



**T.C.**  
**BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
TR, Balıkesir University, Institute of Health Sciences



***B. melitensis* İLE ENFEKTE FÖTAL KOYUN  
AKCİĞERLERİNDE SURFACTAN PROTEİN A VE  
IL-1'İN İMMUNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLE  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**SEVGİ DEMİRBAŞ**

**Veterinerlik Patolojisi Anabilim Dalı**  
Bilim Alan Kodu: 10102.16



**BALIKESİR**

**2023**

**T.C.**  
**BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***B. melitensis* İLE ENFEKTE FÖTAL KOYUN**  
**AKCİĞERLERİNDE SURFACTAN PROTEİN A VE IL-1'İN**  
**İMMUNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLE**  
**DEĞERLENDİRİLMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**SEVGİ DEMİRBAŞ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**PROF.DR. FATMA İLHAN**

**Veterinerlik Patolojisi Anabilim Dalı**

**Bilim Alan Kodu:10102.16**

**Proje no:2022/047**

**BALIKESİR**

**2023**



T.C.  
**BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**TEZ KABUL VE ONAY**

Veterinerlik Patolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı  
çerçevesinde **Sevgi DEMİRBAŞ** tarafından yürütülmüş ve tamamlanmış olan

**“B. melitensis ile Enfekte Fötal Koyun Akciğerlerinde Surfactan Protein A ve  
IL-1’in İmmunohistokimyasal Yöntemle Değerlendirilmesi”**

başlıklı tez çalışması,  
Balıkesir Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin  
ilgili maddeleri uyarınca aşağıdaki jüri tarafından

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
olarak kabul edilmiştir.

**Tez Savunma Tarihi:** 16 /01/2023

**TEZ SINAV JÜRİSİ**

Prof. Dr. Musa KARAMAN  
Balıkesir Üniversitesi  
(Başkan)

Prof. Dr. Fatma İLHAN  
Balıkesir Üniversitesi  
Üye (Danışman)

Prof. Dr.Mehmet TUZCU  
Selçuk Üniversitesi  
Üye

Yukarıdaki Yüksek Lisans Tezi,  
sınav jüri üyeleri tarafından imzalanarak 06/02/2023 tarihinde teslim edilmiştir.

Prof. Dr. Osman İrfan İLHAK  
Enstitü Müdürü

## BEYAN

Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dökümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıpları kabullendiğimi **beyan ederim.**

16/01/2023

İMZA

Sevgi DEMİRBAŞ

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim süresi boyunca hem eğitimimde hemde tez aşamasında büyük emeği geçen, değerli bilgilerini ve kıymetli vaktini benden esirgemeyen başta çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Fatma İLHAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Her zaman deneyimlerinden yararlandığım, eğitimim süresince yetişmemde çok büyük katkısı olan Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri kıymetli hocalarım sayın Prof. Dr.Hasan ÖZEN ve Prof. Dr. Musa KARAMAN'a, çalışmamın bir bölümünü laboratuvarında yürüttüğüm Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ziya İLHAN'a, eğitimimde ve tez aşamasında devamlı yardımını ve desteğini hep hissettiğim Patoloji Anabilim Dalı Arş. Gör. Mustafa USTA'ya, beni bu günlere getiren, haklarını asla ödeyemeyeceğim, hayatımın her döneminde bana güç ve destek veren sevgili annem Nursel DEMİRBAŞ ile babam Bilal DEMİRBAŞ ve tükenmeyen sınırsız pozitif enerjisi ile yanımda olan kardeşim Sude DEMİRBAŞ'a içten teşekkürlerimi sunuyorum.

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No

|                                                                    |            |
|--------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>İÇİNDEKİLER.....</b>                                            | <b>i</b>   |
| <b>ÖZET.....</b>                                                   | <b>iii</b> |
| <b>ABSTRACT.....</b>                                               | <b>iv</b>  |
| <b>SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....</b>                            | <b>v</b>   |
| <b>ŞEKİLLER DİZİNİ.....</b>                                        | <b>vi</b>  |
| <b>TABLolar DİZİNİ.....</b>                                        | <b>ix</b>  |
| <br>                                                               |            |
| <b>1. GİRİŞ.....</b>                                               | <b>1</b>   |
| <b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>                                      | <b>4</b>   |
| 2.1. İntrauterin Enfeksiyonlar .....                               | 4          |
| 2.1.1. Bruselloz.....                                              | 4          |
| 2.1.2. Patogenez.....                                              | 6          |
| 2.1.3. <i>Brusella Melitensis</i> .....                            | 8          |
| 2.2. Sitokinler ve İntrauterin Enfeksiyonlardaki Rolü.....         | 10         |
| 2.3. Sürfaktan Proteinler.....                                     | 12         |
| 2.4. İntrauterin Enfeksiyonların Erken Doğum Üzerine Etkileri..... | 13         |
| 2.5. İntrauterin Enfeksiyonların Fetüs Üzerinde Etkileri.....      | 15         |
| 2.5.1. Pulmoner Sistem Üzerine Etkileri .....                      | 16         |
| <b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>                                     | <b>19</b>  |
| 3.1. Örneklerin Toplanması.....                                    | 19         |
| 3.2. Patolojik İnceleme.....                                       | 19         |
| 3.2.1. Doku Kesitlerinin Hazırlanması.....                         | 19         |
| 3.2.2. İmmunohistokimyasal İnceleme.....                           | 20         |
| <b>4. BULGULAR.....</b>                                            | <b>22</b>  |
| 4.1. Makroskobik Bulgular.....                                     | 22         |
| 4.2. Histopatolojik Bulgular.....                                  | 23         |
| 4.3. İmmunohistokimyasal Bulgular.....                             | 32         |
| <b>5. TARTIŞMA.....</b>                                            | <b>44</b>  |
| <b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>                                   | <b>51</b>  |
| <b>KAYNAKLAR.....</b>                                              | <b>52</b>  |

|                                          |           |
|------------------------------------------|-----------|
| <b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>                     | <b>62</b> |
| <b>EKLER.....</b>                        | <b>63</b> |
| <b>EK-1. Etik Kurulu Onay Formu.....</b> | <b>63</b> |



## ÖZET

### ***B. melitensis* İLE ENFEKTE FÖTAL KOYUN AKCİĞERLERİNDE SURFACTAN PROTEİN A VE IL-1'İN İMMUNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Maternal intrauterin enfeksiyonların, fetüste sistemik bir yangının oluşmasına ve sitokinlerin artmasına sebep olarak akciğer, beyin gibi organları etkileyebildiği, özellikle akciğer hasarı ve bronkopulmoner displazi (BPD) gelişiminde önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir. Bu çalışmada *Brucella melitensis* ile doğal enfekte intrauterin enfeksiyon modelinde, proinflamatuvar sitokin IL-1 $\beta$ , antiinflamatuvar sitokin IL-10 ve SP-A, akciğer hasarına etkilerini belirlemek amacıyla 30 adet fetüste immunohistokimyasal yöntemle boyanarak, değerlendirildi.

Bakteriyolojik ve/veya immunohistokimyasal incelemede *B. melitensis* pozitif olan 30 adet fetüsten alınan dokular histopatolojik olarak değerlendirildi. Histopatolojik incelemede çok etkilenen doku olan akciğerlerde 12 fetüste (%40) bronkopnömoni gözlenirken, 18 (%60) olguda ise interalveoler ve interlobüler septumda genişleme tespit edildi. İmmunohistokimyasal incelemede *B. melitensis* antijeni akciğerlerde alveoler makrofajların sitoplazmasında yoğun olarak boyandı. IL-1 tüm fetal akciğerlerde (%100) alveoler makrofajlar, endotel hücreleri ve bronş-bronşiol epitellerinde değişen şiddette immun pozitif. IL-10, üç (%10) olguda fetal akciğer dokusunda, alveoler makrofajlarda ve bronş, bronşiol epitelleri az miktarda boyandığı tespit edildi. SP-A, immun pozitif 5 (%16) olguda fetal akciğerlerin tip II pnömositleri ile alveolar makrofajların sitoplazmalarında tespit edildi.

Sağlıklı kontrol fetüs akciğerleri ile karşılaştırıldığında, hasar oluşan enfekte akciğer dokularında IL-1 immun pozitifliği yüksek iken, IL-10 ekspresyonunun ise anlamlı şekilde düşük olduğu tespit edildi. İntrauterin enfeksiyonlarda akciğer hasarının, proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokin dengesinin, proinflamatuvar sitokin IL-1 miktarındaki aşırı artışına bağlı olarak bozulmasıyla şekillendiği, SP-A'nın ise sadece 5 olguda pozitif reaksiyon vermesinin gebelik yaşının erken evrede olduğu bu nedenle fetüslerin akciğerlerinin henüz gelişimini tamamlayamamasından kaynaklandığı sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** *Brucella melitensis*, BPD, intrauterin enfeksiyon, sitokin

## ABSTRACT

### IMMUNOHISTOCHEMICAL EVALUATION OF SURFACTANT PROTEINS A AND IL-1 IN THE LUNGS OF SHEEP INFECTED WITH *B.melitensis*

It has been reported that maternal intrauterine infections can affect organs such as lungs and brain by causing a systemic inflammation and increase in cytokines in the fetus, and play an important role in the development of lung damage and bronchopulmonary dysplasia (BPD). In this study, the effects of proinflammatory cytokines IL-1 $\beta$  and antiinflammatory cytokines IL-10 and SP-A on lung damage in fetuses were evaluated by immunohistochemical staining in 30 sheep aborted fetus lungs in a naturally infected intrauterine infection model with *B. melitensis*.

It was determined that the most affected tissue in sheep fetus histopathologically was lung. Bronchopneumonia was observed in 12 fetuses (40%) in the lung. An increase in the interalveolar and interlobular area was detected in 18 (60%) cases. In the immunohistochemical examination, *Brucella melitensis* antigen was intensely stained in the lungs, especially in the cytoplasm of alveolar macrophages. IL-1 was immunopositive with varying severity in alveolar macrophages, endothelial cells and bronchial-bronchiol epithelial cells in all fetal lungs (100%). The anti-inflammatory cytokine IL-10 was only slightly stained in the fetal lung tissue, alveolar macrophages, and bronchial and bronchiole epithelial lumen in three (10%) cases. SP-A positive immunoreactivity was detected in type II pneumocytes of fetal lungs and alveolar lumens in 5 (16%) cases.

It was determined that the proinflammatory cytokine IL-1 gave intense immunoreactivity in the damaged infected lung tissues, while the expression of the anti-inflammatory cytokine IL-10 was found to be significantly lower when compared to the healthy control fetus lungs. It was thought that lung damage in intrauterine infections was caused by the increase in the balance of cytokines, the amount of proinflammatory cytokine IL-1, and the positive reaction of SP-A in only 5 cases was due to the early gestational age, therefore the lungs of the fetuses have not yet completed their development and type II pneumocytes have not developed.

**Keywords:** *Brucella melitensis*, BPD, intrauterine infection, cytokine

## SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

|            |                                       |
|------------|---------------------------------------|
| BALF       | : Bronkoalveoller Lavaj Sıvısı        |
| BPD        | : Bronkopulmoner Displazi             |
| RDS        | : Respiratuar Distres Sendrom         |
| COX-2      | : Siklooksijenaz tip 2 enzimi         |
| CP         | : Serabral Palsi                      |
| CRH        | : Kortikotropin Hormonu               |
| FIRS       | : Fetal Inflammatory Response Sydrome |
| HE         | : Hematoksilen ve Eozin               |
| IFN        | : İnterferon                          |
| IHC        | : Immunohistokimya                    |
| IL         | : İnterlökin                          |
| LPS        | : Lipopolisakkarit                    |
| PROM       | : Erken Membran R pturu               |
| TAS        | : Trakeal Aspirasyon Sıvısı           |
| TLR        | : Toll-like Reseptör                  |
| TNF        | : Tum r Nekroz Faktörü                |
| SP-A,B,C,D | : Sürfaktan Protein A,B,C,D           |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                                                                         | <u>Sayfa No</u> |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| Şekil 2.1. <i>Brusella</i> Türleri.....                                                                                                                                                 | 5               |
| Şekil 2.2. <i>B. melitensis</i> Bulaşma ve Saçılması.....                                                                                                                               | 9               |
| Şekil 2.3. FIRS'ın Etkilediği Organlar.....                                                                                                                                             | 16              |
| Şekil 4.1. <i>B. melitensis</i> Pozitif Bronkopnömonili Fetal Akciğerler.....                                                                                                           | 22              |
| Şekil 4.2. Aborte Fetüs Akciğeri, Bronşiol Lümenlerinde (Ok) ve Alveollar Boşlukta (Yıldız) Makrofaj ile Nötrofil Lökositlerden Zengin Eksudat ile Hiperemi (Ok Başı), HE.....          | 24              |
| Şekil 4.3. Aborte Fetüs Akciğeri, Bronşiol Lümeninde (Ok) ve Alveol Boşluklarında (Yıldız) Nötrofil Lökositler ile Makrofajlardan Zengin Eksudat, Hiperemi (Ok Başı) ve Kanama, HE..... | 24              |
| Şekil 4.4. Aborte Fetüs Akciğeri, Alveol Boşluklarda (Yıldız) ve Bronşiol Lümeninde (Ok) Nötrofil Lökositler ve Makrofajlardan Zengin Eksudat, Hiperemi (Ok Başı), HE.....              | 25              |
| Şekil 4.5. Aborte Fetüs Akciğerinde İnterlobular Septumda Genişleme (Çift Başlı Ok) ve Alveol Boşluklarda (Yıldız) Yangısal Hücre Eksudasyonu, HE...25                                  |                 |
| Şekil 4.6. Aborte Fetüs Akciğeri, İnteralveoler Septumda Kalınlaşma (Ok Başı) ve Ödem (Ok), Hiperemi (Yıldız), HE.....                                                                  | 26              |
| Şekil 4.7. Aborte Fetüs Akciğeri, İnterlobuler Septumlarda Genişleme (Çift Başlı Ok), İnteralveoler Kapillar Damarlarda Hiperemi (Ok Başı) ve Kanama (Yıldız), HE.....                  | 26              |
| Şekil 4.8. Aborte Fetüs Akciğeri, Alveoller Septumda Kalınlaşma (Çift Başlı Ok), Hiperemi(Ok), HE.....                                                                                  | 27              |
| Şekil 4.9. Aborte Fetüs Akciğeri, Alveol Boşlukta Ödem (Ok), İnteralveollar Septumda Kalınlaşma (Çift Başlı Ok), Hiperemi (Ok Başı), Plöritis (Yıldız), HE.....                         | 27              |
| Şekil 4.10. Aborte Fetüs Karaciğer, Portal Alanda Mononükleer Hücre İnfltrasyonu (Yıldız), Remark Kordon Dizilişinde Bozulma, Sinuzoidlerde Genişleme, HE.....                          | 28              |
| Şekil 4.11. Aborte Fetüs Karaciğer, Hepatositlerde Dejenerasyon ve Nekroz, HE...28                                                                                                      |                 |
| Şekil 4.12. Aborte Fetüs Böbreklerde Tubul Epitellerinde Dejenerasyon (Yıldız) ve                                                                                                       |                 |

|                                                                                                                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Hiperemi (Ok), HE.....                                                                                                                                                     | 29 |
| <b>Şekil 4.13.</b> Aborte Fetüs Dalak, Perisplenitis (Yıldız), HE.....                                                                                                     | 29 |
| <b>Şekil 4.14.</b> Aborte Fetüs Dalakta Vaskulitis (Yıldız) ve Lenfoid Foliküllerde Boşalma (Ok), HE.....                                                                  | 30 |
| <b>Şekil 4.15.</b> Aborte Fetüs Lenfoid Foliküllerde Kortikal Bölgede Boşalma, Makrofaj İnfiltrasyonu, HE.....                                                             | 30 |
| <b>Şekil 4.16.</b> Sağlıklı Fetüs Akciğer Alveoller Gelişimi, HE.....                                                                                                      | 31 |
| <b>Şekil 4.17.</b> Aborte Fetüs Akciğer Dokusunda, Alveol ve Bronşiol Lümeninde Makrofajların Sitoplazmasında (Ok) <i>B. melitensis</i> İmmun Pozitif Boyanma, IHC.....    | 34 |
| <b>Şekil 4.18.</b> Aborte Fetüs Akciğer Dokusu, Bronkopnömonili Akciğerde Alveoler Makrofaj Sitoplazmalarında (Ok) <i>B. melitensis</i> İmmun Pozitif Boyanma, IHC.....    | 34 |
| <b>Şekil 4.19.</b> Aborte Fetüs Akciğer Dokusu, Alveol Boşluklarda Hücre Kalıntıları (Ok Başı) ile Makrofajlarda (Ok) <i>B. melitensis</i> İmmun Pozitif Boyanma, IHC..... | 35 |
| <b>Şekil 4.20.</b> Aborte Fetüs Akciğer Dokusu, Alveoler Makrofajlarda (Ok) <i>B. melitensis</i> İmmun Pozitif Boyanma, IHC.....                                           | 35 |
| <b>Şekil 4.21.</b> Aborte Fetüs Akciğer Dokusu, Alveolar Tip II Epitel Hücrelerinde (Ok) SP-A İmmun Pozitif Boyanma, IHC.....                                              | 36 |
| <b>Şekil 4.22.</b> Aborte Fetüs Akciğer Dokusu, Alveolde (Ok) SP-A İmmun Pozitif Boyanma, IHC.....                                                                         | 36 |
| <b>Şekil 4.23.</b> Aborte Fetüs Akciğer, Alveol Epitel Hücrelerinde (Ok) Sp-A İmmun Pozitif Boyanma, IHC.....                                                              | 37 |
| <b>Şekil 4.24.</b> Aborte Fetüs Akciğer, Alveollar Makrofaj Sitoplazmada (Ok) SP-A İmmun Boyanma, IHC.....                                                                 | 37 |
| <b>Şekil 4.25.</b> Aborte Fetüs Akciğer, İnterlobüler Alanda ve Alveollerde Nötrofil Lökositler ile Makrofajlarda IL-1 İmmun Pozitif Boyanma, IHC.....                     | 38 |
| <b>Şekil 4.26.</b> Aborte Fetüs Akciğer, Alveol Lümenlerindeki Makrofaj Sitoplazmalarında (Ok) IL-1 İmmun Pozitif Boyanma, IHC.....                                        | 38 |
| <b>Şekil 4.27.</b> Bronkopnömoni Şekillenmemiş, Sadece Septumların Kalınlaştığı Fetal Akciğerlerde, Alveoler Makrofajlarda (Ok) IL-1 İmmun Pozitif Boyanma, IHC.....       | 39 |
| <b>Şekil 4.28.</b> Bronkopnömonili Fetal Akciğerlerde Alveol Makrofajlarda IL-1 İmmun                                                                                      |    |

|                                                                                                                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Pozitif Boyanma, IHC.....                                                                                                                                                                     | 39 |
| <b>Şekil 4.29.</b> Aborte Fetüs Akciğer, Alveollar Makrofajların Sitoplazmalarında (Ok)<br>IL-1 İmmun Pozitif Boyanma, IHC.....                                                               | 40 |
| <b>Şekil 4.30.</b> Aborte Fetüs Akciğer, Bronşiol Epitel Hücrelerinde IL-1 İmmun Pozitif<br>Boyanma, IHC.....                                                                                 | 40 |
| <b>Şekil 4.31.</b> Aborte Fetüs Akciğer, Alveollar Septumda İnterstisyel Makrofajların<br>Sitoplazmasında (Ok Başı) ve Endotel Hücrelerinde (Ok) IL-1 İmmun<br>Pozitif Boyanma, IHC.....      | 41 |
| <b>Şekil 4.32.</b> Aborte Fetüs Akciğer, İnteralveoler ve İnterlobuler Septumlardaki<br>Makrofaj (Ok) ve Damar Endotel Hücrelerinin Sitoplazmalarında IL-1<br>İmmun Pozitif Boyanma, IHC..... | 41 |
| <b>Şekil 4.33.</b> Aborte Fetüs Akciğer, Bronşiol Epitel Hücrelerinde (Ok) ve Makrofaj<br>Hücrelerde (Ok Başları) IL-10 İmmun Pozitif Boyanma, IHC.....                                       | 42 |
| <b>Şekil 4.34.</b> Aborte Fetüs Akciğer, Makrofaj Sitoplazmaları (Ok) ile Bronşiol Epitel<br>(Ok Başı) Hücrelerinde İmmun Pozitif IL-10 Boyanma, IHC.....                                     | 42 |
| <b>Şekil 4.35.</b> Aborte Fetüs Akciğer, Bronş Epitel Hücrelerinde (Ok) IL-10 İmmun<br>Pozitif Boyanma, IHC.....                                                                              | 43 |
| <b>Şekil 4.36.</b> Fetal Akciğer, Az Sayıda Alveoller Makrofaj Sitoplazmalarında IL-10<br>İmmun Pozitif Boyanma, IHC.....                                                                     | 43 |

## TABLÖLAR DİZİNİ

|                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 3.1.</b> İmmunohistokimyasal İncelemede Kullanılan Primer Antikorların Özellikleri..... | 20 |
| <b>Tablo 3.2.</b> İmmunohistokimya Sonucu Değerlendirme Kriteri Pozitiflik Derecesi...           | 21 |
| <b>Tablo 4.1.</b> İmmunohistokimyasal Bulgular.....                                              | 33 |



## 1.GİRİŞ

İntrauterin enfeksiyonlar ve aşırı inflamatuvar maternal/fetal sitokin yanıt insan ve hayvanlarda önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir (Areia ve Mota-Pinto, 2022; Jung ve ark., 2020; Malaeb ve Dammann, 2009). İntrauterin enfeksiyonun neden olduğu koriyoamniyonit zamanla sistemik bir inflamatuvar yanıtı sebep olarak, proinflamatuvar sitokin salgılanmasına, erken dönemde fetüsün kaybına, organ gelişiminde anomalilere ve erken doğumlara; uzun dönemde ise başta beyin ve akciğer olmak üzere farklı organlarda hasara sebep olabilmektedir (Gantert ve ark., 2010; Hallman, 2001; Tita ve Andrews, 2010). Organlarda oluşan hasar ile ilgili olarak bronkopulmoner displazi (BPD), periventriküler lökomalasi, serabral palsi (CP), interventriküler kanama, prematüre retinopati, tiroid hormon eksikliği gibi ciddi problemler oluşabilmektedir (Thomas ve Speer, 2011; Tita ve Andrews, 2010; Srinivasan ve ark., 2017).

Koyun yetiştiriciliği ülkemiz hayvancılığında önemli bir yer tutmaktadır. İntrauterin enfeksiyonlara bağlı erken doğum ve yavru atmalar tüm dünyada ve ülkemizde önemli ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (Bayu, 2018; Diaz, 2013). Erken doğum ve yavru atmaların enfeksiyöz sebepleri arasında bakteriyel, viral, mikotik ve paraziter etkenler bulunmaktadır (Schlafer ve Foster, 2016). Brusellozis, *Brucella* cinsindeki bakterilerin evcil ve vahşi hayvanlarda özellikle uterus, meme, testis gibi genital organlara yerleşerek, yavru atmalara ya da infertiliteye neden olduğu kronik, bulaşıcı bir hastalıktır (Bayu, 2018; Schlafer ve Foster, 2016). *B. melitensis*, abort fetüslerin başta akciğer olmak üzere çeşitli doku ve organlarına affinite göstermektedir (Schlafer ve Foster, 2016; Sözmen ve ark., 2010). İntrauterin enfeksiyonlarda oluşan koriyoamniyonit nedeniyle maternal ve fetal hücrelerden IL-1 ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinler salınmaktadır (Goldenberg ve ark., 2000; Zhan ve ark., 2011). Uzun süre bu proinflamatuvar sitokinlere maruz kalan fetüslerde kronik akciğer hastalığı riski artmaktadır (Pan ve ark., 2018). Bakteri ve Lipopolisakkarit (LPS), endotoksin gibi bakteri ürünleri ile uyarılan makrofaj ve endometriumdaki stromal hücrelerinden salınan maternal proinflamatuvar sitokinlerin

etkinliği arttıkça damarlarda permeabilite artmakta, nötrofil lökositler intrestisyel alana ve alveollere göç etmektedir. Nötrofil lökositlerin etkisiyle aktive olan ve miktarı artan reaktif oksijen molekülleri, kollajenaz, metaloproteinazlar ve elastaz, akciğer hasarına neden olurken (Areia ve Mota-Pinto, 2022; Jackson ve ark., 2020), prostaglandin salınımının uyarılmasıyla hem erken doğum hemde abort tetiklenmektedir (Areia ve Mota-Pinto, 2022; Goldenberg ve ark., 2000). Fetal proinflamatuvar sitokinler akciğerde makrofajlar, solunum yolları epitel hücreleri, fibroblast, tip II pnömosit ve endotel hücrelerinden sentezlenmektedir (Speer, 2001). Surfactan (Sürfaktan) proteinler (SP) akciğerde savunmada görev almaktadır. Sürfaktan madde salınımı IL-1 artışına bağlı olarak artmaktadır (Bry ve ark., 1997). İntrauterin enfeksiyonlarda amniyon sıvısında artan IL-1 sürfaktan protein sentezini arttırarak, prematüre erken doğumlarda respiratuar distres sendromu (RDS) riskini azaltmaktadır. Ancak intrauterin enfeksiyonlar emrilyonal gelişimin erken (özellikle kanaliküler ve sakküler evrelerinde) aşamalarında şekillenirse tip II pnömositlerin farklılaşmasını engelleyerek SP-A'nın ekspresyonunun düşük düzeylerde olmasına neden olmaktadır (Zhan ve ark., 2011). IL-1'in, intrauterin enfeksiyonlarla ilgili erken doğumlarda, koriyoamniyonit ve trakeal aspirasyonda varlığı özellikle akciğer hasarı ve BPD gelişiminde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (McGowan ve ark., 2009; Zhan ve ark., 2011). IL-10, proinflamatuvar sitokinlerin olumsuz etkilerine karşı koyabilen güçlü antiinflamatuvar sitokindir. Uterus ve plasentada yüksek oranda eksprese edilir ve enfeksiyonun neden olduğu gebelik patolojilerinin kontrolünde önemli rol oynar (Gonzalez ve ark., 2021; Robertson ve ark., 2006).

Hayvanlarda intrauterin enfeksiyonların fetal akciğer gelişimi üzerindeki etki mekanizmaları ile ilgili çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Farklı hayvan modellerinde intrauterin enfeksiyonlara karşı fetal akciğerde oluşan tepki fetüsün yaşına, etkene, maruz kalma şekline veya fetüsün genetik yatkınlığına göre değişebilmektedir. Fare ve sıçanlarda fetal akciğer gelişim aşamalarından alveol evresi doğumdan sonraki süreçte başlarken, koyun ve insanda alveoler gelişimin doğumdan önce başlaması nedeniyle intrauterin enfeksiyonların fetal akciğer üzerine etkilerinin çalışılması açısından koyun tercih edilmektedir (Kemp ve ark., 2013; Zhan ve ark., 2011). Bu çalışmada *B. melitensis*'in sebep olduğu intrauterin enfeksiyonda akciğer hasarı gelişimi ile ilişkili olduğu için koyun fetüs

akciğerlerinde proinflamatuvar sitokin IL-1, antiinflamatuvar sitokin IL-10 ve SP-A ekspresyonunun immunohistokimyasal olarak araştırılması amaçlanmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. İntrauterin Enfeksiyonlar

Gebeliğin emrionik veya fetal döneminde bakteriyel, viral, mikotik ve paraziter etkenler ile meydana gelen intrauterin enfeksiyonlar sebebiyle abort, erken doğumlar meydana gelmektedir (Arad ve Ergaz, 2004; Redline, 2004). İntrauterin enfeksiyonlar sebep olduğu koriyoamniyonitten dolayı erken doğum ve abortun önemli nedenidir. İntrauterin enfeksiyonlar; hematojen, asenden, desenden veya iatrojenik yollar ile uterusun, fetal membranlar ile fetüsün kontaminasyonu sonucu endometritis ve koriyoamniyonite sebep olur (Arad ve Ergaz, 2004). Kronik ve asemptomatik olarak seyreden kariyoamniyonit; fetal dolaşımında proinflatuar sitokin seviyesini artırarak sistemik fetal inflamatuvar yanıt oluşturmaktadır (Gantert ve ark., 2010; Malaeb ve Dammann, 2009).

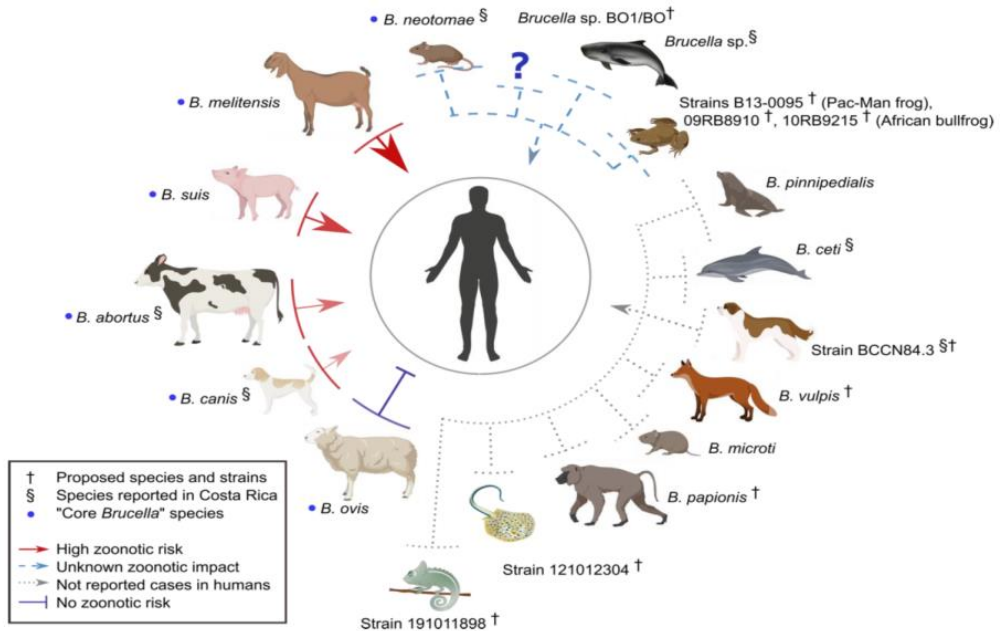
Ruminantlarda abortusların en önemli sebepleri arasında çeşitli bakteri, virus ve mantar türlerinin sebep olduğu intrauterin enfeksiyonlar bulunmaktadır. Koyunlarda yaygın olarak abortusa neden olan bakteriler arasında *Brucella* spp., *Chlamydia* spp., *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Coxiella* spp. ve *Listeria* spp. yer almaktadır (Çakır ve Yıldırım, 2018; Ay ve ark., 2017).

