

Şap hastalıklı koyunlarda serum nitrik oksit düzeyi ve adenozin deaminaz aktivitesinin araştırılması*

Gül Fatma YARIM¹, Cevat NİSBET¹, Sena ÇENESİZ¹, Aydın COŞKUNER²

¹ Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Samsun;

² Şap Enstitüsü Müdürlüğü, Virus Kültürü ve Aşı Hazırlama Laboratuvarı, Ankara.

Özet: Bu çalışmanın amacı, koyunlarda şap hastalığının serum nitrik oksit (NO) düzeyi ve adenozin deaminaz (ADA) aktivitesi üzerine etkilerini ve bu parametreler ile kan lenfosit ve monosit sayıları arasındaki ilişkileri incelemektir. Çalışmada 2-3 yaşlı 40 adet şap hastalığı virusu ile enfekte ve 20 adet klinik olarak sağlıklı koyun kullanıldı. Koyunların vena jugularisinden antikoagulanlı ve antikoagulanlı tüplere kan örnekleri toplandı. Antikoagulanlı tüpteki kan örneğinde kan sayım cihazı ile lenfosit ve monosit sayımı yapıldı. Antikoagulanlı tüpteki kanlar santrifüj edilerek serumları çıkarıldı. Serumda NO düzeyi enzimatik Greiss yöntemi, ADA aktivitesi Bertholet reaksiyonu ile spektrofotometrik olarak ölçüldü. Hastalıklı ve sağlıklı koyunlarda, serum NO düzeyleri ile ADA aktiviteleri, sırası ile, $40.0 \pm 7.3 \mu\text{mol/L}$ ve $17.2 \pm 4.0 \mu\text{mol/L}$, $17.6 \pm 4.1 \text{ U/L}$ ve $10.2 \pm 2.1 \text{ U/L}$ olarak belirlendi. Şap hastalıklı koyunlarda serum nitrik oksit düzeyi ile adenozin deaminaz enzim aktivitesi sağlıklı gruba göre önemli derecede yüksek bulundu ($p < 0.001$). Kandaki lenfosit ve monosit sayıları ($\times 10^3/\mu\text{L}$) hastalıklı koyunlarda, sırasıyla, 29.3 ± 8.9 ve 9.6 ± 3.3 , sağlıklı koyunlarda ise 4.0 ± 0.4 ve 1.1 ± 0.5 olarak ölçüldü. Hastalıklı koyunların kan lenfosit ve monosit sayıları ile sağlıklı koyunlarınki arasında $p < 0.001$ düzeyinde önemli farklılık olduğu belirlendi.

Bu sonuçların yanında, hastalıklı koyunlarda serum NO düzeyi, ADA aktivitesi, kan lenfosit ve monosit sayıları arasında önemli düzeyde pozitif ilişkiler olduğu belirlendi. Sonuç olarak, şap hastalıklı koyunlarda serum NO ve ADA düzeylerindeki artışın, uyarılmış hücre aracılı bağışıklık sistemi ile ilgili olduğu ve bu parametrelerin şap hastalığının tanısında yardımcı olarak kullanılacağı kanaatine varıldı.

Anahtar sözcükler: Adenozin deaminaz, koyun, nitrik oksit, serum, şap hastalığı.

The investigation of the effect of foot and mouth disease on nitric oxide levels and adenosine deaminase activity in sheep

