T.C.

AKSARAY ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

VETERİNER İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

INFLUENZA ve TETANOZ İLE AŞILANMIŞ ATLARDA BAZI SERUM OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLERİN İZLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Abdurrahman LÜLECİ

DANIŞMAN

Prof.Dr. İlker ÇAMKERTEN

AKSARAY-2023

T.C.

AKSARAY ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

VETERİNER İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

INFLUENZA ve TETANOZ İLE AŞILANMIŞ ATLARDA BAZI SERUM OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLERİN İZLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Abdurrahman LÜLECİ

DANIŞMAN

Prof.Dr. İlker ÇAMKERTEN

AKSARAY-2023

KABUL VE ONAY SAYFASI

Aksaray Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Abdurrahman LÜLECİ tarafından savunulan İnfluenza ve Tetanoz ile Aşılanmış Atlarda Bazı Serum Oksidatif Stres Parametrelerindeki Değişikliklerin İzlenmesi isimli çalışma, jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliği / oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

İmza

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Vehbi GÜNEŞ Erciyes Üniversitesi ……..

Onaylıyorum☒ Onaylamıyorum□

Danışman: Prof. Dr. İlker ÇAMKERTEN Aksaray Üniversitesi ……..

Onaylıyorum☒ Onaylamıyorum□

Üye: Prof. Dr. Hidayet Metin ERDOĞAN Aksaray Üniversitesi ……..

Onaylıyorum☒ Onaylamıyorum□

Bu tez, Aksaray Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmenliği'nin ilgili maddeleri uyarınca jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu …… tarih ve …… sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Unvanı Adı SOYADI
Enstitü Müdürü
Doç. Dr. Sevilay USLU DİVANOĞLU

DOĞRULUK BEYANI

İnfluenza ve Tetanoz ile Aşılanmış Atlarda Bazı Serum Oksidatif Stres Parametrelerindeki Değişikliklerin İzlenmesi Yüksek lisans tezinin içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel kurallara uygun olarak atıf yapıldığını bildiririm. Beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

İmza

Abdurrahman LÜLECİ

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans Tezimin hazırlanması esnasında başından itibaren değerli katkılarını esirgemeyen, sabırla beni yönlendiren, zorlandığım anlarda beni motive eden, ihtiyaç duyduğum her türlü ekipmanı ve ortamı temin eden, bilgi ve birikimleri ile bana yol gösterici olan tez danışmanım Sayın Prof. Dr. İlker ÇAMKERTEN ‘e;

Deneysel çalışmalarım esnasında bana yardımcı olan Veteriner Hekim Hüseyin Durmuş’a aynı zamanda çalışmalarım için beni destekleyen ve yönlendiren Prof. Dr. Abuzer Acar’a, Öğr. Gör. Ahmet Cihat Tunç’a,

Her adımımda yanımda olan, bana olan inançlarını asla yitirmeyen, maddi manevi tüm desteklerini ve sabırlarını benden esirgemeyen tüm aileme,

En içten duygularımla teşekkürlerimi sunarım.

Abdurrahman LÜLECİ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR i
ÖZET iv
ABSTRACT v
ŞEKİLLER DİZİNİ vi
ÇİZELGELER DİZİNİ vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ viii
1.GİRİŞ 1
2.GENEL BİLGİLER 2
2.1 Atların İnfluenza Virüs Enfeksiyonu 2
2.1.1 İnfluenza Virüsü Etiyolojisi 2
2.1.2 İnfluenza Virüsü Epizootolojisi 3
2.1.3 İnfluenza Virüsü Patogenezi 4
2.1.4 İnfluenza Virüsü İmmunolojisi 4
2.1.5 İnfluenza Virüsünde Teşhis 5
2.1.6 İnfluenza Virüsünde Tedavi ve Koruma 6
2.2 Atlarda Tetanoz 7
2.2.1 Tetanozun Etiyoloji 7
2.2.2 Patoloji 7
2.3 Atlarda İmmunite 8
2.3.1 Influenza A virüsü ve Aşılama 9
2.3.2 Tetanoz ve Aşılama 10
2.4 Oksidatif Stres 10
2.4.1 Serbest Radikaller ve Oksidan Moleküller 11
2.4.2 Reaktif Oksijen Türleri 12
2.4.3 Reaktif Azot Türleri 13
2.4.4 Serbest radikallerin etkileri 14
2.5 Antioksidanlar 15
2.5.1 Antioksidan Çeşitleri ve Günlük Kullanımları 15
3.GEREÇ VE YÖNTEM 17
3.1 Gereç 17
3.1.1 Hayvan Materyali 17
3.2 Yöntem 17
3.2.1 Aşılama Protokolü 17

3.2.2 Kan Örneklerinin Alınması……17
3.2.3 Tiyol/Disülfit Dengesinin Belirlenmesi……..17
3.2.4 Toplam Antioksidan Durumu (TAS) Tayini (mmol/L) 19
3.2.5 Toplam Oksidan Durumu (TOS) Tayini (μmol/L) 19
3.2.6 Oksidatif Stres Endeksi (OSI).....19
3.2.7 İstatistiki Analizler.....19
4.BULGULAR 21
4.1 Klinik Bulgular 21
4.2 Laboratuvar Bulguları 21
5.TARTIŞMA 25
6.SONUÇ VE ÖNERİLER 29
7. KAYNAKLAR 30
Ek 1-Etik Kurul Onayı. 36
ÖZGEÇMİŞ 37

YÜKSEK LİSANS TEZİ

INFLUENZA ve TETANOZ İLE AŞILANMIŞ ATLARDA BAZI SERUM OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLERİN İZLENMESİ

Hazırlayan: Abdurrahman Lüleci

Aksaray Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. İlker Çamkerten

ÖZET

Sunulan çalışmada, İnfluenza ve Tetanoz kombine aşısı ile aşılanmış atlarda bazı serum oksidatif stres parametrelerindeki (Tiyol/disülfit dengesi ve Total oksidan / anti oksidan durumu) değişikliklerin izlenmesi ve sonuçlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Sorumlu veteriner hekimi ile yapılan genel klinik muayenede sağlıklı olduğu belirlenen 9 at çalışma grubu ve 9 at kontrol grubu olmak üzere toplamda 18 ata ait veriler değerlendirildi. Çalışma grubunu oluşturan atlardan aşı yapılmadan önce 0.gün, aşı yapıldıktan sonraki 14. ve 21.günlerde olmak üzere 3 defa kan alındı. Kontrol grubundaki atlara aşı vb. uygulama yapılmadı ve bir kez kan alındı. Aşı grubunun serum tiyol seviyesinin azalması oksidatif stresin arttığının bir göstergesidir. Hem native tiyol, hem de total tiyol değerleri 2. ölçümde diğer ilk iki ölçüme göre oldukça azalmıştır. Disülfit ve disülfit/native tiyol oranı 0. ölçümden sonra 1.ölçümde artmış ve devamında 2.ölçümde azalmıştır. Bu durum, ilk aşılama yapıldıktan sonra oksidatif stresin belirgin şekilde arttığının bir göstergesidir. Total oksidan değeri değişmemesine rağmen, 1.ölçümde TOS ve oksidatif stres indeksi değeri artmış ve devamında yine azalmıştır. Dolayısıyla ilk aşılamadan 14 gün sonra alınan kan örneklerinde oksidatif stresin maksimum seviyede olduğu, 21.gün de alınan kan örneklerinde oksidatif stresin normal parametrelerine ulaştığı gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak bu durumda ilk aşılamadan sonra 0 ile 14. gün arasında, yani aşının ilk yapıldığı dönemde antioksidan takviyesi önerilebilir. İlk 14 gün içinde antioksidan takviyesi ile bu çalışmalar geliştirilebilir. İnfluenza ve Tetanoz kombine aşısı ile aşılanmış atlarda oksidatif stresin meydana geldiği ancak, total antioksidan sistem parametresindeki artışlar sebebiyle oksidan/antioksidan dengesinin sağlanmaya ve oksidatif stres kaynaklı hasarların antioksidan savunma mekanizmasıyla en aza indirgenmeye çalışıldığı kanaatine varıldı.

Anahter Kelimeler: Aşı, İnfluenza, Oksidatif Stres, Tetanoz.

Aralık, 2022; 37 sayfa

M. Sc. THESIS

MONITORING THE CHANGES IN SOME SERUM OXIDATIVE STRES PARAMETERS IN HORSES VACCINATED WITH INFLUENZA AND TETANUS

Preparer: Abdurrahman Lüleci

Aksaray University
Graduate School of Health Sciences
Department of Internal Medicine

Supervisor: Prof. Dr. İlker Çamkerten

ABSTRACT

This study aimed to monitor the changes in some serum oxidative stress parameters (Thiol/disulfide balance and Total oxidant / antioxidant status) in horses vaccinated with Influenza + Tetanus and to evaluate the results. Data from 18 horses determined to be healthy in the general clinical examination with the responsible veterinarian were evaluated, including nine horses for the study group and nine for the control group. Blood was drawn from the horses in the study group 3 times on the 0th day before vaccination and the 14th and 21st days after vaccination. No application was made and blood was drawn on the same day as the study group (0. day) as the control group. Native thiol, Total thiol, Disulfite, Disulfite/Native thiol, Native thiol/Total thiol, TAS, TOS, and OSI levels were determined from the serum samples. The decrease in serum thiol level in the study group (vaccinated horses) indicates increased oxidative stress. Both native thiol and total thiol values were significantly decreased in the 2nd measurement compared to the first two measurements. The disulfide and disulfide/native thiol ratio increased in the 1st measurement after the 0th measurement and then decreased in the 2nd measurement. This is an indication that oxidative stress increases markedly after the first vaccination. Although the TAS values did not change, the TOS and OSI values increased in the first measurement and then decreased again. Therefore, it can be said that oxidative stress is at the maximum level in the blood samples taken 14th days after the first vaccination and decreased in the second vaccination.

As a result, antioxidant supplementation may be recommended between 0 and 14 days after the first vaccination, that is, in the first week of the vaccination period. These studies can be improved with antioxidant supplementation in the first 14 days. It was concluded that oxidative stress occurred in horses vaccinated with influenza + tetanus combined vaccine, but due to the increases in the total antioxidant system parameter, oxidant/antioxidant balance was trying to be achieved.

Keywords: Vaccine, Influenza, Oxidative Stress, Tetanus.

December 2022; 37 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. İnfluenza virüsünün şematik gösterimi.....3
Şekil 2.2. Serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki denge: Oksidatif Stres.....11
Şekil 2.3. Serbest radikallerin hücresel hedeflerinin bir gösterimi 14
Şekil 3.1. Aşı grubunu oluşturan dokuz at için; a.) 0. günde, b.) 14. günde, c.) 21. günde alınan kanlardan santrifüj sonrası serum örnekleri ……18

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 4.1. Ölçülen serum oksidatif stres parametrelerinin ortalama değerleri ve standart sapmaları 22

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

cDNA	Komplementer DNA
ELISA	Enzyme-Linked İmmünosorbent Assay
ETY	Embriyolu Tavuk Yumurtası
GPx	Glutasyon Peroksidaz
HA	Hemaglütinin
H2O2	Hidrojen Peroksit
HOCl	Hipokloröz asit
HNO2	Nitröz asit
IAV	Influenza A virüs
IBV	Influenza B virüs
ICV	Influenza C virüs
LOO.	Lipid peroksil
MDCK	Madin-Darby Canine Kidney
mtDNA	Mitokondriyal DNA
NA	Nöyroaminidaz
NO•	Nitrik oksit
NO2•	Azot dioksit
O2.-	Süperoksit
OH.	Hidroksil
O3	Ozon
ONOO-	Peroksinitrit
OSI	Oksidatif Stres Endeksi
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNS	Reaktif Azot Türleri
ROS	Reaktif Oksijen Türlerinin
RO2.	Peroksil
SOD	Süperoksit Dismutaz
TAS	Toplam Antioksidan Durumu
TOS	Toplam Oksidan Durumu

1.GİRİŞ

Atların influenzası akut seyirli ve çok bulaşıcı bir solunum sistemi enfeksiyonudur. Hastalığa her yaş grubundaki tek tırnaklılar duyarlıdır. Ateş, durgunluk, kuvvetli kuru öksürük, düşük mortalite ve yüksek morbidite ile karakterizedir. At popülasyonlarında influenza enfeksiyonun yayılma riski yüksektir. Farklı yaşlardaki ve ırklardaki atlar enfeksiyona yatkın olabilir. Genç taylarda ise maternal antikorların varlığı nedeniyle hastalık insidansı daha düşüktür. Enfeksiyonun spesifik etkene yönelik bir tedavisi yoktur. Enfeksiyonu geçiren atlarda semptomatik ve genel olarak destekleyici tedaviler uygulanır. Hastalığa karşı korumak tedaviden daha önemlidir. Influenza ve tetanoz enfeksiyonuna karşı üretilmiş inaktive edilmiş ve attenüye edilmiş inaktif influenza ve tetanoz toksini aşıları kullanılmaktadır. Aşılamanın hayvanları enfeksiyonlara karşı koruyucu özelliğinin bulunmasının yanı sıra hayvanlarda bir stres faktörü olarak rol oynayabileceği ve buna bağımlı olarak serbest radikal düzeylerini arttırabileceği belirli çalışmalarda ortaya konulmuştur.