#### 2.1.1 Bruselloz

Bruselloz, pekçok hayvan türünü ve insanları etkileyen *Brucella* cinsine ait mikroorganizmalar tarafından oluşturulan dünyada en yaygın görülen bakteriyel zoonoz bir hastalıktır (CFSPH, 2018; Mazlan ve ark., 2021). Bruselloz hayvanlarda abort, infertilite, süt veriminde azalmaya neden olurken, insanlarda çeşitli organlara yayılımı sonucu iştahsızlık, zayıflama ve ateş gibi spesifik olmayan bulgularla karakterizedir (Bayu, 2018; CFSPH, 2018). *Brusella* etkenleri, gram negatif, aerobik, sporsuz, kokobasil görünümde, fakültatif intrasellüler patojenlerdir (Glowacka ve

ark., 2018). *Brusella* etkenlerinin tercih ettiği primer konakçıları varsa da yakın temas halinde diğer hayvan türlerindeki enfekte edebilir. *Brucella* cinsine ait *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. neotomae* ve *B. canis* olmak üzere toplam altı tür adlandırılmıştır. Yakın dönemde ise *Brucella* cinsine ait deniz memelileri, amfibiler ve balıklarda tespit edilen etkenlerle beraber tür sayısı 14'e yükselmiştir (Avına, 2021; CFSPH, 2018; OİE, 2022).

*Brucella melitensis*, koyun ve keçilerde primer olarak affinite gösterirken, hayvan popülasyonunun yoğun olduğu yerlerde sığır ve develerde enfeksiyon oluşturabilmektedir. *B. melitensis*, insan hastalıklarında en sık görülen *Brucella* türüdür ve tüm enfeksiyonların %70'inden sorumludur (CFSPH, 2018). Çoğu insan bu organizmayı enfekte hayvanlarla veya onların dokularıyla doğrudan temas yoluyla veya kontamine süt ürünlerini tüketerek almaktadır. *B. abortus* inek, *B. suis* domuz, *B. ovis* koyun, *B. canis* köpek, *B. neotomae* kemirgen, *B. microti* tarla farelerinde, *B. papionis* babunlarda, *B. vulpis* tilkilerde, *B. ceti* ve *B. pinnipedialis* deniz memelileri ve foklarda, 121012304 suşu vatozda, *B. inopinata* kurbağalarda tespit edilen BO2 ve B130095 olmak üzere farklı türlerde bildirmiştir (CFSPH, 2018; Çakır ve Yıldırım, 2018; OİE, 2022; Suarez-Esquivel ve ark., 2020).



**Şekil 2.1. *Brucella* türleri**

(Suarez-Esquivel ve ark., 2020).

### 2.1.2. Patogenez

*Brusella* etkenlerinin en önemli özelliği, hem fagositik (makrofaj, dentritik hücreler) hem de fagositik olmayan (trafoblast) hücrelerde hayatta kalma ve çoğalma yeteneğidir (Glowacka ve ark., 2018). Diğer bakteriyel patojenlerle karşılaştırıldığında bu etkenlerin, klasik virülans faktörleri bulunmamaktadır. *Burusella* etkenleri, replikasyonunda yer alan spesifik virülans faktörlerine ve konağın immun sistemini atlatmasını sağlayan mekanizmalara sahiptir (Glowacka ve ark., 2018; Seleem ve ark., 2008). Etkenler, makrofajlar, dendritik hücreler, plasental trofoblastlar, epiteloid hücreler, fibroblastlar, migroglia ve endotel hücreler içinde çoğalabilmektedir (de Figueiredo ve ark., 2015; Pal ve ark., 2020). Bakterinin hedef hücrelere ulaşması için solunum sistemi, ürogenital sistem ya da sindirim sistemindeki mukozal bariyeri geçmesi gerekmektedir. Etkenler submukozayı enfekte ederek lenf düğümlerine taşınırlar ve lenfatik dolaşım ile sistemik enfeksiyona neden olurlar. Sistemik enfeksiyon sonucu affinite duyduğu uterus, plasental trafoblastlar, fetal akciğer, retikuloendotelyal sistem, endotel hücreleri, erkek genital organları, meme bezi gibi hedef hücre veya dokulara yerleşerek çoğalmaktadır (de Figueiredo ve ark., 2015; Neta ve ark., 2010; Olsen ve ark., 2010). Hedef hücrelerde; endositoz, replikasyon, apoptoz ve etkenlerin salınıp başka hücrelere penetrasyonu ile devam eden intrasellüler yaşam döngüsü oluşturmaktadır. Bu döngüyü başlatmak amacıyla etkenler mukozayı enfekte ederek lenfoid dokunun lenfoepitelyal hücreleri (M hücreleri) tarafından fagosit edilir. *Brusella* etkenleri hücresel bağışıklığı aktive etmesine karşın hücre içi yaşam döngüsüne de sahiptirler (Castrucci, 2007; Quinn ve ark., 2011; Rossetti ve ark., 2022). Makrofajlar tarafından fagosit edilen etkenler, hücre içi erken/geç endozomlarda *brusella* içeren vakuollerde (BCV) lokalize olarak kendine ait virulens faktörleri sayesinde, intersellüler replikasyon ile yaşam döngüsünü devam etmesini sağlayan tip IV salgılama sistemi proteinlerini (T4SS) kodlayan *virB* tarafından fagozom-lizozom birleşmesi engellenir. Geç endozom-lizozom birleşmesinin engellenmesi ile lizozomla ilişkili zar proteinleri (LAMP-1) birikir ve ortam asitleşir. Etkenler yaşam döngüsünü devam ettirebilmek için virulens faktörlerinden biri olan üreazı parçalayarak karbonik asit ve amonyuma dönüştürüp pH artışını sağlar bu sayede etkenler düşük pH koşullarında hayatta kalır (Glowacka ve ark., 2018; Rossetti ve ark., 2022; Seleem ve ark., 2008). *VirB*, etkenin fagozom-lizozom birleşmesini engellenmesi sayesinde *brusella* içeren vakuollerde,

endoplazmik retikulum ile birleşerek replikasyon sağlanır. Bu yapıya replikatif vakuol olarak adlandırılır. Bu endoplazmik retikulumla ilişkili yapı, *Brusella* etkenlerinin makrofajlarda, epitel hücrelerde ve plasental trofoblastlarda hücre içi replikasyonuna olanak sağlar (Glowacka ve ark., 2018; Rossetti ve ark., 2022).

*Brusella* etkenleri, maternal kılcal damarlar yoluyla plasentayı enfekte ederek eritrofagositik trofoblastlar tarafından fagosit edilir ve karioallantoik trofoblastlara enfeksiyon yayılır. Karioallantoik trofoblastlarda hücre içi yaşam döngüsü endoplazmik retikulum (ER) basamağına kadar makrofajlardakine benzerdir. *Brusella* etkenlerinin hücre içi varlığı, ER homeostazını etkiler ve ER stresi oluşturur. Bu nedenle karioallantoik trofoblast apoptozuna yol açan kaspaz yolu aktive olur ve nükleotid bağlayıcılar (NOD1 ve 2) ile NF-kb aktivasyonu yoluyla proinflamatuar sitokinlerin üretimi tetiklenir (Rossetti ve ark., 2022). Koyun, keçi, sığır ve domuzların plasentasında sentezlenen polihidrik bir alkol olan eritritolden dolayı gebeliğin son trimester döneminde etkenler uterusu affinite duyar. Bu maddeyi etkenler karbon ve enerji kaynağı olarak kullanır. *Brusella* etkenleri uterus ve fetal plasental dokular, eritrofagositik trofoblastik hücreler ve koriyonik villilere lokalize olur ve kotiledonların arasına yayılır. Eritritol konsantrasyonu gebelik sürecinin devam etmesiyle kademeli olarak artar. Böylelikle doğum yaklaştıkça etkenin miktarında ve yangının şiddetinde artış meydana gelir. Enfeksiyon şiddetinin artmasına bağlı plasentada nekrotik-inflamatuar yanıt, trofoblastik nekroz, vaskülit ve allantoikonda ülser neden olur. Bu durum kotiledonların yırtılması, maternal-fetal dolaşımın bozulması, besinlerin ve oksijenin anneden fetüse geçişinin zorlaşmasına veya tamamen engellenmesine, abort, erken doğum gibi çeşitli bulgulara neden olur. *B. melitensis* etkenleri enfeksiyondan 30-45 gün sonrasına kadar kanda bulunur. Etken yayılımı doğum veya aborttan 180 gün sonraya kadar devam eder (Neta ve ark., 2010; Quinn ve ark., 2011; Rossetti ve ark., 2022). Sonuç olarak, *Brusella* etkenleri fagositik makrofajlarda hayatta kalması ve çoğalması ile kronik enfeksiyonlara ya da fagositik olmayan hücrelerde karioallantolite neden olarak abortusa yol açmaktadır (He, 2012).

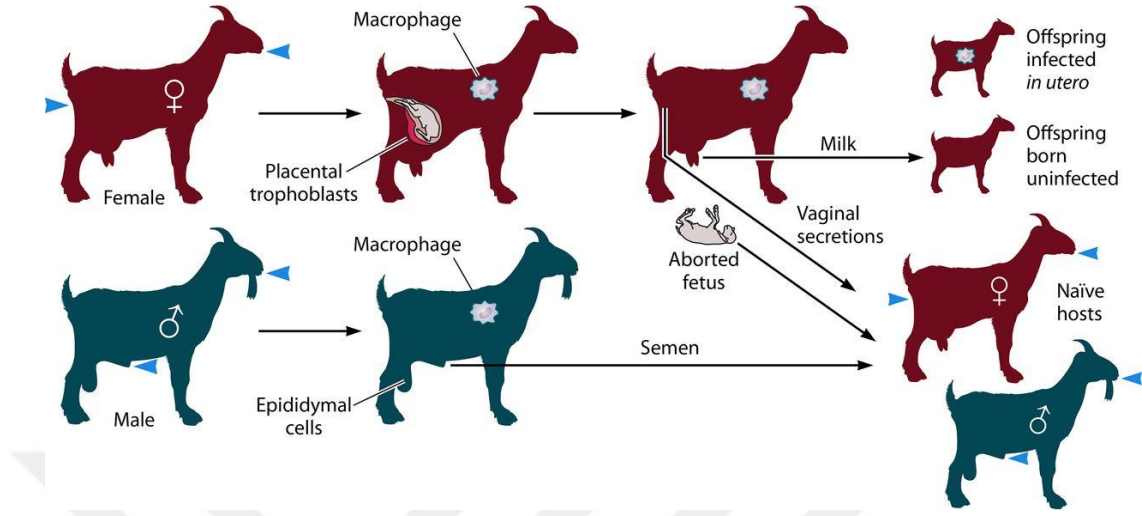
### 2.1.3. *Brusella Melitensis*

Koyun ve keçilerde *Brusella* enfeksiyonlarına çoğunlukla *B. melitensis* nadiren *B. ovis*, *B. abortus* veya *B. suis* neden olmaktadır (Castrucci, 2007; OİE, 2022). Koyunlarda *B. melitensis*'e duyarlılık, ırklara ve cinsel olgunluğa göre değişmektedir. Cinsel olarak olgunlaşmış hayvanlar enfeksiyona karşı duyarlıdır. Koyunlar keçilere göre daha dirençlidir. Malta koyunları bu enfeksiyona dirençliken, Orta Doğu'nun İvesi ırkı daha duyarlıdır (Castrucci, 2007).

David Bruce, 1887'de brusellozun (Akdeniz, Malta veya dalgalı ateş olarak da bilinir) etkeni *Micrococcus melitensis*'i şimdiki adıyla *Brucella melitensis*'i izole etmiştir. Bruce, izole ettiği gram negatif kokobasileri küçük oldukları için *Micrococcus* adını vermiştir. Hastalığın ilk kez Malta'da görülmesi nedeniyle adanın endemik arılarından elde edilen bal markasından esinlenerek tatlı bal anlamına gelen Yunanca 'Melite' kelimesinden türetilmiştir (Tan ve Davis, 2011). Alice Evans, 1918'de Malta ateşi olarak bilinen hastalığa 'Bruselloz' adını vermiş, 1920'de Meyer ve Shaw etkenlerin tür adını "*Brucella*" olarak belirlemişlerdir (Öncel, 2016). Ülkemizde ise Aktan ve Köylüoğlu tarafından 1944 yılında ilk defa koyunlarda *B. melitensis* Bandırma merinos çiftliğinde serolajik olarak saptanmıştır (Çevik, 2001).

*B. melitensis* etkenleri sıcaklık, nem, güneş ışığı ve bulunduğu ortamın organik yapısına bağlı olarak değişen sürelerde canlı kalabilmektedir. Bu süre abort fetüste, gübrede, su ve samanda birkaç ay, tozda 3-44 gün, barınak zemininde 4 ay, meralarda 15-35 gün, dondurulmuş ette ise yıllarca olabilmektedir. Etken, pastörizasyon ve dezenfektanlar ile elimine edilebilmektedir (Castrucci, 2007; CFSPH, 2018). En önemli bulaşma, plasenta, fetal sıvılar, doğumdan sonra atılan vajinal akıntılar ile oral, oronazal, konjunktival mukoza ve deri yoluyla gerçekleşmektedir. Koyunlarda vajinal akıntı ile bulaşma yaklaşık 3 hafta ile 2 ay arasında değişirken, keçilerde 3 ay veya daha fazla sürmektedir (CFSPH, 2018; Glowacka ve ark., 2018). Koçlara, doğum sonrası kızgınlık döneminde çiftleşme ile geçebilmekte, süt ve semen ile yayılabilmektedir. Koçlarda ve tekelerde üreme organlarına yerleşerek sıklıkla orşit ve epididimitise neden olmaktadır. *Brusella* etkenleri; lenf düğümleri, dalak, testis, uterus, epididimis ve eklemlerden izole edilebilmektedir. Teşhis için vajinal akıntılardan swap, abort fetüslerden akciğer,

mide içeriği, dalak, fetal membran, süt ve eklem sıvıları alınmalıdır (CFSPH, 2018; OİE, 2022; Roop ve ark., 2021).



**Şekil 2.2.** *B. melitensis* bulaşma ve saçılması

(Roop ve ark., 2021).

Bu enfeksiyonun temel özelliği, gebeliğin son üçte birlik kısmında abortların veya enfekte yaşama gücü zayıf yavruların gözlenmesidir. Koyunlarda abort bir kez gerçekleşirken sonraki gebeliklerde abort gerçekleşmez fakat etkenin genital sisteme yerleşmesi nedeniyle her doğum sonrası çevre kontaminasyonu devam eder (CFSPH, 2018). *B. melitensis* yavrulara konjenital olarak uterusdan bulaşabilir veya kolostrum, süt ile bulaşarak latent olarak seyrederek. Bakteriemi sonrası memede kolonize olan etkenler mastitise neden olmakta bu duruma bağlı olarak süt miktarı azalmaktadır (CFSPH, 2018; Roop ve ark., 2021).

Enfekte dişilerin endometrium, koryon ve interkotiledon aralıklarında gri-sarı renkte, yapışkan ve kokusuz sıvı bulunmaktadır. Fetal membran ve göbek kordonunda kalınlaşma, kotiledonlarda nekroz ve plasentit tablosu gözlenir. Mikroskopik incelemelerde, plasentanın stromasında mononükleer hücre ve nötrofil lökosit infiltrasyonu bildirilmektedir. Trofoblast hücreleri şişkin ve etkenle dolu olduğu, endometriyumda yoğun lenfosit, nötrofil granülosit ve eozinofillerinde eşlik ettiği bildirilmektedir. Aborte fetüs çoğunlukla otolizdir. Subkutan ödem ve vücut boşluklarında kanlı sıvı birikimi gözlenir. Normal fetüste abomazum içeriği berrak-saydam ve pıhtılı kıvamda iken brusellozlu fetüsün abomazum içeriği bulanık-limon

sarısı renktedir. Akciğerlerde parke taşı görünümünde grimsi beyaz odaklar gözlenir. Mikroskopik incelemede makrofaj ve nötrofil lökositlerden oluşan bronkopnömoni gözlenir. Alveolar septumda ödem ile interlobuler septumda kalınlaşma şekillenebilir. Ayrıca plörit, perikardit, peritonit ile lenf düğümlerinde ve dalakta lenfoid hiperplazi gözlenebilir (Mazlan ve ark., 2021; Neta ve ark, 2010; Schlafer ve Foster, 2016).

## **2.2. Sitokinler ve İntrauterin Enfeksiyonlardaki Rolü**

Sitokinler, organizmada immun sistemin düzenlenmesi, edinsel bağışıklık, hücre farklılaşması, hücre ölümü, homeostaz ve anjiyogenezin düzenlenmesinde, lokal ve sistemik yangısal olaylarda rol alan, hücreler arasında etkileşim oluşturan, onarım sürecinde spesifik etkiye sahip, çeşitli hücreler tarafından salgılanan 40 kDa küçük protein veya glikoproteinlerdir (Chousterman ve ark, 2017; Oppenheim, 2001; Zhang ve An, 2007). Sitokin genel anlamda kullanılan bir terimdir. Lenfositlerin meydana getirdiği sitokinlere lenfokin, monositlerin meydana getirdiği sitokinlere ise monokin, kemotaktik aktiviteleri olan sitokinlere kemokin ve bir lökosit tarafından yapılan ve diğer lökositler üzerinde etkili olan sitokinlere interlökin (IL) denir (Zhang ve An, 2007).

Sitokinler; otokrin, parakrin ve endokrin etki gösterirler (Zhang ve An, 2007). Bu etkileri gösterebilmeleri için hücre yüzeyinde bulunan kendilerine ait reseptörlere bağlanırlar. Sitokinler kendilerine ait reseptör taşıyan farklı hücrelere bağlanabilir ve her birinde farklı etkiler oluşturabilir ya da farklı sitokinler tek bir hücrede kendine ait reseptörlere bağlanarak aynı etkiyi gösterebilir (Diker, 1998).

Sitokinler, proinflamatuvar sitokinler ve antiinflamatuvar sitokinler olarak ikiye ayrılır (Zhang ve An, 2007). Proinflamatuvar sitokinler yangıyı arttırırken; antiinflamatuvar sitokinler yangıyı azaltır (Dinarello, 2000). Proinflamatuvar sitokinler; IL-1, IL-8, IL-12, IL-18, TNF- $\alpha$  ve IFN- $\gamma$ , Antiinflamatuvar sitokinler içinde IL-4, IL-10, IL-11 ve IL-13 yer alır (Srinivasan ve ark., 2017).

Proinflatuar sitokinler, hücrese bağışıklığı tetikleyerek antiinflatuar sitokin sentezinin uyarılmasında ve konakçı yangısal yanıtının düzenlenmesinde görev alırlar (Srinivasan ve ark., 2017). IL-1,  $\alpha$  ve  $\beta$  olmak üzere iki farklı proteinden meydana gelmektedir. İkinci kromozom üzerindeki iki ayrı gen tarafından oluşturulan IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'nin antijenik yapıları farklı olmasına rağmen biyolojik etkileri aynıdır (Srinivasan ve ark., 2017). IL-1 çeşitli genlerin, proteinlerin sentezlenmesinde, akut ve kronik yangılarda etkili olmasıyla sitokinler arasında en önemlisidir. IL-1, başta monosit, makrofaj, nötrofil, epitelyal ve endotelyal hücreler, fibroblast, B ve T lenfositler, düz kas hücreleri, mikroglia ve astrositler olmak üzere çok sayıda hücre tarafından sentezlenir (Srinivasan ve ark., 2017). IL-1, yangısal olaylarda konakçı savunmasında aşırı üretimi sonucu hasara neden olur. Gram negatif bakterilere ait LPS'ler, IL-1 sitokinlerin bilinen en iyi uyarıcılarıdır. LPS uygulaması sonrası göbek kordonunda nötrofil infiltrasyonuna bağlı IL-1 seviyesinde artış gözlenir. Bu durum erken yangısal cevabın başlamasını sağlar (Murtaugh ve ark., 1996; Srinivasan ve ark., 2017). İlk olarak IL-1 $\alpha$  nötrofilleri aktive ederek akut yangısal olayları başlatır, IL-1 $\beta$  aktivasyonu ile makrofajlar aktive edilir. Akut yangısal olgularda alarm görevinde olan ilk IL-1 $\alpha$ 'nın gözlenmesi bu formun aktif olarak bulunmasından kaynaklanır. IL-1 $\alpha$ 'nın aksine, IL-1 $\beta$  aktif değildir, kaspazlar tarafından aktif hale getirilir (Rider ve ark., 2011; Srinivasan ve ark., 2017). Bu sayede IL-1, nötrofil ve makrofajların yangısal alanlarda toplanmasını sağlamaktadır (Rider ve ark., 2011).

Antiinflatuar bir sitokin olan IL-10 ise, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-6, IFN- $\gamma$  gibi proinflatuar sitokinleri ve kemokinlerin sentezini engellemesi ile yangının seyrini değiştiren immun baskılayıcı güçlü bir antiinflatuar sitokindir (Srinivasan ve ark., 2017). Antijen sunan hücreler, makrofaj, dendritik hücreler, epitel hücreler, B ve T hücreleri tarafından IL-10 sentezlenerek nitrik oksit, reaktif oksijen türleri (ROS), hücre adezyon molekülleri (ICAM-1) üretimini sınırlandırmaktadır. Bu sayede yangısal yanıtın aşırı tepkisi önlenmektedir (Srinivasan ve ark., 2017). Proinflatuar sitokinlerin (IL-1) aktivasyonu transkripsiyon faktörü olan NF-kB yolu ile gerçekleşir (Von der Thüsen ve ark., 2003). IL-10, spesifik bir reseptör kompleksine bağlanır ve NF-kB sinyal yolunu inhibe ederken JAK (Janus kinaz)-STAT (Sinyal transkripsiyon) ve PI3K-Akt (Fosfoinositid-3 kinaz) sinyal yollarını aktive eder. En iyi açıklanan IL-10 aracılı sinyal yolu Jak/STAT yoludur. Jak/STAT

yolu ile IL-10 düzenlemesinin negatif feedback mekanizmasını tetikleyen protein SOCS3'ün (Sitokin sinyali-3) transkripsiyonunu engellemesi, proinflamatuvar sitokinlerin üretimini ve MHC II ekspresyonunu bloke ederek antijen sunumunu önlenmesi ile antiinflamatuvar etki gösterir (Cheng ve Sharma, 2015; Thaxton ve Sharma, 2010; Von der Thüsen ve ark., 2003). IL-10 ekspresyonu gebelik yaşı ile birlikte artmaktadır. Erken doğumlarda kinazların düzenlenmesinde eksiklik sonucu IL-10 reseptör ekspresyonunu engellenmesi, SOCS3 aktivasyonuna neden olarak proinflamatuvar sitokin sentezi artmaktadır. Gebelik anti ve proinflamatuvar sitokinlerin maternal-fetal membranlarda denge içinde olduğu fizyolojik bir süreçtir. Gebelik yaşı ne kadar küçükse ve ne kadar erken doğum gerçekleşirse IL-10 o kadar az sentezlenmektedir (Cheng ve Sharma, 2015; Hokenson ve ark., 2013).

### **2.3. Sürfaktan Proteinler**

Akciğer en geniş epitel yüzeye sahip doku olup patojen mikroorganizmalara, toksinlere, alerjen uyaranlara sıklıkla maruz kalmaktadır. Bu etkenlere karşı akciğer dokusu; yapısal hücreleri (epitel hücreler, fibroblastlar), hemapoetik kökenli hücreler (dentritik hücreler, mast hücreleri), makrofaj, nötrofil lökositler, lenfositler ve sürfaktan proteinler ile pulmoner bağışıklığı sağlamaktadır (Henning ve ark., 2008; Suzuki ve ark., 2008).

Sürfaktan proteinler tip II alveol epitel hücrelerince oluşturulan alveollerin yüzey gerilimini düşürerek kollapsı engelleyen bir lipoprotein kompleksidir (Guagliardo ve ark., 2018). Normal nefes almak için hayati öneme sahiptir. SP-A, SP-B, SP-C ve SP-D olmak üzere dört adet sürfaktan protein vardır. Bunlar yapısal ve işlevsel olarak ikiye ayrılırlar. SP-B ve SP-C hidrofobik yapıda olup alveol yüzey gerilimini azaltmada önemli rol oynar (Guagliardo ve ark., 2018). SP-A ve SP-D, büyük hidrofilik yapıda olup, C tipi lektindir bu sayede amniyotik sıvıda bulunan patojenleri doğal bağışıklık ile engeller. Lektinlerin (Şeker bağlayıcı proteinler) yapısında bulunan kalsiyuma bağlı karbonhidrat tanıma alanları (C tipi CRD'ler) sayesinde patojenler ile etkileşim sağlama ve patojenleri tanımda etkin rol alırlar. Bu sayede lektinler patojenlerin uzaklaştırılması ve yangısal olaylarda görev yaparlar (Kishore ve Reid, 2001; Miyamura ve ark., 1994). SP-A, akciğer gelişimi, yapısı ve

işlevi için gerekli bir molekül olarak kabul edilmekte ve pulmoner sitokin ağında önemli bir role sahip olduğu gözlenmektedir. SP-A'nın bakteri, mantar ve virüsler gibi çeşitli enfeksiyöz etkenlere karşı akciğerin savunmasında koruyucu rolü bulunmaktadır. Bağışıklık mekanizmalarını başlatan lökosit, makrofaj ve epitel hücreleri yüzeylerinde bulunan toll-like reseptörleri (TLR) ile etken tanınır. Bu sayede bağışıklık tepkilerini düzenleyici görevleri olan SP-A salgılanır (Crouch ve Wright, 2001; Henning ve ark., 2008). SP-A, alveolar makrofajları aktive ederek sitokin üretimini ve NF-kB aktivasyonunu artırır. SP-A, akciğer dokusunun hasarı nedeniyle plazma proteinlerinin oluşturduğu yüzey aktif proteinlerin baskılayıcı etkilerini engellenmesinin yanı sıra etkenlerin opsonizasyonu sağlayarak fagositozunda görev alır (Khubchandani ve Snyder, 2001; Shepherd ve Lopez, 2001).

Fetal akciğerin olgunlaşmasına bağlı olarak SP-A salgılanmasının artması, fetal amniyotik sıvıda uyarılan makrofajların uterusu göç etmesini, IL-1'in sentezlenmesini, NF-kB'yı aktive edilmesini, siklooksijenaz-2 (COX-2) yolağıyla prostoglandin aktive ederek miyometrial kontrasyonu ile normal doğumu başlatmaktadır (Condon ve ark., 2004; Myatt ve Sun, 2010).

Fetal akciğerlerde, pulmoner sürfaktan sentezi, doğumda solunuma geçişi hazırlamak için gebeliğin son dönemlerinde önemli ölçüde artar. İnsanlarda gebeliğin ikinci üçte birinde, yaklaşık gebeliğin 28. haftasından itibaren sentezlenmeye başlanıp, 34. haftada fonksiyonel düzeye ulaşır. Hayvanlarda doğuma çok daha yakın zamanda, koyunlarda yaklaşık olarak 150 gün olan gebelik süresinin 130. gününden itibaren sürfaktan miktarı artmaya başlar. Eğer henüz sürfaktan madde şekillenmeden bu dönemden önce erken doğum olursa yeterince sürfaktan madde üretilemediğinden RDS şekillenebilir (Çekinmez ve ark., 2013; Demirtaş ve Pişkin, 2014). Sonuç olarak, SP-A'nın normal doğumların başlamasında etkisi olduğu gibi, intrauterin enfeksiyonlarda da erken doğum ve abortu da tetikleyebilmektedir.

#### **2.4. İntrauterin Enfeksiyonların Erken Doğum Üzerine Etkileri**

İntrauterin enfeksiyonlarda, uterusu bakteriyel çoğalma ve plasentaya nötrofil göçü sebebiyle karyoamniyonit şekillenir (Goldenberg ve ark., 2000). Bu

durum erken membran rüpturu (PROM) ve erken doğumu başlatır (Cappelletti ve ark., 2021; Tita ve Andrews, 2010). Ancak bazen intrauterin enfeksiyonlarda, immün yanıt düzeyi ile ilişkili olarak bu eylemler gerçekleşmeyebilir. (Cappelletti ve ark., 2021). İnsan ve hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar ile elde edilen verilere göre koryodesidual boşluğu enfekte eden bakterilerin endo-ekzotoksinleri ve LPS yapısı makrofajlar, dendritik, epitelyal ve trofoblast hücre yüzeylerindeki Toll-like reseptörler (TLR'ler) sayesinde tanınmaktadır. Brusellozda korunma, hücresel bağışıklık ve Th1 sitokinleri ile sağlanır. TLR adaptif immün yanıtın başlamasını sağlar (Goldenberg ve ark., 2000; Iwasaki ve Medzhitov, 2004; Olsen ve ark., 2010). *Brusella* etkenlerinin tanınmasında rol alan reseptörler TLR2-TLR4 ve TLR9' dur (Surendran ve ark., 2012). Etkenler TLR4 bağlanıp, T hücreleri tarafından IFN- $\gamma$  üretilmesi ile hücre içi enfeksiyonu önlemek için makrofajlar aktive edilir. IFN- $\gamma$  ile makrofaj kaynaklı olan IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$  sitokinlerin üretilmesi başlanır (Kubota, 2010; Olsen ve ark., 2010; Zhan ve Cheers, 1995). Bu reseptörler aracılığı ile transkripsiyon faktörü olan NF-kB tarafından düzenlenen proinflatuar sitokinlerin (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8) salınması artar (Blackwell ve Christman, 1997; Palsson-McDermott ve O'Neill, 2004). TLR-2 yolu ile de dentritik hücrelerden TNF- $\alpha$ , IL-10, IL-12 ve IL-6 salınımı uyarılır (Olsen ve ark., 2010). İnflatuar sitokinler prostaglandinlerin üretimini uyarır ve nötrofil kemotaksisini, infiltrasyonu ile aktivasyonunu başlatarak proteazların sentezi ve salınımı ile sonuçlanır. Prostaglandinler uterus kasılmalarını uyarırken proteazlar koryoamniyotik membranlarda yırtılmaya neden olur (Goldenberg ve ark., 2000). Amniyon hem tip 1 hem de tip 2 siklooksijenaz içermesine rağmen, amniyondaki prostaglandin sentezi tamamen siklooksijenaz tip 2 enzimi (COX-2) aracılığıylaadır. IL-1 $\beta$ , amniyon ve karion hücrelerinden artan COX-2 aktivasyonu ile myometriyum tarafından prostoglandin üretimini arttırır (Peltier, 2003; Rauk ve Chiao, 2000; Sadovsky ve ark., 2000; Sawdy ve ark., 2000). COX-2 enzimi artışı myometrial kasılmalara neden olarak doğum gerçekleşir (Mendelson, 2009). Enfeksiyonun preterm eylemi tetiklemesindeki bir diğer yol ise fetüsün enfekte olması ile plasentada kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH) sekresyonu artışı ile gerçekleşir. Kortizol sekresyonunun artması prostaglandin üretimini arttırır. Ayrıca fetüsün enfekte olması ile artan sitokin üretimi de erken doğumun oluşumuna katkıda bulunmaktadır (Mendelson, 2009; Peltier, 2003).

