

**FARELERDE DENEYSEL AMİLOİDOZİS' İN İMMUN
SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Öğr. Grv. Aykut ULUCAN

VETERİNER PATOLOJİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Alper SEVİMLİ

Tez No: 2014 - 003

2014 – Afyonkarahisar

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARELERDE DENEYSEL AMİLOİDOZİS' İN
İMMUN SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ

Öğr. Gör. Aykut ULUCAN

VETERİNER PATOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Alper SEVİMLİ

Bu Tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Komisyonu
tarafından 10-VF-22 proje numarası ile desteklenmiştir.

Tez No: 2014 - 003

2014 – Afyonkarahisar

KABUL ve ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Veteriner Patoloji Anabilim Dalı Doktora Programı

çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

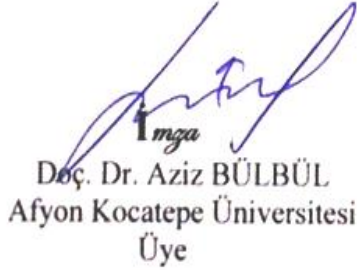
Tez Savunma Tarihi: 07/02/2014



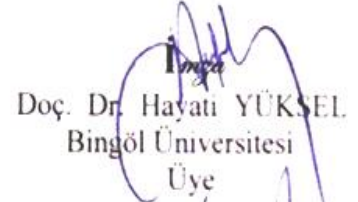
Prof. Dr. Erkan KARADAŞ
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Jüri Başkanı



Doç. Dr. Alper SEVİMLİ
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Raportör



Doç. Dr. Aziz BÜLBÜL
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Üye



Doç. Dr. Hayati YÜKSEL
Bingöl Üniversitesi
Üye



Doç. Dr. Hikmet KELEŞ
Afyon Kocatepe Üniversitesi
Üye

Veteriner Patoloji Anabilim Dalı Doktora Programı öğrencisi Aykut ULUCAN' ın "Farelerde Deneysel Amiloidozis' in İmmun Sistem Üzerine Etkilerinin İncelenmesi" başlıklı tezi 17.02.2014 günü saat 16:00' da Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği' nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Kağan ÜÇÖK
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Amiloid A proteininin çeşitli organlarda birikmesine bağlı olarak şekillenen AA (Sistemik, Reaktif) Amiloidozis üzerine yapılan çok sayıda araştırmaya rağmen, özellikle patojenezine ilişkin pek çok soru işaretini ihtiva etmektedir. Amiloidozis olgularına insanlarda, kanatlılarda ve bir çok memeli hayvanda rastlanılmaktadır. Prekürsör proteinleri ve yangısal hücrelerle olan ilişkilerinin araştırılmasında çok önemli bulgular ve ilerlemeler kaydedilmesinin yanı sıra, deneysel olarak modellenmesi ile çalışmadaki zorluklar ve patojenezin gelişiminde bir örnekliğin her zaman sağlanamaması araştırmalardaki olumsuz faktörler olarak karşımıza çıkmaktadır. Sekonder amiloidoziste tedavinin birincil hedefi altta yatan nedeni tedavi etmektir. Subklinik seyredildiği gibi farklı klinik bulgularla da seyredilmektedir ve fonksiyon bozukluğu birikimin yerine, miktarına ve hızına bağlı olabilmektedir. Hakkında bu kadar çok bilgi olmasına rağmen hali hazırda herhangi bir tipi için özel bir tedavi şekli bulunmamaktadır ve bu nedenle amaç organ tutulumlarının engellenmesi veya yavaşlatılması olmaktadır. İşte tüm bu bulgular amiloidozis üzerine yapılması gerekli araştırmaların yoğunlaşması gerekliliğini de beraberinde getirmektedir. Ancak örneğin ilaç şirketlerinin geçtiğimiz yıllarda Alzheimer hastalığının tedavisi için gerekli finansal yapının rantabl olmadığı gerekçesiyle tedaviye yönelik AR-GE çalışmalarını durdurma kararı almaları da biz akademisyenlere düşen görevin ehemmiyetini ortaya koymaktadır.

Doktora tezimin bu günlere gelmesinde maddi ve manevi çok değerli katkılarını esirgemeyen Sayın Danışman Hocam, Doç. Dr. Alper SEVİMLİ başta olmak üzere, Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri, Prof. Dr. Erkan KARADAŞ, Doç. Dr. Hikmet KELEŞ, Yrd. Doç. Dr. M. Fatih BOZKURT' a, Bingöl Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Öğretim Üyesi Doç. Dr. Hayati YÜKSEL' e, tez izleme komitesi üyesi olarak destek olan Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Esra ŞEKER' e, tezime ait kan analizlerinin yapılmasında büyük katkı sahibi olan Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi, Doç. Dr. Aziz BÜLBÜL ve Araş. Gör. Elmas ULUTAŞ' a, istatistiksel analizlerin yapılmasında destek olan Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. İsmet DOĞAN' a, nekropsiler esnasındaki yardımlarından dolayı, Araş. Gör. Ceren DİNLER' e, kıymetli yardım ve desteklerini sürekli yanımda bulduğum Bingöl Üniversitesi' ndeki mesai arkadaşlarıma, çok değerli dostum Yusuf ÇOBAN' a ve tez projemi maddi olarak destekleyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Merkezi birimi ile burada ismini saymadığım doğrudan veya dolaylı olarak tez çalışmamda emeği geçen herkese en içten şükranlarımı sunarım. Ayrıca her zaman hayatımda ki en büyük destekçim olan ve bu günlere gelinceye kadar hep yanımda duran Sevgili Babam ile aileme teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Kabul ve Onay	ii
Önsöz	iii
İçindekiler	iv
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	vi
Şekiller Dizini	vii
Tablolar Dizini	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Tanım ve Tarihçe	4
2.2. Amiloidin Genel Yapısı	5
2.3. Amiloid ve Amiloidin Sınıflandırılması	6
2.4. Etiyoloji	9
2.5. Farelerde Deneysel Sistemik Amiloidozis Oluşturulma Yolları	10
2.5.1. AA Amiloidozis İndükleme Protokolleri	10
2.6. AA Amiloidozisin Patojenezi	12
2.6.1. Prekürsör Protein ve Akut Faz Cevabı	12
2.6.2. SAA' nın Fonksiyonları	13
2.6.3. Amiloidin İçerisinde Bulunan Diğer Komponentler	14
2.6.4. Proteolizis ve Fibrillogenenezin Rolü	15
2.6.5. Amiloid Artırıcı Faktör	15
2.6.6. Kalsiyumun Rolü	16
2.6.7. A Vitamininin Rolü	16
2.6.8. Kolesterol ve Yağ Dokunun Rolü	16
2.6.9. Sitokinlerin Rolü	17
2.7. Amiloidozis' te Makroskopik Bulgular	17
2.8. Amiloidozis' te Histopatolojik Bulgular	19
2.9. AA Amiloidozis' te Teşhis, Tedavi ve Korunma Yolları	20
3. GEREÇ ve YÖNTEM	22
3.1. Deney Hayvanı	22
3.2. Deneysel Ortam	22
3.3. Beslenme	22
3.4. Deneysel Gruplandırma ve Çalışma Takvimi	23
3.4.1. Grup-1 (K-ip) (Negatif kontrol grubu-1)	23
3.4.2. Grup-2 (K-sc) (Negatif kontrol grubu-2)	23
3.4.3. Grup-3 (CF-ip) (Deney grubu-1)	23
3.4.4. Grup-4 (CF-sc) (Deney grubu-2)	24
3.4.5. Grup-5 (CFD-ip) (Tedavi grubu-1)	24
3.4.6. Grup-6 (CFD-sc) (Tedavi grubu-2)	24
3.5. Anestezi, Sakrifikasyon, Nekropsi, Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması	24
3.5.1. Complete Freund's Adjuvant - Kazein Emülsiyonu	25
3.5.2. Tartım İşlemleri	25
3.5.3. Doku Örneklerinin İşlenmesi	25
3.5.4. Hematoksilen-Eosin Boyama Protokolü	26
3.5.5. Kongo Kırmızısı Boyama Protokolü	26
3.5.6. İmmunohistokimya (IHC) Protokolü	27
3.6. Preparatların İncelenmesi	29
3.6.1. Mikroskopik Olarak Dokuların Skorlanması	29
3.7. Kan Analizleri	30
3.7.1. Reagentlerin Hazırlanması ve Saklanması	30
3.7.2. ELISA Test Prosedürü	30

3.7.3. Serum TNF- α Ölçümü	31
3.7.4. Serum IL-1 β Ölçümü	32
3.7.5. Serum IL-6 Ölçümü	32
3.7.6. Serum SAA Ölçümü	33
3.8. İstatistiksel Değerlendirme	35
3.9. Etik Kurul İzni ve Deney Hayvanı Kullanma Sertifikası	36
4. BULGULAR	37
4.1. Klinik Bulguları	37
4.1.1. Grup 1 (K-ip) (Negatif kontrol grubu-1)	37
4.1.2. Grup 2 (K-sc) (Negatif kontrol grubu-2)	37
4.1.3. Grup 3 (CF-ip) (Deney grubu-1)	37
4.1.4. Grup 4 (CF-sc) (Deney grubu-2)	38
4.1.5. Grup 5 (CFD-ip) (Tedavi grubu-1)	38
4.1.6. Grup 6 (CFD-sc) (Tedavi grubu-2)	38
4.2. Canlı Ağırlık Bulguları	39
4.3. Nekropsi Bulguları	40
4.3.1. Grup 1 (K-ip) (Negatif kontrol grubu-1)	40
4.3.2. Grup 2 (K-sc) (Negatif kontrol grubu-2)	40
4.3.3. Grup 3 (CF-ip) (Deney grubu-1)	41
4.3.4. Grup 4 (CF-sc) (Deney grubu-2)	41
4.3.5. Grup 5 (CFD-ip) (Tedavi grubu-1)	42
4.3.6. Grup 6 (CFD-sc) (Tedavi grubu-2)	43
4.4. Mikroskopik Bulgular	49
4.4.1. Histopatolojik Bulgular	49
Hematoksilen-Eosin Boyama Bulguları	49
Kongo Kırmızısı Boyama Bulguları	56
4.4.2. İmmunohistokimyasal Boyanma Bulguları	65
Amiloid A Boyanma Bulguları	65
TNF- α Boyanma Bulguları	71
IL-1 β Boyanma Bulguları	77
IL-6 Boyanma Bulguları	83
4.5. Serum Bulguları	89
5. TARTIŞMA	97
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	104
ÖZET	105
SUMMARY	106
KAYNAKLAR	107
EKLER	124
ÖZGEÇMİŞ	125

SİMGELER ve KISALTMALAR

AA	Amiloid A, amiloid associated
AEF	Amiloid Enhancing Faktör
AL	Amiloid light chain
ABC	Avidin-Biyotin-Peroksidaz Kompleks
apo	Apolipoprotein
α	Alfa
β	Beta
°C	Santigrat derece
Ca ²	Kalsiyum
CFA	Complete Freund's Adjuvant
cm	Santimetre
CRP	Seruloplazmin
DAB	3,3' -Diaminobenzidin
g	Gram
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
H-E	Hematoksilen-Eosin
HDL	High Density Lipoprotein
IHC	İmmunohistokimya
i.p.	İntraperitoneal
kDa	Kilo Dalton
LDL	Low Density Lipoprotein
LPS	Lipopolisakkarit
μ	Mikron
ml	Mililitre
mm	Milimetre
MSD	Minimum Significant Difference
n	Numune sayısı
NaCl	Sodyum Klorür
nm	Nanometre
O. D.	Optik Dansite
SAA	Serum amiloid A
SABC	Streptavidin-Biotin-Peroksidaz Kompleks
SAP	Serum Amiloid P
s.c.	Subkutan
SE	Standart Hata
PBS	Phosphate Buffered Saline
PEG	Polietilen glikol
pg	Pikogram
PG _s	Proteoglikanlar
TMB	Tetramethybenzidine
TNF	Tümör nekrozis faktör
TTR	Transthyretin
w	Kütle-ağırlık
v	Hacim
%	Yüzde

ŞEKİLLER

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. Amiloid fibrillerinin yapısı	7
Şekil 2. Stop solüsyonundaki TNF- α ve IL-6' nın ELISA görüntüleri	34
Şekil 3. Stop solüsyonundaki SAA' nın ELISA görüntüsü	35
Şekil 4. Nemenyi Testi Hesaplaması	36
Şekil 5. 7 ve 15 Haftalık yaştaki gruplardaki hayvanların canlı ağırlık ortalamaları	40
Şekil 6. Grup 1 (K-ip) (Negatif kontrol grubu-1)	45
Şekil 7. Grup-2 (K-sc) (Negatif kontrol grubu-2)	45
Şekil 8. Grup-3 (CF-ip) (Deney grubu-1)	46
Şekil 9. Grup-4 (CF-sc) (Deney grubu-2)	47
Şekil 10. Grup-5 (CFD-ip) (Tedavi grubu-1)	47
Şekil 11. Grup-6 (CFD-sc) (Tedavi grubu-2)	48
Şekil 12. Kontrol grupları normal karaciğer, dalak ve böbrek dokusu	53
Şekil 13. Deney grupları, karaciğer, dalak ve böbrek dokusu	54
Şekil 14. Tedavi grupları karaciğer, dalak ve böbrek dokusu	55
Şekil 15. Deney grupları, karaciğer, Kongo kırmızısı ve polarize ışık görünümü	59
Şekil 16. Tedavi grupları, karaciğer, Kongo kırmızısı ve polarize ışık görünümü	60
Şekil 17. Deney grupları, dalak, Kongo kırmızısı ve polarize ışık görünümü	61
Şekil 18. Tedavi grupları, dalak, Kongo kırmızısı ve polarize ışık görünümü	62
Şekil 19. Deney grupları, böbrek, Kongo kırmızısı ve polarize ışık görünümü	63
Şekil 20. Tedavi grupları, böbrek, Kongo kırmızısı ve polarize ışık görünümü	64
Şekil 21. Amiloid A, Karaciğer, IHC	68
Şekil 22. Amiloid A, Dalak, IHC	69
Şekil 23. Amiloid A, Böbrek, IHC	70
Şekil 24. TNF- α , Karaciğer, IHC	74
Şekil 25. TNF- α , Dalak, IHC	75
Şekil 26. TNF- α , Böbrek, IHC	76
Şekil 27. IL-1 β , Karaciğer, IHC	80
Şekil 28. IL-1 β , Dalak, IHC	81
Şekil 29. IL-1 β , Böbrek, IHC	82
Şekil 30. IL-6, Karaciğer, IHC	86
Şekil 31. IL-6, Dalak, IHC	87
Şekil 32. IL-6, Böbrek, IHC	88
Şekil 33. Deneysel gruplara göre SAA seviyeleri	92
Şekil 34. Deneysel gruplara göre TNF- α seviyeleri	93
Şekil 35. Deneysel gruplara göre IL-1 β seviyeleri	94
Şekil 36. Deneysel gruplara göre IL-6 seviyeleri	95
Şekil 37. Gruplara göre SAA ve TNF- α değerlerinin karşılaştırılması	96
Şekil 38. Gruplara göre SAA ve IL-1 β değerlerinin karşılaştırılması	96
Şekil 39. Gruplara göre SAA ve IL-6 değerlerinin karşılaştırılması	96
Şekil 40. Gruplara göre IL-1 β ve IL-6 değerlerinin karşılaştırılması	96

TABLOLAR

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1. Amiloid araştırmalarındaki önemli tarihi buluşlar _____	5
Tablo 2. İnsanlarda Amiloid fibril proteinleri ve prekürsörleri _____	8
Tablo 3. Hayvanlarda Amiloid fibril proteinleri ve prekürsörleri _____	9
Tablo 4. Gruplara göre hayvanların canlı vücut ağırlık oranları _____	39
Tablo 5. Deneysel gruplardaki hayvanların nekropsilerindeki makroskopik lezyonların gruplardaki hayvan sayılarına göre dağılımı _____	44
Tablo 6. Gruplara göre karaciğerde yangısal hücre infiltrasyonlarının yaygınlık oranları (H.E.) _____	50
Tablo 7. Gruplara göre dalakta yangısal hücre infiltrasyonlarının yaygınlık oranları (H.E.) _____	51
Tablo-8. Gruplara göre böbrekte yangısal hücre infiltrasyonlarının yaygınlık oranları (H.E.) _____	52
Tablo 9. Gruplara göre karaciğerde amiloid birikimlerinin şiddet oranları (Kongo kırmızısı) _____	57
Tablo 10. Gruplara göre dalakta amiloid birikimlerinin şiddet oranları (Kongo kırmızısı) _____	58
Tablo 11. Gruplara göre böbrekte amiloid birikimlerinin şiddet oranları (Kongo kırmızısı) _____	58
Tablo 12. Gruplara göre karaciğerde amiloid A boyanmasının şiddet oranları (IHC) _____	66
Tablo 13. Gruplara göre dalakta amiloid A boyanmasının şiddet oranları (IHC) _____	67
Tablo 14. Gruplara göre böbrekte amiloid A boyanmasının şiddet oranları (IHC) _____	67
Tablo 15. Gruplara göre karaciğerde TNF- α boyanmasının şiddet oranları (IHC) _____	72
Tablo 16. Gruplara göre dalakta TNF- α boyanmasının şiddet oranları (IHC) _____	72
Tablo 17. Gruplara göre böbrekte TNF- α boyanmasının şiddet oranları (IHC) _____	73
Tablo 18. Gruplara göre karaciğerde IL-1 β boyanmasının şiddet oranları (IHC) _____	78
Tablo 19. Gruplara göre dalakta IL-1 β boyanmasının şiddet oranları (IHC) _____	78
Tablo 20. Gruplara göre böbrekte IL-1 β boyanmasının şiddet oranları (IHC) _____	79
Tablo 21. Gruplara göre karaciğerde IL-6 boyanmasının şiddet oranları (IHC) _____	84
Tablo 22. Gruplara göre dalakta IL-6 boyanmasının şiddet oranları (IHC) _____	84
Tablo 23. Gruplara göre böbrekte IL-6 boyanmasının şiddet oranları (IHC) _____	85
Tablo 24. Serum, SAA, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeylerinin grup ortalaması dağılımları _____	91
Tablo 25. Serum, SAA, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeyleri arasındaki korelasyon ilişkileri _____	91
Tablo 26. SAA serum ölçüm sonuçlarının deneysel gruplara göre farklılıkları _____	92
Tablo 27. TNF- α serum ölçüm sonuçlarının deneysel gruplara göre farklılıkları _____	93
Tablo 28. IL-1 β serum ölçüm sonuçlarının deneysel gruplara göre farklılıkları _____	94
Tablo 29. IL-6 serum ölçüm sonuçlarının deneysel gruplara göre farklılıkları _____	95

1. GİRİŞ

Amiloidozis iyi tanımlanmış patolojik bir bozukluk olup, normal olarak eriyebilir yapıda olan proteinlerin veya onların fragmentlerinin vücudun çeşitli doku ve organlarında hücre dışında fibriller bir formda birikmesidir (Glennner, 1980; Ezer ve ark., 2000). Veteriner hekimlikte en sık karşılaşılan amiloid tipi immunglobulinlerle ilişkili olan sistemik tip amiloid A (AA) amiloidozudur. AA amiloidozis (sekonder, reaktif) insan ve hayvanlarda kronik enfeksiyonlar ve yangısal hastalıklar sonucu ortaya çıkan ve ölüme sonuçlanabilen bir amiloidozis tipidir (Slauson ve Cooper, 1990; Sipe, 1994; Solomon, 1996; Gruys, 2004). AA amiloidozisin görüldüğü hastalıklar arasında juvenil artrit (Özdoğan ve ark., 1991; Immomen ve ark., 2011), romatoid artrit (Colbatzky ve ark., 1991; Gertz ve Kyle, 1991; Magy ve ark., 2003), ankilozan spondilit (Stone, 1990; Benson, 2001), ailesel Akdeniz ateşi (Taniyama, 2000; Yiğit ve ark., 2008) ve kronik bağırsak hastalığı (Shtrasburg ve ark., 2012) gibi kronik yada tekrar eden yangısal hastalıklar vardır. Amiloid aslında tek bir hastalığı işaret etmemektedir (Landman ve ark., 1998). Amiloid birikimleri ile ilgili hastalıklar arasında ailesel nöropatiler (Kimura ve ark., 2003), tümörler (Gliatto ve Alroy, 1995; Tamyama ve ark., 2000), Alzheimer (Miller ve ark., 1993; Ksilevsky ve ark., 1995), transmissible spongiform ensefalopatiler (Beckes ve ark., 1995; Perini ve ark., 1996; Jeffrey ve ark., 1998) bulunmaktadır. Günümüzde amiloid birikimlerinde değişik tipte 25' ten fazla protein izole edilmiştir (Westermarck, 2005; Westermarck ve ark., 2007; Sipe ve ark., 2010).

Amiloidozis olgularına insanlarda (Dhillon ve ark., 1989; Solomon, 1996), kanatlılarda (Landman ve ark., 1994; Landman ve ark., 1996; Sevimli ve ark., 2005) ve bir çok memeli hayvanda rastlanılmaktadır (Palotay ve Howard, 1982; Tamyama ve ark., 2000). İnsanlarda ve hayvanlarda son yıllarda amiloidozis ile ilişkili olarak yapılan çalışmaların sayısında artış görülmektedir. Bununla ilişkili olarak 2009 yılında medline da rastlanılan yayın sayısı 41 282 iken, 2013 yılında bu sayı 58 776 olmuştur.

Amiloid A (AA) olgularının patojenezinde AA amiloidin prekürsör proteini olan serum amiloid A (SAA)'nın aşırı artışının önemli role sahip olduğu bilinmektedir (Husby ve Natvig, 1974; Tape ve ark., 1988; Sevimli ve ark., 2005; Sevimli ve ark., 2008). SAA vücutta başlıca karaciğer (Hoffman ve Benditt, 1982) olmak üzere dalak, lenf yumrusu, böbrek (Meek ve ark., 1990; Meek ve ark., 1992), fibroblastlar (Linder ve ark., 1976), synovial hücreler (Sack ve Zink, 1992), makrofajlar (Meek ve ark., 1992) ve adipositler tarafından salgılanmaktadır (Poitou ve ark., 2005). SAA bir apolipoprotein olup, dolaşımında yüksek yoğunluklu lipoprotein partikülleri ile birlikte dolaşır (Jensen ve Whitehead, 1998). Sağlıklı bir organizmada serum SAA seviyesi 10 µg/ml' den daha az iken, yangı esnasında yaklaşık olarak 100 kat daha artarak 1 mg/ml' yi geçebilmektedir. Aynı zamanda önemli bir akut faz proteini olan SAA' nın dolaşımdaki miktarı viral (Miwata ve ark., 1993) ve bakteriyel enfeksiyonlar (Landman ve ark., 1997), stres (Alsemgeest ve ark., 1995), tümör oluşumları (Dren ve ark., 1988) gibi durumlarda artış gösterir. Serumda miktarı artan SAA' nın dokulara gelip, buralarda tam olarak anlaşılammış etkiler altında parçalanıp, çökerek amiloid fibrillerini oluşturduğu bilinmektedir (Glennner, 1980; Landman ve ark., 1998). AA tip amiloid karaciğer, beyin, böbrek ve dalakta, bağ doku, parankima ve damarlar çevresinde birikir (Cornwell ve ark., 1977; Chopra ve ark., 1984; Lyon ve ark., 1991; Snow ve ark., 1991; Uesugi ve ark., 2000; Lachmann ve ark., 2007).

SAA' nın hepatik ve ekstrahepatik sentezi interleukin (IL)-1, 6 ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) gibi sitokinlerce uyarılmaktadır (Ray ve ark., 1999; Uhlar ve Whitehead, 1999; Kallinich ve ark., 2004).

AA amiloidozis oluşumundan korunmada en etkili yol, kronik enfeksiyonların oluşumunu engellemek ve stres ile beraber etki edebilecek her türlü çevresel faktörlerin elimine edilmesidir. Zira amiloidozis oluşumu başladıktan sonra amiloid birikimlerini tamamen ortadan kaldırmak mümkün değildir. Araştırmacılar, insanlarda (Ksilevsky ve ark., 1995; Soto ve ark., 1996) ve farelerde (Inove ve ark., 1996) amiloidin tedavisine yönelik Kolşişin, Dimetilsülfoksit ve Metilprednizolon gibi preparatlar kullanmıştır. Kortikosteroidler güçlü antienflamatuvar etkili ilaçlar

olup, amiloidozisin baskılanmasında kullanılmıştır (Sevimli ve ark., 2005; Sevimli ve ark., 2008).

Etken maddesi metilprednizolon olan Depo-Medrol® insan ve hayvan hekimliğinde immunsupressif ve antienflamatuvar olarak kullanılan sentetik adrenokortikal bir ilaçtır (Wandinger ve ark., 1998; Xu ve ark., 1998; Hodge ve ark., 1999). Metilprednizolonun IL-1, IL-2, IL-6, IL-10 ve TNF- α gibi çeşitli sitokinleri inhibe ettiği bildirilmektedir (Pitzalis ve ark., 1997; Wandinger ve ark., 1998; Xu ve ark., 1998; Hodge ve ark., 1999; Stanton ve ark., 1999; Ou ve ark., 2001).

Fareler (Gruys ve Snel, 1994; Alasonyalılar, 2008), tavuklar (Landman ve ark., 1994; Landman ve ark., 1996; Sevimli ve ark., 2004; Sevimli ve ark., 2005; Upragarin ve ark., 2005; Sevimli ve ark., 2008; Sevimli ve ark., 2012), hamsterlar (Snel ve ark., 1989; Artl ve ark., 2000; Analia ve ark., 2002) ve tavşanlar (Cohen ve ark., 1959) amiloidozisin oluşturulmasında ve baskılanmasında yıllardır hayvan modeli olarak kullanılmaktadır.

Elde edilen literatür verilerine dayanarak amiloidozisin basit işlemsel bir mekanizma olmadığını, immun sistem ile ilişkisi olan karmaşık bir takım reaksiyonlar zinciri olduğunu göstermektedir. Amiloidozis, Ülkemizde ve Dünyada, insan ve hayvanlarda giderek artan sıklıkta karşılaşılan, önemli bir hastalıktır. Planlanan bu çalışmada birinci amacımız farelerde deneysel olarak amiloidozis oluşturulmasında immun sistemin rollerini incelemek ikinci amacımız ise, bu müzmin hastalık tablosunun tedavisine yönelik immunsupressif ve antienflamatuvar etkili metilprednizolonun farelerde amiloidozis oluşumunu baskılayıp baskılayamadığını araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tanım ve Tarihçe

"Amiloid" kelime anlamı olarak nişasta benzeri (starch like) anlamına gelir. Anormal bir protein olan amiloidin, çözünmeyen ve proteolitik enzimler ile eritemeyen fragmentlerinin çeşitli doku ve organlarda karakteristik fibriller bir formda hücre dışında birikmesine, amiloidozis denir (Glennner, 1980). Uluslararası Toplum Terminoloji Komitesi tarafından, amiloidozis "elektron mikroskopi ile karakteristik fibriller görünümlü, tipik X-ışın kırılım yapısına sahip ve Kongo kırmızısı affinitesi ile birlikte yeşil yansıma (Westermarck ve ark., 2005) veren hücre dışı protein birikimi" olarak tanımlanmıştır.

Dokulardaki amiloid birikimleri, ilk kez 1654 yılında Glisson (Glisson, 1654) tarafından bildirilmiştir (Tablo 1). Virchow 1854' te kronik yangısal hastalıklar neticesinde ölen hastaların organlarında biriken balmumu benzeri yapıların, selüloz kaynaklı maddeler gibi iyot ile reaksiyona girdiğini bildirmiştir. Bu birikimlerin nişasta veya polisakkarit benzeri bir yapıda olabileceğini düşünmüş ve nişasta benzeri anlamına gelen amiloid terimini ilk kez kullanan kişi olmuştur (Virchow, 1854). Bir kaç yıl sonra 1859'da Friedrich ve Kékulé (1859) amiloidin proteinöz yapıda olduğunu ortaya koymuştur. Amiloidin bugün bilinen fibriller yapısı ise 1959 yılında Cohen ve Calkins tarafından ortaya konmuştur (Cohen ve Calkins, 1959).

Tablo 1. Amiloid araştırmalarındaki önemli tarihi buluşlar*

Yıl	Araştırıcı	Buluş
1654	Glisson	Erken Tanımı
1686	Malpighi	Erken Tanımı
1700	Bonetus	Erken Tanımı
1725	Bianchi	Erken Tanımı
1813	Portal	Pastırma benzeri madde
1842	Rokitansky	Lardeseöz karaciğer / Yağlı benzeri karaciğer
1844	Hassing & Lehmann	Sago dalak
1854	Virchow	İodin ile nişasta benzeri boyanma
1859	Friedreich & Kékulé	Amiloidin protein tabiatında oluşu
1922	Bennhold	Amiloidin Kongo red ile boyanabilirliği
1928	Waldenström	Direkt biyopsi ile tanısı
1959	Cohen & Calkins	Amiloidin fibriller yapıda bir protein olduğu
1968	Pras et al	Amiloid fibrillerinin izolasyonu
1968	Eanes & Glenner	β -dallanma tabaka yapısı
1970	Glenner et al	AL proteininin amino asit sekansı
1971	Benditt et al	AA proteininin amino asit sekansı
1971	Glenner et al	<i>In vitro</i> amiloid fibril formasyonu.
1973	Levin et al	Serum amiloid A'nın identifikasyonu
1985	Husebekk et al	Serum amiloid A'nın prekürsör protein olduğu
1985	Snow & Kisilevsky	Amiloid araştırmalarında amiloid ilişkili karbonhidratların yeniden düzenlenmesi

* Bu tablo Janssen, (1985) kaynağından alınmıştır.

2.2. Amiloidin Genel Yapısı

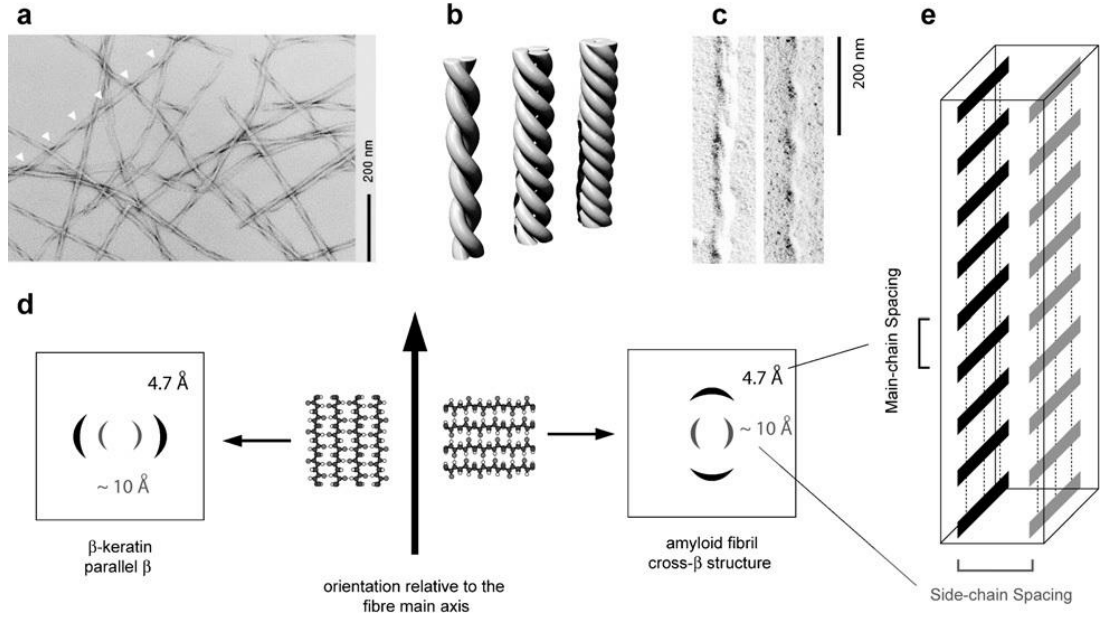
Sıra dışı bir protein olarak tanımlanan amiloid çözünmeyen ve proteolitik enzimlerle eritilemeyen kalıcı fibriller yapıya sahiptir (Glenner, 1980; Slauson ve Cooper, 1990). Karakteristik fibriller formdaki amiloidin genel yapısı ultrastrüktürel olarak dallanma göstermeyen, genellikle 7-10 nm çapında, tanımlanamayan uzunlukta, kırılmayan bir yapıya sahip, sekonder moleküler yapısı, yüksek “Beta katlantılı fibriller” içeren yapılardır (Glenner, 1980) (Şekil 1). Bu Beta katlantılı yapıya sahip proteinler Kongo kırmızısı boyamada elma yeşili yansımalar veren bir yapıdadır (Westermarck ve ark., 2007).

2.3. Amiloid ve Amiloidozisin Sınıflandırılması

İlk kez 1964 yılında Benditt ve Eriksen tarafından amiloidozisin tipleri immunglobulinlerle ilişkili olmayan sistemik tip amiloidozis "Amiloid A" ve immunglobulinlerle ilişkili olan "Amiloid B" olarak sınıflandırmışlardır (Benditt ve Eriksen, 1964). Sonraki yıllarda ise, protein yapısına göre iki farklı amiloid tipinden bahsedilmiştir. Bunlar; plazma hücrelerinden köken alan ve immunglobulinlerin hafif zincirlerinden oluşan "amiloid light chain" (AL) protein ve immunglobulin yapısında olmayan "amiloid associated" (AA) proteindir (Slauson ve Cooper, 1990; Erer ve ark., 2000).

AL (primer, atipik) amiloidozis, insanlarda en sık rastlanan amiloidozis formu olup, herhangi bir hastalıkla ilişkili olmaksızın lenf yumruları, gastrointestinal kanal ve kardiyovasküler sistemde amiloid birikimi ile karakterizedir. Bunlar bozulmuş immunglobulin üretiminin bir sonucudur (Slauson ve Cooper, 1990; Erer ve ark., 2000). AL amiloidozis bugüne kadar insanlar dışında kedi (Liepnieks ve ark., 1996), sığır (Taniyama ve ark., 2000) ve atta (Niewold ve ark., 1996) bildirilmiştir.

AA (sekonder, AA amiloidozis, tipik amiloidozis) amiloidozisin tanımlandığı isimler olup, insan dışında, birçok hayvanda gözlenebilen ve uzun süren kronik enfeksiyonlar veya yangısal bozukluklara bağlı olarak şekillenen amiloidozis tipidir. En sık biriktiği organlar karaciğer, dalak, böbrekler ve böbrek üstü bezleridir (Slauson ve Cooper, 1990; Solomon, 1996; Erer ve ark., 2000; Noriko ve ark., 2000).



Şekil 1. Amiloid fibrillerinin yapısı. (a) A β 'nin (1-40) elektron mikroskobisi, amiloid fibrilleri düzenli aralıklarla karakteristik yapı göstermekte (ok başları). (b) 2, 3 ve 4' erli protofilamentlerin, fibril yapısının şematik gösterimi. (c) Transmission elektron mikroskobu ile A β (1-40) amiloid fibrillerinin sola kıvrımlı fibril kilaritesi. (d) Çapraz- β ve paralel- β X-ışını difraksiyonu yapısının şematik gösterimi. (e) Protofilament yapısının, X- ışını difraksiyonu temelli yorumu (çift dallanan β -kıvrımları, β -iplikleri, siyah ve gri renkli barlar; noktalı çizgiler hidrojen bağları yönünü göstermektedir). Bu şema bükülme göstermemektedir. (b-e) figürlerinde ana yöreğe vertikal doğrultuda sıralanmaktadır.

Bu şekil Fändrich, (2007)' den alınmıştır.

Günümüzde amiloid ve amiloidozisin sınıflandırılması, biyokimyasal olarak proteinin primer aminoasit dizilişine göre yapılmaktadır (Husby, 1994). Ayrıca Uluslararası Terminoloji Komitesi Topluluğu tarafından günümüze kadar insanlarda 27 (Tablo 2), hayvanlarda ise 9 amiloid fibril proteini bildirilmiştir (Westermarck, 2005; Westermarck ve ark., 2007; Sipe ve ark., 2010) (Tablo 3).

Tablo 2. İnsanlarda Amiloid fibril proteinleri ve prekürsörleri*

Amiloid protein	Prekürsör	Sistemik (S) yada Lokalize, organ sınırlı (L)	Sendrom yada dokulardaki yerleşimi
AL	Immunoglobulin light chain	S, L	Primer Myeloma ilişkili
AH	Immunoglobulin heavy chain	S, L	Primer Myeloma ilişkili
A β 2M	β 2-microglobulin	S L?	Hemodiyaliz ilişkili Eklemler
ATTR	Transthyretin	S L?	Ailesel Sistemik senil Tenosynovium
AA	(Apo)serum AA	S	Sekonder, reaktif
AApoAI	Apolipoprotein AI	S L	Ailesel Aorta, menisküs
AApoAII	Apolipoprotein AII	S	Ailesel
AApoAIV	Apolipoprotein AIV	S	Sporadik, yaşlanma ilişkili
AGel	Gelsolin	S	Ailesel (Finliler)
ALys	Lysozyme	S	Ailesel
AFib	Fibrinogen α -chain	S	Ailesel
ACys	Cystatin C	S	Ailesel
ABri	ABriPP	S	Ailesel dementia, İngilizler
ALect2	Leukocyte chemotactic factor 2	S	Böbrek temelli
ADan	ADanPP	L	Ailesel dementia, Danimarkalılar
A β	A β protein precursor (A β PP)	L	Alzheimer hastalığı, yaşlanma
APrP	Prion protein	L	Spongiform ensefalopatiler
ACal	(Pro)calcitonin	L	C-hücre tiroid tümörleri
AIAPP	Islet amyloid polypeptide	L	Langerhans adacıkları Insulinomas
AANF	Atrial natriuretic factor	L	Kardiyak atria
APro	Prolactin	L	Hipofiz yaşlanması Prolaktinomalarda
AIns	Insulin	L	Iatrojenik
AMed	Lactadherin	L	Senile aortic, media
AKer	Kerato-epithelin	L	Kornea, ailesel
ALac	Lactoferrin	L	Kornea
AOaap	Odontogenic ameloblast-associated protein	L	Odontogenic tümörler
ASemI	Semenogelin I	L	Vesicula seminalis

* Bu tablo Sipe ve ark., (2010) kaynağından alınmıştır.

Tablo 3. Hayvanlarda Amiloid fibril proteinleri ve prekürsörleri.*

Amiloid protein	Prekürsör	Sistemik (S) yada Lokalize, organ sınırlı (L)	Sendrom yada dokulardaki yerleşimi	Tür
AL	Immunoglobulin light chain	S, L	Plazmositoma	At, Kedi
AA	(Apo)serum AA	S	Sekonder, reaktif	Fare, Kobay, Kedi, Köpek, Sığır, Ördek, vs.
AApoAI	Apolipoprotein AI	S	Yaş ilişkili	Köpek
AApoAII	Apolipoprotein AII	S	Yaş ilişkili	Fare
ATTR	Transthyretin*	S	Yaş ilişkili	Maymun
A β	A β protein precursor	L	Yaş ilişkili	Köpek, Koyun, Kurt
AIAPP	Islet amyloid polypeptide	L	Langerhans adacığı İnsülinoma	Kedi, Şempanze, Rakun
AIns	İnsulin	L	Langerhans adacığı	Octodon degus (Sıçan)
ACas	α -S2C casein	L	Meme bezi	Sığır

* Bu tablo Sipe ve ark., (2010) kaynağından alınmıştır.

2.4. Etiyoloji

Nedeni tam olarak bilinmemekle beraber amiloidozis tek başına bir hastalık olmayıp, insanlarda; romatoid artrit (Dhillon ve ark., 1989), yaşlılığa bağlı şeker hastalığı (Lorenzo ve Yankner, 1996), kronik diyaliz hastalığı (Drueke ve ark., 1995), ailesel nöropatiler (Kimura ve ark., 2003), tümörler (Solomon, 1996), kronik yangısal hastalıklar (Perez-Villa ve ark., 1989), transmissible spongiform ensefalopatiler (Beckes ve ark., 1995; Perini ve ark., 1996), Alzheimer (Miller ve ark., 1993; Kisilevsky ve ark., 1995), guatr (Kamihira ve ark., 2008), Hodgkin hastalığı, "hairy cell leukemia" ve "renal cell karsinoma", kronik akciğer hastalıklarındaki kistik fibrozis durumlarında (Du ve Ali-Kahn, 1991), monoklonal gammopati ve siklik nötropeni ile seyreden Gaucher hastalığında görülmüş olup, ayrıca eroin bağımlılarında nefrotik amiloid sendromu tespit edilmiştir (Stone, 1990; Morten ve ark., 2007). Memeli hayvanlarda; şeker hastalığı (Fremont, 2002), meme tümörleri (Tamyama ve ark., 2000), kutanöz lenfoma (McAdam ve ark., 1975), multiple myeloma (Erer ve ark., 2000) sığırların deli dana hastalığı (Doerr ve Rabenau, 1995), scrapie (Jeffrey ve ark., 1998) gibi hastalıklarda ortaya çıkmaktadır. Spontan amiloidozis oluşumlarına insanların (Dhillon ve ark., 1989; Solomon, 1996) yanı sıra, köpek (Tamyama ve ark., 2000), kedi (Freemont, 2002), sığır (Taniyama ve ark., 2000), koyun (Jeffrey ve ark., 1998), at (Gliatto ve Alroy, 1995), maymun

(Palotay ve Howard, 1982), mink (Waaalen ve ark., 1980), hamster (Niewold ve ark., 1994) gibi memeli hayvanlar ile ördek (Guo ve ark., 1996), su kuşları (Brayton, 1992), hindi (Shivaprasad ve ark., 1991), bildircin (Nakamura ve ark., 1998) ve tavuk (Landman ve ark., 1994) gibi bazı kanatlılarda da rastlanılmaktadır.

2.5. Farelerde Deneysel Sistemik Amiloidozis Oluşturulma Yolları

Amiloidozisin patojenezine yönelik yapılan deneysel çalışmalarda bugüne kadar memeli ve kanatlı türleri kullanılmıştır (Hoffman ve Benditt, 1982; Meek ve ark., 1992; Wang ve Di, 1992; Landman ve ark., 1997; Bereket ve ark., 2000). Fareler, gerek insanlarda gerekse hayvanlarda amiloidozise yönelik olarak çalışma yapılabilecek en uygun hayvanlardır. Amiloidozis oluşumuna en yatkın fare ırkları CBA/J, C57BL/6, ve ICR iken, CE/J ırkı dirençlidir (Liang ve ark., 1998; Wang ve ark., 2000). Amiloidojenik fare ırklarının amiloidojenik apo (apolipoprotein) SAA1 ve apoSAA2' yi birlikte salgıladığı tespit edilmiştir (Liang ve ark., 1998; Wang ve ark., 2000). Amiloid A oluşumuna dirençli CE/J fare ırkında ise sadece apo SAA2' nin salgılandığı gösterilmiştir (Liang ve ark., 1998). Farklı fare ırklarının sistemik amiloidozis gelişimine karşı dirençli ve duyarlı oluşlarının, sahip oldukları makrofajların SAA' yı yıkımlayabilme yetisindeki farklılıkla ilişkili olabileceği de düşünülmektedir (Ham ve ark., 1997).

2.5.1. AA Amiloidozis İndükleme Protokolleri

Deneysel olarak AA amiloidozisin gelişimi, çeşitli protein agregatlarının biriktiği uzun bir predispozisyon fazı ve karakteristik amiloid fibrillerinin biriktiği ikincil bir fazı içeren iki aşamalı bir süreçtir (Sponarova ve ark., 2008). Farelerde deneysel olarak amiloidozis oluşturulmasında, azocasein, gümüş nitrat (AgNO₃), amiloid enhancing faktör (AEF), kazein gibi maddelerin çeşitli yollarla verilmesi sonucunda amiloidozis oluşturulmuştur (Shtrasburg ve ark., 2002; Murata ve ark., 2011).

Bu yöntemlerden kazein enjeksiyonu protokolü, farelerde deneysel amiloidozis oluşturulması amacıyla, sıklıkla kullanılan bir methoddur. Farelerde kazein ile indüklenen amiloidozis, sekonder amiloidozis oluşturmak için geniş ölçüde kullanılan, uygun bir modeldir. Günlük tekrarlanan subkutan kazein enjeksiyonlarını takiben farelerde reaktif (AA) amiloidozis oluşturulabilmektedir (Arustamova ve ark., 1974; Benson ve ark., 1977; Hol ve ark., 1985).

Gümüş nitrat (AgNO_3)' in subkutan enjeksiyonu, farelerde uygulanan bir başka amiloid oluşturma protokolüdür. Bu yöntem ile tek dozluk bir subkutan AgNO_3 enjeksiyonu ile 2 hafta içerisinde amiloid oluşturulabilmektedir (Botto ve ark., 1997).

Son yıllarda amiloid artırıcı faktör - amyloid enhancing factor (AEF) olarak adlandırılan ve amiloidli hayvanlardan elde edilen bir glikoprotein enjekte edilmesinin de amiloidozis oluşumunu hızlandırdığı bildirilmektedir (Botto ve ark., 1997; Rosemary ve ark., 1998). Birçok araştırmada AEF' nin yaklaşık 10-16 kDa' luk bir protein olduğu bildirilmesine rağmen, AEF' nin gerçekte tam olarak tanımlanmış ve karakterize edilmediği düşünülmektedir (Alizadeh ve ark., 1992). Buna karşın amiloid içeren dokuların ekstraktları veya izole edilmiş amiloid fibrilleri ile amiloid benzeri sentetik fibriller transthyretin (TTR) fragmentlerinden yapılmış ve TNF- α ile sülfatlı glikozaminoglikanlar gibi çeşitli nonfibriller maddelerin de AEF özelliğine sahip olabilecekleri fikri ortaya atılmıştır. Bu nedenle AEF' nin tek bir komponent olmadığı ve çok sayıda farklı moleküler yapının AEF özelliğine sahip olabileceği ileri sürülmektedir (Mambule ve ark., 2000).

Polietilen glikol (PEG) ve TTR fibrillerinin de AEF görevi üstlendikleri bildirilmektedir. Hızlandırılmış sistemik AA amiloidozis oluşturmak için AgNO_3 ve AEF enjeksiyonları birlikte uygulanabilmektedir. Tek başına AgNO_3 verilen grupta 3. ve 9. günlerde amiloid oluşumu gözlenmezken, PEG ve TTR ile desteklendiğinde 3. günde amiloid varlığı gözlenmiştir (Mambule ve ark., 2000).

