

**T.C.**  
**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**VETERİNERLİK PATOLOJİSİ ANABİLİM DALI**

**KEÇİLERDE PARATÜBERKÜLOZ HASTALIĞINDA PATOLOJİK VE  
İMMUNOHİSTOKİMYASAL İNCELEMELER**

Gökhan KARAYAKA

VETERİNERLİK PATOLOJİSİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI YÜKSEK  
LİSANS TEZİ

DANIŞMANI

Doç. Dr. Mehmet Önder KARAYİĞİT

ADANA-2024

**T.C.**  
**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**VETERİNERLİK PATOLOJİSİ ANABİLİM DALI**

**KEÇİLERDE PARATÜBERKÜLOZ HASTALIĞINDA PATOLOJİK VE**  
**İMMUNOHİSTOKİMYASAL İNCELEMELER**

Gökhan KARAYAKA

VETERİNERLİK PATOLOJİSİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI YÜKSEK  
LİSANS TEZİ

DANIŞMANI

Doç. Dr. Mehmet Önder KARAYİĞİT

ADANA-2024

## KABUL VE ONAY

Veterinerlik Patolojisi Anabilim Dalı

Veterinerlik Patolojisi Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans **Programı**

çerçevesinde yürütülmüş olan “**Keçilerde Paratüberküloz Hastalığında Patolojik ve İmmunohistokimyasal İncelemeler**”

adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak Kabul edilmiştir.

Tarihi: 16/09/2024

### TEZ SINAV JÜRİSİ

Doç Dr. Mehmet Önder KARAYİĞİT

Çukurova Üniversitesi

Başkan

Prof. Dr. Mehmet HALIGÜR

Doç. Dr. Nihat YUMUŞAK

Çukurova Üniversitesi

Harran Üniversitesi

Üye

Üye

Yukarıdaki Tez, Yönetim Kurulunun ...../...../.....tarih ve .....sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof.Dr.Kübra AKILLIOĞLU

**Sağlık Bilimler Enstitü Müdürü**

## İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ÖNSÖZ ve/veya TEŞEKKÜR	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	2
2.1. Etken Özellikleri	3
2.2. Hastalığın Seyri	3
2.3. Klinik Bulgular	4
2.4. Makroskopik Bulgular	5
2.5. Histopatolojik Bulgular	5
2.6. Teşhis	5
2.7. Nitrik Oksit	6
2.8. iNOS	6
3. GEREÇ VE YÖNTEM	9
3.1. Çalışma Grubu	9
3.2. Kontrol Grubu	9
3.3. Dokuların Hazırlanması	9
3.4. Histopatolojik Boyama Tekniği	9
3.5. İmmunohistokimyasal Boyama Tekniği	10
3.6. Ziehl-Nelseen Boyama Tekniği	10
3.7. Hücre Sayım Metodu	11
3.8. İstatistiksel Analiz	11

4. BULGULAR	12
4.1. İstatistiksel Bulgular	12
4.2. Klinik Bulgular	13
4.3. Makroskopik Bulgular	13
4.4. Mikroskopik Bulgular	14
4.5. İmmunohistokimyasal Bulgular	15
4.6. Ziehl-Nelseen Boyama Bulguları	16
5. TARTIŞMA	17
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	22
7. KAYNAKLAR	23
ÖZGEÇMİŞ	28

## TEŞEKKÜR

Tez çalıőmam sırasında değerli katkılarını esirgemeyen danıőman hocam Sayın Doç. Dr. Mehmet Önder KARAYİĞİT'e tez süresince bilimsel öneri ve yardımlarından dolayı sonsuz teőekkürlerimi sunarım. Anabilim Dalımız Öğretim Üyeleri Prof.Dr. Mehmet HALİĞÜR'e ve Prof.Dr. Ahmet AYDOĐAN'a bilimsel katkılarından dolayı teşekkür ederim. Yüksek lisans eğitimi için her türlü imkanı bana sağlayan Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne teşekkür ederim. Feke İlçe Tarım ve Orman Müdürü Hakkı SARIOĐLAN'a, Yumurtalık İlçe Tarım ve Orman Müdürü İsa Barıő YAVUZ'a yardımları ve anlayıőları için teşekkür ederim. Hasta hayvanlar ile ilgili benimle irtibatını kesmeyen Onur ATLI'ya, Bekir TOKTEMİŐ'e, Ali ORDANKAYA'ya ve Mehmet ORDANKAYA'ya desteklerinden dolayı teşekkür ederim. Ayrıca tez çalıőmam boyunca bana yardımlarını esirgemeyen ve bu zorlu süreçte sabırla her daim yanımda olan sevgili eőim Havva KARAYAKA ve biricik kızım Iőıl Duru KARAYAKA'ya sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AEC	3-Amino-9 Etil Karbazol
C°	Santigrat-Derece
dk	Dakika
eNOS	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
HCL	Hidroklorik Asit
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen Peroksit
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
LPE	Lenfositik Plazmositik Enterit
MAP	Micobacterium Avium Tuberculosis
µm	Mikro Metre
nNOS	Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
NO	Nitrik Oksit
ONOO <sub>2</sub>	Peroksinitrit
PBS	Fosfat Buffer Solüsyonu
SABK	Strepto Avidin Biotin Peroksidaz Kompleks
SD	Standart Sapma

## ÖZET

### Keçilerde Paratüberküloz Hastalığında Patolojik ve İmmunohistokimyasal İncelemeler

Çalışmada ülkemizde ve Adana çevresinde keçilerde verim kaybına neden olan ve çoğunlukla gizli seyreden paratüberküloz hastalığı patolojik olarak araştırılmıştır.

Çalışmanın materyalini Adana çevresindeki ilçe ve köylerden paratüberküloz şüphesi ile nekropsisi yapılan ve sonrasında Ziehl-Nelson boyama yöntemi ile paratüberküloz teşhisi konmuş olan 25 adet keçi bağırsak dokusu oluşturmaktadır. 8 adet sindirim sisteminin etkilenmediği hastalıklardan ölen hayvanların bağırsak dokuları da kontrol olarak kullanıldı. Toplanan bağırsak dokuları % 10'luk formaldehit solüsyonunda en az 48 saat bekletildikten sonra çeşme suyunda bir gece yıkandı. Takibinde dereceli alkollerden geçirilip ksilende şeffalandırıldıktan sonra parafine gömülerek bloklandı. Bloklanan dokulardan 5'µ lam üzerine kesitler alındı. Kesitlere hematoksilin eozin, Ziehl-Nelseen ve immunohistokimyasal olarak iNOS antikoruna ile boyamalar yapıldı. Histopatolojik bulgular ve Ziehl-Nelseen boyamalar ile paratüberküloz teşhisi konduktan sonra iNOS antikor boyanma sonuçları değerlendirildi.

Sonuç olarak paratüberkülozlu dokulardan iNOS ekspresyonunun kontrol hayvanlara göre anlamlı derecede arttığı tespit edildi ( $p<0.001$ ). Bu sonuçlar ile bölgedeki keçilerdeki paratüberküloz yaygınlığının yüksek olduğu ve hastalıkta oluşan bağırsak yangısının patogeneğinde iNOS ekspresyonunun aktif olarak rol oynayabileceği düşünüldü. Hastalıkta şekillenen bağırsak yangısının patogeneğinde rol oynayan diğer faktörler için konu ile ilgili daha geniş çaplı araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

**Anahtar sözcükler:** İmmunohistokimya, Keçi, Nitrik oksit, Paratüberküloz

## **ABSTRACT**

### **Pathological and Immunohistochemical Investigations in Paratuberculosis Disease in Goats**

**In this study, paratuberculosis disease, which causes loss of productivity in goats in our country and around Adana and is mostly latent, was investigated pathologically.**

**The material of the study consisted of 25 intestinal tissues of goats from the districts and villages around Adana, which were necropsied with suspicion of paratuberculosis and subsequently diagnosed with paratuberculosis using the Ziehl-Nelson staining method. Intestinal tissues of 8 animals that died from diseases that did not affect the digestive system were also used as controls. The collected intestinal tissues were kept in a 10% formaldehyde solution for at least 48 hours and then washed in tap water overnight. Afterwards, they were passed through graded alcohols, cleared in xylene, and then embedded in paraffin and blocked. Sections were cut onto 5  $\mu$  slides from the blocked tissues. Sections were stained with hematoxylin-eosin, Ziehl-Nelseen and immunohistochemically with iNOS antibody. After the diagnosis of paratuberculosis was made with histopathological findings and Ziehl-Nelseen staining, iNOS antibody staining results were evaluated.**

**As a result, it was determined that iNOS expression in paratuberculosis tissues was significantly increased compared to control animals ( $p < 0.01$ ). With these results, it was thought that the prevalence of paratuberculosis in goats in the region was high and iNOS expression may play an active role in the pathogenesis of intestinal inflammation in the disease. More extensive studies are needed on the subject for other factors that play a role in the pathogenesis of intestinal inflammation in the disease.**

**Key Words: Immunohistochemistry, Goat, Nitric oxide, Paratuberculosis.**

## 1. GİRİŞ

*Mycobacterium avium paratuberculosis* (MAP), paratüberküloz veya Johne hastalığı olarak bilinen kronik progresif granümatöz enterite neden olan bakteriyel etiyolojik bir ajandır ve öncelikle yabani ve evcil geviş getiren hayvanları etkiler. Türkiye ile birlikte Avusturya, Norveç, Portekiz, İspanya, Yunanistan, Büyük Britanya, Güney Afrika, Yeni Zelanda ve Avustralya dahil olmak üzere keçi yetiştirilen çoğu ülkede keçilerde paratüberküloz tespit edilmiştir [Stehman (1), Nielsen and Toft (2)]. Teşhisin belirsizliği ve vakaların yalnızca belirli araştırmalar veya eradikasyon programları sırasında bildirilmesi gerçeği nedeniyle, herhangi bir bölge veya ülkede keçilerde enfeksiyon prevalansının tahmin edilmesi zordur. Son 10 yılda prevalansın arttığı görülmektedir, ancak farklı çalışma tasarımları ve örnekleme çerçeveleri kullanan nispeten az sayıda çalışmadan elde edilen tahminlerde büyük farklılıklar vardır [Nielsen ve Toft (2)].