Oksidan/antioksidan dengesinin bozulması ve serbest radikal üretiminin artması sonucu oluşan oksidatif stres, hastalıklarda hücresel ve moleküler doku hasarına neden olur. Oksidatif strese karşı organizmanın savunma mekanizması olan antioksidan mekanizmalar, yetersiz kalırsa, hücrelerde oksidatif hasar gelişir ve fonksiyonlar önemli oranda aksar. Oksidatif stres, oksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidan sistem lehine bozulması, lipid peroksidasyonu ve serbest radikal/reaktif oksijen ürünlerinin açığa çıkması sonucu organizmada hücresel hasar oluşumudur. Oksidatif stres, pek çok hastalığın patogenezinde kritik bir öneme sahiptir ve genel olarak hastalığın şiddetinin artmasına neden olur. Bu mekanizma, yaşlanma süreci ve kardiyovasküler hastalıklar, kanser, sepsis, dejeneratif nörolojik hastalıklar, böbrek yetmezliği, infertilite, kas ve karaciğer hastalıkları gibi pek çok hastalığın etiyolojisinden sorumludur.

Bu çalışmada, influenza ve tetanoz ile aşılanmış atlarda bazı serum oksidatif stres parametrelerindeki (Tiyol/disülfit dengesi ve Total oksidan / anti oksidan durumu) değişikliklerin izlenmesi ve sonuçlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Yapılan literatür taramasında ele alınacak konu ile ilgili bir veriye rastlanmadığı için bu çalışmanın alanında ilk olacağı öngörülmektedir.

2.GENEL BİLGİLER

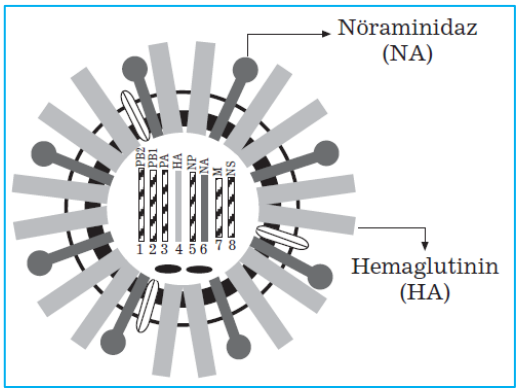
2.1 Atların İnfluenza Virüs Enfeksiyonu

Atların influenzası, at popülasyonlarında solunum sistemi enfeksiyonlarının etiyolojisinde önemli bir rolü olan virüs türüdür. Influenza salgınları hızla yayılabildiği için at yetiştiriciliği ve at yarışı endüstrisinde önemli kayıplara neden olmaktadır (Ataseven, 2009). Atların influenzası; akut seyirli, çok bulaşıcı, yüksek ateş, burun akıntısı ve şiddetli kuru öksürük ile karakterize mortalitesi düşük, morbiditesi yüksek bir hastalık olup, sekonder bakterilerin çoğalmadığı durumda prognozu iyi olan bir hastalıktır. Hastalığa her yaş grubundaki tek tırnaklılar duyarlıdır. İlgili virüs 1956 yılında Doğu Avrupa'da atlarda solunum sistemi enfeksiyonu olarak tanımlanmıştır (Sovinova O, 1958). Ülkemizde geleneksel bir spor olan cirit sporunda yer alan cirit atları ve bununla birlikte diğer yarış atları influenza enfeksiyonundan etkilenmektedir. Cirit sporunda atlardan beklenen hız ve atların hızlı manevra yetenekleri düşünüldüğünde enfeksiyonun varlığı ciddi performans düşüklüğüne neden olur. Türkiye' de atların influenzası için sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Ataseven, 2009; Timurkan ve Aydın, 2019). Bu nedenle bu alanda yapılan çalışmalar litaratüre önemli katkı sağlamasının yanı sıra atlarda influenzadan korunma veya tedavi süreçleri için faydalı olacaktır.

2.1.1 İnfluenza Virüsü Etiyolojisi

Influenza virüsleri Orthomyxoviridae familyasında yer almaktadır ve Influenza A virüs (IAV), Influenza B virüs (IBV), Influenza C virüs (ICV) olmak üzere üç alt grubu bulunmaktadır. Influenzavirüs A, insanlar, tek tırnaklılar, domuzlar, kanatlılar ve deniz memelilerinde; Influenzavirüs B, insanlar ve foklarda; Influenzavirüs C ise insan ve domuzlarda infeksiyona neden olmaktadır. Influenzavirüs A; 80-120 nm çapında zar ile helikal simetrili bir yapı gösteren, negatif polariteli ve 8 segmentten oluşan RNA genomuna sahip virüslerdir ve atlarda enfeksiyona sebep olur (Ataseven, 2009). Virüs zarlı yapıya sahip olduğu için, konak canlı dışında iken güneş ışığı ve dezenfektan maddeler ile kolayca inaktive olabilir ve enfeksiyon yapıcı özelliğini kaybeder. Virüs zarı üzerinde iki çeşit glikoprotein vardır: hemaglütinin (HA) ve nöyroaminidaz (NA). HA veya NA yüzey glikoproteini varlığına göre virüs alt tipi belirlenir (Bouvier ve Palese, 2008; Webster vd., 1992). Tek tırnaklıları enfekte eden

influenza virüs A hemaglutinin ve nöraminidaz antijeni nedeniyle iki alt tipe ayrılırlar. Bu iki alt tipi; H7N7 ve H3N8' dir.



Şekil 2.1. İnfluenza virüsünün şematik görünümü (Özellikler, 2007).

İki farklı alt tip aynı anda atları enfekte ettiğinde genetik materyal değişimleri (reassortmantlar) değişik rekombinasyonlar (antijenik shift) ortaya çıkarabilir ve bu durum, influenza pandemilerine yol açabilmektedir (Webster vd., 1992). Atlarda bu güne kadar böyle bir duruma rastlanmamıştır (Ataseven, 2009).

2.1.2 İnfluenza Virüsü Epizootolojisi

İnfluenza virüslerinin tüm çeşitleri, alt solunum yolu ve üst solunum yolu epitelini enfekte etmektedir (Webster et al., 1992). Atlarda influenza, bulaşma oranı yüksek bir enfeksiyon olup hızla yayılabilir. Enfeksiyonun epidemiyolojisi, bölge, mevsim, yaş, cinsiyet, virüs alt tipi, hayvanın bağışıklık sistemi ve popülasyonun yapısına göre değişiklik gösterir (Crossley ve Hill, 2017). Enfekte olan atları ayrı bir bölüme alıp karantina şartları uygulanmadığı durumda tüm sürünün hasta olmasına neden olabilir (Dodet ve Vicari, 2001).

Kuvvetli öksürükle çıkan salgılar aerosol olarak yaklaşık 35 m' ye kadar yayılabilir ve bu da hızla yayılmayı kolaylaştırır. Özellikle kapalı, havalandırması iyi olmayan işletmelerde yayılım çok daha hızlı olmaktadır. Bunun dışında direk temas, rüzgar, virüsle kontamine ekipmanlar, yemlikler, yem, su kapları ve bakıcılar aracılığıyla da bulaşma olabilir (Ataseven, 2009). Nem ve sıcaklık da virüsün bulaşmasına katkıda bulunabilir. Virüs daha soğuk ve daha kuru koşullarda daha fazla aerosol haline

gelebilmektedir (Sack vd., 2019). Virüsün yayılması klinik semptomların görülmeye başlamasından itibaren en az 5 gün kadar devam eder. (Ataseven, 2009).

2.1.3 İnfluenza Virüsü Patogenezi

Virüs organizmaya girdikten sonra burun mukozası epitel hücrelerinde çoğalır, hücrelerde çözülmeler ile yangılar meydana gelir. Virüs havada taşınım yolu ile organizmaya girdikten sonra, alt ve üst solunum yolları mukozasını enfekte etmektedir. Virüs 2-4 günde solunum kanalına yayılır. 4-6. gününde geniş desiliyasyon alanları ortaya çıkar. Enfekte hücrelerden tomurcuklanma yoluyla saçılan patojen virüs partikülleri, siliyer hareketlerle mukoza üzerine dağılır ve diğer hücreleri de enfekte eder (Ataseven, 2009).

Bazı durumlarda çok kısa bir viremi dönemine rastlanır. Rhinitis oluşur; akciğerlerde alveolar boşluklar arasında ödemler meydana gelir. Meydana gelen bu değişiklikler birkaç gün sonra normale döner. Fakat virüs solunum yolu epiteli bazal membranını geçerek sirkülasyona girerse myositis, myokarditis, dudak ödemleri ve ensefalitise gözlemlenir. Hastalığın şiddetli ve uzun sürdüğü durumlarda ise solunum yolu mukoza ve siliyalarının rejenerasyonu 32 günü bulabilir (Daly vd., 2008; Sovinova vd., 1958).

Virüsün inkübasyon süresi 2-3 gündür. İlk klinik tablo olarak burun mukozasında ve konjunktivalarda şiddetli bir kızarma ve berrak bir burun ve göz akıntısı dikkati çeker. Ateş aniden 39.5-40 dereceye ulaşır ve durum 6-36 saat devam eder. Larenks bölgesinde submandibular lenf yumrularında büyüme gözlenir. Ateşin yüksek olduğu dönemde kuru bir öksürük karekteristiktir. Enfeksiyondan 1-23 hafta sonra iyileşme meydana gelir. Bazen bakteriyal ve karışık enfeksiyonlara bağlı olarak vücut ısısında yükselme olur. Komplike olan durumlarda kataral bronchopneumoniler dikkati çeker ve uzun süren bir seyir dönemden sonra ölüm meydana gelir. Aşılı olan atlarda hastalık daha hafif seyreder (Ataseven, 2009; Yıldırım, 2004).

2.1.4 İnfluenza Virüsü İmmunolojisi

Influenza virüs A' nın birincil çoğalma bölgeleri alt solunum yolu ile ilişkili nazofarinks ve trakeadır. Bu nedenle, virüs enfeksiyonuna maruz kalan atlarda hücresel immün yanıt ve lokal antikor üretiminin değerlendirilmesi gerekmektedir (Hannant vd., 1988).

Antikorlar hastalığın başlangıcından 4-6 gün sonra oluşmaya başlarlar ve 12-20 günde en yüksek titreye ulaşır. Bu antikorlar yıllarca organizmada bulunur. Alt tip 1 enfeksiyonlarına karşı oluşan bağışıklık genelde bir yıl alt tip 2 enfeksiyonlarına karşı oluşan bağışıklık ise birkaç aydan 1 yıla kadar devam etmektedir. Humoral ve hücresel immün cevap, üst solunum yolları mukozasındaki özelleşmiş folikülle ilişkili epitelyum ve nazal mukoza ile ilişkili lenfoid doku tarafından başlatılır. Humoral yanıt özel olarak, B lenfositlerinin virüsün yapısındaki HA ve NA glikoproteinlerine karşı ürettiği antikorlar tarafından sağlanır. Humoral antikorlar kolostrum vasıtasıyla yeni doğanlara nakledilir ve aylarca koruma sağlayabilir. HA glikoproteinine karşı oluşan nötralizan antikorlar, aynı virüs suşuyla reinfeksiyona karşı önemli etkiye sahiptir (Ada ve Jones, 1986; Hannant, 1991).

2.1.5 İnfluenza Virüsünde Teşhis

Tek tırnaklılarda İnfluenza virüs A infeksiyonunun çok hızlı yayılma ve kuvvetli-kuru derin öksürük özelliği diğer viral ve bakteriyel etkenlerin neden olduğu solunum yolu infeksiyonlarından ayrıcı olan en önemli klinik semptomlardır. Eğer hayvanlar aşılı ise bu semptomları tespit etmek zor olabilir. Virüsün saçılımı 4. ve 5. güne kadar sürdüğü için bu süreçte alınan örnekler hızlı bir şekilde, transport medyum içerisinde ve soğuk zincirde analiz edilmek üzere laboratuvara gönderilmelidir (Daly vd., 2008; Paillot vd., 2006).

