

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PATOLOJİ (VETERİNER) YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

KEÇİLERDE KOKSİDİYOZİS ENFEKSİYONUNDA
BAĞIRSAK HÜCRELERİNDE HEAT SHOCK PROTEİN 70'İN
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

MEHMET HESAPÇIOĞLU
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
PROF. DR. HAMDİ AVCI

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
VTF-19015 numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2021

TEŞEKKÜR

Tez çalıŐmalarım esnasında deneyim ve bilgilerini benden esirgemeyip her zaman destek olan değerli danışman hocam Prof. Dr. Hamdi AVCI'ya sonsuz teŐekkürlerimi sunarım.

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Patoloji Anabilim Dalı BaŐkanı Őule Yurdaęül ÖZSOY'a, Öğretim Üyesi Prof. Dr. Nihat Toplu'ya, Öğretim Üyesi, Prof. Dr. Recai TUNCA'ya, Dr. Öğ. Üyesi E. Tuęrul EPİKMEN'e çok teşekkür ederim. Laboratuvar çalıŐmalarım esnasında her daim yanımda olan AraŐ. Gör. Dr. Emrah İPEK'e ve AraŐ. Gör. Dr. AyŐe Nur AKKOÇ'a, teşekkür ederim. Bugünlere gelmemi sağlayan seğgili babam ve annem Ahmet ve Emine HESAPIęLU'na, teşekkür ederim.

Son olarak çalıŐmamızı desteklediği için Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	I
TEŞEKKÜR	II
İÇİNDEKİLER	III
KISALTMALAR DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
RESİMLER DİZİNİ	VI
TABLolar DİZİNİ	VII
ÖZET	VIII
ABSTRACT	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Koksidiyozis	2
2.2. Isı Şoku Proteinleri	8
3. GEREÇ VE YÖNTEM	15
3.1. Kullanılan Bağırsak Örnekleri	15
3.2. Histopatolojik İncelemeler	17
3.3. İmmunohistokimyasal İncelemeler	17
3.4. Bulguların Değerlendirilmesi	18
3.5. İstatiksel İnceleme	18
4. BULGULAR	19
4.1. Klinik Bulgular	19
4.2. Makroskopik Bulgular	19
4.3. Histopatolojik Bulgular	23
4.4. İmmunohistokimyasal Bulgular	30
5. TARTIŞMA	34
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	39
7. KAYNAKLAR	40
ÖZGEÇMİŞ	58

KISALTMALAR DİZİNİ

AIF:	Apoptozis İndükleyen Faktör
APAF:	Apoptotik Proteaz Aktive Edici Faktör
APC:	Antijen Presenting Cell (Antijen Sunan Hücre)
DR4:	Death Receptor 4 (Ölüm Reseptörü 4)
DR5:	Death Receptör 5 (Ölüm Reseptörü5)
E:	<i>Eimeria</i>
HSE:	Heat Shock Element – Isı Şoku Elementi
HSF:	Heat Shcok Factor – Isı Şoku Faktörü
Hsp:	Heat Shock Protein - Isı Şoku Proteini
IFN	İnterferon
IL:	İnterlökin
JNK	Jun-N-Terminal Kinaz
LPS:	Lipopolisakkarit
NK:	Natural Killer Cell (Doğal Öldürücü hücre)
TLR:	Toll Like Receptör
TNF:	Tümör Nekrozis Faktör
TRAIL:	TNF Related Apoptosis Inducing Ligand (TNF İlişkili Apoptozisi İndükleyen Ligand)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Hsp70, Hsp27 ve Hsp90'ın antiapoptotik etkileri 12



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1.	Oğlak. Olgu No. 10, Hayvanda Şiddetli dehidrasyon ve zayıflama	21
Resim 2.	Oğlak. Bağırsak, Olgu No. 8, Tđm bağırsak duvarında kalınlaşma, serozada yer yer peteŐiyel kanama ve lđmeninde kataral bir iÇerik	21
Resim 3.	Oğlak, Bağırsak, Olgu No. 10, Bağırsak mukozasında lđmene doğru uzanan değişen bđyđklđklerde ve Şok sayıda boz beyaz renkte nodđler alanlar	22
Resim 4.	Olgu No. 17, Bağırsak epitelinde dđkđlmeye bağlı kđtleŐmeler	26
Resim 5.	Olgu No. 9, Bağırsak epitellerinde dđkđlmeler	26
Resim 6.	Olgu No. 3, Bağırsakta yangısal infiltrasyon	27
Resim 7.	Olgu No. 9, Nodđler hiperplazi alanı	27
Resim 8.	Olgu No. 4, Nodđler hiperplazi alanı	28
Resim 9.	Olgu No. 5, Eimeria gamontları	28
Resim 10.	Olgu No. 4, Bir Eimeria dev Şizontu	29
Resim 11.	Kontrol grubuna ait hayvanların mikroskopik fotoğrafları (HE boyama)	29
Resim 12.	Olgu No. 18 Hsp70 ekspresyonu	31
Resim 13.	Olgu No. 14 Şiddetli Hsp70 ekspresyonu	31
Resim 14.	Olgu No. 16 Kript epitellerinde Hsp70 ekspresyonu	32
Resim 15.	Olgu No. 1 Hiperplazik nodđldeki Hsp70 ekspresyonu	32
Resim 16.	Kontrol grubu hayvanların mikroskopik gđrđntđleri (IHC boyama)	33

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.	Keçilerde saptanan bazı <i>Eimeria</i> türleri ve morfolojik özellikleri	3
Tablo 2.	Keçilerde koksidiyozisi meydana getiren etkenlerden en sık görülen türlerin dünyadaki ve Türkiye'deki prevalansı	5
Tablo 3.	Çalışmada kullanılan hayvanların yaş, ırk, cinsiyet ve geldikleri yer bilgisi	16
Tablo 4.	Çalışmada kullanılan hayvanlara ait klinik ve makroskobik bulgular ve parazitolojik incelemeler.	20
Tablo 5.	Çalışma ve kontrol gruplarına ait örneklerin mikroskobik bulgularının istatistik verileri.	25

ÖZET

KEÇİLERDE KOKSIDYOZİS ENFEKSİYONUNDA BAĞIRSAK HÜCRELERİNDE HEAT SHOCK PROTEİN 70'İN ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

**Hesapçıoğlu M. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Veteriner Patoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2020**

Bu çalışmada koksidiyozisle enfekte keçilerin bağırsaklarında ısı şoku proteinlerinden Hsp70'in etkinliği araştırıldı. Bu amaçla çeşitli ırk, cinsiyet ve yaşlardan 27 adet keçi kullanıldı. Bu keçilerin 18 tanesi patolojik olarak koksidiyozis tanısı koyulmuş hayvanlar geri kalan 9 keçi ise herhangi bir patolojik bulgu göstermeyen kontrol grubu olarak kullanılan hayvanlardı. Nekropsi sonrası alınan bağırsak örnekleri bilinen yöntemlerle tespit edildikten sonra bu örneklerden hemotoksilen eozin ve immunohistokimyasal boyamalar için kesitler alındı. Alınan kesitlerin tamamı rutin metodlarla boyandı. Histopatolojik bulgular epitel hasarı, hiperplazi, nodüler lezyonlar, çeşitli gelişme dönemlerindeki Eimera etkenleri ve bağırsağın mukozal ve submukozal bölümlerindeki yangısal infiltrasyondur. İmmunohistokimyasal incelemelerde bağırsağın çeşitli bölümlerinde değişen yoğunlukta Hsp70 ekspresyonu görüldü. Hsp70'in hücrelerde koksidiyozis hastalığının meydana getirdiği stresi baskılamak amaçlı eksprese edildiği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Koksidiyozis, Isı Şoku Proteinleri, Hsp70, Keçi, Histopatoloji, İmmunohistopatoloji

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE HEAT SHOCK PROTEIN 70 ACTIVITY IN INTESTINE CELLS OF GOATS WITH COCCIDIOSIS

**Hesapçioğlu M. Aydın Adnan Menderes University Institute of Health Sciences
Department of Veterinary Pathology, Master Thesis, Aydın, 2020**

This study aimed to investigate Heat Shock Protein 70 activity in intestine cells of goats infected with coccidiosis. For this purpose 27 goats from both sexes, various breeds, and ages were used. 18 of these goats were naturally infected with coccidiosis, the remaining 9 goats showed no pathological lesions and used as control group. Intestine samples collected and fixed with known methods after necropsy. The sections for immunohistochemistry and hematoxylin–eosin stainings were made and these sections stained with routine methods. Histopathological results were epithelial damage, hyperplasia, nodular lesions, various stages of Eimeria, and inflammatory infiltration in mucosal and submucosal layers of the intestine. Immunohistochemistry showed Hsp70 expression with variable intensity. In conclusion, we thought that Hsp70 expression was a result of cellular stress caused by coccidiosis infection.

Keywords: Coccidiosis, Heat Shock Proteins, Hsp70, Goat, Histopathology, Immunohistopathology

1. GİRİŞ

Günümüzde çok sayıda ırkı olduğu bilenen keçinin (*Capra aegagrus hircus*) evcilleştirme tarihi yaklaşık 11.000 yıl öncesine kadar uzanmaktadır (Scherf, 2000; Luikart ve ark, 2006). Keçi ırklarının zorlu iklim ve çevre koşullarına karşı dayanıklılığı ve keçi yetiştiriciliğinin düşük maliyetli olması; keçi yetiştiriciliğinin, gelir seviyesinin düşük olduğu kırsal alanlarda önemli bir hayvansal faaliyet olmasına neden olmuştur (Kumar ve ark, 2010). Bakteriyel ve viral kaynaklı enfeksiyöz hastalıkların yanında paraziter enfeksiyonlar da keçi yetiştiriciliğindeki en büyük problemlerden biridir (Lloyd ve Soulsby, 1978; Foreyt, 1990; Balicka-Ramiz, 1999; Navarre ve Pugh, 2002; Tsotetsi and Mbat, 2003). Bu paraziter etkenlerden *Eimeria* türleri tarafından meydana getirilen koksidiya enfeksiyonu diğer hayvan türlerinde olduğu gibi keçilerde de önem arz etmektedir (Smith ve Sherman, 1994; Pugh ve Navarre, 2001; Navarre ve Pugh, 2002).

Isı şoku proteinleri (Heat Shock Proteins-Hsp); tek hücreli yaşam formlarından çok hücreli biki ve hayvan hücrelerine kadar her hücrede bulunan, hücresel ve metabolik birçok faaliyetlerde ve stres durumlarında (sıcaklık stresi, kimyasal maddelerin yol açtığı stresler, oksidatif stres ve enfeksiyöz hastalıkların stresi) önemli görevler üstlenen bir protein ailesidir (Whitley ve ark, 1999). Birçok araştırmacı, insan ve hayvanlarda ısı şoku proteinlerinin; sıcak ve soğuk gibi fiziksel streslerde, serbest radikallerden meydana gelen oksidatif streslerde, kimyasal maddelerin neden olduğu streslerde, kanserli hücrelerde ve çeşitli enfeksiyöz-nonefeksiyöz hastalıklarda sentezlendiklerini saptamışlardır. Bu proteinlerinden Hsp70'in, organizmada hücrelerde stresin önlenmesi ve hücre yaşamının devam ettirilmesinde birçok rol üstlendiği bildirilmiştir (Schmitt ve ark, 2003). Yapılan bu çalışmada ısı şok proteinlerinden Hsp70'in *Eimeria* ile enfekte keçilerin bağırsaklarından hazırlanan parafin kesitlerde, bu enfeksiyondaki rolünün aydınlatılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Koksidiyozis

2.1.1. Tanım

Koksidiyozis, genellikle gastrointestinal sisteme yerleşen *Eimeria* türü parazitlerin yol açtığı bir enfeksiyondur (Karaer ve ark, 2012). Hastalık direk ölümlere neden olmanın yanında verim kaybı, gelişme geriliği ve yüksek tedavi giderleri nedeniyle diğer hayvan türlerinde olduğu gibi keçi yetiştiriciliğinde de önemli ekonomik kayıplara neden olur (Jalila ve ark. 1998; Abo-Shehada ve Abo-Farieha 2003). Koksidiyozis tüm yaş gruplarında görülmekle birlikte genç hayvanlarda daha sık ve daha şiddetli bir hastalık tablosu halinde görülür (Karaer ve ark, 2012).

2.1.2. Etiyoloji

İlk olgularda koyun ve keçilerde görülen koksidiyozis hastalığının etkenlerinin ortak olduğu düşünülmekteydi ancak sonradan yapılan çalışmalarda bu etkenlerin farklı türler oldukları ortaya konulmuştur (Andrews, 2013). *Eimeria*'nın keçilerde bilinen 15'ten fazla türü vardır (Silva ve Lima, 1998; Kheirandish ve ark, 2012). *Eimeria* türleri içerisinde *E. christensenii*, *E. arloingi*, *E. caprina* ve *E. ninakohlyakimovae* keçiler için en patojen türler olarak bildirilmiştir (Silva ve Lima, 1998; Kheirandish ve ark, 2012; Khodakaram-Taftı ve Hashemnia, 2017). Keçilerde gözlenen bazı *Eimeria* türleri ve bunların bazı özellikleri Tablo 1'de sunulmuştur (Karaer ve ark, 2012).

Tablo 1: Keçilerde saptanan bazı *Eimeria* türleri ve morfolojik özellikleri (Karaer ve ark, 2012).

Eimeria Türü	Yerleşim Yeri	Şizogoni Generasyonu	Prepatent Süre (Gün)	Sporlanma Süresi (Gün, 20°C)	Patojenite
<i>E. aironi</i>	İnce Bağırsaklar	2	14-17	2-3	+++
<i>E. ninokohlyakimovae</i>	İleum, Sekum, Kalın bağırsağın üst kesimi	2	13-17	2-3	+ / +++
<i>E. christenseni</i>	Jejunum, İleum, Mezenterik Lenf Yumruları	2	14-23	3-6	+++
<i>E. caprina</i>	Bilinmiyor	Bilinmiyor	17-20	2-3	Bilinmiyor
<i>E. hirici</i>	Bilinmiyor	Bilinmiyor	13-16	2-3	Bilinmiyor
<i>E. caprinova</i>	Bilinmiyor	Bilinmiyor	14-20	2-3	Bilinmiyor
<i>E. aliyevi</i>	İnce Bağırsağın orta kısmı, Kalın Bağırsak	2	7-12	1-5	++

(++: orta şiddette, +++: şiddetli)

2.1.3. Epizootiyoloji

Koksidiyozisin prevalansı; yetiştirme koşulları, hijyen, iklimsel değişiklikler, konağın immun durumu ve konağın ırkına göre değişkenlik gösterir (Chhabra ve Pandey, 1991; Khodakaram-Tafti ve Hashemnia, 2017). Zayıf hijyen koşulları, kalabalık yetiştirme ve stres faktörlerinin hastalığın prevalansının artmasında önemli oldukları belirtilmiştir (Altaf ve Hidayatu, 2014). Ayrıca sıcak havalarda hastalığın daha yoğun görüldüğü rapor edilmiştir (Harper ve ark, 1999; Wang ve ark, 2010). Dişi hayvanların gebelik ve emzirme gibi stres faktörlerinden dolayı koksidiyozis hastalığına daha duyarlı oldukları bildirilmiştir (Khokaram-Tafti ve Hashemnia, 2017).

Koksidiyozis hem dünyada hem Türkiye’de keçilerde yaygın görülen paraziter enfeksiyonlardan birisidir. Dünya genelinde keçi dışkılarındaki ookist oranının %80 civarında olduğu çeşitli çalışmalarla saptanmıştır (Norton, 1986; O’calaghan, 1989; Koudela ve

Bokova, 1998; Karaer ve ark, 2012). Keçilerde koksidiya hastalığını meydana getiren etkenlerden en sık görülen türlerin dünyadaki ve Türkiye'deki prevalansı Tablo 2'de sunulmuştur (Khodakaram-Tafti ve Hashemnia, 2017). İngiltere'de yapılan bir çalışmada keçi dışkılarının %98'inde (Norton, 1986), Polonya'daki çalışmada % 71'inde (Balicka-Ramiz 1999), Güney Afrika'daki çalışmada %98,2'sinde (Harper ve ark, 1999), Güney Avustralya'daki çalışmada % 97'sinde (O'calaghan, 1989), kuzeydoğu Çin'deki çalışmada %90,9'unda (Wang ve ark, 2010), Çek Cumhuriyeti'ndeki çalışmada %92,2'sinde (Koudela ve Bokova, 1998) ve güneybatı İran'da yapılan çalışmada %89,91'inde *Eimeria* ookistleri tespit edilmiştir (Kheirandish ve ark, 2012).

Türkiye'de de *Eimeria* türlerinin prevalansı üzerine yapılmış çalışmalar bulunmaktadır (Değer ve ark, 2003; Gül, 2007; Çiçek ve ark, 2016). Çiçek ve ark, (2016) Afyon ilinde yaptıkları çalışmada saanen keçilerinin % 39,6'sında *Eimeria* türü tespit etmiş ve bunların içinden en yaygın türlerin *Eimeria caprina* (%43,2) ve *E.ninakohlyakimovae* (%33,8) olduğunu bildirmişlerdir. Değer ve ark. (2003) Van'da yaptıkları çalışmada keçilerin dışkısında %73 oranında *Eimeria* ookisti tespit etmişlerdir ve bu ookistlerin %40,9'unun *E. aironi* türüne, %34,3'nün *E. christenseni*'ye ve %32,6'sının da *E. alijeviye* ait olduğunu saptamışlardır. Gül'ün (2007) Iğdır ilinde yaptığı çalışmada keçilerin dışkılarının %82,5'inde *Eimeria* ookistleri tespit edilmiştir.

Tablo 2: Keçilerde koksidiyozisi meydana getiren etkenlerden en sık görülen türlerin dünyadaki ve Türkiye'deki prevalansı (Khodakaram-Tafti ve Hashemnia, 2017).

