



T.C.
MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIĞIR TÜBERKÜLOZUNDA MALONDİALDEHİT VE
SUPEROKSİT DİSMUTAZ'IN IMMUNOHİSTOKİMYASAL
OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

M.Mustafa SEZGİNER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PATOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Zafer ÖZYILDIZ

BURDUR-2016

T.C.
MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIĞIR TÜBERKÜLOZUNDA MALONDİALDEHİT VE
SUPEROKSİT DİSMUTAZ'IN IMMUNOHİSTOKİMYASAL
OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

M.Mustafa SEZGİNER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PATOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Zafer ÖZYILDIZ

Bu Araştırma Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0261-YL-15 proje numarası ile desteklenmiştir.

BURDUR-2016

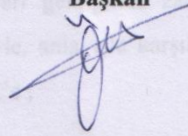
KABUL ve ONAY

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

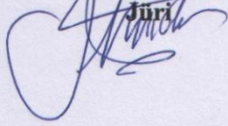
M.Mustafa SEZGİNER tarafından *Doç Dr. Zafer ÖZYILDIZ* yönetiminde hazırlanan *Sığır Tüberkülozunda Malondialdehit ve Superoksit Dismutaz'ın Immunohistokimyasal Olarak Değerlendirilmesi* başlıklı tez çalışması jüri üyeleri olarak tarafımızdan okunmuş; kapsamı ve niteliği açısından Patoloji Anabilim Dalında *Yüksek Lisans Tezi* olarak oy birliği / oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi
29/01/2016

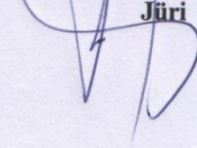
Prof.Dr.Özlem ÖZMEN
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Patoloji Anabilim Dalı
Başkan



Doç.Dr.Zafer ÖZYILDIZ
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Patoloji Anabilim Dalı



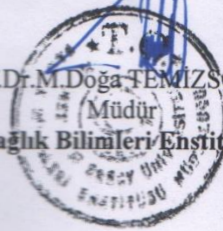
Prof.Dr.Şima ŞAHİNDURAN
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı



ONAY

Bu tez, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Lisans Üstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu 12. 10.2/2016 Tarih ve 2016/6 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof.Dr.M.Doğa TEMİZSOYLU
Müdür
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



TEŞEKKÜR

Tez çalıŐmam sűrecinde yardımlarını ve bilgilerini sabırla ve hoŐgörü ile paylaşan danışman hocam Sayın Doç. Dr. Zafer ÖZYILDIZ'a,

Yüksek lisans eğitimin süresince çok değerli bilgi, zaman ve emeğini paylaşan ve bilgilerini büyük bir sabırla aktaran Patoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Özlem ÖZMEN'e,

Eğitim süresince yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Ahmet AYDOĞAN'a

Yüksek lisans eğitimimi tamamlamamda ve her konuda yardımlarını, tecrübesini, zamanını, bilgisini esirgemeyen büyüğüm Mustafa SEVTEKİN'e,

Tez çalıŐmamın, laboratuvar kısmında yardımcı olan veteriner hekim Hüseyin DOLU'ya,

Eğitimim boyunca yeri geldiğinde zamanımı ve sevgimi eksik tutmama rağmen beni sabır ve sevgiyle, anlayıŐla karşılayan eşim Neslihan SEZGİNER ve biricik kızım Ela SEZGİNER'e ,

TeŐekkűrlerimi sunarım.

BEYAN

İÇİNDEKİLER

Sığır Tüberkülozunda Malondialdehit ve Superoksit Dismutaz'ın Immunohistokimyasal Olarak Değerlendirilmesi başlıklı tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

TÜRKÇE ÖZET

İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)

1. GİRİŞ

29/01/2016

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Etiyolojisi

2.2. Sığır Tüberkülozunun Patogenezisi

2.3. Sığır Tüberkülozunun Teşhis Yöntemleri

2.3.1. Klinik Teşhis Yöntemleri

2.3.1.1. İntradermal

2.3.1.2. Cümme İ

2.3.2. Patojenik

2.3.2.1. Reaktif

2.3.2.2. Histopatolojik Teşhis

2.3.2.3. İmmunohistokimyasal Teşhis

2.3.3. Diğer Teşhis Yöntemleri

2.4. Reseptör Örgütleri

2.5. Malondialdehit

2.6. Superoksit Dismutaz

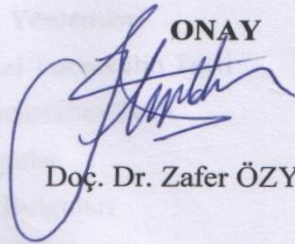
2.6.1. Bkko Çinko Superoksit Dismutaz

2.6.2. İnsan Superoksit Dismutaz

2.6.3. Demir Superoksit Dismutaz

3. GEREK VE YÖNTEM

3.1. Örneklerin Toplanması

ONAY


Doç. Dr. Zafer ÖZYILDIZ

M. Mustafa SEZGINER

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	<i>i</i>
KABUL ve ONAY	<i>ii</i>
TEŞEKKÜR	<i>iii</i>
BEYAN	<i>iv</i>
İÇİNDEKİLER	<i>v</i>
ŞEKİLLER DİZİNİ	<i>vii</i>
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	<i>ix</i>
TÜRKÇE ÖZET	<i>x</i>
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	<i>xi</i>
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Etiyolojisi	2
2.2. Sığır Tüberkülozunun Patogenezisi	2
2.3. Sığır Tüberkülozunun Teşhis Yöntemleri	4
2.3.1 Klinik Teşhis Yöntemleri	4
2.3.1.1. İntradermal Tuberkülin Testi	4
2.3.1.2. Gamma İnterferon Testi	4
2.3.2 Patolojik Bulgular	4
2.3.2.1. Nekropsi Bulguları	4
2.3.2.2. Histopatolojik Teşhis	5
2.3.2.3. İmmunohistokimyasal Teşhis	6
2.3.3 Diğer Teşhis Yöntemleri	6
2.4. Reaktif Oksijen Türevleri	6
2.5. Malondialdehit	7
2.6. Süperoksit Dismutaz	8
2.6.1. Bakır Çinko Süperoksit Dismutaz	9
2.6.2. Mangan Süperoksit Dismutaz	10
2.6.3. Demir Süperoksit Dismutaz	11
3. GEREÇ ve YÖNTEM	13
3.1. Örneklerin Toplanması	13

3.2. Histopatolojik Yöntem	13
3.3. Hemotoksilen-Eozin Boyama Yöntemi	14
3.4 Zielh-Neelsen Boyama Yöntemi	14
3.5 İmmunohistokimyasal Yöntem	14
4. BULGULAR	16
4.1. Makroskobik Bulgular	16
4.2. Mikroskobik Bulgular	17
4.3. İmmunohistokimyasal bulgular	22
4.3.1. SOD aktivitesinin immunohistokimyasal bulguları	22
4.3.2. MDA aktivitesinin immunohistokimyasal bulguları	27
5. TARTIŞMA	30
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	34
7. KAYNAKLAR	35
8. ÖZGEÇMİŞ	45

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil numarası ve başlığı	Sayfa
Şekil 4.1.	Sığır, genaralize tüberküloz, kostaların iç yüzü ve peritonda yaygın ve multiple tüberküller 16
Şekil 4.2.	Sığır, mediastinal lenf yumrusu, tipik tüberküller 17
Şekil 4.3.	A) Sığır, lenf düğümü, konglomere tüberkül ve Langhans tipi dev hücreler, HE, Bar= 500 µm, B) Sığır, plöra, tüberküllerin tipi mikroskopik görünümü, HE, Bar= 200 µm. 18
Şekil 4.4.	A) Sığır, kontrol grubu, akciğer, normal histolojik görünüm, HE, Bar= 200 µm B) Sığır, akciğer, plöra üzerinde şekillenmiş tipik bir tüberkülün yakından görünümü, Langhans tipi dev hücreler, HE, Bar=100 µm 19
Şekil 4.5.	A) Sığır, kontrol grubu, karaciğer, normal histolojik görünüm, HE, Bar= 100 µm. B) Sığır, karaciğer, tüberküllerim görünümü, Langhans tipi dev hücreler, HE, Bar=200 µm. 20
Şekil 4.6.	A) Sığır, kontrol grubu, mediastinal lenf düğümü, normal histolojik görünüm, HE, Bar= 50 µm B) Sığır, mediastinal lenf düğümü, lenf düğümündeki bir granülomun görünümü, Langhans tipi dev hücreler , kazeifikasyon nekrozu ve kalsifikasyon alanı, HE, Bar=200 µm. 21
Şekil 4.7.	Sığır, akciğer, bir tüberkülde saptanan yoğun mikobakteri kümeleri, ZN, Bar=20 µm. 22
Şekil 4.8.	A) Sığır, kontrol grubu, akciğer, bronşiyol epitellerinde hafif SOD pozitif reaksiyon, Streptavidin biotin peroksidaz, Bar= 200 µm B) Sığır, akciğer, tüberküloz, bronşiyol epitellerinde artmış SOD immunoreaksiyonu, Streptavidin biotin peroksidaz metodu, Bar=100 µm. 23
Şekil 4.9.	A) Sığır, kontrol grubu, akciğer, normal akciğer dokusunda bronşiyol epitellerinde orta şiddette SOD pozitif immunoreaksiyonu , Streptavidin biotin peroksidaz, Bar=100 µm. 24

B) Sığır, akciğer, tüberküloz, bronşiyol epitellerinde artmış SOD pozitif immunoreaksiyonu (ok başları), Streptavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 200 µ.

Şekil 4.10. A) Sığır, kontrol grubu, karaciğer, normal karaciğer dokusunda negatif SOD immunoreaksiyonu, streptavidin biotin peroksidaz, Bar=100 µm. 25
B) Sığır, karaciğer, tüberküloz, hepatositlerde artmış SOD pozitif reaksiyon, streptavidin biotin peroksidaz, Bar=100 µm.

Şekil 4.11. A) Sığır, karaciğer, tüberküloz, lezyonlu bölgeye yakın konumdaki hepatositlerde yoğun SOD immunopozitif alanlar, lezyondan uzaklaşan alanlarda bulunan hepatositlerdeki azalmış SOD immunoreaksiyonu, Streptavidin biotin peroksidaz, Bar=100 µm. 26
B) Sığır, karaciğer, tüberküloz, yoğun SOD immunopozitif alanların yakından görünümü, streptavidin biotin peroksidaz, Bar=50 µm.

Şekil 4.12. A) Sığır, kontrol grubu, mediastinal lenf düğümü, normal lenf düğümünde negatif SOD immunoreaksiyonu, streptavidin biotin peroksidaz, Bar=100 µm. 27
B) Sığır, mediastinal lenf düğümü, tüberküloz, makrofajlarda ve Langhans tipi dev hücrelerde artmış SOD immunoreaksiyonu, streptavidin biotin peroksidaz, Bar=100 µm.

Şekil 4.13. A) Sığır, kontrol grubu, mediastinal lenf düğümü, normal lenf düğümünde negatif MDA immunoreaksiyonu, streptavidin biotin peroksidaz, Bar=200µm. 28
B) Sığır, mediastinal lenf düğümü, tüberküloz, lenf düğümündeki lezyonlu bölgede MDA pozitif immunoreaksiyonu, streptavidin biotin peroksidaz, Bar=50 µm.

Şekil 4.14. A) Sığır, plöra, tüberküloz, makrofajlarda pozitif MDA immunoreaksiyonu, Streptavidin biotin peroksidaz Bar=50µm. 29
B) Sığır, akciğer, tüberküloz, bronşiyol epitellerinde ve yangı hücrelerinde MDA pozitif immunoreaksiyonu, streptavidin biotin peroksidaz metodu, Bar=50 µm.

SİMGELER VE KISALTMALAR

4-HNE	Trans-4-hydroxy-2-nonel
CuZnSOD	Bakır – çinko süperoksit dismutaz
DAB	3,3 diaminobenzidine
FeSOD	Demir süperoksit dismutaz
GPx	Glutasyon peroksidaz
GST	Glutasyon s-transferaz
HE	Hematoksilen-eozin
HSCM	Isı ile konsantre edilmiş sentetik besiyeri
IFN- γ	Gamma-interferon
IL-1	İnterleukin 1
IL-6	İnterleukin 6
İHC	İmmunohistokimya
M.bovis	Mycobacterium bovis
MDA	Malondialdehit
MnSOD	Mangan süperoksit dismutaz
MTBC	Mycobacterium tuberculosis complex
NER	Nükleotid eksizyon tamiri
NiSOD	Nikel süperoksitdismutaz
PI3P	Phosphatidylinositol 3-phosphate
PPD	Saflaştırılmış protein türevi
ROS	Reaktif oksijen türevleri
SapM	Secreted Acid Phosphatase
SOD	Süperoksit dismutaz
TB	Tüberküloz
TBA	Thiobarbituric asid
TNF- α	Tümör nekroz faktör alfa
ZN	Ziehl-Neelsen

T.C.
MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Yüksek Lisans Tezi

**Sığır Tüberkülozunda Malondialdehit Ve Superoksit Dismutaz'ın
Immunohistokimyasal Olarak Değerlendirilmesi**

M.Mustafa SEZGİNER

Patoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Zafer ÖZYILDIZ

BURDUR – 2016

ÖZET

Sığır tüberkülozu ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelerde önemini koruyan kronik ve zoonoz bir hastalıktır. Çok eski yıllardan beri tanınan bir hastalık olmasına rağmen patogenezi tam olarak anlaşılammış olan hastalıklardan birisidir. Bu sebeple klinik tanısı kolaylıkla yapılamamaktadır. Bu çalışmada, sığır tüberkülozunda lezyon bölgesinde malondialdehit (MDA) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitelerinin araştırılması ve bunların hastalığın patogenezi ile ilişkileri incelenmiştir. Bu amaçla PPD pozitif olarak kesimi yapılan 25 sığırın lezyonlu iç organlarında SOD ve MDA aktiviteleri immunohistokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızın sonucunda bu markırların aktivitelerinin tüberküloz lezyonunda özellikle yangısal hücrelerde ve ardından da parankimal hücrelerde arttığı saptanmış ve patogeneizde rol oynadıkları kanısına varılmıştır.

Anahtar kelimeler: immunohistokimya, malondialdehit, reaktif oksijen türevleri, sığır tüberkülozu, süperoksit dismutaz.

**Mehmet Akif Ersoy University
Institute of Health Science**

Master of Science thesis

**Immunohistochemical Evaluation of Malondialdehyde and Superoxide Dismutase
in Bovine Tuberculosis**

**M.Mustafa SEZGİNER
Department of Pathology**

Supervisor

Assoc. Prof. Dr Zafer ÖZYILDIZ

BURDUR – 2016

ABSTRACT

Cattle tuberculosis is an important chronic and zoonotic disease of underdeveloped country such as Turkey. Although it is well known since very historic times, the pathogenesis of the disease not fully understood. Because of this clinical diagnosis of tuberculosis is difficult. In this study, malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) activity in lesioned area was examined and the relations of these markers with pathogenesis of the disease were studied. For this aim, slaughtered PPD positive 25 cattle lesion visceral organs were immunohistochemically for SOD and MDA activity. This study results showed that, these markers activities were increased in tuberculosis lesions in both inflammatory and parenchymal cells and role of them in pathogenesis of the disease were detected.

Key words: bovine tuberculosis, immunohistochemistry, malondialdehyde, reactive oxygen species, superoxide dismutase.

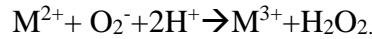
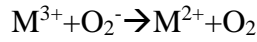
1.GİRİŞ

Tüberküloz (TB), yüzyıllar boyunca insan ve hayvanları etkileyen, kronik seyirli, bulaşıcı bir enfeksiyondur. Hastalık lezyonları, paleolitik ve neolitik dönemlere ait kemikler ile eski Mısır mumyalarında bulunmuştur (31, 101).

Sığır tüberkülozunun etkeni olan *Mycobacterium bovis* (*M.bovis*), aside dirençli, aerobik, sporsuz, hareketsiz ve kapsülsüz bir bakteridir (78).

Malondialdehit, bir peroksidasyon ürünü olup, reaktif oksijen türevlerinin, fosfolipid ve yağ asitlerinin etkileşmesiyle oluşan bir aldehittir (27,36). Lipid peroksidasyonu, normal durumlarda oluşmakla birlikte viral ve bakteriyel enfeksiyonlarda, ksenobiyotikler ile radyasyona maruz kalmalarda ve yangılarda belirgin olmaktadır (27). Serbest oksijen radikalleri aracılığıyla oluşan lipid peroksidasyonu, hücre membran hasarının önemli bir nedenidir, membran geçirgenliğini etkileyerek hücre içinde aşırı Ca^{+2} birikimine yol açar. Hücre membranı disfonksiyonu da, hücre şişmesi ve hücre ölümü ile sonuçlanır. Malondialdehit, lipid peroksidasyonunda bir son üründür ve oksidatif hasarın düzeyini göstermede kullanılır (45).

Süperoksit dismutaz, canlılarda oksijenin potansiyel tehlikesine karşı esansiyel bir savunma metalloenzimidir (8,67). Bu enzim, içinde barındırdığı metal iyonları ile birlikte süperoksit radikallerini iki ayaklı kataliz sonucu daha az zararsız formlara döndürmektedir (55).



Çalışmamızda, *M. bovis* ile doğal enfekte sığırların tüberküloz lezyonlu dokularında malondialdehit ve süperoksit dismutaz reaksiyonunun immunohistokimyasal olarak incelenmesi ve bu markırların sığır tüberkülozunun patogenezindeki rollerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Sığır Tüberkülozunun Etiyolojisi

M. bovis, aside dirençli, aerobik, sporsuz, hareketsiz ve kapsülsüz bir bakteridir (78). İnsan ve hayvanlarda tüberküloza sebep olan mikobakteriler *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC) adı altında toplanmıştır (91). *Mycobacterium bovis*, Karlson ve Lessel tarafından bu grubun bir üyesi olarak kabul edilmiştir (47). Bakteri ayrıca kendine özgü mikolik asit adı verilen bir madde salgılar. Bu yapı hücre yapısında ve hücre duvarının fonksiyonunda kritik bir rol oynar (5).