Amiloid oluşturma yöntemlerinden bir başkası da kazein-complete Freund's adjuvant karışımının intraperitoneal enjeksiyonudur (Kawabe ve ark., 2004). Bu modellerin kullanılmasıyla, Gram-negatif bakteri bileşenlerinden biri olan lipopolisakkaritler (LPS)' in, yangısal kimyasal mediyatörlerin üretilmesinde ki kaskatların, anlaşılmasına yardımcı olan pek çok ilerleme sağlanmıştır. LPS' in verilmesini takiben çok hızlı bir biçimde TNF' n üretildiği gösterilmiştir (Deforge ve ark., 1994).

2.6. AA Amiloidozisin Patojenezi

Patomorfolojisi, epidemiyolojisi ve birçok hastalıkla ilişkisi ortaya konulmasına rağmen AA amiloidozisin oluşum mekanizması henüz tam olarak açıklığa kavuşmamıştır (Maury, 1984; Ksilevsky ve Young, 1994; Mambule ve ark., 2000). Bu yüzden halen bir çok araştırıcı tarafından merakla ve ilgi ile çalışılan bir konudur. Patojenizde rol oynayan çeşitli faktörler şu Şekilde açıklanmaktadır:

2.6.1. Prekürsör Protein ve Akut Faz Cevabı

Hücrelerin tahribi, yangı, enfeksiyon ve hatta gebelik gibi uyarılar sonucu vücutta bazı proteinlerin üretiminde bir artış meydana gelir. Serum konsantrasyonu %25' ten fazla artan ve çoğu karaciğer orijinli olan böyle proteinlere "akut faz proteinleri" denir (Arda ve ark., 1994). nemli bir akut faz proteini olan ve aynı zamanda AA amiloidin prekürsör (nc) proteini olduğu bilinen SAA' nın serumda artışı, AA amiloidozisin gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır (Levin ve ark., 1973; Husby ve Natvig, 1974; Linke ve ark., 1975; Sevimli ve ark., 2005; Sevimli ve ark., 2013-a). SAA' nın başlıca yapım yeri hepatositler olup seruma verilirken High Density Lipoprotein 3 (HDL3) ile kompleks halde olan bir apolipoprotein Şeklinde bulunur (Hoffman ve Benditt, 1982; Ksilevsky ve Subrahmanyam, 1992; Chamanza ve ark., 1999). SAA hepatositlerin dışında fibroblastlar, sinoviyal hücreler, makrofajlar ve adipositler tarafından da salgılanabilir (Linder ve ark., 1976; Hoffman ve Benditt,

1982; Meek ve ark., 1992; Sack ve Zink, 1992; Poitou ve ark., 2005). SAA, 104 aminoasit içeren, 12 kDa' luk boyuta sahip bir protein olup (Yang ve Lee, 2006), N-terminal kısmı amiloid fibril kümesine katılır (Benson ve Aldo-Benson, 1979). Bazı SAA izotiplerinin çeşitli dokulardan ve çeşitli hücre tiplerinden ekstrahepatik sentezi çeşitli türlerde rapor edilmiştir. Farelerde serumda hepatik orijinli iki ana akut faz proteini olan apo SAA1 ve apo SAA2 sentezlenirken, SAA3 karaciğer, adipositler, dalak, lenf yumrusu, makrofajlar ve böbreklerden sentezlenmektedir (Benson ve ark., 1977; DeBeer ve ark., 1994; Landman ve ark., 1994; DeBeer ve ark., 1995). Hepatik orijinli iki ana akut faz proteini olan apo SAA (apo SAA1 ve apo SAA2) ve buna ilaveten ekstrahepatik olarak sentezlenen üçüncü bir form SAA (apoSAA3) bulunabileceğini ileri sürmektedir (DeBeer ve ark., 1994; Landman ve ark., 1994).

Bir akut faz proteini olan SAA' nın serumdaki değerleri hastalıklı hayvanlarla sağlıklı hayvanları birbirinden ayıran önemli bir parametredir (Alsemgeest, 1994; Alsemgeest ve ark., 1995). SAA' nın, viral enfeksiyonlar (Miwata ve ark., 1993), bakteriyel enfeksiyonlar (Shivaprasad ve ark., 1991), çeşitli yangısal durumlar (Putto ve ark., 1986), tümör oluşumları (Dren ve ark., 1988) ve fiziksel stres (Alsemgeest ve ark., 1995) gibi durumlarda serumdaki miktarı artar. SAA' nın hepatik ve ekstrahepatik sentezi, IL-1, IL-6, TNF- α gibi çeşitli sitokinlerce uyarılmaktadır (Ray ve ark., 1999; Uklar ve Whitehead, 1999; Kallinich ve ark., 2004).

2.6.2. SAA' nın Fonksiyonları

Temel olarak SAA canlı için yararlı bir reaksiyon ürünü olup, doku harabiyetinin önlenmesi ve tamirinde önemli bir rol oynamaktadır. SAA' nın fonksiyonları;

1. Bakteriler ile uyarılmış nötrofillerin oksidatif patlamasını azaltarak oksidatif doku yıkımını önlemek (Linke ve ark., 1991).
2. IL-1 ve TNF- α ile indüklenmiş ateşi inhibe etmek (Shainkin ve ark., 1991).
3. Platelet agregasyonu inhibisyonu (Zimlichman ve ark., 1990; Levartowsky ve Pras, 1991).

4. Kolesterol transportu (Ksilevsky ve Subrahmanyam, 1992).
5. Antijenlere karşı lenfositik tepkiyi baskılama (Benson ve Aldo-Benson, 1979).
6. T hücreleri, monosit ve lökositlerin leukodiapedesisinde rol oynama (Badolato ve ark., 1994; Xu ve ark., 1995).
7. Lenfosit ve endotelyal hücre proliferasyonunun inhibe edilmesi (Shainkin-Kestenbaum ve ark., 1997-a; Shainkin-Kestenbaum ve ark., 1997-b).
8. Mast hücre adezyonunun indüklenmesi (Preciado-Patt ve ark., 1996).
9. Endotoksinlerin detoksifikasyonu (Baumberger ve ark., 1991).
10. Ekstraselüler matriks proteinlerin oluşumu (Preciado-Patt ve ark., 1997).
11. Düşük dansiteli lipoproteinlerin (LDL) oksidasyondan korunması (DeBeer ve Navab, 1993) sayılabilir.

2.6.3. Amiloidin İçerisinde Bulunan Diğer Komponentler

Proteoglikanlar (PG_S), tüm memeli ve kanatlı dokularında mevcuttur. Hücre yüzeyinde, bazal membranda, bağ dokuda yerleşirler. PG_S' ların amiloid ile sıkı bir ilişkisi bulunmaktadır (Skogen ve ark., 1980; Landman ve ark., 1998). Glikozamainoglikanların, amiloid fibrillerinin stabilizatörleri veya indüktörleri şeklinde etki yaptıkları ileri sürülmüştür (Eskens ve ark., 1984). Amiloid P komponenti nonfibriller bir glikoprotein olup dolaşımdaki amiloid P' den köken alır. Amiloid oluşumundaki rolü tam olarak bilinmemekle birlikte, glikozaminoglikanlara olan afinitesinin, bu komponentin amiloid birikimleri içersindeki varlığını bildirmektedir (Landman ve ark., 1998). Apolipoprotein E, lipoprotein metabolizmasının bir regülatörüdür. Bunların amiloidojenik proteinlerin yapısını değiştiren ve fibrillogenizi teşvik eden patolojik bir aracı olduğu düşünülmektedir (Gallo ve ark., 1994).

Laminin, kollajen IV, fibronektin gibi bazal membran proteinlerinin AA fibrillogenizinin başlangıç aşamalarında önemli bir rol oynayabileceği ileri sürülmektedir (Woodrow ve ark., 1999). Laminin SAA' ya bağlanma konusunda

yüksek afinite gösterdiği ve bu afinitenin çinkonun varlığında arttığı bildirilmektedir (Lyon ve ark., 1991). Fibronektin, amiloidozis oluşumunda SAA ile makrofajların hücre yüzeyleri arasında bağlayıcı bir protein olarak rol oynadığı bildirilmiştir (Skogen ve ark., 1980).

2.6.4. Proteolizis ve Fibrillogenenezin Rolü

SAA' nın anormal yıkımlanmasının fibrillogeneziste önemli olduğu ileri sürülmektedir (Yamada ve ark., 1996). Fibrillogenenez üzerine retiküloendotelyal hücrelerin önemli rolü vardır. Bu konuda ileri sürülen hipotez şudur: Yangı olayı başladığında dokuya nötrofil ve monositler gelir. Bunlardan bazıları lize olur ve lizozomal enzimlerini salarlar. Böylece lizozomlar içinde asidik bir pH gelişir. Amiloid proteinleri aynı zamanda lökositlerin fagolizozomları içersine de alınır ve burada proteazlar ile etkileşir. Bu yüzden erken fibril formasyonunun lizozomlar içinde şekillendiği de bildirilmektedir (Yamada ve ark., 1996). Bakteriyel enfeksiyonlarda kandaki lökosit ve monosit sayısında bir artışın olduğu ve bu hücrelerin de daha sonra sitokinleri ve dolaylı olarak ta SAA' yı indüklediği bildirilmektedir (Latimer ve ark., 1988; Andreasen ve ark., 1991; Kogut ve ark., 1994). Tavuklarda yapılan çalışmalarda kandaki formül lökosit ve dokudaki nötrofil ve makrofajlar ile amiloid oluşumu arasında pozitif bir ilişkinin olduğu bildirilmiştir (Bereket ve ark., 2000; Sevimli ve ark., 2005).

2.6.5. Amiloid Artırıcı Faktör

Amyloid Enhancing Factor (AEF) amiloidin dokularda birikimini hızlandıran bir faktördür (Axelrad ve ark., 1975). AEF' ün içerisinde yüksek miktarda beta (β) katlantılı fibril materyali bulunmaktadır (Niewold ve ark., 1987; Omoto ve ark., 2007).

2.6.6. Kalsiyumun Rolü

Kalsiyumun (Ca^{2+}) heparan sülfat yolu ile apo SAA2' den β katlantılı fibril oluşumunu uyararak bir faktör olduğu ileri sürülmektedir (Mc Cubbin ve ark., 1988). Serum Amiloid P (SAP)' nin amiloid fibrillerine bağlanması tamamen kalsiyuma bağlıdır. Ayrıca kalsiyumun AEF' ün etkisini de artırdığı bildirilmiştir (Alizadeh-Khiavi, 1992; Copanaki ve ark., 2007).

2.6.7. A Vitamininin Rolü

A vitamini ve ilişkili retinoidlerin immun sistem fonksiyonları üzerindeki olumlu etkileri bugüne kadar bir çok çalışmayla ortaya konulmuştur (Turpin ve ark., 1990; Gottgens ve Green, 1995). A vitamini ve ilişkili retinoidler, periferal dolaşımdaki mononükleer hücrelerden IL-1 (Dillehay ve ark., 1988) ve TNF- α (Turpin ve ark., 1990) sentezini artırmak suretiyle immun sistem fonksiyonlarını teşvik edici rol oynamaktadır. Kanatlılarda deneysel olarak amiloid artropati oluşturulan çalışmalarda, A vitamininin dokuda amiloid birikimini ve serum SAA ile sitokin seviyelerini artırdığını bildirilmiştir (Sevimli ve ark., 2004; Sevimli ve ark., 2008).

2.6.8. Kolesterolün ve Yağ Dokunun Rolü

Dolaşımdaki yüksek kolesterol seviyeleri ile SAA arasında pozitif bir ilişki olabileceği bildirilmiştir (Steinmetz ve ark., 1989; Levis ve ark., 2004; Huang ve ark., 2007). Şişman ve obez insanlarda Seruloplazmin (CRP) ve SAA cevabında artış şekillenir (Visser ve ark., 1999; Leionen ve ark., 2003). Diyet yapan insanlarda SAA salınımı azalır (Poitou ve ark., 2006; Yang ve Lee, 2006). Yağ hücrelerinin SAA salgılamaya yetenekleri vardır (Poitou ve ark., 2006; Yang ve Lee., 2006). Yağ hücrelerinin ayrıca IL-1, IL-6, TNF- α gibi sitokinleri salgılamaya ihtimali de vardır (Weisberg ve ark., 2003; Xu ve ark., 2003).

2.6.9. Sitokinlerin Rolü

SAA' nın hepatik ve ekstrahepatik sentezi IL-1, IL-6, TNF- α gibi sitokinlerce uyarılmaktadır (Ray ve ark., 1999; Uklar ve Whitehead, 1999; Kallinich ve ark., 2004). Bu sitokinlerden IL-1; bakteriler, T lenfosit, B lenfosit, endotelial hücreler, nötrofil lökositler ve glial hücrelerden salınırlar (Diker, 1998). Ateşin indüklenmesi, akut faz proteinlerin sentezlenmesi, synovial hücre aktivasyonu, kollajenaz sentezi, prostoglandin sentezi, enfeksiyonlara karşı direnç gibi görevleri bulunmaktadır (Kılıçturgay, 2003).

IL-6, Gram negatif bakteri enfeksiyonları sırasında ortaya çıkan makrofajlar, T lenfositler, B lenfositler, osteoklastlar, glial hücreler, mast hücreleri ve fibroblastlar tarafından salgılanmaktadır. Antialerjik ve pirojenik etkiye sahip olup, prolaktin, büyüme hormonu ve luteinizan hormonunun salınmasında, glukokortikoid sentezinde, keratinositlerin büyümesinde ve osteoklastların aktivasyonunda görev alırlar (Kılıçturgay, 2003).

TNF; TNF- α ve TNF- β olmak üzere iki formu vardır. TNF- α kaşektin olarak ta bilinir ve aktif makrofajlardan salınır. Bunun dışında T hücreleri, mast hücreleri, fibroblastlar, eozinofiller ve epitel hücreleri tarafından salınabilir. İmmun sistemi aktive ederek yangısal reaksiyonlarda, akut faz proteinlerin sentezlenmesinde, tümör hücrelerinin ve virüsle enfekte hücrelerin apoptozis yolu ile öldürülmesinde, ateşin oluşumunda, koagülasyon sisteminin aktive edilmesinde rol oynarlar (Abbas ve ark., 1997; Kılıçturgay, 2003).

2.7. Amiloidozis' te Makroskopik Bulgular

Farelerde amiloidoziste klinik semptomlar genellikle belirgin olmadığı için, tanı biyopsi materyalinin histopatolojik takibi veya nekropside ortaya çıkar. Hastalık, memelilerde tanının konulmasından itibaren genellikle aylar veya birkaç yıl kadar

sürer ve dokularda yıkım, sonraki süreç içerisinde de ölümle sonuçlanabilir (Landman, 1998). Makroskobik olarak amiloidli organ, hacimce artmış, solgun ve kesit yüzü kuru bir görünümde (Aydın, 2008).

Deneysel fare modellerinde, amiloidin primer birikim alanı dalaktır ve bunu karaciğer takip eder. Eğer süreç daha da uzarsa böbreklerde de amiloid birikimlerinin şekillendiği gözlenebilir (Noriko ve ark., 2000; Spornova ve ark., 2008). Dalak primer amiloid birikim yeridir. Amiloid önce periarteriyel lenfoid tabakanın periferinde ve atrofik lenfoid dokuda görülür. Bu perifoliküler amiloid, büyük, gri, şeffaf ve tapyoka ve sago taneleri gibi kesit yüzünden çıkıntılıdır. Bu nedenle bu görünüm sago dalak olarak isimlendirilmektedir (Kumar ve ark., 2003-b). Amiloidozis karaciğerde masif büyümeye yol açabilir ve bu tip vakalarda karaciğerin ileri derecede soluk, grimsi ve hem dış yüzeyi, hem de kesit yüzeyi yağimsi bir görünümde (Sanjiv ve ark., 1984; Kumar ve ark., 2003-a). Sık olmamakla birlikte insanlarda portal hipertansiyon (Itescu, 1984) ve intrahepatik koleastazis (Fauci ve ark., 2008) bulguları bildirilmiştir. Koagülasyon anormallikleri hepatik amiloidozlu canlılarda gözlenen, faktör X yetmezliğine bağlı şekillenen bir bulgudur (Stone, 1990).

Böbrek ve kalp gibi hayati organlardaki amiloidozis (Stone, 1990; Noriko ve ark., 2000) öldürücüdür. Köpek ve kedilerde amiloidozis' ten primer olarak etkilenen organlar böbreklerdir, ancak karaciğer ve dalakta etkilenebilir. Amiloidli böbrekler solgun, opak ve sarı-turuncu kahverengimsi görünümde (Gri, şeffaf amiloid bölgeleri kortekste noktalar ve medullar bölgelerde çizgiler şeklinde ortaya çıkar. Hastalığın nedeni genellikle yaygın fungal enfeksiyonlar, nokardiyozis gibi enfeksiyonlar ve kronik irinli lezyonlardır. Genel hastalık belirtileri yanında özellikle nefropatik belirtiler (örn. periferik ödem) ve bununla ilgili laboratuvar bulguları (proteinüri, hipoproteinemi vb.) (Scheno ve ark., 1996) ortaya çıkar. Tromboz oluşumu nedeniyle pulmoner, koroner, renal ve bağırsak arterleri tıkanabilir (Kumar ve ark., 2003-a). Atlarda multinodüler deri lezyonları ile karakterize bir amiloidozis şekli görülür. Bu hayvanların baş, boyun ve göğüs bölgesinde 5 mm den 10 cm ye kadar değişen büyüklükteki lezyonlar bulunur (Arda ve ark., 1994; Aydın, 2008).

2.8. Amiloidozis' te Histopatolojik Bulgular

Mikroskopik incelemede amiloid daima hücre dışı birikir (Sipe, 1994). Hematoksilen eozin boyamasında amiloid, amorf ve eozinofilik bir yapı olarak görünür (Stone, 1990; Kumar ve ark., 2003-a). Kongo kırmızısı ile boyamasında amiloid birikimi olan yerler turuncu renkte olup, polarize filtre altında yeşilimtırak (elma yeşili) renkte yansıma verir (Puchtler ve ark., 1962).

Dalakta histopatolojik olarak amiloid büyük kitleler halinde özel dendritik hücreler çevresinde, arteria sentralislerin adventisya tabakası ve düz kas hücreleri etrafında, kapsülde, foliküllerin merkezinde ve çevresinde yer yer nekroz alanları ile beraber pembe renkli amorf birikimler halinde görülür (Mambule ve ark., 2000; Kumar ve ark., 2003-a; Aydın, 2008;). Ayrıca AA amiloidozisli farelerin dalaklarında promegakaryosit benzeri hücrelerin varlığından söz edilmiş, fakat amiloid ile ilişkisi açıklanamamıştır (Rosemary ve Cathcart, 1998).

Karaciğerde Disse aralıkları ile sinuzoidleri döşeyen hücrelerin altında, kapsulada, parankimadaki damarlar çevresinde pembe renkli amorf birikimlere rastlanılır (Sorenson ve ark., 1964; Cohen at al., 1978; Cohen ve Skinner, 1982; Fuks ve ark., 1985). Bu birikimler hepatositleri ve sinuzoidleri baskı altında bırakarak, hepatositlerde basınç atrofisine ve nekroza yol açar (Kumar ve ark., 2003-a).

Böbrek dokusunda amiloid, böbrek glomerülleri ile tubullerin bazal membranları ve küçük arteriollerde birikir. Glomeruluslar içerisinde amiloid, başlangıçta kapillar damarların bazal membranları boyunca, mezengial matriks içinde toplanır. Birikim, glomerulusun bir segmentinde fokal bölgeler şeklinde başlar ve her glomerulusun bütün bölgelerini progresif olarak etkileyecek şekilde yayılır. Glomerulus ve tubul sekonder hasarı, proteinüri (Stone, 1990), tubul lumenlerinde hyalin silindirleri ve nekrozlar görülebilir (Kumar ve ark., 2003-a; Özdemir ve ark., 2006; Aydın, 2008).

2.9. AA Amiloidozis' te Teşhis, Tedavi ve Korunma Yolları

Amiloidin makroskopik teşhisinde “Lugol testi” uygulanır. Bu amaçla nekropsi sırasında alınan doku, tespit solüsyonuna alınmadan önce kesit yüzeyine Lugol solüsyonu dökülür. Amiloid pozitif alanlar koyu kahve renk alır. Daha sonra bu yüzeylere %1' lik Sülfürik asit dökülür. Amiloid pozitif alanlar koyu mavi-menekşe rengini alır (Erer ve ark., 2000). Amiloidin mikroskopik teşhisinde alınan 4-5µm lik kesitler Kongo kırmızısı ile boyanarak polarize filtre altında incelenir. Amiloid pozitif sahalar polarize filtre altında yeşilimtırak (elma yeşili) renkte yansımalar verir. Bunun yanı sıra immunohistokimyasal yöntem ile uygun primer antikolar kullanılarak amiloid pozitif sahalar tespit edilir (Peperkamp ve ark., 1997).

Kanatlılarda ve diğer türlerde prekürsör protein SAA' nın serumdaki konsantrasyonlarının yükselme sebebi kronik bakteriyel enfeksiyonlar (Landman ve ark., 1998) ve streşir (Alsemgeest ve ark., 1995). Amiloidozis bir kez başladıktan sonra dokulardaki amiloid birikimlerinin ortadan kaldırılması mümkün değildir. Bu noktadan sonra yapılabilecek en iyi şey, daha fazla amiloid oluşumunu engellemek için süregelen yangısal aktiviteyi durdurmaktır. Bunun için süregelen akut faz reaksiyonuna yol açan hastalık veya stres faktörünün saptanarak ortadan kaldırılması gerekmektedir. Bu durum bazı vakalarda başarılı olurken bazılarında ise başarısız olmuştur (Hawkins ve Pepys, 1990; Hawkins ve ark., 1993).

Amiloidozisin baskılanmasında bugüne kadar kolşisin (Kisilevsky ve ark., 1983; Takahashi ve ark., 1985), Hidrokortizon, Dekzametazon, Metilprednizolon, Tenidap (Husebeek ve Stenstad, 1996), Triptolide (Dan ve ark., 2007) ve etken maddesi Pentoksifilin olan Trental (Sevimli ve ark., 2004; Sevimli ve ark., 2005) gibi ilaçlar kullanılmıştır (Koj, 1998). Metilprednizolon beşeri ve veteriner hekimlikte kullanılan, immunsupressif ve antiinflammatuar etkili sentetik adrenokortikal bir ilaçtır (Wandinger ve ark., 1998; Xu ve ark., 1998; Hodge ve ark., 1999). Metilprednizolon dokularda lökosit göçünü, fagositoz olayını, ödem oluşumunu, kapillar damar dilatasyonunu (Pitzalis ve ark., 1997; Hodge ve ark., 1999) önleyici

etkiye sahiptir. Metilprednizolon ayrıca IL-1 β , IL-6, TNF- α ' yı baskılayıcı özelliğe sahiptir (Pitzalis ve ark., 1997; Xu ve ark., 1998; Stanton ve ark., 1999). Tavuklarda deneysel olarak amiloid artropati çalışmalarında (Sevimli ve ark., Sevimli ve ark., 2008; Sevimli ve ark., 2013-b) metilprednizolonun amiloid oluşumunu baskılamış olduğu tespit edilmiştir. Metilprednizolon insan hekimliğinde romatoid artrit, glomerulonefritis ve multiple skleroz gibi kronik yangısel hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Pitzalis ve ark., 1997; Stanton ve ark., 1999). Metilprednizolonun ratlarda ayrıca granülasyon dokusu gelişiminde glikozaminoglikan, kollajen ve nükleik asit birikimlerini azaltıcı etkisi de bildirilmiştir (Latoo ve ark., 1989).

Farelerde yapılan diyetteki yağ ve kolesterolün sistemik amiloid A amiloidozis üzerine etkisini araştıran deneysel bir çalışmadan elde edilen bulgulara göre, yağ ve/veya kolesterolden zengin gıdalarla beslenmenin indüklenmiş (kazein ve Freund's adjuvant emülsiyonu ile) amiloidozisin şiddet ve yaygınlığını artırdığı sonucuna varılmıştır. Bu nedenle diyetle yağ ve kolesterol kısıtlamasına gidilmesinin amiloidozis hastalarında kötü prognoza karşı etkili bir önlem olabileceği ve dolaşımdaki IL-6 ve plazma total lipit seviyelerindeki düşüşün bunda özellikle etkili olabileceği kanaatine varılmıştır (Alasonyalılar, 2008).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanı

Çalışmada, Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edilen toplam 120 adet, 7 haftalık, "Swiss albino" ırkı, 25' er gr'lık dişi fareler kullanıldı.

3.2. Deneysel Ortam

Çalışmanın deneysel aşaması, Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde fare araştırmalarına ait özel bir odada yapıldı. Fareler temin edilmeden önce odanın temizliği ve sterilizasyonu %10'luk formaldehit (344198, Merck, Almanya) fumigasyonu ile yapıldı. Kapının girişine dezenfektan (CUHMW457, SPP Foot, Türkiye) içeren ayak havuzu konuldu. Odanın ışık yoğunluğu albino hayvanlar için 40 lüks (beyaz floresan lamba ile 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlık), sıcaklık 20 – 24 °C, nispi nem oranı % 50 olarak ayarlandı. Fareler her kafeste (50 x 30 x 30 cm' lik) 10' ar adet fare olacak şekilde, (10x12=120) barındırıldı.

3.3. Beslenme

Çalışmada hayvanlar ticari fare pelet yem (Tam Yem, Korkutelim Yem A.Ş., Antalya) (Ek-1*) ile 8 hafta süresince *ad libitum* olarak beslenildi ve içme suları her gün yenilendi. Farelerin altlıkları gün aşırı değiştirildi. Farelerin her türlü bakım, temizlik ve besleme işlemleri iki kişi tarafından yürütüldü ve odaya başka kişilerin girmesine izin verilmedi (A.U. ve A.S.) (*Çalışmada kullanılan yemin açık formülü ekler bölümünde verilmiştir).

3.4. Deneysel Gruplandırma ve Çalışma Takvimi

Fareler çalışmanın başlangıcından, sonuna kadar 8 hafta boyunca yapılacak uygulamalara göre 6 eşit gruba ayrıldılar (n:20). Grupların oluşturuluşu ve yapılan uygulamalar şu şekildedir:

3.4.1. Grup 1 (K-ip) (Negatif kontrol grubu-1)

Bu gruptaki farelere 8. ve 10. haftalarda birer kez %0,9' luk NaCl solüsyonu (B05BB01, Eczacıbaşı-Baxter, Türkiye) intraperitoneal olarak 0,3 ml uygulandı.

3.4.2. Grup 2 (K-sc) (Negatif kontrol grubu-2)

Bu gruptaki farelere 8. ve 10. haftalarda birer kez %0,9' luk NaCl solüsyonu (B05BB01, Eczacıbaşı-Baxter, Türkiye) karın bölgesine subkutan olarak 0,3 ml uygulandı.

3.4.3. Grup 3 (CF-ip) (Deney grubu-1)

Bu gruptaki farelere 8. ve 10. haftalarda birer kez Complete Freund's Adjuvant (CFA) (F5881-10X, Sigma, U.S.A.) + Kazein (218680, Merck, Almanya) emülsiyonu 0,3 ml intraperitoneal olarak uygulandı.

3.4.4. Grup 4 (CF-sc) (Deney grubu-2)

Bu gruptaki farelere 8. ve 10. haftalarda birer kez Complete Freund's Adjuvant (CFA) (F5881-10X, Sigma, U.S.A.) + Kazein (218680, Merck, Almanya) emülsiyonu 0,3 ml karın bölgesine subkutan olarak uygulandı.

3.4.5. Grup 5 (CFD-ip) (Tedavi grubu-1)

Bu gruptaki farelere 8. ve 10. haftalarda birer kez Complete Freund's Adjuvant (CFA) (Sigma, F5881-10X, U.S.A.) + Kazein (218680, Merck, Almanya) emülsiyonu 0,3 ml intraperitoneal enjeksiyonunu takiben etken maddesi metilprednizolon olan Depo-Medrol[®] isimli kortikosteroid arka sol bacağına 10 mg/kg dozda kas içi uygulandı.

3.4.6. Grup 6 (CFD-sc) (Tedavi grubu-2)

Bu gruptaki farelere 8. ve 10. haftalarda birer kez Complete Freund's Adjuvant (CFA) (Sigma, F5881-10X, U.S.A.) + Kazein (218680, Merck, Almanya) emülsiyonu 0,3 ml karın bölgesine subkutan enjeksiyonunu takiben etken maddesi metilprednizolon olan Depo-Medrol[®] isimli kortikosteroid arka sol bacağına 10 mg/kg dozda kas içi uygulandı.

3.5. Anestezi, Sakrifikasyon, Nekropsi, Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması

İlk enjeksiyonları takiben 8 hafta sonunda (15 haftalık) tüm fareler tartıldı. Rahat ve ağrısız bir şekilde kan almak amacı ile farelere ksilazin & ketamin anestezisi uygulandı. Bu amaçla her bir fareye 10 mg/kg dozda ksilazin, 100 mg/kg dozda ketamin intraperitoneal yolla insülin enjektörü yardımı ile verildi. Tüm hayvanların

kalplerinden kan alınarak 4 ml' lik serum tüplerine (454204, Vacuette, USA) boşaltıldı. Fareler henüz anestezi altında iken servikal dislokasyon ile sakrifiye edilerek nekropsileri yapıldı. Nekropside tüm hayvanların karaciğer, dalak ve böbrek dokusundan parçalar alınarak %10 luk tamponlu formaldehit içerisinde konuldu.

3.5.1. Complete Freund's Adjuvant-Kazein Emülsiyonu

Steril Complete Freund's Adjuvant (CFA) (F5881-10X, Sigma, U.S.A.) ve steril Phosphate Buffered Saline (PBS) eşit miktarda (12 ml) alınarak karıştırıldı. Karışıma 8 mg/ml oranında olacak şekilde toz kazein (218680, Merck, Almanya) katılarak karıştırıldı ve steril enjektörlere 0,3 ml çekildi (Linke ve ark., 1975).

3.5.2. Tartım İşlemleri

Yapılan uygulamalardan doğan gruplar arası farklılıkların saptanması amacıyla, 7 haftalık yaştaki 25'er gr ağırlığında seçilen farelerin, 15. haftanın sonunda, öncelikle canlı ağırlıkları kaydedildi. Canlı ağırlık tartımları, dijital hassas terazi (PCB 1000-1, KERN, Almanya) ile yapıldı. Bunun dışında çalışma sırasında kullanılan kimyasal maddelerin tartımları da, dijital hassas terazide (BP-110S, Sartorius, Almanya) gerçekleştirildi.

3.5.3. Doku Örneklerinin İşlenmesi

Alınan dokular % 10' luk tamponlu formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Kırksekiz saatlik tespit işlemini takiben, değişik derecelerde (%70, 80, 90, 100) alkol, ksilol ve parafin serisi içeren ototeknikon cihazına (TP 1020, Leica, Almanya) alındı. Granüllü parafinle (327212, Sigma, Almanya) bloklanan dokular mikrotom ile (RM 2155, Leica, Almanya) 5 mikrometre (μm) kalınlığında kesildi. Karaciğer, dalak ve

böbrekler amiloid birikimi açısından değerlendirilmek üzere, Hematoksilen-Eosin (H.E.) ve Kongo kırmızısı ile boyandı. Kongo kırmızısı pozitif boyanan sahalar ışık mikroskopunda (ECLIPSE 80i, Nikon, Japonya) polarize filtre (C-SP 756526, Nikon, Japonya) altında amiloidin olup olmaması açısından kontrol edildi. Dokularda immunohistokimyasal boyama yöntemi ile amiloid A, IL-1 β , IL-6 ve TNF- α ' ya bakıldı.

3.5.4. Hematoksilen-Eosin Boyama Protokolü

1. Hazırlanan kesitler deparafinizasyon işlemi için ksilollere alındı (3x3 dakika)
2. Hidrasyon işlemi için kesitler dereceli alkollerden geçirilerek distile suya alındı (4x3 dakika).
3. Kesitler Harris Hematoksilen solüsyonunda 10 dakika bekletildikten sonra 5 dakika akar suda yıkandı.
4. Fazla boyanın alınması için asit alkolden geçirilen kesitler amonyaklı suya alındı.
5. Eosinde 5 dakika bekletilen kesitler akar suda 2 dakika yıkandı. Dereceli alkol serisine alınan kesitler (4x3 dakika) kurutularak daha sonra ksilollere alındı (3x3 dakika).
6. Boyanmış olan preparatlar entellan (107961, Merck, Almanya) ve lamelle kapatıldı.

3.5.5. Kongo Kırmızısı Boyama Protokolü

Dokularda amiloid varlığını gözlemlemek için "Alkaline Congo red" (Puchtler, Sweat & Levine's Congo red) metodu uygulandı (Puchtler ve ark., 1962).

1. Kesitler deparafinizasyon işleminden geçirilerek, distile su aşamasına getirildi.
2. Çekirdeklerin boyanması için kesitler Mayer hematoksilen (109249, Merck, Almanya) ile 5 dakika boyandı; akarsuda 10 dakika mavi renk alıncaya kadar yıkandı.

3. Stok Solüsyonu-1 (Doymuş alkolik tuz solüsyonu I) için 800 ml etil alkol (2500, Merck, Almanya) içerisine 200 ml distile su ve 20 gr sodyum chloride (567440, Merck, Almanya) ilave edildi. Stok solüsyonundan 50 ml alınıp içerisine 0,5 ml %1' lik w/v (w: kütle-ağırlık / v: hacim) sodium hydroxide (106498, Merck, Almanya) eklenerek doymuş alkolik tuz çalışma solüsyonu hazırlanarak kesitler bu solüsyonda 20 dakika bekletildi. Çalışma solüsyonlarının taze olarak hazırlanmasına özen gösterildi.
4. Daha sonra çalışma solüsyonu-2 hazırlanarak, kesitler bu solüsyonda da 20 dakika bekletildi. Bunun için stok solüsyonu-1' den 500 ml alınarak içerisine 1 gr Kongo kırmızısı toz (1013400025, Merck, Almanya) eklenildi ve böylece Kongo kırmızısı stok solüsyonu hazırlanmış oldu. Kongo kırmızısı stok solüsyonundan 50 ml alınarak içerisine 0,5 ml %1' lik w/v sodium hydroxide (106498, Merck, Almanya) eklenerek çalışma solüsyonu hazırlandı. Çalışma solüsyonlarının taze olarak hazırlanmasına özen gösterildi.
5. Kesitler, absolut alkolden 3 kere (her seferinde 5 kez daldırılıp çıkartılarak) geçirilerek yıkandı.
6. Dehidrasyon aşamasından sonra kesitler ksilolden geçirilerek entellan (107961, Merck, Almanya) ve lamelle kapatıldı.

3.5.6. İmmunohistokimya (IHC) Protokolü

Çalışmada, Amiloid A primer antikoru (Ab2539, Abcam, U. K.), IL-1 β primer antikoru (Sc-7884, Santa Cruz, U.S.A.), IL-6 primer antikoru (Ab6672, Abcam, U.K.) ve TNF- α primer antikoru (Pa-1079, Boster Biological Technology, U.K.) kullanıldı. Sekonder antikor olarak (Sa-2010, Boster Biological Technology, U.K.) (Goat Anti-mouse IgG) kullanıldı. Primer antikorlar amiloid A 1/160, IL-1 β 1/200, IL-6: 1/500, TNF- α : 1/500 oranında sulandırıldı. Kromojen olarak 3,3'-diaminobenzidine (DAB) (00-2020, Zymed, U.S.A.), zemin boyaması için Mayer Hematoksilen kullanıldı. Amiloid A, IL-1 β , IL-6, TNF- α için yapılan immun boyamada karaciğer, böbrek ve dalak dokusunda boyanma yok (-), hafif şiddette boyanma (+1), orta şiddette boyanma (+2) ve şiddetli boyanma (+3) olarak iki kişi

tarafından değerlendirildi (A.U. ve A.S.) (Vermeirsch ve ark., 2001; Mısırlıoğlu ve ark., 2006).

Amiloid A, IL-1 β , IL-6, ve TNF- α antikor varlığı Streptavidin-Biotin-Peroksidaz Kompleks yöntemi ile boyandı. Bu yöntemeye göre;

1. 5 μ ' luk parafin kesitler polilizinli adhesive lama çekilerek, 37 $^{\circ}$ C' lik etüvde 60 dakika bekletildi.
2. Deparafinizasyon işlemi için ksilole (2x5dakika) alınan kesitler daha sonra %70' lik alkol solüsyonlarından geçirildi (2x5dakika).
3. Dokulardaki antijeni açığa çıkarmak için sitrat buffer solüsyonu (C9999, Sigma, Almanya) içersine alınan kesitler mikrodalga fırında, 700 watt'lık devirde 4 x 5 dakikalık ısıtma işlemine tabii tutuldu. Kesitler soğuması için sitrat buffer solüsyonunda 20 dakika bekletildi.
4. Fazla antikor kaybını önlemek amacıyla dokuların etrafı pap pen kalem (ab2601, Abcam, U.K.) ile çizilerek önce distile suda, sonra Phospat Buffer Saline (PBS) de (P3813, Sigma, Almanya) 2x5 dakika yıkandı.
5. Endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için dokular %3' lük Hidrojen Peroksit (H₂O₂) (386790, Merck, Almanya) solüsyonunda 5 dakika bekletildi ve daha sonra kesitler PBS'de 5 dakika yıkandı.
6. Zemin boyamasını engellemek için dokular üzerine protein bloke edici solüsyon (Sa2010, Boster Biological Technology, U.K.) ilave edilerek 30 dakika bekletildi.
7. Dokular yıkanmadan üzerine primer antikor konup (TNF- α 1/500, IL-1 β 1/200, IL-6 1/500, Amiloid A 1/160 oranında sulandırılarak) 1 gece 4 $^{\circ}$ C de inkübe edildi.
8. Dokular PBS' de 5 dakika yıkandıktan sonra dokular üzerine biotinlenmiş ve fareye karşı hazırlanmış keçi antikorunu "Goat Anti Mouse-sekonder antikor" (Sa2010, Boster Biological Technology, U.K.) sekonder antikor damlatılarak 20 dakika bekletildi.
9. Dokular PBS'de 2x5 dakika yıkandıktan sonra üzerine Streptavidin Peroksidaz Kompleks (SABC-POD) (Sa2010, Boster Biological Technology, U.K.) damlatılarak 20 dakika bekletildi.

10. Dokular PBS'de 2x5 dakika yıkandıktan sonra üzerine 3,3' -Diaminobenzidin (DAB) damlatılarak 3 dakika oda ısısında beklendi (50 µl DAB 1 ml substrat ile sulandırıldı) (Ab64238, Abcam, U.K.).

11. Dokular PBS'de 2x5 dakika yıkandıktan sonra karşı boyama yapmak için üzerine Mayer hematoksilin solüsyonu (109249, Merck, Almanya) damlatılarak 2 dakika bekletildi.

12. Dokular 5 dakika akar suda yıkandıktan sonra dokular alkol (%96, 100) ve ksilol serisinden geçirilerek (1x3 dakika) geçirilerek üzerleri entellan (107961, Merck, Almanya) ve lamelle kapatıldı (True, 1991; Jackson ve Blythe, 2008).

3.6. Preparatların İncelenmesi

Hematoksilin-Eosin ve Kongo kırmızısı ile beraber immunohistokimyasal metotla boyanmış preparatlar görüntülü (ECLIPSE 80i, Nikon, Japonya) ve polarize ataçmanlı (C-SP 756526, Nikon, Japonya) mikroskopta iki kişi tarafından skorlandı (A.U. ve A.S.).

3.6.1. Mikroskopik Olarak Dokuların Skorlanması

Karaciğer, dalak ve böbrek dokusunda hücre infiltrasyonları, nekroz, yağ doku hücrelerinde artış ve bağ doku artışı H.E ile; amiloid birikimlerine ise, Kongo kırmızısı ve immunohistokimyasal olarak boyanmış preparatlar ile bakıldı. Dokuların H.E, Kongo kırmızısı ve immunohistokimyasal boyama skorlanmasında karaciğer, dalak ve böbrekte, amiloid birikiminin şiddeti, yangı hücrelerinin yaygınlığı ve nekrozun varlığı ve bağ dokunun artışı açısından değerlendirilmiştir. Şiddetine göre 10' luk büyütmedeki bir mikroskop sahasında pozitif boyanma ve yansımanın olmaması negatif (-), hafif şiddette ise (+1), orta şiddette ise (+2), şiddetli ise (+3) olarak değerlendirilirken, yaygınlıkta negatiflik (0), %1' den az (1), %1-9 arası (2), %10-32 arası (3), %33-65 arası (4) ve %65 (5) üzeri şeklinde değerlendirildi (Vermeirsch ve ark., 2001; Mısırlıoğlu ve ark., 2006).

3.7. Kan Analizleri

Çalışma sonunda 4 ml' lik serum tüplerine (454204, Vacuette, U.S.A.) alınan kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dk santrifüje (EBA 21, Hettich, Almanya) edilerek serumları ayrıldı. Serum örnekleri biyokimyasal analizler ve diğer parametrelerin ölçümleri için derin dondurucuda -20 °C' de analiz gününe kadar saklandı. Elde edilen serumlardan ELISA yöntemi ile SAA (CSB-E08590, CusaBio, China), IL-1 β (EK-0394, Boster Biological Technology, U.K.), IL-6 (EK-0411, Boster Biological Technology, U.K.), TNF- α (EK-0527, Boster Biological Technology, U.K.) değerlerine bakıldı. Ölçümler Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yapıldı.

3.7.1. Reagentlerin Hazırlanması ve Saklanması

TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve SAA standart solüsyonları ve biyotinlenmiş anti-fare TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve SAA antikor çalışma solüsyonları uygulamaya başlanmadan en fazla 1 saat önce hazırlandı. Solüsyonlar her bir kuyucuk için 0,1 ml olacak şekilde uygun miktarda hazırlandı. Biyotinlenmiş anti-fare TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve SAA antikorları, antikor sulandırma buffer solüsyonu yardımı ile 1:100 oranında sulandırıldı ve hızlıca karıştırıldı. Avidin-Biyotin-Peroksidaz Kompleks (ABC) çalışma solüsyonunda, uygulamaya başlanmadan en fazla 1 saat önce hazırlandı. Solüsyon her bir kuyucuk için 0,1 ml olacak şekilde yeteri miktarda hazırlandı. ABC, ABC sulandırma solüsyonu yardımıyla 1:100 oranında sulandırıldı ve hızlıca karıştırıldı.

3.7.2. ELISA Test Prosedürü

Avidin Biotin Peroksidaz Kompleks (ABC) çalışma solüsyonu ve Tetramethybenzidine (TMB) renk geliştirme ajanı kullanılmadan önce 30 dakika boyunca 37 °C' ye kadar ısıtıldı. Numuneler ve reaktifler sulandırılırken tamamen

eşit miktarlarda karıştırıldı. Standart antikor (TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve SAA) tespit eğrileri, her bir uygulama için hazır hale getirildi. Numunelerde tahmini TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve SAA miktarları, kaba dilüsyon katları halinde belirlendi. Buna göre:

3.7.3. Serum TNF- α Ölçümü

- a) Her bir kuyucuk başına 1000-15,6 pg/ml olacak şekilde 0,1 ml TNF- α (EK0527, Boster, U.S.A.) standart solüsyonu hazırlanarak 96 kuyucuklu plaka içine konuldu. Blank kuyucuğuna (Kontrol) 0,1 ml' lik örnek sulandırma buffer solüsyonundan eklendi. Uygun şekilde sulandırılmış fare serumu numunelerinden, her bir kuyucuğa 0,1 ml eklendi.
- b) Plakanın kapağı kapatıldıktan sonra hafifçe çalkalanarak 37 °C de 90 dakika boyunca inkübe edildi.
- c) Daha sonra plaka kapağı kaldırılarak, plaka içeriği döküldü ve bir kağıt havlu yardımıyla kurulandı.
- d) Ardından her bir kuyucuğa, 0,1 ml biyotinlenmiş anti-fare TNF- α antikor solüsyonu eklendi ve plaka 37 °C de 60 dakika boyunca inkübe edildi.
- e) 0,01 M PBS ile plaka 3 kez yıkandı.
- f) Her bir kuyucuğa hazırlanan ABC çalışma solüsyonundan 0,1 ml eklendi ve 30 dakika boyunca plaka 37 °C de inkübe edildi.
- g) 0,01 M PBS ile plaka 5 kez yıkandı.
- h) Hazırlanan TMB renk geliştiriciden, plakadaki her bir kuyucuğa, 90 μ l eklendi ve 37 °C de 25-30 dakika boyunca, karanlık ortamda inkübe edildi.
- ı) Her bir kuyucuğa TMB durdurma solüsyonundan 0,1 ml eklendi ve rengin hızlıca sarıya dönüştüğü gözlemlendi.
- i) Durdurma çözeltisi ilave edildikten sonra, 30 dakika içinde bir mikropilaka okuyucusu (MR-96A, Mindray, U.S.A.) yardımıyla O. D. (optik dansite) 450 nm absorbansta okundu. Cihaz tarafından çizilen standart eğri, cihaz yardımı ile otomatik olarak hesaplanarak sonuçlar elde edildi.

3.7.4. Serum IL-1 β Ölçümü

- a) Her bir kuyucuk başına 0,1 ml miktarda, 800-12.5 pg/ml' lik oranlarda fare IL-1 β (EK0394, Boster, U.S.A.) standart solüsyonundan, önceden kaplanmış olan 96 kuyucuklu plaka içine konuldu. Blank kuyucuğuna 0,1 ml' lik örnek sulandırma buffer solüsyonundan eklendi. Uygun şekilde sulandırılmış fare serumu numunelerinden, her bir kuyucuğa 0,1 ml eklendi.
- b) Plakanın kapağı kapatıldıktan sonra hafifçe çalkalanarak 37 °C de 90 dakika boyunca inkübe edildi.
- c) Daha sonra plaka kapağı kaldırılarak, plaka içeriği döküldü ve bir kağıt havlu yardımıyla kurulandı.
- d) Ardından her bir kuyucuğa, 0,1 ml biyotinlenmiş anti-fare IL-1 β antikor solüsyonu eklendi ve plaka 37 °C de 60 dakika boyunca inkübe edildi.
- e) 0,01 M PBS ile plaka 3 kez yıkandı.
- f) Her bir kuyucuğa hazırlanan ABC çalışma solüsyonundan 0,1 ml eklendi ve 30 dakika boyunca plaka 37 °C de inkübe edildi.
- g) 0,01 M PBS ile plaka 5 kez yıkandı.
- h) Hazırlanan TMB renk geliştiriciden, plakadaki her bir kuyucuğa, 90 μ l eklendi ve 37 °C de 25-30 dakika boyunca, karanlık ortamda inkübe edildi.
- i) Her bir kuyucuğa TMB durdurma solüsyonundan 0,1 ml eklendi ve rengin hızlıca sarıya dönüştüğü gözlemlendi.
- j) Durdurma çözeltisi ilave edildikten sonra, 30 dakika içinde bir mikropilaka okuyucusu (MR-96A, Mindray, U.S.A.) yardımıyla O. D. 450 nm absorbansta okundu. Cihaz tarafından çizilen standart eğri, cihaz yardımı ile otomatik olarak hesaplanarak sonuçlar elde edildi.