Summary: The aim of this study is to investigate the effects of foot and mouth disease on serum nitric oxide (NO) levels and adenosine deaminase (ADA) activity and correlations between these parameters and blood lymphocyte and monocyte numbers in sheep. 2-3 years old 40 sheep with foot and mouth disease and 20 sheep with healthy were used in the study. Blood was collected from jugular vein into the with and without-anticoagulant tubes from sheep. Lymphocyte and monocyte counts were made in with anticoagulant tubes by cell-counter. Serum was removed from without-anticoagulant by centrifugation. Serum NO level was measured by enzymatic Greiss, ADA activity by Bertholet reaction by spectrophotometrically. Serum NO levels and ADA activities were determined as $40.0 \pm 7.3 \mu\text{mol/L}$ and $17.2 \pm 4.0 \mu\text{mol/L}$, $17.6 \pm 4.1 \text{ U/L}$ and $10.2 \pm 2.1 \text{ U/L}$, respectively. Serum NO levels and ADA activities were found to be significantly higher in sheep with foot and mouth disease compared to healthy ($p < 0.001$). Blood lymphocyte and monocyte numbers determined as 29.3 ± 8.9 and 9.6 ± 3.3 , 4.0 ± 0.4 and 1.1 ± 0.5 in sheep with disease and healthy, respectively. It was found significant differences at level of the $p < 0.001$ between lymphocyte and monocyte numbers of disease sheep and healthy. Besides, positive correlations were determined between NO level, ADA activity and blood lymphocyte and monocyte numbers. In conclusion, it is thought that an increase in serum levels of NO and ADA is most likely related to induced cell-mediated immune response and such parameters may serve as helpful diagnostic tool in foot and mouth disease.

Key words: Adenosine deaminase, foot and mouth disease, nitric oxide, serum, sheep.

Giriş

Şap hastalığı, sığır, koyun, keçi, domuz ve manda gibi çift tırnaklı hayvanlara özgü, oldukça bulaşıcı ve zoonotik karaktere sahip viral bir enfeksiyondur. Etkili aşılamalara rağmen, dünyanın gelişmekte olan pek çok ülkesinde etkilerini sürdüren şap hastalığı, hayvanların uluslararası taşınmasını ve hayvansal üretimi olumsuz

yönde etkileyerek büyük ekonomik kayıplara sebep olur (18, 23). Şap hastalığına karşı korunmada, antikorların rol aldığı ileri sürülmüşse de (32), son yıllarda yapılan immunolojik çalışmalar sonucunda hücre aracılı bağışıklık cevaplarının, özellikle de T-hücre cevabının önemli olduğu ortaya konmuştur (6, 15, 20). Virus ile enfeksiyonu ya da aşılamaı takiben, CD4+ ve CD8+ hücreleri

* Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: Vet-024).

içeren spesifik T-hücre aracılı antiviral cevapların şekillendiği ve virusun organizmadan uzaklaştırılmasında hücre-aracılı bağışıklığın rol aldığı rapor edilmiştir (5, 24).

Nitrik oksit (NO), vücutta hem fizyolojik hem de patolojik olaylara aracılık eden serbest bir radikaldir ve vücutta endojen olarak nitrik oksit sentetaz (NOS) katalizörülüğünde L-arjininden sitrulin oluşumu sırasında üretilir (19). Makrofajlar, nötrofiller ve mast hücreleri NO'ı çok miktarda üretirler ve nitrik oksidin kaynağı, spesifik olmayan savunma mekanizması olup, antimikrobiyal ve antitümöral etkiye sahiptir (25). NO hem yangı öncesi hem de yangı önleyici etkiye sahiptir (19). Antimikrobiyal, yangı önleyici, hücre koruyucu ve hücre öldürücü fonksiyonlara sahip olan NO, organizmada bakteriyel, viral, paraziter veya fungal bir enfeksiyon şekillendiğinde aşırı miktarlarda üretilir (1, 10, 17, 21, 28).

ADA vücudun tüm dokularında bulunmasına rağmen, çoğunlukla T-lenfositlerde bulunur (29). ADA'nın başlıca fizyolojik aktivitesi lenfositlerin çoğalması ve farklılaşmasıdır. ADA aktivitesindeki düşüklüğün, bağışıklık cevaplarında yetersizliğe neden olduğu bildirilmiştir (12). Bu enzimin serum aktivitesinin, hücre-aracılı bağışıklık cevabının uyarıldığı, insanların salmonellozis, brusellozis, tokzoplazmozis, viseral leishmanioz, riketsiya ve enfeksiyöz mononükleozis hastalıkları (11, 30) kedilerin enfeksiyöz peritonitis (16) ve sığırların lökoz (33) hastalıklarında önemli oranda arttığı bildirilmiştir.