2.2 Sığır Tüberkülozunun Patogenezi

Duyarlı konakçının vücuduna giren *M. bovis* etkenleri girdikleri dokuda yerleşerek yabancı cisim etkisi yapar ve üremeye başlar (37). Daha sonra basile ilk olarak nötrofiller müdahale eder ve etrafında kümeleşirler. Bu olaydan kısa bir süre sonra nötrofiller degranüle olup karyoreksise uğrar ve yerlerini makrofajlara bırakırlar. Etkenler makrofajlar tarafından fagosite edilerek fagozomlara alınır (83). Fagozomlar lizozomal işlemlerini yapmak için phosphotidylinositol 3-phosphate (PI3P) adı verilen bir lipid komplemente ihtiyaç duyarlar. Bu yapı, fagozomların olgunlaşması için gerekli olan bazı proteinlerin oluşmasında rol oynar. Basilden salınan Secreted Acid Phosphatase (SapM) isimli proteinin, PI3P'ın defosforilasyonuna sebep olarak fagozomun olgunlaşmasını engellediği belirtilmektedir. İn vitro yapılan bir çalışmada, mikobakterilerden ekstrakte edilmiş SapM proteinin PI3P'yi hidrolize ederek fagozom sonrası endozomal birleşmeyi inhibe edildiği bildirilmiştir (83). Makrofaj içindeki kontrol edilemeyen çoğalmadan dolayı mikroorganizma lenfatik dolaşım yoluyla bölgesel lenf düğümlerine ve diğer organlara göç edebilir. Basilin açığa çıkardığı bazı yapılar sebebiyle makrofajlar şekil değiştirerek sitoplazmaları eozinofilik yapıda olan ve dizilimleri epitel hücrelerine benzeyen epiteloid tipte makrofajlara dönüşürler. Bu hücreler birbirleri ile birleşerek çok çekirdekli ve boyutları 50 mikrona ulaşan dev hücreleri oluştururlar. Bu dev hücreler genellikle Langhans tipi dev hücre olup çekirdekleri hilal şeklindedir ve hücre çeperinin etrafına dizilmişlerdir (37,43). Etkenin ilk girdiği

yerde oluşan lezyona *primer effekt* adı verilir. Etkenler aynı organın lenf düğümlerinde de lezyon oluşturduklarında bu iki lezyona birlikte *primer kompleks* denir. Her vakada primer effekt olmasına karşın primer kompleks olmayabilir (37). Tüberküloz için karakteristik lezyonlar granülomlardır ve tüberkül olarak adlandırılır. Bu tüberküllerin yapısı fibroblastların arasına serpiştirilmiş lenfositler ve bu yapıyı çevreleyen epiteloid hücreler ile karakterizedir. Tüberkülün yapısı büyüdükçe ortada kalan hücreler kazeifikasyon nekrozuna uğrarlar. Distrofik kalsifikasyon, kazeifikasyon nekrozunun olduğu alanda meydana gelir. Lezyonun yaşı arttıkça bağ dokusu etrafını çevreler ve olgunlaşır. Lezyonlar büyüdükçe etkilenen organlarda kavernler oluşabilir (43).

Sığır tüberkülozunun en önemli bulaşma yolunun solunum yolu sekretlerinin bir başka hayvan tarafından aerojen yolla alınması şeklinde olduğu düşünülmektedir (31,68). Akciğer tüberkülozunda, akciğer, primer lezyonun en çok görüldüğü yerdir. Özellikle de dorso-kaudal bölgelerde, tek veya multiple odaklar şeklinde görülür ve daima bölge lenf düğümlerine yayılır. Enfeksiyon, bronkopnömonide olduğu gibi bronşio-alveoler bölgelerden başlar ve lobüler yerleşimli, yonca yaprağı görünümünde, multiple odaklar şekillenir. Bazen lezyon akciğerin içerisinde hava yolları veya peribronşial lenfatiklerle yayılabilir. Bu durumda trake ve bronşlarda ülserler ve bronşiektazik kavernler gelişir. Tüberküloz lezyonları bazen de birbirleriyle birleşerek geniş kazeifikasyon nekroz alanları oluştururlar ki bunlara konglomere lezyonlar denir . Bu lezyonlar dıştan bağ dokusuyla veya atelektatik pulmoner parankimle çevrelenmişlerdir. Ayrıca, etkenlerin sayı ve virülensinin yüksek, konakçı direncinin de düşük olduğu durumlarda tüberküloz eksudatif tabiatta düzensiz kazeöz bronkopnömoni veya daha geniş kazeöz lobar pnömoni şeklinde görülür (75).

2.3 Sığır Tüberkülozunun Teşhis Yöntemleri

2.3.1 Klinik Teşhis Yöntemleri

2.3.1.1 İntradermal Tüberkülin Testi

Old tüberkülin, HSCM (ısı ile konsantre edilmiş sentetik besiyeri) tüberkülin ve PPD tüberkülin olmak üzere üç tipi bulunmaktadır. Ancak günümüzde PPD tüberkülin kullanılmaktadır (93). Tüberkülin mikobakterilerden elde edilen saflaştırılmış protein türevi (PPD)'dir (58). Ülkemizde sığır tüberkülozu ile ilgili mücadelede tekli intradermal ve ikili intradermal PPD yöntemi kullanılmakta olup, pozitif reaksiyon veren hayvanların kesilmesi suretiyle hastalığın yayılması önlenmeye çalışılmaktadır (89).

2.3.1.2 Gamma İnterferon (IFN- γ) Testi

Tüberkülozun teşhisinde başarı oranını artırmak için, tam kan, sığır ve kanatlı tüberkülinleri ile kültür edildiğinde, sitokin salınımını saptamak ve ölçmek için IFN- γ testi geliştirilmiştir (92).

IFN- γ 'nın tüberküloz olgularında tümör nekroz faktör alfa ile sinerjik olarak çalışarak, tüberkülozda oluşan granülom yapısının düzenlenmesinde yardımcı, önemli bir sitokin olduğu bildirilmiştir (23).

IFN- γ 1980'lerin sonunda Avusturya'da tüberküloz teşhisi amacıyla kullanılmış, 1996 yılında Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (OIE) tarafından sığır tüberkülozunun teşhisinde intradermal testlere yardımcı laboratuvar tabanlı bir test olarak tavsiye edilmiştir (11). Ülkemizde de bakanlığın iznine tabi olmakla beraber IFN- γ testinin kullanılabileceği bildirilmiştir (89).

2.3.2 Patolojik Bulgular

2.3.2.1 Nekropsi Bulguları

Makroskobik olarak tüberküller akciğer, karaciğer gibi yumuşak dokularda derin olarak yer alırken, müköz membran ve seröz yapılarda taşkın bir şekilde gözlenir. Genellikle tüberküller yumuşak veya sert yapıda olup, beyaz, gri ve sarı renkli

nodüller şekliindedirler. Tüberküllerin kesit yüzünde, merkezde sarımsak renkli, kazeöz nekroz odakları ile kuru ve sert yapıda kalsifikasyon alanlarından oluşan bir yapı bulunur. Kalsifikasyon, sığır tüberkülozunda genellikle şekillenmektedir. Tüberküllerde gerçekleşen kalsifikasyon nedeniyle tüberküle yapılan kesitte çıtırtı sesleri duyulur (43).

Plöra gibi seröz membranlar da enfekte olursa buralarda 0,5 - 1 cm çapında tüberküller şekillenir ve bu yapılar bu bölgeye inci serpilmiş gibi görünüm verdiğinden dolayı buna *incili tüberküloz* adı verilir (43).

Tüberküloz basilinin kana karışarak bütün vücuda yayılması ile *milier tüberküloz* adı verilen ve dokularda 2 -3 mm arası büyüklüklerde tüberkül lezyonları şekillenir. Milier tüberküloz lezyonlarına akciğer dışındaki diğer organlarda da rastlanır (43).

2.3.2.2 Histopatolojik Teşhis

Bir tüberkülün kesitinin hematoksilin-eozin (HE) boyama yöntemiyle boyanması sonrasında, histopatolojik olarak granülom yapısının merkezinde kazeifikasyon nekrozuna uğramış hücreler, eozinofilik yapıda nükleer artık ve değişen derecelerde mineralizasyon bulunur. Makrofajlarla Langhans tipi dev hücrelerden oluşan bir tabaka, kapsüle yakın bölgelerde ise lenfositler ve bazı vakalarda nötrofiller, kronik vakalarda ise kollagen bağ doku gözlenir (13).

Tüberküloz basilinin asite dirençli olmasından dolayı etkenin preparatlarda görülebilmesi için sıcak karbol-fuksin ve bu boyayı içeren Ziehl-Neelsen (ZN) boyama yöntemi ile boyanması gerekmektedir. Bu boyama yönteminde, etkenler mavi zemin üzerinde makrofaj, dev hücreler içinde veya ekstraselüler olarak kırmızı çubuk şeklinde gözlemlenerek teşhis konulabilir (13).

Tüberküloz hastalığında her zaman hastalıkta karakterize olan tüberkül yapısı görülmeyebilir. Özellikle meningeal tüberküloziste enfeksiyonun hızlı ölüme sebep vermesinden dolayı histopatolojik incelemede piameterin yüzeyinde fibrinli veya fibrinopurulent bir eksudat ve meninkslerde serpilmiş görünümde epiteloid hücreler dikkati çeker (43).

2.3.2.3 İmmunohistokimyasal Teşhis

Hedef proteinler veya nükleik asitler için spesifik olan antikor veya proplar, doku kesitlerine uygulandıklarında antijene bağlanmaktadır. İmmunohistokimya (İHC)'da antikorlar bir enzim (peroksidaz vb.) taşıyıcı ve bu enzim kimyasal reaksiyonu tetikleyerek boya ile reaksiyonun lokal bir alana toplanmasına ve görünür hale gelmesine neden olur (84).

İHC, ilk olarak tümörlerin sınıflandırılması amaçlı kullanılmasına rağmen günümüzde çoğu hastalığın teşhisinde, prognozunda, tedavide kullanılan ilaçların seçiminde, hastalıkların patogenezi öğrenmek amacıyla, Hematoksilin-eosin ile konulmuş teşhisin desteklenmesinde, yangısal hastalıklarda hücre çeşitliliğinin ve birikme yerlerinin tespitinde kullanılan kantitatif bir testtir (4,85).

2.3.3 Diğer Teşhis Yöntemleri

Sayın ve Erganiş, 2010 yılında düzenlemiş oldukları bir derlemede tüberkülozun teşhisinde lenfosit poliferasyon testi, moleküler teknikler, humoral bağışıklığın ölçülmesi ve hayvan deneylerinin kullanılabilmesini ancak bu tekniklerin gerek mali açıdan gerekse uygulamada karşılaşılan zorluklardan dolayı pratikte uygulanmasının zor olduğunu bildirmişlerdir (93).

2.4 Reaktif Oksijen Türevleri

Reaktif oksijen türevleri (ROS), oksijen molekülünden köken alan çeşitli molekülleri ve serbest radikalleri (kimyasal olarak tek bağlanmamış elektron) ifade eder. Süperoksit anyonu (O_2^-), birçok ROS'un prekürsörü ve oksidatif zincir reaksiyonlarının bir mediyatörü olarak, oksijen molekülünün bir elektronunun indirgenmiş halidir. Süperoksit anyonu (O_2^-), in vivo olarak enzimatik veya enzimatik olmayan yollardan üretilir. Enzimatik olarak, polimorf nükleer hücreler, makrofajlar ve endotel hücrelerinin hücre membranlarında lokalize olmuş NADPH oksidazlar tarafından ve sitokrom P₄₅₀ bağımlı oksijenazlardan oluşmaktadır. Enzimatik olmayan yoldan ise bir elektronun koenzimler tarafından oksijene transferi veya ksenobiyotiklerin bazı enzimleri indirgemesiyle oluşur. Ayrıca mitokondrideki bazı redoks tepkimelerini içeren elektron transfer zincirinde (TCA siklusu) oluşan

elektron kaçaklarının oksijenle bağlanması, birçok dokuda superoksit radikalının birincil kaynağını oluşturur (107). ROS, konakçının antimikrobiyal cevabı için önemli bir komplementidir (15). Tüberküloz, immün hücrelerinin reaktif nitrojen türleri ve ROS üretimine sebep olmaktadır. Dolaşımında yüksek miktarda bulunan serbest radikallerin aktif tüberküloz hastaları ile akciğer tüberkülozu olan hastalarda oksidatif strese ve çeşitli hasarlara predispozisyon yarattığı belirtilmiştir (38).

2.5 Malondialdehit (MDA)

Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden bir tanesi olup, oksidatif hasar düzeyini göstermede kullanılır (71,73). Önemli serbest oksijen radikallerinden olan süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil iyonlarının (OH^-) (45) fosfolipidler ve yağ asitleri ile birleşmeleri sonucu aldehitleri de içine alan çok sayıda yapı oluşmaktadır. Bu olay genellikle lipid peroksidasyonunun göstergesidir. Lipid peroksidasyonu, normal fizyolojik olaylarda gerçekleşmekle birlikte, viral veya bakteriyel enfeksiyon, ksenobiyotikler, yangı ve radyasyona mağruz kalma gibi durumlarda da dikkati çekmektedir (6,25,66,109). ROS'lar sayesinde oluşan lipid peroksidasyonu, hücre membranında hasar meydana getirerek, hücrenin geçirgenliğini etkiler ve hücre içine aşırı Ca^{+2} birikmesine neden olarak, hücre membranı disfonksiyonu sonucu hücre şişmesi ve hücre ölümü ile son bulur (44). Kontrol edilemeyen peroksidasyon, membran geçirgenliğini ve permeabilitesini değiştirir. Bu nedenle lipid peroksitler ve MDA gibi ikincil metabolitler dolaşım yoluyla diğer dokularda hasara sebep olabilirler (102).

MDA, lipid peroksidasyon ürünleri arasında hücrede en fazla bulunan ürünlerden biridir. Ayrıca MDA, prostoglandin biyosentezinde de üretilmektedir (21,25,65). MDA'nın, memeli hücrelerinde ve insanlarda mutajenik karakterde (70,113), fare ve ratlarda ise karsinojenik karakterde olduğu gösterilmiştir (96,98). MDA, normal fizyolojik koşullarda aminoasitler ve proteinlerle reaksiyona girebilmektedir (12,108). Diğer lipid peroksidasyon ürünleri kadar reaktif olmamakla birlikte, major lipid peroksidasyon ürünü olan trans-4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE) ve acroleinden az reaktif bir yapıdadır (25). Primer olarak proteinlerde bulunan lizin rezidüleri ile birleşmekle birlikte, histidin, tirozin, arjinin ve metiyonin rezidüleri ile de birleşim göstermektedir (21,25,65). Yapılan bir çalışmada, aldehitlerin DNA'dan

çok proteinlerle affinitesinin yüksek olduğu gösterilmiştir. Aldehit-protein birleşmesinin DNA onarımına katılan proteine ait görevleri etkilediği belirtilmiştir (27). Başka bir çalışmada, 4-HNE'nin DNA onarımında görev alan nükleotid eksizyon tamiri (nucleotide excision repair-NER) proteinlerini inhibe ettiği belirtilmiştir (28). Yapılan bir çalışmada MDA'nın da NER'i inhibe ettiği bildirilmiş ve çalışma sonucunda intrasellüler aldehitlerin DNA onarımını engellediği, ayrıca direkt DNA hasarına yol açabileceği ortaya konmuştur (27).

Serum MDA seviyesi, lipid peroksidasyonunun bir indikatörü olarak tiyobarbitürik asit (TBA) metoduyla ölçülebilmektedir (112).

Yapılan çalışmalarda hayvan modelleri ve tüberküloz hastalarında lipoperoksit ürünlerinin akciğer enfeksiyonlarında yükseldiği gösterilmiştir (19,62,72). Bir çalışmada, pneumoni gelişmiş olgularda, lipid peroksitlerin ve MDA'nın belirgin bir şekilde yükseldiği ve diğer yangı markırlarından olan eritrosit sedimentasyon hızı ve total lökosit miktarıyla korelasyon sağladığı bildirilmiştir (72). Birçok çalışma aktif tüberküloz hastalarında serum MDA seviyelerinin oksidatif strese bağlı olarak arttığını ortaya koymuştur (20,50,52,69). Bir çalışmada guine domuzlarında deneysel olarak tüberküloz hastalığı oluşturulmuş ve immunohistokimyasal olarak MDA yönünden incelemede hayvanların akciğer dokularında makrofaj, vasküler endotel hücreleri ve granülositler de immunopozitiflik saptanmıştır (80).

2.6 Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi, ilk olarak sığır eritrositlerinden elde edilmiş, süperoksit radikalini dismutasyona katalize eden ve iki süperoksit anyonunu SOD aktivitesiyle oksijen molekülü ile hidrojen peroksite dönüştüren bir metalloproteindir (32,63). Bu reaksiyon kendiliğinden gerçekleşebildiği gibi, SOD katalizörlüğünde 4000 kat daha hızlı da gerçekleşebilir (2). Organizma için zararlı olan hidrojen peroksit, katalaz ve glutatyon peroksidaz tarafından su ve oksijen moleküllerine dönüştürülmektedir (16,53)

Doku içinde diğer moleküllerin oksidasyona uğramasını engelleyen moleküllere antioksidanlar adı verilmektedir (95). Antioksidanlar enzimatik ve non enzimatik olmak üzere ikiye ayrılırlar (94). Enzimatik antioksidanlar içinde SOD,

katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon s-transferaz(GST) ve mitokondriyal sitokrom oksidaz enzimleri yer almaktadır (79,103). Hücre dışı sıvılarda enzimatik antioksidan sisteminin aktivite göstermesi sınırlı olup (64), hücre dışı ortamlarda antioksidan aktivitesinden E ve C vitamini, transferrin, haptoglobin, seruloplazmin, albümin, bilirubin, ürik asit, glukoz ve sisteinin sorumlu olduğu bildirilmiştir (103).