3.7.5. Serum IL-6 Ölçümü

- a) Her bir kuyucuk başına 0,1 ml miktarda, 1000 - 15,6 pg/ml' lik oranlarda fare IL-6 (EK0411, Boster, U.S.A.) standart solüsyonundan, önceden kaplanmış olan 96 kuyucuklu plaka içine konuldu. Blank kuyucuğuna 0,1 ml' lik örnek sulandırma

buffer solüsyonundan eklendi. Uygun şekilde sulandırılmış fare serumu numunelerinden, her bir kuyucuğa 0,1 ml eklendi.

b) Plakanın kapağı kapatıldıktan sonra hafifçe çalkalanarak 37 °C de 90 dakika boyunca inkübe edildi.

c) Daha sonra plaka kapağı kaldırılarak, plaka içeriği döküldü ve bir kağıt havlu yardımıyla kurulandı.

d) Ardından her bir kuyucuğa, 0,1 ml biyotinlenmiş anti-fare IL-6 antikor solüsyonu eklendi ve plaka 37 °C de 60 dakika boyunca inkübe edildi.

e) 0,01 M PBS ile plaka 3 kez yıkandı.

f) Her bir kuyucuğa hazırlanan ABC çalışma solüsyonundan 0,1 ml eklendi ve 30 dakika boyunca plaka 37 °C de inkübe edildi.

g) 0,01 M PBS ile plaka 5 kez yıkandı.

h) Hazırlanan TMB renk geliştiriciden, plakadaki her bir kuyucuğa, 90 µl eklendi ve 37 °C de 25-30 dakika boyunca, karanlık ortamda inkübe edildi.

i) Her bir kuyucuğa TMB durdurma solüsyonundan 0,1 ml eklendi ve rengin hızlıca sarıya dönüştüğü gözlemlendi.

i) Durdurma çözeltisi ilave edildikten sonra, 30 dakika içinde bir mikropilaka okuyucusu (MR-96A, Mindray, U.S.A.) yardımıyla O. D. 450 nm absorbansta okundu. Cihaz tarafından çizilen standart eğri, cihaz yardımı ile otomatik olarak hesaplanarak sonuçlar elde edildi.

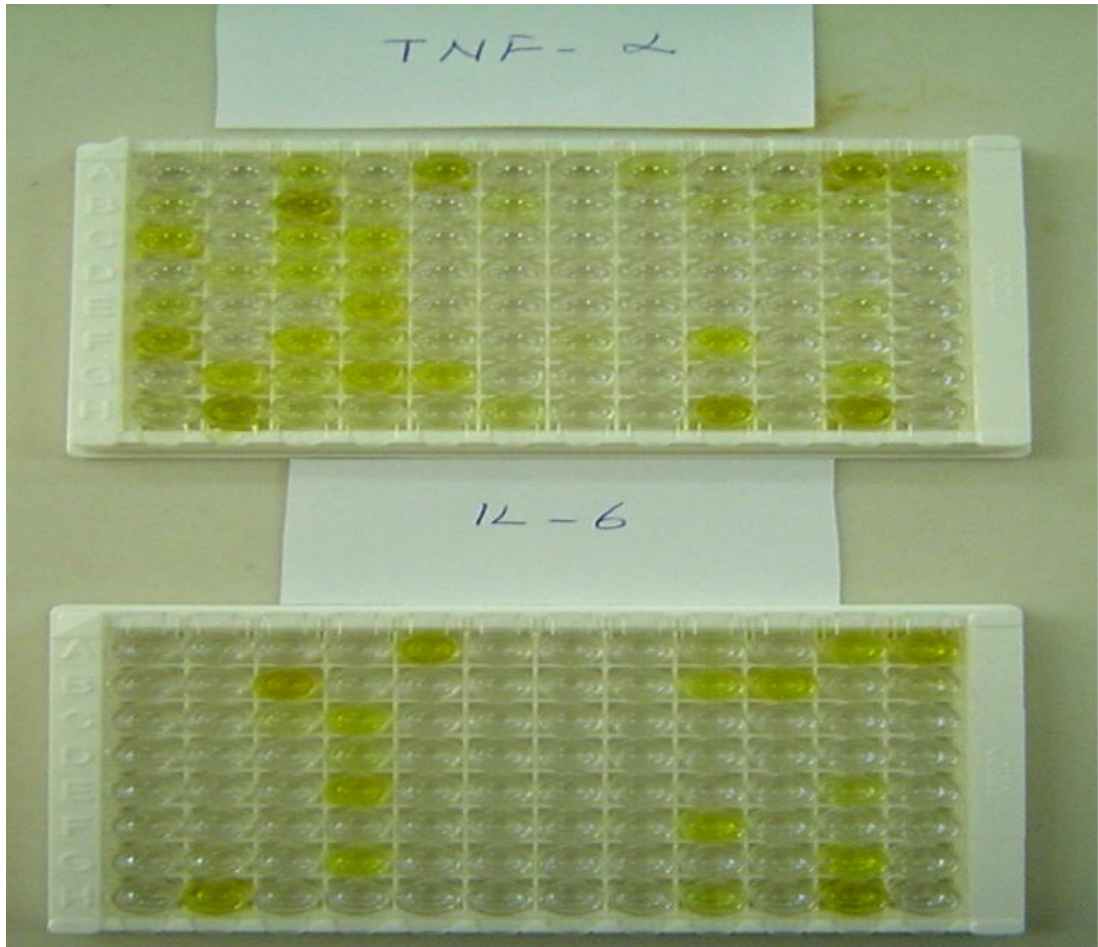
3.7.6. Serum SAA Ölçümü

a) Her bir kuyucuk başına 0,1 ml miktarda, 40 - 0,625 pg/ml oranlarda fare SAA (CSB-E08591m, Cusabio, U.S.A.) standart solüsyonundan, önceden kaplanmış olan 96 kuyucuklu plaka içine konuldu. Blank kuyucuğuna 0,1 ml' lik örnek sulandırma buffer solüsyonundan eklendi. Uygun şekilde sulandırılmış fare serumu numunelerinden, her bir kuyucuğa 0,1 ml eklendi.

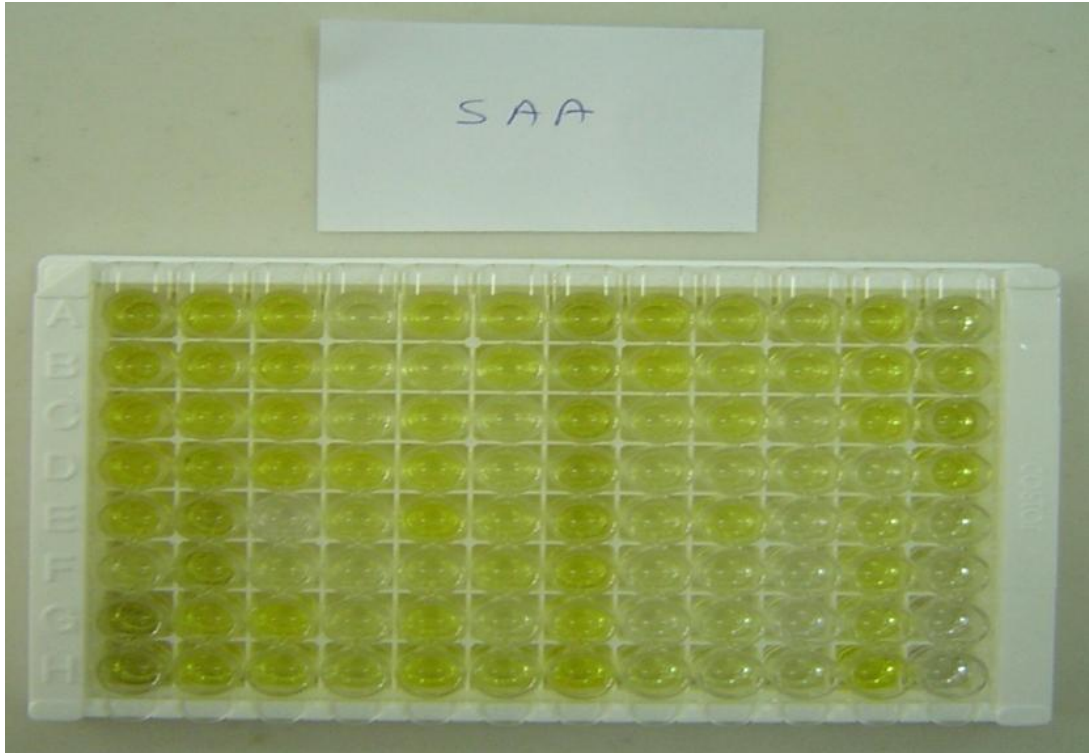
b) Plakanın kapağı kapatıldıktan sonra 37 °C de 120 dakika boyunca inkübe edildi.

c) Ardından her bir kuyucuğa, 0,1 ml biyotinlenmiş anti-fare SAA antikor solüsyonu eklendi ve plaka 37 °C de 60 dakika boyunca inkübe edildi.

- e) Takibinde yıkama solüsyonu ile 3 sefer yıkandı.
- f) Her bir kuyucuğa hazırlanan HRP-avidin çalışma solüsyonundan 0,1 ml eklendi ve 60 dakika boyunca plaka 37 °C de inkübe edildi.
- g) Yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı.
- h) Hazırlanan TMB-Substrattan plakadaki her bir kuyucuğa, 90 µl eklendi ve 37 °C de 20 dakika boyunca, karanlık ortamda inkübe edildi.
- ı) Her bir kuyucuğa durdurma solüsyonundan 0,05 ml eklendi ve rengin hızlıca sarıya dönüştüğü gözlemlendi.
- i) Durdurma çözeltisi ilave edildikten sonra, 30 dakika içinde bir mikropilaka okuyucusu (MR-96A, Mindray, USA) yardımıyla O. D. 450 nm absorbansta okundu. Cihaz tarafından çizilen standart eğri, cihaz yardımı ile otomatik olarak hesaplanarak sonuçlar elde edildi (Şekil 2 ve 3).



Şekil 2. Stop solüsyonundaki TNF- α ve IL-6'nın ELISA görüntüleri.



Şekil 3. Stop solüsyonundaki SAA'nın ELISA görüntüsü.

3.8. İstatistiksel Değerlendirme

Dokulardaki amiloid birikim şiddetinin gruplara göre dağılımı ve canlı ağırlık oranlarının gruplara göre dağılımı ile serum ELISA değerlerinin dağılımının istatistiki değerlerinin saptanmasında; SPSS 18.0.0 for Windows (Release 18.0.0, Copyright© SPSS Inc, The Apache Software Foundation, 1989-2009) programı kullanıldı. Gruplar arası farklılıkların belirlenmesinde Kruskal - Wallis testinden, bu testin uygulanması sonucunda gruplar arası farklılık belirlenen durumlarda, farklılığı oluşturan grup ya da grupların ortaya konmasında ise Nemenyi testinden faydalanıldı (Özdamar, 2004) (Şekil 4).

İstatistiki değerlendirmeler sonucunda $P < 0,05$ değeri istatistiksel olarak önemli, $P < 0,01$ değeri ise istatistiksel olarak çok önemli kabul edildi. Her bir deney grubunun serum değerlerinin birbirileri arasındaki ilişkisini ortaya koymak amacı ile Pearson Korelasyon testi uygulandı. Korelasyon katsayılarının önem kontrolü "t

testi" ile yapıldı. Organlardaki amiloid oluşumu şiddeti oranlarına ilişkin verilerin istatistik analizlerinde de; SPSS 18.0.0 for Windows (Release 18.0.0, Copyright© SPSS Inc, The Apache Software Foundation, 1989-2009) programından yararlanılarak "Ki-kare" testleri yapıldı (Özdamar, 2004).

Nemenyi Testi için gerekli olan MSD (Minimum Significant Difference) değerinin hesaplanmasında Şekil 4.' te verilen formül esas alındı.

$$SE = \sqrt{\frac{k(n+1)}{12}}$$

**6 grup için:
q = 4,03**

$$MSD = SE * q$$

Şekil 4. Nemenyi Testi Hesaplaması
(SE: Standart Error, n: Toplam Gözlem Sayısı, k: Grup Sayısı.)

3.9. Etik Kurul İzni ve Deney Hayvanı Kullanma Sertifikası

Bu çalışmada deney hayvanı kullanılması ve deney hayvanları üzerinde ki belirtilen deneysel işlemlerin yapılabilmesi için Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu' nun 27.08.2010 tarih, 66-10 referans ve 140 sayı numaralı kararı ile onay alınmıştır. Deney hayvanları üzerinde ki deneysel muameleler Deney Hayvanı Kullanımı ve Bakımı Sertifikasyonuna sahip bir araştırmacı (A.S.) (Deney Sertifikası No: 00-45/2009) tarafından yürütülmüştür.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulguları

4.1.1. Grup 1 (K-ip) (Negatif kontrol grubu-1)

Bu gruptaki hayvanlarda herhangi bir klinik bulgu gözlenmedi.

4.1.2. Grup 2 (K-sc) (Negatif kontrol grubu-2)

Bu gruptaki hayvanlarda herhangi bir klinik bulgu gözlenmedi.

4.1.3. Grup 3 (CF-ip) (Deney grubu-1)

Bu grupta 10. haftadaki enjeksiyonu takiben 4 hayvan öldü. Gruptaki tüm hayvanlarda 8. ve 10. haftalardaki enjeksiyonları takiben, hayvanların enjeksiyon bölgesini yaladıkları ve karınlarını yere bastırmaları ile karakterize şiddetli abdominal ağrı belirtileri gösterdikleri gözlemlendi. Enjeksiyonu takip eden 48 saat boyunca hayvanların durgunlaştıkları, tüylerinde hafif karışıklığın olduğu ve yem tüketimlerinde azalma olduğu tespit edildi. Yetmiş ikinci saatte ise hayvanlarda klinik olarak herhangi bir bulguya rastlanılmadı.

4.1.4. Grup 4 (CF-sc) (Deney grubu-2)

Bu grupta 10. haftadaki enjeksiyonu takiben 1 hayvan öldü. Gruptaki tüm hayvanlarda 8. ve 10. haftalardaki enjeksiyonları takiben, hayvanların enjeksiyon bölgesini yaladıkları ve karınlarını yere bastırmaları ile karakterize şiddetli abdominal ağrı belirtileri gösterdikleri gözlemlendi. Enjeksiyonu takip eden 24 saat boyunca hayvanların durgunlaştıkları, tüylerinde hafif karışıklığın olduğu ve yem tüketimlerinde azalma olduğu tespit edildi. Kırk sekizinci saatte ise hayvanlarda klinik olarak herhangi bir bulguya rastlanılmadı.

4.1.5. Grup 5 (CFD-ip) (Tedavi grubu-1)

Gruptaki tüm hayvanlarda 8. ve 10. haftalardaki enjeksiyonları takiben, hayvanların enjeksiyon bölgesini yaladıkları ve karınlarını yere bastırmaları ile karakterize şiddetli abdominal ağrı belirtileri gösterdikleri gözlemlendi. Enjeksiyonu takip eden 48 saat boyunca hayvanların durgunlaştıkları, tüylerinde hafif karışıklığın olduğu ve yem tüketimlerinde azalma olduğu tespit edildi. Yetmiş ikinci saatte ise hayvanlarda klinik olarak herhangi bir bulguya rastlanılmadı.

4.1.6. Grup 6 (CFD-sc) (Tedavi grubu-2)

Gruptaki tüm hayvanlarda 8. ve 10. haftalardaki enjeksiyonları takiben, hayvanların enjeksiyon bölgesini yaladıkları ve karınlarını yere bastırmaları ile karakterize şiddetli abdominal ağrı belirtileri gösterdikleri gözlemlendi. Enjeksiyonu takip eden 24 saat boyunca hayvanların durgunlaştıkları, tüylerinde hafif karışıklığın olduğu ve yem tüketimlerinde azalma olduğu tespit edildi. Kırk sekizinci saatte ise hayvanlarda klinik olarak herhangi bir bulguya rastlanılmadı.

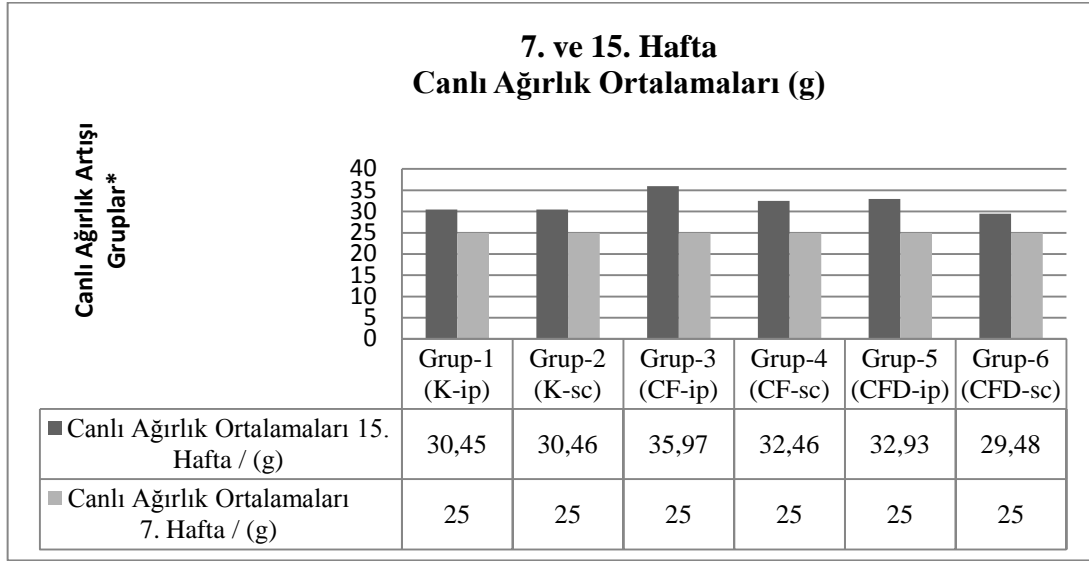
4.2. Canlı Ağırlık Bulguları

Çalışma gruplarının oluşturulması esnasında, 7 haftalık iken, her biri 25 g ortalama canlı ağırlığa sahip olan hayvanların, çalışmanın sonlandırıldığı 15. haftada, her birinin nekropsi öncesinde canlı ağırlıkları tartılarak ölçüldü. Çalışmanın 15. haftasında gruplara göre hayvanların canlı vücut ağırlık oranları ve gruplar arasındaki farklılıklar Tablo-4' te verilmiştir. Çalışmanın 8. ve 15. haftasında gruplara göre hayvanların canlı ağırlık ortalamaları Şekil-5' te verilmiştir. Bu bulgulara göre Grup-3' te ki canlı ağırlık artışının, diğer gruplara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiş olup (Şekil 5), bu artışın Grup-1, Grup-2 ve Grup-6' da ki canlı ağırlık artışlarına göre istatistiksel açıdan anlamlı olduğu görüldü ($p<0,05$) (Tablo 4).

Tablo 4. Gruplara göre hayvanların canlı vücut ağırlık oranları.

Gruplar*	Grup-1 (K-ip)	Grup-2 (K-sc)	Grup-3 (CF-ip)	Grup-4 (CF-sc)	Grup-5 (CFD-ip)	Grup-6 (CFD-sc)	MSD=27,93
Grup-1 (K-ip)		1,4	33,31 ^a	9,91	16,53	9,35	
Grup-2 (K-sc)			31,91 ^b	8,51	15,13	10,75	
Grup-3 (CF-ip)				23,4	16,78	42,66 ^c	
Grup-4 (CF-sc)					6,62	19,26	
Grup-5 (CFD-ip)						25,88	
	Grup-1	Grup-2	Grup-3	Grup-4	Grup-5	Grup-6	
Ortalama Değer	38,75	40,15	72,06	48,66	29,4	55,28	

a - c: Karşılıklı sütun ve satırlardaki değişik harfler ile gösterilen gruplar arası farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$) (Kruskal-Wallis ve Nemenyi Farklı Veri Gruplarının Karşılaştırılması Testi). *Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.



Şekil 5. 7 ve 15 Haftalık yaşta gruplardaki hayvanların canlı ağırlık ortalamaları. *Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.

4.3. Nekropsi Bulguları

Tüm gruplardaki hayvanların çalışmanın 15. haftası sonunda nekropsileri yapılarak, nekropsi bulguları değerlendirildi. Buna göre:

4.3.1. Grup 1 (K-ip) (Negatif kontrol grubu-1)

Bu gruptaki hayvanların nekropsilerinde herhangi bir makroskopik bulguya rastlanılmadı (Şekil 6).

4.3.2. Grup 2 (K-sc) (Negatif kontrol grubu-2)

Bu gruptaki hayvanların nekropsilerinde herhangi bir makroskopik bulguya rastlanılmadı (Şekil 7).

4.3.3. Grup 3 (CF-ip) (Deney grubu-1)

Bu grupta 10. haftadaki enjeksiyondan sonra ölen 4 hayvanın nekropsisinde herhangi bir makroskobik bulguya rastlanılmadı. Bu gruptaki tüm hayvanların (16/16, %100) nekropsileri sonucunda; enjeksiyon bölgesinde ve deri altında herhangi bir makroskobik lezyona rastlanılmadı. Karın boşluğu muayenesinde peritonun karın duvarına ve diğer iç organlara hafiften şiddetliye kadar değişen derecelerde yer yer yapıştığı, peritonda yaygın fibrozisin şekillendiği ve peritonun oldukça kalınlaştığı gözlemlendi.

Nekropsi esnasında bu gruptaki hayvanların 3 tanesinde karın boşluğunda asites gözlemlendi ve bu hayvanların her birinde biriken sıvının yaklaşık 3 ml olduğu tespit edildi. Tüm hayvanların karaciğerlerinin kapsulasında ve parankiminde yaklaşık olarak 1-5 mm çapında boz-beyaz renkli odaklara rastlandı. Bu alanların kesit yüzeyleri de benzer görünümdeydi. Tüm hayvanların karaciğerlerinin büyüyerek, kenarlarının kısmen veya yaygın bir biçimde kütleleşmiş olduğu dikkati çekti (Şekil 8. A, B, C, D) (Tablo 5).

Karaciğerde gözlenen bu bulgulara benzer lezyonlara dalakta da rastlanıldı (%100) (Şekil 8. C) (Tablo 5). Böbreklerin muayenesinde ise 9 hayvanda (%56) yaklaşık olarak 1-5 mm çapında boz-beyaz renkli odaklara rastlandı. Bu alanların kesit yüzeyleri de benzer görünümdeydi (Şekil 8. D) (Tablo 5). Nekropside bağırsakların mezenteriyumunda kalınlaşmalar ile birlikte, mezenteriyel lenf düğümlerinde büyüme gözlemlendi (Tablo 5).

4.3.4. Grup 4 (CF-sc) (Deney grubu-2)

Bu grupta enjeksiyondan sonra ölen 1 hayvanın nekropsisinde herhangi bir makroskobik bulguya rastlanılmadı. Bu gruptaki hayvanların nekropsilerinde, enjeksiyon bölgesinde deri altında yaklaşık 1-5 mm çapında, etrafı sınırlı, içi kazeöz

materyal ile dolu şişliklere rastlandı (Şekil 9. A, B, D) (Tablo 5). Karın boşluğu açıldığında 2 hayvanda asites gözlendi ve bu hayvanlarda biriken sıvı 2 ml kadardı. Hayvanlardan 5 tanesinde, (%26) karaciğerlerinin kapsulasında ve parankiminde yaklaşık olarak 1-3 mm çapında boz-beyaz renkli odaklara rastlandı. Bu alanların kesit yüzeyleri de benzer görünümdeydi. Bu hayvanların karaciğerlerinin büyüyerek kenarlarının kısmen kütleşmiş olduğu ve kıvamın sertleştiği dikkati çekti (Şekil 9. B, C, D) (Tablo 5).

Dalakta ise 4 hayvanda (%21) karaciğerdekine benzer lezyonlara rastlandı. Yine dalağın hafif bir şekilde büyüdüğü ve kenarlarının kısmen kütleşmiş olduğu görüldü (Şekil 9. B) (Tablo 5). Nekropside hayvanlardan 2 tanesinin (%11) böbreğinde yaklaşık olarak 1-3 mm çapında boz beyaz renkli odaklara rastlandı. İki hayvanda mezenteriyel lenf düğümlerinde büyümeye rastlanıldı (Tablo 5). Genel olarak bu grupta gözlenen lezyonların şiddeti, Grup-3' te gözlenen lezyonlara kıyasla daha hafif şiddette olduğu görüldü.

4.3.5. Grup 5 (CFD-ip) (Tedavi grubu-1)

Bu gruptaki hayvanların enjeksiyon bölgesinde ve deri altında herhangi bir makroskobik lezyona rastlanılmadı. Karın boşluğunun muayenesinde, iç organların birbirlerine ve peritona hafiften şiddetliye kadar değişen derecelerde yapıştığı görüldü.

Nekropside 1 hayvanda asites oluşumuna rastlandı ve bu hayvanda biriken sıvının yaklaşık 3 ml olduğu tespit edildi. Tüm hayvanların (%100) karaciğerlerinin kapsulasında ve parankimasında yaklaşık olarak 1-5 mm çapında boz-beyaz renkli odaklara rastlandı. Bu alanların kesit yüzeyi de benzer görünümde idi. Ayrıca tüm hayvanların karaciğerinin büyüyerek kenarlarının kısmen kütleşmiş olduğu görüldü (Şekil 10. A, B) (Tablo 5).

Dalakta, karaciğerde gözlenen lezyonlara benzer lezyonlar görüldü. On yedi hayvanın dalağında (%85) hafif şiddette büyüme ile beraber kenarlarının kütleşmiş olduğu tespit edildi (Şekil 10. A, B) (Tablo 5). Üç hayvanın (%15) böbreğinde yaklaşık olarak 1-3 mm çapında boz-beyaz renkli odaklara rastlandı. Genel olarak bu grupta gözlenen lezyonların şiddeti Grup-3' e kıyasla daha hafifken, Grup-4' e kıyasla daha şiddetli olduğu görüldü (Şekil 10. B) (Tablo 5).

4.3.6. Grup 6 (CFD-sc) (Tedavi grubu-2)

Bu gruptaki hayvanların enjeksiyon bölgelerinde deri altında yaklaşık 1-5 mm çapında içi kazeöz materyal ile dolu şişliklere rastlandı (Şekil 11. A) (Tablo 5). Karın boşluğunun muayenesinde, herhangi bir yapışma ile beraber asites olgusuna rastlanılmadı.

Karaciğerin muayenesinde, 2 hayvanda (%10) kapsulada ve parankimada yaklaşık olarak 1-3 mm çapında boz-beyaz renkli odaklara rastlandı. Bu hayvanların karaciğerinde büyüme ve kenarlarında kütleşme yok idi (Şekil 11. B, C) (Tablo 5).

Dalakta ve böbrekte herhangi bir lezyona rastlanılmadı. Bağırsakların mezenteryumlarında da herhangi bir fibrozis bulgusu gözlenmezken, sadece 2 hayvanın mezenteriyal lenf düğümlerinde büyümeye rastlanıldı (Tablo 5). Genel olarak bu grupta gözlenen lezyonların şiddeti Grup-3, 4 ve 5' te kilere kıyasla daha hafif şiddette idi.

Tablo 5. Deneysel gruplardaki hayvanların nekropsilerindeki makroskopik lezyonların gruplardaki hayvan sayılarına göre dağılımı.

Grup* / Lezyon	Grup I (K-ip)	Grup II (K-sc)	Grup III (CF-ip)	Grup IV (CF-sc)	Grup V (CFD-ip)	Grup VI (CFD-sc)
Subkutan Kazeifiye Şişkinlik	0/20 %0	0/20 %0	0/16 %0	19/19 %100	0/20 %0	20/20 %100
Peritoneal Fibrozis	0/20 %0	0/20 %0	16/16 %100	0/19 %0	20/20 %100	0/20 %0
Asites	0/20 %0	0/20 %0	3/16 %19	2/19 %11	1/20 %5	0/20 %0
Karaciğerde Boz-Beyaz Odaklar	0/20 %0	0/20 %0	16/16 %100	5/19 %26	20/20 %100	2/20 %10
Karaciğerde Büyüme	0/20 %0	0/20 %0	16/16 %100	5/19 %26	20/20 %100	0/20 %0
Dalakta Boz-Beyaz Odaklar	0/20 %0	0/20 %0	16/16 %100	4/19 %21	20/20 %100	0/20 %0
Dalakta Büyüme	0/20 %0	0/20 %0	16/16 %100	4/19 %21	17/20 %85	0/20 %0
Böbrekte Boz-Beyaz Odaklar	0/20 %0	0/20 %0	9/16 %56	2/19 %11	3/20 %20	0/20 %0
Mezenteriyal Fibrozis	0/20 %0	0/20 %0	16/16 %100	0/19 %0	20/20 %100	0/20 %0
Mezenteriyal Lenf Düğümünde Büyüme	0/20 %0	0/20 %0	16/16 %100	2/19 %11	20/20 %100	2/20 %10

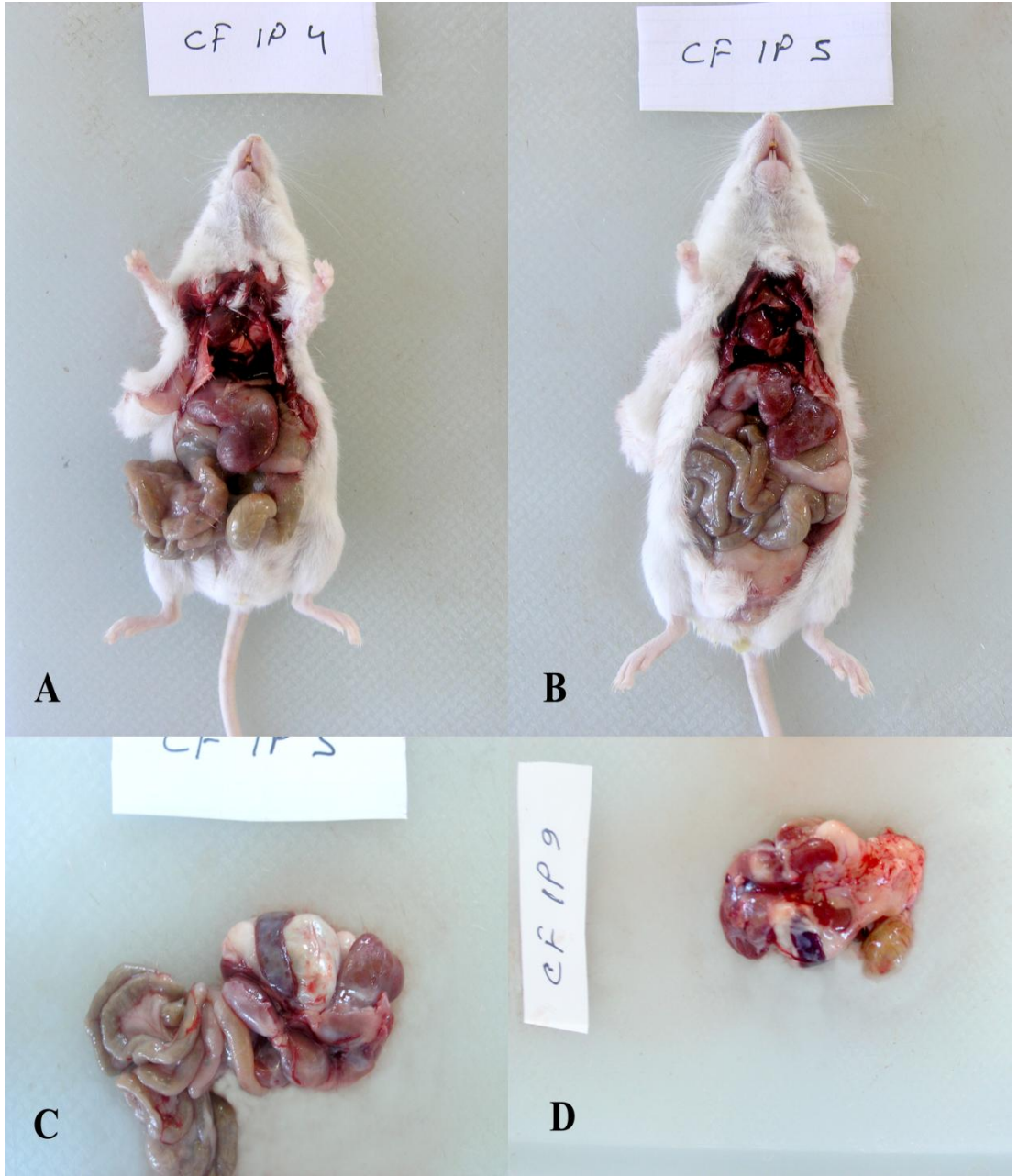
*Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.



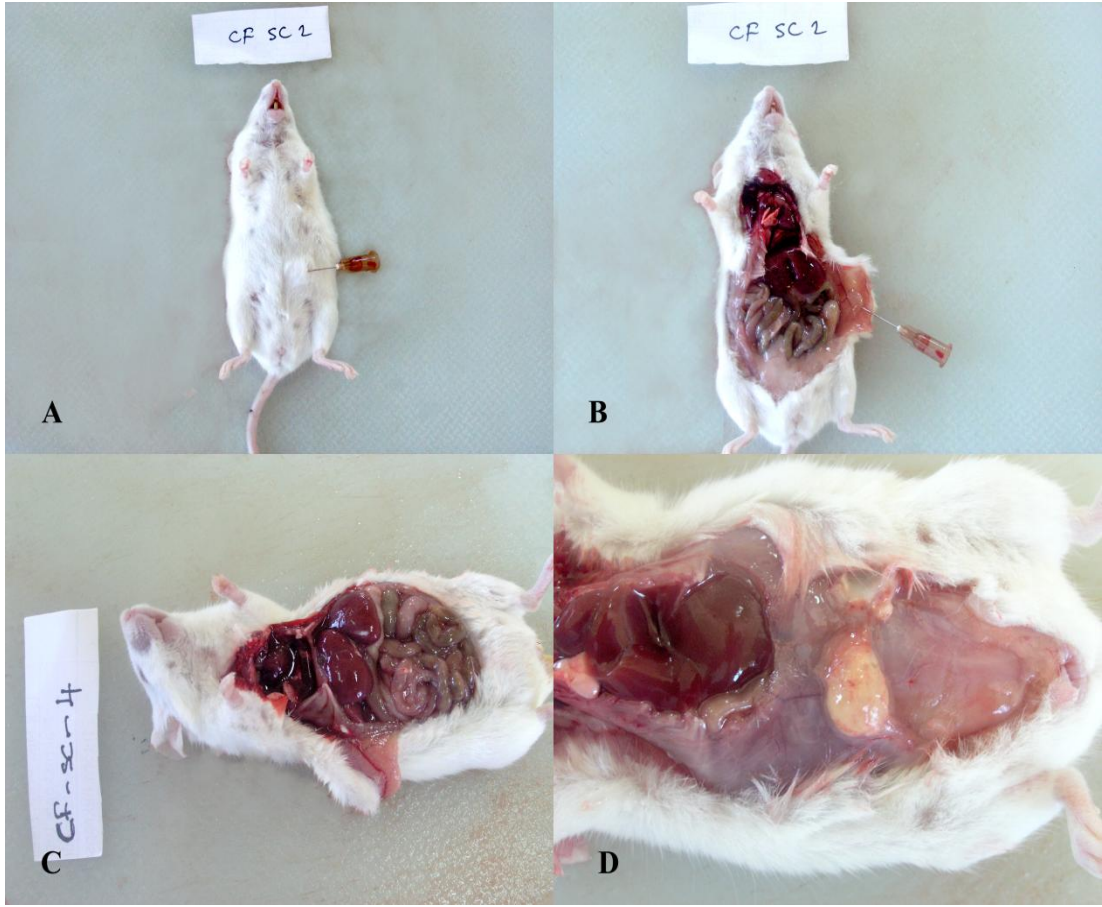
Şekil 6. Grup 1 (K-ip) (Negatif kontrol grubu-1). İntraperitoneal % 0,9' luk NaCl enjeksiyonu sonucunda herhangi bir bulguya rastlanılmadı.



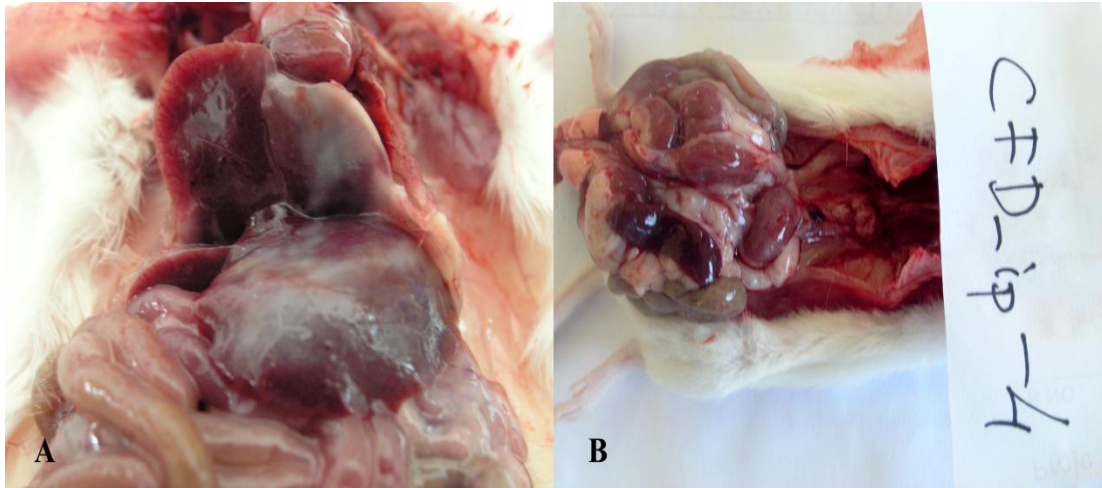
Şekil 7. Grup-2 (K-sc) (Negatif kontrol grubu-2). Subkutan % 0,9' luk NaCl enjeksiyonu sonucunda herhangi bir bulguya rastlanılmadı.



Şekil 8. Grup 3 (CF-ip) (Deney grubu-1). **A-B:** Karaciğerde büyüme ve boz-beyaz renkli odaklar. **C:** Dalakta büyüme ve boz-beyaz renkli odaklar. **D:** Böbrekte boz-beyaz renkli odaklar ve mezenteriyal fibrozis.



Şekil 9. Grup-4 (CF-sc) (Deney grubu-2). Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, **A-B:** Subkutan şişkinlik. **C:** Karaciğerde hafif büyüme. **D:** Subkutan kazeifiye kitle.



Şekil 10. Grup-5 (CFD-ip) (Tedavi grubu-1). Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, **A:** Karaciğerde büyüme ve boz-beyaz renkli odaklar. **B:** Dalakta büyüme ve böbrekte boz-beyaz renkli odaklar ile mezenteriyal fibrozis.



Şekil 11. Grup-6 (CFD-sc) (Tedavi grubu-2). **A-B:** Subkutan şişkinlik ve subkutan kazeifiye kitle. **C:** Karaciğerde boz-beyaz renkli odak.

4.4. Mikroskopik Bulgular

4.4.1. Histopatolojik Bulgular

Hematoksilen-Eosin Boyama Bulguları

Hematoksilen-Eosin ile yapılan boyamalarda karaciğer, dalak ve böbrekte yangısal hücre infiltrasyonlarının yaygınlığına bakılarak değerlendirmeler yapıldı. Buna göre: tüm gruplarda değişen yaygınlıkta yangısal hücre infiltrasyonlarının şekillendiği gözlemlendi. Özellikle Grup-3 ve Grup-5' te, karaciğer, dalak ve böbrek dokularında yangısal hücre infiltrasyonlarının diğer gruplara göre daha yaygın olduğu ve yağ dokusundaki artışın daha fazla olduğu dikkati çekti. Yangısal hücre infiltrasyonlarının baskın bir biçimde mononükleer hücrelerden meydana geldiği gözlenirken az miktarda da polimorfonükleer lökosit (nötrofil) rastlanıldı. Amiloid pozitif dokularda amiloid birikimlerinin Hematoksilen-Eosin ile açık pembe, eozinofilik bir karakterde boyandığı ve amorf yapıda olduğu dikkati çekti.

Kontrol gruplarına ait hayvanların (Grup-1 ve Grup-2) karaciğer, dalak ve böbreklerinde nekroza rastlanmazken (Şekil 12. A, B, C, D, E, F), Grup-3 ve Grup-5' te ki hayvanların karaciğerlerinde; kapsulada, periportal, periasiner ve midzonal bölgede; dalakta, lenfoid folliküllerde; böbrekte ise tubul epitellerinde şiddetli nekroza rastlandı (Şekil 13, 14; A, B, C). Grup-4 ve Grup-6' da ki hayvanlarda ise karaciğer, dalak ve böbreklerde belirtilen alanlarda orta şiddette nekroza rastlandı (Şekil 13, 14; D, E, F).

Tüm deneysel gruplardaki (Grup-3, Grup-4, Grup-5, Grup-6) hayvanlarda çoğunluğunu mononükleer hücrelerin oluşturduğu, daha az sayıda nötrofil lökositlerin bulunduğu yangı hücrelerine, karaciğerde; kapsulada, periportal, periasiner ve midzonal bölgeler ile beraber damarlar çevresinde rastlandı (Şekil 13, 14; A, D).

Karaciğerde yangısal hücre infiltrasyonlarına en yaygın olarak +4 yaygınlıkta, Grup-3' te %68.8 (11/16) oranında rastlanırken, bunu Grup-5 %15 (3/20) oranında takip etti. Yangısal hücre infiltrasyonlarına +3 yaygınlıkta en yüksek, Grup-5' te %40 (8/20) oranında rastlanırken, bunu Grup-3 %31,3 (5/16) oranında takip etti. Yangısal hücre infiltrasyonlarına +2 yaygınlıkta en yüksek, Grup-6' da %55 (11/20) oranında rastlanırken bunu, Grup-4 %36,8 (7/19) ve Grup-5 %25 (5/20) oranında takip etti. Yangısal hücre infiltrasyonlarına +1 yaygınlıkta en yüksek, Grup-4' te %52,6 (10/19) oranında rastlanırken bunu, Grup-6 %25 (5/20), Grup-5, Grup-1 ve Grup-2 %20 (4/20) oranında takip etti (Tablo 6).

Tablo 6. Gruplara göre karaciğerde yangısal hücre infiltrasyonlarının yaygınlık oranları (H.E.).

			Karaciğer H-E ^a					Total
			Yangısal Hücre İnfiltrasyonu					
			,00	1,00	2,00	3,00	4,00	
Grup*	K-ip	Sayı	16	4	0	0	0	20
	Grup-1	Gruptaki yüzdesi	80,0%	20,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
	K-sc	Sayı	16	4	0	0	0	20
	Grup-2	Gruptaki yüzdesi	80,0%	20,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
	CF-ip	Sayı	0	0	0	5	11	16
	Grup-3	Gruptaki yüzdesi	,0%	,0%	,0%	31,3%	68,8%	100,0%
	CF-sc	Sayı	2	10	7	0	0	19
	Grup-4	Gruptaki yüzdesi	10,5%	52,6%	36,8%	,0%	,0%	100,0%
	CFD-ip	Sayı	0	4	5	8	3	20
	Grup-5	Gruptaki yüzdesi	,0%	20,0%	25,0%	40,0%	15,0%	100,0%
	CFD-sc	Sayı	0	5	11	4	0	20
	Grup-6	Gruptaki yüzdesi	,0%	25,0%	55,0%	20,0%	,0%	100,0%
Toplam		Sayı	34	27	23	17	14	115
		Gruptaki yüzdesi	29,6%	23,5%	20,0%	14,8%	12,2%	100,0%

a. Ki-kare testi ile gruplar arası farklılıkların yüzdelerine göre verilmesi. *Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.

Grup-2 haricindeki tüm gruplardaki hayvanlarda, çoğunluğunu mononükleer hücrelerin oluşturduğu, daha az sayıda da nötrofil lökositlerin bulunduğu yangısal hücre infiltrasyonları dalakta kapsulada, trabeküller ve perifolliküler alanlarda gözlendi (Şekil 13, 14; B, E). Dalakta yangısal hücre infiltrasyonlarına en yaygın olarak +4 yaygınlıkta, Grup-3' te %12,5 (2/16) oranında rastlanırken bunu, Grup-5 %10 (2/20) oranında takip etti. Dalakta yangısal hücre infiltrasyonlarına +3

yaygınlıkta en yüksek, Grup-3' te %75 (12/16) oranında rastlanırken bunu, Grup-5 %45 (9/20) ve Grup-6 %10 (2/20) oranında takip etti. Dalakta yangısal hücre infiltrasyonlarına +2 yaygınlıkta, Grup-6' da %80 (16/20) oranında rastlanırken bunu, Grup-4 %52,6 (10/19), Grup-5 %30 (6/20) ve Grup-3 %12,5 (2/16) oranında takip etti. Dalakta yangısal hücre infiltrasyonlarına +1 yaygınlıkta, Grup-4' te %36,8 (7/19) oranında rastlanırken bunu, Grup-5 %15 (3/20), Grup-6 ve Grup-1 %5 (1/20) oranında takip etti. Grup-1' de %95 (19/20), Grup-2' de %100 (20/20), Grup-4' te %10,5 (2/19) ve Grup-6' da %5 (1/20) oranında, dalakta yangısal hücre infiltrasyonlarının hiç şekillenmediği tespit edildi (Tablo 7).

Tablo 7. Gruplara göre dalakta yangısal hücre infiltrasyonlarının yaygınlık oranları (H.E.).

			Dalak H-E ^a					
			Yangısal Hücre İnfiltrasyonu					
			,00	1,00	2,00	3,00	4,00	Total
Grup*	K-ip Grup-1	Sayı	19	1	0	0	0	20
		Gruptaki yüzdesi	95,0%	5,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
	K-sc Grup-2	Sayı	20	0	0	0	0	20
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
	CF-ip Grup-3	Sayı	0	0	2	12	2	16
		Gruptaki yüzdesi	,0%	,0%	12,5%	75,0%	12,5%	100,0%
	CF-sc Grup-4	Sayı	2	7	10	0	0	19
		Gruptaki yüzdesi	10,5%	36,8%	52,6%	,0%	,0%	100,0%
	CFD-ip Grup-5	Sayı	0	3	6	9	2	20
		Gruptaki yüzdesi	,0%	15,0%	30,0%	45,0%	10,0%	100,0%
	CFD-sc Grup-6	Sayı	1	1	16	2	0	20
		Gruptaki yüzdesi	5,0%	5,0%	80,0%	10,0%	,0%	100,0%
Toplam		Sayı	42	12	34	23	4	115
		Gruptaki yüzdesi	36,5%	10,4%	29,6%	20,0%	3,5%	100,0%

a. Ki-kare testi ile gruplar arası farklılıkların yüzdeler dilime göre verilmesi. *Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.