Başlıca semptom kuru bir öksürük ve ateştir. Fakat, farklı etkenlerin de olması ve hızlı yayılım nedeniyle şüpheli bir teşhis konulabilir. Kesin teşhis için etken izolasyonu ve çeşitli yöntemler ile testlerin yapılması gerekir. Virüs izolasyonu zor olduğu için çift serum numunesinde antikor yükselişine bağlı olarak teşhis konulur. Serumda 4 katlı bir antikor titresi artışının saptanması hastalığın varlığını ortaya koyar. Virüs izolasyonunun yapılması, yeni virüs suşlarının belirlenmesi ve aşı içeriklerinin hazırlanması için çok önemlidir (Ataseven, 2009). İnfluenza virüs A'nın izolasyonu için embriyolu tavuk yumurtası (ETY) ve Madin-Darby Canine Kidney (MDCK) hücre kültürleri kullanılmaktadır (Quinlivan vd., 2004). Alternatif bir yöntem olarak, influenza A virüslerin nükleoproteinlerindeki benzerlik nedeniyle insan hekimliğinde kullanılan ticari Flu-A enzyme-linked immünosorbent assay (ELISA) kiti atların influenza virüs infeksiyonlarının sahadaki teşhisinde kullanılabilmektedir (Morley vd., 1995). Enfeksiyonunun serolojik teşhisi için hemaglütinasyon inhibisyons ve single

radial hemoliz testleri kullanılmaktadır. Enfeksiyonun teşhisinde antikor tespitine dayalı testler, aşılama ve infeksiyon sonucu oluşan antikorların ayırt edilememesi, 15 gün arayla iki serum örneği alınması gerektirmektedir (Art vd., ; Ataseven, 2009). Ayrıca aşılı hayvanlarda virüsün yapısal olmayan NSI proteinine karşı oluşan antikorların tespit edilmesini sağlayan ELISA kitleri de mevcuttur (Ozaki vd., 2001). ELISA testleri genel olarak şu şekilde yapılır: antijen kaplı pleyt üzerine sulandırılmış örnekler kuyucuklara konulur ve 60 dk oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra yıkama solüsyonuyla yıkanır. Ardından her kuyucuğa konjugat eklenir ve 60 dk oda sıcaklığında bekledikten sonra yıkama işlemi tekrar edilir. Ardından substrat eklenerek 15 dk oda ısısında tekrar inkübe edilir. Son olarak stop solüsyonu eklenen kuyucuklar spektrofotometre altında 650 nm dalga boyunda referans değerinde okutularak "Cut off" değerine göre her bir örnek için hesaplama yapılır. Ticari olarak satın alınan ELISA kitinin içeriğine göre solüsyon miktarları ve inkübasyon süreleri değişkenlik gösterebilir (Timurkan ve Aydın, 2019).

Eğer popülasyonda yaygın şekilde enfeksiyon gözlemlenmiş ise hızlı bir şekilde tanı konulabilmesi ve özellikle yarış atlarının kısa egzersizlere başlayabilmeleri için önem taşımaktadır. Sahada kullanılıp hızlıca cevap alınmasına rağmen antijenik bilgi sağlamadığı için ve düşük virüs düzeyini tespit edemediği için laboratuvar teşhisleri için uygun değildir. Laboratuvar teşhisinde yüksek duyarlılık nedeniyle Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi tercih edilmektedir (Ataseven, 2009; Daly et al., 2008; Morley et al., 1995). Atların burun sürüntülerinden nükleik asit izolasyonu yapılır. Örneklerden RNA izolasyonu yapılıp ardından komplementer DNA (cDNA) sentezi, ticari bir kit ile gerçekleştirilir. Son olarak PCR analizi, mRNA izolasyonu sonrasında cDNA örnekleri kullanılarak virüsü tespit etmeye yarayacak primerler dizayn edilerek gerçekleştirilir (Timurkan ve Aydın, 2019).

2.1.6 İnfluenza Virüsünde Tedavi ve Koruma

İlaç tedavisinin etkili olabilmesi için hastalığın erken döneminde tedaviye başlanmalıdır. Sekonder hastalık etkenleri de göz önünde bulundurularak geniş spektrumlu antibakteriyel ilaçların kullanımı etkili olacaktır. Tedavi için kullanılan antiviral ilaçlar rimantadin, amantadin, zanamivir ve oseltamivir gibi etken maddeleri içermektedir (Yamanaka vd., 2006). Merkezi sinir sistemindeki yan etkileri, ilaç dirençliliği, sınırlı uygulama alanı, yüksek maliyetleri ve düşük finansal dönüşüm gibi

dezavantajları nedeniyle henüz hayvan sağlığı kullanımı için lisans almış antiviral maddeler bulunmamaktadır (Ataseven, 2009; Newton vd., 1999; Yamanaka vd., 2006). Tedavide en önemli durumlardan biri de ateşin kontrol altına alınmasıdır. Uzun etkili ateş düşürücü ilaçların kullanımı hastalıkla mücadelede önemlidir. Bunun yanı sıra bağışıklık sistemini kuvvetlendirici, hayvanların direncini artıracak ve iştahını uyaracak takviyelerin kullanılması da önem arz etmektedir. Hastalıktan korunmada; enfekte hayvanların sürüden ayrılıp karantinaya alınması, bulaşmaya sebep olacak bütün etkenlerin ortadan kaldırılması gerekir ve en önemlisi aşılama yapılmalıdır. Bunların yanında aşılama hem koruma için hem de yayılımın engellenmesi için oldukça önemli bir yere sahiptir.

2.2 Atlarda Tetanoz

Tetanoz, bütün çiftlik hayvanlarında oldukça yaygın olarak görülen bir hastalıktır. *Clostridium tetani* Gr (+) anaerobik bir bakteri olup, ürettiği ekzotoksinler ile Tetanoz' a neden olur (Ribeiro et al., 2018). Çok dirençli olan Clostridium sporları, toprakta çok uzun süre yaşayabilir. Aynı zamanda bu sprolar çiftlik hayvanlarının dışkılarında bulunabilir. Sığırlar atlara göre tetanoza karşı daha dayanıklıdırlar. Atlar tetanoza daha duyarlıdırlar. Atların tetanozu sıklıkla tarım alanlarıyla yakından ilişkilidir (Rafee ve Hussain, 2020).

2.2.1 Tetanozun Etiyoloji

Tetanoz toksinleri kas sertliğine ve spazmına neden olurlar. Tetanoz toksemisi, nekrotik dokularda Clostridium tetani'nin ürettiği tetanospazmin toksinler tarafından oluşturulur. Etken vücuda operasyon yarası, çivi batması, ağız boşluğundaki yaralardan v.b. girmektedir. Tetanozun tedavisi çok zor olduğu için hastalıktan korunmak için önlem almak çok daha önemlidir (Ok ve Ertürk, 2019).

2.2.2 Patoloji

C. tetani, yaralar (operasyon yarası, çivi batması, ağız boşluğundaki yaralar v.b.) veya küçük kesiklerden girerek atların sinir sistemine zarar verir ve çoğu durumda ölümcül olur. Atlar, sığırlara göre tetanoz toksininin etkilerine daha duyarlı hayvanlardır (Constable vd., 2016). Yeni doğan taylar, göbek kordonu aracılığıyla giren etkenin enfeksiyon oluşturması nedeniyle risk altındadır. Tüm vücut boyunca spazmodik

titreme, dış irkintilere karşı aşırı tepki, kaslarda sertlik, üçüncü göz kapağının kapanması, yeme-içmede güçlük, sırt üstü yatma, baş ve boyunu öne yaslama ve kuyruğu kaldırma, konvülsiyon ve ölüm gibi klinik belirtiler görülür (Ribeiro vd., 2018).

2.3 Atlarda İmmunite

Hayvanlarda immün sistem (bağışıklık sistemi), morbidite ve mortaliteye neden olan çok sayıdaki infeksiyöz ajanlardan korunmayı, hastalıklara karşı daha dirençli olmayı, vücutta var olan enfeksiyonun ve hasarların azalmasında yardımcı olur. Mikroorganizmalara karşı korunmada immün sistemin iki temel grubu vardır: non-spesifik (doğal) bağışıklık ve spesifik bağışıklık (humoral ve hücresel bağışıklık) (Clem, 2011).

Doğuştan gelen bağışıklık sistemi klasik olarak, nötrofiller, makrofajlar, monositler ve dendritik hücreler gibi sinovyal eklem bağışıklık hücreleri tarafından tetiklenir. Pattern tanıma reseptörleri (PRR), Toll benzeri reseptörler ve NOD benzeri reseptörler dahil olmak üzere bir hücre yüzeyi, endozomal ve sitozolik reseptör ailesinden oluşur (Huggins vd., 2015). Eklem gibi dokularda PRR'lerin aktivasyonu, başlangıçta hızlın inflamatuar tepkilere yol açar, ardından daha sonra adaptif bağışıklık tepkilerinin başlatılması ve son olarak doku yaralanmaları durumunda iyileşme meydana gelir (Bogers, 2018).

Kazanılmış bağışıklık sistemi, B hücrelerinden/antikorlardan ve T hücrelerinden oluşur. Bunlar adaptif bağışıklık sisteminin iki koludur. B hücreleri ve antikorlar hümoral bağışıklık veya antikor aracılı bağışıklığı oluştururken; T hücreleri, hücre aracılı bağışıklığı oluşturur (Clem, 2011).

Bağışıklama, pasif veya aktif araçlardan elde edilebilir. Pasif aşılama, aşılanmamış bir hayvana önceden oluşturulmuş antikorların transferi ile gerçekleşir. Daha sonra bu önceden oluşturulmuş antikorların varlığı nedeniyle belirli bir organizmaya veya toksine karşı geçici bir bağışıklık geliştirecektir. Bu önceden oluşturulmuş antikorlar yok edildiğinde, hayvanın artık bu mikroorganizmaya veya toksine karşı bağışıklığı olmayacaktır (Savoy, 2020). Pasif aşılama doğal veya yapay olarak gerçekleşebilir.

Doğal pasif aşılama; maternal antikorların plasentadan fetüse geçmesi ve bu maternal antikorların kolostrum ile yenidoğan hayvana geçmesidir (Clem, 2011).

Aktif aşılama, aşılanmamış bir hayvanın patojenik bir ajana maruz kalmasıyla gerçekleşir. Pasif aşılamanın aksine, aktif aşılama tipik olarak, bireyin bağışıklık sisteminin uyarılması nedeniyle uzun süreli bağışıklık üretir. Aktif aşılama doğal veya yapay olarak gerçekleşebilir. Doğal aktif aşılamanın mükemmel bir örneği, influenzaya maruz kalmaktır. Vücut daha sonra grip virüsüne karşı uzun süreli bağışıklık geliştirme sürecini başlatır. Yapay aktif aşılamanın örnekleri ise hayvanlarda kullanılan aşılardır (Clem, 2011).

2.3.1 Influenza A virüsü ve Aşılama

Atlarda enfeksiyöz hastalıklardan korunmada aşılamanın önemi büyüktür. Influenza A virüsü; solunum yollarındaki mukoza hücrelerini enfekte eder ve kuvvetli bir kuru öksürük ile birlikte vücutta yüksek ateşi tetikler. Atların IAV enfeksiyonu çok bulaşıcıdır ve hasta olmamak için önlem almak yani aşılama yapmak çok önemlidir. Aşı ile enfeksiyonlar kontrol altına alınabilir. Ancak virüsün yeni varyantların ortaya çıkması aşıyı etkisiz kılabilmektedir (Pusterla ve Higgins, 2017; Quinlivan vd., 2005). IAV aşısı klinik belirtileri azaltmak ve virüs saçılmasını azaltmak için yararlıdır, ancak önceden aşılanmış atlar virüsü klinik belirti göstermeden yaydığından potansiyel bulaşmayı ortadan kaldırmaz (Crouch vd., 2004; Yondon vd., 2013).

Günümüzde atların IAV karşı geliştirilmiş birçok aşı türü bulunmaktadır. Bunlar; inaktif virüs aşıları, subünit aşılar, DNA aşıları, attenüye canlı virüs ve rekombinant vektör aşılarını kapsamaktadır. Virüs kısa sürede antijenik mutasyonlara uğradığı için, bunun yanında aşılardan sonra subklinik enfeksiyonların ortaya çıkması nedenleriyle aşılamanın etkisi sınırlı olabilir (Paillot vd., 2006).