SOD antioksidan savunma sistemi için primer enzimdir (33). SOD'un konakçının intrasellüler patojenlerden korunmasında önemli katkıları olduğu gösterilmiştir (7).

Oksidatif stres, antioksidanlar ile oksidatifler arasındaki dengenin oksidatifler yönünde bozulması olarak tanımlanmıştır (77).

SOD'un tüm türevlerinin aktivite gösterebilmek için mutlaka bir metal iyonu içermesi gerekmektedir. SOD içerdiği metal iyonu ve amino asit dizilimleri bakımında iki önemli gruba ayrılmaktadır. Birinci grup bakır ve çinkonun proteinle (CuZnSOD) tamamlanmasından oluşur. İkinci grupta ise aktif bölgede mangan (MnSOD), demir (FeSODS) ve nadir olarak nikel (NiSOD) bulunur. İkinci grubun birinci grup SOD'dan farkı içerdiği metal iyonu ile aminoasit dizilimindeki farklılıktan kaynaklanır (48). Ekstrasellüler matrikste ve intersitisyumda, bakır ile çinko elementi içeren ve ekstrasellüler süperoksit dismutaz olarak adlandırılan bir süperoksit bulunduğu, bu SOD'un nitrik oksit düzeyini düzenlediği bildirilmiştir (53).

2.6.1 Bakır Çinko Süperoksit Dismutaz (CuZnSOD)

CuZnSOD, McCord ve Fridovch tarafından ilk olarak ortaya konmuş ve geniş bir memeli organizma grubunda rastlandığı bildirilmiştir (63). CuZnSOD'un, aktif bölgesinde bakır ve çinko içerdiği ve çinkonun enzimin stabilitesi, bakırın ise enzim aktivitesi için gerekli olduğu ortaya konmuştur (53). Dismutasyon reaksiyonlarındaki aktif bölgede bulunan bakır elementi indirgenip yükseltgenir (18). İntrasellüler bir enzim olan CuZnSOD, genellikle sitozolde lokalize olmuştur (49).

CuZnSOD'lar ilk olarak prokaryot hücrelerde bulunmuş, daha sonraki çalışmalarda ise *Escherichia coli*, *Haemophilus* türlerinde, *Caulobacter crescentus*, *Paracoccus denitrificans*, *Pseudomonas* türleri, *Brucella abortus* ve *Photobacterium leiognathi* gibi gram negatif bakterilerde bulunduğu bildirilmiştir (111).

Lakari ve ark. (1998)'nin yapmış oldukları bir çalışmada, sağlıklı akciğer dokusu üzerinde immunohistokimyasal boyama yöntemi ile CuZnSOD'u incelemiş ve bronşiyol epitelinde belirgin pozitiflik gösterdiğini, alveolar makrofajlarda zayıf aktivite gösterdiğini, siliyal bronşiyol epitel hücreleri ile periferik bronşiyol epitel dokusunda daha belirgin bir boyanma gözleendiği, intrasitoplazmik ve homojen olarak dağıldığı bildirilmiştir (54).

Süperoksitler sitoplazmik membranları geçemezler (40), periplazmik olarak yerleşmiş olan CuZnSOD'ın periplazmik ve membran bileşenlerini, hücre dışında oluşmuş ROS bileşenlerine karşı koruma etkili olabileceği düşünülmektedir. Makrofajlarca üretilen ROS'lar mikrosidal cevapta konak için önemli bir sistemdir. Makrofajlarda yaşayan *M. tuberculosis* ve *Salmonella typhimurium* gibi intrasellüler patojenlerin konak immun sisteminden kurtulabilmesinde periplazmik CuZnSOD'ın önemli rolü olabileceği bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada, CuZnSOD üretmesi engellenen *Salmonella* etkeninin farelere oral yolla verildikten sonra, enfekte farelerde ölüm oranının düştüğü, etkenin intraperitoneal enjeksiyonu sonrası farelerin karaciğer ve dalak dokusundaki dayanıklılığının azaldığı gösterilmiştir (26).

Wu ve ark. (1998), bir çalışmada *M. tuberculosis*'e ait CuZnSOD'ın genel olarak periferde lokalize olduğunu göstermişlerdir. Bu sebepten CuZnSOD'ın *M. tuberculosis* etkeninin virülensinde benzer rol oynayabileceği belirtilmiştir (111).

2.6.2 Mangan Süperoksit Dismutaz (MnSOD)

MnSOD, en önemli intrasellüler antioksidan enzimlerden biridir. Aktif bölgesinde mangan içerir ve mitokondride lokalize olur (34). MnSOD'ın ayrıca, bakteri, kloroplast ve ökaryotik alglerde de bulunduğu bildirilmiştir (104). MnSOD, değişen hücrel redox reaksiyonlarında, yangısal sitokinlerden olan tümör nekroz faktör alpha (TNF- α), interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6) ve gama interferon (IFN- γ) artışlarında, hiperoksiye maruz kalmış hayvanlarda, yüksek oksijen basıncında, sigara kullanımı, kronik ozona maruz kalmada ve hidrojen peroksit artışı gibi durumlarda indüklendiği bildirilmiştir (53). MnSOD, total SOD aktivitesinin çoğu hücrede %10-15'i kadarından sorumludur (106). Sitosol fraksiyonunda yer alan CuZnSOD'un MnSOD'dan daha bol bir şekilde bulunmasına rağmen, sitokin

aktivitesi ve hiperoksi durumlarında MnSOD kadar indüklenmediği bildirilmektedir (54).

Lakari ve ark. (1998)'nin normal akciğer dokusu üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada, MnSOD'ın alveolar makrofajlarda zayıf pozitiflik gösterdiği, alveolar epiteldeki kübik hücrelerde ve alveolar tip-II pneumositlerde belirgin bir şekilde pozitif reaksiyon gösterdiği ve pneumositlerde herhangi bir reaksiyon göstermediği bildirilmiştir (54).

Bir başka çalışmada ise MnSOD'ın çalışmada kullanılan hayvanların hayatta kalabilmesi için esansiyel olduğu, MnSOD genlerine zarar verilen farelerin doğduktan sonra 10-21 gün içinde kardiyomiyopati, metabolik asidoz ve nörodejenerasyon sonucu öldükleri ortaya konmuştur (56,57).

2.6.3 Demir Süperoksit Dismutaz (FeSOD)

FeSOD, katalitik aktivite için demir iyonuna ihtiyaç duymaktadır (46). FeSOD, prokaryotlar, ilkel ökaryot ve bazı bitkilerde gözlenmiştir (111). FeSOD'ın ayrıca *Escherichia coli* ve *Pseudomonas ovalis*'te bulunduğu bildirilmiştir (15).

Kusunose ve ark. (1976)'nin yapmış oldukları bir araştırmada *M. tuberculosis*'te FeSOD enziminin bulunduğunu bildirmişlerdir (51). Aynı şekilde başka bir çalışmada da aynı enzimin bulunduğu belirtilmiştir (48).

M. tuberculosis'un sekrete etmiş olduğu FeSOD'ın, konakçının immun sistemi için önemli bir hedef olduğu bilinmektedir (15). Mikobakterilerin süperoksit radikallerinin oluşturabileceği hasardan kurtulmak için fazla sayıda stratejisi bulunmaktadır. Mikobakteriler, SOD ve katalaz enzimlerini oluşturabilmektedirler. Bu iki enzim sayesinde süperoksit radikallerini moleküler oksijen ve suya dönüştürebilmektedirler (48). Mikobakteriler ayrıca hücre duvarlarında bulunan lipoaribinomannanın süperoksit radikallerini temizlediği bildirilmiştir (14).

M. tuberculosis gelişmek ve yaşamak için diğer mikrobeler dışında demire de büyük ölçüde ihtiyaç duyar. Çok sayıda çalışma, konaktaki demir seviyesinin yüksek olduğu durumlarda, tüberküloz saldırısının arttığını ortaya koymuştur (99). Demirin *M. tuberculosis*'in serbest radikallerden korunmasında yardımcı olan süperoksit ve katalaz enziminin üretimi için gerekli olduğu belirtilmektedir (42).

M.tuberculosis demirin olmadığı durumlarda hidrojen peroksite bağlı strese karşı daha hassas konuma gelmektedir (60).

M. tuberculosis konakçıdan düzenli bir şekilde demir sağlayabilmek için, konakçının transferrin ve lactoferrininden önce demir taşıyıcı şelatlarını sekrete etmektedir (39,74). Sideroforlar (demir taşıyıcı), tipik olarak salisilat içeren biyomoleküllerdir. *M.tuberculosis*'de sideroforlar mikobaktin olarak adlandırılırlar. *M. tuberculosis*, iki tip mikobaktin içerir, birincisi çözünebilir form, ikincisi ise membran bağımlı formdur. Her iki mikobaktin uyumlu bir biçimde demiri mikobakteriyel hücreye taşımaktadır. Yine de mekanizma tam olarak açıklanamamıştır (90). Günümüz araştırmalarında, siderofor aktivitesinin engellemesi için yeni ilaçların dizayn edilmesi en önemli konular arasındadır (29, 41).

Ayrıca, demir molekülünün ilginç bir şekilde anti-tüberküloz tedavisi için kullanılan isoniazid ve pyraninamide ilaçlarının (110) aktivitesini arttırdığı bilinmektedir (97,100).

Aynı şekilde *M. tuberculosis*, demir yetersizliği durumlarında katalaz-peroksidaz ve SOD proteinlerinin üretimini azaltmaktadır (60,87). Katalaz-peroksidaz enziminin demir azlığı durumlarında az üretilmesi merak uyandırıcı bir durumdur çünkü bu madde *M.tuberculosis*'te primer peroksidaz ve peroksinitrazları katalize eder (42). Bu kadar önemli bir proteinin az üretilmesinin basilin oksidatif strese maruz kalmasına sebep olabileceği bildirilmiştir (86).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Örneklerin Toplanması

Çalışmamızın materyalini oluşturan doku örnekleri Afyonkarahisar ili Sandıklı ilçesinde bulunan ve tüberkülin uygulamasına pozitif reaksiyon vermiş olan 4-12 yaş arasındaki 97 baş sığırın şartlı kesimi sırasında toplandı. Hayvanların postmortem muayenesinde, makroskopik olarak organlarda tüberküloz lezyonu bulunan veya genaralize tüberküloz olgusuna rastlanan 25 hayvanın mediastinal, bronşiyal lenf yumrusu, akciğer, karaciğer ve kalp dokusundan örnekler alındı. Tüberküloza özgü lezyonlar bulunan örnekler %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonu içinde tespit edildi. Kontrol amacıyla hiçbir makro lezyon göstermeyen 5 sığırın iç organlarından örnekler toplandı. Her bir hayvandan alınan lezyonlu doku örnekleri ayrı kavanozlar içerisine konularak ve üzerine numune numaraları yazılarak Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalına getirildi.

3.2 Histopatolojik Yöntem

Toplanan dokular numaralandırıldıktan sonra trimlendi ve takip kasetlerine yerleştirildi. Akan su altında 1 saat yıkanan kasetler doku takip cihazına takılarak, gerekli ayarlamalar yapıldıktan sonra gece boyunca düşük dereceli alkollerden (%70'den %100'e) geçirilerek yumuşak dokularda bulunan suların alınma işlemi, iki adet ksilolden geçilerek de dokuların sertleştirme ve şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra dokular sıcak yumuşak parafine daldırılıp bir saat bekletildikten sonra geçirilerek doku boşluklarına parafinin dolması sağlandı. Sonraki günün sabahında dokular sert parafine gömülerek blokajları sağlandı. Parafin blokların 4-5 saat soğutulmasının ardından rotary mikrotomda, 5 mikron kalınlığında seri kesitler alındı. Alınan kesitlerden biri hematoksilin eozin (HE), biri ise Ziehl Neelsen (ZN) boyama yöntemleri ile boyarak dokulardaki histopatolojik değişiklikler incelendi.

3.3. Hematoksilen-Eozin Boyama Yöntemi

Beş mikron kalınlığında kesilerek normal lamlara alınan bir seri doku kesiti üzerindeki parafinin uzaklaştırılması amacıyla 30'ar dakika 3 ayrı ksilol serisinden geçirildi. Ardından sırasıyla %100, 96, 90, 80 ve 70'lik alkollerden geçirilerek rehidrate edildi. Daha sonra 15 dakika hematoksilen ve 3 dakika eozin ile boyandı. Ardından dokunun suyunun tekrar alınması için sırasıyla %70, 80, 90, 96 ve 100'lük alkollerden geçirildi. Ksilolde parlatılan boyanmış kesitler üzerine entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı ve kurutuldu.

3.4. Zielh-Neelsen Boyama Yöntemi

Kesitlerdeki tüberküloz etkenlerinin tespiti için Ziehl-Neelsen boyama yöntemi kullanıldı. Bu amaçla normal lama alınan bir seri kesit deparafinize ve rehidrete edildikten sonra 60°C'ye kadar ısıtılmış etüvde sıcak karbol fuksin solüsyonu içinde 1 saat tutuldu. Ardından asit alkolde dekolore edilerek fazla boyanın atılması sağlandı. Daha sonra zemin boyaması için metilen blue içinde 5 dakika bekletildi. Su ile yıkanan kesitler düşük dereceli alkollerden yüksek dereceli alkollere geçirilerek suyu alındı, ksilolde şeffaflaştırıldı ve entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı.

3.5 İmmunohistokimyasal Yöntem

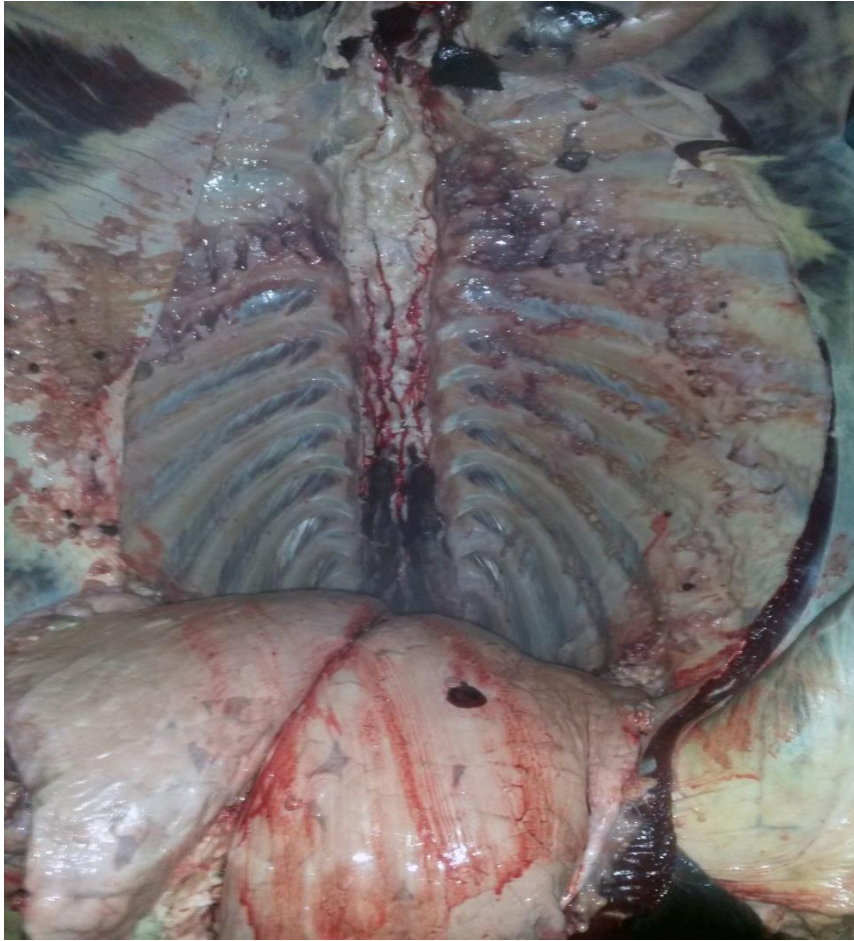
Polilizinli lamlara çekilerek hazırlanan 2 ayrı seri kesit immunoperoksidaz yöntem için streptoavidin-biotin kompleks peroksidaz yöntemine göre boyandı. İmmunohistokimyasal inceleme ile SOD [Anti-SOD2 antibody (ab13533), Abcam, 1/100 dilüsyon] ve MDA[Anti-Malondialdehyde antibody (ab6463)), Abcam, 1/100 dilüsyon] reaksiyonunun saptanması için immunohistokimyasal olarak boyandı. Bu amaçla kesitler ksilol ve dereceli alkollerden geçirilerek dehidre ve deparafinize edildi. Dokular 10 dakika süreyle suda yıkandı. Daha sonra dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini gidermek amacıyla % 3'lük metanoldeki hidrojen peroksit ile 20 dakika muamele edildi. Dokular 2 defa 10'ar dakika süreyle PBS'de yıkandı. Ardından mikrodalga fırında sitrat buffer solüsyonu (pH 6) ile 700 W'lık ayarda 5 dakika süreyle iki defa kaynatıldı. Dokular 10'ar dakika süreyle 2 defa PBS'te yıkandı. Daha sonra nonspesifik boyamaları önlemek amacıyla normal serumda 45

dakika süreyle tutuldu. Bu aşamadan sonra yıkama yapılmadan primer serumlar uygulandı ve oda sıcaklığında bir gece bekletildi. Ertesi gün dokular aynı şekil ve süreyle PBS'te yıkandı, takiben biotinli serum ile 30 dakika süreyle muamele edildi ve PBS'te 2 defa 10'ar dakika yıkandı. Bu işlemden sonra dokular streptoavidin ile 30 dakika süreyle inkübe edildi. Dokular aynı şekil ve süreyle yıkandı, hazırlanmış olan DAB (3,3 diaminobenzidine) kromojen ile boyandı. Karşıt boyama için Harris hematoksilen kullanıldı ve preparatlar ışık mikroskopunda incelendi.