Ülke	Eimeria'nın Türü ve Prevalansı	Kaynaklar
Güney Portekiz	<i>E. ninakohlyakimovae</i> (%88), <i>E. arloingi</i> (%85), <i>E. alijevi</i> (%63), <i>E. caprovina</i> (%63)	Silva ve ark, 2014
Çek Cumhuriyeti	<i>E. arloingi</i> (%84), <i>E. hirci</i> (%63), <i>E. ninakohlyakimovae</i> (%56), <i>E. christenseni</i> (%55)	Koudela ve Bokova, 1998
Polonya	<i>E. arloingi</i> (%80), <i>E. christenseni</i> (%70), <i>E. ninakohlyakimovae</i> (%40), <i>E. caprina</i> (%20)	Balicka-Ramizs, 1999
Kanarya Adaları	<i>E. ninakohlyakimovae</i> (%30.0), <i>E. arloingi</i> (%28.6), <i>E. alijevi</i> (%20.5), <i>E. caprina</i> (%9.1)	Ruiz ve ark, 2006
Nijerya	<i>E. jolchievi</i> (%24), <i>E. pallida</i> (%22), <i>E. arloingi</i> (%18), <i>E. apsheronica</i> (%16)	Woji ve ark, 1994
Zimbabve	<i>E. alijevi</i> (%99), <i>E. ninakohlyakimovae</i> , (%99), <i>E. hirci</i> , (%83,5), <i>E. arloingi</i> , (%80,6)	Chhabra ve Pandey, 1991
Tanzanya	<i>E. alijevi</i> (%63), <i>E. arloingi</i> (%55), <i>E. caprina</i> (%26), <i>E. ninakohlyakimovae</i> (%26)	Kusilika ve ark, 1996
Güney Afrika	<i>E. arloingi</i> (%97.47), <i>E. hirci</i> (%84.34), <i>E. caprovina</i> (%61.11), <i>E. ninakohlyakimovae</i> (%45.95)	Harper ve ark, 1999
Güneydoğu İran	<i>E. arloingi</i> (%68.26), <i>E. christenseni</i> (%50,9), <i>E. ninakohlyakimovae</i> (%41,8), <i>E. caprina</i> (%31,7)	Knox ve Steel, 1996
Sri Lanka	<i>E. ninakohlyakimovae</i> (%31), <i>E. alijevi</i> (%29), <i>E. arloingi</i> (%21), <i>E. christenseni</i> (%7)	Faizal ve Rajapakse, 2001
Malezya	<i>E. arloingi</i> (%71), <i>E. ninakohlyakimovae</i> (%67), <i>E. christenseni</i> (%63), <i>E. alijevi</i> (%61)	Jalila ve ark, 1998
Kuzey Ürdün	<i>E. caprina</i> (%13.5), <i>E. ninakohlyakimovae</i> (%12.5), <i>E. arloingi</i> (%11), <i>E. apsheronica</i> (%10)	Abo-Shehada ve Abo-Farieha, 2003
Kuzeydoğu Çin	<i>E. christenseni</i> (%78.3), <i>E. alijevi</i> (%73.7), <i>E. caprina</i> (%62.3), <i>E. arloingi</i> (%44.6)	Wang ve ark, 2010
Türkiye (Van)	<i>E. arloingi</i> (%40.9), <i>E. christenseni</i> (%34.3), <i>E. alijevi</i> (%32.6), <i>E. pallida</i> (%31.0)	Değer ve ark, 2003
Türkiye (Iğdır)	<i>E. arloingi</i> (%47.43), <i>E. christenseni</i> (%45.14), <i>E. ninakohlyakimovae</i> (%36), <i>E. alijevi</i> (%26.85)	Gül, 2007
Türkiye (Afyon)	<i>E. caprina</i> (%43,2), <i>E. ninakohlyakimovae</i> (%33,8), <i>E. aspheronica</i> (25,7)	Çiçek ve ark, 2016

2.1.4. Patogenezis

Eimeria türleri zorunlu hücre içi parazitler olup yaşam döngüleri birbirine benzerlik gösterir. Döngü kısaca ookistin olgunlaştığı, konağın dışında geçen eksojen evre ile aseksüel ve seksüel dönemlerin yer aldığı konakçıda geçen endojen evreden oluşur (Soulsby, 1982).

Aseksüel evre, *Eimeria* ookistlerinin konakçı tarafından ağız yoluyla alınması ve ookistlerdeki sporozitlerin ookistten çıkması (eksitasyon) ile başlar (Foreyt, 1990). Bu sporozitler ince bağırsak epitelini delerek hücre içine girerler. Sporozitler hücre içinde önce trofozoit ardından şizont halini alırlar. Şizontlar birinci nesil merozoitleri oluştururlar. Bu merozoitler kendi hücrelerini patlatarak yeni bağırsak hücrelerini enfekte ederler (Bowman, 2013). Merozoitler ikinci bir şizogoni evresine girebilirler ya da seksüel çoğalma evresine (gametogoni) geçebilirler. *Eimeria*'nın türüne göre bu aseksüel çoğalmaların ikisi de ince bağırsakta olabildiği gibi biri ince biri de kalın bağırsakta gerçekleşebilir (Khodakaram-Tafti ve Hashemnia, 2017).

Gametogoni evresinde, şizogoni evresi sonucu oluşan merozoitler makrogamont ve mikrogamontları (sırasıyla dişi ve erkek üreme hücreleri) meydana getirir. Makrogamont ve mikrogamontlar üremeye uygun halde farklılaşarak makrogamet ve mikrogamet adını alırlar. Makro ve mikrogametın birleşmesi sonucu zigot meydana gelir. Zigotun etrafında hyalinden bir duvar oluşturulmasıyla zigot ookist halini alır. Ookistlerin dış ortama atılması ile döngü sonlanmış olur. (Foreyt, 1990; Bowman, 2013).

Dışkılama ile dış ortama bırakılan *Eimeria* ookistlerinin sporlanma süresi türlere göre 2-7 gün arasında değişkenlik gösterir. Sporlanan bu ookistler dış koşullara oldukça dayanıklıdır (Chartier ve Paraud, 2012).

Koksidiyal hastalıkların patogenezisi enfekte hayvanın türü, yaşı, immun durumu, yaşadığı ortam ve parazitin türüne göre değişkenlik gösterir. *Eimeria* türlerinin birçoğu bağırsaklarda mukozaya yerleşerek epitelyal hücrelerde hasara ve ilerleyen olgularda bağırsaklarda yangıya neden olur (Findly ve ark, 1993). *Eimeria*'nın merontları, gamontları ve ookistleri; epitelyal hücrelerde parçalanmalara ve epitelin dökülmesine neden olur (Cook, 1988). Bağırsak epitelindeki yıkım gıda emiliminin azalmasına ve ishale neden olur (Cook, 1988). Bununla beraber koksidiyal enfeksiyonun yol açtığı bağırsak mikroflorasının değişmesinin de hastalığın patojenitesinde rol aldığı bildirilmiştir (Mohammed ve ark, 2000).

2.1.5. Bulgular

2.1.5.1. Klinik Bulgular

Hastalığın klinik bulguları genç hayvanlarda daha yaygın ve şiddetlidir. Klinik olarak vücut ağırlık artışında azalma, büyümede yavaşlama veya durma ile anoreksi ilk dikkati çeken klinik bulgulardandır. (Adrews, 2013). Bol sulu, bazen mukuslu bazen de hemorajik ishal koksidiyozisin ana klinik bulgusudur (Foreyt, 1990). Bunlarla beraber halsizlik, depresyon, kıl ve yapağının dışkıyla bulaşık olması tanımlanmıştır. Çoğunlukla mukuslu bazen kanlı ve bol sulu bir ishal görülmekle birlikte ilerleyen olgularda tenesmus ve prolapsus rekti de görüldüğü bildirilmiştir (Karaer ve ark, 2012).

2.1.5.2. Makroskobik Bulgular

Koksidiya hastalığının makroskobik bulguları en çok, bağırsağın jejunum ve ileum bölümlerinde görülür (Khodakaram-Tafti ve Mansourian, 2008). *Eimeria* türleri ile enfekte oğlaklarda yapılan çalışmalarda makroskobik incelemede bağırsak mukozasında kalınlaşma ile beyazdan sarı renge doğru değişen renklerde ve çeşitli büyüklüklerdeki nodüller saptanmıştır. Çoğu alanda bu nodüller hemorajiler ile birlikte tanımlanmıştır (Radad ve Khalil, 2011; Kheirandish ve ark, 2012). Birçok olguda bu nodüllerin bağırsak serozasından da çıplak gözle görülebildiği bildirilmiştir (Khodakaram-Tafti ve Mansourian, 2008).

2.1.5.3. Mikroskobik Bulgular

Hastalığın mikroskobik bulguları genel olarak bağırsak epitelindeki proliferatif değişiklikler ve bağırsağın epitel hücrelerindeki farklı gelişme aşamalarındaki koksidiya gamont ve merontlarının varlığıdır (Radad ve Khalil, 2011). Hafif şiddetli hastalık olgularında, mukoza epitelinin papiller hiperplazisi ve çoğunlukla lenfositlerden oluşan hafif bir yangı tespit edilmiştir (Khodakaram-Tafti ve Mansourian, 2008). Çeşitli gelişme dönemlerindeki *Eimeria* etkenlerinden dolayı villus ve kript epitelindeki dökülme ve epitel

bariyerin bozulduğu bildirilmiştir. İlerlemiş hastalık olgularında yangının şiddetli olduğu ve çoğunlukla yangı alanında lenfosit, plazma hücreleri ve eozinofillerin görüldüğü bildirilmiştir (Khodakaram-Tafti ve Mansourian, 2008; Kheirandish ve ark, 2012; Priti ve ark, 2017). Bunlarla beraber mezenterik lenf yumrularında lenfoid hiperplazi de tanımlanmıştır (Hashemnia ve ark, 2011).

Eimeria etkenlerinin çeşitli gelişme formlarının trofozoitler, makrogametler, mikrogamontlar, şizontlar, dev şizontlar ve ookistler olduğu tanımlanmıştır. Bazofilik nükleusa sahip trofozoitler, nodül benzeri oluşumların görüldüğü kript epitellerinin sitoplazmalarında vakuoller içinde görülür. Şizontlar muz benzeri merozoitleri barındırırlar ve entorsitlerde görülürler. Makrogametler merkezi bir çekirdeğe sahip iken mikrogamontlar ise yuvarlak ve periferik yerleşimli bir çekirdeğe sahiptirler. Ookistlerin ise oval ve çift cidarlı duvara sahip oldukları ve genellikle mukozada gözlemlendikleri bildirilmiştir (Khodakaram-Tafti ve Mansourian, 2008; Kheirandish ve ark, 2012).

2.1.6.Tanı

Koksidyozisin tanısı klinik bulguların ve hayvanların durumunun değerlendirilmesinin ardından flotasyon yöntemi ile dışkıdaki ookistlerin aranması ile yapılır. Dışkıda ookistin varlığı kesin koksidyal enfeksiyona işaret etmez bunun için yoğun miktarda ookist saptanması gerekir. Keçi ve koyunlar için gram dışkıda 20.000 ookist koksidya tanısını güçlendirir. Kesin tanı patolojik incelemelerle yapılır (Arslan ve Sarı, 2010).

2.2. Isı Şoku Proteinleri

Isı şoku proteinleri hücrelerde proteinlerin katlanması, proteinlerin transportu ve hücreler arası haberleşme gibi görevleri olan şaperonlardır (Voos, 2003). Isı şoku proteinleri şaperonluğun yanında hücrenin yaşamının devam ettirilmesi amacıyla çeşitli stres durumlarında stresin zararlı sonuçlarını tamponlaması ve apoptozisin önlenmesi gibi önemli rollere sahiptirler (Sreedhar ve Csemerly, 2004). Bu proteinlerin varlığı ilk olarak 1962 yılında *Drosophila buscii* türünün tükürük bezlerinin ısıya maruz bırakılması sonucu ortaya koyulmuştur (Ritossa, 1962).

Hücreler; ısı, soğuk, toksinler, iskemi ve enfeksiyonlar gibi streslere maruz kaldıklarında bu hücrelerdeki proteinlerde hatalı katlanmalar, çözülmeler ve agregasyonlar meydana gelir (Muralidharan ve Mandrekar, 2013). Isı yanıt cevabı da çoğu zaman bu hatalı proteinlere karşı gelişir (Feder ve Hofmann, 1991; Benndorf ve Bielka, 1997; Walter ve Buchner, 2002). Bu durumda hücrenin doğrudan olarak bu stresleri algılayamadığı, onun yerine ısı stresi, oksidatif stres, ağır metallerin yarattığı hasarlar veya etanol vb. kimyasallardan dolayı oluşan hasarlar sonucu ortaya çıkan hatalı katlanmamış, aggregate olmuş proteinler nedeni ile ısı yanıtının başladığı söylenebilir (Heikkila ve ark, 1982; Courgeon ve ark, 1984; Yura ve ark, 1984; Michel ve Starka, 1986).

Isı şoku proteinlerinin sınıflandırması molekül ağırlıkları baz alınarak yapılmıştır (Whitley ve ark, 1999). Memeli hücrelerinde strese yanıt olarak sentezlenen Hspler başlıca altı gruba ayrılır. Bu gruplar; Küçük ısı şok protein ailesi (Small heat shock proteins-sHsp-HspB), Hsp40 ailesi, Hsp60 ailesi, Hsp70 (HspA) ailesi, Hsp90 (HspC) ailesi ve Hsp110 (HspH) ailesi olarak isimlendirilmiştir (Morimoto ve ark, 1994; Scharf ve ark, 1998, Whitley ve ark, 1999).

2.2.1. Stres Yanıtının Düzenlenmesi ve Proteinlerinin Sentezi

Stres yanıtının cevabı ısı şoku faktörü (Heat Shock Factor - HSF) denilen özel transkriptör faktörler aracılığı ile düzenlenir (Whitley ve ark, 1999). Stres koşulları altında bu düzenleyiciler, ısı şok genlerinin promotör bölgelerindeki ısı şoku elementlerine (HSE) bağlanarak onları aktive ederler. Omurgasızların genomunda tek çeşit HSF mevcut iken daha gelişmiş canlılarda çeşitli tiplerde HSF'ler bulunduğu bildirilmiştir. Omurgalılarda ise en az dört farklı HSF mevcut olup bunlardan HSF1 ilk keşfedilen ve üzerinde en çok çalışılan ısı şoku faktörü olarak tanımlanmıştır. HSF1 neredeyse tüm doku ve hücrelerde sentezlenir ve stres yanıtının düzenlenmesinde rol alır. HSF2 hücre farklılaşma ve gelişiminde görev alır. Ayrıca oluşan strese yanıt olarak HSF1 ile beraber sentezlendiği de görülmüştür (Akerfelt ve ark, 2010). İlk olarak kanatlılarda keşfedilen daha sonra da farelerde de varlığı kanıtlanan HSF3'ün ise yoğun stres koşulları altında aktive olduğu bildirilmiştir (Tanabe ve ark, 1997). HSF4 ise çoğunlukla gözdeki lenste sentezlenir, beyin ve akciğer gibi dokularda da keşfedilmiştir ve sürekli sentezlenen ısı şok proteinlerinin düzenlenmesinde rol oynar (Tanebe ve ark, 1999).

HSF maya hücrelerinde DNA'ya bağlı halde bulunur ve sıcaklık etkisiyle fosforile olup aktivitesini başlatır (Jakobsen ve Pelham, 1988). Ökaryotik hücrelerde ise HSF'nin inaktif monomerik formu Hspler ile birleşik bir yapıda sitoplazmada bulunur. Stres durumlarında artan denatüre proteinler, HSF'den Hsplerin ayrılmasına neden olur. Serbest kalan HSF önce trimerize olur ardından fosforilasyona uğrar ve nükleusa göç ederek HSE'ye bağlanıp stres yanıtını başlatır. HSF etkinliği ile artan ısı şok proteinleri ortamdaki denatüre proteinleri bağladıktan sonra substratın eksikliği nedeniyle HSF'ye bağlanmaya başlarlar ve yanıt sonlandırılır (Morimoto ve ark, 1992).

HSF aktivasyonunun protein denatürasyonuna bağlı olmadan direk stres faktörlerince başlatılabileceğini iddia eden birkaç çalışma da mevcuttur (Víggh ve ark, 1998; Horvát ve ark, 2012; Balogh ve ark, 2013). Bunlara göre alternatif membran termosensörü denilen yapı doğrudan ısı şoku genlerini aktive edebilir. Isı şoku sırasında membranın akışkanlığı hızlı bir şekilde artar ve bu artış denatüre proteinlerin ortaya çıkmadan Hsplerin sentezini aktive eder ve bu olaydan HSF1 sorumludur. Membran sensörü denilen bu hipotezde; membrandaki fiziksel değişiklikler ve membrandaki mikro organizasyon Hsp yanıtının ortaya çıkmasında önemli bir role sahiptir (Víggh ve ark, 1998; Horvát ve ark, 2012; Balogh ve ark, 2013).

2.2.2 Hsp70

Hsp70 ailesi 70 kDa baz ağırlığındaki proteinlerden oluşur (Voos, 2003). Hsp70'in bazı önemli metabolizmik görevleri; endoplazmik retikulum, mitokondri ve sitoplazmadaki proteinlerin katlanması, hatalı proteinlerin eliminasyonu, protein komplekslerinin çözümlenmelerinin engellenmesi, düzenleyici proteinlerin kontrolü, hatalı katlanmış proteinlerin düzeltilmesi, bazı öncül proteinlerin mitokondriye transferi ve hücrel kompartımanlar arasında proteinlerin transportudur (Voos, 2003).

Hsp70 proteinleri iki fonksiyonel alt üniteye sahiptir. Bunlar N-terminalli ATPase ucu ve C-terminalli substrat ucudur. Katlanmamış veya denature proteinlerde hidrofobik amino asit grupları ortaya çıkar ve hidrofobik gruplar C-terminalli uca bağlanır. N-terminaline bağlanan ATP ile bu proteinler normal haline getirilir ve protein Hsp70'den ayrılır. ATP yokluğunda Hsp70 substratla güçlü bir bağ oluşturur ve bu sayede proteinlerin agregate olması önlenir. Hsp70'e ATP bağlanması ve hidrolizi DNAJ ve HspH gibi yardımcı şaperonlarca düzenlenir (Qiu ve ark, 2006).