Aşılama programları bir ülkenin yönetmeliklerine, aşı türüne ve aşı üreticilerinin önerilerine göre farklılık göstermektedir. IAV için standart aşılama programında ilk aşılaması yapılan tayların 3 ay içinde ikinci aşılamalarının yapılması, ikinci aşılamadan sonra da 6 ay içinde ve daha sonra yılda bir kez tekrarının uygulanması önerilmektedir (Newton vd., 1999). Tayların pasif olarak kolostrumdan aldıkları maternal antikorlar ile yaşamlarının ilk 3-9 ayı boyunca patojenlere karşı korundukları

ve maternal antikorların ilk aylarda yapılan aşılamalara verilen yanıtı engelleme potansiyeline sahip oldukları bilinmektedir. Bu nedenle maternal antikor alan tayların en az 6 aylıktan önce aşılanmamaları gerektiği, maternal antikor almamış tayların ise, influneza enfeksiyonuna yakalanma riski varsa 3 aylık yaşta veya daha erken aşılanabilecekleri bildirilmektedir (Myers ve Wilson, 2006; Van Oirschot vd., 1991; Wilson vd., 2001).

2.3.2 Tetanoz ve Aşılama

Atlarda tetanoz enfeksiyonuna karşı önlem alınmadığı takdirde hastalık ölümler ile sonuçlanabilir. Hastalığın önlenmesi içi yapılan aşılamaların ilk aşamasında; 4-6 hafta arayla iki doz aşının yapılması gelmektedir. 12 ay sonra immun sistemi güçlendirici bir doz daha aşı yapılabilir. Tetanoz için aşılamanın 18-30 ayda bir tekrarlanması gerekmektedir. Özellikle taylarda tetanoz aşısı influenza ile kombine olarak yapılır (Pilliner ve Davis, 2004).

2.4 Oksidatif Stres

Oksidatif stres, vücutta serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengesizliktir. Serbest radikaller, eşit olmayan elektron sayısına sahip oksijen içeren moleküllerdir. Eşit olmayan elektron sayısı, diğer moleküllerle kolayca reaksiyona girmelerine neden olur. Bu reaksiyonlara oksidasyon denir. Antioksidanlar, kendilerini kararsız hale getirmeden bir serbest radikale bir elektron verebilen moleküllerdir. Bu, serbest radikalin stabilize olmasına ve daha az reaktif hale gelmesine neden olur. Hastalık süreçlerinde oksidatif stresin artması; hücrelerde ve dokularda hasarlara ve hatta moleküler mekanizmaların bozulmasında rol alır. Oksidan/antioksidan dengenin bolzulması, yaşlanma süreci ve kardiyovasküler hastalıklar, solunum yolu hastalıkları, kanser, sepsis, dejeneratif nörolojik hastalıklar, diyabet, tansiyon yüksekliği, böbrek yetmezliği, infertilite, kas ve karaciğer hastalıkları gibi pek çok hastalığın etiyolojisinden sorumludur. Oksidatif stresin, farklı mekanizmalar ile DNA'nın yapısını bozar. Baz ve şeker modifikasyonları, tek ve çift zincir kırıkları, DNA-protein çapraz bağlanması gibi bir takım lezyonlara neden olarak hasara yol açtığı bilinmektedir (Atmaca ve Aksoy, 2009). Çeşitli nedenlere bağlı olarak çekirdek DNA'sının yanı sıra mitokondriyal DNA (mtDNA)'da da oksidatif stres hasarlara neden olur. Serbest radikaller genel olarak reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif

nitrojen türleri (RNS) olarak gruplandırılır. Hayvanlarda en önemli ROS kaynaklarından biri mitokondriyal elektron taşıma zinciridir. Çekirdek DNA'sının aksine mtDNA mitokondride serbest radikal oluşturan bölgelere çok yakın yerleşim gösterir ve histonlar tarafından korunmaz (Atmaca ve Aksoy, 2009). Litaratürde yer alan çalışmalar, mitokondriyle DNA'daki oksidatif strese bağlı endojen hasarların önemsiz sayılacak kadar az olduğu ifade edilmiştir (Valavanidis vd., 2009). Sonuç olarak, oksidatif stres ile birlikte oluşan ve ROS ve RNS olarak bilinen moleküller özellikle lipit, protein ve DNA gibi hücre bileşenlerinde hasara neden olur.



Figure 2.2. Serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki denge: Oksidatif Stres

2.4.1 Serbest Radikaller ve Oksidan Moleküller

Hücre içinde üretilen ROS moleküllerinin %90'dan fazlası aerobik solunum reaksiyonları zincirinde mitokondrinin iç membranında üretilir. ROS düşük miktarda iken çeşitli stres tepkilerinde olumlu etkilere sahip iken, vücutta farklı etkenler sonucu ROS' un miktarı arttığında hücresel zararlara yol açar. ROS miktarının artması ve redoks tepkimelerinin gerçekleşmesi lipid, protein, DNA ve diğer makromoleküllerin yapısında bozulmalara neden olur ve hücre ölümü ile sonuçlanabilir. Bu durum kronik hastalıklara daha neden olabilir (Valavanidis vd., 2009).

Serbest radikal türleri; Reaktif oksijen türleri (ROS) ve Reaktif azot türleri (RNS) olarak iki temel gruba ayrılır. Oldukça reaktif olan bu moleküller bir kez oluştuktan sonra zincirleme reaksiyonları başlatabilir ve hücrelerde hasara neden olabilir (Vural, 2005).

Serbest radikaller hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ve lipid peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Oksijen, süperoksit grubuna bazı demir-kükürt içeren yükseltgenme-indirgenme enzimleri ve flavoproteinlerin etkisiyle indirgenir. Son derece etkin olan ve hücre hasarına yol açan süperoksit grubu, bakırlı bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) aracılığında hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene çevrilir. Süperoksit grubundan daha zayıf etkili olan H_2O_2, dokularda bulunan katalaz, peroksidaz ve glutasyon peroksidaz (GPx) gibi enzimlerle su ve oksijen gibi daha zayıf etkili ürünlere dönüştürülerek etkisiz kılınır (Mercan, 2004).

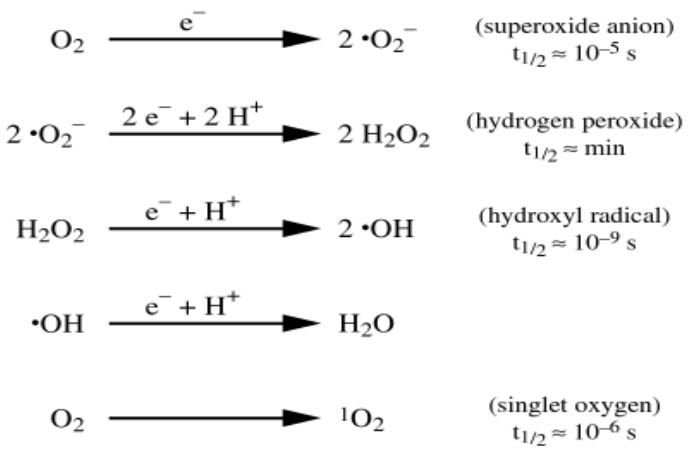
2.4.2 Reaktif Oksijen Türleri

Oksijen merkezli radikaller:

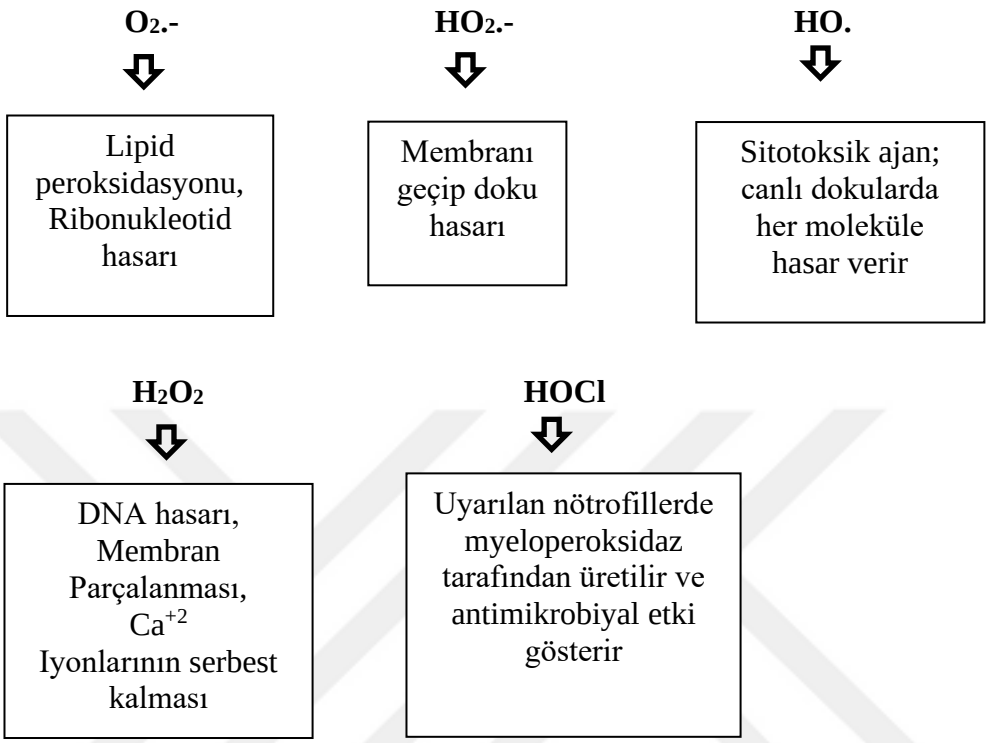
- Süperoksit ($O_2^{\cdot}$-)
- Hidroksil ($OH^{\cdot}$)
- Peroksil ($RO_2^{\cdot}$)
- Lipid peroksil ($LOO^{\cdot}$)

Radikal olmayanlar oksijen türleri

- Hidrojen peroksit (H_2O_2)
- Hipokloröz asit (HOCl)
- Ozon (O_3)
- Singlet oksijen ($^1\Delta g$) veya (O2*) (Mercan, 2004)



Reaktif oksijen türleri yüksek konsantrasyonlarda iken; lipid peroksidasyonunu başlatarak, çeşitli makromoleküllerde hasarlara ve hücre ölümüne neden olur (Mercan, 2004).



2.4.3 Reaktif Azot Türleri

Reaktif azot türleri

- Nitrik oksit (NO•)
- Azot dioksit (NO_2•)

Radikal olmayanlar azot türleri

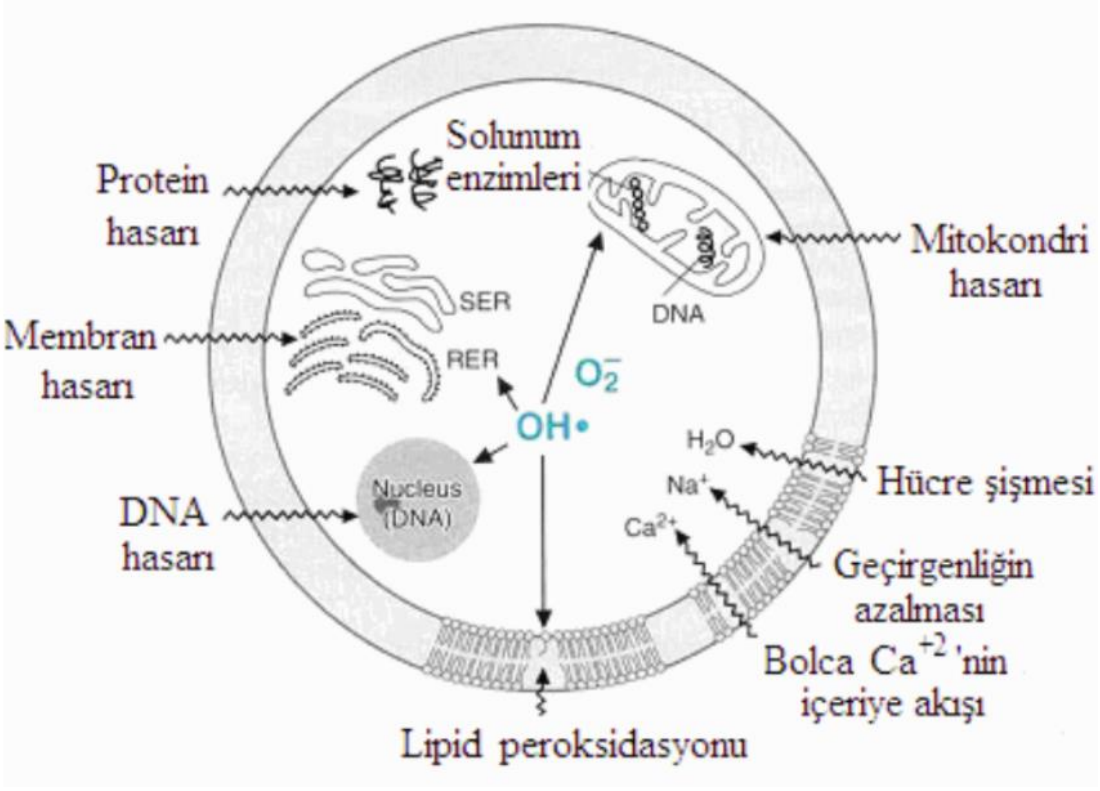
- Peroksinitrit (ONOO-)
- Nitröz asit (HNO_2) (Mercan, 2004)

NO• → Nitrik oksit sentetaz (NOS) enziminin katalizlediği bir reaksiyon sonucunda L-arjinin'den üretilir. İnflamasyonun uzamasında ve immünolojik yanıtta önemli rol oynayan bir sinyal molekülüdür. NO'nun sentezi ve salınması iltihaplanmayı teşvik eder; bu nedenle, düşük sitoksikliğe sahip NO temizleyicileri veya üretiminin

inhibitörleri olarak işlev görebilen ekstraktlar, NO tarafından enflamasyonun yayılmasını azaltmak için kullanılabilir. (Erdoğan, 2014).

