
0; Lezyon yok 1:Lezyon var

3.1.1. Yanak mukozası ve dil epitelini

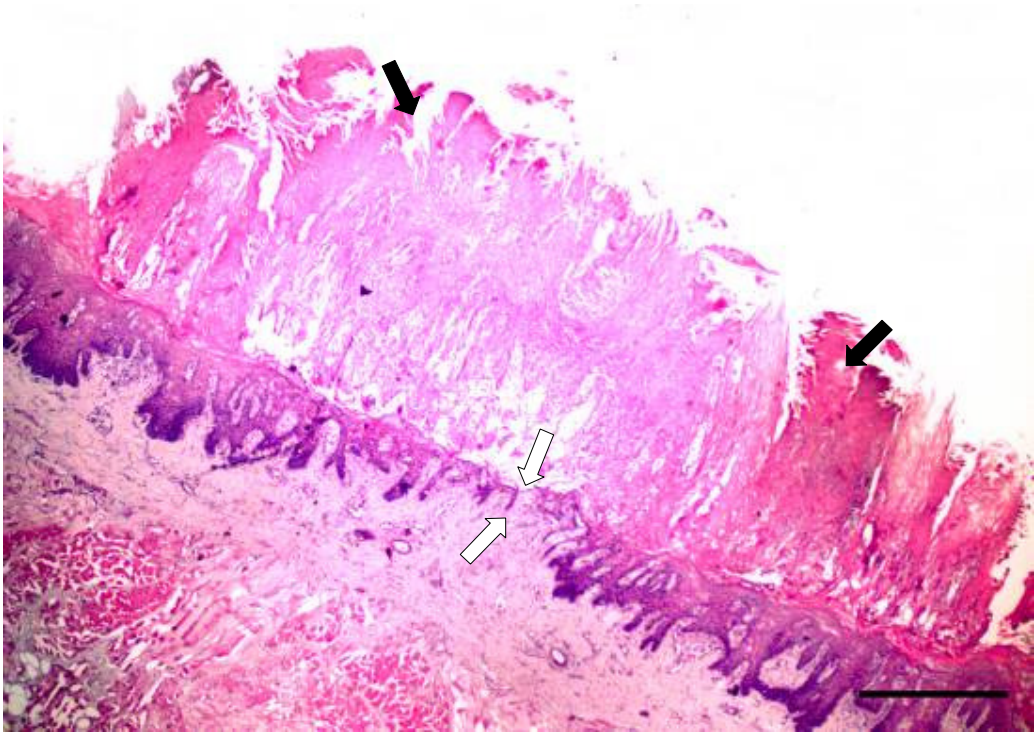
Histopatolojik muayenede; enfekte hayvanların yanak mukozası ve dil epitelinde hidropik ve vakuoler dejenerasyon (Şekil 3.1) görüldü. Yanak epitel hücrelerinin stratum bazaleye kadar yıkımlandığı ve psödomembran oluşumunun (Şekil 3.3) (olgu no:6, 8, 10-13) şekillendiği alanlar göze çarptı. Benzer alanlar dil epitelinde de (olgu no: 8, 10, 12, 13, 16) dikkati çekti. Yanak epitelini (olgu no: 6-8, 10-13, 16) ve dil epitelinde hiperkeratoz (olgu no: 8, 10, 12-16, 18, 19, 21) hemen tüm hayvanlarda gözlemlendi. Çok çekirdekli sinsityal hücre oluşumları (Şekil 3.2) yanak epitelinde (olgu no: 6-8, 11-13) ve dil epitelinde (olgu no: 8, 10, 12, 13) stratum spinozumda görüldü. Epitel nekrozu, yanak (olgu no: 6-8, 10-13) ve dilde (olgu no: 6, 8, 10, 12, 13, 15) oldukça belirgindi. Sitoplazmik ve intranükleer inklüzyon cisimcikleri (Şekil 3.4) yanak (olgu no: 6-8, 11-13) ve dil (olgu no: 6, 8, 10, 12, 13) epitelinde oldukça belirgindi. Epitelyal doku içinde nötrofil lökosit, makrofaj veya plazma hücreleri yanak (olgu no: 6-13) ve dilde (olgu no: 8, 10, 12, 13) görüldü.



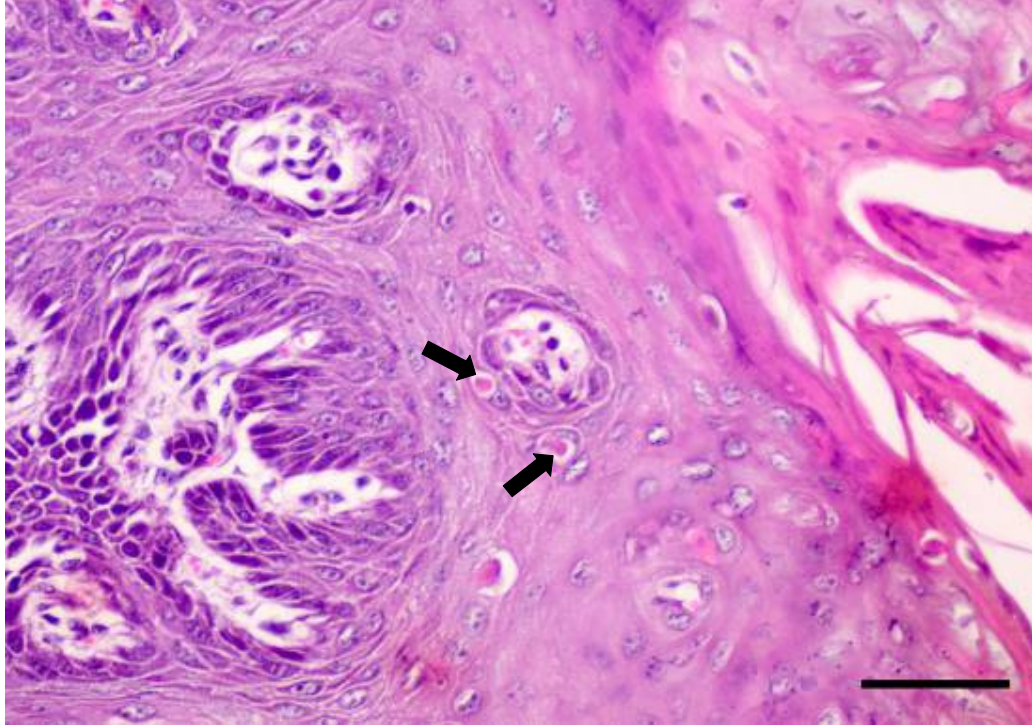
Şekil 3.1. Mukoza epitelinde hidropik ve vakuoler dejenerasyon (siyah oklar) ve intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri (beyaz oklar), dil, olgu no; 8, HE. Bar= 50 µm.



Şekil 3.2. Mukozada sinsityal hücre ve eozinofilik intranükleer inklüzyon cisimciği (ok), dil, yanak mukozası, olgu no; 8, HE. Bar= 50µm.



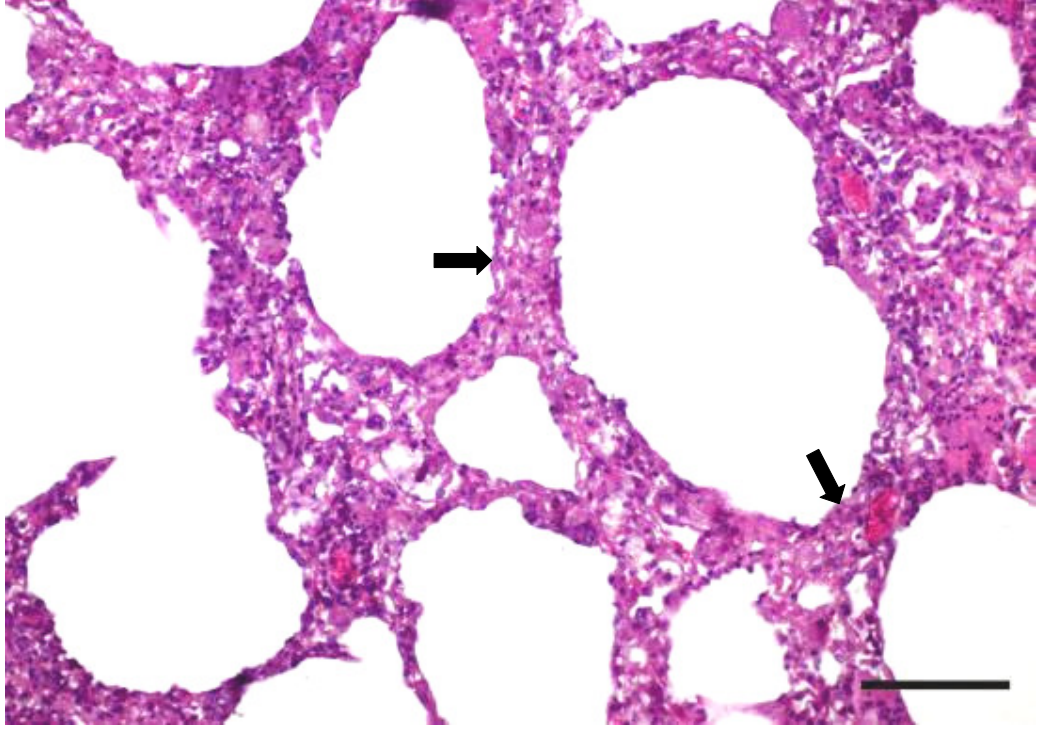
Şekil 3.3. Mukozada psödomembran oluşumu (siyah oklar) ve erozyona uğramış epitel katmanı (beyaz oklar arası), dil, olgu no; 7, HE. Bar= 500 µm.



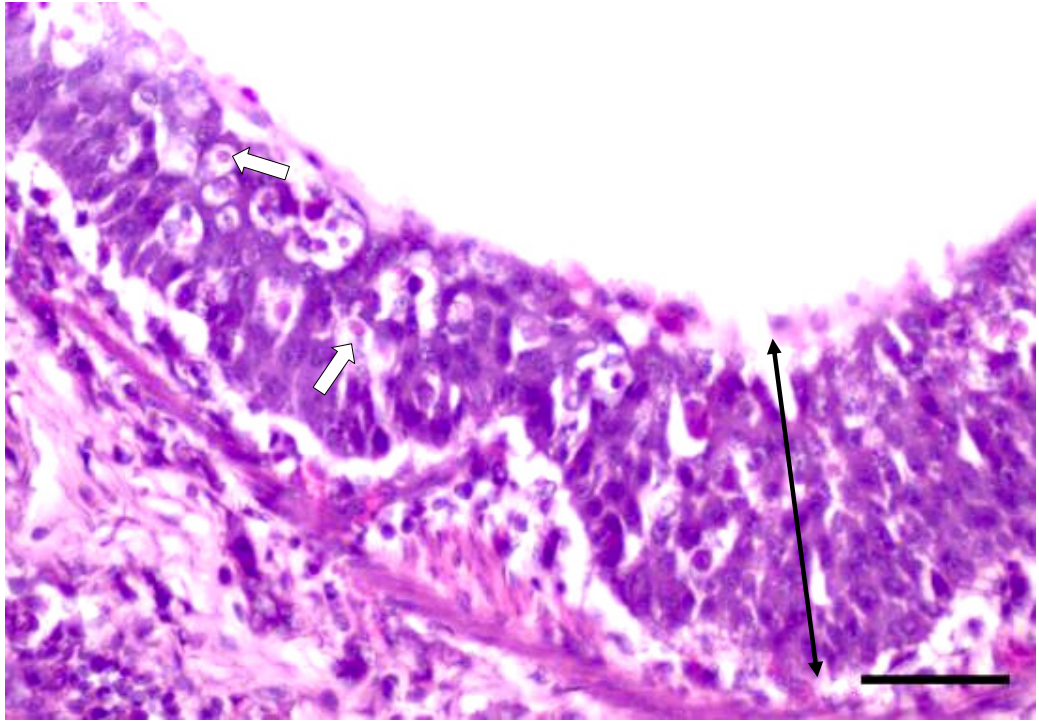
Şekil 3.4. Mukoza epitel hücrelerinde intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri (oklar), yanak mukozası, olgu no; 7, HE. Bar= 50 µm.

3.1.2. Akciğerler

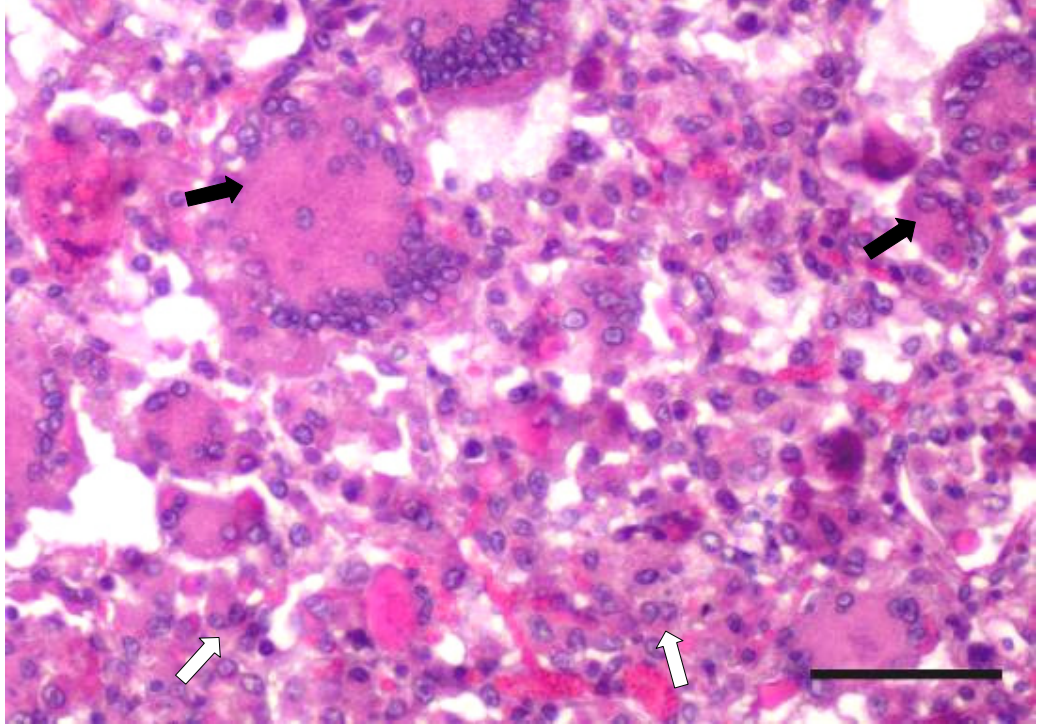
Peste des petits ruminants virüs enfeksiyonunda akciğerlerde; akut interstisyel pnömoni ve akut kataral bronkopnömoni ile uyumlu bulgular gözlemlendi. Bronş ve bronşiyol çevreleri (olgu no: 10-12, 15, 20, 22) ve interalveoler septal dokuda mononükleer hücre infiltrasyonları (Şekil 3.5 ve 3.8) (olgu no: 6-12, 16) görüldü. Bronş ve bronşiyol epitel hiperplazisi (Şekil 3.6) (olgu no: 8, 10, 11-13, 16, 19, 20, 22) mevcuttu. İnterstisyel pnömoninin bir özelliği olan Tip II alveol epitel hiperplazisi 13/17 olguda (olgu no: 6, 7, 9-14, 16-19, 21) dikkati çekti. Alveol lümenlerinde sinsityal hücre oluşumu 12/17 olguda (olgu no: 6, 7, 10-15, 17-19, 21) görüldü (Şekil 3.7). Sinsityal hücrelerde, bronş ve bronşiyol epitel hücrelerinde eozinofilik inklüzyon cisimcikleri (olgu no:6, 7, 10, 12-14, 18, 19) dikkati çekti. Bazı akciğerlerde bronkopnömoni ve fibrinli pnömoni (olgu no: 6-8, 10, 12-14, 17) tablosu da içermekteydi.



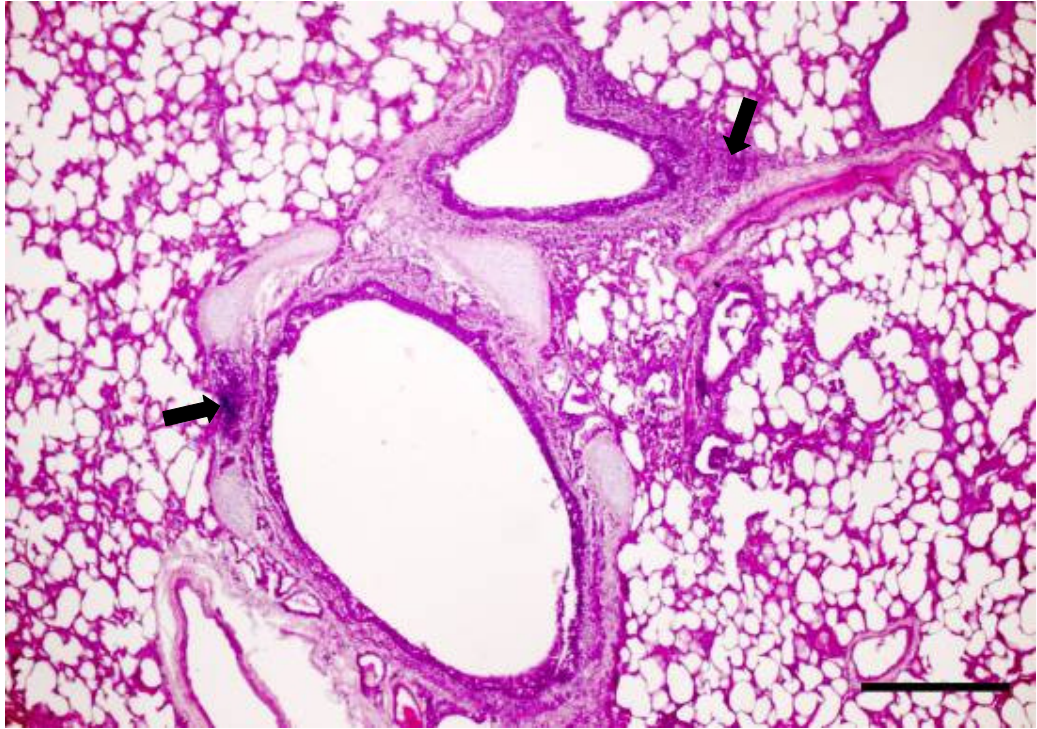
Şekil 3.5. İnteralveolar septada kalınlaşma (siyah oklar), akciğer, olgu no; 10, HE. Bar= 200 μ m.



Şekil 3.6. Bronş epitellerinde hiperplazi (siyah ok başları arası) ve intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri (beyaz oklar), akciğer, olgu no; 13, HE. Bar= 50 μ m.



Şekil 3.7. Sinsityal hücre oluşumu (siyah oklar) ve tip II alveol epitel hiperplazisi (beyaz oklar), akciğer, olgu no; 10, HE. Bar= 50 µm.



Şekil 3.8. Peribronşiyal ve peribronşiyolar manşet oluşumu (oklar) akciğer, olgu no; 15, HE. Bar= 500 µm.

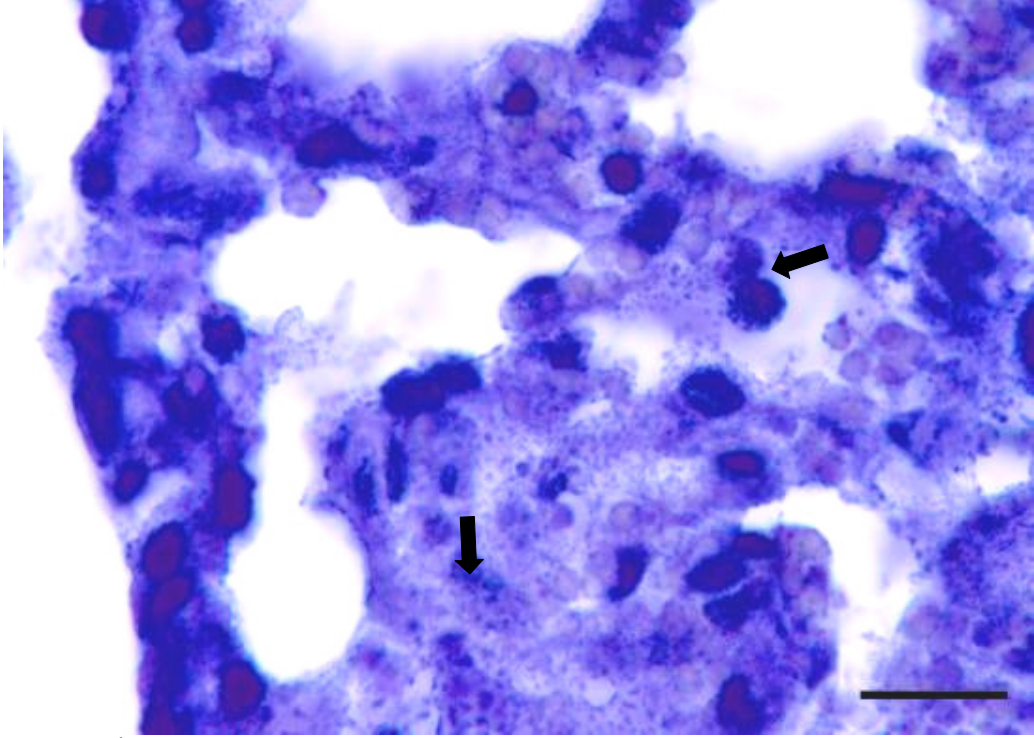
3.2. Gram Boyama Bulguları

Peste des Petits ruminants virüsü ile enfekte keçi ve koyunlara ait Gram boyama sonuçları çizelge 3.2’de gösterilmiştir. Yanak mukoza epiteli ve dil epitelinde 4 hayvanda, akciğerlerde ise 5 hayvanda Gram (+) bakteri varlığı saptandı. Dil ve yanak mukozası epitelinde psödomembran oluşumlarında (Şekil 3.10), akciğerlerde ise bronkopnömonik alanlarla fagositik hücre sitoplazmalarında (Şekil 3.9) bakteri kümelerine rastlandı. Kontrol grubunda Gram boyama ile herhangi bir bakteri varlığına rastlanılmadı.