Bu çalışmanın amacı, şap hastalıklı koyunlarda serum nitrik oksit düzeyi ve adenozin deaminaz aktivitesinin incelenmesi ve bu parametreler ile kan lenfosit ve monosit sayıları arasındaki ilişkilerin ortaya konulmasıdır.

Materyal ve Metot

Kan örneklerinin alınması ve analizler için hazırlanması

Çalışmanın materyalini 40 adet şap hastalıklı ve 20 adet klinik olarak sağlıklı olmak üzere toplam 60 adet Karayaka ırkı koyun oluşturdu. Şap hastalığının klinik bulgularını gösteren ve alınan marazi maddelere Şap Enstitüsü Müdürlüğü'nde yapılan tip tayinleri ile şap hastalıklı olduğu doğrulanan 40 adet koyun deneme grubunu, klinik yönden sağlıklı olduğu belirlenen 20 adet koyun kontrol grubunu oluşturdu. Koyunların vena jugularislerinden bir örnek antikoagulanlı ve bir örnek antikoagulanlı tüplere olmak üzere iki örnek kan alındı. Antikoagulanlı kan örneklerinde hemen kan sayım cihazı (Ermax-18, Erma Inc., Japan) kullanılarak lenfosit ve monosit sayıları belirlendi. Antikoagulanlı tüpler 3000 rpm'de +4°C'da 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra tüplerin üst kısmındaki berrak kan serumları mikrosantrifüj tüplerine alınarak, NO ve ADA analizleri yapılmaya kadar -20°C'da muhafaza edildi. Serumlar analizler yapılmadan önce laboratuvar sıcaklığına getirildi ve analizler her bir örnek için iki kez tekrar edilip sonuçların ortalaması alındı.

Nitrik oksit düzeyinin ölçümü

Koyunların kan serumlarında nitrik oksit düzeyleri, enzimatik Greiss yöntemine göre, total nitrit düzeylerinin endojen NO üretiminin indeksi olarak kabul edilmesi nedeniyle total nitrit olarak ölçüldü (7).

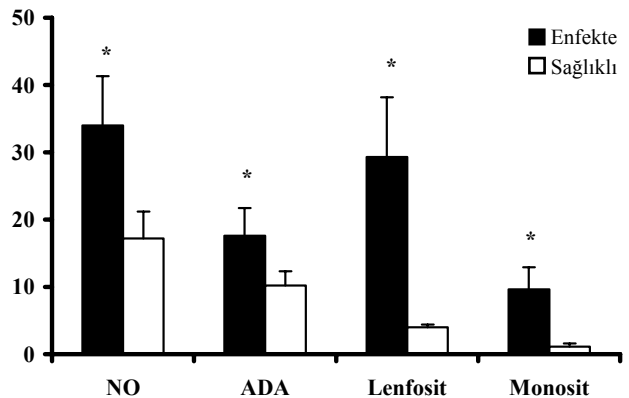
Adenozin deaminaz aktivitesinin ölçümü

Serum örneklerinde ADA aktivite düzeyini saptamak amacıyla modifiye Bertholet reaksiyonuna dayanan Giusti yöntemi kullanıldı (14).