4.BULGULAR

4.1 Makroskopik bulgular

Hayvanların mezbahada şartlı kesimi sonrasında yapılan postmortem muayenede tüberküloz lezyonlarının en sıklıkla mediastinal lenf yumruları ve akciğerlerde lokalize olduğu gözlemlendi. Makro lezyonlara yapılan kesitler sırasında oluşmuş olan kalsifikasyondan dolayı çıtırtı sesi duyuldu ve sert kıvamda olduğu görüldü. Yapılan postmortem muayene sonucu 25 hayvanın 3 tanesinde generalize tüberküloz olgusuna rastlandı. Generalize tüberküloz olgularından birinde kalp dokusunda da tüberküloz lezyonusaptandı. Diğer generalize tüberküloz olgularda ise periton, plöra, akciğer, karaciğer ve toraksın iç yüzlerinde tüberküller belirlendi (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 Sığır, generalize tüberküloz, kostaların iç yüzü ve peritonda yaygın ve multiple tüberküller

Bazı hayvanlarda tek tük odaklar halinde olan tüberküllerin bazı hayvanlarda yaygın şekilde olduğu, hatta birleşerek konglomere tüberkülleri oluşturdukları dikkati çekti. Şekillenen lezyonların büyüklüğü genellikle birbirine yakın olmakla birlikte bazı hayvanlarda değişik büyüklükte tüberküllerin olduğu saptandı.

Generalize tüberküloz dışındaki olguların tamamına yakın kısmında akciğer ve mediastinal lenf yumrularında tüberküloz lezyonları hakimdi (Şekil 4.2). Sadece 4 olguda karaciğerde tüberküller saptandı.

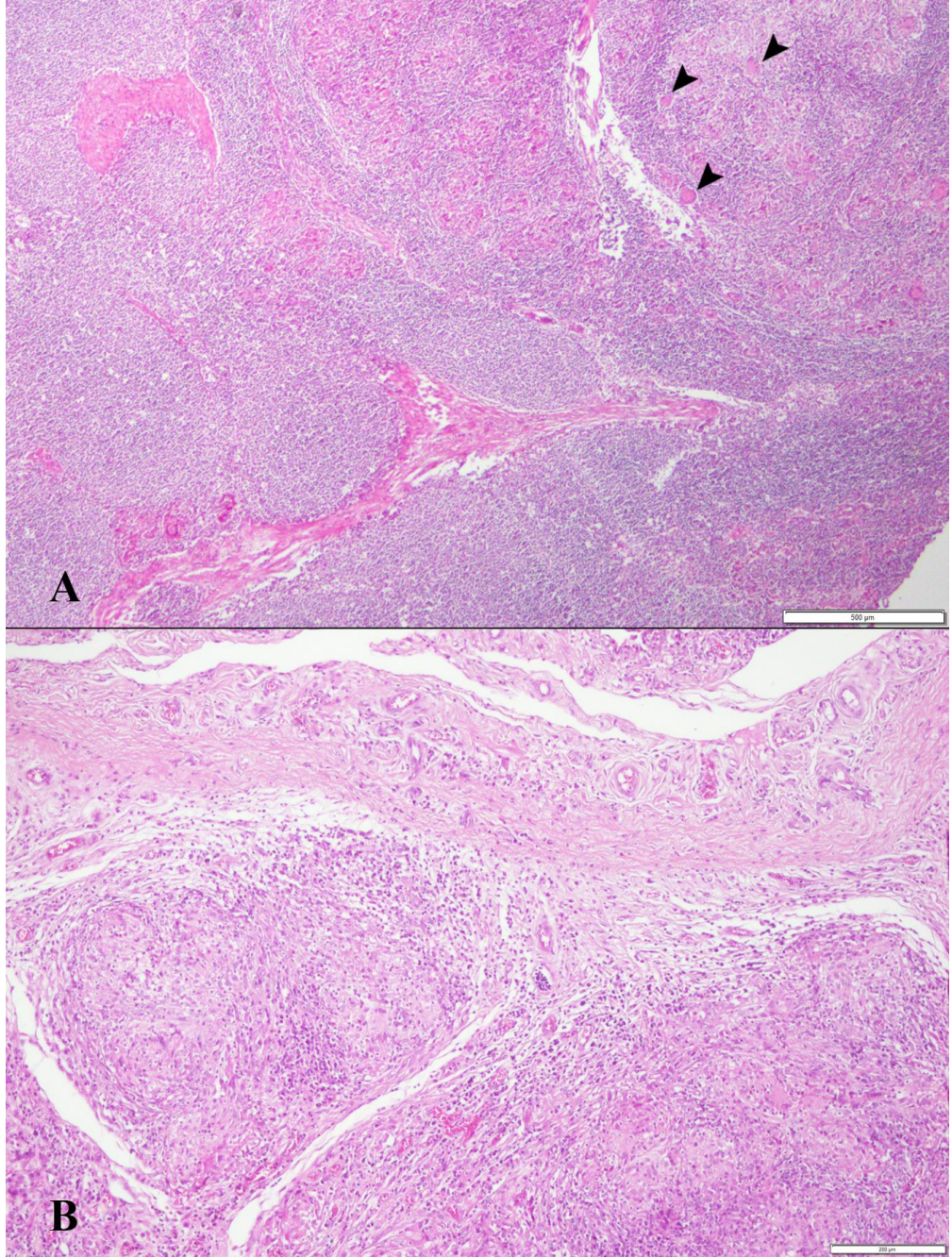


Şekil 4.2 Sığır, mediastinal lenf yumrusu, tipik tüberküller

4.2 Mikroskopik bulgular

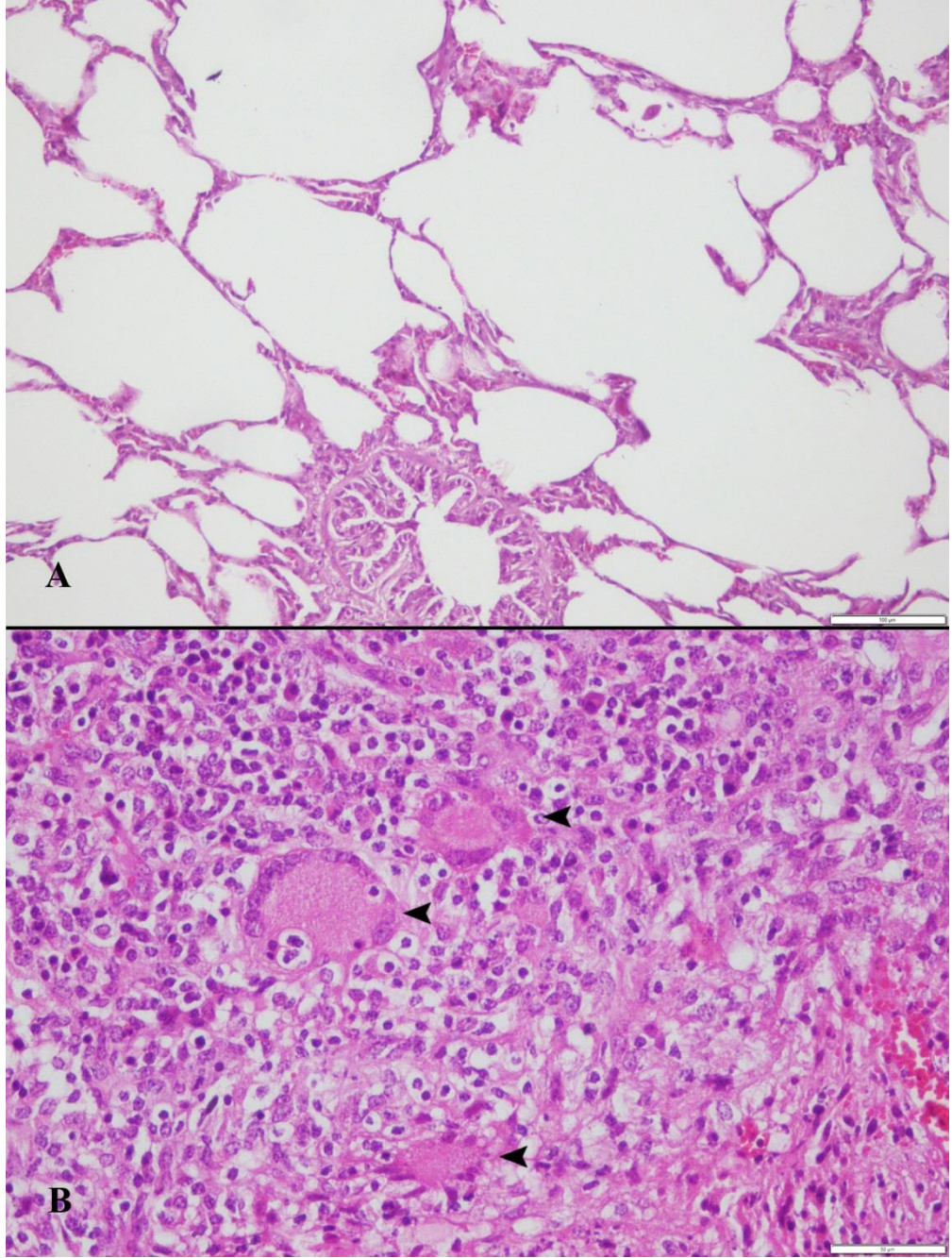
Hematoksilen-eozin ile boyanan kesitlerin mikroskopik incelemesinde akciğer, lenf düğümü (Şekil 4.3) ve karaciğerde tipik granülom yapılarına rastlandı.

Hematoksilen-eozin ile boyanan dokularda görülen granülom yapılarının merkezlerinde kalsifikasyon, etrafındaki hücrelerde kazeifikasyon nekrozu ile bunları çevreleyen alanlarda lenfosit, makrofaj, epiteloid hücreler ve Langhans tipi dev hücreleri ve bazı alanlarda fibroblast ve fibrositlerden oluşan hücre infiltrasyonları gözlemlendi (Şekil 4.4).



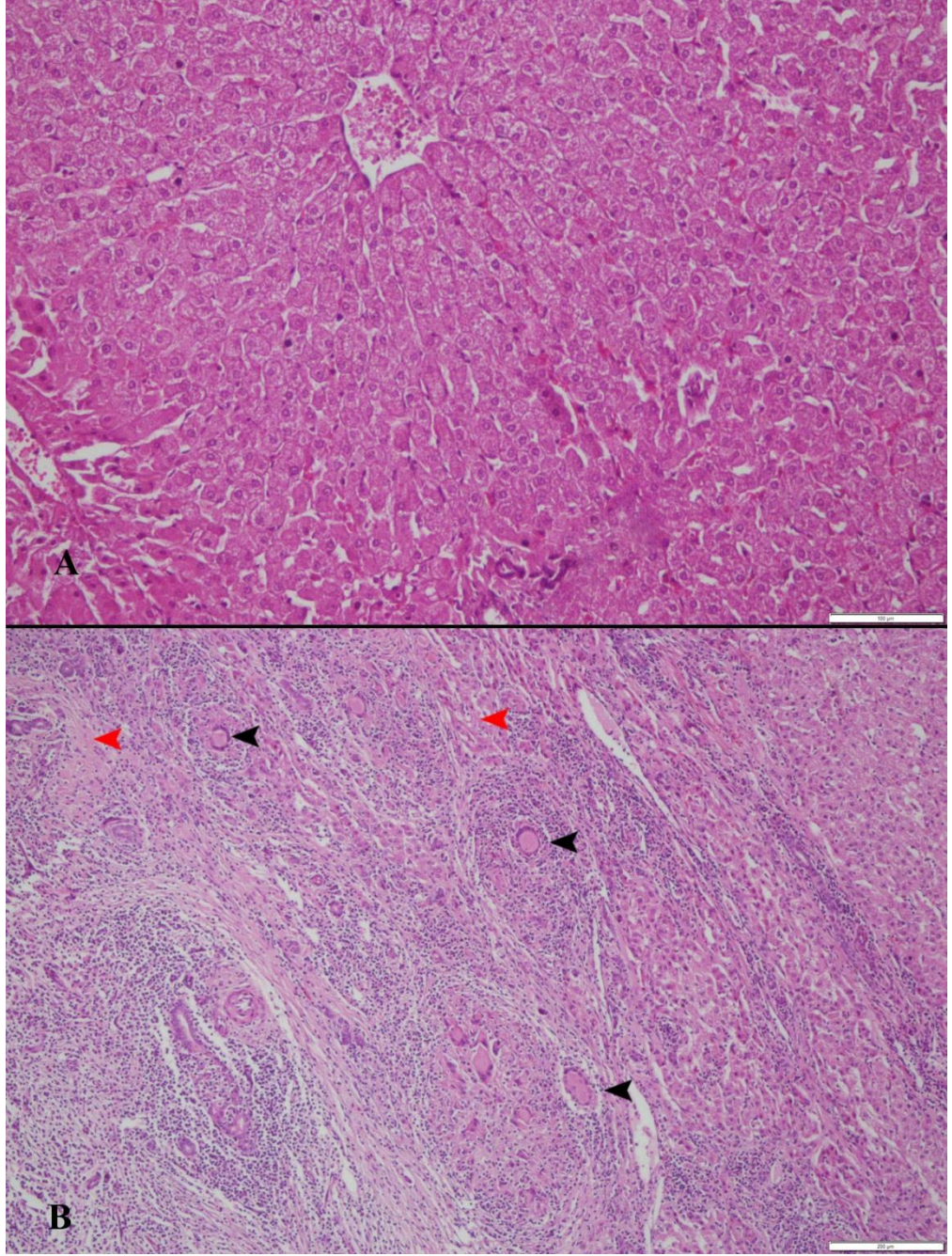
Şekil 4.3 A) Sığır, lenf düğümü, konglomere tüberkül ve Langhans tipi dev hücreler (ok başları), HE Bar= 500 µm,

B) Sığır, plöra, tüberküllerin tipi mikroskopik görünümü, HE Bar= 200 µm.



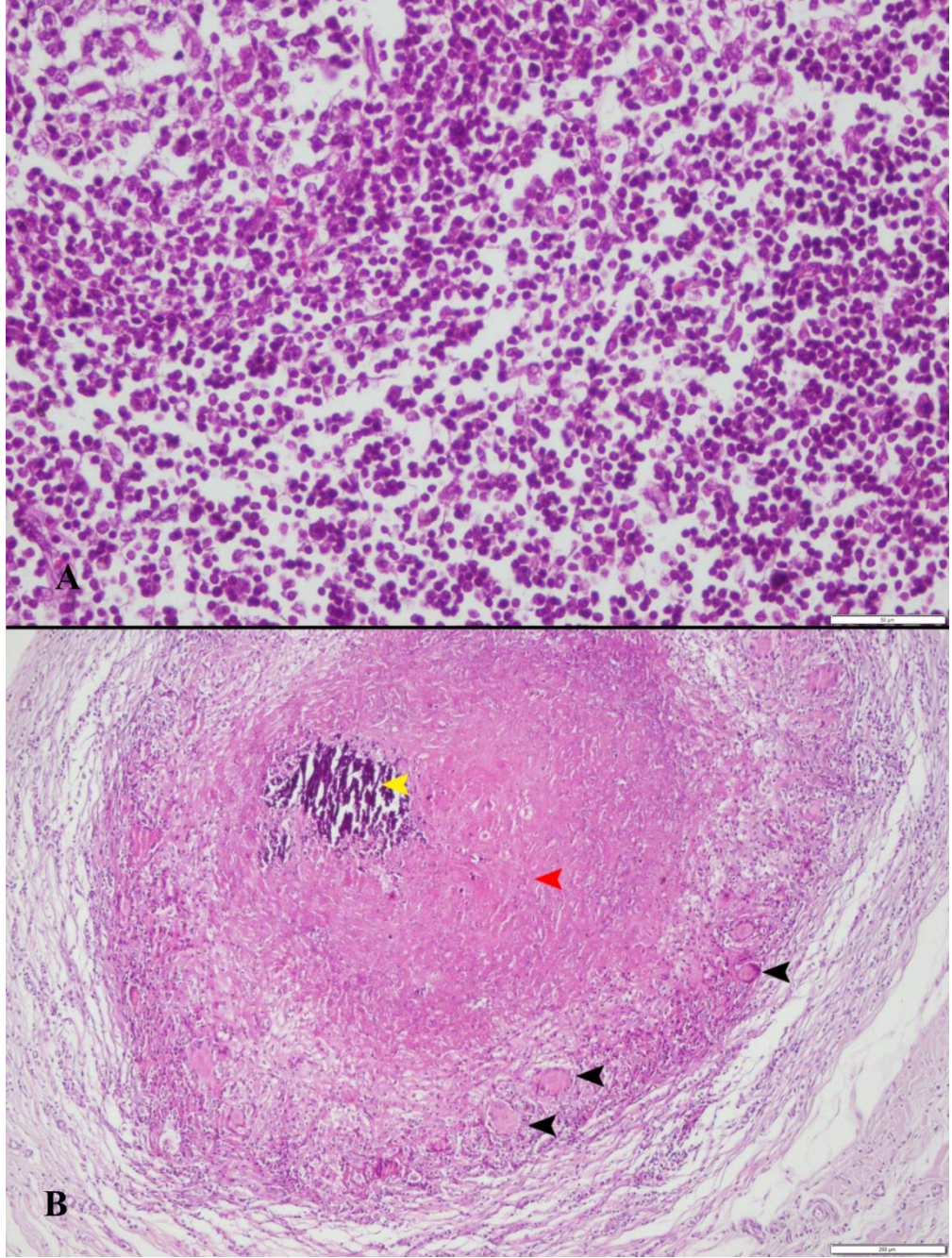
Şekil 4.4 A) Sığır, kontrol grubu, akciğer, normal histolojik görünüm, HE, Bar= 200 µm

B) Sığır, akciğer, plöra üzerinde şekillenmiş tipik bir tüberkülün yakından görünümü, Langhans tipi dev hücreler (ok başları), HE, Bar=100 µm



Şekil 4.5 A) Sığır, kontrol grubu, karaciğer, normal histolojik görünüm, HE, Bar= 100 µm.

