



T.C.
BURSA ULUDAĞ
ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK
BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIP FAKÜLTESİ
İMMÜNOLOJİ ANABİLİM
DALI



POTANSİYEL İMMÜNOMODÜLATÖR ÖZELLİKTEKİ
MOLEKÜLLERİN BRUSELLOZ ENFEKSİYONLARINDA
DEĞERLENDİRİLMESİ

Muhammed Ali KIZMAZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BURSA-2021





T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIP FAKÜLTESİ İMMÜNOLOJİ
ANABİLİM DALI



**POTANSİYEL İMMÜNOMODÜLATÖR ÖZELLİKTEKİ
MOLEKÜLLERİN BRUSELLOZ ENFEKSİYONLARINDA
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Muhammed Ali KIZMAZ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

DANIŞMAN:

Prof. Dr. Ferah BUDAK

BURSA-2021

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK BEYANI

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum “**Potansiyel İmmünomodülatör Özellikteki Moleküllerin Bruselloz Enfeksiyonlarında Değerlendirilmesi**” adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

Muhammed Ali KIZMAZ

Tarih ve İmza

TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

23/06/2021

Adı Soyadı: Muhammed Ali KIZMAZ

Anabilim Dalı: Tıp-İmmünoloji

Tez Konusu: Potansiyel İmmünomodulator Özellikteki Moleküllerin Bruselloz Enfeksiyonlarında Değerlendirilmesi

<u>ÖZELLİKLER</u>	<u>UYGUNDUR</u>	<u>UYGUN DEĞİLDİR</u>	<u>ACIKLAMA</u>
Tezin Boyutları	☒	☐	
Dış Kapak Sayfası	☒	☐	
İç Kapak Sayfası	☒	☐	
Kabul Onay Sayfası	☒	☐	
Sayfa Düzeni	☒	☐	
İçindekiler Sayfası	☒	☐	
Yazı Karakteri	☒	☐	
Satır Aralıkları	☒	☐	
Başlıklar	☒	☐	
Sayfa Numaraları	☒	☐	
Eklerin Yerleştirilmesi	☒	☐	
Tabloların Yerleştirilmesi	☒	☐	
Kaynaklar	☒	☐	

DANIŞMAN ONAYI

Unvanı Adı Soyadı: Prof. Dr. Ferah Budak

İmza:

İÇİNDEKİLER

Dış Kapak	
İç Kapak	
ETİK BEYAN	II
KABUL ONAY	III
TEZ KONTROL BEYAN FORMU.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
TÜRKÇE ÖZET	VII
İNGİLİZCE ÖZET	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Bruselloz Tanım.....	4
2.2. Tarihçe.....	4
2.3. Etiyoloji	5
2.4. Epidemiyoloji	6
2.5. Bakteriyolojik Özellikler.....	8
2.5.1. <i>Brucella</i> Türleri	9
2.5.2. Antijenik Özellikler	10
2.5.3. Genetik Özellikler.....	11
2.5.4. Dirençlilik Özellikleri.....	12
2.5.5. Virülans Faktörleri.....	12
2.5.5.1. Lipopolisakkarit	13
2.5.5.2. Tip 4 Sekresyon Sistemi	13
2.5.5.3. İki Bileşenli BvrR / BvrS sistemi	14
2.5.5.4. Siklik β -1,2 Glukan.....	14
2.5.5.5. Süperoksit Dismutaz ve Katalaz	15
2.5.5.6. Üreaz	15
2.5.5.7. Sitokrom Oksidaz	16
2.5.5.8. Alkil Hidroperoksit Redüktazlar	16
2.5.5.9. Nitrik Oksit Redüktaz	16
2.5.5.10. <i>Brucella</i> Virülans Faktörü A (BvfA).....	16
2.5.5.11. Baz Eksizyon Onarımı	17
2.6. Hastalığın İnsanlara Bulaşma Yolları	17
2.7. Klinik Belirti ve Bulgular	18
2.7.1. Subklinik veya Asemptomatik Enfeksiyon	18
2.7.2. Akut Enfeksiyon	18
2.7.3. Subakut Enfeksiyon	19
2.7.4. Kronik Enfeksiyon	19
2.7.5. Lokalize Enfeksiyon	19
2.8. Komplikasyonlar	19
2.9. Tanı	20
2.9.1. Kültür Yöntemleri	20
2.9.2. Serolojik Yöntemler	21
2.9.3. Moleküler Yöntemler	22
2.10. Tedavi	23
2.11. Bruselloz Patogenezi.....	23
2.12. Bruselloz İmmünolojisi	25

2.13. İmmünomodülatör Moleküller.....	28
2.13.1. Aktivin A	28
2.13.2. Aktivin B	31
2.13.3. Follistatin	32
3. GEREÇ ve YÖNTEM	34
3.1. Çalışmaya Alınacak Gönüllülerin Belirlenmesi	34
3.2. ELISA ile Serum İmmünomodülatör Sitokin Düzeylerinin Saptanması.....	35
3.2.1. ELISA Protokolü	36
3.3. İstatistiksel Analiz	38
4. BULGULAR	39
4.1. İmmünomodülatör Molekül Düzeyleri.....	39
4.2. İmmünomodülatör Molekül Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	43
4.2.1. Aktivin A Düzeyleri	46
4.2.2. Aktivin B Düzeyleri	47
4.2.3. Follistatin Düzeyleri	48
4.2.4. İmmünomodülatör Moleküllerde Korelasyon	48
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	52
6. KAYNAKLAR.....	59
7. SİMGELER VE KISALTMALAR.....	72
8. TEŞEKKÜR.....	74
9. ÖZGEÇMİŞ	75

TÜRKÇE ÖZET

Bruselloz, *Brucella* adı verilen bakteriler tarafından oluşturulan zoonotik bir hastalıktır. Brusellozda farklı klinik tabloların ortaya çıkmasında rol oynayan mekanizmalar yeterince aydınlatılmış değildir. Bu eksiklikleri gidermek amacıyla akut ve kronik brusellozlu hastalar ile sağlıklı kontroller ve bruselloz geçirip iyileşmiş kişilerden alınan serumlarda immünomodülatör özellikteki aktivin A, aktivin B ve follistatin moleküllerinin potansiyel rollerinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Aktivinler, transforme edici büyüme faktörü- β 1 (TGF- β 1) süper ailesinin üyeleridirler. Aktivin A ve B'nin biyolojik aktiviteleri benzerdir, ancak bazı durumlarda farklı etkiler gösterebilirler. Follistatin ise aktivinlerin fonksiyonlarını inhibe veya nötralize eden bir proteindir ve bu yolla enflamatuvar süreci düzenleyebilmektedir.

Çalışmamıza Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı klinik ve polikliniğine başvuran 40 akut, 36 kronik bruselloz hastası ile 40 sağlıklı ve 8 bruselloz geçirip iyileşmiş donör dahil edilmiştir. Ayrıca hastalar ve iyileşen grup, kemik eklem tutulumu (osteoartiküler) olan (akut:13; kronik:15; iyileşen:3) ve olmayanlar (akut:27; kronik:21; iyileşen:5) şeklinde gruplandırılarak da değerlendirilmiştir. Tüm immünomodülatör moleküller serumda, *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) ile çalışılmıştır.

Aktivin A, aktivin B ve follistatin molekülleri için akut ve kronik hasta gruplarındaki değerler, sağlıklı kontroller ve iyileşmiş gruptaki değerlere göre daha düşük bulunmuştur ancak sadece aktivin A ve aktivin B molekülleri için istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu ortaya çıkmıştır. Akut ve kronik gruplar arasında ve sağlıklı kontrol ile iyileşen gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Sonuçlarımız, bruselloz enfeksiyonu süresince bu üç molekülün ekspresyonunun baskılandığını, iyileşme durumunda ise baskılanmanın ortadan kalkarak tekrar normal seviyelere yükseldiğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Bruselloz, immünomodülatör, aktivin A, aktivin B, follistatin

İNGİLİZCE ÖZET

Evaluation of Molecules with Potential Immunomodulatory Properties in Brucellosis Infections

Brucellosis is a zoonotic disease caused by the bacteria called Brucella. The mechanisms that play a role in the emergence of different clinical pictures in brucellosis are not sufficiently elucidated. In order to overcome of these deficiencies, it was aimed to reveal the potential roles of activin A, activin B and follistatin molecules with immunomodulatory properties in serum taken from patients with acute and chronic brucellosis, healthy controls and people who have recovered from brucellosis. Activins are members of the transforming growth factor-1 (TGF- β 1) superfamily. The biological activities of activin A and B are similar, but in some cases they may show different effects. Follistatin, on the other hand, is a protein that inhibits or neutralizes the functions of activins and in this way it can regulate the inflammatory process.

40 acute, 36 chronic brucellosis patients, 40 healthy and 8 healed donors who had brucellosis and applied to the clinic and outpatient clinic of Bursa Uludağ University Medical Faculty, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology were included in our study. In addition, the patients and the healing group were evaluated by grouping them as those with (acute: 13; chronic: 15; recovered: 3) and without (acute: 27; chronic: 21; recovered: 5) bone joint involvement (osteoarticular). All immunomodulatory molecules were studied in serum with the Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA).

The values for activin A, activin B and follistatin molecules in the acute and chronic patient groups were lower than the values in the healthy controls and the healed group, but a statistically significant difference was found only for activin A and activin B molecules. There was no significant difference between acute and chronic groups, and between healthy control and recovery groups. Our results show that the expression of these three molecules is suppressed during brucellosis infection, and in recovery, the suppression disappears and rises back to normal levels.

Keywords: Brucellosis, immunomodulator, activin A, activin B, follistatin

1.GİRİŞ

Brucella spp., kapsül, flagella, endospor veya plazmid içermeyen küçük, gram negatif kokobasil morfolojisinde bir bakteri olup bruselloz olarak adlandırılan hastalığa neden olmaktadır (Young, 1995). "Malta humması" veya "Malta ateşi" olarak da bilinen Bruselloz, ruminantların, domuzun ve diğer hayvanların hücre içi fakültatif patojenleri olan *Brucella* türünde mikroorganizmaların neden olduğu zoonotik bir enfeksiyondur (Buttigieg ve ark., 2018).

Bruselloz gelişmiş ülkelere pek sık görülmeyen enfeksiyon hastalığı olmasına rağmen ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelerde hala önemli bir sağlık problemi olarak karşımıza çıkan bir zoonozdur. Dünyada çok fazla yayılım gösterir ve sadece insanlarda ciddi hastalıklara yol açmakla kalmaz evcil hayvanlarda da enfeksiyona neden olur ve aynı zamanda ekonomik kayıplara da yol açar (Özcanarslan, 2011). Hastalık genellikle sindirim sistemi, enfekte dokularla direkt temas ve enfekte damlacıkların inhalasyonu aracılığı ile bulaşmaktadır (Aktug Demir, 2009).

Enfekte hayvanların idrar, süt ve diğer salgılarında *Brucella* bakterisinin bulunduğu, taze peynir, krema, tereyağı ve dondurma gibi hayvansal gıdaların tüketilmesiyle insanlara bulaştığı bilinmektedir. Bruselloz enfeksiyon riski yüksek olan gruplar arasında hayvancılıkla uğraşanlar, mezbaha ve et sanayisinde çalışanlar ve sağlık personelleri bulunmaktadır (Hodul, 2008).

Brucella enfeksiyonlarında mortalite oranı düşüktür fakat ortaya çıkan klinik tablonun birçok hastalık ile benzerlik göstermesinden dolayı bruselloz teşhisinin geç konulması, tedavisinin uzun sürmesi ve giderek kronikleşme özelliği göstermesi hastalığın önemini daha da arttırmaktadır (Hayat, 2000).

Hastalığın semptomları genellikle enfeksiyondan 2-3 hafta sonra ortaya çıkmaya başlar. Vakaların bir kısmında hastalığın başlangıcında semptomlar görülmeyebilir. Hastalık ateş, terleme, anoreksiya, yorgunluk, kilo kaybı ve depresyon gibi çok sayıda somatik şikayet ile karakterizedir. Ateş, hastalığın bir döneminde tüm hastalarda

ortaya çıkar, ancak tedavi edilmediğinde haftalar ila aylar boyunca devam edebilir (Young, 1995). Hastalık kronikleşmeye başladıkça ateş ve terleme gibi semptomlar azalırken kas ve eklem ağrıları ön plana çıkmaya başlar (Hodul, 2008). Bazı hastalarda semptomlar belirli organlarda sınırlı kalmaktadır ve bu durumda hastalık lokalize enfeksiyon olarak adlandırılır (Young, 1995).

Bruselloz, subklinik veya asemptomatik enfeksiyon, akut enfeksiyon, subakut enfeksiyon, kronik enfeksiyon ve lokalize enfeksiyon olmak üzere çeşitli klinik tablolarda karşımıza çıkabilir. Hastalığın tanısı, kan, kemik iliği, karaciğer, lenf nodu, BOS, sinovyal sıvı, prostatik sıvı gibi numunelerden mikroorganizmanın elde edilmesi ve/veya uygun klinik tablonun varlığında seroloji pozitifliği ile konulur (Aktug Demir, 2009).

Brucella'nın konak hücre içerisinde yaşama ve çoğalma süreçlerinin düzenlenmesinde immün sistemin rolü büyüktür.

Brucella spp. gibi hücre içi bakterilere karşı oluşturulan immün direnç, antijen sunan hücrelerin (makrofajlar ve dendritik hücreler) aktivasyonu ve ardından antijene özgü CD4⁺ ve CD8⁺ T hücre klonal genişlemesini içeren hücre aracılı immüniteye dayanır. *Brucella* antijenleri, T yardımcı tip 1 (Th1) sitokinlerinin üretilmesine yol açar. *Brucella* enfeksiyonlarının ortadan kaldırılmasında Th1 bağışıklık tepkisi önemli rol oynar (Skendros, & Boura, 2013). Enfeksiyon başlangıcı ile birlikte çok erken zamanlarda *Brucella spp.*, epitel hücreleri aracılığıyla, lenfositlerin farklılaşmasını, çoğalmasını ve aktivasyonunu aşağı yönde düzenleyerek bağışıklık tepkilerinde değişikliğe yol açar (Rossetti, Drake, & Adams, 2012).

Brucella türlerinin virulansında bakteri yüzeyinde bulunan lipopolisakkarit ve transmembran geçişinde rol oynayan proteinlerin etkin bir rol üstlendiği bilinmektedir. Lipopolisakkaritler doğal immüniteyi ve antijene özgü immüniteyi enfeksiyonun ilk aşamalarında bloke ederek ve apoptoz mekanizmalarının inhibisyonunu sağlayarak patojeni korumaktadır (Turunç Özdemir, 2018).

Bakteriyel enfeksiyon durumlarında, konak savunmasında önemli rol oynayan çeşitli pro-enflamatuvar ve anti-enflamatuvar özellikte mediyatörler (sitokinler ve protein yapılı moleküller vb.) salınmaktadır. Pro-enflamatuvar mediyatörler enfeksiyöz ajanlara karşı koruyucu immün yanıtları aktive ederken, anti-enflamatuvar mediyatörler immün hücre aktivasyonunu baskılar ve doku hasarına karşı koruyucu

etkiler sergilerler. Bu çalışmada araştırılacak olan immünomodülatör yapıdaki aktivin A, aktivin B ve follistatin molekülleri, enflamatuvar yanıtların oluşumunda ve immün sistem yanıtlarının düzenlenmesinde etkin olan molekül gruplarıdır.

Aktivinler hem pro-enflamatuvar hem de anti-enflamatuvar aktiviteye sahip protein yapılı moleküllerdir ve enflamatuvar yanıtları yönlendiren sitokin kaskadının kontrolünde majör rol oynarlar. Follistatin ise aktivinlerin fonksiyonlarını inhibe veya nötralize eden bir proteindir ve bu yolla enflamatuvar süreci düzenleyebilirler.

Bruselloz vakalarında farklı klinik tabloların oluşmasına neden olan süreçler günümüzde hala tam aydınlığa kavuşmamıştır. Literatürdeki bu eksikliği gidermek amacıyla bu tez çalışmasında akut ve kronik brusellozlu hastalar ile sağlıklı kontroller ve bruselloz geçirmiş iyileşmiş kişilerden alınan periferik kandan ELISA ile immünomodülatör özellikteki aktivin A, aktivin B ve follistatin moleküllerinin düzeyleri araştırılmıştır. Böylece brusellozun takibinde immün değişiklikler açısından yeni kriterler elde edilmesi ve kronikleşmeye gidişteki etkilerin daha anlaşılır hale getirilmesi hedeflenmiştir. Elde edilen verilerin brusellozlu hastaların tanı, teşhis ve tedavilerine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bruselloz Tanım

Bruselloz, *Brucella* adı verilen bakteriler tarafından, genellikle koyun, keçi, sığır, domuz, köpek gibi hayvanlarda plasenta, meme bezleri ve genital organ enfeksiyonlarına yol açan aynı zamanda hayvanlardan insanlara bulaşan zoonotik bir enfeksiyon hastalığıdır. İnsanlara geçtiğinde başlangıçta genel enfeksiyon ve sepsisemi şeklinde seyrederek fakat ilerleyen süreçlerde çeşitli organlara yerleşme eğilimi gösterir (Bilgehan, 1983).

2.2. Tarihçe

Bruselloza ait ilk örnekler antik çağlara dayanmaktadır. M.Ö. 1600 yıllarında Mısır'ın beşinci vebasında *Brucella* bakterilerinin etkili olduğu düşünülmektedir (Pappas, Panagopoulou, Christou, & Akritidis, 2006a).

M.S. 79 yılında Vezüv Yanardağında meydana gelen volkanik patlama esnasında Herculaneum'da hayatını kaybeden 92 kişinin iskeletlerinde yapılan antropolojik incelemeler sonucunda, 16 kişide (%17.4) bruselloza özgü kemik lezyonlarının olduğu gösterilmiştir (Capasso, 1999). Brusellozun bu çok yüksek insidansının Roma'da büyük oranda koyun sütü ve türevlerinin tüketimi ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Herculaneum'da bulunan karbonize peynirde yapılan analizler sonucunda *Brucella* ile morfolojik ve boyutsal olarak tutarlı görünen çeşitli bakterilerin varlığı gösterilmiştir (Capasso, 2002).

1861'de Marston tarafından Malta adasında bulunan İngiliz askerlerinde bilinen ateş nedenlerinden daha farklı olan bir ateş etkeni bildirilmiştir (Sümerkan, 2008).

Bruce, 1887 tarihinde Malta adasında hayatını kaybeden İngiliz askerlerinden alınan dalak örneklerinde *Brucella melitensis*'i izole etmiş ve bu mikroorganizma *Micrococcus melitensis* olarak adlandırılmıştır. 1904 yılında sağlıklı keçilerden

toplanan idrar ve süt numunelerinden bu bakterinin izole edilmesi ile bakterinin kaynağı ortaya çıkarılmıştır. Keçi sütünün kaynatıldıktan sonra askerlere verilmesi ile hastalığın insidansında farkedilir bir düzeyde azalma meydana gelmiştir. Bang, sığırlarda düşüklere yol açan *Brucella abortus*'u 1897 tarihinde Danimarka'da izole etmiş ve *Bacillus abortus* olarak isimlendirmiştir (Akan, 1986). Bruce ve Bang tarafından yapılan çalışmalar, 1918 yılında Evans Dergisi'nde iki organizmanın morfolojik, serolojik ve kültür özellikleri açısından birbirleri ile olan benzerliklerine değinilmiştir. Meyer ve Shaw, bu iki organizmaya, Bruce'a atfen *Brucella abortus* ve *Brucella melitensis* isimlerini önermiştir. Traum 1914 tarihinde domuz fetüsünden *Brucella suis*'i izole ederek bu gruba üçüncü üyeyi eklemiştir (Akan, 1986; Mandell, Bennet, & Dolin, 2000).

Ülkemizdeki ilk bruselloz vakası 1915 yılında Hüsamettin Kural ve Mahmut Sabit Akalın tarafından, Kuleli Hastanesine getirilen bir askerde tespit edilmiştir (Arda, Minbay, Aydın, Akay, İzgür, & Leloğlu, 1997; Baysal, 1999).

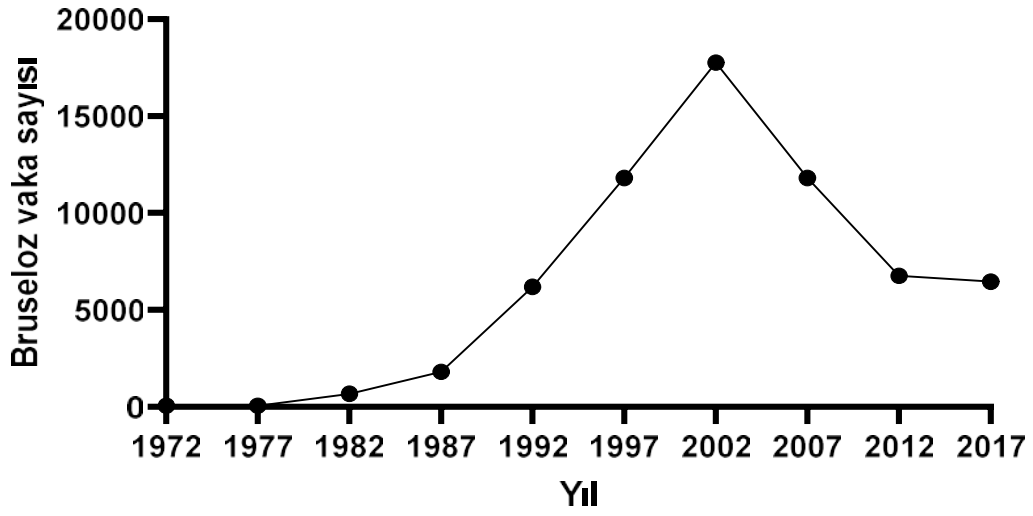
2.3. Etiyoloji

Brucella bakterileri, insan ve hayvanlarda kronikleşmeye kadar giden bir enfeksiyona yol açan hücre içine yerleşim gösteren alfa-proteobakterilerdir (Guzmán-Verri ve ark., 2001). Fenotipik özellik, patojenite ve konak organizma farklılıkları bakımından on iki *Brucella* türü tespit edilmiştir (Al Dahouk, 2017). *Brucella* üyeleri 0.6-1.5µm boyunda 0.5-0.7µm eninde, kokobasil, kok veya kısa çomak morfolojisine sahip gram negatiftirler. Kapsülleri yoktur ve hareketsizdirler. Respiratuvar türde metabolizmaya sahip, zorunlu aeroplardır. Bazı türler kültürde üreyebilmek için %5-10 CO₂'ye ihtiyaç duyarlar (Sümerkan, 2008).

2.4. Epidemiyoloji

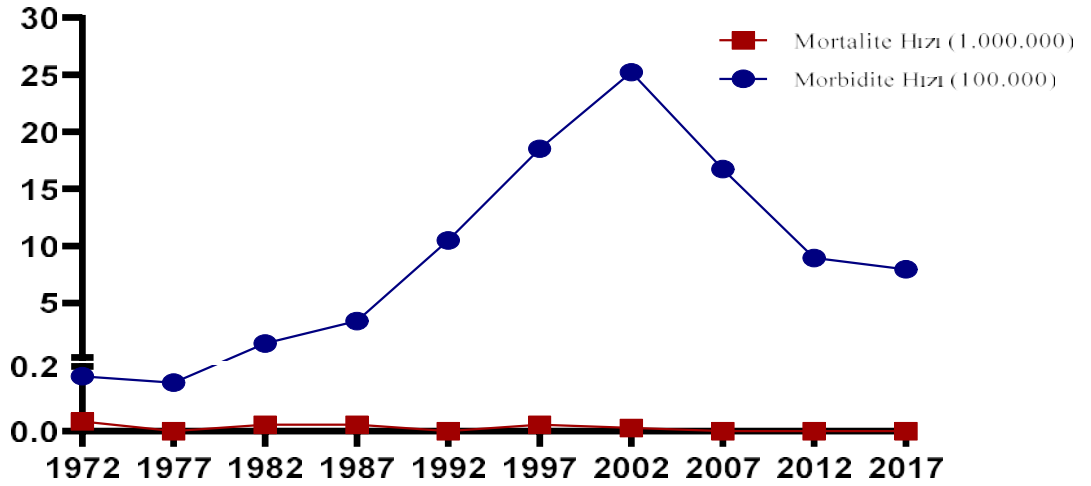
Dünya genelinde en sık görülen zoonotik enfeksiyonlardan biri olan brusellozun epidemiyolojisi her geçen yıl değişmektedir. Hastalık insan sağlığı, hayvan sağlığı ve sosyoekonomik bakımdan geniş yelpazede etkiler göstermektedir. Bruselloz Latin Amerika, Afrika, Asya, Akdeniz ve Orta Doğu'da endemiktir (Nicoletti, 2010). Yeni Zelanda, İngiltere, Kanada, Avustralya ve Kuzey Avrupa'da yer alan bazı ülkelerde bruselloz eradikasyonu sağlanmıştır. Gelişmekte olan ülkelerin büyük bir kısmında hala önemli derecede sağlık problemi oluşturmaya devam etmektedir. Özellikle Orta Asya'da bruselloz için yeni odaklar ortaya çıkmaya devam ederken, Suriye gibi yakın doğuda yer alan bazı ülkelerde durum hızla kötüye gitmektedir. Ayrıca, hem ABD'de hem de bazı Avrupa ülkelerinde hala mevcuttur (Pappas, Papadimitriou, Akritidis, Christou, & Tsianos, 2006b). Bruselloz vaka sayıları nüfusa oranlandığında en yoğun orana sahip ülkeler sırasıyla Suriye, Moğolistan ve Tacikistan'dır (Hull, & Schumaker, 2018). Suriye'de yaşanan savaş, halkın çeşitli ülkelere göç etmesine yol açmış ve bu durum Avrupa'da ki bruselloz vakalarında artışa yol açmıştır (Deyi ve diğerleri 2021).

T.C. Sağlık Bakanlığı yıllık raporları incelendiğinde şekil 1'de gösterildiği gibi Türkiye'de bruselloz vaka sayılarında ki pik 2002-2004 yılları arasında görülmektedir. 1980'li yıllara kadar geçen süreçte vaka sayısının az olması, yapılan test sayısının azlığı ve vaka bildiriminin az olması ile açıklanmaktadır. Türkiye'de 1984 yılında *Brucella* eradikasyonu için ulusal bir proje başlatılmıştır. Proje kapsamında. 2012 yılında *B. abortus* S-19 aşısı ile 4-8 aylık dönemdeki dişi buzağuları, *B. melitensis* Rev-1 aşısı ile de kuzu ve oğlakları aşılama projesi uygulanmaya başlamıştır.