Paratüberküloz beş kıtada evcil ve yabani hayvanları (özellikle geviş getiren hayvanları) etkilemektedir. Veterinerlik dünyası sığır, koyun ve keçilere odaklanmış olsa da, pek çok yabani hayvan (geyik, antilop, dağ keçisi, bizon, deve, lama ve diğerleri) de paratüberkülozdan etkilenmektedir. Ayrıca etiyolojik ajan *M. paratuberculosis*, asemptomatik olarak atlar ve katırlarda da çoğalır. Laboratuvar hayvanları (fareler, sıçanlar, tavşanlar, hamsterler, gerbiller ve kobaylar) ve kuşlar (güvercinler ve kümes hayvanları) deneysel olarak *M. paratuberculosis* ile enfekte edilmiştir [Chiodini et al. (3), Frelie et al. (4), Griffin (5), Hamilton et al. (6), Hamilton et al. (7), Merkal (8), Mokresh et al. (9)]. Tahtalı güvercininden izole edilen *M. paratuberculosis* ile yakından ilişkili bir türün (*M. avium* subsp. *silvaticum*) geyik, keçi ve güvercinlerde kronik enterite neden olduğu rapor edilmiştir [Mattews and McDiarmid (10), Thorel (11)].

## 2. GENEL BİLGİLER

Office International des Epizooties tarafından yayınlanan paratüberküloz yayılımı ve kontrol önlemlerine ilişkin 1998 raporu, rapor sağlayan ülkelerin yaklaşık yarısında sığırlarda paratüberküloz varlığını veya şüphesinin olduğunu göstermektedir. Her ne kadar paratüberküloz birçok ülkede ihbarı zorunlu bir hastalık olsa da, çoğu zaman subklinik olan bu hastalığın birçok nedenden dolayı eksik raporlanması muhtemeldir. Avrupa ülkelerinde sığır paratüberkülozunun sürü prevalansına ilişkin yayınlanmış tahminler %7 ile %55 arasında değişmektedir [Power et al. (12)].

Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD), ABD Tarım Bakanlığı tarafından 1996 yılında süt sığırları üzerinde tamamlanan bir araştırma, ABD'deki sürülerin %22'sinde en az bir hayvanın enfeksiyon açısından serolojik olarak pozitif olduğunu bildirmiştir. Enfeksiyon ABD genelinde oldukça eşit bir şekilde dağılmıştır, ancak sürü yaygınlığı sürü büyüklüğüyle güçlü bir şekilde ilişkilidir; 300'den fazla hayvandan oluşan sürülerin yaklaşık %40'ının enfekte olduğu tespit edilmiştir [Wells and Wagner (13)]. Avustralya'da hastalık eşit şekilde dağılmamaktadır; Ülkenin güneydoğu kesiminde süt sığırları enfeksiyonu oranları Victoria Eyaleti'nde %2-2, Yeni Güney Galler'de ise %9'dur [Kennedy and Allworth (14)].

1953 yılında Çin'de sığır paratüberkülozunun ilk raporundan bu yana enfeksiyon oranı arttı ve Çin sığır endüstrisinde büyük ekonomik kayıplar yaşandı [(Peng (15), Hu et al. (16)]. MAP taşıyan hasta sığırlar sığır paratüberkülozunun birincil enfeksiyon kaynaklarıdır [He (17)]. Bu hastalık çoğunlukla fekal-oral yolla bulaşır [Windsor and Whittington (18), Santema et al. (19)]. Doğumdan 12 aya kadar olan genç sığırlar, MAP ile kontamine olmuş ortamdan ve/veya kolostrum/sütten oral yolla enfeksiyona daha duyarlıdır. [Giese and Ahrens (20), Slana et al. (21), Slana et al. (22), Santema et al. (23)]. MAP ile enfekte olmuş sığırlarda genellikle 2-5 yaşına kadar klinik belirtiler gelişmez. Klinik bulgular kronik veya aralıklı ishal, zayıflama ve hatta ölümdür. [Stabel (24)]. Ayrıca hastalık süt üretimini azaltarak süt üreticileri için büyük ekonomik kayıplara neden olur [Yoo and Shin (25)]. Sığır paratüberkülozunun gelişimi uzun bir seyir ve yüksek ölüm oranı ile karakterizedir [Nu (26)].

Sığırlarda, hayvanın maruz kaldığı yaş, cins direnci, genetik yatkınlık ve diğer hastalıklar paratüberküloz gelişimi için risk faktörleri olarak belirtilmiştir [Radostits

et al. (27)]. Genç hayvanlar, yaşlı hayvanlara göre daha düşük bir enfektif doza ihtiyaç duyar ve aşırı çevresel kontaminasyon olmadıkça yetişkin hayvanların enfekte olması olası değildir [McKenna et al. (28)]. Bu genellikle diğer hayvanlar için de kabul edilir, ancak keçilerde çok az deneysel enfeksiyon gerçekleştirilmiştir Hines et al. (29), Begg et al. (30)]. Bununla birlikte, deneysel enfeksiyonlara dayanarak, keçilerin paratüberküloza karşı sığır ve koyunlara göre doğal olarak daha az dirençli olduğu bulunmuştur [Stewart et al. (31)].

## **2.1 Etken Özellikleri**

*Mycobacterium* cinsine ait fakültatif hücrelerarası asit dirençli bir basil olan paratuberculosis, hem gastrointestinal sistemin hem de ilgili lenfoid dokuların makrofajları içinde çoğalan, son derece yavaş büyüyen mikobaktine bağımlı bir organizmadır [Chiodini et al. (32)]. Kirilenmiş yem ve su, altlık ve kirli memelerin organizmanın yayılmasının ana yolları olduğu ve altı aylıktan küçük genç hayvanların enfeksiyona en duyarlı olduğu düşünülmektedir [Singh et al. (33)]. Sığırlar buzağılık döneminin başlarında bulaşıcı ajanın ağız yolu ile alınması ile enfekte olur [Stabel et al. (34)].

## **2.2. Hastalığın Seyri**

Yutulan bakteriler ince bağırsak mukozasından bağırsak duvarına girer. Deneysel olarak enfekte olmuş keçilerde giriş noktasının, Peyer plaklarını kaplayan folikülle ilişkili epitelde bulunan M hücreleri ve ayrıca Peyer plakları olmayan alanlardaki enterositler yoluyla olduğu gösterilmiştir [Sigurðardóttir et al. (35), Sigurðardóttir et al. (36)]. Bakteriler daha sonra subepitelyal makrofajlar tarafından fagosite edilir. Makrofajlar içinde MAP, hücre içi bozulmaya direnir ve inflamatuvar ve immünolojik tepkileri uyatarak yavaş yavaş çoğalır [Olsen et al. (37)]. MAP ile enfekte olmuş hayvanların çoğu enfeksiyonu kontrol edebilir. Bununla birlikte, sublinik olarak enfekte olmuş hayvanlar muhtemelen hayatlarının geri kalanında enfekte olmaya devam edeceklerdir ve bazıları enfeksiyonun yayılmasına katkıda bulunarak aralıklı olarak bakterileri dışkı yayabilir. Enfekte hayvanların enfeksiyonu temizleyip temizleyemediği belirsizliğini koruyor. Keçilerde yapılan çeşitli çalışmalarda deneysel enfeksiyondan

sonra hiç bir lezyon saptanmamıştır, ancak bu hayvanlarda latent enfeksiyonların varlığı yok sayılmamıştır [Sigurðardóttir et al. (38)].

### **2.3. Klinik Bulgular**

Enfekte hayvanlar klinik semptomlara, bakterilerin dışkıyla yayılmasına ve immünolojik yanıtı göre dört gruba ayrılabilir: (i) sessiz enfeksiyon; (ii) subklinik hastalık; (iii) klinik hastalık; ve (iv) ileri klinik hastalık [Whitlock and Buergelt (39)]. Sessiz enfeksiyon evresinde klinik bulgu yoktur, vücut ağırlığı artışı veya vücut kondisyonu üzerinde herhangi bir etkisi yoktur. Genellikle ne bakteri yayılımı ne de saptanabilir dolaşımdaki antikorlar yoktur, ancak hücrel immün yanıtlar, interferon gama (IFN- $\gamma$ ) yanıt testi ile saptanabilir. Subklinik hastalık evresinde hala paratüberkülozun klinik belirtileri yoktur. Bununla birlikte, hayvanlar dışkıda düşük sayıda bakteri yayabilir ve hem hücrel hem de hümoral bağışıklık tepkilerinin kanıtı olabilir. Keçiler, herhangi bir klinik paratüberküloz belirtisi olmaksızın enfeksiyondan yaklaşık 1 yıl boyunca dışkı ile hastalığı taşıyabilirler [Storset et al. (40)]. Klinik hastalık olarak adlandırılan enfeksiyonun üçüncü aşaması sırasında, tek tutarlı bulgu, görünüşte normal gıda alımına rağmen kilo kaybıdır [Stehman (1)]. Sığırlarda gözlenen farklı olarak keçilerde ishal nadiren görülür [Manning and Collins (41)]. Bu durumda, bakteriler tipik olarak dışkıda bulunur ve hayvanlar genellikle MAP'a karşı antikorlara sahiptir. Çoğu hayvan itlaf edilmezse dördüncü aşamaya geçer. İleri klinik hastalıkta, hayvanlarda pul pul bir deri ve zayıf bir tüy tabakası gelişir ve sonunda ilerleyici zayıflama, dehidratasyon, submandibular ödem, anemi ve depresyon görülür. Enfeksiyonun bu aşamasında, ishal veya daha sık olarak dışkı topaklanması görülebilir [Stehman (1)].

### **2.4. Makroskopik Bulgular**

Makroskopik lezyonlar esas olarak bağırsakta ve mezenterik lenf düğümlerinde görülür. Bağırsak lezyonları segmental veya yaygın olabilir ve en yaygın olarak ileumda bulunur, ancak bağırsak boyunca ortaya çıkabilir. Mukozanın enine kıvrımlarla kalınlaşması ve katlanması ve dilate ve kalınlaşmış serozal ve mezenterik lenfatik damarlar sık görülür. Mezenterik lenf düğümleri soluk, şiş ve ödemlidir.

Keçilerde, hem mukozada hem de lenf düğümlerinde nodüler kazeasyon ve mineralizasyon odakları mevcut olabilir [Olsen et al. (37)].

## **2.5. Histopatolojik Bulgular**

MAP'ın keçilerde neden olduğu histopatolojik lezyonlar, Mycobacterium leprae enfeksiyonlarında görülen spektruma benzeyebilir. Tüberküloit formda, çok sayıda lenfosit ile çevrili makrofajların fokal agregatları vardır, asit-fast basiller çok azdır veya hiç yoktur. Bu form, güçlü hücre sel bağışıklık tepkileri ile ilişkilidir. Lepromatöz form, güçlü hümoral immün yanıtlarla ilişkilidir ve lezyonlar, çok sayıda aside dirençli basil içeren yaygın makrofaj infiltrasyonundan oluşur. Spektrumun bu uçları arasında ara formlar ve "sınırdaki formlar" adı verilen formlar bulunur [Corpa et al. (42)]. Subklinik olarak enfekte olan hayvanlarda genellikle fokal tüberküloid lezyonlar bulunurken, klinik semptomları olan hayvanlarda sadece birkaç basil ile borderline tüberküloid form veya çok sayıda basil ile borderline lepromatöz form ortaya çıkabilir [Sigurðardóttir et al. (38)].