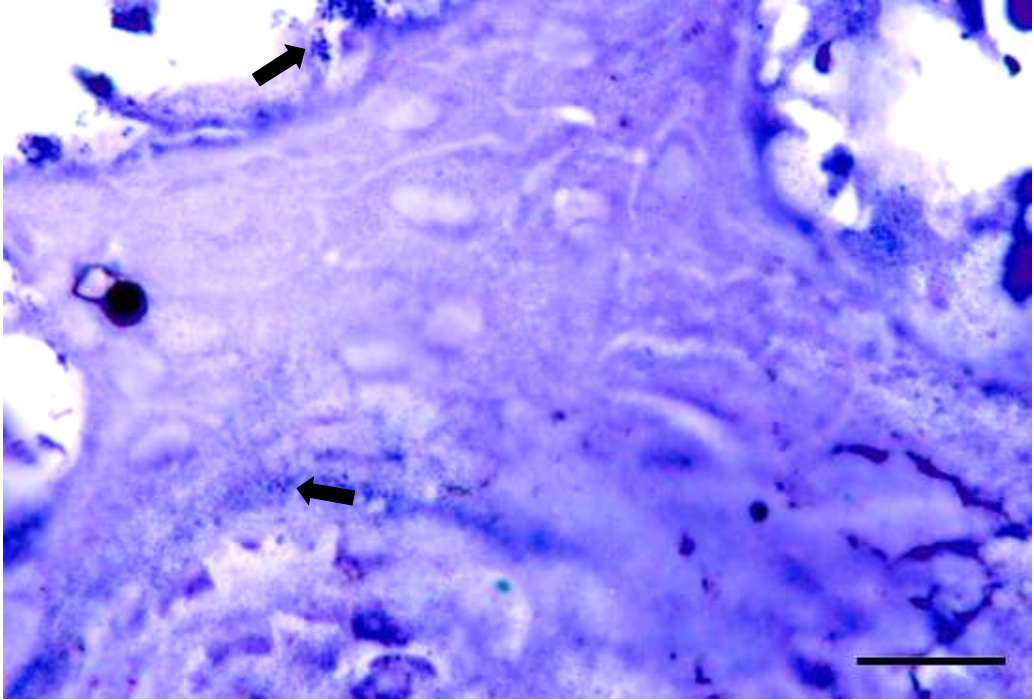
Çizelge 3.2. Dokularda Gram boyama ile gösterilen bakterilerin varlığı

Hayvan no	Yanak mukoza epiteli	Dil epiteli	Akciğer
1*	Negatif	Negatif	Negatif
2*	Negatif	Negatif	Negatif
3*	Negatif	Negatif	Negatif
4*	Negatif	Negatif	Negatif
5*	Negatif	Negatif	Negatif
6	Gram (+)	Gram (+)	Gram (+)
7	Gram (+)	Gram (+)	Negatif
8	Negatif	Negatif	Negatif
9	Negatif	Negatif	Negatif
10	Negatif	Negatif	Gram (+)
11	Gram (+)	Gram (+)	Negatif
12	Gram (+)	Gram (+)	Gram (+)
13	Negatif	Negatif	Negatif
14	Negatif	Negatif	Negatif
15	Negatif	Negatif	Negatif
16	Negatif	Negatif	Negatif
17	Negatif	Negatif	Negatif
18	Negatif	Negatif	Negatif
19	Negatif	Negatif	Negatif
20	Negatif	Negatif	Gram (+)
21	Negatif	Negatif	Negatif
22	Negatif	Negatif	Gram (+)

* : Kontrol grubu hayvanlar. Negatif: Gram (+) veya (-) bakterinin olmadığını göstermektedir.



Şekil 3.9. İnterstisyel doku ve alveol lümeninde bakteri kümeleri (oklar), akciğer, olgu no; 7, Gram Boyama, Bar=20µm.



Şekil 3.10. Mukozada psödomembran oluşumunda bakteri kümeleri (oklar), yanak mukozası, olgu no; 8, Gram Boyama, Bar=20µm.

3.3. İmmunoperoksidaz Bulgular

Peste des petits ruminants virüsü ile enfekte hayvanların immunopozitif reaksiyon gösteren dokuları Çizelge 3.3’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. İmmunoperoksidaz testte Peste des Petits Ruminants Virüs antijeni boyanma sonuçları

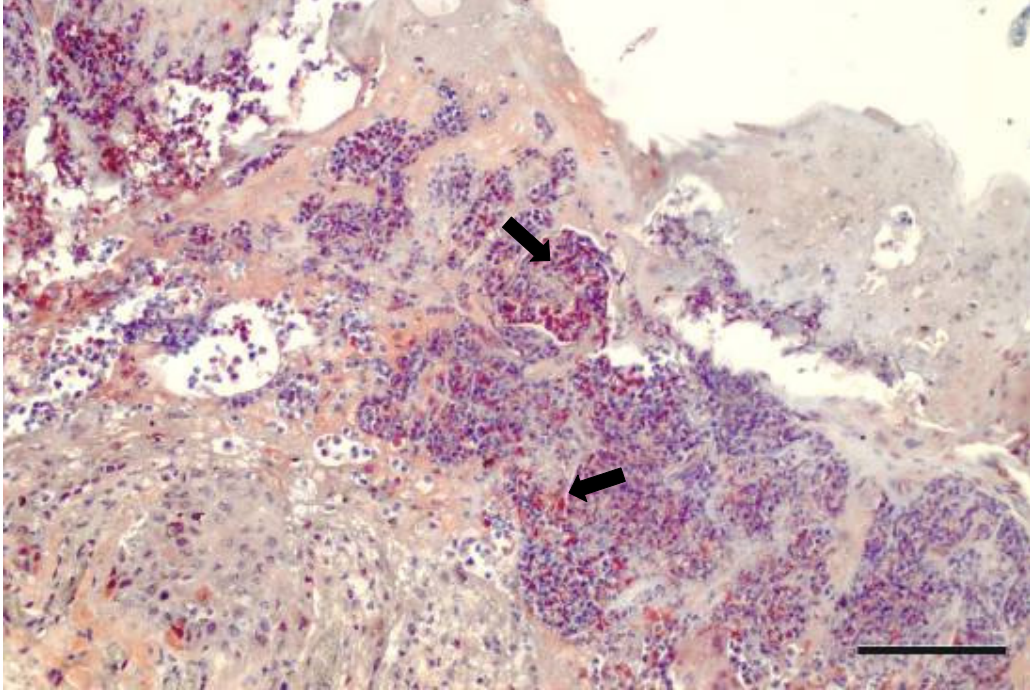
Hayvan no	Yanak mukoza epiteli	Dil epiteli	Akciğer
1*	-	-	-
2*	-	-	-
3*	-	-	-
4*	-	-	-
5*	-	-	-
6	+	+	+
7	+	-	+
8	+	+	-
9	-	-	+
10	+	+	+
11	+	-	+
12	+	+	-
13	+	+	+
14	-	-	+
15	-	+	+
16	+	+	-
17	-	-	+
18	+	-	+
19	-	-	+
20	-	+	+
21	-	-	+
22	-	-	+

* Kontrol grubu hayvanlar

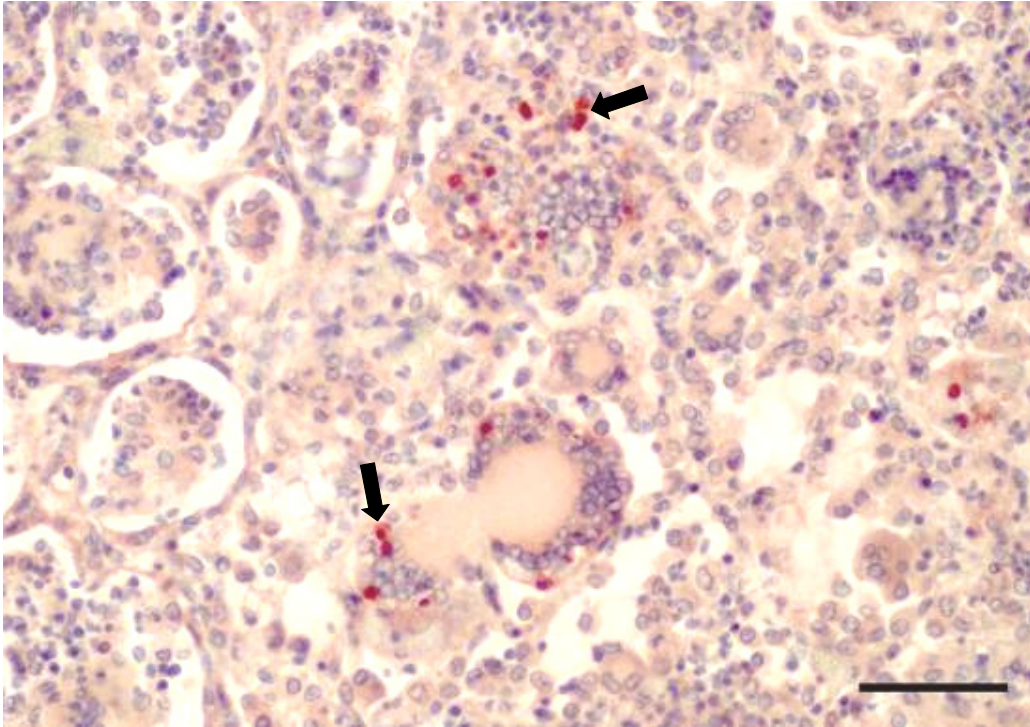
3.3.1. PPRV antijeni immunoperoksidaz bulguları

Yanak mukozası ve dil epitelinde psödomembran şekillenen dokular, eroziv ve ülseratif alanlardaki nekrotik epitel hücreleri ve bazal membranın hemen yakınında yerleşim gösteren kısmen sağlam görünümlü epitel hücrelerinde yoğun PPRV antijeni immunopozitif reaksiyonlar (Şekil 3.11) tespit edildi. Bunun yanısıra, lenfosit ve nötrofil lökosit infiltrasyonlarının bulunduğu alanlar da immunoreaktifti. Kıl folikülleri çevresindeki makrofajların pozitif boyanma gösterdiği belirlendi. Sinsityal hücre şekillenen dil ve yanak mukozası epitelinde 3 olgu da (olgu no: 8, 12, 13) sinsityal hücrelerin immunopozitif reaksiyonlar gösterdiği dikkati çekti. Yanak ve dil submukozasında kas demetleri arasındaki kapillar damarlar çevresindeki makrofajlar ve damar endotel hücrelerinin bazılarının immunopozitif olduğu görüldü.

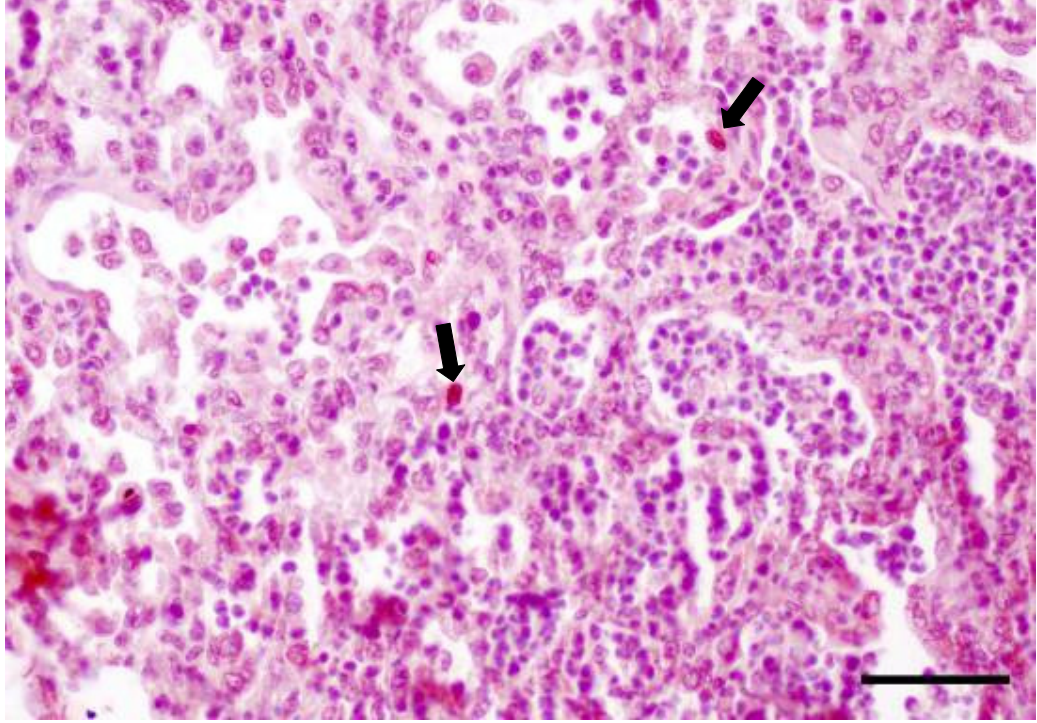
Akciğerlerde PPRV pozitif immunreaksiyonlara, daha çok alveoler lümenindeki nekrotik epitel ve nötrofil infiltrasyonlarının oluşturduğu alanlarda rastlandı (olgu no: 6, 7, 10, 13-14, 17). İnteralveoler dokuda mononükleer hücrelerde (Şekil 3.13) ve bazı sinsityal hücrelerde intranükleer ve sitoplazmik pozitif reaksiyonlar (Şekil 3.12) dikkati çekti (olgu no: 6, 7, 10, 13, 17, 19). Bronş ve bronşiyol epitellerinde (Şekil 3.14) ve alveolar makrofajlarda da yoğun olarak immunopozitif reaksiyonlara rastlandı (olgu no: 10, 11, 13, 14, 15).



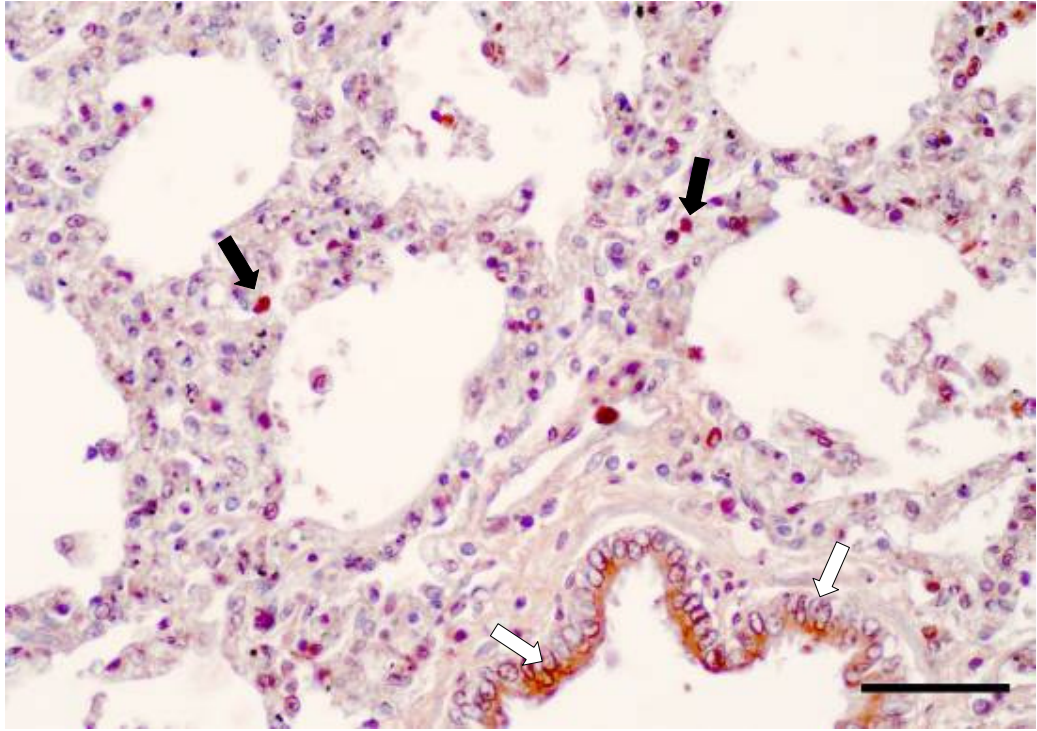
Şekil 3.11. Mukoza epitel hücrelerinde PPRV antijenine karşı immunopozitif boyanmalar (oklar), yanak mukozası, olgu no; 11, ABC metod (anti-PPRV), Bar= 200 μ m.



Şekil 3.12. Sinsityal hücrelerde immunopozitif boyanmalar (oklar), akciğer, olgu no; 13, ABC metod (anti-PPRV), Bar=50 μ m.



Şekil 3.13. İnteralveolar bölgede mononükleer hücrelerde immunopozitif boyanmalar (oklar), akciğer, olgu no; 11, ABC metod (anti-PPRV), Bar=50µm.



Şekil 3.14. İnteralveolar bölgede mononükleer hücrelerde (siyah oklar) ve bronşiyolar epitel hücrelerinde immunopozitif boyanmalar (beyaz oklar), akciğer, olgu no; 10, ABC metod (anti-PPRV), Bar=50µm.

3.3.2. Sitokin immunoperoksidaz bulguları

İnterferon gamma, TNF- α , IL-4 ve IL-10 antikorları ile PPRV enfekte ve kontrol grubu hayvanların akciğer, yanak mukozası ve dil epiteline yapılan immunoperoksidaz testler sonucunda elde edilen istatistiksel veriler ve önemlilik dereceleri Çizelge 3.4’de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Akciğer, yanak mukozası ve dil epiteline yapılan immunoperoksidaz testler sonucunda elde edilen istatistiksel veriler ve önemlilik dereceleri

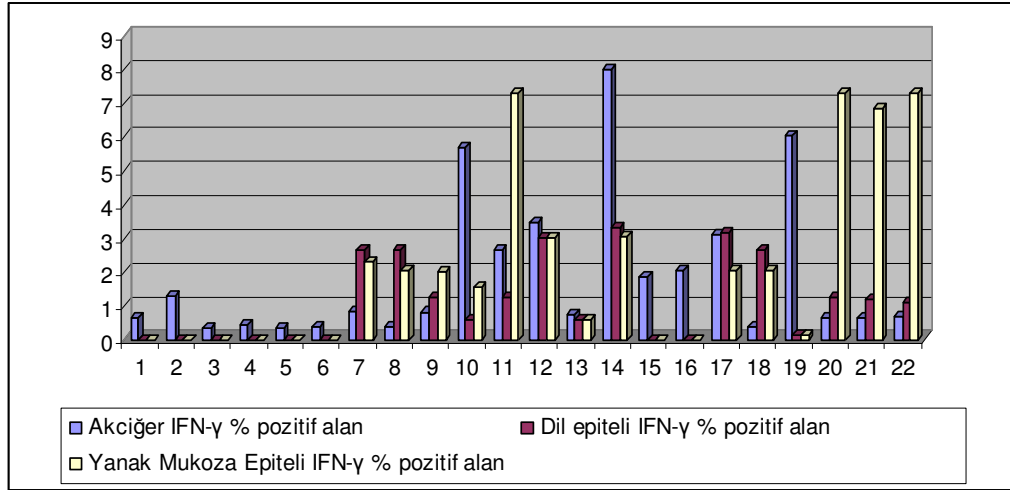
Sitokin	Doku	Kontrol Grubu	PPR pozitif hayvanlar	Önemlilik Derecesi (p< 0.05)
IFN- γ	Akciğer	0,606 \pm 0,404	2,267 \pm 2,321	0,031*
	Yanak Mukozası	0,007 \pm 0,001	2,798 \pm 2,702	0,003*
	Dil	0,006 \pm 0,001	1,461 \pm 1,198	0,003*
TNF- α	Akciğer	0,030 \pm 0,0261	0,299 \pm 0,614	0,011*
	Yanak Mukozası	0,001 \pm 0	0,546 \pm 0,711	0,031*
	Dil	0,001 \pm 0	0,445 \pm 0,588	0,048*
IL-4	Akciğer	0,010 \pm 0,004	0,010 \pm 0,002	0,880
	Yanak Mukozası	0,010 \pm 0	0,024 \pm 0,059	0,880
	Dil	0,012 \pm 0,001	0,048 \pm 0,145	0,880
IL-10	Akciğer	0,011 \pm 0,002	0,011 \pm 0,002	0,820
	Yanak Mukozası	0,010 \pm 0,002	0,010 \pm 0,002	0,704
	Dil	0,010 \pm 0,004	0,015 \pm 0,006	0,120

* (p<0.05), istatistiksel olarak önem gösterdiğini belirtir.

3.3.2.1. IFN-gamma immunoperoksidaz bulguları

İnterferon gamma % alan immunoperoksidaz boyanma durumları şekil 3.15’te gösterilmiştir. Peste des petits ruminants virüsü ile enfekte keçi ve koyunların akciğerlerinde IFN- γ immunopozitiflikleri daha çok bronkopnömonik lezyonların bulunduğu alanlarda gözlendi. Bu alanlarda IFN- γ immunopozitif hücreler interalveolar alanlarda yoğundu. IFN- γ pozitif hücelere peribronşiyal manşet oluşumu şekillenmiş alanlarda lenfosit morfolojisi gösteren hücrelerde (Şekil 3.19) rastlandı. Alveolar epitel hücreleri ve alveolar makrofaj benzeri hücrelerde de (Şekil

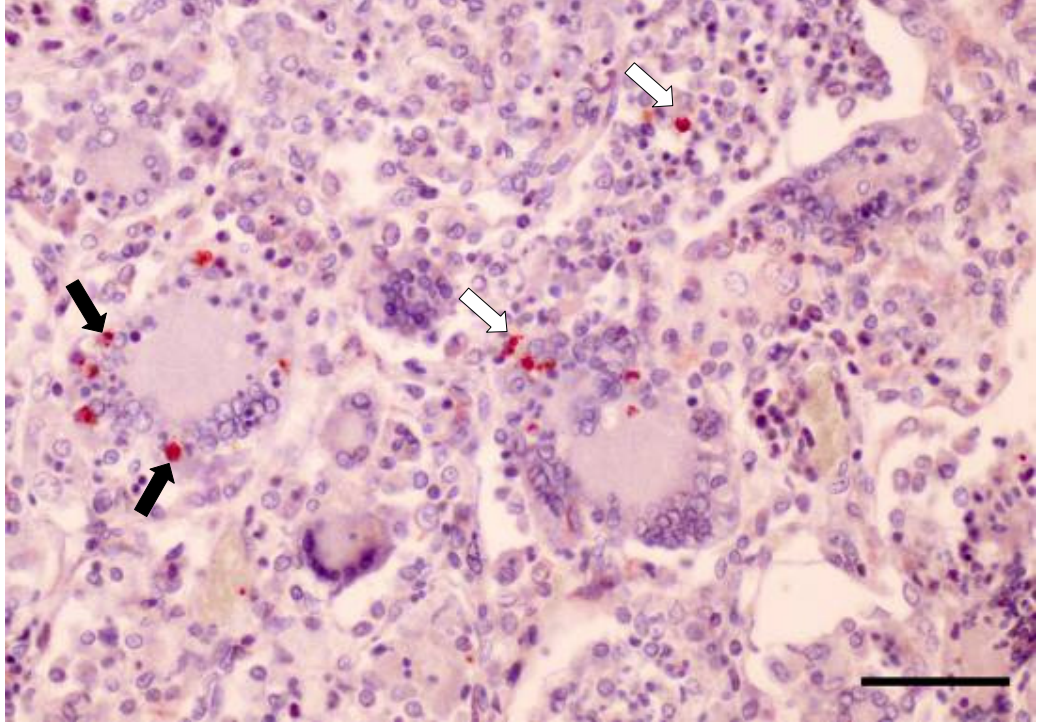
3.18 ve 3.20) immunopozitif reaksiyonlar gözlemlendi. Bazı bronşiyolar epitel hücrelerin IFN- γ immunoreaktif olduğu (Şekil 3.21) tespit edildi. Sinsityal hücre formasyonu görülen bazı akciğerlerde (Olgu no: 7, 11, 14) (Şekil 3.16 ve 3.17), bu hücrelerin bazılarının da immunopozitiflik gösterdiği dikkati çekti.