2.2.3. Hsp70 ve Apoptozis

Hsp70 hücrenin hayatını devam ettirme amacıyla apoptozisin sonlandırılmasında birçok basamakta görev alır (Sreedhard ve Csemerly, 2004). Gen çalışmaları ile elde edilen Hsp70.1 ve Hsp70.3 genlerinden yoksun fareler Hsp70'in hücrenin yaşamını devam ettirmesi için çok önemli olduğunu göstermiştir. Bu ırkların hücrelerinin çeşitli ölümcül stres faktörleri karşısında apoptozise son derece duyarlı olduğu gözlemlenmiştir (Schmitt ve ark, 2003). Hsp70, Hsp 27 ve Hsp90'ın antiapoptotik etkileri Resim 1'de sunulmuştur (Wang ve ark, 2014).

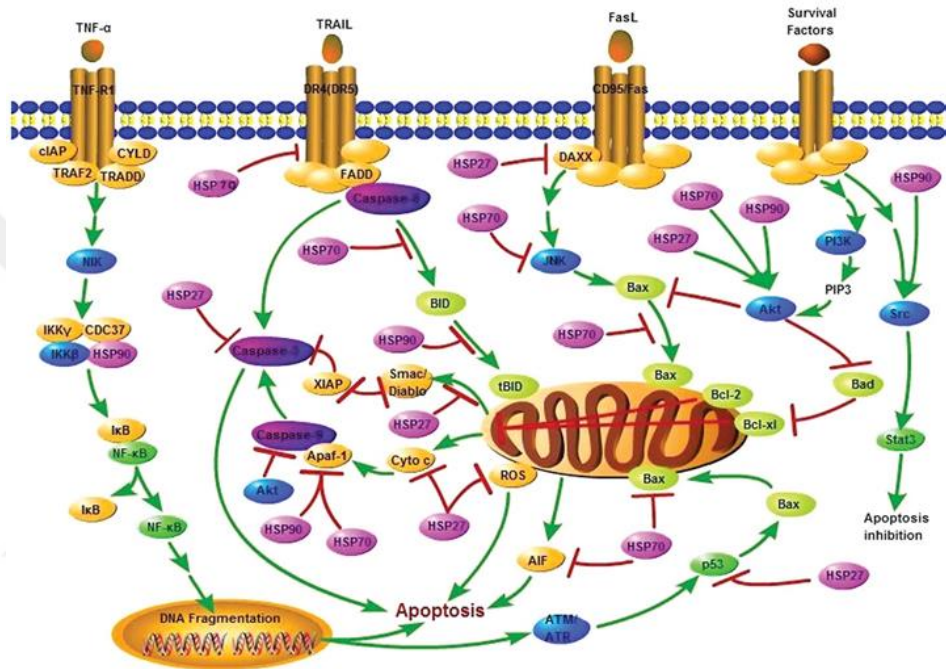
Hsp70 hücreyi stresle induklenen caspase bağımlı apoptozisten korur. Bunun yanında caspase şelalesinin aktivasyonunu önler (Jaattela ve ark, 1998). Hsp70 doğrudan caspase-3'ün aktivasyonunu önlemez ancak ardından süregelen ve lipaz A2'nin aktivasyonu gibi ölmekte olan hücrelerdeki karakteristik değişiklikleri ve nükleer morfolojideki değişiklikleri engeller (Mosser ve ark, 2000).

Hsp70 ekspresyonu mitokondriden sitokrom-c salınmasını direk önlemez ancak caspase şelalesinin aktivasyonunu engeller. Hsp70'in bu özelliği, Apaf-1'e ATPase ucu ile bağlanıp procaspase-9'un apoptozoma toplanmasını engellemesi ile ilgilidir (Beere ve ark, 2000; Mosser ve ark, 2000). Bunların yanında diğer çalışmalar göstermiştir ki Hsp70, procaspase-3 ve procaspase-7'nin olgunlaşmasını önleyerek caspase yolağını ayrı noktalarda da durdurabilir (Mosser ve ark, 2000). Isı aracılı apoptoziste Hsp70, mitokondriden Bax salınmasını Bax'a bağlanarak engeller (Yang ve ark, 2012). Bu yolla mitokondri dış membranının permabilitesini önleyerek, sitokrom-c ve AIF gibi apoptojenik moleküllerin sitoplazmaya çıkışını durdurur (Stankiewicz ve ark, 2000).

Hsp70, Bcl-2 ailesi proteinlerinin ekspresyonundaki bazı transkripsiyon faktörlerini de etkiler. Bcl-2 ailesindeki proteinler, caspase aktivatörlerini kontrol eder ve apoptoziste önemli role sahip olup p53'ün transkripsiyonel hedefidir. Bcl-2 proteinlerinin transkripsiyonları p53 tarafından baskılanır. Aynı zamanda p53 bir apoptotik aktivatör olan Bax transkripsiyonunu da indükler. Hsp70, p53'ün sentezini direk çekirdekten önler (Zylicz ve ark, 2001). Hsp70 ayrıca eksojen caspase inhibitörleri varlığında ya da apaf-1 negatif hücrelerde görülen caspase bağımsız apoptozisi de inhibe edebilir (Creagh ve ark, 2000).

Hsp70 JNK'ya bağlanıp Jun-N terminal Kinase-1'in etkinliğini de engeller. Ancak bu işlem apoptozisi durdurmak için yeterli olmayabilir (Mosser ve ark, 2000). Hsp70 ayrıca DR4 ve DR5 ölüm reseptörlerine bağlanıp TRAIL aracılı ölüm indükleyen sinyal kompleksinin

(DISC) aktivasyonunu da önler (Guo ve ark, 2004). Ayrıca Hsp70'in ko-şaperonu olan Bag-1; Bcl-2 ve Raf-1 gibi proteinlerin aktivitesini düzenler. Hsp70/Bag-1 kompleksi strese yanıt olarak; Raf-1/ERK kinaz ve hücre büyümesini kontrolünde ve apoptoziste görevli katepsinlerin ve lizozom proteazların inhibisyonunda görev alır (Gyrd-Hansen ve ark, 2004; Nylandsted ve ark, 2004).



Şekil 1: Hsp70, Hsp27 ve Hsp90'un antiapoptotik etkileri (Wang ve ark, 2014).

2.2.4. Hsp70 ve İmmun Sistem

Isı şok proteinleri stresin zararlı sonuçlarının önlenmesinin yanında antijen sunma, savunma hücrelerinin olgunlaşması, makrofajların aktivasyonu ve yara iyileşmesi gibi birçok yolla immün sisteme katkıda bulunurlar. Hsp'lerin hücrede oluşan antijenik peptidlere bağlanıp bunları hücre membranındaki MHC sınıf 1 moleküllerine taşıdığı bilinmektedir. (Li ve ark, 2002; Srivastava, 2008, Tsan ve Gao, 2009). Hsp'ler tarafından işlem görmüş ya da bağlanmış eksojen peptidler veya Hsp-peptid kompleksleri halinde invitro hazırlanıp aşı

olarak uygulanan bu kompleksler APC (antijen presenting cell, antijen sunucu hücreler, makrofaj, dendritik hücreler vb.) tarafından alınır (Basu ve ark, 2001; Li ve ark, 2002). Bu peptid kompleksleri MHC I molekülleri aracılığı ile T lenfositlere sunulur. Bu işleme cross-presentation denir (Li ve ark, 2002). Sadece antijenin bulunduğu duruma göre cross presentation immun yanıt açısından daha güçlü bir T hücre cevabı uyandırır (Li ve ark, 2002; Bendz ve ark, 2007).

Bakteriyel (Skeen ve ark,1996; Galdiero ve ark, 1997), memeli (Basu ve ark, 2000; Somersan ve ark, 2001; Panjwani ve ark, 2002; Vabulas ve ark, 2002) bakteri kökenli rekombinant olarak elde edilmiş (Friedland ve ark, 1993; Peetermans ve ark, 1995; Kol ve ark, 1999; Bulut ve ark, 2002; Wang ve ark, 2002) ve insan kaynaklı (Vabulas ve ark, 2002; Kol ve ark, 2000; Ohashi ve ark, 2000; Bethke ve ark, 2002; Dybdahl ve ark, 2002; Asea ve ark, 2006) Hsp60, Hsp70, Hsp90 ve gp96 türlerinin doğal bağışıklığın uyarıcısı olduğu bilinmektedir. Bu Hsp preparatları TNF- α , IL-1, IL-6 ve IL-12 gibi proinflamatuvar sitokinlerin ve C-C, nitrik oksid gibi kemokinlerin monositler, makrofajlar ve dendritik hücrelerden salınımını uyarır (Min Fu ve Gao, 2009). Hsp70 ekstraselüler ortama salındığında TLR (Toll Like Receptor) ve sitokinleri etkiler ve hem anti hem de pro inflamatuvar etkilere sahiptir. Hsp70 ile CD14 (bir glikofosfotidilinositol reseptörü) ve APC'deki TLR2/4 arasındaki etkileşimi proinflamatuvar sitokinlerin salınmasına neden olur (Asea ve ark, 1999; Wang ve ark, 2002; Lehner ve ark, 2004). Bu işlem sonrasında doğal bağışıklık nonspesifik olarak uyarılır.

Hsp70 aynı zamanda hücre yüzeyinde bolca CD94 bulunduran NK hücrelerinin tetikleyici bir faktördür (Schmitt ve ark, 2007). Hps70 gen diziliminde C-terminalindeki 14 amino asitli peptid (TKD) NK hücreleri üzerinde Hsp70 proteini ile aynı düzeyde immunostimulan etkiye sahiptir (Multhoff ve ark, 1999). NK hücrelerinin sitokinler ve Hsp70 solüsyonu ya da TKD peptidiyle inkübe edilmesi hücre yüzeyindeki NK aktive edici reseptörlerin, CD94 de dahil, sayısının artmasını sağlar (Gross ve ark, 2003).

Hsp70'in proinflamatuvar etkilerinin yanında yangıyı baskılayıcı ve dolayısı ile doku koruyucu özellikleri de vardır (Muralidharan ve Mandrekar, 2013). Isı şokuna girmiş makrofajların Hsp70 aşırı ekspresyonu ile bağlantılı olarak TNF ekspresyonlarının azaldığı görülmüştür (Snyder, 1992). Aynı zamanda insan makrofajlarındaki Hsp70'in aşırı ekspresyonu TNF- α ve IL-1 β gibi LPS aracılı sitokinlerin ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (Ding ve ark, 2001). Bunlarla beraber Hsp70'in dendritik hücrelerin T hücrelerini uyarma etkinliğini azalttığı da gösterilmiştir (Stocki ve ark, 2012).

Bu çalışmada keçilerde gözlenen koksidiya enfeksiyonunda, keçilerin bağırsaklarındaki Hsp70'in immunohistokimyasal yöntemle ekspresyonunun araştırılması planlandı. Ayrıca hastalığın meydana getirdiği patolojik bulgular ile Hsp70 ekspresyonu arasındaki korelasyon araştırıldı.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Bağırsak Doku Örnekleri

Çalışmanın materyalini; Aydın, Muğla, Denizli ve İzmir illerinden Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na farklı zamanlarda getirilen 27 oğlak oluşturdu. Bu hayvanlardan 18 tanesini patolojik incelemeler sonucu koksidiyozis tanısı konulmuş hayvanlar, 9 tanesini ise herhangi bir patolojik bulgunun görülmediği hayvanlar oluşturdu. Bu hayvanlara ait yaş, cinsiyet ve geldiği iller ile ilgili bilgiler Tablo 3'te belirtilmiştir.

Tablo 3: Çalışmada kullanılan hayvanların yaş, ırk, cinsiyet ve geldikleri yer bilgisi.

	Olgu No	Yaş	Cinsiyet	İrk	Geldiği Yer
Koksidiyozlu Örnekler	1	2 Ay	Erkek	Saanen	Aydın
	2	4 Ay	Erkek	Kıl Keçisi	Muğla
	3	7 Ay	Erkek	Kıl Keçisi	Muğla
	4	1.5 Ay	Erkek	Melez	Aydın
	5	40 Gün	Erkek	Kıl Keçisi	Aydın
	6	3 Ay	Dişi	Kıl Keçisi	Aydın
	7	3 Ay	Erkek	Kıl Keçisi	Aydın
	8	2 Ay	Erkek	Saanen	Aydın
	9	2 Ay	Dişi	Saanen	Aydın
	10	2 Ay	Erkek	Kıl Keçisi	Aydın
	11	2 Ay	Erkek	Kıl Keçisi	Aydın
	12	1 Yıl	Erkek	Saanen	İzmir
	13	2 Ay	Erkek	Kıl Keçisi	Muğla
	14	2 Ay	Erkek	Kilis Keçisi	Denizli
	15	1 Ay	Erkek	Kilis Keçisi	Denizli
Kontrol Grubu	16	1 Ay	Erkek	Melez	Aydın
	17	2 Ay	Erkek	Saanen	Muğla
	18	2.5 Ay	Erkek	Melez	Muğla
	19	3 Ay	Erkek	Kıl Keçisi	Aydın
	20	1 Yıl	Erkek	Kıl Keçisi	Denizli
	21	2 Ay	Erkek	Melez	Aydın
	22	2 Ay	Erkek	Kıl Keçisi	Aydın
	23	3 Yıl	Dişi	Kıl Keçisi	Aydın
	24	4 Yıl	Dişi	Saanen	Denizli
	25	1.5 Yıl	Dişi	Kıl Keçisi	Aydın
	26	7 Gün	Erkek	Kıl Keçisi	Aydın
	27	20 Gün	Dişi	Saanen	Aydın

3.2. Histopatolojik İncelemeler

Nekropsi sonrası hayvanlardan alınan doku ve organ örnekleri %10'luk formalin solüsyonunda tespit edildi. Örnekler 6-8 saat süre ile akan çeşme suyu ile yıkandıktan sonra, doku takip cihazında (Leica TP1020) takip edilerek parafin kesitlerde bloklandı. Bu bloklardan 5-6 µm kalınlığında alınan kesitler (mikrotom, Leica RM2135), hematoksilin ve eozin (HE) ile boyandı (Culling, 1985). Poly-L-lysin'li lamalar üzerine alınan seri kesitler ise immunohistokimyasal incelemeler için ayrıldı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda (Olympus BX51) incelendi ve gerekli görülen preparatlardan mikroskopik dijital fotoğraflar (Olympus C-5050) çekilerek bilgisayar ortamına aktarıldı.

3.3. İmmunohistokimyasal İncelemeler

İmmunohistokimyasal incelemelerde Hsp70 ekspresyonu, monoklonal Hsp70 antikoru (Hsp 70 Antibody (N27F3-4), katalog no: sc-66049) kullanılarak streptavidin-biotin yöntemi ile belirlendi (Chmielewska ve ark, 2015). Rutin olarak 5 µm kalınlığında parafin bloklardan hazırlanan kesitler, poli-L-lisinle kaplı lamalar üzerine alındı. Bu kesitler 40 oC'lik etüvde 10 dakika bekletildikten sonra, ksilol ve alkol serilerinden geçirilerek, fosfat tamponlu solüsyonunda (PBS; pH 7,2) 3 defa 5 dakika boyunca yıkandı. Dokudaki endojenaz peroksidaz aktivitesini baskılamak için kesitler %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) içeren absolut metanolde 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra kesitler PBS ile 3 defa 5 dakika yıkandı. Daha sonra doku örnekleri % 0,1 proteaz K solüsyonunda nemli kamerada 37°C'de 10 dakika bekletildi. Spesifik olmayan antijenik bağlanmaları engellemek için % 1'lik bovine serum albumininde nemli kamerada 20 dakika tutuldu. PBS ile 3 defa 5 dakikalık yıkama işleminden sonra kesitler üzerine, PBS içinde 1/350 oranında sulandırılmış monoklonal Hsp70 primer antikoru uygulandı ardından kesitler 37°C' de 60 dakika beklemeye alındı. Daha sonra kesitlere PBS ile 3 defa 5 dakikalık yıkama işlemi uygulandı. Dokular, kullanıma hazır biyotinlenmiş sekonder antikor (Thermo Scientific™ Lab Vision™ UltraVision™ Large Volume Detection System: anti-Polyvalent, HRP (Ready-To-Use, katalog no: TP-060-HL) ile nemli kamerada 25°C'de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası dokular PBS içinde 3 defa 5 dakika yıkandıktan sonra DAB (3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride) ile reaksiyona sokuldu. Harris hematoksilin ile karşıt boyama yapıldıktan

sonra dokular alkol serilerinde dehidre edildi. Ksilolde şeffaflandırılan kesitler yapıştırıcı ile kapatıldı. Tüm kesitlerin aynı şartlarda ve prosedürde boyanmasından sonra, sonuçlar ışık mikroskobunda değerlendirildi.

3.4. Bulguların Değerlendirilmesi

Rutin HE boyama ile elde edilen preparatlar ışık mikroskobunda semikantitatif olarak değerlendirildi. Değerlendirmede epitellerde dökülme, villus atrofisi, epitellerde hiperplazi, epitellerde nekroz, yangısal infiltrasyonun şiddeti ve *Eimeria* etkenlerinin yoğunluğu baz alındı. Bu bulgular 0: yok, 1: hafif şiddetli, 2: orta şiddetli ve 3: şiddetli olarak skorlandı. Olgularda, ışık mikroskobunda 10x'lik büyütmede seçilen 10 sahadaki *Eimeria* etkenlerinin sayısının ortalaması alındıktan sonra; etkenlerin görülmediği preparatlar 0 olarak; 0 ile 150 arası etkenin görüldüğü olgular 1 olarak, etkenlerin 150 ile 250 arasında görüldüğü olgular 2 olarak; etkenlerin sayısının 250 ve üzerinde görüldüğü olgular ise 3 olarak derecelendirildi.

İmmunohistokimyasal incelemelerde Hsp70 ekspresyonunun şiddeti ve Hsp 70'in dokuda lokalizasyonu olarak değerlendirildi. Dokuda immunohistokimyasal boyanmanın yoğunluğu semikantitatif olarak 0, 1, 2 ve 3 olarak skorlandı (0: yok, 1:hafif şiddetli, 2: orta şiddetli, 3: şiddetli).