2.4.4 Serbest radikallerin etkileri

Serbest radikaller sağlıklı durumda metabolik işlemlerle devamlı olarak üretilirler; fakat üretim hızları çeşitli stres ve hastalık durumlarında artar. Normal olarak vücut, reaktif oksijen metabolitleri ile onların toksik ürünlerine karşı geniş bir savunma mekanizması tarafından korunur. Serbest radikallerin hayvan vücudunda artmasına bağlı olarak meydana gelen bazı hasarlar vardır. Bunlar mide-bağırsak hastalıklarından infertiliteye, kardiyovasküler hastalıklardan solunum ve boşaltım sisteminde bozukluklara kadar birçok hastalığa neden olur (Mercan, 2004).



Şekil 2.3. Serbest radikallerin hücresel hedeflerinin bir gösterimi (Demir, 2011)

Memeli hayvanlarda dokularda ROS'un birikimi ciddi hasarlara neden olur. ROS'un temel hedefleri lipidler, proteinler, DNA ve diğer makromoleküllerdir. Örneğin Fenton veya Haber – Weis reaksiyonları tarafından oluşturulan yüksek reaktif hidroksil radikalleri membran lipid preoksidasyona öncülük ederek ROS'un oluşumuna katkıda bulunmaktadır. ROS, plazma membranının içindeki poliansature yağ asidini çıkararak

lipid radikallerin artmasına neden olur. Aerobik şartlar altında lipid radikalleri lipid peroksit radikallerine dönüşmek için moleküler oksijen ile etkileşime girer ve reaktif lipid peroksidasyon süreci başlar. ROS aynı zamanda tüm DNA komponentlerinde oksidasyona neden olarak gen mutasyonu ve anormal protein sentezlerine neden olur (Valko vd., 2006).

2.5 Antioksidanlar

Antioksidanlar, vücudun çevresel ve diğer baskılara tepki olarak ürettiği kararsız moleküller olan serbest radikallerin neden olduğu hücrelere verilen zararı önleyebilen veya yavaşlatabilen maddelerdir. Dolayısıyla antioksidanlar, serbest radikallerin olumsuz etkilerine karşı hücreleri korur. Oksidatif stres kanser, kalp hastalıkları, diyabet gibi kronik veya nörodejeneratif hastalıkların oluşmasına sebep olabilir. Peroksit ürünleri ve çeşitli ROS türleri gibi serbest radikaller vücutta protein, lipid ve nükleik asitleri zarara uğratan reaksiyonlara sebep olur. Meyve ve sebze içeriğinde bulunan çeşitli antioksidanlar hücre ve organ sistemlerinin serbest radikallerin olumsuz etkilerine karşı korur (Certel, 2005; Kim vd., 2014; Mercan, 2004).

Antioksidanlar hücrelere saldırmadan serbest radikalleri stabilize ve serbest radikalleri nötürleyebilen moleküllerdir. Antioksidanlar; ROS ve RNS'nin zararlı etkilerini ortadan kaldırabilmeli, redoks reaksiyonlarında şelat oluşturabilmeli, diğer antioksidanlarla etkileşerek onları rejenere edebilmeli, kolayca absorbe edilebilmeli, doku ve vücut sıvılarında uygun fizyolojik seviyelerde bulunmalı hem sıvı ortamlarda hem membranlarda fonksiyonel olabilmelidir (Valko vd., 2006).

2.5.1 Antioksidan Çeşitleri ve Günlük Kullanımları

Vitamin E (tokoferol), Vitamin C (askorbik asit) , Karotenoidler, selenyum, metallotionin, poliaminler, melatonin, NADPH, adenozin, koenzim Q-10, ürat, ubikuinol, polifenoller, flavonoidler, fitoöstrojenler, sistein, homositein, taurin, metionin, s-adenozil-L-metionin, resveratrol, nitroksidler, glutasyon peroksidaz, katalaz, süperoksid dismutaz, tioredoksin redüktaz, nitrikoksid sintaz, hem oksijenaz-L ve eozinofil peroksidaz antioksidan madde grubu girmektedir (Mercan, 2004).

Antioksidan maddeler, temel olarak nonenzimatik ve enzimatik antioksidanlar olarak iki temel gruba ayrılır. Nonenzimatik antioksidanlar, düşük molekül ağırlıklığına

sahiptir ve antioksidanlar okside olarak başka bir substratın oksidasyonunu önemli ölçüde geciktirir veya önlerler. Lipoik asit, glutatyon, koenzim Q 10 endojenik nonenzimatik antioksidanlar iken; α tokoferol, askorbik asit, karotenoidler ve polifenoller diyetle alınabilir (Derviş, 2011). Diğer grup; enzimatik antioksidanlar, oksidatif toksik ara ürünleri metabolize ederler ve sinerjik çalışırlar. Süperoksit Dismutaz, Katalaz, Glutatyon peroksidaz, Glutatyon redüktaz, Glutatyon transferaz ise enzimatik antioksidanlara verilebilecek örneklerdir.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Gereç

Bu çalışma Aksaray Üniversitesi Hayvan Hastanesi İç Hastalıklar Anabilim Dalı Kliniğine rutin kontrol amaçlı getirilen at kan serumlarının artan kısımları ile yapılmıştır. Çalışma öncesi Aksaray Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulu'ndan (ASÜVFEK) izin alınmıştır.

3.1.1 Hayvan Materyali

Bu tezin materyalini Aksaray Üniversitesi Hayvan Hastanesi İç Hastalıklar Anabilim Dalı Kliniğine rutin kontrol amaçlı getirilen at kan serumları oluşturdu. Numuneler alınmadan önce sorumlu veteriner hekimi ile birlikte genel klinik muayeneleri (vücut sıcaklığı, kalp ve solunum frekansı) sonucu sağlıklı olduğu belirlenen rastgele örnekleme ile 5-10 yaş arası Arap ve İngiliz atlarından 9 at kontrol grubu ve aşı yapılacak 9 at çalışma grubu olmak üzere toplamda 18 ata ait veriler bu tezde değerlendirilmiştir.

3.2 Yöntem

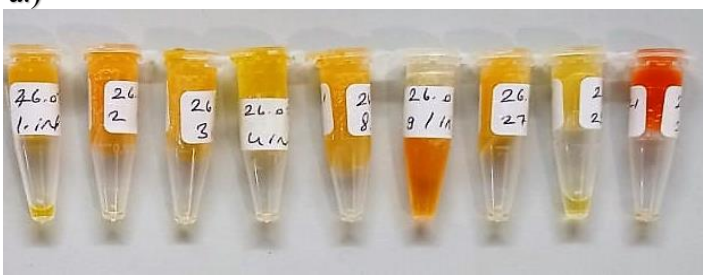
3.2.1 Aşılama Protokolü

Aşılama grubundaki atlara İnfluenza ve Tetanoz ile kombine (prequenza) aşısı 14 gün ara ile iki doz uygulandı.

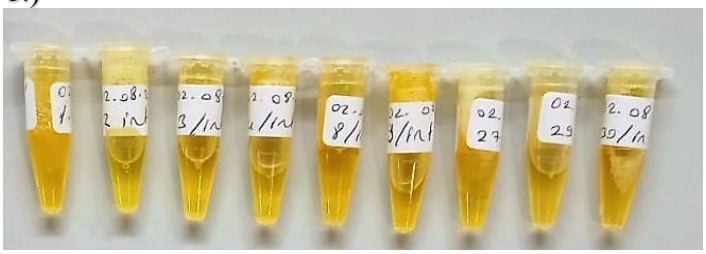
3.2.2 Kan Örneklerinin Alınması

Çalışma grubunu oluşturan atlardan aşı yapılmadan önce (0.gün), aşı yapıldıktan sonraki 14. ve 21.günlerde olmak üzere 3 defa kan alındı. Kontrol grubundaki atlara aşı vb. uygulama yapılmadı ve 0.gün 1 defa kan alındı. Atlardan aşılamadan önce ve aşı uygulamasından sonra belirlenen dönemlerde oksidatif stres parametreleri analizleri için tekniğine uygun olarak V.jugularislerin'den 9 ml'lik serum tüplerine alınan kanlar 3000 devirde 10 dk santrifüj (HETTICH Micro 200-R) edilerek serum elde edilmiştir. Serum örnekleri analiz tarihine kadar -20^{o}C' de saklanmıştır.

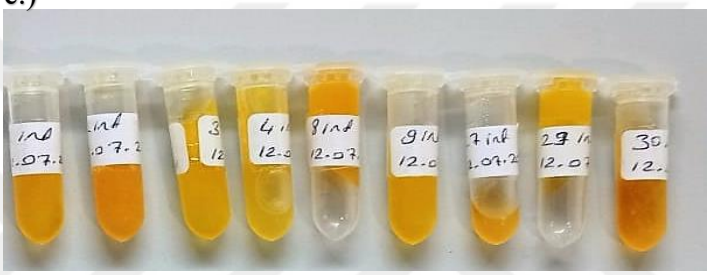
a.)



b.)



c.)



Şekil 3.1. Aşı grubunu oluşturan dokuz at için; a.) 0. günde, b.) 14. günde, c.) 21. günde alınan kanlardan santrifüj sonrası serum örnekleri

3.2.3 Tiyol/Disülfit Dengesinin Belirlenmesi

Serum tiyol/disülfid homeostasizi, Erel ve Neşelioğlunun 2014 yılında yeni geliştirdiği (Erel ve Neselioglu, 2014) otomatik ve spektrofotometrik bir yöntem ile ticari satın alınan kit (Rel Assay Diagnostics, Türkiye) kullanarak ölçülmüştür. Deneyin ilk adımında, sadece dinamik ve indirgenebilir olan disülfür bağlar serbest fonksiyonel tiyol gruplarına tamamen indirgenecektir. Statik ve yapısal disülfit bağları indirgenmeyecektir. İkinci adımda, kalan, kullanılmayan indirgeyici $NaBH_4$ (Sodyum borohirid) tamamen tüketilecektir. Son adımda ise, tüm tiyol grupları (native tiyol ve indirgenmiş olan tiyol grupları dahil) Ellmann reaktifi kullanarak DTNB [5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asid)] ile reaksiyona sokulacaktır. Disülfür bağlarının sayısı, toplam ve nativ tiyol seviyeleri arasındaki farkın yarısı kadar hesaplanır. Nativ tiyol [-SH], disülfid [-S-S-], total tiyol [(-SH)+(-S-S-)] (µmol/L) düzeylerinin

saptanmasından sonra disülfid/ nativ tiyol, disülfid/total tiyol yüzde oranları hesaplanmıştır.

3.2.4 Toplam Antioksidan Durumu (TAS) Tayini (mmol/L)

TAS (mmol/L) seviyeleri ticari satın alınan kit (Relassay, Türkiye) kullanılarak kolorimetrik olarak ölçülmüştür. Yeni otomatikleştirilmiş yöntem, antioksidanlar tarafından daha kararlı bir ABTS (2,2 ′ - Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)) radikal katyonunun karakteristik renginin ağartılmasına dayanmaktadır. Tahlil, %3'ten daha düşük olan mükemmel kesinlik değerlerine sahiptir. Sonuçlar mmol Trolox eşdeğeri/L olarak ifade edilmiştir (Erel, 2004).

3.2.5 Toplam Oksidan Durumu (TOS) Tayini (µmol/L)

TOS (µmol/L) seviyeleri ticari olarak temin edilen kit (Relassay, Türkiye) kullanılarak kolorimetrik olarak ölçülmüştür. Kullanılan yöntemde, numunede bulunan oksidanlar, demir iyon-o-dianisidin kompleksini demir iyonuna oksitler. Oksidasyon reaksiyonu, reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan gliserol molekülleri tarafından arttırılır. Ferrik iyon, asidik bir ortamda ksilenol turuncu ile renkli bir kompleks üretir. Spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğu, numunede bulunan toplam oksidan molekülü miktarı ile ilgilidir. Test, hidrojen peroksit ile kalibre edilir ve sonuçlar litre başına mikromolar hidrojen peroksit eşdeğeri (µmol H_2O_2 eşdeğeri/L) cinsinden ifade edilir (Erel, 2005).