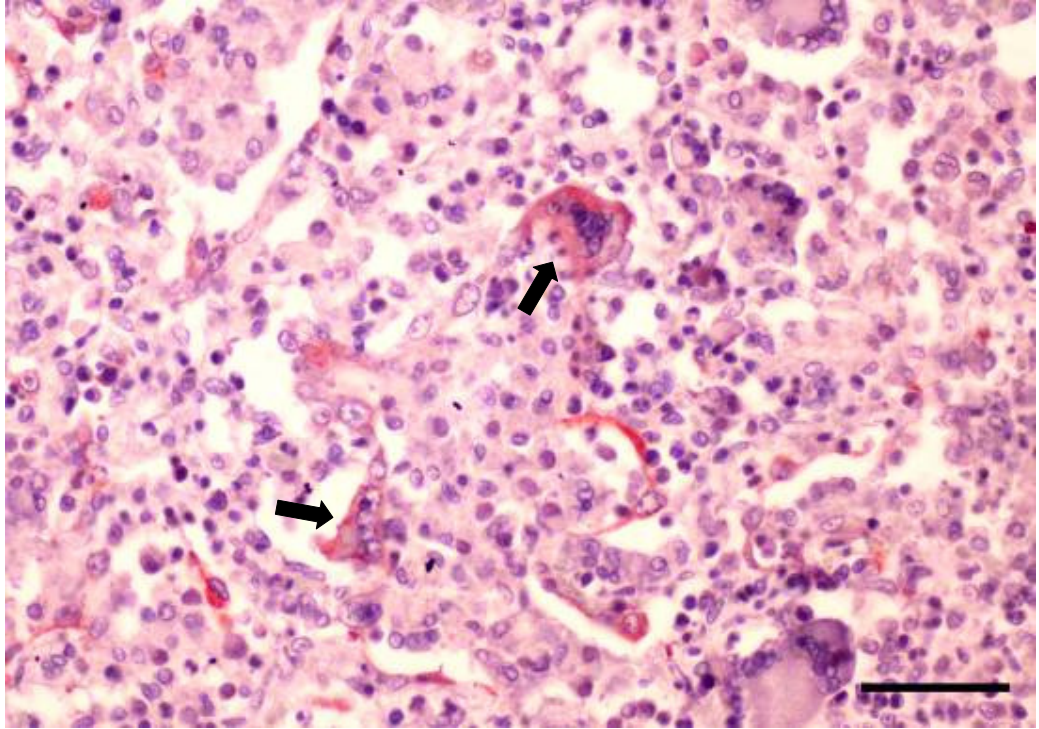
Şekil 3.15. PPRV pozitif ve kontrol grubu hayvanlarında IFN- γ % pozitif alan değerleri (1-5 arası kontrol grubu, 6-22 arası PPRV pozitif hayvanlar).

Dil epitelisi ve yanak mukozasında IFN- γ pozitiflikleri daha çok bazal tabakanın üstünde, stratum spinosum katında belirgindi. Psödomembran oluşumunun belirgin olduğu lezyonlarda keratin ve nekrotik dokuların oluşturduğu debriste IFN- γ pozitif alanlara rastlandı. Submukozada ise kapillar damarların endotel hücrelerinde ve hemen çevresindeki fibroblast hücrelerinin pozitif boyandığı gözlemlendi (Şekil 3.22 ve 3.23). Submukozadaki kas hücre çekirdekleri (Şekil 3.24), bununla birlikte kas demetleri arasında bulunan kapillar damar lümenleri, endotel hücreleri ve fibroblast hücreleri IFN- γ immunopozitif. Yine submukozada yer alan bez epitel hücrelerinde de IFN- γ pozitif boyanmalara rastlandı (Şekil 3.25).

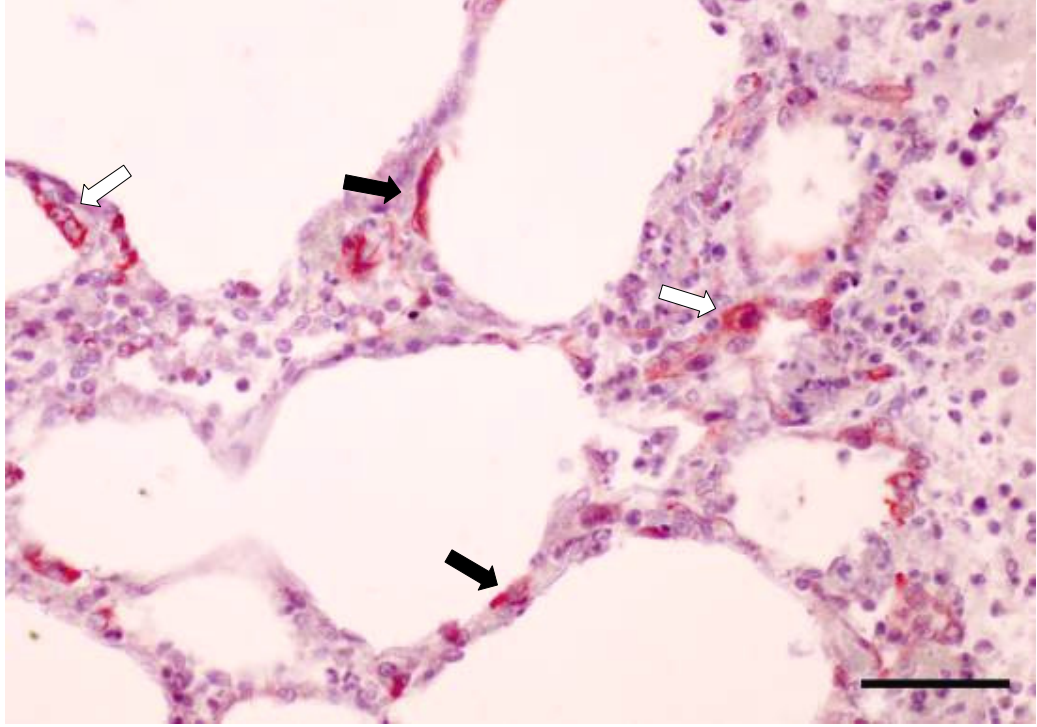
Kontrol grubundaki hayvanların akciğerlerinde interalveolar bölgede lenfosit morfolojisi gösteren bazı hücrelerde IFN- γ pozitif reaksiyon gözlemlendi (Şekil 3.26). Dil epitelisi ve yanak mukozasında pozitif alanlar ve hücre sayısı oldukça azdı (Şekil 3.27).



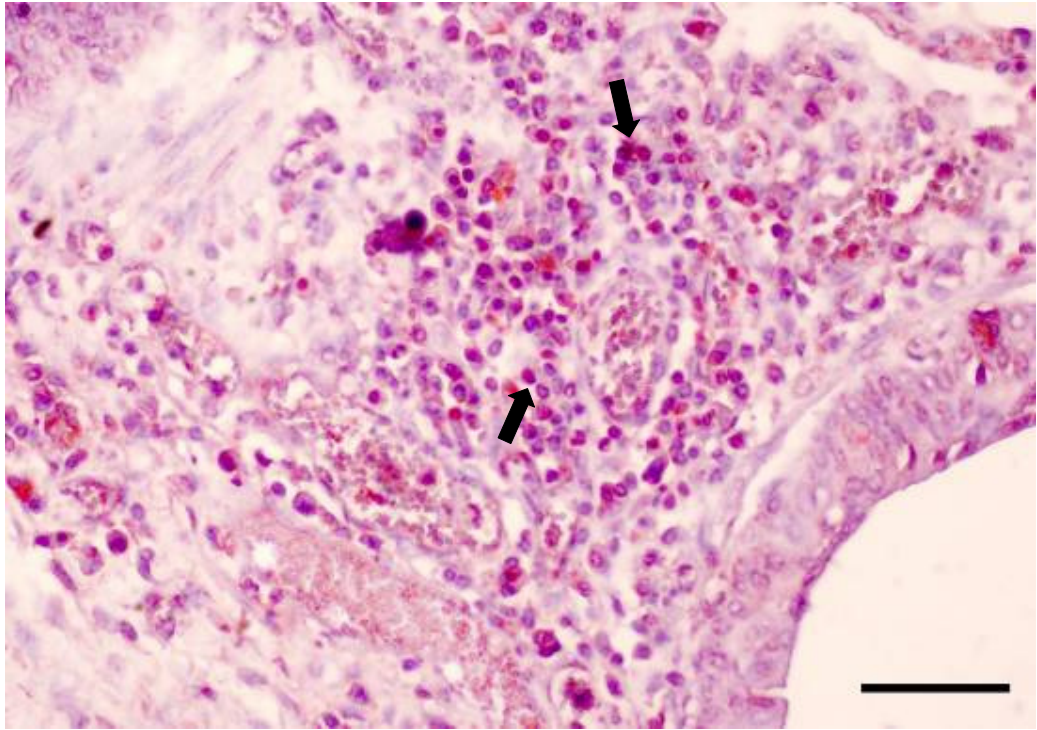
Şekil 3.16. Sinsityal hücrelerde (siyah oklar) ve mononükleer hücrelerde immunopozitif boyanmalar (beyaz oklar) , akciğer, olgu no: 6, ABC metod (anti-IFN- γ), Bar=50 μ m.



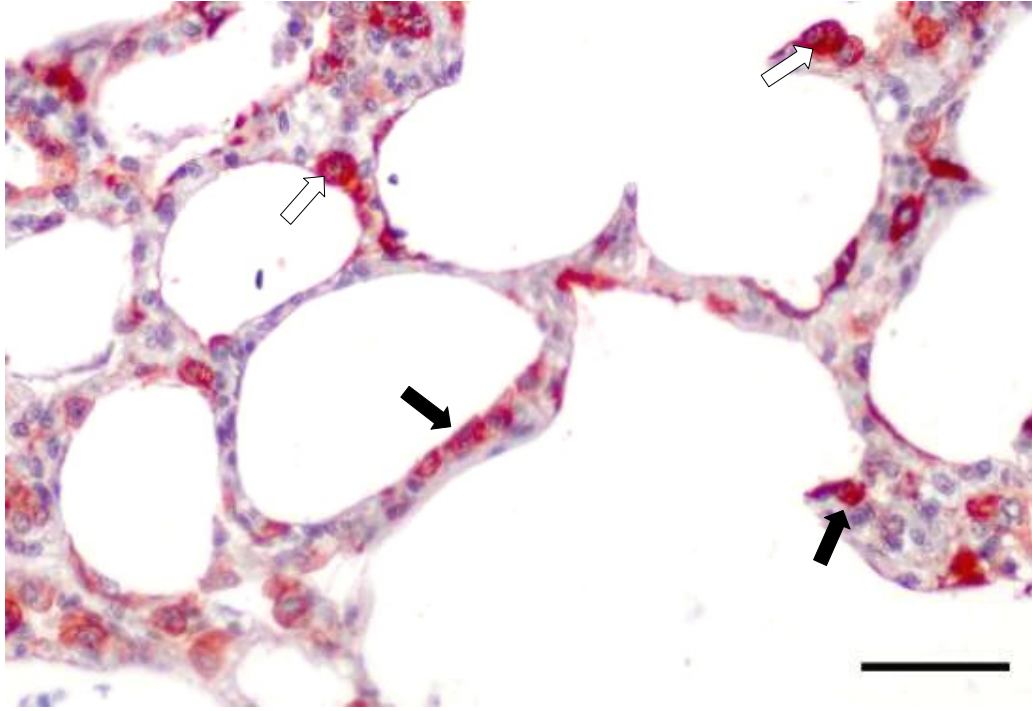
Şekil 3.17. Sinsityal hücrelerde sitoplazmik immunopozitif boyanmalar (oklar), akciğer, olgu no; 10, ABC metod (anti-IFN- γ), Bar=50 μ m.



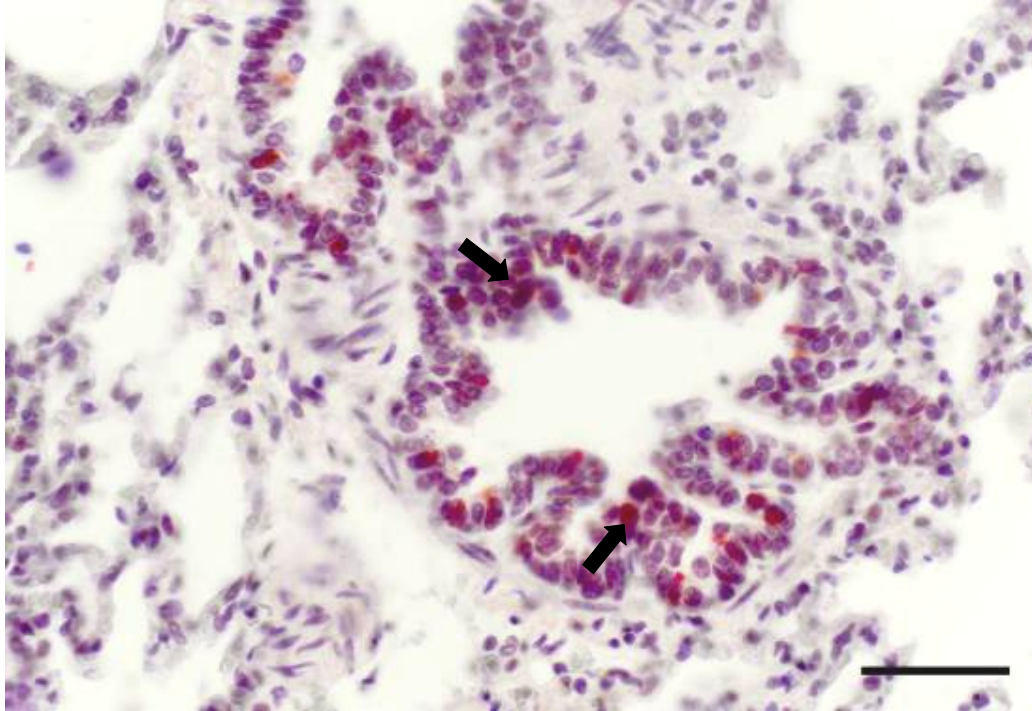
Şekil 3.18. Alveol epitel hücrelerinde (siyah oklar) ve alveolar makrofajlarda immunopozitif boyanmalar (beyaz oklar), akciğer, olgu no; 7, ABC metod (anti-IFN- γ), Bar=50 μ m.



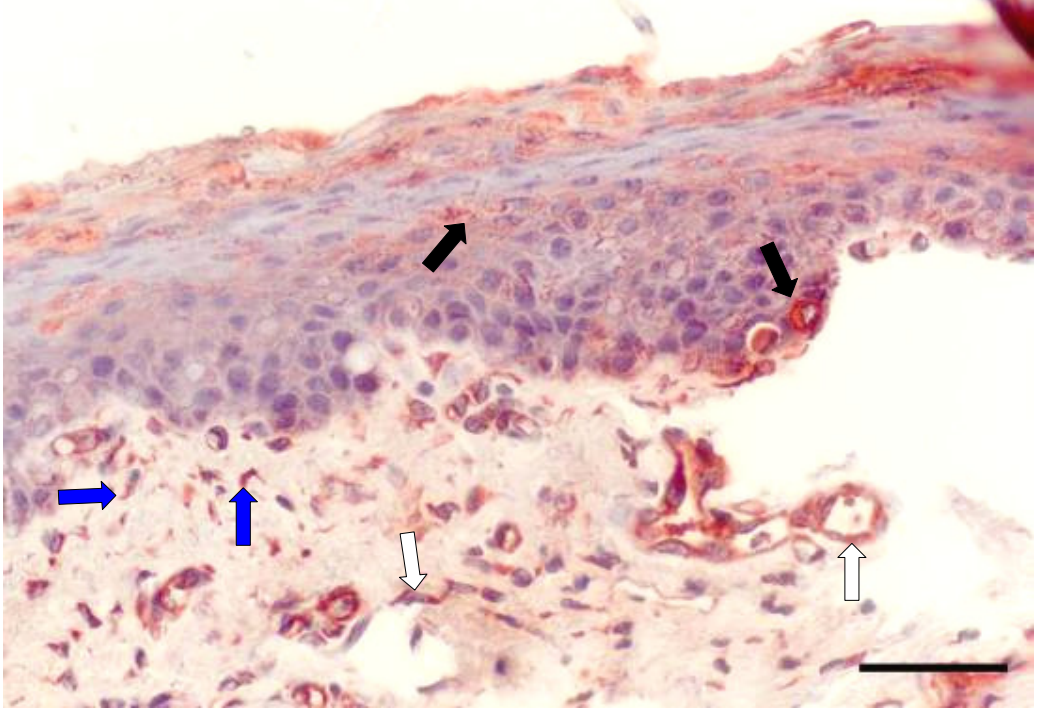
Şekil 3.19. Peribronşiyal mononükleer hücrelerde immunopozitif boyanmalar (oklar) , akciğer, olgu no; 11, ABC metod (anti-IFN- γ), Bar=50 μ m.



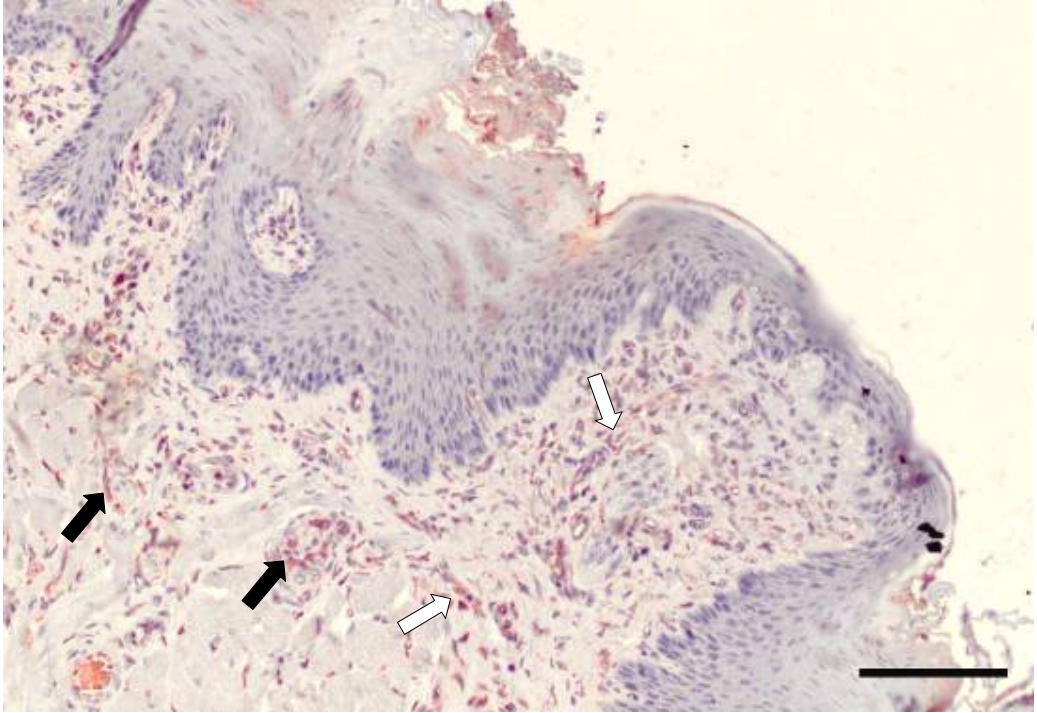
Şekil 3.20. Alveol epitel hücrelerinde (siyah oklar) ve alveolar makrofaj benzeri hücrelerde (beyaz oklar) immunopozitif boyanmalar, akciğer, olgu no; 9, ABC metod (anti-IFN- γ), Bar=50 μ m.



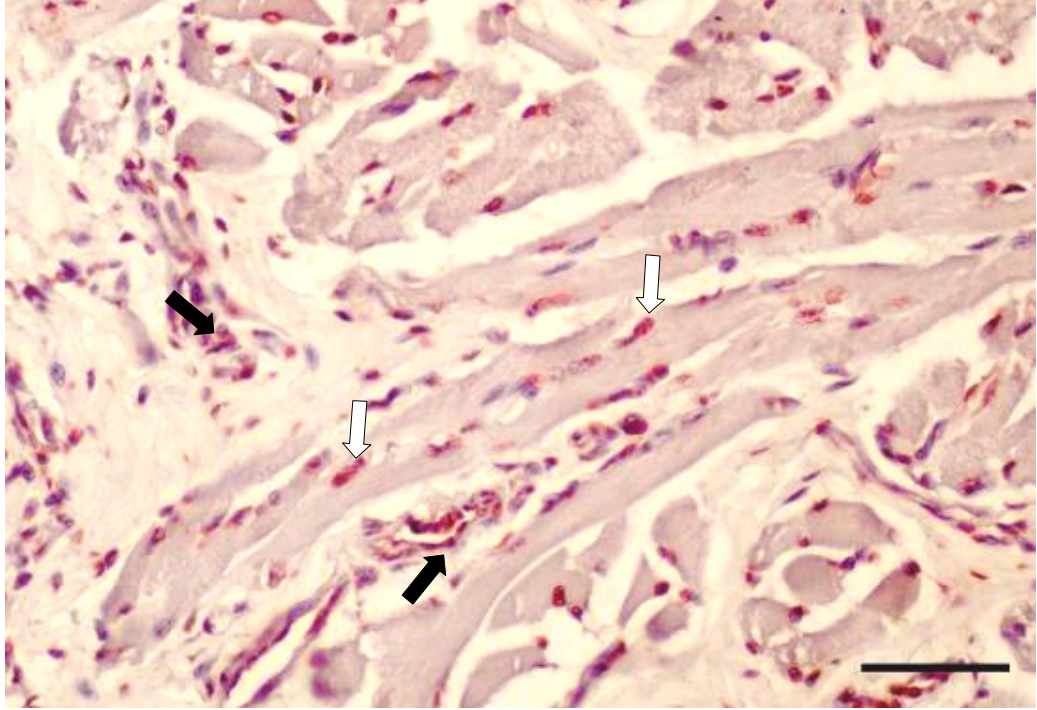
Şekil 3.21. Bronşiyol epitel hücrelerinde (oklar) immunopozitif boyanmalar, akciğer, olgu no; 10, ABC metod (anti-IFN- γ), Bar=50 μ m.