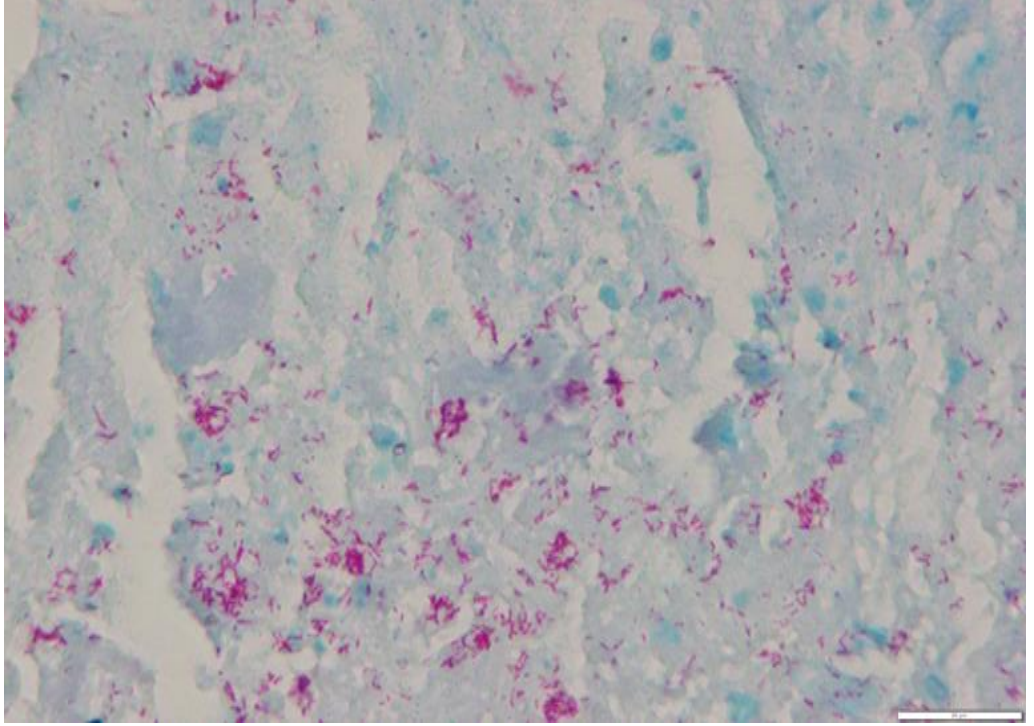
B) Sığır, karaciğer, tüberküllerim görünümü (kırmızı ok başları), Langhans tipi dev hücreler (siyah ok başları), HE, Bar=200 µm.



Şekil 4.6 A) Sığır, kontrol grubu, mediastinal lenf düğümü, normal histolojik görünüm, HE, Bar= 50 μ m

B) Sığır, mediastinal lenf düğümü, lenf düğümündeki bir granülomun görünümü, Langhans tipi dev hücreler (siyah ok başları), kazeifikasyon nekrozu (kırmızı ok başı) ve kalsifikasyon alanı (sarı ok başı), HE, Bar=200 μ m.

Mikobakterilerin saptanması için lezyonlu alanlardan alınan kesitlerin Ziehl-Neelsen boyama yöntemiyle boyanması ile tüberküloz basilleri mavi zemin üzerinde kırmızı çomaklar şeklinde görüldü (Şekil 4.7)



Şekil 4.7 Sığır, akciğer, bir tüberkülda saptanan yoğun mikobakteri kümeleri, ZN, Bar=20 µm.

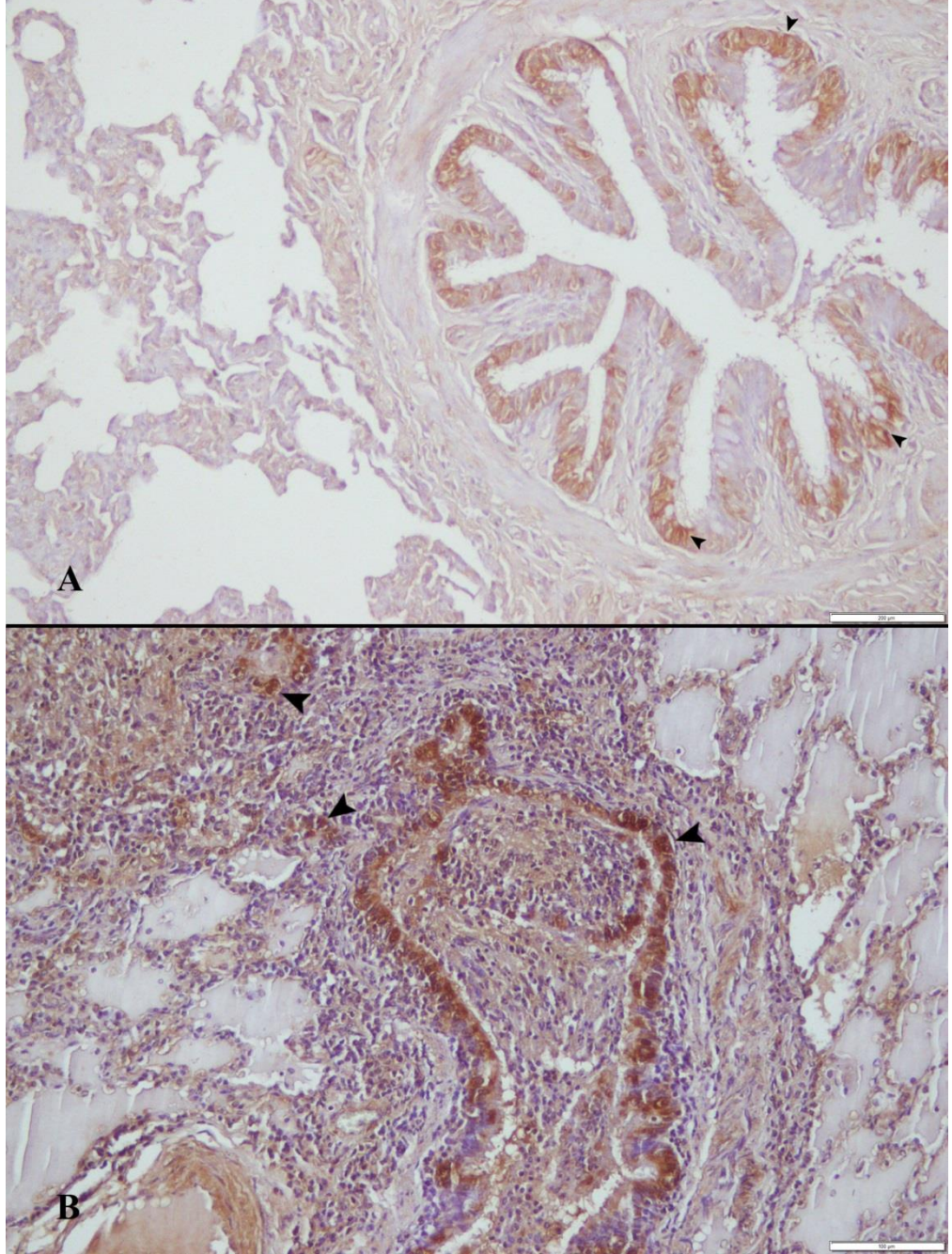
4.3 İmmunohistokimyasal bulgular

4.3.1 SOD aktivitesinin immunohistokimyasal bulguları

Sunulan çalışmada, SOD markırı ile immunohistokimyasal olarak boyanan kesitlerin incelenmesinde kontrol grubunda bulunan hayvanlara ait akciğer dokularının sadece bronşiol epitellerinde hafif pozitiflik görüldü (Şekil 4.8, Şekil 4.9). Kontrol grubunun diğer doku ve organlarında ise SOD markırı ile immunopozitif reaksiyon gözlenmedi (Şekil 4.10, Şekil 4.12)

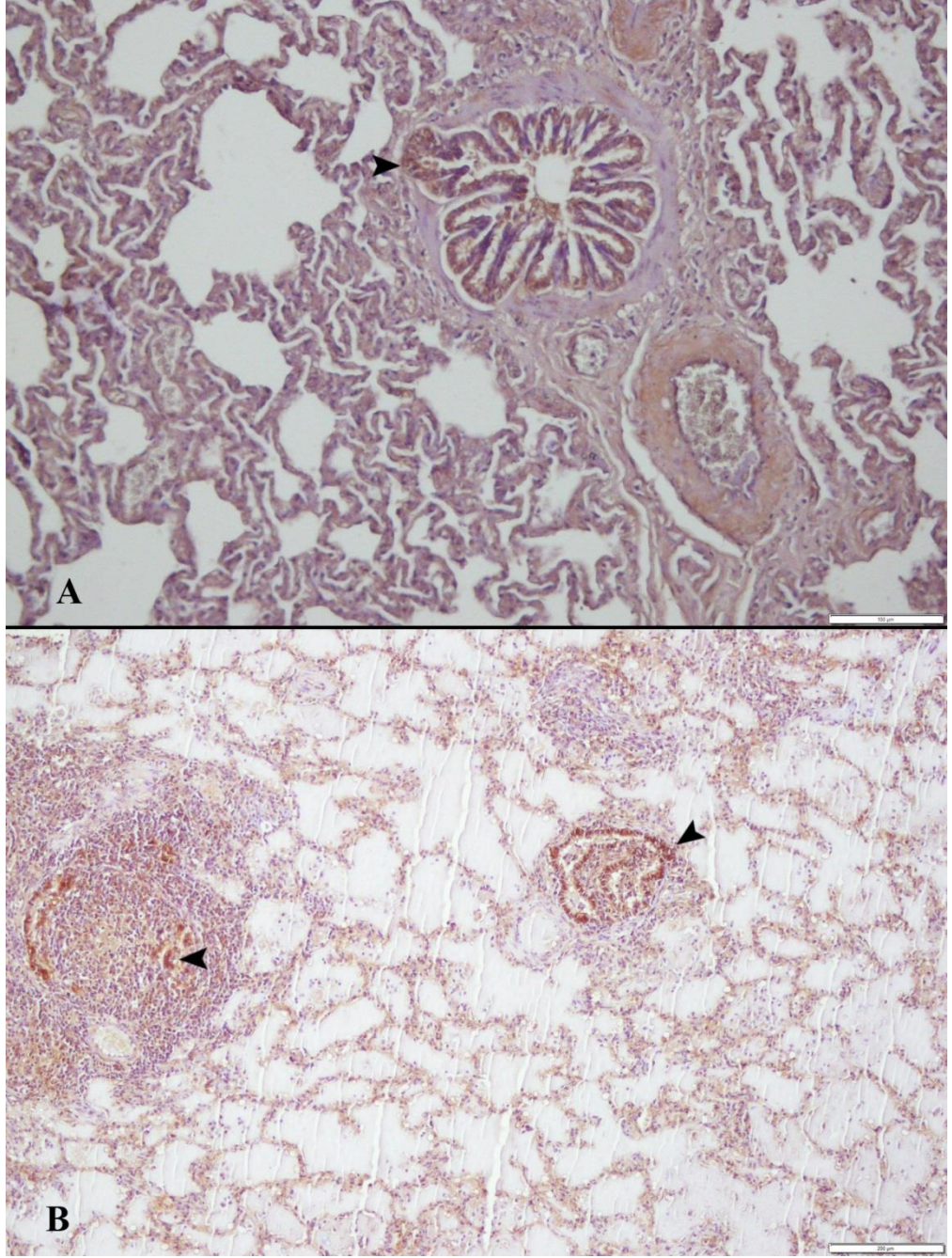
SOD immunoreaktivitesinin tüberküloz lezyonu bulunan dokularda belirgin şekilde arttığı gözlemlendi. Akciğer, karaciğer ve lenf yumrusunda özellikle makrofajlar, epitelooid hücreler ve Langhans tipi dev hücrelerde immunopozitiflik saptanmıştır (Şekil 4.8, 4.9, 4.10, 4.11, 4.12). Ayrıca tüberküloz lezyonları bulunan akciğer dokuları, kontrol grubu akciğer dokularıyla karşılaştırıldığında bronşiyollerin epitel hücrelerinde bulunan pozitifliğin belirgin şekilde arttığı dikkati çekmiştir (Şekil4.8). Normal karaciğerde saptanmayan SOD aktivitesinin tüberkülozlu karaciğerlerde

yoğun şekilde gözlemlendiği belirlendi. Karaciğerde granülomlara yakın bölgelerde bulunan hepatositlerde SOD aktivitesinin daha yüksek olduğu, granülomlardan uzak bölgelerindeki hepatositlerde ise SOD aktivitesinin azaldığı saptandı (Şekil 4.11).



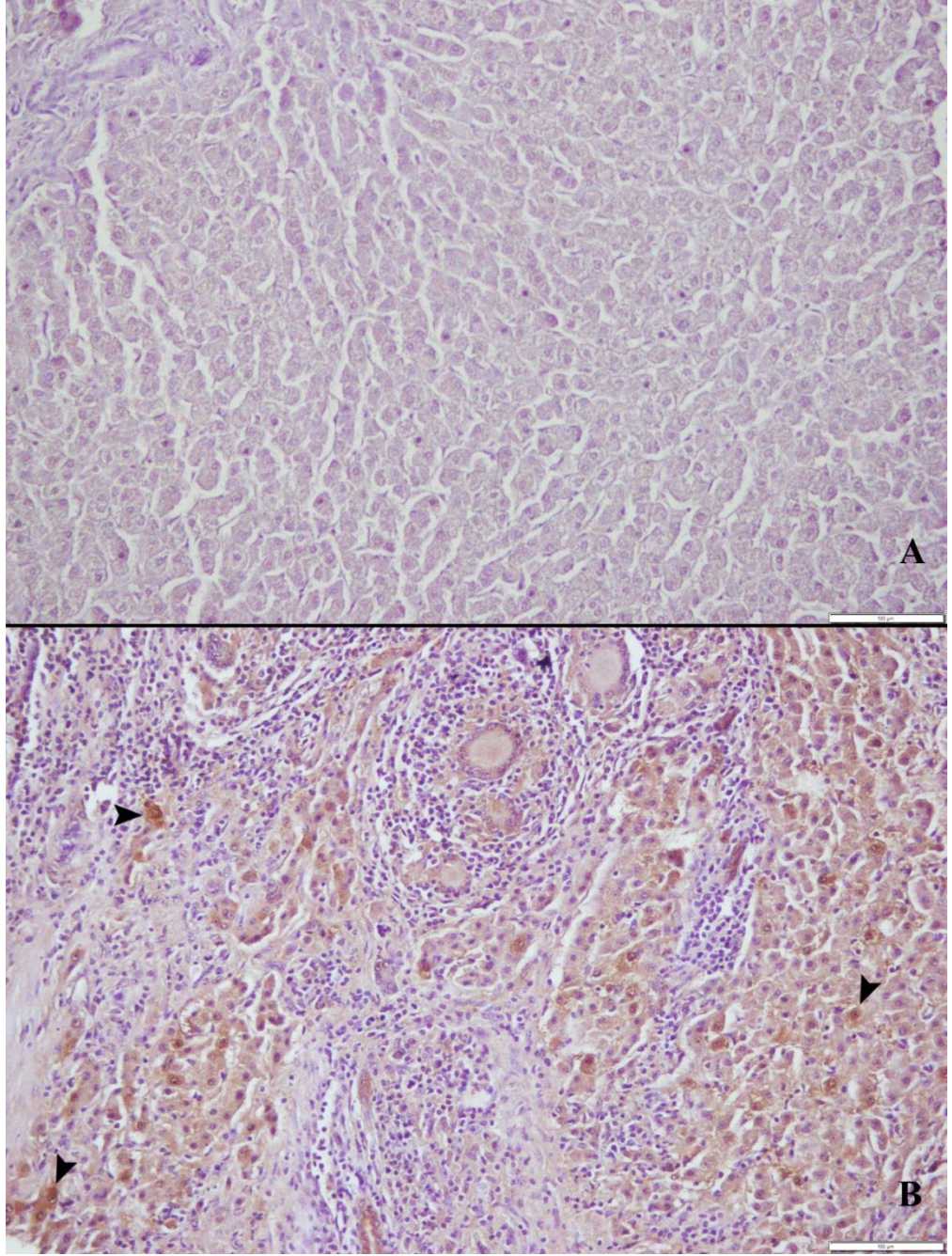
Şekil 4.8 A) Sığır, kontrol grubu, akciğer, bronşiyol epitellerinde hafif SOD pozitif reaksiyon (ok başları), Streptavidin biotin peroksidaz, Bar= 200 µm

B) Sığır, akciğer, tüberküloz, bronşiyol epitellerinde artmış SOD immunoreaksiyonu (ok başları), Streptavidin biotin peroksidaz metodu, Bar=100 µm.