3.6. İstatiksel İnceleme

Veriler SPSS 22 (Inc., Chiago, II, USA) yazılımı ile analiz edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Veriler ardından Mann-Whitney U testi ile değerlendirilip tablo halinde sunuldu.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

Çalışmadaki koksidiyozisli hayvanların klinik bulguları ishal, dehidrasyon, depresyon ve kaşeksiden oluşmaktaydı.

Hasta hayvanların durgun ve zayıflamış oldukları görüldü. Buna ek olarak, sürüdeki hasta diğer hayvanlarda ölümler bildirilmişti.

Tüm hasta hayvanlarda ishal mevcuttu. İshalin tipi bol suludan kanlı ve mukusluya kadar değişkenlik göstermekteydi. Hayvanlardaki dehidrasyon hali ve zayıflama ishalin şiddeti ve süresi ile değişkenlik göstermekteydi. Yine ishale bağlı olarak çoğu olguda özellikle vücudun arka tarafındaki tüylerin dışkı ile bulaşık olduğu görüldü.

4.2. Makroskopik Bulgular

Çalışmada hayvanlara ait makroskopik bulgular ve parazitolojik incelemeler Tablo 4'te özetlendi.

Nekropside hayvanların tamamı kaşektikti (Resim 1). Mukozalar solgun ve anemikti. Hayvanların kılları karışık ve mat görünümdeydi. Hayvanlarda en belirgin makroskopik bulgular bağırsakların jejunum ve ileum bölümlerinde saptandı. Bu bulgular; bağırsak duvarlarında kalınlaşma, serozalarda ödem, hiperemi ve yer yer kanamalardan oluşan vasküler değişiklikler (Resim 2) ile mukozalarda yerleşim gösteren değişen büyüklüklerdeki boz beyaz renkteki nodüler alanlardan oluşmaktaydı.

Bağırsak duvarındaki kalınlaşmalar makroskopik olarak çoklu polipoid nodüler yapıların görüldüğü alanlarda daha belirgindi (Resim 3). Bağırsak mukozasında dışarı doğru taşkınlık gösteren boz beyaz renkte ve değişen büyüklüklerdeki bu polipoid nodüller, mukozada girintili çıkıntılı alanlar oluşturmuştu. Bazı olgularda bu nodüler alanlar, bağırsak duvarının serozasından bile seçilebilmekteydi. Olguların tümünde serözden katarale kadar değişen sulu bir içerik mevcuttu. Kimi olgularda ise bağırsak lümeninde kırmızı renkte bağırsak içeriği bulunmaktaydı.

Tablo 4: Çalışmada kullanılan hayvanlara ait klinik ve makroskobik bulgular ve parazitolojik incelemeler.

	Olgu No	Klinik Bulgular			Makroskobik Bulgular			Parazitolojik İnceleme
		İshal	Dehidrasyon	Zayıflama	Bağırsak Duvarında Kalınlaşma	Nodüler Yapı	Bağırsak İçeriği	
Koksidiyozlu Hayvanlar	1	+	+	+	+	-	Seröz	-
	2	+	+	+	+	-	Hemorajik	-
	3	+	+	+	+	-	Seröz	-
	4	+	+	+	+	+	Hemorajik	-
	5	+	+	+	+	+	Hemorajik	-
	6	+	-	+	+	+	Hemorajik ve Mukuslu	-
	7	+	-	+	+	+	Hemorajik ve Mukuslu	-
	8	+	-	-	+	+	Yoğun Mukuslu	+
	9	+	-	-	+	-	Yoğun Mukuslu	+
	10	+	+	-	+	+	Hemorajik ve Mukuslu	+
	11	+	+	+	+	+	Hemorajik	+
	12	+	-	+	-	-	Hemorajik	+
	13	+	+	+	+	-	Hemorajik ve Mukuslu	-
Kontrol Grubu	14	+	+	+	+	-	Hemroajik	+
	15	+	+	+	+	-	Hemorajik	-
	16	+	+	-	-	+	Seröz	-
	17	+	+	+	+	-	Hemorajik ve Mukuslu	+
	18	+	+	+	-	+	Seröz	-
	19	-	-	-	-	-	-	-
	20	-	-	-	-	-	-	-
	21	-	-	-	-	-	-	-
	22	-	-	-	-	-	-	-
	23	-	-	-	-	-	-	-
	24	-	-	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	-	-	-
	26	-	-	-	-	-	-	-
	27	-	-	-	-	-	-	-

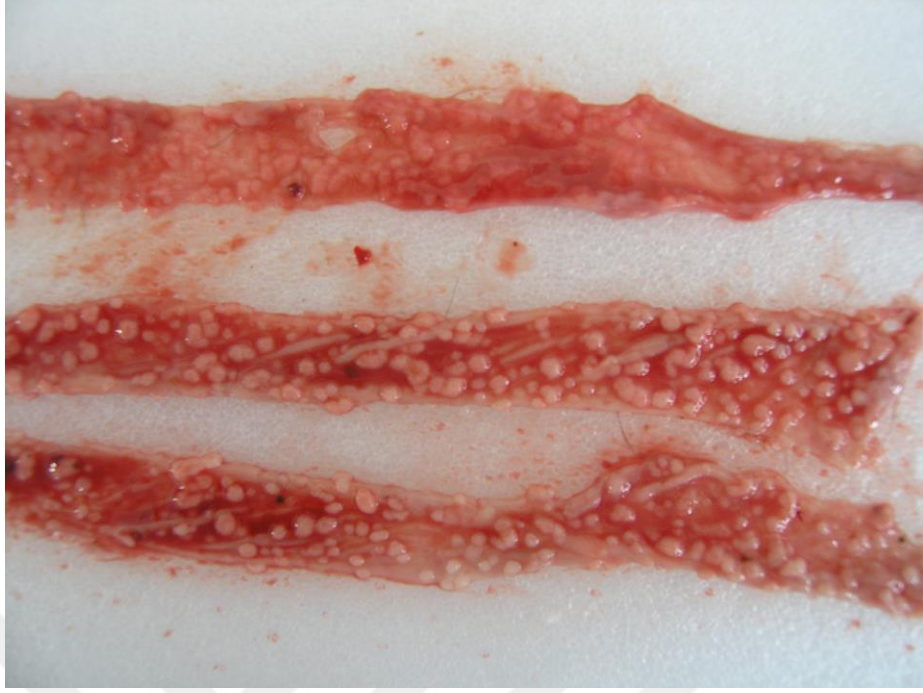
(+: var, -: yok)



Resim 1: Oğlak. Olgu No. 10, Hayvanda Şiddetli dehidrasyon ve zayıflama.



Resim 2: Oğlak. Bağırsak, Olgu No. 8, Tüm bağırsak duvarında kalınlaşma, serozada yer yer peteŐiyel kanama ve lümeninde kataral bir iÇerik.



Resim 3: Oğlak, Bağırsak, Olgu No. 10, Bağırsak mukozasında lümeneye doğru uzanan değişen büyüklüklerde ve çok sayıda boz beyaz renkte nodüler alanlar.

4.3. Histopatolojik Bulgular

Tüm hayvanlara ait mikroskopik bulgularının semikantitatif istatistiksel analizleri Tablo 5'te özetlendi.

Eimeria sp etkenlerinin görüldüğü olguların tamamında histopatolojik bulgulara en yaygın ve şiddetli olarak ince bağırsağın ileum ve jejunum bölümlerinde görüldü. Bu bulgular; mukoza epitellerinde dökülmeler ve nekrozlar, submukozoda yangısal değişiklikler, villuslarda atrofi, peyer plaklarında hiperplazi ile çeşitli gelişme dönemlerine ait etkenlerden (*Eimeria* sp) oluşmaktaydı.

Bağırsak epitellerindeki dökülmeler etkenlerin görülmediği alanlarda daha hafif şiddette, etkenlerin görüldüğü alanlarda ise daha şiddetli ve yaygın olarak belirlendi. (Resim 4-5) Epitel dökülmesi bakımından etkenlerin görüldüğü olgular ile ve kontrol olarak değerlendirilen hayvanlar arasında istatistiksel olarak farklılık oldukça belirgindi ($p<0.001$). Epitel nekrozları ise genellikle *Eimeria* etkenlerin bulunduğu alanlarda görüldü. Etkenlerin yoğun olarak görüldüğü olgularda nekrotik değişiklikler de oldukça şiddetli idi.

Hafifden şiddetli dereceye kadar şekillenen villuslarda atrofiler çalışmada gözlenen en belirgin mikroskopik bulgulardandı. Çalışmada etkenlerin görüldüğü olguların 4'ünde (%22,2) hafif derecede, 4'ünde (%22,2) orta derece ve geriye kalan 10'nunda ise (%55,6) şiddetli derecede villus atrofi gözlemlendi. Kontrol gruplarının örneklerinde ise villus atrofi gözlemlenmedi.

Bağırsak kript epitellerinde hiperplaziler *Eimeria* sp pozitif olguların tamamında mevcuttu. Bu alanlarda *Eimeria* etkenlerinin miktarı oldukça yüküydü. Bu etkenler *Eimeria* gamontlarından oluşmaktaydı. Bunlarla beraber bağırsağın Lieberkuhn bez epitellerinde de hiperplaziler mevcuttu. Epitel hiperplazisi çalışma grubu örneklerin 7'sinde (%38,9) hafif şiddette, 5'inde (%27,8) orta şiddette ve 6'sında ise (%33,3) şiddetli derecede saptandı. Kontrol gruplarına ait bağırsak örneklerde epitel hiperplazisi görülmedi.

Etkenlerin görüldüğü hayvanların tamamında değişen derecelerde özellikle submukozada yerleşim gösteren yangısal değişiklikler saptandı. Söz konusu yangısal değişiklikler ödem, hiperemi ve yer yer kanamalar ile hücre infiltrasyonları şeklinde idi. Bu infiltrasyonlar ise en yoğun ve yaygın olarak lenfosit, plazma hücreleri, eozinofiller ve makrofajlardan oluşmaktaydı. Bu hücre infiltrasyonları kimi alanlarda yer yer nötrofil lökosit infiltrasyonları ile birlikte mevcuttu (Resim 6).

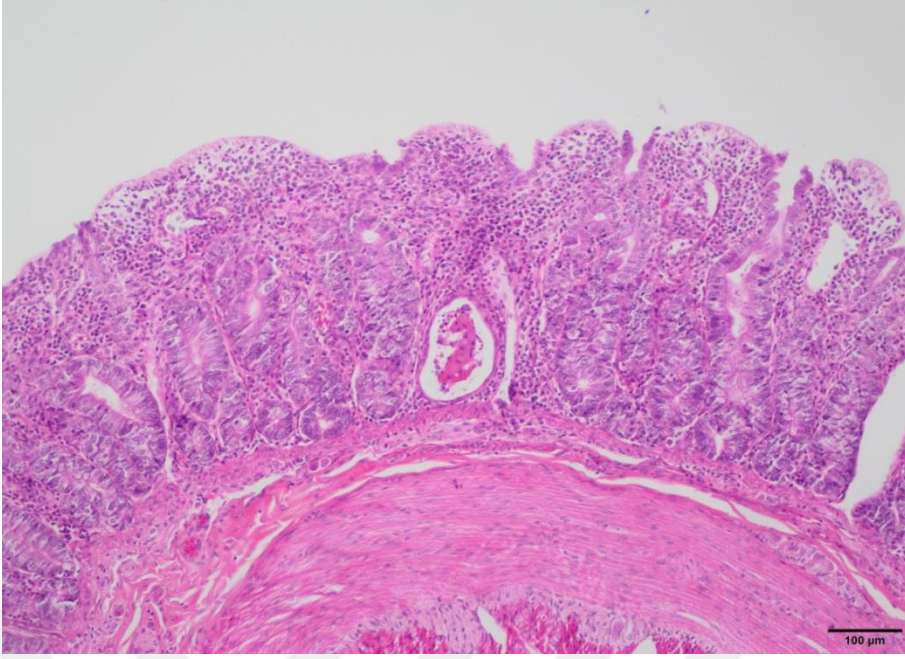
Bağırsaklarda etkenlerin görüldüğü on sekiz olgunun dokuzunda makroskobik olarak kolaylıkla seçilebilen polip benzeri alanlara kimi olgularda bir alanda kimi olgularda ise birden çok sayıda alanda görüldü. Bağırsak lümenine doğru üremeler şeklinde bir yapı gösteren bu alanlar dejeneratif ve nekrotik epitel değişiklikleri ile birlikte yoğun etkenlerin bulunduğu yapılar şeklindeydi (Resim 7-8). Çalışmada bu alanlar özellikle etkenlerin en yoğun olarak görüldüğü olgularda mevcuttu.

Bağırsaklarda *Eimeria*'nın gamontları ve şizontları tespit edildi. Gamontlar eozinofilik renkli ve yuvarlak şekilde, bağırsak epitel katmanının daha çok uç bölgelerine doğru yerleşmiş halde görüldü. Gamontların bulunduğu bölgelerde hiperplazi yaygın olarak görülen bulguydu. *Eimeria* şizontları bağırsak lamina propriasının alt kısmına doğru olan bölgelerde görüldü. Bu şizontların nükleusları bazofilikti. Bunlarla beraber bazı bağırsak bölgelerinde, bağırsak lümenine dökülmüş *Eimeria* etkenleri de mevcuttu. (Resim 9-10). Çalışma grubu ve kontrol grubu örnekleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldü ($p<0.001$).

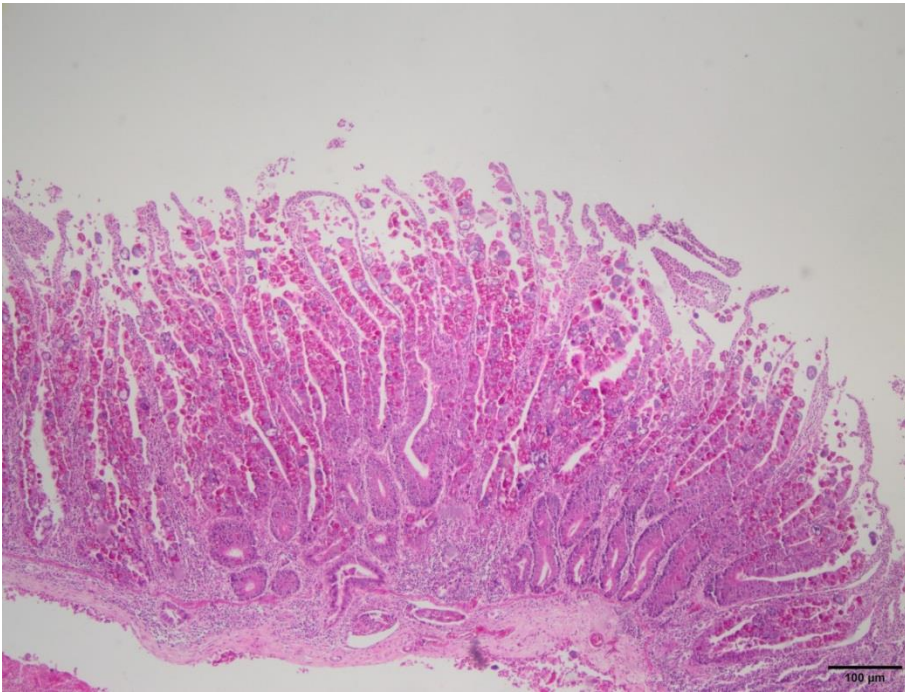
Koksidiyozis tanısı koyulmuş tüm hayvanların diğer doku ve organlarında dikkati çeken herhangi bir patolojik bulguya rastlanılmadı. Ayrıca kontrol olarak kullanılan olgularda da herhangi bir patolojik değişikliğe rastlanılmadı (Resim 11).

Tablo 5: Çalışma ve kontrol gruplarına ait örneklerin mikroskobik bulgularının istatistik verileri.