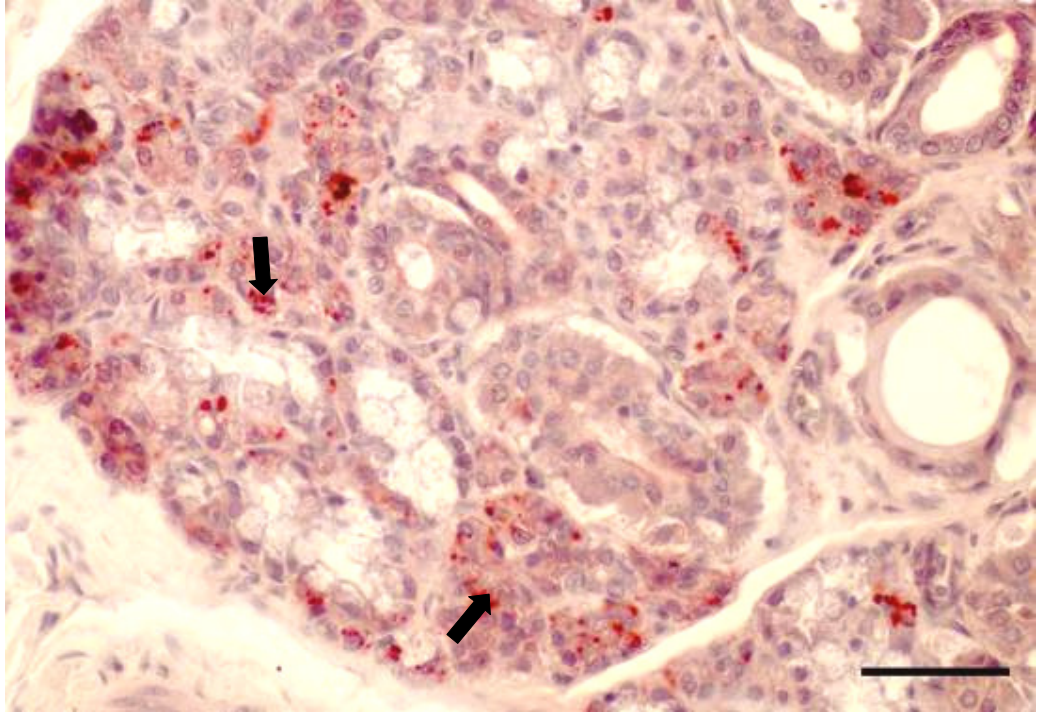
Şekil 3.22. Mukoza epitel hücrelerinde (siyah oklar) ve submukozada damar endotel hücreleri (beyaz oklar) ve iğsi hücrelerde (mavi oklar) immunopozitif boyanmalar, dil, olgu no; 8, ABC metod (anti-IFN- γ), Bar=50 μ m.



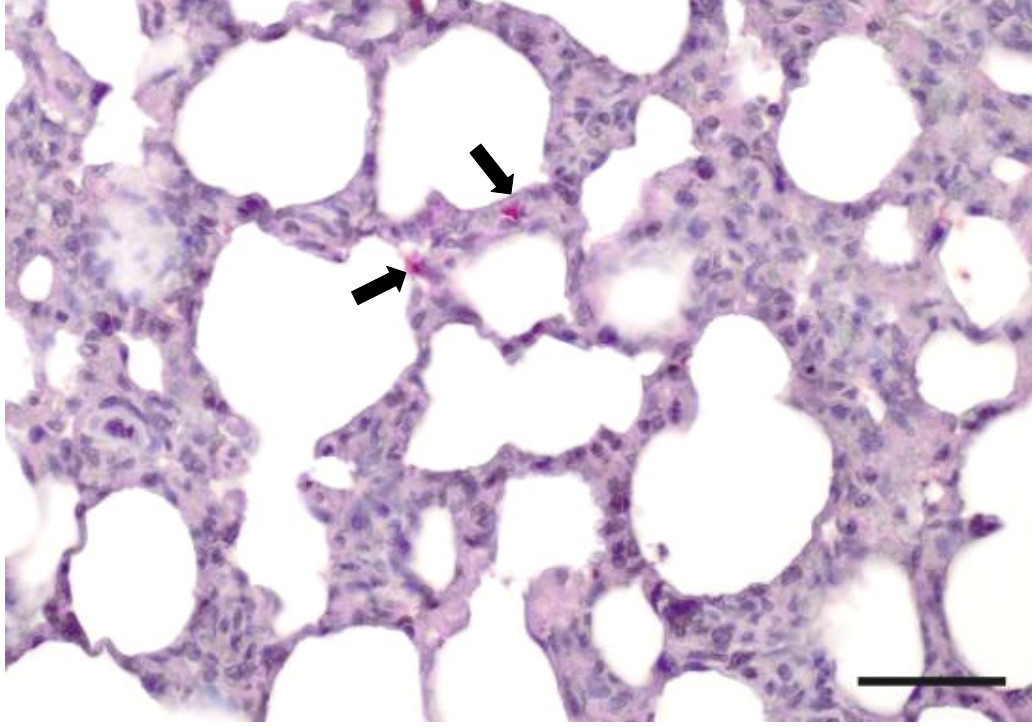
Şekil 3.23. Submukozada damar endotel hücreleri (siyah oklar) ve iğsi hücrelerde (beyaz oklar) immunopozitif boyanmalar, dil, olgu no; 10, ABC metod (anti-IFN- γ), Bar=200 μ m.



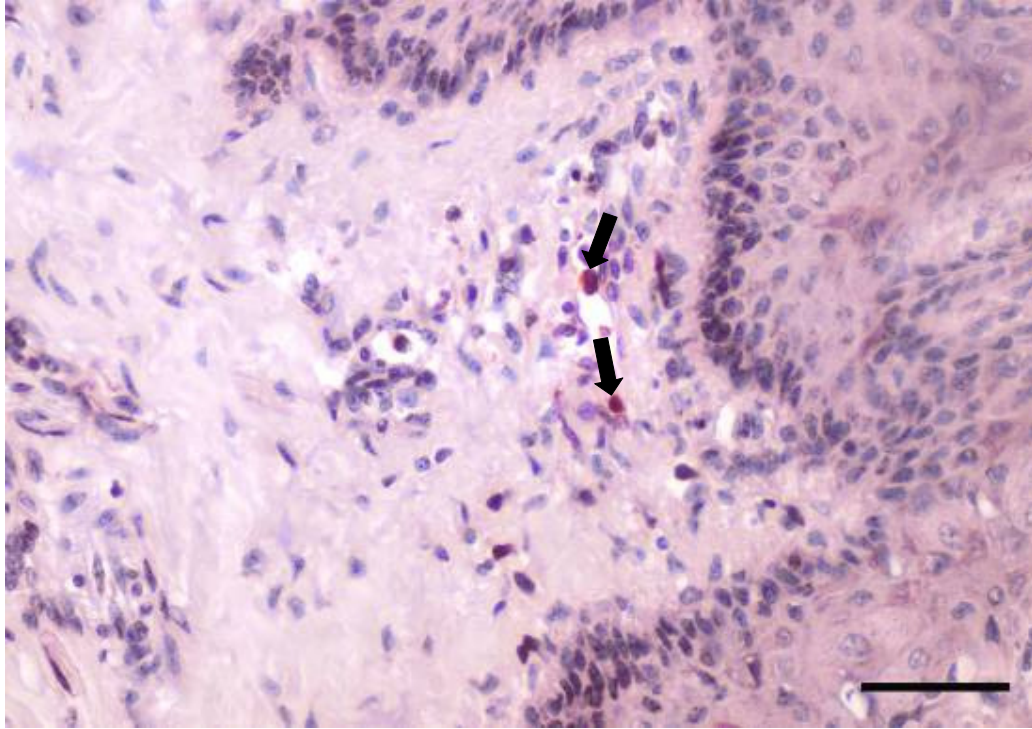
Şekil 3.24. Submukozada musküler tabakada damar endotel hücreleri (siyah oklar) ve kas hücre çekirdeklerinde (beyaz oklar) immunopozitif boyanmalar, yanak mukozası, olgu no; 8, ABC metod (anti-IFN- γ), Bar=50 μ m.



Şekil 3.25. Submukozada bez epitel hücrelerinde immunopozitif boyanmalar (oklar), akciğer, olgu no; 6, ABC metod (anti-IFN- γ), Bar=50 μ m.



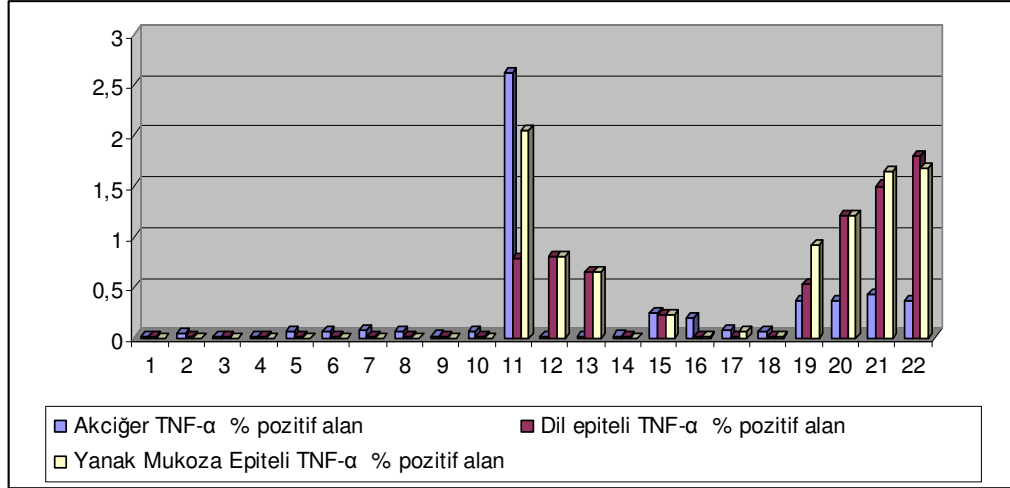
Şekil 3.26. İnteralveolar bölgede tek tük immunopozitif boyanmalar (oklar), akciğer, olgu no; 1 (kontrol grubu), ABC metod (anti-IFN- γ), Bar=50 μ m.



Şekil 3.27. Submukozada mononükleer hücrelerde immunopozitif boyanmalar (oklar), akciğer, olgu no; 3 (kontrol grubu), ABC metod (anti-IFN- γ), Bar=50 μ m.

3.3.2.2. TNF- α immunoperoksidaz bulguları

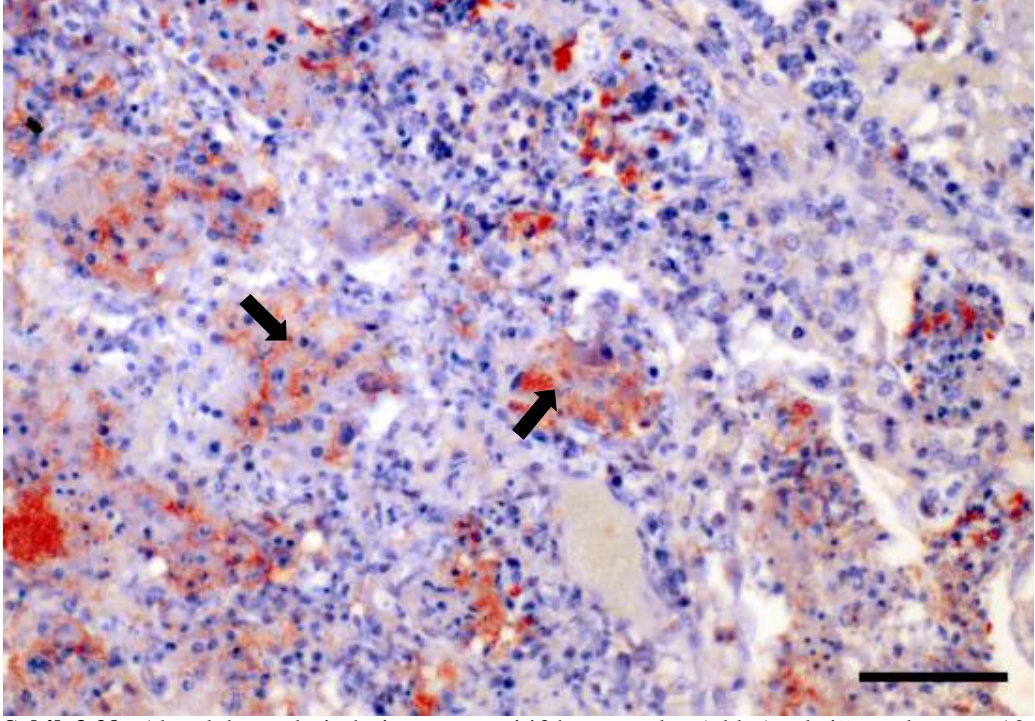
Tümör nekroz faktörü-alfa % alan immunoperoksidaz boyanma durumları şekil 3.28’de gösterilmiştir. Yapılan immunoperoksidaz testlerde Peste des petits ruminants virüsü ile enfekte keçi ve koyunların akciğerlerinde özellikle bronkopnömonik lezyonların ve nekrozların şekillendiği bölgelerde yoğun TNF- α pozitif alanlar gözlemlendi (olgu no: 11, 19, 21). Alveol lümenlerinin nekrotik hücreler, nötrofil lökositler ve makrofajlar ile dolu olduğu bölgelerde bu boyanmaların şiddeti de artmıştı (Şekil 3.29 ve 3.30). Makrofajların TNF- α pozitif olarak boyandığı görüldü (olgu no: 11, 18, 20, 21). İnteralveolar bölgedeki mononükleer hücre infiltrasyonlarında lenfositlerin immunopozitif reaksiyon gösterdiği dikkati çekti (Şekil 3.31). Peribronşiyal ve peribronşiyoler lenfoid manto oluşumu gözlenen örneklerde bazı lenfositler pozitif boyanma gösterdi.



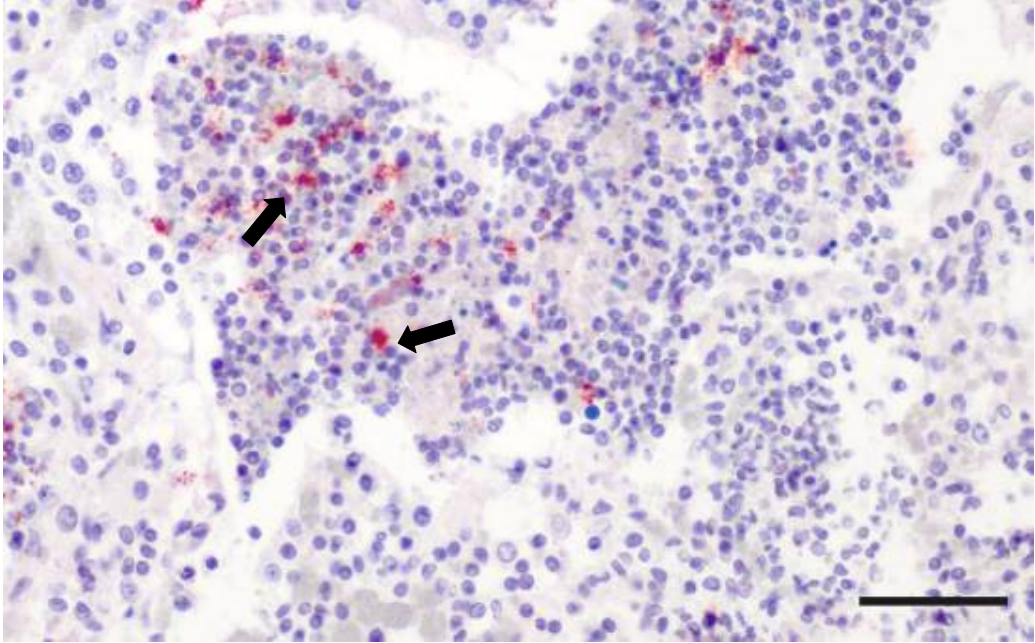
Şekil 3.28. PPRV pozitif ve kontrol grubu hayvanlarında TNF- α % pozitif alan değerleri (1-5 arası kontrol grubu, 6-22 arası PPRV pozitif hayvanlar).

Dil epiteli ve yanak mukozası epitelinde ise epitelyal doku içinde yangısal hücre infiltrasyonlarının görüldüğü alanlarda immunopozitif boyanmalar gözlemlendi (Şekil 3.32 ve 3.34). Dökülmüş epitel hücreleri ve psödomembran oluşumlarında yoğun immunoreaktif boyanmalar dikkati çekti (olgu no: 10, 12, 13). Sadece mukozada değil submukozada da TNF- α pozitif boyanmalar gözlemlendi. Baz epitelleri ve bazal membranın hemen altındaki fibroblast morfolojisi ile uyumlu hücrelerinin pozitif boyanmaları dikkat çeken bulguları (olgu no: 12, 13, 19, 20) (Şekil 3.33).

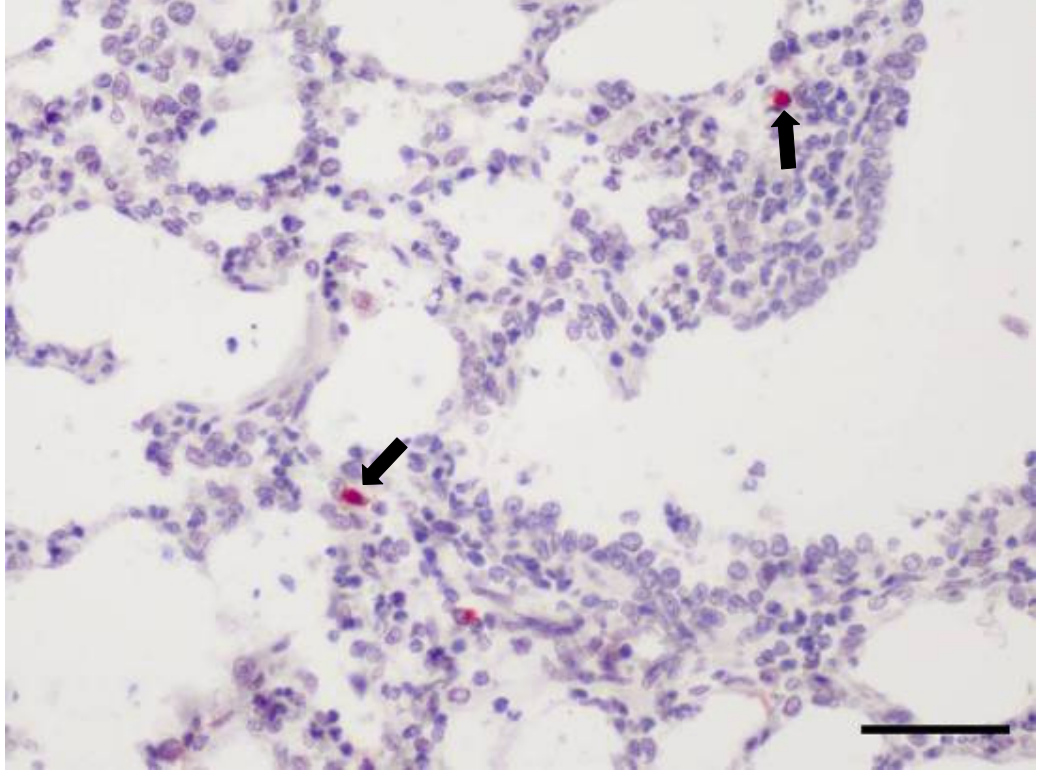
Kontrol grubunda bulunan hayvanların ne akciğerleri ne de dil ve yanak mukozası epitellerinde tek tük immunboyanmalar dışında belirgin ve dikkati çeken immunoreaktif hücre ve alanlar görülmedi (Şekil 3.35 ve 3.36).



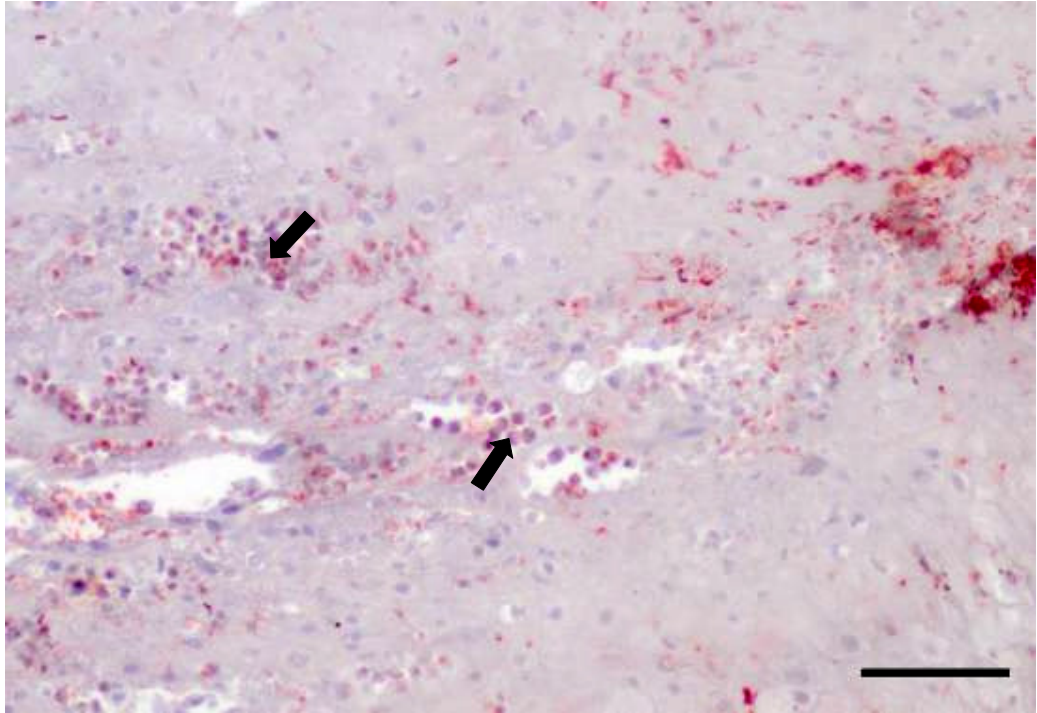
Şekil 3.29. Alveol lümenlerinde immunopozitif boyanmalar (oklar), akciğer, olgu no; 10, ABC metod (anti-TNF- α), Bar= 100 μ m.



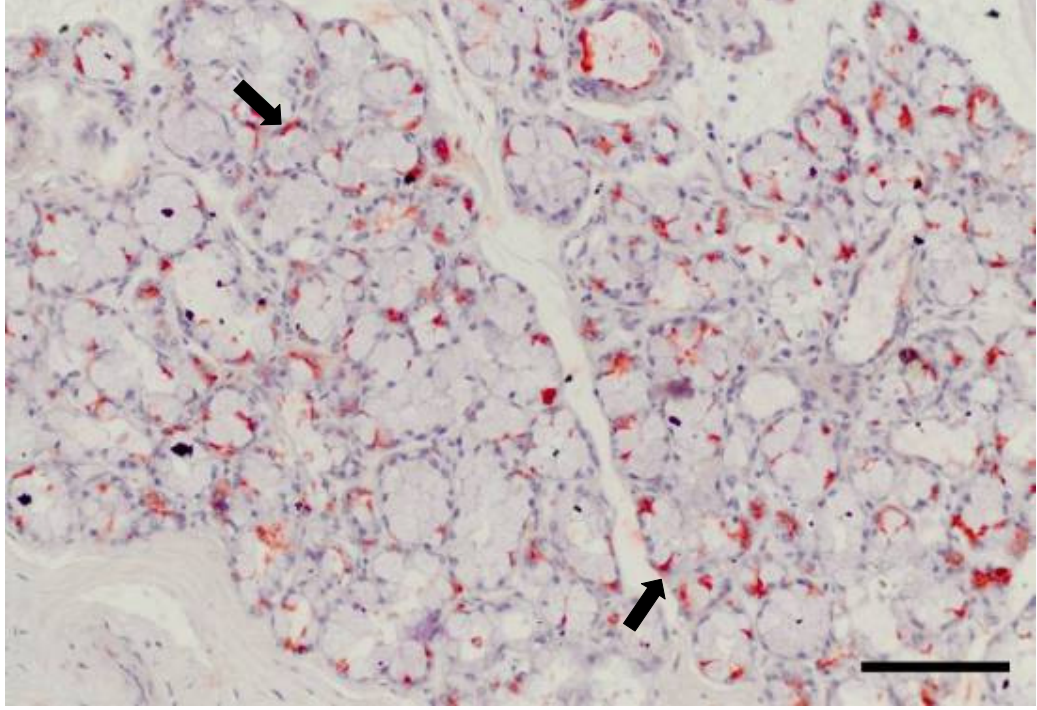
Şekil 3.30. Alveol lümenlerinde immunopozitif boyanmalar (oklar), akciğer, olgu no; 15, ABC metod (anti-TNF- α), Bar= 100 μ m.