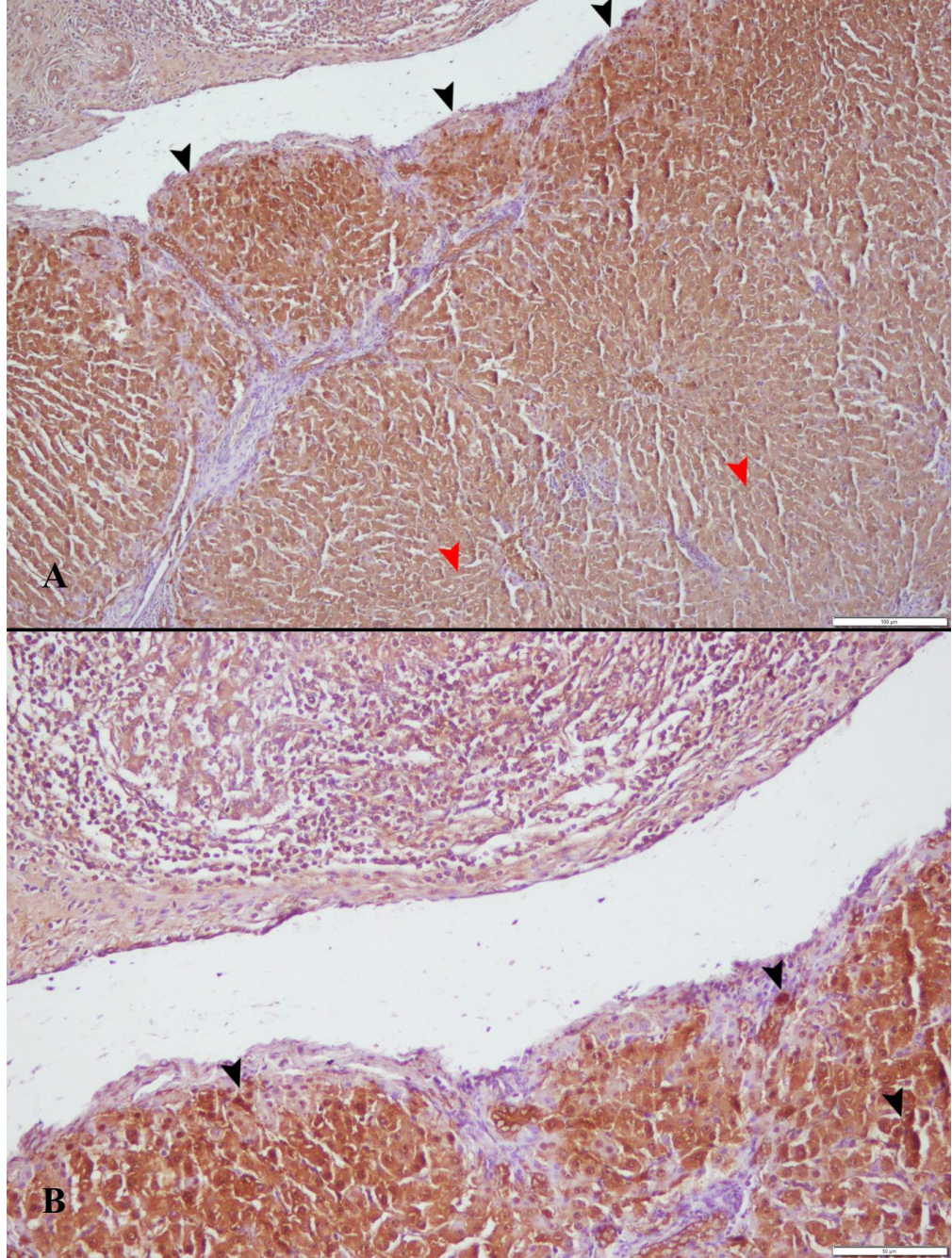
Şekil 4.9 A) Sığır, kontrol grubu, akciğer, normal akciğer dokusunda bronşiyol epitellerinde orta şiddette SOD pozitif immunoreaksiyonu (ok başı), Streptavidin biotin peroksidaz, Bar=100 µm.

B) Sığır, akciğer, tüberküloz, bronşiyol epitellerinde artmış SOD pozitif immunoreaksiyonu (ok başları), Streptavidin biotin peroksidaz metodu, Bar= 200 µ.



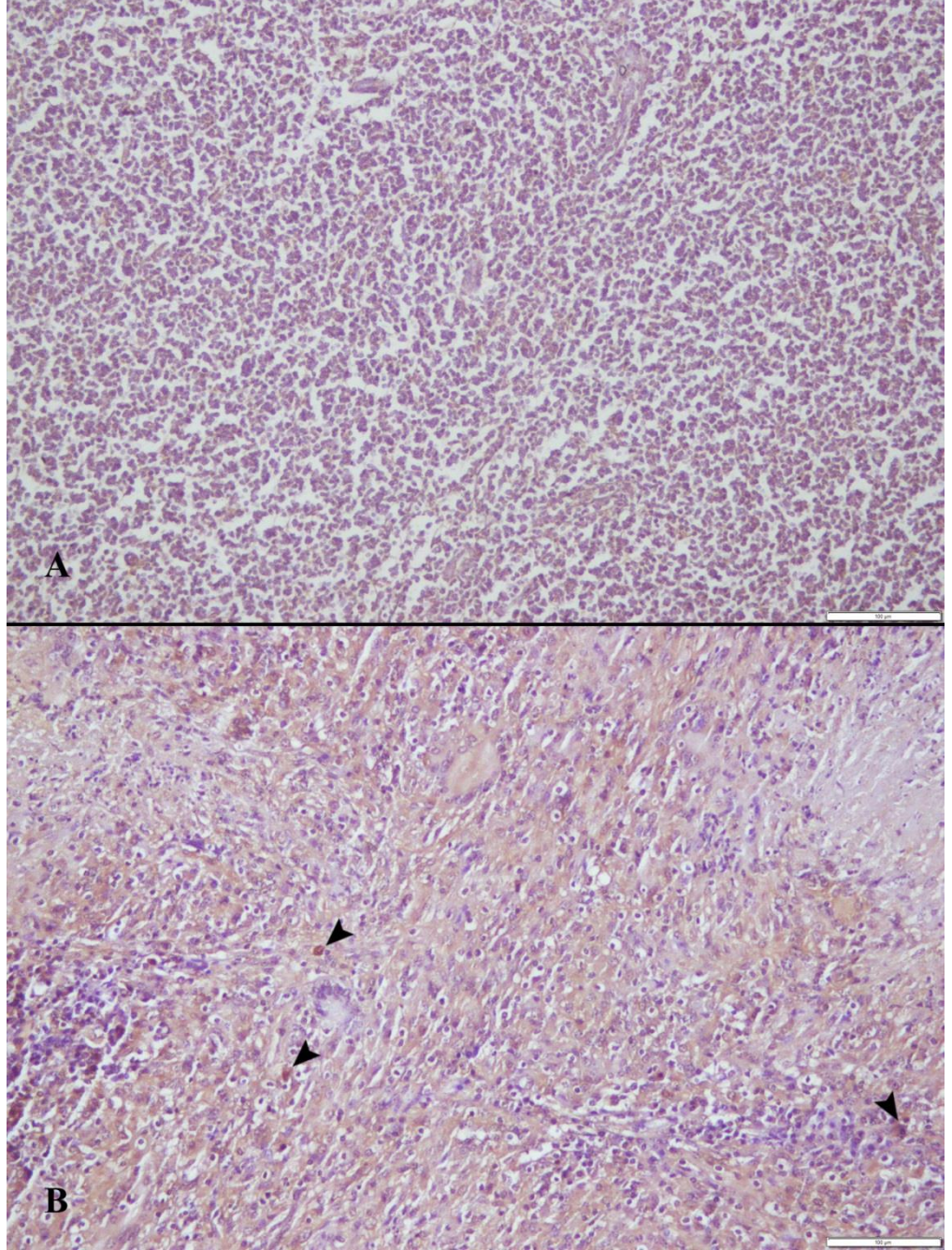
Şekil 4.10 A) Sığır, kontrol grubu, karaciğer, normal karaciğer dokusunda negatif SOD immunoreaksiyonu, streptavidin biotin peroksidaz, Bar=100 µm.

B) Sığır, karaciğer, tüberküloz, hepatositlerde artmış SOD pozitif reaksiyon, streptavidin biotin peroksidaz (ok başları), Bar=100 µm.



Şekil 4.11 A) Sığır, karaciğer, tüberküloz, lezyonlu bölgeye yakın konumdaki hepatositlerde yoğun SOD immunopozitif alanlar (siyah okbaşları), lezyondan uzaklaşan alanlarda bulunan hepatositlerdeki azalmış SOD immunoreaksiyonu (kırmızı ok başları), Streptavidin biotin peroksidaz, Bar=100 µm.

B) Sığır, karaciğer, tüberküloz, yoğun SOD immunopozitif alanların yakından görünümü, streptavidin biotin peroksidaz(ok başları), Bar=50 µm.



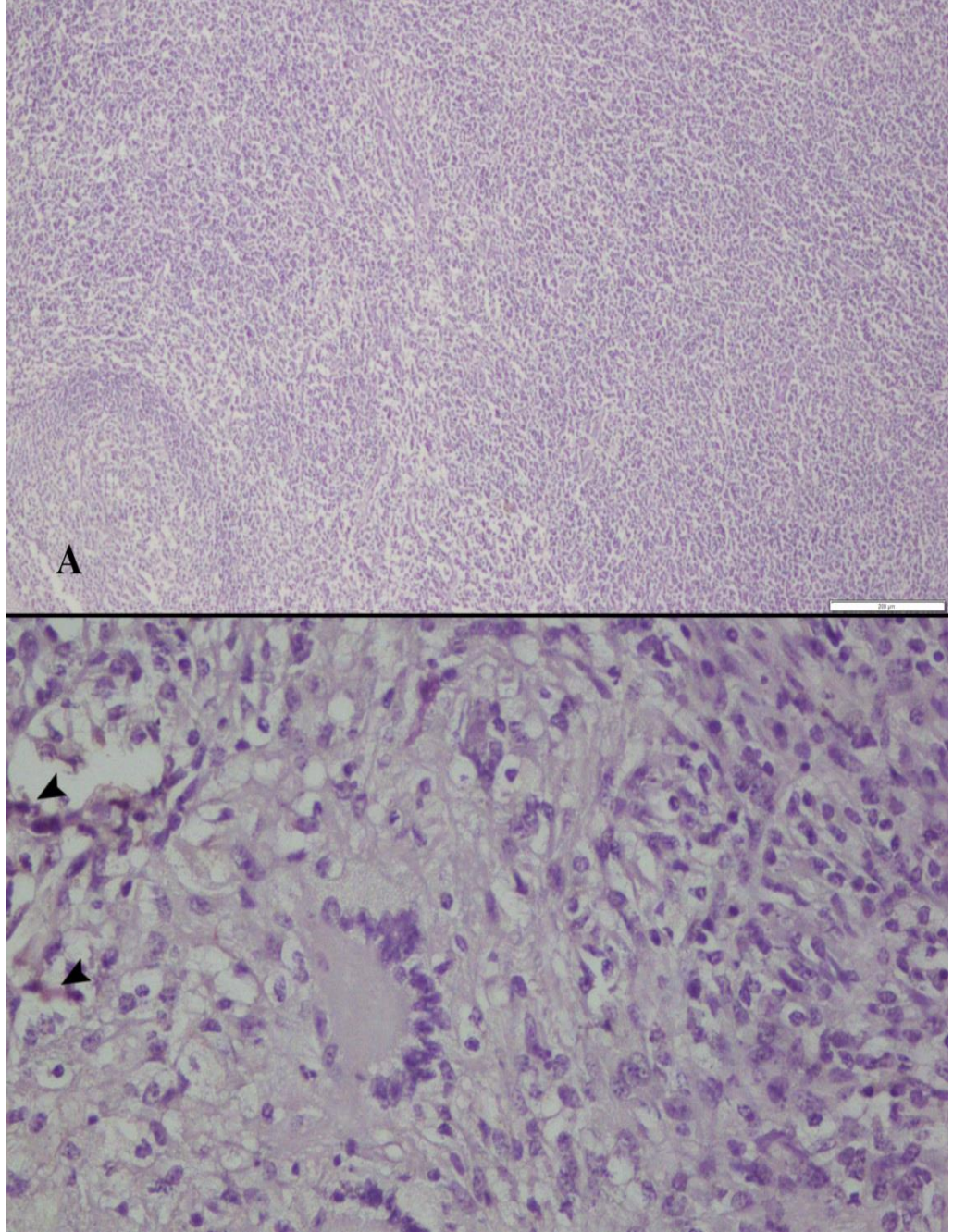
Şekil 4.12 A) Sığır, kontrol grubu, mediastinal lenf düğümü, normal lenf düğümünde negatif SOD immunoreaksiyonu, streptavidin biotin peroksidaz, Bar=100 µm.

B) Sığır, mediastinal lenf düğümü, tüberküloz, makrofajlarda (ok başları) ve Langhans tipi dev hücrelerde artmış SOD immunoreaksiyonu, streptavidin biotin peroksidaz, Bar=100 µm.

4.3.2 MDA aktivitesinin immunohistokimyasal bulguları

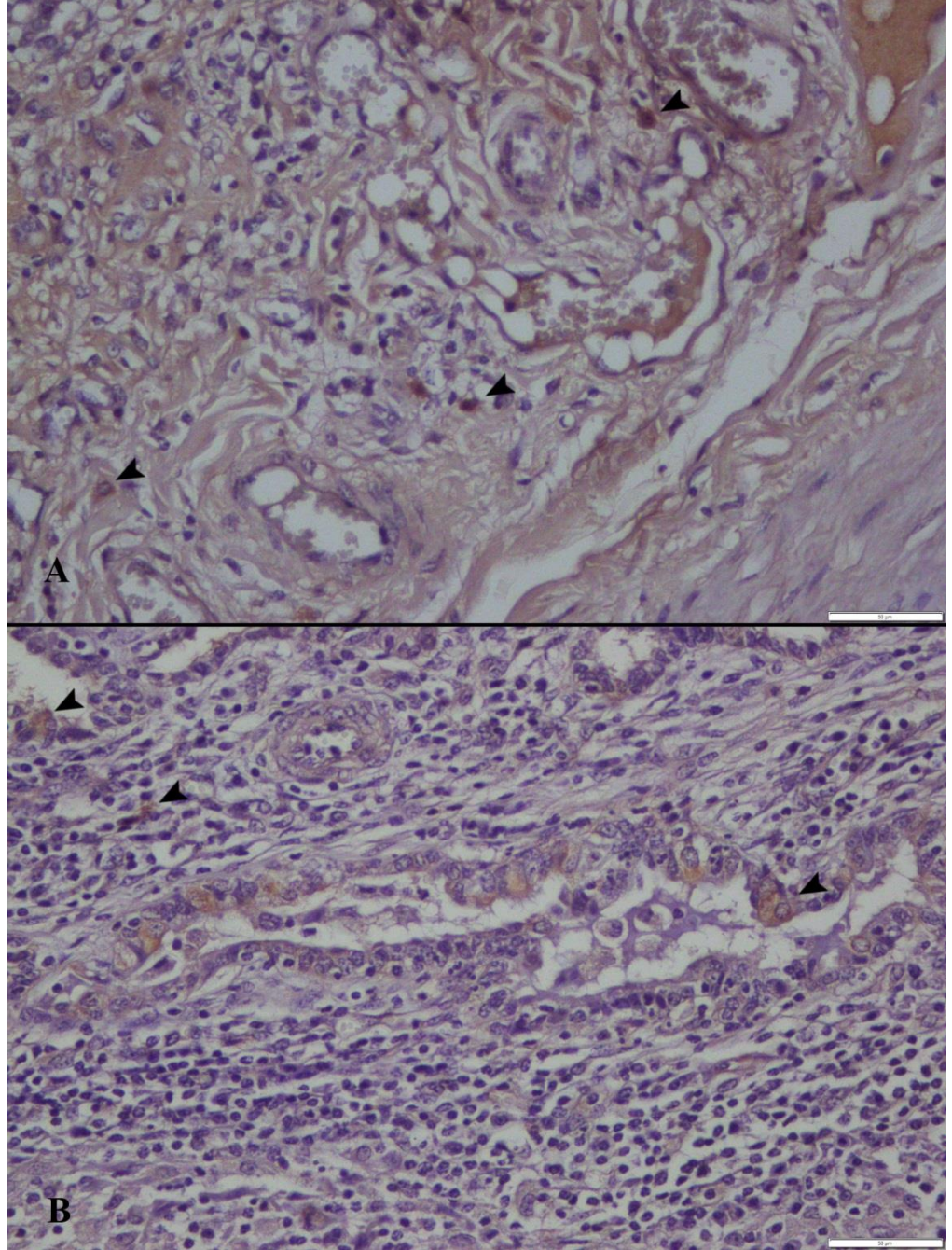
Kontrol grubundan alınan doku örneklerinde negatif MDA aktivitesi görüldü (Şekil 4.13). Bununla birlikte, MDA aktivitesinin tüberküloz lezyonlarında arttığı saptandı. Ancak bu artışın hafiften orta şiddette kadar değişen derecelerde olduğu

dikkati çekti. Tüberküloz lezyonlarının bulunduğu dokulardaki yangısal hücrelerde, özellikle makrofajlarda immunopozitiflik belirlendi (Şekil 4.13,Şekil 4.14).



Şekil 4.13 A) Sığır, kontrol grubu, mediastinal lenf düğümü, normal lenf düğümünde negatif MDA immunoreaksiyonu, streptavidin biotin peroksidaz, Bar=200µm.

B) Sığır, mediastinal lenf düğümü, tüberküloz, lenf düğümündeki lezyonlu bölgede MDA pozitif immunoreaksiyonu (ok başları), streptavidin biotin peroksidaz, Bar=50 µm.



Şekil 4.14 A) Sığır, plöra, tüberküloz, makrofajlarda pozitif MDA immunoreaksiyonu (ok başları), Streptavidin biotin peroksidaz Bar=50µm.

B) Sığır, akciğer, tüberküloz, bronşiyol epitellerinde ve yangı hücrelerinde MDA pozitif immunoreaksiyonu (ok başları), streptavidin biotin peroksidaz metodu, Bar=50 µm.

Akciğerde lezyonlu bölgedeki bronşiyol epitellerinde de MDA aktivitesinin bulunduğu saptandı.