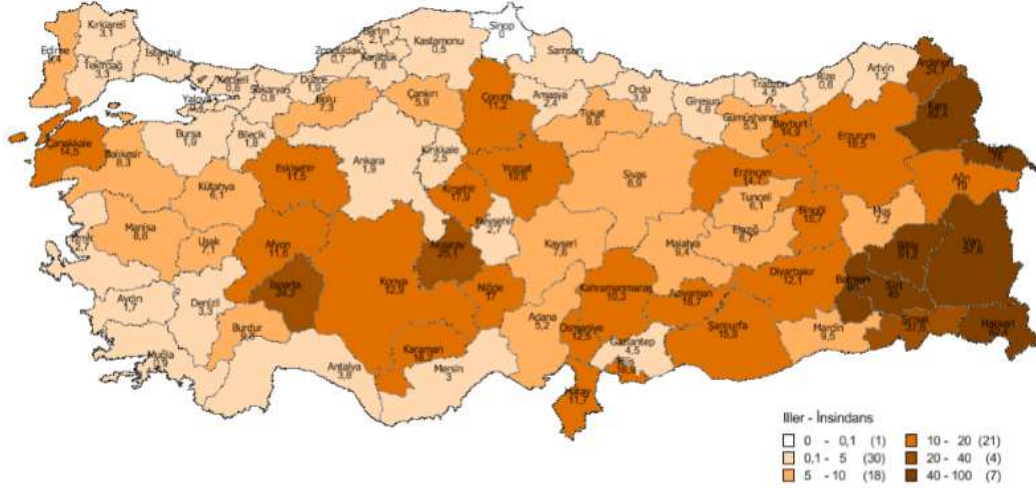
Şekil 1. Türkiye’de yıllara göre bruselloz vaka sayısı (T.C. Sağlık Bakanlığı verilerine göre oluşturulmuştur).

Bruselloz morbidite oranı yüksek olmasına rağmen mortalite oranı düşük olan bir hastalıktır (Şekil 2). Geç tanı konulması ve geç başlanan tedavilerden dolayı ortaya çıkan semptomların ağırlaşmasına bağlı olarak nadir de olsa mortalite gerçekleşebilmektedir.



Şekil 2. Türkiye’de yıllara göre bruselloz morbidite ve mortalite oranları (T.C. Sağlık Bakanlığı verilerine göre oluşturulmuştur).

Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü verilerine göre 2017 yılında Türkiye’de görülen bruselloz olguları şekil 3’de verilmiştir. Hastalık hayvancılığın yoğun olarak yapıldığı kırsal bölgelerde daha sık görülmektedir.



Şekil 3. 2017 yılı il bazında bruselloz vaka insidansı (T.C. Sağlık Bakanlığı İstatistikleri, 2017).

Bruselloz epidemiyolojisinde sürekli yaşanan değişimin nedenleri arasında büyük oranda köy ürünlerine artan ilgi, sosyoekonomik değişiklikler, sanitasyon koşulları, artan seyahatler, illegal ithalat ve politik nedenler sayılabilir. Brusellozun eradikasyonu için hastalığın hayvanlarda kontrol altına alınması ve hayvansal ürünlerin daha kontrolü bir şekilde üretilmesi çok büyük önem taşımaktadır (Kandemir, 2015).

2.5. Bakteriyolojik Özellikler

Bruselloz etkeni olan bakteriler, *Proteobacteria* şubesinin *Alfaproteobacteria* sınıfında yer alan, *Rhizobiales* takımının *Brucellaceae* ailesindeki *Brucella* cinsi bakterilerdir (Bowman, 2011; Sümerkan, 2008). *Brucella* bakterileri, plazmid, kapsül, pili veya ekzotoksin gibi özellikleri kodlayan virülans genlerinden yoksundur (Seleem, Boyle, & Sriranganathan, 2008).

2.5.1. *Brucella* Türleri

İsmlendirilmiş on iki *Brucella* spp. ve henüz isimlendirilmemiş dört izolat vardır (Hull, & Schumaker, 2018; Poetsch, & Marchesini, 2020). Genellikle izole edildiği konağa göre isimlendirmeleri yapılmıştır. Bazı türler insanlarda zoonotik hastalıklara sebep olurken bazı türlerin zoonotik hastalık oluşturma özellikleri henüz tespit edilmemiştir. *Brucella* türlerinin konak organizmaları ve zoonotik hastalık oluşturma potansiyelleri tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. *Brucella* türleri, konak organizmaları ve zoonotik potansiyelleri (Hull, & Schumaker, 2018; Moreno, 2014).

Tür	Konak	Zoonotik Potansiyel
<i>B. melitensis</i>	Koyun, keçi ve deve	Yüksek
<i>B. abortus</i>	Sığır, bizon ve geyik	Yüksek
<i>B. suis</i>	Tavşan, domuz, ren geyiği	Yüksek
<i>B. canis</i>	Köpekler	Orta
<i>B. ovis</i>	Koyun	Enfeksiyon bildirilmemiş
<i>B. neotomae</i>	Çöl fareleri	Enfeksiyon bildirilmemiş
<i>B. ceti</i>	Balinalar	Düşük
<i>B. pinnipedialis</i>	Yüzgeç ayaklılar	Düşük
<i>B. microti</i>	Tarla fareleri ve Kızıl tilkiler	Enfeksiyon bildirilmemiş
<i>B. inopinata</i>	Bilinmiyor	Yüksek
<i>B. papionis</i>	İnsan dışındaki primatlar	Enfeksiyon bildirilmemiş
<i>B. vulpis</i>	Kızıl tilkiler	Enfeksiyon bildirilmemiş
<i>Brucella</i> NFXXX	Avustralya faresi	Enfeksiyon bildirilmemiş
<i>B. unnamed</i>	Mavi benekli vatoz	Enfeksiyon bildirilmemiş
<i>B. inopinata-like 09RB8471</i>	Ağaç kurbağası ve Afrika kurbağaları	Enfeksiyon bildirilmemiş
<i>Brucella</i> UK8/14	Yeşil ağaç kurbağası	Enfeksiyon bildirilmemiş

2.5.2. Antijenik Özellikler

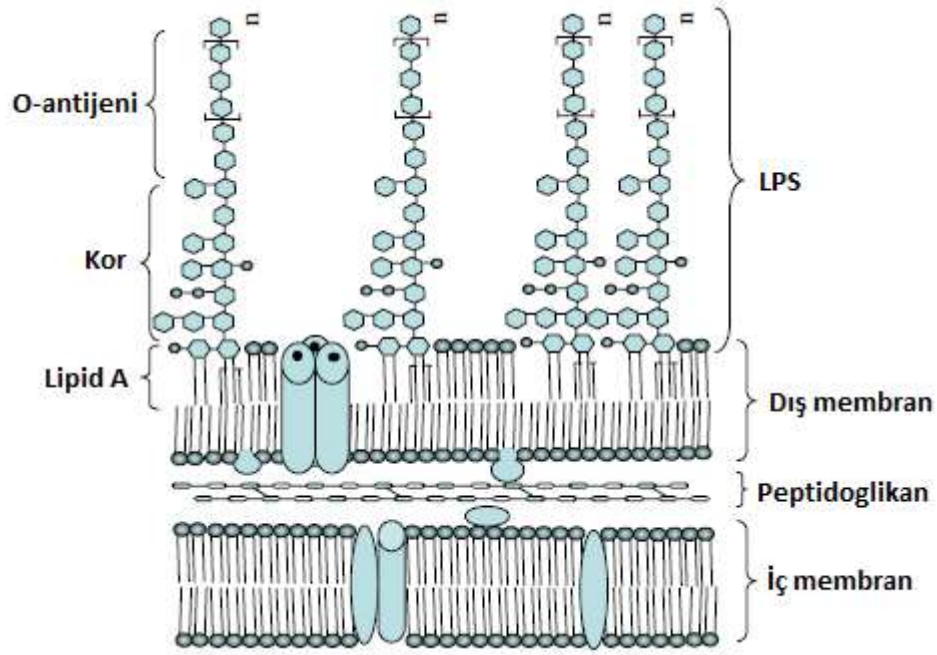
Gram negatif bakterilere benzer şekilde *Brucella* cinsi bakterilerin yüzey katmanları içten dışa doğru sırasıyla; sitoplazma membranı, peptidoglikan tabaka, dış membran ve fosfolipit lipopolisakkarit (LPS) tabakalarından meydana gelir (Baysal, 1999). *Brucella* peptidoglikan tabakası diğer gram negatif bakterilerin peptidoglikan tabakasına benzer ve adjuvan özelliği gösterir (Zygmunt, Dubray, & Limet, 1991).

Brucella bakterilerinin başlıca immünojenik antijenleri; LPS, ısı şok proteinleri (örneğin; DnaK) dış membran proteinleri (OMP'ler), ve periplazmik proteinlerdir (örneğin; SOD, OMP28) (Jezi, Razavi, Mirnejad, & Zamani, 2019). Ekzotoksinler bakımından yoksun olan *Brucella* türlerinin en dikkat çekici yüzey antijeni endotoksin aktiviteye sahip olan LPS kompleksidir (Baysal, 1999).

LPS üç bölümden oluşur. Bu bölümler; en dışta O-antijeni, orta kısımda çekirdek oligosakkarit ve iç kısımda lipit A'dan oluşmaktadır (Şekil 4) (Cardoso, Macedo, Azevedo, & Oliveira, 2006). *Brucella*'daki lipit A, diğer gram-negatif enterobakterilerden farklılıklar gösterir ve enfeksiyon başlangıcında konak immün yanıtı kaçınılmaz rol oynar (Gomes ve ark., 2012).

O-polisakkarit zinciri içermeye durumuna göre LPS'ler *Brucella* bakterilerinde iki farklı şekilde bulunabilir. O-polisakkarit zinciri varlığına *smooth* LPS (S-LPS) ve yokluğunda ise *rough* LPS (R-LPS) şeklinde adlandırılır (Caro-Hernández ve ark., 2007). Patojenik suşların virulansında rol oynayan LPS O-zinciri, bakterileri oksijen metabolitlerine, katyonik peptitlere ve kompleman bağımlı lizise karşı dirençli hale getirerek konak organizmada *Brucella* sağkalımı ve replikasyonu için önemli roller üstlenir (Cardoso ve ark., 2006).

Brucella LPS tabakasında yüzeyel L antijenleri ile birlikte somatik M ve A antijenleri de bulunur (Memish, 2001). Yüzeyel L antijeni, *Salmonella* suşundaki Vi antijenine benzer şekilde serumlarda aglütinasyonunu engeller ancak serumlar 100°C'de 30 dakika inkübe edildiğinde bu durum ortadan kalkmaktadır (Badur, 1990).



Şekil 4. *Brucella* hücre membranının şematik gösterimi (Cardoso ve ark., 2006).

Brucella hücre membranı, iç ve dış fosfolipitler olmak üzere iki tabakadan oluşur. Bakterilerin dış membranı konak hücre ile etkileşen ilk bölge olduğu için enfeksiyonun seyrinde kritik rol oynar ve lipopolisakkarit (LPS) içerir. LPS, üç bölümden oluşur (O-antijeni, kor, lipit A). O-antijeni, hücre dışı boşluğa uzanan polimerize şeker zinciridir ve edinsel immün yanıt tarafından tanınır. O-antijeni, şekerlerden oluşan bir kor molekülüne bağlıdır. LPS'nin hidrofobik çapasını oluşturan kısım Lipit A olarak isimlendirilir. *Brucella* lipit A, çok uzun zincirli bir yağ asidi (VLCFA) içerir ve LPS'ye atfedilen endotoksik özelliklerin büyük bir kısmından sorumludur (Cardoso ve ark., 2006; Haag, Myka, Arnold, Caro-Hernández, & Ferguson, 2010; Raetz, 1996).

2.5.3. Genetik Özellikler

Rhizobiales ailesinde yer alan *Brucella* cinsi haricindeki tüm diğer üyeler bir veya daha fazla sayıda plazmit taşır (Slater, 2009). *Brucella* bakterilerinin türlere göre değişen fakat yaklaşık 1.15 ve 2.05 Mb boyutlarında ki dairesel iki kromozomdan içerdiği ve ortalama $2,37 \times 10^9$ dalton genoma sahip olduğu gösterilmiştir (Gupta, Nayakwadi, Kumar, Gururaj, Kumar, & Pawaiya 2014; Michaux-Charachon, 1997). Yaklaşık olarak her genom bünyesinde 3200-3400 gen barındırır (He, 2012). Türler

arasında kromozom boyutundaki ve sayısındaki farklılıklar, üç rRNA (rrn) genini içeren kromozomal bölgelerdeki rearanjman ile açıklanmaktadır (Jumas-Bilak, Michaux-Charachon, Bourg, O'Callaghan, & Ramuz, 1998). DNA-DNA hibridizasyon çalışmalarıyla türler arasında % 96±5 DNA homolojisi olduğu ortaya çıkarılmıştır (Verger, Grimont, Grimont, & Grayon, 1985). Dokuz *Brucella* suşunda yapılan çalışmada genomlar arasındaki gen sayıları ve kromozomlar arasında ki guanin+sitozin içeriğinin yaklaşık olarak birbirine yakın olduğu gösterilmiştir (Wattam ve ark., 2009). *Brucella* küçük düzenleyici RNA'ları (sRNA'lar), patogeneze ve stres adaptasyonunda rol alan posttranskripsiyonel düzenleyici moleküllerdir (Wang ve ark., 2019).

2.5.4. Dirençlilik Özellikleri

Türlerin canlı kalma süreleri güneş ışığı, ortam sıcaklığı ve neme göre değişmektedir. Genellikle çoğu *Brucella* türleri dezenfektanlara karşı hassastırlar. Karanlık yerlerde, uterus akıntılarında 75 gün, ahır duvarında 4 ay ve güneş almayan toprakta 70 gün canlı kalabilirler. Hayvan dışkısında 100 gün, salamura peynirde 30-45 gün yaşayabilmektedir. Pastörizasyon aşamasında 10–15 dakika içerisinde yaşamsal faaliyetlerini kaybederler (Gezgen, & Şeker, 2014).

2.5.5. Virülans Faktörleri

Virülans faktörleri, bakterilerin konak organizmaya adaptasyonunu sağlayan ve bakteriler tarafından konağın istilasına yardımcı olan oluşumlardır (Köhler ve ark., 2002).

Virülans faktörlerinin bir kısmı, konakçı hücreleri ele geçirmek için gerekliyken diğer kısmı ise, patojenin eliminasyondan kaçınmasında rol oynar. *Brucella spp.* kendi replikatif vakuolünde hayatta kalmak ve çoğalabilmek için aynı zamanda konakçı bağışıklık sisteminden kaçmak için çok sayıda virülans faktörü üretmektedir (Fugier, Pappas, & Gorvel, 2007). *Brucella* lar diğer gram negatif bakterilerden farklı olarak ekzotoksin, kapsül, flagella, ekzoproteazlar veya ekzoenzimler, antijenik varyasyon,

direnç formları, sitolizinler, plazmitler gibi klasik virölans faktörleri göstermezler (Moreno, & Moriyon, 2002).

2.5.5.1. Lipopolisakkarit

Brucella, anti-mikrobiyal etkilere karşı direnç kazandıran ve konakçı bağışıklık yanıtlarını etkileyen bir lipopolisakkarite sahiptir (Lapaque, Moriyon, Moreno, & Gorvel, 2005). *Brucella*'nın *smooth* fenotipi, lipit A, kor oligosakkarit ve bir O-antijeninden oluşan LPS'nin dış hücre membranındaki varlığından kaynaklanmaktadır. Rough fenotipindeki *Brucella* suşlarının LPS'si O-antijeni içermez (Seleem ve diğerleri 2008). *Smooth Brucella*'lar, O-antijen içermeyen rough suşlara göre daha etkin istila eden LPS içerir. LPS O-antijeni virölansda kritik rol üstlenir ve hücrel apoptozu inhibe edip immün yanıtları engeller (Jiménez de Bagüés, Terraza, Gross, & Dornand, 2004; Neta, 2010).

LPS'nin kimyasal yapısı, doğal bağışıklığın antibakteriyel etkilerine karşı bakteriye direnç kazandırır. *Brucella* LPS'nin kompleman aktivasyonunu ve opsonizasyonu önlediği aynı zamanda antibakteriyel peptidlerin salınımını inhibe ederek antimikrobiyal tepkileri ortadan kaldırdığı gösterilmiştir (Lapaque ve ark., 2005). *Brucella abortus* LPS'nin makrofajlarda MHC sınıf II antijen sunumuna etki ederek CD4⁺ T hücre aktivasyonunu azalttığı gösterilmiştir (Forestier, Deleuil, Lapaque, Moreno, & Gorvel, 2000).

2.5.5.2. Tip IV Sekresyon Sistemi

Brucella'nın virölans faktörü olarak kabul edilen VirB proteinleri, tip IV sekresyon sistemini oluşturur ve hücre içi replikasyona katılır (Lapaque ve ark., 2005). *Brucella* tip IV sekresyon sistemi, lizozom füzyonunu inhibe etmek ve replikasyona olanak tanıyan bir yapının oluşturulması için gereklidir (Marchesini, Herrmann, Salcedo, Gorvel, & Comerci, 2011). *Brucella* içeren vakuol ile ER elemanları arasındaki füzyon olaylarının ve etkileşimlerin gerçekleşmesi için gereklidir (Fugier, Pappas, & Gorvel, 2007). Tip IV sekresyon sistemi, fagozom asidifikasyonu ile endüklenen operon oluşturur (Boschirolu ve ark., 2002). Hücre içinde bakterinin hayatta kalması için

gerekli olan tip IV sekresyon sistemi bakımından oluşturulan mutant organizmanın, endoplazmik retikulum (ER) ile etkileşemediği ve sonunda lizozomal enzimler aracılığı ile öldürüldüğü gösterilmiştir (Celli, de Chastellier, Franchini, Pizarro-Cerda, Moreno, & Gorvel, 2003).

2.5.5.3. İki Bileşenli BvrR / BvrS sistemi

Bakteriyel patojenler, gen ekspresyonlarını modüle ederek enfeksiyon esnasında meydana gelen değişikliklere uyum sağlayabilirler. Bu durum, genellikle bir regülatör ve bir sensör protein kinazdan oluşan iki bileşenli regülatör sistemlerin kontrolü altındadır (Finlay, & Falkow, 1997). *Brucella* BvrR / BvrS (*Brucella* virülans ilişkili düzenleyicisi / sensör sistemi) sistemi, en iyi karakterize edilmiş iki bileşenli virülans faktörüdür. *Brucella* BvrR / BvrS regülatör sistemi, çevresel sinyaller sonucunda kinaz aktivitesi sayesinde BvrS proteininin sensör kısmını harekete geçirir ve ardından BvrR proteininin aktivasyonunu sağlar (Głowacka, Żakowska, Naylor, Niemcewicz, & Bielawska-Drózd, 2018).

BvrR ve BvrS mutantları makrofajlarda fagolizozomlar içinde elimine edilirken vahşi tip *Brucella*’lar vakuolar bölmelerden kapsamlı olarak çoğaldığı endoplazmik retikuluma kadar hücre içi trafiğini devam ettirmiş ve bu durum mutantların lizozom füzyonundan kaçamaması ile açıklanmıştır (López-Goñi, Guzmán-Verri, Manterola, Sola-Landa, Moriyón, & Moreno, 2002). BvrR / BvrS mutantlarının, hücre içi replikasyonu ve fagozom lizozom füzyonunu engelleme kabiliyetlerini kaybettikleri gösterilmiştir (Głowacka ve ark., 2018).

2.5.5.4. Siklik β -1,2 Glukan

Proteobacteria’ların periplazmik alanında ozmoregüle periplazmik glukanlar (OPG) mevcuttur. Dört OPG ailesi tanımlanmıştır ve *Brucella*, siklik β -1,2 glukan (S β G), II OPG’ler ailesine aittir (Bohin, 2000). *Brucella* tarafından sentezlenen S β G, konak hücre savunmasından kurtulmak için gerekli olan virülans faktörlerindendir. S β G mutantlarının, replike olamadığı ve fagolizozomlarda yok edildiği gösterilmiştir. Mutantlara saflaştırılmış S β G tedavi uygulaması yapıldığında, lizozom füzyonundan kurtulup vakuol olgunlaşmasını gerçekleştirebildikleri ve böylece *Brucella*’nın hücre

içinde ER'ye ulaşmasına ve hayatta kalmasına izin verdiği gösterilmiş (Arellano-Reynoso ve ark., 2005).

2.5.5.5. Süperoksit Dismutaz ve Katalaz

Patojenik bakteriler, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi enzimleri konak hücrelerden gelen saldırıyı engellemek amacıyla kullanmaktadırlar.

Brucella ile enfekte makrofajlar, bakterilerin çoğalmalarını engellemek için reaktif oksijen ara ürünleri (ROI'ler) üretirler (Gee ve ark., 2005). Hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit (O_2^-) ve hidroksil radikalleri (OH) gibi ROI'ler, *Brucella* için zararlı ürünlerdir ve bakteriler genellikle bu hasarı önlemek için, detoksifiye eden süperoksit dismutaz, katalaz ve peroksidaz gibi enzimleri kullanır. Süperoksit dismutaz, süperoksidin (O_2^-) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene ayrışmasını katalizler (Seleem ve ark., 2008).

Patojenik bakteriler konağa karşı kendini savunabilmek için, katalaz enzimini üreterek, hidrojen peroksidin su ve oksijene ayrışmasını sağlar (Kim, Sha, & Mayfield, 2000). Yapılan çalışmalarda katalazın elzem bir virülans faktörü olmadığı, katalaz eksik mutantların çeşitli enzimlerle (ör: DNA onarım enzimleri, alkil hidroperoksit redüktaz) katalazın yerini doldurabildiği gözlemlenmiştir (Głowacka ve ark., 2018).

2.5.5.6. Üreaz

Üreazlar, üreyi hidrolize ederek iki amonyak molekülü ve karbonik asit oluşturan metaloenzimlerdir. Amonyak molekülleri protonlanarak amonyum oluşturur ve böylece ürenin yıkılması amonyum sağlar ve bakterilerin hayatta kalmasına katkı sağlayacak asidik ortam oluşturulur (Seleem ve ark., 2008).

2.5.5.7. Sitokrom Oksidaz

Brucella'nın makrofajlarda yeterli oksijen bulamadığı durumlarda hayatta kalmasına yardımcı olan enzimdir (Loisel-Meyer, de Bagues, Kohler, Liautard, & Jubier-Maurin, 2005).

2.5.5.8. Alkil Hidroperoksit Redüktazlar

Brucella bakterisini zararlı hidrojen peroksitlerin ve diğer hidroperoksitlerin yıkımını sağlayan peroksidaz ailesine ait enzimlerdir (Seleem ve ark., 2008). Bu enzimler, reaktif nitrojene ve oksijen radikallerine karşı koruma sağlamaktadırlar (Chen, Xie, & Nathan, 1998).

2.5.5.9. Nitrik Oksit Redüktaz

Enfekte makrofajlar nitrik oksit (NO) salgılayarak, *Brucella* enfeksiyonundan korunmayı hedeflemektedir (Loisel-Meyer, Jimenez de Bagues, Basseres, Dornand, Kohler, Liautard, & Jubier-Maurin, 2006). Bakteriyel denitrifikasyon adı verilen yolak ile solunan nitratin dinitrojen gazına indirgenmesi sağlanır ve böylece düşük oksijen seviyelerinde bakterilerin büyümesine olanak tanınır. Dört farklı denitrifikasyon enzim bulunur: nitrik oksit redüktaz, nitrit redüktaz, nitrat redüktaz, ve nitröz oksit redüktaz (Stevanin, Moir, & Read, 2005).

2.5.5.10. *Brucella* Virülans Faktörü A (BvfA)

Brucella cinsine özgü periplazmik proteindir. Makrofajlarda fagozom asidifikasyonu, ile BvfA ekspresyonu endüklenir. BvfA'nın işlevi net olarak bilinmesede bakteriyel repikasyona katkı sağladığı düşünülmektedir (Lavigne ve ark., 2005).

2.5.5.11. Baz Eksizyon Onarımı

Eksonükleaz III enzimi, DNA baz eksizyon onarımında görev yapar ve *XthA* geni (ekzodeoksiribonükleaz III) tarafından kodlanır. Bu gen *Brucella* genomunda iki farklı tipte görülür ve mutant suşlar reaktif oksijenlere karşı hassastırlar (Seleem ve ark., 2008).

2.6. Hastalığın İnsanlara Bulaşma Yolları

İnsan bruselloz vakalarında hayvanlar birincil kaynaktırlar ve hayvanların fetüs, plasenta ve vajinal dokuları bakteri yükünün yoğun olduğu dokulardır (Seleem, Boyle, & Sriranganathan, 2010). Bruselloz, hayvanlardan insanlara genellikle üç ana yoldan bulaşma eğiliminde olan zoonotik bir enfeksiyon hastalığıdır. Deri ve konjunktival temas, sindirim ve bulaşıcı aerosollerin inhalasyonu ile bulaşabilir (Kaufmann ve ark., 1980).

Brucella'nın özellikle enfekte hayvanlardan elde edilen çiğ süt ve peynir gibi gıdaların tüketilmesiyle insanlara bulaşması yaygın görülen bir durumdur. Bu nedenle hayvanlarda hastalığın kontrol altına alınması ile insanlardaki bruselloz insidansı azaltılabilir (Altekruse, Timbo, Mowbray, Bean, & Potter, 1998; Hamdy, & Amin, 2002). *Brucella* bakterisi, enfekte hayvanların %80'inde meme bezlerinde ve meme üstü lenf düğümlerinde lokalizedir ve hayvanlar ömürleri boyunca bu patojeni sütte barındırmaya devam edebilir (Young, 1983) .

Brusellozun insandan insana bulaşı çok nadirdir. Emzirme döneminde anneden bebeğe enfeksiyonun geçtiği görülmüştür (Seleem ve ark., 2010). İnsanlarda cinsel yolla bruselloz bulaşı nadirde olsa cinsel yolla geçişin tespit edildiği vakalar mevcuttur (Meltzer, Sidi, Smolen, Banai, Bardenstein, & Schwartz, 2010). Kan transfüzyonu sonucunda da insandan insana bulaşmaların gerçekleştiği vakalar tespit edilmiştir (Franco, Mulder, Gilman, & Smits, 2007).