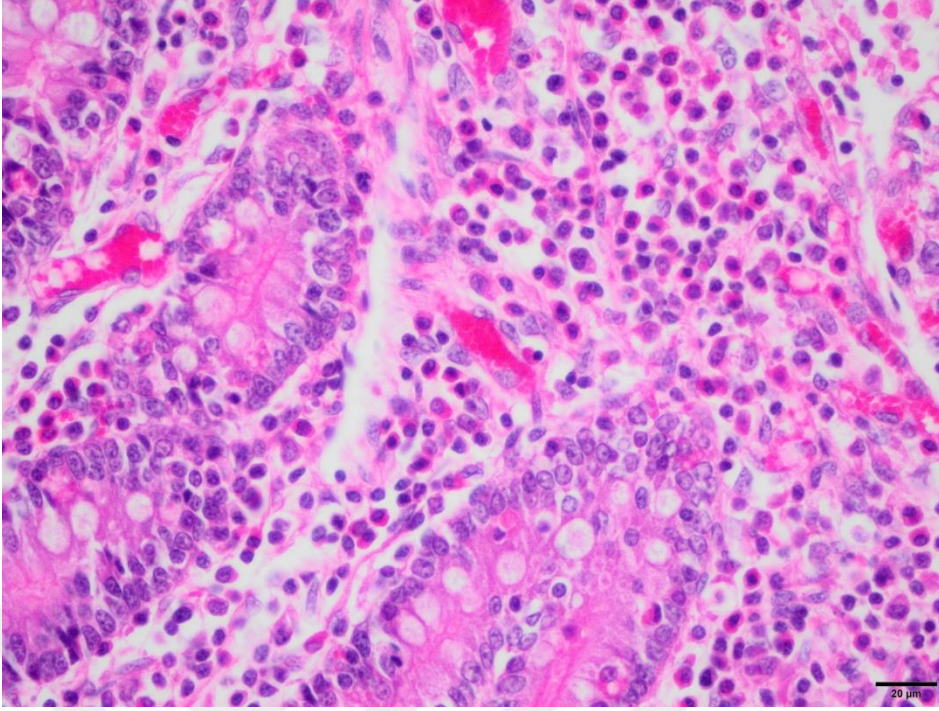
Değişken		0 (yok)	1 (hafif)	2 (orta)	3 (şiddetli)
Etken Yoğunluğu	Çalışma	0 (% 0)	8 (% 44,4)	2 (% 11,2)	8 (% 44,4)
	Kontrol	9 (% 100)	0 (% 0)	0 (% 0)	0 (% 0)
<i>p<0.001</i>					
Eitellerde Dökülme	Çalışma	0 (% 0)	1 (%5,6)	10 (%55,6)	7 (%38,8)
	Kontrol	9 (%100)	0 (% 0)	0 (% 0)	0 (% 0)
<i>p<0.001</i>					
Eitellerde Nekroz	Çalışma	0 (% 0)	1 (%5,6)	10 (%55,6)	7 (%38,8)
	Kontrol	9 (%100)	0 (% 0)	0 (% 0)	0 (% 0)
<i>p<0.001</i>					
Villus Atrofisi	Çalışma	0 (% 0)	4 (%22,2)	4 (%22,2)	10 (%55,6)
	Kontrol	9 (%100)	0 (% 0)	0 (% 0)	0 (% 0)
<i>p<0.001</i>					
Epitel Hiperplazisi	Çalışma	0 (% 0)	7 (%38,9)	5 (%27,8)	6 (%33,3)
	Kontrol	9 (%100)	0 (% 0)	0 (% 0)	0 (% 0)
<i>p<0.001</i>					
Yangısal Hücre İfiltrasyonları	Çalışma	0 (% 0)	0 (% 0)	11 (%61,1)	7 (%38,9)
	Kontrol	9 (%100)	0 (% 0)	0 (% 0)	0 (% 0)
<i>p<0.001</i>					
Hsp70 immunoreaktivitesi	Çalışma	0 (% 0)	0 (% 0)	5 (%27,8)	13 (%72,2)
	Kontrol	0 (% 0)	9 (%100)	0 (% 0)	0 (% 0)
<i>p<0.001</i>					



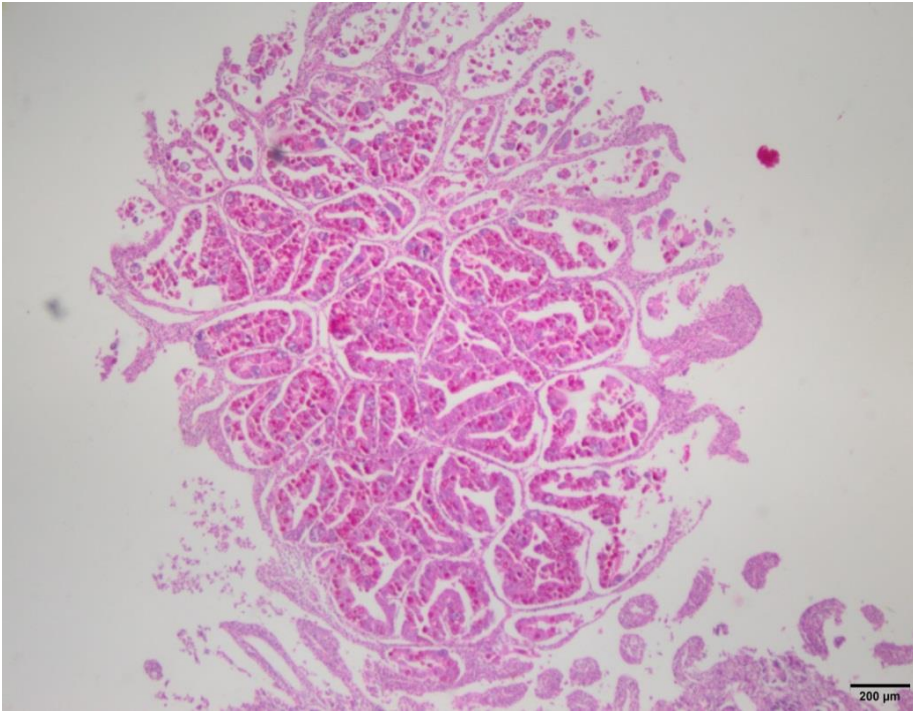
Resim 4: Olgu No. 17, Bağırsak epitelinde dökülmeye bağlı kütleşmeler, HE boyama



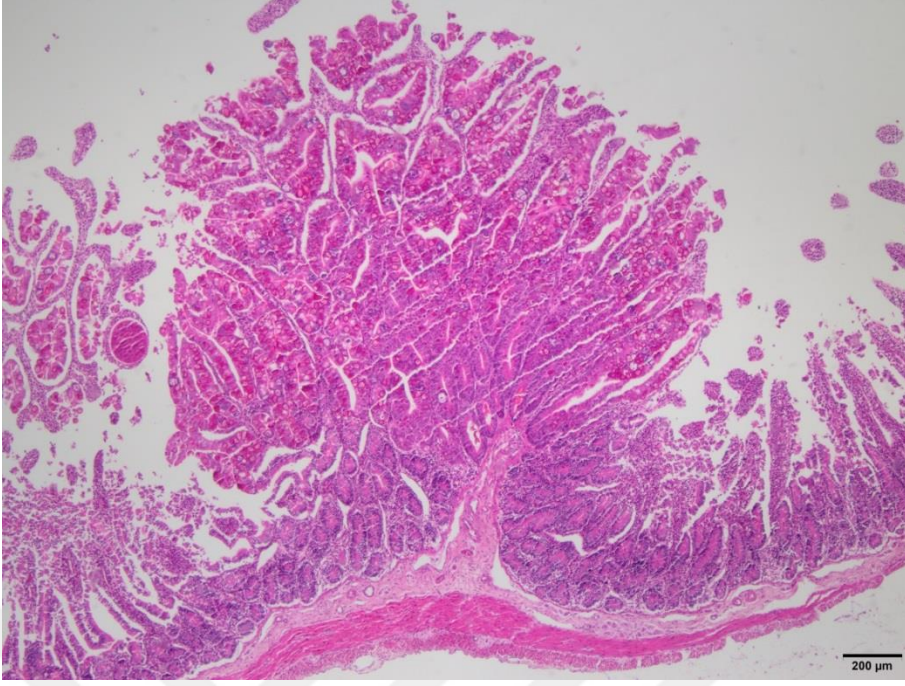
Resim 5: Olgu No. 9, Bağırsak epitelinde dökülmeler, HE boyama



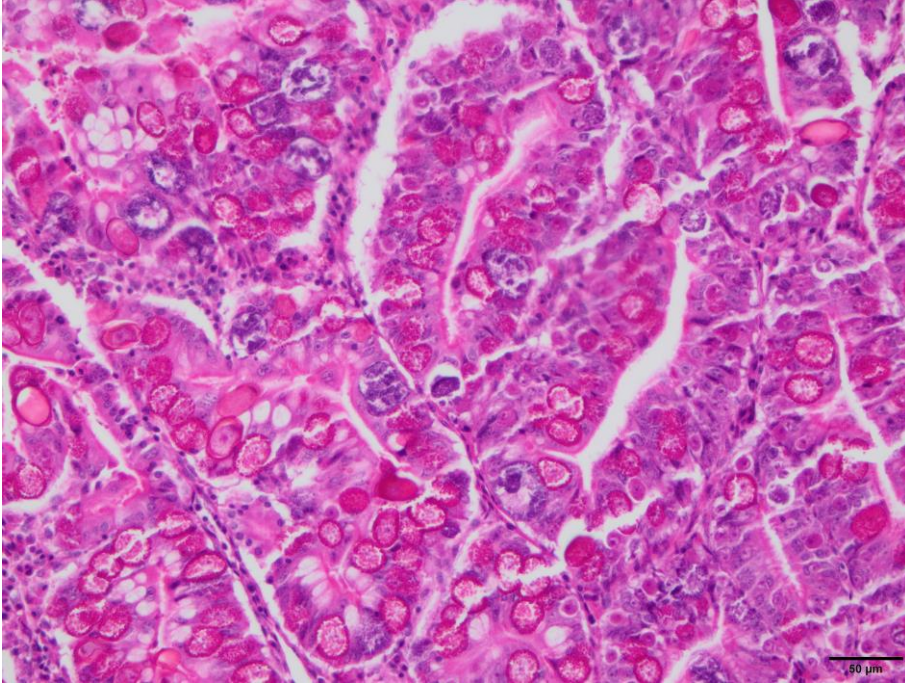
Resim 6: Olgu No. 3, Bağırsakta yangısal infiltrasyon, HE boyama



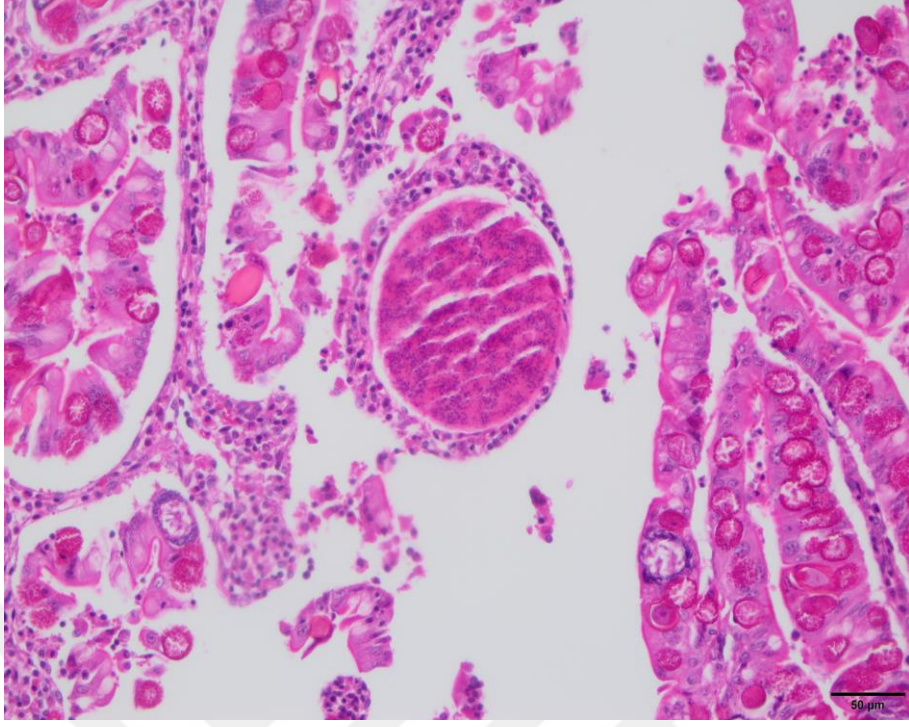
Resim 7: Olgu No. 9, Nodüler hiperplazi alanı, HE boyama



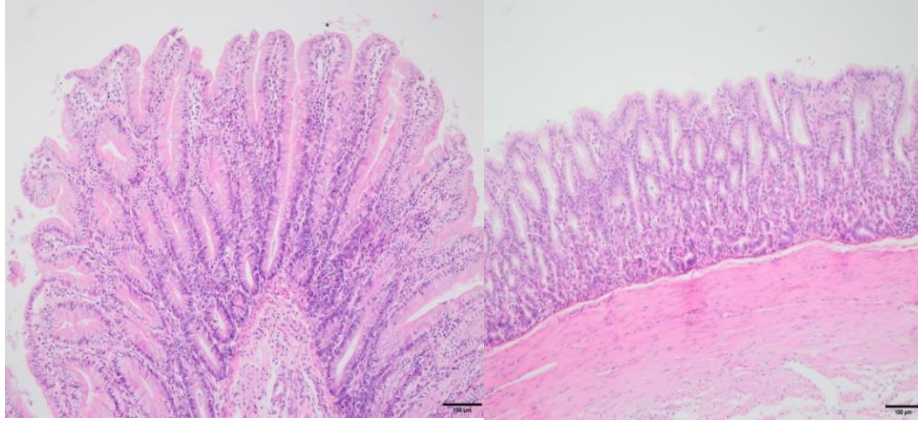
Resim 8: Olgu No. 4, Nodüler hiperplazi alanı, HE boyama



Resim 9: Olgu No. 5, Eimeria gamontları, HE boyama.



Resim 10: Olgu No. 4, Bir Eimeria dev şizontu, HE boyama



Resim 11: Kontrol grubuna ait hayvanların mikroskopik fotoğrafları, HE boyama.

4.4. İmmunohistokimyasal Bulgular

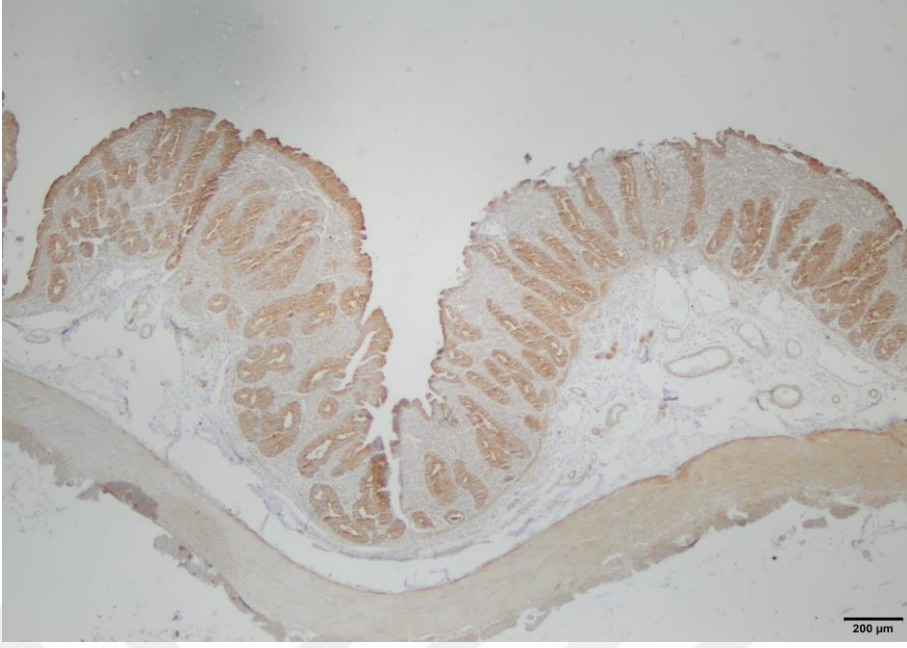
Tüm hayvanlara ait immunohistokimyasal bulgularının semikantitatif istatistiksel analizleri Tablo 5’te özetlendi.

Bağırsaklarda en yaygın ve şiddetli Hsp70 ekspresyonlarına organın jejunum ve ileum bölümlerinde saptandı. Hsp70 ekspresyonu genel olarak bağırsakların lamina propria kısmında daha yoğun olduğu saptandı (Resim 12). Bağırsaklarda hiperplazinin yoğun olduğu kript epitelleri ve Lieberkuhn bez epitellerinde yoğun Hsp70 ekspresyonu oldukça şiddetliydi (Resim 13-14). Hsp70 ekspresyonu polip benzeri nodüler alanların özellikle sağlam epitellerin bulunduğu alanlarda daha yoğun olarak gözlemlendi (Resim 15).

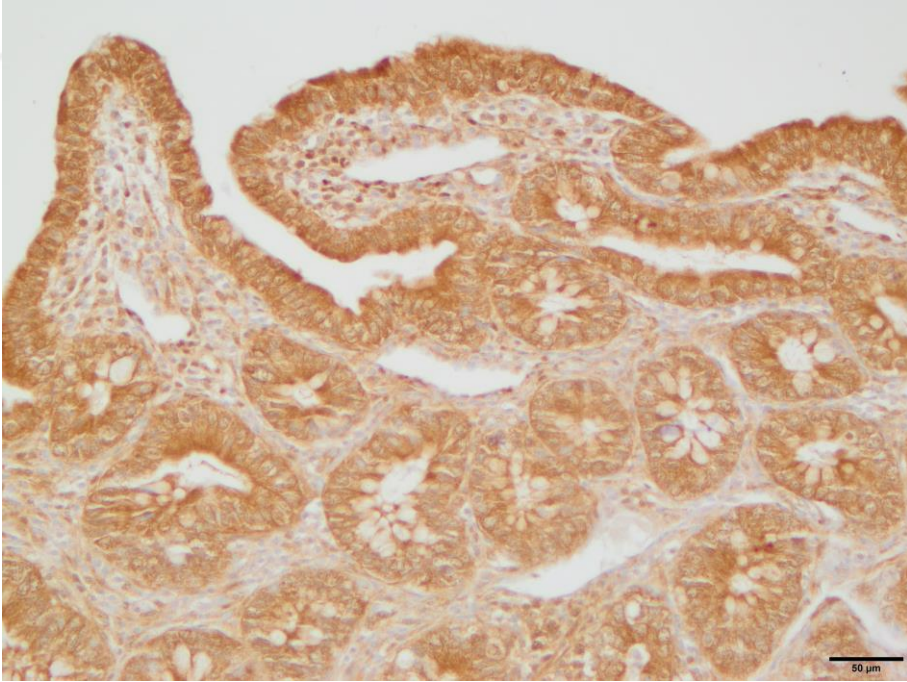
Hsp70 immunoreaktivitesi değerlendirildiğinde çalışma grubu örneklerinin 5’inde (%27,8) orta şiddette, 13’ünde (%72,2) şiddetli derecede Hsp70 ekspresyonu gözlemlendi. Kontrol grubu örneklerin hepsinde hafif derecede Hsp70 ekspresyonu görüldü. Hsp70 ekspresyonu bakımından çalışma grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı istatistiksel farklılık tespit edildi ($p<0.001$).