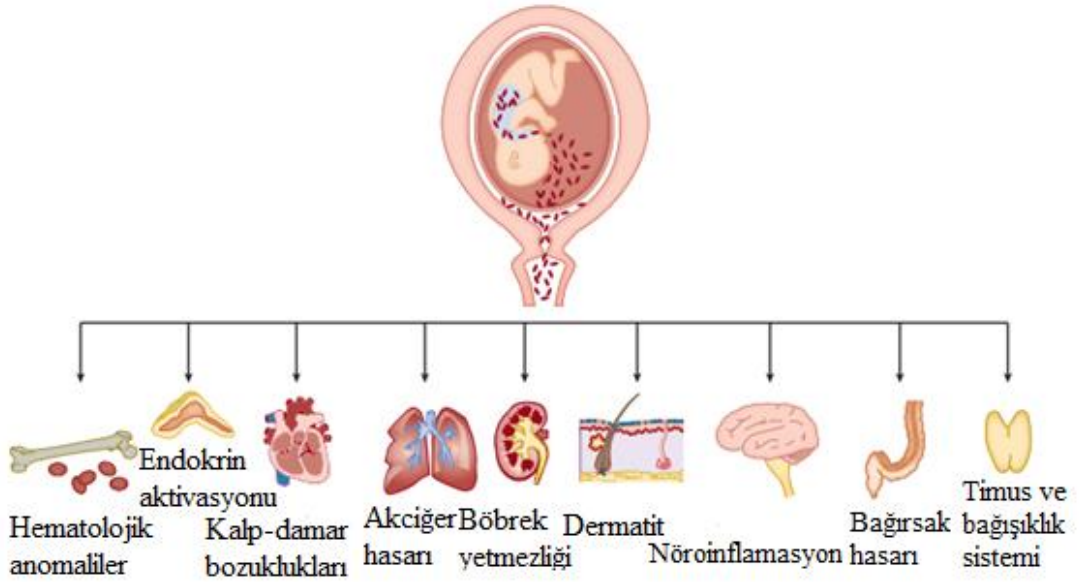
IL-10 immunosüpresyon özellikle IL-1 $\alpha$  ile IL-1 $\beta$ 'nın etkilerini bloke eden antiinflamatuvar bir sitokindir. Normal doğum ile erken doğumu tetikleyen ve gerçekleşmesini sağlayan yollar aynıdır fakat aralarındaki fark inflamatuvar uyarıların erken ve dengesiz oranlarda üretilmesidir. Bu nedenle erken doğumlarda proinflamatuvar sitokin olan IL-1, IL-6, IL-8, INF- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  seviyelerinde artış gözlenirken antiinflamatuvar mediatör olan IL-10 seviyesinde azalma gözlenmektedir (Areia ve Mota-Pinto, 2022; Chousterman ve ark., 2017).

## **2.5. İntrauterin Enfeksiyonların Fetüs Üzerinde Etkileri**

Fetüsün bakteriler, virüsler gibi mikroorganizmalarla intrauterin olarak enfekte olmasıyla fetüste yangı şekillenmekte, fetüs enfeksiyona karşı yetersiz immun yanıt şekillendirirse enfeksiyon, şiddetli bir yanıt oluştursa Fetal inflamatuvar yanıt sendromu (FIRS) oluşmaktadır. Enfeksiyona karşı oluşan şiddetli yanıtta sitokin miktarının aşırı artışı fetal ölüme veya çeşitli organlarda hasara sebep olmaktadır. Akciğer ve beyin bu durumdan en çok etkilenen iki organ olup oluşan hasara bağlı olarak uzun dönemde serebral palsy, bronkopulmoner displazi gibi bulgular şekillenmektedir (Jung ve ark., 2020; Srinivasan ve ark., 2017).

Fetal inflamatuvar yanıt sendromu; maternal yangı ve karyoamniyonit ile birlikte oluşur. Fetal vaskulitis, göbek kordonundaki kanda proinflamatuvar sitokinlerin varlığı ile karakterizedir. Bu sitokinler çoğunlukla fetal dokular tarafından oluşturulmaktadır. İntrauterin enfeksiyonlar plasentayı, myometriumu, amniotik ve korionik membranları etkilemektedir. Fetal inflamatuvar yanıt edinseldir, bazen oluşan bu yanıt şiddetlenir. Bu nedenle fetal sitokin fırtınası başlamasıyla birden fazla organda hasar ve doğum gerçekleşmezse fetal ölüm şekillenir (Jung ve ark., 2020; Kemp ve ark., 2011; Kemp ve ark., 2013). FIRS gelişen olgularda, gelişmeyenlere göre neonatal komplikasyonlar çok daha fazladır. Merkezi sinir sisteminden, deriye kadar pek çok organda hasara sebep olmaktadır (Şekil 2.3.). Organlarda şekillenen hasarlara göre de pnömoni, BPD, RDS, periventriküler lökomalasi, nekrotizan enterokolit ve dermatit gibi çeşitli bulgular şekillenmektedir (Kemp ve ark., 2013; Srinivasan ve ark., 2017).

FIRS ile ilgili olarak direk bakteri ya da LPS verilerek koyunlarda oluşturulan deneysel intrauterin enfeksiyonlarda; Kramer ve ark., (2010) fetal akciğer, karaciğer, bağırsak ve timusun, Kemp ve ark., (2013) akciğer, gastrointestinal sistem, deri, dalak ve karaciğerin, Mazlan ve ark., (2021), çeşitli iç organların yanısıra özellikle beyin dokusunun etkilendiğini bildirmişlerdir. Rounioja ve ark., (2005), farelerde E. coli endotoksini ile oluşturulan deneysel intrauterin enfeksiyonda fetal kardiyovasküler sistemin etkilendiğini kaydetmişlerdir. IL-1 verilerek oluşturulan intrauterin enfeksiyonlarda Romero ve ark., (2012) hemapoetik sistemin, Wolfs ve ark., (2011) ise ileumun etkilendiğini ve inflamatuvar yanıt oluştuğunu bildirmişlerdir.



**Şekil 2.3.** FIRS'un etkilediği organlar

(Srinivasan ve ark., 2017).

### 2.5.1. Pulmoner Sistem Üzerine Etkileri

İntrauterin enfeksiyonlar sonucu oluşan karyoamniyonit erken doğumu tetikleyerek akciğer gelişimi tamamlanamaması, BPD oluşumu ve akciğer doku hasarı riskini arttırmaktadır (Jobe, 2005; Pan ve ark., 2018; Westover ve Moss, 2012). Karyoamniyonit, hem RSD riskinin azalması hem de BPD riskinin artmasını takip eden mekanizmalar zincirini oluşturmaktadır (Jobe ve Ikegami, 2001). İntrauterin enfeksiyon, fetüste sitokinlerin sürfaktan ekspresyonunun artışına etki

ederek RDS riskinin azaltılmasının yanı sıra doğumdan sonra devam eden akciğer hasarı (alveolarizasyon ile vasküler gelişim bozukluğu) nedeniyle BPD riskini artırmasıdır (Hallman ve ark., 2001; Thomas ve Speer, 2011).

Gebeliğin erken döneminde intrauterin enfeksiyonun şekillenmesi, erken doğum, aborta ve alveoler tip II epitel hücrelerinin olgunlaşmaması sonucu yeterli sürfaktan proteinin üretilmemesine bağlı RDS şekillenmesine neden olmaktadır. İntrauterin enfeksiyon gebeliğin sonuna doğru oluşursa sürfaktan madde miktarı artarak RDS riski azalır (Hallman ve ark., 2001; Hillman ve ark., 2008; Westover ve Moss, 2012). İnsanlara kıyasla, çiftlik hayvanlarında sürfaktan üretimi doğuma daha yakın dönemde gerçekleşmesi, erken doğumlarda RDS riskini arttırmaktadır (Demirtaş ve Pişkin, 2014; Hallman ve ark., 2001).

Farklı hayvan türlerinde intrauterin enfeksiyonlar, fetal akciğerlerde IL-1, IL-6, IL-8 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokin seviyelerinde artış meydana getirmektedir. Başta IL-1 olmak üzere sitokinlerin SP miktarlarında artışa neden olduğu özellikle SP-A miktarında daha çok artış yaşandığı rapor edilmektedir (Bry ve Lappalainen, 2001; Bry ve ark., 1997; Kallapur ve ark., 2001; Willet ve ark., 2002). Koyun, tavşan ve sıçanlarda intrauterin endotoksin uygulamaları, alveolar septa oluşumunun kısıtlanması nedeniyle alveol gelişimini engellemektedir. IL-1 fetüslerde akciğer gelişimini hızlandırdığı, endotoksin uygulamalarının IL-1 miktarında artışa neden olarak SP-A üretimini arttırdığı bildirilmiştir (Bry ve Lappalainen, 2001; Ueda ve ark., 2006; Willet ve ark., 2002). Bu sayede erken doğumlarda, amniyonda bulunan IL-1 fetal akciğer dokusunun gelişimini hızlandırarak doğum sonrası döneme hazırlar (Bry ve ark., 1997). Akciğer gelişiminin hızlanmasında, endotoksin ile uyarılan yangısal hücrelerin aktivasyonu ve sürfaktan madde miktarındaki artış etkilidir (Kallapur ve ark., 2005).

IL-10, proinflamatuvar sitokinlerin olumsuz etkilerine karşı koyabilen güçlü antiinflamatuvar sitokindir. Deneysel olarak farelerde *Streptococcus pneumoniae* ile oluşturulan akciğer enfeksiyonunda, akciğer doku hasarını hafifletmek için nötrofiller tarafından üretilen IL-10'un doku hasarını engellediği ortaya konmuştur (Robertson ve ark., 2006). Nötrofiller proinflamatuvar düzenleyici hücreler olarak bağışıklıkta görev alırlar. IL-10, uterus ve plasentadaki proinflamatuvar sitokinleri

baskılayarak yangısal olayları sınırlar. Bu nedenle IL-10 emrionik veya fetal dokularda erken doğumlarda direncin göstergesidir (Gonzalez ve ark., 2021; Robertson ve ark., 2006).

İmmun sistem yangısal olayların kontrolünde görev alan mekanizmadır. Aşırı inflamatuvar yanıt nedeniyle dokularda oluşan hasarın önlenmesi konak ve patojen arasında ki dengenin sağlanmasıyla mümkündür. Bu dengenin sağlanmasında proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler görev alır (Cicchese ve ark., 2018). *Brusella* etkenleri virulans faktörleri sayesinde hücresel immunitenin şiddetinden kaçarak sınırlı yangısal yanıt oluşturur (Barquero-Calvo ve ark., 2007). *Brusella* enfeksiyonlarına verilen hücresel yanıt da Th1 yolağıyla üretilen proinflamatuvar sitokinlere karşı, IL-10 salınımının arttığı farelerde yapılan deneysel çalışmalarda bildirilmiştir (Murphy ve ark., 2001; Svetic ve ark., 1993). Brusellozis de erken IL-10 üretimi, (Fernandes ve Baldwin, 1995; Svetic ve ark., 1993) etkenin konakçı immün yanıtından kurtulmayı ve daha fazla dokuya yayılmasını sağlayarak enfeksiyonun kronik seyretmesine neden olur (Fernandes ve Baldwin, 1995; Xavier ve ark., 2013). IL-10, makrofajların aktivasyonunu bozarak antiinflamatuvar etkisiyle enfeksiyonun sistemik hala gelmesine neden olur. IL-10'un blokajı ile makrofajlardan proinflamatuvar sitokin salınımı artar, etkenin hücre içi hayatta kalması azalır fakat doku hasarı artmış olur (Xavier ve ark., 2013). Bu durum *B. abortus* ile enfekte fareler ile yapılan deneylerle desteklenmiştir (Corsetti ve ark., 2013; Xavier ve ark., 2013).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Örneklerin Toplanması

Çalışmanın materyalini Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim dalına nekropsi amacıyla getirilen koyun aborte fetüslerden bakteriyolojik olarak *B. melitensis* izole ve identifiye edilen 30 adet koyun fetüsü oluşturdu. Fetüslerin akciğer, karaciğer, dalak, mide, bağırsak, beyin, lenf ve böbrek dokuları histopatolojik olarak, ayrıca akciğer dokuları IL-1, IL-10 ve SP-A antikorlarıyla boyanarak immunohistokimyasal yöntemle incelendi. Kontrol amaçlı olarak makroskobik ve mikroskobik incelemede *B. melitensis* negatif sağlıklı görünümlü 4 adet kontrol akciğeri kullanıldı.

#### 3.2. Patolojik İnceleme

##### 3.2.1. Doku Kesitlerinin Hazırlanması

Patolojik inceleme amacıyla fetüslerden akciğer, karaciğer, dalak, mide, bağırsak, beyin, lenf ve böbrek dokuları alınarak, %10'luk tamponlu formalin solüsyonunda tespit edildi ve tespit olan dokular küçültülerek kasetlere yerleştirilmesinin ardından çeşme suyunda 8-10 saat yıkandı. Otomatik doku takip cihazında alkol (%70, %80, %90, %100'lük) ve ksilol serilerinden geçirilerek parafinde bloklandı. Her bloktan 4 µm kalınlığında alınan kesitler, histopatolojik inceleme için normal lama (1 adet), immunohistokimyasal incelemeler için (4 adet) poly-L-Lysinli lamlara alındı. Normal lamlara alınan doku kesitleri üzerindeki parafini uzaklaştırmak için 60°C de 1 saat kadar bekletildi. Parafini uzaklaştırılan kesitler hemotoksilen-eozin ile boyandı ve lamella kapatılarak ışık mikroskobunda incelendi.

### 3.2.2. İmmunohistokimyasal İnceleme

İmmunohistokimyasal boyama avidin-biotin peroksidaz kompleks (ABC) yöntemiyle yapıldı (Suvana ve ark., 2018). Primer antikor olarak (Tablo3.1) *Brucella melitensis*, SP-A IL-1 $\beta$ , IL-10 kullanıldı.

**Tablo 3.1.** İmmunohistokimyasal incelemede kullanılan primer antikorların özellikleri

| Antikorlar                     | Kökeni            | Dilusyon | Katalog No | Kaynak                                                     |
|--------------------------------|-------------------|----------|------------|------------------------------------------------------------|
| <i>Brucella melitensis</i> 16M | Monoclonal        | 1:100    |            | Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Pendik, İstanbul |
| IL-1                           | Rabbit Polyclonal | 1:100    | K002216P   | Solarbio Life Sciences, Beijing, China                     |
| IL-10                          | Rabbit Polyclonal | 1:100    | K009382P   | Solarbio Life Sciences, Beijing, China                     |
| SP-A                           | Rabbit Polyclonal | 1:500    | AB3424     | Merck Millipore, Darmstadt, Germany                        |

Kesitler etüvde bir gece bekletilerek, ksilol ve alkol serilerinden geçirildi. Fosfat buffer solüsyonunda (PBS, ph 7.2) 5 dakika süre ile yıkandı. Dokuda endojen peroksidaz aktivitesini bloklamak için, % 3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'de (oda sıcaklığında) 10 dakika bekletildikten sonra kesitlerdeki antijenleri açığa çıkarmak amacıyla sitrat buffer (pH 6.0) solüsyonu içerisinde, 1200 W gücünde mikrodalga fırında 7 dakika ısıya tabi tutuldu. Mikrodalga fırınından çıkarıldıktan sonra oda sıcaklığında soğutuldu ve PBS ile 5 dakika yıkanıp, nonspesifik boyanmayı önlemek için non-immun keçi serumu (blok solusyonu) ile nemlendirilmiş kapta 30 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda doku kesitleri üzerinde kalan blok solüsyonunun fazlası döküldükten sonra yıkama yapılmaksızın doku dışına taşan solüsyon kurutma kâğıdı ile kesitlerden uzaklaştırıldı. Bu işlemlerden sonra, kesitlerin üzerine primer antikorlar (*Brucella melitensis*, SP-A, IL-1, IL-10) damlatılıp 1 saat oda sıcaklığında nemlendirilmiş kapta inkübe edildi. Bu sürenin sonunda kesitler PBS ile yıkandı (3 kez 5'er dakika ara ile). Kesitler önce polivalent sekonder antikor ile oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi ve PBS ile yıkandı (3 kez 5'er dakika ara ile) sonra da Streptavidin-peroksidaz (Peroxidase-Blockingreagent) ile 30 dakika inkübe edildi,

her işlem sonunda 3 kez 5'er dakika PBS ile yıkandıktan sonra DAB (3,3-Diaminobenzidine) kromojeni hazırlanarak, damlatıldı ve 5-10 dakika kromojeni almasına göre bekletildi. Zemin boyanması için Mayer'in hematoksilende 4 dakika bekletilip musluk suyunda kesitler yıkandı. Dereceli alkollerden (%70, %80, %96, %96 ve %100) geçirildikten sonra çift ksilol solüsyonunu takiben lamaların üzerine entellan damlatılarak lamelle kapatıldı. Pozitif kontrol olarak, *Brucella melitensis* pozitif olan abort koyun fetüslerinden alınan kesitler kullanıldı. Negatif kontrol olarak, primer antikor yerine PBS damlatıldı. İmmunohistokimyasal boyama sonucunda immun pozitiflik on farklı mikroskop alanında x40'lik büyütmede aşağıdaki kritere göre semikantitatif olarak yapıldı (Tablo 3.2).

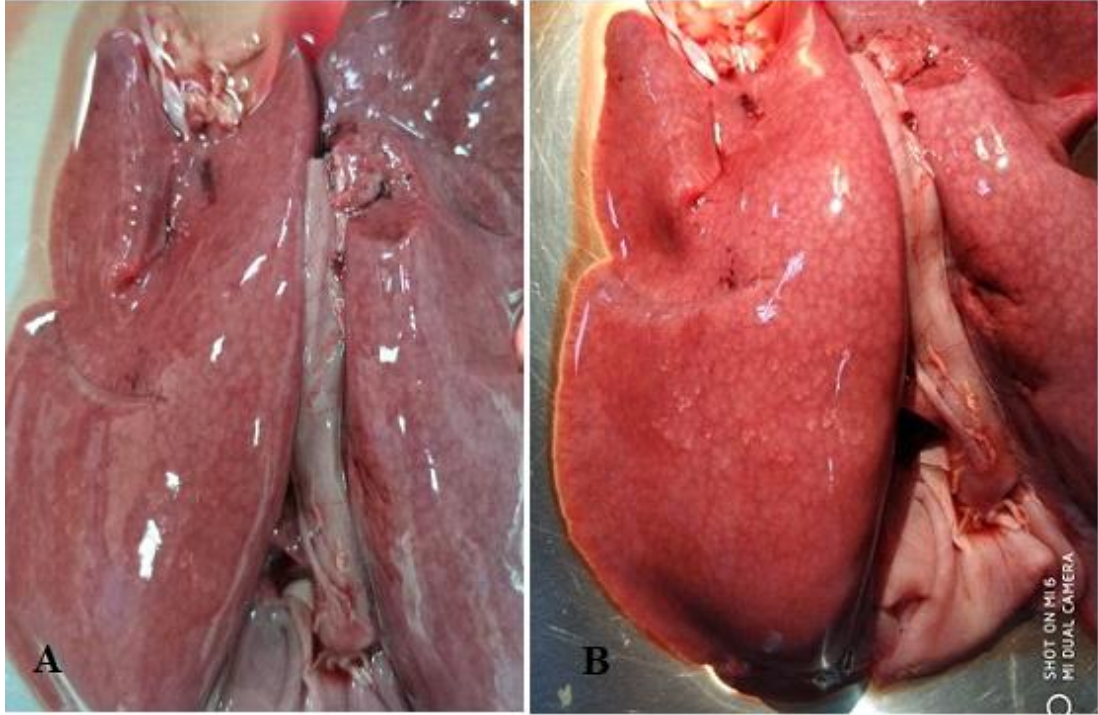
**Tablo 3.2.** İmmunohistokimya sonucu değerlendirme kriteri pozitiflik derecesi

| <i>DERECE</i>  | <i>KRİTER</i>                         |
|----------------|---------------------------------------|
| Negatif (-)    | İmmun pozitiflik hiç gözlenmemesi     |
| Hafif (+)      | 1-10 hücrede immun pozitiflik         |
| Orta (++)      | 11-20 hücrede immun pozitiflik        |
| Şiddetli (+++) | 20'den fazla hücrede immun pozitiflik |

## 4.BULGULAR

### 4.1. Makroskopik Bulgular

*B. melitensis* pozitif atık fetüslarda subkutan ödem, karın ve göğüs boşluklarında kanlı sıvı gözlendi. Abomazumlarında bol miktarda limon sarısı renkte içerik bulunmaktaydı. Atık fetüslerin akciğerlerinde toplam 30 olgunun 12'sinde bronkopnömoni ile ilgili olarak parke taşı görünümünde grimsi-beyaz alanlar gözlendi (Şekil 4.1. A/B).

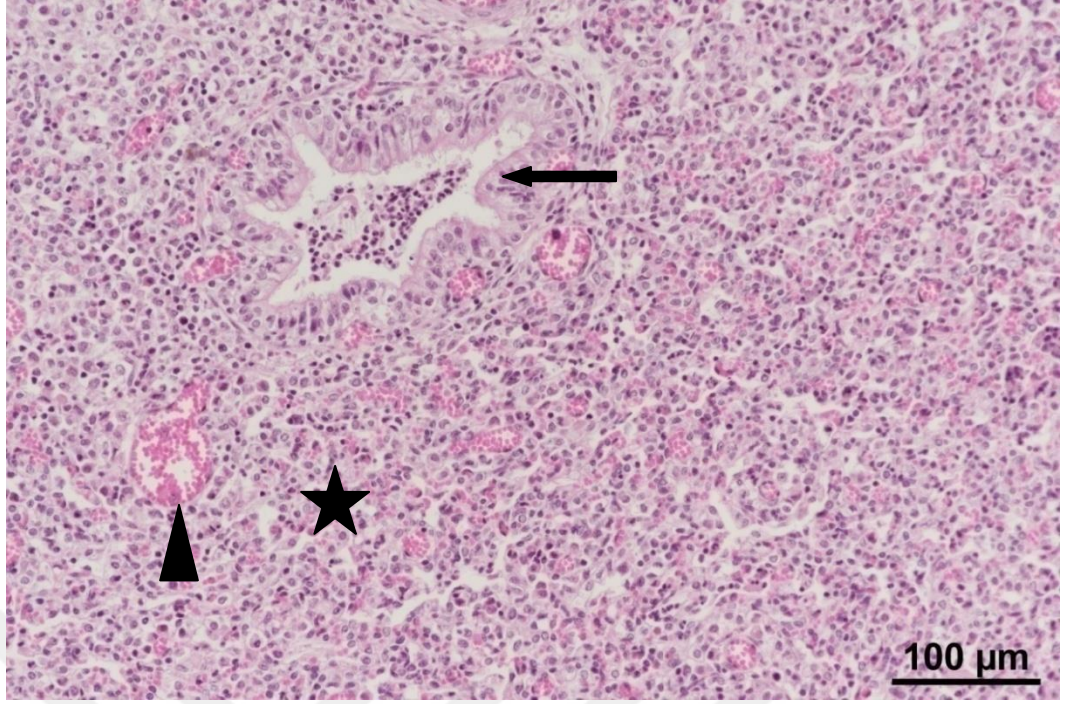


Şekil 4.1. A/B. *B. melitensis* pozitif bronkopnömonili fetal akciğerler.

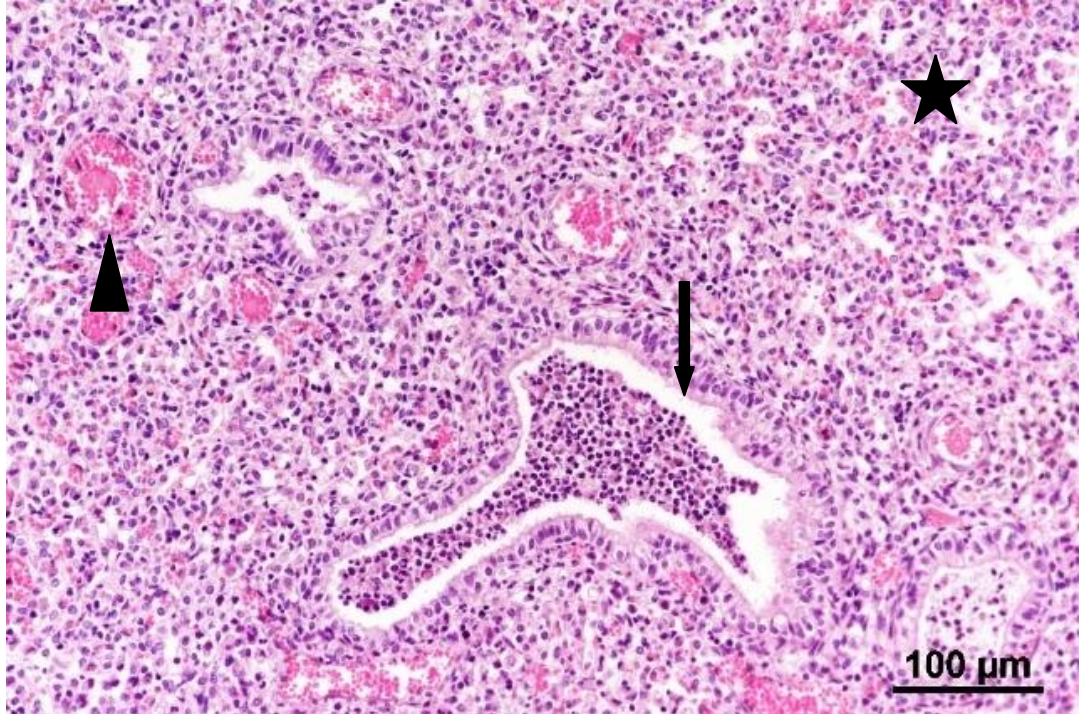
## 4.2. Histopatolojik Bulgular

*Brusella melitensis* pozitif 30 fetüse ait dokuların histopatolojik incelemesinde, 12 olguda akciğerlerde bronkopnömoni ve bronkointerstisyel pnömoni gözlemlendi. Alveol, bronş ve bronşiol lümenlerinde makrofaj ve nötrofil lökosit infiltrasyonları, interalveoler septumda kalınlaşma, kapiller damarlarda hiperemi (Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.7, Şekil 4.9 ) ve plöritis (Şekil 4.9) tespit edildi. Yangısal hücre infiltrasyonu ve ödeme bağlı olarak interlobüler alanda genişleme gözlemlendi (Şekil 4.5, Şekil 4.7). Onsekiz olguda ise damarlar hiperemik olup, interalveoler septumda kalınlaşma, interlobüler septumda ödem ve az sayıda makrofajdan kaynaklanan genişleme gözlemlendi (Şekil 4.5, Şekil 4.7, Şekil 4.8). Bu olguların altısında alveol lumeninde ödem (Şekil 4.6, Şekil 4.9) ve kanama (Şekil 4.7) saptandı. Alveol, bronş ve bronşiyol lumenlerinde yangısal eksudat bulunmamaktaydı. İntrauterin enfekte tüm fetal akciğer dokularında sağlıklı fetal akciğerlere göre alveol sayılarının daha az, alveol duvarlarının daha kalın olduğu gözlemlendi.

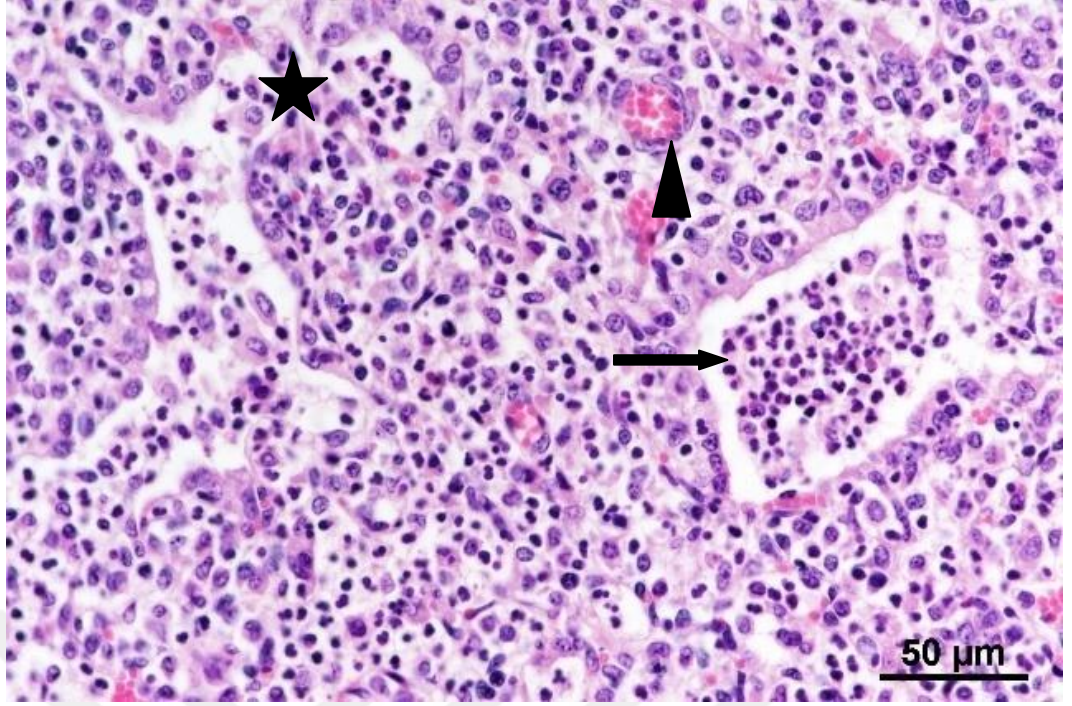
Karaciğerlerde, hepatosit kordonlarının düzeninde bozulma, hepatositlerde vakuoler dejenerasyon, sinuzoidlerde genişleme ve yer yer fokal nekroz alanları tespit edildi. Portal alanda, hafif-orta şiddette mononükleer hücre infiltrasyonu gözlemlendi. Fetüslere ait böbrek dokularında, glomerular kapillar damarlarda hiperemi ve Bowman kapsülünde genişleme, tubullerde dejenerasyon, çoğunlukla kortikomedüller ve medullar bölgede hiperemi ve kanama şekillenmişti. Dalakta perisplenitis, vaskulitis ile birlikte dalak ve lenf yumrularında lenfoid foliküllerinin merkezinin boşaldığı gözlemlendi. Dört adet fetüsün mide dokusunda epitel hücrelerinde deskuamasyon ve nekroz ile lümeninde nekrotik materyale rastlandı. Üç olguda bağırsak villus epitelinde dejenerasyon, nekroz ve dökülme gözlemlendi. Mide ve ince bağırsakların lamina propriyalarında az miktarda nötrofil lökosit ve mononükleer hücre infiltrasyonları belirlendi. Fetüslerden alınan timus, kalp, beyin örneklerinde belirgin histopatolojik bulgular gözlenmedi. Sağlıklı fetal akciğer dokusunda interalveoler septumlar ince, alveol, bronş ve bronşiyol lümenleri boştu (Şekil 4.16).