Bruselloz, sağlık personelleri, mezbaha ve çiftlik çalışanları gibi birçok meslek gurubunda görülen meslek hastalıklarındandır (Baysal, 1999). Laboratuvar personellerinde görülen enfeksiyonlar, tüm bruselloz vakalarının %2'lik kısmını oluşturur. Bulaşma genellikle bakterilerin solunması yoluyla veya deri ile temas

sonucunda gerçekleşir (Staszkievicz, Lewis, Colville, Zervos, & Band, 1991; Ergönül, Çelikbaş, Tezeren, Güvener, & Dokuzoğuz, 2004).

2.7. Klinik Belirti ve Bulgular

Bruselloz, çok çeşitli organ veya vücut sistemleri üzerinde etkileri görülen sistemik bir hastalıktır (Doğanay, & Aygen, 2003). Enfeksiyon, etkenin türüne, virülansına, konağın yaşı ve direncine bağlı olarak ve aynı zamanda antimikrobiyal tedaviye başlama sürecinin uzaması durumunda farklı klinik tablolarla karşımıza çıkabilmektedir (Ertek, 2003). Genellikle 1 ile 5 hafta arasında değişiklik gösteren kuluçka süresi ile karakterizedir. Bruselloz semptomatik veya asemptomatik seyirli olabilir ve semptomların başlangıcından itibaren geçen sürecin uzunluğuna ve etkisine göre, subakut veya kronik enfeksiyon şeklinde kategorize edilmektedir. Bir veya daha fazla organda meydana gelen tutulum görüldüğünde hastalık lokalize enfeksiyon olarak sınıflandırılmaktadır (Doğanay, & Aygen, 2003). Tedavinin tamamlanmasının ardından 6 ay içinde relaps gelişebilir. Relaps nedeni, tedavi erken bitirilmesi, eksik antibiyotik seçimi veya lokalize bir enfeksiyon odağının olmasıdır (Kandemir, 2015).

2.7.1. Subklinik veya Asemptomatik Enfeksiyon

Hastalarda herhangi bir belirti olmaksızın pozitif seroloji sonucu ile teşhis edilir ve genellikle çiftçilerde, veterinerlerde ve mezbaha çalışanlarında görülür (Doğanay, & Aygen, 2003).

2.7.2. Akut Enfeksiyon

Semptomlarının ortaya çıkmasından itibaren geçen süre 8 haftadan daha kısa ise genellikle akut enfeksiyon olarak adlandırılır (Kandemir, 2015). Bu dönemde hastaların büyük çoğunluğunda halsizlik, ateş, ağrı, iştahsızlık, gece terlemesi vb. semptomlar görülmektedir (Galinska, & Zagórski, 2013). Organ tutulumu ortaya çıkabilir (%40-50) (Doğanay, & Aygen, 2003).

2.7.3. Subakut Enfeksiyon

Semptomlar 8 ve 52. haftalar arasında da görülüyor ise genellikle subakut enfeksiyon olarak değerlendirilirler. Sıklıkla yanlış tanı veya yetersiz antibiyotik tedavisi alan hastalarda görülmektedir. Klinik tablo hastalar arasında değişiklik gösterse de genellikle daha hafif seyreder ve lokalize enfeksiyonlar ortaya çıkabilir (Doğanay, & Aygen, 2003). Öğleden sonra yükselmeye başlayan ateşin geceleri yoğun terleme sonucunda düşmesiyle karakterizedir (Ertek, 2003).

2.7.4. Kronik Enfeksiyon

Bir yıldan daha uzun süredir semptomların görüldüğü hastalarda enfeksiyon kronik olarak nitelendirilir (Kandemir, 2015). Çocuklarda nadir görülmesine karşın yaşlılarda sık görülen klinik durumdur (Doğanay, & Aygen, 2003). Subfebril ateş ve nöropsikiyatrik semptomlar hakimdir (Ertek, 2003).

2.7. 5. Lokalize Enfeksiyon

Organizmanın kanda varlığının gösterilemediği ancak karaciğer, beyin, omurilik sıvısı, kemik ve eklemler gibi çeşitli dokularda lokalize olması durumunda lokalize enfeksiyon olarak nitelendirilir. Sistemik enfeksiyona bağlı olarak lokalize enfeksiyonlar oluşabilir ve ortaya çıkan klinik tablo genellikle brucelloz komplikasyonları olarak değerlendirilir (Doğanay, & Aygen, 2003).

2.8. Komplikasyonlar

Brucella enfeksiyonlarında mortalitenin düşük olmasına karşın morbidite oranı oldukça yüksektir ve insanlarda neredeyse tüm sistemlerde komplikasyon oluşturabilmektedir (Aygen, Doğanay, Sümerkan, Yıldız, & Kayabaş, 2002). Osteoartiküler tutulum ve gastrointestinal sistem tutulumları brucellozda sıklıkla karşılaşılan komplikasyonlardandır (Mousa, Muhtaseb, Almudallal, Khodeir, & Marafie, 1987). Genitoüriner sistem, kardiyovasküler sistem, hematolojik sistem,

pulmoner sistem, nörolojik sistem, kutanöz sistem ve oküler sistemler gibi çok sayıda sistem üzerinde çeşitli komplikasyonlar oluşturmaktadır. Erişkin hastalara kıyasla çocuklarda genellikle komplikasyon şiddeti daha hafif seyretmektedir (Kandemir, 2015).

2.9. Tanı

Brusellozda semptomların çeşitliliği ve bazı hastalarda sinsi seyretmesi nedeniyle çoğu zaman tanıda güçlükler ortaya çıkmaktadır (Aktas, 2003). Ayırt edici klinik bulgular göstermeyen *Brucella* enfeksiyonları genellikle ateşle seyreden diğer klinik tablolarla karıştırılır (Toklu, Akağaç, & Ağca, 2012). Bakteriye karşı oluşturulan antikorların tespiti, bakteriye ait nükleik asit varlığı veya bakterinin kültürde üretilmesi gibi çeşitli yöntemlerle tanı konulabilmektedir (Aktas, 2003).

Günümüzde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) testleri enfeksiyon hastalıklarının tanısında ve aynı zamanda tedavinin gidişatının belirlenmesinde önemli bir yere sahiptir. Kan veya kemik iliği ile yapılan kültürler bruselloz için temel tanı yöntemlerindendir (Dizer, Beker, Çiçek, Güner, Zeren, & Pahsa, 2005). Gerekli kültür şartlarının oluşturulmasındaki zorluklardan ötürü, genellikle bruselloz tanısı serolojik testlerle konulmaktadır (Toklu ve ark., 2012). Serolojik tanıda kullanılmakta olan testlerin farklı özgüllük ve duyarlılıkta çalışması nedeniyle birkaç testin birlikte çalışılması önerilmektedir (Araj, 2010).

2.9.1. Kültür Yöntemleri

Genellikle kan ve kemik iliğinden kültür yapılmakla birlikte aynı zamanda beyin omurilik sıvısı ve eklem sıvısından da kültürler gerçekleştirilebilmektedir (Dizer ve ark., 2005). Kan kültürünün duyarlılığı bakteri türüne, kanda dolaşan bakteri miktarına ve kullanılan yöntemle göre değişiklik gösterebilmektedir (Pappas, Akritidis, Bosilkovski, & Tsianos, 2005). Brusellozun tanısında kültür yöntemi altın standart olarak değerlendirilir ve elde edilen pozitif sonuç kesin tanı sağlar (Araj, 2010). Retiküloendotelyal sistemde bakterinin yüksek konsantrasyonda bulunması kemik iliği kültürünü önemli kılar ve aynı zamanda kemik iliği kültürleri kan

kültüründen de daha önce pozitifliğin saptanmasına aracılık eder. *Brucella* türleri, Castaneda veya standart bifazik (katı ve sıvı) kültür yöntemleri ile, otomatize kan kültür sistemleri ve BACTEC kan kültür sistemi ile izole edilebilir (Pappas ve ark., 2005).

2.9.2. Serolojik Yöntemler

Rose-Bengal Testi, Standart Tüp Aglütinasyon testi (STA) ve Coombs'lu STA testleri serolojik tanıda sıklıkla kullanılan testlerdir (Toklu ve ark., 2012). Rose Bengal testi bruselloz için tarama testi niteliğindedir ve elde edilen pozitif değerler diğer serum aglütinasyon testleri ile doğrulanmaktadır (Christopher, Umaphy, & Ravikumar, 2010; Toklu ve ark., 2012). STA test sonucunu etkileyen blokan antikorlar, yalancı negatiflikler verebileceği için bu yönteme ek olarak Coombs (anti-*Brucella*) testi ya da *İmmuncapture* (yakalamalı aglütinasyon) testlerinin çalışılması önerilmektedir (İrvem, Yücel, Aksaray, & Bor, 2015; Toklu ve ark., 2012). Bruselloz tanısında kullanılabilen serolojik testler tablo 2'de gösterilmektedir.

Brusellozda lipopolisakkaritlere karşı oluşturulan IgM antikorları birinci haftada, IgG antikorları ise ikinci haftada yükselmeye başlar ve dördüncü haftaya gelindiğinde iki antikor tipinde de pik görülür. Tedavi ile antikor düzeylerinde azalma görülür ancak bu azalmanın görülmemesi ya da sonraki süreçte tekrar yükselmesi durumunda relaps ihtimalinden söz edilir. Kronik brusellozda ise IgG ve IgA antikorları altı aydan daha uzun bir süre yüksek titrede kalabilir ancak antikor profili her zaman klinik tablo ile uyumlu olmayabilir (Pappas ve ark., 2005). Bu nedenle tanıda kullanılacak testin seçimine çok yönlü düşünülerek karar verilir ve genellikle birkaç serolojik testin kombine olarak kullanılması ile değerlendirilir.

Tablo 2. Bruselloz tanısında kullanılan serolojik testler (Alışkan, 2008; Araj, 2010; Christopher ve ark., 2010 ve Özdemir ve ark., 2007).

SEROLOJİK TESTLER	AÇIKLAMA
Rose-Bengal testi	%75-91 özgüllükte çalışan, yüksek duyarlılıkta, hızlı sonuç veren, uygulaması kolay ve düşük maliyetli aglütinasyon testidir. Test prensibi antikorların S-LPS'ye olan reaktivitesine dayanır.
Standart tüp aglütinasyon testi (STA)	S-LPS'ye karşı oluşan total (IgG, IgM ve IgA) antikorlar saptanmaktadır. Yalancı pozitif ve yalancı negatif sonuç verme riski bulunduğu için ek testler gerektirebilir.
Mikroaglütinasyon testi (MAT)	Minyatürleştirilmiş bir STA testidir. Az miktarda serum ve reaktifler kullanılmasıyla ve aynı anda çok sayıda numuneyi test edebilmesiyle STA'ya göre daha avantajlıdır ancak STA testindeki dezavantajlar bu testte de mevcuttur.
Coombs (anti-<i>Brucella</i>) testi	Blokant antikorları ve prezon fenomeni gibi etkenleri ortadan kaldırıp duyarlılığı artırır. Hastalığı devam eden ve nükseden hastalarda doğrulama için en uygun ve hassas testtir.
Merkaptan testleri	2-merkaptetanol ve dithiothreitol (DTT) kullanılarak IgM antikorlarının disülfid bağları indirgenir ve IgG antikorları tespit edilmektedir.
Dipstick testi	<i>Brucella</i> 'ya özgül IgM antikorlarını tespit ederek akut hastaların teşhisini sağlar.
Akım yöntemi (Flow Assay)	IgG ve IgM antikorlarını tespit eden çok az numune ile hızlı yüksek duyarlılıkta sonuç veren yöntemdir.
İmmuncapture (yakalamalı aglütinasyon)	Blokant antikorları yakalayarak yüksek titrede IgG, IgM ve IgA antikorlarının tespitini sağlar.
ELISA	Spesifik immünoglobulinleri (IgG, IgM, IgA) kısa sürede, yüksek duyarlılık ve özgüllükle ortaya koyan yöntemdir.
<i>Brucellacapt</i> testi	Total antikorlarla birlikte blokant antikorları da tespit eden yüksek duyarlılık ve özgüllükleli hemaglütinasyon testidir.
Diğer serolojik testler (kompleman birleşmesi testi, radioimmünassay testi ve floresan antikor yöntemleri)	Zaman alıcı, radyasyon riski, zor ve subjektif değerlendirilen testler olup, genellikle tercih edilmezler.

2.9.3. Moleküler Yöntemler

Moleküler tanı yöntemlerinde elde edilen gelişmeler bu yöntemlerin bruselloz tanısında da kullanılabilirliğini ortaya koymuştur (Araj, 2010). Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) testi hastalığın tanısında kullanılan moleküler yöntemler arasında yer almaktadır. Bakterinin serumda çok nadir bulunması nedeniyle PCR testinin serumdan çalışılmasının tanı için bir önemi yoktur. En etkin sonuçlar enfekte olduğu düşünülen hastalardan alınan kan örneklerinden elde edilmekteyken, beyin omurilik sıvısı, idrar, eklem sıvıları ve kontamine doku örnekleride PCR için uygun numunelerdir (Dizer ve ark., 2005).

Geleneksel polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve real-time PCR (RT-PCR) testleri, *Brucella* türlerinin tiplendirilmesinde ve tedavi yanıtının izlenmesinde kullanılan önemli tekniklerdir (Araj, 2010; Christopher ve ark., 2010). *Brucella*

genomundaki kısa nükleotid tekrar dizileri türler arasında geniş bir varyasyon gösterir. Bu tekrarların PCR amplifikasyonu, türler için klasik tiplendirme yöntemlerinden daha sağlıklıdır (Christopher ve ark., 2010).

2.10. Tedavi

Brucella bakterileri hücre içerisine yerleşim gösteren organizmalar olduğundan, tedavide kullanılan ilaçların hücre içine girebilen ve bakterisid özellik gösteren türde olmaları gerekmektedir. Tedavinin erken kesildiği durumlarda relaps oranı yükselmektedir (Young, 1995). Brusellozda antibiyotik tedavileri ile semptomlar ve komplikasyonlar ortadan kaldırılır ve relaps riski azaltılır (Işık, 2010). Hastaların tedavinin ilk haftasını istirahat ederek geçirmeleri, sindirimi kolay ve sulu gıdalar tüketmeleri önerilerek iyileşme süreci hızlandırılmaktadır (Madkour, 2008; Selçuk, 2006).

Tedavi yönteminin seçimi ve uygulanma süresi; hastanın yaş, allerji, gebelik, renal yetmezlik ve organ tutulumu varlığı gibi kriterler değerlendirilerek kişiselleştirilmelidir (Doğanay, & Aygen, 2003; Madkour, 2008 ve Young, 2004).

Tedavide başarı, ikili ve bazı durumlarda üçlü antibiyoterapinin uzun süreli devamlılığı ile sağlanmaktadır. Monoterapi, bakterinin antibiyotiğe direnç kazanmasına, intrasellüler çoğalmaya devam etmesine ve relapsa yol açması nedeniyle uygun görülmemektedir (Doğanay, & Aygen, 2003; Selçuk, 2006). Genellikle kullanılan ikili antibiyoterapiler, tetrasiklin-aminoglikozid kombinasyonu, doksisisiklin-rifampisin kombinasyonu ve rifampisin-kotrimoksazol kombinasyonu şeklindedir (Işık, 2010).

Herhangi bir organ tutulumu veya komplikasyon durumunda seçilen tedavi, genellikle fokal hastalığı olmayan olgular ile aynıdır. Bazen birkaç lokalize formun tedavisinde ameliyata ihtiyaç duyulabilir (Doğanay, & Aygen, 2003).

2.11. Bruselloz Patogenezi

Brucella spp. insan ve hayvanlar için fakültatif hücre içi patojenlerdir ve makrofajlar ve polimorfonükleer lökositler (PMNL) içerisinde hayatta kalıp çoğalabilmektedirler. Bakteriler solunum, sindirim, sıyrıklar veya konjunktival mukoza yoluyla vücuda girebilir (Corbel, 1997 ve Memish, 2001). Mide suyunun düşük pH'ı ağız enfeksiyonuna karşı bir miktar koruma sağlayabilir ancak mide koruyucular veya H₂ reseptör blokanları bruselloza duyarlılığı artırabilir (Steffen, 1977).

Brucella bakterileri çoğu patojenik bakterinin aksine, konak hücrelerde immün savunma mekanizmalarından kaçmak ve replike olabilmek için klasik virülans faktörleri (toksin, kapsül, fibria, plazmit vb.) bulundurmazlar, bunun yerine virülans faktörü olarak işlev gören bazı moleküller içermektedirler (Gorvel, & Moreno, 2002). *Brucella*'nın fagozom-lizozom füzyonunu inhibe edip otofagozomlara benzeyen hücre içi bölmede replike olduğu gösterilmiştir (Watarai, Makino, Fujii, Okamoto, & Shirahata, 2002). *Brucella* bakterileri, doğal immün yanıtı, kompleman ve diğer bakterisidal maddelerin aktivasyonunu engelleyebilmekte böylece konak hücre içerisinde uzun süreli enfeksiyon oluşturabilmektedir (Dornand, Gross, Lafont, Liautard, Oliaro, & Liautard 2002).

Mukozaya gelen *Brucella* bakterileri opsonize edildiğinde, kompleman ve Fc reseptörler aracılığıyla profesyonel fagositler tarafından alınırken, opsonize edilmeyen *Brucella*'lar ise lipit yığınları ile hücre içine alınır (Gorvel, & Moreno, 2002; Watarai, Makino, Fujii, Okamoto, & Shirahata, 2002). Profesyonel olmayan fagositlerde *Brucella* bakterilerinin içselleştirmesi için hücre iskelet yapılarının görevlendirilmesiyle birlikte bazı Rho alt ailesi küçük GTPaz'larının (Rho, Rac ve Cdc42) aktivasyonu da gereklidir (Guzmán-Verri ve ark., 2001).

Bruselloz, hem humoral hem de hücrel bağışıklığı endükleyebilmektedir. İnsanlarda enfeksiyon esnasında sırasıyla IgM ve IgG antikor yanıtları oluşur ancak tedavi ile birlikte IgG antikorlarında IgM antikorlarına kıyasla daha hızlı bir düşüş yaşanmaktadır. Relaps durumunda ise IgG ve IgA titrelerinde artış görülebilmektedir (Kandemir, 2015; Pappas ve ark., 2005).

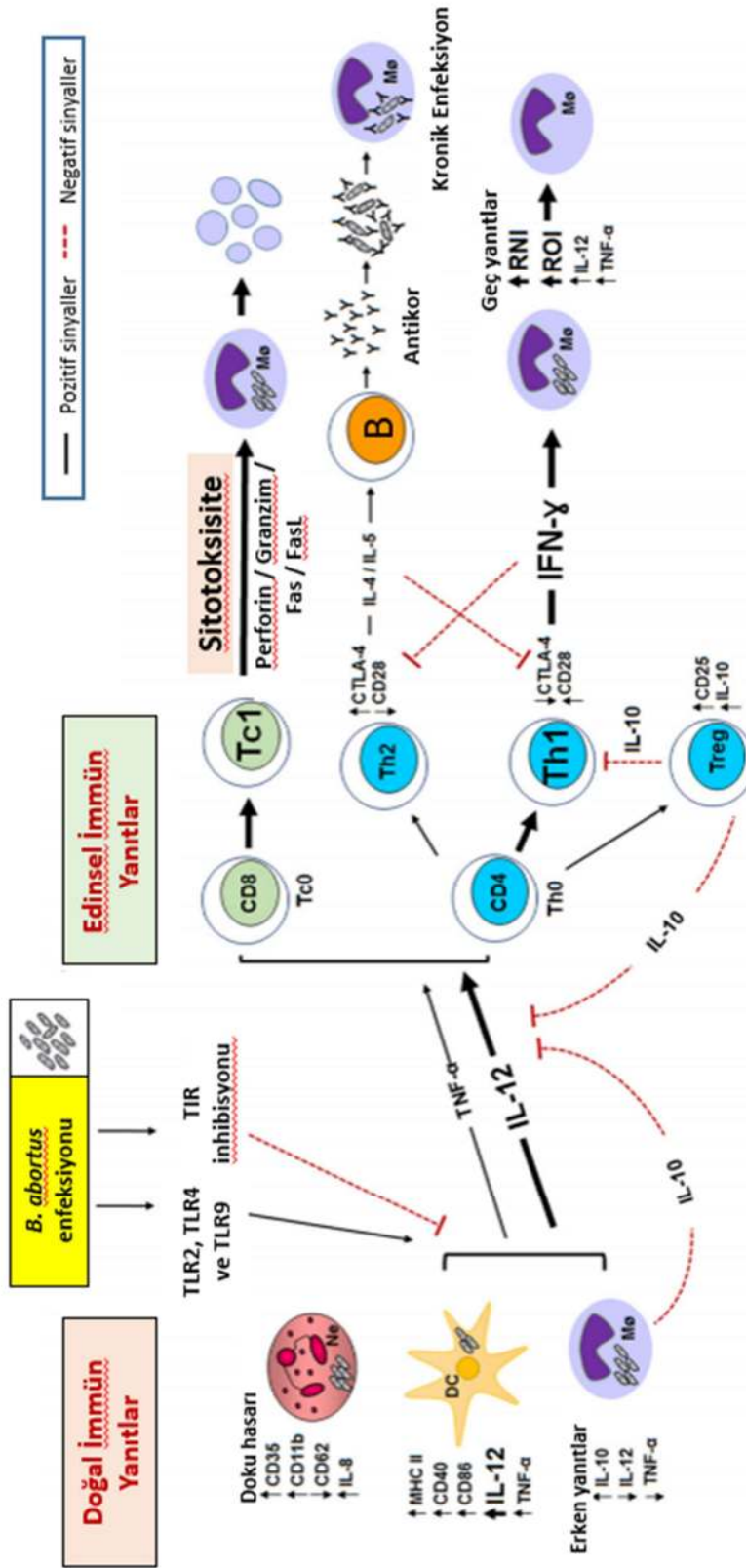
Brucella suşlarının makrofajlar içindeki hücre içi büyümesi, tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), interlökin-2 (IL-2), IL-10, IL-12 ve interferon-gamma (IFN- γ) gibi çeşitli sitokinler tarafından kontrol edilebilmektedir (Gorvel, & Moreno, 2002).

İnsanlarda *Brucella* enfeksiyonu, polimorfonükleer lökositler, epiteloid hücreler ve lenfositlerden oluşan granülomların meydana gelmesiyle sonuçlanabilir. Granülomatöz yanıt, *B. abortus* enfeksiyonlarının özelliğidir ve *B. suis* enfeksiyonuna genellikle dalakta ve eklemlerde kronik apse oluşumu eşlik etmektedir (Doğanay, & Aygen, 2003).

2.12. Bruselloz İmmünolojisi

Brucella hücre duvarı ve LPS yapısı, antijen sunan hücrelerin (ASH) Toll benzeri reseptörlerince [Toll like receptor (TLR)] (TLR2, 4 ve 9) tanınarak hücre içersine alınması sağlanmaktadır. Bu durum doğal bağışıklığın parçası olan TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi sitokinleri endükleyerek ASH aktivasyonunu artırmaktadır. ASH fagositozu takiben bazı bakteriyel peptidler, sentezlenen major histocompatibility complex (MHC) molekülleri ile birlikte hücre yüzeyinde sergilenir ve deri ve mukozal bölgelerden lenfoid organlara göç ederek antijene özgül yanıtların oluşmasına aracılık etmektedirler (Golding ve ark., 2001). Aktive olan CD8⁺ T hücreleri bakterinin fagosite edildiği hücreleri tanıyarak yok edebilirken, CD4⁺ T hücreleri, B hücrelerinden antikor salınımını endüklemektedir.

Brucella türleri çeşitli stratejiler geliştirerek konak immün savunma mekanizmalarından kaçır. Antijen sunan hücreler, doğal öldürücü (NK) hücreleri, CD4⁺ ve CD8⁺ T hücreleri ve B hücreleri gibi birçok hücreye etki ederek hem doğal hem de edinsel tepkilere yol açmaktadır (Golding ve ark., 2001) (Şekil 5).



Şekil 5. *B. abortus* enfeksiyonunda meydana gelen doğal ve edinsel immün yanıtlar.

Th: Yardımcı T hücre, **Tc:** CD8+ sitotoksik T hücre, **B:** B hücre, **Treg:** T regülatör hücre, **Ne:** Nötrofil, **Mo:** Makrofaj, **DC:** Dendritik hücre, **MHC II:** Major histocompatibility complex II, **IL:** İnterlökin, **TLRs:** Toll benzeri reseptörler, **TIR:** Toll/IL-1 reseptör ailesi, **TNF α:** Tümör nekroz faktör α, **IFN γ:** İnterferon γ, **RNI:** Reaktif nitrojen ara ürünleri, **ROI:** Reaktif oksijen ara ürünleri (Dorneles, Teixeira-Carvalho, Araújo, Srriranganathan & Lage, 2015).

Brucella bakterilerine karşı oluşan immün yanıtlar fare modellerinde karakterize edilmiş ve insanlardaki yanıtlara benzer şekilde fagositik hücrelerde kolonize olup antibiyotik tedavisi yokluğunda dokularda mortalite ve morbidite oluşturmada aylarca yaşam sürdüğü gösterilmiştir. Farelerde enfeksiyonun ilk aşamalarında konak savunması, T hücreleri ve NK hücreleri tarafından IFN- γ üretimi ile Th1 benzeri yanıtlar oluşturmaktadır (Rolan, & Tsolis 2008).

IFN- γ , *Brucella* enfeksiyonunu kontrol eden anahtar sitokindir ve ana işlevlerinden biri, fagositik hücrelerde, *Brucella* öldürücü efektör mekanizmalardan olan endüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) gibi faktörlerin uyarılmasıdır (Copin, De Baetselier, Carlier, Letesson, & Muraille, 2007). IFN- γ eksikliği olan farelerin *Brucella* replikasyonunu kontrol edemeyip enfeksiyona karşı yenik düştükleri gösterilmiştir (Murphy, Sathiyaseelan, Parent, Zou, & Baldwin, 2001). CD4⁺ T hücreleri, B hücreleri ve makrofajlarca endüklenen anti-enflamatuvar IL-10 sitokini, makrofajların mikrobisidal aktivitesini inhibe etmekle birlikte IFN- γ aktivitesini de azaltabilmektedir (Fernandes, & Baldwin, 1995a). *Brucella* bakterileri antijen sunan hücrelerden IL-12 salgılamasını endükleyerek NK hücreleri aracılığıyla IFN- γ sekresyonuna yol açmaktadırlar ve böylece NK hücreleri enfekte makrofajların ortadan kaldırılmasında önemli roller üstlenmektedir (Biron, 1999).