## **2.6. Teşhis**

Paratüberküloz hastalığının teşhisi klinik, makroskopik ve histopatolojik olarak şüphelenilen dokulara Ziehl-Neelsen boyası yapılarak mavi zemin üzerinde kırmızı renkli basillerin görülmesi ile doğrulanmaktadır.

## **2.7. Nitrik Oksit**

Furchgott, Ignarro ve diğerleri [Martin et al. (43), Ignarro et al. (44), Ignarro et al. (45)] tarafından 1980'lerin başında karakterize edilmesinden bu yana nitrik oksit (NO), birçok fizyolojik süreçte önemli bir sinyal molekülü olarak yaygın şekilde tanınmıştır. NO'nun endotel kaynaklı gevşetici faktör olarak ilk tanımlanması [(Palmer et al. (46)], vasküler biyolojideki işlevine büyük ilgi uyandırmıştır. Sonraki yıllarda, NO araştırmalarına odaklanma, vasküler sistemden bağışıklık ve inflamasyon, hücre ölümü, hücre sağkalımı ve yaşlanmadaki rolüne hızla genişlemiştir. Özellikle sinir sistemi içindeki rolü ve nöronal sinyallemedeki işlevi ilgi çekicidir. NO'nun merkezi sinir sisteminde mevcut olduğu ilk olarak, memeli beyininde sentezleyen enzimlerinden biri

olan nöronal nitrik oksit sentazın (nNOS) keşfedilmesiyle tanımlanmıştır. NO, nNOS aracılığıyla üretilmesinin yanı sıra, endotel nitrik oksit sentaz (eNOS) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) olarak adlandırılan diğer iki nitrik oksit sentazdan birinin aktivasyonu yoluyla da sentezlenebilir [Alderton et al. (47)]. NO, endotel hücre göçü, çoğalma, hücre dışı matris bozunumu ve anjiyogenez dahil olmak üzere çeşitli fizyolojik ve hücrel süreçleri düzenlemekten sorumludur [Cooke et al. (48)]. NO, kardiyovasküler fizyolojide önemli olan vasküler ton, trombosit fonksiyonu, anjiyogenez ve mitogenezin endotel bağımlı düzenlenmesinde önemli bir bileşendir [Naseem (49)].

## 2.8. iNOS

İndüklenebilir NO sentaz genellikle hücrelerden eksprese edilmez, ancak ekspresyon bakteriyel lipopolisakkarit, sitokinler ve diğer ajanlar tarafından indüklenebilir. Öncelikle makrofajlarda tanımlanmış olsa da, uygun indükleyici ajanlar tanımlanmışsa, enzimin ekspresyonu hemen hemen her hücre veya dokuda uyarılabilir. Bir kez eksprese edildiğinde, iNOS sürekli aktiftir ve hücre içi  $Ca^{2+}$  konsantrasyonları tarafından düzenlenmez (Förstermann et al. (50), Holscher and Rose (51)).

İndüklenebilir NO sentaz, makrofajlarda indüklendiğinde, bu hücrelerin başlıca sitotoksik ilkesini temsil eden büyük miktarda NO üretir [Nathan and Hibbs (52)]. İndüklenebilir makrofajlar tarafından üretilen daha yüksek NO konsantrasyonları, doğrudan hedef hücrelerin DNA'sına müdahale edebilir ve iplik kopmalarına ve parçalanmaya neden olabilir [Wink et al. (53)]. Bu etkilerin bir kombinasyonunun, NO'nin parazitik mikroorganizmalar ve belirli tümör hücreleri üzerindeki sitostatik ve sitotoksik etkilerinin temelini oluşturması muhtemeldir. İlginç bir şekilde, bağışıklık dışı hücreler de komşu hücreleri etkileyecek kadar büyük miktarda NO salmak üzere sitokinlerle indüklenebilir. Örneğin, sitokinle aktive edilen endotel hücrelerinin tümör hücrelerini parçaladığı ve indüklenebilir hepatositlerin sıtma sporozoitlerini öldürmek için NO kullanabildiği gösterilmiştir. iNOS aktivitesinin tüm bu etkilerden sorumlu olması muhtemeldir [Li et al.(54)]

Aktif makrofajlar (ve muhtemelen nötrofiller ve diğer hücreler) tarafından üretilen yüksek NO seviyeleri yalnızca istenmeyen mikroplar, parazitler veya tümör

hücreleri için toksik olmakla kalmayıp, yanlış yere salındığında sağlıklı hücelere de zarar verebilir. Canlı organizmada, hücre ve doku hasarı NO radikalinin kendisiyle veya NO'nun  $O_2^{+2}$  ile etkileşimi sonucu peroksinitrit ( $ONOO_2$ ) oluşumuyla ilişkili olabilir. İnflamatuar ve otoimmün lezyonların büyük çoğunluğu, bol miktarda aktive makrofaj ve nötrofil ile karakterizedir. Bu hücreler tarafından önemli miktarda NO salgılanabilir ve bu da çevredeki dokuya zarar verir [Kröncke et al. (55)]. iNOS türevi NO'nun ayrıca spesifik olmayan allotransplant reddinde de rol oynaması muhtemeldir [Langrehr et al. (56)].

İnflamatuar nörodejenerasyon bir dizi beyin patolojisine katkıda bulunur. Aktive edilmiş mikroglia ve astrositlerin nöronları öldürdüğü mekanizmalar hücre kültüründe tanımlanmıştır. Bu mekanizmalar arasında mikroglia'daki fagosit NADPH oksidazının aktivasyonu ve gliadaki iNOS ekspresyonu yer alır. Bu kombinasyon  $ONOO_2$  üretimi yoluyla apoptoza neden olur. İndüklenebilir NO sentaz türevi NO ayrıca nöronal ölümü indüklemek için hipoksi ile sinerji oluşturur çünkü NO sitokrom oksidazı inhibe eder. Bu, glutamat salınımı ve eksitotoksisite ile sonuçlanabilir [Kanwar et al (57)].

Son olarak, iNOS tarafından aşırı NO üretimi septik şokta önemli bir rol oynar. Bu durum, büyük arteriyol vazodilatasyon, hipotansiyon ve mikrovasküler hasar ile karakterizedir. Bakteriyel endotoksinler genellikle semptomları başlatır. Trombosit aktive edici faktör, tromboksan A2, prostanooidler ve interlökin-1, tümör nekroz faktörü-a ve interferon-g gibi sitokinler gibi bir dizi aracı, septik şokta yükselir ve patofizyolojisinde rol oynar. Bununla birlikte, kan basıncındaki düşüş, ağırlıklı olarak vasküler duvarda indüklenen iNOS tarafından aşırı NO üretiminden kaynaklanmaktadır [Lange et al. (58)]. iNOS ve eNOS seviyelerinin birçok viral ve bakteriyel hastalıklar esnasında arttığı bilinmektedir. Bu artış hastalıkların patogenezinin ortaya konmasına katkı sağlamaktadır. Keçilerde paratüberküloz hastalığında daha önce NO ekspresyonlarının bakıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma ile keçilerde paratüberküloz sonucunda şekillenen bağırsak yangısında iNOS ekspresyonunun rolü araştırıldı.

### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

#### **3.1. Çalışma Grubu**

Çalışmanı materyalini Adana'nın köyleri ve ilçelerinde paratüberküloz şüphesi ile ölen veya kesime sevk edilen hayvanlardan toplanan 25 adet ince bağırsak dokusu ve mezenteriel lenf düğümü oluşturdu.

#### **3.2. Kontrol Grubu**

Çalışmada kontrol olarak sindirim sisteminin etkilenmediği hastalıklardan ölen 8 adet keçi bağırsak dokusu kullanıldı.

#### **3.3. Dokuların Hazırlanması**

Doku örnekleri formaldehit içerisinde alındı. Dokular formaldehit içerisinde en az 48 saat bekletildikten sonra trimlenerek doku kasetleri içerisinde bir gece akarsu altında bekletildi. Ardından seri alkollerde 2 şer saat bekletilip dehidrasyonları sağlanıp ksilen-1 ve ksilen-2 solüsyonları içerisinde 2'şer saat şeffaştırıldı. Dokular daha sonra sıvı parafin-1 ve sıvı parafin-2 içerisinde 2 şer saat bekletildikten sonra parafin bloklara gömüldü ve mikrotom ile (Leica, RM 2125) lam üzerine 5 mikron ( $\mu\text{m}$ ) kalınlığında kesitler alındı.

#### **3.4. Histopatolojik Boyama Tekniği**

Lam üzerine alınan kesitler 1 gece 59 C° etüvde bekletilip parafini giderildikten sonra ksilen ve alkol serilerinden geçirilip distile suya alındı. Lam üzerindeki dokular ilk önce Hematoksilen içerisinde 7 dakika (dk) bekletildikten sonra çeşme suyunda 5 dk yıkandı. Ardından Eozin solüsyonuna alınıp 2 dk bekletildikten sonra alkol serilerinden geçirilip ksilende şeffaştırıldı. Boyanan kesitler entellan kullanılarak lam ile kapatıldı ve ışık mikroskopunda (Nikon, YS 100) incelendi.

### 3.5. İmmunohistokimyasal Boyama Tekniği

Parafinde hazırlanan doku bloklarından alınan kesitlere strepto-avidin biotin peroksidaz kompleks tekniği (SABK) uygulandı. İmmunohistokimyasal boyamalarda SABK teknik için alınan hazır kit (Zymed, Histostain Plus Kit, California, USA) kullanıldı ve tüm uygulamalar önerilen standart prosedüre göre yapıldı Kesitler, aseton-3-etoksipropilamin (Merck, katalog no: 8.21619, 100 ml aseton, 2 ml 3-etoksipropilamin) ile kaplanmış lamlara alındı. 30 dk 58 C°'lik etüvde kurutuldu. Kesitler ksilolde deparafinize edilip seri alkollerde dehidre edildi. Formalinin dokudaki antijenik yapıyı maskeleyici etkisini gidermek için, kesitler sitrat tamponlu solüsyonda mikrodalga fırında 600 watt'da 20 dakika kaynatıldı. Kesitler, endojen peroksidaz aktivitesini gidermek üzere metanolde hazırlanmış %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'te 7 dakika bekletildi. PBD (Fosfat Buffer Solüsyonu, pH: 7,4) ile yıkamayı takiben protein bloke edici serumda 10 dakika tutuldu. Daha sonra iNOS primer antikoru (mouse monoclonal (1/250 dilution, Santa-Cruz, sc-7271) ile immunohistokimyasal olarak boyandı. PBS ile yıkandıktan sonra kesitler biotinle işaretli sekonder antikor damlatılarak 30 dakika bekletildikten sonra streptavidin peroksidaz enzimi (Histostain-Plus Kits, California, USA) ile 30 dakika inkübe edildi. Protein bloke edici serumu ile inkubasyon aşaması hariç tüm işlemlerden sonra kesitler 2 kez 5 dakika süreyle PBS ile yıkandı. Son olarak kesitler 3-amino-9-etilkarbazol (AEC) (Zymed AEC RED substrat kit, ABD) kromojeni ile mikroskop altında kontrollü olarak 10 dakika süreyle boyandı. Gill's hematoksilen ile karşıt boyamaları yapıldı. Su bazlı yapıştırıcı (Shandon Immu-mount) ile kesitler kapatıldı ve ışık mikroskobunda (Nikon, YS 100) incelendi.