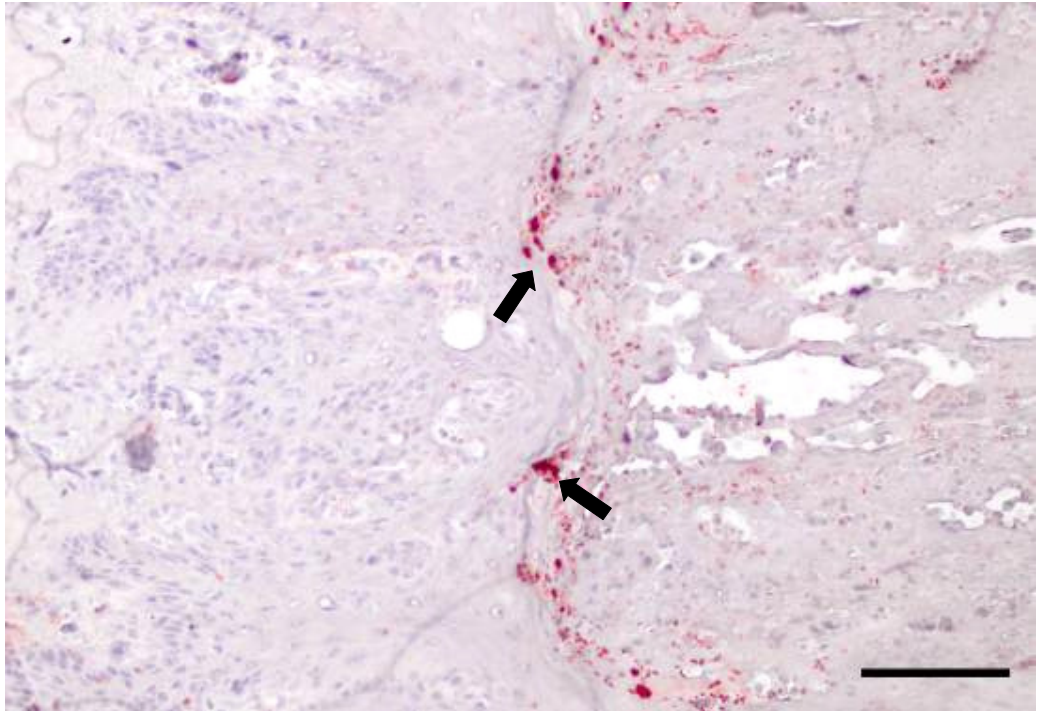
Şekil 3.31. İnteralveolar mononükleer hücrelerde immunopozitif boyanmalar (oklar), akciğer, olgu no; 9, ABC metod (anti-TNF- α), Bar= 50 μ m.



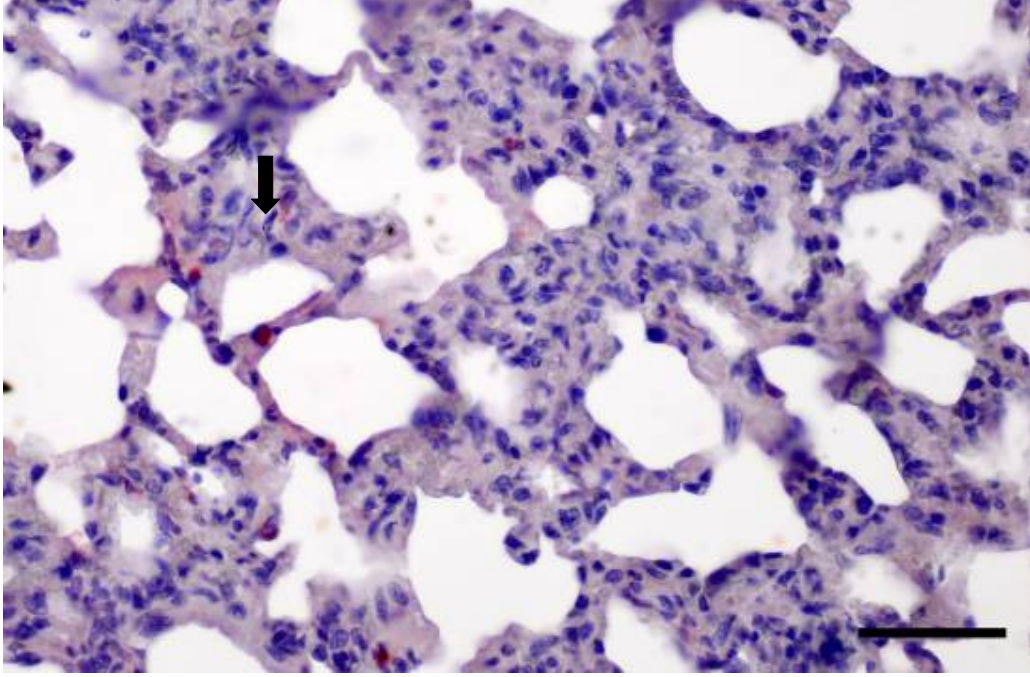
Şekil 3.32. Mukozada mononükleer hücrelerde immunopozitif boyanmalar (oklar), yanak mukozası, olgu no; 13, ABC metod (anti-TNF- α), Bar= 50 μ m.



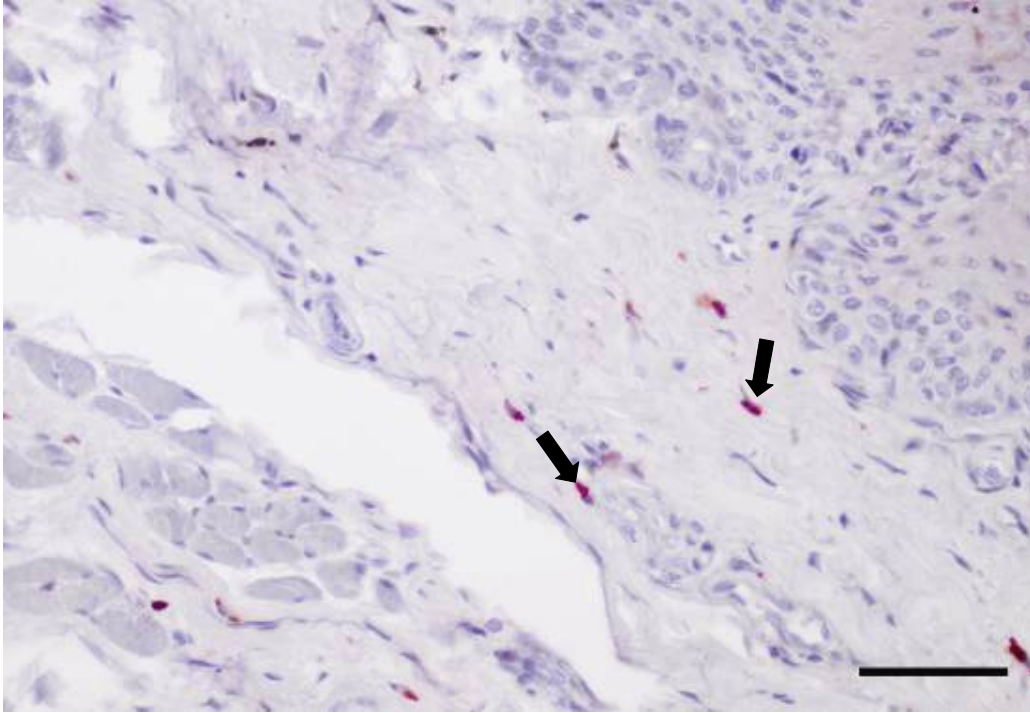
Şekil 3.33. Submukozada bez epitellerinde immunopozitif boyanmalar (oklar), yanak mukozası, olgu no; 12, ABC metod (anti-TNF- α), Bar= 50 μ m.



Şekil 3.34. Mukozada bazal membranın hemen üzerindeki hücrelerde immunopozitif boyanmalar (oklar), yanak mukozası, olgu no; 13, ABC metod (anti-TNF- α), Bar= 50 μ m.



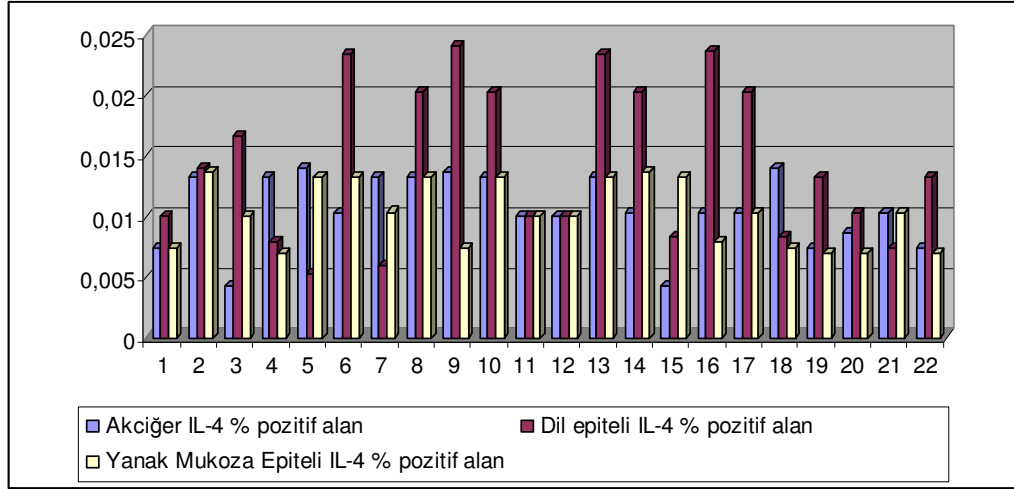
Şekil 3.35. İnteralveolar bölgede immunopozitif boyanma (ok), akciğer, olgu no; 2 (kontrol grubu), ABC metod (anti-TNF- α), Bar= 50 μ m.



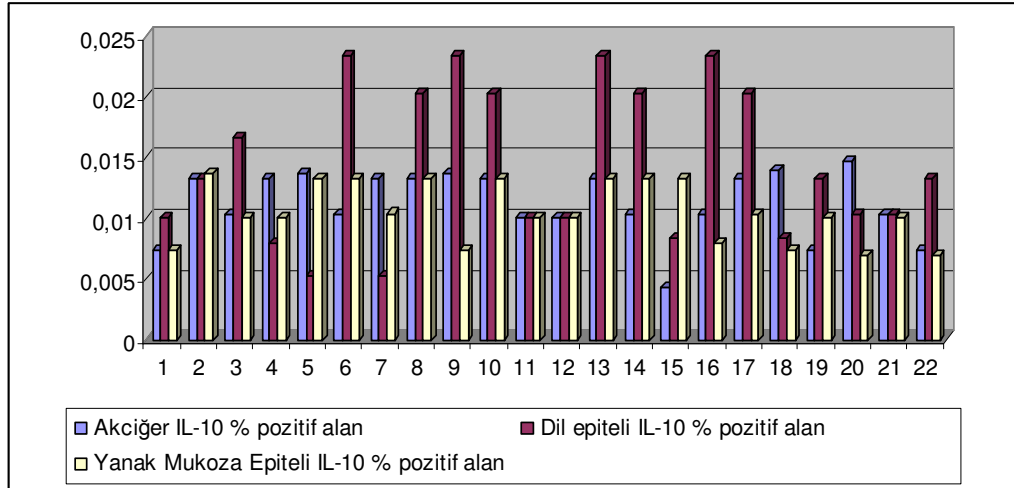
Şekil 3.36. Submukozada bazı hücrelerde immunopozitif boyanmalar (oklar), yanak mukozası, olgu no; 4 (kontrol grubu), ABC metod (anti-TNF- α), Bar= 100 μ m.

3.3.2.3. IL-4 ve IL-10 immunoperoksidaz bulguları

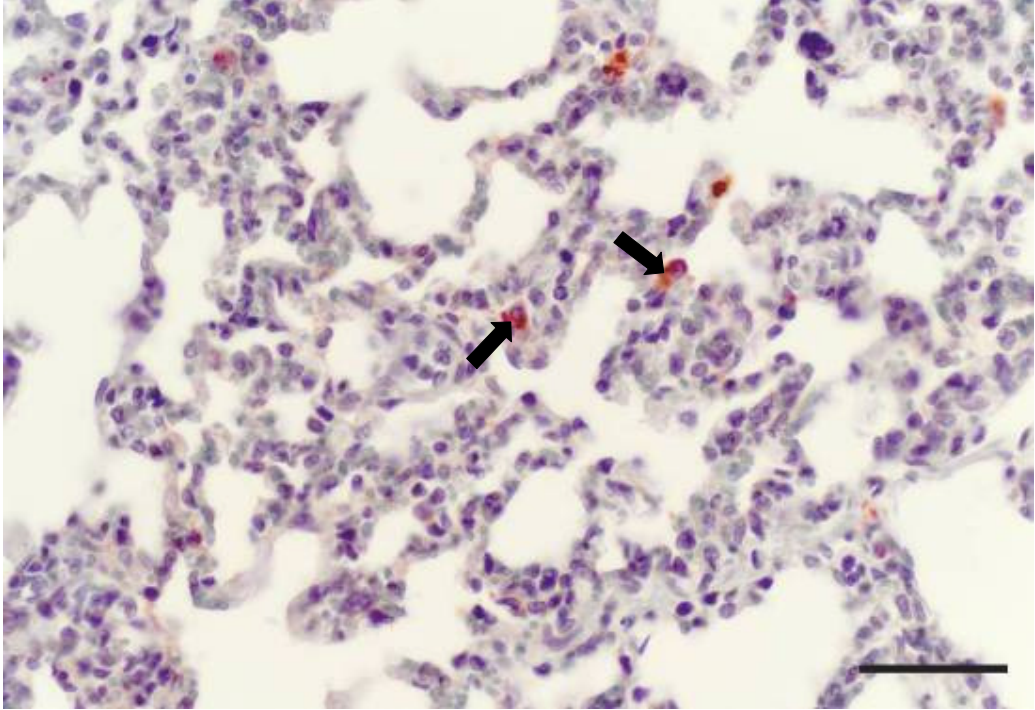
İnterlökin 4 ve IL-10 % alan immunoperoksidaz boyanma durumları şekil 3.37 ve şekil 3.38 'de gösterilmiştir. Enfekte hayvanlar ve kontrol grubu hayvanlarda IL-4 ve IL-10'a karşı immunopozitif boyanmalar peribronşiyal, peribroşiyolar ve interalveolar bölgelerdeki lenfositlerde görüldü (Şekil 3.39, 3.41 ve 3.42). Dil ve yanak mukozası epitelinde boyanmalar her iki grupta da bazal membranın altındaki fibroblastlarda gözlendi (Şekil 3.40).



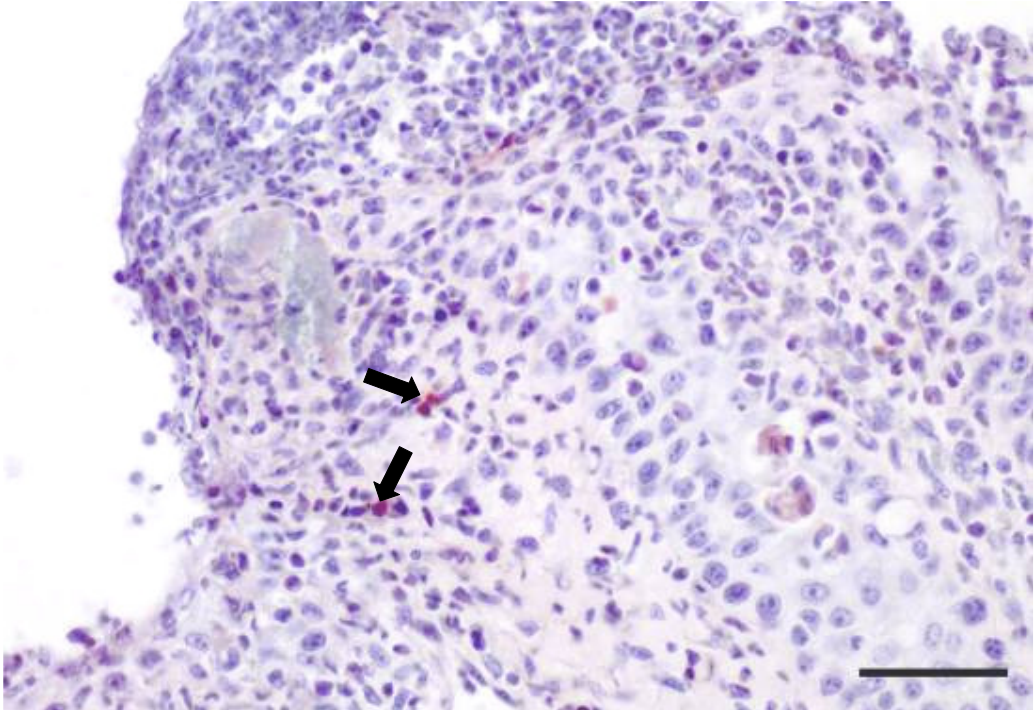
Şekil 3.37. PPRV pozitif ve kontrol grubu hayvanlarında IL-4 % pozitif alan değerleri (1-5 arası kontrol grubu, 6-22 arası PPRV pozitif hayvanlar).



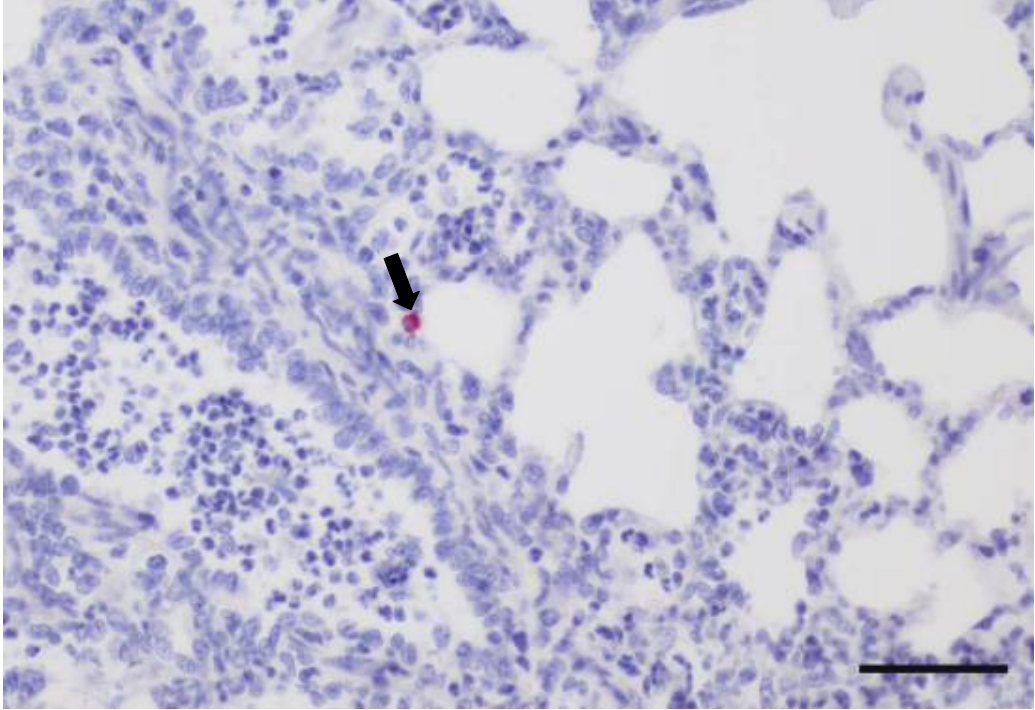
Şekil 3.38. PPRV pozitif ve kontrol grubu hayvanlarında IL-10 % pozitif alan değerleri (1-5 arası kontrol grubu, 6-22 arası PPRV pozitif hayvanlar).



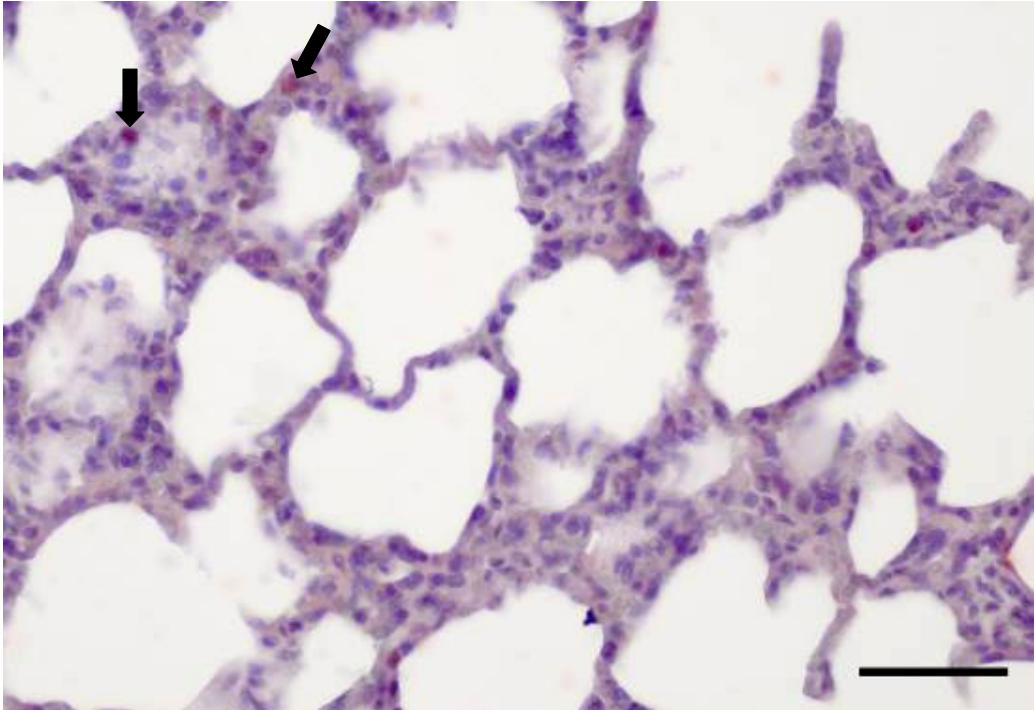
Şekil 3.39. İnteralveolar mononükleer hücrelerde immunopozitif boyanmalar (oklar), akciğer, olgu no; 11, ABC metod (anti-IL-4), Bar= 50µm.