İnsan ve hayvanlardaki bazı immün yanıtlar farklılık göstermektedir. Örneğin, *B. abortus* enfeksiyonunu kontrol etmek için kemirgen NK hücreleri çok önemli roller üstlenmese de, insan NK hücreleri *B. suis* ile enfekte makrofajların öldürülmesine aracılık etmektedir (Dornand, Lafont, Oliaro, Terraza, Castaneda-Roldan, & Liautard, 2004; Fernandes, Benson, & Baldwin, 1995b).

TLR'ler tarafından aktive edilen sinyaller, toll interlökin-1 reseptörü (TIR) aracılığıyla azaltılabilmektedir (Dorneles ve ark., 2015). Rafiei ve diğerlerinin (2006) yaptığı çalışmada *Brucella* enfeksiyonu başlangıcında Th1 yanıtının baskın olduğu, hastalığın devam etmesiyle azaldığı görülürken, bu süreçte CD3⁺ IL-13⁺ T hücrelerinin yüzdesinin önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir.

2.13. İmmünomodülatör Moleküller

Bakteri kaynaklı enfeksiyon durumlarında, çeşitli anti-enflamatuvar ve pro-enflamatuvar mediyatörler (sitokinler ve protein yapılı moleküller vb.) salgılanarak konak savunma mekanizmaları harekete geçmektedir. Pro-enflamatuvar mediyatörler enfekte edici ajanlara karşı koruyucu immün yanıtları aktive eder. Anti-enflamatuvar mediyatörler ise immün hücre aktivasyonunu baskılar ve doku hasarına karşı koruyucu etkiler sergilerler.

Pro-enflamatuvar ve anti-enflamatuvar süreçler arasında bir denge sağlanamadığında organizma için zararlı etkiler ortaya çıkabilir ve bu durum doku hasarı ile karakterize kronik enflamasyonlara yol açabilir (Yu, Dolter, & Shao, 1998).

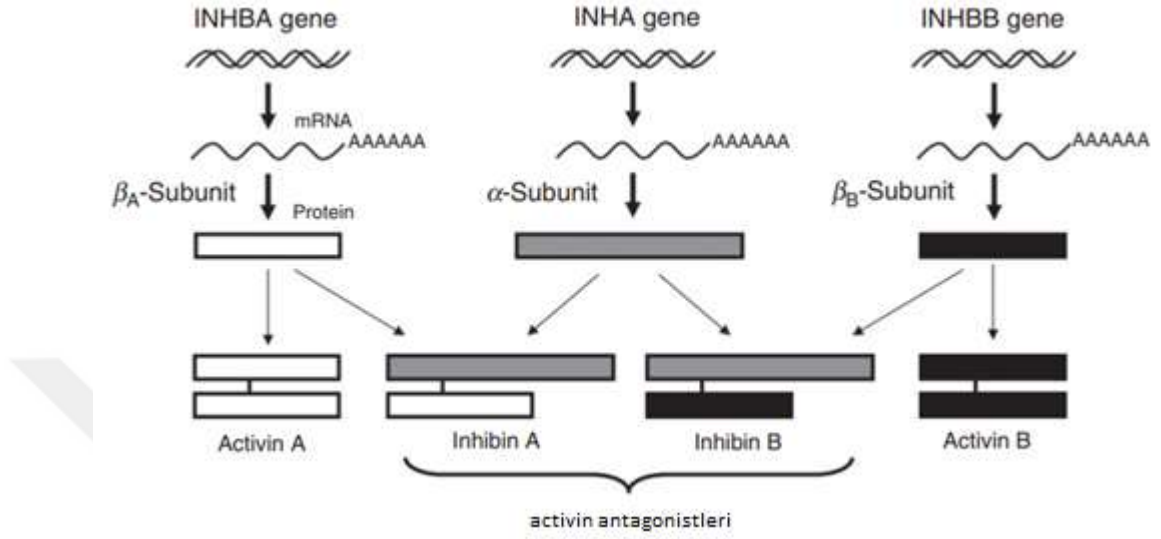
Bu çalışmada araştırılan immünomodülatör yapıdaki moleküller, immün yanıtlarının düzenlenmesinde ve enflamatuvar yanıtların oluşumunda etkin rol oynayan aktivin A, aktivin B ve follistatin molekülleridir. Aktivinler hem pro-enflamatuvar hem de anti-enflamatuvar aktivite gösterebilen protein yapılı moleküllerdir ve enflamatuvar yanıtları yönlendiren sitokin kaskadının kontrolünde majör rol oynarlar. Follistatin ise aktivinlerin fonksiyonlarını inhibe veya nötralize eden bir proteindir ve bu yolla enflamatuvar süreci düzenleyebilirler.

2.13.1. Aktivin A

TGF- β 1 süper ailesinin üyesi olan aktivinler, hem pro-enflamatuvar hem de anti-enflamatuvar süreçlerde rol alan, protein yapılı moleküllerdir (Jones, Mansell, Patella, Scott, Hedger, de Kretser, & Phillips, 2007). TGF- β üyelerine benzer şekilde aktivinler, yaklaşık 25 kDa'lık disülfid bağlı β alt birimlerinin (β_A , β_B , β_C , β_D ve β_E) homodimerleri veya heterodimerleri şeklinde bulunurlar (Daopin, Piez, Ogawa, & Davies, 1992; De Kretser, O'Hehir, Hardy, & Hedger, 2012; Hedger, & de Kretser, 2013).

Şekil 6'da gösterildiği gibi, aktivin A, inhibin sübünit β_A (INH β_A) geni tarafından kodlanan inhibin β_A alt biriminin homodimeri olarak oluşturulurken ($\beta_A\beta_A$), aktivin B, INH β_B geni tarafından kodlanan inhibin β_B alt birimlerinden oluşturulur ($\beta_B\beta_B$) (Hedger, Winnall, Phillips, & de Kretser, 2011). Aktivinler ve inhibinler ortak β alt

birimlerini paylaşırlar. İnhibinler $\alpha\beta$ heterodimerleriyken, aktivinler $\beta\beta$ homodimerlerdir. İnhibinler aktivinlerden önce keşfedilip izole edildiği için, β monomerleri inhibin β olarak adlandırılmaktadır (Namwanje, & Brown, 2016).



Şekil 6. Aktivin ve inhibin sentezi (Hedger ve ark., 2011).

Aktivin A ve B'nin biyolojik aktiviteleri benzerdir, ancak bazı durumlarda farklı etkiler gösterebilirler. Her iki homodimer, hücre gelişimi ve immünite üzerinde geniş biyolojik etkiler gösterebilmek için aktivin reseptör kompleksine bağlanırlar (Hedger, ve ark., 2011). Aktivinler için her biri çeşitli izoformlarda bulunan iki tip protein serin-treonin kinaz reseptörü (ActR-I ve ActR-II) bulunmaktadır (Attisano, Wrana, Montalvo, & Massague, 1996).

Klinik çalışmalar ve deneysel hayvan modelleri, hem akut hem de kronik enflamasyon durumunda aktivin seviyelerinin arttığını ve çoğu zaman hastalık şiddetinin bir göstergesi olduğunu ortaya koymuştur (Hedger ve ark., 2011).

Aktivinlere yüksek afinite ile bağlanan follistatin, aktivinin tüm eylemlerini inhibe edebilme yeteneğine sahiptir (De Kretser ve ark., 2012). Aktivinin etkisinin inhibisyonu, çeşitli hastalık modellerinde enflamasyonu ve morbidite / mortaliteyi azaltmıştır (Hedger, & de Kretser, 2013).

Aktivin A, enflamatuvar süreçler boyunca (özellikle enfeksiyonlar sırasında) endüklenmektedir (Jones, Brauman, Groome, de Kretser, & Phillips 2000). Aktivin A, kemik iliği stromal hücreleri, miyeloid hücreler (makrofajlar ve dendritik hücreler), mast hücreleri, epitel hücreleri, endotel hücreleri, nötrofiller ve Th2 hücreleri

tarafından üretilebilir ve çok çeşitli hücre tiplerinin gelişimi ve fonksiyonu üzerinde pleiotropik etkiler gösterebilir (Hedger, & de Kretser, 2013).

Birçok çalışma aktivin A üretiminin, enflamatuvar sitokinler, Toll benzeri reseptör ligandları ve oksidatif stres tarafından uyarıldığını göstermektedir (De Kretser ve ark., 2012). Enflamatuvar sinyal yollarını aktive etme yeteneğine sahip diğer faktörler de (TNF- α , GM-CSF, basic fibroblast growth factor, epidermal growth faktör, platelet-derived growth factor, TGF- β , IFN- γ) aktivin A üretimini endükleyebilir (Hedger ve ark., 2011). Yapılan çalışmalarda bakteriyel endotoksin LPS'nin, aktivin A'nın dolaşımında hızlıca salınmasını (40 dakika içinde) endüklediği gösterilmiştir. Ayrıca, aktivin A, TNF- α ve IL-6 gibi sitokinlerden daha erken açığa çıkmaktadır (Jones ve ark., 2007). TLR reseptör ligandları (bakteriler ve virüsler) veya pro-enflamatuvar sitokinlerle (TNF- α ve IFN- γ) in vitro stimülasyonda aktivin A düzeyleri, monositler, makrofajlar, dendritik hücreler, lenfositler, epitelyal ve endotelyal hücreler gibi birçok hücre grubunda artış göstermiştir (De Kretser ve ark., 2012; Kariyawasam, Semitekolou, Robinson, & Xanthou, 2011).

Aktivinler, aktivasyon durumlarına bağlı olarak makrofajlar üzerinde hem pro-enflamatuvar hem de anti-enflamatuvar etkileri teşvik edebilir. Makrofajlarda matriks metalloproteinaz-2 (MMP2) ekspresyonunu ve aktivitesini artırarak, makrofaj göçü ve infiltrasyonunda önemli bir rol oynar (Ogawa, Funaba, Mathews, & Mizutani 2000). Aktivin A'nın, sıçan mikrogial hücrelerinin LPS'e maruz kalmasının ardından pro-enflamatuvar mediyatörlerin (IL-8, IL-6 ve endüklenabilir nitrik oksit sentaz) salınmasını bozarak anti-enflamatuvar etkiler gösterdiği ortaya konulmuştur (Sugama, Takenouchi, Kitani, Fujita, & Hashimoto 2007).

Aktivin A, dendritik hücrelerin aktivasyonunu, farklılaşmasını ve göçünü endükleyerek, antijenlerin lenf düğümlerindeki naif T lenfositlere sunulmasına aracılık eder. Dendritik hücrelerden salınan aktivin A, proliferasyon, olgunlaşma ve IFN- γ üretme yeteneklerini baskılayarak NK hücre fonksiyonlarını inhibe eder (Bloise, Ciarmela, Dela Cruz, Luisi, Petraglia, & Reis, 2019).

Aktivin A, bazı durumlarda timik ve periferik T hücrelerinin aktivasyonunu ve proliferasyonunu inhibe eder ve B hücrelerinin büyümesini ve sağ kalımını engelleyebilir (De Kretser ve ark., 2012). Kemik iliğinde aktivin A, fizyolojik koşullar altında B hücre proliferasyonunu inhibe eder ancak enflamatuvar durumlar ortaya

çıkıldığında, aktivin A'nın kemik iliğindeki ekspresyonu azalarak B hücrelerinin çoğalması sağlanır (Bloise ve ark., 2019). Aktivin A ayrıca Th2 hücreleri tarafından üretilir ve B hücreleri tarafından antikör üretimini ve regülatör T (Treg) hücrelerinin gelişimini uyarır (De Kretser ve ark., 2012). T hücreleri, efektör T hücrelerine farklılaştıkça naif CD4⁺ hücreleri tarafından salgılanan aktivin A tarafından düzenlenebilir (Bloise ve ark., 2019).

2.13.2. Aktivin B

Aktivin B, inhibin B'nin β_B alt biriminin homodimeridir ve β_A alt birimi ile yaklaşık % 65 sekans homolojisi gösterir (Mason, Niall, & Seeburg, 1986). TGF- β aktivin protein alt gruplarıyla yakın ilişkilidir ve aynı reseptörlere bağlanır. Biyolojik fonksiyonları follistatin tarafından engellenebilir (Jones ve ark., 2007). Ancak enflamasyondaki etkinliği ile ilgili sınırlı sayıda bilgi bulunmaktadır.

Farelerde LPS ile endüklenen karaciğer enflamasyonu modelinde β_B alt birimi ekspresyon seviyeleri önemli ölçüde artmış, ancak inhibin α veya β_A alt biriminde artış görülmemiştir. Bu veriler değerlendirildiğinde aktivin B'nin, aktivin A ve inhibinlerden bağımsız olarak karaciğer iltihabında rol oynadığını göstermektedir (Hamang, 2019).

Karaciğerlerden salgılanan hepsidinin, aktivin B aracılığıyla uyarılarak enflamasyon anemisine yol açtığı tespit edilmiştir (Canali ve ark., 2016).

Aktivin B, iskemi-reperfüzyon hasarına (İRH) bağlı olarak renal hasarı başlatabilmektedir. Follistatin tedavisi ile aktivin B'nin ve ardından aktivin A'nın etkilerinin nötralize edilerek, sistemik enflamatuvar yanıtların en aza indirilmesiyle renal İRH'nin azaltıldığı gösterilmiştir. Elde edilen veriler, böbrek transplantasyonu sürecinde oluşan İRH hasarını aza indirmek için follistatin tedavisinin uygulanabileceğini ortaya koymuştur (Fang ve ark., 2016).

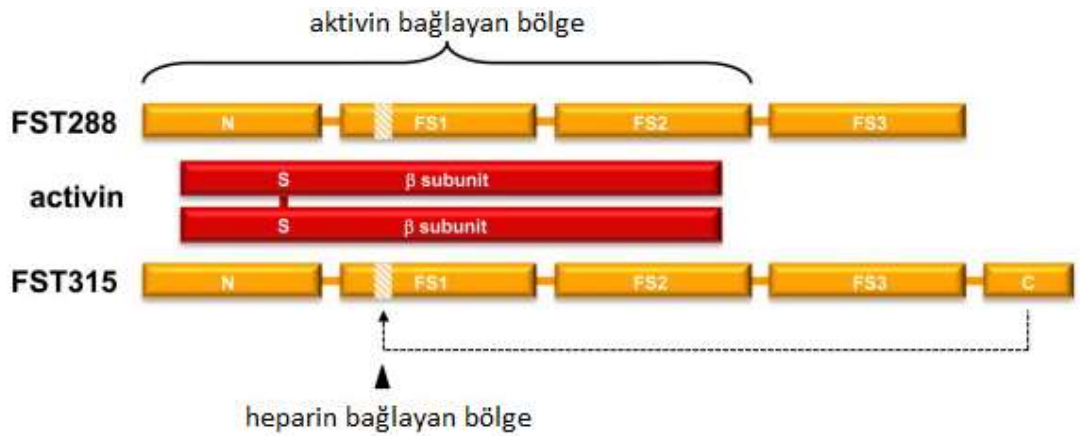
2.13.3. Follistatin

Salgılanan bir protein olan follistatin, TGF- β protein ailesinin birçok üyesini bağlayabilir ve eylemlerini etkisiz hale getirebilir, böylece enflamatuvar süreç ve ardından gelen doku hasarının regülasyonunda kritik bir rol üstlenmektedir (De Kretser ve ark., 2012; Patel, 1998).

Follistatin genellikle aktivin üreten aynı hücrelerde veya alternatif olarak bitişik hücre tiplerinde üretilerek, aktivinin dolaşıma yayılma ve uzak dokulardaki eylemlerini sınırlandırmaktadır (Phillips, 2000).

Follistatin, alternatif mRNA ekleme ve proteinin değişken glikozilasyonuna dayalı olarak 31 ila 49 kD arasında değişen moleküler ağırlıklara sahip tek zincirli moleküldür. Alternatif olarak eklenmiş mRNA'lar, 315 amino asit (follistatin 315, FST315) ve 288 amino asitten (follistatin 288, FST288) oluşan iki proteini kodlar (De Kretser, Hedger, Loveland, & Phillips, 2002).

Her iki follistatin molekülü, tek bir genden üretilir ve N-terminal alan ve sistein açısından zengin üç alan (FS1-3) içerir. Aktivin bağlama bölgesi, N-terminal bölgesi içinde bulunur ve FS1-FS2 alanını kapsar (Hedger, & de Kretser 2013). FST288, hücre yüzeylerindeki heparan-sülfat proteoglikanlarına bağlanmasına izin veren heparin bağlama sekansını içerirken, FST315'in C-terminal uzantısı heparin bağlama bölgesini kapatarak proteinin dolaşıma katılmasına izin verir, ancak bölgenin aktivine bağlandıktan sonra açığa çıkmasıyla FST315 de heparan-sülfat proteoglikanlarına bağlanabilir (De Kretser ve ark., 2012; Hedger, & de Kretser, 2013) (Şekil 7).



Şekil 7. Aktivin ve follistatin arasındaki etkileşimin şematik gösterimi (Hedger, & de Kretser, 2013).

Follistatin ayrıca myostatin, kemik morfogenetik proteinleri-2,5,7,8 (BMPs) ve TGF- β 3 gibi çeşitli yapısal büyüme faktörlerine aktivinlere kıyasla daha düşük afinite ile bağlanabilmekte ve onların etkilerini de düzenleyebilmektedir (Lerch, Shimasaki, Woodruff, & Jandetzky, 2007).

Aktivin A ve daha yakın zamanda keşfedilen aktivin B, enflamatuvar ve fibrotik hastalıklarda önemli teşhis araçları ve terapötik hedefler olarak ortaya çıkmaktadır. Endojen bir aktivin bağlayıcı protein olan follistatin gibi aktivin antagonistleri, enflamatuvar hastalıklarda, sepsis, karaciğer fibrozu, akut akciğer hasarı, astım, yara iyileşmesi ve iskemi-reperfüzyon hasarı gibi çeşitli durumlarda tedavi açısından büyük umut vaat etmektedir (Hedger, & de Kretser, 2013).

Bu bilgiler ışığında aktivin A, aktivin B ve follistatin moleküllerinin bruselloz vakalarındaki olası rolleri ortaya çıkarılarak potansiyel terapötik hedef olarak kullanılabilirliği değerlendirilecektir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Çalışmaya Alınacak Gönüllülerin Belirlenmesi

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı (Tarih: 29.01.2019; Karar no: 2019-2/8) alınmasını takiben, hasta numuneleri toplanmaya başlandı. Mart 2019-Mart 2020 tarihleri arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı poliklinik ve kliniğine başvuran 40 akut (24 erkek, 16 kadın) ve 36 kronik (21 erkek, 15 kadın) bruselloz hastası ve herhangi bir hastalığı olmayan 40 sağlıklı (27 erkek, 13 kadın) birey ile 8 (5 erkek, 3 kadın) bruselloz geçirip iyileşmiş kişi çalışmaya dahil edildi. Tüm hastalara çalışma hakkında bilgi verildi ve onayı alınan hastalar çalışmaya katıldı. Hastaların yaş, cinsiyet, adres, telefon numarası ve laboratuvar sonuçları hasta izlem formuna kaydedildi. Hastalar akut (0-2 ay) ve kronik (>12 ay) semptomların oluşma süresine göre sınıflandırıldı. Ayrıca akut ve kronik hastalar ile bruselloz geçirip iyileşen kişilerden oluşan grup, kemik eklem tutulumu (osteoartiküler) olan (akut:13; kronik:15; iyileşen:3) ve olmayan (akut:27; kronik:21; iyileşen:5) olarak ikiye ayrılacak şekilde incelendi. Ateş, terleme, yorgunluk semptomlarının yanı sıra standart tüp aglütinasyon titresinin 1/160 ve/veya üzerinde olması gibi bir ya da birden fazla belirtinin varlığı ile bruselloz tanısı konuldu. Bruselloz tanımlamasına uyan ve aşağıda belirtilen kriterleri sağlayan hastalar çalışmaya dahil edildi.

Hastaların;

- *18 yaş ve üzerinde olması
- *Gebelik ve laktasyon döneminde olmaması
- *Bruselloz dışında kronik granülomatoz hastalığı olmaması
- *Başka bir enfeksiyöz hastalığı olmaması
- *Otoimmün veya immün kökenli hastalığı olmaması
- *Anemi veya lökopenisi olmaması durumunda çalışmaya dahil edildi.

Sağlıklı kontrol grubunu oluşturacak kişilerin seçiminde, hasta grubu ile uyumlu olması açısından yaş ve cinsiyet dağılımı dikkate alınarak, kan merkezine donör adayı olarak başvuran, bilinen ya da saptanan hastalığı olmayan kişiler dahil edildi.

Çalışmaya katılan tüm gönüllülerin serumlarında immünomodülatör molekül düzeyleri ELISA yöntemi kullanılarak saptandı. Hasta grubunda, rutin kontrolleri sırasında yapılacak tetkikleri için kan alımı sırasında ve kan merkezine kan vermek üzere gelen sağlıklı donörlerden kan alımı sırasında 10 ml periferik kan kuru tüplere alındı ve santrifüjlenip serumları ependorflara aktararak çalışılacağı tarihe kadar -80°C’de muhafaza edildi. Serum aktivin A, aktivin B ve follistatin değerlerinin saptanmasında human ELISA kit kullanım prosedürüne uygun olarak çalışıldı.

3.2. ELISA ile Serum İmmünomodülatör Sitokin Düzeylerinin Saptanması

Ticari amaçla satılan Human ELISA kitlerinde aktivin A, aktivin B ve follistatin (YLBiont, Shanghai, China) için belirtilen prosedürler takip edilerek serum örneklerinde sitokin düzeyi ölçümü yapıldı (Şekil 8). Her bir molekül için kullanılan kitlerin ölçüm duyarlılığı, aktivin A: 0.02 ng/ml; aktivin B: 0.22 ng/ml; follistatin: 0.25 ng/ml şeklinde idi.



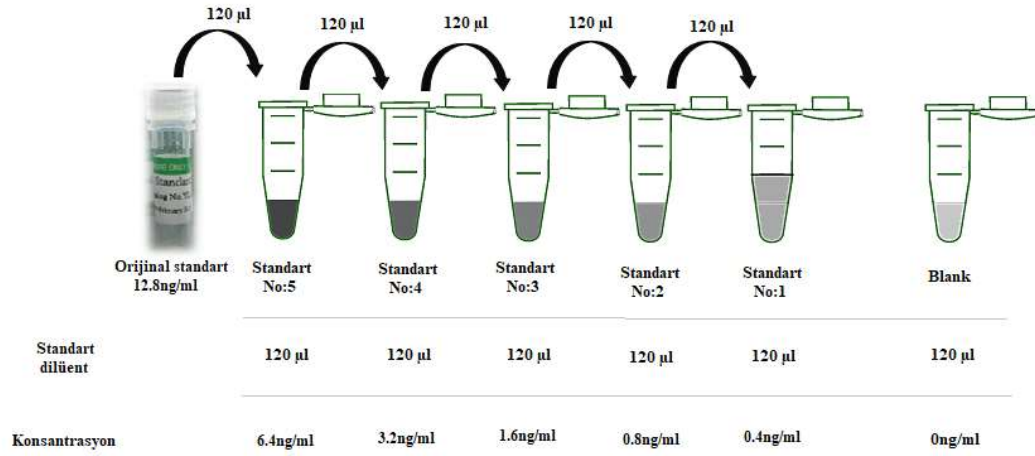
Şekil 8. ELISA kiti reaktifleri

3.2.1. ELISA Protokolü

Tüm immünomodulator moleküller için benzer kantitatif sandviç ELISA basamakları uygulandı.

*Çalışmaya başlamadan önce tüm reaktifler oda ısısına getirildi.

*Her bir kit için çalışma prosedüründeki talimatlara göre standartlar dilüe edildi (Şekil 9).



Şekil 9. Standart solüsyonların hazırlanması.

*Boş kuyulara; sadece kromojen solüsyon A, kromojen solüsyon B ve stop solüsyonları eklendi.

*Standart solüsyon kuyularına; 50'şer µl standart ve 50'şer µl *streptavidin-HRP* (horseradish peroksidaz) eklendi.

*Örnek kuyularına; 40'ar µl serum örneklerinden, 10'ar µl antikorlardan ve 50'şer µl *streptavidin-HRP* ilave edildi.

*Plağın üzerine *seal plate membrane* yapıştırıldı ve hafifçe çalkalandıktan sonra 37°C'de 60 dakika inkübasyona bırakıldı.

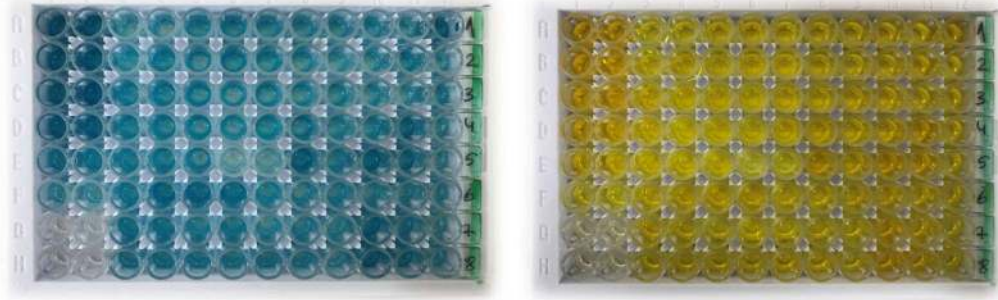
*30X'lık *washing buffer*, distile su ile 1X derişime getirilerek yıkama solüsyonu hazırlandı.

*İnkübasyon sonrası kuyucuklardaki sıvı dökülerek yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkama işlemi gerçekleştirildi.

*Tüm kuyulara sırasıyla 50'şer µl kromojen A solüsyonu ve kromojen B solüsyonu eklendi, 37°C'de 10 dakika inkübasyona bırakıldı.

*Tüm kuyulara 50'şer µl stop solüsyonu eklendi ve renk değişimleri gözlemlendi (Mavi renkten sarı renge dönüşüm gerçekleşti, Şekil 10).

*10 dakika sonra ELISA okuma cihazında (Chromate, U.S.A.) 450 nm'de okutuldu (Şekil 11) .



Şekil 10. ELISA plağında maviden sarıya renk değişimi



Şekil 11. Spektrofotometre cihazında okutma

Konsantrasyonları bilinen standartlardan alınan optik dansite (OD) değerleri ile Excel programında (Microsoft, US) OD konsantrasyon eğri grafikleri oluşturuldu. Her örnek için ölçülen OD değerleri, standart grafikten elde edilen formüle yerleştirilerek konsantrasyonları hesaplandı.