### 3.6. Ziehl-Neelsen Boyama Tekniği

Hazırlanan preparatlar Karbol-Fuksin ile 4 dk boyandı. Ardından akarsu altında kesitler yıkandı. Asit alkol ile dekolorize edildi (%95 Etil alkol, %5 HCL). Tekrar akarsuda yıkandıktan sonra metilen mavisi ile 15 sn boyanıp kapatıldı [Van Der Zanden et al. (59)].

### **3.7. Hücre Sayımı Metodu**

Bağırsak dokularından alınan kesitler immunohistokimyasal olarak iNOS antikorunu ile boyandı ve Nikon, DS Camera Head DS-5M sistemi ile 20'lik objektifle adı geçen bölgelerin tümü fotoğraflandı. Elde edilen fotoğraflarda immunohistokimyasal olarak sitoplazması pozitif boyanan her bir hücre sayıldı.

### **3.8. İstatistiksel Analiz**

Veriler Graphpad Prism 8.0.1 programı kullanılarak Mann Whitney U testi ile analiz edildi. Sonuçlar ortalama (medyan)  $\pm$  standart sapma (SD) formatında sunuldu.  $P < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

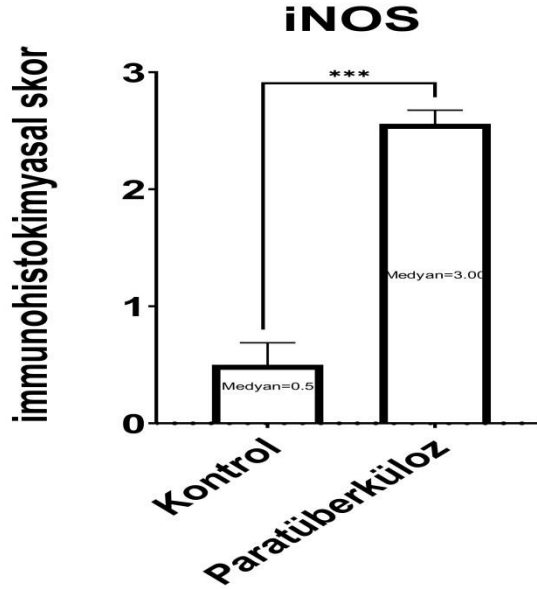
## 4. BULGULAR

### 4.1. İstatistiksel Bulgular

Kontrol grubuna ( $0.50 \pm 0.535$ ) kıyasla paratüberküloz grubunda ( $2.56 \pm 0.583$ ) ortalama ve standart sapma değerleri istatistiksel olarak anlamlı ve yüksekti ( $P < 0.001$ ) (Tablo 1) (Şekil 1).

Grup	iNOS							
	N	Ortalama (Medyan)	Standard Sapma	Standard hata	Minimum	%25 Yüzdelerik	%75 Yüzdelerik	Maksimum
Kontrol	8	0.50 (0.50)	0.535	0.189	0.00	0.00	1.00	1.00
Paratüberküloz	25	2.56 (3.00)***	0.583	0.117	1.00	2.00	3.00	3.00

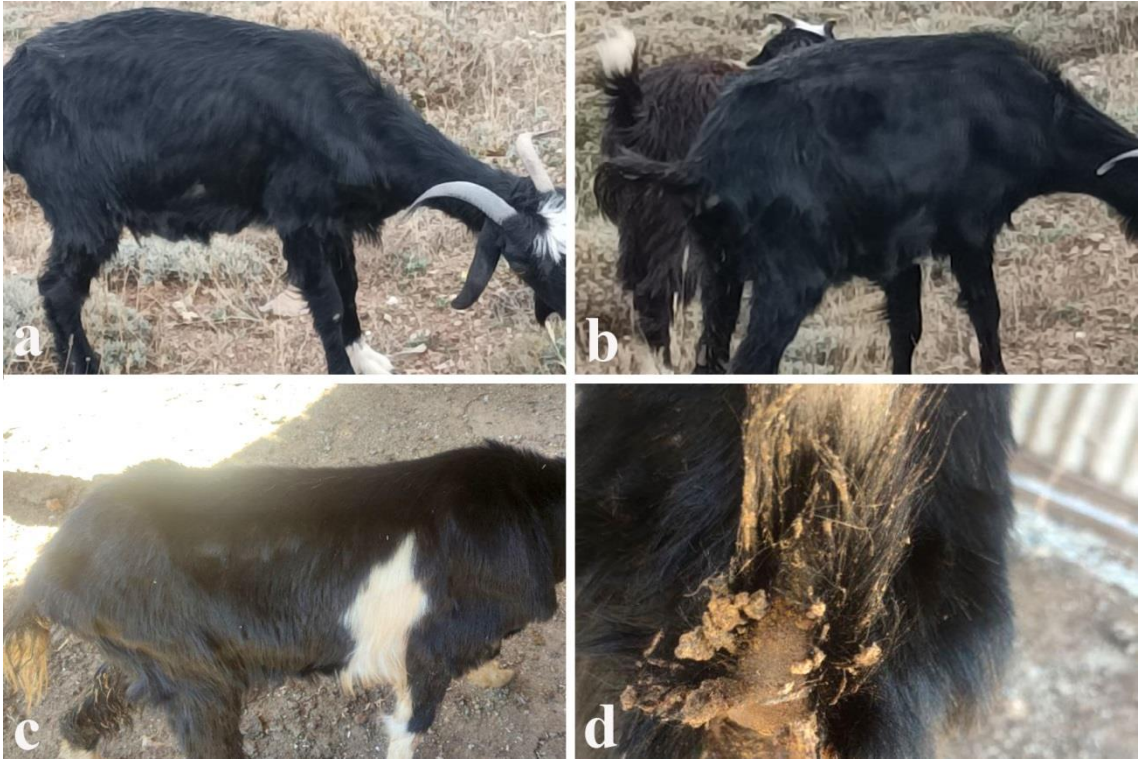
\*\*\* $P < 0.001$  kontrol grubu ile Paratürebeküloz grubu arasındaki istatistiksel anlamlılığı Mann Whitney U testine göre belirtmektedir.



**Şekil 1.** Paratüberkülozlu ve kontrol hayvanlardaki iNOS ekspresyonunun istatistiksel olarak karşılaştırılması

## 4.2. Klinik Bulgular

Enfekte hayvanlarda klinik olarak dikkati çeken ilk bulgu keçilerin şiddetli kaşektik olmalarıydı. Bununla birlikte hayvanlarda şiddetli dehidrasyon da tespit edildi. Bir diğer önemli klinik bulgu ise enfektif hayvanların bir kısmında ishal ve topaklanmış dışkı gözlemlendi (Şekil 2) Bunun yanında anamnez bilgisi olarak hayvanların yeme içmesinin normal sayılabilecek düzeyde olduğu bildirildi.



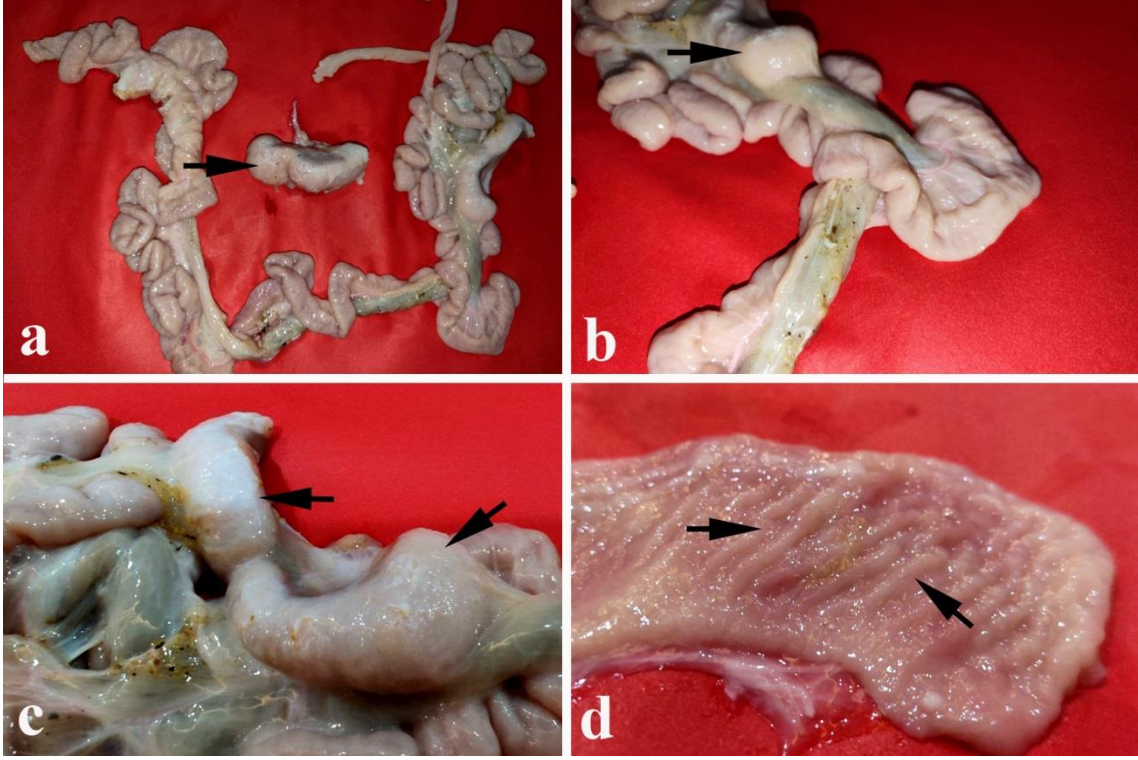
**Şekil 2.**

- Enfekte hayvanlarda kaşeksi.
- Enfekte hayvanlarda kaşeksi.
- Enfekte hayvanlarda kaşeksi ve ishal.
- Enfekte hayvanlarda ishal.

## 4.3. Makroskopik Bulgular

Nekropsisi yapılan hayvanlarda en belirgin makroskopik bağırsak bulgusu mezenteriyel lenf düğümlerinde büyümeydi (Şekil 3a,b,c). Bununla birlikte bağırsakların lümeni açıldığında hastalıkta meydana gelen yangı sonucunda bağırsak

mukozasında çok şiddetli kalınlaşma ile birlikte kıvrımlı (Beyin manzarası) bir yapı tespit edildi (Şekil 3d).