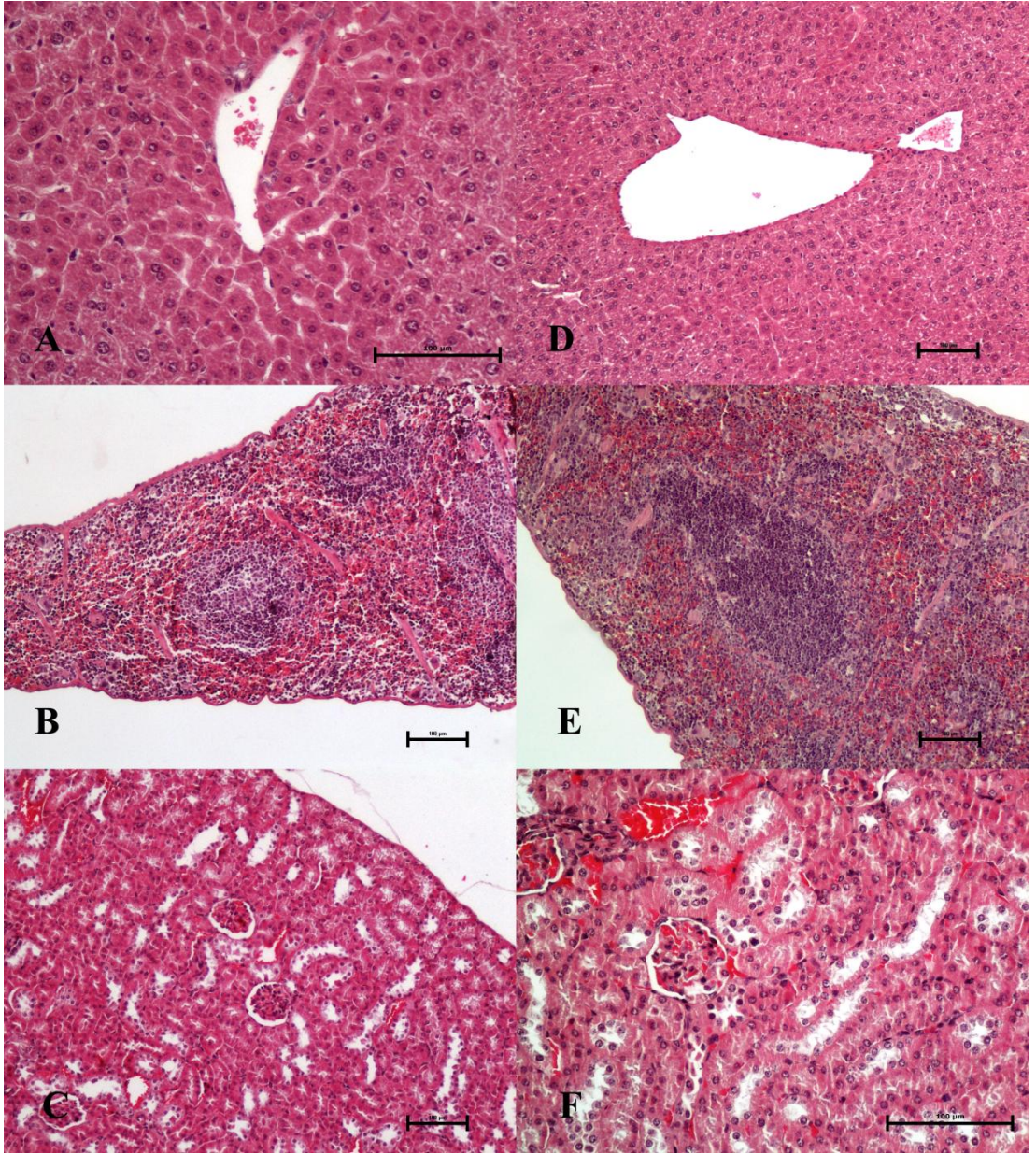
Grup-1 ve Grup-2 haricindeki tüm gruplardaki hayvanlarda çoğunluğunu mononükleer hücrelerin oluşturduğu daha az sayıda da nötrofil lökositlerin bulunduğu yangısal hücre infiltrasyonlarına böbrekte kapsulada, korteks ve medullada intersitisyel alanda rastlandı (Şekil 13, 14. C, F). Böbrekte yangısal hücre infiltrasyonlarına en yaygın olarak +3 yaygınlıkta, Grup-5' te %10 (2/20) oranında rastlandı. Böbrekte yangısal hücre infiltrasyonlarına +2 yaygınlıkta Grup-3' te

%68,8 (11/16) oranında rastlanırken bunu, Grup-6 %40 (8/20) ve Grup-5 %35 (7/20) oranında takip etti. Böbrekte yangısal hücre infiltrasyonlarına +1 yaygınlıkta, Grup-4' te %47,4 (9/19) oranında rastlanırken bunu, Grup-6 %40 (8/20), Grup-3 %31,3 (5/16) ve Grup-5 %30 (6/20) oranında takip etti. Grup-1 ve Grup-2' de %100 (20/20), Grup-4' te %52,6 (10/19), Grup-5' te %25 (5/20) ve Grup-6' da %20 (4/20) oranında, böbrekte yangısal hücre infiltrasyonlarının hiç şekillenmediği tespit edildi (Tablo 8).

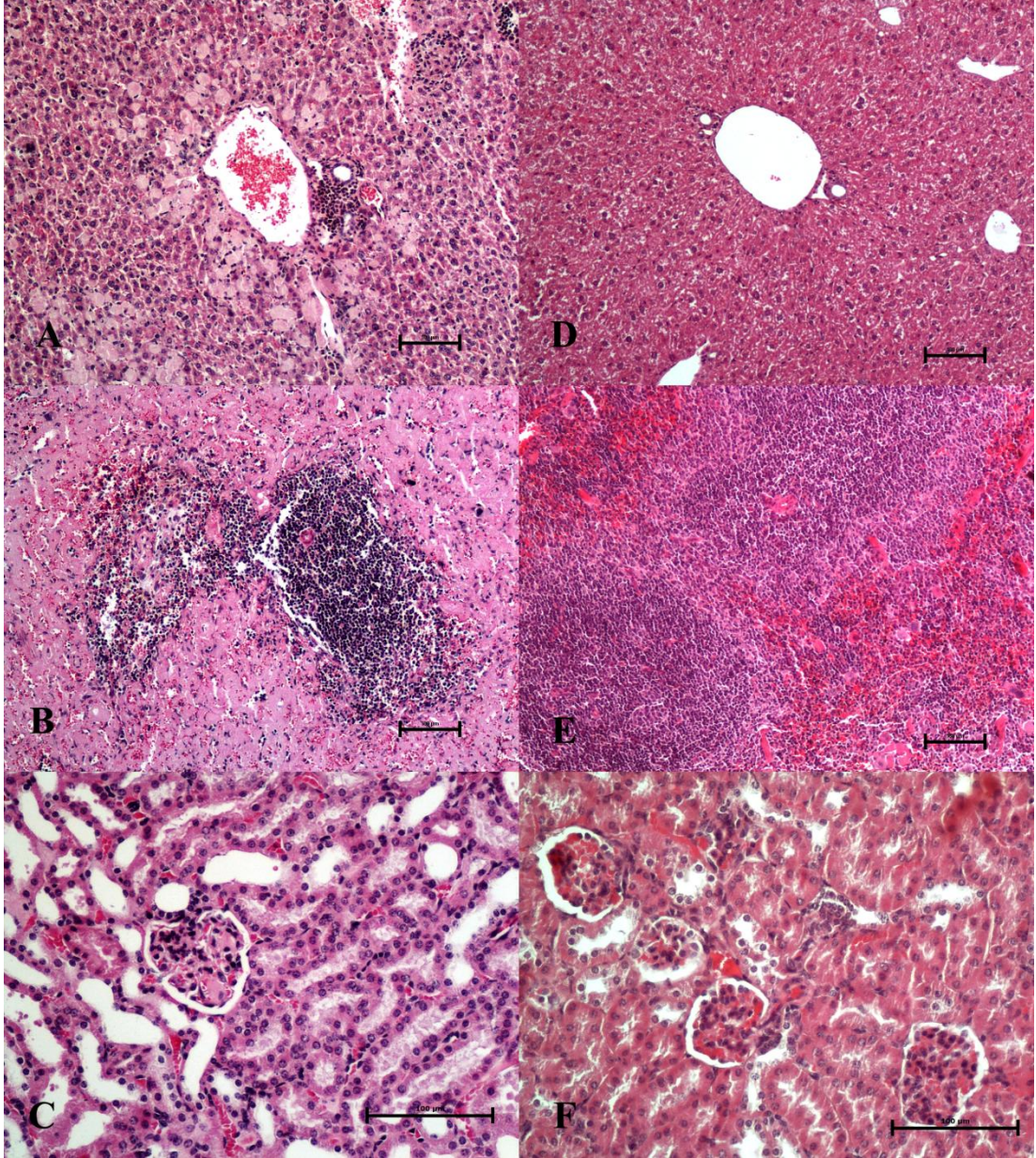
Tablo-8. Gruplara göre böbrekte yangısal hücre infiltrasyonlarının yaygınlık oranları (H.E.).

			Yangısal Hücre İnfiltrasyonu				Total
			,00	1,00	2,00	3,00	
Grup*	K-ip Grup-1	Sayı	20	0	0	0	20
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
	K-sc Grup-2	Sayı	20	0	0	0	20
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
	CF-ip Grup-3	Sayı	0	5	11	0	16
		Gruptaki yüzdesi	,0%	31,3%	68,8%	,0%	100,0%
	CF-sc Grup-4	Sayı	10	9	0	0	19
		Gruptaki yüzdesi	52,6%	47,4%	,0%	,0%	100,0%
	CFD-ip Grup-5	Sayı	5	6	7	2	20
		Gruptaki yüzdesi	25,0%	30,0%	35,0%	10,0%	100,0%
	CFD-sc Grup-6	Sayı	4	8	8	0	20
		Gruptaki yüzdesi	20,0%	40,0%	40,0%	,0%	100,0%
Toplam		Sayı	59	28	26	2	115
		Gruptaki yüzdesi	51,3%	24,3%	22,6%	1,7%	100,0%

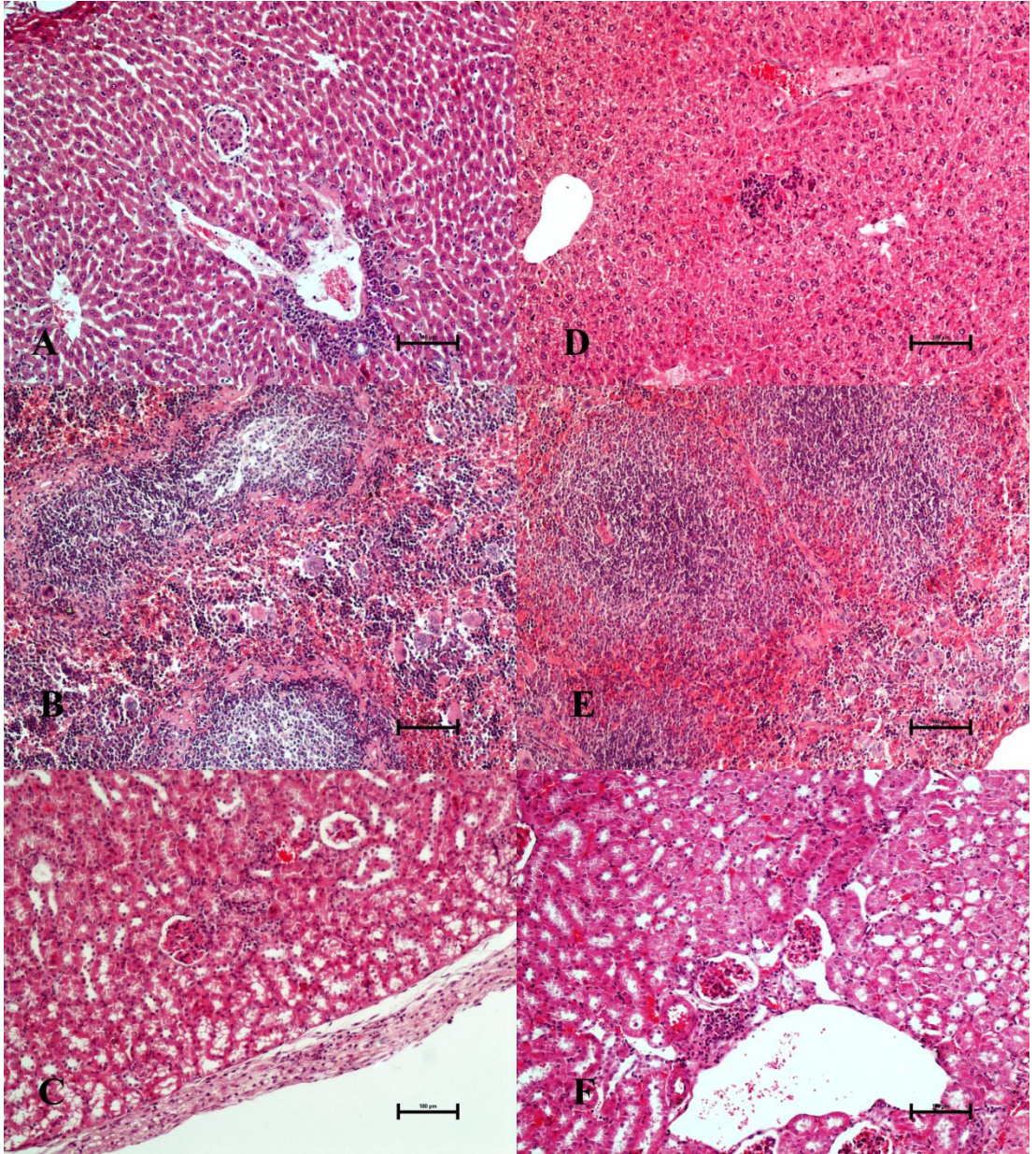
a. Ki-kare testi ile gruplar arası farklılıkların yüzdelerine göre verilmesi. *Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.



Şekil 12. Kontrol grupları normal karaciğer, dalak ve böbrek dokusu. **A:** Grup-1 karaciğer (H.E.) x20 **B:** Grup-1 dalak (H.E.) x10. **C:** Grup-1 böbrek (H.E.) x10. **D:** Grup-2 karaciğer (H.E.) x10. **E:** Grup-2 dalak (H.E.) x10. **F:** Grup-2 böbrek (H.E.) x20. Barlar: 100 µm.



Şekil 13. Deney grupları, karaciğer, dalak ve böbrek dokusu. **A:** Grup-3 karaciğerde +4 yaygınlıkta hücre infiltrasyonu (H.E.) x10 **B:** Grup-3 dalakta +4 yaygınlıkta hücre infiltrasyonu (H.E.) x10. **C:** Grup-3 böbrekte +2 yaygınlıkta hücre infiltrasyonu (H.E.) x20. **D:** Grup-4 karaciğerde +2 yaygınlıkta hücre infiltrasyonu (H.E.) x10. **E:** Grup-4 dalakta +2 yaygınlıkta hücre infiltrasyonu (H.E.) x10. **F:** Grup-4 böbrekte +1 yaygınlıkta hücre infiltrasyonu (H.E.) x20. Barlar: 100 µm.



Şekil 14. Tedavi grupları karaciğer, dalak ve böbrek dokusu. **A:** Grup-5 karaciğerde +3 yaygınlıkta hücre infiltrasyonu (H.E.) x10 **B:** Grup-5 dalakta +4 yaygınlıkta hücre infiltrasyonu (H.E.) x10. **C:** Grup-5 böbrekte +3 yaygınlıkta hücre infiltrasyonu (H.E.) x10. **D:** Grup-6 karaciğerde +2 yaygınlıkta hücre infiltrasyonu (H.E.) x10. **E:** Grup-6 dalakta +3 yaygınlıkta hücre infiltrasyonu (H.E.) x10. **F:** Grup-6 böbrekte +2 yaygınlıkta hücre infiltrasyonu (H.E.) x10. Barlar: 100 μ m.

Kongo Kırmızısı Boyama Bulguları

Kongo kırmızısı ile yapılan boyamalarda karaciğer, dalak ve böbrekte amiloid birikimlerinin şiddetine bakılarak değerlendirmeler yapıldı. Kontrol grupları haricinde tüm gruplarda değişen şiddette amiloid birikimlerinin şekillendiği gözlemlendi. Özellikle Grup-3 ve Grup-5' te, amiloid birikimlerinin diğer gruplara göre daha şiddetli olduğu ve yağ dokusunda ki artışında daha şiddetli olduğu tespit edildi.

Amiloid birikimlerine karaciğerde kapsulada, periasiner, periportal ve midzonal bölgeler ile damarlar çevresinde rastlandı. Kongo kırmızısı boyaması ile turuncu-kırmızı renkte görünen amiloid birikim alanlarının polarize filtrede elma yeşili renkte yansımalar verdiği tespit edildi. Karaciğerde amiloid birikimlerinin öncelikle perivasküler yerleşim gösterdiği gözlemlendi ve birikim şiddeti arttıkça disse aralıkları ile remark kordonlarının amiloid maddesi ile değişen derecelerde dolup genişlediği tespit edildi (Şekil 15, 16; A, B, C, D).

Karaciğerde, şiddetli (+3) amiloid birikimlerine Grup-3' te %6,3 (1/16) oranında rastlandı. Karaciğerde orta şiddette (+2) amiloid birikimlerine Grup-3' te %62,5 (10/16) oranında rastlanırken bunu, Grup-5 %10 (2/20) oranında takip etti. Karaciğerde hafif şiddette (+1) amiloid birikimlerine Grup-4' te %15,8 (3/19) oranında rastlanırken bunu, Grup-5 %15 (3/20), Grup-3 %12,5 (2/16) ve Grup-6 %10 (2/20) oranında takip etti. Grup-1 ve Grup-2' de %100 (20/20), Grup-6' da %90 (18/20), Grup-4' te %84,2 (16/19), Grup-5' te %75 (15/20) ve Grup-3' te %18,8 (3/16) oranında hiç amiloid birikimi (-) şekillenmediği tespit edildi (Tablo 9).

Dalakta amiloid birikimlerinin perifoliküler bir yerleşim gösterdiği ve şiddeti arttıkça yaygınlığının da arttığı izlendi. Çok şiddetli olgularda dalak dokusunun neredeyse tamamının amiloid birikimi ile kaplandığı ve lenfoid folliküllerin nekroze olarak gözden kaybolduğu görüldü. Ayrıca dalak dokusunda trabeküller çevresi ile kapsulada da yer yer amiloid birikimleri gözlemlendi (Şekil 17, 18; A, B, C, D). Dalakta şiddetli (+3) amiloid birikimlerine Grup-3' te %6,3 (1/16) oranında rastlandı. Dalakta orta şiddette (+2) amiloid birikimlerine Grup-3' te %50 (8/16) oranında

rastlanırken bunu, Grup-5 %5 (1/20) oranında takip etti. Dalakta hafif şiddette (+1) amiloid birikimlerine Grup-3' te %25 (4/16) oranında rastlanırken bunu, Grup-5 %20 (4/20), Grup-4 %15,8 (3/19) ve Grup-6 %15 (3/20) oranında takip etti. Grup-6' da %85 (17/20), Grup-4' te %84,2 (16/19), Grup-5' te %75 (15/20) ve Grup-3' te %18,8 (3/16) oranında hiç amiloid birikimi (-) şekillenmediği tespit edildi (Tablo 10).

Böbrek dokusunun Kongo kırmızısı boyamasında, birikimlerin korteks ve medullada intersitisyel alanda, tubullerin bazal membranlarında ve glomerulusların kapillar damar duvarı ile Bowman boşluğunda olduğu gözlemlendi. Böbreklerde bariz glomeruler amiloidozis ve diğer organlara göre amiloid birikim varlığına oldukça az rastlandı (Şekil 19, 20; A, B, C, D). Böbrekte hafif şiddette (+) amiloid birikimlerine Grup-3' te %18,8 (3/16) oranında rastlanırken bunu, Grup-5' in %10 (2/20) oranıyla takip ettiği gözlemlendi. Grup-6' da %100 (20/20), Grup-4' te %100 (19/19), Grup-5' te %90 (18/20) ve Grup-3' te %81,3 (13/16) oranında hiç (-) amiloid birikimi şekillenmediği tespit edildi (Tablo 11).

Tablo 9. Gruplara göre karaciğerde amiloid birikimlerinin şiddet oranları (Kongo kırmızısı)

Karaciğer Kongo Kırmızısı ^a							
			Amiloid Birikimi Şiddeti				Total
			,00	1,00	2,00	3,00	
Grup*	K-ip Grup-1	Sayı	20	0	0	0	20
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
	K-sc Grup-2	Sayı	20	0	0	0	20
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
	CF-ip Grup-3	Sayı	3	2	10	1	16
		Gruptaki yüzdesi	18,8%	12,5%	62,5%	6,3%	100,0%
	CF-sc Grup-4	Sayı	16	3	0	0	19
		Gruptaki yüzdesi	84,2%	15,8%	,0%	,0%	100,0%
	CFD-ip Grup-5	Sayı	15	3	2	0	20
		Gruptaki yüzdesi	75,0%	15,0%	10,0%	,0%	100,0%
	CFD-sc Grup-6	Sayı	18	2	0	0	20
		Gruptaki yüzdesi	90,0%	10,0%	,0%	,0%	100,0%
Toplam		Sayı	92	10	12	1	115
		Gruptaki yüzdesi	80,0%	8,7%	10,4%	,9%	100,0%

a. Ki-kare testi ile gruplar arası farklılıkların yüzdelerine göre verilmesi. *Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.

Tablo 10. Gruplara göre dalakta amiloid birikimlerinin şiddet oranları (Kongo kırmızısı)

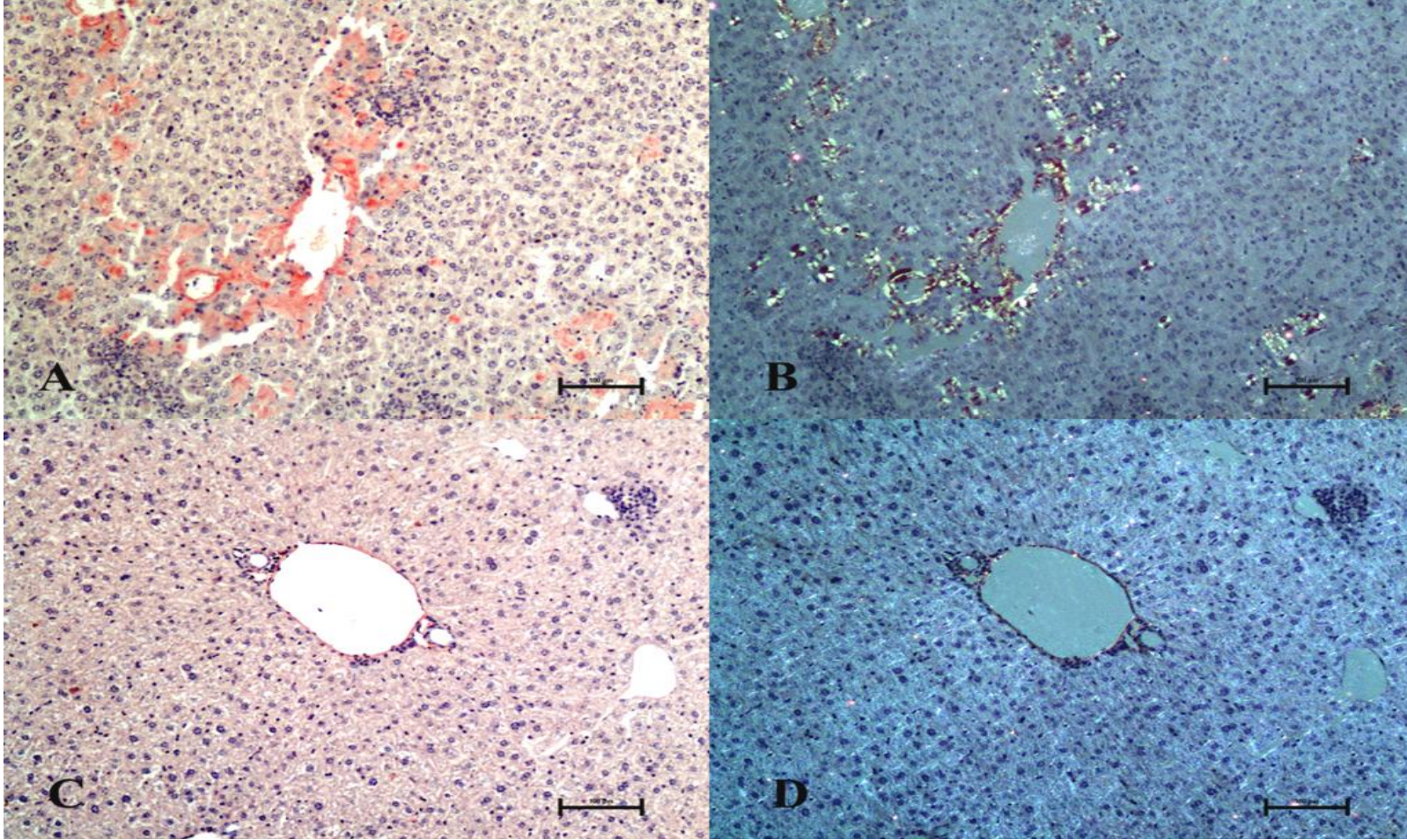
Dalak Kongo Kırmızısı^a							
		Amiloid Birikimi Şiddeti				Total	
		,00	1,00	2,00	3,00		
Grup*	K-ip Grup-1	Sayı	20	0	0	0	20
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
	K-sc Grup-2	Sayı	20	0	0	0	20
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
	CF-ip Grup-3	Sayı	3	4	8	1	16
		Gruptaki yüzdesi	18,8%	25,0%	50%	6,3%	100,0%
	CF-sc Grup-4	Sayı	16	3	0	0	19
		Gruptaki yüzdesi	84,2%	15,8%	,0%	,0%	100,0%
	CFD-ip Grup-5	Sayı	15	4	1	0	20
		Gruptaki yüzdesi	75,0%	20,0%	5,0%	,0%	100,0%
	CFD-sc Grup-6	Sayı	17	3	0	0	20
		Gruptaki yüzdesi	85,0%	15,0%	,0%	,0%	100,0%
Toplam		Sayı	91	14	9	1	115
		Gruptaki yüzdesi	79,1%	12,2%	7,8%	0,9%	100,0%

a. Ki-kare testi ile gruplar arası farklılıkların yüzdelerine göre verilmesi. *Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.

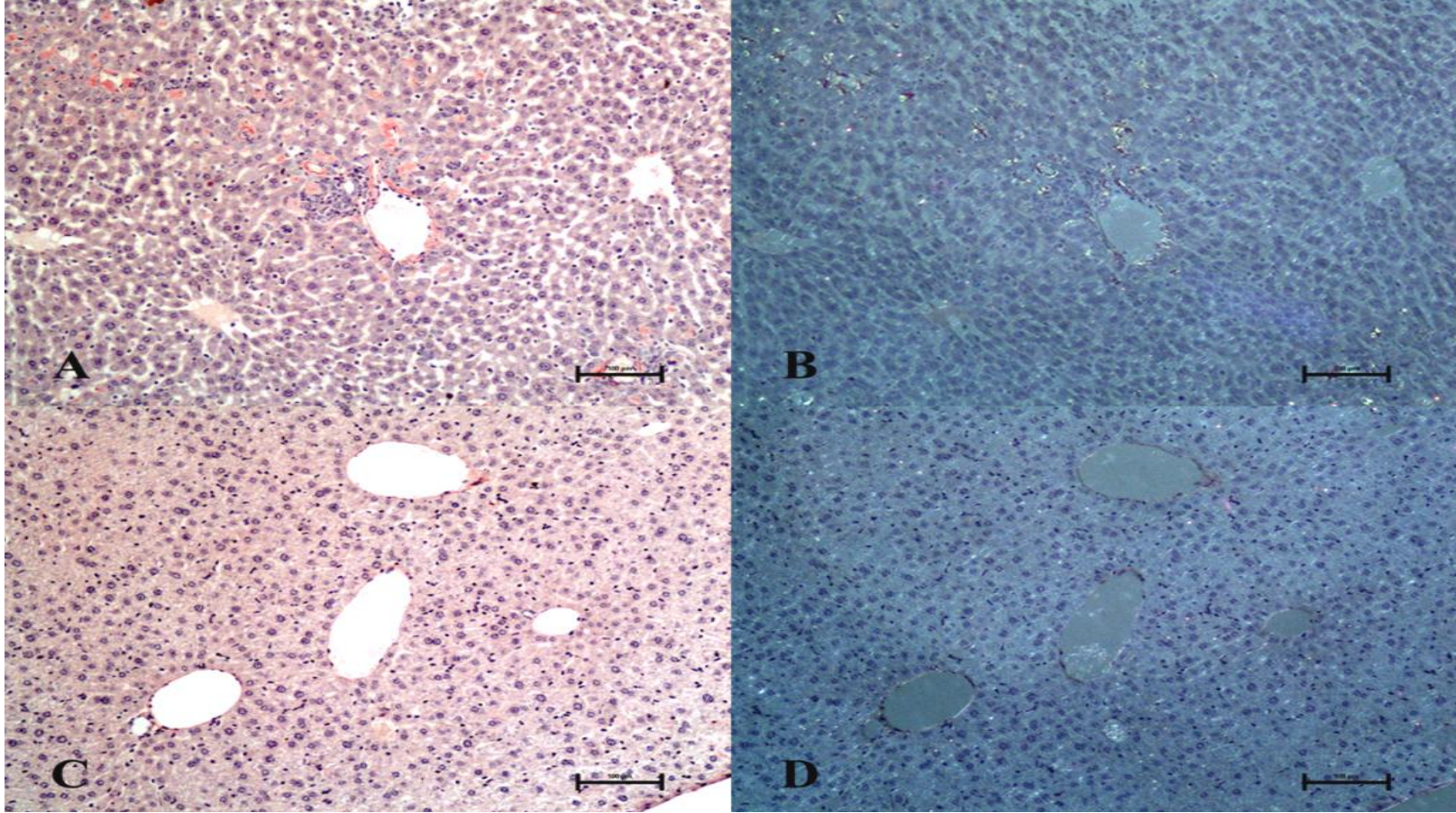
Tablo 11. Gruplara göre böbrekte amiloid birikimlerinin şiddet oranları (Kongo kırmızısı).

Böbrek Kongo Kırmızısı^a						
		Amiloid Birikimi Şiddeti			Total	
		,00	1,00			
Grup*	K-ip Grup-1	Sayı	20	0	20	
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	100,0%	
	K-sc Grup-2	Sayı	20	0	20	
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	100,0%	
	CF-ip Grup-3	Sayı	13	3	16	
		Gruptaki yüzdesi	81,3%	18,8%	100,0%	
	CF-sc Grup-4	Sayı	19	0	19	
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	100,0%	
	CFD-ip Grup-5	Sayı	18	2	20	
		Gruptaki yüzdesi	90,0%	10,0%	100,0%	
	CFD-sc Grup-6	Sayı	20	0	20	
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	100,0%	
Toplam		Sayı	110	5	115	
		Gruptaki yüzdesi	95,7%	4,3%	100,0%	

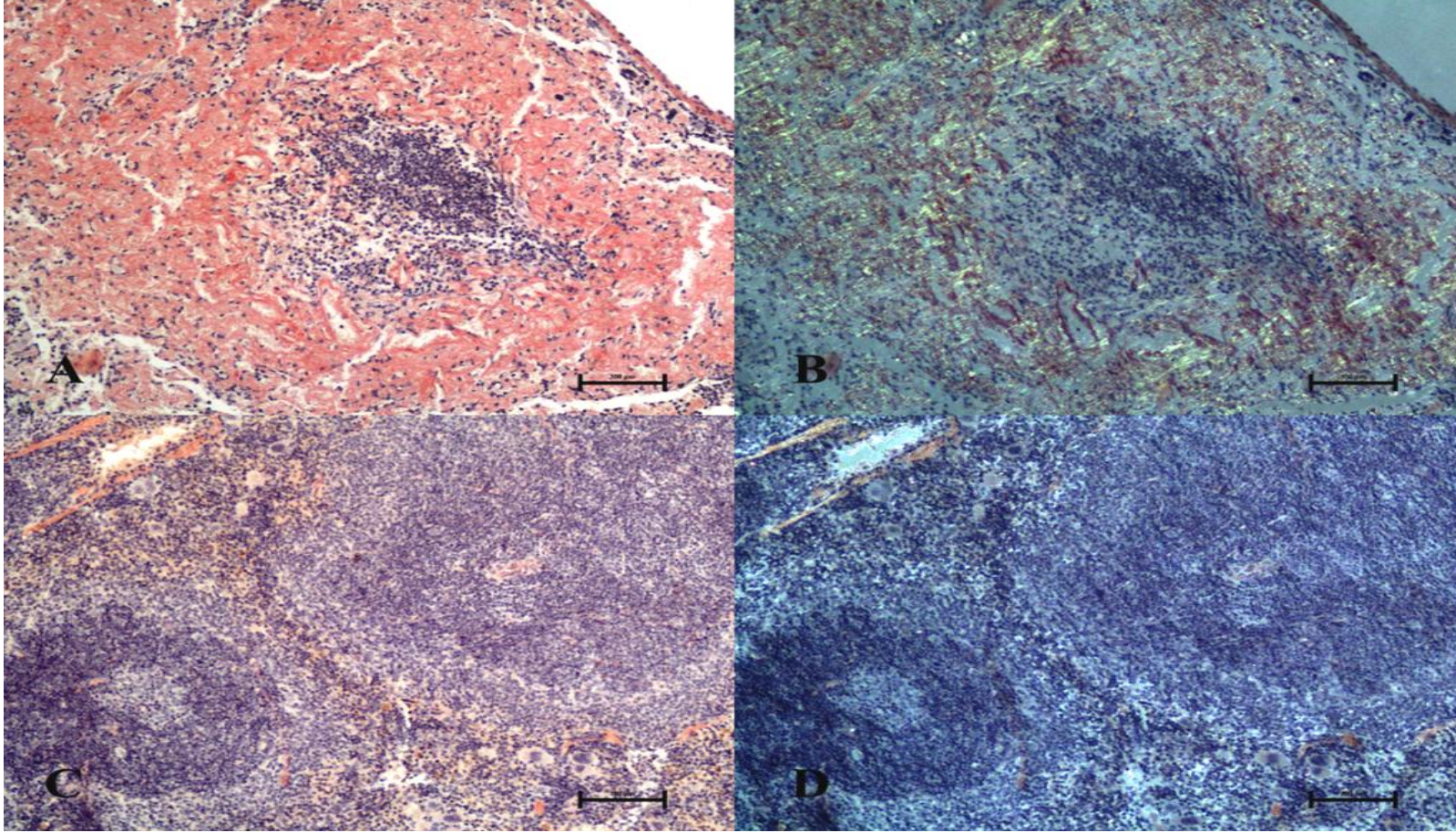
a. Ki-kare testi ile gruplar arası farklılıkların yüzdelerine göre verilmesi. *Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.



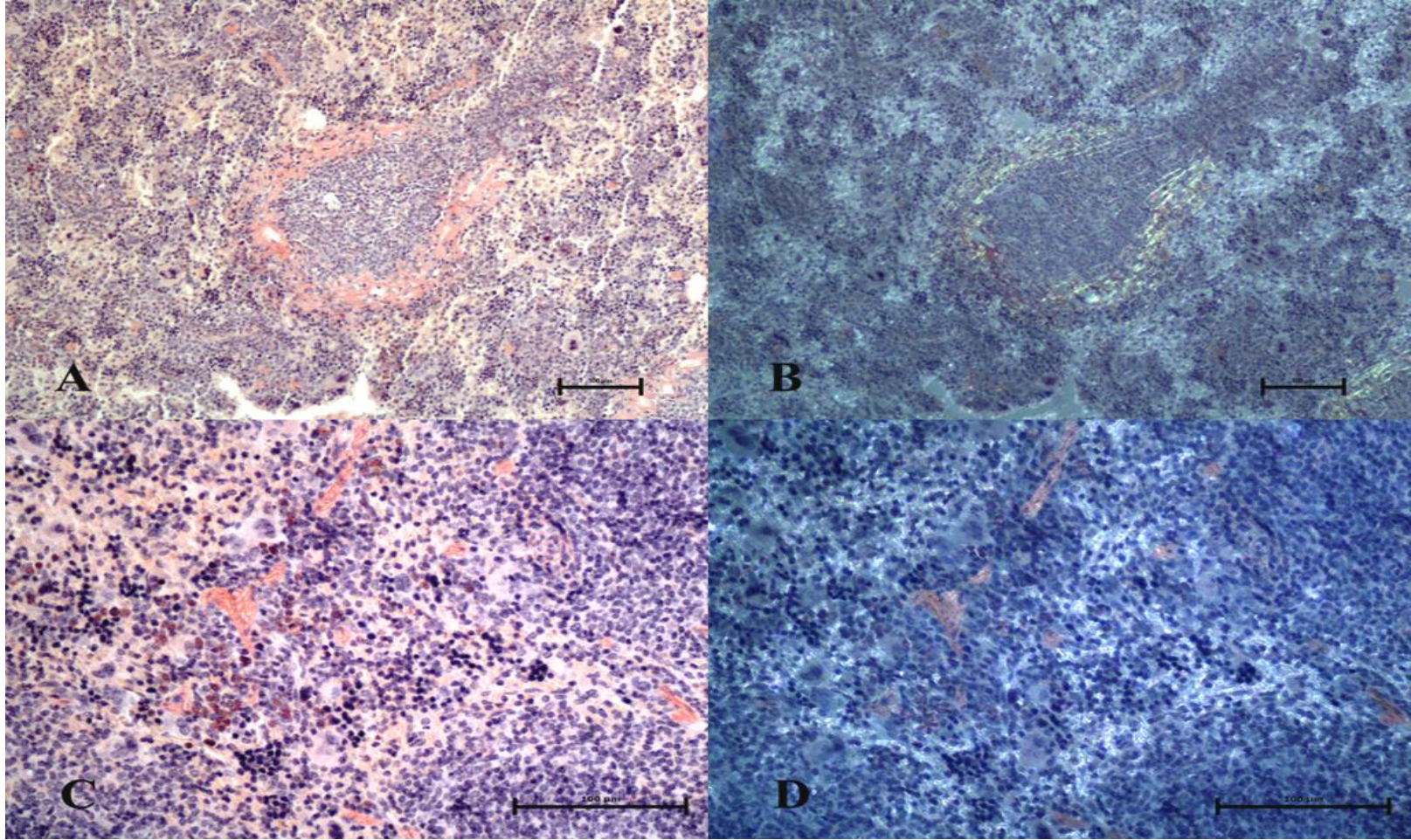
Şekil 15. Deney grupları, karaciğer, Kongo kırmızısı ve polarize ışık görünümü. **A:** Grup-3, karaciğerde şiddetli (+3) amiloid birikimi, Kongo kırmızısı (x10). **B:** Grup-3, karaciğer, polarize ışık (x10). **C:** Grup-4, karaciğerde hafif şiddetli (+1) amiloid Kongo kırmızısı (x10). **D:** Grup-4, karaciğer, Polarize ışık (x10). Barlar: 100 μ m.



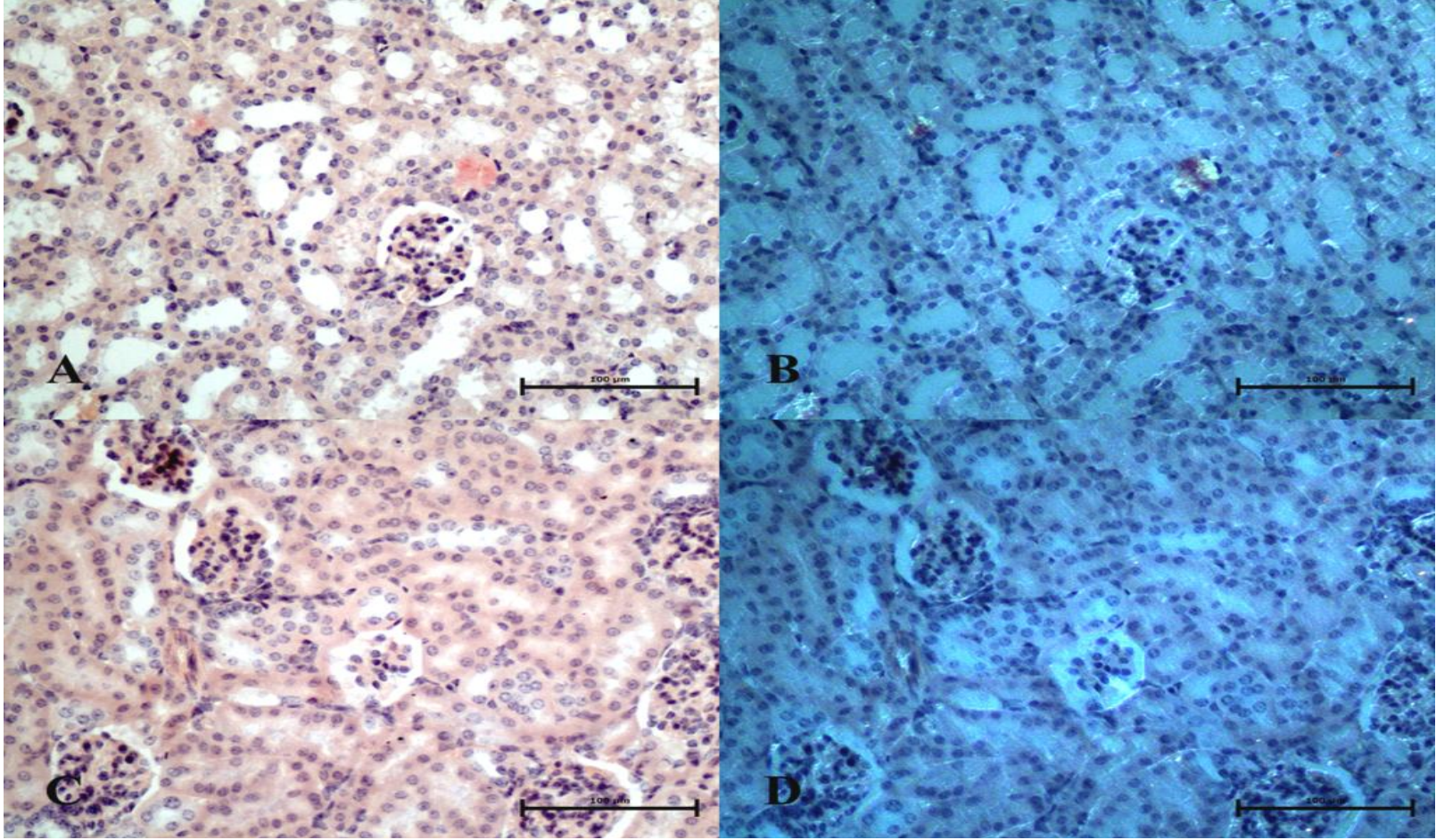
Şekil 16. Tedavi grupları, karaciğer, Kongo kırmızısı ve polarize ışık görünümü. **A:** Grup-5, karaciğerde hafif şiddetli (+1) amiloid birikimi, Kongo kırmızısı (x10). **B:** Grup-5, karaciğer, Polarize ışık (x10). **C:** Grup-6, karaciğerde hafif şiddetli (+1) amiloid birikimi, Kongo kırmızısı (x10). **D:** Grup-6, karaciğer, Polarize ışık (x10). Barlar: 100 µm.



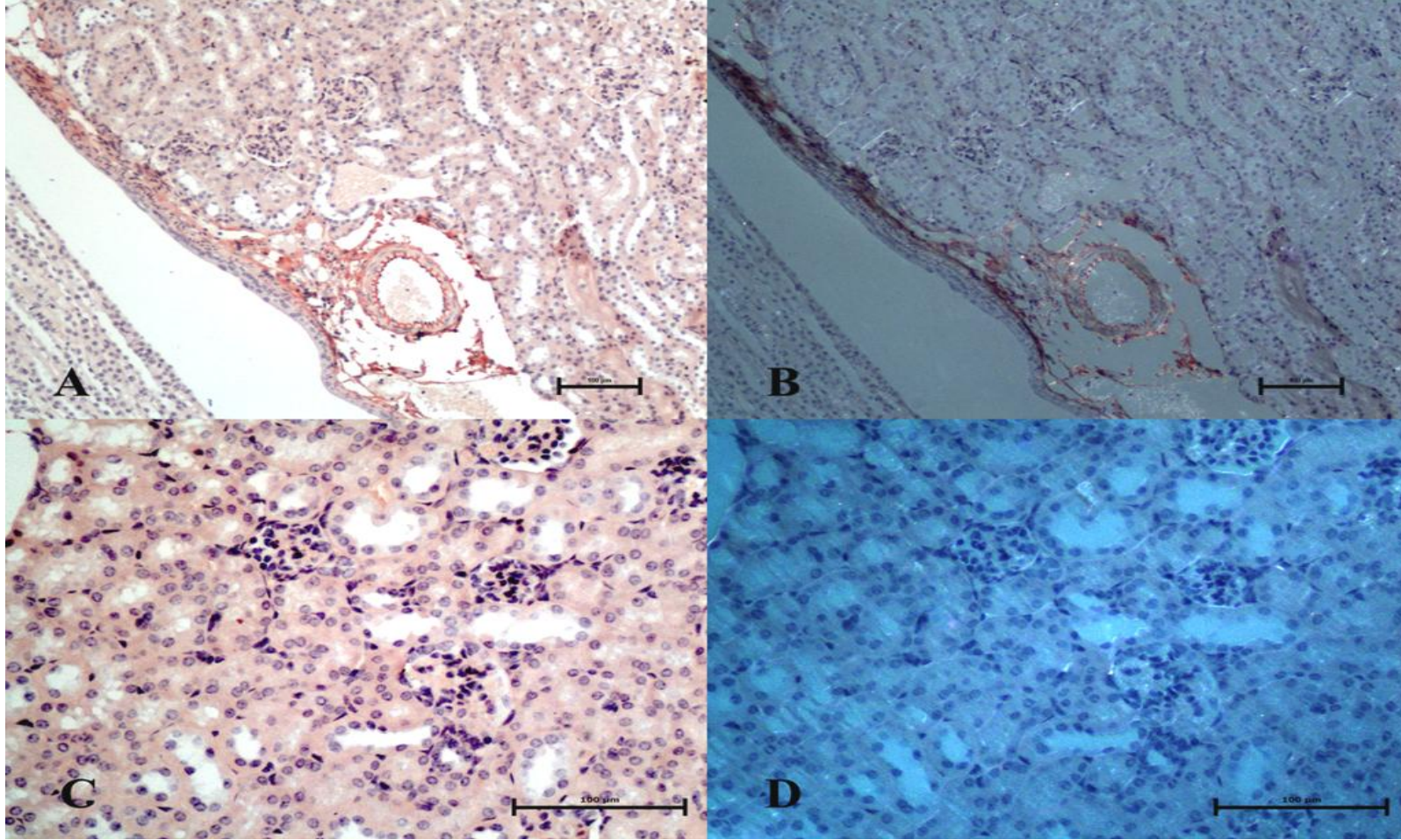
Şekil 17. Deney grupları, dalak, Kongo kırmızısı ve polarize ışık görünümü. **A:** Grup-3, dalakta şiddetli (+3) amiloid birikimi Kongo kırmızısı (x10). **B:** Grup-3, dalak, Polarize ışık (x10). **C:** Grup-4, dalakta hafif şiddetli (+1) amiloid birikimi, Kongo kırmızısı (x10). **D:** Grup-4, dalak, Polarize ışık (x10). Barlar: 100 µm.