3.3. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS versiyon 21 (Chicago, IL, ABD) paket programı ile gerçekleştirildi. Değerlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemlerle (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri) incelendi. Tanımlayıcı analizler normal dağılıma uyan değişkenler için ortalama ve standart sapmalar olarak, normal dağılıma uymayan veriler için medyan ve minimum/maksimum olarak verildi. Normal dağılıma uyan bağımsız sayısal grupların karşılaştırmasında tek yönlü ANOVA testi kullanılarak karşılaştırıldı. Varyansların homojenliği Levene testi ile değerlendirildi. 0.05'in altındaki p-değerlerinin olduğu durumlar istatistiksel açıdan anlamlı sonuçlar olarak değerlendirildi. Gruplar arasında anlamlı farklılık bulunan durumlarda, ikişerli *post-hoc* karşılaştırmalar Tukey testi kullanılarak yapıldı. Normal dağılıma uymayan sayısal verilerin karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi kullanılarak karşılaştırıldı. İkişerli karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı ve Bonferoni düzeltmesi kullanılarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda yer alan gruplardaki kadın/erkek dağılımı ve ortalama yaşları tablo 3`te gösterilmiştir.

Tablo 3. Çalışma gruplarının demografik özellikleri

	Akut Bruselloz		Kronik Bruselloz		İyileşmiş		Sağlıklı Kontrol	
	n	Yaş	n	Yaş	n	Yaş	n	Yaş
Kadın	16	43,9±14	15	50,6±16,2	3	35,7±13,8	13	47,2±16,8
Erkek	24	44,9±15,5	21	52,5±14,3	5	50,4±11,7	27	49,1±13,1
Toplam	40	44,5 ±14,9	36	51,6±15,2	8	44,8±14,3	40	48,5±14,4

Akut ve kronik hastalar ile iyileşmiş gruplar aynı zamanda kemik eklem tutulumu (osteoartiküler) olan ve olmayanlar şeklinde de ayrıca sınıflandırılmıştır (Tablo 4).

Tablo 4. Kemik eklem tutulumu olan ve olmayan gönüllülerin cinsiyet dağılımı

	Akut Bruselloz		Kronik Bruselloz		İyileşmiş	
	Kemik Eklem Tutulumu (+)	Kemik Eklem Tutulumu (-)	Kemik Eklem Tutulumu (+)	Kemik Eklem Tutulumu (-)	Kemik Eklem Tutulumu (+)	Kemik Eklem Tutulumu (-)
Kadın	6	11	9	6	1	2
Erkek	7	16	6	15	2	3
Toplam	13	27	15	21	3	5

4.1. İmmünmodülatör Molekül Düzeyleri

Serum aktivin A, aktivin B ve follistatin düzeylerini araştırdığımız gönüllüler için elde edilen değerler, her bir çalışma gurubu için ayrı ayrı tablolar halinde aşağıda sunulmuştur (Tablo 5,6,7,8).

Tablo 5. Akut bruselloz hasta grubunda aktivin A, aktivin B ve follistatin düzeyleri

No	Gönüllüler	Aktivin A (ng/ml)	Aktivin B (ng/ml)	Follistatin (ng/ml)
1	F.C	0,44	12,64	38,93
2	N.I	0,59	19,53	50,68
3	N.Ç	0,80	11,65	44,18
4	S.M	0,71	10,15	45,56
5	H.A	0,79	9,06	47,45
6	İ.A	0,78	12,02	66,12
7	A.M	0,93	9,06	51,55
8	R.A	0,82	10,42	56,30
9	S.A	0,49	13,68	46,25
10	K.G	0,80	7,85	46,67
11	F.Ç.K	0,71	14,99	59,53
12	Ş.K	0,69	11,68	42,94
13	H.A	0,74	5,83	46,81
14	B.A	1,13	12,86	182,08
15	G.G	0,83	7,33	49,62
16	N.A	0,84	10,10	80,82
17	R.F	2,05	81,68	232,39
18	H.A.M	0,62	39,63	64,92
19	S.B	0,70	67,31	260,85
20	R.U	0,65	36,54	88,27
21	S.H	0,60	11,93	46,16
22	D.K	1,15	48,64	111,28
23	T.E	0,60	13,16	36,90
24	G.K	0,77	10,54	48,10
25	F.Y	0,85	23,28	82,57
26	L.Ü	0,83	16,02	38,70
27	A.M	0,49	24,30	48,88
28	İ.Y	0,56	43,19	132,54
29	M.K	0,14	1,46	19,57
30	H.Y	1,05	48,69	121,51
31	E.K	0,82	6,25	41,83
32	Y.K	0,72	9,48	39,89
33	R.Ö	0,70	16,62	53,81
34	Y.Y	0,67	11,11	33,76
35	O.K	0,65	17,56	41,05
36	S.A.E	0,71	9,68	58,88
37	M.A	0,28	11,93	53,49
38	H.Ö	0,70	15,33	43,72
39	İ.Y	0,55	7,43	36,94
40	Y.G	0,94	9,04	32,94

Tablo 6. Kronik bruselloz hasta grubunda aktivin A, aktivin B ve follistatin düzeyleri

No	Gönüllüler	Aktivin A (ng/ml)	Aktivin B (ng/ml)	Follistatin (ng/ml)
1	Ş.B	0,73	16,15	61,05
2	A.T	0,68	12,37	49,53
3	K.C	0,61	18,32	41,88
4	F.D	0,91	15,43	49,34
5	Ş.A	1,39	13,53	47,22
6	H.T	0,69	10,86	49,62
7	Ş.T	0,67	1,36	22,24
8	H.K	0,97	11,41	49,16
9	N.O	0,66	8,02	41,69
10	İ.E	1,07	67,01	172,32
11	H.K	0,74	12,99	46,12
12	Y.G	0,69	12,69	41,74
13	A.G	0,76	10,10	35,88
14	H.B	0,73	35,14	111,74
15	Ü.S	0,62	67,01	245,27
16	G.A	0,55	12,91	49,85
17	A.D	0,75	15,33	47,68
18	F.T	0,63	43,19	90,86
19	N.E	0,70	11,16	39,48
20	H.K	0,82	7,04	38,19
21	U.T	1,51	27,90	96,02
22	Y.A	0,76	11,31	62,38
23	H.K	1,48	7,23	49,06
24	M.A	1,61	9,93	47,59
25	Ö.C	0,62	9,65	59,20
26	K.K	1,07	15,26	53,81
27	H.Ç	0,56	14,89	45,98
28	H.D	1,48	12,81	47,64
29	N.P	1,31	10,00	62,43
30	C.Ö	0,71	17,31	52,01
31	Y.G	1,02	47,09	109,34
32	İ.Ç	1,47	49,68	224,05
33	F.B	1,57	7,93	63,40
34	O.K	0,64	14,96	42,94
35	A.İ.Ö	0,92	10,69	52,20
36	S.A	0,66	12,77	54,92

Tablo 7. Sağlıklı kontrol grubunda aktivin A, aktivin B ve follistatin düzeyleri

No	Gönüllüler	Aktivin A (ng/ml)	Aktivin B (ng/ml)	Follistatin (ng/ml)
1	H.C	0,58	61,78	314,47
2	B.K	0,70	3,63	48,05
3	F.D	0,54	68,40	315,78
4	D.G	0,73	81,60	241,14
5	F.D	2,51	12,08	55,98
6	E.K	2,31	37,21	118,37
7	M.K	3,17	14,04	35,15
8	S.K	2,76	64,78	312,97
9	Ö.K	3,95	59,54	258,98
10	T.S	4,75	17,58	55,10
11	E.B	5,05	44,48	124,96
12	M.A.K	4,00	64,43	304,52
13	E.A	2,16	67,88	310,43
14	Z.K	2,66	29,28	76,12
15	O.A	9,70	24,59	64,32
16	C.Y	12,10	14,30	40,17
17	R.T	2,70	12,73	31,37
18	H.A	3,83	17,97	59,62
19	R.A	3,04	14,15	34,09
20	R.C	2,35	20,70	51,92
21	B.O	12,71	61,29	228,93
22	Ş.B	5,96	28,76	69,16
23	İ.A	2,97	16,44	41,09
24	H.D	11,18	51,47	239,73
25	F.A	4,26	14,65	39,94
26	M.Ö	3,08	13,36	43,26
27	H.D	3,38	15,96	49,57
28	M.K	4,30	20,05	58,60
29	A.K	2,24	14,00	49,76
30	Y.Y	12,75	58,58	299,54
31	N.D	13,27	65,18	269,02
32	Ö.U	2,80	13,93	28,10
33	Z.A	2,90	16,79	32,84
34	D.G.K	4,47	16,64	33,21
35	Ö.A	12,12	65,00	271,28
36	E.A	5,14	20,02	42,15
37	Z.A	4,52	14,65	49,89
38	A.R.G	5,17	12,95	91,65
39	E.T	4,29	13,58	35,65
40	M.K	5,34	65,90	194,47

Tablo 8. İyileşmiş grupta Aktivin A, Aktivin B ve Follistatin düzeyleri

No	Gönüllüler	Aktivin A (ng/ml)	Aktivin B (ng/ml)	Follistatin (ng/ml)
1	H.A	2,56	17,95	55,70
2	N.K	2,89	16,66	60,49
3	H.A	3,06	18,95	45,93
4	S.A	3,98	17,93	50,22
5	N.Ç	3,84	20,90	40,22
6	M.U	4,03	20,31	41,74
7	N.A	6,61	38,80	108,56
8	E.S	10,71	57,93	315,88

4.2. İmmünmodülatör Molekül Düzeylerinin Karşılaştırılması

Hasta ve kontrol gruplarında ölçülen serum düzeylerinin gruplara göre dağılımları Tablo 9`da gösterilmektedir.

Tablo 9. Aktivin A, Aktivin B ve Follistatin moleküllerinin gruplara göre dağılımları

	Aktivin A				Aktivin B				Follistatin			
	Ortalama±SH	Medyan	Minimum	Maksimum	Ortalama±SH	Medyan	Minimum	Maksimum	Ortalama±SH	Medyan	Minimum	Maksimum
Akut	0,7±0	0,7	0,1	2,1	19±2,7	12	1,5	81,7	68,1±8,2	48,5	19,6	260,9
Kronik	0,9±0,1	0,7	0,6	1,6	18,9±2,7	12,7	1,4	67	68,2±8,2	49,6	22,2	245,3
İyileşmiş	4,7±1	3,9	2,6	10,7	26,2±5,2	19,6	16,6	57,9	89,8±33,2	52,9	40,2	315,8
Sağlıklı	4,8±0,6	3,9	0,5	13,3	33,3±3,7	20	3,6	81,6	125,5±17,1	59,1	28,1	315,7

Akut ve kronik hasta gruplarında aktivin A molekülünün hem ortalama değerleri hem de medyan değerlerinin birbirine yakın olduğu görülmüştür. Aynı zamanda iyileşmiş ve sağlıklı kontrol gruplarındaki ortalama ve medyan değerleri de birbirine yakındır. Hasta gruplarında elde edilen maksimum aktivin A düzeyleri, iyileşmiş grubun minimum düzeyinden çok daha düşük olarak kaydedilmiştir. Aktivin A`da

olduğu gibi aktivin B molekülünün de akut ve kronik hasta grupları arasında benzer düzeylerde seyrettiği görülmüştür. İyileşmiş ve sağlıklı kontrol grubu arasında birbirine çok yakın aktivin B medyan değerleri saptanmıştır. Tüm gruplarda follistatin medyan değerlerinin birbirine yakın olduğu kaydedilmiştir.

Serum aktivin A, aktivin B ve follistatin moleküllerine ait değerlerin gruplara göre istatistiksel açıdan karşılaştırılmaları tablo 10 ve tablo 11’de gösterilmektedir.

Tablo 10. Gruplar arasında aktivin A, aktivin B ve follistatin moleküllerinin istatistiksel açıdan karşılaştırılmaları

	Aktivin A	Aktivin B	Follistatin
Akut-sağlıklı	*	*	
Kronik-sağlıklı	*	*	
İyileşmiş-sağlıklı			
Akut-kronik			
İyileşmiş-kronik	*	*	
Akut-iyileşmiş	*	*	

*: p<0,05

Aktivin ailesi üyesi olan aktivin A ve aktivin B moleküllerinin serum düzeyleri gruplar arasında karşılaştırıldığında, her iki molekülünde birbirine benzer şekilde hareket ettiği görülmektedir. Hem aktivin A, hem de aktivin B molekülünün serum düzeyleri, bruselloz geçirip iyileşen grup ile sağlıklı kontrol grubunda benzer seviyelerde seyreder. Aynı zamanda her iki molekül, akut hasta ve kronik hasta grupları arasında birbirine yakın serum düzeylerine sahiptir ve gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmamaktadır. Hasta gruplarındaki aktivin A ve aktivin B düzeyleri, iyileşmiş ve sağlıklı kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede azalmıştır.

Aktivinlerin biyolojik aktivitelerini engelleyebilme kabiliyetine sahip olan follistatin molekülünün, çalışmamızda yer alan gruplarda benzer serum seviyeleri gösterdiği tespit edildi ve gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilemedi.

Tablo 11. Aktivin A, Aktivin B ve Follistatin moleküllerinin kemik eklem tutulumu (KET) açısından karşılaştırılmaları

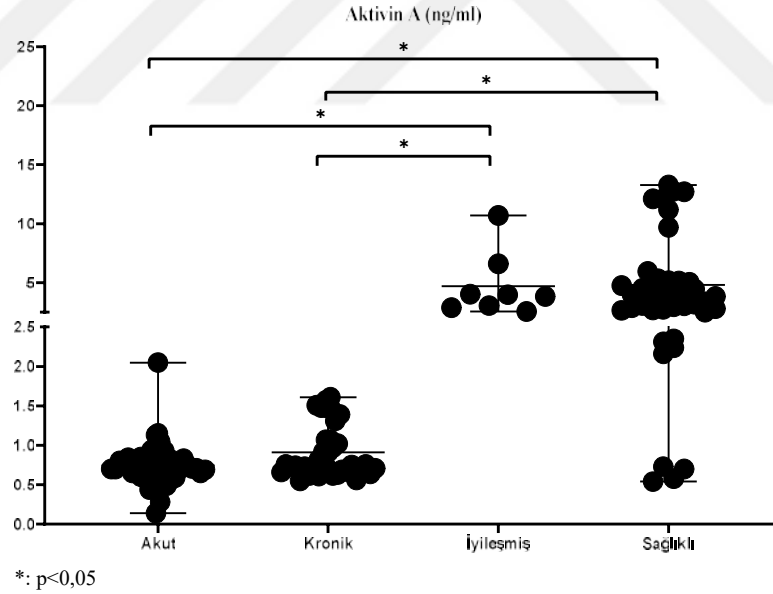
	Aktivin A	Aktivin B	Follistatin
KET (+) Akut-sağlıklı	*	*	
KET (-) Akut-sağlıklı	*	*	
KET (+) Kronik-sağlıklı	*	*	
KET (-) Kronik-sağlıklı	*	*	
KET (+) İyileşmiş-sağlıklı			
KET (-) İyileşmiş-sağlıklı			
KET (+) Akut-kronik			
KET (-) Akut-kronik			
KET (+) Akut-iyileşmiş	*		
KET (-) Akut-iyileşmiş	*	*	
KET (+) Kronik-iyileşmiş	*	*	
KET (-) Kronik-iyileşmiş	*	*	

*: p<0,05

Akut hastalar, kronik hastalar ve iyileşmiş grupta yer alan kişiler kemik eklem tutulumu açısından ikiye ayrılarak aralarındaki serum aktivin A, aktivin B ve follistatin molekül düzeyleri açısından karşılaştırılmıştır. Kemik eklem tutulumu olan akut-sağlıklı kontrol grubu ile kemik eklem tutulumu olmayan akut-sağlıklı kontrol grupları arasında aktivin A ve aktivin B molekülleri için istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklar gözlenmiştir. Sağlıklı kontrol grubundaki aktivin A ve aktivin B seviyeleri, hem kemik eklem tutulumu olan kronik hasta grubu ile hem de kemik eklem tutulumu olmayan kronik hasta grubundaki düzeylerle karşılaştırıldığında her iki grup arasında da anlamlı farklılıklar kaydedilmiştir. Kemik eklem tutulumu olan akut hasta grubu ile iyileşmiş grup arasında aktivin A molekülü için anlamlı farklılık görülürken, aktivin B molekülü için bu gruplar arasında anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir. Kemik eklem tutulumu olmayan iyileşmiş gruptaki aktivin A ve aktivin B molekül seviyeleri, kemik eklem tutulumları olmayan akut ve kronik hasta grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklar tespit edilmiştir. Kemik eklem tutulumu görülen kronik ve iyileşmiş gruplar arasında da aktivin A ve aktivin B molekül seviyelerinde anlamlı farklar mevcuttur. Kemik eklem tutulumu olan ve olmayan iyileşmiş gruplar sağlıklı kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı farkın olmadığı görülmüştür. Bununla birlikte kemik eklem tutulumu olan ve olmayan akut-kronik hasta grupları arasında da anlamlı fark bulunamamıştır. Follistatin molekülü için yapılan tüm grup karşılaştırmalarında anlamlı bir fark saptanamamıştır.

4.2.1. Aktivin A Düzeyleri

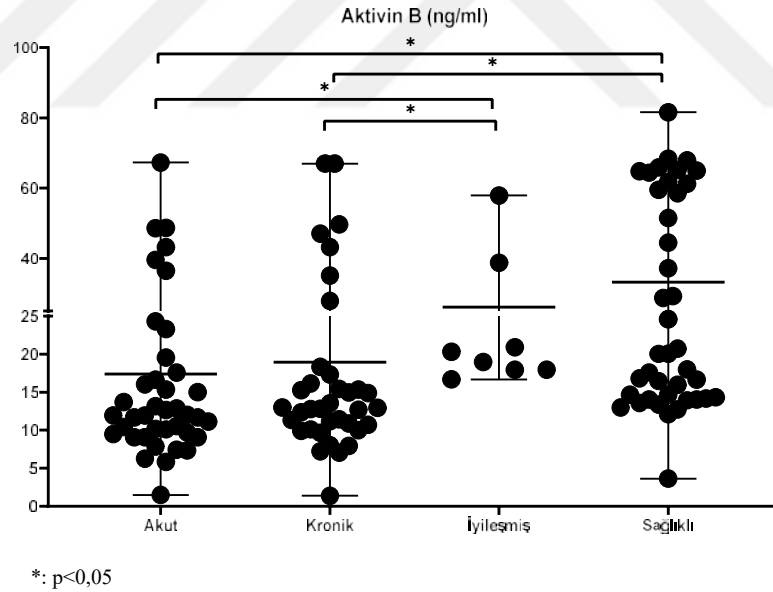
İstatistiksel analizler sonucunda aktivin A düzeyi için akut-sağlıklı kontrol ($p:0,001$), kronik-sağlıklı kontrol ($p:0,001$), akut-iyileşmiş ($p:0,001$) ve kronik-iyileşmiş ($p:0,001$) grupları arasında anlamlı farklılıklar saptanmıştır (Şekil 12). Hasta gruplarında ölçülen değerler, sağlıklı kontrol ve iyileşmiş gruba kıyasla daha düşük bulunmuştur. Akut-kronik ($p:0,109$) ve sağlıklı kontrol-iyileşmiş ($p:0,825$) grupları arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Akut grupta aktivin A düzeyinin ortalaması ($\text{Ortalama}_{\text{akut}}: 0,7 \pm 0$), kronik gruptaki değerlerin ortalamasından ($\text{Ortalama}_{\text{kronik}}: 0,9 \pm 0,1$) daha düşüktür. Sağlıklı kontrol ve iyileşmiş grupların ortalaması hasta gruplarından yaklaşık dört kat daha yüksek değerlere sahiptir ($\text{Ortalama}_{\text{sağlıklı}}: 4,8 \pm 0,6$; $\text{Ortalama}_{\text{iyileşmiş}}: 4,7 \pm 1$).



Şekil 12. Gruplara göre aktivin A düzeylerinin dağılımı

4.2.2. Aktivin B Düzeyleri

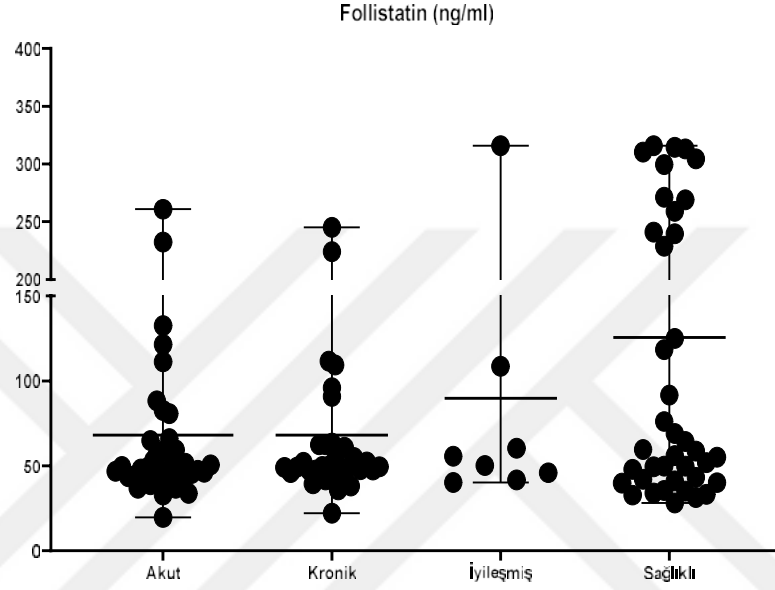
Aktivin B düzeyi açısından akut-sağlıklı kontrol ($p:0,001$), kronik-sağlıklı kontrol ($p:0,001$), akut-iyileşmiş ($p:0,010$) ve kronik-iyileşmiş ($p:0,006$) grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklar saptanmıştır (Şekil 13). Sağlıklı kontrol ve iyileşmiş gruba kıyasla akut ve kronik hasta gruplarında daha düşük aktivin B düzeyi bulunmuştur. Aktivin A'da görüldüğü gibi aktivin B düzeyleri için de akut-kronik ($p:0,643$) ve sağlıklı kontrol-iyileşmiş ($p:0,825$) grupları arasında anlamlı farklar saptanmamıştır. Akut grupta aktivin B düzeyinin ortalaması ile ($\text{Ortalama}_{\text{akut}}: 19 \pm 2,7$) kronik gruptaki değerlerin ortalamasının ($\text{Ortalama}_{\text{kronik}}: 18,9 \pm 2,7$) birbirine çok yakın olduğu görülmüştür. Sağlıklı kontrol grubunda elde edilen değerler, iyileşmiş gruba göre daha yüksektir ($\text{Ortalama}_{\text{sağlıklı}}: 33,3 \pm 3,7$; $\text{Ortalama}_{\text{iyileşmiş}}: 26,2 \pm 5,2$).



Şekil 13. Gruplara göre aktivin B düzeylerinin dağılımı

4.2.3. Follistatin Düzeyleri

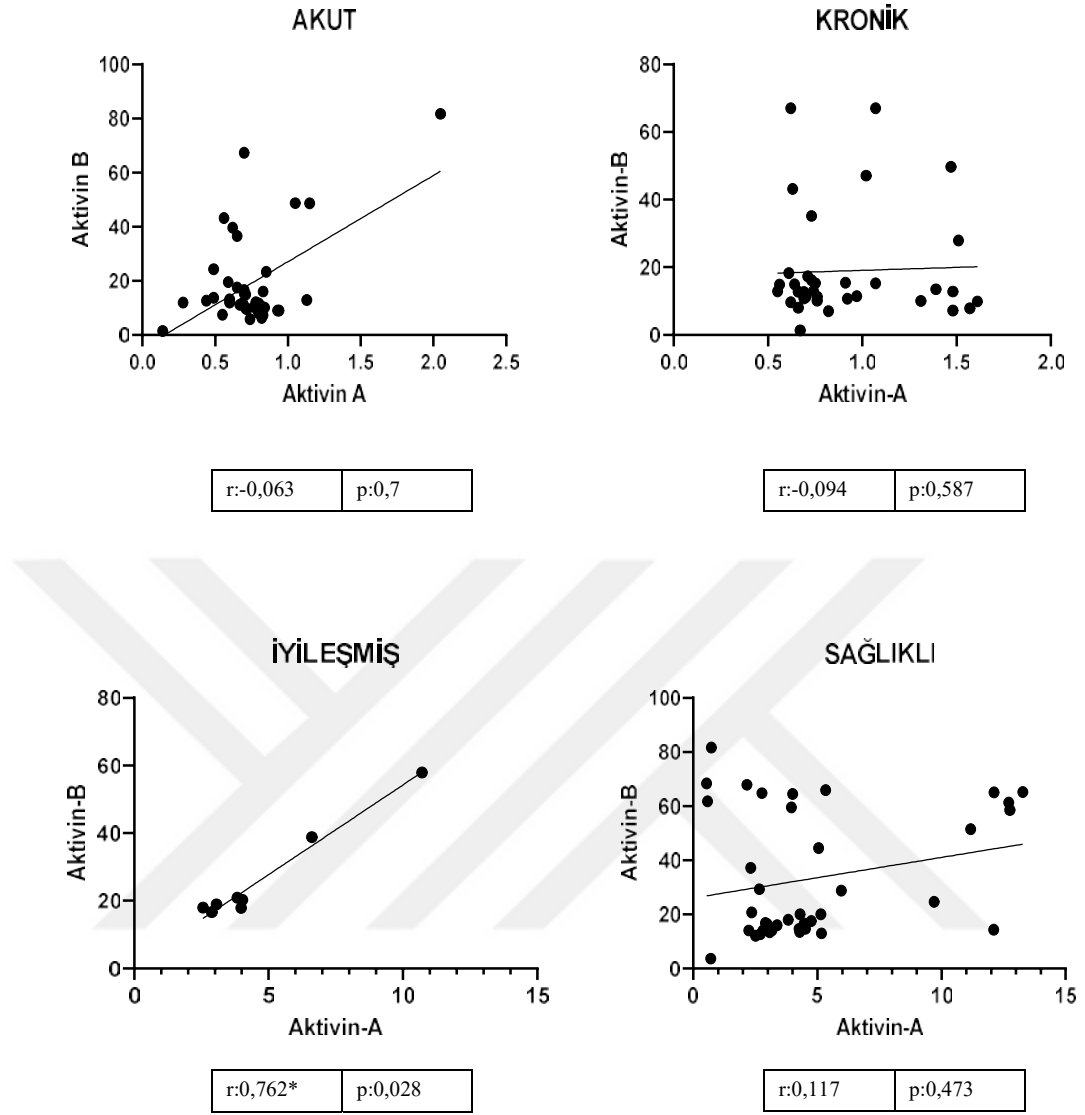
Follistatin molekülü için yapılan istatistiksel analizler sonucunda gruplar arasında anlamlı fark görülmemiştir (Şekil 14).