Şekil 3.40. Mukozada mononükleer hücrelerde immunopozitif boyanmalar (oklar), dil, olgu no; 13, ABC metod (anti-IL-4), Bar= 50µm.



Şekil 3.41. İntervalveolar mononükleer hücrede immunopozitif boyanma (ok), akciğer, olgu no; 11, ABC metod (anti-IL-10), Bar= 50µm.



Şekil 3.42. İntervalveolar hücrelerde immunopozitif boyanmalar (ok), akciğer, olgu no; 3 (kontrol grubu) , ABC metod (anti-IL-10), Bar= 50µm.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Peste des petits ruminants akut veya subakut seyirli, ateş, konjuktivitis, eroziv stomatitis, enterokolitis ve pnömoni ile karakterize bulaşıcı bir hastalıktır. Pnömoni dışında klinik ve patolojik olarak sığır vebasına benzeyen PPR, *Paramyxoviridae* ailesinden, CDV, MV, RPV ve PMV'nin dahil olduğu *Morbillivirus* genusunda yer alır (Arzt ve ark. 2010). Tek serotipe sahip olan bu virüs filogenetik olarak yakın ilişkili olup, bu durum aşı stratejilerini kolaylaştırmaktadır (Arzt ve ark. 2010). Sığır vebası eradikasyonunun, 2010 global eradikasyon planında belirtildiği üzere tüm dünyada başarıyla gerçekleşeceği beklenmektedir. İkiyüz yılının başlarında, FAO global sığır vebası eradikasyon programında yer alan bilgilere göre sığır vebası Avrupa, Asya, Orta Doğu, Arap yarımadası ve tüm Afrika'da ortadan kaldırılmıştır (Anonim 2010). Peste des petits ruminants son yıllarda, uluslar arası sınırları aşmış, Tibet (Çin), Nepal ve Tajikistan'da ilk defa rapor edilmiştir. PPR Afrika'da Gabon, Kenya, Uganda ve Kongo gibi ekvatorun güneyine ve 2007 yılında da Afrika'nın kuzeyi Fas'a kadar yayılmıştır (Shaila ve ark. 1996, Libeau 1997, Wang ve ark. 2009, Arzt ve ark. 2010). Bu çalışmada kullanılan hayvanların bazılarının da yer aldığı, daha önceki filogenetik çalışmalarda tespit edilen PPRV Tu00 virüsü genetik hat 4'te yer alır (Kul ve ark. 2007). Erişkin koyun ve keçilerde dikkati çeken ileri derecedeki epitel lezyonlarının, yine virüsün yüksek patojenitesinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte, bazı oğlak ve keçilerde belirgin akciğer ve ağız mukoza lezyonu gelişmeksizin ölümle son bulan olgular da yer almaktadır (olgu no: 20 ve 22). PPRV enfeksiyonunun özellikle nötralizan antikor düzeyini düşük ya da immünyetersiz genç hayvanlarda, lenfoid yıkımın ön planda olduğu yoğun viremi döneminden sonra herhangi bir karakteristik klinik, patolojik bulgu göstermeksizin ölümle son bulabileceği rapor edilmiştir (Toplu ve ark. 2004). Klinik olarak non-karakteristik PPRV enfeksiyonu olarak değerlendirilen bu perakut ölümlerde epidemiyolojik olarak PPRV nin transplasental geçişinin mümkün olabileceği de ileri sürülmektedir (Kul ve ark. 2007).

Peste des petits ruminants virüs enfeksiyonlarında şekillenen sinsityal hücrelerin, oluşan lezyonlarda sitokin salıverme özelliğinin olup olmadığı bilinmemektedir. Bunun yanında şekillenen pnömoni ve eroziv ülseratif stomatitis

lezyonlarında şekillenen sitokin yanıtı hakkında ve hastalığın epitel dokuda şekillendirdiği lezyonlarda lokal sitokin yanıtın araştırılmasına yönelik daha önce bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Çalışmada kullanılan dokularda, IFN-gamma, TNF-alfa, IL-4 ve IL-10 salınımları immunohistokimyasal testlerle gösterilmiştir. Bu dokuların alındığı hayvanların PPRV pozitif olduğu polimeraz zincir reaksiyonu ve immunohistokimyasal testlerle daha önce belirlenmiştir. Pozitif bulgular, alan boyanması ve hücresel pozitiflik olarak bir bütün halinde düşünülmüş ve sitokin salıveren hücrelerin tipleri immunohistokimyasal olarak değil histopatolojik morfolojiye göre değerlendirilmiştir. Keçi ve koyunlarda makrofajlar, yardımcı T lenfositler (CD4+) ve B lenfositleri (CD20+) göstermek için frozen kesitlere ihtiyaç bulunmaktadır. Ancak çalışmada kullanılan dokuların parafin blok arşivden seçilmesi bu hücre tiplerine özel antijenlerin gösterilmesini engellemiştir. Bununla birlikte; akciğerler ve epitel dokuda saptanan Th1+ ve Th2+ reaksiyonlar epitel doku ve yangı hücrelerinin morfoloji ve lokalizasyonuna bakılarak tanımlanmış, sitokin ekspresyonlarında yalnızca immunofenotipik çalışmalarla ortaya konulabilen alt hücre tiplerinden bahsedilmemiştir.

Diğer *Morbillivirus* üyelerinde olduğu gibi PPRV enfeksiyonu patogenezinin en belirgin özelliği derin ve kısa süreli immunosüpresyondur. Bunun sonucunda fırsatçı enfeksiyonlar ve artan ölümler görülür. Bu immunosüpresif etkinin sadece virüsün çoğalmak için başlıca lenfoid hücreleri kullanmasından değil, morbillivirüslerin konağın immun sisteminin üstesinden gelebilmesi için zaman içinde değişim göstermiş olmasından kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Diallo ve ark. 2007). Bununla birlikte derin immunosüpresyon, konak tarafından oluşturulan güçlü, spesifik ve uzun dönem koruyucu immün cevabıyla giderilir. Kızamık virüsünde bu döngü, virüsle enfekte Th2 CD4+ T hücrelerin aktivasyonu ile açıklanmaktadır (Servet-Delprat ve ark. 2003). PPR da, Sığır vebasında olduğu gibi iyileşme veya hastalıktan korunmak için gerekli immün cevap hakkında bilgi eksikliği vardır. Hastalığın kontrolü için aşılar geliştirilmekte veya diğer morbillivirüs enfeksiyonlarına ait bilgiler değerlendirilerek yeni stratejiler geliştirilmektedir (Diallo ve ark. 2007).

Histopatolojik lezyonların hafif şekillendiği ve PPRV antijeninin immunohistokimyasal olarak gösterilemediği dokularda sitokin yanıtın kontrol

gruplarından farklı olmadığı dikkati çekti. PPRV antijenine karşı yapılan immunoperoksidaz testlerde kıl folikülleri çevresindeki makrofajlarda pozitif boyanmalar ile sinsityal hücre formasyonu görülen dil ve yanak mukozası epitelinde sinsityal hücrelerin bazılarının pozitif reaksiyonlar gösterdiği ve yanak ve dil submukozasında kas demetleri arasındaki kapillar damarlar çevresindeki makrofajlar ve damar endotel hücrelerinin bazılarının immunopozitif olduğu dikkati çekti. Bu immunopozitifliklerin yoğunluğu, lezyonlu bölgelerden salınan sitokin yanıtı ile uyumluluk gösterdi. Dolayısıyla bu durum, PPRV enfeksiyonunun şiddeti ile hem hasar gören epitel hem de uyarılmış hücrel immün sistem kaynaklı sitokin yanıtının doğru orantılı olabileceğini destekler niteliktedir. Histopatolojik bulgular ve PPRV immunopozitifliklerin görüldüğü akciğerlerde de IFN-gamma ve TNF-alfa immunopozitif reaksiyonlar belirgin düzeyde yüksek saptandı. PPRV immunoreaktivitesine daha çok alveoler lümendeki nekrotik epitel ve nötrofil infiltrasyonlarının oluşturduğu debriste rastlandı. İnteralveoler dokuda mononükleer hücrelerde ve bazı sinsityal hücrelerde intranükleer ve sitoplazmik pozitif reaksiyonlar gözlemlendi. Bronş ve bronşiyal epitellerinde ve alveolar makrofajlarda da immunopozitif reaksiyonlara rastlandı. İmmunoperoksidaz incelemelerde, yanak mukozası ve dil epitelinde psödomembran şekillenen dokularda, ayrıca eroziv ve ülseratif alanlardaki nekrotik epitel hücreleri ve bazal membranın hemen üstünden itibaren epitel hücrelerinde saptanan PPRV antijen pozitif boyanmaların derecesi, IFN-gamma ve TNF-alfa immunopozitifliklerine paralellik gösterdi. Gram boyama ile elde edilen sonuçlara bakıldığında; dil ve yanak mukozası epitelinde histopatolojik olarak yüksek skorlara sahip hayvanların yarısının (4/8) bakteri boyanması göstermediği, orta şiddetli skora sahip hayvanlarda akciğerlerde ise bakteriyel boyanma görülmediği izlendi. Bu alanlarda TNF-alfa ve IFN-gamma salınımının ortaya konulması, sadece bakteriyel invazyon sonucu değil PPRV ile etkilenen epitel dokunun doğrudan sitokin yanıtına katkıda bulunabileceğinin de bir göstergesi sayılabilir. Kock ve ark. (1990) insan keratinositlerinin ultraviyole irradyasyonundan sonra ve mikrobiyal organizmalara ve tümörlere karşı hem lokal hem de sistemik yangının patogeneğinde rol oynayan TNF-alfa salıverebildiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada epidermiste TNF-alfa immünreaktivitesinin kontrol grubu hayvanlardakine oranla arttığı görüldü. TNF-alfa sadece yangının başlangıcında

ve lezyon cevabında değil sonraki rejenerasyon ve iyileşme fazında da gereklidir (Banno ve ark. 2004). TNF-alfa keratinositlerin ilave ekstraselüler uyarılarını başlatır ve hızlıca yanıt vererek hücre proliferasyonu veya apoptozisi şekillendirir. TNF-alfa doku yıkımı ve tamiriyle devam eden bir seri immün cevabı uyarır ve yangıyı başlatır (Banno ve ark. 2004). TNF-alfanın PPRV pozitif hayvanların ağız mukozası epitelindeki artışının, epitel hücrelerinin virüsle enfekte olması ve dolayısıyla yangının başlatılması için immün cevabın şekillenmesi için olduğu düşünüldü. TNF-alfa proinflatuar sitokinlerdendir (Dinarello 2000, Basset ve ark. 2003) ve Th1 tip hücreler tarafından salınan TNF- α makrofajları aktive ederek hücre aracılı immün cevabı şekillendirilmesine de aktif olarak katılmaktadır (Opal ve DePalo 2000).

Bu çalışmada, PPR pozitif hayvanlardaki akciğer, dil ve yanak mukozasında IFN-gamma pozitif boyanma yüzde alanlar, kontrol grubu hayvanlardakine oranla istatistiksel önemlilik ($p < 0.05$) gösterdi. Ortalamada en yüksek pozitif alan oranı ($2,798 \pm 2,702$) yanak mukozasında görüldü. Pozitif boyanmalar akciğerde bronş ve bronşiyol epitel hücreleri, sinsityal hücreler, lenfositler ve alveolar makrofajlarda, dil ve yanak mukozası epitelinde stratum spinosum katındaki epitel hücreleri, submukoza kapillar endoteli ve fibrositlerde gözlemlendi. Kontrol grubu hayvanlarda IFN-gamma immunopozitif hücrelerin oldukça az olduğu ve PPRV pozitif hayvanlardaki bulgulara oranla istatistiksel olarak önem göstermediği görüldü. Hasta hayvanlarda akciğer, dil ve yanak mukozası epitelinde TNF-alfa pozitif boyanma oranı kontrol grubundaki hayvanların boyanma durumlarına göre istatistiksel önem ($p < 0.05$) gösterdi. Ortalamada en yüksek pozitif alan oranı ($0,546 \pm 0,711$) yanak mukozasında görüldü. Kontrol grubundaki hayvanlarda TNF-alfa immunopozitif hücrelerin oldukça az olduğu ve PPRV pozitif hayvanlardaki bulgulara oranla istatistiksel olarak önem göstermediği belirlendi. Özellikle, epitel kökenli IFN gamma ve TNF alfa'nın kemotaksis, nekrotik epitel fagositozu ve diğer bazı etkiler için görevleri olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada Gram boyama sonuçları sekonder bakteri enfeksiyonunun nötrofil yoğun alanlarda her zaman bakteri pozitif sonuçlanmadığından, epitelyum dokularındaki lökosit infiltrasyonunun viral etkiyle şekillenebilen Th1 yanıtı ve kemotaksis ile olabileceği ve bu yanıtın epitel kaynaklı sitokinlerce başlatılabileceği hipotezini oluşturmaktadır. Bu hipotezi destekleyen bulgular olgu no: 8, 10, 13'de yanak ve dil mukozası olgu: 7, 11, 13, 14, 19' da

akciğerlerde şiddetli ve orta şiddetli skor ve yoğun nötrofil infiltrasyonuna rağmen gram boyamada bakterilere rastlanılmaması ile desteklenebilir. Elbetteki epitelyal sitokinler yıkılan ve hasar gören dokularda ilk reaksiyonu başlatan etkiyi oluşturmuş, sonrasında ise bölgeye gelen lenfosit, dendritik hücre ve makrofajlar tarafından benzer Th1 yanıtın, daha da güçlenerek sürdürülmüş olabileceği bu çalışma bulguları ile hipotez edilmektedir.

Peste des petits ruminants histopatolojik tanısını belirleyen kriterlerden birisi olan sinsityal hücreler ve ayrıca alveolar makrofajlarda IFN-gamma ve TNF-alfa ekspresyonunun belirgin olması bu çalışmayla ilk kez gösterilmiştir. Dendritik hücrelerin virüsle enfekte olması, bu hücrelerin birbirleriyle ya da makrofajlarla füzyon oluşturması ve dev hücre formasyonu şekillenmesi bu hücrelerin antijen sunma fonksiyonunu olanaksız hale getirir ve virüs çoğalması için uygun bir ortam hazırlamış olur. Dendritik hücrelerin enfeksiyonu ile apoptozis şekillenir ve akciğerlerdeki sayısı azalır ve doğal immün cevabın kazanılmış immün cevaba geçişi etkilenir (Moussallem ve ark. 2007). Bu bildirim göz önüne alındığında; çalışmada sinsityal hücrelerde immunohistokimyasal olarak IFN-gamma ve TNF-alfa salınımının makrofajlar veya lenfosit hücrelerden salınan sitokinlerce mi yoksa kendisinin virüsle enfekte olması sonucunda mı bu sitokinleri salıverdiğini bilememekteyiz. Şu andaki bulgularla sinsityal hücrelerin makrofaj özelliğine sahip olup olmadıkları immunofenotipik olarak söylenemese dahi; Th1 sitokinlerinin salıvermeleri onların antijeni işleyerek, immün modülasyonda rol alabildiklerini göstermektedir. Makrofaj markırlarının ve TNF-alfa, ayrıca IFN-gamma markırlarının aynı dokuda birlikte çalışılacağı deneysel PPRV enfeksiyonlarında sinsityal hücrelerin immunolojik fonksiyonları hakkında daha detaylı bilgilerin elde edilebilmesi mümkün olabilecektir.

Yangısal cevabın başlatılmasında akciğerdeki yerleşik makrofajlar, gelişen erken sitokin yanıtında önemli rol oynarlar. TNF-alfa kemotaktik faktörlerin salınımını uyarır ve fagositlerin diapedezini artıran vasküler endotelyal hücrelerin hücre adezyon kuvvet moleküllerinin ekspresyonunu artırır. Yangı bölgesine dolaşımdaki fagositlerin marjinasyonunu ve göçünü teşvik eder (Basset ve ark. 2003, Laskin ve ark. 2007). TNF-alfa lokal veya sistemik lezyonlarda kısa süre içinde makrofajlardan salınır. Lokal enfeksiyon veya yangı bölgesinde TNF-alfa anti-

mikrobiyal savunma mekanizmasını aktive eden immün cevabı ve enfeksiyon sona erdiği zaman doku tamirini başlatır. Nötrofil lökositlerin ve mononükleer fagositlerin güçlü aktivatörleridirler ve aynı zamanda fibroblastlar için büyüme faktörü olarak görev yapar. IL-10 aktif makrofajları ve dentritik hücrelerini baskılar (Sherwood ve Toliver-Kinsky 2004).

Akciğerde TNF-alfa alveoler makrofajları aktive eder ve sitotoksik mediatörlerin (reaktif nitrojen aracıları, reaktif oksijen aracıları) üretimini uyarır (Pathania ve ark. 1999, Zhang ve ark. 2000). IFN-gamma salınımı özellikle makrofajlardan salınan TNF-alfa ve IL-12 gibi sitokinlerin etkisiyle uyarılır (Thanawongnuwech ve ark. 2003). Bu çalışmada hasta hayvanların hem akciğer hem de dil ve yanak mukozası epitelinde TNF-alfa pozitif boyanma alanları kontrol grubu hayvanlarına göre istatistiksel önem gösterdi ($p<0.05$). Alveolar makrofajlar sitokinler ve büyüme faktörleri salınımıyla akciğer lezyonlarının patogeneğinde rol oynar. Bazıları TNF-alfa, IL-1, IL-6, IFN-gamma ve kemokinler gibi yangıyı arttırıcı cevap verirken IL-10, TGF- β , platelet-derived growth factor (PDGF) gibi mediyatörler de anti-inflamatuar rol oynayarak iyileşme veya fibrozisi başlatırlar. Yangısal cevabın sonu dokudaki pro- ve anti-inflamatör sitokin seviyelerinin arasındaki dengeye bağlıdır. Akut ve kronik enfeksiyonda TNF-alfa pro-inflamatuar sitokin olarak görev alır (Laskin ve ark. 2007). Makrofajların hem fagositik hücre hemde antijen sunan hücre olarak hücre aracılı immün cevapta çok önemli rolleri vardır (Hamilton 1993). Makrofajları aktive eden önemli bir faktör virüsle enfekte hücrelerin saldığı IFN-gama'dır. Th1 hücrelerinden salınan IFN-gama antiviral aktiviteye sahip proteinlerin salınımını uyarır (Domeika ve ark. 2002, Radriguez ve ark 2002). Makrofajların IFN-gamma pozitif olması, virüsle enfekte hücrelerin saldığı IFN-gammanın makrofajları aktive etmesi ve buna ilave olarak makrofajların da IFN-gamma salıvermesini sağladığı düşünülebilir.

Frucht ve ark. (2001) insan alveolar makrofajların IFN-gamma üretiminde bulunduğunu bildirmişlerdir. Yine Thanawongnuwech ve ark. (2003), domuzların reproduktif ve respiratorik sendromunda makrofajların IFN-gamma ürettiğini göstermişlerdir. Sinsityal hücrelerin yapılan immunohistokimyasal testlerde IFN-gamma pozitif olması, enfekte hücrelerin IFN-gamma salıvermesi sonucunda mı yoksa diğer hücrelerden salınan IFN-gamma sonucunda mı şekillendiğini tam olarak

bilememekteyiz. Ancak sinsityal hücrelerin PPRV pozitif olması IFN-gamma salınımını uyarılmış olabileceğini düşündürdü. Dil ve yanak mukozası epitel hücrelerindeki IFN-gamma pozitif boyanmalar, epitelin direkt virüsle enfekte olduğunu ve antiviral aktivite göstermeye çalıştığının bir göstergesi olabilir. Maeyer ve Maeyer-Guignard (1998) IFN-gamma'nın direk antiviral etkisi olduğunu ve bu etkiyi oligoadenylate sentezaz enzimi ile gösterdiğini bildirmiştir. Ayrıca IFN-gamma'nın antiviral etkisini sıklıkla IFN-alfa, IFN-beta ve TNF-alfa gibi sitokinlerle birlikte gösterdiği bilinmektedir. TNF-alfa'nın PPRV pozitif hayvanlarda kontrol grubu hayvanlara göre istatistiksel olarak önem göstermiş olması, IFN-gamma'nın istatistiksel olarak önem göstermesi ile doğrudan bağlantılı olarak görülebilir. Çünkü PPRV ile enfekte hücrelerin salıverdiği IFN-gamma, makrofajlar ve lenfosit hücrelerden IFN-salınımını arttırmış ve TNF-alfanın zaten artmasıyla da IFN-gamma salınımı daha da artmıştır. Bu sonuçla yangıyı arttırıcı sitokinlerden olan IFN-gamma hücresel yanıtı oluşturma çabasında, muhtemelen virüsün patojenitesi veya virüs yoğunluğuyla birlikte bu yanıt oluşmadan hayvanlarda, özellikle lenfoid dokuda şekillenen immünsüpresyon ve ağır lezyonlar sonucu, ölümün şekillenmesine bağlanabilir.

Moussallem ve ark. (2007) kızamıktan ölen 42 çocuğun akciğerlerinde immunohistokimyasal olarak gösterdiği sitokin yanıtta, IFN-gamma boyanma oranını alveoler bölgelerde kontrol gruplarından fazla olduğunu göstermiştir. Ancak TNF-alfa boyanmalarında gruplar arası istatistiksel önem bulamamışlardır. IL-4 pozitif boyanmalarda akciğerin alveolar bölgesinde kızamık pozitif çocuklarda daha fazla olduğunu göstermiştir. IL-10'da ise BALT'ta kontrol grubunun daha fazla immunopozitif olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada PPRV pozitif hayvanlarda IFN-gamma ve TNF-alfa oranının fazla olması PPRV'nin kızamık virüsü ile aynı patogeneze sahip olmadığını göstermektedir. PPRV pozitif hayvanların kontrol grubuna göre IFN-gamma ve TNF-alfa yönünden yüksek olması perakut veya akut enfeksiyonun göstergesi olabileceğini düşündürdü. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde veya akut dönemi atlatıp iyileşmeye doğru giden hayvanlarda sitokin yanıtın nasıl şekillendiğini henüz bilmemekteyiz. Th2 hücrelerinden salınan IL-4 ve IL-10'nun anti-inflamatuar sitokin oldukları bilinir ve daha çok humoral immün yanıtın şekillenmesinde rol oynarlar. Th1 hücreler hücre aracılı yangısal reaksiyonlarda

görev alırken, Th2 hücreler ise daha çok antikor üretimi uyarıcı olarak rol oynar (Mosmann ve Sad 1996). Svitek ve von Messling (2007) gelinciklerde deneysel şiddetli immünsüpresyon ve ölümlle sonuçlanan distemper virüs enfeksiyonunda perifer kan lökositlerinde sitokin ekspresyonuna rastlamamışlar ancak hayatta kalan gelinciklerde sağlam ve uzun süreli sitokin üretimi şekillendiğini, bu sitokin üretiminin başlangıçta Th1 ve sonra Th2 meyilli olan immün cevap oluştuğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise PPRV pozitif hayvanların, akut dönemde öldükleri bilindiği için ve humoral immün cevaba henüz geçilemediğinden dolayı, Th1 sitokin olan IFN-gamma pozitifliğinin istatistiksel öneme sahip olması Svitek ve von Messling (2007)'in bildiriyle uyumlu görülmüştür. Bu çalışmada hayvanların perakut veya akut dönemde ölmesi hücrel immün yanıtı ortaya çıkaran IFN-gamma ve TNF-alfa oranlarının istatistiksel önem göstermesi enfeksiyonun patogeneğinde ilk olarak proinflamatuvar sitokin yanıtın rol aldığını göstermektedir.