Şekil 18. Tedavi grupları, dalak, Kongo kırmızısı ve polarize ışık görünümü. **A:** Grup-5, dalakta orta şiddetli (+2) amiloid birikimi, Kongo kırmızısı (x10). **B:** Grup-5, dalak, Polarize ışık (x10). **C:** Grup-6, dalakta hafif şiddetli (+1) amiloid birikimi, Kongo kırmızısı (x10). **D:** Grup-6, dalak, Polarize ışık (x10). Barlar: 100 µm.



Şekil 19. Deney grupları, böbrek, Kongo kırmızısı ve polarize ışık görünümü. **A:** Grup-3, böbrekte hafif şiddetli (+1) amiloid birikimi, Kongo kırmızısı (x20). **B:**Grup-3, böbrek, Polarize ışık (x20). **C:** Grup-4, böbrekte negatif (-) amiloid birikimi, Kongo kırmızısı (x20). **D:** Grup-4, böbrek, Polarize ışık (x20). Barlar: 100 µm.



Şekil 20. Tedavi grupları, böbrek, Kongo kırmızısı ve polarize ışık görünümü. **A:** Grup-5, böbrekte hafif şiddetli (+1) amiloid birikimi, Kongo kırmızısı (x10). **B:** Grup-5, böbrek, Polarize ışık (x10). **C:** Grup-6, böbrekte negatif (-) amiloid birikimi, Kongo kırmızısı (x20). **D:** Grup-6, böbrek, Polarize ışık (x20). Barlar: 100 µm.

4.4.2. İmmunohistokimyasal Boyanma Bulguları

İmmunohistokimyasal (IHC) boyamalar her bir gruptan örnekleme yolu ile seçilen 5 hayvanın karaciğer, dalak ve böbrek dokularına uygulandı. Preparatların değerlendirilmesi ve skorlanması boyanmanın şiddetine göre yapıldı. Elde edilen sonuçlar istatistiksel açıdan değerlendirildi. Hayvanların karaciğer, dalak ve böbrek dokuları amiloid A, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 antikorları ile immunohistokimyasal olarak boyandı.

Amiloid A Boyanma Bulguları

Amiloid A antikoruna ile karaciğerde yapılan immunohistokimyasal boyamada Grup-1 ve Grup-2' de boyanmaya rastlanmadı. Karaciğerde şiddetli (+3) amiloid A boyanmasına en fazla Grup-3' te %80 (4/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-5 %20 (1/5) oranında takip etti. Karaciğerde orta şiddette (+2) amiloid A boyanmasına en fazla Grup-5' te %60 (3/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-3 ve Grup-6 %20 (1/5) oranında takip etti. Karaciğerde hafif şiddette (+1) amiloid A boyanmasına en fazla Grup-4' te %100 (5/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-6 %80 (4/5), Grup-5 %20 (1/5) oranında takip etti (Tablo 12). Karaciğerdeki boyanmalara, kapsulada, periasiner, periportal ve midzonal bölgeler ile kupffer hücreleri ve damarlar çevresinde rastlandı (Şekil 21; A-F).

Amiloid A antikoruna ile dalakta yapılan immunohistokimyasal boyamada Grup-1 ve Grup-2' de boyanmaya rastlanmadı. Dalakta şiddetli (+3) amiloid A boyanmasına en fazla Grup-3' te %80 (4/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-5 %20 (1/5) oranında takip etti. Dalakta orta şiddette (+2) amiloid A boyanmasına en fazla Grup-3, Grup-5 ve Grup-6' da %20 (1/5) oranında rastlandı. Dalakta hafif şiddette (+1) amiloid A boyanmasına en fazla Grup-4' te %100 (5/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-6 %80 (4/5) ve Grup-5 %60 (3/5) oranında takip etti. (Tablo 13). Dalaktaki boyanmalara, kapsulada, perifoliküler ve trabeküler alanlarda rastlandı (Şekil 22; A-F).

Amiloid A antikoru ile böbrekte yapılan immunohistokimyasal boyamada Grup-1 ve Grup-2' de boyanmaya rastlanmadı. Böbrekte orta şiddette (+2) amiloid A boyanmasına en fazla Grup-3' te %100 (5/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-5 %20 (1/5) oranında takip etti. Böbrekte hafif şiddette (+1) amiloid A boyanmasına en fazla Grup-4 ve Grup-6' da %100 (5/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-5 %80 (4/5) oranında takip etti (Tablo 14). Böbrekteki boyanmalara, kapsulada, kortikal bölgedeki glomerulalarda ve medulla bölgesindeki tubul epitellerinde rastlandı (Şekil 23; A-F).

Tablo 12. Gruplara göre karaciğerde amiloid A boyanmasının şiddet oranları (IHC).

Karaciğer Amiloid A ^a							
			Şiddet				Total
			0	1	2	3	
Grup*	K-ip Grup-1	Sayı	5	0	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
	K-sc Grup-2	Sayı	5	0	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
	CF-ip Grup-3	Sayı	0	0	1	4	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	,0%	20,0%	80,0%	100,0%
	CF-sc Grup-4	Sayı	0	5	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	100,0%	,0%	,0%	100,0%
	CFD-ip Grup-5	Sayı	0	1	3	1	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	20,0%	60,0%	20,0%	100,0%
	CFD-sc Grup-6	Sayı	0	4	1	0	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	80,0%	20,0%	,0%	100,0%
Toplam		Sayı	10	10	5	5	30
		Gruptaki yüzdesi	33,3%	33,3%	16,7%	16,7%	100,0%

a. Ki-kare testi ile gruplar arası farklılıkların yüzdelerine göre verilmesi. *Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.

Tablo 13. Gruplara göre dalakta amiloid A boyanmasının şiddet oranları (IHC).

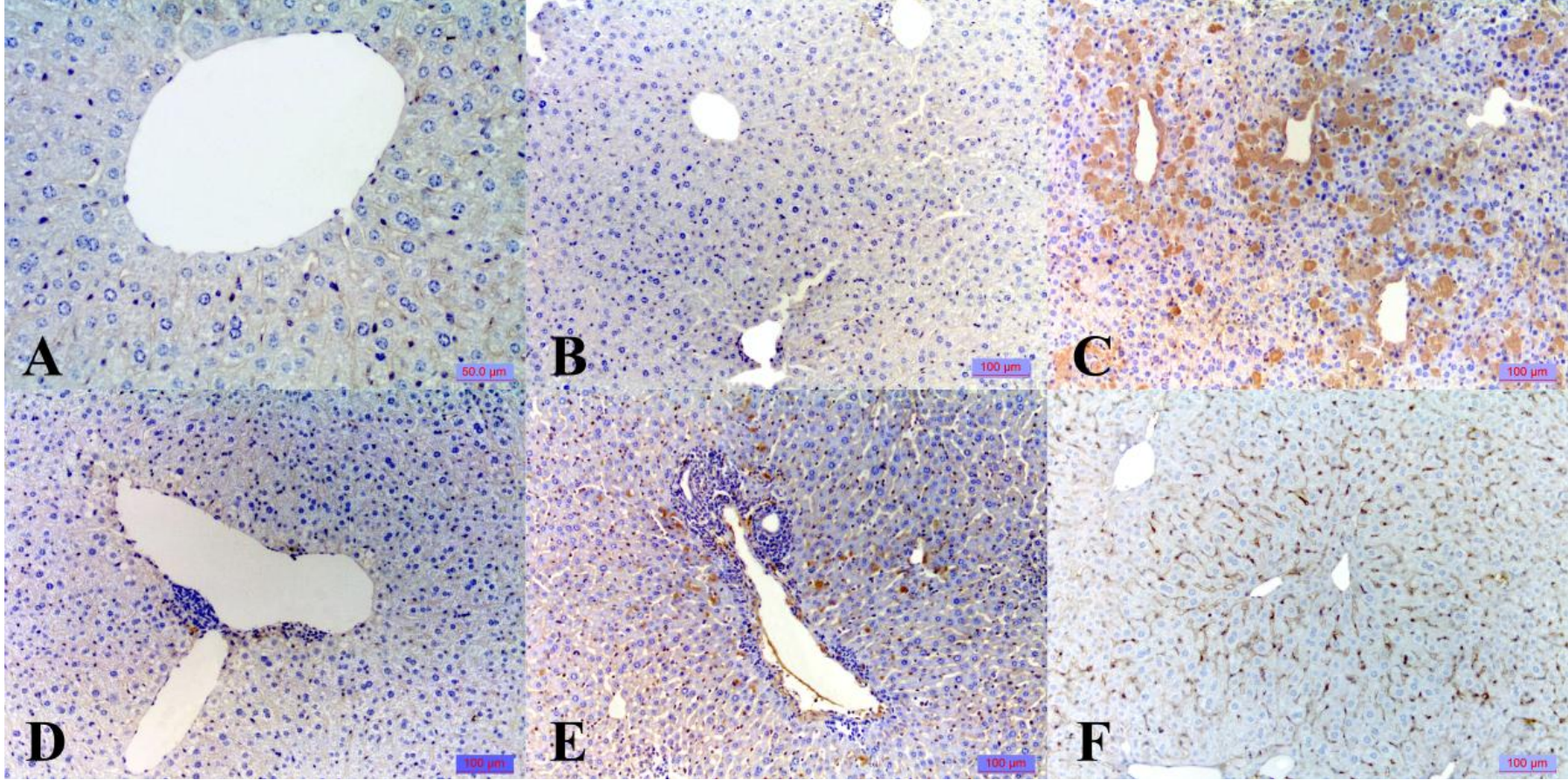
Dalak SAA ^a							
			Şiddet				Total
			0	1	2	3	
Grup	K-ip Grup-1	Sayı	5	0	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
	K-sc Grup-2	Sayı	5	0	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
	CF-ip Grup-3	Sayı	0	0	1	4	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	,0%	20,0%	80,0%	100,0%
	CF-sc Grup-4	Sayı	0	5	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	100,0%	,0%	,0%	100,0%
	CFD-ip Grup-5	Sayı	0	3	1	1	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	60,0%	20,0%	20,0%	100,0%
	CFD-sc Grup-6	Sayı	0	4	1	0	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	80,0%	20,0%	,0%	100,0%
Toplam		Sayı	10	12	3	5	30
		Gruptaki yüzdesi	33,3%	40%	10,0%	16,7%	100,0%

a. Ki-kare testi ile gruplar arası farklılıkların yüzdelik dilime göre verilmesi. *Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.

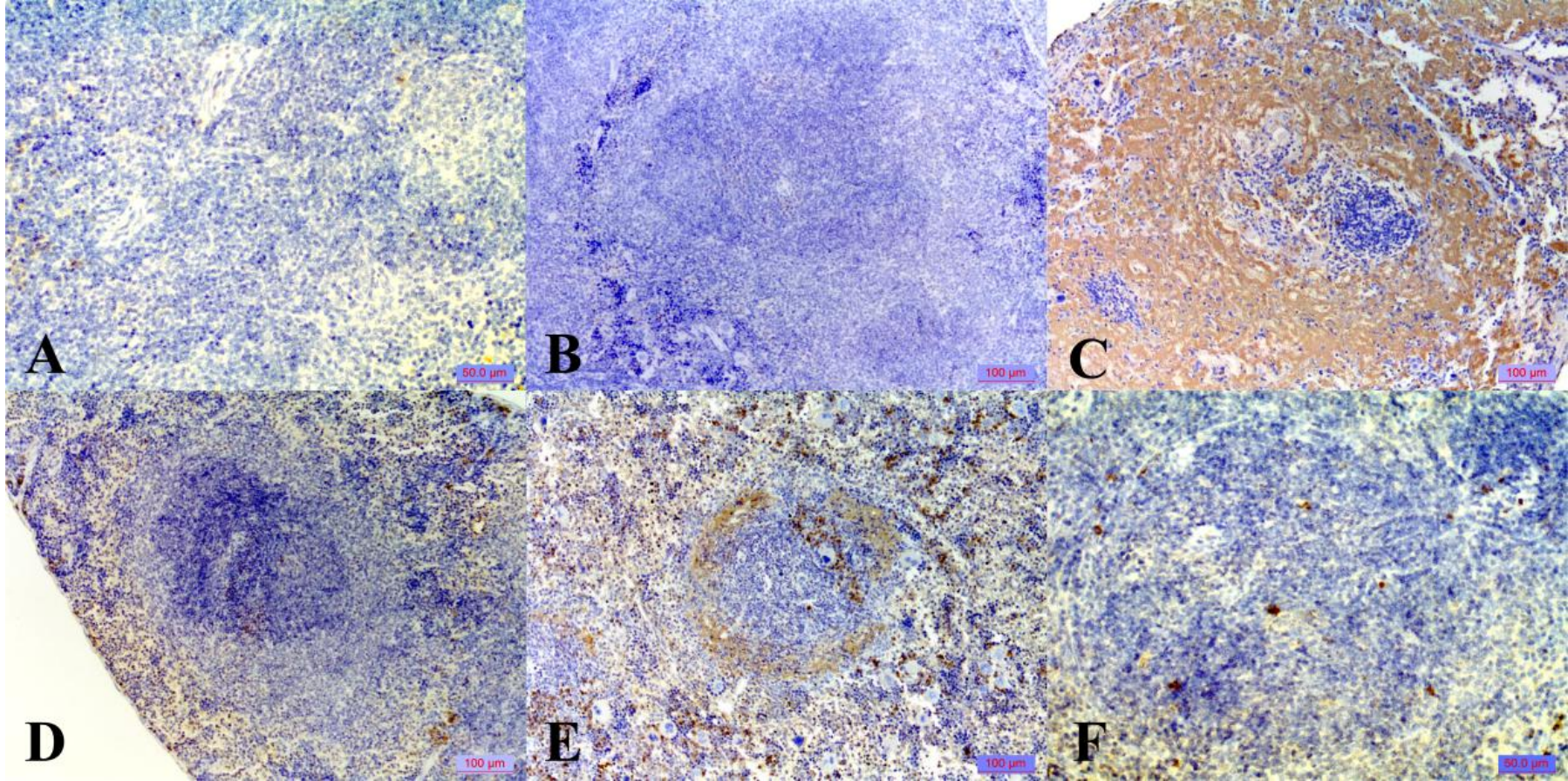
Tablo 14. Gruplara göre böbrekte amiloid A boyanmasının şiddet oranları (IHC).

Böbrek SAA ^a							
			Şiddet				Total
			0	1	2		
Grup	K-ip Grup-1	Sayı	5	0	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
	K-sc Grup-2	Sayı	5	0	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
	CF-ip Grup-3	Sayı	0	0	5	0	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	,0%	100,0%	0,0%	100,0%
	CF-sc Grup-4	Sayı	0	5	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	100,0%	,0%	,0%	100,0%
	CFD-ip Grup-5	Sayı	0	4	1	0	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	80,0%	20,0%	0,0%	100,0%
	CFD-sc Grup-6	Sayı	0	5	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	100,0%	,0%	,0%	100,0%
Toplam		Sayı	10	14	6	30	
		Gruptaki yüzdesi	33,3%	46,7%	20,0%	100,0%	

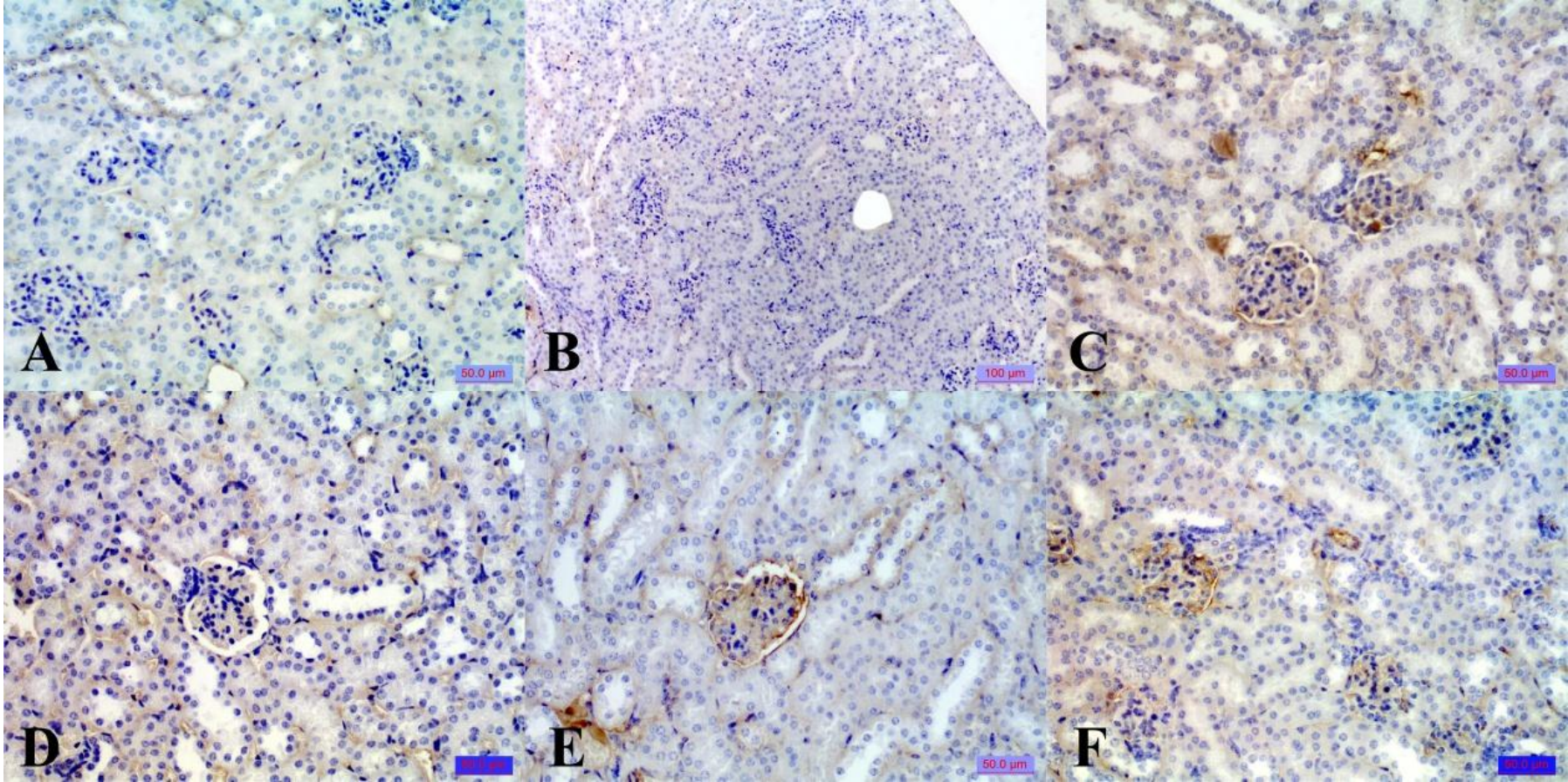
a. Ki-kare testi ile gruplar arası farklılıkların yüzdelik dilime göre verilmesi. *Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.



Şekil 21. Amiloid A, Karaciğer, IHC. **A:** Grup-1 (K-ip), boyanma yok (-), (x20), **B:** Grup-2 (K-sc), boyanma yok (-), (x10), **C:** Grup-3 (CF-ip), şiddetli (+3) boyanma, (x10), **D:** Grup-4 (CF-sc), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x10), **E:** Grup-5 (CFD-ip), orta şiddetli (+2) boyanma, (x10), **F:** Grup-6 (CFD-sc), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x10).



Şekil 22. Amiloid A, Dalak, IHC. **A:** Grup-1 (K-ip), boyanma yok (-), (x20), **B:** Grup-2 (K-sc), boyanma yok (-), (x10), **C:** Grup-3 (CF-ip), şiddetli (+3) boyanma, (x10), **D:** Grup-4 (CF-sc), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x10), **E:** Grup-5 (CFD-ip), orta şiddetli (+2) boyanma, (x10), **F:** Grup-6 (CFD-sc), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x20).



Şekil 23. Amiloid A, Böbrek, IHC. **A:** Grup-1 (K-ip), boyanma yok (-), (x20), **B:** Grup-2 (K-sc), boyanma yok (-), (x10), **C:** Grup-3 (CF-ip), orta şiddetli (+2) boyanma, (x20), **D:** Grup-4 (CF-sc), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x20), **E:** Grup-5 (CFD-ip), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x20), **F:** Grup-6 (CFD-sc), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x20).

TNF- α Boyanma Bulguları

TNF- α antikoru ile karaciğerde yapılan immunohistokimyasal boyamada karaciğerde şiddetli (+3) TNF- α boyanmasına en fazla Grup-3' te %100 (5/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-5 %40 (2/5) oranında takip etti. Karaciğerde orta şiddette (+2) TNF- α boyanmasına en fazla Grup-4 ve Grup-6' da %60 (3/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-5 %40 (2/5) oranında takip etti. Karaciğerde hafif şiddette (+1) TNF- α boyanmasına en fazla Grup-1 ve Grup-2' de %100 (5/5) oranında rastlanırken bunu Grup-4 ve Grup-6 %40 (2/5), Grup-5 %20 (1/5) oranında takip etti (Tablo 15). Karaciğerdeki boyanmalara, kapsulada, periasiner, periportal ve midzonal bölgeler ile kupffer hücreleri ve damarlar çevresinde rastlandı (Şekil 24; A-F).

Dalakta TNF- α antikoru ile yapılan immunohistokimyasal boyamada şiddetli (+3) TNF- α boyanmasına en fazla Grup-3' te %60 (3/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-5 %40 (2/5) oranında takip etti. Dalakta orta şiddette (+2) TNF- α boyanmasına en fazla Grup-4' te %60 (3/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-3 ve Grup-5 %40 (2/5), Grup-6 %20 (1/5) oranında takip etti. Dalakta hafif şiddette (+1) TNF- α boyanmasına en fazla Grup-1 ve Grup-2' de %100 (5/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-6 %80 (4/5), Grup-4 %40 (2/5) ve Grup-5 %20 (1/5) oranında takip etti (Tablo 16). Dalaktaki boyanmalara, kapsulada, perifoliküler ve trabeküler alanlarda rastlandı (Şekil 25; A-F).

TNF- α antikoru ile böbrekte yapılan immunohistokimyasal boyamada şiddetli (+3) TNF- α boyanmasına en fazla Grup-3' te %40 (2/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-5 %20 (1/5) oranında takip etti. Böbrekte orta şiddette (+2) TNF- α boyanmasına en fazla Grup-3' te %60 (3/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-5 %40 (2/5) ile takip etti. Böbrekte hafif şiddette (+1) TNF- α boyanmasına en fazla Grup-1, Grup-2, Grup-4, Grup-6' da %100 (5/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-5 %40 (2/5) oranında takip etti (Tablo 17). Böbrekteki boyanmalara, kapsulada, kortikal bölgedeki glomeruluslarda ve medulla bölgesindeki tubul epitelinde rastlandı (Şekil 26; A-F).

Tablo 15. Gruplara göre karaciğerde TNF- α boyanmasının şiddet oranları (IHC).

Karaciğer TNF- α^a						
			Şiddet			Total
			1	2	3	
Grup*	K-ip Grup-1	Sayı	5	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	,0%	100,0%
	K-sc Grup-2	Sayı	5	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	,0%	100,0%
	CF-ip Grup-3	Sayı	0	0	5	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	,0%	100,0%	100,0%
	CF-sc Grup-4	Sayı	2	3	0	5
		Gruptaki yüzdesi	40,0%	60,0%	,0%	100,0%
	CFD-ip Grup-5	Sayı	1	2	2	5
		Gruptaki yüzdesi	20,0%	40,0%	40,0%	100,0%
	CFD-sc Grup-6	Sayı	2	3	0	5
		Gruptaki yüzdesi	40,0%	60,0%	,0%	100,0%
Toplam		Sayı	15	8	7	30
		Gruptaki yüzdesi	50,0%	26,7%	23,3%	100,0%

a. Ki-kare testi ile gruplar arası farklılıkların yüzdelik dilime göre verilmesi. *Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.

Tablo 16. Gruplara göre dalakta TNF- α boyanmasının şiddet oranları (IHC).

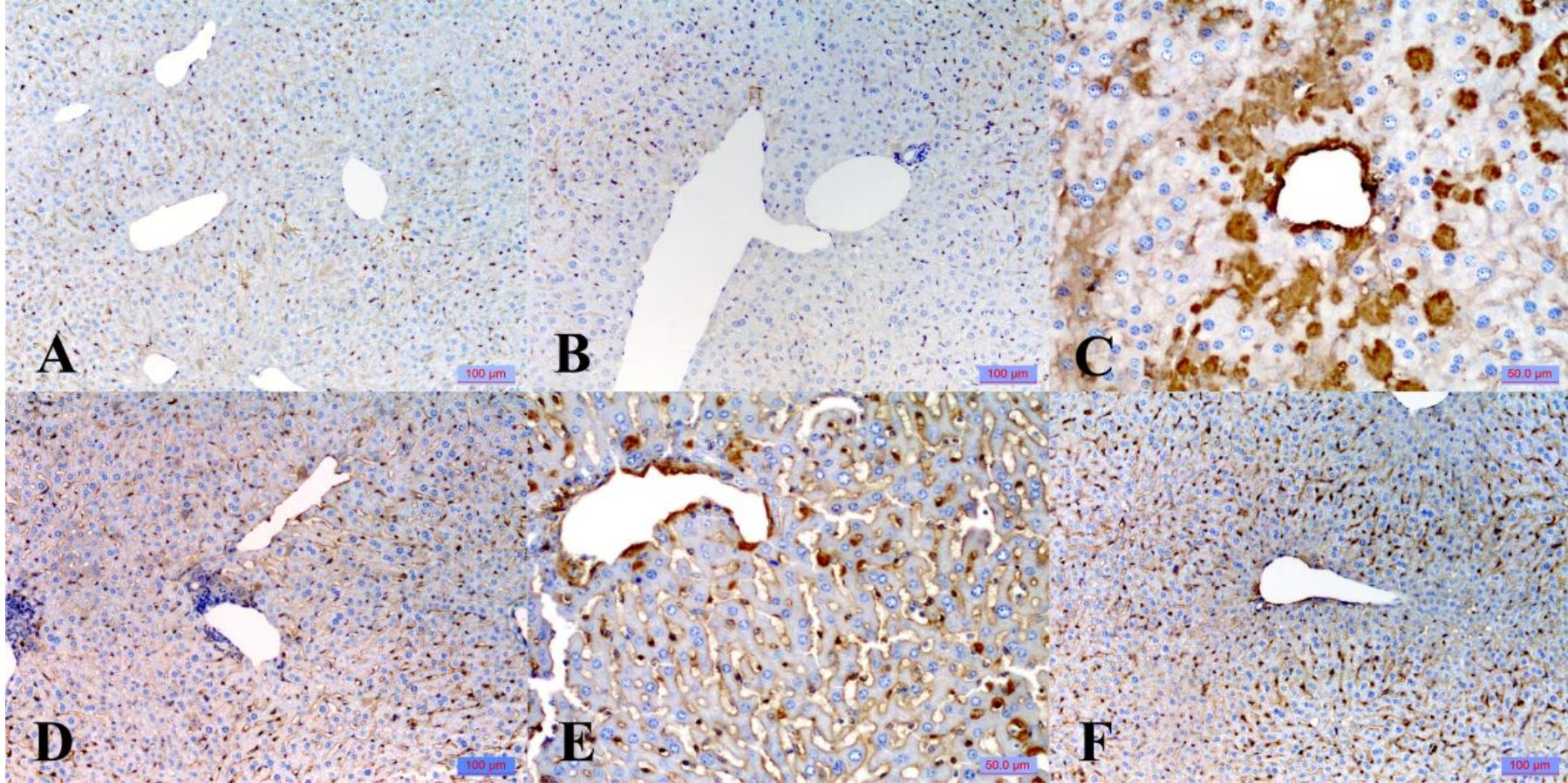
Dalak TNF- α^a						
			Şiddet			Total
			1	2	3	
Grup*	K-ip Grup-1	Sayı	5	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	,0%	100,0%
	K-sc Grup-2	Sayı	5	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	,0%	100,0%
	CF-ip Grup-3	Sayı	0	2	3	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	40,0%	60,0%	100,0%
	CF-sc Grup-4	Sayı	2	3	0	5
		Gruptaki yüzdesi	40,0%	60,0%	,0%	100,0%
	CFD-ip Grup-5	Sayı	1	2	2	5
		Gruptaki yüzdesi	20,0%	40,0%	40,0%	100,0%
	CFD-sc Grup-6	Sayı	4	1	0	5
		Gruptaki yüzdesi	80,0%	20,0%	,0%	100,0%
Toplam		Sayı	17	8	5	30
		Gruptaki yüzdesi	56,7%	26,7%	16,7%	100,0%

a. Ki-kare testi ile gruplar arası farklılıkların yüzdelik dilime göre verilmesi. *Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.

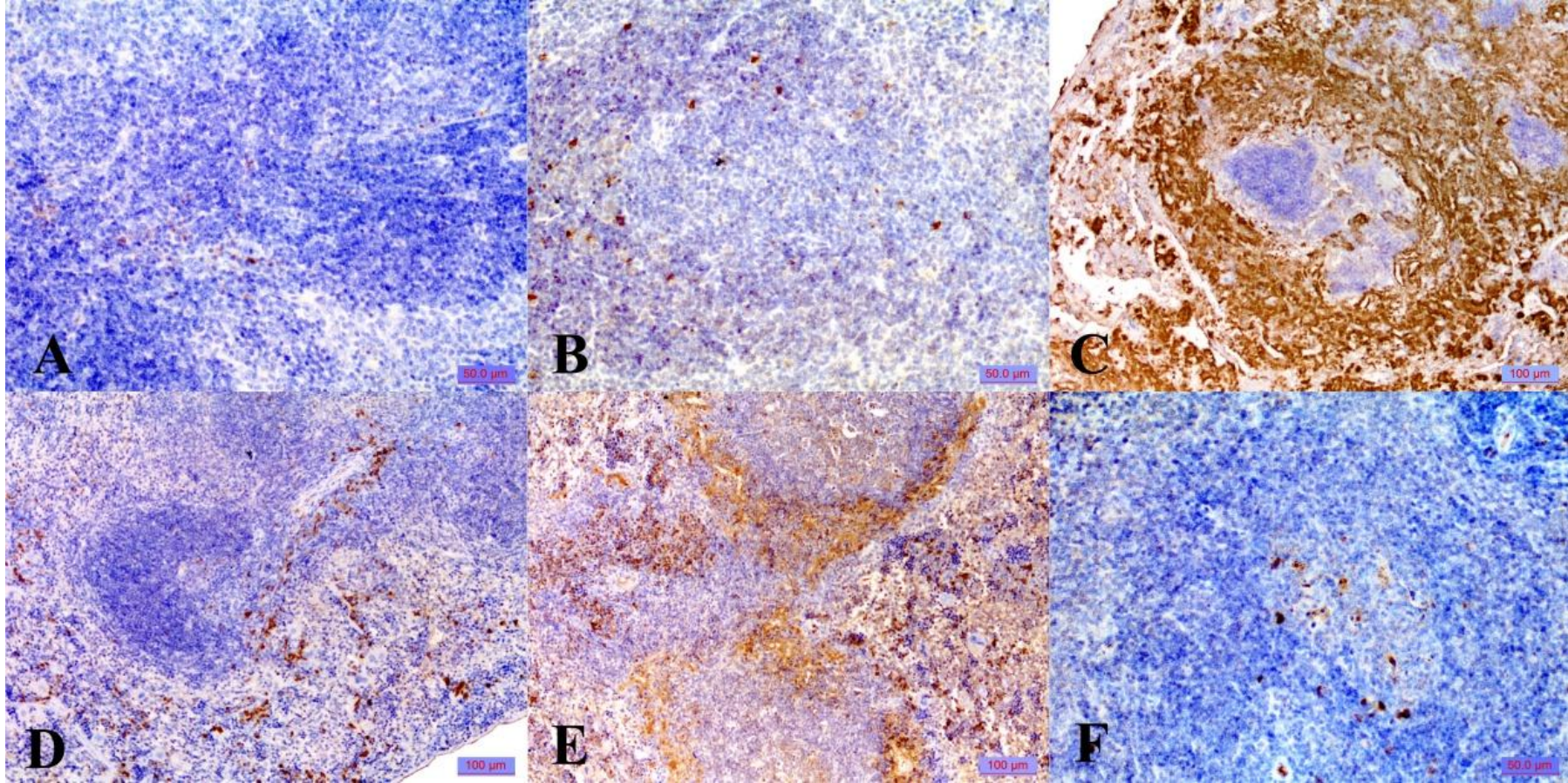
Tablo 17. Gruplara göre böbrekte TNF- α boyanmasının şiddet oranları (IHC).

Böbrek TNF-α^a						
			Şiddet			Total
			1	2	3	
Grup*	K-ip Grup-1	Sayı	5	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	,0%	100,0%
	K-sc Grup-2	Sayı	5	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	,0%	100,0%
	CF-ip Grup-3	Sayı	0	3	2	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	60,0%	40,0%	100,0%
	CF-sc Grup-4	Sayı	5	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	,0%	100,0%
	CFD-ip Grup-5	Sayı	2	2	1	5
		Gruptaki yüzdesi	40,0%	40,0%	20,0%	100,0%
	CFD-sc Grup-6	Sayı	5	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	,0%	100,0%
Toplam		Sayı	22	5	3	30
		Gruptaki yüzdesi	73,3%	16,7%	10,0%	100,0%

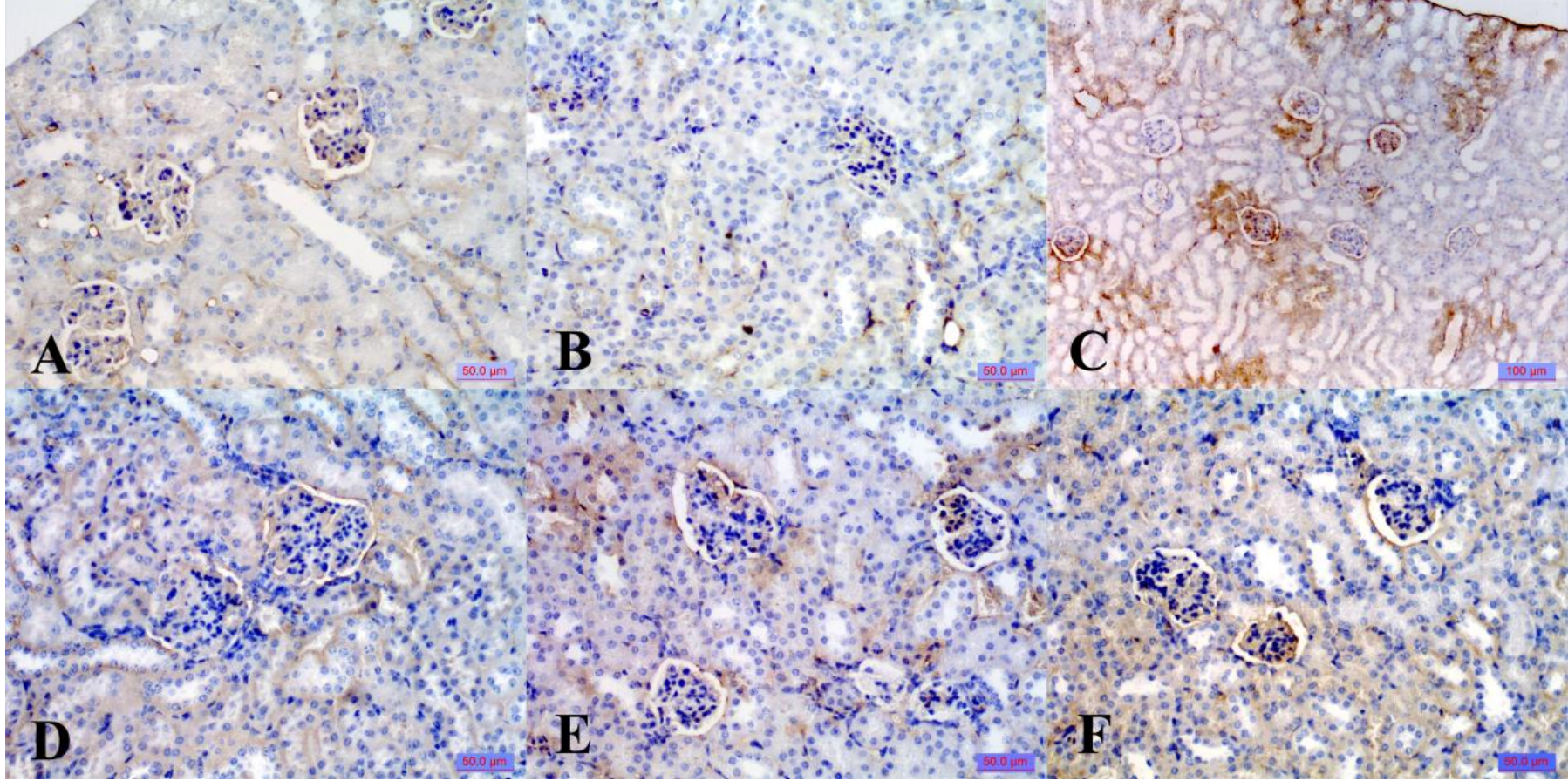
a. Ki-kare testi ile gruplar arası farklılıkların yüzdelerine göre verilmesi. *Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.



Şekil 24. TNF- α , Karaciğer, IHC. **A:** Grup-1 (K-ip), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x10), **B:** Grup-2 (K-sc), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x10), **C:** Grup-3 (CF-ip), şiddetli (+3) boyanma, (x20), **D:** Grup-4 (CF-sc), orta şiddetli (+2) boyanma, (x10), **E:** Grup-5 (CFD-ip), orta şiddetli (+2) boyanma, (x20), **F:** Grup-6 (CFD-sc), orta şiddetli (+2) boyanma, (x10).



Şekil 25. TNF- α , Dalak, IHC. **A:** Grup-1 (K-ip), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x20), **B:** Grup-2 (K-sc), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x20), **C:** Grup-3 (CF-ip), şiddetli (+3) boyanma, (x10), **D:** Grup-4 (CF-sc), orta şiddetli (+2) boyanma, (x10), **E:** Grup-5 (CFD-ip), şiddetli (+3) boyanma, (x10), **F:** Grup-6 (CFD-sc), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x20).



Şekil 26. TNF- α , Böbrek, IHC. **A:** Grup-1 (K-ip), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x20), **B:** Grup-2 (K-sc), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x20), **C:** Grup-3 (CF-ip), şiddetli (+3) boyanma, (x10), **D:** Grup-4 (CF-sc), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x20) **E:** Grup-5 (CFD-ip), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x20), **F:** Grup-6 (CFD-sc), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x20).

IL-1 β Boyanma Bulguları

IL-1 β antikoru ile karaciğerde yapılan immunohistokimyasal boyamada karaciğerde şiddetli (+3) IL-1 β boyanmasına en fazla Grup-3' te %100 (5/5) oranında rastlandı. Karaciğerde orta şiddette (+2) IL-1 β boyanmasına en fazla Grup-4' te %80 (4/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-5 %60 (3/5), Grup-6 %40 (2/5) oranında takip etti. Karaciğerde hafif şiddette (+1) IL-1 β boyanmasına en fazla Grup-1 ve Grup-2' de %80 (4/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-6 %60 (3/5), Grup-5 %40 (2/5) ve Grup-4 %20 (1/5) oranında takip etti (Tablo 18). Karaciğerdeki boyanmalara, kapsulada, periasiner, periportal ve midzonal bölgeler ile kupffer hücreleri ve damarlar çevresinde rastlandı (Şekil 27; A-F).

Dalakta IL-1 β antikoru ile yapılan immunohistokimyasal boyamada şiddetli (+3) IL-1 β boyanmasına en fazla Grup-3 ve Grup-5' te %20 (1/5) oranında rastlandı. Dalakta orta şiddette (+2) IL-1 β boyanmasına en fazla Grup-4' te %100 (5/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-3 ve Grup-5 %80 (4/5), Grup-6 %40 (2/5), Grup-1 %20 (1/5) oranında takip etti. Dalakta hafif şiddette (+1) IL-1 β boyanmasına en fazla Grup-1 ve Grup-2' de %80 (4/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-6 %60 (3/5) oranında takip etti (Tablo 19). Dalaktaki boyanmalara, kapsulada, perifoliküler ve trabeküler alanlarda rastlandı (Şekil 28; A-F).

IL-1 β antikoru ile böbrekte yapılan immunohistokimyasal boyamada şiddetli (+3) IL-1 β boyanmasına en fazla Grup-3' te %60 (3/5) oranında rastlandı. Böbrekte orta şiddette (+2) IL-1 β boyanmasına en fazla Grup-5' te %60 (3/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-3 %40 (2/5) ve Grup-4 %20 (1/5) oranında takip etti. Böbrekte hafif şiddette (+1) IL-1 β boyanmasına en fazla Grup-6' da %100 (5/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-4 ve Grup-2 %80 (4/5), Grup-1 %60 (3/5) ve Grup-5 %40 (2/5) oranında takip etti (Tablo 20). Böbrekteki boyanmalara, kapsulada, kortikal bölgedeki glomeruluslarda ve medulla bölgesindeki tubul epitellerinde rastlandı (Şekil 29; A-F).

Tablo 18. Gruplara göre karaciğerde IL-1 β boyanmasının şiddet oranları (IHC).

Karaciğer IL-1 β^a							
			Şiddet				Total
			0	1	2	3	
Grup*	K-ip Grup-1	Sayı	1	4	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	20,0%	80,0%	,0%	,0%	100,0%
	K-sc Grup-2	Sayı	1	4	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	20,0%	80,0%	,0%	,0%	100,0%
	CF-ip Grup-3	Sayı	0	0	0	5	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	,0%	,0%	100,0%	100,0%
	CF-sc Grup-4	Sayı	0	1	4	0	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	20,0%	80,0%	,0%	100,0%
	CFD-ip Grup-5	Sayı	0	2	3	0	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	40,0%	60,0%	,0%	100,0%
	CFD-sc Grup-6	Sayı	0	3	2	0	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	60,0%	40,0%	,0%	100,0%
Toplam		Sayı	2	14	9	5	30
		Gruptaki yüzdesi	6,7%	46,7%	30,0%	16,7%	100,0%

a. Ki-kare testi ile gruplar arası farklılıkların yüzdelerine göre verilmesi. *Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.

Tablo 19. Gruplara göre dalakta IL-1 β boyanmasının şiddet oranları (IHC).

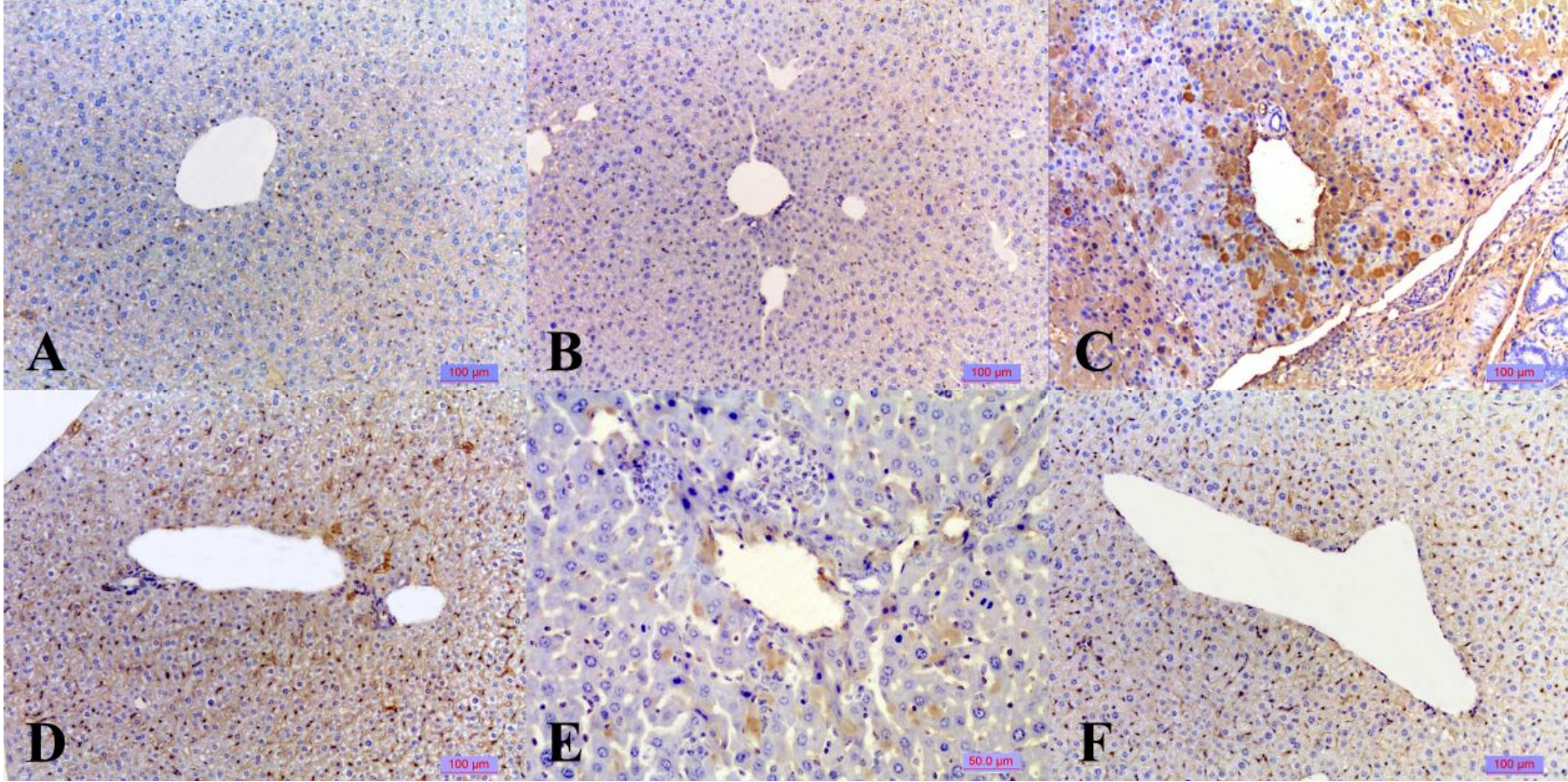
Dalak IL-1 β^a							
			Şiddet				Total
			0	1	2	3	
Grup*	K-ip Grup-1	Sayı	0	4	1	0	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	80,0%	20,0%	,0%	100,0%
	K-sc Grup-2	Sayı	1	4	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	20,0%	80,0%	,0%	,0%	100,0%
	CF-ip Grup-3	Sayı	0	0	4	1	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	,0%	80,0%	20,0%	100,0%
	CF-sc Grup-4	Sayı	0	0	5	0	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	,0%	100,0%	,0%	100,0%
	CFD-ip Grup-5	Sayı	0	0	4	1	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	,0%	80,0%	20,0%	100,0%
	CFD-sc Grup-6	Sayı	0	3	2	0	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	60,0%	40,0%	,0%	100,0%
Toplam		Sayı	1	11	16	2	30
		Gruptaki yüzdesi	3,3%	36,7%	53,3%	6,7%	100,0%

a. Ki-kare testi ile gruplar arası farklılıkların yüzdelerine göre verilmesi. *Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.