5.TARTIŞMA

Sığır tüberkülozu, zoonotik özelliği nedeniyle tüm dünyada insanlar için potansiyel bir enfeksiyon kaynağı olmasının yanı sıra, et ve süt üretimi için de önemli bir problem kaynağıdır (30,82). Ozmen ve ark. (2005)'nin Burdur ilinde bulunan bir kesimhanede sığır tüberkülozu üzerine yapmış oldukları bir çalışmada kesilen sığırlardaki hastalık insidansının 0.38% olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca aynı çalışmada, karkas ve organlarda tüberküloz nedeniyle oluşan ekonomik kaybın yıllık 135.988 euro olduğunu rapor etmişlerdir (76).

Sığır tüberkülozunun teşhisinin doğru yapılması ve kontrol yöntemlerinin geliştirilmesi için patogenezin tam olarak anlaşılması önemli bir noktadır (81). Günümüzde sığır tüberkülozunun antemortem teşhisi amacıyla PPD ve IFN- γ testleri kullanılmakta olup (93), bu testlerin duyarlılık ve spesifitelerinin kesin tanıya götürmediği bildirilmektedir (11). Ülkemizde ve birçok ülkede intradermal tüberkülin testi ile reaktif hayvanların kesilmesi suretiyle başarılı bir sığır tüberkülozu kontrolü sağlanmaktadır (81,89). Buna karşın bazı araştırmacılar bu kontrol yönteminin yetersiz kaldığını ve yeni teşhis yöntemlerinin geliştirilmesi gerektiğini düşünmektedirler (81). Bu araştırmacılar, sütlerin pastörizasyonu sonrası sığırlardan insana tüberküloz hastalığının geçmesinin azaldığını, bu sebeple test sonucu pozitif hayvanların kesilmesinin yetersiz bir kontrol yöntemi olduğunu bildirmişlerdir (105). Sunulan çalışmada sığır tüberkülozunun patogenezinin anlaşılması amacıyla SOD ve MDA aktivitelerinin tüberküloz lezyonu bulunan bölgelerde immunohistokimyasal olarak incelenerek sığır tüberkülozunun patogenezinde bu markırların etkisi araştırılmıştır.

Yapılan çalışmaların birçoğunda sığır tüberkülozunun en fazla akciğer dokusunu ve onu drene eden mediastinal lenf yumrularını etkilediği bildirilmiş olup (10,31,68), sunulan çalışmada da materyal olarak kullanılan tüm hayvanların akciğer ve mediastinal lenf yumrularında tüberküloz lezyonları saptanmıştır. Bu bulgu önceki çalışmalar ile uyumlu bulunmuş ve solunum yolu ile şekillenen hastalığın en sık akciğerleri etkilediğini göstermiştir. Çalışmada ayrıca karaciğer ve dalakta da lezyonlara rastlanmıştır. Bir olgumuzda ise kalp dokusunda tüberküloz lezyonu

görülmüştür. Bu da hastalığın kronikleştikçe birçok doku ve organda lezyon oluşturma kapasitesini ortaya koymuştur.

MDA, lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olup, oksidatif stresin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (71,73). Peroksidasyon sonucu membran geçirgenliği ve permeabilitesi değiştiğinden dolayı MDA'nın farklı dokulara dolaşım yoluyla geçebileceği bilinmektedir (102). Kwiatkowska ve ark. (1999)'nın yayınlamış olduğu bir çalışmada, aktif akciğer tüberkülozu olan hastaların serum MDA seviyelerinin artış gösterdiği rapor edilmiştir (52). Benzer birçok çalışmada da aktif tüberküloz hastalığı bulunan hastaların serum MDA seviyelerinde artış saptanmıştır (1,35,50,88). Palanisamy ve ark. (2011), guinea domuzlarının *Mycobacterium tuberculosis* ile enfekte edilmesi sonrası akciğer dokularında MDA varlığını immunohistokimyasal olarak incelemişler ve sağlıklı hayvanlarda çok zayıf veya negatiflik bildirmelerine rağmen, MDA varlığının en fazla granülomların olduğu bölgelerdeki makrofajlar, damar endotel hücreleri ve granüositlerde görüldüğünü bildirmişlerdir (80). Sığır tüberkülozunda serum veya doku MDA seviyeleri hakkında bilgi bulunmamaktadır. Sunulan çalışmada kontrol grubu sağlıklı hayvanların dokularında herhangi bir MDA aktivitesi görülmemesine rağmen, enfekte dokularda, granülom yapısında bulunan makrofajlarda ve yangısal hücrelerde belirgin şekilde artmış immunopozitiflik görülmüş ve yapılan önceki çalışmalar ile paralellik saptanmıştır. MDA seviyesinin enfekte hayvanların dokularında artışının konakçının immun sisteminin etkeni yok etmek amacıyla immun hücrelerinin üretmiş oldukları ROS'lar sebebiyle olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda MDA seviyesinin hiper ve hipotiroidizmli vakalarda (24), septik vakalarda (59), diyabetik ve myokardial infarktüsli hastalarda (61) ve kanserli hastalarda belirgin olarak yükseldiği bildirilmiş ve patolojik olayların MDA aktivitesi ile ilişkisi vurgulanmıştır (22). MDA'nın özellikle tüberküloz tespit edilen sürülerde diğer hayvanların da enfekte olup olmadıklarının tespitinde bir kriter olabileceği düşünülmektedir. Ancak bu konunun kesinleştirilmesi için tüberkülozlu sığırlarda serum ve doku MDA aktivitesinin birlikte inceleneceği çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Sunulan çalışmada, MDA'nın sığır tüberkülozunun patogenezinde etkili olduğunu gösteren öncü bir çalışma olarak değerlendirilmektedir.

Pek çok aerobik organizma normal metabolizma ve stres durumlarında süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi ROS'lara maruz kalmaktadır. Canlıların ROS'lara karşı kompleks savunma ve tamir sistemleri bulunmaktadır. SOD, süperoksit anyonunu aktif bölgesinde içerdiği metal iyonu ile katalize ederek oksijen ve hidrojen peroksite çeviren, oksidatif savunma sisteminin önemli bir enzimidir (46). Sığır tüberkülozunun etkeni olan *M.bovis* de aerobik yapıda bir bakteridir (78). *M.bovis* ile MTBC grubunda yer alan *M.tuberculosis* (47,91) üzerinde yapılan çalışmalarda bakterinin, subsellüler olarak CuZnSOD (111) ve FeSOD içerdiği bildirilmiştir (51). Mikobakterilerde bulunan SOD enzimlerinin kendi metabolizmaları sonucu oluşan süperoksit radikali dışında, konakçı tarafından organizmayı yok etmek için kullanılan süperoksit radikallerinden de korunmak amaçlı görev yaptığı düşünülmektedir (7). Bu çalışmada da birçok tüberküloz lezyonu olan bölgelerdeki hücrelerde SOD aktivitesinde belirgin artış şekillendi. Bu sonuçlar SOD'ın tüberkülozun patogenezinde rol oynadığı ortaya konmuştur.

Lakari ve ark. (1998)'nin yapmış oldukları bir çalışmada, normal akciğer dokusunda bulunan bronşiyollerde CuZnSOD'a karşı immunopozitiflik saptandığını bildirmişlerdir (54). Sunulan çalışmada da normal akciğer dokularında bronşiyol epitellerinde hafiften orta şiddette immunopozitif reaksiyon gözlemlendi. Bu çalışmada ayrıca kontrol grubuna ait sağlıklı karaciğer ve lenf dokularında SOD negatif immunoreaksiyonlar gözlemlendi. Sunulan çalışmada tüberküloz lezyonlu dokularda SOD aktivitesinin artmış olduğu ve bu aktivitenin Langhans tipi dev hücreler, epitelooid hücreler ve makrofajlarda yoğunlaştığı gözlemlenmiştir. Bu çalışmada sağlıklı akciğer dokusundaki bronşiyollerde gözlenen immunopozitifliğin, tüberkülozlu akciğer dokusundaki bronşiyollerde belirgin şekilde arttığı da gözlemlendi. Yine bu çalışmada granülomlarda immunopozitifliğin olduğu dikkati çekmiştir. Dokularda oluşan lezyonlara yakın bölgelerdeki parankim hücrelerinde immunopozitifliğin daha fazla olduğu ve sağlam doku ve hücrelerin lezyondan uzaklaştıkça aktivitelerinin azaldığı gözlemlendi. Bu çalışma sonucu dokularda gözlenen artmış SOD aktivitesinin immun sistem hücreleri tarafından salgılanan ROS'ların zararlı etkilerini kompanze etmek amacıyla şekillendiği düşünülmüştür. Birçok çalışmada aktif tüberkülozlu vakalarda serum SOD değerlerinin düştüğü bildirilmiştir (1,17,88). Serum SOD değerinin düşmesinin sebebinin ekstrasellüler SOD'un normal koşullarda dolaşıma

geçebileceği, fakat tüberküloz olgularında açığa çıkan ROS'lara karşı ekstraselüler SOD'ında aktif olarak koruma sağladığından dolayı serum seviyesinin azaldığı düşünülmüştür. Al-Qudah ve ark. (2010)'nın sığırlarda görülen topallıklarda serum SOD aktivitesini incelemiş ve serum SOD seviyesinin azaldığı bildirilmiştir (3). Yapılan bir çalışmada ülkemizde bulunan sığırlardaki topallık insidansının %13-58 arasında olduğu bildirilmiştir (9). Sunulan çalışmada, sadece doku düzeyinde SOD aktivitesi incelenmiş ve lezyonlu bölgelerde belirgin şekilde artmıştır. SOD'ın lezyon bölgesinde yoğun şekilde artması, serum SOD düzeyinin düşmesine sebep olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca mikobakteri gibi aerobik bakterilerin sebep olduğu bir hastalıkta SOD aktivitesini lezyon bölgesinde artışının, hem mikroorganizmanın üremesi için gereken oksijenin azaltılması hemde oksijenden köken alan serbest radikallerin normal dokularda oluşturacağı zedelenmenin önlenmesi bakımından yararlı olabileceği ayrıca organizmanın bir savunma reaksiyonu olduğu düşünülmektedir. Bu çalışma sığır tüberkülozunun patogenezinde SOD'ın önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Hastalığın klinik tanısında SOD'ın kullanılıp kullanılmayacağını belirlemek için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

5.SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan literatür taramaları ışığında günümüze kadar sığır tüberkülozunun patogenezinin tam olarak anlaşılmadığı görülmektedir. Yapılan bu çalışma ile SOD ve MDA aktivitelerinin enfekte dokularda bulunan parankim ve yangı hücrelerinde immunohistokimyasal olarak arttığı görülmüş ve sığır tüberkülozunun patogenezinde bu markırların rolü olduğu ortaya konmuştur.

Sunulan çalışmadan elde edilen bilgilere göre SOD ve MDA immunoreaktivitelerinin sığır tüberkülozunun teşhisinde kullanılabileceği düşünülmektedir. Mevcut tüberküloz teşhis yöntemlerinin spesifite ve duyarlılığının yetersiz olması sebebiyle, sığır tüberkülozunda lezyon bölgesindeki SOD ve MDA aktivitesi teşhisin desteklenmesinde kullanılabilecektir. Bu çalışma MDA ve SOD aktivitelerinin lezyonlu bölgede arttığını göstermiştir ancak bu markırların klinik tanıda kullanılıp kullanılmayacaklarının belirlenmesi için serum düzeylerinin de incelendiği yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. **Akiibinu MO, Ogunyemi EO, Shoyebo EO** (2011): Levels of Oxidative Metabolites, Antioxi-dants and Neopterin in Nigerian Pulmonary Tuberculosis Patients. *Eur J Gen Med.*, **8**, 213-218.
2. **Akkuş I** (1995): *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*. Mimoza yayınları, Konya, s:38.
3. **Al-Qudah KM1, Ismail ZB** (2012): The relationship between serum biotin and oxidant/antioxidant activities in bovine lameness. *Res Vet Sci.*, **92**, 138-141.
4. **Bakır K** (2014): İmmunhistokimya ve immunpatoloji uygulamaları. http://file.toraks.org.tr/TORAKSFD23NJKL4NJ4H3BG3JH/10_kongre_kurs/pdf/119_122_immunhistokimya_ve_immunpatoloji.pdf (Erişim tarihi:10.06.2015).
5. **Barry CE III, Lee RE, Mdluli K, Sampson AE, Schroeder BG, Slayden RA, Yuan Y** (1998): Mycolic acids: structure, biosynthesis and physiological functions. *Prog Lipid Res.*, **37**, 143–179.
6. **Bartsch H** (1999): Keynote address: exocyclic adducts as new risk markers for DNA damage in man. *IARC Sci Publ.*, **150**, 1-16.
7. **Beaman, L. & Beaman, B. L.** (1990). Monoclonal antibodies demonstrate that superoxide dismutase contributes to protection of Norcardia asteroides within intact host. *Infect Immunol.*, **58**, 3122–3128.
8. **Beauchamp C, Fridovich I** (1971): Superoxide Dismutase: Improved Assays and an Assay Applicable to Acrylamide Gels. *Anal Biochem.*, **44**, 276-287.
9. **Belge A, Bakır B, Gönenci R, Ormancı S** (2005): Subclinical Laminitis in Dairy Cattle: 205 Selected Cases. *Turk J Vet Anim Sci.*, **29**, 9-15.
10. **Beytut E** (2001): Kars İli ve Yöresinde Sığırlarda Tüberküloz İnsidensi ve Lezyonların Lokalizasyonu Üzerine Patolojik İncelemeler. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg.*, **7**, 15-25.
11. **Bezos J, Casal C, Romero B, Schroeder B, Hardegger R, Raeber AJ, Lopez L, Rueda P, Dominguez L** (2014):Current ante-mortem techniques for diagnosis of bovine tuberculosis. *Res Vet Sci.*, **97**, 544-552.
12. **Buttkus H** (1967): The reaction of myosin with malonaldehyde. *J Food Sci.*, **32**, 432-434.

13. **Caswell JL, Williams KJ** (2007): Respiratory system. Ed: Maxie MG. *Pathology of domestic animals*, Vol: 2, Fifth edition, Elsevier Ltd., Ontario, p: 607.
14. **Chan J, Fan XD, Hunter SW, Brennan PJ, Bloom BR** (1991): Lipoarabinomannan, a possible virulence factor involved in persistence of *Mycobacterium tuberculosis* within macrophages. *Infect Immun.*, **59**, 1755-1761.
15. **Cooper JB, McIntyre K, Badasso MO, Wood SP, Zhang Y, Garbe TR, Young D** (1995): X-ray structure analysis of the iron-dependent superoxide dismutase from *Mycobacterium tuberculosis* at 2.0 Angstroms resolution reveals novel dimer-dimer interactions. *J Mol Biol.*, **246**, 531-544.
16. **Çimen Ç, Öter Ç, Demir H, Savran A** (2005): Rat Eritrositlerinden Elde Edilen Katalaz Enziminin Karakterizasyonu ve Kinetiğinin İncelenmesi. *YYÜ Veteriner Fakültesi.*, **16**, 15-20.
17. **Dalvi SM, Patil VW, Ramraje NN, Phadtare JM** (2012): Lipid peroxidation, Superoxide dismutase and catalase co-relation in pulmonary and extra pulmonary tuberculosis. *Free Radicals and Antioxidants*, **2**, 1-5.
18. **Del Rio LA, Copras FJ, Sandalio LM, Palma JM, Gómez M, Barroso JB** (2002): Reactive oxygen species, antioxidant systems and nitric oxide in peroxisomes. *J Exp Bot.*, **53**, 1255-1272.
19. **Demling R, LaLonde C** (1989): Relationship between lung injury and lung lipid peroxidation caused by recurrent endotoxemia. *Am Rev Respir Dis.*, **139**, 1118-1124.
20. **Deveci F, İlhan N** (2003): Plasma malondialdehyde and serum trace element concentrations in patients with active pulmonary tuberculosis. *Biol Trace Elem Res.*, **95**, 29-38.
21. **Diczfalusy U, Falardeau P, Hammarström S** (1977): Conversion of prostaglandin endoperoxides to C17-hydroxy acids catalyzed by human platelet thromboxane synthase. *FEBS Lett.*, **84**, 271-274.
22. **Didžiapetrienė J, Bublevič J, Smailytė G, Kazbarienė B, Stukas R** (2014): Significance of blood serum catalase activity and malondialdehyde level for survival prognosis of ovarian cancer patients. *Medicina (Kaunas)*, **50**, 204-208.
23. **Dorhoi A, Kaufmann SHE** (2014): Tumor necrosis factor alpha in mycobacterial infection. *Semin Immunol.*, **26**, 203-209.