Şekil 14. Gruplara göre follistatin düzeylerinin dağılımı

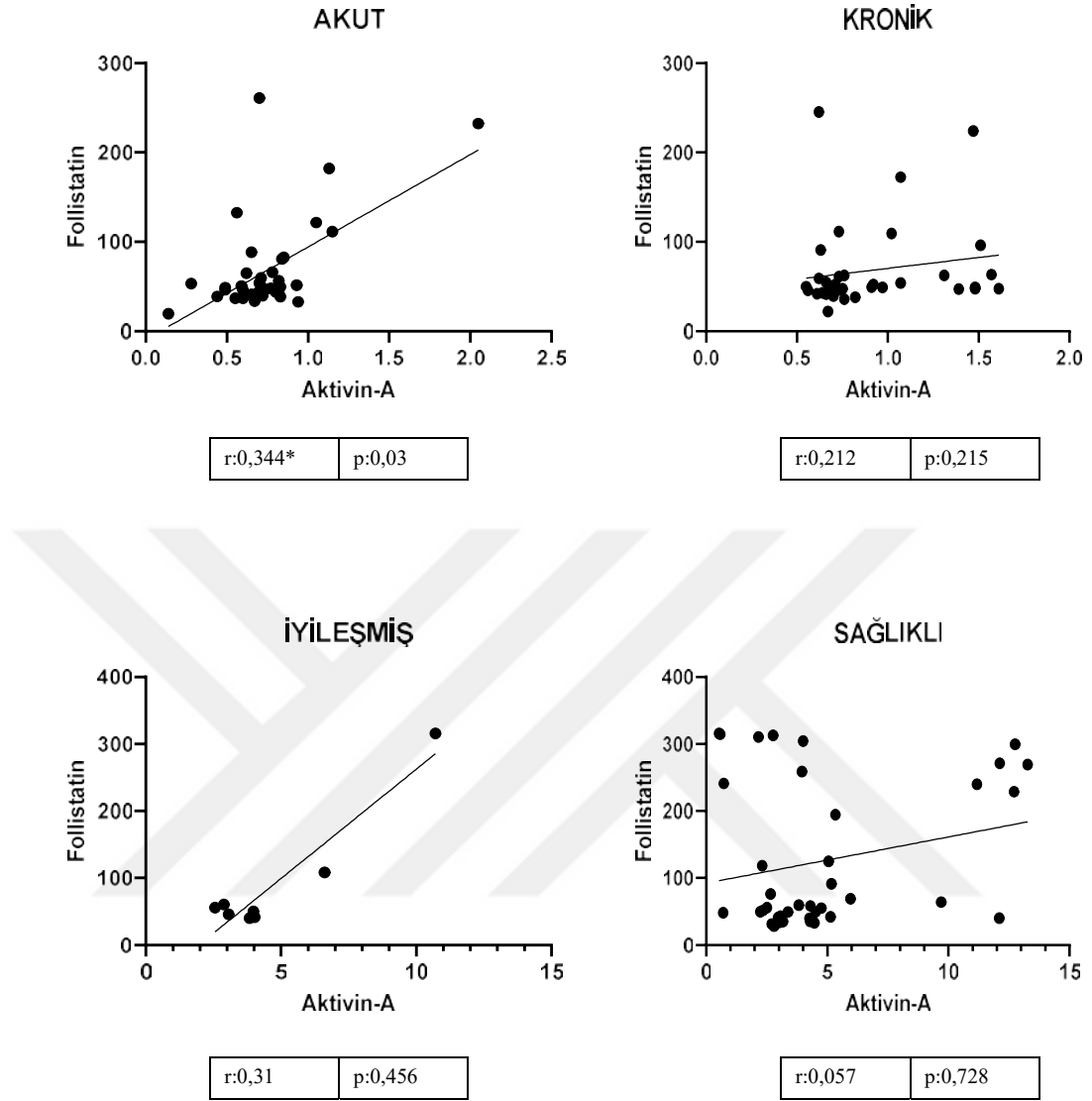
4.2.4. İmmünomodülatör Moleküllerde Korelasyon

Aktivin A, aktivin B ve follistatin molekülleri arasında anlamlı bir ilişkinin olup olmadığını göstermek amacıyla tüm gruplarda Spearman korelasyon testi kullanılmıştır. Korelasyon testi sonucunda elde edilen verilere ait grafikler şekil 15,16 ve 17'de gösterilmiştir.



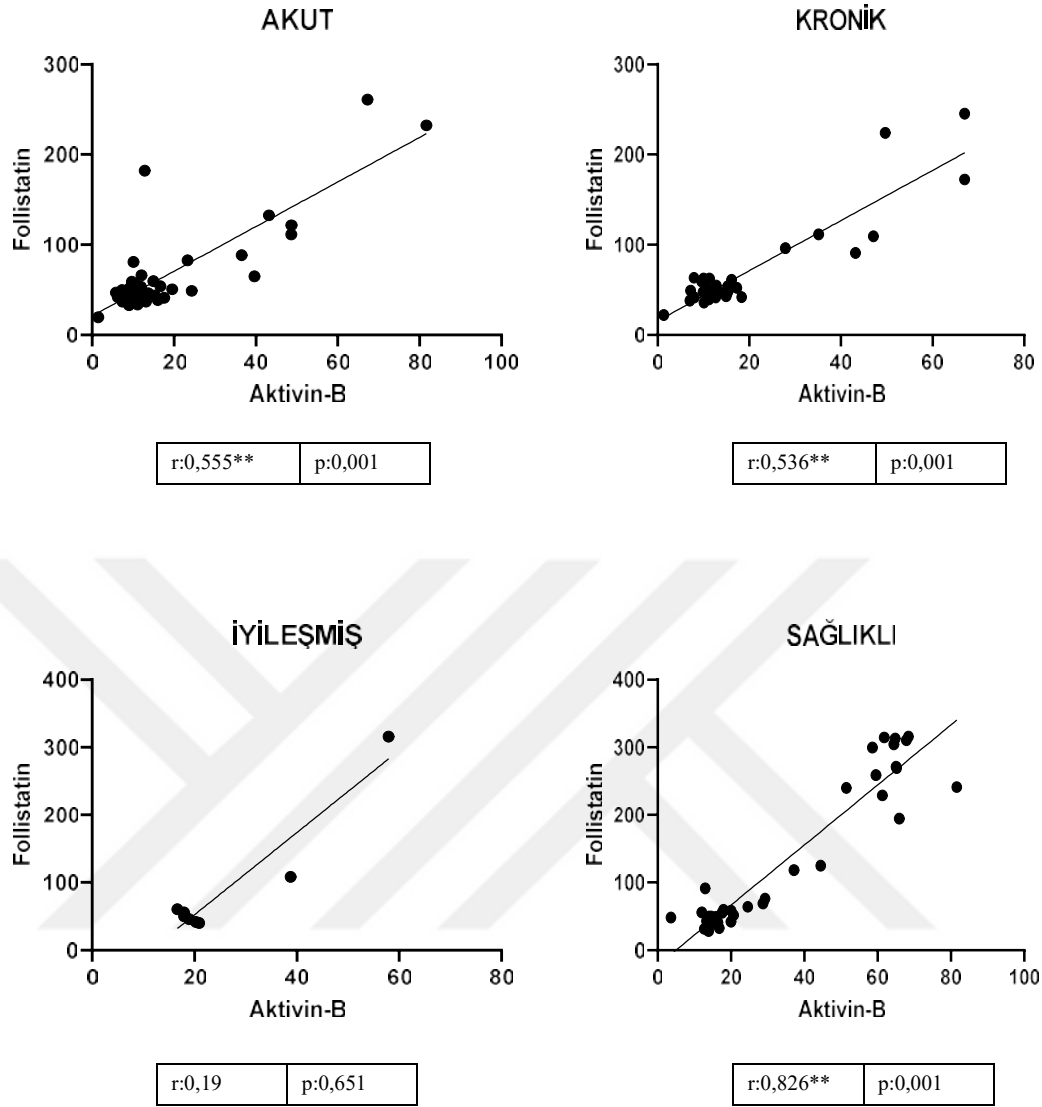
Şekil 15. Aktivin A ve aktivin B moleküllerine ait korelasyon grafikleri

Aktivin A ve aktivin B molekülleri için yapılan korelasyon analizlerine ait veriler incelendiğinde sadece iyileşmiş grupta ($p:0,028$) anlamlı korelasyonun olduğu görülmektedir ve korelasyon katsayısı ise 0,762`dir.



Şekil 16. Aktivin A ve follistatin moleküllerine ait korelasyon grafikleri

Aktivin A ve follistatin molekülleri için tüm gruplarda incelenen korelasyon analizlerine ait veriler yorumlandığında sadece akut grupta ($p:0,03$) anlamlı korelasyon saptanmıştır ve bu grupta korelasyon katsayısı 0,344 olarak bulunmuştur.



Şekil 17. Aktivin B ve follistatin moleküllerine ait korelasyon grafikleri

Aktivin B ve follistatin molekülleri için tüm çalışma gruplarında korelasyon analizleri değerlendirilmiştir. Akut ($p:0,001$), kronik ($p:0,001$) ve sağlıklı kontrol grubunda ($p:0,001$) anlamlı korelasyonların olduğu görülmüştür. Bu gruplarda ki korelasyon katsayıları sırasıyla 0,555, 0,536 ve 0,826'dır.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bruselloz, *Brucella* türü bakteriler tarafında koyun keçi, sığır gibi hayvanlarda enfeksiyona yol açabilen ve bu hayvanlardan çeşitli yollarla insanlara bulaşabilen morbitidesi yüksek bir enfeksiyon hastalığıdır. İlk bruselloz vakalarının M.Ö. dönemde yaşadığını gösteren çalışmalar mevcuttur. İnsanlarda hafif belirtilerden ağır tablolara kadar uzanan klinik tablolar oluşturabilme yeteneğine sahiptir. Hastalığın belirti ve bulguları spesifik olmamakla birlikte birçok hastalığı taklit edebilmektedir. Bruselloz gelişmiş ülkelerin çoğunda eradike edilmiş olsa da gelişmekte olan ülkelerde hala devam etmektedir. Ülkemizde de brusellozun ortadan kaldırılmasına yönelik eradikasyon projeleri mevcuttur. 2002-2004 yıllarından sonra vaka sayısında azalma meydana gelmesine rağmen tamamen temizlenmiş değildir ve günümüzde hala ciddiyetini korumaktadır. *Brucella* bakterileri konak immün savunmasından kaçmak için çok çeşitli stratejiler geliştirmiştir. Diğer gram negatif bakterilerde olduğu gibi klasik virülans faktörleri barındırmaz fakat sahip olduğu ve ürettiği birçok biyolojik materyal ile immün sistemi harekete geçirmeden konak hücrelerde replike olabilmek yeteneğine sahiptir. İmmün sistem tarafından bakterinin yok edilmesine yönelik olan adımları baskılayabilmektedir.

İmmün sistem, konağı tehlikeye sokabilecek her durumda konağın korunması ve tehlikenin ortadan kaldırılması için çeşitli stratejiler geliştirmiştir. Çok sayıda moleküllerin üretimini sağlayarak hücreler arasında iletişimi sağlayabilmekte ve aynı zamanda engelleyebilmektedir. Bu üretilen moleküller anti-enflamatuvar ya da pro-enflamatuvar özellikler gösterebilmektedir. Anti-enflamatuvar ve pro-enflamatuvar yanıtlar için çeşitli moleküller üretilmekte ve bu üretim immün yanıt durumunda belli aşamalarda bir denge içerisinde gerçekleşmektedir. Brusellozda ortaya çıkan akut enfeksiyon ve kronik enfeksiyon gibi farklı klinik durumların altında yatan immünolojik mekanizmaların aydınlatılması amacıyla çalışmamızda aktivin A, aktivin B ve follistatin molekülleri araştırılmıştır. Bu moleküllerin bruselloz patogenezindeki

rollerinin ortaya konulmasıyla hastalığın tanı, tedavi ve izlemine olası katkıları değerlendirilecektir.

TGF- β ailesi üyesi olan aktivinler, başlangıçta hipofizden folikül uyarıcı hormon (FSH) salınımını endükleyen bir faktör olarak keşfedilmiştir. Ancak günümüzde çeşitli hücrelerin proliferasyonunda, farklılaşmasında ve apoptozunda önemli roller üstlendiği gösterilmiştir. Aktivinlerin vücuttaki işlevlerini düzenleyen en önemli faktör, diğer adı ‘aktivin bağlayıcı protein’ olan “follistatin”dir ve ilk olarak folikül sıvısında, hipofizden FSH salınımını düzenleyen bir protein olarak tanımlanmıştır (Kim, Lee, & Shin, 2020; Köken, & Öz Oyar, 2020; Morianos, Papadopoulou, Semitekolou, & Xanthou, 2019). Follistatin, aktivine yüksek afinite ile bağlanarak aktivinin kendi reseptörlerine bağlanmasını geri dönüşümsüz olarak engeller. Follistatin tarafından bağlanan aktivin, endositoz ile hücre içine alınır ve ardından lizozomlarda proteolize uğrar (Köken, & Öz Oyar, 2020). Aktivin ve follistatin arasındaki etkileşim enflamatuvar süreçler, anjiyogenez, yara iyileşmesi ve akut ve kronik enfeksiyon süreçlerin sağlıklı bir şekilde sürdürülebilmesi açısından önemlidir (Kim ve ark., 2020). Aktivinin, hücre proliferasyonunun inhibisyonu, apoptozun güçlendirilmesi, hücre adezyon protein seviyelerinin artırılması ve anjiyogenezin inhibisyonu gibi çeşitli biyolojik fonksiyonlara sahip olması nedeniyle, kanser ilerlemesi ve metastaza karşı engelleyici roller üstlenebileceği ileri sürülmüştür (Chen, Lui, Lin, Lee, & Ying, 2002).

Aktivin ve follistatin moleküllerinin etkileşim içerisinde olmaları, yapılan çalışmalarda bu moleküllerin birlikte kullanımını teşvik etmiştir. Enfeksiyon hastalıklarında aktivin B'nin rolünü araştıran çok az sayıda yayın mevcuttur. Aktivinler hem anti-enflamatuvar hem de pro-enflamatuvar yanıtlar oluşturabilme yeteneğine sahiptir. Follistatinler ise aktivinlere bağlanarak onların biyolojik etkilerini ortadan kaldıracılabilmektedirler. Bu nedenle çalışmamızda aktivin A, aktivin B ve follistatin moleküllerinin bruselloz patogenezindeki rollerinin belirlenmesi ve tanısal ve prognostik değerlerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

Tavşan menenjit modelinde merkezi sinir sistemindeki (MSS) aktivin yanıtları araştırılmıştır. Streptococcus pneumoniae ile intrasisternal aşılamanın ardından beyin omurilik sıvısında (BOS) aktivin seviyeleri ilk 12 saat boyunca değişmezken sonrasında kademeli olarak yükselmiş ve düzeyler 24 saat içinde yaklaşık 15 kat

artmıştır. Menenjitik beyinlerdeki artan aktivin A seviyelerinin büyük olasılıkla aktif mikrogliya ve infiltrate makrofajlardan kaynaklandığı öne sürülmüştür (Michel, Gerber, O'Connor, Bunkowski, Brück, Nau, & Phillips, 2004). N- *myc* onkogeninin anjiyogenez inhibitörleri üzerindeki etkilerini araştıran bir çalışmada, N- *myc* onkogeni içeren bir vektör ile transfekte edilmiş insan nöroblastoma hücreleriyle, normal bir N-*myc* ekspresyonuna sahip hücre grupları karşılaştırılmıştır. Fonksiyonel bir N- *myc* onkogenini barındıran hücrelerin, 100 kat arttırılmış bir N-*myc* ekspresyonu sergilediği ve aktivin A dahil olmak üzere endotel hücre büyüme inhibitörlerini sentezleme yeteneklerini kaybettiği veya ciddi şekilde azalttığı görülmüştür (Breit, Ashman, Wilting, Rössler, Hatzi, Fotsis, & Schweigerer, 2000). Panopoulou ve diğerlerinin (2005) yaptığı bir çalışmada ise, N- *myc* onkogeni tarafından aşağı regüle edilmeyen sitomegalovirüs promotörü kullanılmış ve transfeksiyon sonrasında N- *myc* onkogeninin yüksek seviyelerini eksprese eden nöroblastoma hücrelerinde aktivin A ekspresyonu geri kazandırılmıştır.

Aktivin A ekspresyonuna sahip nöroblastoma hücreleri, azalmış proliferasyon hızına ve daha az vaskülariteye sahip daha küçük ksenograft tümörler oluştururken, akciğer metastaz hızında değişiklik görülmemiştir. Androjene duyarlı prostat kanseri hücre hattı LNCAP'nin kullanıldığı bir çalışmada çeşitli miktarlarda insan rekombinant aktivin A kültüre eklenmiş ve hücre gelişimleri değerlendirilmiştir. Aktivin A'nın zaman ve doza bağımlı bir şekilde hücre proliferasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Zhang, Zhao, Batres, Lin, & Ying, 1997). İnsan rinovirüs (HRV) enfeksiyonunda solunum yolu epitel hücrelerinin, büyüme faktörlerinin üretimindeki rolleri araştırılmıştır. Kültüre alınan insan solunum yolu epitel hücreleri, HRV ile enfekte edilmiş ve aktivin A protein seviyeleri ELISA ile belirlenmiştir. Kontrol grubuna kıyasla HRV enfekte hücrelerde aktivin A seviyelerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Leigh ve ark., 2008). Çalışmamızda aktivin A düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna kıyasla hasta gruplarında anlamlı derecede azalmıştır. Bruselloz geçirip iyileşen bireylerden oluşan gruptaki serum aktivin A düzeyleri sağlıklı gruptaki değerlere yakın bulunmuştur. Akut ya da kronik tablo farketmeksizin her iki hastalık durumunda da aktivin A molekülünün seviyeleri birbirine çok yakındır. Bruselloz enfeksiyonu durumunda aktivin A'nın baskılanarak düzeylerinin azaldığı ve hastalar iyileştikçe baskılanmanın ortadan kalkarak normal seviyelere ulaştığı görülmektedir.

Bu bilgiler ışığında aktivin A molekülünün bruselloz enfeksiyonlarında pro-enflamatuvar özellik gösterme eğiliminde olduğunu ancak *Brucella* bakterileri tarafından bu etkinin inhibe edildiği düşünülmektedir.

Adipoz kökenli kök hücreler (ADSC'ler) ile aktivin B'nin kombinasyon halinde kullanımının terapötik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, aktivin B'nin in vitro aktin stres lifi oluşumunu endükleyerek ADSC göçünü desteklediği gösterilmiştir. Bu kombine tedavinin ayrıca fibroblast ve keratinosit proliferasyonunu teşvik ettiği ve yeniden epitelizasyonu hızlandırdığı aynı zamanda yara bölgesinde anjiyogenezi artırdığı da gösterilmiştir (Zhang ve ark., 2017). Fareler üzerinde epitelyal yara iyileşmesinde aktivin B'nin rolü araştırılmıştır. Farklı tedavilerden sonra yara iyileşme süreci izlenmiş ve aktivin B uygulaması yapılan yaralı ciltte keratinositlerin ve kıl folikül hücrelerinin çoğalması etkin bir şekilde uyarılmış aynı zamanda yara kapanmasını desteklemiştir. Aktivin B uygulamasından önce veya tek başına follistatin uygulaması, aktivin B'nin sağladığı yara iyileşme oranını geciktirmiştir (Zhang ve ark., 2011).

Enfeksiyon anemisinin oluşmasında rol oynayan, demir düzenleyici peptit hepsidinin aşırı üretimine yol açan mekanizmalar araştırılmıştır. Çalışma sonucunda aktivin B'nin, enflamasyon yoluyla hepsidinin artışında önemli bir rol üstlendiği gösterilmiştir (Besson-Fournier, Latour, Kautz, Bertrand, Ganz, Roth, & Coppin, 2012). Bakteriyal enfeksiyon durumlarında aktivin B'nin hastalık patogenezindeki rolleri üzerinde yapılan çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Gerçekleştirdiğimiz bu çalışma, *Brucella* bakterisine bağlı olarak oluşan bruselloz enfeksiyonu durumlarında aktivin B molekülünün potansiyel rollerini ortaya koyan ilk çalışmadır. Aktivin A molekülünde olduğu gibi aktivin B molekülü için de bruselloz enfeksiyonlarında benzer biyolojik süreçlerin meydana geldiği düşünülmektedir. Akut ve kronik bruselloz gruplarında birbirine yakın serum aktivin B düzeyleri görülmüştür ve sağlıklı kontrol ve iyileşmiş gruba kıyasla anlamlı derecede azalmıştır. Hastaların iyileşmesine bağlı olarak aktivin B düzeyleri artmış ve sağlıklı gruptaki değerlere ulaşmıştır. Aktivin B molekülünün de *Brucella* bakterisinin yol açtığı enfeksiyon süreçlerinde pro-enflamatuvar aktivite sergileme eğiliminde olduğu ancak bakterinin konakta immün savumasından kaçabilmek için aktivin B molekülünün üretimini engellediği varsayılmaktadır.

Koyunlarda lipopolisakkarit enjeksiyonunu takiben dolaşımdaki aktivin A düzeyleri incelenmiş ve ilk 1 saat içerisinde aktivin A'nın dolaşıma salındığı gösterilmiştir. TNF- α , ve IL-6 gibi diğer önemli enflamatuvar sitokinlerin salınması aktivin A'dan sonra gerçekleşmiştir. Dolaşıma follistatin salınımı, aktivin A'nın pik yaptığı saatten yaklaşık 4 saat sonra meydana gelmiş ve lipopolisakkarit uygulamasından itibaren 24 saat boyunca devam ettiği gösterilmiştir (Jones ve ark., 2000). Farelere LPS'nin enjekte edildiği bir çalışmada ise koyunlarda görüldüğü gibi aktivin A hızlıca yükselmeye başlamış ancak uygulamanın 3-8 saatlik diliminde ikincil bir artış meydana geldiği tespit edilmiştir. Serum follistatin seviyeleri yaklaşık 3. ve 4. saatlerde artmaya başlarken 6. saatte pik yapmış ve en az 24 saat yüksek seviyelerde kalmaya devam etmiştir (Jones ve ark., 2007).

Septisemi teşhisi konan hastaların serumlarında follistatin, aktivin ve C-reaktif protein (CRP) seviyelerinin genellikle birbirine paralel bir şekilde yükseldiği gösterilmiştir (Michel, Ebert, Phillips, & Nau 2003). Finlandiya'da yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan H1N1 (domuz gribi virüsü) virüsü ile enfekte ağır hastaların serumlarında, yüksek düzeyde aktivin A, aktivin B ve follistatin seviyeleri görülmüştür (Linko, Hedger, Pettilä, Ruokonen, Ala-Kokko, Ludlow, & de Kretser, 2014). *Escherichia coli* K1 ile intraperitonel enfeksiyonun neden olduğu fare sepsis modelinde follistatinin etkisi araştırılmıştır. Follistatin ile tedavi edilen ve kontrol fareleri arasında aktivin A serum seviyelerinde anlamlı bir fark görülmemiştir. Ciddi bakteriyel enfeksiyonlara karşı follistatinin, direnci artırmadığı öne sürülmüştür (Dieelberg, Ribes, Michel, Redlich, Brück, Nau, & Schütze, 2012).

Kronik yorgunluk sendromu / miyaljik ensefalomiyelit (CFS / ME) hastalarında aktivin ailesi proteinlerinin serum biyobelirteçleri olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Hastaların serum aktivin B seviyeleri, çalışma kontrollerine ve ayrıca belirlenen referans aralığına kıyasla önemli ölçüde yüksek bulunurken, serum aktivin A ve follistatin seviyeleri normal sınırlar içerisinde görülmüştür. Yüksek serum aktivin B düzeyinin bulunması, CFS / ME'li hastalarda biyobelirteç olarak kullanılabileceği ve follistatin ile tedavinin faydalı olabileceği öne sürülmüştür (Lidbury, Kita, Lewis, Hayward, Ludlow, Hedger, & de Kretser, 2017). Aktivinlerin follistatin ile nötralize edilmesinin birkaç fare kolit modelinde in vivo anti-enflamatuvar etkiye sahip olup olmayacağı araştırılmıştır. Kolit durumunda aktivinin hem lokal hem de sistemik

olarak arttığı ve aktivinin follistatin ile nötralizasyonu sonucunda enflamasyonun bastırıldığı gözlemlenmiştir. Aktivinlerin epitel hücre bölünmesini baskıladığı ve pro-enflamatuvar kemokinlerin üretimini arttırdığı gösterilmiştir (Dohi ve ark., 2005). Kistik fibroz (KF) akciğer hastalığında aktivin A seviyesinin ve aktivin A'nın doğal antagonisti follistatin ile inhibe edilmesinin akciğer hastalığı üzerine etkileri araştırılmıştır. KF hastalarında serum A seviyelerinin yükseldiği ve hastalığının uzun vadeli yönetiminde aktivin A antagonisti olan follistatinin terapötik olarak kullanılabilirliği öne sürülmüştür (Hardy ve ark., 2015). Hepatit B ve hepatit C hastaları ile sağlıklı kontrol grubundan oluşan bir çalışmada, serum aktivin A ve follistatin değerleri araştırılmıştır. Serum aktivin A seviyesinin viral hepatit hastalarında kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde arttığı gösterilmiş ancak her iki hasta grubunda da serum follistatin düzeyinde artış görülmemiştir. Hepatit B'de hepatit C'ye kıyasla daha yüksek aktivin A seviyeleri görülmüştür (Patella, Phillips, de Kretser, Evans, Groome, & Sievert, 2001). Mısır'da yapılan başka bir çalışmada ise yine hepatit C virüsü ile enfekte hastalarda kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde daha yüksek serum aktivin A seviyeleri tespit edilmiştir (Elsammak, Amin, Khalil, Ragab, & Abaza 2006). Bizim çalışmamızda follistatin molekülü açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Bruselloz enfeksiyonu süreçlerinde follistatinin normal seviyelerde seyrettiği görülmüştür.