3.2.6 Oksidatif Stres Endeksi (OSI)

TOS'un TAS'a oranı oksidatif stres indeksi (OSI) olarak kabul edilir. Hesaplama için elde edilen TAS birimi µmol/L'ye dönüştürülmüş ve OSI değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Kosecik vd., 2005; Yumru vd., 2009):

OSI (keyfi birim) = TOS (µmol H_2O_2 eşdeğeri/L) / TAS (µmol Trolox eşdeğeri/L).

3.2.7 İstatistiki Analizler

Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesinde tekrarlayan parametrelerde gruplar arası farkın önemlilik kontrolü Mann Whitney U (McKnight vd Najab, 2010) testi ile test edilmiştir. Grup içerisinde ölçüm günlerine göre olan farklılıkların

önemlilik kontrolü ise Wilcoxon test (Cuzick, 1985) ile karşılaştırılmıştır. P<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4.BULGULAR

4.1 Klinik Bulgular

Klinik muayene sonucunda sağlıklı oldukları belirlenen 5 – 10 yaş aralığındaki 18 at, 9 u kontrol ve 9 u aşı olmak üzere iki gruba ayrıldı. Aşı olarak ayrılan gruptaki atlara 0.gün tek doz İnfluenza ve Tetanoz ile kombine aşısı kas içi olarak yapıldı. Aşı uygulanan atların klinik muayenelerde enjeksiyon bölgesinde lokal inflamasyon belirtileri (ağrı, sıcaklık artışı, kızarıklık, şişlik) gelişmediği saptandı.

4.2 Laboratuvar Bulguları

İnfluenza ve Tetanoz ile kombine aşı uygulama öncesinde, yani 0. günde aşı yapıldı. 0. 14. ve 21.günlerde kan örnekleri alınmıştır. Alınan kan örnekleri, santrifüj sonrasında serumları elde edilip bazı serum oksidatif stres parametrelerindeki değişim biyokimyasal metotlar ile test edilmiştir. Çizelge 4.1. kontrol ve aşı grubundaki atlar için Native tiyol, Total tiyol, Disülfit, Disülfit/Native tiyol, Native tiyol/Total tiyol, TAS, TOS ve OSI değerlerini göstermektedir.

Çizelge 4.1. Ölçülen serum oksidatif stres parametrelerinin ortalama değerleri ve standart sapmaları.

Bazı serum oksidatif stres parametreleri	Aşı grubu (Ort ± Ss) n=9			Kontrol grubu (Ort ± Ss) n=9
	0. ölçüm	1. ölçüm	2. ölçüm	
Native tiyol	226,67 ± 13,72 a	226,0 ± 20,95	187,56 ± 14,44 b	198,56 ± 13,34
Total tiyol	341,89 ± 13,49 a	355,56 ± 37,73	268,78 ± 11,66 b	275,0 ± 15,36 c
Disülfit	57,61 ± 6,97	64,78 ± 12,54	40,61 ± 7,30	38,22 ± 8,58
Disülfit/ Native tiyol	14,96 ± 2,68	30,83 ± 6,60	24,57 ± 5,30	13,39 ± 2,56
Native tiyol/ Total tiyol	66,51 ± 3,81	65,10 ± 5,14	70,09 ± 5,37	73,22 ± 5,11
TAS	1,48 ± 0,04	1,50 ± 0,06	1,50 ± 0,04	1,38 ± 0,029
TOS	7,33 ± 0,82 a	9,92 ± 1,79 b	4,67 ± 0,50 c	5,39 ± 0,92
OSI	0,50 ± 0,06 a	0,64 ± 0,09 b	0,31 ± 0,04 c	0,40 ± 0,07

a, b, c; Aynı satırdaki farklı harfler gruplar arası istatistiki önemi belirtmektedir ($p<0,05$),
0. Ölçüm: İlk aşılama yapılmadan önce, 0. günde alınan kan örnekleri.
1. Ölçüm: 14. günde ikinci doz aşılamadan önce alınan kan örnekler.
2. Ölçüm: 21. günde alınan kan örnekleri
Ort: ortalama,
SS: standart sapma.

Native tiyol seviyeleri → 0. Ölçüm ile 2. Ölçüm arasında, p = 0,011

Total tiyol seviyeleri → 0. Ölçüm ile 2. Ölçüm arasında, p=0,008

Total tiyol seviyeleri → Kontrol grubu ile 0. Ölçüm arasında, p=0,011

TOS seviyeleri→ 2. Ölçüm ile 0. Ölçüm arasında, p=0,021

TOS seviyeleri→ 2. Ölçüm ile 1. Ölçüm arasında, p=0,011

OSI→ 2. Ölçüm ile 0. Ölçüm arasında, p=0,051

OSI→ 2. Ölçüm ile 1. Ölçüm arasında, p=0,011

Çizelge 4.1. de gösterilen ölçümlere göre aşı gurubunda Native tiyol seviyeleri için 0. Ölçüm ile 2. ölçüm arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir (p = 0,011). Total tiyol ölçümlerinde 2. Ölçüm ile 0. ölçüm arasındaki farklılık da Native tiyol değerlerine benzer şekilde istatistiksel olarak anlamlı azalmıştır (p=0,008). TOS değeri, 1. ve 2. ölçüm arasında azalmış (istatistiksel olarak anlamlı, p = 0,001); 2. Ölçüm ve 0. Ölçüm arasında da istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır (p=0,021). TAS, TOS değeri oranı ile hesaplanan OSI değerleri ise aşı grubu içinde 0. ve 2. ölçüm arasında (p= 0,051); 2. ve 1. ölçüm arasında (p=0,011) istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır. Kontrol grubu ile aşı grubu arasında yalnızca total tiyol seviyelerinde anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir (p=0,011). Test edilen diğer serum oksidatif stres parametrelerinde kontrol-aşı grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

5.TARTIŞMA

İnfluenza enfeksiyonu ve Tetanoz toksinlerinin neden olduğu enfeksiyon durumu, atlarda yarışa bağlı stres koşullarında ortaya çıkabilen, ekonomik kayıplara neden olan ve atlarda ciddi performans düşüklüklerine neden olan hastalıklardır. İnfluenza ve Tetanoz özellikle yarış atlarında ve ülkemizde cirit sporundaki atlarda ciddi performans düşüklüklerini neden olmaktadır. Aynı zamanda bu durum önemli ekonomik kayıplara yol açabilmektedir. Bu enfeksiyonlarla mücadelede hastalık sonrasında tedavi yerine hastalık öncesinde biyogüvenliğin sağlanması önceliklidir. Atların beslenme-bakım koşullarının iyileştirilmesi, enfeksiyona ait semptomların tespit edildiği atların sürüden ayrılması ve yayılımın engellenmesi, koruma amaçlı aşılamaların yapılması hastalıkların yayılmasını engelleyen önemli tedbirlerdir.

Sunulan çalışmada, anti serum üretimi yapılan çiftlikten rutin kontrol amaçlı getirilen at kan serumlarının arta kalanları kullanılmıştır. Bu örneklerin alındığı atların hastalıklardan ari olup; atların düzenli olarak aşılandığı sorumlu veteriner hekimden öğrenilmiştir. Aşı üretiminde sıfır risk durumunun ve biyogüvenliğin sağlanabilmesi için rutin aşılama ve kontrollerin yapılması oldukça önemlidir. Bu nedenle sunulan çalışmada kullanılan örneklerle tespit edilen oksidatif stres parametreleri herhangi bir hastalığa bağlı değil; tamamen yapılan çalışmanın sonuçlarını yansıtmaktadır.

Nakliye, sütten kesim, beslenme yetersizlikleri, hayvan başına düşen alan gibi çevresel faktörler ve hastalıklar çiftlik hayvanlarında strese sebep olmaktadır. Özellikle yarış atlarında, yüksek performans oksidatif strese neden olmakta ve oksidatif stres de atların performansını etkilemektedir. Ayrıca, vücudunda enflamasyon olan atlarda, oksidatif stresin çok daha kolay arttığı bilinmektedir. Egzersiz süresince yüksek miktarlarda serbest radikal üretilmektedir (Soffler, 2007). Bunların yanında, aşılama süreci atlar ve diğer çiftlik hayvanlarında da strese neden olmakta ve bu da oksidatif stresin artmasına yol açmaktadır. Bu nedenle aşılama esnasında ve sonrasında atların çeşitli stres faktörlerine maruz kalması yetersiz bağışıklığın başlıca nedenlerindendir (Aydın, 1990).

Oksidan/antioksidan dengesinin, serbest radikaller lehine bozulması ve antioksidanları yetersiz kalması durumu oksidatif stres olarak tanımlanır. Oksidatif stres hücresel yapı ve moleküllerde serbest radikallerin birikmesine ve moleküler yapıların bozulmasına,

bazı fizyolojik olayların aksamasına neden olur (Tabakoğlu & Durgut, 2013). Dolayısıyla oksidatif stres birçok hastalığın sebepleri ile ilişkilendirilir ve hastalıkların patogenezinde rol alır (Valko vd., 2007). Oksidatif stresin farklı hastalık süreçlerinde takip ediliyor olması, bu ölçümleri hastalıkların prognozunun anlaşılması için oldukça önemli kılmaktadır (Tabakoğlu & Durgut, 2013). Sadece hastalıklar değil, çeşitli stres faktörlerinin olduğu durumlarda da serbest radikaller ve antioksidan düzeyleri takip edilir. Bu çalışmada, influenza ve tetanoz aşısı öncesi ve sonrasındaki oksidatif stres parametrelerinin ölçümleri yapılmıştır. Bu çalışmanın alanında öncül çalışmalarda olduğu ve aşılamaya bağlı oksidatif stres ilişkisine ait bu araştırmanın sonuçları literatüre katkı sağlamaktadır. Çiftlik hayvanlarında enfeksiyon hastalıkların oksidatif stresle ilişkili olduğu bilinmektedir. Oksidatif stresin özelliklerini ve hastalık süreçlerindeki rolünü, oksidatif stres mekanizmalarını anlamak hastalık süreçlerinin anlaşılması için önemli bilgiler sağlar. Çiftlik hayvanlarında enfeksiyon hastalıklarına karşı yapılan aşılamaların da oksidatif strese neden olabileceği düşünülmektedir (Altınçek & Koyuncu, 2012). Oksidatif stresin aşılamalardan sonraki değişiminin takip edilmesi, antioksidan takviyelerinin kullanımı hakkında bilgi sağlayacaktır.

Bu çalışmada, influenza ve tetanoz kombine aşısı ile aşılanmış atlarda bazı serum oksidatif stres parametrelerindeki (Tiyol/disülfit dengesi ve Total oksidan / anti oksidan durumu) değişiklikler izlenmiş ve sonuçları istatistiksel analizler ile karşılaştırılmıştır. Aşı grubunda farklı zamanlarda alınan kan örneklerinde oksidatif stres parametrelerindeki değişimler belirlenmiştir. Total tiyol ve native tiyol seviyeleri; 0. ölçümde ve 1. ölçümde daha yüksek olup 2. ölçümde azalmıştır. Çalışmamızda TAS oranında önemli derecede bir değişim gözlenememiştir. Bunun aksine, 1. ölçümde TOS ve OSI değeri artmış ve devamında yine azalmıştır. Dolayısıyla ilk aşılamadan 14 gün sonra alınan kan örneklerinde oksidatif stresin maksimum seviyede olduğu, 2. aşılamada ise azaldığı şeklinde yorumlanabilir.

Sunulan çalışmada, elde edilen sonuçlarda kontrol grubu ile 0. ölçüm (ilk aşılama öncesinde aşı grubundan alınan kan örnekleri) arasında herhangi bir farkın olmaması, çalışmaya dahil edilen 18 atın sağlık durumunun benzer olduğunun bir göstergesi olarak yorumlandı.

Tiyoller, hidrojen atomu ve bir karbon atomuna bağlı kükürt atomundan oluşan sülfidril grubunda yer alan esansiyel ve güçlü antioksidan moleküllerdir. Vücudun

oksidatif stresin zararlı etkilerinden korunmasında önemli rol oynarlar (Eren vd., 2015). Tiyol grupları, disülfit bağları ile oksitlenir ve ROS'lar tarafından tersine çevrilebilir şekilde oksitlenir. Bu mekanizma antioksidan etkilerine aracılık eder (Turell vd., 2013). Oluşturulan disülfit bağları yine tiyol gruplarına indirgenebilir. Dinamik tiyol-disülfit homeostazı, antioksidan savunma, detoksifikasyon, apoptoz, enzimatik aktivitenin düzenlenmesi ve hücresel sinyal iletiminde önemli rol oynar (Solakhan et al., 2019). Tiyol-disülfid dengesi geliştirilen deneysel metodlar ile ölçülebilir hale geldikten sonra, oksidatif stres göstergesi olarak tercih edilmiş ve çok çeşitli hastalıklarda ölçülmüştür (Circu & Aw, 2010).