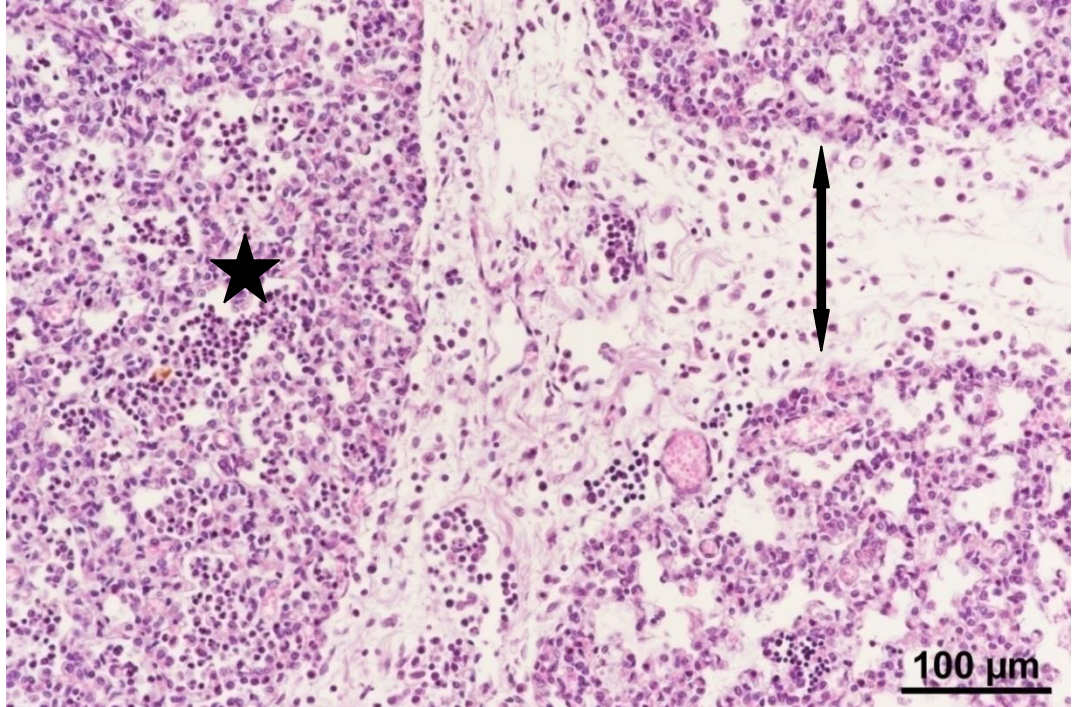
**Şekil 4.2.** Aborte fetüs akciğeri, bronşiol lümenlerinde (ok) ve alveollar boşlukta (yıldız) makrofaj ile nötrofil lökositlerden zengin eksudat ile hiperemi (ok başı), HE.



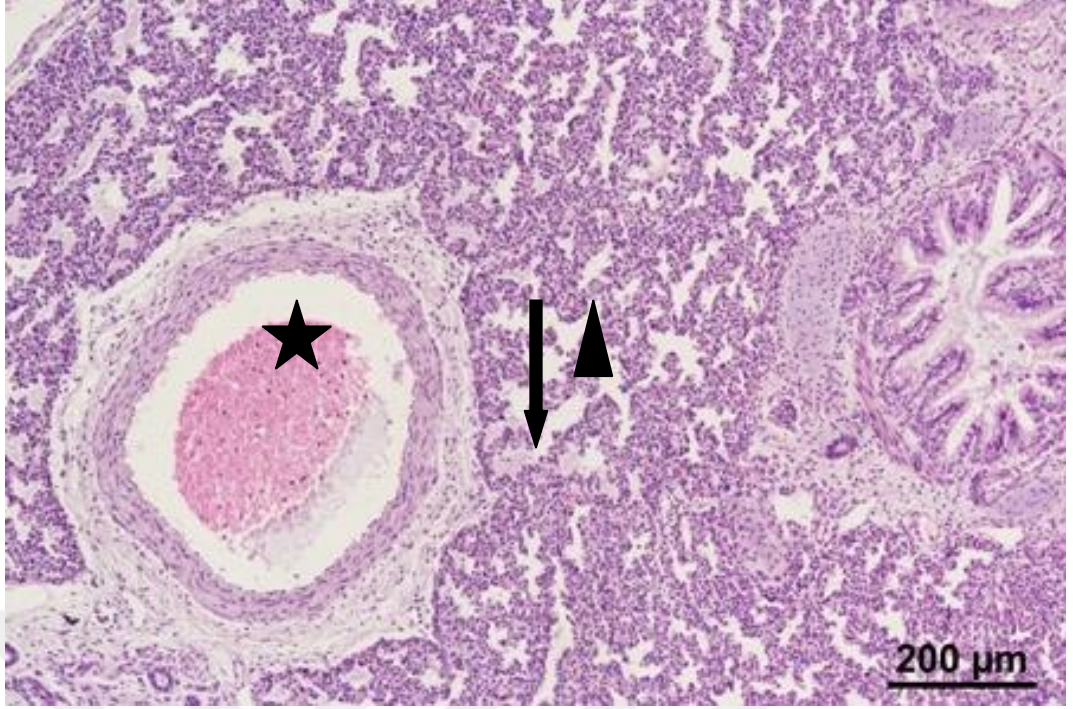
**Şekil 4.3.** Aborte fetüs akciğeri, bronşiol lümeninde (ok) ve alveol boşluklarında (yıldız) nötrofil lökositler ile makrofajlardan zengin eksudat, hiperemi (ok başı) ve kanama, HE.



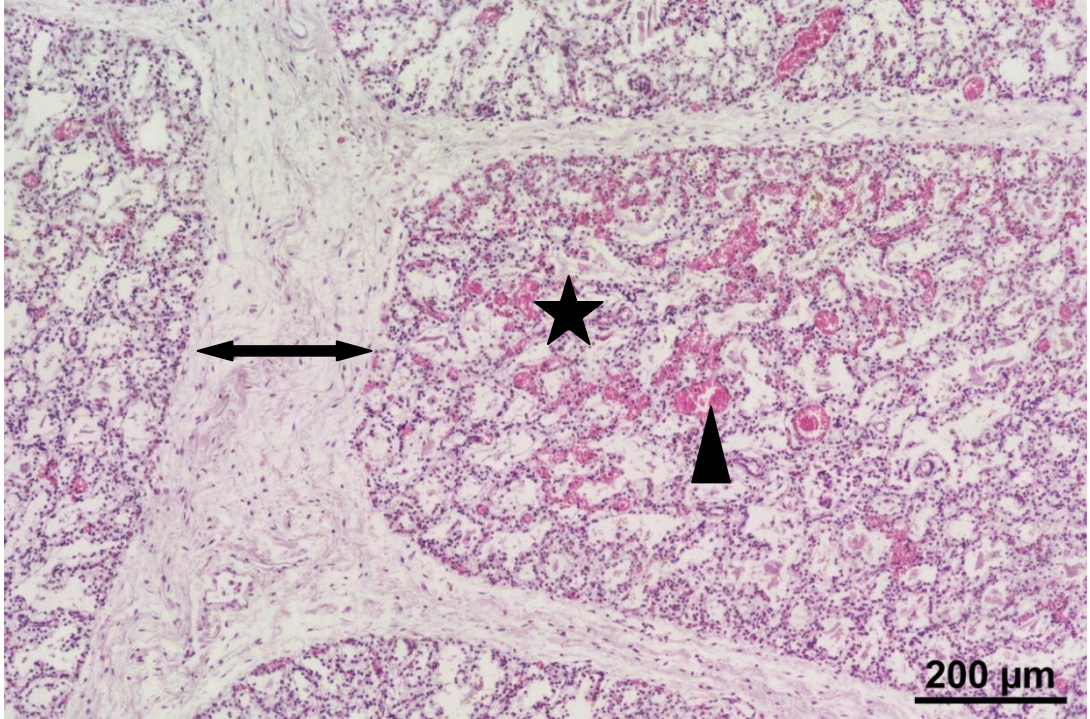
**Şekil 4.4.** Aborte fetüs akciğeri, alveol boşluklarda (yıldız) ve bronşiol lümeninde (ok) nötrofil lökositler ve makrofajlardan zengin eksudat, hiperemi (ok başı), HE.



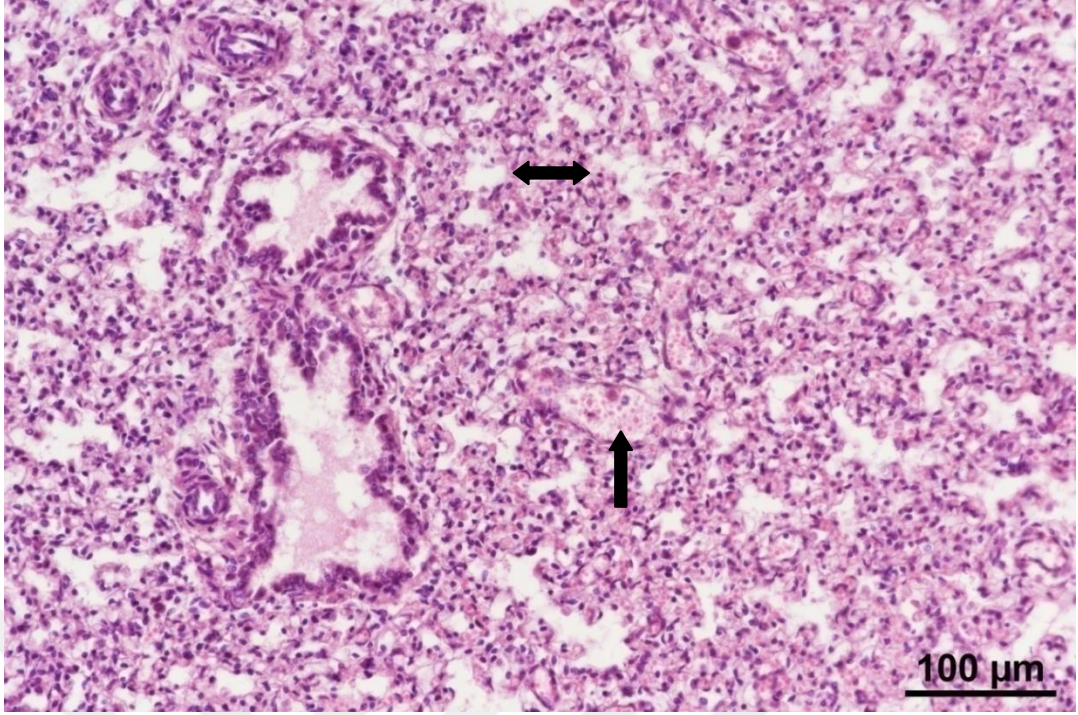
**Şekil 4.5.** Aborte fetüs akciğerinde interlobular septumda genişleme (çift başlı ok) ve alveol boşluklarda (yıldız) yangısal hücre eksudasyonu, HE.



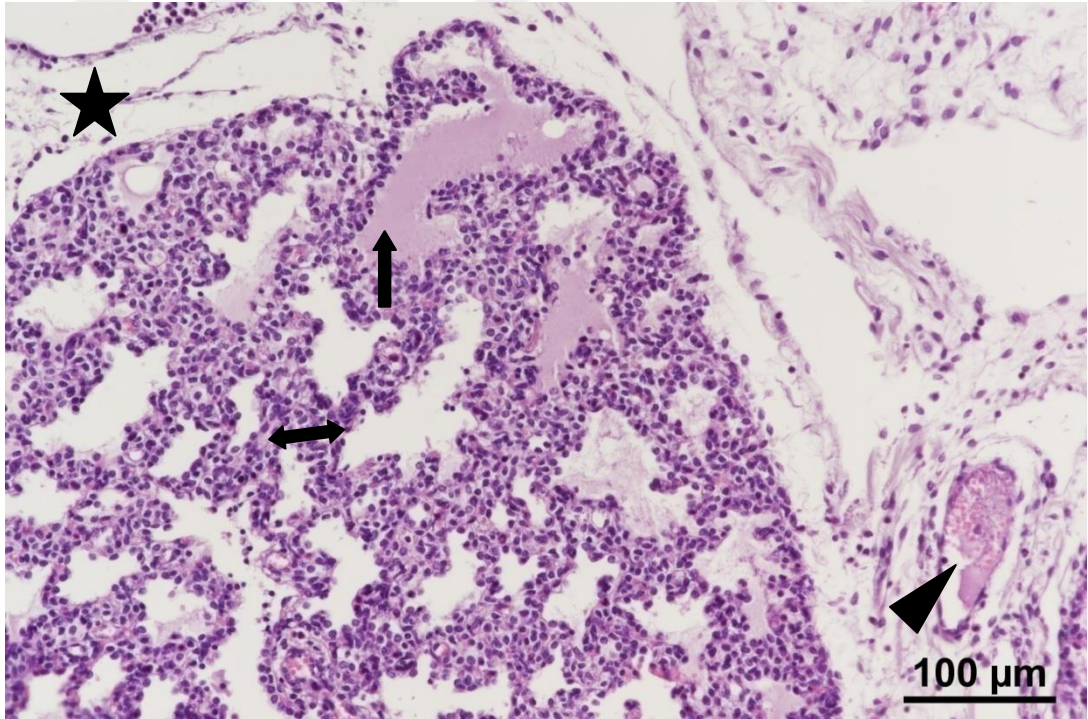
**Şekil 4.6.** Aborte fetüs akciğeri, interalveoler septumda kalınlaşma (ok başı) ve ödem (ok), hiperemi (yıldız), HE.



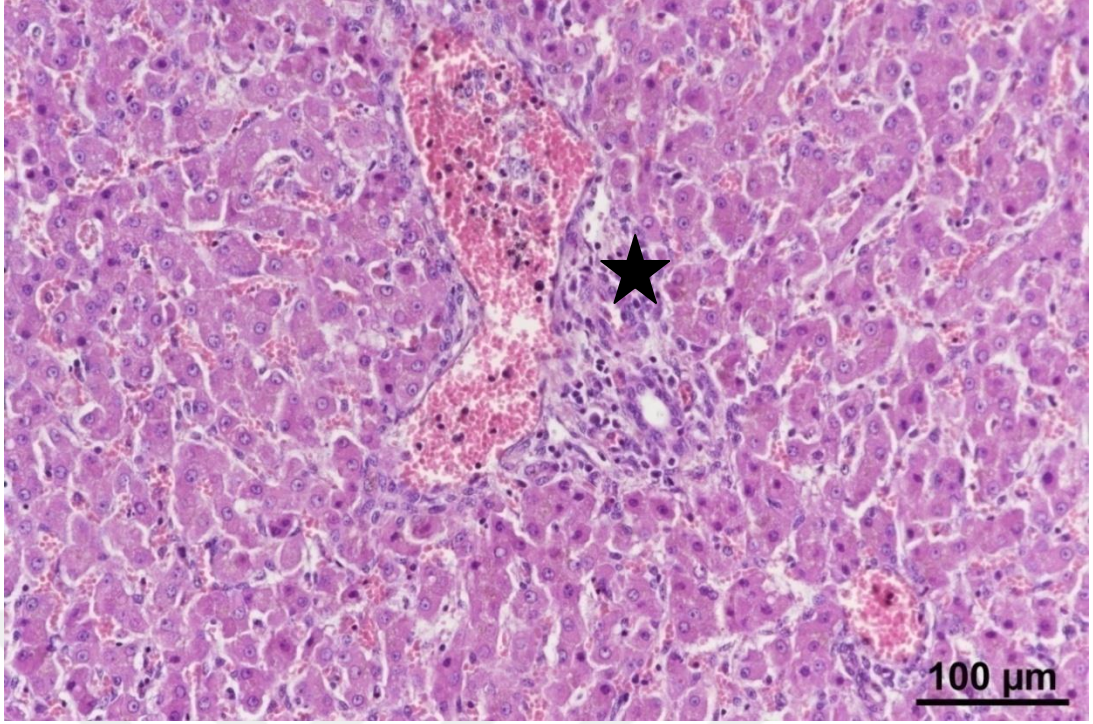
**Şekil 4.7.** Aborte fetüs akciğeri, İnterlobuler septumlarda genişleme (çift başlı ok), interalveoler kapillar damarlarda hiperemi (ok başı) ve kanama (yıldız), HE.



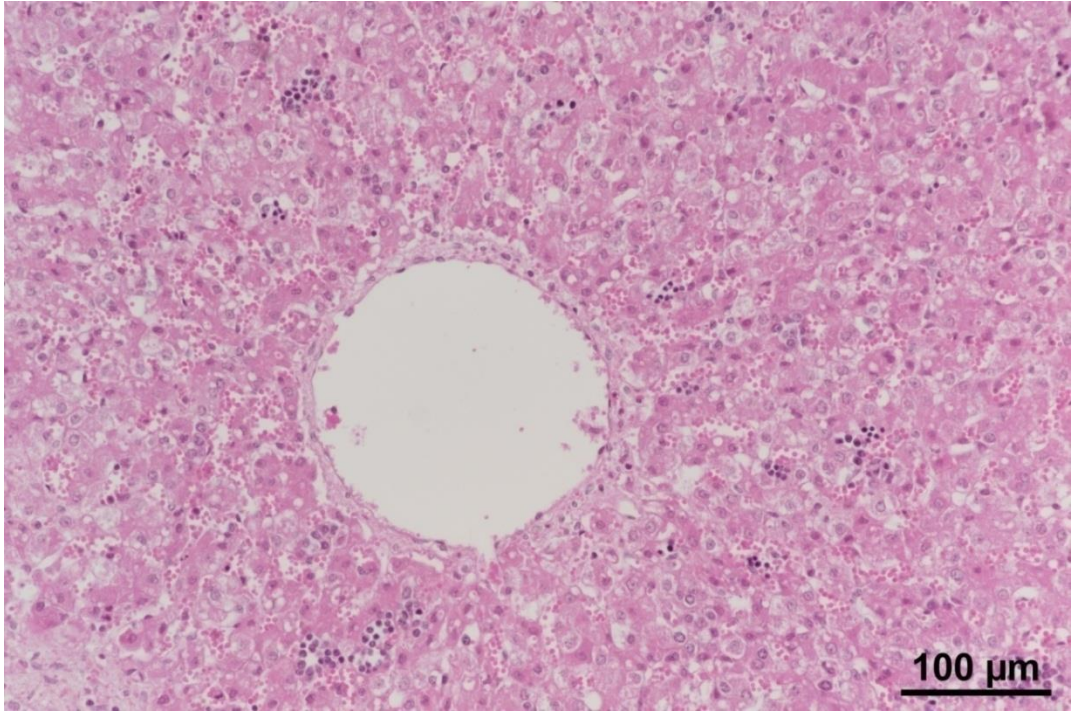
**ŞEKİL 4.8.** Aborte fetüs akciğeri, alveoller septumda kalınlaşma (çift başlı ok), hiperemi(ok), HE.



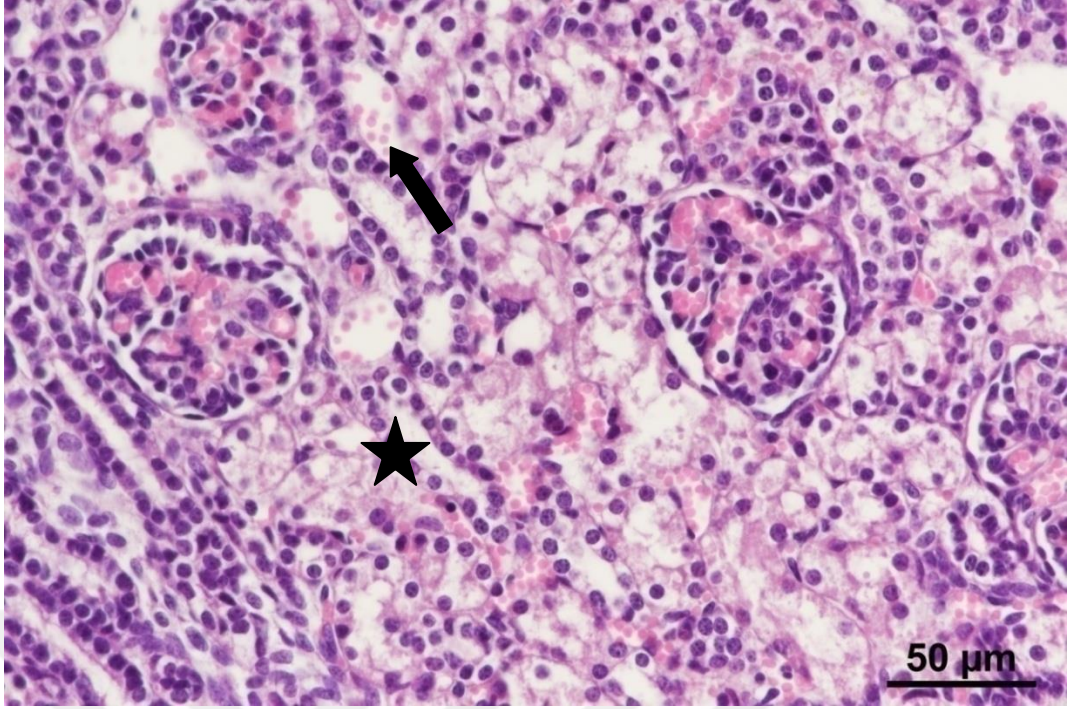
**ŞEKİL 4.9.** Aborte fetüs akciğeri ,alveol boşlukta ödem (ok), interalveollar septumda kalınlaşma (çift başlı ok), hiperemi (ok başı), plöritis (yıldız), HE.



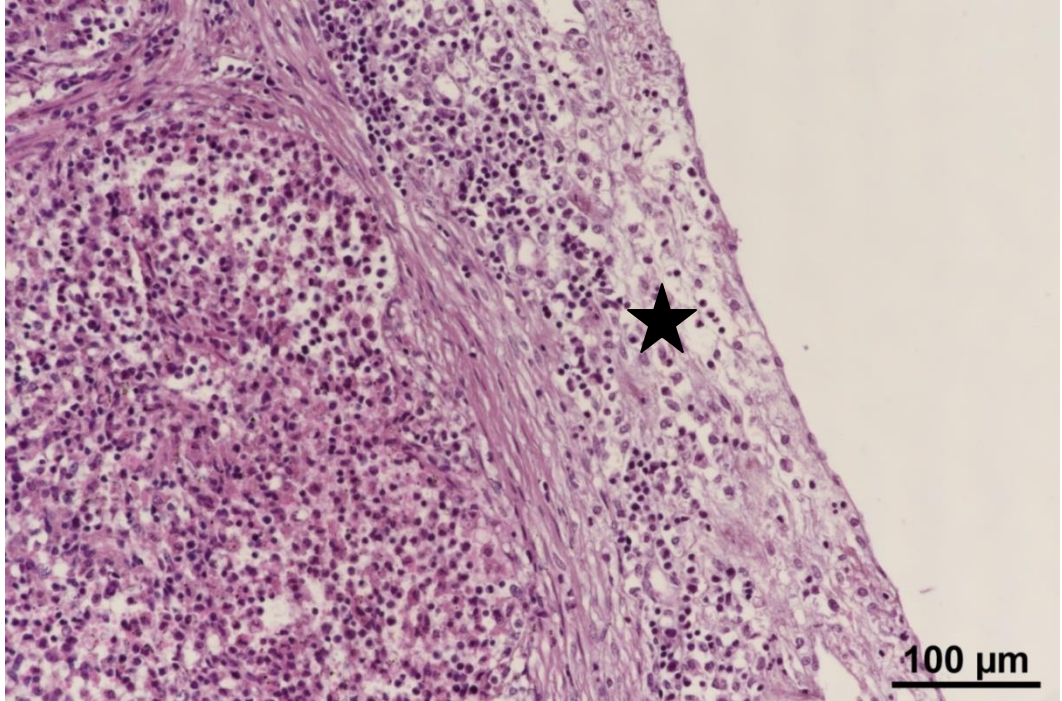
**Şekil 4.10.** Aborte fetüs karaciğer, portal alanda mononükleer hücre infiltrasyonu (yıldız), remark kordon dizilişinde bozulma, sinuzoidlerde genişleme, HE.



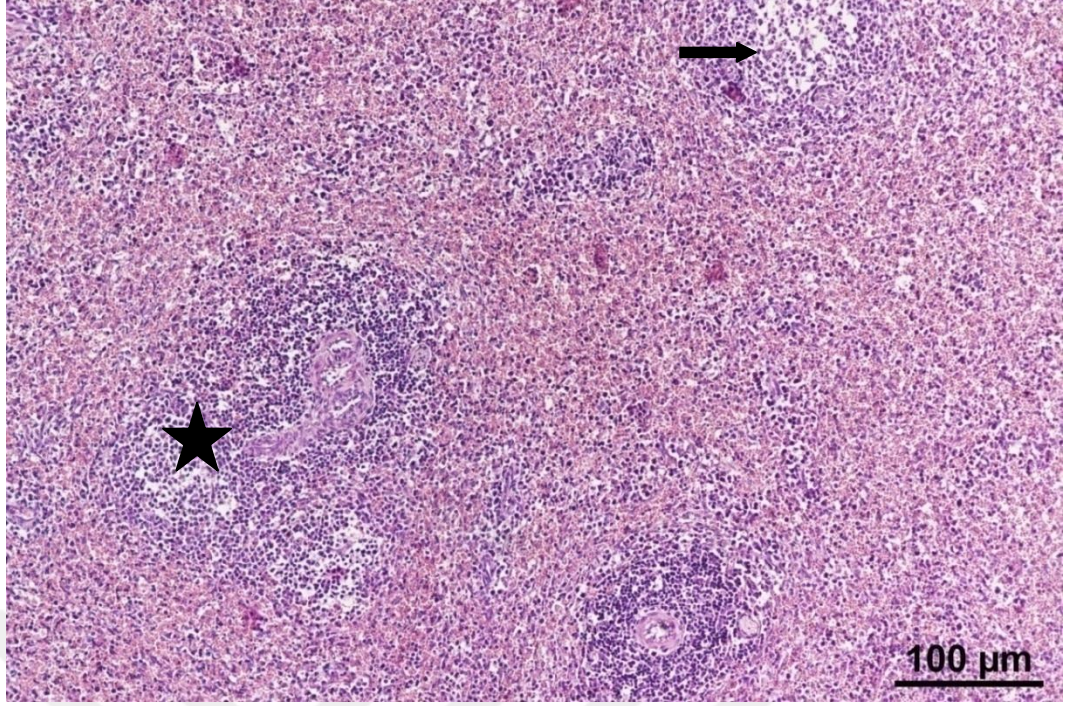
**Şekil 4.11.** Aborte fetüs karaciğer, hepatositlerde dejenerasyon ve nekroz, HE.



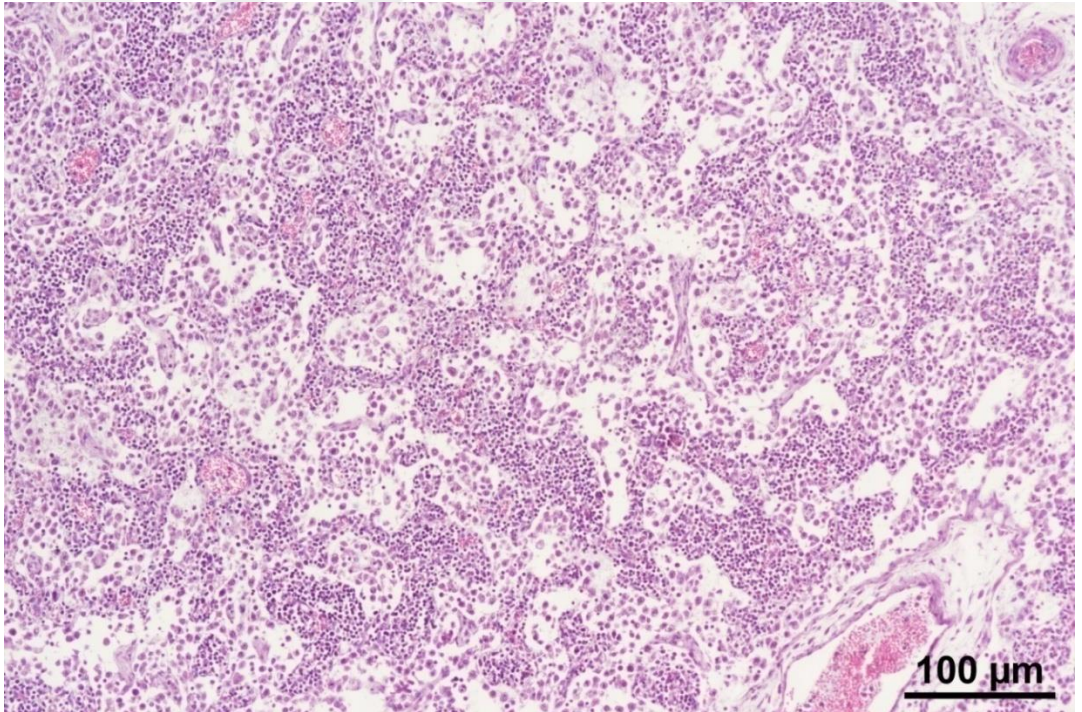
**Şekil 4.12.** Aborte fetüs böbreklerde tubul epitellerinde dejenerasyon (yıldız) ve hiperemi (ok), HE.