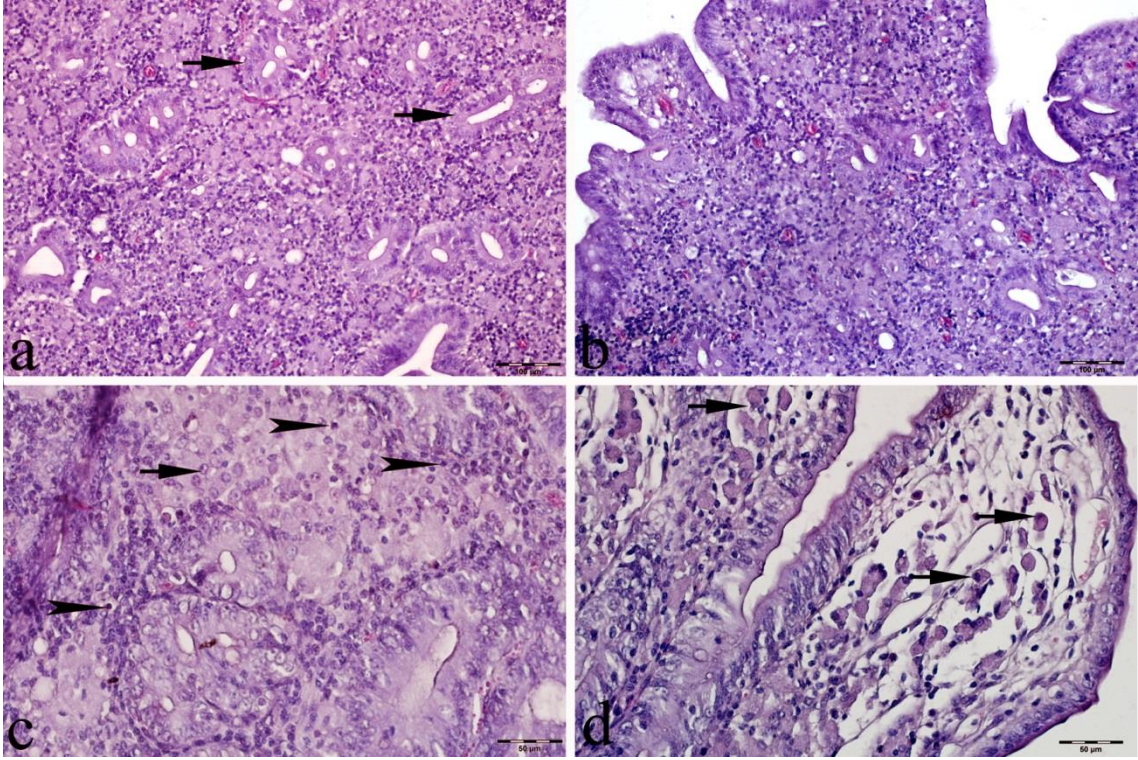


**Şekil 3.**

- Mezenteriyel lenf düğümlerinde hiperplazi (ok).
- Mezenteriyel lenf düğümlerinde hiperplazi (ok).
- Mezenteriyel lenf düğümlerinde hiperplazi (oklar).
- Bağırsak mukozasında hiperplazi (oklar).

#### **4.4. Mikroskopik Bulgular**

Histopatolojik olarak ince bağırsakların lamina propriasında şiddetli mononükleer yangı gözlemlendi. Bağırsak kriptleri birbirinde ayrılmış (Şekil 4a) ve villuslar kısmen kütleleşmişti (Şekil 4b). Lamina propriada yoğun lenfosit infiltrasyonları ve makrofaj agregatları tespit edildi (Şekil 4c). Bunun yanında yine aynı bölgede yoğun plazma hücre infiltrasyonlarına rastlandı (Şekil 4d).

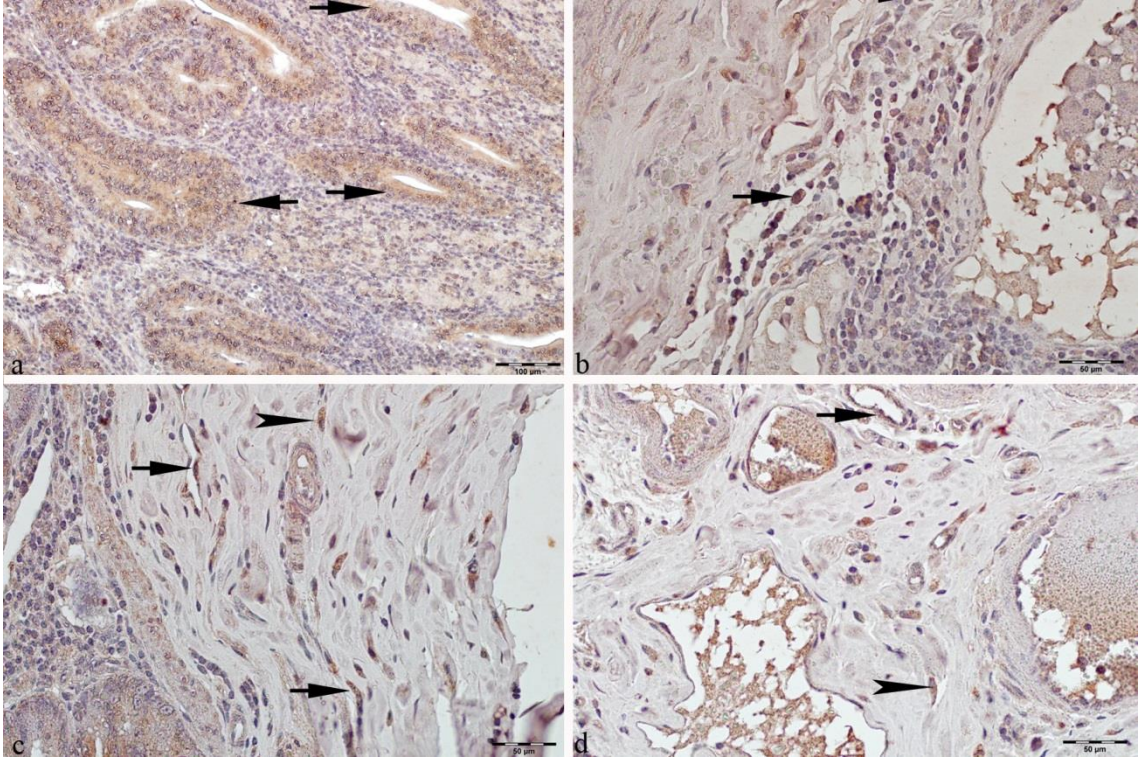


**Şekil 4.**

- Bağırsak kriptleri (oklar) ve L.Propriada mononükleer yangı.
- Bağırsak villuslarında kısmi kütleşme
- L.Propriada makrofaj infiltrasyonu (oklar) ve lenfositler (ok başı)
- L.Propriada plazma hücre infiltrasyonu (oklar)

#### **4.5. İmmunohistokimyasal Bulgular**

iNOS antikoru ile yapılan immunohistokimyasal boyamada enfektif hayvanlarda bağırsak kript epitellerinde yoğun iNOS ekspresyonu gözlemlendi (Şekil 5a). Bununla birlikte yine enfekte dokularda yangı hücreleri (Şekil 5b), bağdoku hücreleri (Şekil 5c) ve damar endotellerinden (Şekil 5d) şiddetli iNOS ekspresyonları tespit edildi.

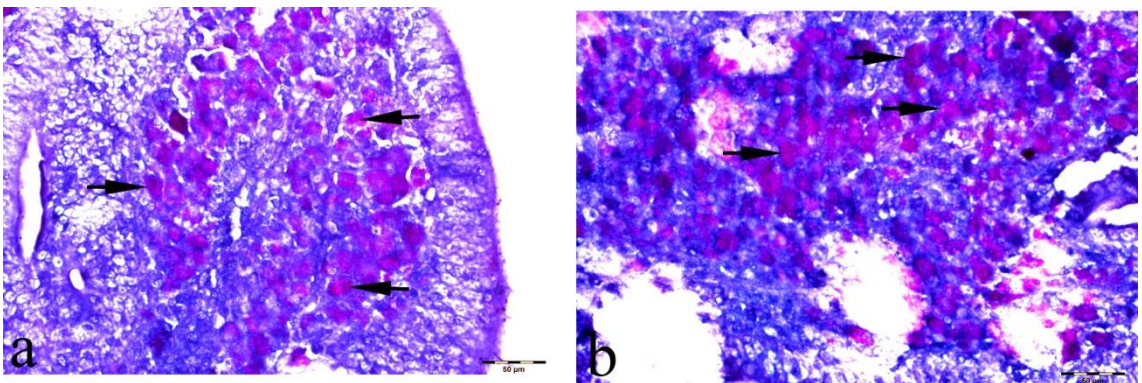


#### Şekil 5

- a)Bağırsak kript epitellerinden iNOS ekspresyonu (oklar)  
 b) Yangısal hücelerden iNOS ekspresyonu (oklar)  
 c) Damar endotelinden (oklar) ve bağ doku hücrelerinden iNOS ekspresyonu  
 d) Damar endotelinden (ok) ve bağ doku hücrelerinden iNOS ekspresyonu (ok başı).

#### 4.6. Ziehl-Nelseen Boyama Bulguları

Ziehl-Nelseen boyama sonuçlarına bakıldığında, makrofajların stoplazmasında ve serbest halde mavi zemin üzerinde parlak kırmızı renkte boyanmış yoğun bakteri kümesi olduğu tespit edildi (Şekil 6).



Şekil 5. a-b) Bağırsağın L.propriusında Ziehl Nelson pozitif bakteriler (oklar).

## 5. TARTIŞMA

Paratüberküloz, Johne hastalığı olarak da bilinir, evcil ve yabani geviş getiren hayvanlarda görülen, kronik ilerleyici granümatöz enterit [Fecteau (60)] ile karakterize, bulaşıcı bir bakteriyel hastalıktır ve bunun sonucunda hayvanların genel durumlarında ciddi bozulma ve ekonomik kayıplar meydana gelir [Garvey (61)]. Hastalık ilk olarak sığırlarda bildirilmiş olsa da, enfeksiyon dünya çapında küçük geviş getiren hayvanlar arasında da tanımlanmıştır [Windsor (62)]. Klinik belirtilerin bol sulu ishal ve ciddi organik bozulmayı içerdiği sığırların aksine, küçük geviş getiren hayvanlardaki enfeksiyonlar daha sinsi olup, ilerleyici kilo kaybı, egzersiz intoleransı ve dışkının yumuşaması [Windsor (62), Mercier, (63)] ile karakterizedir ve bunlar parazit istilalarında da yaygındır [Robbe-Austerman (64)].