Analiz sonuçlarının istatistik değerlendirmesinde one-way ANOVA testinden yararlandı (26). Enfekte koyunlarda serum NO düzeyi ve ADA aktivitesi ile kan lenfosit ve monosit sayısı arasındaki ilişkiler Pearson korelasyon analizi ile incelendi. $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Deneme ve kontrol grubundaki koyunların serum NO düzeyleri ve ADA aktivitesine ait verilerin karşılaştırması Şekil 1'de sunuldu. Serum NO düzeyleri ($\mu\text{mol/L}$) şap hastalıklı ve sağlıklı koyunlarda, sırası ile, 40.0 ± 7.3 (22.3-50.8) ve 17.2 ± 4.0 (11.4-25.8) olarak ölçüldü. İki grubun NO düzeyleri arasındaki farklılığın istatistiksel olarak $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı olduğu belirlendi. ADA aktivitesinin (U/L) hastalıklı koyunlarda 17.6 ± 4.1 (13.0-33.4), sağlıklı koyunlarda ise 10.2 ± 2.1 (7.1-14.6) olduğu saptandı. Hastalıklı koyunların serum ADA aktivitesinin sağlıklı koyunlara göre oldukça yükselmiş olduğu gözlemlendi ($p < 0.001$). Kandaki lenfosit ve monosit sayılarının şap hastalıklı koyunlarda, sırasıyla, 29.3 ± 8.9 (16.8-44.7) $\times 10^3/\mu\text{L}$, 9.6 ± 3.3 (4.8-16.8) $\times 10^3/\mu\text{L}$, sağlıklı koyunlarda ise 4.0 ± 0.4 (3.1-4.6) $\times 10^3/\mu\text{L}$, 1.1 ± 0.5 (0.40-1.7) $\times 10^3/\mu\text{L}$ olduğu anlaşıldı. Şap hastalıklı koyunların kan lenfosit ve monosit sayılarının, sağlıklı koyunlarınkinden $p < 0.001$ düzeyinde yüksek olduğu anlaşıldı. Serum NO düzeyi, ADA aktivitesi,



Şekil 1. Enfekte (n=40) ve sağlıklı (n=20) koyunlarda serum NO ($\mu\text{mol/L}$), ADA (U/L), lenfosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$) ve monosit değerleri (one-way ANOVA, *: $p < 0.001$).

Figure 1. Serum NO, ADA, lymphocyte and monocyte values in sheep with foot and mouth disease (n=40) and healthy (n=20) (one-way ANOVA, *: $p < 0.001$).

Tablo 1. Şap hastalıklı koyunlarda (n=40) serum NO ve ADA düzeyleri ile kan lenfosit ve monosit sayıları arasındaki ilişkiler.
Table 1. Correlations between serum NO and ADA levels and blood lymphocyte and monocyte numbers in sheep with foot and mouth disease (n=40).

	NO (µmol/)	ADA (U/L)	Lenfosit (x10 ³ /µL)	Monosit (x10 ³ /µL)
NO (µmol/)	1.000	0.338*	0.387*	0.376*
ADA (U/L)	0.338*	1.000	0.851**	0.847**
Lenfosit (x10 ³ /µL)	0.387*	0.851**	1.000	0.991*
Monosit (x10 ³ /µL)	0.376*	0.847**	0.991**	1.000

** : p<0.01, * : p<0.05.

kan lenfosit ve monosit sayıları arasında pozitif ilişkiler bulunduğu saptandı (Tablo 1). Şap hastalıklı koyunlarda, serum NO düzeyi ile ADA aktivitesi arasında p<0.05 (r=0.338), lenfosit sayısı arasında p<0.05 (r=0.387), monosit sayısı arasında ise p<0.05 (r=0.376) düzeyinde pozitif bir ilişki olduğu saptandı. Serum ADA aktivitesi ile kan lenfosit ve monosit sayıları arasında sırası ile p<0.01 (r=0.851), p<0.01 (r=0.847) düzeyinde anlamlı bir pozitif ilişki belirlendi.

Tartışma ve Sonuç

Gıda, giyim ve deri gibi hayvansal ürünleri işleyen sanayi dallarına hammadde sağlayan koyunlar ülke ekonomisi için oldukça değerli hayvanlardır (2). Türkiye’de yıllık et üretiminin % 4.35’i ve süt üretiminin % 13.10’u koyunlardan elde edilmektedir (8). Şap hastalığına yakalanan koyunlarda et, süt ve yapağı veriminde azalma ve özellikle genç hayvanlarda akut miyokarditis nedeniyle ani ölümler şekillenerek ülke ekonomisinde büyük ekonomik kayıplar olmaktadır (9). Bu hastalığa karşı konak savunmasında özellikle monositleri ve makrofajları içeren hücre aracılı bağışıklığın ve T-hücre bağımlı cevapların önemli rol aldığı bildirilmiştir (6, 31).