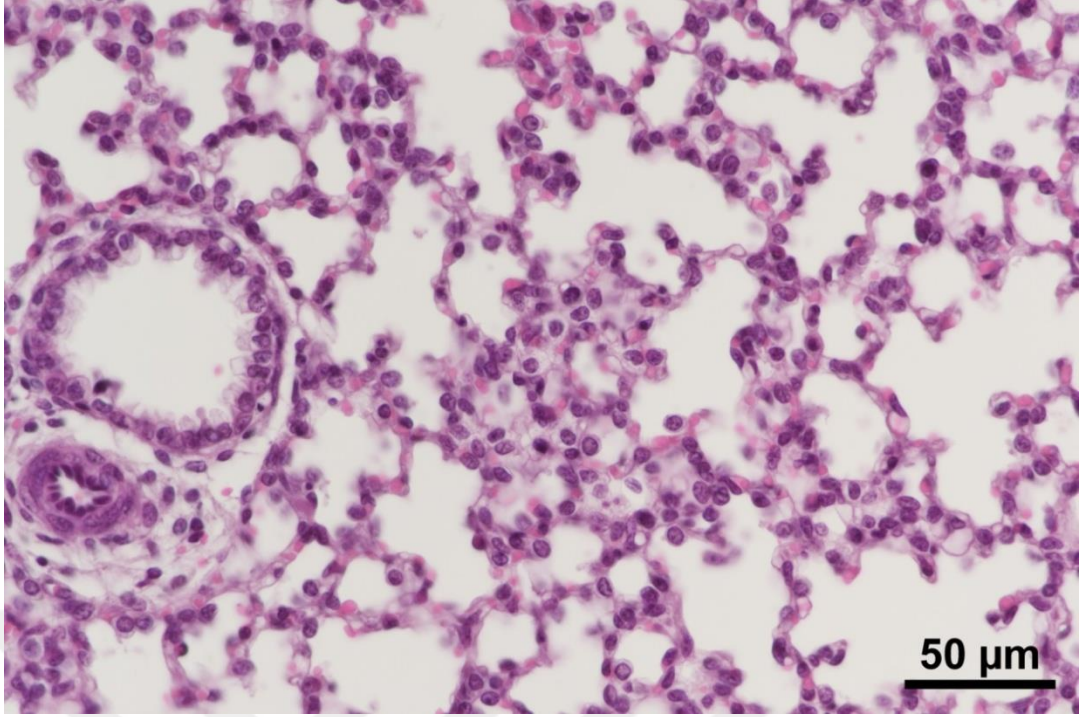
**Şekil 4.13.** Aborte fetüs dalak, perisplenitis (yıldız), HE.



**Şekil 4.14.** Aborte fetüs dalakta vaskulitis (yıldız) ve lenfoid foliküllerde boşalma (ok), HE.



**Şekil 4.15.** Aborte fetüs lenfoid foliküllerde kortikal bölgede boşalma, makrofaj infiltrasyonu, HE.



Şekil 4.16. Sağlıklı fetüs akciğer alveoller gelişimi, HE.

### 4.3. İmmunohistokimyasal Bulgular

İmmunohistokimyasal incelemede *B. melitensis* ile doğal enfekte 30 fetal akciğer örneği incelenmiş ve sonuçlar Tablo 4.1. de verilmiştir. *B. melitensis* antijenleri çalışmayı oluşturan 30 olgunun tamamında pozitif olup çoğunlukla bronşiol lümeni ve alveoler boşlukta bulunan makrofajların (Şekil 4.17, Şekil 4.18, Şekil 4.19, Şekil 4.20) ve bronşiyol epitel hücrelerinin sitoplazmasında lokalize olmuşlardı.

SP-A, 3 olguda pömonili akciğerler (3/12), 2 olguda sadece septumların kalın olduğu akciğerler (2/18) olmak üzere *B. melitensis* pozitif olan toplam 30 akciğerin sadece 5'inde (5/30) immun pozitif. SP-A immun pozitif boyanma, alveol lümeni (Şekil 4.22, Şekil 4.23), alveoler tip II pnömosit ve alveollar makrofajlarda (Şekil 4.21, Şekil 4. 24) yerleşim gösterip, sınırlı ve az miktardaydı.

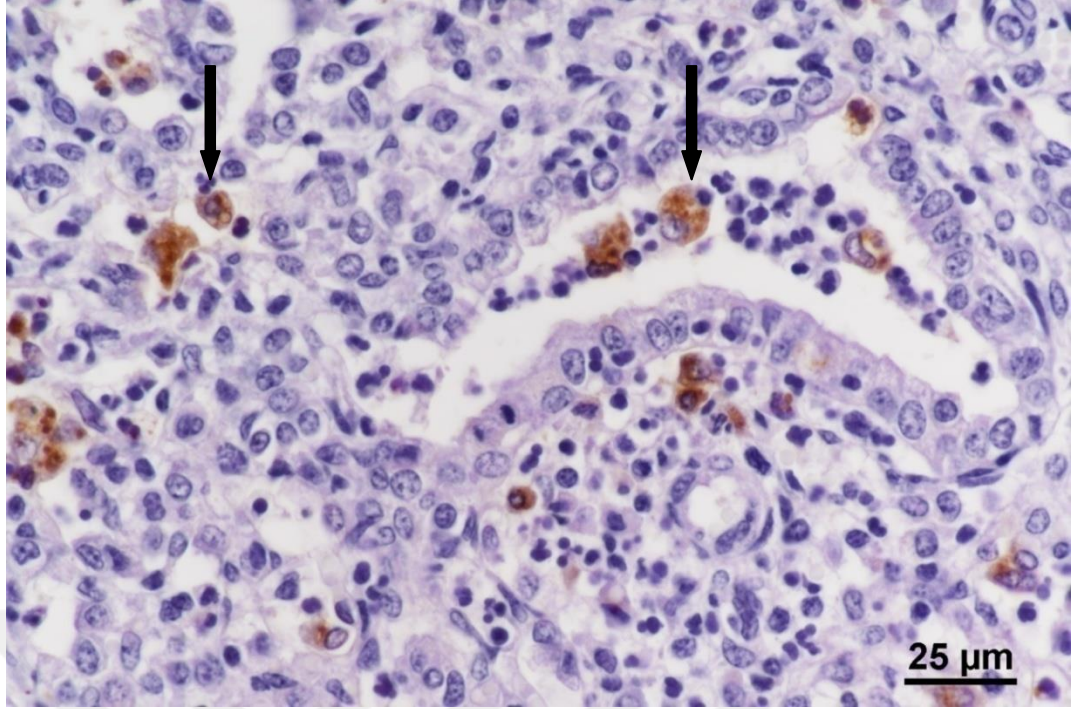
IL-1, *B. melitensis* pozitif olan toplam 30 akciğerin tamamında (30/30) immun pozitif. IL-1, enfekte fetal akciğerlerin tamamında genişlemiş interalveolar septum ile interlobuler alandaki makrofajlar, damar endotel hücreleri ile tip II pnömositlerin sitoplazmasında (Şekil 4.25, Şekil 4.31, Şekil 4.32) ve bronkopnömonili akciğerlerde alveol, bronş ve bronşiyol lümeninde (Şekil 4.26, Şekil 4, 27, Şekil 4.28, Şekil 4. 29, Şekil 4.30) bulunan hücrel infiltrasyonlarda ve damar endotel hücrelerinde immun pozitif.

Antiinflamatuvar sitokin IL-10, interalveoler septumların kalın olduğu 3 olguda akciğerlerde az sayıda intersitisyel ve alveoler makrofajda (Şekil 4.33, Şekil 4.34, Şekil 4.36) ve bronş, bronşiyol epitel hücrelerinde (Şekil 4.33, Şekil 4.34, Şekil 4.35) pozitif boyandı. Sağlıklı 4 adet kontrol grubu akciğerde ise SP-A, IL-1 ve IL-10 immun pozitif boyanma çok hafif ya da hiç gözlenmedi.

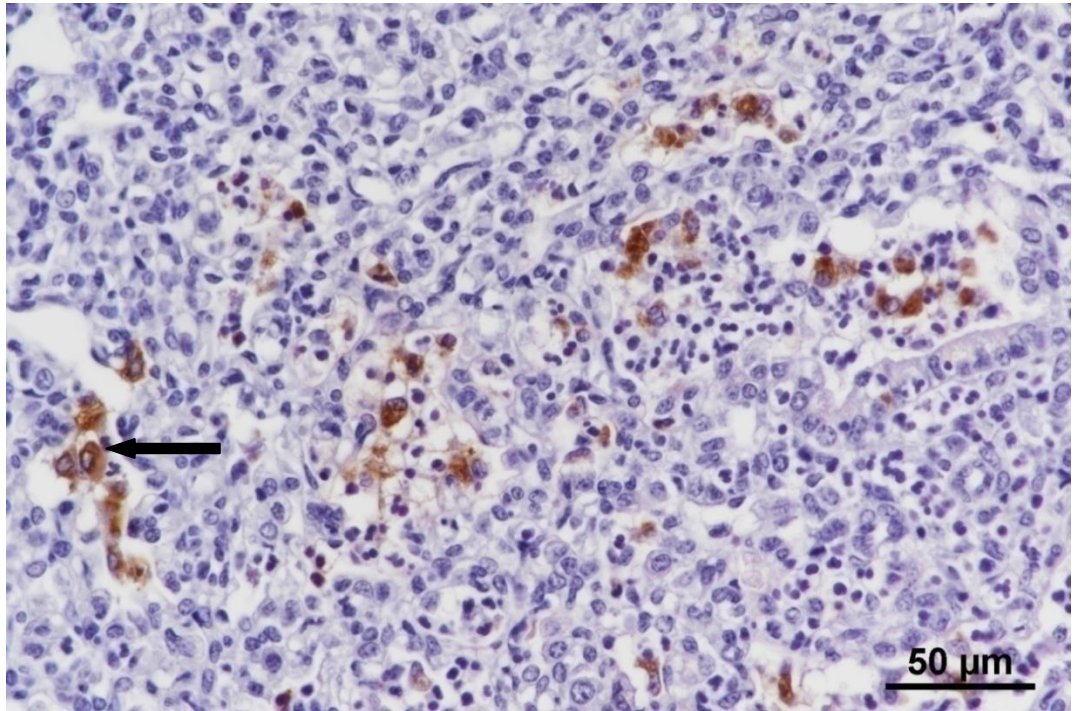
**TABLO 4.1.** İmmunohistokimyasal Bulgular

| Vaka No | <i>B. melitensis</i> | IL-1 | IL-10 | SP-A |
|---------|----------------------|------|-------|------|
| 1       | +                    | +    | -     | -    |
| 2       | +                    | +    | -     | -    |
| 3       | +                    | +    | -     | +    |
| 4       | +                    | +    | -     | +    |
| 5       | ++                   | ++   | +     | +    |
| 6       | ++                   | ++   | -     | +    |
| 7       | +                    | +    | -     | -    |
| 8       | +                    | +    | -     | -    |
| 9       | +++                  | +++  | +     | -    |
| 10      | ++                   | +    | -     | -    |
| 11      | +                    | +    | -     | -    |
| 12      | +++                  | +++  | -     | -    |
| 13      | ++                   | ++   | -     | -    |
| 14      | +                    | +    | -     | -    |
| 15      | +++                  | +++  | +     | -    |
| 16      | +                    | +    | -     | -    |
| 17      | +                    | +    | -     | -    |
| 18      | +                    | +    | -     | -    |
| 19      | ++                   | ++   | -     | -    |
| 20      | ++                   | ++   | -     | -    |
| 21      | +                    | +    | -     | -    |
| 22      | +                    | +    | -     | -    |
| 23      | ++                   | ++   | -     | -    |
| 24      | +                    | +    | -     | -    |
| 25      | ++                   | ++   | -     | +    |
| 26      | ++                   | ++   | -     | -    |
| 27      | +                    | +    | -     | -    |
| 28      | +                    | +    | -     | -    |
| 29      | +                    | +    | -     | -    |
| 30      | +                    | +    | -     | -    |

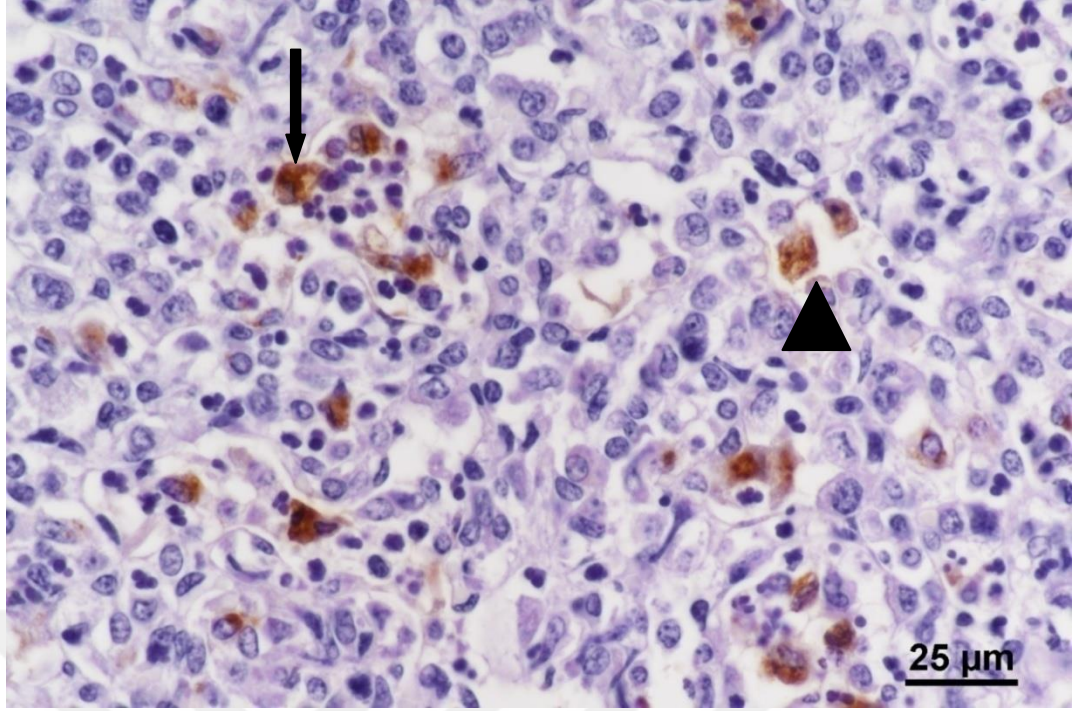
Negatif (-), Hafif (+), Orta ( ++), Şiddetli (+++)



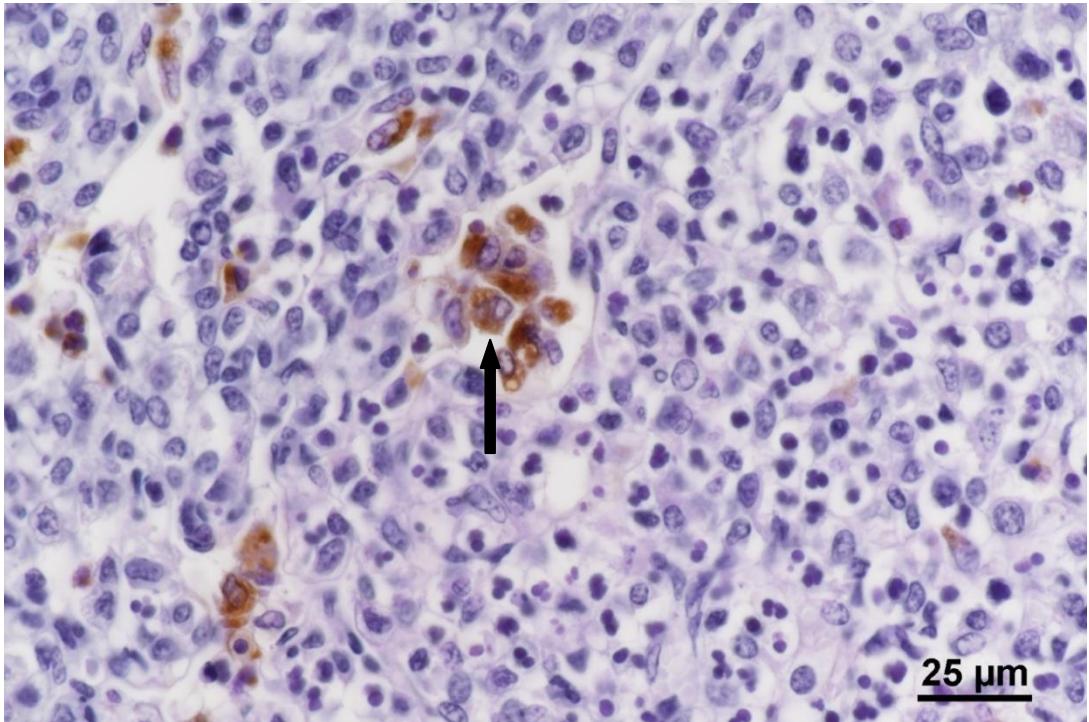
Şekil 4.17. Aborte fetüs akciğer dokusunda, alveol ve bronşiol lümeninde makrofajların sitoplazmasında (ok) *B. melitensis* immun pozitif boyanma, IHC.



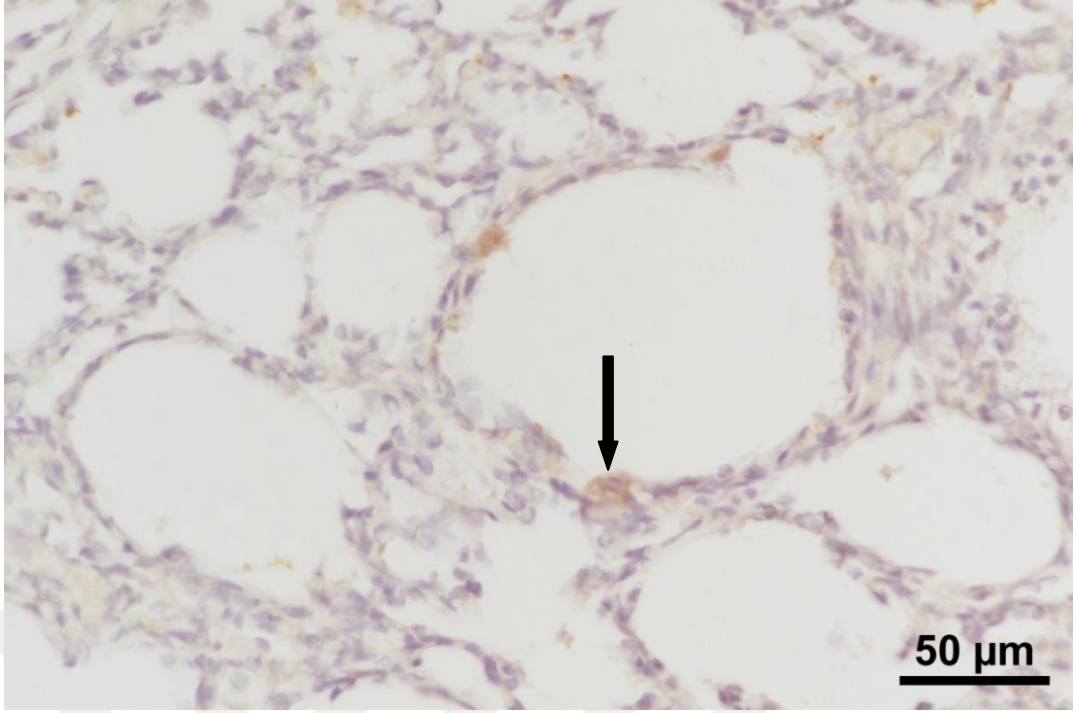
Şekil 4.18. Aborte fetüs akciğer dokusu, bronkopnömonili akciğerde alveoler makrofaj sitoplazmalarında (ok) *B. melitensis* immun pozitif boyanma, IHC.



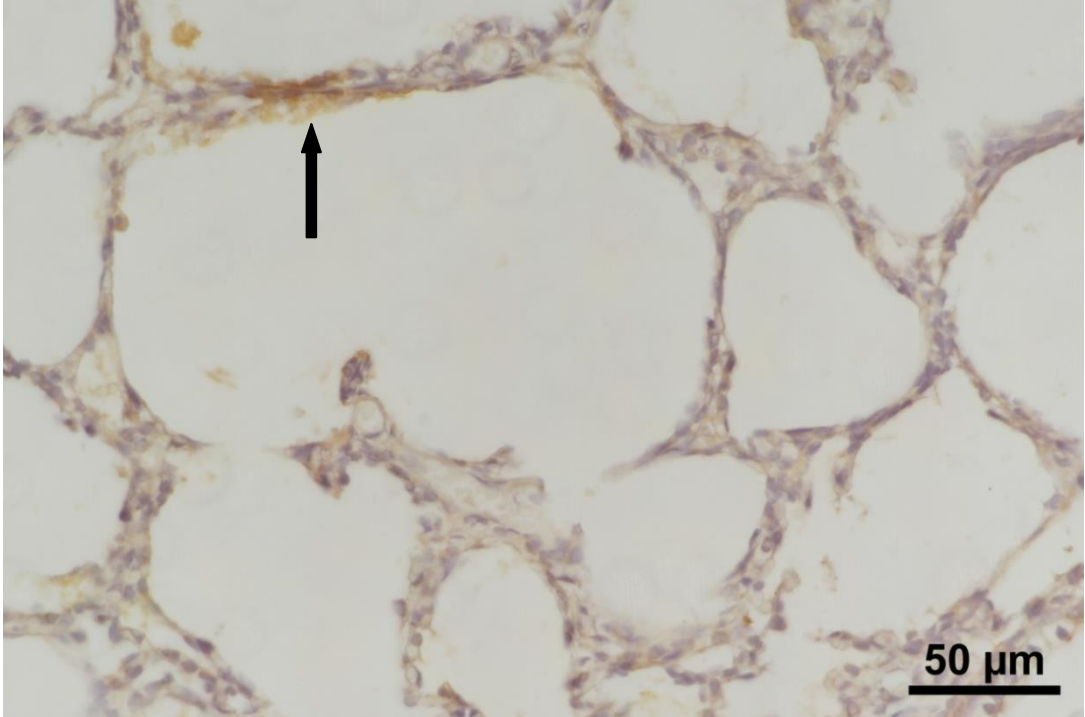
**Şekil 4.19.** Aborte fetüs akciğer dokusu, alveol boşluklarda hücre kalıntıları (ok başı) ile makrofajlarda (oklar) *B. melitensis* immun pozitif boyanma, IHC.



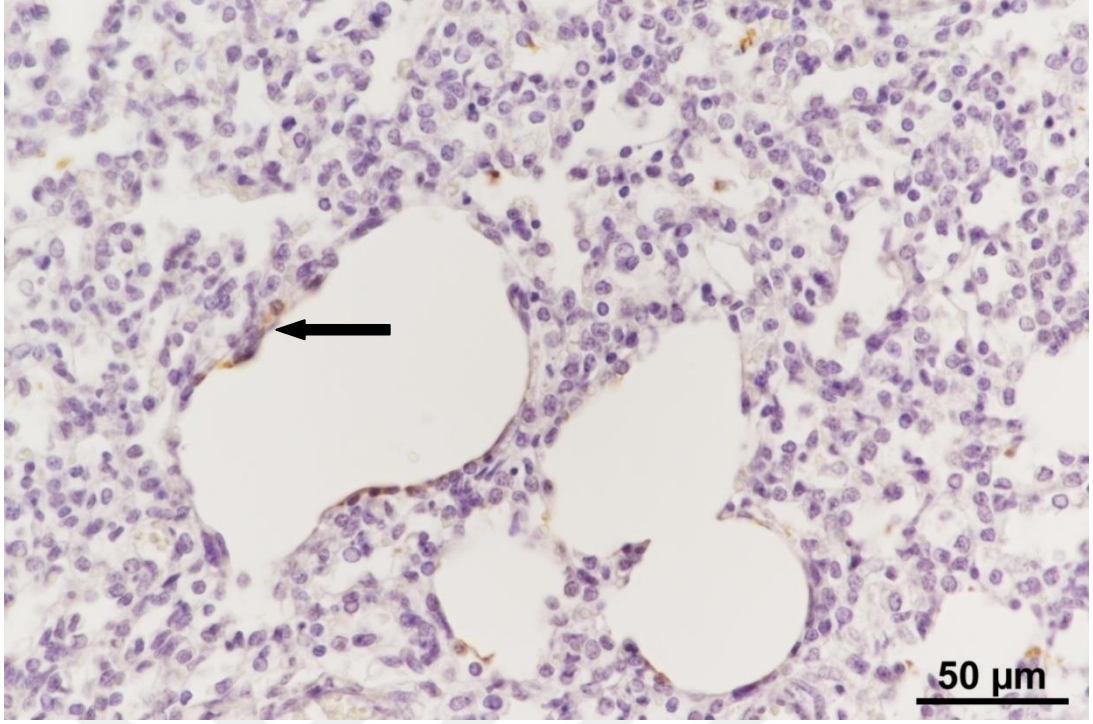
**Şekil 4.20.** Aborte fetüs akciğer dokusu, alveoler makrofajlarda (ok) *B. melitensis* immun pozitif boyanma, IHC.



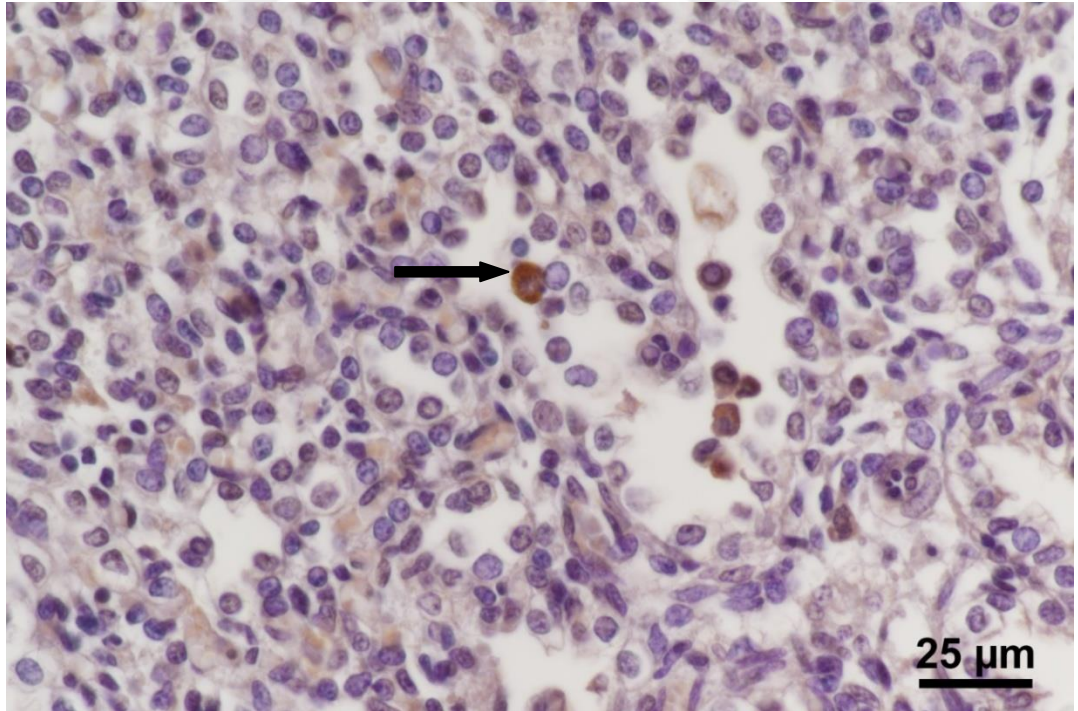
**Şekil 4.21.** Aborte fetüs akciğer dokusu, alveolar tip II epitel hücrelerinde (ok) SP-A immun pozitif boyanma, IHC.



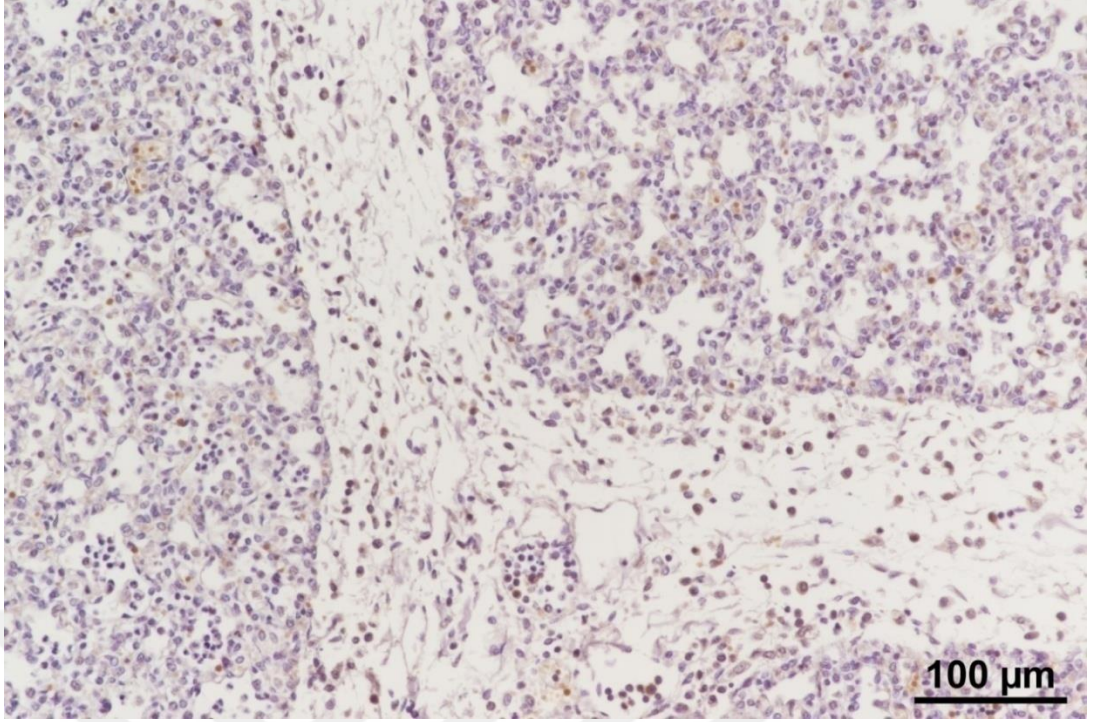
**Şekil 4.22.** Aborte fetüs akciğer dokusu, alveolde (ok) SP-A immun pozitif boyanma, IHC.