Makroskopik lezyonlar esas olarak bağırsakta ve mezenterik lenf düğümlerinde görülür. Bağırsak lezyonları segmental veya yaygın olabilir ve en yaygın olarak ileumda bulunur, ancak bağırsak boyunca ortaya çıkabilir. Mukozanın enine kıvrımlarla kalınlaşması ve katlanması ve dilate ve kalınlaşmış serozal ve mezenterik lenfatik damarlar sık görülür. Mezenterik lenf düğümleri soluk, şiş ve ödemlidir. Keçilerde, hem mukozada hem de lenf düğümlerinde nodüler kazeasyon ve mineralizasyon odakları mevcut olabilir [Olsen et al. (37)]. Sunulan çalışmada Adana bölgesindeki ilçe ve köylerden paratüberküloz şüphesi olan ve ölüm/kesim sonrası nekropsisi yapılarak paratüberküloz teşhisi konan toplam 25 adet keçi bağırsak dokusu araştırıldı. Çalışmada enfektif hayvanlarda klinik olarak şiddetli kaşeksi ve ishal gözlemlendi. Bağırsak dokusunun genelde tamamı etkilense de en şiddetli lezyonlar ileum kısmındaydı. Makroskopik lezyonların başında bağırsak mukozasının kalınlaşması yer aldı. Bağırsak mukozasında şiddetli hiperplazi sonucunda mukozada beyin manzarasını andırılan görüntü dikkati çekti. Mezenteriyel lenf düğümleri ödemli ve aşırı büyümüştü. Lenf düğümlerinin büyüklüğü cevizden elma büyüklüğüne kadar değişmekteydi. Çalışmamız bu yönü ile daha önceki çalışmaların sonuçları ile uyum göstermektedir [Olsen et al. (37)].

Mikobakterium paratüberkülozisin keçilerde neden olduğu histopatolojik lezyonlar arasında tüberküloit formda çok sayıda lenfosit ile çevrili makrofajların fokal agregatları vardır, asit-fast basiller çok azdır veya hiç yoktur. Lezyonlar, çok sayıda

aside dirençli basil içeren yaygın makrofaj infiltrasyonundan oluşur [Corpa et al. (42)]. Subklinik olarak enfekte olan hayvanlarda genellikle fokal tüberküloid lezyonlar bulunurken, klinik semptomları olan hayvanlarda sadece birkaç basil ile borderline tüberküloid form veya çok sayıda basil ile borderline lepromatöz form ortaya çıkabilir [Sigurðardóttir et al. (38)]. Çalışmada histopatolojik olarak bağırsaklarda özellikle de ileumda villus epitellerinde kısmen kütleşme tespit edildi. Bunun yanı sıra lamina propriada çok şiddetli makrofaj infiltrasyonları, lenfosit infiltrasyonları ve plazma hücre infiltrasyonları tespit edildi. Bağırsak kript epitelleri yangından dolayı birbirinden uzaklaşmış görünüyordu. Mezenteriel lenf düğümlerinde lenfosit ve yoğun makrofaj agregatları gözlemlendi. Araştırmanın bu histopatolojik bulguları daha önce sunulan çalışmalarla paralellik göstermektedir [Sigurðardóttir et al. (38)].

Nitrik oksit NO sentaz tarafından L-argininden üretilen bir araçtır [Aktan (65), Liao et al. (66), Von der Weid (67)]. NO sentazın üç izoformu vardır: nNOS, iNOS ve eNOS [Aktan (65), Förstermann and Sessa (68)]. İnce bağırsakta, iNOS epitelyum ve lamina propriadan ekspresse edilir [Gookin (69)]. Bağırsak NO'nin antimikrobiyal bir aktiviteye sahip olduğu veya hasarlı epitelyumun onarılmasında temel bir rol oynadığı bilinmektedir [Bogdan (70), Gookin (69)].

İndüklenebilir NO, lipopolisakkaritler veya sitokinlerle tedavi edilerek çeşitli hücre tiplerinde üretilir. Daha önceki çalışmalar ülseratif kolitin iNOS tarafından üretilen artan NO ile ilişkili olduğunu öne sürmüştür; ancak NO sentezinin hücrel kaynağı tanımlanmamıştır. NO kaynaklı hücrel hasarın olası bir mekanizması, süperoksit ile etkileşime girerek peroksinitrit üretmesidir; bu da hücrel proteinlerde tirozinle reaksiyona girerek nitrotirozin oluşturur [Singer et al. (71)].

Bağırsak yolunun iltihabı çok ciddi bir endişe olmaya devam etmektedir. Ne yazık ki bugüne kadar sepsis veya iltihaplı bağırsak hastalıkları gibi birçok iltihaplı durumun altında yatan mekanizmalar yeterince anlaşılmamıştır. Son on yılda, bağırsak NO'nin rolüne yönelik çok sayıda araştırma yapılmıştır. NO'nin hem yararlı hem de zararlı bir molekül olarak ikili bir rolü olabileceği ortaya çıkmıştır [Kubes and (72)].

Daha önce paratüberküloz hastalığında yapılan iNOS ekspresyonu ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlamadık. Fakat sınırlı da olsa insan ve hayvanlarda çeşitli bağırsak enfeksiyonlarında iNOS ekspresyonunun bağırsak yangısı ile ilişkilendiren araştırmalar bildirilmiştir. Yangısal bağırsak hastalığında kolon epitellerinden iNOS ekspresyonlarına bakılan bir çalışmada, ülseratif kolit, Crohn hastalığı ve divertikülitte iltihaplı kolon epitelinde yoğun iNOS ekspresyonu gözlenirken, iltihaplanmamış epitelde tespit edilemediği ortaya konmuştur. iNOS ayrıca lamina propria mononükleer hücrelerinde ve nötrofillerde tespit edilmişti. Çalışma sonucunda elde edilen bulgular iNOS'un iltihaplı kolon epitelinde indüklendiğini ve peroksinitrit oluşumu ve hücrel proteinlerin nitrasyonu ile ilişkili olduğunu göstermektedir şeklinde yorumlanmıştır [Singer et al. (71)]. Sunulan tezde keçilerde paratüberküloz hastalığında şekillenen bağırsak yangısında iNOS ekspresyonunun kontroller ile kıyasladığında daha yüksek seviyede olduğu tespit edildi. Çalışmamız bağırsak yangısında meydana gelen iNOS ekspresyonu açısından söz konusu çalışmanın sonuçları benzerlik göstermektedir. İnce bağırsakta, iNOS epitelyum ve lamina propriadan ekspresse edilir [Gookin (69)]. Bağırsak NO'in antimikrobiyal bir aktiviteye sahip olduğu veya hasarlı epitelyumun onarılmasında temel bir rol oynadığı bilinmektedir [Bogdan (70), Gookin (69)]. Bu işlevlere ek olarak, NO lenfatik damar düz kasını gevşetir ve iNOS'un aşırı ekspresyonu azalmış lenfatik kasılma ile ilişkilidir [Aktan (65), Liao et al. (66), Von der Weid (67)]. Gerçekten de, iNOS'un inhibisyonu, obez hayvanlarda kronik inflamasyondan kaynaklanan bozulmuş lenfatik toplayıcı damar kasılması nedeniyle lenfatik taşınımın azalmasını iyileştirir [Torrise et al. (73)]. Bu bulgular, iNOS'un aşırı ekspresyonunun aşırı NO üretimine ve lenfatik damarın lenfatik taşınımının azalmasına yol açtığını ve bunun da lenfatik damarı genişletebileceğini göstermektedir. iNOS, bakteriyel lipopolisakkaritler [Aktan (65), Förstermann and Sessa (68)] gibi çeşitli araçlar tarafından geçici olarak indüklenir. İnterlökin-1 $\beta$ , tümör nekroz faktörü- $\alpha$  ve interferon- $\gamma$  gibi çeşitli inflamatuvar sitokinlerin de iNOS ekspresyonunu artırdığı bilinmektedir. Bu sitokin ekspresyonlarının lenfositik plazmositik eneritisli (LPE) köpeklerde dalgalandığı bilinmektedir [German et al. (74), Hawes et al. (75), Jergens et al. (76), Maeda et al. (77), Ohta et al. (78), Peters et al. (79)]. Bu nedenle, intestinal iNOS ekspresyonu LPE'li köpeklerde inflamatuvar sitokinler tarafından indüklenebilir ve bu da lenfangiektazi patogenezinde katkıda bulunabilir. Bu arka plana dayanan bir çalışma,

aşırı NO üretiminin köpeklerde intestinal lenfangiektazi patogenezinde katkıda bulunabileceğini varsayarak yaptığı bir çalışmada, lenfangiektazi-pozitif ve lenfangiektazi-negatif dokular arasında iNOS ekspresyonunda anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu sonuçlara dayanarak, LPE'li köpeklerde intestinal lenfangiektazinin patogenezinde NO aşırı üretimine dair net bir kanıt yoktur. NO dışındaki faktörler, bu nedenle, LPE'li köpeklerde lenfangiektaziye katkıda bulunabilir sonucuna ulaşmışlardır.

Sıçanlarda iNOS ekspresyonunun iskemik enteritisin patogenezindeki rolünün araştırıldığı bir çalışmada. Oluşan iske mi sonrasında ince bağırsakta iNOS ekspresyonunun zamana bağlı bir şekilde yukarıya doğru arttığı ve NO mukozal içeriklerinde artışlar olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar, enterobakterilerin bu iskemik enterit modelinde majör patojenik rol oynadığını ve iNOS/NO'in bu lezyonların patogenezinde zararlı olduğunu düşündürmüştür [Takeuchi et al. (80)]. Yapılan çalışma sonuçları ile ilişkili olarak yaptığımız çalışmada iNOS ekspresyonunun keçilerde paratüberküloz hastalığında şekillenen bağırsak yangısını tetiklediğini veya şiddetlendirdiğini düşünmekteyiz.

Enteritislerin patogenezinde NO ekspresyonunun araştırıldığı çok fazla araştırma bulunmamakla beraber NO ekspresyonu diğer hastalıkların patogenezinde oldukça yaygın bir konudur. Özellikle de evcil hayvanlarda yaygın olarak gözlenen merkezi sinir sistemi hastalıklarında sıklıkla araştırılmaktadır.