Nitrik oksit derişimine ve salındığı bölgeye göre yangıyı uyarıcı ya da yangı önleyici etkilere sahip olan bir moleküldür (19). Enfeksiyonda, lökositlerin ve özellikle de makrofajların çok miktarda NO sentezlediği ortaya konmuştur (25). Septik şokta (27) malarya (3) hastalığında perifer kanda, tüberkülozda bronko-alveolar sıvıda (22) NO üreten lökositlerin varlığı saptanmıştır. Bu çalışmalar, enfeksiyon nedeni ile uyarılan lökositlerin NO ürettiğini desteklemektedir. Bizim çalışmamız sonucunda da, şap hastalıklı koyunların serum NO düzeyleri, sağlıklı koyunları ile kıyaslandığında anlamlı düzeyde yüksek bulundu (p<0.001). Şap hastalıklı koyunlarda serum NO düzeyindeki artışın, bu hastalıkta aktive olan makrofajlar tarafından üretildiği düşünülebilir. Ayrıca serum NO düzeyi ile serum ADA aktivitesi ve kan lenfosit ve monosit sayıları arasında da pozitif bir ilişki olduğu belirlendi (p<0.05). Yapılan çalışmalar ile, virus, bakteri, protozoa ve parazit etkisi ile uyarılan makrofajların NO üreterek, bu etkenlerin üzerine öldürücü etki yaptığı ve konak savunmasında önemli rol aldığı rapor edilmiştir (1, 10, 17, 21, 25).

Serum ADA aktivitesi, ADA-1 ve ADA-2 izoenzimlerinin aktivitesinin toplamıdır. ADA-1 tüm dokularda ve çoğunlukla da lenfoid dokuda bulunur ve lenfosit çoğalması ve farklılaşması ile ilgili olup, bağışıklık cevaplarının yeterliliği için gereklidir (30). ADA-2’nin ana kaynağı ise monosit-makrofaj hücre sistemidir ve fizyolojik fonksiyonu ADA-1 ile birlikte monositlerde deoksiadenozin derişimini etkileyerek, patojenik organizmalara karşı yeterli savunma cevabını sağlamaktır (12). Antiviral konakçı savunmasında monositlerin önemli görev aldığı bilinir (4). Bu çalışma sonucunda, şap hastalıklı koyunlarda serum ADA aktivitesinin sağlıklı koyunlara göre önemli düzeyde (p<0.001) yükselmiş olduğu belirlendi. ADA’nın başlıca fizyolojik aktivitesi lenfositlerin çoğalması ve farklılaşmasıdır. Hücresel bağışıklığın göstergesi olan bu enzimin lenfositlerdeki aktivitesi, hücre-aracılı bağışıklık cevabının uyarıldığı hastalıklarda önemli oranda artar (13). Yasuda ve ark. (33), sığırlarda serum ADA ölçümlerinin, lenfositosis ile karakterize subklinik olguların teşhisinde bir belirteç olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Ungerer ve ark. (31), tifolu hastalarda serum ADA-2 aktivitesinden monosit-makrofaj aktivitesinin bir belirleyicisi olarak faydalanılabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bizim çalışmamızda, şap hastalıklı koyunlarda serum ADA aktivitesi ile kan lenfosit ve monosit sayıları arasında güçlü bir pozitif ilişkinin bulunması, şap hastalığı nedeni ile hücre aracılı bağışıklığın uyarıldığının göstergesidir. Bu sonuçlar, şap gibi viral hastalıklarda, lenfositik yanıtın uyarılmasında ADA aktivitesinin önemli olduğunu göstermektedir. Yükselen ADA aktivitesinin, enfeksiyon nedeniyle lenfosit artışının bir sonucu olabileceği ve artan ADA aktivitesinin ise lenfositik yanıtı güçlendireceği düşünülmektedir. Buna ek olarak, enfekte koyunlarda yükselmiş serum ADA aktivitesine, ADA-2 nin kaynağı olan monosit-makrofaj hücre sisteminin, şap hastalığı virusuna maruz kalması sonucunda uyarılmasının da katkıda bulunduğu ileri sürülebilir.