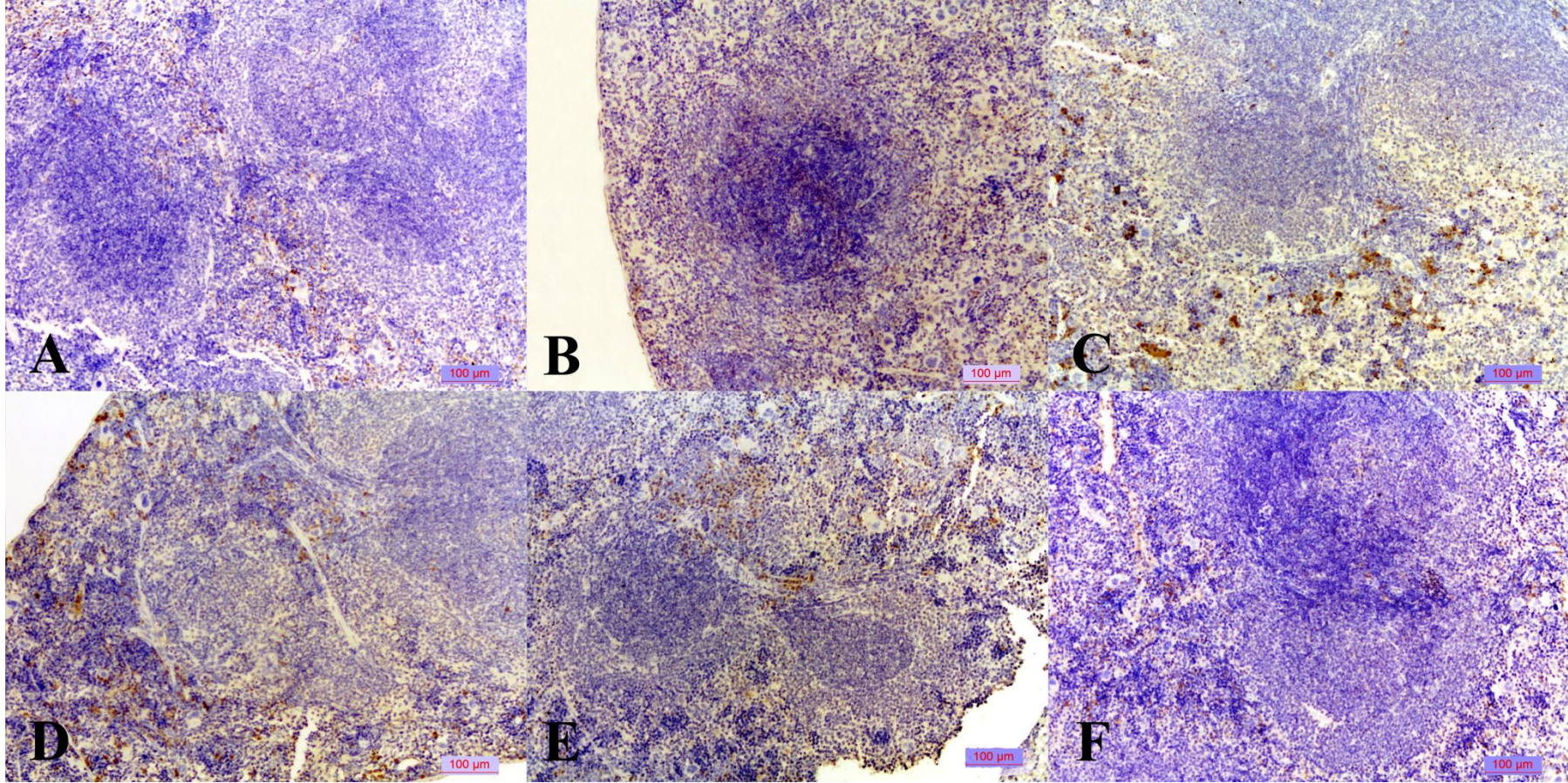
Tablo 20. Gruplara göre böbrekte IL-1 β boyanmasının şiddet oranları (IHC).

Böbrek IL-1 β ^a							
			Şiddet				Total
			0	1	2	3	
Grup	K-ip Grup-1	Sayı	2	3	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	40,0%	60,0%	,0%	,0%	100,0%
	K-sc Grup-2	Sayı	1	4	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	20,0%	80,0%	,0%	,0%	100,0%
	CF-ip Grup-3	Sayı	0	0	2	3	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	,0%	40,0%	60,0%	100,0%
	CF-sc Grup-4	Sayı	0	4	1	0	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	80,0%	20,0%	,0%	100,0%
	CFD-ip Grup-5	Sayı	0	2	3	0	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	40,0%	60,0%	,0%	100,0%
	CFD-sc Grup-6	Sayı	0	5	0	0	5
		% within Grup	,0%	100,0%	,0%	,0%	100,0%
Toplam		Sayı	3	18	6	3	30
		Gruptaki yüzdesi	10,0%	60,0%	20,0%	10,0%	100,0%

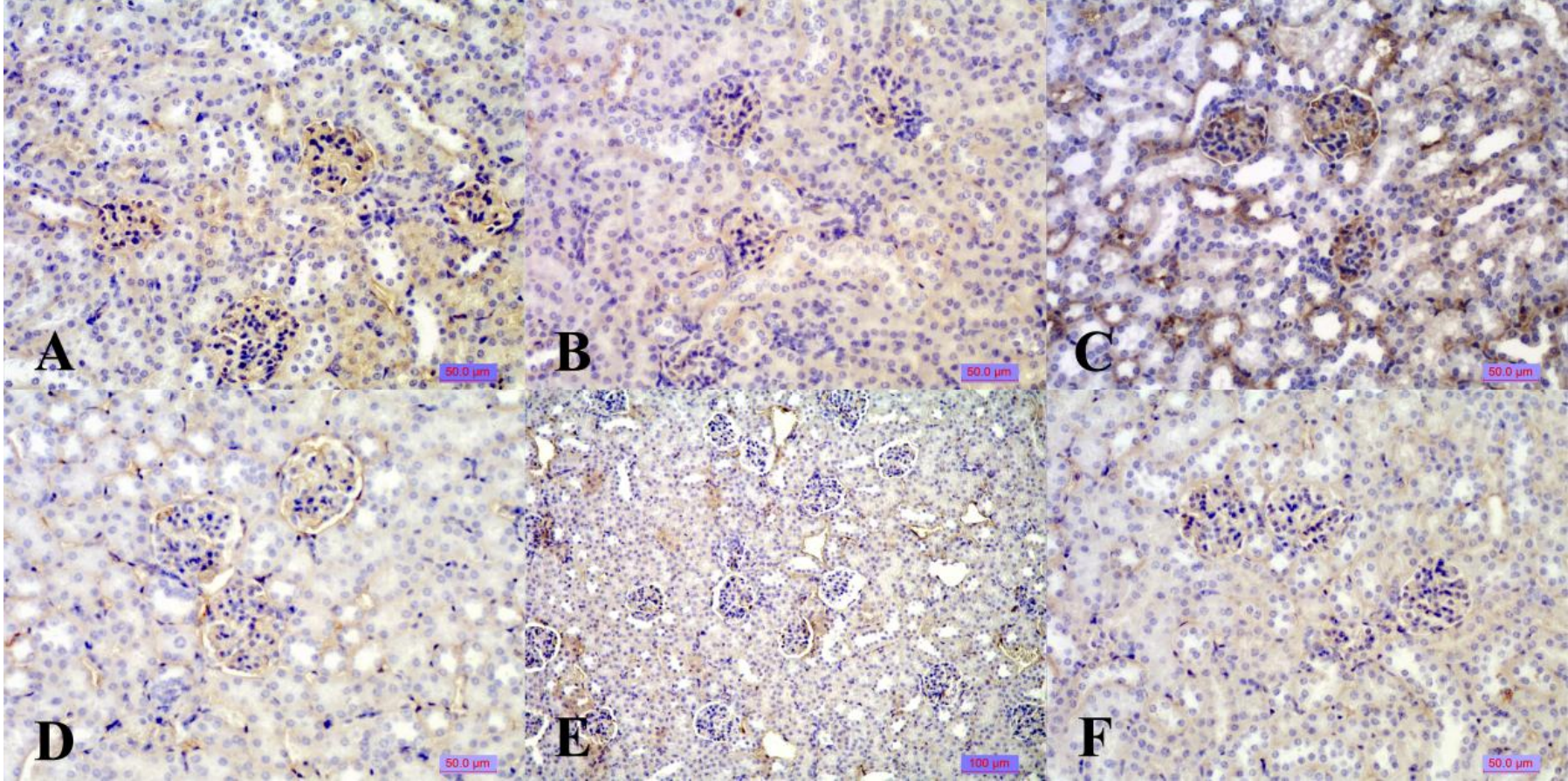
a. Ki-kare testi ile gruplar arası farklılıkların yüzdelerine göre verilmesi. *Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.



Şekil 27. IL-1 β , Karaciğer, IHC. **A:** Grup-1 (K-ip), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x10), **B:** Grup-2 (K-sc), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x10), **C:** Grup-3 (CF-ip), şiddetli (+3) boyanma, (x10), **D:** Grup-4 (CF-sc), orta şiddetli (+2) boyanma, (x10), **E:** Grup-5 (CFD-ip), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x20), **F:** Grup-6 (CFD-sc), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x10).



Şekil 28. IL-1 β , Dalak, IHC. **A:** Grup-1 (K-ip), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x10), **B:** Grup-2 (K-sc), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x10), **C:** Grup-3 (CF-ip), orta şiddetli (+2) boyanma, (x10), **D:** Grup-4 (CF-sc), orta şiddetli (+2) boyanma, (x10), **E:** Grup-5 (CFD-ip), orta şiddetli (+2) boyanma, (x10), **F:** Grup-6 (CFD-sc), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x20).



Şekil 29. IL-1 β , Böbrek, IHC. **A:** Grup-1 (K-ip), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x20), **B:** Grup-2 (K-sc), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x20), **C:** Grup-3 (CF-ip), şiddetli (+3) boyanma, (x20), **D:** Grup-4 (CF-sc), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x20) **E:** Grup-5 (CFD-ip), orta şiddetli (+2) boyanma, (x10), **F:** Grup-6 (CFD-sc), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x20).

IL-6 Boyanma Bulguları

IL-6 antikoru ile karaciğerde yapılan immunohistokimyasal boyamada karaciğerde şiddetli (+3) IL-6 boyanmasına en fazla Grup-3' te %100 (5/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-5 %20 (1/5) oranda takip etti. Karaciğerde orta şiddette (+2) IL-6 boyanmasına en fazla Grup-4' te %100 (5/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-5 %80 (4/5) ve Grup-6 %60 (3/5) oranında takip etti. Karaciğerde hafif şiddette (+1) IL-6 boyanmasına en fazla Grup-1 ve Grup-2' de %100 (5/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-6 %40 (2/5) oranında takip etti (Tablo 21). Karaciğerdeki boyanmalara, kapsulada, periasiner, periportal ve midzonal bölgeler ile kupferr hücreleri ve damarlar çevresinde rastlandı (Şekil 30; A-F).

Dalakta IL-6 antikoru ile yapılan immunohistokimyasal boyamada şiddetli (+3) IL-6 boyanmasına en fazla Grup-3' te %80 (4/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-5 %20 (1/5) oranında takip etti. Dalakta orta şiddette (+2) IL-6 boyanmasına en fazla Grup-4 ve Grup-5' te %80 (4/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-6 %60 (3/5), Grup-3 ve Grup-1 %20 (1/5) oranında takip etti. Dalakta hafif şiddette (+1) IL-6 boyanmasına en fazla Grup-2' de %100 (5/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-1 %80 (4/5), Grup-6 %40 (2/5) ve Grup-4 %20 (1/5) oranında takip etti (Tablo 22). Dalaktaki boyanmalara, kapsulada, perifoliküler ve trabeküler alanlarda rastlandı (Şekil 31; A-F).

IL-6 antikoru ile böbrekte yapılan immunohistokimyasal boyamada, orta şiddette (+2) IL-6 boyanmasına en fazla Grup-3' te %100 (5/5) oranında rastlanırken bunu, Grup-4 %60 (3/5), Grup-5 ve Grup-6 %40 (2/5), Grup-1 %20 (1/5) oranında takip etti. Böbrekte hafif şiddette (+1) IL-6 boyanmasına en fazla Grup-1 ve Grup-2' de %80 (4/5) rastlanırken bunu, Grup-5 ve Grup-6 %60 (3/5) ve Grup-4 %40 (2/5) oranında takip etti (Tablo 23). Böbrekteki boyanmalara, kapsulada, kortikal bölgedeki glomeruluslarda ve medulla bölgesindeki tubul epitellerinde rastlandı (Şekil 32; A-F).

Tablo 21. Gruplara göre karaciğerde IL-6 boyanmasının şiddet oranları (IHC).

Karaciğer IL-6 ^a						
			Şiddet			Total
			1	2	3	
Grup*	K-ip Grup-1	Sayı	5	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	,0%	100,0%
	K-sc Grup-2	Sayı	5	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	,0%	100,0%
	CF-ip Grup-3	Sayı	0	0	5	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	,0%	100,0%	100,0%
	CF-sc Grup-4	Sayı	0	5	0	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	100,0%	,0%	100,0%
	CFD-ip Grup-5	Sayı	0	4	1	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	80,0%	20,0%	100,0%
	CFD-sc Grup-6	Sayı	2	3	0	5
		Gruptaki yüzdesi	40,0%	60,0%	,0%	100,0%
Toplam		Sayı	12	12	6	30
		Gruptaki yüzdesi	40,0%	40,0%	20,0%	100,0%

a. Ki-kare testi ile gruplar arası farklılıkların yüzdelik dilime göre verilmesi. *Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.

Tablo 22. Gruplara göre dalakta IL-6 boyanmasının şiddet oranları (IHC).

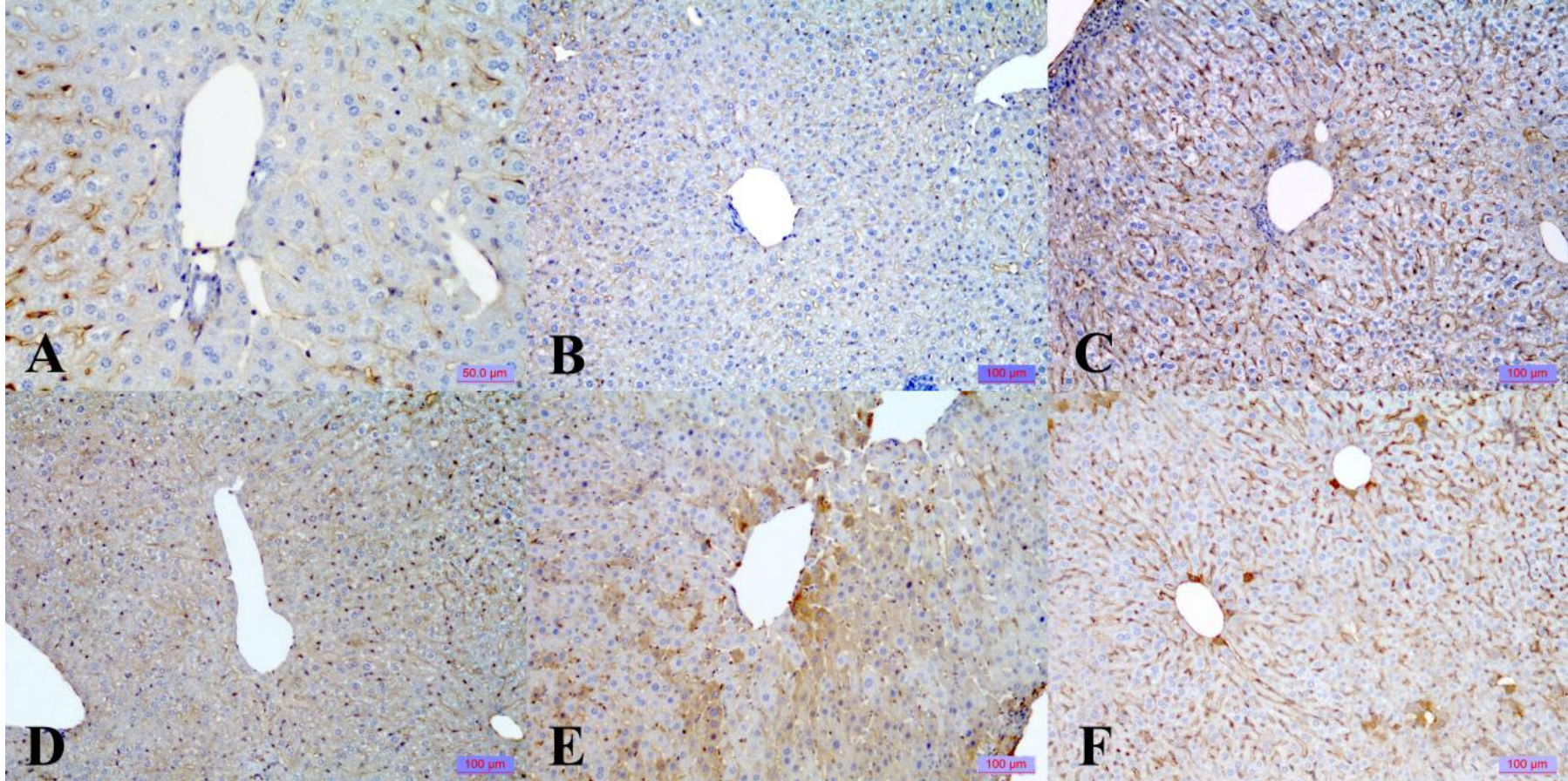
Dalak IL-6 ^a						
			Şiddet			Total
			1	2	3	
Grup*	K-ip Grup-1	Sayı	4	1	0	5
		Gruptaki yüzdesi	80,0%	20,0%	,0%	100,0%
	K-sc Grup-2	Sayı	5	0	0	5
		Gruptaki yüzdesi	100,0%	,0%	,0%	100,0%
	CF-ip Grup-3	Sayı	0	1	4	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	20,0%	80,0%	100,0%
	CF-sc Grup-4	Sayı	1	4	0	5
		Gruptaki yüzdesi	20,0%	80,0%	,0%	100,0%
	CFD-ip Grup-5	Sayı	0	4	1	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	80,0%	20,0%	100,0%
	CFD-sc Grup-6	Sayı	2	3	0	5
		Gruptaki yüzdesi	40,0%	60,0%	,0%	100,0%
Toplam		Sayı	12	13	5	30
		Gruptaki yüzdesi	40,0%	43,3%	16,7%	100,0%

a. Ki-kare testi ile gruplar arası farklılıkların yüzdelik dilime göre verilmesi. *Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.

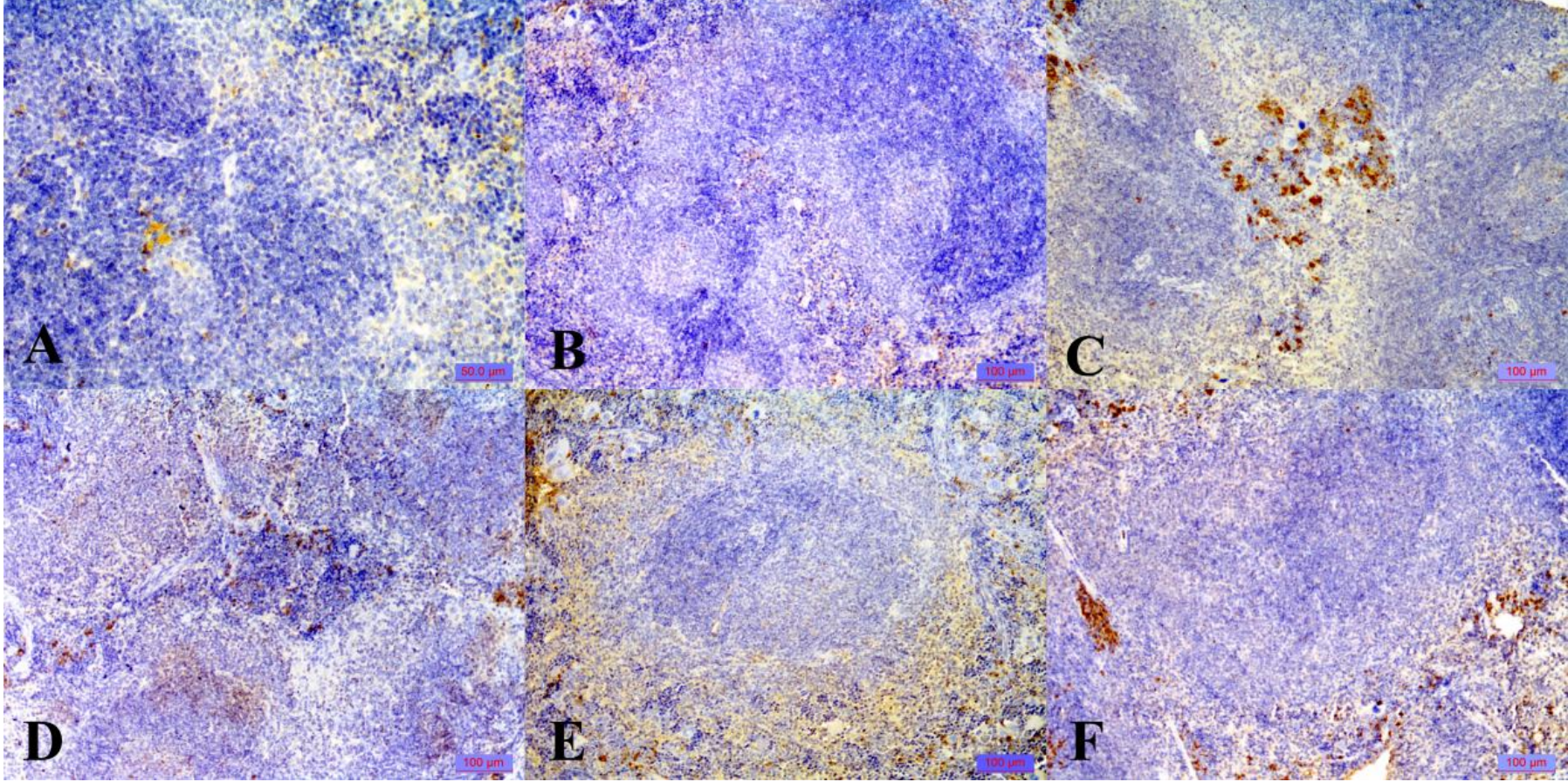
Tablo 23. Gruplara göre böbrekte IL-6 boyanmasının şiddet oranları (IHC).

Böbrek IL-6^a						
			Şiddet			Total
			0	1	2	
Grup	K-ip Grup-1	Sayı	0	4	1	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	80,0%	20,0%	100,0%
Grup	K-sc Grup-2	Sayı	1	4	0	5
		Gruptaki yüzdesi	20,0%	80,0%	,0%	100,0%
Grup	CF-ip Grup-3	Sayı	0	0	5	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	,0%	100,0%	100,0%
Grup	CF-sc Grup-4	Sayı	0	2	3	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	40,0%	60,0%	100,0%
Grup	CFD-ip Grup-5	Sayı	0	3	2	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	60,0%	40,0%	100,0%
Grup	CFD-sc Grup-6	Sayı	0	3	2	5
		Gruptaki yüzdesi	,0%	60,0%	40,0%	100,0%
Toplam		Sayı	1	16	13	30
		Gruptaki yüzdesi	3,3%	53,3%	43,3%	100,0%

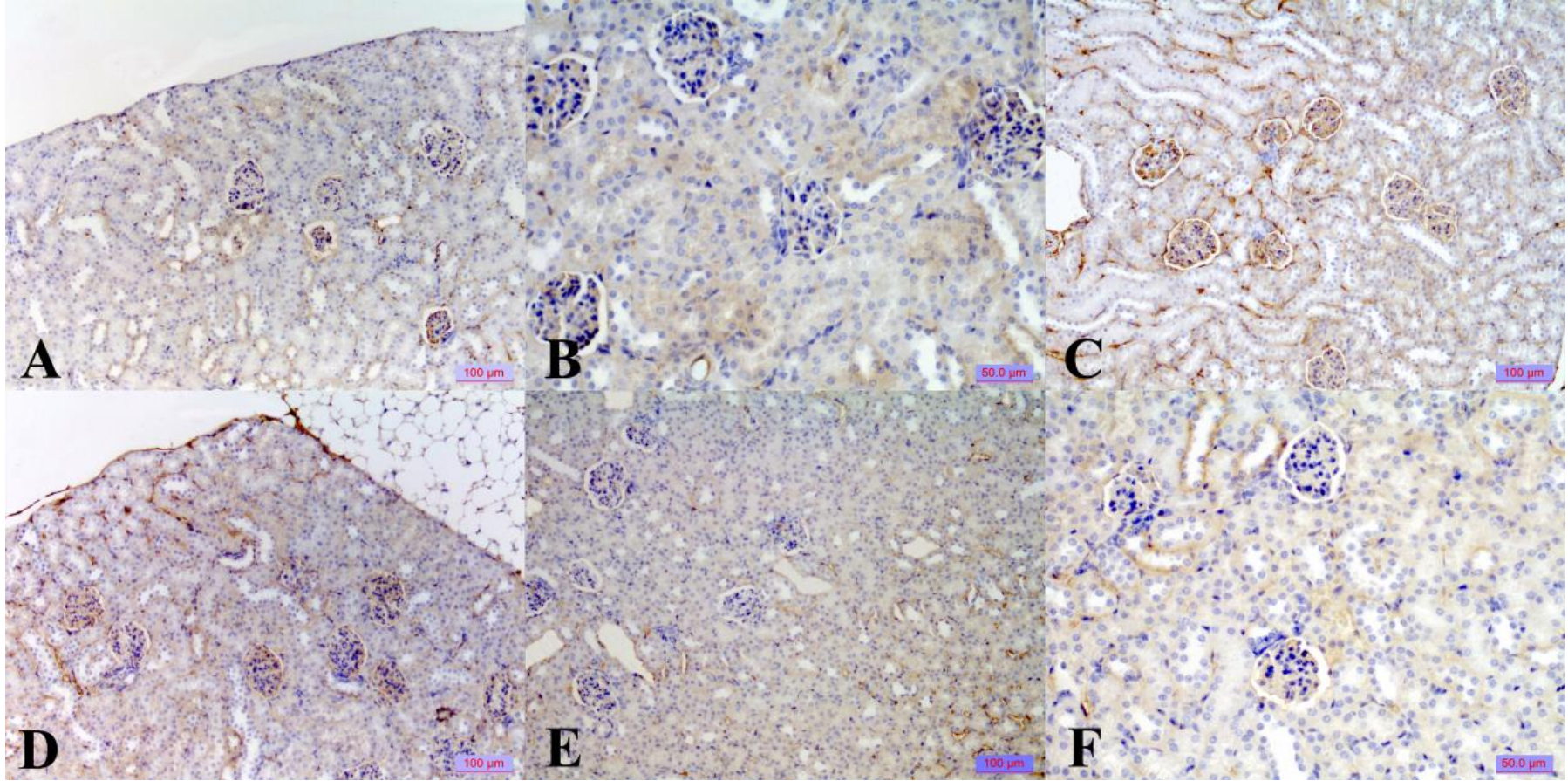
a. Ki-kare testi ile gruplar arası farklılıkların yüzdelerine göre verilmesi. *Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.



Şekil 30. IL-6, Karaciğer, IHC. **A:** Grup-1 (K-ip), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x20), **B:** Grup-2 (K-sc), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x10), **C:** Grup-3 (CF-ip), şiddetli (+3) boyanma, (x10), **D:** Grup-4 (CF-sc), orta şiddetli (+2) boyanma, (x10) **E:** Grup-5 (CFD-ip), orta şiddetli (+2) boyanma, (x20), **F:** Grup-6 (CFD-sc), orta şiddetli (+2) boyanma, (x10).



Şekil 31. IL-6, Dalak, IHC. **A:** Grup-1 (K-ip), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x20), **B:** Grup-2 (K-sc), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x10), **C:** Grup-3 (CF-ip), şiddetli (+3) boyanma, (x10), **D:** Grup-4 (CF-sc), orta şiddetli (+2) boyanma, (x10) **E:** Grup-5 (CFD-ip), orta şiddetli (+2) boyanma, (x20), **F:** Grup-6 (CFD-sc), orta şiddetli (+2) boyanma, (x20).



Şekil 32. IL-6, Böbrek, IHC. **A:** Grup-1 (K-ip), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x10), **B:** Grup-2 (K-sc), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x20), **C:** Grup-3 (CF-ip), orta şiddetli (+2) boyanma, (x10), **D:** Grup-4 (CF-sc), orta şiddetli (+2) boyanma, (x10) **E:** Grup-5 (CFD-ip), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x10), **F:** Grup-6 (CFD-sc), hafif şiddetli (+1) boyanma, (x20).

4.5. Serum Bulguları

Kontrol ve deney gruplarındaki hayvanların serumlarında SAA, IL-1 β , IL-6 ve TNF- α değerlerinin grup ortalamaları Tablo 24' te verilmiştir. Kontrol ve deney gruplarındaki hayvanların serum SAA, IL-1 β , IL-6 ve TNF- α değerleri, Tablo 26, 27, 28 ve 29 ile Şekil 33, 34, 35 ve 36' da verilmiştir. Grup-1 ve Grup-2' de ki hayvanlardan örnekleme yoluyla 10' ar adet hayvanın kan serumları değerlendirilirken, Grup-3, Grup-4, Grup-5 ve Grup-6' da ki hayvanlardan da örnekleme yapılarak 16' şar hayvana ait kan serumları değerlendirildi.

Serumda SAA düzeyine (pg/ml) en yüksek olarak Grup-5 (CFD-ip)' te $38,93 \pm 12,49$ (pg/ml) düzeyinde rastlanırken bunu, Grup-3 (CF-ip) $25,81 \pm 5,69$, Grup-2 (K-sc) $23,89 \pm 5,12$, Grup-4 (CF-sc) $21,14 \pm 6,97$, Grup-1 (K-ip) $19,04 \pm 5,40$ ve Grup-6 (CFD-sc) $15,05 \pm 5,74$ ile takip etti (Tablo 24, 26, Şekil 33). Elde edilen bu verilere göre Grup-1 ile Grup-5 arasında ($p < 0,05$), Grup-2 ile Grup-6 arasında ($p < 0,05$), Grup-3 ile Grup-6 arasında ($p < 0,05$), Grup-4 ile Grup-5 arasında ($p < 0,05$), ve Grup-5 ile Grup-6 arasında ($p < 0,05$) düzeyinde istatistiksel açıdan farklılığın önemli olduğu görüldü (Tablo 26).

Serumda TNF- α düzeyine (pg/ml) en yüksek olarak Grup-3 (CF-ip)' te $686,35 \pm 396,94$ (pg/ml) düzeyinde rastlanırken bunu, Grup-4 (CF-sc) $67,83 \pm 45,67$, Grup-5 (CFD-ip) $37,84 \pm 52,81$, Grup-6 (CFD-sc) $25,10 \pm 10,33$, Grup-2 (K-sc) $7,72 \pm 4,78$ ve Grup-1 (K-ip) $2,71 \pm 2,97$ ile takip etti (Tablo 24, 27, Şekil 34). Elde edilen bu verilere göre Grup-1 ile tüm çalışma grupları arasında (Grup-3, 4, 5 ve 6) ($p < 0,05$) düzeyinde istatistiksel olarak fark görüldü. Grup-2 ile Grup-3 ve Grup-4 arasında ($p < 0,05$) düzeyinde, Grup-3 ile Grup-5 ve Grup-6 arasında da ($p < 0,05$), düzeyinde istatistiksel açıdan farklılığın anlamlı olduğu tespit edildi (Tablo 27).

Serumda IL-1 β düzeyine (pg/ml) en yüksek olarak Grup-4 (CF-sc)' te $19,50 \pm 13,16$ (pg/ml) düzeyinde rastlanırken bunu, Grup-3 (CF-ip) $18,62 \pm 7,92$, Grup-1 (K-ip) $18,00 \pm 20,25$, Grup-5 (CFD-ip) $14,44 \pm 4,41$, Grup-6 (CFD-sc) $13,88 \pm 7,92$ ve

Grup-2 (K-sc) $10,30 \pm 1,83$ ile takip etti (Tablo 24, 28 ve Şekil 35). Elde edilen bu verilere göre Grup-2 ile Grup-3 arasında ($p<0,05$) düzeyinde istatistiksel açıdan farklılığın önemli olduğu görüldü (Tablo 28).

Serumda IL-6 düzeyine (pg/ml) en yüksek olarak Grup-3 (CF-ip)' te $71,66 \pm 48,54$ (pg/ml) düzeyinde rastlanırken bunu, Grup-6 (CFD-sc) $39,03 \pm 26,27$, Grup-4 (CF-sc) $26,42 \pm 19,97$, Grup-5 (CFD-ip) $12,57 \pm 15,74$, Grup-1 $8,16 \pm 9,51$ ve Grup-2 (K-sc) $6,74 \pm 4,85$ ile takip etti (Tablo 24, 29 ve Şekil 36). Elde edilen bu verilere göre kontrol gruplarıyla Grup-3, Grup-4 ve Grup-6 arasında ($p<0,05$), Grup-3 ile Grup-5 ve Grup-5 ile Grup-6 arasında ($p<0,05$) düzeyinde istatistiksel açıdan farklılığın önemli olduğu görüldü (Tablo 29).

Serum SAA, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeyleri arasındaki korelasyon, Pearson korelasyon testi ile belirlendi. Buna göre SAA ile IL-1 β ve IL-6 arasında ($p<0,05$) düzeyinde korelasyon tespit edilirken, SAA ile TNF- α arasında ($p<0,01$) düzeyinde korelasyon tespit edildi. Ayrıca serum IL-1 β ile IL-6 arasında da ($p<0,01$) düzeyinde korelasyon gözlemlendi (Tablo 25, Şekil 37, 38, 39, 40).

Tablo 24. Serum, SAA, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeylerinin grup ortalaması dağılımları.

Grup*		No	SAA	TNF- α	IL-1 β	IL-6
Grup-1 (K-ip)	N	10	10	10	10	10
	M	10,4000	19,0398	2,7110	18,0000	8,1600
	Std. D.	6,20394	5,40223	2,97848	20,25394	9,51756
Grup-2 (K-sc)	N	10	10	10	10	10
	M	11,9000	23,8896	7,7190	10,3000	6,7430
	Std. D.	6,11828	5,12934	4,78154	1,82878	4,85723
Grup-3 (CF-ip)	N	16	16	15	16	15
	M	8,5000	25,8111	686,3533	18,6250	71,6620
	Std. D.	4,76095	5,69396	396,94190	7,91518	48,54348
Grup-4 (CF-sc)	N	16	16	15	16	14
	M	9,6250	21,1433	67,8340	19,5000	26,4211
	Std. D.	5,66716	6,97041	45,66967	13,15548	19,97210
Grup-5 (CFD-ip)	N	16	15	16	16	16
	M	10,3750	38,9311	37,8406	14,4375	12,5694
	Std. D.	5,72576	12,49404	52,80950	4,41163	15,74408
Grup-6 (CFD-sc)	N	16	16	16	16	16
	M	10,5000	15,0463	25,0950	13,8750	39,0300
	Std. D.	5,16398	5,74988	10,32575	7,92359	26,27105
Toplam	N	84	83	82	84	81
	M	10,0833	24,1599	151,5132	16,0238	29,8697
	Std. D.	5,46447	10,73504	305,61166	10,57045	34,61082

* Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II. N: Örnek sayısı, M: Grup ortalaması, Std. D. (Standard Deviation): Standart Sapma. (Kruskal-Wallis Veri Gruplarının Karşılaştırılması Testi).

Tablo 25. Serum, SAA, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeyleri arasındaki korelasyon ilişkileri.

		No	SAA	TNF- α	IL-1	IL-6
No	Pearson Korelasyon	1	,043	,054	-,020	,192
	Sig. (2-tailed)		,783	,730	,894	,217
	N	45	44	44	45	43
SAA	Pearson Korelasyon			,541** a	,331* b	,312* c
	Sig. (2-tailed)			,000	,028	,042
	N			44	44	43
TNF-α	Pearson Korelasyon				,254	,209
	Sig. (2-tailed)				,096	,178
	N				44	43
IL-1	Pearson Korelasyon					,451*** d
	Sig. (2-tailed)					,002
	N					43

*. Korelasyon 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

**. Korelasyon 0,01 düzeyinde anlamlıdır.

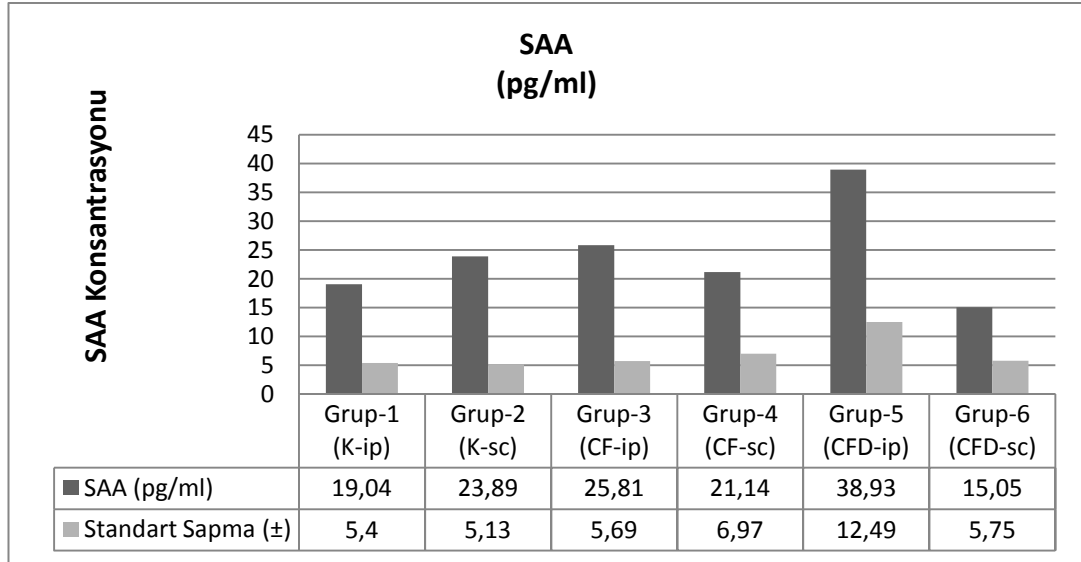
a - d: Karşılıklı sütun ve satırlardaki değişik harfler ile gösterilen gruplar arası farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,01$), ($p < 0,05$) (Kruskal-Wallis ve Nemenyi Farklı Veri Gruplarının Karşılaştırılması Testi).

Tablo 26. SAA serum ölçüm sonuçlarının deneysel gruplara göre farklılıkları.

Grup*	Deneysel Gruplar*						MSD=26,1144
	Grup-1 (K-ip)	Grup-2 (K-sc)	Grup-3 (CF-ip)	Grup-4 (CF-sc)	Grup-5 (CFD-ip)	Grup-6 (CFD-sc)	
Grup-1 (K-ip)		15,80	19,83	6,89	40,93 ^a	11,67	
Grup-2 (K-sc)			4,03	8,91	15,8	27,47 ^b	
Grup-3 (CF-ip)				12,94	21,10	31,50 ^c	
Grup-4 (CF-sc)					34,04 ^d	18,56	
Grup-5 (CFD-ip)						52,60 ^e	
	Grup-1 (K-ip)	Grup-2 (K-sc)	Grup-3 (CF-ip)	Grup-4 (CF-sc)	Grup-5 (CFD-ip)	Grup-6 (CFD-sc)	
Ortalama Değer	29,80	45,60	49,63	36,69	70,73	18,13	

* Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.

a - e: Karşılıklı sütun ve satırlardaki değişik harfler ile gösterilen gruplar arası farklılıklar istatistik olarak önemlidir ($p < 0,05$) (Kruskal-Wallis ve Nemenyi Farklı Veri Gruplarının Karşılaştırılması Testi).

**Şekil 33.** Deneysel gruplara göre SAA seviyeleri.

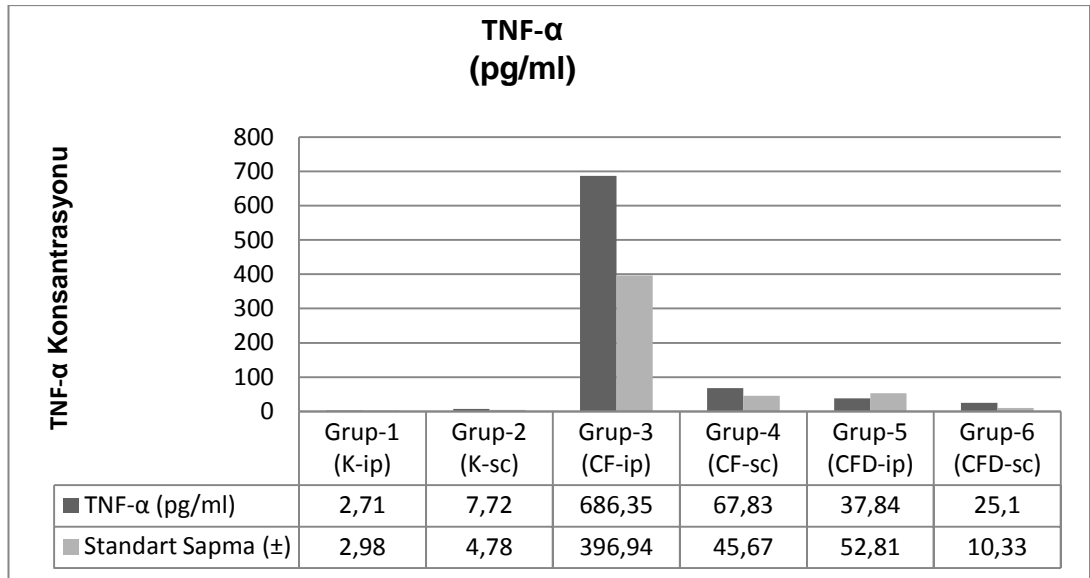
Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.

Tablo 27. TNF- α serum ölçüm sonuçlarının deneysel gruplara göre farklılıkları.

Grup*	Deneysel Gruplar*						MSD=25,9532
	Grup-1 (K-ip)	Grup-2 (K-sc)	Grup-3 (CF-ip)	Grup-4 (CF-sc)	Grup-5 (CFD-ip)	Grup-6 (CFD-sc)	
Grup-1 (K-ip)		10,05	66,15 ^a	42,68 ^b	26,40 ^c	32,62 ^d	
Grup-2 (K-sc)			56,10 ^e	32,63 ^f	16,35	22,57	
Grup-3 (CF-ip)				23,47	39,75 ^g	33,53 ^h	
Grup-4 (CF-sc)					16,28	23,47	
Grup-5 (CFD-ip)						6,22	
	Grup-1 (K-ip)	Grup-2 (K-sc)	Grup-3 (CF-ip)	Grup-4 (CF-sc)	Grup-5 (CFD-ip)	Grup-6 (CFD-sc)	
Ortalama Değer	8,85	18,90	75,00	51,53	35,25	41,47	

* Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.

a - h: Karşılıklı sütun ve satırlardaki değişik harfler ile gösterilen gruplar arası farklılıklar istatistikî olarak önemlidir ($p < 0,05$) (Kruskal-Wallis ve Nemenyi Farklı Veri Gruplarının Karşılaştırılması Testi).



Şekil 34. Deneysel gruplara göre TNF- α seviyeleri.

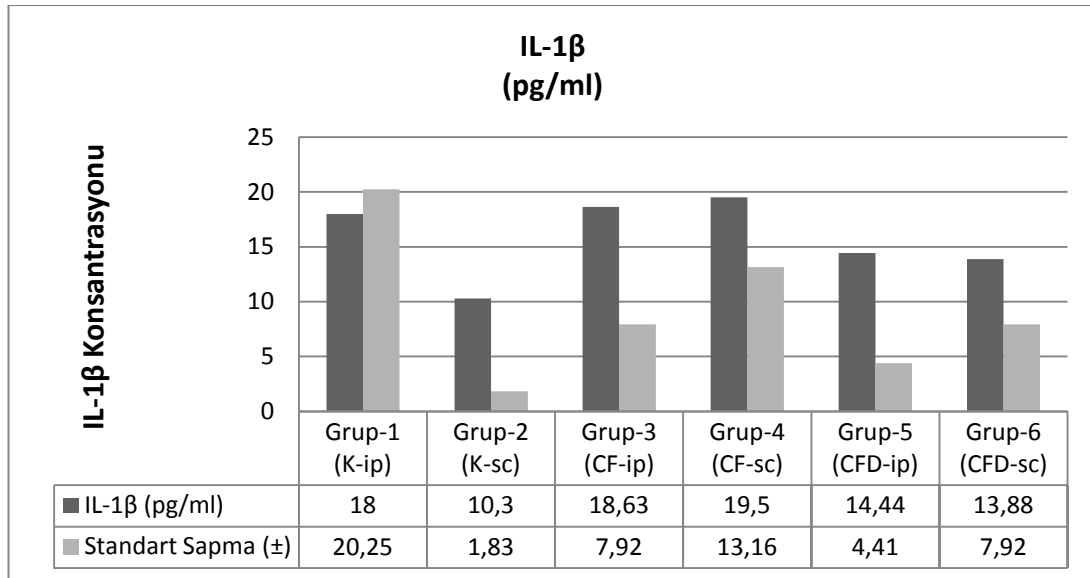
Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.

Tablo 28. IL-1 β serum ölçüm sonuçlarının deneysel gruplara göre farklılıkları.