Sonuç olarak aktivin A ve aktivin B moleküllerinin bruselloz sürecinde baskılandığı bununla birlikte follistatin düzeylerinin ise sağlıklı kişiler ile hasta kişiler arasında birbirine yakın olduğu görülmektedir. Aktivin A ve aktivin B moleküllerinin akut ve kronik brusellozda, sağlıklı kontrollere göre daha az serum seviyeleri sergilemeleri ve iyileşen hastalarda bu seviyelerin yükselmesi, aktivinlerin brusellozda pro-enflamatuvar yanıtlar oluşturma yönünde hareket ettiğini düşündürmektedir. *Brucella* bakterilerinin konakta varlığını sürdürebilmek için geliştirdiği mekanizmalardan birinin de aktivin A ve aktivin B'yi baskılamak olduğu varsayılmıştır. Akut ve kronik hasta grupları arasından her iki aktivin molekülü için de anlamlı farkın görülmemesi, hastalığın tüm evrelerinde bu moleküllerin aktivitelerinin engellendiğini göstermektedir. Brusellozda aktivinlerin düşük serum seviyelerine sahip olmaları sebebiyle, tanıda yeni belirteçler olarak kullanılabilirliğini ortaya koymaktayız. Yapılacak yeni in vitro çalışmalarda dışarıdan aktivin verilmesi

ve / veya follistatin antagonistlerinin kullanılması sonucunda brusellozun engellenmesi gerçekleştirilebilirse tedavi açısından yeni yöntemler olarak literatüre sunulabilecektir. Hastalar iyileştiğinde aktivin A ve aktivin B molekülünün serum seviyelerinin artması, tedavi sürecinde değerlendirilerek, tedavinin sonlandırılmasının uygunluğu hakkında hekimlere fikir sunacağı düşünülmektedir.



6. KAYNAKLAR

- Akan, E. (1986). *Tıbbi Mikrobiyoloji; Bakteriler-Mantarlar-Riketziyalar-Klamidyeler ve İnfeksiyonları*. 1. Baskı, Konya: Oba Kitapevi, s173-174.
- Aktas, O., (2003) Brusellozda mikrobiyolojik tanı. *Ankem dergisi*, 17: 336-9.
- Aktug Demir, N. (2009) Brusellozda hücrel immün yanıtın araştırılması (uzmanlık tezi). T.C. Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi.
- Al Dahouk, S., Köhler, S., Occhialini, A., Jiménez de Bagüés, M. P., Hammerl, J. A., Eisenberg, T...Scholz, H. C. (2017). *Brucella* spp. of amphibians comprise genomically diverse motile strains competent for replication in macrophages and survival in mammalian hosts. *Scientific reports*, 7, 44420. <https://doi.org/10.1038/srep44420>
- Alışkan H. (2008). Kültür ve serolojik yöntemlerin insan brusellozu tanısındaki değeri. *Mikrobiyol Bul*, 42(1):185-95.
- Alp, E., Koc, R. K., Durak, A. C., Yildiz, O., Aygen, B., Sumerkan, B., & Doganay, M. (2006). Doxycycline plus streptomycin versus ciprofloxacin plus rifampicin in spinal brucellosis [ISRCTN31053647]. *BMC Infectious Diseases*, 6(1), 72.
- Altekruse, S. F., Timbo, B. B., Mowbray, J. C., Bean, N. H., & Potter, M. E. (1998). Cheese-associated outbreaks of human illness in the United States, 1973 to 1992: sanitary manufacturing practices protect consumers. *Journal of food protection*, 61(10), 1405-1407. doi:10.4315/0362-028x-61.10.1405
- Haag, A. F., Myka, K. K., Arnold, M. F., Caro-Hernández, P., & Ferguson, G. P. (2010). Importance of lipopolysaccharide and cyclic β -1, 2-glucans in *Brucella*-mammalian infections. *International journal of microbiology*.
- Araj, G. F. (2010). *Update on laboratory diagnosis of human brucellosis. International Journal of Antimicrobial Agents*, 36, S12–S17.
- Arda M, Minbay A, Aydın N, Akay Ö, İzgür M, Leloğlu N. (1997). *Brucella İnfeksiyonları* (4. Baskı). Ankara: Medisan Yayınevi.
- Arellano-Reynoso, B., Lapaque, N., Salcedo, S., Briones, G., Ciocchini, A. E., Ugalde, R., ..., & Gorvel, J. P. (2005). Cyclic β -1, 2-glucan is a *Brucella* virulence factor required for intracellular survival. *Nature immunology*, 6(6), 618-625.
- Attisano, L., Wrana, J. L., Montalvo, E., & Massague, J. (1996). Activation of signalling by the activin receptor complex. *Molecular and cellular biology*, 16(3), 1066-1073.

- Aygen, B., Doğanay, M., Sümerkan, B., Yildiz, O., & Kayabaş, Ü. (2002). Clinical manifestations, complications and treatment of brucellosis: a retrospective evaluation of 480 patients. *Medecine et maladies infectieuses*, 32(9), 485-493.
- Badur, S. (1990). Bruselloz'da Serolojik Tani ve Seroepidemioloji. *Klinik Derg.* 3(1):17-20.
- Bandara, A. B., Contreras, A., Contreras-Rodriguez, A., Martins, A. M., Dobrea, V., Poff-Reichow, S., ..., & Boyle, S. M. (2007). *Brucella* suis urease encoded by ure 1 but not ure 2 is necessary for intestinal infection of BALB/c mice. *BMC microbiology*, 7(1), 57.
- Baysal, B., In: Mutlu G, İ.T., Cengiz, A.T., Ustaçelebi, Ş., Tümbay, E., Mete, Ö., (Eds.) (1999). *Brucella*, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi.. s571-577.
- Besson-Fournier, C., Latour, C., Kautz, L., Bertrand, J., Ganz, T., Roth, M. P., & Coppin, H. (2012). Induction of activin B by inflammatory stimuli up-regulates expression of the iron-regulatory peptide hepcidin through Smad1/5/8 signaling. *Blood*, 120(2), 431-439.
- Bilgehan H, (1983). *Klinik Mikrobiyoloji, Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları*. İzmir, Bilgehan Basımevi, s211.
- Biron, C. A., (1999). Initial and innate responses to viral infections--pattern setting in immunity or disease. *Current opinion in microbiology*, 2(4), 374-381. doi.org/10.1016/s1369-5274(99)80066-6
- Bloise, E., Ciarmela, P., Dela Cruz, C., Luisi, S., Petraglia, F., & Reis, F. M. (2019). Activin A in mammalian physiology. *Physiological Reviews*, 99(1), 739-780.
- Bohin, J., (2000). Osmoregulated periplasmic glucans in Proteobacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 186(1), 11-19. doi:10.1016/s0378-1097(00)00110-5
- Boschiroli, M. L., Ouahrani-Bettache, S., Foulongne, V., Michaux-Charachon, S., Bourg, G., Allardet-Servent, A., ..., & O'Callaghan, D. (2002). Type IV secretion and *Brucella* virulence. *Veterinary Microbiology*, 90(1-4), 341-348.
- Bowman, D. D., (2011). Introduction to the Alpha-proteobacteria: Wolbachia and Bartonella, Rickettsia, *Brucella*, Ehrlichia, and Anaplasma. *Topics in Companion Animal Medicine*.
- Breit, S., Ashman, K., Wilting, J., Rössler, J., Hatzi, E., Fotsis, T., & Schweigerer, L. (2000). The N-myc oncogene in human neuroblastoma cells: down-regulation of an angiogenesis inhibitor identified as activin A. *Cancer Research*, 60(16), 4596-4601.
- Buttigieg, S. C., Savic, S., Cauchi, D., Lautier, E., Canali, M., & Aragrande, M. (2018). Brucellosis control in Malta and Serbia: a One Health evaluation. *Frontiers in veterinary science*, 5, 147.
- Canali, S., Core, A. B., Zumbrennen-Bullough, K. B., Merkulova, M., Wang, C.-Y., Schneyer, A. L., ... Babitt, J. L. (2016). Activin B Induces Noncanonical SMAD1/5/8 Signaling via BMP Type I Receptors in Hepatocytes: Evidence for a Role in Hepcidin Induction by Inflammation in Male Mice. *Endocrinology*, 157(3), 1146-1162. doi:10.1210/en.2015-1747

- Capasso, L. (1999). Brucellosis at Herculaneum (79 AD). *International Journal of Osteoarchaeology*, 9(5), 277-288.
- Capasso, L. (2002). Bacteria in two-millennia-old cheese, and related epizoonoses in Roman populations. *Journal of Infection*, 45(2), 122-127.
- Cardoso, P. G., Macedo, G. C., Azevedo, V., & Oliveira, S. C. (2006). *Brucella* spp noncanonical LPS: structure, biosynthesis, and interaction with host immune system. *Microbial cell factories*, 5(1), 13.
- Caro-Hernández, P., Fernández-Lago, L., de Miguel, M. J., Martín-Martín, A. I., Cloeckaert, A., Grilló, M. J., ... Vizcaino, N. (2007). Role of the Omp25/Omp31 family in outer membrane properties and virulence of *Brucella ovis*. *Infection and Immunity*, 75(8), 4050–4061. <https://doi.org/10.1128/IAI.00486-07>
- Celli, J., de Chastellier, C., Franchini, D.-M., Pizarro-Cerda, J., Moreno, E., & Gorvel, J.-P. (2003). *Brucella* Evades Macrophage Killing via VirB-dependent Sustained Interactions with the Endoplasmic Reticulum. *The Journal of Experimental Medicine*, 198(4), 545–556. doi:10.1084/jem.20030088
- Chen, L., Xie, Q., & Nathan, C. (1998). Alkyl Hydroperoxide Reductase Subunit C (AhpC) Protects Bacterial and Human Cells against Reactive Nitrogen Intermediates. *Molecular Cell*, 1(6), 795–805. doi:10.1016/s1097-2765(00)80079-9
- Chen, Y.-G., Lui, H. M., Lin, S.-L., Lee, J. M., & Ying, S.-Y. (2002). Regulation of Cell Proliferation, Apoptosis, and Carcinogenesis by Activin. *Experimental Biology and Medicine*, 227(2), 75–87. doi:10.1177/153537020222700201
- Christopher, S., Umapathy, B., & Ravikumar, K. (2010). Brucellosis: Review on the recent trends in pathogenicity and laboratory diagnosis. *Journal of Laboratory Physicians*, 2(2), 55.
- Copin, R., De Baetselier, P., Carlier, Y., Letesson, J.-J., & Muraille, E. (2007). MyD88-Dependent Activation of B220-CD11b+LY-6C+ Dendritic Cells during *Brucella melitensis* Infection. *The Journal of Immunology*, 178(8), 5182–5191. doi:10.4049/jimmunol.178.8.5182
- Corbel, M. (1997). Brucellosis: an Overview. *Emerging Infectious Diseases*, 3(2), 213–221. doi:10.3201/eid0302.970219
- Daopin, S., Piez, K. A., Ogawa, Y., & Davies, D. R. (1992). Crystal structure of transforming growth factor-beta 2: an unusual fold for the superfamily. *Science*, 257(5068), 369-373.
- De Kretser, D. M., O’Hehir, R. E., Hardy, C. L., & Hedger, M. P. (2012). The roles of activin A and its binding protein, follistatin, in inflammation and tissue repair. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 359(1-2), 101–106. doi:10.1016/j.mce.2011.10.009
- De Kretser, M.P. Hedger, K.L. Loveland and D.J. Phillips (2002). Inhibins, activins and follistatin in reproduction. *Human Reproduction Update*, 8(6), 529–541. doi:10.1093/humupd/8.6.529

- Deyi, V. M., Mori, M., Dauby, N., Clevenbergh, P., Mahadeb, B., Loizidou, A., ..., & Hallin, M. (2021). Staggered enforcement of infection control and prevention measures following four consecutive potential laboratory exposures to imported *Brucella melitensis*. *Infection Prevention in Practice*, 3(2), 100128.
- Dieelberg, C., Ribes, S., Michel, U., Redlich, S., Brück, W., Nau, R., & Schütze, S. (2012). Follistatin does not influence the course of *Escherichia coli* K1 sepsis in a mouse model. *Shock*, 38(6), 615-619.
- Dizer, U., Beker, C. M., Çiçek, H., Güner, Ö. R., Zeren, İ., & Pahsa, A. (2005). Bruselloz tanı yöntemlerinin etkinliğinin araştırılması. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 31(2), 87-93.
- Doğanay, M., & Aygen, B. (2003). Human brucellosis: an overview. *International Journal of Infectious Diseases*, 7(3), 173–182. doi:10.1016/s1201-9712(03)90049-x
- Dohi, T., Ejima, C., Kato, R., Kawamura, Y. I., Kawashima, R., Mizutani, N., Tabuchi, Y., & Kojima, I. (2005). Therapeutic potential of follistatin for colonic inflammation in mice. *Gastroenterology*, 128(2), 411–423.
- Dornand, J., Gross, A., Lafont, V., Liautard, J., Oliaro, J., & Liautard, J.-P. (2002). The innate immune response against *Brucella* in humans. *Veterinary Microbiology*, 90(1-4), 383–394. doi:10.1016/s0378-1135(02)00223-7
- Dornand, J., Lafont, V., Oliaro, J., Terraza, A., Castaneda-Roldan, E., & Liautard, J.-P. (2004). Impairment of Intramacrophagic *Brucella suis* Multiplication by Human Natural Killer Cells through a Contact-Dependent Mechanism. *Infection and Immunity*, 72(4), 2303–2311. doi:10.1128/iai.72.4.2303-2311.2004
- Dorneles, E. M. S., Teixeira-Carvalho, A., Araújo, M. S. S., Sriranganathan, N., & Lage, A. P. (2015). Immune response triggered by *Brucella abortus* following infection or vaccination. *Vaccine*, 33(31), 3659–3666. doi:10.1016/j.vaccine.2015.05.057
- Elsammak, M. Y., Amin, G. M., Khalil, G. M., Ragab, W. S., & Abaza, M. M. (2006). Possible contribution of serum activin A and IGF-1 in the development of hepatocellular carcinoma in Egyptian patients suffering from combined hepatitis C virus infection and hepatic schistosomiasis. *Clinical Biochemistry*, 39(6), 623-629. doi: 10.1016 / j.clinbiochem.2006.01.022
- Ergönül, Ö., Çelikbaş, A., Tezeren, D., Güvener, E., & Dokuzoğuz, B. (2004). Analysis of risk factors for laboratory-acquired brucella infections. *Journal of Hospital Infection*, 56(3), 223–227. doi:10.1016/j.jhin.2003.12.020
- Ertek, M., Bruselloz: Klinik formları ve özellikleri. *Ankem Dergisi* 2003, 17: 333-5.
- Fang, D. Y. P., Lu, B., Hayward, S., de Kretser, D. M., Cowan, P. J., & Dwyer, K. M. (2016). The Role of Activin A and B and the Benefit of Follistatin Treatment in Renal Ischemia-Reperfusion Injury in Mice. *Transplantation Direct*, 2(7), e87. doi:10.1097/txd.0000000000000601

- Fernandes, D. M., & Baldwin, C. L. (1995a). Interleukin-10 downregulates protective immunity to *Brucella abortus*. *Infection and immunity*, 63(3), 1130–1133. doi.org/10.1128/IAI.63.3.1130-1133.1995
- Fernandes, D. M., Benson, R., & Baldwin, C. L. (1995b). Lack of a role for natural killer cells in early control of *Brucella abortus* 2308 infections in mice. *Infection and immunity*, 63(10), 4029–4033. https://doi.org/10.1128/IAI.63.10.4029-4033.1995
- Finlay, B. B., & Falkow, S. (1997). Common themes in microbial pathogenicity revisited. *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR*, 61(2), 136–169.
- Forestier, C., Deleuil, F., Lapaque, N., Moreno, E., & Gorvel, J. P. (2000). *Brucella abortus* lipopolysaccharide in murine peritoneal macrophages acts as a down-regulator of T cell activation. *The Journal of Immunology*, 165(9), 5202–5210. doi:10.4049/jimmunol.165.9.5202
- Franco, M. P., Mulder, M., Gilman, R. H., & Smits, H. L. (2007). Human brucellosis. *The Lancet Infectious Diseases*, 7(12), 775–786.
- Fugier, E., Pappas, G., & Gorvel, J.-P. (2007). Virulence factors in brucellosis: implications for aetiopathogenesis and treatment. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 9(35). doi:10.1017/s1462399407000543
- Galinska, E. M., & Zagórski, J. (2013). Brucellosis in humans-etiology, diagnostics, clinical forms. *Annals of agricultural and environmental medicine*, 20(2).
- Gee, J. M., Valderas, M. W., Kovach, M. E., Grippe, V. K., Robertson, G. T., Ng, W.-L., ... Roop, R. M. (2005). The *Brucella abortus* Cu,Zn Superoxide Dismutase Is Required for Optimal Resistance to Oxidative Killing by Murine Macrophages and Wild-Type Virulence in Experimentally Infected Mice. *Infection and Immunity*, 73(5), 2873–2880.
- Gezgen, C., & Şeker, E. (2014). Brusellozis: Güncel Yaklaşımlar. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, 12(1), 28–66.
- Głowacka, P., Żakowska, D., Naylor, K., Niemcewicz, M., & Bielawska-Drózd, A. (2018). *Brucella* - Virulence Factors, Pathogenesis and Treatment. *Polish journal of microbiology*, 67(2), 151–161. https://doi.org/10.21307/pjm-2018-029
- Golding, B., Scott, D. E., Scharf, O., Huang, L.-Y., Zaitseva, M., Lapham, C., ... Golding, H. (2001). Immunity and protection against *Brucella abortus*. *Microbes and Infection*, 3(1), 43–48. doi:10.1016/s1286-4579(00)01350-2
- Gomes, M. T., Campos, P. C., de Almeida, L. A., Oliveira, F. S., Costa, M. M., Marim, F. M Oliveira, S. C. (2012). The role of innate immune signals in immunity to *Brucella abortus*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2, 130. https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00130
- Gorvel, J. P., & Moreno, E. (2002). *Brucella* intracellular life: from invasion to intracellular replication. *Veterinary Microbiology*, 90(1-4), 281–297. doi:10.1016/s0378-1135(02)00214-6

Gupta, V. K., Nayakwadi, S., Kumar, A., Gururaj, K., Kumar, A., & Pawaiya, R. S. (2014). Markers for the molecular diagnosis of brucellosis in animals. *Adv. Anim. Vet. Sci*, 2(3), 31-39.

Guzmán-Verri, C., Chaves-Olarte, E., von Eichel-Streiber, C., López-Goñi, I., Thelestam, M., Arvidson, S., Gorvel, J. P., & Moreno, E. (2001). GTPases of the Rho subfamily are required for *Brucella abortus* internalization in nonprofessional phagocytes: direct activation of Cdc42. *The Journal of Biological Chemistry*, 276(48), 44435–44443.

Guzman-Verri, C., Manterola, L., Sola-Landa, A., Parra, A., Cloeckert, A., Garin, J., ... Lopez-Goni, I. (2002). The two-component system BvrR/BvrS essential for *Brucella abortus* virulence regulates the expression of outer membrane proteins with counterparts in members of the Rhizobiaceae. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(19), 12375–12380.

Hamang, M. J., (2019). The Roles of Activin A and B in Liver Inflammation and Fibrosis (Doctoral dissertation, Purdue University).

Hamdy, M. E. R., & Amin, A. S. (2002). *Detection of Brucella Species in the Milk of Infected Cattle, Sheep, Goats and Camels by PCR*. *The Veterinary Journal*, 163(3), 299–305. doi:10.1053/tvjl.2001.0681

Hardy, C. L., King, S. J., Mifsud, N. A., Hedger, M. P., Phillips, D. J., Mackay, F., ..., & O'hehir, R. E. (2015). The activin A antagonist follistatin inhibits cystic fibrosis-like lung inflammation and pathology. *Immunology and Cell Biology*, 93(6), 567-574.

Hayat L, (2000) Doksisiklin-rifampisin ve levamizol kombinasyonunun kronik brusellozlu hastaların lenfosit alt grupları ve fagositik hücre fonksiyonları üzerine etkisi (Uzmanlık Tezi): T.C. Genelkurmay Başkanlığı Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi.

He, Y. (2012). Analyses of *Brucella* Pathogenesis, Host Immunity, and Vaccine Targets using Systems Biology and Bioinformatics. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2. doi:10.3389/fcimb.2012.00002

Hedger, M. P., & de Kretser, D. M. (2013). The activins and their binding protein, follistatin—diagnostic and therapeutic targets in inflammatory disease and fibrosis. *Cytokine, & growth factor reviews*, 24(3), 285-295.

Hedger, M. P., Winnall, W. R., Phillips, D. J., & de Kretser, D. M. (2011). The regulation and functions of activin and follistatin in inflammation and immunity. *Vitamins and hormones*, 85, 255–297. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385961-7.00013-5>

Hodul M, (2008) develi yöresinde sığır brusellozunun serolojik testlerle (RBPT, SAT, C-ELISA, CFT) teşhisi (yüksek lisans tezi). T.C Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Hull, N. C., & Schumaker, B. A. (2018). Comparisons of brucellosis between human and veterinary medicine. *Infection Ecology, & Epidemiology*, 8(1), 1500846. doi:10.1080/20008686.2018.1500846

Işık, B., (2010) Çocukluk Çağı Brusellozu'nda Tedavi Kombinasyonları ve Sürelerinin Kıyaslanması (Tıpta Uzmanlık Tezi). T.C Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

İrvem, A., Yücel, F. M., Aksaray, S., & Bor, E. (2015). Brusellozun Serolojik Tanısında Yeni ve Hızlı Bir Yöntem Olan *Brucella* Coombs Jel Testi ile Diğer Yöntemlerin Karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bul*, 49(2), 181-187.

Jezi, F. M., Razavi, S., Mirnejad, R., & Zamani, K. (2019). Immunogenic and protective antigens of *Brucella* as vaccine candidates. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. doi:10.1016/j.cimid.2019.03.015

Jiménez de Bagüés, M. P., Terraza, A., Gross, A., & Dornand, J. (2004). Different responses of macrophages to smooth and rough *Brucella* spp.: relationship to virulence. *Infection and immunity*, 72(4), 2429–2433.

Jones, K. L., Brauman, J. N., Groome, N. P., de Kretser, D. M., & Phillips, D. J. (2000). Activin A release into the circulation is an early event in systemic inflammation and precedes the release of follistatin. *Endocrinology*, 141(5), 1905-1908.

Jones, K. L., Mansell, A., Patella, S., Scott, B. J., Hedger, M. P., de Kretser, D. M., & Phillips, D. J. (2007). Activin A is a critical component of the inflammatory response, and its binding protein, follistatin, reduces mortality in endotoxemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(41), 16239-16244.

Jumas-Bilak, E., Michaux-Charachon, S., Bourg, G., O'Callaghan, D., & Ramuz, M. (1998). Differences in chromosome number and genome rearrangements in the genus *Brucella*. *Molecular Microbiology*, 27(1), 99–106. doi:10.1046/j.1365-2958.1998.00661.x

Kandemir, Ö., (2015). Bruselloz. *Türkiye Klinikleri Enfeksiyon Hastalıkları-Özel Konular*, 8(2), 1-9.

Kariyawasam, H. H., Semitekolou, M., Robinson, D. S., & Xanthou, G. (2011). Activin-A: a novel critical regulator of allergic asthma. *Clinical, & Experimental Allergy*, 41(11), 1505-1514.

Kaufmann, A. F., Fox, M. D., Boyce, J. M., Anderson, D. C., Potter, M. E., Martone, W. J., & Patton, C. M. (1980). Airborne spread of brucellosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 353(1), 105–114.

Kim, J. —, Sha, Z., & Mayfield, J. E. (2000). Regulation of *Brucella abortus* Catalase. *Infection and Immunity*, 68(7), 3861–3866. doi:10.1128/iai.68.7.3861-3866.2000

Kim, Y. I., Lee, C.-Y., & Shin, M. K. (2020). Downregulation of activin-signaling gene expression in passaged normal human dermal fibroblasts. *Biomedical Reports*, 12(1), 17–22. <https://doi.org/10.3892/br.2019.1258>

Köhler, S., Foulongne, V., Ouahrani-Bettache, S., Bourg, G., Teyssier, J., Ramuz, M., & Liautard, J. P. (2002). The analysis of the intramacrophagic virulome of *Brucella* suis deciphers the environment encountered by the pathogen inside the macrophage host cell. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(24), 15711-15716.

- Köken, E., & Öz Oyar, E. (2020). Activin-follistatin system: A new approach to renal injury. *Gazi Medical Journal*, 31(3), 453–456. <https://doi.org/10.12996/gmj.2020.111>
- Lapaque, N., Moriyon, I., Moreno, E., & Gorvel, J.-P. (2005). Brucella lipopolysaccharide acts as a virulence factor. *Current Opinion in Microbiology*, 8(1), 60–66. doi:10.1016/j.mib.2004.12.003
- Lavigne, J.P., Patey, G., Sangari, F.J., Bourg, G., Ramuz, M., O’Callaghan, D., Michaux-Charachon, S., 2005. Identification of a new virulence factor, BvfA, in *Brucella suis*. *Infect. Immun.* 73, 5524–5529.
- Leigh, R., Oyelusi, W., Wiehler, S., Koetzler, R., Zaheer, R. S., Newton, R., & Proud, D. (2008). Human rhinovirus infection enhances airway epithelial cell production of growth factors involved in airway remodeling. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 121(5), 1238-1245.
- Lerch, T. F., Shimasaki, S., Woodruff, T. K., & Jardetzky, T. S. (2007). Structural and Biophysical Coupling of Heparin and Activin Binding to Follistatin Isoform Functions. *Journal of Biological Chemistry*, 282(21), 15930–15939. doi:10.1074/jbc.m700737200
- Lidbury, B. A., Kita, B., Lewis, D. P., Hayward, S., Ludlow, H., Hedger, M. P., & de Kretser, D. M. (2017). Activin B is a novel biomarker for chronic fatigue syndrome/myalgic encephalomyelitis (CFS/ME) diagnosis: a cross sectional study. *Journal of Translational Medicine*, 15(1), 60.
- Linko, R., Hedger, M. P., Pettilä, V., Ruokonen, E., Ala-Kokko, T., Ludlow, H., & de Kretser, D. M. (2014). Serum activin A and B, and follistatin in critically ill patients with influenza A (H1N1) infection. *BMC Infectious Diseases*, 14(1), 253. doi: 10.1186 / 1471-2334-14-253
- Loisel-Meyer, S., de Bagues, M. P. J., Kohler, S., Liautard, J.-P., & Jubier-Maurin, V. (2005). Differential Use of the Two High-Oxygen-Affinity Terminal Oxidases of *Brucella suis* for In Vitro and Intramacrophagic Multiplication. *Infection and Immunity*, 73(11), 7768–7771. doi:10.1128/iai.73.11.7768-7771.2005
- Loisel-Meyer, S., Jimenez de Bagues, M. P., Basseres, E., Dornand, J., Kohler, S., Liautard, J.-P., & Jubier-Maurin, V. (2006). Requirement of norD for *Brucella suis* Virulence in a Murine Model of In Vitro and In Vivo Infection. *Infection and Immunity*, 74(3), 1973–1976.
- López-Goñi, I., Guzmán-Verri, C., Manterola, L., Sola-Landa, A., Moriyón, I., & Moreno, E. (2002). Regulation of *Brucella* virulence by the two-component system BvrR/BvrS. *Veterinary Microbiology*, 90(1-4), 329–339. doi:10.1016/s0378-1135(02)00218-3
- Madkour, MM., (2008) *Bruselloz*. Anđ Ö (ed). İstanbul Nobel Tıp Kitabevleri
- Mandell, GL., Bennet, JE., & Dolin, R. (2000). Principles and Practice of Infectious Disease. Fifth ed.. s2386-2393.
- Marchesini, M. I., Herrmann, C. K., Salcedo, S. P., Gorvel, J. P., & Comerci, D. J. (2011). In search of *Brucella abortus* type IV secretion substrates: screening and

identification of four proteins translocated into host cells through VirB system. *Cellular Microbiology*, 13(8), 1261-1274.