Sonuç olarak, şap hastalıklı koyunlarda serum NO ve ADA düzeylerindeki artışın, hücre aracılı bağışıklık sisteminin uyarılması ile ilgili olduğu ve serum NO ve ADA ölçümlerinin şap hastalığının izlenmesinde ve hastalığın meydan getirebileceği etkilerin takibinde yardımcı olacak laboratuvar analizleri arasında kullanılabileceği kanaatine varıldı.

Kaynaklar

1. **Akaike T, Noguchi Y, Ijiri S, Setoguchi K, Suga M, Zheng YM, Dietzschold B, Maeda H** (1996): *Pathogenesis of influenza virus-induced pneumonia: involvement of both nitric oxide and oxygen radicals*. Proc Natl Acad Sci USA, **93**, 2448–2453.
2. **Akçapınar H** (2000): *Koyun Yetiştiriciliği*. Yenilenmiş 2. Baskı, İsmat Matbaacılık, Ankara.
3. **Anstey NM, Weinberg JB, Hassanali MY, Mwaikambo ED, Manyenga D, Misukonis MA, Arnelles DR, Hollis D, McDonald MI, Granger DL** (1996): *Nitric oxide in Tanzanian children with malaria: inverse relationship between malaria severity and nitric oxide production/nitric oxide synthase type 2 expression*. J Exp Med, **184**, 557-567.
4. **Bubfeld D, Kaufmann A, Meyer RG, Gemsa D, Sprenger H** (1998): *Differential mononuclear leukocyte attracting chemokine production after stimulation with active and inactivated influenza A virus*. Cell Immun, **186**, 1-7.
5. **Childerstone AJ, Cedillo-Baron L, Foster-Cuevas M, Parkhouse RM** (1999): *Demonstration of bovine CD8+ T-cell responses to foot-and-mouth disease virus*. J Gen Virol, **80**, 663–669.
6. **Collen T** (1994): *Foot-and-mouth disease virus (aphthovirus): Viral T cell epitopes*. 173-197. In: BML Goddevis, I Morrison (Eds), Cell Mediated Immunity in Ruminants. CRC Press Inc, Boca Raton.
7. **Cortas NK, Wakid NW** (1990): *Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium reduction method*. Clin Chem, **36**, 1440-1448.
8. **DiE** (2004): *Genel Tarım Sayımı*. T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü Matbaası, Ankara.
9. **Dinter Z, Morein B** (1990): *Virus Infections of Ruminants*. Elsevier Science Publishers B.V., New York, p. 506-508.
10. **Elahi S, Pang G, Ashman RB, Clancy R** (2001): *Nitric oxide-enhanced resistance to oral candidiasis*. Immunology, **104**, 447-454.
11. **Gakis C** (1996): *Adenosine deaminase (ADA) isoenzymes ADA1 and ADA2: diagnostic and biological role*. Eur Respir J, **9**, 632-633.
12. **Gakis C, Cappio-Borlino A, Pulina G** (1998): *Enzymes (isoenzyme system) as homeostatic mechanisms the isoenzyme (ADA2) of adenosine deaminase of human monocytes-macrophages as a regulator of the 2'deoxyadenosine*. Biochem Mol Biol Int, **46**, 487-494.
13. **Galanti B, Nardiello S, Russo M, Fiorentino F** (1981): *Increased lymphocyte adenosine deaminase in typhoid fever*. Scand J Infect Dis, **13**, 47-50.
14. **Giusti G** (1974): *Adenosine deaminase*. In: HU Bergmeyer (Ed), Methods of Enzymatic Analysis. Academic Press, New York.
15. **Grubman MJ, Baxt B** (2004): *Foot-and-mouth disease*. Clin Microbiol Rev, **17**, 465-493.
16. **Hirschberger J, Koch S** (1995): *Validation of the determination of the activity of adenosine deaminase in the body effusions of cats*. Res Vet Sci, **59**, 226-229.