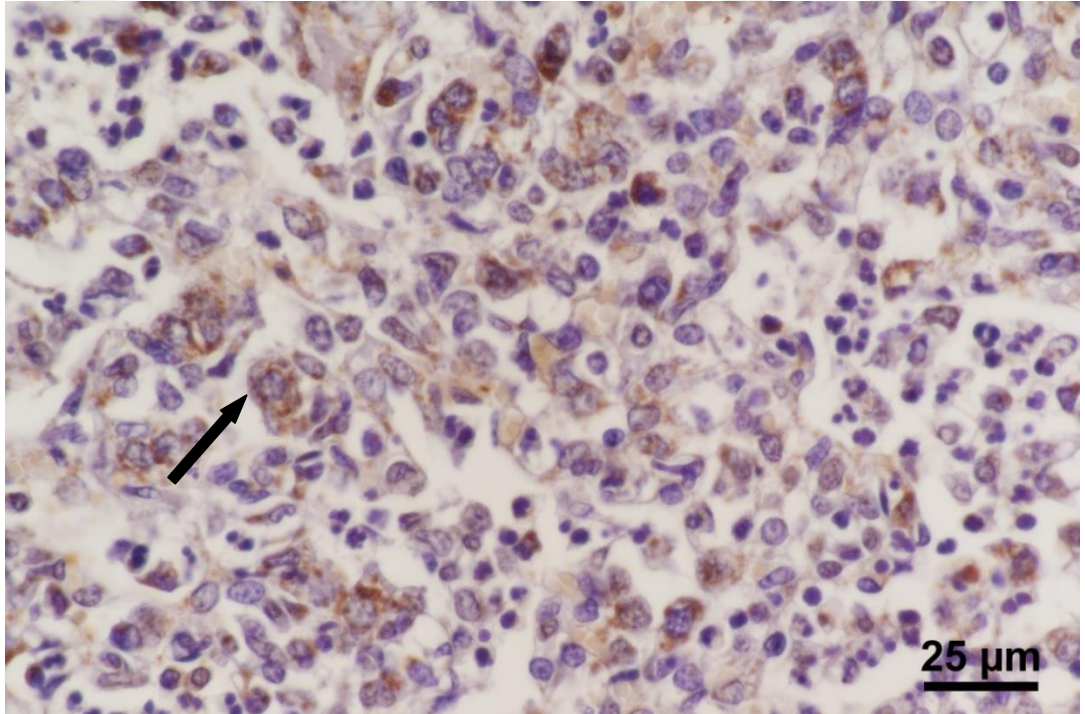
**Şekil 4.23.** Aborte fetüs akciğer, alveol epitel hücrelerinde (ok) SP-A immun pozitif boyanma, IHC.



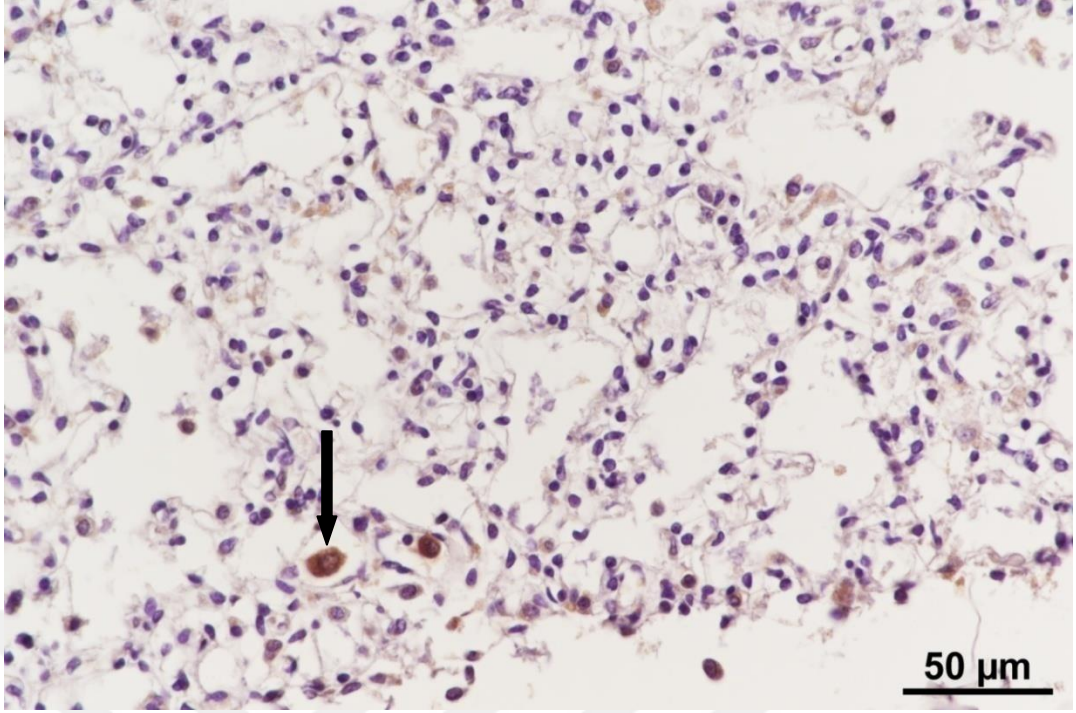
**Şekil 4.24.** Aborte fetüs akciğer, alveollar makrofaj sitoplazmada (ok) SP-A immun boyanma, IHC.



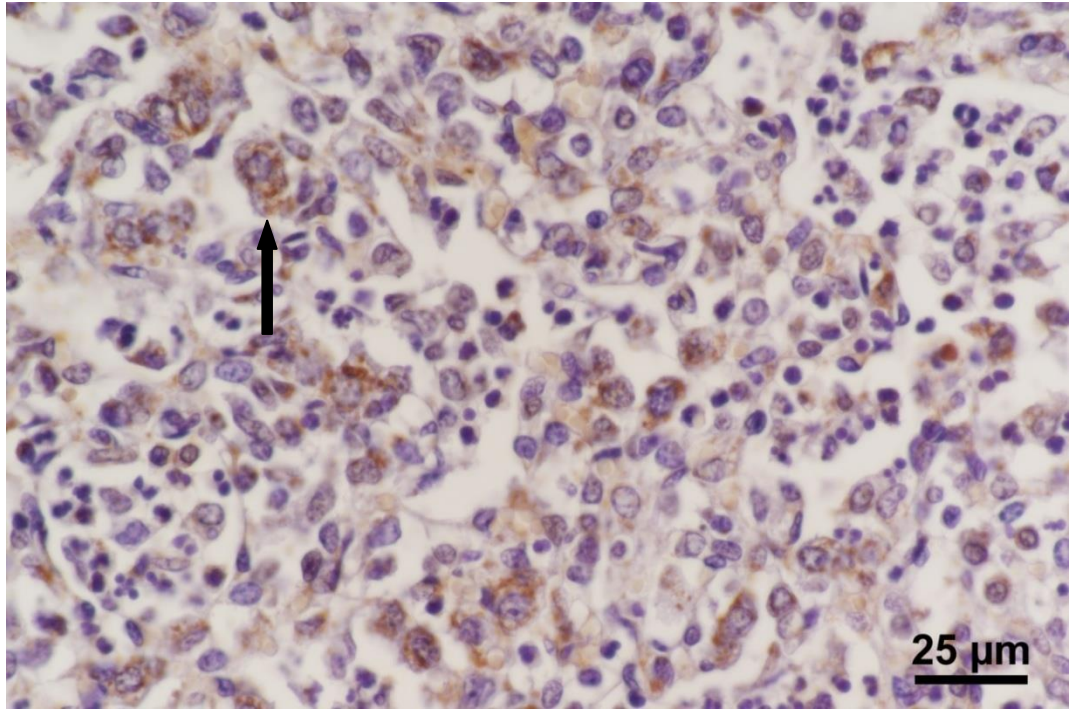
Şekil 4.25. Aborte fetüs akciğer, interlobüler alanda ve alveollerde nötrofil lökositler ile makrofajlarda IL-1 immun pozitif boyanma, IHC.



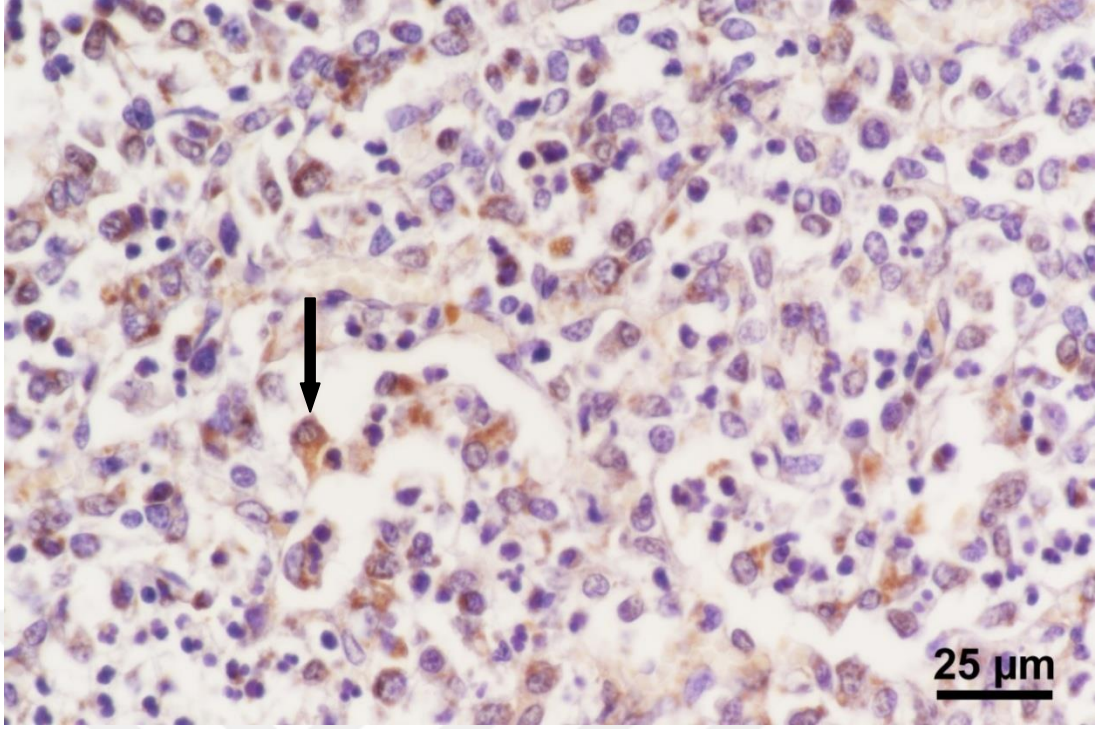
Şekil 4.26. Aborte fetüs akciğer, alveol lümenlerindeki makrofaj sitoplazmalarında (ok) IL-1 immun pozitif boyanma, IHC.



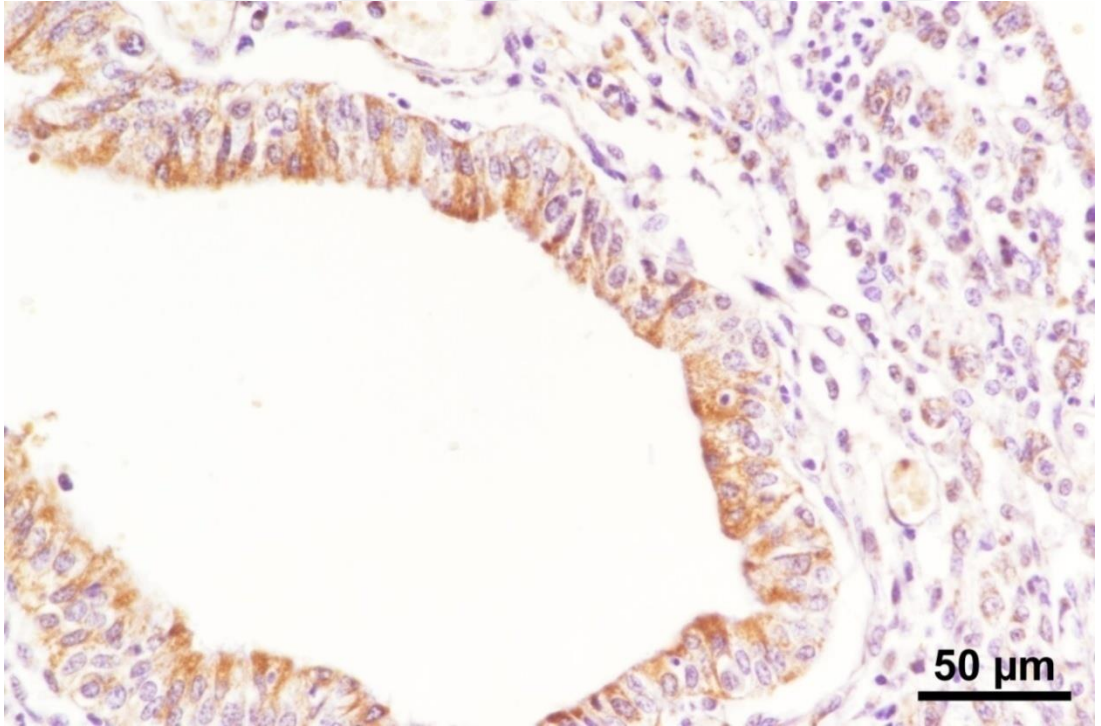
**Şekil 4.27.** Bronkopnömoni şekillenmemiş, sadece septumların kalınlaştığı fetal akciğerlerde, alveoler makrofajlarda (ok) IL-1 immun pozitif boyanma, IHC.



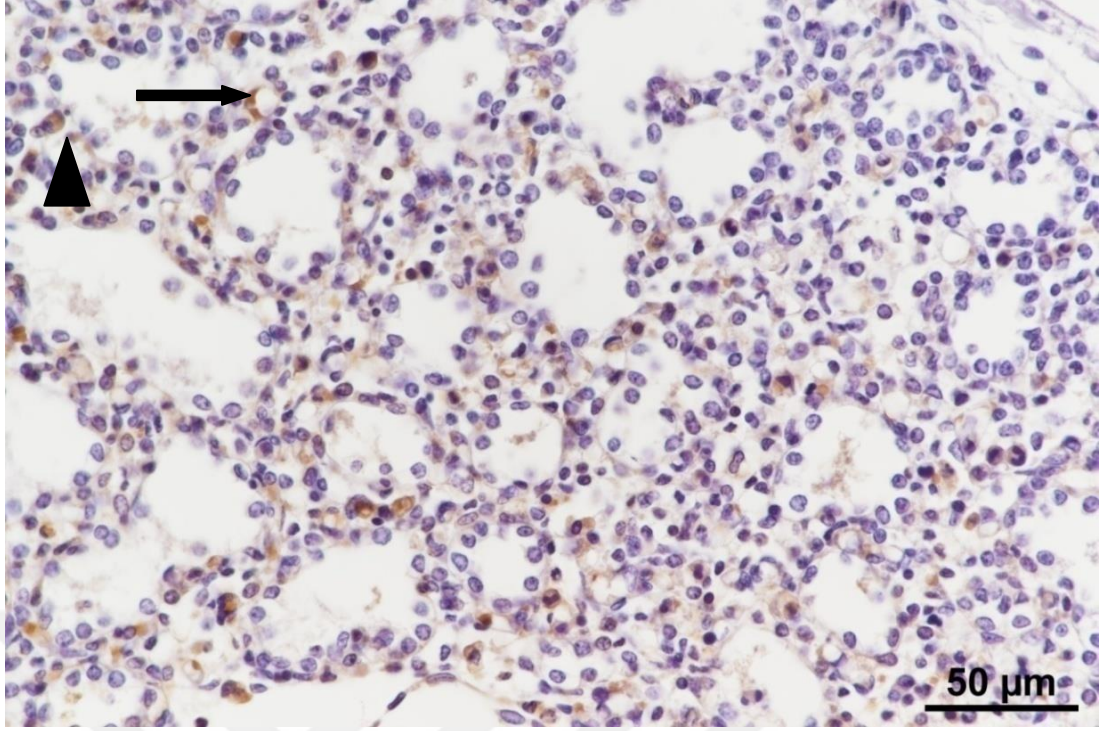
**Şekil 4. 28.** Bronkopnömonili fetal akciğerlerde alveol makrofajlarda IL-1 immun pozitif boyanma, IHC.



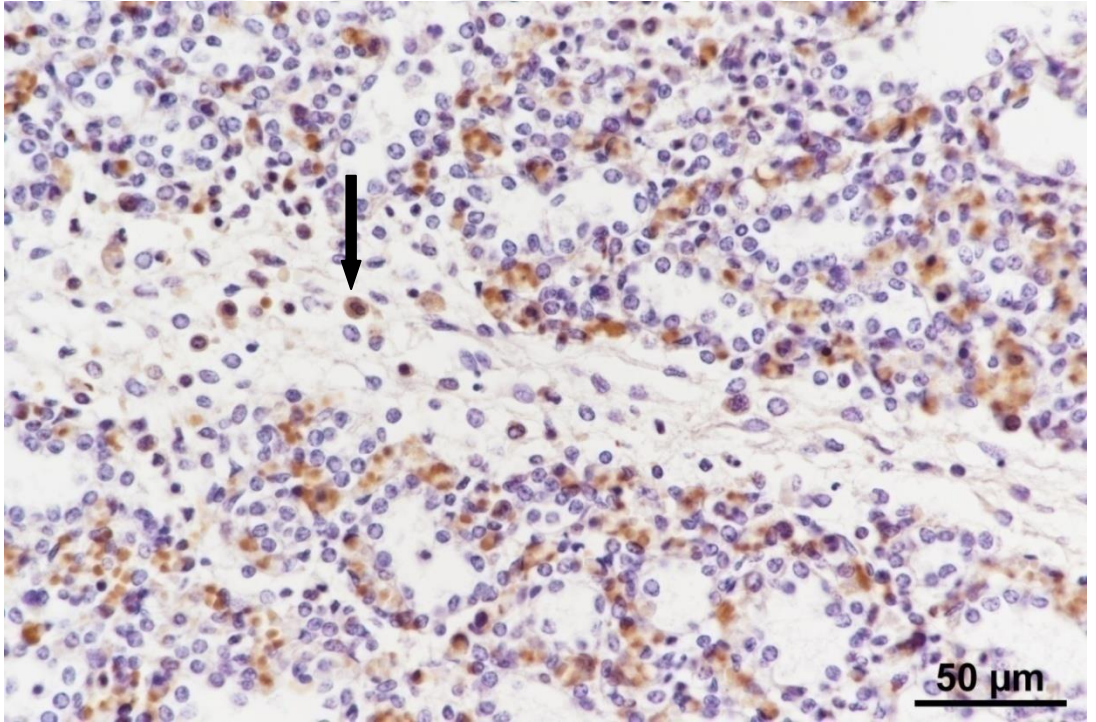
**Şekil 4.29.** Aborte fetüs akciğer, alveollar makrofajların sitoplazmalarında (ok) IL-1 immun pozitif boyanma, IHC.



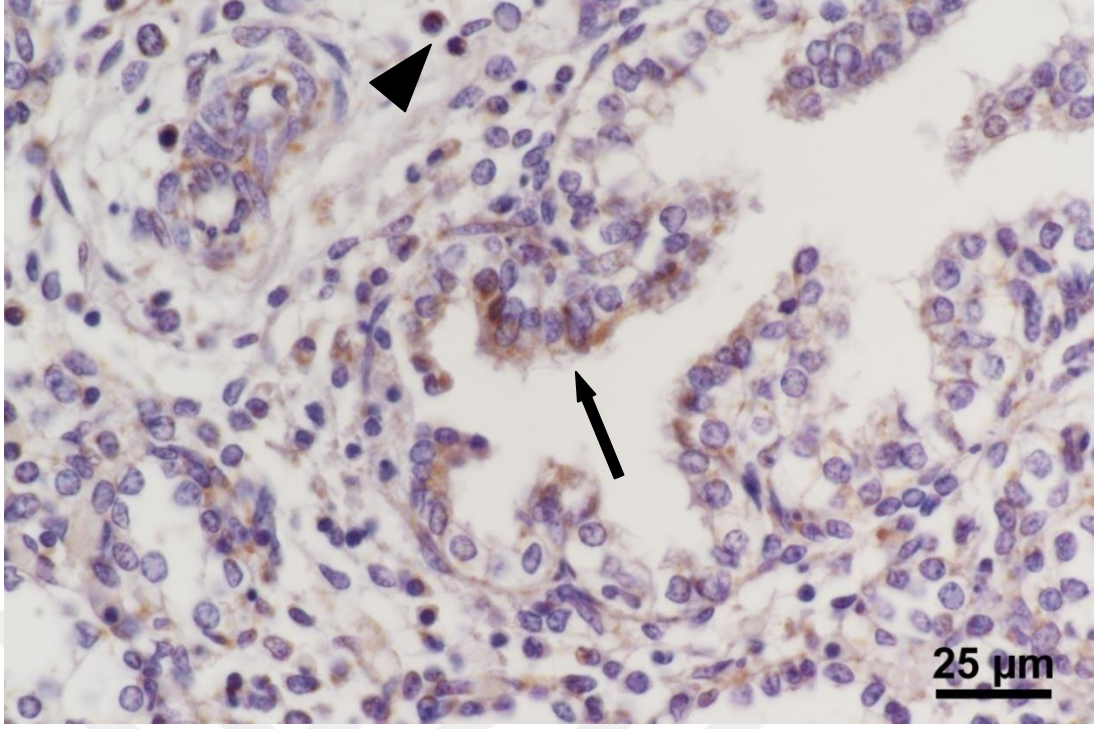
**Şekil 4.30.** Aborte fetüs akciğer, bronşiol epitel hücrelerinde IL-1 immun pozitif boyanma, IHC.



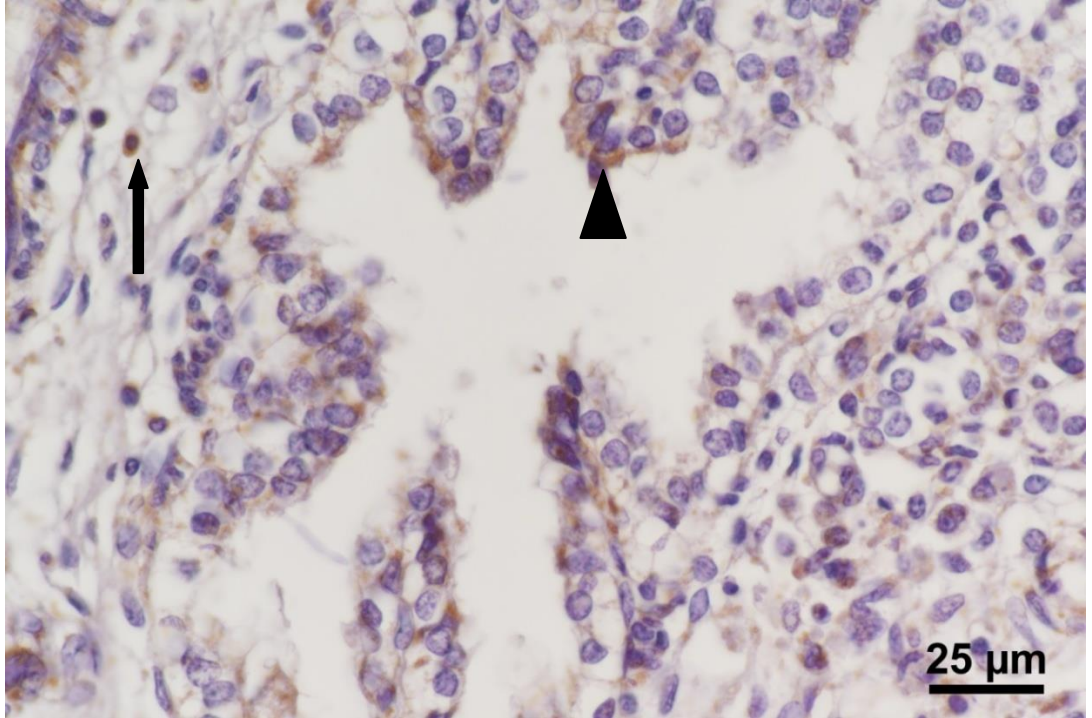
Şekil 4.31. Aborte fetüs akciğer, alveollar septumda interstisyel makrofajların sitoplazmasında (ok başı) ve endotel hücrelerinde (ok) IL-1 immun pozitif boyanma, IHC.



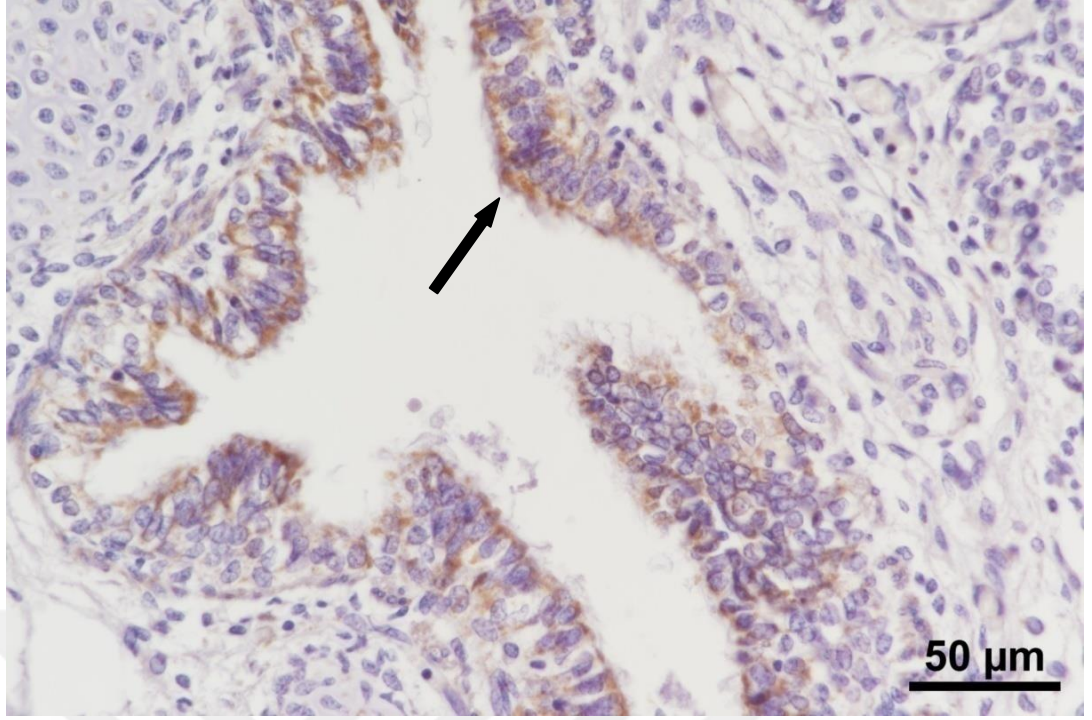
Şekil 4.32. Aborte fetüs akciğer, interalveoler ve interlobuler septumlardaki makrofaj (ok) ve damar endotel hücrelerinin sitoplazmalarında IL-1 immun pozitif boyanma, IHC.



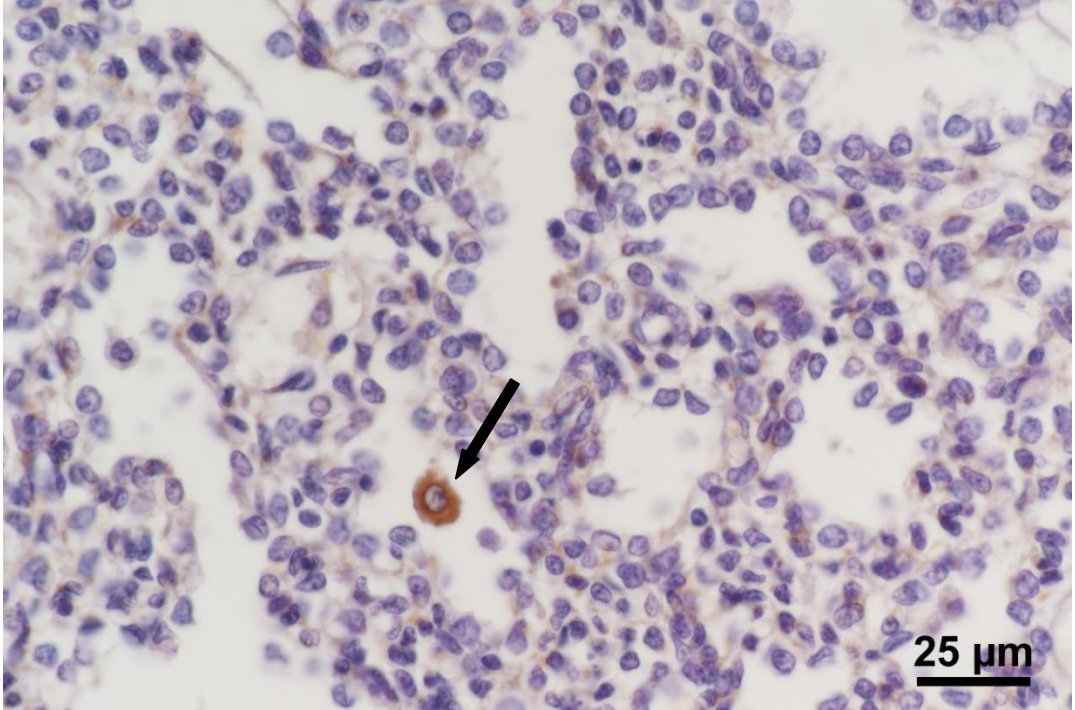
**Şekil 4.33.** Aborte fetüs akciğer, bronşiol epitel hücrelerinde (ok) ve makrofaj hücrelerde (ok başları) IL-10 immün pozitif boyanma, IHC.



**Şekil 4.34.** Aborte fetüs akciğer, makrofaj sitoplazmaları (ok) ile bronşiol epitel (ok başı) hücrelerinde immün pozitif IL-10 boyanma, IHC.



Şekil 4.35. Aborte fetüs akciğer, bronş epitel hücrelerinde (ok) IL-10 immun pozitif boyanma, IHC.



Şekil 4.36. Fetal akciğer, az sayıda alveoller makrofaj sitoplazmalarında IL-10 immun pozitif boyanma, IHC.