Mason, A. J., Niall, H. D., & Seeburg, P. H. (1986). Structure of two human ovarian inhibins. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 135(3), 957–964. doi:10.1016/0006-291x(86)91021-1

Meltzer, E., Sidi, Y., Smolen, G., Banai, M., Bardenstein, S., & Schwartz, E. (2010). Sexually Transmitted Brucellosis in Humans. *Clinical Infectious Diseases*,

Memish, Z., (2001) Brucellosis control in Saudi Arabia: prospects and challenges. *J Chemoter* 13:11-7.

Michaux-Charachon, S., Bourg, G., Jumas-Bilak, E., Guigue-Talet, P., Allardet-Servent, A., O’Callaghan, D., & Ramuz, M. (1997). Genome structure and phylogeny in the genus *Brucella*. *Journal of Bacteriology*, 179(10), 3244–3249. doi:10.1128/jb.179.10.3244-3249.1997

Michel, U., Ebert, S., Phillips, D., & Nau, R. (2003). Serum concentrations of activin and follistatin are elevated and run in parallel in patients with septicemia. *European journal of endocrinology*, 148(5), 559-564.

Michel, U., Gerber, J., E. O’Connor, A., Bunkowski, S., Brück, W., Nau, R., & Phillips, D. J. (2004). Increased activin levels in cerebrospinal fluid of rabbits with bacterial meningitis are associated with activation of microglia. *Journal of Neurochemistry*, 86(1), 238–245. doi:10.1046/j.1471-4159.2003.01834.x

Mobley, H. L., Island, M. D., & Hausinger, R. P. (1995). Molecular biology of microbial ureases. *Microbiological reviews*, 59(3), 451-480.

Moreno, E. (2014). Retrospective and prospective perspectives on zoonotic brucellosis. *Frontiers in Microbiology*, 5. doi:10.3389/fmicb.2014.00213

Moreno, E., & Moriyon, I. (2002). *Brucella melitensis*: a nasty bug with hidden credentials for virulence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(1), 1–3.

Morianos, I., Papadopoulou, G., Semitekolou, M., & Xanthou, G. (2019). Activin-A in the regulation of immunity in health and disease. *Journal of Autoimmunity*, 102314. doi:10.1016/j.jaut.2019.102314

Mousa, A. R. M., Muhtaseb, S. A., Almudallal, D. S., Khodeir, S. M., & Marafie, A. A. (1987). Osteoarticular Complications of Brucellosis: *A Study of 169 Cases*. *Clinical Infectious Diseases*, 9(3), 531–543. doi:10.1093/clinids/9.3.531

Murphy, E. A., Sathiyaseelan, J., Parent, M. A., Zou, B., & Baldwin, C. L. (2001). Interferon-gamma is crucial for surviving a *Brucella abortus* infection in both resistant C57BL/6 and susceptible BALB/c mice. *Immunology*, 103(4), 511–518. doi:10.1046/j.1365-2567.2001.01258.x

Namwanje, M., & Brown, C. W. (2016). Activins and inhibins: roles in development, physiology, and disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 8(7), a021881.

- Neta, A. V. C., Mol, J. P., Xavier, M. N., Paixão, T. A., Lage, A. P., & Santos, R. L. (2010). Pathogenesis of bovine brucellosis. *The Veterinary Journal*, 184(2), 146-155.
- Nicoletti, P. (2010). Brucellosis: past, present and future. *Prilozi* 31, 21-32.
- Ogawa, K., Funaba, M., Mathews, L. S., & Mizutani, T. (2000). Activin A Stimulates Type IV Collagenase (Matrix Metalloproteinase-2) Production in Mouse Peritoneal Macrophages. *The Journal of Immunology*, 165(6), 2997-3003. doi:10.4049/jimmunol.165.6.2997
- Özcanarşlan FÇ, (2011) 2004-2010 yılları arasında çocuk enfeksiyon Hastalıkları kliniğinde izlenen *brucella* tanılı Çocuk hastaların retrospektif olarak Değerlendirilmesi ve yakın temaslı aile Bireylerinin *brucella* enfeksiyonu gelişimi Açısından incelenmesi (uzmanlık tezi). T.C. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Özdemir, M., Doğan, M., & Baysal, B. (2007). Brusellozun serolojik tanısında yeni bir yöntem: İmmuncapture aglutinasyon testi. *Genel Tıp Derg*, 17(1), 9-13.
- Panopoulou, E., Murphy, C., Rasmussen, H., Bagli, E., Rofstad, E. K., & Fotsis, T. (2005). Activin A Suppresses Neuroblastoma Xenograft Tumor Growth via Antimitotic and Antiangiogenic Mechanisms. *Cancer Research*, 65(5), 1877-1886. doi:10.1158/0008-5472.can-04-2828
- Pappas, G., Akritidis, N., Bosilkovski, M., & Tsianos, E. (2005). Brucellosis. *New England Journal of Medicine*, 352(22), 2325-2336.
- Pappas, G., Panagopoulou, P., Christou, L., & Akritidis, N. (2006a). Biological weapons. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 63(19-20), 2229-2236.
- Pappas, G., Papadimitriou, P., Akritidis, N., Christou, L., & Tsianos, E. V. (2006b). The new global map of human brucellosis. *The Lancet Infectious Diseases*, 6(2), 91-99. doi:10.1016/s1473-3099(06)70382-6
- Patel, K. (1998). Follistatin. *The International Journal of Biochemistry, & Cell Biology*, 30(10), 1087-1093. doi:10.1016/s1357-2725(98)00064-8
- Patella, S., Phillips, D. J., de Kretser, D. M., Evans, L. W., Groome, N. P., & Sievert, W. (2001). Characterization of serum activin-A and follistatin and their relation to virological and histological determinants in chronic viral hepatitis. *Journal of Hepatology*, 34(4), 576-583. doi:10.1016/s0168-8278(00)00029-5
- Phillips, D. J., (2000). Regulation of activin's access to the cell: why is Mother Nature such a control freak? *BioEssays*, 22(8), 689-696. doi:10.1002/1521-1878(200008)22:8<689::aid-bies2>3.0.co;2-5
- Poetsch, A., & Marchesini, M. I. (2020). Proteomics of Brucella. *Proteomes*, 8(2), 8.
- Raetz, C. R. (1996). Bacterial lipopolysaccharides: a remarkable family of bioactive macroamphiphiles. *Escherichia coli and Salmonella: Cellular and Molecular Biology*, 1, 1035-1063.
- Rafiei, A., Ardestani, S. K., Kariminia, A., Keyhani, A., Mohraz, M., & Amirkhani, A. (2006). Dominant Th1 cytokine production in early onset of human brucellosis

followed by switching towards Th2 along prolongation of disease. *Journal of Infection*, 53(5), 315–324. doi:10.1016/j.jinf.2005.11.024

Robson, N. C., Phillips, D. J., McAlpine, T., Shin, A., Svobodova, S., Toy, T., ... Helling, I. (2008). Activin-A: a novel dendritic cell-derived cytokine that potently attenuates CD40 ligand-specific cytokine and chemokine production. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 111(5), 2733–2743.

Rolan, H. G., & Tsolis, R. M. (2008). Inactivation of the Type IV Secretion System Reduces the Th1 Polarization of the Immune Response to *Brucella abortus* Infection. *Infection and Immunity*, 76(7), 3207–3213. doi:10.1128/iai.00203-08

Rossetti, C. A., Drake, K. L., & Adams, L. G. (2012). Transcriptome analysis of HeLa cells response to *Brucella melitensis* infection: a molecular approach to understand the role of the mucosal epithelium in the onset of the *Brucella* pathogenesis. *Microbes and infection*, 14(9), 756–767.

Selçuk, K., (2006). Bruselloz ve Tedavi Sorunu. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*, 20(3), 227–230.

Seleem, M.N., Boyle, S.M., Sriranganathan, N., (2008). *Brucella*: a pathogen without classic virulence genes. *Vet. Microbiol.* 129, 1–14.

Seleem, M. N., Boyle, S. M., & Sriranganathan, N. (2010). *Brucellosis*: A re-emerging zoonosis. *Veterinary Microbiology*, 140(3-4), 392–398. doi:10.1016/j.vetmic.2009.06.021

Skendros, P., & Boura, P. J. R. S. T. (2013). Immunity to brucellosis. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 32(1), 137–147.

Slater, S. C., Goldman, B. S., Goodner, B., Setubal, J. C., Farrand, S. K., Nester, E. W., ... Wood, D. W. (2009). Genome Sequences of Three *Agrobacterium* Biovars Help Elucidate the Evolution of Multichromosome Genomes in Bacteria. *Journal of Bacteriology*, 191(8), 2501–2511. doi:10.1128/jb.01779-08

Staszkiwicz, J., Lewis, C. M., Colville, J., Zervos, M., & Band, J. (1991). Outbreak of *Brucella melitensis* among microbiology laboratory workers in a community hospital. *Journal of clinical microbiology*, 29(2), 287–290.

Steffen, R., (1977). Antacids—A Risk Factor in Travellers Brucellosis? *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 9(4), 311–312. doi:10.3109/inf.1977.9.issue-4.11

Stevanin, T. M., Moir, J. W. B., & Read, R. C. (2005). Nitric Oxide Detoxification Systems Enhance Survival of *Neisseria meningitidis* in Human Macrophages and in Nasopharyngeal Mucosa. *Infection and Immunity*, 73(6), 3322–3329.

Sugama, S., Takenouchi, T., Kitani, H., Fujita, M., & Hashimoto, M. (2007). Activin as an anti-inflammatory cytokine produced by microglia. *Journal of Neuroimmunology*, 192(1-2), 31–39. doi:10.1016/j.jneuroim.2007.08.016

Sümerkan B. In: Wilke Topçu A., Söyletir G., Doğanay M. (Ed). (2008). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. İstanbul: 3. baskı. Nobel Tıp Kitapevleri, s2237-2243

T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Zoonotik ve Vektorel Hastalıklar Dairesi Başkanlığı (2017). Bruselloz İstatistik verileri. Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Zoonotik ve Vektorel Hastalıklar Dairesi Başkanlığı.

Toklu, G. D., Akağaç, A. E., & Ağca, H. (2012). Brusellozda spesifik olmayan laboratuvar testlerinin tanıdaki önemi. *J Clin Exp Invest* [www. jceionline. org](http://www.jceionline.org) Vol, 3(1).

Turunç Özdemir A, (2018). Bruselloz’da tedavi öncesi ve sonrası kallistatin düzeyleri (Uzmanlık Tezi): T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Kayseri Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları Ve Klinik Mikrobiyoloji.

Verger, J. M., Grimont, F., Grimont, P. A., & Grayon, M. (1985). *Brucella*, a monospecific genus as shown by deoxyribonucleic acid hybridization. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 35(3), 292-295.

Wang, Y., Ke, Y., Duan, C., Ma, X., Hao, Q., Song, L., ..., & Zhao, Y. (2019). A small non-coding RNA facilitates *Brucella melitensis* intracellular survival by regulating the expression of virulence factor. *International Journal of Medical Microbiology*, 309(3-4), 225-231.

Watarai, M., Makino, S., Fujii, Y., Okamoto, K., & Shirahata, T. (2002). Modulation of *Brucella*-induced macropinocytosis by lipid rafts mediates intracellular replication. *Cellular Microbiology*, 4(6), 341–355. doi:10.1046/j.1462-5822.2002.00195.x

Wattam, A. R., Williams, K. P., Snyder, E. E., Almeida, N. F., Shukla, M., Dickerman, A. W., ... Setubal, J. C. (2009). Analysis of Ten *Brucella* Genomes Reveals Evidence for Horizontal Gene Transfer Despite a Preferred Intracellular Lifestyle. *Journal of Bacteriology*, 191(11), 3569–3579. doi:10.1128/jb.01767-08

Young, E. J. (1983). Human brucellosis. *Reviews of Infectious Diseases*, 5(5), 821-842.

Young, E. J. (1995). An overview of human brucellosis. *Clinical Infectious Diseases: an Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 21(2), 283–290.

Young, EJ. (2004). Brucellosis. In: Feigin RD, Cherry JD, Demmler GJ, Kaplan SL. Textbook of Pediatric Infectious Diseases. 5th edition. Philadelphia: Saunders 1582-88

Yu, E. W., Dolter, K. E., Shao, L. E., & Yu, J. (1998). Suppression of IL-6 biological activities by activin A and implications for inflammatory arthropathies. *Clinical and Experimental Immunology*, 112(1), 126–132. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2249.1998.00522.x>

Zhang, L., Xu, P., Wang, X., Zhang, M., Yan, Y., Chen, Y., ... Zhang, L. (2017). Activin B regulates adipose-derived mesenchymal stem cells to promote skin wound healing via activation of the MAPK signaling pathway. *The International Journal of Biochemistry, & Cell Biology*, 87, 69-76.

Zhang, M., Liu, N. Y., Wang, X. E., Chen, Y. H., Li, Q. L., Lu, K. R., ... Zhang, L. (2011). Activin B promotes epithelial wound healing in vivo through RhoA-JNK signaling pathway. *PLoS One*, 6(9), e25143.

Zhang, Z., Zhao, Y., Batres, Y., Lin, M.-F., & Ying, S.-Y. (1997). Regulation of Growth and Prostatic Marker Expression by Activin A in an Androgen-Sensitive Prostate Cancer Cell Line LNCAP. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 234(2), 362–365. doi:10.1006/bbrc.1997.6649

Zygmunt, MS., Dubray, C., & Limet, JN. (1991). Antigenic structure of Brucella: Protective and diagnostic antigens In: *Brucella and Brucellosis in man and animals* İzmir: Ege University press pp:27-38



7. SİMGELER VE KISALTMALAR

- ActR:** Aktivin serin treonin kinaz reseptörü
- ADSC:** Adipoz kökenli kök hücreler
- BMP:** Kemik morfogenetik proteinleri-2,5,7,8
- BOS:** Beyin omurilik sıvısı
- BvfA:** *Brucella* virülans faktörü A
- BvrR:** Brusella virülans ilişkili düzenleyici sistem
- BvrS:** Bruesella virülans ilişkili sensör sistem
- CFS / ME:** Kronik yorgunluk sendromu / miyaljik ensefalomiyelit
- CRP:** C-reaktif protein
- DNA:** Deoksiribonükleik asit
- DTT:** Dithiothreitol
- ELISA:** Enzim bağımlı immünosorbent yöntemi
- ER:** Endoplazmik retikulum
- FSH:** Folikül uyarıcı hormon
- GTPaz:** Guanozintrifosfataz
- H₂O₂:** Hidrojen peroksit
- HRV:** İnsan rinovirüs
- IFN- γ :** İnterferon gama
- INH β _A:** İnhibin sübünit β _A
- İRH:** İskemi reperfüzyon hasarı
- KET:** Kemik eklem tutuumu
- KF:** Kistik fibroz
- LPS:** Lipopolisakkarit
- MHC:** Büyük doku uyumluluk kompleksi
- ml:** Mililitre
- MMP2:** matris metalloproteinaz-2
- MÖ:** Milattan önce

MSS: Merkezi sinir sistemi
NK: Doğal öldürücü hücre
NO: Nitrik oksit
NOS: Nitrik oksit sentaz
O₂⁻: Süperoksit
OD: Optik dansite
OH: Hidroksil
OMP: Dış membran proteinleri
OPG: Osmoregüle periplazmik glukan
PMNL: Polimorfonükleer lökosit
R-LPS: *Rough* lipopolisakkarit
ROI: Reaktif oksijen ürünleri
RT-PCR: Real-time PCR
S-LPS: *Smooth* lipopolisakkarit
sRNA: Küçük düzenleyici RNA
STA: Standart tüp aglütinasyon testi
SßG: Siklik β -1,2 glukan
TGF- β : Transforme edici büyüme faktörü- β
Th: Yardımcı T hücre
Th: T yardımcı hücre
TIR: Toll interlökin reseptör
TLR: Toll like reseptör
TNF- α : Tümör nekroz faktör-alfa
Treg: Düzenleyici T hücre
VLCFA: Çok uzun zincirli yağ asidi
XthA: Ekzodeoksiribonükleaz III
°C: Santigrad derece
 μ l: Mikrolitre
 μ m: Mikrometre

8. TEŞEKKÜR

Bilimsel ve sosyal hayattaki engin bilgi ve deneyimleriyle beni aydınlatan, birçok konuda kendisini örnek aldığım, yol göstericiliği, motive edici yaklaşımı ve sonsuz desteğiyle her zaman yanımda olan değerli danışman hocam Prof. Dr. Ferah BUDAK'a,

Yüksek lisans eğitim hayatım boyunca değerli fikir ve görüşleri ile yol gösteren, manevi desteğini her zaman hissettiğim İmmünoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Haluk Barbaros ORAL'a,

Tez çalışmamda yer alan bruselloz vakalarına ait numunelerin toplanmasında yardımlarından ve göstermiş oldukları yakın ilgi ve destekten dolayı Prof. Dr. Emin Halis AKALIN, Dr. Öğr. Üyesi Nesrin DEMİR ve Pınar HIZ ELLERGEZEN'e

Araştırmanın istatistiksel analizlerinde yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Eren ÇAĞAN'a,

Proje deneylerimizde sabahlara kadar laboratuvarında, kabinde tam anlamıyla omuz omuza çalıştığım, deneyimlerine ve yaptığı işlere güvendiğim arkadaşım Arş. Gör. Abdurrahman ŞİMŞEK'e

Böyle bir ekiple çalıştığım için kendimi her zaman şanslı hissetmemi sağlayan, iyi niyetleri ve bilgi birikimleri ile her zaman yanımda olan başta Figen AYMAK ve Deniz GÜLKAYA olmak üzere tüm İmmünoloji Laboratuvarı çalışma arkadaşlarıma,

Gösterdikleri insanüstü fedakarlık ve hoşgörü ile bugünlere gelmemi sağlayan, desteklerini bir an olsun eksik etmeyen, haklarını asla ödeyemeyeceğim canım annem Fahriye KIZMAZ, babam Mahmut KIZMAZ, ablam Elif KIZMAZ YILDIZ ve ağabeyim Hamdi KIZMAZ'a

Sonsuz teşekkür eder ve saygılarımı sunarım.

Muhammed Ali KIZMAZ

Haziran 2021

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Muhammed Ali KIZMAZ

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu :

2018 - **Bursa Uludağ Üniversitesi**
Tıp-İmmünoloji Prog. Yüksek Lisans Eğitimi

2016 - 2017 **Bartın Üniversitesi**
Pedagojik Formasyon Eğitimi (Biyoloji)

2013 - 2017 **Bartın Üniversitesi**
Moleküler Biyoloji ve Genetik Lisans Eğitimi

Başarılar :

2020 **En İyi Poster Sunum Ödülü** (25. Ulusal İmmünoji Kongresi)
Budak F., Çagan E., Kızmaz M.A., Şimşek A., Dombaz F.,
Tezcan G..., Oral B. *COVID-19 enfeksiyonlarında regülatör B*
(Breg) hücrelerinin ve B hücre bitkinliğinin (exhaustion)
rolünün değerlendirilmesi

2020 **Sözlü Bildiri Birincilik Ödülü** (XIII. National/ I. International
Blood Banking and Transfusion Congress)
Bal S.H., Kızmaz M.A., Karaçay M., Budak F., Kumaş L.F.,
Heper Y., Oral H.B. *The impact of gamma irradiation on*
exosome profiles and electrolyte levels in aphresis thrombocyte
suspensions?

2017 **Bartın Üniversitesi**
Fen Fakültesi Birinciliği
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Birinciliği
Moleküler Biyoloji ve Genetik Yüksek Onur Öğrencisi

Bildiriler:

Sözlü Sunum

2020

25. Ulusal İmmünoloji Kongresi

Ermış D.Y., Dombaz F., **Kızmaz M.A.**, Şimşek A., Çagan E., Asan A., Bal H., Karaçay M., Ertü O., Karaca M., Arslan G., Pınar I.E., Bal S.H., Özkocaman V., Özkalemkaş F., Akalın E.H., Budak F., Oral H.B. *COVID-19 pozitif hastalarda matür monosit ve/veya nötrofil alt-tipleri ve immatür pmn-mdsc, m-mdsc ve/veya e-mdsc-benzeri alt-gruplarının incelenmesi ve hastalık düzeyi ile değişimlerin değerlendirilmesi*

2020

XIII. National/ I. International Blood Banking and Transfusion Congress

Bal S.H., **Kızmaz M.A.**, Karaçay M., Budak F., Kumaş L.F., Heper Y., Oral H.B. *The impact of gamma irradiation on exosome profiles and electrolyte levels in apheresis thrombocyte suspensions?*

Poster Sunum

2020

25. Ulusal İmmünoloji Kongresi

Kızmaz M.A., Hız Ellergezen P., Demir N., Çagan E., Akalın E.H., Oral H.B. ve Budak F. *İmmünomodülatör özellikteki aktivin-a, aktivin-b ve follistatin moleküllerinin brusellozdaki potansiyel rollerinin değerlendirilmesi*

Kızmaz M.A., Hız Ellergezen P., Demir N., Çagan E., Akalın E.H., Oral H.B., Budak F. *İmmün yanıtta rol oynayan scd40l, cd36, il-23 ve arginaz-1 moleküllerinin bruselloz patogeneziindeki potansiyel etkileri*

Kızmaz M.A., Çagan E., Şimşek A., Dombaz F., Tezcan G., Asan A., Demir H.I., Bal H., Ermış D.Y., Coşkun N.F., Akalın E.H., Oral H.B. ve Budak F. *Sitotoksik t lenfosit alt gruplarının COVID-19 hastalık şiddeti ile ilişkisi*

Kızmaz M.A., Aymak F., Oral H.B. ve Budak F. *HIV enfeksiyonu tedavisinde görülebilen aşırı duyarlılık reaksiyonlarıyla ilişkili HLA-B*57 serotipinin türkiye popülasyonunda ki prevalansı*

Budak F., Çagan E., **Kızmaz M.A.**, Şimşek A., Dombaz F., Tezcan G., Asan A., Bal H., Ermış D.Y., Demir H.I., Ediger D., Yılmaz E., Akalın E.H., Oral H.B. *COVID-19 enfeksiyonlarında*

regülatör B (Breg) hücrelerinin ve B hücre bitkinliğinin (exhaustion) rolünün değerlendirilmesi

Bal S.H., **Kızmaz M.A.**, Karaçay M., Budak F., Kumaş L.F., Heper Y., Ermiş D.Y., Can F.E., Koşay Gülkaya D., Oral H.B. *Gama-ışınlamanın aferez trombosit süspansiyonlarındaki eksozomlar üzerine etkisi*

Şimşek A., **Kızmaz M.A.**, Hız Ellergezen P., Bal H., Akalın E.H., Oral H.B., Yılmaz Ö., Budak F. *Brusellozlu hastalarda eksozom profilinin değerlendirilmesi*

Şimşek A., Çagan E., **Kızmaz M.A.**, Dombaz F., Tezcan G., Asan A., Demir H.I., Bal H., Ermiş D.Y., Demirdöğen E., Heper Y., Akalın E.H., Oral H.B. ve Budak F. *COVID-19 immünopatogeneğinde Th22, Tc22 ve Tc17 hücrelerinin önemi*

Çagan E., Şimşek A., **Kızmaz M.A.**, Dombaz F., Tezcan G., Asan A., Demir H.I., Bal H., Ermiş D.Y., Görek Dilektaşlı A., Kazak E., Akalın E.H., Oral H.B. ve Budak F. *CD39 ekspres eden t regülatör (treg) hücrelerinin, COVID-19 immünopatogenezindeki rolü*

Ermiş D.Y., Karaçay M., Etkü O., Karaca M., Arslan G., Dombaz F., **Kızmaz M.A.**, Şimşek A., Çagan E., Asan A., Pınar I.E., Bal S.H., Özkocaman V., Özkalemkaş F., Akalın E.H., Budak F., Oral H.B. *COVID-19 pozitif hastalardaki granülositik benzeri miyeloid kökenli baskılayıcı hücrelerin (pmn-mkbh) baskılama kapasite farklılıklarının araştırılması*

Ermiş D.Y., Arslan G., Karaçay M., Karaca M., Dombaz F., Etkü O., **Kızmaz M.A.**, Şimşek A., Çagan E., Asan A., Pınar I.E., Bal S.H., Özkocaman V., Özkalemkaş F., Akalın E.H., Budak F., Oral H.B. *COVID-19 pozitif hastaların farklı yaş grubu dağılımındaki hücre proliferasyonlarının değerlendirilmesi*

Ermiş D.Y., Etkü O., Dombaz F., Karaçay M., Pınar I.E., **Kızmaz M.A.**, Şimşek A., Çagan E., Asan A., Karaca M., Arslan G., Bal S.H., Özkocaman V., Özkalemkaş F., Akalın E.H., Budak F., Oral H.B. *SARS-CoV2 ilişkili immün yanıtta periferik kan miyeloid seri hücrelerinin olgunlaşma düzeyleri, reaktif oksijen türleri (ros) ve nitrik oksit (no) üretim kapasitesi*