Çalışmada Hsp70 immunoreaktivitesi hem yangısal alanlarda bulunan yangı hücrelerinde hem de peyer plaklarında hafif ve orta şiddete saptandı

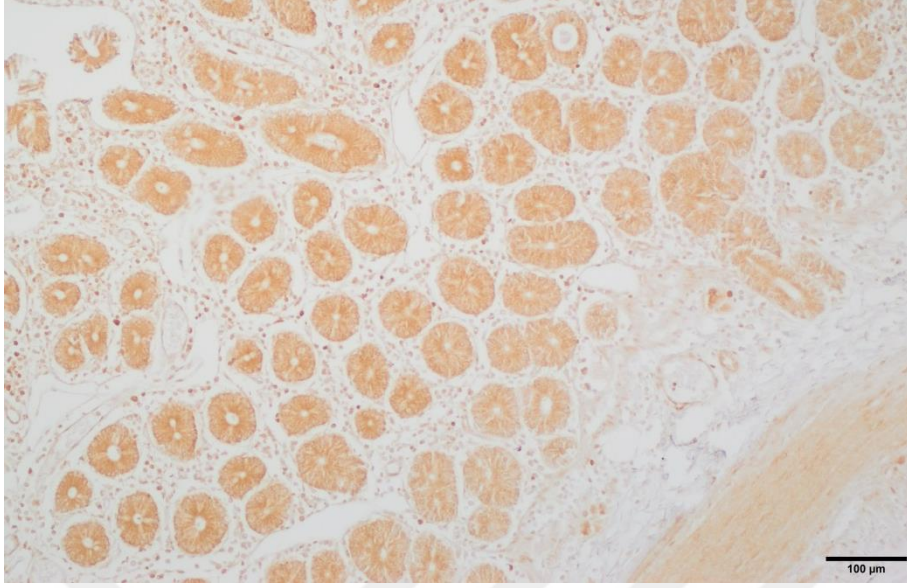
Kontrol grubu olarak kullanılan olgularda hafif dereceden daha düşük düzeyde Hsp70 ekspresyonu gözlemlendi. Kontrol grubu hayvanların örneklerinin immunohistokimyasal boyamalarının mikroskopik görüntüleri Resim 16’da sunulmuştur.



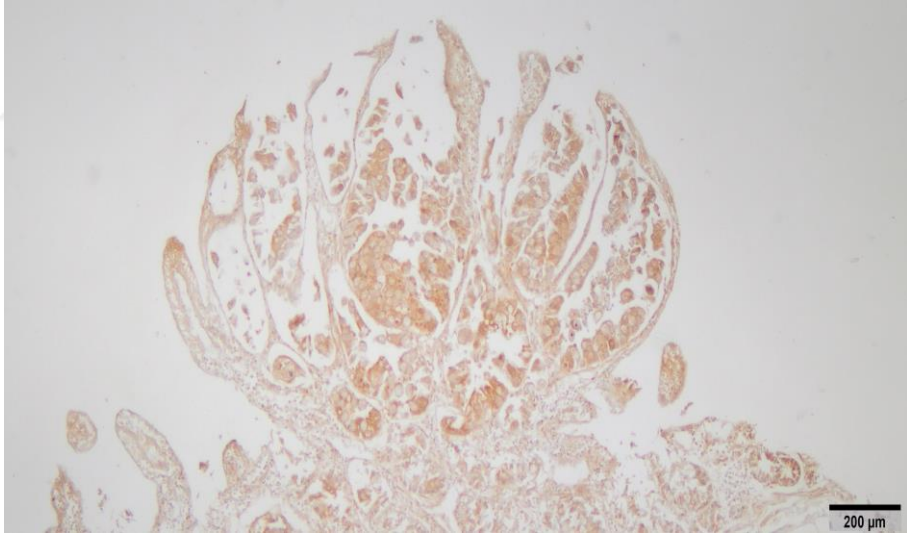
Resim 12: Olgu No. 18, Hsp70 ekspresyonu



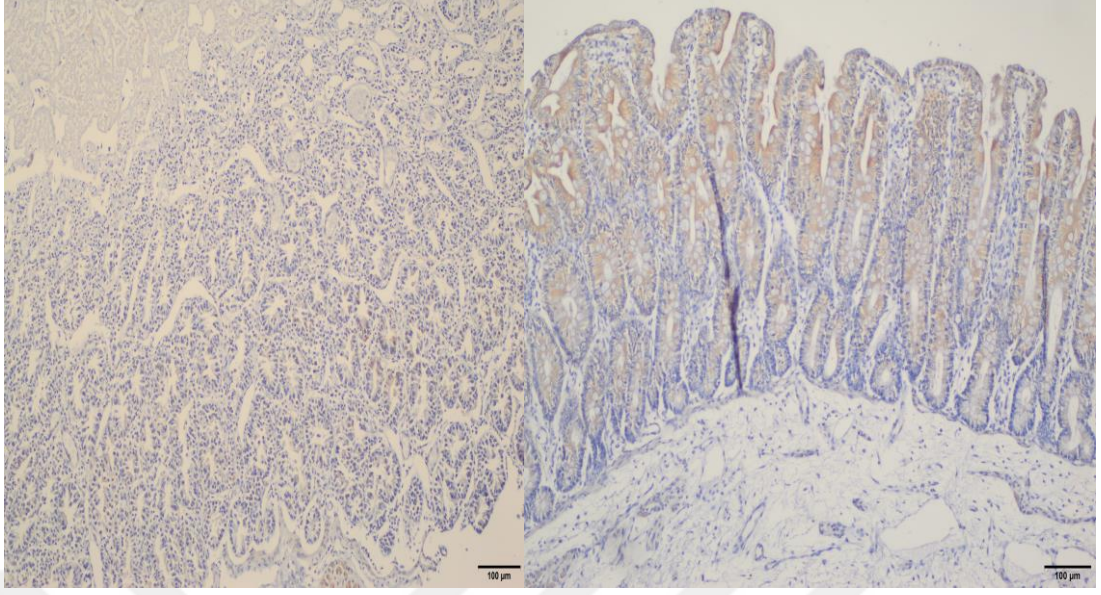
Resim 13: Olgu No. 14, Şiddetli Hsp70 ekspresyonu



Resim 14: Olgu No. 16, Kript epitellerinde Hsp70 ekspresyonu



Resim 15: Olgu No. 1, Hiperplazik nodüldeki Hsp70 ekspresyonu



Resim 16: Kontrol hayvanlarının immunohistokimyasal boyamaları (hafif şiddette Hsp70 ekspresyonu mevcut)

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada *Eimeria* sp. etkenleri tarafından meydana getirilen keçi koksidiyozisinde keçilerin bağırsaklarındaki Hsp70 etkinliği parafin kesitlerde immunohistokimyasal olarak araştırıldı. Saptanan patolojik bulgular ile Hsp70 ekspresyonu karşılaştırmalı olarak değerlendirildi.

Dünyada olduğu gibi Türkiye’de de *Eimeria*’lar tarafından meydana getirilen koksidiyozis hastalığı, keçi yetiştiriciliğinin önemli paraziter enfeksiyonlarından birisidir. Hastalık özellikle gençlerde yüksek morbidite ve mortaliteyle seyretmesi nedeniyle ağır ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Temizel ve ark, 2001; Kaya, 2004). Dünyanın farklı coğrafik bölgelerinde yapılan koksidiyoz çalışmalarında enfeksiyonun prevalans değerinin %15 ile %98 arasında olduğu bildirilmiştir (Norton 1986, Al-Amery ve Hasso 2002, Cavalcante ve ark., 2012, Silva ve ark., 2014). Türkiye’de ise bu prevalans değerinin %53 ile %94 arasında olduğu belirlenmiştir (Merdivenci 1959, Güler ve ark., 1990, Değer ve ark., 2003, Göz ve ark., 2006, Gül 2007). Bu sebeple hem dünyada hem de Türkiye’de keçilerde gözlenen koksidiyozis hastalığının prevalansının yüksek olması nedeniyle sunulan bu çalışmada koksidiyozis enfeksiyonu tercih edildi.

Koksidiya hastalığının keçilerde tüm yaş gruplarında görüldüğü bildirilmiş ancak hastalığın özellikle genç bireylerde daha sık ve daha şiddetli seyrettiği belirtilmiştir (Taylor ve Catchpole, 1994; Karaer ve ark, 2012). Sunulan çalışmada koksidiyozisli keçilerin yaş aralığı literatür bilgileriyle uyumluluk göstermekteydi. Yeni doğanların anneden aldıkları maternal antikolar nedeniyle hastalığa karşı daha dirençli oldukları, ancak 40. günden sonra kandaki maternal antikor seviyelerinin düşmesi nedeniyle genç hayvanların hastalığa duyarlı hale geldikleri bildirilmiştir (Dominguez ve ark, 2001; Reeg ve ark, 2005; Khokaram-Tafti ve Hashemnia, 2017). Erişkin hayvanlarda koksidiyozis hastalığının görülmesinin az olmasının ise hastalığın atlatıldıktan sonra spesifik bağışıklığın kazanılması nedeniyle olduğu belirtilmiştir (Catchpole ve ark, 1993).

Koksidiyozisli hayvanlarda sarıdan koyu kırmızimsı renge kadar değişen bol sulu ishal, koksidiyozisin en yaygın görülen klinik bulgusu olarak tanımlanmıştır (Foreyt, 1990; Koudela ve Bokova, 1998; Karaer ve ark, 2012). Birçok olguda ishalin mukustan zengin olduğu kimi olgularda ise ishalin kanlı olduğu belirtilmiştir (Foreyt, 1990; Chartier ve Praud, 2012). Ayrıca dehidrasyon, kilo kaybı, büyümede yavaşlama ve iştahsızlık hastalığın tanımlanmış

olan diğerklinik bulgularındandır. (Koudela ve Bokova, 1998; Karaer ve ark, 2012; Andrews, 2013). Bazı hayvanlarda ise klinik bulgular gözlenmeden ani ölümlerin görüldüğü bildirilmiştir (Chartier ve Praud, 2012). Çalışmada koksidiyozisli keçilerin klinik bulguları literatür bulguları ile benzerlik göstermekteydi. Araştırmacılar diğerkalışmalarda olduğu gibi bu çalışmada da görülen ishalin, *Eimeria* etkenlerinin bağırsak hücrelerini yıkımlaması ve bunun sonucu olarak bağırsaktan emilimin azalması nedeniyle meydana geldiğini bildirmişlerdir (Gregory, 1990; Chartier ve Praud, 2012).

Araştırmacılar koksidiyozisli keçilerde makroskopik bulguların en yaygın olarak bağırsağın ileum ve jejunum bölümlerinde bulunduğu bildirmişlerdir (Khodakaram-Taftı ve Mansourain, 2007; Kheirandish ve ark, 2012; Priti ve ark, 2017). Bu bulguların ise bağırsak duvarlarında kalınlaşma, değişen büyüklüklerdeki boz beyaz renkli polipoid nodüller ve genellikle serozalarda yerleşim gösteren kanamalar olduklarını belirtmişlerdir (Koudela ve Bokova, 1998; Hashemnia ve ark, 2012; Kheirandish ve ark, 2012). Bazı koksidiyozis vakalarında belirtilen bu nodüllerin bağırsakların serozalarından görülebilecek kadar büyük olduğunu saptamışlardır (Khokaram-Taftı ve Mansourian, 2007; Priti ve ark, 2017). Sunulan çalışmada da makroskopik bulgular literatür bulguları ile uyumluluk göstermekteydi. Araştırmacılar çalışmada koksidiyozisli vakaların dokuzunda gözlenen ve araştırmacılar tarafından pseudoadenomatozis olarak da isimlendirilen polipoid lezyonların *Eimeria* etkenlerinin progamontlarının mitojenik stimulasyonundan dolayı meydana geldiğini açıklamışlardır (Jubb ve ark, 2007).

Bağırsak epitellerinde dökülme, villus atrofisi, kript epitellerinde hiperplazi, bağırsak hücrelerinde *Eimeria* etkenleri ve lenfoplazmositer hücre infiltrasyonu koksidiyozisin tanımlanan histopatolojik bulgularındandır (Koudela ve Bokova, 1998; Khodakaram-Taftı ve Mansourian, 2008; Radad ve Khalil, 2011). Bu çalışmadaki histopatolojik bulgular literatür bilgileri ile uyumluluk göstermekteydi. Çalışmada bağırsak epitellerinde gözlenen dejeneratif ve nekrotik değişikliklerin *Eimeria* etkenlerin bu hücrelerde çoğalıp hücreleri yıkımlaması nedeniyle meydana gelmesiyle ilgili olduğunu bildirilmiştir. (Jubb ve ark, 2007). Ayrıca çalışmada gözlenen bağırsak yüzey epitellerinin kaybı ve villus atrofisinin birinci generasyon şizontların gelişimine, kriptlerdeki yıkımın ve hiperplazinin ise gamontların gelişimine ilişkin olduğu araştırmacılar tarafından belirtmiştir (Taylor ve ark, 2003; Chartier ve Praud, 2012).

Hiperplazi bir doku ve organdaki hücrelerin artışını tanımlamaktadır. Çoğu epitel hücresi yangı, fiziksel travma ve hormonal stimulasyon karşısında hiperplazik aktivite gösterebilir (Miller ve Zachary, 2012). Sunulan çalışmada *Eimeria* ile enfekte keçilerin bağırsaklarındaki

kript epitellerinde ve Lieberkuhn epitellerinde çeşitli şiddetlerde literatürlerle uyumluluk gösteren hiperplazik değişiklikler mevcuttu (Dai ve ark, 2006; Kheirandish ve ark, 2012; Priti ve ark, 2017). Çalışmada bu hiperplazik alanlar *Eimeria* gamontlarıyla birlikte gözlemlendi. Bu alanlardaki hiperplazilerin *Eimeria* etkenlerinin mitojenik stimülasyonu ve bağırsak epitellerinin enfeksiyona olan yanıtı nedeniyle meydana gelebileceği sonucuna varıldı (Rao, 2010).

Bağışıklık sisteminin koksidiyozis hastalığına olan cevabı humoral ve hücresele yanıtı birlikte içerir (Khokaram-Tafti ve Hashemnia, 2017). Yapılan çalışmalarda koksidiyozise karşı oluşan yangısal yanıtının çoğunlukla lenfosit, plazma hücreleri ve eozinofillerden oluştuğu bildirilmiştir (Dai ve ark, 2006; Khokaram-Tafti ve Mansourian, 2008; Kheirandish ve ark, 2012). Çalışmadaki koksidiyozisli hayvanların mikroskopik incelemelerinde yangısal yanıtın literatür bilgilerine paralel olarak lenfosit, plazma hücreleri ve eozinofillerden oluştuğu görülmüştür. Koksidiyozisle enfekte hayvanlarda innate immunitenin hücre aracılı adaptif immunitiyi uyarmasının enfeksiyonla mücadelede önemli olduğu bildirilmiştir (Frölich ve ark, 2011; Iwasaki ve Medzhitov, 2015). Diğer enfeksiyonlarda olduğu gibi koksidiyozis enfeksiyonunda da etkenin invazyonu ve doku hasarı sonrası sitokinler salınır ve yangısal hücreler aktive olur. Bağışıklık yanıtının adaptif yanıtı dönüşmesi aktive olan hücrelerden salınan sitokinlerce yönlendirilir (Iwasaki ve Medzhitov, 2015). Koksidiyozise karşı olan yangısal yanıtta birçok sitokinin önemi araştırılmıştır ve bunlardan özellikle IFN- γ ve TNF- α 'nın önemli olduğu bildirilmiştir (Ovington ve ark, 1995; Shivaramaiah ve ark, 2014). TNF- α 'nın IFN- γ ile sinerjistik olarak çalıştığı ve protozoonlarla mücadelede önemli rol oynadığı belirtilmiştir (Ovington, 1995). Bunlarla beraber IL-4'ün de humoral ve adaptif immunitede önemli rol oynadığı, B lenfosit farklılaşması, proliferasyonu ve antikör üretimine katkıda bulunduğu belirtilmiştir (Hofman ve ark, 1988). IL-4'ün keçilerde koksidiyozis enfeksiyonlarında rol oynadığı belirtilmiştir (Ibara-Velarde ve Alcalá-Canto, 2007). Koksidiyal enfeksiyonlarda yangısal yanıtın lenfosit ağırlıklı oluşu, yangısal süreçteki aktifleşmiş hücrelerin salgıladığı sitokinlerden dolayı olabileceği düşünüldü.

Isı şoku yanıtı yüksek sıcaklık, enfeksiyonlar, işemi, ekzotoksinlere maruz kalma ve protein denaturasyonuna yol açan diğer stresler sonucu ortaya çıkan koruyucu bir mekanizmadır (Sharp ve ark, 1999; Giffard ve ark, 2004). Isı şoku proteinlerinin hücreleri çeşitli stres durumlarında protein denatürasyonunu ve polipeptid agregasyonunu önleyerek koruduğu ve bunlarla beraber apoptozisi de çeşitli basamaklarda durdurarak hücrenin yaşamının devam ettirmesini sağladığı bildirilmiştir (Kiang ve Tsokos, 1998; Giffard ve

Yenari, 2004). Yapılan çalışmada bağırsak epitel katmanında orta şiddetliden şiddetliye kadar değişen Hsp70 ekspresyonu görüldü. Bağırsaktaki Hsp70 ekspresyonunun koksidiyal enfeksiyondan dolayı meydana gelen stres ve sonuçlarını önlemek için hücreler tarafından sentezlendiği sonucuna varıldı. Ayrıca Lüder ve ark, (2009) *Eimeria* ailesinin de bulunduğu apicomplexian parazitlerin birçoğunun, konakçı hücrelerinin sinyal yollarına müdahalede bulunduğunu ve etkenin konakçı hücrelerin apoptozisini indüklediğini belirtmiştir. Çeşitli *Eimeria* türlerinin deneysel çalışmalarda hücrelerde apoptozisi indüklediği gösterilmiştir (Yang ve ark, 2015; Abdel-Haleem ve ark, 2017). Isı şoku proteinlerinin apoptozis durumunda sentezlendikleri bilinmektedir (Sreedhard ve Csemerly, 2004). Bu kapsamda sunulan çalışmadaki Hsp70 ekspresyonunun apoptozise yanıt olarak hücrenin hayatını devam ettirmek amacıyla da sentezlenmiş olabileceği düşünüldü.

Birçok parazit etkeninin oksidatif strese konakçısından daha duyarlı olduğu saptanmıştır (Schirmer ve ark, 1987). Konakçı hücrelerin paraziter enfeksiyonlarla mücadelede oksidatif ajanların kullanımı oldukça önemli yer tuttuğu belirtilmiştir (Schirmer ve ark, 1987). Bununla beraber etkene karşı kullanılan oksidatif ajanların konakçıda da hasara yol açması mümkün olduğu ve buna ilişkin olarak birçok çalışmada paraziter hastalıklarda oksidatif stresin meydana geldiği belirtilmiştir (Sarin ve ark, 1993; Selkirk ve ark. 1998; Upcroft ve Upcroft 2001; Abd-Ellah, 2013). Bazı araştırmacılar tarafından kanatlılarda ve köpeklerde gözlenen koksidiyal enfeksiyonlarda oksidatif stres moleküllerinin varlığını saptamışlardır (Georgieva ve ark, 2006; Sepp ve ark, 2012). Isı şoku proteinlerinin oksidatif strese ilişkin olarak da sentezlendiği ve bu stresin zararlı etkilerini baskılamak amacıyla antioksidan enzim sistemleri ile beraber çalıştığı bildirilmiştir (Trott ve ark, 2008; Wu ve ark, 2015). Bu sebeple çalışmada *Eimeria* ile enfekte keçilerin bağırsak hücrelerindeki Hsp70 ekspresyonunun bir kısmının oksidatif stresin zararlı etkilerini önlemek amacıyla eksprese edilmiş olabileceği düşünüldü.