Sunulan çalışmada, tiyol seviyesinin azalması oksidatif stresin arttığının bir göstergesidir. Hem native tiyol hem de total tiyol değerleri 2. ölçümde diğer ilk iki ölçüme göre oldukça azalmıştır. Disülfit ve disülfit/native tiyol oranı 0. ölçümden sonra 1. ölçümde artmış ve devamında, 2. ölçümde azalmıştır. Aynı şekilde kontrol grubu ile yapılan kıyaslamada da 14. günde disülfit miktarının arttığı görülmüştür. Bu durum, ilk aşılama yapıldıktan sonra, 14 günlük zamanda, oksidatif stres yükünün atlarda belirgin şekilde arttığının bir göstergesidir.

OSI değeri TOS'un TAS 'a oranı ile hesaplanır. Çalışmamızda OSI değeri kontrol grubuna ve 0. gündeki ölçüme kıyasla 14. günde ciddi şekilde artmış 21. günde ise normal seviyelere geri dönmüştür. Bu sonuç, çalışmada kullanılan aşılanmış atların; oksidatif strese etkili bir şekilde tepki verebildiğini ve reaktif oksijen türlerinin üretimi sırasındaki dengeyi yeniden sağlayabildiğini gösterebilir. OSI değerinin önce artması ve daha sonra yeniden kontrol grubundakine benzer şekilde azalıp dengeye ulaşması; vücudun doğal antioksidan savunma sistemlerinden ve ayrıca oksidatif stresi azaltmak için uygulanmış olabilecek herhangi bir müdahaleden (diyet değişiklikleri, gıda takviyeleri, ilaç kullanımı vb.) kaynaklanıyor olabilir. Vücutta oksidatif stres durumunu etkileyen herhangi bir enfeksiyon olması durumu OSI değerini etkileyebileceğinden; olası diğer etkenler de göz önünde bulundurulmalıdır. Fakat, sunulan çalışmada kullanılan serum örnekleri, rutin kontrolleri ve aşıları yapılan, herhangi bir hastalığı olmayan atlardan elde edilmiş ve bu bilgiler sorumlu veteriner hekimden edinilmiştir.

Yapılan literatür araştırmasında, atlarda viral veya bakteriyel aşılama sonrasında oksidatif stres parametrelerinin zamanla değişimini takip eden çalışmalara

rastlanmamıştır. Çiftci ve Çiftci (2021), Rev.1 ile aşılanmış koyunlarda oksidan-antioksidan dengesini inceledikleri çalışmada, TAS seviyeleri önemli ölçüde azalırken; TOS seviyelerinin arttığını bildirmişlerdir. Contreras ve ark., (2020) rekombinant antijenler ile aşılanan sığırlarda ki çalışmalarında aşılama sonrasında oksidatif hasarın arttığını bildirmiştir. Brusellozisli sığırlarda da yapılmış çalışmalarada oksidatif stresin anlamlı derecede arttığı gösterilmiştir, ancak bu çalışmalarda aşılama yerine tedavi uygulanmış ve sonrasında yeniden ölçümler yapılmış ve oksidatif stres parametrelerindeki değişim incelenmiştir (Karaagac vd., 2011; Merhan vd., 2017).

Sunulan çalışmada, serum oksidatif stres parametreleri; atlarda influenza ve tetanoz kombine aşısının ilk dozundan sonra oksidatif stresin yüksek seviyeye ulaştığını göstermektedir. Aşılama atlara ciddi performans düşüklüğüne sebep olan bu hastalıklardan korunma için oldukça önemli olmasının yanında oksidatif stresin artışına neden olabilir. Bu nedenle, ilk aşılamadan sonra 0 ile 14. gün arasında, yani aşının ilk yapıldığı dönemde (ilk haftada da olabilir) antioksidan takviyesi önerilebilir. İlk 14 gün içinde antioksidan takviyesi ile birlikte bu çalışmalar geliştirilebilir. Yapılan çalışma ile atlarda aşılama sonrasında oksidan/antioksidan dengesi hakkında tespit edilen değişimler literatüre önemli katkı sağlayacaktır.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan literatür taramasında; atlarda İnfluenza ve Tetanoz ile aşılama sonrasında bazı serum oksidatif stres parametrelerinin takibine dayanan bir veriye rastlanmamıştır ve bu çalışma literatüre önemli katkı sağlayacaktır. Bunun yanında, atlarda ilk aşılama sonrasında 14 günlük süreçte oksidatif stres çok yüksek düzeye ulaşıp sonrasında azalmaktadır. Antioksidan takviyeleri oksidatif stres düzeyini azaltıp, oksidan/antioksidan dengesinin yeniden sağlanmasına katkı sunabilir. Bu nedenle, ilk 14 günde aşılama ile birlikte antioksidan takviyesi önerilebilir. Antioksidan takviyeleri ile birlikte aşılama çalışmaları geliştirilebilir.

7. KAYNAKLAR

Ada, G. L., & Jones, P. D. (1986). The immüne response to influenza infection. *Current Topics in Microbiology and İmmünology*, 1–54.

Art, T., McGorum, B. C., & Lekeux, P. (n.d.). *Environmental Control of Respiratory Disease (20-Mar-2002)*.

Ataseven, V. S. (2009). *Atların influenza virüs infeksiyonu (At gribi)*.

Atmaca, E., & Aksoy, A. (2009). Oksidatif DNA hasarı ve kromatografik yöntemlerle tespit edilmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, *20*(2), 79–83.

Aydın, N. (n.d.). Veteriner Hekimlikte Aşılar ve Aşı Uygulamalarında Dikkat Edilecek Hususlar. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, *7*(1), 59–84.

Bogers, S. H. (2018). Cell-based therapies for joint disease in veterinary medicine: what we have learned and what we need to know. *Frontiers in Veterinary Science*, *5*, 70.

Certel, S. (2005). *Expression Profiles of Differentially Expressed Genes of Rat Mammary Adenocarcinoma in Various Tumor Cell Lines and Effects of Some Antioxidants*. Izmir Institute of Technology (Turkey).

Circu, M. L., & Aw, T. Y. (2010). Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. Free Radical Biology and Medicine, 48(6), 749–762.

Çiftci, G., & Çiftci, A. (2021). The assessment of the protein profiles and oxidant/antioxidat status in conjunctival Brucella melitensis Rev1 vaccinated sheep. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, *32*(2), 101–106.

Clem, A. S. (2011). Fundamentals of vaccine immünology. *Journal of Global Infectious Diseases*, *3*(1), 73.

Constable, P. D., Hinchcliff, K. W., Done, S. H., & Grünberg, W. (2016). *Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. Elsevier Health Sciences.

Contreras, M., Peres Rubio, C., de la Fuente, J., Villar, M., Merino, O., Mosqueda, J., & Cerón, J. J. (2020). Changes in serum biomarkers of oxidative stres in cattle vaccinated with tick recombinant antigens: A pilot study. *Vaccines*, *9*(1), 5.

Crossley, B., & Hill, A. (2017). Equine Influenza Virüs. *Interpretation of Equine Laboratory Diagnostics*, *151*.

Crouch, C. F., Daly, J., Hannant, D., Wilkins, J., & Francis, M. J. (2004). İmmüne

responses and protective efficacy in ponies immünised with an equine influenza ISCOM vaccine containing an ‘American lineage’H3N8 virüs. *Vaccine*, *23*(3), 418–425.

Cuzick, J. (1985). A Wilcoxon-type test for trend. *Statistics in Medicine*, *4*(1), 87–90.

Daly, J. M., Blunden, A. S., MacRae, S., Miller, J., Bowman, S. J., Kolodziejek, J., Nowotny, N., & Smith, K. C. (2008). Transmission of equine influenza virüs to English foxhounds. *Emerging Infectious Diseases*, *14*(3), 461.

Demir, A. (2011). *Siyah ve yeşil çay ile atıklarının antioksidan özelliklerinin karşılaştırılması*. Rize Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü/Kimya Anabilim Dalı.

Derviş, E. (2011). Oral antioksidanlar. *Dermatoz*, *2*(1), 263–267.

Dodet, B., & Vicari, M. (2001). Equine influenza: epidemiology, surveillance. *Emergence and Control of Zoonotic Ortho-and Paramyxovirüs Diseases*, 107.

Erel, O., & Neselioglu, S. (2014). A novel and automated assay for tiyol/disulphide homeostasis. *Clinical Biochemistry*, *47*(18), 326–332.

Eren, Y., Dirik, E., Necseliouglu, S., & Erel, Ö. (2015). Oxidative stres and decreased tiyol level in patients with migraine: cross-sectional study. *Acta Neurologica Belgica*, *115*(4), 643–649.

Hannant, D. (1991). İmmüne responses to common respiratory pathogens: problems and perspectives in equine immünology. *Equine Veterinary Journal*, *23*(Suppl 12), 10.

Hannant, D., Mumford, J. A., & Jessett, D. M. (1988). Duration of circulating antibody and immünity following infection with equine influenza virüs. *The Veterinary Record*, *122*(6), 125–128.

Huggins, S. S., Suchodolski, J. S., Bearden, R. N., Steiner, J. M., & Saunders, W. B. (2015). Serum concentrations of canine interleukin-1 receptor antagonist protein in healthy dogs after incubation using an autologous serum processing system. *Research in Veterinary Science*, *101*, 28–33.

Karaagac, L., Koruk, S. T., Koruk, I., & Aksoy, N. (2011). Decreasing oxidative stres in response to treatment in patients with brucellosis: could it be used to monitor treatment? *International Journal of Infectious Diseases*, *15*(5), e346-e349.

Kim, D.-B., Shin, G.-H., Lee, Y.-J., Lee, J. S., Cho, J.-H., Baik, S.-O., & Lee, O.-H. (2014). Assessment and comparison of the antioxidant activities and nitrite scavenging activity of commonly consumed beverages in Korea. *Food*

Chemistry, *151*, 58–64.

Kosecik, M., Erel, O., Sevinc, E., & Selek, S. (2005). Increased oxidative stres in children exposed to passive smoking. *International Journal of Cardiology*, *100*(1), 61–64.

Lykkesfeldt, J., Svendsen, O. (2007). Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. The Veterinary Journal, 173(3), 502–511.

McKnight, P. E., & Najab, J. (2010). Mann-Whitney U Test. *The Corsini Encyclopedia of Psychology*, 1.

Mercan, U. (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, *15*(1), 91–96.

MERHAN, O., Bozukluhan, K., Mushap, K., BÜYÜK, F., ÖZDEN, Ö., & KÜKÜRT, A. (2017). Investigation of oxidative stres index and lipid profile in cattle with Brucellosis. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, *23*(6).

Milesi, M.-A., Lacan, D., Brosse, H., Desor, D., & Notin, C. (2009). Effect of an oral supplementation with a proprietary melon juice concentrate (Extramel®) on stres and fatigue in healthy people: a pilot, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Nutrition Journal*, *8*(1), 1–7.

Morley, P. S., Bogdan, J. R., Townsend, H. G. G., & Haines, D. M. (1995). Evaluation of Directigen Flu A assay for detection of influenza antigen in nasal secretions of horses. *Equine Veterinary Journal*, *27*(2), 131–134.

Myers, C., & Wilson, W. D. (2006). Equine influenza virüs. *Clinical Techniques in Equine Practice*, *5*(3), 187–196.

Nelson, S. K., Bose, S. K., Grunwald, G. K., Myhill, P., & McCord, J. M. (2006). The induction of human superoxide dismutase and catalase in vivo: a fundamentally new approach to antioxidant therapy. *Free Radical Biology and Medicine*, *40*(2), 341–347.

Newton, J. R., Verheyen, K., Wood, J. L. N., Yates, P. J., & Mumford, J. A. (1999). Equine influenza in the United Kingdom in 1998. *Veterinary Record*, *145*(16), 449–452.

OK, M., Ertürk A. (2019) *Ruminantlarda Tetanoz (Kazıklı Humma)*. Türkiye Klinikleri, 10-4.

Ozaki, H., Sugiura, T., Sugita, S., Imagawa, H., & Kida, H. (2001). Detection of antibodies to the nonstructural protein (NS1) of influenza A virüs allows distinction between vaccinated and infected horses. *Veterinary Microbiology*,

82(2), 111–119.