Çalışmada kontrol grubu ve PPRV pozitif hayvanlara ait IL-4 ve IL-10 oranları arasında herhangi bir istatistiksel öneme rastlanmadı. IL-4, IFN-gamma tarafından uyarılmış monosit aktivasyonunu iptal eden (Te Velde ve ark. 1990), makrofajların sitotoksik aktivitesini, proinflamatuvar sitokinlerin salınımını ve ekspresyonunu engelleyen, TNF- α gibi monosit-salınan sitokinleri ve makrofajlardan salınan nitrik oksit üretimini baskılayan bir sitokindir (Opal ve DePalo 2000). Bu çalışmada da IFN-gamma ve TNF- α düzeylerinin yüksek olması IL-4 seviyesinin düşüklüğüyle ilişkili olabilir. IL-10'un makrofajlardan TNF-alfa ve IL-1 üretimini baskıladığı ve reaktif nitrojen aracılarının üretimi ve nitrik oksit sentezinin ekspresyonunu azalttığı bildirilmiştir (Laskin ve ark. 2007). Bu bildirim dikkate alındığında TNF-alfa oranının yüksek olması, IL-10'un önemsiz pozitifliğini ortaya koymaktadır. Diğer bir deyişle salıverilen IL-10'un TNF-alfa miktarını etkileyecek kadar salıverilmediği düşündürmektedir.

Bu çalışmada elde edilen bilgilerle, pnömoni ve eroziv ülseratif stomatitis ile seyreden PPRV enfeksiyonunda dil, yanak mukozası epiteli ve akciğer dokusunda şekillenen lokal sitokin yanıtın, ilk önce virüsü ortadan kaldırmak için Th1 immün cevabı sergileyip, kazanılmış bağışıklıkta rol oynayan ve humoral yanıtı oluşturan Th2 yanıt henüz ortaya çıkmadan hayvanlarda ölüm şekillenebileceği sonucuna varılabilir. İlerleyen dönemlerde gerek lokal, gerekse sistemik sitokin yanıtın

araştırılması immunopatogenez hakkında elde edilen bu bulguları daha da genişletecek ve detaylandıracaktır. Sistemik veya lokal sitokinlerle birlikte, sitokinleri salıveren hücrelerin de immunofenotipik olarak gösterilmesi, sitokin ve sitokin salan hücrelerin birlikte değerlendirilmesine olanak verebileceği düşünölmektedir. Çalışmada ağız mukozası ve akciğerlerde; baskın Th1 sitokin yanıtının lokal olarak gösterilmesi, PPR'ın en önemli bulgusu olan interstisyel proliferatif pnömoni ve eroziv ülseratif stomatitiste, immunopatogenez ve hücreyel immun yanıt hakkında bilgi vermiştir.

KAYNAKLAR

- ABBAS KA, LICHTMAN AK (2005) Cellular And Molecular Immunology, 5th ed, p:243-275.
- ABDOLLAHPOUR G., RAOOFI A., NAJAFI J, SASANI F, SAKHAÏE E (2006) Clinical and Para-clinical Findings of a Recent Outbreaks of Peste des Petits Ruminants in Iran, *J Vet Med B*, 53, 14–16.
- ABEGUNDE AA, ADU FD (1977) Excretion of the virus of peste des petits ruminants by goats. *Bull Anim Hlth Prod Afr*, 25, 307-311.
- ABRAHAM G (2005) Epidemiology of Peste des Petits Ruminants Virus in Ethiopia and Molecular Studies on Virulence. *Le Titre de Docteur de L'Institut National Polytechnique de Toulouse, Phd Thesis*.
- ABU BAKAR M, QURBAN A, KHAN HA (2008) Prevalance and mortality rate of peste des petits ruminants: possible association with abortion in goat. *Trop Anim Health Prod*, 40, 5, 317-21.
- ABU ELZEIN EME, HASSANIEN MM, ALFALEG AIA, ABD ELHADI MA, HOUSAWI FMT (1990) Isolation of PPR virus from goats in Saudi Arabia. *Vet Rec*, 127, 309-310.
- ABU ELZEIN EME, HOUSAWI FMT, BASHAREEK Y, GAMEEL AA, AL- AFALEQ AI, ANDERSON EC (2004) Severe PPR infection in Gazelles kept under semi-free range conditions in Saudi Arabia. *J Vet Microbiol B*, 51, 2, 68–71.
- AHMAD K, JAMAL SM, ALI Q, HUSSAIN M (2005) An Outbreak Of Peste Des Petits Ruminants (PPR) In A Goat Flock In Okara, Pakistan. *Pakistan Vet J*, 25, 3, 146-148.
- AKYOL G, ŞENGİL, Z, BAYSAL B (1994) İnterlökkinler. *S Ü Tıp Fak Derg*, 10, 117-123.
- ALCIGIR G, VURAL S, TOPLU N (1996) Türkiye'de kuzularda Peste des petits ruminants virus enfeksiyonunun patomorfolojik ve immunhistolojik ilk tanımı. *Vet J Ankara Univ*, 43, 181–189.
- AMJAD H, ISLAM Q, FORSYTH M, BARRET T, ROSSITER PB (1996) Peste des petits ruminants in goats in Pakistan. *Vet Rec*, 139, 118-119.
- Anonim 2009, World organisation for animal health, Erişim: http://www.oie.int/wahis/public.php?page=country_vaccination&year=2006&selected_species=14). Erişim Tarihi: 12 Ekim 2009
- Anonim 2010, Food and Agriculture Organization, United Nations: The Global Rinderpest Eradication Programme: Status Report on Progress Made to Date in Eradication of Rinderpest: Highlighting Success Story and Action Require Till Global Declaration in 2010. Erişim:

http://www.fao.org/Ag/againfo/resources/documents/AH/GREP_flyer.pdf. Erişim Tarihi: 10 Ocak 2010.

- ARUNI AW, LALITHA PS, MOHAN AC, CHITRAVELU P, ANBUMANI SP (1998) Histopathological study of a natural outbreak of Peste des petits ruminants in goats of Tamilnadu. *Small Ruminant Res*, 28, 233–240.
- ARZT J, WHITE WR, THOMSEN BV, BROWN CC (2010) Agricultural Diseases on the Move Early in the Third Millennium. *Vet Pathol*, 47, 1, 15-27.
- BACH EA, AGUET M, SCHREIBER RD (1997) The IFN gamma receptor: a paradigm for cytokine receptor signaling. *Annu Rev Immunol*, 15, 563–591.
- BAILEY D, BANYARD A, DASH P, OZKUL A, BARRETT T (2005) Full genome sequence of peste des petits ruminants virus, a member of the Morbillivirus genus. *Virus Res*, 110, 119-124.
- BANNO T, GAZEL A, BLUMENBERG M (2004) Effects of tumor necrosis factor-alpha (TNF alpha) in epidermal keratinocytes revealed using global transcriptional profiling. *J Biol Chem* 279, 31, 32633–32642.
- BARKER IK, DREUMEL AAV, PALMER N: The alimentary system. In: Pathology of Domestic Animals, Eds. Jubb KVF, Kennedy PC, and Palmer N, Vol 2, 4th Ed., pp. 162–163. Academic Press, London, 1993.
- BARON MD, BARRETT T (2000) Rinderpest viruses lacking the C and V proteins show specific defects in growth and transcription of viral RNAs. *J Virology*, 74, 2603- 2611.
- BARRETT T (1999) Morbillivirus infections, with special emphasis on morbillivirus of carnivores. *Vet Microbiol*, 69, 3-13.
- BARRETT T, BLIXENKRONE-MOLLER M, DI GUARDO G, DOMINGO M, DUGNAN P, HALL A, MAMAEV L, OSTERHAUS ADME (1995) Morbilliviruses in aquatic mammals: report on round table discussion. *Vet Microbiol*, 44, 261-265.
- BASSET C, HOLTON J, O'MAHONY R, ROITT I (2003) Innate immunity and pathogen–host interaction. *Vaccine*, 21, Suppl 2, 12-23.
- BAYKAL Y, KARAAYVAZ M, KUTLU M (1998) İnterlökinler. *T Klin J Med Sci*, 18, 77-84.
- BAZER FW, SPENCER TE, OTT TL (1997) Interferon tau: a novel pregnancy recognition signal. *Am J Reprod Immunol*, 37, 412–420.
- BERHE G, MINET C, LE GOFF C, BARRETT T, NGANGNOU A, GRILLET C, LIBEAU G, FLEMING M, BLACK DN, DIALLO A (2003) Development of a dual recombinant vaccine to

protect small ruminants against peste-des-petits-ruminants virus and capripoxvirus infections. *J Virol*, 77, 1571-1577.

BEYAERT R VE FIERIS W (1998) Tumor Necrosis Factor and Lymphotoxin, In: Cytokines, Ed. A.R. Mire-Sluis ve R. Thorpe, ACADEMIC PRESS, California, USA, 53-69

BRAIDE VB (1981) Peste des petits ruminants. *World anim Review*. 39, 25-28.

BROWN CC, MARINER JA, OLENDER HS (1991) An immunohistochemical study of the pneumonia caused by peste des petis ruminants virus. *Vet Pathol*, 28, 166-170.

BOBER LA, WATERS TA, PUGLIESE-SIVO CC, SULLIVAN LM, NARULA SK, GRACE MJ (1995) IL-4 induces neutrophilic maturation of HL-60 cells and activation of human peripheral blood neutrophils. *Clin Exp Immunol*, 99(1), 129-136.

BUNDZA A, AFSHAR A, DUKES TW, MYERS DJ, DULAC SUSI G, BECKER, A.W.E. (1988) Experimental PPR (goat plague) in Goats and sheep. *Canadian J Vet Res*, 52, 46-52.

CAM Y, GENÇAY A, BEYAZ L, ATALAY O, ATASEVER A, OZKUL A, KİBAR M (2005) Peste des petits ruminants in a sheep and goat flock in Kayseri province. Turkey. *Vet Rec*, 22, 523-524.

CFSPH (2008). Peste des Petits Ruminants [Erisim: http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/peste_des_petits_ruminants.pdf]. Erisim Tarihi: 29.08.2009

CLARK EA, SHU GL, LUSCHER B, DRAVES KE, BANCHEREAU J, LEDBETTER JA, VALENTINE MA (1989) Activation of human B cells. Comparison of the signal transduced by interleukin-4 (IL-4) to four different competence signals. *J Immunol*, 143, 3873-3879.

COUACY-HYMAN E, BODJO C, DANHO T, LIBEAU G, DIALLO A (2007) Evaluation of the virulence of some strains of peste-des-petits-ruminants virus (PPRV) in experimentally infected west African dwarf goats. *The Vet Journal*, 173, 1, 178-183.

COUACY-HYMAN E, BODJO SC, DAHO T, KOFI MY, LIBEAU G, DIALLO A, (2007) Early detection of Viral excretion from experimentally infected gats with Peste-des-petits ruminants virus. *Prev Vet Med*, 78, 85-88

DHAR P, SREENIVASA BP, BARRETT T, CORTEYN M, SINGH RP, BANDYOPADHYAY SK (2002) Recent epidemiology of peste des petits ruminants virus (PPRV). *Vet Microbiol*, 88, 2, 153-159.

DIALLO A.(1988) Rinderpest and peste des petits ruminants; constant threats to animal farming in many developing countries. *Impact Sci Society*, 150, 179-192.

- DIALLO A (1990) Morbillivirus group: genome organisation and proteins. *Vet Microbiol*, 23, 155-163.
- DIALLO A (2006) Control of Peste des Petits Ruminants and Poverty Alleviation?. *J Vet Med B*, 53, 11-13
- DIALLO A, MINET C, LE GOFF C, BERHE G, ALBINA E, LIBEAU G, BARRETT T (2007) The threat of peste des petits ruminants: progress in vaccine development for disease control. *Vaccine*, 25, 5591-5597
- DINARELLO CA (2000) Proinflammatory Cytokines. *Chest*, 118, 503-508
- DOMEIKA K, BERG M, ELORANTA ML, ALNI GV (2002) Porcine interleukin-12 fusion protein and interleukin-18 in combination induce interferon-gamma production in porcine natural killer and T cells. *Vet Immunol Immunopathol*, 86, 11-21.
- DUNGWORTH DL (1993) The respiratory system. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C., Palmer N. (Eds.), *Pathology of Domestic Animals*, Vol. 2, 4th Ed., Academic Press, London, pp. 617-624.
- DUROJAIYE OA, OBI TU, OJO O (1983) Virological and serological diagnosis of peste des petits ruminants. *Trop Vet*, 1, 13-17.
- DURAJOIYE VA, LEFEVRE PC (1996) Peste des petits ruminants. In: OIE Manual of Standards for Diagnostic Test and Vaccines. Third Edd. Chapter 2.1.5.p.: 77-84.
- EL HAG ALI B, TAYLOR WP (1984) Isolation of peste des petits ruminants virus from the Sudan. *Res Vet Sci*, 36, 1-4.
- EL HAG ALI B VE TAYLOR WP (1988) An investigation of rinderpest virus transmission and maintenance by sheep, goats and cattle. *Bull Anim Hlth Prod Afr*, 36, 290-294.
- ELIGULASHVILI R, PERL S, STRAM Y, FRIEDGUT O, SCHEICHAT N, SAMINA I, TRAININ Z (1999) Immunohistochemical detection of peste des petits ruminants viral antigen in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues from cases of naturally occurring infection. *J Vet Diagn Invest*, 11, 3, 286-8.
- EMERGENCY PREVENTION SYSTEM (EMPRES) for Transboundary Plant and Animal Pests and Diseases 2000; no. 13.URL: <http://www.fao.org/empres> Erişim Tarihi: 12.08.2009
- FAO (1999) RECOGNIZING PESTE DES PETITS RUMINANTS, A field manual, Animal Health Manual-5,
- FAO (2007) Recognizing Peste des Petits Ruminants a field manual. [Erisim: <http://www.fao.org/DOCREP/003/X1703E/X1703E00.htm>]. Erisim Tarihi: 30.04.2007

- FAO (2009) Peste des Petits Ruminants (PPR), A challenge for small ruminant production. [Erisim: http://www.fao.org/Ag/againfo/resources/documents/AH/PPR_flyer.pdf]. Erisim Tarihi: 29.08.2009
- FITZGERALD KA, O'NEILL LUKE AJ, GEARING ANDY JH, CALLARD RE (2001) The Cytokine FactsBook, Second Edition, ACADEMIC PRESS, USA.
- FRUCHT DM, FUKAO T, BOGDAN C, SCHINDLER H, O'SHEA JJ, KOYASU S (2001) IFN-gamma production by antigen-presenting cells: mechanisms emerge. *Trends Immunol*, 22, 556–560.
- FUJII S VE LOTZE MT (2006) IL-10 Effects on Innate Immunity, in: Interleukin-10, Ed. FM. Marincola, Eureka.com / Landes Bioscience, USA, p:11-24.
- FURLEY CW, TAYLOR WP, OBI TU (1987) An outbreak ruminants in a zoological collection. *Vet Rec*, 121, 443-447.
- GALBRAITH SE, MCQUAID S, HAMILL L, PULLEN L, BARRETT T, COSBY SL (2002) Rinderpest and peste des petits ruminants viruses exhibit neurovirulence in mice. *J Neurovirol* 8, 45–52.
- GARGADENNEC L, LALANNE A (1942) La peste des petits ruminants. *Bulletin des Services Zoo Technique et des Epizootie de l'Afrique Occidentale Française*, 5, 16 – 21.
- GIBBS EPJ, TAYLOR WP, LAWMAN MJP, BRYANT J (1979) Classification of peste des petits ruminants virus as the fourth member of the genus Morbillivirus. *Intervirology*, II, 268–274.
- GOLDSBY RA, KINDT TJ, OSBORNE BA (2000) Kuby Immunology 4th ed. Chapter 12, p:275-300
- GOTOH B, KOMATSU T, TAKEUCHI K, YOKOO J (2001) Paramyxovirus accessory proteins as interferon antagonists. *Microbiol Immunol*, 45, 787–800.
- GUPTA S, GOLLAPUDI S (2005) Molecular mechanisms of TNF-alpha-induced apoptosis in aging human T cell subsets. *Int J Biochem Cell Biol*, 37, 5, 1034–1042
- GÜL Y, DABAK, M İSSİ, M, BASBUG O (2001) Elazığda 1999 yılında koyun ve keçilerde gözlenen peste des petits ruminants (PPR) olguları. *FÜ Sağlık Bil Derg*, 15, 1, 31-38.
- GÜL Y, KIZIL Ö, İSSİ M. (2006) Bir kuzuda saptanan subklinik küçük ruminant vebası (peste des petits ruminants, PPR) olgusu. *FÜ Sağlık Bil Derg*, 20, 3, 245-247.
- HAMDY FM, DARDIRI AH, NDUAKA O, BREESE SS, IHAMELANDU EC (1976) Etiology of the stomatitis pneumoenteritis complex in Nigerian dwarf goats. *Can J Comp Med*, 40, 276-284.

- HAMILTON JA (1993) Colony stimulating factors, cytokines and monocyte-macrophages—some controversies. *Immunol Today*, 14, 18-24.
- HAROUN M, HAJER I, MUKHTAR M, ALI BE (2002) Detection of Antibodies Against Peste des Petits Ruminants Virus in Sera of Cattle, Camels, Sheep and Goats in Sudan. *Vet Res Commun*, 26, 537-541.
- HESSAMI M, MOAKHAR RK, KHEDMATI K, SARVEST R (1994) Seroepidemiology of rinderpest and peste des petits ruminants in sheep and goats in Iran. *Arch Inst Razi*, 44-45, 19-23.
- HOMEY B, DIEU-NOSJEAN MC, WIESENBERN A, MASSACRIER C, PIN JJ, OLDHAM E, CATRON D, BUCHANAN ME, MULLER A, DEWAAL MALEFYT R, DENG G, OROZCO R, RUŽIČKA T, LEHMANN P, LEBECQUE S, CAUX C, ZLOTNÍK A (2000) Up-regulation of macrophage inflammatory protein-3 alpha/CCL20 and CC chemokine receptor 6 in psoriasis. *J Immunol*, 164, 12, 6621–6632.
- HORVATH CM (2004) Silencing STATs: lessons from paramyxovirus interferon evasion. *Cytokine Growth Factor Rev*, 15, 117–127.
- HOWARD M, FARRAR J, HILFIKER M (1982) Identification of a T-cell derived B-cell growth factor distinct from interleukin-2. *J Exp Med*, 155, 914-923.
- ISAKSON EC, PURE E, VITETTA S, KRAMMER PH (1982) T cell-derived B cell differentiation factor(s): effects on the isotype switch to murine B cells. *J Exp Med*, 155, 734-748.
- ISMAIL TH, YAMANAKA, MK, SALIKI JK, ELKHOY A, MEBUS C, YILMA T (1995) Cloning and expression of the nucleoprotein of PPR virus in baculovirus for use in serological diagnosis. *Virology*, 208, 776-778.
- JONES L, GIAVEDONI L, SALIKI JT, BROWN C, MEBUS C, YILMA T (1993) Protection of goats against peste des petits ruminants with a vaccinia virus double recombinant expressing the F and H genes of rinderpest virus. *Vaccine*, 13, 36-40.
- KOMAI-KOMA M, LIEW FY, WILKINSON, PC (1995) Interactions between IL-4, anti-CD40, and antiimmunoglobulin as activators of locomotion of human B cells. *J Immunol*, 155(3), 1110-1116.
- KEYSTONE E (2004) Adalimumab therapy in rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am*, 30(2), 349–364.
- KOCK A, SCHWARZ T, KIRNBAUER R, URBANSKI A, PERRY P, ANSEL JC, LUGER, TA (1990) Human Keratinocytes Are a Source for Tumor Necrosis Factor α : Evidence for synthesis and Release upon Stimulation with Endotoxin or Ultraviolet Light. *J Exp Med*, 172, 1609–1614.