Grup*	Deneysel Gruplar*						MSD=26,2756
	Grup-1 (K-ip)	Grup-2 (K-sc)	Grup-3 (CF-ip)	Grup-4 (CF-sc)	Grup-5 (CFD-ip)	Grup-6 (CFD-sc)	
Grup-1 (K-ip)		12,55	17,52	12,27	7,89	0,70	
Grup-2 (K-sc)			30,07 ^a	24,82	20,44	11,85	
Grup-3 (CF-ip)				5,25	9,63	18,22	
Grup-4 (CF-sc)					4,38	12,97	
Grup-5 (CFD-ip)						8,59	
	Grup-1 (K-ip)	Grup-2 (K-sc)	Grup-3 (CF-ip)	Grup-4 (CF-sc)	Grup-5 (CFD-ip)	Grup-6 (CFD-sc)	
Ortalama Değer	36,95	24,40	54,47	49,22	44,84	36,25	

* Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.

a: Karşılıklı sütun ve satırdaki harf ile gösterilen gruplar arası farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p < 0,05$) (Kruskal-Wallis ve Nemenyi Farklı Veri Gruplarının Karşılaştırılması Testi).



Şekil 35. Deneysel gruplara göre IL-1 β seviyeleri.

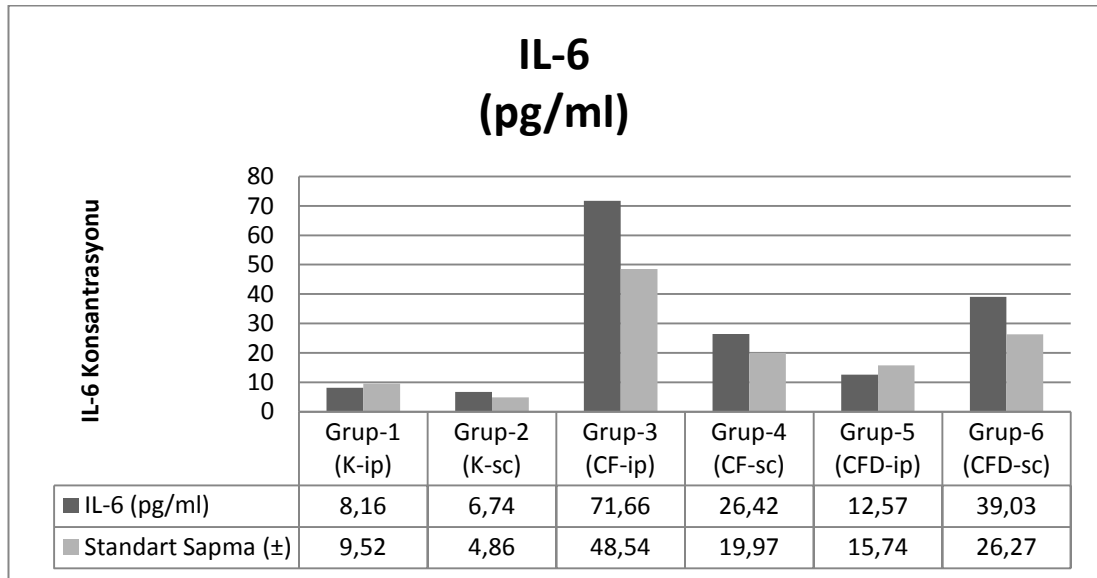
Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.

Tablo 29. IL-6 serum ölçüm sonuçlarının deneysel gruplara göre farklılıkları.

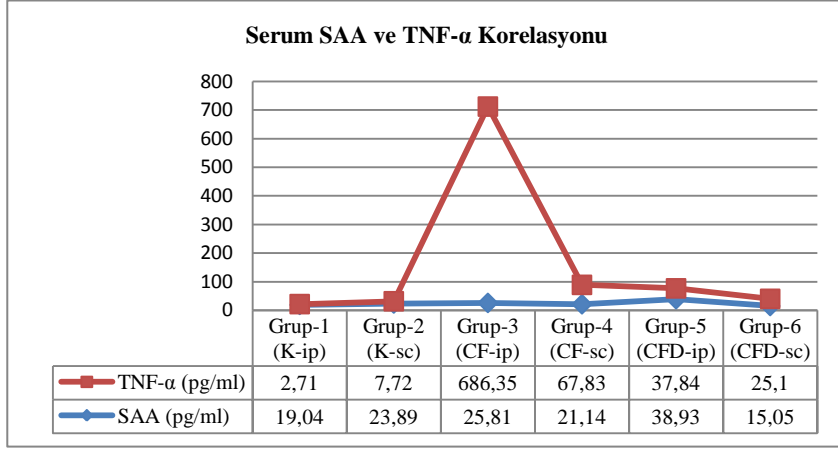
Grup*	Deneysel Gruplar*						MSD=25,8040
	Grup-1 (K-ip)	Grup-2 (K-sc)	Grup-3 (CF-ip)	Grup-4 (CF-sc)	Grup-5 (CFD-ip)	Grup-6 (CFD-sc)	
Grup-1 (K-ip)		2,85	46,53 ^a	28,60 ^b	6,26	36,23 ^c	
Grup-2 (K-sc)			49,38 ^d	31,45 ^e	9,11	39,08 ^f	
Grup-3 (CF-ip)				17,93	40,27 ^g	10,30	
Grup-4 (CF-sc)					22,34	7,63	
Grup-5 (CFD-ip)						29,97 ^h	
	Grup-1 (K-ip)	Grup-2 (K-sc)	Grup-3 (CF-ip)	Grup-4 (CF-sc)	Grup-5 (CFD-ip)	Grup-6 (CFD-sc)	
Ortalama Değer	19,40	16,55	65,93	48,00	25,66	55,63	

* Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.

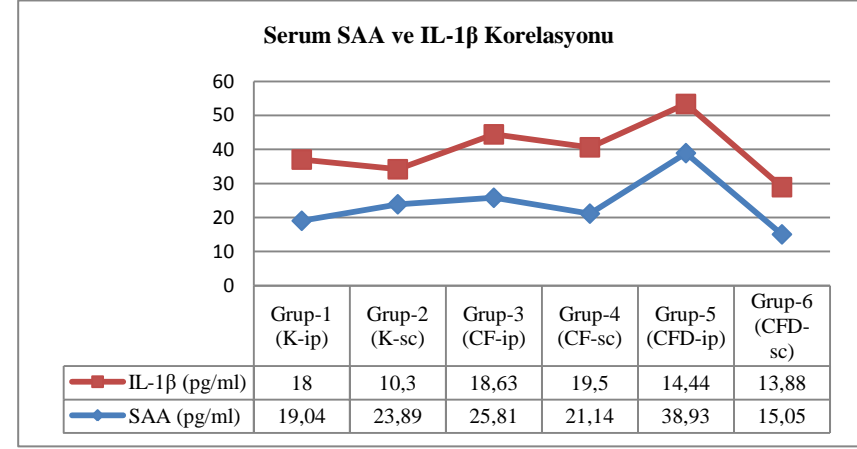
a-h: Karşılıklı sütun ve satırdaki harf ile gösterilen gruplar arası farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ($p<0,05$) (Kruskal-Wallis ve Nemenyi Farklı Veri Gruplarının Karşılaştırılması Testi).

**Şekil 36.** Deneysel gruplara göre IL-6 seviyeleri.

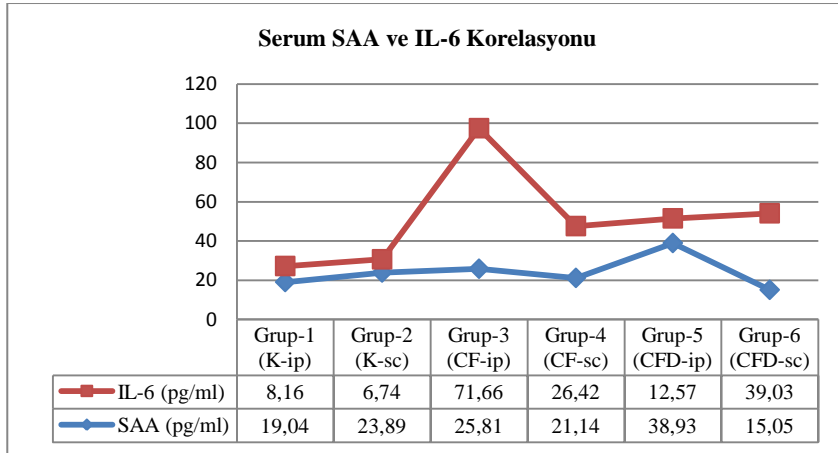
Grup-1 (K-ip) Negatif kontrol grubu-I, Grup-2 (K-sc) Negatif kontrol grubu II, Grup-3 (CF-ip) Deney grubu I, Grup-4 (CF-sc) Deney grubu II, Grup-5 (CFD-ip) Tedavi grubu I, Grup-6 (CFD-sc) Tedavi grubu II.



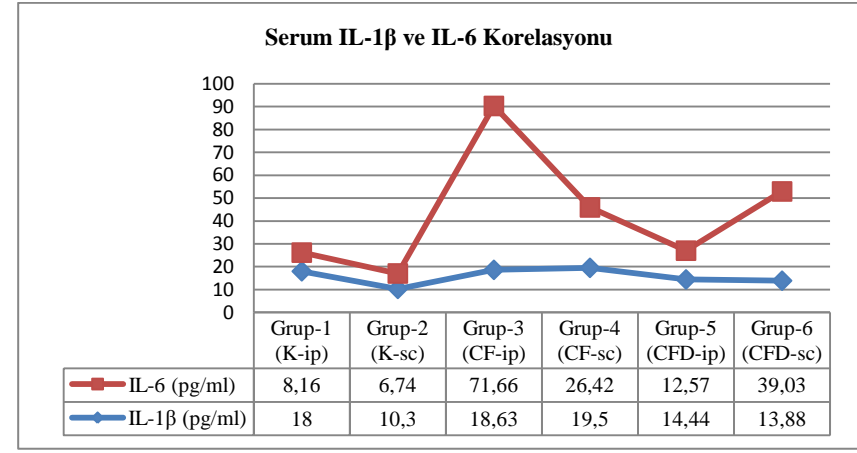
Şekil 37. Gruplara göre SAA ve TNF- α değerlerinin karşılaştırılması.



Şekil 38. Gruplara göre SAA ve IL-1 β değerlerinin karşılaştırılması.



Şekil 39. Gruplara göre SAA ve IL-6 değerlerinin karşılaştırılması.



Şekil 40. Gruplara göre IL-1 β ve IL-6 değerlerinin karşılaştırılması.

5. TARTIŞMA

Amiloidozis normal olarak eriyebilir yapıda olan proteinlerin veya onların fragmentlerinin vücudun çeşitli doku ve organlarında hücre dışında fibriller bir formda birikmesidir (Glenner, 1980; Erer ve ark., 2000). Ülkemizde ve Dünyada önemli bir sorun olan amiloidozis, uzun yıllardır bilinmesine (Sevimli ve ark., 2005; Glisson, 1654) ve bir çok hastalıkla ilişkisi ortaya konulmasına rağmen (Montali ve ark., 1976; Eskens ve ark., 1984; Zschiesche, 1984; Perez ve ark., 1989; Miller ve ark., 1993; Beckes ve ark., 1995; Doer ve Robenau, 1995; Druke ve ark., 1995; Lorenzo ve Yanker, 1996; Perini ve ark., 1996; Wille ve ark., 1996; Lutz ve Rand, 1997; Fremont, 2002) patojenezi hakkında bilgiler hala yeterli değildir. İmmun sistemin ve aynı zamanda immunsupressif ve anti-inflamatuvar ilaçların amiloidozis oluşumunda ve baskılanmasındaki rolünü incelemek amacıyla yapılan bu çalışmada gerek insanlara gerekse hayvanlara uyarlamak için iyi bir model olan “Swiss albino” ırkı fareler kullanıldı.

Amiloidozis olgularına insanlarda (Dhillon ve ark., 1989; Miller ve ark., 1993; Solomon, 1996), kanatlılarda (Landman ve ark., 1994; Landman ve ark., 1996; Sevimli ve ark., 2005) ve bir çok memeli hayvanda rastlanılmaktadır (Palotay ve Howard, 1982; Doerr ve Rabenau, 1995; Jeffrey ve ark., 1998; Tamyama ve ark., 2000; Moges, 2012).

Farelerde deneysel olarak amiloidozis oluşturulmasına yönelik yapılan çalışmalarda, subkutan kazein enjeksiyonu (Benson ve ark., 1977), subkutan AgNO₃ enjeksiyonu (Botto ve ark., 1997), intraperitoneal Kazein-Complete Freund's adjuvant (Kawabe ve ark., 2004; Alasonyalılar, 2008) enjeksiyonları yapılmış ve hayvanlarda klinik olarak karaciğer, dalak ve böbrek enzimlerinde değişiklikler (Snyder, 2007; Woldemeskel, 2012) gözlenirken, nekropside karın bölgesindeki yağda artış olduğu (Alasonyalılar, 2008), birikimin miktarına göre organlarda büyümeler görüldüğü tespit edilmiştir. Ayrıca amiloid birikimine bağlı olarak dalakta

ve karaciğerde yırtılmalar ile birlikte organlarda birikime bağlı olarak yumuşama olabildiği gibi kronik hasara bağlı olarak sertleşmelerinde olduğu tespit edilmiştir (Snyder, 2007). Bu çalışmada deney ve tedavi gruplarındaki hayvanlarda intraperitoneal enjeksiyon yapılanlarda subkutanlara göre hayvanların klinik olarak daha uzun süre etkilendikleri tespit edildi (Şekil 8 ve 9). Ayrıca hayvanların klinik olarak enjeksiyondan sonra şiddetli abdominal ağrı ile beraber durgunlaştıkları da görüldü. Nekropside ise deney gruplarındaki ve tedavi gruplarındaki hayvanlarda değişen şiddette ve yaygınlıkta karın boşluğu organlarının birbirlerine yapışmış olduğu, karaciğerin, dalağın ve böbreğin büyüdüğü ve üzerinde boz beyaz renkli odakların olduğu tespit edildi. Nekropsi sonuçlarına göre en çok etkilenen grupların sırasıyla Grup-3, Grup-5, Grup-4, Grup-6 olduğu görüldü (Tablo 5, Şekil 8A ve 8B, Şekil 10A ve 10B).

Bu çalışmada kullanılan hayvanların canlı ağırlık artışları ölçüldü ve canlı ağırlık artışı en fazla olarak Complete Freund's Adjuvantın tek başına verildiği Grup-3' te kaydedildi (Tablo 4, Şekil 5). Bu gruptaki hayvanların canlı ağırlığındaki artışın, bu grupta aynı zamanda en yüksek oranda amiloid birikimine bağlı olabileceği düşünüldü.

Farklı rasyonlarla beslenmeye tabi tutulan fareler üzerinde yapılan deneysel amiloidozis çalışmalarında amiloid oluşum oranları %80 ile %60 arasında bildirilmiştir (Alasonyalılar, 2008; Simons ve ark., 2013). Farelerde deneysel amiloidozis üzerine yapılan bir çalışmada, 21. günde karaciğer ve dalaktaki amiloid birikimlerinin önemli bir oranda artmış olduğu ifade edilmiştir (Poliack ve ark., 1973). Farelerde subkutan olarak Freund's adjuvant verilerek amiloidozis oluşturulan bir başka çalışmada dalak' ta %26 oranında amiloid birikimine rastladığını bildirmiştir. Farelerde yapılan diğer bir çalışmada (Druet ve Janigan, 1966) kazein enjeksiyonu sonucunda %75-93' lük amiloid oluşumuna rastlanmıştır. Sevimli ve ark., (2005) tavuklarda deneysel amiloid artropati oluşturdukları bir çalışmada amiloid oluşum oranları %100 ile %66 arasında bulmuştur. Bu çalışmada en yüksek oranda amiloid birikimine Grup-3' te (%81,20) rastlandı. Bunu sırasıyla Grup-5 (%25), Grup-4 (%15,80) ve Grup-6 (%10,15) (Tablo 9, 10,11) takip etmiştir. Bu

çalışmada elde edilen bu bulgular (Alasonyalılar, 2008; Sevimli ve ark., 2005) ile uyumlu olduğu görülmüştür. Bu bulgulara dayanılarak intraperitoneal enjeksiyon yönteminin subkutan enjeksiyon yöntemine göre amiloid oluşturmada daha başarılı olduğunu söylemek mümkündür. Ayrıca karaciğer ve dalakta amiloid oluşum oranları Grup-3, Grup-4 ve Grup-5' te aynı olduğu tespit edilirken böbreklerde sadece intraperitoneal enjeksiyon yapılan Grup-3 (%18,80) ve Grup-5' te (%10) düşük oranda amiloid birikimlerine rastlandı. Bu bulgulara göre oluşturmuş olduğumuz modelde karaciğer ve dalakta amiloid oluşumlarının böbreğe kıyasla daha fazla olduğunu söylemek mümkün olup, bu durum Spornova ve ark. (2008)'nin amiloidin primer birikim alanının dalak olduğu ve bunu karaciğerin takip ettiği bulguları ile de paralellik göstermemektedir.

Hayvanlarda amiloidozis oluşumu ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda amiloidin karaciğerde damarlar çevresinde ve Disse aralıklarında, dalakta ise perifoliküler alanda, böbrekte ise peritubuler alanla birlikte, glomeruluslarda biriktiği bildirilmiştir (Dan ve ark., 2007; Alasonyalılar, 2008; Simons ve ark., 2013). Bu çalışmada da amiloidin karaciğer, dalak ve böbrekte birikim yerleri araştırmacıların bulguları ile uyumlu bulundu (Şekil 15, 16, 17, 18, 19, 20). Amiloid fibrillerinin şekillenmesi ve oluşumu üzerine retikuloendotelial sistem hücrelerinin önemli rolü bulunmaktadır. Özellikle nötrofil ve makrofajların SAA'nın dokulardaki yıkımlanmasından sorumlu oldukları sanılmaktadır (Glennner 1980; Skogen ve ark., 1980; Yamada ve ark 1996). Bu çalışmada H.E. boyamada, karaciğerde kapsula altında yağlanma, nekroz ve hücre infiltrasyonları ile beraber, periportal alanda, midzonal bölgede, periasiner bölgede; dalakta perifoliküler alanda; böbrekte intersitisyel alanda koagülasyon nekrozu ve çoğunluğunu mononükleer hücrelerin oluşturduğu daha az sayıda da polimorfonükleer lökositlerin görüldüğü hücre infiltrasyonları araştırmacıların bulguları ile uyumlu bulundu (Glennner 1980; Skogen ve ark., 1980; Yamada ve ark., 1996; Sevimli ve ark., 2005; Dan ve ark., 2007; Alasonyalılar, 2008; Simons ve ark., 2013) (Şekil 12, 13, 14).

Veteriner hekimlikte en sık karşılaşılan amiloid tipi immünglobulinlerle ilişkili olan sistemik tip amiloid A (AA) amiloidozudur. AA amiloidozis insan ve

hayvanlarda kronik enfeksiyonlar ve yangısal hastalıklar sonucu ortaya çıkan ve ölümlü sonuçlanabilen bir amiloidozis tipidir (Slauson ve Cooper, 1990; Sipe, 1994; Solomon, 1996; Gruys, 2004). Akut faz proteini olan SAA' nın üretimindeki artış AA amiloidozis oluşumuna neden olur (Husby ve Natvig, 1974; Tape ve ark., 1988; Gillmore ve ark., 2001). Serum Amiloid A oranı sağlıklı hayvanları hastalıklı hayvanlardan ayıran önemli bir parametredir (Alsemgeest ve ark., 1994). Sağlıklı hayvanlarda SAA' nın seviyesi çok düşük iken, enfeksiyonlu hayvanlarda 200 kata kadar artış gösterebilmektedir (Merril ve ark., 1977). Merrill ve ark (1977) subkutan kazein enjeksiyonunu takiben SAA seviyesinin 3. saatte artmaya başladığını, 12-18. saatte pik seviyeye ulaştığını bildirmiştir. Bu çalışmada SAA seviyesine en yüksek oranda Grup-5' te rastladık. Bunu Grup-3, Grup-2, Grup-4, Grup-1, Grup-6 takip etti. Bu bulgulara göre, doku bulgularımızdaki gibi, serumda da intraperitoneal enjeksiyon yapılan gruplarda en yüksek oranda amiloid oluşumuna (SAA) rastladık. Grup-5' te gözlenen yükselme benzeri çalışmalarda gözlenen bir bulgu olmayıp, Grup-1 ile kıyaslandığında istatistiki açıdan önemli bulundu ($p<0,05$). Grup-6' da kontrol grubuna (Grup-2) göre gözlenen düşüş istatistiki açıdan önemli bulundu ($p<0,05$). Grup-3' te Grup-1 ve Grup-2' ye göre; Grup-4' te Grup-1' e göre gözlenen bu artış amiloidozis olgularında serumda SAA artışını bildiren araştırmacıların (Merril ve ark., 1977; Sipe ve ark., 1982; Alasonyalılar, 2008; Han ve ark., 2006; Chiba ve ark., 2011) bulguları ile uyumlu bulundu. Grup-3, Grup-4 ve Grup-6' da serumda elde edilen sonuçlar kısmen doku bulguları ile uyumlu bulundu (Tablo 24, 26, Şekil 32).

Aynı zamanda AA amiloidin prekürsör proteini olan SAA'nın serumdaki aşırı artışı IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi pro-inflamatuar sitokinler tarafından düzenlenmektedir (Betts ve ark., 1993; Ray ve ark., 1999; Hagihara ve ark., 2004; Lomborg ve ark., 2008). IL-1 β ve IL-6 memelilerde yangıya karşı akut faz cevabın başlatılmasında önemli bir rol oynamaktadır (Hazuda ve ark., 1990; Fujihashi ve ark., 1992; Gauldie ve ark., 1992; Plackett ve ark., 2007; Sevimli ve ark., 2008). Laboratuvar hayvanlarında IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi sitokinler karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında önemli bir rol oynamaktadır (Johnson ve ark., 1993-a; Johnson ve ark., 1993-b; Gruys, 2004; Henson ve ark., 2006). Pro-inflamatuar

sitokinler aynı zamanda ateşin oluşumundan, kemik iliğinden beyaz kan hücrelerinin aktive edilmesinden ve dokuda fibroblast ve makrofajların oluşmasından sorumludurlar (Dinarello, 1983; Dinarello, 1989; Sehgal ve ark., 1989; Heinrich, 1989; Van Miert, 1995; Gruys ve ark., 2005). Kazein enjeksiyonu ile amiloidozis oluşturulan farelerde yapılan bir çalışmada serum TNF- α , IL-6 ve IL-1 β düzeyinin 3 ila 5. saatlerde pik yaptığını tespit etmişlerdir (Dan ve ark., 2007). Amiloid artropatili tavuklarda yapılan bir çalışmada IL-1 β ve TNF- α 'nın AA amiloidozisin oluşumunda önemli bir rol oynadığını bildirmişlerdir (Sevimli ve ark., 2008). Bu çalışmada serumda en yüksek oranda TNF- α düzeyine Grup-3 ve Grup-4' te rastlandı ($p<0,05$). Grup-5 ve Grup-6' da Grup-1 ve Grup-2' ye nazaran artış gözlemlendi ($p<0,05$) (Tablo 24, 27, Şekil 33). Bu çalışmada en yüksek oranda IL-1 β düzeyine Grup-4 ve Grup-3' te rastlandı. Grup-3' te gözlenen artış Grup-2 ile kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p<0,05$) (Tablo 24, 28, Şekil 34). Bu çalışmada serumda en yüksek oran da IL-6 düzeyine Grup-3' te rastlanırken ($p<0,05$), bunu Grup-6 ($p<0,05$), Grup-4 ($p<0,05$), Grup-5 takip etti (Tablo 24, 29, Şekil 35). Karaciğer, dalak ve böbrek dokusunda amiloid A, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 antikorları ile yapılan immunohistokimyasal boyamalar sonucunda en şiddetli boyanmalara Grup-3' te rastlanırken, bunu Grup-5 ve Grup-4 takip etti. Elde ettiğimiz doku ve serum bulgularına dayanarak amiloidozis oluşumunda SAA, IL-1 β , IL-6 ve TNF- α 'nın önemli bir rol oynadığını söylemek mümkün olabilir. Bu sonuçlar aynı zamanda deneysel amiloidozis oluşturulmuş hayvanlarda IL-1 β , IL-6, TNF- α 'nın arttığını bildiren araştırmacıların (Ksilevsky ve Young, 1994; Sipe, 1994; Skinner ve ark., 1997; Solomon ve ark., 1999; Dan ve ark., 2007; Sevimli ve ark., 2008; Barbara ve ark., 2011) bulguları ile de uyumlu bulunmuştur.

Obez bireyler üzerinde yapılan çalışmalarda, (Poitou ve ark., 2006; Yang ve Lee, 2006) obez bireylerin diyet yaparak zayıflaması sonucu SAA salınımının azaldığı tespit edilmiştir. Obez bireylerin adipositlerden daha fazla SAA'nın (Poitou ve ark., 2005) ve IL-1 β , IL-6 ile TNF- α gibi sitokinlerin salgılandığı (Weisberg ve ark., 2003; Xu ve ark., 2003) bildirilmiştir. Bu çalışmada da yağ dokusundaki artışın en fazla görüldüğü Grup-3 ve Grup-5' te aynı zamanda en fazla oranda amiloid

oluşumunun gözlenmesi de araştırmacıların bulgularını destekler nitelikte bulunmuştur.

AA amiloidozis insan ve hayvanlarda ilerleyici ölümcül bir hastalıktır. Bu durum, amiloid proteininin nispeten çözünmemesi ve proteolitik parçalanmaya karşı dirençli olması ile ilgilidir. Amiloidozisin patojenezine yönelik olarak veya tedavisine yönelik olarak yapılacak araştırmaların başarılarını artırmaları için daha fazla önleyici ve tedavi edici etkiye sahip ilaçlara ihtiyaç vardır (Landman, 1998).

Amiloidozis bir kez başladıktan sonra yapılabilecek en iyi süreç daha fazla amiloid oluşumunu engellemek için mevcut süregelen yangısal aktiviteyi durdurmaktır (Hawkins ve ark., 1993). Amiloidozisin baskılanmasında bugüne kadar Pentoksifilin (Sevimli ve ark., 2005), antisense oligonucleotides (ASO) (Barabara ve ark., 2011), colchicine (Kisilevsky ve ark., 1983; Takahashi ve ark., 1985), Hidrokortizon, Dekzametazon, Metilprednizolon (Toubi ve ark., 2001), Tenidap (Husebekk ve Stenstad, 1996), Triptolide (Dan ve ark., 2007) gibi ilaçlar kullanılmıştır. Metilprednizolon beşeri ve veteriner hekimlikte kullanılan kısa etkili, immunsupressif ve antiinflammatuar etkili sentetik adrenokortikal bir ilaçtır (Xu ve ark., 1998). Metilprednizolon dokularda lökosit göçünü, fagositoz olayını ve IL-1 β , IL-6, TNF- α ' yı baskılayıcı özelliğe sahiptir (Pitzalis ve ark., 1997; Xu ve ark., 1998; Stanton ve ark., 1999). Bu çalışmada Metilprednizolon verilen Grup-5 ve Grup-6' da serum IL-1 β , IL-6 ve TNF- α düzeyinin deney gruplarına göre baskılanmış olduğunu ancak Grup-5' in dokularında IL-1 β , IL-6, TNF- α ' yı serumdakine göre yeterli düzeyde baskılayamadığını, Grup-6' da ise baskılayabildiğini tespit ettik (Tablo 24). Tavuklarda deneysel olarak amiloid artropati oluşturulan çalışmalarda (Sevimli ve ark., 2005; 2008; 2013a; 2013b) Metilprednizolon' un amiloid oluşumunu baskıladığını tespit edilmiştir. Shtrasburg ve ark., (2007) yaptığı çalışmada Metilprednizolon' un Hidrokortizon ve Dekzametazon' a kıyasla amiloidogenezisi baskılamada daha az etkili olduğunu bildirmiştir. Bu etkiyi kısa dönemde (0-3 gün) ve günlük ilaç uygulaması ile elde etmiş olup, uzun dönemde bu ilaçların etkisinin kalktığını bildirmiştir. Bazı araştırmacılar kortizon uygulamasının amiloid birikimini arttırdığını (Latvalahti, 1952; Hardt, 1971), bazıları (Fields ve ark., 1973)

baskıladığını, bazıları ise etkili olmadığını (Polliack ve ark., 1973) bildirmişlerdir. Laufer ve ark., (1968) amiloid oluşmadan önce kortizon uygulaması yapmış ve immun sistemin baskılanmasından dolayı amiloid oluşumunu tamamıyla inhibe ettiğini tespit etmiştir. Bu çalışmada Metilprednizolon verdiğimiz Grup-5' te serumda en yüksek oranda SAA' ya rastlanılırken, Grup-6' da en düşük seviyede SAA' ya rastlandı (Tablo 24, 26, Şekil 32). Bu durum, Metilprednizolon' un intraperitoneal yolla amiloidozis oluşturulan grupta SAA' yı ve dokudaki amiloid A' yı baskılamadığını ancak, subkutan yolla amiloidozis oluşturulan grupta SAA' yı ve dokudaki amiloid A' yı başarılı bir şekilde baskıladığını göstermektedir. Grup-5' te gözlenen bulgular kortizon uygulamasının amiloid birikimini artırdığını bildiren araştırmacıların (Latvalahti, 1952; Hardt, 1971) bulgularını desteklerken, Grup-6' da gözlenen bulgular Shtrasburg ve ark., (2007) bulguları ile uyumlu bulundu. Watteyn ve ark., (2013) Dekzametazon I.M. olarak verildiğinde yarılanma ömrünün 0,70 saat olarak tespit etmişlerdir. Shtrasburg ve ark., (2007) Metilprednizolonun baskılayıcı etkilerini 2-4 mg/günlük tekrarlayan dozda ve 0-3 günlük dönemde, elde ettiklerini bildirmiştir. Bu çalışmada da 8. ve 10. haftalarda enjeksiyondan sonra yaklaşık olarak hayvan başına 0.3 mg' lık methylprednisolon uygulamasının yetersiz olduğunu göstermektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak bu çalışmada amiloidozis oluşumunda SAA, IL-1 β , IL-6, ve TNF- α 'nın önemli bir rol oynadığı, hatta SAA ile proinflamatuvar sitokinler arasında, IL-1 β ile IL-6 arasında bir korelasyon olduğu sonucuna varılmıştır (Şekil 36, 37, 38, 39). Bunun yanı sıra tedavi amacıyla verilen methylprednisolonun yarılanma ömrünün kısa olması nedeniyle iki doz halinde verilmesinin yeterli olmadığını, ileriki çalışmalarda bunun tekrarlayan ve değişik dozlar halinde verilmesinin uygun olabileceği sonucuna varılmıştır.

ÖZET

Bu çalışmada farelerde deneysel amiloidozisin immun sistem üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlandı. Çalışmada kullanılan 120 adet "Swiss albino" ırkı 7 haftalık dişi fareler 20'şerli 6 eşit gruba ayrıldı. Amiloidozisi indüklemek amacıyla Complete Freund's Adjuvant - Kazein emülsiyonu deney ve tedavi gruplarındaki hayvanlara çalışmanın 8. ve 10. haftasında intraperitoneal ve subkutan olarak enjekte edildi. Ayrıca tedavi gruplarındaki hayvanlara intramuskuler olarak iki doz halinde sol arka bacağı methylprednisolon enjekte edildi. Enjeksiyonu takiben 8. haftanın sonunda farelerin kanları alınarak nekropsileri yapıldı. Nekropside karaciğer, dalak ve böbrek dokuları alınarak amiloid varlığı Kongo kırmızısı ile, Interleukin (IL)-1 β , IL-6, TNF- α ve Amiloid A' nın varlığı immunohistokimyasal yöntem ile belirlendi. Serumda SAA, IL-1 β , IL-6 ve TNF- α ' ya ELISA yöntemiyle bakıldı. Serumda en yüksek oranda serum amiloid A' ya (SAA) tedavi grubunda (Grup-5) ($p<0,05$) ve deney grubunda (Grup-3) rastlanırken, dokuda en şiddetli amiloid birikimine Grup-3' te rastlandı. Serumda TNF- α , IL-1 β , IL-6' ya en yüksek oranda Grup-3' te rastlandı ($p<0,05$).

Sonuç olarak amiloidozis oluşumunda SAA, IL-1 β , IL-6 ve TNF- α ' nın önemli bir rol oynadığı, hatta SAA ile proinflamatuvar sitokinler arasında ve IL-1 β ile IL-6 arasında önemli bir korelasyonun olduğunu söylemek mümkündür. Ayrıca amiloidozisin baskılanmasına yönelik olarak methylprednisolonun tekrarlayan ve değişik dozlarda verilmesinin uygun olabileceği kanaatine varıldı.

SUMMARY

In this study, investigation of the effects of experimental amyloidosis in mice on the immune system was aimed. 120 female mice 7 weeks old from "Swiss albino" race used in the study were divided into six equal and 20 animals in each groups. To induce amyloidosis Complete Freund's Adjuvant - Casein emulsion was injected to experimental group and treatment group as intraperitoneally and subcutaneously during the 8th and 10th weeks of the study. Additionally two doses of methylprednisolone was injected into the left hind leg of the mice in the treatment group intramuscularly. Following the injection at the end of the 8th week blood samples from mice were taken and their necropsy was examined. At necropsy examination, the liver, spleen and kidney tissues were taken and the presence of amyloid was defined by congo red while the presence of Interleukin (IL)-1 β , IL-6, TNF- α and Amyloid A were defined by immunohistochemistry technique. SAA, IL-1 β , IL-6 and TNF- α were determined by ELISA technique. In sera the highest rate of serum amyloid A (SAA) in the treatment group was (Group-5) ($p < 0,05$) and in the experimental group was (Group-3), and in the tissue the most severe amyloid deposition was detected at Group-3. The highest rate of TNF- α , IL-1 β , IL-6 in sera was detected at Group-3 ($p < 0,05$).

Consequently it is possible to assert that SAA, IL-1 β , IL-6 and TNF- α play a major role in the formation of amyloidosis, and even it can be claimed that there are significant correlations between SAA and proinflammatory cytokines and between IL-1 β and IL-6. Also it is concluded that as for suppressing amyloidosis, it can be suitable to give repetitive and different doses of methylprednisolone.

KAYNAKLAR

- ABBAS, A K., LICHTMAN, A H., POBER, J S., (1997). Cellular and Molecular Immunology. W. B. Saunders Company, Pennsylvania. 258-263 pp.
- ALASONYALILAR, A., (2008). DİYETTEKİ YAĞ VE KOLESTEROLÜN SİSTEMİK AMİLOİD A AMİLOİDOZİS OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİSİ. Doktora Tezi. Bursa, sy. 63.
- ALIZADEH-KHIAVI, K., NORMAND, J., CHRONOPOULOS, S., ALI, A., ALI, K. Z., (1992). Amyloid enhancing factor activity is associated with ubiquitin. Virchows Archiv A Pathological Anatomy and Histopathology. 420: 139-148.
- ALSEMGEEST, S P M., (1994). Blood concentration of acute phase proteins in cattle as markers for disease. PhD Thesis. University of Utrecht, The Netherlands. sy: 17-32.
- ALSEMGEEST, S P., LAMBOOY, I E., WIERENGA, H K., DIELEMAN, S J., WEERKERK, B., VAN EDEREN, A M., NIEWOLD, T A., (1995). Influence of physical stress on the plasma concentration of serum amyloid A (SAA9) and haptoglobin in calves. Vet Q. 17: 9-12.
- ANALIA, M F., RODOLFO, A C., VICTOR, C T., SANTIAGO, PEREZ., LLORET, P R., ROBERTO, L C., LUÍS, B., DANIEL, P C., (2002). Effect of Melatonin on Changes in Locomotor Activity Rhythm of Syrian Hamsters Injected With Beta Amyloid Peptide 25–35 in the Suprachiasmatic Nuclei. Cell Mol Neurobiol. 22: 5-6.
- ANDREASEN, C B., LATIMER, K S., HARMON, B G., GLISSON, J R., GOLDEN, J M., BROWN, J., (1991). Heterophil function in healthy chickens and in chickens with experimentally induced staphylococcal tenosynovitis. Vet Pathol. 28: 419-427.
- ARDA, M., MİNBAŞ, A., AYDIN, N., AKAY, Ö., İZGÜR, M., DİKER, S., (1994). Akut Faz Proteinleri; İMMUNOLOJİ. Medisan Yayınevi, ANKARA; (30): 239-242.
- ARTL, A., MARSCHKE, G., LESTAVEL, S., SATTLER, W., MALLE, E., (2000). Role of serum amyloid A during metabolism of acute-phase HDL by macrophages. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 20: 763-72.
- ARUSTAMOVA, R. G., SEROV, V. V., MUHKIN, N. A., DROZD, T. N., BEREZINA, T A., (1974). Effect of imuran on the course of experimental amyloidosis, Bull Exp Biol Med. 77 (2): 60.
- AXELRAD, M A., KISILEVSKY, R., BESWETHERICK, S., (1975). Acceleration of amyloidosis by synergic spleen cells from normal donors. Am J Pathol. 78: 277-284.
- AYDIN, Y., (2008) TEMEL PATOLOJİ. Ayban Matbaacılık, ANKARA
- BADOLATO, R., WANG, J M., MURPHY, W J., LLOYD, A.R., MICHIEL, D F., BAUSSERMAN, L L., KELVIN, D J., OPPENHEIM, J J., (1994). Serum amyloid A is a chemoattractant: induction of migration, adhesion and tissue infiltration of monocytes and polymorphonuclear leukocytes. J Exp Med. 180: 203-209.

- BARBARA G., CREMON C., CARINI G., BELLACOSA L., ZECCHI L., DE GIORGIO R., CORINALDESI R., STANGHELLINI V., (2011). The immune system in irritable bowel syndrome. *J Neurogastroenterol Motil.* 17(4): 349-359.
- BAUMBERGER, C., ULEVITCH, R., DAYER, J., (1991). Modulation of endotoxic activity of lipopolysaccharide by high-density lipoprotein. *Pathobiology*, 59:378–383.
- BECKES, M., BALDAUF, E., CASSENS, S., DRINGER, H., KEYES, P., SCOTT, A C., WELLS, G A., BROWN, P., GIBBS, C J., GAJDUSEC, D C., (1995). Westernblot mapping of disease specific amyloid in various animal species and humans with transmissible spongiform encephalopathies using a high-yield purification method. *J Gen Virol.* 76: 2567-2576.
- BENDITT, E P., ERIKSEN, N., (1964). Starch gel electrophoretic analysis of some proteins extracted from amyloid. *Arch Pathol.* 78: 325-330.
- BENSON, M D., (2001). Amyloidosis In: KOOPMAN, W. J., editor. *Arthritis and allied conditions, a textbook of rheumatology.* 14th ed. Philadelphia: Lippincott; 1866-1895.
- BENSON, M D., ALDO-BENSON, M., (1979). Effect of purified protein SAA on immune response in vitro: mechanisms of suppression. *J Immunol.* 122: 2077–2082.
- BENSON, M D., SCHEINBERG, M A., SHIRAHAMA, T., CATHCART, E S., SKINNER M., (1977). Kinetics of serum amyloid protein A in casein-induced murine amyloidosis. *J Clin Invest.* 59: 412-417.
- BEREKET, Z., LANDMAN, W J M., TOOTEN, P C J., GRUYS, E., (2000). Leucocyte responses in two breeds of layer chicken that differ in susceptibility to induced amyloid arthropathy. *Vet. Immunol and Immunopathol.* 77: 55-69.
- BETTS J C., CHESHIRE J K., AKIRA S., KISHIMOTO T., WOO P., (1993). The role of NF-kappa B and NF-IL6 transactivating factors in the synergistic activation of human serum amyloid A gene expression by interleukin-1 and interleukin-6. *J Biol Chem.* 268(34): 25624-25631.
- BOTTO, M., HAWKINS, P N., BICKERSTAFF, M C., HERBERT, J., BYGRAVE, A E., MCBRIDE, A., HUTCHINSON, W L., TENNENT, G A., WALPORT, M J., PEPYS, M B., (1997). Amyloid deposition is delayed in mice with targeted deletion of the serum amyloid P component gene. *Nat Med.* 3: 855-859.
- BRAYTON, C., (1992). Amyloidosis, Hemochromatosis and Atherosclerosis in a Roate Flamingo. *Ann N Y Acad Sci.* 653: 184:190.
- CHAMANZA, R., TOUSSAINT, M. J. M., VAN EDEREN, A. M., VAN VEEN, L., HULSKAMP-KOCH, C., (1999). Serum amyloid A and transferrin in chicken. A preliminary investigation of using acut-phase variables to assess diseases in chickens. *Vet Q.* 21: 158-162.
- CHIBA T., CHANG M Y., WANG S., WIGHT T N., MCMILLEN T S., ORAM J F., VAISAR T., HEINECKE J W., DEBEER F C., DEBEER M C., CHAIT A., (2011). Serum amyloid A facilitates the binding of high-density lipoprotein from mice injected with lipopolysaccharide to vascular proteoglycans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 31(6): 1326-1332.

- COHEN, A S., CALKINS, E., (1959). Electron microscopic observation on a fibrous component in amyloid of diverse origin. *Nat Med.* 183: 1202-1203.
- COHEN, A S., CALKINS, E., LEVENE, C I., (1959). STUDIES ON EXPERIMENTAL AMYLOIDOSIS: I. ANALYSIS OF HISTIOLOGY AND STAINING REACTIONS OF CASEIN-INDUCED AMYLOIDOSIS IN THE RABBIT. National Institutes of Health, A-1064, and Eli Lilly Company. 35 (5): 971-989.
- COHEN, A S., SKINNER, M., (1982). Amyloidosis of the liver, 5th edition, Edited by Schiff L, Schiff ER, Philadelphia, JB, Lippincott. sy: 1081-1099.
- COHEN, A. S., CATHCART, E S., SKINNER, M., (1978.) Amyloidosis. Current trends in its investigation. *Arthritis Rheum.* 21(1):153-160.
- COLBATZKY, F., BRUNNBERG, L., LINKE, R. P., GEISEL, O., HERMANN, W., (1991). AA-like amyloid deposits confined to arthritic joints in two dogs with rheumatoid arthritis. *J Comp Pathol.* 105: 331-343.
- COPANAKI, E., SCHURMANN, T., ECKERT, A., LEUNER, K., MULLER, W E., PREHN, J H. M., KÖGEL, D., (2007). The amyloid precursor protein potentiates CHOP induction and cell death in response to ER Ca²⁺ depletion, *BMC Neuroscience*, 8 (1): 26.
- CORNWELL G G., HUSBY G., WESTERMARK P., NATVIG J B., MICHAELSEN T E., SKOGEN B., (1977). Identification and Characterization of Different Amyloid Fibril Proteins in Tissue Sections. *Scand J Immunol.* 1071–1080.
- DAN, C., YOSHINOBU, H., HIROO, K., SHINICHI, S., TOSHIKAZU, G., YE, L., TOKUHIRO, I. (2007). Experimental AA amyloidosis in mice is inhibited by treatment with triptolide, a purified traditional Chinese medicine. *Int Immunopharmacol.* 7:1232-1240.
- DEBEER, F C., NAVAB, M., (1993). High Density Lipoprotein (HDL) Function During Active Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum.* 36: 29.
- DEBEER, M C., KINDY, M S., LANE, W S., DEBEER, F C., (1994). Mouse serum amyloid A protein (SAA5): structure and expression. *J Biol Chem.* 269: 4661-4667.
- DEBEER, M C., YUAN, T., KINDY, M S., ASZTALOS, B. F., ROHEIM, P. S., DEBEER, F C., (1995). Characterization of constitutive human serum amyloid A protein (SAA4) as an apolipoprotein. *J Lipid Res.* 36: 526–534.
- DEFORGE, L E., TAKEUCI, E., NGUYEN, D T., REMICK, D G., (1994). Immunological riming Attenuates the *in Vivo* Pathophysiological Response to Lipopolysaccharide: Comparison of Cytokine Production, Tissue Injury, and Lethality in Complete Freund's Adjuvant-Primed Mice and in Unprimed Mice, *Am. J. Pathol.* 144: (3): 599.
- DHILLON, V., WOO, P., ISENBURG, D., (1989). Amyloidosis in the rheumatic diseases. *Annals of the Rheumatic Diseases.* 48: 696-701.
- DILLEHAY D L, WALIA A S, LAMON E W., (1988). Effects of retinoids on macrophage function and IL-1 activity. *J Leukoc Biol.* 44(5):353-60.

- DINARELLO, C A., (1983). Molecular mechanisms in endotoxin fever. *Agents Actions*. 13 (5-6): 470-86.
- DINARELLO, C A., (1989). Interleukin-1 and its biologically related cytokines *Adv Immunol*. 44: 153-205.
- DİKER, S., (1998). *İmmunoloji, Medisan Yayınevi, Ankara*, sy. 90-92.
- DOERR, H W., RABENAU, H., (1995). Slow virus disease and transmissible amyloidosis of the central nervous system. The fundamentals and significance of bovine spongiform encephalopathy (BSE). *Dtsch Med Wochenschr*. 25-26: 899-901.
- DREN, C N., NEMETHI, I., SARI, I., RATZ, F., GLAVITZ, R., SOMOGYI, P., (1988). Isolation of a reticuloendotheliosis-like virus from naturally occurring lymphoreticular tumors of domestic goose. *Avian Pathol*. 17:259-277.
- DRUEKE, T., TOUAM, M., ZINGRAFF, J., (1995). Dialysis associated amyloidosis. *Adv Ren Replace Ther*. 2:24-39.
- DRUET, R L., JANIGAN, D T., (1966). Experimental Amyloidosis. Amyloid induction with a soluble protein antigen in intact, bursectomized and thymectomized chickens. *Am. J. Pathol*. 49 (6): 1103.
- DU, T., ALI-KAHN, Z., (1991). Pathogenesis of secondary amyloidosis in an alveolar hydatid cyst-mouse model, histopathology and immune-enzyme-histochemical analysis of splenic marginal zone cells during amyloidogenesis. *J Exp Pathol (Oxford)*. 71: 313-335.
- ERER, H., KIRAN, M M., ÇİFTÇİ, K., (2000). *Veteriner Genel Patoloji, Bahçivanlar Basım Sanayi A. Ş. Konya*, (1. Baskı): 116-118.
- ESKENS, U., BURSKI, B., GEISTHOEVEL, E., (1984). Secondary amyloidosis in white pekin ducks. *Tierärztliche Praxis*. 12: 469-475.
- FÄNDRICH, M., (2007). On the structural definition of amyloid fibrils and other polypeptide aggregates, *Cell. Mol. Life Sci*. 64: 2066-2078.
- FAUCI, A S., BRAUNWALD, E., KASPER, D L., HAUSER, S L., LONGO, D L., JAMESON, J. L., LOSCALZO, J., (2008). *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th Ed. Mc Graw Hill Medical., New York.
- FIELDS M., LAUFER A., POLLIACK A., (1973). Lysosomal enzyme studies in experimental amyloidosis of mice treated with cortisone. *Acta Pathol Microbiol Scand Suppl*. 236: 15-2.
- FREMONT, A J., (2002). The pathology of dialysis. *Seminars in Dialysis*. 4: 227-231.
- FRIEDRICH, N., KEKULE, A., (1859). Zur Amyloidfrage. *Virchows Archiv A für Pathologische Anatomie und Physiologie und für Klinische Medizin*. 16: 50-65.
- FUKS, A., ZUCKER-FRANKLIN, D., (1985). Impaired Kupffer cell function precedes development of secondary amyloidosis. *J Exp Med*. 161: 1013-1028.