Daha önce yapılan bir çalışmada, ruminantlarda gözlenen listeriosis hastalığında beyindeki nNOS ekspresyonunun kontrol dokularına göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir [Karayigit and Dincel (81)]. Yapılan bu çalışmada ruminantlarda çok sık olarak gözlenen listeriosis hastalığının patogenezinde NO'in aktif bir rol oynadığı ve hastalıkta oluşan ensefalitisi şiddetlendirmiş olabileceği kanısına varılmıştır. Başka bir çalışmada, yine ruminantlarda meydana gelen listeriosis hastalığında merkezi sinir sistemindeki eNOS ve iNOS ekspresyonu araştırılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre enfekte beyin dokularındaki eNOS ve iNOS ekspresyonlarının anlamlı derecede arttığı vurgulanmıştır. Ayrıca, iNOS ve eNOS ekspresyonlarının yanında yangısal alanda apoptozun varlığına bakılmış ve listerik ensefalitiste eş zamanlı olarak iNOS ve eNOS ekspresyonlarının ve apoptozun arttığı tespit edilmiştir. Bu durum araştırmacılara listeriosis hastalığında beyinde gerçekleşen apoptozdan NO'in sorumlu olabileceğini

düşündürmüştür [Karayigit (82)]. Daha önce yapılan bir çalışmada toksoplazmozisli farelerde deneysel olarak oluşturulan ensefalitlerde, deney grubu hayvanların beyinlerinde immünohistokimyasal olarak eNOS ve iNOS ekspresyonlarının kontrollere göre daha yüksek olduğu açıklanmıştır [Dincel ve Atmaca (83)]. Hayvanlarda doğal olarak gözlenen ve deneysel olarak oluşturulan ensefalitlerde NO düzeylerindeki artış, hastalıklarla doğrudan ilişkilendirilmiştir ve hastalıklarda oluşan ensefalitlerin başlangıcı ve ilerlemesi gibi patogenez aşamalarında mutlak rol oynadıkları düşünülmektedir. Öte yandan bu çalışmalardan elde edilen yüksek NO ekspresyon düzeylerinin hücrelerde oksidatif stresi tetiklediği ve bunun sonucunda ensefalitlerde oluşan hücre ölümüyle yakından ilişkili olabileceği belirtilmektedir. Paratüberkülozlu keçilerde şekillenen enteritislerde yaptığımız çalışmadan elde edilen bulgular yukarıda bahsedilen hayvanlarda merkezi sinir sistemi hastalıklarından şekillenen NO ekspresyon sonuçları ile paralellik göstermektedir. Çalışmada kullanılan doku ve hayvanlar farklı olsa da yangılı alanda iNOS/NO seviyelerinin artması ve organda şekillenen patolojiyi arttırdığı yönündeki önermeler açısından benzerlik göstermektedir.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak, Adana ve çevresindeki keçiler kullanılarak yapılan bu çalışmada bölgede paratüberküloz varlığının keçilerde çok yaygın olduğu gözlenmiştir. Hastalığın ortaya konmasının ardından hastalıkta şekillenen enteritisin patogenezinde NO'in varlığının patogeneze katkı sunduğu ve özellikle yüksek seviyelerinin enteritisleri şiddetlendirebileceği düşünülmüştür. Bu bağlamda, daha önce başka enteritislerde ve merkezi sinir sistemi hastalıklarında yapılan çalışmalar dikkate alındığında, keçilerde paratüberküloz hastalığının patogenezinde NO ile beraber apoptozis belirteçleri, interlökinler gibi yangıya katkı sağlayabilecek ajanların birlikte çalışıldığı daha geniş çaplı araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## 7. KAYNAKLAR

1. **Stehman SM.** Paratuberculosis in small ruminants, deer, and South American camelids. *Vet Clin in Am – Food A*, **1996**; 12:441–455.
2. **Nielsen SS, Toft N.** A review of prevalences of paratuberculosis in farmed animals in Europe. *Prev Vet Med*, **2009**; 88:1–14.
3. **Chiodini RJ, Van Kruiningen HJ, Merkal RS.** Ruminant paratuberculosis (Johne's disease): the current status and future prospects. *Cornell Vet*, **1984**; 74:218-262.
4. **Frelier PF, Templeton JW, Estes M, Whitford HW, Kienle RD.** Genetic regulation of Mycobacterium paratuberculosis infection in recombinant inbred mice. *Vet Pathol*, **1990**; 27:362-364.
5. **Griffin JFT.** The aetiology of tuberculosis and mycobacterial diseases in farmed deer. *Ir Vet J*, **1988**; 42:23-26.
6. **Hamilton HL, Cooley AJ, Adams JL, Czuprynski CJ.** Mycobacterium paratuberculosis monoassociated nude mice as a paratuberculosis model. *Vet Pathol*, **1991**; 28:146-155.
7. **Hamilton HL, Follett DM, Siegfried LM, Czuprynski CJ.** Intestinal multiplication of Mycobacterium paratuberculosis in athymic nude gnotobiotic mice. *Infect Immun*, **1989**; 57:225-230.
8. **Merkal RS.** Paratuberculosis. In: Kubica GP, and Wayne LG. Eds. *The mycobacteria*, New York: Dekker M; **1973**; 1237-1249.
9. **Mokresh AH, Czuprynski CJ, Butler DG.** A rabbit model for study of Mycobacterium paratuberculosis infection. *Infect Immun*, **1989**; 57:3798-3807.
10. **Mattews P, McDiarmid A.** The production in bovine calves of a disease resembling paratuberculosis with a Mycobacterium sp. isolated from a woodpigeon (*Columba palumbus* L.). *Vet Rec*, **1979**; 104:286.
11. **Thorel MF, Krichevsky M, Levy-Frebault V.** Numerical taxonomy of mycobactin-dependent mycobacteria, emended description of Mycobacterium avium, and description of Mycobacterium avium subsp. avium subsp. nov., Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis subsp. nov., and Mycobacterium avium subsp. silvaticum subsp. nov. *Int J Syst Bacteriol*, **1990**; 40:254-260.
12. **Power CA, Wei G, Bretscher PA.** Mycobacterial dose defines the Th1/Th2 nature of the immune response independently of whether immunization is administered by the intravenous, subcutaneous, or intradermal route. *Infect Immun*, **1998**; 66:5743-5750.
13. **Wells SJ, Wagner BA.** Herd-level risk factors for infection with *Mycobacterium paratuberculosis* in US dairies and association between familiarity of the herd manager with the disease, of prior diagnosis of the disease and use of preventive measures. *J. Am vet med Assoc*, **2000**; 216:1450-1457.
14. **Kennedy DJ, Allworth MB.** Progress in national control and assurance programs for bovine Johne's disease in Australia. in Proc. 6th International Colloquium on paratuberculosis (E.J.B. Manning & M.T. Collins, eds), 14-18 February, Melbourne. *International Association for Paratuberculosis*, Madison, Wisconsin, **1990**; 19-26.

15. **Peng Y.** Isolation of *Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis* and establishment of a mouse infection model. *Chin Inst Vet Drugs Control*, **2018**; 8:59.
16. **Hu XY, Jin YC, Cao XY, Sun WM, Zhu J, Xu K.** Serological survey of bovine paratuberculosis in Songjiang District, Shanghai from 2017 to 2019. *Fujian J. Anim Husband Vet Med*, **2021**; 43:1–2.
17. **He XC.** Characteristics and comprehensive prevention and control strategies of bovine paratuberculosis. *Anim Breed Feed*, 2021; 20:80–81.
18. **Windsor PA, Whittington RJ.** Evidence for age susceptibility of cattle to Johne’s disease. *Vet, J.* **2010**; 184:37–44.
19. **Santema W, Rutten V, Koets A.** Bovine paratuberculosis: Recent advances in vaccine development. *Vet Q*, **2011**; 31:183–191.
20. **Giese SB, Ahrens P.** Detection of *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* in milk from clinically affected cows by PCR and culture. *Vet Microbiol*, **2000**; 77:291–297.
21. **Slana I, Paolicchi FA, Janřstov’a B, Navr’atilov’a P, Pavlik I.** Detection methods for *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* in milk and milk products: a review. *Vet Med*, **2008**; 53:283–306.
22. **Slana I, Liapi M, Moravkova M, Kralova A, Pavlik I.** *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* in cow bulk tank milk in Cyprus detected by culture and quantitative IS900 and F57 real-time PCR. *Prev. Vet. Med.* **2009**; 89:223–226.
23. **Santema W, Rutten V, Koets A.** Bovine paratuberculosis: Recent advances in vaccine development. *Vet Q*, **2011**; 31:183–191.
24. **Stabel JR.** Johne’s disease: a hidden threat. *J. Dairy Sci*, **1998**; 81: 283–288.
25. **Yoo, HS, Shin SJ.** Recent research on bovine paratuberculosis in South Korea. *Vet Immunol*, **2012**; 148:23–28.
26. **Nu EXTKT.** Prevention and treatment of bovine paratuberculosis. *Mod Anim Husband*, **2020**; 6:36–37.
27. **Radostits OM, Gay C, Hinchcliff KW, Constable PD.** Diseases associated with bacteria. In: Rodenhuis J, Ball E. Eds. *Veterinary Medicine: a Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats*, 10th edn. Saunders Elsevier, Philadelphia, Pennsylvania: **2007**; 1017–1044.
28. **McKenna SL, Keefe GP, Tiwari A, VanLeeuwen J, Barkema HW.** Johne’s disease in Canada part II: disease impacts, risk factors, and control programs for dairy producers. *Canadian Vet J*, **2006**; 47:1089–1099.
29. **Hines ME, Stabel JR, Sweeney RW, Grif-fin F, Talaat AM, Bakker D, Benedictus G, Davis WC, de Lisle GW, Gardner IA, Juste RA, Kapur V, Koets A, McNair J, Pruitt G, Whitlock RH.** Experimental challenge models for Johne’s disease: a review and proposed international guidelines. *Vet Microbiol*, **2007a**: 122:197–222.