## 5. TARTIŞMA

İntrauterin enfeksiyonlara maruz kalarak erken doğumu gerçekleştiren fetüslerin çoğunda aşırı inflamatuvar sitokin salgılanmasına bağlı olarak başta BPD'ye sebep olan akciğer hasarı ile serebral palsi gibi nörolojik bozukluklara yol açan beyin hasarı olmak üzere birçok doku ve organda hasar şekillenebildiği bildirilmektedir (Kim ve ark., 2015). Ancak bu yangısal sürecin mikroorganizmanın özelliğine, konakçıya, enfeksiyon şekillenme yolu ve zamanına bağlı olarak değişebildiği de kaydedilmektedir (Redline, 2004). BPD, akciğerin özellikle alveolarizasyon aşamasından önceki kanaliküler ve sakküler evrelerinde doğanlarda, akciğer gelişiminin tamamlanamaması sonucu SP'lerin eksikliği ve proinflamatuvar sitokinlerin sürekli artışına bağlı olarak şekillenen, proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler arasındaki dengenin bozulmasıyla karakterize olan, oldukça yaygın görülen pulmoner bir komplikasyondur (Jung ve ark., 2020; Speer, 2006). İntrauterin enfeksiyonlarda amniyon sıvısında artan IL-1 gibi proinflamatuvar sitokinler ya da deneysel olarak amniyon sıvısına yapılan IL-1 enjeksiyonları, erken doğum riskini arttırmaktadır. Hayvan türüne göre değişmekle birlikte özellikle doğuma yakın süreçte enfeksiyon şekillenirse IL-1, sürfaktan protein sentezini arttırarak, prematüre erken doğumlarda RDS riskini azaltabilmektedir (Jung ve ark., 2020; Thomas ve Speer, 2011). İntrauterin enfeksiyon sonucu oluşan yangının, fetal ve neonatal süreçte başta beyin ve akciğer olmak üzere diğer bazı doku ve organların gelişiminde etkisi olduğu bilinmesine karşın fetal ve neonatal akciğer gelişimindeki kesin rolü yeterince açıklığa kavuşturulamamıştır (Pan ve ark., 2018). Bu nedenle çalışmada *B. melitensis* ile doğal enfekte hayvanlarda oluşan intrauterin enfeksiyonda sitokinlerin muhtemel rolü ve akciğer hasarına etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Pömoni bulgusu bu çalışmada olduğu gibi pek çok çalışmada atık fetüste en çok gözlenen bulgulardandır (Simten ve ark., 2018; Sözmen ve ark., 2004; Sözmen ve ark., 2010). *B. melitensis* ile yapılan daha önceki fetal çalışmalarla (AL-tememy ve ark., 2013; Bayu, 2018; Simten ve ark., 2018) uyumlu olarak, bu çalışmada fetüslerin akciğer dokularında 12 olguda (%40'ın da) hiperemi, alveol ve bronş

lümenlerinde yoğun makrofaj ve nötrofil lökositlerden zengin eksudat gözlendi. İnterlobüler alan makrofajlarca zengin eksudat ile genişlemişti. On sekiz olguda (%60) ise damarlar değişen şiddette hiperemik olup, interalveoler septum kalındı. Sağlıklı fetal akciğerlerde alveol gelişimin son evresinde alveolar septada incelme ve alveol yüzey alanında artış gözlenirken, daha önce yapılan intrauterin deneysel enfekte erken doğanların fetal akciğerleri ile (Pan ve ark., 2018; Zhan ve ark., 2011) uyumlu olarak pnömoni görülen ve görülmeyen *B. melitensis* ile enfekte tüm fetal akciğer dokularında sağlıklı fetal akciğerlere göre alveol sayılarının daha az, alveol duvarlarının daha kalın olduğu gözlendi. Bu bulgular intrauterin enfeksiyondan dolayı fetal akciğerin gelişimini henüz tamamlayamadığını ve BPD bulgularına benzediğini göstermektedir. BPD, fetal ve postnatal dönemlerde alveolizasyonun ve mikrovasküler gelişimin bozulmasıyla karakterizedir (Thebaud ve ark., 2019). Normal akciğer gelişimi gösteren fetüslerde alveolar yüzey alanının genişlediği ve septumlarının incel-diği gözlenirken erken doğumlarda akciğer yeterince gelişim gösteremediği için septaların kalın olduğu, alveol yüzey alanının azaldığı görülmektedir (Backström ve ark., 2011; Moss ve ark., 2002). BPD'nin tipik olarak gebeliğin 23–29.haftasındaki erken sakküler evrede doğanlarda sık, gebeliğin 30. haftadan sonraki geç sakküler ile alveolar evrede doğanlarda ise nadir şekillendiği bildirilmektedir (Thebaud ve ark., 2019).

Fetal akciğer gelişim evreleri; emrionik, pseudoglanduler, kanaliküler, sakküler ve alveolar evreden oluşmaktadır. İnsanlarda ve farklı hayvan türlerinde fetal akciğerin emrionik gelişim süreleri değişlik gösterebilmektedir. Koyun ve insanda akciğer gelişimini son evresi olan alveolar gelişim gebeliğin sonlarında büyük  l de tamamlanırken, kemirgenlerde alveolar gelişim doğum sonrası dönemde başlamaktadır. Embriyonik evre insanda gebeliğin 3-7. haftasını farede 9-11.5 günler, ps dogland ler evre insanda 5-17. hafta ve farede 11.5 –16.5 günler, kanaliküler evre insanda 16–26. haftayı farede 16–18. günleri, sakküler evre insanda 24–38. haftayı farede 17.5 doğum gününü takiben 5. güne kadar olan günleri ve alveoler evre insanda yaklaşık 36.hafta, farede doğumundan sonraki 5-28. günleri kapsamaktadır (Thebaud ve ark., 2019). Deneysel çalışmalarda sıklıkla kullanılan kemirgenlerin (fareler ve sıçanlar sırasıyla 18-21, 21-23 günlük gebelik süreleri vardır) zamanında doğan farelerin akciğerlerinin gelişimi 28. haftalık yaşta doğan insan fetal akciğerinkine benzerlik göstermektedir (Dong ve ark., 2022).

Çalışmamızda histopatolojik bulgular daha önce yapılan benzer çalışmalarla uyumlu olarak (Sözmen ve ark., 2004; Xavier ve ark., 2009), karaciğerde portal alanda mononükleer hücre infiltrasyonu, hepatositlerde dejenerasyon, disasiasyon, sinüzoidlerde dilatasyon ve dalakta perisplenitis, beyaz pulpada lenfoid azalma şeklindeydi. Mansour ve ark. (2022)'nin yaptığı çalışma ile benzer olarak kortikal bölgedeki lenfoid foliküllerde boşalma ve sinüzoidal boşluklarda az sayıda makrofaj infiltrasyonlarına rastlandı. Daha önce yapılan çalışmalarla (AL-tememy ve ark., 2013; Sözmen ve ark., 2010) benzer olarak, böbrekte tubul epitellerinde hidropik dejenerasyon ve nekroz, glomerular kapillar damarlarda hiperemi ile Bowman kapsülünde genişleme gözlemlendi.

Etkenin kesin teşhisi serolojik, kültür, PCR, ELİZA ve immunohistokimyasal yöntemlerle yapılmaktadır. İmmünohistokimya, formalinle fikse edilmiş, parafine gömülü dokularda brusella antijenlerinin tespiti için geriye dönük çalışmanın yapılmasına da izin veren en iyi yöntemlerden birisidir. Bu çalışmada bakteriyolojik olarak *B. melitensis* izole ve identifiye edilen 30 vakanın tamamında *B. melitensis* antijenleri immunohistokimyasal yöntem ile de pozitif bulundu. Antijenler daha önceki çalışmalar (Emikpe ve ark., 2013; İlhan ve Yener, 2008; Nurul-Izzati ve ark., 2018) ile uyumlu olarak akciğerlerdeki makrofajların sitoplazmasında tespit edildi.

*Brusella* etkenleri, insanlarda erken doğum, RDS ve BPD gelişiminde rol alabileceği bildirilmektedir (Aydın ve ark., 2013; Ceylan ve ark., 2012; Dogan ve ark., 2010; Koklu ve ark., 2006). *B. melitensis* ile enfekte 24 haftalık gebe bir kadında, karyoamniyonit ile funisitisi sonucu erken doğum şekillendiği, *B. melitensis* pozitif bebekte RDS ve doğumu takiben 14.günde ise BPD şekillendiği bildirilmiştir (Chheda ve ark., 1997).

Gebeliğin inflamatuvar komplikasyonu olan karyoamniyonitin fetal akciğer dokusunda lökosit infiltrasyonuna, inflamatuvar sitokin artışına, sürfaktan üretimi ile alveolarizasyonda azalmaya neden olabileceği bildirilmiştir (Jackson ve ark., 2020). Normal şartlarda gebeliğin son üç aylık sürecinde (28-40. haftalar) alveol sayısı ile yüzey alanını arttıran ve hava yolu boşluklarını oluşturan septasyon oluşumu başlamaktadır. Sakküler evrede hava yollarında bulunan perifer hücreleri

farklılaşarak salgı hücreleri olan kübik yapıdaki pre-alveolar tip I ve II hücrelerine dönüşmektedir. Sakküler-alveolar geçişte hava değişim bölgeleri geliştikçe alveol yüzeyi, artan tip I hücreleri tarafından kaplanır ve tip II hücreleri ile yüzey aktif proteinlerine farklılaşır (Thebaud ve ark., 2019). Sürfaktan sentezi alveolar hücrelerden (Tip II pnömositler, makrofaj ve clara hücrelerinden) sitoplazmik reseptörler aracılığı ile gerçekleştirilir. Yangısal olaylarda görev alan SP-A, alveollar makrofajlara bağlanarak makrofajların fagositoz yeteneğini arttıran yüzey aktif bir maddedir. Fetal akciğerlerde akciğer gelişiminin ve BPD'nin değerlendirilmesinde önemli bir belirteçtir (Christmann ve ark., 2009; Fanni ve ark., 2014). Erken doğumlarda premature hayvan ve insanlarda, tip II alveol epitel hücrelerine farklılaşmanın tam gerçekleşmemesi nedeniyle pulmoner sürfaktan eksikliği RDS'ye neden olur (Christmann ve ark., 2009; Thebaud ve ark., 2019). Amniyotik sıvıdan sürfaktan analizi, beşeri hekimlikte insan fetüsünde fetal akciğer gelişiminin değerlendirilmesi için yapılmakta ve buna bağlı olarak dışardan sürfaktan verilerek tedavisi gerçekleştirilmektedir. Veteriner hekimlikte bu uygulamalar oldukça sınırlıdır (Christmann ve ark., 2009).

Pan ve ark. (2018)'nin endoservikal yolla *E.coli* uygulanan gebe ratlar ile yaptıkları deneysel çalışmada gebeliğin 17,19, 21 ve postnatal 1,3,4, 7. günlerde IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , VEGF, SP-A, SP-B, SP-C ve kollajen seviyeleri incelenmiş, intrauterin enfeksiyon grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında fetal ve neonatal ratların akciğer dokularında TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, kollajen I ekspresyonunun önemli ölçüde arttığı, VEGF, SP-A, SP-B ve SP-C ekspresyonunun ise önemli ölçüde azaldığı, bu bulgulara ek olarak fetal ve neonatal ratların intrauterin enfeksiyon grubunda alveol septumlarında kalınlaşma ile birlikte alveolarizasyonda azalma şekillendiği bildirilmiştir. Gebelik süresi 185 gün olan babunlarda, premature doğumların akciğer hasarı üzerine etkilerinin araştırıldığı deneysel bir çalışmada gebeliğin 125-140. günlerinde aborte fetüslerde ELİZA yöntemiyle SP-A düzeyinin belirlenemediği, gebelik yaşı 175. güne gelindiğinde ise SP-A seviyesinin arttığı bildirilmiştir. Oksijen ventilasyon tedavisi uygulanan Babunlarda, SP-A seviyesinin arttığı fakat ventilizasyon tedavisinin 10. gününden sonra akciğerlerde meydana gelen doku hasarına bağlı olarak SP-A sentezinde düşme sonucu bakteri ve virusların opsanizasyonunu sağlayan kollektinlerde azalma kaydedilmiştir. Uzun süre ventilasyon tedavisi uygulanan prematurelerde BPD meydana gelebileceği öne

sürülmektedir (Awasthi ve ark., 1999). Gebeliğin 110-115. günlerinde fetal beyin hasarı oluşturmak amacıyla koloni stimulan faktör (G-CSF) ile intraamniyotik *E.coli* endotoksini verilen gebe keçilerin fetüslerinde beyin, akciğer ve göbek kordonu örnekleri incelenmiş, akciğer dokusunda endotoksine maruz kalan fetüslarda alveoler makrofaj ile nötrofil infiltrasyonların eşlik ettiği interalveolar septumda artış ve ödem bildirilmiştir. Fetal beyin dokusunda ise hafif hiperemi ile gliosis dışında herhangi bir bulgu gözlenmediği, fetal membranlarda yaygın inflamatuvar hücreler, deskuamasyon ile kanama, göbek kordonunda vaskulitis ve funisitis kaydedilmiştir. İmmunhistokimyasal incelemede fetal akciğer dokusunun alveoler epitel hücrelerinde SP-A ve SP-B ekspresyonunda azalma ile alveolar makrofajlarda IL-1 ekspresyonunda artış bildirilmiştir (Sezik ve ark., 2019). Hayvan türlerinde farklı gebelik dönemlerinde yapılan tüm bu deneysel çalışmaların sonucunda gebelik yaşının ve akciğer embriyonel gelişim evresinin intrauterin enfeksiyonlardan çok etkilendiği, SP-A'nın gebeliğin geç dönemlerinde sentezlendiği görülmektedir. Erken akciğer gelişim evrelerinde meydana gelen preterm doğum veya abort olgularında yeterli SP-A'nın sentezlenmemesine bağlı olarak RDS'na yatkınlık ile doğum sonrası dönemde BPD'ye neden olabileceği öne sürülmektedir. Hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalar fetal yaşın ve IL-1'in pulmoner sürfaktanların sentezini etkileyebileceğini göstermektedir. Çalışmamızın mataryelini oluşturan 30 adet *B. melitensis* pozitif fetal akciğer örneğinin sadece 5'in de SP-A immun pozitif boyanma tespit edildi. Mevcut çalışmada kullanılan aborte fetüsler gebeliğin farklı dönemlerinden oluşmaktaydı. Ayrıca SP-A ekspresyonu yönünden immun boyanma gerçekleşmeyen bu fetüslerde akciğer gelişimlerinin tamamlanmadığı dikkat çekti. Çalışmamızda akciğerlerin immunohistokimyasal yöntem ile SP-A antikoruyla boyanmamasının nedeni SP-A sentezinden başlıca sorumlu olan tip II ve clara hücrelerinin yeterli diferensiyasyona uğramadığını düşünmekteyiz.

İntrauterin enfeksiyonlar sonucu erken doğan fetal akciğerlerde moleküler ve immunohistokimyasal tekniklerle IL-1 gibi proinflamatuvar sitokinler tespit edilirken aynı örneklerde IL-10 ekspresyonu az ya da hiç tespit edilememektedir. Oysa yeni doğanlarda IL-10 kolaylıkla tespit edilmektedir. IL-1'in aksine erken doğanların fetal akciğerlerinde IL-10 ekspresyonu ile ilgili bilgiler oldukça sınırlı bazende değişkendir (Blahnik ve ark 2001; Jones ve ark., 1996; McColm ve ark., 2000). İntratrakeal yolla *B. abortus* ile enfekte edilmiş farelerle yapılan çalışmada akciğer

ve bronkoalveoler lavaj sıvısında (BALF) IL-1 $\beta$  seviyelerinin arttığı bildirilmektedir (Hielpos ve ark., 2018). Araştırmalara göre RDS ve BPD'li bebeklerden alınan bronkoalveoler lavaj sıvılarında nötrofil, makrofaj ve epitel hücreleri tarafından IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-8 eksprese edildiği kaydedilmektedir (Jones ve ark., 1996; Kotecha ve ark., 1996; LoMonaco ve ark., 1996). İntrauterin enfeksiyonu olan ya da deneysel çalışmalarda LPS verilen gruplarda, akciğerlerde IL-1, TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin erken doğan ile zamanında doğan bireyler arasında büyük farklılıklar göstermediği, oysa IL-10'un erken doğanların akciğerlerinde zamanında doğan ve gelişimini tamamlayanlara göre çok az yada hiç bulunmadığı bildirilmiştir (Blahnik ve ark 2001; Garingo ve ark., 2007; McColm ve ark., 2000). Erken doğan fetal akciğerlerde IL-10'un az olması ya da bulunmaması BPD için risk olarak bildirilmektedir. İnsanlarda gebeliğin 23-34.haftasından önce erken doğanlarda IL-10 çoğunlukla eksprese edilememektedir. Erken doğan fetüslerin akciğerlerinde, normal süresinde doğanların doğum anı veya doğum sonrası dönemleriyle kıyaslandığında IL-10 ekspresyonu daha az yada hiç şekillenmemektedir. IL-10 sentezinde ki eksiklik nedeni erken doğumlarda IL-10 ekspresyonunda görev alan reseptörlerin yetersizliğidir. Bu durum gebelik yaşı ne kadar küçükse IL-10 sentezinin o kadar az, BPD riskinin o kadar fazla olduğunun göstergesidir (Garingo ve ark., 2007, Hokenson ve ark., 2013). Kasapoğlu (2015), çalışmasında umbilikal kordon ve doğumu takiben 24 saat içinde TAS (Trakeal aspirasyon sıvısı) alınan örneklerde proinflamatuvar sitokin IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  seviyeleri BPD'li grup da BPD olmayan gruba göre yüksek olduğu ve tam tersi olarak IL-10 daha düşük olduğunu rapor etmiştir. Başka bir çalışmada, RDS şekillenen erken doğumlarda IL-10 mRNA tespit edilemediğini, bu bebeklerde inflamasyonun IL-10 yoluyla düzenlenmemesi nedeniyle kronik akciğer hastalığı riskinin arttığı bildirilmiştir (Jones ve ark., 1996). Bazı araştırmacılar erken doğan bebeklerin akciğerinde yangısal hücrelerde IL-1 $\beta$  ve IL-8 sentez eksikliği bulunduğunda IL-10 seviyesinde artış meydana geldiğini bildirmektedirler (Kwong ve ark., 1998). Bu görüşlerin aksine intrauterin enfeksiyon modelinde enfekte fetal akciğerlerde emrionik gelişimini tamamlamış kontrol grubuyla kıyaslandığında IL-10 seviyesinin yüksek olduğunu bildiren çalışmalarda bulunmaktadır (Beresford ve Shaw, 2002; Sezik ve ark., 2019). Bu çalışmada önceki çalışmalarla uyumlu olarak *B. melitensis* ile enfekte tüm fetal akciğerlerde makrofajlarda IL-1 $\beta$  immün pozitif boyanmaya karşın IL-10 ekspresyonu sınırlı gözlenmiştir. Sadece 3 olguda IL-10 az sayıda interstisyel ve alveoler makrofajlar ile

bronş, bronşiyol epitel hücrelerinde pozitif boyanma gösterirken, diğer olgularda immun boyanma gözlenmedi. Çalışmamızda elde edilen bu sonuçlarda, IL-10'un gebelik yaşıyla doğru orantılı olduğu ve sağlıklı akciğer dokusunda rol aldığını ortaya koymaktadır.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

İntrauterin enfeksiyonlarda erken doğumların en önemli sebebi karyoamniyonitdir. Etkenlerin fetüse ulaşmasıyla sitokin seviyesinde artış ve sistemik fetal inflamatuvar yanıt oluşmaktadır. *Brucella* cinsi bakterilerin hayvanlarda plasentanın koryoamniyotik membrana yerleşerek abortlara neden olduğu bilinmektedir. İntrauterin enfeksiyonlarda sürfaktan protein ve sitokinlerin rolünün araştırıldığı deneysel çalışmalarda sıklıkla fare, rat ve kobaylar kullanılmaktadır. Ancak bu deney hayvanlarında fetal akciğer gelişim evreleri ve gebelik süreleri, insan, koyun gibi memelilerden farklı olmasından dolayı konuyla ilgili elde edilen verilerde tutarsızlığa yol açabileceği ileri sürülmektedir. *B. melitensis* ile enfekte koyun fetüsleri ile yaptığımız bu çalışmada kontrol grubunu oluşturan sağlıklı akciğer dokularında alveollerin gelişmesini tamamlayarak yüzey alanlarının arttığı gözlenirken, enfekte fetal akciğerlerin embriyonik gelişimini tamamlayamadığı dikkati çekti. Bu çalışmada elde edilen veriler *B. melitensis* etkeninin alveoller evreden önceki kanaliküler ve sakküler evrede hasara neden olduğunu desteklerken, ayrıca erken doğumlarda fetal gelişim yaşının önemini ortaya koymaktadır. *B. melitensis* immun pozitif vakalarda makrofaj ve bronşiol epitel hücrelerinin sitoplazmaları ile damar endotel hücrelerinde proinflamatuvar sitokin IL-1 yoğun immun pozitif boyanırken, antiinflamatuvar sitokin olan IL-10 immun pozitifliği düşüktü ya da hiç gözlenmedi. Fetal akciğer hasarının proinflamatuvar sitokin seviyesi artışı ve immunosüpresyon olan IL-10'un makrofajlardan yetersiz üretilmesi nedeniyle gerçekleştiği tespit edildi. İntrauterin enfeksiyonun fetal akciğer gelişiminin tamamlanmadığı erken evrelerde şekillenmesi fetüslerde akciğerin gelişimini tamamlayamayarak RDS ve BPD gibi sendromların oluşma riskini arttırdığı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- AL-tememy, H. A., Al-jubort, K. H. and Abdulmajeed, B. A. (2014). Pathological and molecular diagnosis of *Brucella melitensis* in the fetal and placental tissues of aborted ewes in Al-Najaf city. *Kufa Journal For Veterinary Medical Sciences*, 4(1), 28-40.
- Arad, I. and Ergaz, Z. (2004). The fetal inflammatory response syndrome and associated infant morbidity. *The Israel Medical Association Journal*, 6(12), 766-769.
- Areia, A. L. and Mota-Pinto, A. (2022). Inflammation and Preterm Birth: A Systematic Review. *Reproductive Medicine*, 3(2), 101-111. <https://doi.org/10.3390/reprodmed3020009>
- Avina, J. R. C. (2021). Aislamiento Y Detección De *Brucella Melitensis* (Proteobacteria) En La Lagartija Espinosa Corredora De Vientre Blanco (*Sceloporus Megalepidurus*) De La Cuenca Oriental, Puebla, México. *Revista Latinoamericana de Herpetología*, 4(1), 56-68. <https://doi.org/10.22201/fc.25942158e.2021.1.172>
- Awasthi, S., Coalson, J. J., Crouch, E., Yang, F. and King, R. J. (1999). Surfactant Proteins A and D in Premature Baboons with Chronic Lung Injury (Bronchopulmonary Dysplasia) Evidence for an Inhibition of Secretion. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 160, 942-949. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.160.3.9806061>
- Aydın, B., Beken, S., Akansel, R., Dilli, D., Okumuş, N. and Tamır, G. (2013). Prematurity due to maternal brucella infection and review of the literature. *The Turkish Journal of Pediatric*, 55(4), 433-437.
- Backström, E., Hogmalm, A., Lappalainen, U. And Bry, K. (2011). Developmental stage is a major determinant of lung injury in a murine model of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatric Research*, 69(4), 312-318.
- Barbier, T., Machelart, A., Zúñiga-Ripa, A., Plovier, H., Hougardy, C. and Letesson, J. J. (2017). Erythritol availability in bovine, murine and human models highlights a potential role for the host aldose reductase during *Brucella* infection. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1-13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01088>
- Barquero-Calvo, E., Chaves-Olarte, E., Weiss, D. S., Guzman-Verri, C., Chacon-Diaz, C. and Moreno, E. (2007). *Brucella abortus* uses a stealthy strategy to avoid activation of the innate immune system during the onset of infection. *Plos One*, 2(7), 1-14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000631>
- Bayu, M. D. (2018). Overview on Common Pathological Changes and Diagnostic Methods of Caprine and Ovine Brucellosis. *Journal of Veterinary Science and Medicine*, 6(2), 1-12. <https://doi.org/10.13188/2325-4645.1000038>
- Beresford, M. W. and Shaw, N. J. (2002). Detectable IL-8 and IL-10 in bronchoalveolar lavage fluid from preterm infants ventilated for respiratory distress syndrome. *Pediatric Research*, 52(6), 973-978.
- Blackwell, T. S. and Christman, J. W. (1997). The role of nuclear factor- $\kappa$ B in cytokine gene regulation. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 17(1), 3-9. <https://doi.org/10.1165/ajrcmb.17.1.f132>
- Blahnik, M. J., Ramanathan, R., Riley, C. R. and Minoo, P. (2001). Lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor- $\alpha$  and IL-10 production by lung macrophages from preterm and term neonates. *Pediatric Research*, 50(6), 726-731.
- Bry, K. and Lappalainen, U. (2001). Intra-amniotic endotoxin accelerates lung maturation in fetal rabbits. *Acta Paediatrica*, 90(1), 74-80. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2001.tb00259.x>

- Bry, K., Lappalainen, U. and Hallman, M. (1997). Intraamniotic interleukin-1 accelerates surfactant protein synthesis in fetal rabbits and improves lung stability after premature birth. *The Journal of Clinical Investigation*, 99(12), 2992-2999. <https://doi.org/10.1172/JCI119494>
- Cappelletti, M., Presicce, P., Feiyang, M., Senthamarai Kannan, P., Miller, L. A. and Kallapur, S. G. (2021). The induction of preterm labor in rhesus macaques is determined by the strength of immune response to intrauterine infection. *Plos biology*, 19(9), 1-22. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001385>
- Castrucci, G. (2007). *Brucella melitensis* infection. I.D. Aitken (Ed.), *Diseases of Sheep* (4th ed., pp.137-142). Oxford: Blackwell publishing.
- Ceylan, A., Köstü, M., Tuncer, O., Peker, E. and Kırımı, E. (2012). Neonatal brucellosis and breast milk. *The Indian Journal of Pediatrics*, 79(3), 389-391. <https://doi.org/10.1007/s12098-011-0581-z>
- CFSPH (2018, Mayıs). *Brucella melitensis*. [https://www.cfsph.iastate.edu/search\\_gcse/?q=brucella%20melitensis](https://www.cfsph.iastate.edu/search_gcse/?q=brucella%20melitensis) adresinden 21 Kasım tarihinde alınmıştır.
- Cheng, S. B. and Sharma, S. (2015). Interleukin-10: a pleiotropic regulator in pregnancy. *American Journal of Reproductive Immunology*, 73(6), 487-500. <https://doi.org/10.1111/aji.12329>
- Chheda, S., Lopez, S. M. and Sanderson, E. P. (1997). Congenital brucellosis in a premature infant. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 16(1), 81-83.
- Chousterman, B. G., Swirski, F. K. and Weber, G. F. (2017). Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis. *Seminars in Immunopathology*, 39(5), 517-528. <https://doi.org/10.1007/s00281-017-0639-8>
- Christmann, U., Buechner-Maxwell, V. A., Witonsky, S. G. and Hite, R. D. (2009). Role of lung surfactant in respiratory disease: Current knowledge in large animal medicine. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23(2), 227-242. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0269.x>
- Cicchese, J. M., Evans, S., Hult, C., Joslyn, L. R., Wessler, T. and Kirschner, D. E. (2018). Dynamic balance of pro-and anti-inflammatory signals controls disease and limits pathology. *Immunological Reviews*, 285(1), 147-167. <https://doi.org/10.1111/imr.12671>
- Condon, J. C., Jeyasuria, P., Faust, J. M. and Mendelson, C. R. (2004). Surfactant protein secreted by the maturing mouse fetal lung acts as a hormone that signals the initiation of parturition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(14), 4978-4983. <https://doi.org/10.1073/pnas.0401124101>
- Corsetti, P. P., de Almeida, L. A., Carvalho, N. B., Azevedo, V., Silva, T. M. and Oliveira, S. C. (2013). Lack of endogenous IL-10 enhances production of proinflammatory cytokines and leads to *Brucella abortus* clearance in mice. *Plos One*, 8(9), 1-11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074729>
- Crouch, E. and Wright, J. R. (2001). Surfactant proteins A and D and pulmonary host defense. *Annual review of Physiology*, 63(1), 521-554. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.63.1.521>
- Çakır, Ş. ve Yıldırım, M. (2018). Türkiye’de Küçük Ruminantlarda Brusellozun Kontrol ve Eradikasyon Stratejileri. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 11(2), 98-104.
- Çekinmez, E. K., Yıldızdaş, H. Y. ve Ferda, Ö. (2013). Respiratuar distress sendromu ve komplikasyonları. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 22(4), 615-630.
- Çevik, M. A. (2001). Bruselloz epidemiyolojisi. *ANKEM Dergi*, 15(3), 568-570.
- de Figueiredo, P., Ficht, T. A., Rice-Ficht, A., Rossetti, C. A. and Adams, L. G. (2015). Pathogenesis and immunobiology of brucellosis: review of *Brucella*-Host Interactions. *The American Journal of Pathology*, 185(6), 1505-1517. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2015.03.003>

Demirtaş, A. ve Pişkin, İ. (2014). Surfaktan ve Çiftlik Hayvanlarında" Yenidoğan Solunum Güçlüğü Sendromu". *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2(1), 28-41.

Diaz, A. (2013). Epidemiology of brucellosis in domestic animals caused by *Brucella melitensis*, *Brucella suis* and *Brucella abortus*. *Revue scientifique et technique-Office international des epizooties*, 32(1).

Diker, S.(1998). Sitokinler. *İmmunoloji* içinde (1. Baskı, s. 85-95) içinde. Ankara:Medisan.

Dinarello, C. A. (2000). Proinflammatory cytokines. *Chest*, 118(2), 503-508.  
<https://doi.org/10.1378/chest.118.2.503>

Dogan, D. G., Aslan, M., Menekse, E. and Yakinci, C. (2010). Congenital brucellosis: case report. *Annals of Tropical Paediatrics*, 30(3), 229-231. <https://doi.org/10.1179/146532810X12786388978724>

Dong, Y., Rivetti, S., Lingampally, A., Tacke, S., Kojonazarov, B. and Bellusci, S. (2022). Insights into the Black Box of Intra-Amniotic Infection and Its Impact on the Premature Lung: From Clinical and Preclinical Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(17), 1-28.  
<https://doi.org/10.3390/ijms23179792>

Emikpe, B. O., Yussouf, S. M., Ezeasor, C. K. and Tanko, P. N. (2013). Immunohistochemical detection of *Brucella mellitensis* and *Coxiella burnetii* antigens in formalin-fixed tissues of West African Dwarf goats. *Archives of Clinical Microbiology*, 4(2).<https://doi.org/10.3823/270>

Fanni, D., Fanos, V., Gerosa, C., Ambu, R., Pintus, M. C., Marcialis, M. A. (2014). Bronchopulmonary dysplasia: understanding of the underlying pathological mechanisms. *Journal of Pediatric and Neonatal Individualized Medicine (JPNIM)*, 3(2), 1-12.

Fernandes, D. M. and Baldwin, C. L. (1995). Interleukin-10 downregulates protective immunity to *Brucella abortus*. *Infection and Immunity*, 63(3), 1130-1133. <https://doi.org/10.1128/iai.63.3.1130-1133.1995>

Gantert, M., Been, J. V., Gavilanes, A. W. D., Garnier, Y., Zimmermann, L. J. I. and Kramer, B. W. (2010). Chorioamnionitis: a multiorgan disease of the fetus?. *Journal of Perinatology*, 30(1), S21-S30.