- GALLO, G., WISNIEWSKI, T., CHOI-MIURA, N H., GHISO, S., FRANGIONE, B., (1994). Potential role of apolipoprotein-E fibrillogenesis. *Am J Pathol.* 145: 526-530.
- GAULDIE J., RICHARDS C., BAUMANN H., (1992). IL6 and the acute phase reaction. *Res Immunol.* 143(7): 755-759.
- GERTZ, M A., KYLE, R A., (1991). Secondary systemic amyloidosis: response and survival in 64 patients *Medicine (Baltimore)*, 70; (4): 246–256.
- GILLMORE J D., LOVAT L B., PERSEY M R., PEPYS M B., HAWKINS P N., (2001). Amyloid load and clinical outcome in AA amyloidosis in relation to circulating concentration of serum amyloid A protein. *Lancet.* 358(9275): 24-29.
- GLENNER, G G., (1980). Amyloid deposits and amyloidosis. The β fibrilloses. *N Engl J Med.* 302: 1283-1292.
- GLIATTO, J. M., ALROY, J., (1995). Cutaneous amyloidosis in a horse with lymphoma. *Vet Rec.* 137: 68-69.
- GLISSON, E., (1654). *Francisci Glissonii Anatomia hepatis: Cui praemittuntur quaedam ad rem anatomicam universe spectantia, et ad calcem operis subjiciuntur nonnulla de lymphae-ductibus nuper repertis.* London. 99 pp.
- GOTTGENS, B., GREEN, A R., (1995). Retinoic acid and the differentiation of lymphohaemopoietic stem cells. *Bioessays.* 17(3): 187-9.
- GRUYS, E., (2004). Protein folding pathology in domestic animals, *J Zhejiang Univ SCI*, 5: (10): 1226-1238.
- GRUYS, E., SNEL, F W., (1994). Animal models for reactive amyloidosis. *Baillieres Clin Rheumatol.* 8(3): 599-611.
- GRUYS E., TOUSSAINT M J., NIEWOLD T A., KOOPMANS S J., (2005). Acute phase reaction and acute phase proteins. *J Zhejiang Univ Sci B.* 6(11): 1045-1056.
- GUO, J T., ALDRICH, C E., MASON, W J., PUGH, J C., (1996). Characterization of serum amyloid A protein mRNA expression and secondary amyloidosis in the domestic duck. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 93: 14548-14553.
- HAGIHARA K., NISHIKAWA T., ISOBE T., SONG J., SUGAMATA Y., YOSHIZAKI K., (2004). IL-6 plays a critical role in the synergistic induction of human serum amyloid A (SAA) gene when stimulated with proinflammatory cytokines as analyzed with an SAA isoform real-time quantitative RT-PCR assay system. *Biochem Biophys Res Commun.* 314(2): 363-369.
- HAM, D., CAOURAS, V., RADZIOCH, D., GERVAIS, F., (1997) Degradation of Amyloid A Precursor Protein SAA by Macrophage Cell Lines Obtained from Amyloid Resistant and Susceptible Strains of Mice. *Scand J Immunol.* 45: 354-360.
- HAN C Y., CHIBA T., CAMPBELL J S., FAUSTO N., CHAISSON M., ORASANU G., PLUTZKY J., CHAIT A., (2006). Reciprocal and coordinate regulation of serum amyloid A versus

apolipoprotein A-I and paraoxonase-1 by inflammation in murine hepatocytes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 26(8): 1806-1813.

HARDT F., (1971). Acceleration of casein induced amyloidosis in mice by immunosuppressive agents. *Acta Pathol Microbiol Scand A.* 79(1): 61-64.

HAWKINS, P N., PEPYS, M., (1990). A primed state exist in vivo following histological regression of amyloidosis. *Clin Exp Immunol.* 81: 325-328.

HAWKINS, P N., RICHARDSON, S., VIGUSHIN, D M., DAVID, J., KELSEY, C R., GRAY, R E., HALL, M A., WOO, P., LAVANDER, J P., PEPYS, M B., (1993) Serum amyloid P component scintigraphy turnover studies for diagnosis and quantitative monitoring of AA amyloidosis in juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 36: 842-581.

HAZUDA, D J., STRICKLER, J., KUEPPERS, F., SIMON, P L., YOUNG, P R., (1990). Processing of precursor interleukin 1 beta and inflammatory disease. *J Biol Chem.* 265(11):6318-6322.

HEINRICH G., (1989). Amyloid A4 protein and its precursor in Down's syndrome and Alzheimer's disease. *N Engl J Med.* 321(17): 1197.

HENSON M S., BUMAN B L., JORDAN K., RAHRMANN E P., HARDY R M., JOHNSON K H., O'BRIEN T D., (2006). An in vitro model of early islet amyloid polypeptide (IAPP) fibrillogenesis using human IAPP-transgenic mouse islets. *Amyloid.* 13(4): 250-259.

HODGE, J., HODGE, G., FLOWER, R., HAN, P., (1999). Methylprednisolone up-regulates monocyte IL-10 production in stimulated whole blood. *Scand J Immunol.* 49 (5): 548-553.

HOFFMAN, J S., BENDITT, E P., (1982). Secretion of serum amyloid protein-rich density lipoprotein in primary Mouse hepatocyte culture. *J Biol Chem.* 257:10518-10522.

HOL, P R., VAN ANDEL, A C J., VAN EDEREN, J., GRUYS, D., GRUYS, E., (1985). Amyloid enhancing factor in hamster, *Br. J. exp. Path.* 66: 689-697.

HUANG, H., LIU, T., ROSE, J L., STEVENS, R L., HOYT, D G., (2007). Sensitivity of mice to lipopolysaccharide is increased by a high saturated fat and cholesterol diet. *J Inflamm (Lond).* 4: 4-22.

HUSBY, G., (1994). Classification of amyloidosis. In: HUSBY G (Ed). *Balliere's Clinical Rheumatology. Reactive amyloidosis and the acute phase response*, London, Bailliere Thindall. 503-511 pp.

HUSBY, G., NATVIG, J B., (1974). A serum component related to nonimmunoglobulin amyloid protein AS, a possible precursor of the fibrils. *J Clin Invest.* 53: 1054-1061.

HUSEBEKK A., STENSTAD T., (1996). Experimental AA-amyloidosis in mice is inhibited by treatment with the anti-rheumatic drug tenidap. *Scand J Immunol.* 43(5): 551-555.

IMMOMEN, K., FINNE, P., GRONHAGEN-RISKA, C., PETERSSON, T., KLAUKKA, T., KAUTIANEN, H., HAKALA, M., (2011). A marked decline in the incidence of renal replacement therapy for amyloidosis associated with inflammatory rheumatic diseases - data from nationwide registries in Finland. *Amyloid.* 18: 25-28.

- INOVE, S., HULTIN, P G., SZAREK, W A., KISILEVSKY, R., (1996). Effect of poly (vinylsulfonate) on murine AA amyloid: a high-resolution ultrastructural study. *Lab Invest.* 74: 1081-1090.
- ITESCU, S., (1984). Hepatic amyloidosis. *Arch Intern Med.*, 144: 2257-2259.
- JACKSON, P., BLYTHE, D., (2008). Immunohistochemical techniques Chapter no 21. In, John D Bancroft, Marilyn Gamble (ed). *Theory and practice of Histological techniques*, 6th edition. Churchill Livingstone, Elsevier. 433-472 pp.
- JANSSEN, S., (1985). Clinical and diagnostic features of amyloidosis. PhD thesis, University of Groningen, The Netherland.
- JEFFREY, M., GOODSIR, C M., HOLLIMAN, A., HIGGINS, R S., BRUCE, M E., MCBRIDE, P. A., FRASER, J. R., (1998). Determination of the frequency and distribution of vascular and parenchymal amyloid with polyclonal and N-terminal-specific P. P antibodies in scrapie affected sheep and mice. *Vet Rec.* 142: 534-537.
- JENSEN, L E., WHITEHEAD, A S., (1998). Regulation of serum amyloid A protein expression during the acute-phase response. *Biochem J.* 15; 334 (Pt 3):489-503.
- JOHNSON G., REFOLO L M., MERRIL C R., WALLACE W., (1993-a). Altered expression and phosphorylation of amyloid precursor protein in heat shocked neuronal PC12 cells. *Brain Res Mol Brain Res.* 9(1-2): 140-8.
- JOHNSON G., REFOLO L M., WALLACE W., (1993-b). Heat-shocked neuronal PC12 cells reveal Alzheimer's disease--associated alterations in amyloid precursor protein and tau. *Ann N Y Acad Sci.* 695: 194-197.
- KALLINICH, T., BRIESE, S., ROESTER, J., RUDOLPH, B., SARIOGLU, N., BLANKENSTEIN, O., KEITZER, R., QWERFELD, U., HOFFNER, D., (2004). Two familial cases with tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome caused by a non-cysteine mutation (TSOM) in the TNFRS1A gene associated with severe multiorganic amyloidosis. *J Rheumatol.* 31: 2519-2522.
- KAMIHIRA, M., SAITO, H., NAITO, A., (2008). Kinetics of Amyloid Fibril Formation of Human Calcitonin, Springer, 11-17.
- KAWABE, S., ABE, T., KAWAMURA, H., GEJYO, F., ABO, T., (2004). Generation of B220low B cells and production of autoantibodies in mice with experimental amyloidosis: association of primordial T cells with this phenomenon. *Clin Exp Immunol.* 135:200-208.
- KILIÇTURGAY, K., (2003). *İmmunoloji*, 3. baskı, Nobel & Güneş Kitabevi, sy. 134-144.
- KIMURA, A., ANDO, E., FUKUSHIMA, M., KOGA, T., HIRATA, A., ARIMURA, K., ANDO, Y., NEGI, A., TANIHARA, H., (2003). Secondary glaucoma in patients with familial Amyloidotic polyneuropathy. *Arch Ophthalmol.* 3: 351-356.
- KISILEVSKY R., BOUDREAU L., FOSTER D., (1983). Kinetics of amyloid deposition. II. The effects of dimethylsulfoxide and colchicine therapy. *Lab Invest.*, 48(1): 60-67.

- KISILEVSKY, R., LEMIEUX, L S., FRASER, P E., KONG, X., HULTIN, P. G., SZAREK, W. A., (1995). Arresting amyloidosis in vivo using small molecule anionic sulfonates or sulfates: implications for Alzheimer's disease. *Nat Med.* 1:143-148.
- KISILEVSKY, R., SUBRAHMANYAN, L., (1992). Serum amyloid A changes HDL's cellular affinity: a clue to serum amyloid A's principal function. *Lab Invest.* 66: 778-785.
- KISILEVSKY R., YOUNG I D., (1994). Pathogenesis of amyloidosis. *Baillieres Clin Rheumatol.* 8(3): 613-626.
- KOGUT, M H., MC GRUDER, E D., HARGIS, B M., CORRIER, D E., DELOACG, J R., (1994). Dynamics of avian inflammatory response to salmonella-immune lymphokines: change in avian blood leucocyte population. *Inflammation.* 18: 373-388.
- KOJ, A., (1998). Termination of Acute-Phase Response: Role of Some Cytokines and Anti-Inflammatory Drugs, *Gen. Pharmac.,* 31:(1), 9-18.
- KUMAR, V., COTRAN, R S., ROBBINS, S L., (2003-a). ROBBINS BASIC PATHOLOGY (Türkçe Edisyon). Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., İSTANBUL; (Bölüm 5): 110-164.
- KUMAR, V., COTRAN, R S., ROBBINS, S L., (2003-b). ROBBINS BASIC PATHOLOGY (Türkçe Edisyon). Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., İSTANBUL; (Bölüm 2): 49-59.
- LACHMANN, H J., GOODMAN, H J., GILBERTSON, J A., GALLIMORE, J R., SABIN, C A., GILLMORE, J D., HAWKINS, P N. (2007). Natural history and outcome in systemic AA amyloidosis. *N Engl J Med.* 356(23): 2361-71.
- LANDMAN, W J M., GRUYS, E., DWARS, R M., (1994). A syndrome associated with growth depression and amyloid arthropathy in layers: a preliminary report. *Avian Pathol.* 23: 461-470.
- LANDMAN, W J M., GRUYS, E., GIELKENS, A L J., (1998). Avian amyloidosis. *Avian Pathol.* 27: 437-449.
- LANDMAN, W J M., PEPPERKAMP, N H M T., KOCH, C A M., TOOTEN, P C J., CRAVWELS, P A P., GRUYS, E., (1997). Induction of amyloid arthropathy in chickens amyloid. *Amyloid,* 4: 87-97.
- LANDMAN, W J M., SLETTEN, K., KOCH, C A M., TOOTEN, P C J., GRUYS, E., (1996). Chicken joint amyloid protein is of the AA type I. Characterization of the amyloid protein. *Scand J Immunol.* 43: 210-218.
- LATIMER, K S., TANG, K N., GOODWIN, M A., STEFFENS, W L., BROWN, J., (1988). Leucocyte changes associated with acute inflammation in chickens. *Avian Dis.* 32: 760-772.
- LATOO, M., HEINO, J., KAHARI, V M., NIINIKOSKI, J., GERDIN, B., (1989). Epidermal growth factor prevents methylprednisolone induced inhibition of wound healing. *J Surg Res.* 47: 354-359.
- LATVALAHTI J., (1952). The effect of ACTH and cortisone on experimental amyloid degeneration. *Acta Pathol Microbiol Scand Suppl.* 93: 81-85.

- LAUFER A., TAL C., KOLANDER N., (1968). Experimental amyloidosis and the effect of cortisone treatment. *Pathol Microbiol (Basel)*. 31(2): 85-92.
- LEIONEN, E., HURT-CAMEJO, E., WIKLUND, O., HULTEN, L M., HIUKKA, A., TASKINEN, M. R., (2003). Insulin resistance and adiposity correlate with acute-phase reaction and soluble cell adhesion molecules in type 2 diabetes. *Atherosclerosis*. 166: 387-394.
- LEVARTOWSKY, D., PRAS, M., (1991). The effect of SAA-derived fragment-SAA-2 on platelet aggregation. In: *Amyloid and Amyloidosis*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers. 129-132 pp.
- LEVIN, M., PRAS, M., FRANKLIN, E C., (1973). Immunologic studies of the major nonimmunoglobulin protein of the amyloid. I. Identification and partial characterization of a related serum component. *J Exp Med*. 138: 373-380.
- LEVIS, K E., KIRK, E A., McDONALD, T O., WANG, S., WIGHT, T N., O'BRIEN, K D., CHAIT, A., (2004). Increase in serum amyloid A evoked by dietary cholesterol is associated with increased atherosclerosis in mice, *Circulation*. 110: 540-545.
- LIANG, J., ELLIOTT-BRYANT, R., HAJRI, T., SIPE, J D., CATHCART, E S., (1998). A unique amyloidogenic apolipoprotein serum amyloid A (apoSAA) isoform expressed by the amyloid resistant CE/J mouse strain exhibits higher affinity for macrophages than apoSAA1 and apoSAA2 expressed by amyloid susceptible CBA/J mice. *Biochim Biophys Acta*. 2:121-6.
- LINDER, E., ANDERS, R F., NATVIG, J B., (1976). Connective tissue origin of the amyloid-related protein SAA. *J Exp Med*. 2; 144(5): 1336-46.
- LIENNIKENS, J J., DIBARTOLA, S P., BENSON, M D., (1996) Systemic immunoglobulin (AL) amyloidosis in a cat: complete primary structure of a feline lambda light chain. *Amyloid*. 3: 177-182.
- LINKE R P, SIPE J D, POLLOCK P S, IGNACZAK T F, GLENNER G G., (1975). Isolation of a low molecular weight serum component antigenically related to an amyloid fibril protein of unknown origin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 72:1473-1476.
- LINKE, R P., BACK, V., VALET, G., ROTHE, G., (1991). Inhibition of the oxidative burst response of N-formyl peptide-stimulated neutrophils by serum amyloid A protein. *Biochem Biophys Res Commun*. 176: 1100-1105.
- LOMBORG, S R., NIELSEN, L R., HEEGAARD, P M., JACOBSEN, S., (2008). Acute phase proteins in cattle after exposure to complex stress. *Vet Res Commun*. 32 (7): 575-82.
- LORENZO, A., YANKNER, B A., (1996). Amyloid fibril toxicity in Alzheimer's disease and diabetes. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 777: 89-95.
- LUTZ T A., RAND J S., (1997). Detection of amyloid deposition in various regions of the feline pancreas by different staining techniques. *J Comp Pathol.*, 116(2): 157-170.
- LYON A W., NARINDRASORASAK S., YOUNG I D., ANASTASSIADES T., COUCHMAN J R., MCCARTHY K J., KISILEVSKY R., (1991). Co-deposition of basement membrane

components during the induction of murine splenic AA amyloid. Hepatic amyloidosis. A histopathologic analysis of primary (AL) and secondary (AA) forms. *Lab Invest.* 64(6): 785-790.

- MAGY, N., LIEPNIEKS, J J., BENSON, M D., BECKERMAN B., BECKERMAN, K., (2003). Amyloid-Enhancing Factor Mediates Amyloid Formation on Fibroblasts via a Nidus/Template Mechanism. *Arthritis Rheum.* 48(5): 1430-1437.
- MAMBULE, C., ANDO, Y., ANAN, I., HOLMGREN, G., SANDGREN, O., STIGBRANDT, T., TASHIMA, K., SUHR, O B., (2000). Enhancement of AA-amyloid formation in mice by transthyretin amyloid fragments and polyethylene glycol. *Biochim Biophys Acta.* 1474: 331-6.
- MAURY, C P J., (1984). Reactive (secondary) amyloidosis and its pathogenesis, *Rheumatol Int.*, 5: 1-7.
- MC CUBBIN, W D., KAY, C M., MARINDRASORA, S S., KISILEVSKY, R., (1988). Circular-dichroism studies on two murine serum amyloid A proteins. *Biochem J.* 256: 775-783.
- MCADAM, K P., ANDERS, R F., SMITH, S R., RUSSELL, D A., PRICE, M A., (1975). Association of amyloidosis with erythema nodosum leprosum reactions and recurrent neutrophil leucocytosis 70 in leprosy. *Lancet.* 2:572-573.
- MEEK, R L., ERIKSEN, N., BENDITT, E P., (1990). Mouse SAA3 detection in Mouse tissues with spesific antibody. *Aymloid and Amyloidosis.* Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 75-78 pp.
- MEEK, R L., ERIKSEN, N., BENDITT, E P., (1992) Murine serum amyloid A3 is a high density apolipoprotein and is secreted by macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 89: 1177-1185.
- MERRIL, D B., MORTON, A S., TSURANOBU, S., EDGAR, S C., MARTHA, S. (1977). Kinetics of serum amyloid protein A in casein-induced murine amyloidosis. *J Clin Invest.* 59: 412-417.
- MILLER, D L., PAPAYANNOPOULOS, I A., STYLES, J., BOBIN, S A., LIN, Y Y., BIELMAN, K., IGBAL, K., (1993). Peptide compositions of cerebrovascular and senile plaque core amyloid deposits of Alzheimer's disease. *Arch Biochem Biophys.* 301: 41-52.
- MISIRLIOGLU, D., NAK, D., SEVIMLI, A., NAK, Y., OZYIGIT, M. O., AKKOC, A., CANGUL, I. T., (2006). Steroid Receptor Expression and HER-2/neu (c-erbB-2) Oncoprotein in the Uterus of Cats with Cystic Endometrial Hyperplasia-Pyometra Complex. *J. Vet. Med.* 53: 226.
- MIWATA, H., YAMADA, T., OKADA, M., KUDO, T., KIMURA, H., MORISHIAMATA, T., (1993). Serum amyloid A protein in acute viral infections. *Arch Dis Child.* 68: 210-214.
- MOGES, W., (2012). A concise review of amyloidosis in animals. *Vet. Med. Int.* Vol: 11.
- MONTALI R J., BUSH M., THOEN C O., SMITH E., (1976). Tuberculosis in captive exotic birds. *J Am Vet Med Assoc.*, 169(9): 920-927.

- MORTEN, I J., HEWITT, E W., RADFORD, S E., (2007). β 2-Microglobulin and Dialysis-Related Amyloidosis, Protein Reviews; Protein Misfolding, Aggregation, and Conformational Diseases. 6: 217.
- MURATA, S., UEDA, M., TANABE, Y., KURATA, N., DEMURA, N., GRAM, H., TASAKI, M., SU, Y., JONO, H., SHONO, M., OBAYASHI, K., ANDO, Y., (2011). Inhibitory effects of anti-IL-1 β antibody in murine AA amyloidosis mode. *Amyloid*. 18 (1): 38-39.
- NAKAMURA, K., TANAKA, H., KODAMA, Y., KUBO, M., SHIBAHARA, T., (1998) Systemic amyloidosis in laying Japanese quail. *Avian Dis*. 42: 209-214.
- NIEWOLD, T A., HOL, P R., VAN ANDEL, A C J., LUTZ, E T G., GRUYS, E., (1987). Enhancement of amyloid induction by amyloid fibril fragments in hamster. *Lab Invest*. 56: 544-549.
- NIEWOLD, T A., MURPHY, C., GRUYS, E., (1994) Hamster hepatic amyloid A (AA) protein is derived from a novel member of the SAA gene family. *Scand J Immunol*. 39: 225-227.
- NIEWOLD, T A., MURPHY, C., GRUYS, E., WEISS, D. T., SOLOMON, A., (1996). Equine light-chain associated amyloidosis. *Amyloid*.3:183-186.
- NORIKO, U., NORIYUKI, S., RYOJI, N., TADASHI, J., SEIKOH, H., SHIGEO, T., (2000). Glycoxidative modification of AA amyloid deposits in renal tissue. *Nephrol. Dial. Transplant*. 15(3): 355-365.
- OMOTO, M., YOKOTA, T., CUI, D., HOSHII, Y., KAWANO, H., GONDO, T., ISHIHARA, T., KANDA, T., (2007). Inactivation of amyloid-enhancing factor (AEF): study on experimental murine AA amyloidosis. *Med Mol Morphol*, 40: 88-94.
- OU, Z L., NAKAYAMA, K., NATORI, Y., DOI, N., SAITO, T., (2001). Effective methylprednisolone dose in experimental crescentic glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis*. 37: 411-417.
- OZDAMAR, K., (2004). Paket Programlar İle İstatistiksel Veri Analizi 1, Genişletilmiş 5. Baskı, Kaan Kitabevi. sy.494-499.
- OZDEMİR, B H., OZDEMİR, F N., SEZER, S., SAR, A., HABERAL, M., (2006). Among therapy modalities of end-stage renal disease, renal transplantation improves survival in patients with amyloidosis. *Transplantation Proceedings*, 38: 432-434.
- OZDOGAN, H., KASAPCOPUR, O., DEDE, H., ARISOY, N., BECEREN, T., YURDAKUL, S., YAZICI, H., (1991). Juvenile chronic arthritis in a Turkish population. *Clin Exp Rheumatol*. 9(4): 431-5.
- PALOTAY, J L., HOWARD, C F J R., (1982). Insular amyloidosis in spontaneously diabetic Nonhuman primates. *Vet. Pathol. Supplement*. 7: 181-192.
- PEPERKAMP, N H M T., LANDMAN, W J M., TOOTEN, P C J., ULTEE, A., VOORHOUT, W F., GRUYS, E., (1997). Light microscopic, immunohistochemical and electron microscopic features of amyloid arthropathy in chickens. *Vet Pathol*. 34: 271-278.

- PEREZ-VILLA, F., CAMPUTOL, J. M., FERRENDOS, J., BOTEY, A., (1989). Renal amyloidosis secondary to acne conglobata. *Int J Dermatol.* 28:132-133.
- PERINI, F., VIDAL, R., GHETTI, B., TAGLIAVINI, F., FRANGIONE, B., PRELLI, F., (1996). Prp 27-30 is a normal soluble prion protein fragment released by human platelets. *Biochem Biophys Res Commun.* 223: 572-577.
- PITZALIS, C., SHARRRACK, B., GRAY, I A., LEE, A., HUGHES, R. A., (1997). Comparison of the effects of oral versus I. V. methylprednisolone regimens on peripheral blood T lymphocyte adhesion molecule expression, T cell subsets distribution and TNF- α concentrations in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol.* 74: 62-68.
- PLACKETT T P., COLANTONI A., HEINRICH S A., MESSINGHAM K A., GAMELLI R L., KOVACS E J., (2007). The early acute phase response after burn injury in mice. *J Burn Care Res.* 28(1):167-72.
- POITOU, C., COSSIEU, C., ROUAULT, C., COUPAYE, M., CANCELLO, R., BEDEL, J F., GOUILLON, M., BOUILLOT, J L., OPPERT, J M., BASDEVANT, A., CLEMENT, K., (2006). Serum amyloid A: A marker of adiposity-induced low-grade inflammation bu not of metabolic status. *Obesity.* 14: 309-318.
- POITOU, C., VIQUERIE, N., CANCELLO, R., De MATTEIS, R., CINTI, S., STICH, V., COSSIEU, C., GAUTHIER, E., COURTINE, M., ZUCKER, J. D., BARSH, G S., SARIS, W., BRUNEVAL, P., BASDEVANT, A., LANGIN, D., CLEMENT, K., (2005). Serum amyloid A, production by human white adipocyte and regulation by obesity and nutrition. *Diabetologia.* 48: 519-528.
- POLLIACK, A., LAUFER, A., GEORGE, R., FIELDS, M., (1973). The effect of cortisone on the formation and resorption of experimental amyloid. *Br J Exp Pathol.* 54: 6-12.
- PRECIADO-PATT, L., HERSHKOVIZ, R., FRIDKIN, M., LIDER, O., (1996). Serum amyloid A binds specific extracellular matrix glycoproteins and induces the adhesion of resting CD4+ T cells. *J Immunol.* 156:1189-1195.
- PRECIADO-PATT, L., LIDER, O., FRIDKIN, M., DASTYCH, J., METCALFE, D D., MEKORI, Y A. (1997). Extracellular matrix-anchored serum amyloid A preferentially induces mast cell adhesion. *The American Journal of Physiology,* 273: 179-187.
- PUCHTLER, H., SWEAT, F., LEVINE. M., (1962). On the binding of Congo red by amyloid. *J Histochem Cytochem.* 10: 355-64.
- PUTTO, A., RUUSKANEN, O., MEURMAN, O., EKBLAD, H., KORVENRANTA, H., ERTSOLA, J., PELTOLA, H., SARKKINEN, J., VILJANEN, M K., HALONEN, P., (1986). C-reactive protein in the evaluation of febrile illness. *Arch Dis Child.* 61: 24-29.
- RAY, A., SCHATTEN, H., RAY, B K., (1999). Activation of sp1 and its functional cooperation with serum amyloid A-activating sequence binding factor in synoviocyte cells trigger synergistic action of IL-1 and IL-6 in serum amyloid A gene expression. *J Biol Chem.* 274: 4300-4308.
- ROSEMARY, E., ROSEMARY, B., CATHCART, E S., (1998). Amyloid Enhancing Factor and Transmission in Accelerated A Amyloidosis. *Clin Immunol Immunopathol.* 88 (1): 65-69.

- SACK, G H J R., ZINK, M C., (1992). Serum amyloid A gene transcription in synovial cells during retroviral arthritis. *Am J Pathol.* 141(3): 525-9.
- SANJIV C., ALAN R., RAYMOND S K., ALAN S C., (1984). Hepatic Amyloidosis A Histopathologic Analysis of Primary (AL) and Secondary (AA) Forms. *Am J Pathol.* 115(2): 186-193.
- SCHENA, F P., PANNARALE, G, CARBONARA, M C., (1996). Clinical and therapeutic aspects of renal amyloidosis, *Nephrol Dial Transplant*, 11: (9): 63-68.
- SEHGAL, A., BOTHWELL, M., CHAO, M. (1989). Gene transfer of truncated NGF receptor clones leads to cell surface expression in mouse fibroblasts. *Nucleic Acids Res.* 17 (14): 5623-32.
- SEVIMLI, A., BULBUL, T., BULBUL, A., YAGCI, A., (2013-a). Chicken amyloid arthropathy: serum amyloid A, interleukin-1beta, interleukin-6, tumour necrosis factor-alpha and nitric oxide profile in acute phase (12th hour). *Pol J Vet Sci.* 16(2): 241-247.
- SEVIMLI, A., YAGCI, A., BULBUL, A., (2013-b). Matrix metalloproteinase, vitamin A and methylprednisolone effects on experimentally induced amyloid arthropathy. *Biotech Histochem.* 88 (6):336-344.
- SEVIMLI, A., D. MISIRLIOGLU., C, OZAKIN., (2004). The enhancing effect of vitamin A on the occurrence of amyloid arthropathy in laying chickens infected with *Enterococcus faecalis*. *Turk. J.Vet. Anim. Sci.* 28: 131-138 .
- SEVIMLI, A., MISIRLIOGLU, D., POLAT, U., YALCIN, M., AKKOC, A., UGUZ, C., (2005). The effects of vitamin A, pentoxifylline and methylprednisolone on experimentally induced amyloid arthropathy in brown layer chicks. *Avian Pathol.* 34: 1-7.
- SEVIMLI, A., MISIRLIOGLU, D., YAGCI, A., BULBUL, A., YILMAZTEPE, A., ALTUNBAS, K., (2008). The Role of Chicken IL-1 β , IL-6 and TNF- α in the Occurrence of Amyloid Arthropathy. *Vet. Res. Commun.* 32 (7): 499-508.
- SEVIMLI, A., YALCIN, M., CANGUL, I T., AYDIN, S., (2012). Investigation of serum amino acid and serum amyloid A concentrations in chickens with amyloid arthropathy. *Vet Q.* 32 (1): 17-23.
- SHAIKIN-KESTENBAUM, R., LEVARTOWSKY, D., ZIMLICHMAN, S., FRIDKIN, M., PRAS, M., (1991). Antiplatelet aggregation activity of serum amyloid A (SAA). In: *Amyloid and Amyloidosis*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers. syf: 139-142.
- SHAIKIN-KESTENBAUM, R., ZIMLICHMAN, S., LIS, M., LIDOR, C., POMERANTZ, M., KNYSZYNSKI, A., PRECIADO, P. L., FRITKIN, M., (1997-a). Effect of serum amyloid A, HDL apolipoprotein on endothelial cell proliferation: implication of an enigmatic protein to atherosclerosis. *Biomed Pept Proteins Nucleic Acids.* 2: 79-84.
- SHAIKIN-KESTENBAUM, R., ZIMLICHMAN, S., LIS, M., PRECIADO-PATT, L., FRIDKIN, M., BERENHEIM, J., (1997-b). Modulation of prostaglandin I₂ production from bovine aortic endothelial cells by serum amyloid A and its N-terminal tetradecapeptide. *Biomed Pept Proteins Nucleic Acids.* 2:101-106.

- SHIVAPRASAD, H L., METEYER, C U., JEFFRAY, J S., (1991). Amyloidosis in turkeys. Proceedings of the 34th Annual Meeting of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnostics. San Diego, CA. 57 pp.
- SHTRASBURG S., PRAS M., LIDAR M., LIVNEH A., (2002). Extremely high dose pravastatin may suppress amyloidogenesis in a mouse model. *Ann Rheum Dis.*, 61(6): 572.
- SHTRASBURG, S., LIDARA, M., PRAS, M., PARIENTEB, C., GALC, R., LIVNEHA, A., (2007). Suppression of amyloidogenesis in a mouse model by corticosteroid intervention. *Translational Research.* 150: 66-72.
- SHTRASBURG, S., PRAS, M., RABINOVIC, E., GAL, R., LIVNEH, A., LIDAR, M., (2012). Attempts at supression of amyloidogenesis in a mouse model by a variety of anti-inflammatory agents. *Autoimmun Rev.* 12: 18-21.
- SIMONS, J P., AL-SHAWI, R., ELLMERICH, S., SPECK, I., ASLAM, S., HUTCHINSON, W L., MANGIONE, P P., DISTERER, P., GILBERTSON, J A., HUNT, T., MILLAR, D J., MINOGUE, S., BODIN, K., PEPYS, M B., HAWKINS, P N. (2013). Pathogenetic mechanisms of amyloid A amyloidosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 110(40): 16115-20.
- SIPE, J D., (1994). Amyloidosis. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 31: 325-54.
- SIPE, J D., BENSON, M D., BUXBAUM, J N., IKEDA, S., MERLINI, G., SARAIVA, M J M., WESTERMARK, P., (2010). Amyloid fibril protein nomenclature: 2010 recommendations from the nomenclature committee of the International Society of Amyloidosis. *Amyloid.* 10; 17(3-4): 101-104
- SIPE, J D., VOGEL, S N., SZTEIN, M B., SKINNER, M., COHEN, A S., (1982). The role of interleukin 1 in acute phase serum amyloid A (SAA) and serum amyloid P (SAP) biosynthesis. *Ann N Y Acad Sci.* 389: 137-50.
- SKINNER M A., YUAN S., PRESTIDGE R., CHUK D., WATSON J D., TAN P L., (1997). Immunization with heat-killed *Mycobacterium vaccae* stimulates CD8+ cytotoxic T cells specific for macrophages infected with *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun.* 65(11):4525-4530.
- SKOGEN, B., THORSTEINSSON, L., NATVIG, I B., (1980). Degradation of protein SAA to an AA-like fragment by enzymes of monocytic origin. *Scand J Immunol.* 11: 533-540.
- SLAUSON, DO., COOPER, B. J., (1990). Mechanism of disease. A textbook of comparative general pathology. Williams & Wilkins, 2. Ed. 83-85 pp.
- SNEL, F W J J., NIEWOLD, T H A., BALTZ, M L., HOL, P R., VAN EDEREN, A M., PEPYS, M B., (1989). Experimental amyloidosis in the hamster: correlation between hamster female protein levels and amyloid deposition. *Clin. exp. Immunol.* 76: 296-300.
- SNOW A D., BRAMSON R., MAR H., WIGHT T N., KISILEVSKY R., (1991). A temporal and ultrastructural relationship between heparan sulfate proteoglycans and AA amyloid in experimental amyloidosis. *J Histochem Cytochem.* 10: 1321-1330.

- SNYDER, P W., (2007). Diseases of immunity: amyloidosis, in Pathologic Basis of Veterinary Diseases, M. D. McGavin and J. F. Zachary, Mosby Elsevier, St Lois, Mo, USA. Eds., pp. 246–251.
- SOLOMON, A., (1996). What is amyloidosis? Myeloma Today, 3: 1-9.
- SOLOMON, A., WEISS, D T., SCHELL, M., HRNCIC, R., MURPHY, C L., WALL, J., MCGAVIN, M D., PAN, H J., KABALKA, G W., PAULUS, M J. (1999). Transgenic mouse model of AA amyloidosis. Am J Pathol. 154 (4):1267-72.
- SORENSEN, G D., HEEFNER, W A., KIRKPATRICK, J B., (1964). Experimental amyloidosis. II. Light and electron microscopic observations of liver. Am J Pathol. 44: 629-644.
- SOTO, C., KINDY, M S., BAUMANN, M., FRANGIONE, B., (1996). Inhibition of Alzheimer's amyloidosis by peptides that prevent β -sheet conformation. Biochem Biophys Res Commun. 226: 672-680.
- SPORONOVA, J., NYSTRÖM, S N., WESTMARK, G T., (2008). AA-Amyloidosis Can Be Transferred by Peripheral Blood Monocytes, PLoS one, 3:10; 3308.
- STANTON, R P., HOBSON, G M., MONTGOMERY, B E., MOSES, P A., SMITH-KIRWIN, S M., FUNANAGE V L., (1999). Glucocorticoids decrease IL-6 levels and induce mineralization of cultured osteogenic cells from children with fibrous dysplasia. Journal of Bone Miner Research. 14: 1104-1114.
- STEINMETZ, A., HOCKE, G., SAILE, R., PUCHOIS, P., FRUCHART, J C., (1989). Influence of serum amyloid A on cholesterol esterification in human plasma. Biochim Biophys Acta. 2006: 173-178.
- STONE, M. J., (1990). Amyloidosis: A Final Common Pathway for Protein Deposition in Tissues, Blood, 75: 3: 531-545.
- TAKAHASHI A., MATSUMOTO J., NISHIMURA S., TANIDA N., IMURA S., ISOBE T., SHIMOYAMA T., (1985). Improvement of endoscopic and histologic findings of AA-type gastrointestinal amyloidosis by treatment with dimethyl sulfoxide and prednisolone. Gastroenterol Jpn., 20(2): 143-147.
- TAMAYAMA, H., KITAMURA, A., KAGAWA, Y., HIREYAMA, K., YOSHINO, T., (2000). Localized amyloidosis in canine mammary tumors. Vet. Pathol. 37: 104.
- TANIYAMA, H., YAMATA, S., SAKO, T., HIRAYAMA, K., HIGUCHI, H., NAGAHATA, H., (2000). Systemic kappa AL amyloidosis associated with bovine leucocyte adhesion deficiency. Vet Pathol. 37: 98-100.
- TAPE, C., TAN, R., NESHEIM, M., KISILEVSKY, R., (1988). Direct evidence for circulating apoSAA as the precursor of tissue AA amyloid deposits. Scand J Immunol. 28: 317-324.
- TOUBI E., KESSEL A., GOLDSTEIN L., SLOBODIN G., SABO E., SHMUEL Z., ZUCKERMAN E., (2001). Enhanced peripheral T-cell apoptosis in chronic hepatitis C virus infection: association with liver disease severity. J Hepatol. 35(6): 774-780.

- TRUE, L D., (1991). Atlas of Diagnostic Immunohistopathology. N Engl J Med; 324:203 pp.
- TURPIN, J., MEHTA, K., BLICK, M., HESTER, J P., LOPEZ-BERESTEIN, G., (1990) Effect of retinoids on the release and gene expression of tumor necrosis factor-alpha in human peripheral blood monocytes. J Leukoc Biol. 48(5): 444-50.
- UHLAR, C M., WHITEHEAD, A S., (1999). Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant, Eur. J. Biochem. 265: 501-523.
- UPRAGARIN, N., ASTEN, A J J., TOOTEN, P C., LANDMAN, W J M., GRUYS, E., (2005). Serum amyloid A production by chicken fibroblast-like synoviocytes. Vet Immunol Immunopathol. 106(1-2): 39-51.
- VAN MIERT, A S., (1995). Pro-inflammatory cytokines in a ruminant model: pathophysiological, pharmacological, and therapeutic aspects. Vet Q. 17(2): 41-50.
- VERMEIRSCH, H., SIMOENS, P., CORYN, M., VAN DEN BROECK, W., (2001). Immunolocalization of androgen receptors in the canine ovary and their relation to sex steroid hormone concentrations. Reproduction. 122: 713.
- VIRCHOW, R., (1854). Ueber eine imgehirn und rückenmark des menschen aufgefundene substanz mit der chemischen reaktion der cellulose. Virchow Archiv für Pathologische Anatomie und Physiologie für Klinische Medizin. 6: 135-138.
- VISSER, M., BOUTER, L M., MCQUILLAN, G M., WENER, M H., HARRIS, T B., (1999). Elevated Creactive protein levels in overweight and obese adults. JAMA. 282: 2131-2135.
- WAALEN, K., SLETTEN, K., HUSBY, G., GRUYS, E., (1980). The primer structure of amyloid fibril protein AA in endotoxin-induced amyloidosis of the mink. Eur J Biochem. 104: 407-412.
- WANDINGER, K P., WESSEL, K., TRILLENBERG, P., HEINDL, N., KIRCHNER, H., (1998). Effect of high dose methylprednisolone administration on immune functions in multiple sclerosis patients. Acta Neurol Scand. 6: 359-365.
- WANG, D H., DI, B X., (1992). Pathological study on amyloidosis in chickens. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica. 3: 2-6.
- WANG, L., LIEPNIEKS, J. J., BENSON, M. D., KLUVE-BECKERMANN, B., (2000). Expression of SAA and amyloidogenesis in congenic mice of CE/J and C57BL/6 strains. Amyloid. 7: 26-31.
- WATTEYN A., WYNS H., PLESSERS E., RUSSO E., DE BAERE S., DE BACKER P., CROUBELS S., (2013). Pharmacokinetics of dexamethasone after intravenous and intramuscular administration in broiler chickens. Vet J. 195(2): 216-220.
- WEISBERG, S P., MCCANN, D., DESAI, M., ROSENBAUM, M., LEIBEL, R L., FERRANTE, A. W., (2003). Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. J Clin Invest. 112: 1796-1808.

- WESTERMARK, P., BENSON, M D., BUXBAUM, J N., COHEN, A S., FRANGIONE, B., IKEDA, S., MASTERS, C L., MERLINI, G., SARAIVA, M J., SIPE, J D., (2007). A Primer Of Amyloid Nomenclature. *Amyloid*. 14 (3): 179-183.
- WESTERMARK, P., BENSON, M D., BUXBAUM, J N., COHEN, A S., FRANGIONE, B., IKEDA, S., MASTERS, C L., MERLINI, G., SARAIVA, M J., & SIPE, J D., (2005). Amyloid: Toward terminology clarification Report from the Nomenclature Committee of the International Society of Amyloidosis. *Amyloid*. 12 (1): 1-4.
- WILLE H., ZHANG G F., BALDWIN M A., COHEN F E., PRUSINER S B., (1996). Separation of scrapie prion infectivity from PrP amyloid polymers. *J Mol Biol.*, 259(4): 608-621.
- WOLDEMESKEL M., (2012). A concise review of amyloidosis in animals. *Vet Med Int.* doi: 10.1155/2012/427296. Epub.
- WOODROW, S. I., STEWART, R. S., KISILEVSKY, R., GORE, J., YOUNG, I. D., (1999). Experimental AA amyloidogenesis is associated with differential expression of extracellular matrix genes. *Amyloid*. 6: 22-30.
- XU, H., BARNES, G T., YANG, Q., TAN, G., YANG, D., CHOU, C J., SOLE, J., NICHOLS, A., ROSS, J. S., TARTAGLIA, L. A., CHEN, H., (2003). Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest*. 112(12): 1821-30.
- XU, J., FAN, G., CHEN, J., WU, Y., XU, X M., HSU, C Y., (1998). Methylprednisolone inhibition of TNF- α expression and NF- κ B activation after spinal cord injury in rats. *Brain Res Mol Brain Res*. 59: 135-142.
- XU, L., BADOLATO, R., MURPHY, W J., LONGO D L., ANVER, M., HALE, S., OPPENHEIM, J J., WANG, J M. (1995). A novel biologic function of serum amyloid A: induction of T lymphocyte migration and adhesion. *J Immunol*. 155: 1184-1190.
- YAMADA, T., LIEPNIKES, J., BENSON, M., KLUVE, V., BECKERMAN, B., (1996). Accelerated amyloid deposition in mice treated with the aspartic protease inhibitor, pepstatin. *J Immunol*. 11: 533-540.
- YANG, R Z., LEE, M J., (2006). Acute phase serum amyloid A: An inflammatory adipokine and potential link between obesity and its metabolic complications. *PLoS Medicine*. 3: 884-894.
- YIGIT, S., BAGCI, H., OZKAYA, O., OZDAMAR, K., CENGIZ, K., AKPOLAT, T., (2008). MEFV mutations in patients with familial mediterranean fever in the Black Sea region of Turkey. *J Rheumatol*. 35: 106-113
- ZIMLICHMAN, S., DANON, A., NATHAN, I., MOZES, G., SHAINKIN-KESTENBAUM, R., (1990). Serum amyloid A, an acute phase protein, inhibits platelet activation. *J Lab Clin Med*. 116:180-6.
- ZSCHIESCHE, S., (1984). Profile changes in patients with Pierre Robin syndrome. Article in German. *Fortschr Kieferorthop*. 45(2): 122-127.

EKLER

Ek 1. Fare yem içeriği.

KORKUTELİM YEM GIDA SAN. TİC. A.Ş.

Uzunluk Mah. M. Akif Ersoy Bulvarı No. 141
KORKUTELİ / ANTALYA 0 242 643 10 20

ONAY TARİHİ VE NO: 26-09-2010 & TR-0700021

TAM YEM

FARE YEMİ

Bu yem 16 günden büyük farelerin beslenmesinde kullanılır

KULLANILAN HAMMADDELER

Soya Fasülyesi Küspesi*, Mısır, Buğday Kepeği, Kanola Küspesi,
Yonca Unu, Mermer Tozu, Bitkisel Yağ, DCP 18, Arpa,
D. L. Methionine, Toksin Bağlayıcı, Kolin Klorid, Kanatlı Minerali,
E Vitamini, Antioksidant.

* (Genetik yapısı değiştirilmiş soya veya soya fasülyesinden üretilmiş olup (ACS-GMQQ5-8), (MON-89788-1) ve (MON-04032-6) ayrımcı kimlik genleri ihtiva edebilir.

TEMEL BESİN MADDELERİ			
Ham Protein	%24,00	Ham Yağ	%5,85
Ham Selüloz	%6,31	Ham Kül	%5,75
<u>Methionine</u>	%0,60	<u>Lysine</u>	%1,28
Kalsiyum	%1,23	Fosfor	%0,66
Sodyum	%0,05		

SERİN KURU TEMİZ BİR ORTAMDA DEPOLAYINIZ
EN UYGUN TÜKETİM TARİHİ: İMAL TARİHİNDEN İTİBAREN 3 AYDIR
İMAL TARİHİ: 29.02.2011 PARTİ NO:1 NET: 25 KG

ÖZGEÇMİŞ

23.11.1984 tarihinde Malatya' da doğmuşum. İlk ve orta okulu eğitimimi Malatya Hasan Varol Okulunda; lise eğitimimi ise, Malatya Turgut Özal Anadolu Lisesi' nde tamamladım. 2002 yılında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi' nde lisans eğitimime başladım ve 2007 yılında lisans eğitimimi tamamladım. Şubat 2008' de Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nde doktora eğitimime başladım. 12 Ekim 2009 tarihinde Afyon Kocatepe Üniversitesi Başmakçı Meslek Yüksekokulu' nda Öğretim Görevlisi kadrosuna atandım. 24 Aralık 2013 tarihinde Bingöl Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu' nda Öğretim Görevlisi olarak göreve başladım ve hâlâ aynı birimde Öğretim Görevlisi olarak görevime devam etmekteyim.