17. **James SL** (1995): *Role of nitric oxide in parasitic infection*. Microb Rev, **59**, 533–547.
18. **Kitching RP** (1998): *A recent history of foot-and-mouth disease virus*. J Comp Pathol, **118**, 89-108.
19. **Mayer B, Hemmens B** (1997): *Biosynthesis and action of nitric oxide in mammalian cells*. Trends Biochem Sci, **22**, 477–481.
20. **McCullough KC, de Simone F, Brocchi E, Capucci L, Crowther JR, Kihm U** (1992): *Protective immune response against foot-and-mouth disease virus*. J Virol, **66**, 1835-1840.
21. **Moncada S, Palmer RM, Higgs EA** (1991): *Nitric oxide physiology, pathophysiology and pharmacology*. Pharmacol Rev, **43**, 109–142.
22. **Nicholson S, Bonecini-Almeida Mda G, Lapa e Silva JR, Nathan C, Xie QW, Mumford R, Weidner JR, Calaycay J, Geng J, Boechat N, Linhares C, Rom W, Ho JL** (1996): *Inducible nitric oxide synthase in pulmonary alveolar macrophages from patients with tuberculosis*. J Exp Med, **183**, 2293-2302.
23. **Pereira HG** (1981): *Foot-and-mouth disease*. 333-336. In: EPJ Gibbs (Ed), Virus Disease of Food Animals. Academic Press, New York.
24. **Saiz JC, Rodriguez A, Gonzalez M, Alonso F, Sobrino F** (1992): *Heterotypic lymphoproliferative response in pigs vaccinated with foot-and-mouth disease virus. Involvement of isolated capsid proteins*. J Gen Virol, **73**, 2601–2607.
25. **Schoedon G, Schneemann M, Walter R, Blau N, Hofer S, Schaffner A** (1995): *Nitric oxide and infection: another view*. Clin Infect Dis, **2**, 152-157.
26. **Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V** (2000): *Biyoistatistik*. Hatipoğlu yayınları. 9. Baskı. Ankara.
27. **Tsukahara Y, Morisaki T, Horita Y, Torisu M, Tanaka M** (1998): *Expression of inducible nitric oxide synthase in circulating neutrophils of the systemic inflammatory response syndrome and septic patients*. World J Surg, **22**, 771-777.
28. **Umezawa K, Akaike T, Fuji S, Suga M, Setoguchi K, Ozawa A, Maeda H** (1997): *Induction of nitric oxide synthesis and xanthine oxidase and their roles in the antimicrobial mechanism against Salmonella typhimurium infection in mice*. Infect Immun, **65**, 2932–2940.
29. **Ungerer JP, Burger HM, Bissbort SH, Vermaak WJ** (1996): *Adenosine deaminase isoenzymes in typhoid fever*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, **15**, 510-512.
30. **Ungerer JP, Oosthuizen HM, Bissbort SH, Vermaak WJ** (1992): *Serum adenosine deaminase: isoenzymes and diagnostic application*. Clin Chem, **38**, 1322-1326.
31. **Usherwood EJ, Nash AA** (1995): *Lymphocyte recognition of picornaviruses*. J Gen Virol, **76**, 499-508.
32. **van Bekkum JG** (1969): *Correlation between serum antibody level and protection against challenge with FMD*. Session of Research Group of the standing Technical Committee of the European Commission for the Control of Foot and Mouth Disease, Brescia, Italy.
33. **Yasuda J, Tanabe T, Hashimoto A, Too K** (1996): *Adenosine deaminase (ADA) activity in tissues and sera from normal and leukaemic cattle*. Br Vet J, **152**, 485-488.

Geliş tarihi: 12.12.2005 / Kabul tarihi: 27.01.2006

Yazışma adresi

Yrd.Doç.Dr.Gül Fatma Yarım
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı
Kurupelit, Samsun