Araştırmacılar tümör hücrelerinde hızlı çoğalmanın meydana getirdiği stresin baskılanması için Hsp70'in fazlaca sentezlendiğini ve Hsp70'in sentezindeki azalmanın değişime uğramış hücreler üzerinde normal hücrelere göre daha sitotoksik olduğunu belirtmektedir (Schmitt ve ark, 2003; Wang ve ark, 2014). Bu çalışmada kript epitellerindeki hiperplazi alanlarındaki Hsp70 ifadesinin fazla olduğu görüldü. Bu bölgelerdeki Hsp70 aktivitesindeki fazlalığın enfeksiyonun meydana getirdiği stresten ziyade hızlı çoğalmanın neden olduğu strese ilişkin olduğu düşünüldü.

Isı şoku proteinleri immün sistem ve yangısal süreçte aktif rol alan proteinlerdir. Lipopolisakkarit, yangısal interleukinler ve TNF'nin çeşitli hücrelerde, Hsp70 ve diğer ısı

şoku proteinlerinin sentezlenmesine yol açtığı bilinmektedir (Helqvist ve ark, 1991; Fincato ve ark, 1991; Buchman ve ark, 1993). Isı şoku proteinleri aynı zamanda immun sisteme tehlike sinyali de göndererek bağışıklıkta önemli roller üstlenirler (Moseley, 1998). Yapılan bu çalışmada yangısal alanda ve yangısal hücrelerde Hsp70 ekspresyonu gözlemlendi. Yangısal hücrelerdeki Hsp70'in ekspresyonu proteinin immun sistemde aktif rol üstlenmesi yönünde değerlendirildi.

Çalışmada kontrol grubuna ait örneklerde hafif derecenin de altında az miktarda Hsp70 ekspresyonu görüldü. Bu durumun ısı şoku proteinlerinin normal koşullardaki hücrelerde metabolik faaliyetlerde bulunmasından dolayı ortaya çıktığı düşünüldü (Mayer ve Bukau, 2005).



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan çalışmada keçilerdeki koksidiyozis enfeksiyonlarında keçi bağırsaklarındaki Hsp70 etkinliği araştırılmış ve Hsp70 ekspresyonu ile patolojik bulgular arasında korelasyon araştırılmıştır. Çalışmada Hsp70 ekspresyonunun koksidiyozlu tüm vakalarda görüldüğü saptanmıştır. Saptanan bu Hsp70 ekspresyonunun hücrelerde enfeksiyonun yarattığı stresden dolayı meydana geldiği ve hücrelerin Hsp70'i hayatlarını devam ettirmek için sentezlediği düşünülmüştür. Bu bağlamda Hsp70'in diğer enfeksiyonlarda olduğu gibi *Eimeria* enfeksiyonlarında da sentezlendiği ortaya konuldu. *Eimeria* hastalıklarının detaylı patogenezi ve Hsp70'in koksidiyozis enfeksiyonlarında hücreleri koruyucu etkinliğinin daha açık belirtilebilmesi için geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

7. KAYNAKLAR

Abd-Ellah MR. Involvement of free radicals in parasitic infestations, *Journal of Applied Animal Research*, 2013, 41:1, 69-76, DOI: 10.1080/09712119.2012.739093

Abo-Shehada MN, Abo-Farieha HA. Prevalence of Eimeria species among goats in northern Jordan. *Small Ruminant Research*, 2003, 49:109–113

Akerfelt M, Morimoto RI, Sistonen, L. Heat shock factors: integrators of cell stress, development and lifespan. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2010, 11, 545–555

Al-Amery MAY, Hasso SA. Laboratory diagnosis of novel species of Theileria hirci, Eimeria caprovina and Eimeria pallida in goats in Iraq, *Small Ruminant Research*.2002; 44: 163-166.

Altaf AR, Hidayatu A. Study of some potential risk factors associated with coccidia in sheep. *Journal of Agriculture and Veterinary Sciences*, 2014, 65, 11-13.

Andrews AH. Some aspects of coccidiosis in sheep and goats. *Small Ruminant Research*, 2013, 110(2-3), 93–95. doi:10.1016/j.smallrumres.2012.11.011

Arslan MÖ, Sarı B. Veteriner Protozooloji, 1. Baskı, Dumanlı N, Karaer Z, (edt), Medsan Yayınevi, 2010, 87.

Asea A, Rehl M, Kabingu E, Boch JA, Bare O, Auron PE, Stevenson MA, Calderwood S K. Novel signal transduction pathway utilized by extracellular hsp70: role of Toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277, 15028 –15034.

Asea, A, Kraeft, SK, Kurt-Jones, EA, Stevenson, MA, Chen, LB, Finberg, RW, Koo, GC, Calderwood, SK. HSP70 stimulates cytokine production through a CD14-dependent

pathway, demonstrating its dual role as a chaperone and cytokine. *Nature Medicine* 2006, 6, 435–442.

Balicka-Ramis A. Studies on coccidiosis in goats in Poland. *Veterinary Parasitology*, 1999, 81:347–349.

Balogh G, Péter M, Glatz A, Gombos I, Török Z, Horváth I, Harwood JL, Vigh L Key role of lipids in heat stress management. *FEBS Letters*, 2013,587:1970-1980.

Basu S, Binder RJ, Ramalingam T, Srivastava PK. CD91 is a common receptor for heat shock proteins gp96, hsp90, hsp70, and calreticulin. *Immunity*, 2001, 14, 303–313.

Basu, S., Binder, R. J., Suto, R., Anderson, K. M., Srivastava, P. K. Necrotic but not apoptotic cell death releases heat shock proteins, which deliver a partial maturation signal to dendritic cells and activate the NF- κ B pathway, *International Immunology*, 2000, 12, 1539 – 1546.

Beere HM, Wolf BB, Cain K, Mosser DD, Mahboubi A, Kuwana T. Heat-shock protein 70 inhibits apoptosis by preventing recruitment of procaspase-9 to the Apaf-1 apoptosome, *Nature Cell Biology*, 2000, 2, 469–475.

Bendz H, Ruhland SC, Pandya MJ, Hainzl O, Riegelsberger S, Brauchle C, Mayer MP, Buchner J, Issels RD, Noessner E. Human heat shock protein 70 enhances tumor antigen presentation through complex formation and intracellular antigen delivery without innate immune signaling. *Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282, 31688 –31702.

Benndorf R, Bielka H. Cellular stress response: stress proteins-physiology and implications for cancer Recent Results, *Cancer Research*, 1997, 143, pp. 129-144

Bethke K, Staib F, Distler M, Schmitt U, Jonuleit H, Enk AH, Galle PR, Heike M. Different efficiency of heat shock proteins (HSP) to activate human monocytes and dendritic cells: superiority of HSP60, *Journal of Immunology*, 2002, 169, 6141– 6148.

Bowman DD. Georgis' Parasitology For Veterinarians, 10. Baski, Saunders, 2013, 98-99

Buchman TG, Abello PA, Smith EH, Bulkley GB. Induction of heat shock response leads to apoptosis in endothelial cells previously exposed to endotoxin. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 1993, 265(1), H165–H170. doi:10.1152/ajpheart.1993.265.1.h165

Bulut Y, Faure E, Thomas L, Karahashi H, Michelsen KS, Equils O, Morrison SG, Morrison RP, Arditi M. Chlamydial heat shock protein 60 activates macrophages and endothelial cells through Toll-like receptor 4 and MD2 in a MyD88-dependent pathway. *Journal of Immunology*, 2002, 168, 1435–1440.

Catchpole J, Norton CC, Gregory MW. Immunization of lambs against coccidiosis, *Veterinary Record*, 1993, 132, 56-59.

Cavalcante ACR, Teixeira M, Monteiro JP, Lopes CWG. Eimeria species in dairy goats in Brazil, *Veterinary Parasitology*, 2012;183: 356-358.

Chartier C, Paraud C. Coccidiosis due to Eimeria in sheep and goats, a review, *Small Ruminant Research*, 2012 103(1), 84–92. doi:10.1016/j.smallrumres.2011.10.022

Chhabra RC, Pandey VS. Coccidia of goats in Zimbabwe, *Veterinary Parasitology*, 1991, 39, 199-205.

Chmielewska M, Symonowicz K, Pula B, Owczarek T, Podhorska-Okolow M, Ugorski M, Dziegel P. Expression of metallothioneins I and II in kidney of doxorubicin-treated rats, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 2015, 67, 297-303

Cook GC. Small-intestinal coccidiosis: an emergent clinical problem, *Journal of Infection*, 1988;16:213-9

Courgeon AM, Maisonhaute C, and Best-Belpomme M. Heat shock proteins are induced by cadmium in Drosophila cells, *Experimental Cell Research*, 1984, 153,515–521

Creagh EM, Carmody RJ and Cotter TG. Heat shock protein 70 inhibits caspase-dependent and -independent apoptosis in Jurkat T cells, *Experimental Cell Research*, 2000, 257: 58-66.

Culling AF, Allison TR, Barr TW. Cellular Pathology Technique. 4th Ed. Mid-County Press, London, 1985

Çiçek H, Sevimli F, Eser M, Acar A. Afyon İlinde Saanen Keçilerinde Eimeria Türlerinin Yaygınlığı. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 2016, 9(4):327-33.

D'Amico S, Collins T, Marx JC, Feller G, Gerday C. Psychrophilic microorganisms: challenges for life. *EMBO Reports*, 2006, 7, 385–389.

Değer S, Gul A, Ayaz E, Bıcek K. The prevalence of Eimeria species in goats in Van. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 2003, 27:439–442

Ding XZ, Fernandez-Prada CM, Bhattacharjee AK, Hoover DL. Over-expression of hsp-70 inhibits bacterial lipopolysaccharide- induced production of cytokines in human monocyte-derived macrophages. *Cytokine* 2001, 16, 210–219.

Dominguez E, Perez MD, Puyol P, Sanchez L, Calvo M. Specific immunoglobulins in serum of newborn lambs fed with a single dose of colostrum containing anti-peroxidase IgG. *Research in Veterinary Science*, 2001, 70, 275-279

Dybdahl B, Wahba A, Lien E, Flo TH, Waage A, Qureshi N, Sellevold OF, Espevik T, Sundan A. Inflammatory response after open heart surgery: release of heat-shock protein 70 and signaling through Toll-like receptor-4. *Circulation*, 2002, 105, 685– 690.

Faizal ACM, Rajapakse RPVJ. Prevalence of coccidia and gastrointestinal nematode infections in cross bred goats in the dry areas of Sri Lanka. *Small Ruminant Research*, 2001, 40, 233-238.

Feder ME, Hofmann GE. Heat-shock proteins molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology *Annual Review of Physiology.*, 1991, 61, pp. 243-282

Fincato G, Polentarutti N, Sica A, Mantovani A, Colotta F. Expression Of A Heat-Inducible Gene Of The Heat Shock Protein 70 Family In Human Myelomonocytic Cells: Regulation By Bacterial Products And Cytokines. *Blood*, 1991, 77: 579-586.

Findly RC, Roberts SJ, Hayday AC. Dynamic response of murine gut intraepithelial T cells after infection by the coccidian parasite *Eimeria*. *Eur. J. Immunol* 1993;23:2557-64.

Foreyt WJ. Coccidiosis and cryptosporidiosis in sheep and goats. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 1990;6:655–670.

Friedland JS, Shattock R, Remake DG, Griffin GE. Mycobacterial 65-kd heat shock protein induces release of proinflammatory cytokines from human monocytic cells. *Clinical and Experimental Immunology*, 1993,91, 58 – 62.

Frölich S, Entzeroth R, Wallach M. Comparison of protective immune responses to apicomplexan parasites. *Journal of Parasitology Research*, 2011; Article ID 852591: 1-11.

Galdiero M, de L'ero GC, Marcatili A. Cytokine and adhesion molecule expression in human monocytes and endothelial cells stimulated with bacterial heat shock proteins. *Infection and Immunity*, 1997, 65, 699 –707.

Georgieva NV, Koinarski V, Gadjeva V. Antioxidant status during the course of *Eimeria tenella* infection in broiler chickens. *The Veterinary Journal*, 2006, 172(3), 488–492. doi:10.1016/j.tvjl.2005.07.016

Giffard R,G, Yenari MA. Many mechanisms for hsp70 protection from cerebral ischemia. *Journal of Neurosurgical Anesthesiology*, 2004 16: 53–61.

Giffard RG, Lijun X, Zhao H, Carrico W, Ouyang Y, Qiaa Y, Sapolsky, Steiner G, Hu B, Yenari, MA. Chaperones, protein aggregation, and brain protection from hypoxic/ischemic injury. *The Journal of Experimental Biology*. 2004, 207. 3213-20. 10.1242/jeb.01034.

Göz Y, Aydın A, Yuksek N, Deger S. Frequency of coccidian species in goats in Van province of Turkey. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2006, 12 (2): 163-165.

Graat EA, Henken AM, Ploegar HW, Noordhuizen JP, Vertommen MH. Rate And Course Of Sporulation Of Oocysts Of Eimeria Acervulina Under Different Environmental Conditions. *Parasitology*, 1994, 108, 497-502.

Gregory, M, W, Bölüm 12 – Pathology of Coccidial Infections in Peter L. Long, Coccidiosis of man and domestic animals, Taylor & Francis Group, 1990, 241.

Gross C, Hansch D, Gastpar R, Multhoff G. Interaction of heat shock protein 70 peptide with NK cells involves the NK receptor CD94. *Journal of Biological Chemistry*, 2003 384, 267–279.

Guo JS, Chau JF, Shen XZ, Cho CH, Luk JM, Koo MW. Over-expression of inducible heat shock protein 70 in the gastric mucosa of partially sleep-deprived rats. *Scand. Journal of Gastroenterology*, 2004, 39, 510 –515.

Gül A. The prevalence of Eimeria species in goats in Iğdır. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 2007, 31 (6): 411-414.

Güler S, Dumanlı N, Özer E, Erdoğan N, Köroğlu E. Elazığ yöresinde kuzu ve oğlaklarda bulunan Eimeria türleri ve bunların yayılışı üzerine araştırmalar. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 1990, 14, 295-300.

Gyrd-Hansen M, Nylandsted J, Jaattela M. Heat shock protein 70 promotes cancer cell viability by safeguarding lysosomal integrity. *Cell Cycle*, 2004, 3, 1484 –1485.

Harper CK, Penschorn BL. Occurrence and diversity of coccidia in indigenous, Saanen and crossbred goats in South Africa. *Veterinary Parasitology*, 1999 82: 1-9.

Hashemnia M, Khodakaram-Tafti A, Razavi SM, Nazifi S. Experimental caprine coccidiosis caused by *Eimeria arloingi*: Morphopathologic and electron microscopic studies. *Veterinary Research Communications*, 2011, 36(1), 47–55. doi:10.1007/s11259-011-9511-9

Heikkila JJ, Schultz GA, Iatrou K, Gedamu L. Expression of a set of fish genes following heat or metal ion exposure. *Journal of Biological Chemistry*, 1982, 257, 12000–12005.

Helqvist S, Polla BS, Johannesen J, Nerup J. Heat shock protein induction in rat pancreatic islets by recombinant human interleukin 1? *Diabetologia*, 1991, 34(3), 150–156. doi:10.1007/bf00418268

Hofman FM, Brock M, Taylor CR, Lyons B. IL-4 regulates differentiation and proliferation of human precursor B cells. *Journal of Immunol*, 1988; 141: 1185-1190.

Horváth I, Glatz A, Nakamoto H, Mishkind ML, Munnik T, Saidi Y, Goloubinoff P, Harwood JL, Vigh L. Heat shock response in photosynthetic organisms: membrane and lipid connections. *Progress in Lipid Research*, 2012, 51:208-220.

Ibarra-Velarde F, Alcalá-Canto Y. Downregulation of the goat β -defensin-2 gene by IL-4 in caprine intestinal epithelial cells infected with *Eimeria* spp. *Parasitology Research* 2007; 101: 613-618.

Iwasaki A, Medzhitov R. Control of adaptive immunity by the innate immune system. *Nature Immunology*, 2015; 16: 343-353.

Jaattela M, Wissing D, Kokholm K, Kallunki T, Egeblad M. Hsp70 exerts its anti-apoptotic function downstream of caspase-3-like proteases. *The Embo Journal*, 1998 17:6124-34.

Jakobsen BK, Pelham HRB Constitutive binding of yeast heat shock factor to DNA in vivo. *Molecular and Cellular Biology*, 1988, 8:5040-5042.

Jalila A, Dorny P, Sani R, Salim NB, Vercruyse J. Coccidiosis infections of goats in Selangor, peninsular Malaysia. *Veterinary Parasitology*, 1998 74:165–172.

Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N Pathology of domestic animals, Vol. 2, 5th edn. Academic Press Inc, 2007, pp 264–267

Karaer Z, Orkun Ö, Sürsal N. Sığır, Koyun ve Keçilerde Coccidiosis, *Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Science* 2012;3(2):7

Kaya G. (2004) Prevalence of Eimeria species in lambs in Antakya province. *Turk J Vet Anim Sci* 28:687–692

Kheirandish R, Nourollahi-Fard SR, Yadegari Z. Prevalence and pathology of coccidiosis in goats in southeastern Iran. *Journal of Parasitic Diseases*, 2012, 38(1), 27–31. doi:10.1007/s12639-012-0186-0

Khodakaram Tafti A, Mansourian M. Pathologic lesions of naturally occurring coccidiosis in sheep and goats. *Comparative Clinical Pathology*, 2008 17(2), 87–91. doi:10.1007/s00580-008-0719-1

Khodakaram-Tafti A, Hashemnia A. An overview of intestinal coccidiosis in sheep and goats. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 2017, 1-3, 9-20: 167

Kiang JG, Tsokos GC. Heat shock protein 70 kDa: molecular biology, biochemistry, and physiology. *Pharmacology & Therapeutics*, 1998, 80: 183–201.