- KUL O, KABAKCI N, ATMACA HT, OZKUL A (2007) Natural peste des petits ruminants virus infection: novel pathologic findings resembling other morbillivirus infections. *Vet Pathol*, 44, 479-86.
- KUL O, KABAKCI N, ÖZKUL A, KALENDER K, ATMACA HT (2008) Concurrent peste des petits ruminants virus and pestivirus infection in stillborn twin lambs. *Vet Pathol*, 45, 191-196.
- KULKARNI DD, BHIKANE AU, SHAILA MS, VARALAKSHMI P, APTE MP, NARLADKAR BW (1996) Peste des petits ruminants in goats in India. *Vet Rec*, 138, 187-188.
- LASKIN DL, SUNIL VR, LAUMBACH RJ, KIPEN HM (2007) Inflammatory Cytokines and Lung Toxicity, Cytokines in Human Health, RV. House, J Descotes, Humana Press Inc., Totowa, 83-113
- LEFÈVRE PC VE DIALLO A (1990) Peste des petites ruminants. *Rev Sci tech Off Int Epiz*, 9, 951-965.
- LEFEVRE PJ, DIALLO A, SCHENKEL F, HUSSEIN S, STAAK G (1991) Serological evidence of peste des petits ruminants in Jordan. *Vet Rec*, 128, 5, 110.
- LIBEAU, G. (1997) Antigen capture ELISA for differential diagnosis of rinderpest and peste des petits ruminants. Report on the Third Meeting of TC Regional Coordination Project TAW/5/004. Amman. Jordan. June 22-26.1997.
- LIBEAU G, DIALLO A, CALVEZ D, LEFEVRE PC (1992) A competitive ELISA using anti-N monoclonal antibodies for specific detection of RP antibodies in cattle and small ruminants. *Vet Microbiol*, 31, 147-160.
- MAEYER E ve MAEYER-GUIGNARD J (1998) Interfeon gamma, In: Cytokines, Ed. A.R. Mire-Sluis ve R. Thorpe, ACADEMIC PRESS, California, USA, 53-69
- MIRE-SLUIS AR (1998) Interleukin-4, In: Cytokines, Ed. A.R. Mire-Sluis ve R. Thorpe, ACADEMIC PRESS, California, USA, 53-69
- LOSOS GJ (1994) Peste des petits ruminants. In: Infectious Tropical Diseases of Domestic Animals. *The Bath Pres*, 549-558.
- MALAGUARNERA L, IMBESI R, DI ROSA M, SCUTO A, CASTROGIOVANNI P, MESSINA A, SANFILIPPO S (2005) Action of prolactin, IFN-gamma, TNF-alpha and LPS on heme oxygenase-1 expression and VEGF release in human monocytes/macrophages. *Int Immunopharmacol* 5, 9, 1458-1469
- MALERICH P ve ELSTON DM (2006) Introduction to TNF/pathophysiology of TNF, In: TNF-alpha Inhibitors Ed. JM Weinberg ve R Buchholz, Birghauser Verlag, Germany, p: 1-9

- MOSMANN T ve SAD S (1996) The expanding universe of T-cell subsets:Th1, Th2 and more. *Immunol Today*, 17, 3, 138-145.
- MOORE KW, DE WAAL MALEFYT R, COFFMAN RL, O'GARRA A (2001) Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol*, 19, 683-765.
- MOSSER DM VE ZHANG X (2008) Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine. *Immunol Rev*, 226, 205–218.
- MOUSSALLEM TM, GUEDES F, FERNANDES ER, PAGLIARI C, PENTEADO LANCELLOTTI CL, FRANCO DE ANDRADE JR H, SEIXAS DUARTE MI (2007) Lung involvement in childhood measles: severe immune dysfunction revealed by quantitative immunohistochemistry. *Hum Pathol*, 38, 1239– 1247.
- MOUSTAFA T (1993) Rinderpest and peste des petits ruminants-like disease in the Al- Ain region of the United Arab Emirates. *Rev Sci tech Off Int Epiz*, 12, 3, 857-863.
- MURPHY FA, FAUQUET CM, BISHOP DHL, GHABRIAL SA, JARVIS AW, MAETELLI GP, MAYO MA, SUMMERS MD (1995) Paramyxoviridae. In: Virus Taxonomy Classification and Nomenclature. Springer Verlag, Wien, Newyork, p.: 268-274.
- NANDA YP, CHATTERJEE A, PUROHIT AK, DIALLO A, INUI K, SHARMA, RN, LIBEAU G, THEVASAGAYAM J, BRUNING A, KITCHING RP, ANDERSON J, BARRETT T, TAYLOR WP (1996) The isolation of peste des petits ruminants virus from Northern India. *Vet Microbiol*, 51, 207-216.
- NAWATHE DR (1984) The control of peste des petits ruminants in Nigeria. *Prev. Vet Med*, 2, 147–155.
- NOMA Y, SIDERAS T, NAITO T, BERSTEDT-LINDGVIST S, AZUMA C, SEVERINSON E, ANABE T, KINASHI T, HONJO T (1986) Cloning of cDNA encoding the murine IgG1 induction factor by a novel strategy using SP6 promotor. *Nature*, 319,640-644.
- OIE (1999) OIE disease information; 12, 137.
- OIE (2008) Peste des petits ruminants, Morocco. OIE Alert Message MAR 23-07-08.
- OPAL SM, DEPALO VA (2000) Anti-inflammatory Cytokines, *Chest*, 117, 1162-1172.
- OTTE E (1960) Clinical studies on “abu nini” in the Sudan: a contagious disease of goats and sheep, possibly caused by a pleuropneumonia-like organism. *Vet Rec*, 72, 140–145.
- ÖNDER F VE KESKİN E (2006) İnterlökinlerin biyolojik etkileri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Dergisi*, 9, 1, 127-138

- ÖZKUL A, AKÇA Y, ALKAN F, BARRETT T, KARAOĞLU T, DAGALP SB, ANDERSON J, YESİLBAG K, ÇOKÇALISKAN C, GENÇAY A, BURGU İ (2002) Prevalance, Distribution and Host Range of Peste des petits ruminants virus, Turkey. *Emerg Infect Dis*, 8 (7), 708-712.
- PAGANIN C, MATTEUCCI C, CENZUALES S, MANTOVANI A, ALLAVENA E (1994) IL-4 inhibits binding and cytotoxicity of NK cells to vascular endothelium. *Cytokine*, 6, 135-140.
- PATHANIA V, SYAL N, PATHAK CM, KHANDUJA KL (1999) Vitamin E suppresses the induction of reactive oxygen species release by lipopolysaccharide, interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha in rat alveolar macrophages. *J Nutr Sci Vitaminol*, 45, 675-686.
- PUGIN J, ULEVITCH RJ, TOBIAS PS (1993) A critical role for monocytes and CD14 in endotoxin-induced endothelial cell activation. *J Exp Med*, 178, 2193-2200.
- RODRIGUEZ-CARRENO MP, LOPEZ-FUERTE L, REVILLA C, EZQUERRA A, ALONSO R, DOMINGUEZ J (2002) Phenotypic characterization of porcine IRN-y-producing lymphocytes by flow cytometry. *J Immunol Meth*, 259, 171-179.
- RAJAK KK, SREENIVASA BP, HOSAMANI M, SINGH RP, SINGH SK, SINGH RK, BANDYOPADHYAY SK (2005) Experimental studies on immunosuppressive effects of peste des petits ruminants (PPR) virus in goats. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 28, 287-296.
- ROEDER PL, ABRAHAM G, KENFE G, BARRETT T (1994) Peste des petits ruminants in Ethiopian goats. *Trop Anim Hlth Prod*, 26, 69-73.
- ROMERO CH, BARRETT T, KITCHING RP, BOSTOCK C, BLACK DN (1995) Protection of goats against peste des petits ruminants with a recombinant capripox viruses expressing the fusion and haemagglutinin protein genes of rinderpest virus. *Vaccine* 13, 36-4.
- ROWLAND AC, SCOTT GR, HILL DH (1969) The pathology of an erosive stomatitis and enteritis in West African dwarf goats. *J Pathol*, 98, 83-87.
- ROWLAND, AC, BOURDIN P (1970) The histological relationship between peste des petits ruminants and kata in West Africa. *Revue d'Elevage et de Medecine Veterinaire des Pays Tropicaux*, 23, 301-307.
- SALIKI JT, BROWN CC, HOUSE JA, DUBOVI J (1994) BRIEF COMMUNICATIONS Differential immunohistochemical staining of peste des petits ruminants and rinderpest antigens in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues using monoclonal and polyclonal antibodies. *J Vet Diagn Invest*, 6, 96-98.
- SCHRODER K, HERTZOG PJ, RAVASI T, HUME DA (2004) Interferon- γ : an overview of signals, mechanisms and functions. *J Leukocyte Biol*, 75, 163-189.

- SCOTT GR (1990) Peste des petits ruminants (Goat plaque) virus. In: Virus Infections of Ruminants. Edd: Z. Dinter, B. Morein, Elsevier Science Publisher, Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo, chapter, 33 p: 355-361.
- SERVET-DELPRAT C, VIDALAIN PO, VALENTIN H, RABOURDIN-COMBE C (2003) Measles virus and dendritic cell functions: how specific response cohabits with immunosuppression. *Curr Top Microbiol Immunol*, 276, 103–23.
- SHAILA MS, PURUSHOTHAMAN V, BHAVSAR DA, VENUGOPAL K, VENKATESAN RA (1989) Peste des petits ruminants of sheep in India. *Vet Rec*, 125, 602.
- SHAILA MS, VENUGOPAL K, PURUSHOTHAMAN V, VENKATESAN RA (1990) Isolation and characterization of peste des petits ruminants virus from an outbreak in Tamilnadu sheep. *Indian Vet J*, 67, 385-386.
- SHAILA MS, SHAMAKI D, FORSYTH M, DIALLO A, GOATLEY L, KITCHING P, BARRETT T (1996). Geographic distribution and epidemiology of peste des petits ruminants. *Virus Res*, 43, 149-153.
- SHERWOOD ER, TOLIVER-KINSKY T (2004) Mechanisms of the inflammatory response. *Best Pract Res Clin An*, 18, 3, 385–405.
- SHEILDS JG, ARMITAGE RJ, JAMIESON BN, BEVERLEY PC, CALLARD RE (1989) Increased expression of surface IgM but not IgD or IgG on human B cells in response to IL-4. *Immunology* 66, 224-228.
- SEN GC (2001) Viruses and interferons. *Annu Rev Microbiol*, 55, 255–281.
- SINNATHAMBY G, RENUKARADHYA GJ, RAJASEKHAR M, NAYAK R, SHAILA MS (2001) Immune responses in goats to recombinant hemagglutinin-neuraminidase glycoprotein of Peste des petits ruminants virus: identification of a T cell determinant. *Vaccine*, 19, 4816-4823.
- SVITEK N, VON MESSLING V (2007) Early cytokine mRNA expression profiles predict Morbillivirus disease outcome in ferrets. *Virology*, 362, 404–410.
- TAN J, DELEURAN B, GESSER B, MAARE H, DELEURAN M, LARSEN CG, THESTRUP-PEDERSEN K (1995) Regulation of human T lymphocyte chemotaxis in vitro by T cell-derived cytokines IL-2, IFN-gamma, IL-4, IL-10, and IL-13. *J Immunol*, 154, 8, 3742-3752.
- TATAR N. (1998) Koyun ve keçilerde küçük ruminantların vebası ve sığır vebası enfeksiyonlarının serolojik ve virolojik olarak araştırılması. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- TATAR N, ALKAN F (1999) Koyun ve keçilerde küçük ruminantların vebası (peste des petits ruminants) ve sığır vebası enfeksiyonlarının serolojik ve virolojik olarak araştırılması. *Etilik Vet Mikrob Derg*, 10, 2, 35-60.

- TATAR N, ERTÜRK A, KABAKLI Ö, AKKOCA N, İNÇOĞLU S, ÜLKER U, DAKMAN A (2002) Türkiye’de küçük ruminantların vebasının (peste des petits ruminants) serolojik olarak prevalansının belirlenmesi. *Etilik Vet Mikrob Derg*, 13, 1, 15-31.
- TAYLOR WP (1979) Protection of goats against PPR with attenuated RP virus. *Res Vet Sci*, 27, 321-324.
- TAYLOR WP, ABEGUNDE A (1979) The isolation of peste des petits ruminants virus from Nigerian sheep and goats. *Res Vet Sci*, 26, 94-96.
- TAYLOR WP (1984) The distribution and epidemiology of PPR. *Prevent Vet Med*, 2, 157-166.
- TAYLOR WP, AL BUSAIDY S, BARRETT T (1990) The epidemiology of peste des petits ruminants in the Sultanate of Oman. *Vet Microbiol*, 22, 341-352.
- TE VELDE AA, ROUSSET F, PERONNE C, DE VRIES JE, FIGDOR CG (1990) IFN-alpha and IFN-gamma have different regulatory effects on IL-4-induced membrane expression of Fc γ RIIb and release of soluble Fc γ RIIb by human monocytes. *J Immunol*, 144, 3052-3059.
- THANAWONGNUWECH R, RUNGSIPIPAT A, DISATIAN S, SAIYASOMBAT R, NAPAKANAPORN S, HALBUR PG (2003) Immunohistochemical staining of IFN- γ positive cells in porcine reproductive and respiratory syndrome virus-infected lungs. *Vet Immunol Immunopathol*, 91, 73-77.
- TOPLU N (2004) Characteristic and non-characteristic pathological findings in peste des petits ruminants (PPR) of sheep in the Ege district of Turkey. *J Comp Pathol*, 131, 135-141.
- TROTTA PP (1991) Cytokines: An Overview. *Am J Repr Immunol*, 25, 137-141.
- WANG Z, BAO J, WU X, LIU Y, LI L, LIU C, SUO L, XIE Z, ZHAO W, ZHANG W, YANG N, LI J, WANG S, WANG J (2009) Peste des petits ruminants virus in Tibet, China. *Emerg Infect Dis*, 15, 2, 299-301
- WOHLSEIN P, SALIKI J (2006) Rinderpest and Peste des petits ruminants- the disease: clinical signs and pathology, Rinderpest and Peste de Petits Ruminants Virus Plagues of Large and Small Ruminants. Ed.T. Barrett, PP. Pastoret and WP. Taylor, Elsevier, Norfolk, 68-86.
- VALLE A, ZUBER CE, DEFRANCE T, DJOSSOU O, DE RIE M, BANCHEREAU J (1989) Activation of human B lymphocytes through CD40 and interleukin-4. *Eur. J Immunol*, 19, 1463-1467.
- VICARI AP VE TRINCHIERI G (2004) Interleukin-10 in viral diseases and cancer: exiting the labyrinth? *Immunol Rev*, 202, 223-236.

- YANG L, FROIO RM, SCIUTO TE, DVORAK AM, ALON R, LUSCINSKAS FW (2005) ICAM-1 regulates neutrophil adhesion and transcellular migration of TNF- α activated vascular endothelium under flow. *Blood*, 106, 584–589.
- YENER Z, SAGLAM YS, TEMUR A, KELES H (2004) Immunohistochemical detection of peste des petits ruminants viral antigens in tissues from cases of naturally occurring pneumonia in goats. *Small Ruminant Res*, 51, 273–277.
- YEŞİLBAĞ K, YILMAZ Z, GÖLCÜ E, ÖZKUL A (2005) Peste des petits ruminants outbreak in Western Turkey. *Vet Rec*, 27, 260-261.
- YOKOTA T, ARAI N., DE VRIES J, SPITS H, BANCHEREAU J, ZLOTNIK A, RENNICK D, HOWARD M, TAKEBE Y, MIYATAKE S, LEE F, ARAI KEN-ICHI (1988) Molecular biology of interleukin-4 and interleukin-5 genes and biology of their products that stimulate B cells, T cells and hemopoietic cells. *Immunol Rev*, 102, 137-185.
- ZHANG P, SUMMER WR, BAGBY GJ, NELSON S (2000) Innate immunity and pulmonary host defense. *Immunol Rev*, 173, 39–51.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı: Hasan Tarık

Soyadı: ATMACA

Doğum yeri ve tarihi: Kırıkkale-1979

Uyruğu: T.C.

Medeni durumu: Evli

Adres: Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Yahşihan,
71451, KIRIKKALE.

Telefon: 0318 357 33 01 / 3332

E-posta: ht_atmaca@yahoo.com

II- Eğitimi

1998-2003: Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi

1990-1997: Kırıkkale Anadolu Lisesi

1985-1990: 50.Yıl İlköğretim Okulu

Yabancı dili: İngilizce

III- Mesleki Deneyimi

2003- Araştırma görevlisi

IV- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Veteriner Patoloji Derneği

V- Yayınları

Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1. Özkayhan M. A.,Karaer Z.,İlkme A. N., **Atmaca H.T.** 2007 “Kırıkkale belediye mezbahasında kesilen koyunlarda sarcocystis türlerinin yaygınlığı ” Türkiye Parazitoloji Dergisi, 31 (4): 272-276.
2. Karahan S., Çavusoglu K., **Atmaca H.T.**, Yalçın E. 2008 “ Albino Farelerde Iyonlaştırıcı Radyasyonun Hepatosit Morfolojisi ve Prolifere Hücre Çekirdek Antijeni (PCNA) Ekspresyonu Üzerindeki Etkileri” Erciyes Üniv Vet Fak Derg 5(2) 61-66.

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1. Yarım, M., Karahan, S., Kabakçı, N, **Atmaca, T.** 2006 “Immunolocalization of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase in normal and hyperplastic ram prostates. Domestic Animal Endocrinology.” 30:17-27.
2. Ocal, N., Karahan, S., **Atmaca, T.** 2006 “Proliferative response by the ostrich proventriculus in idiopathic gastric stasis: a case report.”Acta Vet Hung. Jun;54(2):213-20.
3. Kul, O., Kabakci, N., **Atmaca, H.T.**, Ozkul, A. 2007 “Natural peste des petits ruminants virus (PPRV) infection: Novel pathological findings resembling other Morbillivirus infections” Veterinary Pathology 44 (4), 479-486.
4. Kul O., Kabakçı N., Özkul A., Kalender H., **Atmaca H.T.** 2008 “Concurrent peste des petits ruminants virus and pestivirus infection in stillborn twin lambs” Veterinary Pathology 45 (2) 191-196.
5. Çavuşoğlu K., Yalçın E., **Atmaca H.T.** 2009 “Effects of exposure to heavy metal ions and gamma radiation on some biochemical parameters in mice” Fresenius Environmental Bulletin 18(8) 1439-1445.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

1. Kabakçı, N., Yarım, M., Karahan, S., Güvenç, T., Yağcı, B. B., Gürcan, I. S. ve **Atmaca, T.** “Köpek Gençlik Hastalığı virusu ile enfekte köpek serebellumlarının immunohistokimyasal olarak incelenmesi”. II. Ulusal Veteriner Patoloji Kongresi, 6-10 Eylül 2004, Kapadokya-Nevşehir.
2. Yarım, M., Kabakçı, N. ve **Atmaca, T.** “Prostat hiperplazili koçlarda 3- β hidroksisteroid dehidrojenaz enziminin immunohistokimyasal incelenmesi”. II. Ulusal Veteriner Patoloji Kongresi, 6-10 Eylül 2004, Kapadokya-Nevşehir.
3. Kul, O., Kabakçı, N., Özkul, A., **Atmaca, H.T.** “Koyun ve keçilerde Küçük Ruminant Vebası: Patolojik bulgular ve patogeneze yeni yaklaşımlar” III. Ulusal Veteriner Patoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 6-9 Eylül 2006, Elazığ.

4. Özkayhan M. A., Karaer Z., İlkme A. N., **Atmaca T.** “Kırıkkale belediye mezbahasında kesilen koyunlarda sarcocystis türlerini yaygınlığı ” XV. Ulusal Parazitoloji Kongresi 18-23 Kasım 2007, Ürgüp, Kayseri.
5. Kul, O., Çavuşoğlu K., Yalçın E., **Atmaca H.T.** “Farelerde deneysel gama radyasyon ve ağır metal hasarında patolojik bulgular” II. Ulusal Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı), 6-8 Eylül 2007, Samsun.
6. **Atmaca, H.T.,** Kul, O., Öcal, N., Babür, C., Kabakçı, N., “ Keçi ve koyunlarda doğal Toxoplasma gondii enfeksiyonunda patolojik bulgular: yenidoğan kuzularda nadir ölümcül toxoplazmoz.” IV. Ulusal Veteriner Patoloji Kongresi, 29 Ekim-02 Kasım 2008, Kemer, Antalya.
7. Kul O., **Atmaca H.T.,** Kabakçı N. “ Aborte ve yenidoğan buzağılarda Neospora caninum enfeksiyonu: patolojik ve immunohistokimyasal bulgular.” IV. Ulusal Veteriner Patoloji Kongresi, 29 Ekim-02 Kasım 2008, Kemer, Antalya.
8. Kul O., **Atmaca H.T.,** Deniz A., Süer C. “ Bir Ankara kedisinde kutanöz toksoplazmoz: deri lezyonları kedilerde sistemik enfeksiyonun göstergesi olabilir mi?” IV. Ulusal Veteriner Patoloji Kongresi, 29 Ekim-02 Kasım 2008, Kemer, Antalya.
9. Karahan S, Çavuşoğlu K, **Atmaca HT,** Yalçın E. İyonlaştırıcı radyasyonun albino farelerde hepatosit morfolojisi ve proliferatif hücre çekirdek antijeni ekspresyonu üzerindeki etkileri. Uluslararası Katılımlı IX. Ulusal Histoloji & Embriyoloji Kongresi, 20-23 Mayıs 2008, Adana.

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

1. **Atmaca, H.T.,** Kul, O., Öcal, N., Babür, C., Kabakçı, N., “Definition of Uncommon Fatal Toxoplasmosis in Newborn Lambs” XXV. World Buiatrics Congress, 6-11 July 2008, Budapest, Hungary.
2. Kul O., Kabakçı N., Özkul A., Kalender H., **Atmaca H.T.** “Concurrent peste des petits ruminants virus and pestivirus infection in stillborn twin lambs” XXV. World Buiatrics Congress, 6-11 July 2008, Budapest, Hungary.

Projeler

Ulusal Projeler

1. Kabakcı N., Kul O., **Atmaca T.** “Kırıkkale Yöresindeki Küçük Ruminantların Peste des Petits Ruminants (PPR) Hastalığının Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal Yöntemlerle İncelenmesi”, (Kırıkkale Üniversitesi BAPB, 2005/15)
2. Kabakcı N., Kul O., **Atmaca T.** “Kırıkkale yöresindeki border hastalığının histopatolojik ve immunohistokimyasal yöntemlerle incelenmesi”, (Kırıkkale Üniversitesi BAPB, 2005/15)
3. Özkayhan M. A., Karaer Z., İlkme A. N., **Atmaca H.T.** “Kırıkkale belediye mezbasasında kesilen koyunlarda sarcocystis türlerini yaygınlığı ”, (Kırıkkale Üniversitesi BAPB, 2005-14)
4. Kabakcı N., Kul O., **Atmaca T.** “Kırıkkale Yöresindeki Küçük Ruminantlarda Toksoplazmosis Hastalığının Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal Yöntemlerle İncelenmesi”, (Kırıkkale Üniversitesi BAPB, 2007-21)
5. Kul, O., **Atmaca, H.T.** “Deneysel PPRV Enfekte Gebe Keçilerde, Koyun-Keçi Vebasının Vertikal Geçisi ve Fötal Patoloji Üzerine Araştırmalar” Kırıkkale Üniversitesi BAPB, 2008.
6. Öcal, N., Kul, O., Deniz, A., **Atmaca, H.T.** “Sığır ve köpeklerde Neospora caninum enfeksiyonunun immunopatolojik, serolojik yöntemler ve polimeraz zincir reaksiyonu ile teşhisi” Kırıkkale Üniversitesi BAPB, 2008.
7. Yasa Duru, S., Kul, O., Deniz, A., Pekcan, Z., Pir Yağcı, İ., **Atmaca, H.T.** “Kedilerde toksoplazmoz tanısında seroloji, sitoloji, immunoperoksidaz test ve polimeraz zincir reaksiyonu’nun tanısal değerlerinin araştırılması” Kırıkkale Üniversitesi BAPB, 2008.

Uluslararası Projeler

1. Kul, O., Ocal, N., Kabakci, N., Yildiz, K., Kalender, H., Karahan, S., Çınar Kul, B., **Atmaca, H.T.**, İlkme, N.A. “Efficacy of Toltrazuril and/or Sulphadiazine/Trimethoprim treatment in Neospora caninum infected newborn

calves: Effects on the infected born rate, humoral and cell mediated immune responses”. Bayer Animal Healthcare AG, Monheim-Germany, Good Scientific Project, 2008, Avrupa Birliđi Sanayi Ar-Ge projesi, 2008ABH9020001.

2. Kul, O., Karahan, S., Yildiz, K., **Atmaca, H.T.**, “In-vitro efficacy of toltrazuril on Toxoplasma gondii tissue cysts: evaluation of morphologic changes and viability following therapeutic application” Bayer Animal Healthcare AG, Monheim-Germany, Good Scientific Project, 2008, Avrupa Birliđi Sanayi Ar-Ge projesi, 2008ABH9020002.

3. Kul, O., Yildiz, K., Ocal, N., Karahan, S., **Atmaca, H.T.**, Gokpinar, S., Dincel, C. “In-vivo efficacy of toltrazuril on experimentally induced Toxoplasma gondii tissue cysts in lambs: A novel strategy for avoidance of human exposure to red meat borne toxoplasmosis” Bayer Animal Healthcare AG, Monheim-Germany, Good Scientific Project, 2008, Avrupa Birliđi Sanayi Ar-Ge projesi, 2008ABH9020003.

VI- Diğer Bilgiler

Hücre Kültürü ve PCR Kursu: 12-26 Haziran 2009, Giessen Üniversitesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Enstitüsü, ALMANYA