24. **Dumitriu L, Bartoc R, Ursu H, Purice M, Ionescu V** (1988): Significance of high levels of serum malonyl dialdehyde (MDA) and ceruloplasmin (CP) in hyper- and hypothyroidism. *Endocrinologie*, **26**, 35-38.
25. **Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H** (1991): Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med.*, **11**, 81-128.
26. **Farrant JL1, Sansone A, Canvin JR, Pallen MJ, Langford PR, Wallis TS, Dougan G, Kroll JS** (1997): Bacterial copper- and zinc-cofactored superoxide dismutase contributes to the pathogenesis of systemic salmonellosis. *Mol Microbiol*, **25**, 758-796.
27. **Feng Z, Hu W, Marnett LJ, Tang M** (2006): Malondialdehyde, a major endogenous lipid peroxidation product, sensitizes human cells to UV- and BPDE-induced killing and mutagenesis through inhibition of nucleotide excision repair. *Mutat Res.*, **601**, 125-136.
28. **Feng Z, Hu W, Tang MS** (2004): Trans-4-hydroxy-2-nonenal inhibits nucleotide excision repair in human cells: a possible mechanism for lipid peroxidation-induced carcinogenesis. *Proc Nat. Acad Sci U.S.A.*, **101**, 8598-8602.
29. **Ferreras JA, Ryu JS, Di Lello F, Tan DS, Quadri LE** (2005): Small-molecule inhibition of siderophore biosynthesis in *Mycobacterium tuberculosis* and *Yersinia pestis*. *Nat Chem Biol.*, **1**, 29-32.
30. **Flamand JRB, Greth A, Haagsma J, Griffin F** (1994): An outbreak of tuberculosis in a captive herd of Arabiam oryx (*Oryx leucoryx*): diagnosis and monitoring. *Vet Rec*, **134**, 114-118.
31. **Francis J** (1958): *Tuberculosis in Animals and Man: A study in Comparative Pathology*. Cassel, London, p:357.
32. **Fridovich I** (1975): Superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem.*, **44**, 147-159.
33. **Fridovich I** (1995): Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem.*, **64**, 97-112.
34. **Fridovich I, Freeman B** (1986): Antioxidant defenses in the lung. *Annu Rev Physiol*, **48**, 693-702.
35. **Gebretsadik G, Seifu D, Yimer G, Menon MKC** (2015): The Non-Enzymatic Antioxidant and Level of Oxidative Stress of Tuberculosis Patients in Selected

- Treatment Center in Addis Ababa Ethiopia. *Journal of Tuberculosis Research*, **3**, 63-71.
36. **Gök M, Yapıcı İ, Uzun K, Erdem S, Ünlü A, Büyükbaş S** (2006): Aktif tüberküloz hastalarında total antioksidan kapasitesi ve malondialdehit(MDA) seviyeleri. *TAD.*, **4**, 22-24.
 37. **Gürel A** (2014): Tüberkülozis. <http://www.vetder.org/tuberculozis.html>. (Erişim Tarihi:07.12.2014).
 38. **Halliwell B, Aruoma OI** (1991): DNA damage by oxygen-derived species Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Lett.*, **281**, 9–19.
 39. **Harrison AJ, Yu M, Gårdenborg T, Middleditch M, Ramsay RJ, Baker EN, Lott JS** (2006): The structure of MbtI from Mycobacterium tuberculosis, the first enzyme in the biosynthesis of the siderophore mycobactin, reveals it to be a salicylate synthase. *J Bacteriol.*, **188**, 6081 -6091.
 40. **Hassan HM, Fridovich I** (1979): Paraquat and Escherichia coli. Mechanism of production of extracellular superoxide radical. *J Biol Chem.*, **254**, 10846-10852.
 41. **Holmes MA, Paulsene W, Jide X, Ratledge C, Strong RK** (2005): Siderocalin (Lcn 2) Also Binds Carboxymycobactins, Potentially Defending against Mycobacterial Infections through Iron Sequestration. *Structure.*, **13(1)**, 29-41.
 42. **Johnsson K, Froland WA, Schultz PG** (1997): Overexpression, Purification and Charaterization ofthe Catalase-peroxidase KatG from Mycobacterium tuberculosis. *J Biol Chem.*, **272**, 2834-2840.
 43. **Jones TC, Hunt RD, King NW** (1997): *Veterinary pathology*, 6th edition, Lippincott Williams & Wilkins, Maryland, p: 490-497.
 44. **Kaçmaz A, Polat A, User Y, Tilki M, Özkan S, Şener G** (2004): Octreotide improves reperfusion-induced oxidative injury in acute abdominal hypertension in rats. *J Gastrointest Surg.*, **8**, 113-119.
 45. **Kaklıkkaya İ, Menteşe Ü, Koramaz İ, Altun G, Menteşe A, Çakıroğlu Y, Özcan F** (2010): Deneysel iskemi reperfüzyon modelinde, etil pirüvat uygulamasının sonuçları. *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg.*, **18**, 310-314.
 46. **Kanth BK, Oh T, Sohng JK** (2010): Identification of two superoxide dismutases (FeSOD and NiSOD) from Streptomyces peucetius ATCC 27952. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, **15**, 785-792.

47. **Karlson AG, Lessel EF** (1970): Mycobacterium bovis nom. Nov., *Int J Syst Evol Microbiol.*, **20**, 273-282.
48. **Kimble EJ** (2001): Investigation of iron superoxide dismutase dna from m. bovis bcg as a vaccine against mycobacterial infection in mice. *University of Colorado Thesis*.
49. **Kiremit MC** (2006): Kronik pelvik ağrı sendromlu hastalarda interlökin-10 ve mangan-süperoksit dismutaz gen polimorfizmi. *Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Uzmanlık Tezi*.
50. **Kulkarni R, Despande A, Saxena R, Saxena K** (2013): A study of serum malondialdehyde and cytokine in tuberculosis patients. *J Clin Diagn Res.*, **7**, 2140-2142.
51. **Kusunose E, Ichihara K, Noda Y, Kusunose M** (1976): Superoxide dismutase from Mycobacterium tuberculosis. *J Biochem.*, **80**, 1343-1352.
52. **Kwiatkowska S, Piasecka G, Zieba M, Piotrowski W, Nowak D** (1999): Increased serum concentrations of conjugated diens and malondialdehyde in patients with pulmonary tuberculosis. *Respir Med.*, **93**, 272-276.
53. **Lakari E** (2002): Expression of oxidant and antioxidant enzymes in human lung and interstitial lung diseases. *Oulu University Press*, 1-86.
54. **Lakari E, Pääkkö P, Kinnula VL** (1998): Manganese superoxide dismutase, but not CuZn superoxide dismutase, is highly expressed in the granulomas of pulmonary sarcoidosis and extrinsic allergic alveolitis. *Am J Respir Crit Care Med.*, **158**, 589-596.
55. **Lavelle F, McAdam ME, Fielden EM, Roberts PB** (1977): A pulse-radiolysis study of the catalytic mechanism of the iron-containing superoxide dismutase from Photobacterium leiognathi. *Biochem J.*, **161**, 3-11.
56. **Lebowitz RM, Zhang H, Vogel H, Cartwright J Jr, Dionne L, Lu N, Huang S, Matzuk MM** (1996): Neurodegeneration, myocardial injury, and perinatal death in mitochondrial superoxidase-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA.*, **93**, 9782-9787.
57. **Li Y, Huang TT, Carlson EJ, Melov S, Ursell PC, Olson JL, Noble LJ, Yoshimura MP, Berger C, Chan PH, Wallace DC, Epstein CJ** (1995): Dilated

cardiomyopathy and neonatal lethality in mutant mice lacking manganese superoxide dismutase. *Nature Genet.*, **11**, 376-381.

58. **Liebana E, Aranaz A, Mateos A, Vilafranca M, Gomez-Mampaso E, Tercero JC, Alemany J, Suarez G, Domingo M, Dominguez L** (1995): Simple and rapid detection of Mycobacterium tuberculosis complex organisms in bovine tissue samples by PCR. *J Clin Microbiol.*, **33**, 33-36.
59. **Lorente L, Martín MM, Abreu-González P, Domínguez-Rodríguez A, Labarta L, Díaz C, Solé-Violán J, Ferreres J, Cabrera J, Igeño JC, Jiménez A** (2013): Sustained high serum malondialdehyde levels are associated with severity and mortality in septic patients. *Crit Care.*, **17**, R290.
60. **Lundrigan MD1, Arceneaux JE, Zhu W, Byers BR** (1997): Enhanced hydrogen peroxide sensitivity and altered stress protein expression in iron-starved Mycobacterium smegmatis. *Biometals*, **10**, 215-225.
61. **Mahreen R1, Mohsin M, Nasreen Z, Siraj M, Ishaq M** (2010): Significantly increased levels of serum malonaldehyde in type 2 diabetics with myocardial infarction. *Int J Diabetes Dev Ctries.*, **30**, 49-51.
62. **Manca D, Ricard AC, Tra HV, Chevalier G** (1994): Relation between lipid peroxidation and inflammation in the pulmonary toxicity of cadmium. *Arch Toxicol.*, **68**, 364-369.
63. **Mann T, Keilin D** (1938): Haemocuprein and Hepatocuprein, Copper-Protein Compounds of Blood and Liver in Mammals. *Proc. Roy. Soc.*, **126**, 303-315.
64. **Marklund SL, Holme E, Hellner L** (1982): Superoxide dismutase in extracellular fluids. *Clin Chim Acta.*, **126**, 41-51.
65. **Marnett LJ** (2002): Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology*, **181-182**, 219-222.
66. **Marnett LJ, Plastaras JP** (2001): Endogenous DNA damage and mutation. *Trends Genet.*, **17**, 214-221.
67. **McCord JM, Fridovich I** (1988): Superoxide dismutase: the first twenty years (1968-1988). *Free Rad Biol Med.*, **5**, 363-369.
68. **Morris RS, Pfeiffer DU, Jackson R** (1994): The epidemiology of Mycobacterium bovis infections. *Veterinary Microbiology*, **40**, 153-177.

69. **Nezami N, Ghorbanihaghjo A, Rashtchizadeh N, Tafrishinejad A, Ghorashi S, Hajhosseini B** (2011): Atherogenic changes of low-density lipoprotein susceptibility to oxidation, and antioxidant enzymes in pulmonary tuberculosis. *Atherosclerosis*, **217**, 268-273.
70. **Niedernhofer LJ, Daniels JS, Rouzer CA, Greene RE, Marnett LJ** (2003): Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells. *J Biol Chem.*, **278**, 31426-31433.
71. **Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P** (1997): Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clin Chem.*, **43**, 1209-1214.
72. **Nowak D, Zieba M, Zawiasa D, Rozniecki J, Król M** (1996): Changes of serum concentration of lipid peroxidation products in patients with pneumonia. *Monaldi Arch Chest Dis.*, **51**, 188-193.
73. **Okutan H, Savas C, Delibas N** (2004): The antioxidant effect of melatonin in lung injury after aortic occlusion-reperfusion. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.*, **3**, 519-522.
74. **Olakanmi O, Schlesinger LS, Ahmed A, Britigan BE** (2004): The nature of extracellular iron influences iron acquisition by mycobacterium tuberculosis residing within human macrophages. *Infect Immun.*, **72**, 2022-2028.
75. **Ortatatlı M, Çiftçi MK, Tuzcu M** (1998): Sığırlarda Tüberküloz ve Diğer Granülomatöz Pnömoniler Üzerine Patolojik İncelemeler. *Vet Bil Derg.*, **14**, 139-150.
76. **Ozmen O, Kurşun O, Ozcelik M** (2005): Bovine tuberculosis in Burdur, southern Turkey: epidemiological, pathological and economic study. *Int J Tuberc Lung Dis.*, **9**, 1398-1402.
77. **Öğüt S, Atay E** (2012): Yaşlılık ve oksidatif stres. *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg.*, **19**, 67-74.
78. **Özbey Ö, Kalender H, Muz A** (2008): Sığır Tüberkülozu'nun Epidemiyolojisi ve Teşhisi. *F. Ü. Sađ. Bil. Derg.*, **22**, 307-314.
79. **Özel GSK, Birdane YO** (2014): Antioksidanlar. *Kocatepe Vet J.*, **7**, 41-52.
80. **Palanisamy GS, Kirk NM, Ackart DF, Shanley CA, Orme IM, Basaraba RJ** (2011): Evidence for oxidative stress and defective antioxidant response in guinea pigs with tuberculosis. *PLos One*, **6**, e26254

81. **Pollock JM, Rodgers JD, Welsh MD, McNair J** (2006): Pathogenesis of bovine tuberculosis: the role of experimental models of infection. *Vet Microbiol.*, **112**, 141,150.
82. **Pritchard DG** (1988): A century of bovine tuberculosis 1888-1988: Conquest and Controversy. *J Comp Path.*, **99**, 357-399.
83. **Puri RV, Reddy PV, Tyagi AK** (2013): Secreted Acid Phosphatase (SapM) of Mycobacterium tuberculosis Is Indispensable for Arresting Phagosomal Maturation and Growth of the Pathogen in Guinea Pig Tissues. *Plos one*, **8**, 1-12
84. **Racusen LC** (2003): Immunopathology of organ transplantation. Springer Semin *Immunopathol.*, **25**, 141–65.
85. **Ramos-Vara JA, Miller MA** (2014): When Tissue Antigens and Antibodies Get Along: Revisiting the Technical Aspects of Immunohistochemistry—The Red, Brown, and Blue Technique. *Veterinary Pathology*, **5**, 42-87.
86. **Rao PK** (2011): Studies on Mycobacterial Response to Low Iron and Oxidative Stress by Proteomics. University of Illinois Chicago Thesis.
87. **Rao PK, Rodriguez GM, Smith I, Li Q** (2008): Protein dynamics in iron-starved Mycobacterium tuberculosis revealed by turnover and abundance measurement using hybrid-linear ion trap Fourier transform mass spectrometry. *Anal Chem.*, **80(18)**, 6860-6869.
88. **Reddy YN, Murthy SV, Krishna DR, Prabhakar MC** (2004): Role of free radicals and antioxidants in tuberculosis patients. *Indian J Tuberc.*, **51**, 2013-218.
89. **Resmi Gazete** (2009): Sığır Tüberkülozu Yönetmeliği. Tarih: 02.04.2009, Sayı: 27188. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2009/04/20090402-2.htm>, (Erişim tarihi: 07.12.2014).
90. **Rodriguez GM** (2006): Control of iron metabolism in Mycobacterium tuberculosis. *Trends Microbiol.*, **14**, 320-327.
91. **Rodriguez-Campos S, Smith NH, Boniotti MB, Aranaz A** (2014): Overview and phylogeny of Mycobacterium tuberculosis complex organisms: Implications for diagnostics and legislation of bovine tuberculosis. *Res Vet Sci.*, **97**, 5-19.
92. **Rothel JS, Jones SL, Corner LA, Cox JC, Wood PR** (1990): A sandwich enzyme immunoassay for bovine interferongamma and its use for the detection of tuberculosis in cattle. *Aust Vet J.*, **67**, 134-137.

93. **Sayın Z, Erganiş O** (2010): Sığır Tüberkülozunun Teşhisinde Kullanılan Metotlar. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, **3**, 77-82.
94. **Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessaraki M** (2012): Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions, *Journal of Botany*, **2012**, 26.
95. **Sies H** (1997): Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol.*, **82**, 291-295.
96. **Siu GM, Draper HH, Valli VE** (1983): Oral toxicity of malonaldehyde: a 90-day study on mice. *J Toxicol Environ Health.*, **11**, 105-119.
97. **Somoskovi A1, Wade MM, Sun Z, Zhang Y** (2004): Iron enhances the antituberculous activity of pyrazinamide. *J Antimicrob Chemother.*, **53(2)**, 192-196.
98. **Spalding JW** (1988): Toxicology and carcinogenesis studies of malondialdehyde sodium salt in F344/N rats and B6C3F1 mice. *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser.*, **331**, 1-182.
99. **Sritharan M** (2000): Iron as a candidate in virulence and pathogenesis in mycobacteria and other microorganisms. *World J Microb and Biot.*, **16**, 769-780.
100. **Sritharan M, Yeruva VC, Sivasailappan SC, Duggirala S** (2006): Iron enhances the susceptibility of pathogenic mycobacteria to isoniazid, an antitubercular drug. *World J Microb Biot.*, **22(12)**, 1357-1364.
101. **Steele JH, Ranney AF** (1958): Animal tuberculosis. *Am Rev Tubere.*, **77**, 908-922.
102. **Suhail M, Suhail S, Gupta BK, Bharat V** (2009): Malondialdehyde and Antioxidant Enzymes in Maternal and Cord Blood, and their Correlation in Normotensive and Preeclamptic Women. *J Clin Med Res.*, **1**, 150-157.
103. **Taghiabad JG** (2014): Türk Propolisinin Sulu Ekstraktının İnsan Laringeal Epidermoid Karsinoma (HEp-2) Hücre Serilerinde Süperoksit Dismutaz (SOD) ve Katalaz (CAT) Düzeylerine Etkisi. *Karadeniz Teknik Üniversitesi Yüksek Lisans tezi*.
104. **Tainer JA, Getzoff ED, Beem KM, Richardson JS, Richardson DC** (1982): Determination and analysis of the 2 A-structure of copper, zinc superoxide dismutase. *J Mol Biol.*, **160**, 181-217.
105. **Torgerson PR, Torgerson DJ** (2010): Public health and bovine tuberculosis: what's all the fuss about?. *Trends in Microbiology.*, **18**, 67-72.
106. **Tsan MF** (2001): Superoxide dismutase and pulmonary oxygen toxicity: lessons from transgenic and knockout mice. *Int J Mol Med.*, **7**, 13-19.

107. **Turrens JF** (2003): Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol.*, **552**, 335-344.
108. **Uchida K** (2000): Role of reactive aldehyde in cardiovascular diseases. *Free Radic Biol Med.*, **28**, 1685-1696.
109. **Uchida K** (2003): 4-Hydroxy-2-nonenal: a product and mediator of oxidative stress. *Prog Lipid Res.*, **42**, 318-343.
110. **WHO** (2010): Treatment Of Tuberculosis guidelines. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44165/1/9789241547833_eng.pdf. (Erişim Tarihi: 05.12.2015).
111. **Wu CH, Tsai-Wu JJ, Huang YT, Lin CY, Lioua GG, Lee FJ** (1998): Identification and subcellular localization of a novel Cu,Zn superoxide dismutase of Mycobacterium tuberculosis. *FEBS Lett.*, **439**, 192-196.
112. **Yagi K** (1984): Assay for blood plasma or serum. *Methods Enzymol.*, **105**, 328-331.
113. **Yau TM** (1979): Mutagenicity and cytotoxicity of malonaldehyde in mammalian cells. *Mech Ageing Dev.*, **11**, 137-144.

4. ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı	: Muhammed Mustafa SEZGİNER	
Doğum Yeri ve Yılı	: Haymana/ANKARA, 1985	
Medeni Hali	: Evli	
Yabancı Dili	: İngilizce	
Uyruğu	: Türkiye Cumhuriyeti	
Telefon No	: 0505 255 61 75	
Elektronik Posta	: musseze@hotmail.com	
İletişim Adresi	: Şirinevler Mah. Yunus Emre Bulvarı K:4 D:8 Sandıklı/Afyonkarahisar	
Eğitim Durumu	Kurum ve Yıl	
Lisans	: İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, 2010	
Yüksek Lisans	: MAKÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2014-Devam Ediyor	