ÖZELLIKLER, V. I. A. I. (2007). Avian Influenza: Epidemiyoloji, Patogenez, Klinik Özellikler ve Tedavi. *Flora*, *12*(1), 26–45.

Paillot, R., Hannant, D., Kydd, J. H., & Daly, J. M. (2006). Vaccination against equine influenza: quid novi? *Vaccine*, *24*(19), 4047–4061.

Pilliner, S., Davisi, Z. (2004) Equine Science (2nd ed), Blackwell Publishing Ltd, 336.

Pusterla, N., & Higgins, J. (2017). *Interpretation of equine laboratory diagnostics*. John Wiley \& Sons.

Quinlivan, M., Cullinane, A., Nelly, M., Van Maanen, K., Heldens, J., & Arkins, S. (2004). Comparison of sensitivities of virüs isolation, antigen detection, and nucleic acid amplification for detection of equine influenza virüs. *Journal of Clinical Microbiology*, *42*(2), 759–763.

Quinlivan, M., Zamarin, D., García-Sastre, A., Cullinane, A., Chambers, T., & Palese, P. (2005). Attenuation of equine influenza virüses through truncations of the NS1 protein. *Journal of Virology*, *79*(13), 8431–8439.

Rafee, M. A., & Hussain, M. S. (2020). Tetanus among cart horses working in brick kilns in Kashmir: A review of 4 cases. *SKUAST Journal of Research*, *22*(1), 94–95.

Ribeiro, M. G., Nardi Júnior, G. de, Megid, J., Franco, M. M. J., Guerra, S. T., Portilho, F. V. R., Rodrigues, S. A., & Paes, A. C. (2018). Tetanus in horses: an overview of 70 cases. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, *38*, 285–293.

Sack, A., Cullinane, A., Daramragchaa, U., Chuluunbaatar, M., Gonchigoo, B., & Gray, G. C. (2019). Equine Influenza virüs-a neglected, reemergent disease threat. *Emerging Infectious Diseases*, *25*(6), 1185.

Savoy, M. (2020). *İmmünizations, An Issue of Primary Care: Clinics in Office Practice, E-Book* (Vol. 47, Issue 3). Elsevier Health Sciences.

Soffler, C. (2007). Oxidative stres. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, *23*(1), 135–157.

Solakhan, M., Çiçek, H., Orhan, N., & Yildirim, M. (2019). Role of native Tiyol, total Tiyol and dynamic Disulphide in diagnosis of patient with prostate cancer and prostatitis. *International Braz j Urol*, *45*, 495–502.

Sovinova O, Tumova B, Pouska F, N. J. (1958). Isolation of a virüs causing respiratory disease in horses. *Acta Virol*, *2*, 52–61.

Tabakoğlulu, E., & Durgut, R. (2013). Veteriner hekimlikte oksidatif stres ve bazı

önemli hastalıklarda oksidatif stresin etkileri. Avkae Derg, 3(1), 69–75.

Timurkan, M. O., & AYDIN, H. (2019). Cirit Atlarında Influenza A Virüs Enfeksiyonunun Serolojik ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, *14*(1), 71–77.

Turell, L., Radi, R., & Alvarez, B. (2013). The tiyol pool in human plasma: the central contribution of albumin to redox processes. *Free Radical Biology and Medicine*, *65*, 244–253.

Valavanidis, A., Vlachogianni, T., & Fiotakis, C. (2009). 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine (8-OHdG): a critical biomarker of oxidative stres and carcinogenesis. *Journal of Environmental Science and Health Part C*, *27*(2), 120–139.

Valko, M., Rhodes, C. J. B., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stres-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, *160*(1), 1–40.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The International Journal of Biochemistry \& Cell Biology, 39(1), 44–84.

Van Oirschot, J. T., Bruin, G., de Boer-Luytze, E., & Smolders, G. (1991). Maternal antibodies against equine influenza virüs in foals and their interference with vaccination. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, *38*(1–10), 391–396.

Veliouglu, S. (2000). Doğal antioksidanların insan sağlığına etkileri. *G{\i}da*, *25*(3).

Vural, N. (2005). Toksikoloji. *Ankara Üniversitesi Eczacılıkk Fakültesi Yayınları*, *73*(381), 504–520.

Webster, R. G., Bean, W. J., Gorman, O. T., Chambers, T. M., & Kawaoka, Y. (1992). Evolution and ecology of influenza A virüses. *Microbiological Reviews*, *56*(1), 152–179.

Wilson, W. D., Mihalyi, J. E., Hussey, S., & Lunn, D. P. (2001). Passive transfer of maternal immünoglobulin isotype antibodies against tetanus and influenza and their effect on the response of foals to vaccination. *Equine Veterinary Journal*, *33*(7), 644–650.

Yamanaka, T., Tsujimura, K., Kondo, T., Hobo, S., & Matsumura, T. (2006). Efficacy of oseltamivir phosphate to horses inoculated with equine influenza A virüs. *Journal of Veterinary Medical Science*, *68*(9), 923–928.

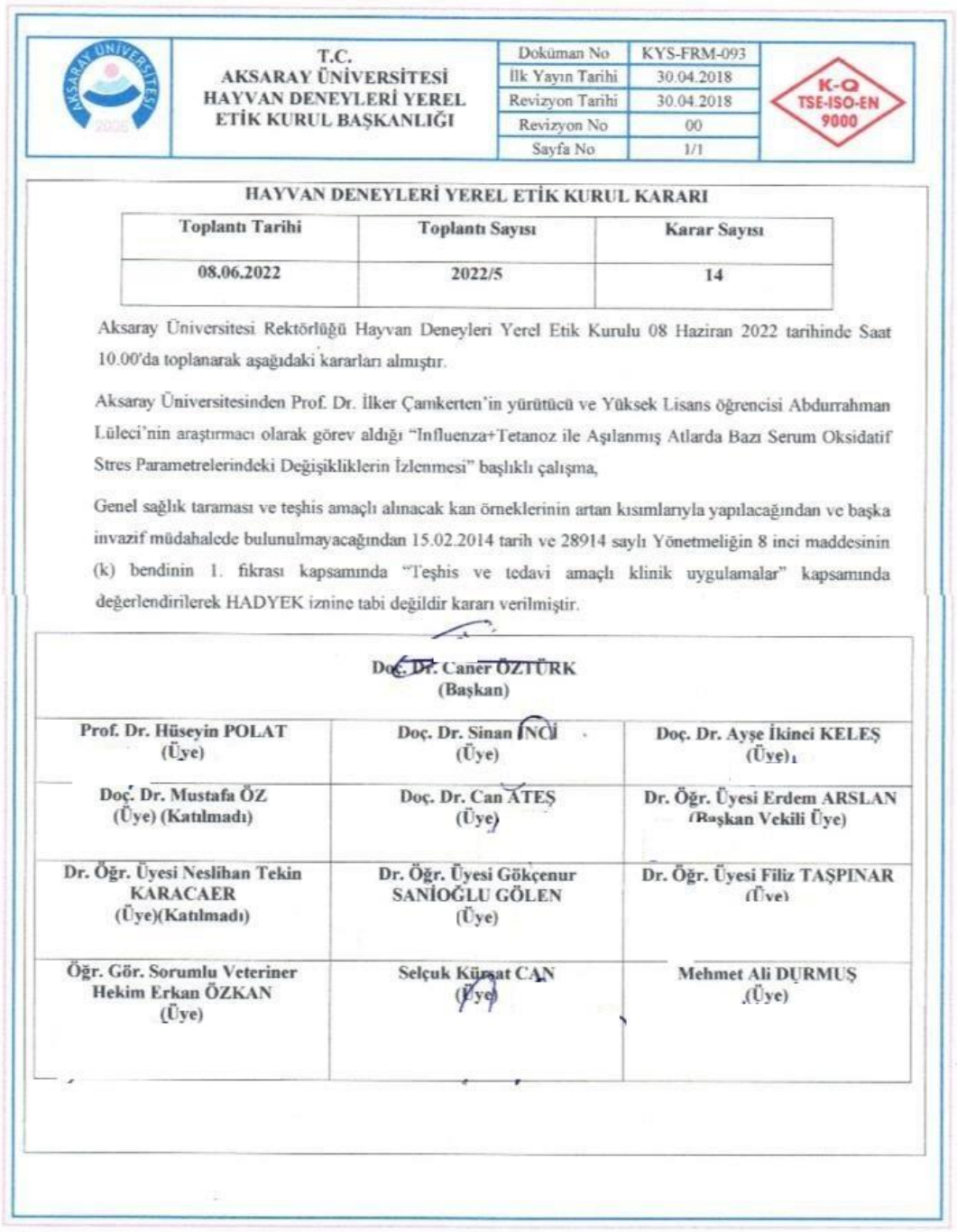
Yıldırım, U. (2004). Yeni belediye yasaları çerçevesinde alternativ hizmet sunma yöntemleri. *Çağdaş Yerel Yönetimler*, *13*(4), 19–37.

Yondon, M., Heil, G. L., Burks, J. P., Zayat, B., Waltzek, T. B., Jamiyan, B.-O., McKenzie, P. P., Krueger, W. S., Friary, J. A., & Gray, G. C. (2013). Isolation and characterization of H 3 N 8 equine influenza A virüs associated with the 2011 epizootic in M ongolia. *Influenza and Other Respiratory Virüses*, *7*(5), 659–665.

Yumru, M., Savas, H. A., Kalenderoglu, A., Bulut, M., Celik, H., & Erel, O. (2009). Oxidative imbalance in bipolar disorder subtypes: a comparative study. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *33*(6), 1070–1074.

EK'LER

EK-1 Etik Kurul Onayı



T.C. AKSARAY ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI	Doküman No	KYS-FRM-093	K-Q TSE-ISO-EN 9000
	İlk Yayın Tarihi	30.04.2018	
	Revizyon Tarihi	30.04.2018	
	Revizyon No	00	
	Sayfa No	1/1	

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar Sayısı
08.06.2022	2022/5	14

Aksaray Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 08 Haziran 2022 tarihinde Saat 10.00'da toplanarak aşağıdaki kararları almıştır.

Aksaray Üniversitesinden Prof. Dr. İlker Çamkerten'in yürütücü ve Yüksek Lisans öğrencisi Abdurrahman Lüleci'nin araştırmacı olarak görev aldığı "Influenza+Tetanoz ile Aşılanmış Atlarda Bazı Serum Oksidatif Stres Parametrelerindeki Değişikliklerin İzlenmesi" başlıklı çalışma,

Genel sağlık taraması ve teşhis amaçlı alınacak kan örneklerinin artan kısımlarıyla yapılacağından ve başka invazif müdahalede bulunulmayacağından 15.02.2014 tarih ve 28914 saylı Yönetmeliğin 8 inci maddesinin (k) bendinin 1. fikrası kapsamında "Teşhis ve tedavi amaçlı klinik uygulamalar" kapsamında değerlendirilerek HADYEK iznine tabi değildir kararı verilmiştir.

Doç. Dr. Caner ÖZTÜRK (Başkan)		
Prof. Dr. Hüseyin POLAT (Üye)	Doç. Dr. Sinan İNCİ (Üye)	Doç. Dr. Ayşe İkinci KELEŞ (Üye)
Doç. Dr. Mustafa ÖZ (Üye) (Katılmadı)	Doç. Dr. Can ATEŞ (Üye)	Dr. Öğr. Üyesi Erdem ARSLAN (Başkan Vekili Üye)
Dr. Öğr. Üyesi Neslihan Tekin KARACAER (Üye)(Katılmadı)	Dr. Öğr. Üyesi Gökçenur SANİOĞLU GÖLEN (Üye)	Dr. Öğr. Üyesi Filiz TAŞPINAR (Üye)
Öğr. Gör. Sorumlu Veteriner Hekim Erkan ÖZKAN (Üye)	Selçuk Kürşat CAN (Üye)	Mehmet Ali DURMUŞ (Üye)

EK-2

ÖZGEÇMİŞ

Abdurrahman LÜLECİ, 1994 yılında Konya' da doğmuştur. İlköğretim ve liseyi Konya' da tamamlamıştır. 2014 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesine başlamış, 2015 yılında Aksaray Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ne geçiş yapmıştır. 2019 yılında Aksaray Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden mezun olmuştur. Aynı yıl Aksaray Üniversitesi, Sağlık Bilimler Enstitüsü, İç Hastalıkları Anabilim Dalı' nda yüksek lisans programına başlamıştır. 2020 yılında REVA Tarım ve Kimya Sanayi Ticaret LTD. Şirketinde 1 yıl çalışmış; ardından PRODEM Veteriner Ürünleri ve İlaç Sanayi LTD. Şirketi ile meslek hayatına devam etmektedir. Evli ve bir çocuk sahibidir.