Kizil O. Yuce A. Oxidative stress in dogs with coccidiosis. *Revue de Medecine Veterinaire*, 2009 160. 495-499.

Knox M, Steel J. Nutritional enhancement of parasite control in small ruminant production systems in developing countries of south-east Asia and Pacific. *International Journal for Parasitology*, 1996, 26, 963-970.

Kol A, Bourcier T, Lichtman AH, Libby P. Chlamydial and human heat shock protein 60s activate human vascular endothelium, smooth muscle cells, and macrophages. *Journal of Clinical Investigation*. 1999, 103, 571–577.

Kol A, Lichtman AH, Finberg RW, Libby P, Kurt-Jones EA. Cutting edge: heat shock protein (HSP) 60 activates the innate immune response: CD14 is an essential receptor for HSP60 activation of mononuclear cells. *Journal of Immunology*, 2000, 164, 13–17.

Koudela B, Boková A. Coccidiosis in goats in the Czech Republic. *Veterinary Parasitology*, 1998, 76(4), 261–267. doi:10.1016/s0304-4017(97)00147-7

Kumar S, Ramarao CA, Venkateswarlu B, Kareemulla K. Role of Goats in Livelihood Security of Rural Poor in the Less Favoured Environments. *Indian Journal of Agricultural Economics*, 2010 65. 761-781.

Kusiluka LJM, Kambarage DM, Matthewman RW, Harrison LJS, Daborn CJ. Coccidiosis of small ruminants in Tanzania. *Small Rumin. Research*, 1996, 21, 127-131.

Lehner T, Wang Y, Whittall T, McGowan E, Kelly CG, Singh M. Functional domains of HSP70 stimulate generation of cytokines and chemokines, maturation of dendritic cells and adjuvanticity. *Biochemical Society Transactions*, 2004, 32, 629 – 632.

Li Z, Menoret A, Srivastava P. Roles of heat-shock proteins in antigen presentation and cross-presentation. *Current Opinion in Immunology*, 2002, 14, 45–51.

Lloyd S, Soulsby EJ. Survey of parasites in dairy goats. *American Journal of Veterinary Research*, 1978, 39:1057–1059.

Luikart G, Gielly L, Excoffier L, Vigne JD, Bouvet, J, Taber-let P. Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001, 98,5927–5932

Lüder CGK, Stanway RR, Chaussepied M, Langsley G, Heussler VT. Intracellular survival of apicomplexan parasites and host cell modification. *International Journal for Parasitology*, 2009 39(2), 163–173. doi:10.1016/j.ijpara.2008.09.013

Mayer MP, Bukau B. Hsp70 chaperones: cellular functions and molecular mechanism. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2005, 62, 670–684

Merdivenci A. Evcil koyun (*Ovis aries*) ve keçi (*Capra hircus*)'lerimizde *Coccidia* nevileri ve bazı deneyler. *Türk Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 1959 29: 260-281.

Michel GP, Starka J. Effect of ethanol and heat stresses on the protein pattern of *Zymomonas mobilis*. *Journal of Bacteriology*, 1986 165, 1040–1042.

Miller MA, Zachary JF. Mechanisms and Morphology of Cellular Injury, Adaptation, and Death, In *Pathologic Basis of Veterinary Diseases 6*. Baskı, Zachary J. F. (edt), Mosby, 2012, 1836:25

Mohammed RA, Idris OA, El Sanousi, SM, Abdelsalam, EB. The effect of coccidian infection on the gut microflora of Nubian goat kids. *Deutsche tierärztliche Wochenschrift*, 2000, 107, 389–428.

Morimoto RI, Sarge KD, Abravaya K. Transcriptional regulation of heat-shock genes. A paradigm for inducible genomic responses. *Journal of Biological Chemistry*, 1992, 267:21987–21990

Morimoto RI, Tissieres A, Georgopoulos C. Heat Shock Proteins in Biology and Medicine, Cold Spring Harbor Press, 1994, Cold Spring Harbor, NY.

Moseley PL. Heat Shock Proteins and the Inflammatory Response. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1998, 856(1 MOLECULAR MEC), 206–213. doi:10.1111/j.1749-6632.1998.tb08327.x

Mosser DD, Caron AW, Bourget L, Meriin AB, Sherman MY, Morimoto RI, Massie B. The chaperone function of hsp70 is required for protection against stress-induced apoptosis. *Molecular and Cellular Biology*, 2000, 20, 7146–7159.

Multhoff G, Mizzen L, Winchester CC, Milner CM, Wenk S, Eissner G, Kampinga HH, Laumbacher B, Johnson J. Heat shock protein 70 (Hsp70) stimulates proliferation and cytolytic activity of natural killer cells. *Experimental Hematology*, 1999, 27, 1627–1636.

Muralidharan S, Mandrekar P. Cellular stress response and innate immune signaling: integrating pathways in host defense and inflammation. *Journal of Leukocyte Biology*, 2013, 94(6), 1167–1184. doi:10.1189/jlb.0313153

Navarre CB, Pugh DG, Diseases of the gastrointestinal system. In: Pugh DG, ed. *Sheep and goat medicine*. Philadelphia: WB Saunders Co, 2002, 69–105.

Norton CC. Coccidia of domestic goat, *Capra hircus*, with notes on *Eimeria ovinoidalis* and *E. bakuensis* (*E. ovina*) from the sheep, *Ovis aries*. *Parasitology*, 1986, 92: 279-289.

Nylandsted J, Gyrd-Hansen M, Danielewicz A, Fehrenbacher N, Lademann U, Hoyer-Hansen M, Weber E, Multhoff G, Rohde M, Jaattela M. Heat shock protein 70 promotes cell survival by inhibiting lysosomal membrane permeabilization. *Journal of Experimental Medicine*, 2004, 200, 425–435.

O’Callaghan MG, Coccidia of domestic and feral goats in SouthAustralia. *Veterinary Parasitology*, 1989, 30: 267-272.10.

Ohashi K, Burkart V, Flohe S, Kolb H. Cutting edge: heat shock protein 60 is a putative endogenous ligand of the Toll-like receptor-4 complex. *Journal of Immunology*, 2000, 164, 558–561.

Ovington KS, Alleva LM, Kerr EA. Cytokines and immunological control of *Eimeria* spp. *International Journal for Parasitology*, 1995; 25: 1331-1351.

Panjwani NN, Popova L, Srivastava PK. Heat shock protein gp96 and hsp70 activate the release of nitric oxide by APCs. *Journal of Immunology*, 2002, 168, 2997–3003.

Peetermans WE, Raats CJI, van Furth R, Langermans JA. Mycobacterial 65-kilodalton heat shock protein induces tumor necrosis factor α , interleukin 6, reactive nitrogen intermediates and toxoplasma-tatic activity in murine peritoneal macrophages. *Infection and Immunity*, 1995, 63, 3454 –3458.

Priti V, Jignesh P, Jatin P, Jeetendra R, Yash P, Thakor K, Panchal P. *Eimeria* Species Infection In Surti Goat Kids. *International Journal of Science, Environment and Technology*, 2017, 6. 1421-1425.

Pugh DG, Navarre CB, Internal parasite control strategies. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 2001, 17:231–244.

Qiu XB, Shao YM, Miao S, Wang L The diversity of the DnaJ/Hsp40 family, the crucial partners for Hsp70 chaperones. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2006, 63:2560-2570.

Radad K, Khalil S. Coccidiosis, paratuberculosis and enterotoxaemia in Saudi goats. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*. 2011

Rao DG. Disease of Digestive System In A Textbook on Systemic Pathology of Domestic Animals, 1. Bask1, Ibdc Publishers, 2010, 596:198.

Reeg KJ, Gauly M, Bauer C, Mertens C, Erhardt G, Zahner H. Coccidial infections in housed lambs: oocyst excretion, antibody levels and genetic influences on the infection. *Veterinary Parasitology*, 2005, 127, 209-219.

Ritossa F. A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in *Drosophila*. *Experientia*; 1962, 18:571–573. doi: 10.1007/BF02172188.

Ruiz A, Guedes AC, Munoz MC, Molina JM, Hermosilla C, Martin S, Hernandez YI, Hernandez A, Perez D, Matos L, Lopez AM, Tauber A. Control strategies using diclazuril against coccidiosis in goat kids. *Parasitology Research*, 2012, 110, 2131-2136

Sarin K, Kumar A, Ppakash A, Sharma A. Oxidative stress and antioxidant defence mechanism in *Plasmodium vivax* malaria before and after chloroquine treatment. *Indian Journal of Malariology*, 1993,30:127133.

Scharf KD, Höhfeld I, Nover L. Heat stress response and heat stress transcription factors *Journal of Biosciences*, 1998 23, pp. 313-329

Scherf BD. World Watch List for Domestic Animal Diversity, 2000, 3. FAO, p. 58

Schirmer RH, Schöllhammer T, Eisenbrand G, Krauth-Siegel RL. Oxidative Stress as a Defense Mechanism Against Parasitic Infections. *Free Radical Research Communications*, 1987, 3(1-5), 3–12. doi:10.3109/10715768709069763

Schmitt E, Parcellier A, Gurbuxani S, Cande C, Hammann A, Morales MC, Hunt CR, Dix DJ, Kroemer RT, Giordanetto F, Jäättelä M, Penninger JM, Pance A, Kroemer G and Garrido C. Chemosensitization by a non-apoptogenic heat-shock protein 70-binding apoptosis-inducing factor mutant. *Cancer Research*, 2003 63:8233–8240.

Schmitt EM, Gehrman M, Brunet G, Multhoff G, Garrido C, Intracellular and extracellular functions of heat shock proteins: repercussions in cancer therapy. *Journal of Leucocyte Biology*, 2007 V:81 Jan.

Selkirk ME, Smith VP, Thomas GR, Gounaris K. Resistance of filarial nematode parasites to oxidative stress. *International Journal for Parasitology* 1998, 28: 13151332.

Sepp T, Karu U, Blount JD, Sild E, Männiste M, Hõrak P. Coccidian Infection Causes Oxidative Damage in Greenfinches. *PLoS ONE*, 2012 7(5), e36495. doi:10.1371/journal.pone.0036495

Sharp FR, Massa SM, Swanson RA, Heat-shock protein protection. *Trends in Neurosciences*. 1999, 22: 97–99.

Shivaramaiah C, Barta JR, Hernandez-Velasco X, Téllez G, Hargis B. Coccidiosis: recent advancements in the immunobiology of *Eimeria* species, preventive measures, and the importance of vaccination as a control tool against these Apicomplexan parasites. *Veterinary Medicine Research and Reports*, 2014; 5: 23-34.

Silva AC, Lima JD *Eimeria minasensis* sp. (Apicomplexa:Eimeriidae) in the domestic goat *Capra hircus*, from Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 1998, 93(6):741–744.

Silva LMR, Vila-Viçosa MJM, Nunes T, Taubert A, Hermosilla C, Cortes HCE. *Eimeria* infections in goats in Southern Portugal. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 2014, 23 (2): 280-286.

Skeen MJ, Miller, MA, Shinnick TM, Ziegler HK. Regulation of murine macrophage IL-12 production. Activation of macrophages in vivo, restimulation in vitro, and modulation by other cytokines. *Journal of Immunology*, 1996, 156, 1196–1206.

Smith MC, Sherman DM. Digestive system. In: *Goat medicine*. Philadelphia: 1994, Lea & Febiger, 275–358.

Snyder YM, Guthrie L, Evans GF, Zuckerman SH. Transcriptional inhibition of endotoxin-induced monokine synthesis following heat shock in murine peritoneal macrophages. *Journal of Leukocyte Biology*, 1992, 51, 181–187.

Somersan S, Larsson M, Fonteneau JF, Basu S, Srivastava P, Bhardwaj N. Primary tumor tissue lysates are enriched in heat shock proteins and induce the maturation of human dendritic cells. *Journal of Immunology*, 2001, 167, 4844 – 4852.

Soulsby EJJ. Helminths ,Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals, seventh ed. Baillière Tindall, 1982, London, p.809.

Sreedhar AS, Csermely P. Heat shock proteins in the regulation of apoptosis: new strategies in tumor therapy. *Pharmacology & Therapeutics*, 2004, 101(3), 227–257. doi:10.1016/j.pharmthera.2003.11.004

Srivastava PK New Jobs for Ancient Chaperones. *Scientific American*, 2008, 299(1), 50–55.

Stankiewicz AR, Lachapelle G, Foo CP, Radicioni SM and Mosser DD. Hsp70 inhibits heat induced apoptosis by preventing bax translocation. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275: 38729-25671.

Stocki P, Wang XN, Dickinson AM. Inducible heat shock protein 70 reduces T cell responses and stimulatory capacity of monocyte-derived dendritic cells. *Journal of Biological Chemistry*, 2012 287, 12387–12394.

Tanabe M, Nakai A, Kawazoe Y, Nagata K, Different thresholds in the responses of two heat shock transcription factors, HSF1 and HSF3. *Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272:15389-15395.

Tanabe M, Sasai N, Nagata K, Liu XD, Liu PC, Thiele DJ, Nakai A. The mammalian HSF4 gene generates both an activator and a repressor of heat shock genes by alternative splicing. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274:27845-27856.

Taylor MA, Catchpole J, Marshall J, Marshall RN, Hoeben D. Histopathological observations on the activity of diclazuril (Vecoxan®) against the endogenous stages of *Eimeria crandallis* in sheep. *Veterinary Parasitology*, 2003, 116(4), 305–314. doi:10.1016/s0304-4017(03)00256-5

Taylor MA, Catchpole J. Review article: coccidiosis of domestic ruminants. *Applied Parasitology*, 1994, 35(2): 73-86.

Temizel EM, Demir G, Selcuk O, Catik S, Senlik B, Senturk S. Effect of treatment with cylindamycine in an outbreak of coccidiosis in goat kids in Turkey. *Journal of Biological and Environmental Sciences*, 2011, 5(13):37–40

Trott A, West JD, Klaić L, Westerheide SD, Silverman RB, Morimoto RI, Morano KA, Activation of heat shock and antioxidant responses by the natural product celastrol: Transcriptional signatures of a thiol-targeted molecule. *Molecular Biology of the Cell*, 2008, 19, 1104–1112.

Tsan M, Gao B. Heat shock proteins and immune system, *Journal of Leukocyte Biology*, 2009, Volume 85, June.

Tsotetsi AM, Mbatia PA. Parasitic helminthes of veterinary importance in cattle, sheep and goats on communal farms in the northeastern Free State, South Africa. *Journal of South African Veterinary Association*, 2003, 74:45–48.

Upcroft P, Upcroft JA. Drug targets and mechanisms of resistance in the anaerobic protozoa. *Clinical Microbiology Reviews*, 2001, 14:150164.

Vabulas RM, Ahmad-Nejad P, Ghose S, Kirschning CJ, Issels R D, Wagner H. Hsp70 as endogenous stimulus of the Toll/ interleukin-1 receptor signal pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277, 15107–15112

Vígh L, Maresca B, Harwood JL. Does the membrane's physical state control the expression of heat shock and other genes? *Trends in Biochemical Sciences*, 1998, 23:369-374.

Voos W. A new connection: chaperones meet a mitochondrial receptor. *Molecular Cell*, 2003, 11:1-3.

Walter S, Buchner J. Molecular chaperones — cellular machines for protein folding *Angewandte Chemie International Edition*, 2002, 41, pp. 1098-1113

Wang CR, Xiao JY, Chen AH, Chen J, Wang Y, Gao JF, Zhu X Q. Prevalence of coccidial infection in sheep and goats in northeastern China. *Veterinary Parasitology*, 2010, 174(3-4), 213–217. doi:10.1016/j.vetpar.08.026

Wang X, Chen M, Zhou J, Zhang X, HSP27, 70 and 90, anti-apoptotic proteins in clinical cancer therapy, *International Journal of Oncology*. 2014, Jul;45(1):18-30. doi: 10.3892/ijo.2014.2399. Epub 2014 Apr 25.

Wang Y, Kelly CG, Singh M, McGowan EG, Carrara AS, Bergmeier LA, Lehner T. Stimulation of Th1-polarizing cyto- kines, C-C chemokines, maturation of dendritic cells, and adjuvant function by the peptide binding fragment of heat shock protein 70. *Journal of Immunol*, 2002, 169, 2422–2429.

Whitley D, Goldberg SP, Jordan WD. Heat shock proteins: a review of the molecular chaperones. *Journal of Vascular Surgery*, 1999, 29(4):748-51.

Woji AY, Little DA, Ikwaegbu OA. Prevalence of coccidial infection in the West African Dwarf goat in the sub-humid zone of Nigeria. *Tropical Animal Health and Production*, 1994, 26, 1-6.

Wu CW, Biggar KK, Zhang J, Tessier SN, Pifferi F, Perret M, Storey KB. Induction of antioxidant and heat shock protein responses during torpor in the gray mouse lemur, *Microcebus murinus*. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 2015, 13, 119–126.

Yang X, Wang J, Zhou Y, Wang Y, Wang S, Zhang W. Hsp70 promotes chemoresistance by blocking bax mitochondrial translocation in ovarian cancer cells. *Cancer Letters*, 2012, 321: 137-143.

Yang Z, Ming-xue Z, Zhi-yong X, Huan-cheng X, Xiao-zhen C, Sha-sha Y, Rui B. Relationship between *Eimeria tenella* development and host cell apoptosis in chickens. *Poultry Science*, 2015, 94(12), 2970–2979. doi:10.3382/ps/pev293

Yura T, Tobe T, Ito K, Osawa T. Heat shock regulatory gene (*htpR*) of *Escherichia coli* is required for growth at high temperature but is dispensable at low temperature. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1984, 81,6803–6807.

Zylicz M, King FW, Wawrzynow A. Hsp70 interactions with the p53 tumour suppressor protein. *The EMBO Journal*, 2001, 20:4634–4638.