30. **Begg DJ, Whittington RJ.** Experimental animal infection models for Johne's disease, an infectious enteropathy caused by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *Vet J*, **2008**; 176:129–145.
31. **Stewart DJ, Vaughan JA, Stiles P.L, Noske, P.J, Tizard M, Prowse SJ, Michalski WP, Butler KL, Jones SL.** A long-term bacteriological and immunological study in Holstein–Friesian cattle experimentally infected with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* and necropsy culture results for Holstein–Friesian cattle, merino sheep and angora goats. *Vet Microbiol*, **2007**; 122:83–96.
32. **Chiodini RJ, Van Kruiningen HJ, Merkal RS.** Ruminant paratuberculosis (Johne's disease): the current status and future prospects. *Cornell Vet*, **1984**;74:218–62.
33. **Singh AV, Singh SV, Singh PK, Sohal JS.** Is *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, the cause of Johne's disease in animals, a good candidate for Crohn's disease in man? *Indian J. Gastroenterol*, **2010**;29:53–8.
34. **Stabel JR, Wells SJ, Wagner BA.** Relationships between fecal culture, ELISA, and bulk tank milk test results for Johne's disease in US dairy herds. *J Dairy Sci*, **2002**;85:525–31.
35. **Sigurðardóttir ÓG, Press CM, Evensen Ø.** Uptake of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* through the distal small intestinal mucosa in goats: an ultrastructural study. *Vet Pathol*, **2001**; 38:184–189.
36. **Sigurðardóttir ÓG, Bakke-McKellep AM, Djønn B, Evensen Ø.** *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* enters the small intestinal mucosa of goat kids in areas with and without Peyer's patches as demonstrated with the everted sleeve method. *Comp Immunol Microb*, **2005**; 28:223–230.
37. **Olsen I, Sigurðardóttir ÓG, Djonne B.** Paratuberculosis with special reference to cattle. A review. *Vet Q*, **2002**; 24:12–28.
38. **Sigurðardóttir ÓG, Press CM, Saxegaard F, Evensen Ø.** Bacterial isolation, immunological response, and histopathological lesions during the early subclinical phase of experimental infection of goat kids with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *Vet Pathol*, **1999**; 36:542–550.
39. **Whitlock RH, Buergelt C.** Preclinical and clinical manifestations of paratuberculosis (including pathology). *Vet Clin in Am – Food A*, **1996**; 12:345–356.
40. **Storset AK, Hasvold HJ, Valheim M, Brun-Hansen H, Berntsen G, Whist SK, Djonne B, Press CMcL, Holstad G, Larsen HJ.** Subclinical paratuberculosis in goats following experimental infection. An immunological and microbiological study. *Veterinary Immunol Immunop*, **2001**; 80:271–287.
41. **Manning EJ, Collins MT.** *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: pathogen, pathogenesis and diagnosis. *Rev Sci Tech*, **2001**; 20:133–150.
42. **Corpa JM, Garrido J, García MJF, Pérez V.** Classification of lesions observed in natural cases of paratuberculosis in goats. *J. Comp Pathol*, **2000**; 122:255–265.

43. **Martin W, Villani GM, Jothianandan D.** Furchgott, "Selective blockade of endothelium-dependent and glyceryltrinitrate-induced relaxation by hemoglobin and by methyleneblue in the rabbit aorta. *J Pharmacol Exp Ther*, **1985**; 232:708–716.
44. **Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G.** "Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide, *P Natl Acad of Sci USA*, **1987**; 84: 9265–9269.
45. **Ignarro LJ, Byrns RE, Buga GM, KS. Wood,** "Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary artery and vein possesses pharmacologic and chemical properties identical to those of nitric oxide radical. *Circ Res*, **1987**; 61:866–879.
46. **Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S.** "Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, **1987**; 327: 524–526.
47. **Alderton WK, Cooper C, Knowles RG.** "Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J*, **2001**; 357:593–615.
48. **Cooke JP, Losordo DW.** Nitric oxide and angiogenesis. *Circulation*. **2002**; 105: 2133e2135.
49. **Naseem KM.** The role of nitric oxide in cardiovascular diseases. *Mol Aspects Med*, **2005**; 33e65.
50. **Förstermann U, Closs EI. Pollock JS, Nakane M, Schwarz P, Gath I, Kleinert H.** Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension*, **1994**; 23:1121 –1131.
51. **Holscher C, Rose SP.** An inhibitor of nitric oxide synthesis prevents memory formation in the chick. *Neurosci Lett*, **1992**; 145:165 –167.
52. **Nathan C, Hibbs JB.** Role of nitric oxide synthesis in macrophage antimicrobial activity. *Curr Opin Immunol*, **1991**; 3:65– 70.
53. **Wink DA, Kasprzak KS, Maragos CM, Elespuru RK, Misra M, Dunams TM., Cebula TA, Koch WH, Andrews AW, Allen JS, Keefer JK.** DNA deaminating ability and genotoxicity of nitric oxide and its progenitors. *Science*. **1991**; 254:1001 –1003.
54. **Li LM, Kilbourn RG, Adams J, Fidler IJ.** Role of nitric oxide in lysis of tumor cells by cytokine-activated endothelial cells. *Cancer Res*, **1991**; 51:2531 – 2535.
55. **Kröncke KD, Kolb-Bachofen V, Berschick B, Burkart V, Kolb H.** Activated macrophages kill pancreatic syngeneic islet cells via arginine-dependent nitric oxide generation. *Biochem Biophys Res Commun*, **1991**; 175:752 –758.
56. **Langrehr JM, Hoffman RA, Billiar TR, Lee KK, Schraut WH, Simmons, RL.** Nitric oxide synthesis in the in vivo allograft response: a possible regulatory mechanism. *Surgery*, **1991**; 110:335–342.
57. **Kanwar JR, Kanwar RK, Burrow H, Baratchi S.** Recent advances on the roles of NO in cancer and chronic inflammatory disorders. *Curr Med Chem*, **2009**; 16:2373 –2394.

58. **Lange M, Enkhbaatar P, Nakano Y, Traber DL.** Role of nitric oxide in shock: the large animal perspective. *Frontier Bio*, **2009**; 14:1979–1989.
59. **Van Der Zanden A G, Te Koppele-Vije EM, Vijaya Bhanu N, Van Soolingen D. Schouls LM.** Use of DNA extracts from Ziehl-Neelsen-stained slides for molecular detection of rifampin resistance and spoligotyping of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol*, **2003**; 41:1101–1108.
60. **Fecteau ME.** Paratuberculosis in Cattle. *Vet Clin N Am Food Anim Pract*, **2018**; 34:209–222.
61. **Garvey M.** *Mycobacterium Avium* Paratuberculosis: A Disease Burden on the Dairy Industry. *Animals*, **2020**; 10:1773.
62. **Windsor PA.** Paratuberculosis in Sheep and Goats. *Vet Microbiol*, **2015**; 181:161–169.
63. **Mercier P, Freret S, Laroucau K, Gautier M.P, Brémaud I, Bertin C, Rossignol C, Souriau A, Guilloteau LAA.** Longitudinal Study of the *Mycobacterium Avium* Subspecies Paratuberculosis Infection Status in Young Goats and Their Mothers. *Vet. Microbio.*, **2016**; 195:9–16.
64. **Robbe-Austerman S.** Control of Paratuberculosis in Small Ruminants. *Vet Clin N Am Food Anim Pract*, **2011**; 27:609–620.
65. **Aktan F.** iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. *Life Sci*, **2004**; 75: 639–653.
66. **Liao S, Cheng G, Conner DA, Huang Y, Kucherlapati RS, Munn LL, Ruddle N H, Jain RK, Fukumura D, Padera TP.** Impaired lymphatic contraction associated with immunosuppression. *Proc Natl Acad Sci USA*, **2011**; 108:18784–18789.
67. **Von der Weid PY.** Lymphatic Vessel Pumping. *Ad. Exp Med Biol*. **2019**; 1124: 357–377.
68. **Förstermann U, Sessa WC.** Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J*, **2012**; 33:829–837.
69. **Gookin JL, Rhoads JM, Argenzio RA.** Inducible nitric oxide synthase mediates early epithelial repair of porcine ileum. *Am J Physio.*, **2002**; 283: 157–168.
70. **Bogdan C.** Nitric oxide and the immune response. *Nat Immunol*, **2001**; 2: 907–916.
71. **Singer DW, Kawka S, Scott JR, Weidner RA, Mumford TE, Riehl WF.** Expression of inducible nitric oxide synthase and nitrotyrosine in colonic epithelium in inflammatory bowel disease *Gastroenterology*, **1996**; 871-885.
72. **P Kubes DM.** McCafferty Nitric oxide and intestinal inflammation. *Am J Med*, **2000**; 109:150-8.

73. **Torrise JS, Hespe GE, Cuzzone DA, Savetsky IL, Nitti MD, Gardenier JC, García Nores GD, Jowhar D, Kataru RP, Mehrara BJ.** Inhibition of Inflammation and iNOS Improves Lymphatic Function in Obesity. *Sci*, **2016**; 6:19817.
74. **German AJ, Helps CR, Hall EJ, Day MJ.** Cytokine mRNA expression in mucosal biopsies from German shepherd dogs with small intestinal enteropathies. *Dig Dis Sci*, **2000**; 45: 7–17.
75. **Hawes M, Riddle A, Kirk J, Jergens, A, Allenspach K.** Interleukin-1 $\beta$  expression is increased in the duodenum of dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Vet, Rec*, **2018**; 183: 536.
76. **Jergens AE, Sonea IM, O'Connor AM, Kauffman LK, Grozdanic SD, Ackermann MR, Evans RB.** Intestinal cytokine mRNA expression in canine inflammatory bowel disease: a meta-analysis with critical appraisal. *Comp Med* **2009**; 59:153–162.
77. **Maeda S, Ohno K, Nakamura K, Uchida K, Nakashima K, Fukushima K, Tsukamoto A, Goto-Koshino Y, Fujino Y, Tsujimoto H.** Mucosal imbalance of interleukin-1 $\beta$  and interleukin-1 receptor antagonist in canine inflammatory bowel disease. *Vet J*, **2012**; 194:66–70.
78. **Ohta H, Takada K, Sunden Y, Tamura Y, Osuga T, Lim SY, Murakami M, Sasaki N, Wickramasekara Rajapakshage BK., Nakamura K, Yamasaki M, Takiguchi M.** CD4+ T cell cytokine gene and protein expression in duodenal mucosa of dogs with inflammatory bowel disease. *J. Vet Med Sci*, **2014**; 76:409–414.
79. **Peters IR, Helps CR, Calvert E., Hall EJ, Day MJ.** Cytokine mRNA quantification in duodenal mucosa from dogs with chronic enteropathies by real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction. *J. Vet Intern Med*, **2005**; 19:644–653.
80. **Takeuchi K, Komatsu Y, Nakamori Y, Kotani T.** A Rat Model of Ischemic Enteritis: Pathogenic Importance of Enterobacteria, iNOS/NO, and COX-2/PGE2. *Curr Pharm Des*, **2017**; 23:4048-4056.
81. **Karayigit MO, Dincel GC.** Role of ADAMTS-13 and nNOS expression in neuropathogenesis of Listerial encephalitis of small ruminants. *Biotech Histochem*, **2020**; 95:584–596.
82. **Karayigit MÖ.** Nitric oxide synthase expression in naturally infected sheep brain with *Listeria monocytogenes* and relationship with cell death. *Acta Sci Vet*, **2018**; 46:1–7.
83. **Dincel GC, Atmaca HT.** Nitric oxide production increases during *Toxoplasma gondii* encephalitis in mice. *Exp Parasitol*, **2015**;156:104-12.

## ÖZGEÇMİŞ

İlk  
okul  
kay  
Ga  
çal  
Mü  
Tar  
ayı  
11.  
202  
An

tanınmamıştı. Evli ve bir kız çocuk babası olan Gökhan KARATAKA halen Teke Tarım ve Orman Müdürlüğü'nde Veteriner Hekim olarak görev yapmaktadır.