Garingo, A., Tesoriero, L., Cayabyab, R., Durand, M., Blahnik, M. and Sardesai, S. (2007). Constitutive IL-10 expression by lung inflammatory cells and risk for bronchopulmonary dysplasia. *Pediatric Research*, 61(2), 197-202. <https://doi.org/10.1203/pdr.0b013e31802d8a1c>

Glowacka, P., Żakowska, D., Naylor, K., Niemcewicz, M. and Bielawska-Drozd, A. (2018). Virulence Factors, Pathogenesis and Treatment. *Polish journal of Microbiology*, 67(2), 151-161.<https://doi.org/10.21307/pjm-2018-029>

Goldenberg, R. L., Hauth, J. C. and Andrews, W. W. (2000). Intrauterine infection and preterm delivery. *New England Journal of Medicine*, 342(20), 1500-1507.  
<https://doi.org/10.1056/NEJM200005183422007>

Gonzalez, L. A., Melo-Gonzalez, F., Sebastian, V. P., Vallejos, O. P., Noguera, L. P. and Suazo, Í. D. (2021). Characterization of the anti-inflammatory capacity of IL-10-producing neutrophils in response to *Streptococcus pneumoniae* infection. *Frontiers in Immunology*, 12 (1), 1-16.  
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.638917>

Guagliardo, R., Perez-Gil, J., De Smedt, S. and Raemdonck, K. (2018). Pulmonary surfactant and drug delivery: Focusing on the role of surfactant proteins. *Journal of Controlled Release*, 291, 116-126. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.10.012>

Hallman, M., Glumoff, V. and R  met, M. (2001). Surfactant in respiratory distress syndrome and lung injury. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 129(1), 287-294. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(01\)00324-5](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(01)00324-5)

- He, Y. (2012). Analyses of Brucella pathogenesis, host immunity, and vaccine targets using systems biology and bioinformatics. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2, 2. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00002>
- Henning, L. N., Azad, A. K., Parsa, K. V. L., Crowther, J. E., Tridandapani, S. and Schlesinger, L. S. (2008). Pulmonary surfactant protein A regulates TLR expression and activity in human macrophages. *The Journal of Immunology*, 180(12), 7847-7858. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.180.12.7847>
- Hielpos, M. S., Fernández, A. G., Falivene, J., Alonso Paiva, I. M., González, F. M. and Ferrero, M. C. (2018). IL-1R and inflammasomes mediate early pulmonary protective mechanisms in respiratory Brucella abortus infection. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 8, 1-9. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00391>
- Hillman, N. H., Moss, T. J. M., Nitsos, I., Kramer, B. W., Bachurski, C. J. and Ikegami, M. (2008). Toll-like receptors and agonist responses in the developing fetal sheep lung. *Pediatric Research*, 63(4), 388-393. <https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e3181647b3a>
- Hokenson, M. A., Wang, Y., Hawwa, R. L., Huang, Z., Sharma, S. and Sanchez-Esteban, J. (2013). Reduced IL-10 production in fetal type II epithelial cells exposed to mechanical stretch is mediated via activation of IL-6-SOCS3 signaling pathway. *PLoS One*, 8(3), 1-10.
- Iwasaki, A. and Medzhitov, R. (2004). Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nature Immunology*, 5(10), 987-995.
- İlhan, F., and Yener Z., (2008). Immunohistochemical detection of Brucella melitensis antigens in cases of naturally occurring abortions in sheep. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*, 20(6), 803- 806. <https://doi.org/10.1177/104063870802000616>
- Jackson, C. M., Mukherjee, S., Wilburn, A. N., Cates, C., Lewkowich, I. P. and Deshmukh, H. (2020). Pulmonary consequences of prenatal inflammatory exposures: clinical perspective and review of basic immunological mechanisms. *Frontiers in Immunology*, 11, 1-16. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01285>
- Jobe, A. H. (2005). Antenatal associations with lung maturation and infection. *Journal of Perinatology*, 25(2), S31-S35.
- Jobe, A. H. and Ikegami, M. (2001). Antenatal infection/inflammation and postnatal lung maturation and injury. *Respiratory Research*, 2(1), 1-6.
- Jones, C. A., Cayabyab, R. G., Kwong, K. Y., Stotts, C., Wong, B. and Hamdan, H. (1996). Undetectable interleukin (IL)-10 and persistent IL-8 expression early in hyaline membrane disease: a possible developmental basis for the predisposition to chronic lung inflammation in preterm newborns. *Pediatric Research*, 39(6), 966-975. <https://doi.org/10.1203/00006450-199606000-00007>
- Jung, E., Romero, R., Yeo, L., Diaz-Primera, R., Marin-Concha, J. and Para, R. (2020). The fetal inflammatory response syndrome: the origins of a concept, pathophysiology, diagnosis, and obstetrical implications. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 25(4), 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2020.101146>
- Kallapur, S. G., Moss, T. J., Ikegami, M., Jasman, R. L., Newnham, J. P. and Jobe, A. H. (2005). Recruited inflammatory cells mediate endotoxin-induced lung maturation in preterm fetal lambs. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 172(10), 1315-1321. <https://doi.org/10.1164/rccm.200506-1007OC>
- Kallapur, S. G., Willet, K. E., Jobe, A. H., Ikegami, M. and Bachurski, C. J. (2001). Intra-amniotic endotoxin: chorioamnionitis precedes lung maturation in preterm lambs. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 280(3), 527-536. <https://doi.org/10.1152/ajplung.2001.280.3.L527>

- Kasapoğlu, D. (2015). *Fetal İnflamatuar Yanıt Sendromu Belirteçlerinin Maternal Serum İle Fetal Kord Kanında Ölçülmesi ve Neonatal Sonuçlarla İlişkisinin Değerlendirilmesi* (Uzmanlık Tezi, Hacettepe Üniversitesi).  
<http://www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/11655/713/f57f21bd-27e6-4c88-b79d-db0c3ea38648.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Kemp, M. W., Kannan, P. S., Saito, M., Newnham, J. P., Cox, T. and Jobe, A. H. (2013). Selective exposure of the fetal lung and skin/amnion (but not gastro-intestinal tract) to LPS elicits acute systemic inflammation in fetal sheep. *PloS one*, 8 (5), e63355. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063355>
- Kemp, M. W., Musk, G. C. and Saito, M. (2013). Animal models for the study of infection-associated preterm birth. Conn P. M. (Ed.) *Animal models for the study of human disease* (pp. 863-888). Academic Press. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-415894-8.00035-X>
- Kemp, M. W., Saito, M., Nitsos, I., Jobe, A. H., Kallapur, S. G. and Newnham, J. P. (2011). Exposure to in utero lipopolysaccharide induces inflammation in the fetal ovine skin. *Reproductive Sciences*, 18(1), 88-98. <https://doi.org/10.1177/1933719110380470>
- Khubchandani, K. R. and Snyder, J. M. (2001). Surfactant protein A (SP-A): the alveolus and beyond. *The FASEB Journal*, 15(1), 59-69. <https://doi.org/10.1096/fj.00-0318rev>
- Kim, C. J., Romero, R., Chaemsaitong, P., Chaiyasit, N., Yoon, B. H. and Kim, Y. M. (2015). Acute chorioamnionitis and funisitis: definition, pathologic features, and clinical significance. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 213(4), S29-S52. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.08.040>
- Kishore, U. and Reid, K. B. M. (2001). Structures and functions of mammalian collectins. *Mammalian Carbohydrate Recognition Systems*, 33, 225-248.
- Koklu, E., Buyukkayhan, D., Akcokus, M., Kurtoglu, S., Koklu, S. and Gunes, T. (2006). Brucellosis with pulmonary involvement in a premature infant. *Annals of Tropical Paediatrics*, 26(4), 367-370. <https://doi.org/10.1179/146532806X152917>
- Kotecha, S., Wilson, L., Wangoo, A., Silverman, M. and Shaw, R. J. (1996). Increase in interleukin (IL)-1 $\beta$  and IL-6 in bronchoalveolar lavage fluid obtained from infants with chronic lung disease of prematurity. *Pediatric Research*, 40(2), 250-256. <https://doi.org/10.1203/00006450-199608000-00010>
- Kramer, B. W., Kallapur, S. G., Moss, T. J. M., Nitsos, I., Polglase, G. P. and Newnham J.P. (2010). Modulation of fetal inflammatory response on exposure to lipopolysaccharide by chorioamnion, lung, or gut in sheep. *American journal of obstetrics and gynecology*, 202(1), 77-79. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2009.07.058>
- Kubota, K. (2010). Innate IFN- $\gamma$  Production by Subsets of Natural Killer Cells, Natural Killer T Cells and  $\gamma\delta$  T Cells in Response to Dying Bacterial-Infected Macrophages. *Scandinavian Journal of Immunology*, 71(3), 199-209. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2009.02366.x>
- Kwong, K. Y. C., Jones, C. A., Cayabyab, R., Lecart, C., Khuu, N. and Rhandhawa, I. (1998). The effects of IL-10 on proinflammatory cytokine expression (IL-1 $\beta$  and IL-8) in hyaline membrane disease (HMD). *Clinical Immunology and Immunopathology*, 88(1), 105-113. <https://doi.org/10.1006/clin.1997.4510>
- LoMonaco, M. B., Barber, C. M. and Sinkin, R. A. (1996). Differential cytokine mRNA expression by neonatal pulmonary cells. *Pediatric Research*, 39(2), 248-252. <https://doi.org/10.1203/00006450-199602000-00010>
- Malaeb, S. and Dammann, O. (2009). Fetal inflammatory response and brain injury in the preterm newborn. *Journal of child neurology*, 24(9), 1119-1126. <https://doi.org/10.1177/0883073809338066>

- Mansour, D., El-mashad, A. B., Moustafa, S., Amin, A. and Zaki, H. (2022). Histopathology and molecular detection of *Brucella melitensis* Infection in small ruminants. *Benha Veterinary Medical Journal*, 41(2), 100-105. <https://doi.org/10.21608/bvmj.2021.103560.1482>
- Mazlan, M., Khairani-Bejo, S., Hamzah, H., Nasruddin, N. S., Salleh, A. and Zamri-Saad, M. (2021). Pathological changes, distribution and detection of *Brucella melitensis* in fetuses of experimentally-infected does. *Veterinary Quarterly*, 41(1), 36-49. <https://doi.org/10.1080/01652176.2020.1867328>
- McColm, JR, Stenson, BJ, Biermasz, N. ve McIntosh, N. (2000). Measurement of interleukin 10 in bronchoalveolar lavage from preterm ventilated infants. *Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition*, 82 (2), F156-F159.
- McGowan, E. C., Kostadinov, S., McLean, K., Gotsch, F., Venturini, D. and Romero, R. (2009). Placental IL-10 dysregulation and association with bronchopulmonary dysplasia risk. *Pediatric Research*, 66(4), 455-460.
- Mendelson, C. R. (2009). Minireview: fetal-maternal hormonal signaling in pregnancy and labor. *Molecular Endocrinology*, 23(7), 947-954. <https://doi.org/10.1210/me.2009-0016>
- Miyamura, K., Malhotra, R., Hoppe, H. J., Reid, K. B. M., Phizackerley, P. J. R and Macpherson, P. (1994). Surfactant proteins A (SP-A) and D (SP-D): levels in human amniotic fluid and localization in the fetal membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism*, 1210(3), 303-307. [https://doi.org/10.1016/0005-2760\(94\)90233-X](https://doi.org/10.1016/0005-2760(94)90233-X)
- Moss, T. J. M., Newnham, J. P., Willett, K. E., Kramer, B. W., Jobe, A. H. and Ikegami, M. (2002). Early gestational intra-amniotic endotoxin: lung function, surfactant, and morphometry. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 165, 805-811. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.165.6.2108053>
- Murphy, E. A., Sathiyaseelan, J., Parent, M. A., Zou, B. and Baldwin, C. L. (2001). Interferon- $\gamma$  is crucial for surviving a *Brucella abortus* infection in both resistant C57BL/6 and susceptible BALB/c mice. *Immunology*, 103(4), 511-518. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2567.2001.01258.x>
- Murtaugh, M. P., Baarsch, M. J., Zhou, Y., Scamurra, R. W. and Lin, G. (1996). Inflammatory cytokines in animal health and disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 54(1-4), 45-55. [https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(96\)05698-X](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(96)05698-X)
- Myatt, L. and Sun, K. (2010). Role of fetal membranes in signaling of fetal maturation and parturition. *International Journal of Developmental Biology*, 54(2-3), 545-553. <https://doi.org/10.1387/ijdb.082771lm>
- Neta, A. V. C., Mol, J. P., Xavier, M. N., Paixão, T. A., Lage, A. P. and Santos, R. L. (2010). Pathogenesis of bovine brucellosis. *The Veterinary Journal*, 184(2), 146-155. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.04.010>
- Nurul-Izzati, U. Z., Tanko, P. N., Sabri, M. Y. and Onilude, O. P. (2018). Immunohistochemical detection of *Brucella melitensis* antigens in lungs tissues of sheep and goats diagnosed with different diseases at necropsy. *Nigerian Veterinary Journal*, 39(4), 346-357. <https://dx.doi.org/10.4314/nvj.v39i4.91>
- OİE, (2022). Brucellosis (infection whit *Brucella abortus*, *B. melitensis* and *B.suis*). [https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.01.04\\_BRUCELLOSIS.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.04_BRUCELLOSIS.pdf) adresinden 5Nisan 2022 tarihinde alınmıştır.
- Olsen, S.C., Bellaire, B. H., Roop II, R. M. and Thoen C. O. (2010). *Brucella*. C.L. Gyles, J.F. Prescott, J. G. Songer and C.O. Thoen (Ed.), *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animal* (4th ed.,pp. 429-439). Wiley-Blackwell.
- Oppenheim, J. J. (2001). Cytokines: past, present, and future. *International Journal of Hematology*, 74(1), 3-8.

- Öncel, S. (2016). Brusella enfeksiyonları: Değerlendirme ve yönetim. *Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2(3), 25-30. <https://doi.org/10.30934/kusbed.358664>
- Pal, M., Kerorsa, G. B., Desalegn, C. and Kandi, V. (2020). Human and Animal Brucellosis: A Comprehensive Review of Biology, Pathogenesis, Epidemiology, Risk Factors, Clinical Signs, Laboratory Diagnosis, Public Health Significance, Economic Importance, Prevention and Control. *American Journal of Infectious Diseases and Microbiology*, 8(4), 118-126. <https://doi.org/10.12691/ajidm-8-4-1>
- Palsson-McDermott, E. M. and O'Neill, L. A. J. (2004). Signal transduction by the lipopolysaccharide receptor, Toll-like receptor-4. *Immunology*, 113(2), 153-162. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2004.01976.x>
- Pan, J., Zhan, C., Yuan, T., Wang, W., Shen, Y., Sun, Y. and Wu T. (2018). Effects and molecular mechanisms of intrauterine infection/inflammation on lung development. *Respiratory Research*, 19(1), 1-18. <https://doi.org/10.1186/s12931-018-0787-y>
- Peltier, M. R. (2003). Immunology of term and preterm labor. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 1(1), 1-11.
- Quinn P.J., Markey, B.K., Leonard, F.C., FitzPatrick, E.S., Fanning S. and Hartigan P.J. (Ed.). (2011). *Veterinary microbiology and microbial disease* (2th ed.) Wiley-Blackwell.
- Rauk, P. N. and Chiao, J. P. (2000). Interleukin-1 stimulates human uterine prostaglandin production through induction of cyclooxygenase-2 expression. *American Journal of Reproductive Immunology*, 43(3), 152-159. <https://doi.org/10.1111/j.8755-8920.2000.430304.x>
- Redline, R. W. (2004). Placental inflammation. *Seminars in Neonatology*, 9(4), 265-274. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2003.09>
- Rider, P., Carmi, Y., Guttman, O., Braiman, A., Cohen, I. and Voronov, E. (2011). IL-1 $\alpha$  and IL-1 $\beta$  recruit different myeloid cells and promote different stages of sterile inflammation. *The Journal of Immunology*, 187(9), 4835-4843. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1102048>
- Robertson, S. A., Skinner, R. J. and Care, A. S. (2006). Essential role for IL-10 in resistance to lipopolysaccharide-induced preterm labor in mice. *The Journal of Immunology*, 177(7), 4888-4896. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.7.4888>
- Romero, R., Savasan, ZA, Chaiworapongsa, T., Berry, SM, Kusanovic, J. P. and Hassan S. S. (2012). Hematologic profile of the fetus with systemic inflammatory response syndrome. *Journal of perinatal medicine*, 40 (1), 19-32. <https://doi.org/10.1515/JPM.2011.100>
- Roop, R. M., Barton, I. S., Hoppersberger, D. and Martin, D. W. (2021). Uncovering the hidden credentials of Brucella virulence. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 85(1), e00021-19. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00021-19>
- Rossetti, C. A., Maurizio, E. and Rossi, U. A. (2022). Comparative review of brucellosis in small domestic ruminants. *Frontiers in Veterinary Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.887671>
- Rounioja, S., Rasanen, J., Ojaniemi, M., Glumoff, V., Autio-Harmainen, H. and Hallman, M. (2005). Mechanism of acute fetal cardiovascular depression after maternal inflammatory challenge in mouse. *The American journal of pathology*, 166 (6), 1585-1592. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)62469-8](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)62469-8)
- Sadovsky, Y., Nelson, D. M., Muglia, L. J., Gross, G. A., Harris, K. C. and KOKi, A. (2000). Effective diminution of amniotic prostaglandin production by selective inhibitors of cyclooxygenase type 2. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 182(2), 370-376. [https://doi.org/10.1016/S0002-9378\(00\)70226-2](https://doi.org/10.1016/S0002-9378(00)70226-2)

- Sawdy, R. J., Slater, D. M., Dennes, W. J. B., Sullivan, M. H. F. and Bennett, P. R. (2000). The roles of the cyclo-oxygenases types one and two in prostaglandin synthesis in human fetal membranes at term. *Placenta*, 21(1), 54-57. <https://doi.org/10.1053/plac.1999.0438>
- Schlafer D.H. and Foster, R.A. (2016). Female Genital System. Maxie M.G. (Der). *Jubb, Kennedy, And Palmer's Pathology of Domestic Animals* içinde (ss. 402-406). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Seleem, M. N., Boyle, S. M. and Sriranganathan, N. (2008). Brucella: a pathogen without classic virulence genes. *Veterinary Microbiology*, 129(1-2), 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.11.023>
- Ay, S. S., Gürlü, H., Önyay, F. ve Fındık, A. (2017). Küçük ruminatlarda abortus sorunu ve reproduktif aşılama programları. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Obstet Gynecol-Special Topics*, 3(2), 129-136.
- Sezik, M., Köker, A., Özmen, Ö., Halıgür, M., Kaşıkçı, D. and Aydoğan, A. (2019). Inflammation-mediated fetal injury by maternal granulocyte-colony stimulating factor and high-dose intraamniotic endotoxin in the caprine model. *Turkish Journal of Obstetrics and Gynecology*, 16(1), 41-49. <https://doi.org/10.4274%2Ftjod.tjod.galenos.2019.92300>
- Shepherd, V. L. and Lopez, J. P. (2001). The role of surfactant-associated protein A in pulmonary host defense. *Immunologic Research*, 23(2), 111-120.
- Simten, Y., Turan, Y., Hakan, S. and Servet, B. (2018). Diagnosis of Q fever and Brucellosis in aborted ovine fetuses by microbiological, pathological and immunohistochemical methods. *Acta veterinaria*, 68(2), 168-177. <https://doi.org/10.2478/acve-2018-0013>
- Sözmen, M., Erginsoy, S. D., Genc, O., Beytut, E. and Özcan, K. (2004). Immunohistochemical and microbiological detection of Brucella abortus in aborted bovine fetuses. *Acta Veterinaria Brno*, 73(4), 465-472.
- Sözmen, M., Tunca, R., Beytut, E. and Gürbüz, A. (2010). Brucella melitensis ile doğal enfekte koyun abortuslarında CD3 ve lambda hafif zincir immunglobulin ekspresyonu. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16(3), 353-363. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2009.639>
- Speer, C. P. (2001). New insights into the pathogenesis of pulmonary inflammation in preterm infants. *Biology of The Neonate*, 79(3), 205-209. <https://doi.org/10.1159/000047092>
- Speer, C. P. (2006). Inflammation and bronchopulmonary dysplasia: a continuing story. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 11(5), 354-362. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2006.03.004>
- Srinivasan, L., Catherine, M.H. and Kilpatrick L.E. (2017). Cytokines and Inflammatory Response in the Fetus and Neonate. R. A. Polin, W.E. Benitz, S. H. Abman, W. W. Fox and D.H. Rowitch (Ed.), *Fetal and neonatal physiology (5th ed., pp. 1241-1249)*. Philadelphia, Elsevier.
- Strieter, R. M., Belperio, J. A. and Keane, M. P. (2002). Cytokines in innate host defense in the lung. *The Journal of Clinical Investigation*, 109(6), 699-705. <https://doi.org/10.1172/JCI15277>
- Suarez-Esquivel, M., Chaves-Olarte, E., Moreno, E. and Guzman-Verri, C. (2020). Brucella genomics: macro and micro evolution. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(20), 7749. <https://doi.org/10.3390/ijms21207749>
- Surendran, N., Hiltbold, E. M., Heid, B., Akira, S., Standiford, T. J. and Sriranganathan, N. (2012). Role of TLRs in Brucella mediated murine DC activation in vitro and clearance of pulmonary infection in vivo. *Vaccine*, 30(8), 1502-1512. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.12.036>
- Suvarna K. S., Layton C. and Bancroft J. D. (2018). *Bancroft's Theory And Practice of Histological Techniques* (8nd Ed., pp. 84-139) China, Elsevier Health Sciences.

Suzuki, T., Chow, C. W. and Downey, G. P. (2008). Role of innate immune cells and their products in lung immunopathology. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 40(6-7), 1348-1361. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2008.01.003>

Svetic, A., Jian, Y. C., Lu, P., Finkeiman, F. D. and Gause, W. C. (1993). Brucella abortus induces a novel cytokine gene expression pattern characterized by elevated IL-10 and IFN- $\gamma$  in CD4<sup>+</sup> T cells. *International Immunology*, 5(8), 877-883. <https://doi.org/10.1093/intimm/5.8.877>

Tan, S. Y. and Davis, C. (2011). David Bruce (1855–1931): discoverer of brucellosis. *Singapore Medical Journal*, 52(3), 138-139.

Thaxton, J. E. and Sharma, S. (2010). Interleukin-10: a multi-faceted agent of pregnancy. *American Journal of Reproductive Immunology*, 63(6), 482-491. <https://doi.org/10.1111/j.16000897.2010.00810.x>

Thebaud, B., Goss, K. N., Laughon, M., Whitsett, J. A., Abman, S. H. and Steinhorn, R. H. (2019). Bronchopulmonary dysplasia. *Nature Reviews Disease Primers*, 5, 1-23. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0127-7>

Thomas, W. and Speer, C. P. (2011). Chorioamnionitis: important risk factor or innocent bystander for neonatal outcome?. *Neonatology*, 99(3), 177-187. <https://doi.org/10.1159/000320170>

Tita, A. T. and Andrews, W. W. (2010). Diagnosis and management of clinical chorioamnionitis. *Clinics in Perinatology*, 37(2), 339-354. <https://doi.org/10.1016/j.clp.2010.02.003>

Ueda, K., Cho, K., Matsuda, T., Okajima, S., Uchida, M. and Kobayashi, Y. (2006). A rat model for arrest of alveolarization induced by antenatal endotoxin administration. *Pediatric Research*, 59(3), 396-400. <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000200796.86858.ca>

Von der Thüsen, J. H., Kuiper, J., Van Berkel, T. J. and Biessen, E. A. (2003). Interleukins in atherosclerosis: molecular pathways and therapeutic potential. *Pharmacological reviews*, 55(1), 133-166. <https://doi.org/10.1124/pr.55.1.5>

Westover, A. J. and Moss, T. J. M. (2012). Effects of intrauterine infection or inflammation on fetal lung development. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 39(9), 824-830. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2012.05742.x>

Willet, K. E., Kramer, B. W., Kallapur, S. G., Ikegami, M., Newnham, J. P. and Moss, T. J. (2002). Pre and postnatal intra-amniotic injection of IL-1 induces inflammation and maturation in fetal sheep lung. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 282(3), L411-L420. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00097.2001>

Wolfs, T. G. A.M., Kallapur, S. G., Polglase, G. R., Pillow, J. J., Nitsos, I. and Newnham, J. P. (2011). IL-1 $\alpha$  mediated chorioamnionitis induces depletion of FoxP3<sup>+</sup> cells and ileal inflammation in the ovine fetal gut. *Plos one*, 6(3), e18355. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018355>

Xavier, M. N., Paixão, T. A., Poester, F. P., Lage, A. P. and Santos, R. L. (2009). Pathological, immunohistochemical and bacteriological study of tissues and milk of cows and fetuses experimentally infected with Brucella abortus. *Journal of Comparative Pathology*, 140(2-3), 149-157. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2008.10.004>

Xavier, M. N., Winter, M. G., Spees, A. M., Nguyen, K., Atluri, V. L. and Silva, T. M. A. (2013). CD4<sup>+</sup> T cell-derived IL-10 promotes Brucella abortus persistence via modulation of macrophage function. *Plos Pathogens*, 9(6), 1-17. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003454>

Zhan, C. Y., Yuan, T. M., Sun, Y. and Yu, H. M. (2011). Early gestational intrauterine infection induces postnatal lung inflammation and arrests lung development in a rat model. *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*, 24(2), 213-222. <https://doi.org/10.3109/14767051003758895>

Zhan, Y. and Cheers, C. (1995). Differential induction of macrophage-derived cytokines by live and dead intracellular bacteria in vitro. *Infection and Immunity*, 63(2), 720-723. <https://doi.org/10.1128/iai.63.2.720-723.1995>

Zhang, J. M. and An, J. (2007). Cytokines, inflammation and pain. *International Anesthesiology Clinics*, 45(2), 27-37. <https://dx.doi.org/10.1097%2FAIA.0b013e318034194e>



## ÖZGEÇMİŞ

|                                      |                                                        |
|--------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| <b>Kişisel Bilgiler</b>              |                                                        |
| <b>Adı Soyadı</b>                    | Sevgi DEMİRBAŞ                                         |
| <b>Eğitim</b>                        |                                                        |
| <b>Lise</b>                          | Atatürk Anadolu Lisesi (2013)                          |
| <b>Lisans</b>                        | Bingöl Üniversitesi<br>Veteriner Fakültesi (2013-2018) |
| <b>Yüksek Lisans</b>                 |                                                        |
| <b>Doktora</b>                       |                                                        |
| <b>Yabancı Dil Bilgisi</b>           |                                                        |
| <b>İngilizce</b>                     |                                                        |
| <b>Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar</b> |                                                        |
| <b>Kuruluş Adı</b>                   |                                                        |

## EKLER

### EK-1. Etik Kurulu Onay Formu



**T.C.**  
**BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ**  
**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU**  
**Çağış Yerleşkesi, (Bigadiç yolu üzeri 17. km) 10145, BALIKESİR-TÜRKİYE**  
**ARAŞTIRMA BAŞVURUSU DEĞERLENDİRME FORMU**

|                          |                                    |                                                                                                                                    |
|--------------------------|------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>BAŞVURU BİLGİLERİ</b> | ARAŞTIRMANIN ADI                   | "B. melitensis 'in sebep olduğu koyun abortlarının akciğerlerinde SP-A ve İL-1 'in immunohistokimyasal yöntemle değerlendirilmesi" |
|                          | PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ KURUMU            | Prof. Dr. Fatma İLHAN<br>BAÜN Veteriner Fakültesi Patoloji AD.                                                                     |
|                          | YARDIMCI ARAŞTIRICILAR             | Vet. Hek. Sevgi DEMİRBAŞ                                                                                                           |
|                          | ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ              | Yüksek Lisans                                                                                                                      |
|                          | ARAŞTIRMANIN SÜRESİ                | 20.06.2021 - 20.06.2023                                                                                                            |
|                          | KULLANILACAK HAYVAN TURU VE SAYISI | KOYUN (Abort Fettüs) – 30 adet                                                                                                     |

|                                        |                      |               |
|----------------------------------------|----------------------|---------------|
| <b>DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER</b> | <b>Belge Adı</b>     | <b>Tarihi</b> |
|                                        | HADYEK BAŞVURU FORMU | 20/05/2021    |

|                        |                                                                                                                                                                                                                                  |                           |
|------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| <b>KARAR BİLGİLERİ</b> | <b>Karar No : 2021/5-1</b>                                                                                                                                                                                                       | <b>Tarih : 03.06.2021</b> |
|                        | Görüşme Sonunda; proje dosyasının Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmeliğin 8.Maddesi, 8. Fıkrası'nın (k) bendi kapsamınca HADYEK iznine tabi olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir. |                           |

| <b>ETİK KURUL BİLGİLERİ</b>                 |                                   |                        |                                                                     |                           |
|---------------------------------------------|-----------------------------------|------------------------|---------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| <b>ÜYELER</b>                               |                                   |                        |                                                                     |                           |
| Unvanı / Adı / Soyadı<br>EK Üyeliği         | Uzmanlık Dalı                     | Kurumu                 | İlişki (*)                                                          | İmza                      |
| Dr. Öğr. Üyesi Elif AKSÖZ<br>Başkan         | Tıbbi-Farmakoloji                 | Tıp Fakültesi          | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H | [Redacted Signature Area] |
| Prof. Dr. Gülten ERKEN<br>Başkan Yardımcısı | Tıbbi- Fizyoloji                  | Tıp Fakültesi          | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H |                           |
| Prof. Dr. Ziya İLHAN<br>Üye                 | Veteriner - Mikrobiyoloji         | Veteriner Fakültesi    | <input checked="" type="checkbox"/> E<br><input type="checkbox"/> H |                           |
| Doç. Dr. Hatice YILDIRIM<br>Üye             | Moleküler Biyoloji ve Genetik     | Fen Edebiyat Fakültesi | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H |                           |
| Doç. Dr. Muharrem EROL<br>Üye               | Veteriner Cerrahi                 | Veteriner Fakültesi    | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H |                           |
| Dr. Öğr. Üyesi Fatih UĞUN<br>Üye            | Tıp-Anesteziyoloji ve Reanimasyon | Tıp Fakültesi          | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H |                           |
| Hacer ERDEN<br>Üye                          | Sivil Toplum Kuruluş Üyesi        | Ev Hanımı              | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H |                           |
| Mehmet UÇAR<br>Üye                          | Sivil Üye                         | Emekli                 | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H |                           |
| Vet. Hek. Mustafa H. YARANOĞLU<br>Üye       | Veteriner Hekim                   | BAUNDEHAM              | <input type="checkbox"/> E<br><input checked="" type="checkbox"/> H |                           |

(\*) Başvurulan Projelerde Proje Sahibi veya Yardımcı Araştırmacılardan birinin Yerel Etik Kurul Üyesi veya 1. Derece Akrabası olması halinde ilgili üye proje görüşmesine katılamaz.



Eğitimde, bilimde, sanatta çağdaş...



Balıkesir Üniversitesi  
Tıp Fakültesi Dekanlık Binası  
Çağış Yerleşkesi/BALIKESİR



(0 266) 612 14 62  
sagbilen@balikesir.edu.tr  
<http://www.balikesir.edu.tr>

