

## ***Enterococcus faecalis* ile Enfekte Edilen Yumurtacı Piliçlerde A Vitamini'nin Amiloid Artropati Oluşumunu Artırıcı Etkisi**

Alper SEVİMLİ, Deniz MISIRLIOĞLU  
Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Bursa - TÜRKİYE  
Cüneyt ÖZAKIN  
Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Bursa - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 21.06.2002

**Özet:** Bu raporda kahverengi yumurtacı piliçlerde A vitamini'nin amiloid artropati oluşumu üzerine artırıcı etkisi bildirilmektedir. Çalışmada 36 dişi, 36 erkek piliç kullanıldı. Piliçler üç gruba ayrılarak çalışma süresince, birinci gruptakiler (A vitamini grubu) yüksek düzeyde (75.000 İ.U/kg) A vitaminiyle yemle, ikinci (Pozitif kontrol grubu) ve üçüncü (Negatif kontrol grubu) gruptakiler ise normal düzeyde A vitaminiyle yemle beslendi. Çalışmanın beşinci haftasında birinci ve ikinci gruplarda amiloid artropati oluşturmak amacıyla  $10^9$  cfu/ml *Enterococcus faecalis* (0,25 ml), üçüncü grupta ise negatif kontrol olması amacıyla NaCl (% 0,9) enjeksiyonları (0,25 ml) tüm civcivlerin sol tibio-metatarsal eklemine uygulandı. Çalışmanın sonunda gruplar amiloid artropati oluşum oranı ve dokulardaki amiloid birikiminin şiddeti bakımından karşılaştırıldı. Sonuç olarak; amiloid artropati oluşumuna A vitamini, pozitif ve negatif kontrol gruplarında sırasıyla 19/20 (% 95), 18/24 (% 75) ve 0/24 (% 0) oranlarında rastlandı ve gruplar arası farklar istatistiki olarak önemli bulundu ( $P < 0,01$ ). Ayrıca A vitamini grubunda şiddetli olgu sayısı 8/20 (% 42,1) iken, pozitif kontrol grubunda şiddetli birikimin hiç gözlenmemesi de anlamlı ( $P < 0,05$ ) bulundu. Bu veriler ışığında; yemlerle yüksek düzeyde A vitamini alınmasının *E. faecalis* ile indüklenmiş kahverengi yumurtacı piliçlerde amiloid artropati oluşum oranını ve şiddetini artırdığı sonucuna varıldı.

**Anahtar Sözcükler:** Amiloid artropati, A vitamini, yumurtacı piliç.

### **The Enhancing Effect of Vitamin A on the Occurrence of Amyloid Arthropathy in Laying Chickens Infected with *Enterococcus faecalis***

**Abstract:** The enhancing effect of vitamin A on the occurrence of amyloid arthropathy in Brown layer chickens is reported. In this study, 36 female and 36 male chickens were used. The chickens were allocated into 3 groups. Group I (Vitamin A group) was fed a diet which contained high levels of Vitamin A (75,000 I.U/kg), whereas group II (positive control) and group III (negative control) were fed a diet containing normal levels of vitamin A. In the fifth week of the experiment *Enterococcus faecalis* ( $10^9$  cfu/ml) was injected into the left femoro-tibial joint in groups I and II (in order to produce amyloid arthropathy) and 0.9% NaCl (0.25 ml) in group III. At the end of the study, the amyloidosis occurrence rates and the severity of amyloid accumulation were compared. The occurrence of amyloid arthropathy in the vitamin A, the positive control and the negative control groups was 19/20 (95%), 18/24 (75%) and 0/24 (0%), respectively, and the differences among the groups were statistically significant ( $P < 0,01$ ). Severe amyloid accumulation was observed in 8/20 (42.1%) chickens in the vitamin A group, while no severe accumulation was found in the positive control group ( $P < 0,05$ ). In conclusion, these data showed that high levels of vitamin A in the diet can enhance the occurrence and the severity of amyloid arthropathy induced with *E. faecalis* in Brown layer chickens.

**Key Words:** Amyloid arthropathy, Vitamin A, layer chicken.

### **Giriş**

Amiloid maddesinin dokularda birikmesine amiloidozis denir. Birçok organ ve sistemi etkileyen sistemik amiloidoz, primer (AL = immunglobulin light chain amyloid) ve sekonder (AA = amyloid protein A) tip amiloidozis olarak ikiye ayrılmaktadır. AL amiloidozis herhangi bir hastalıkla ilişkili olmaksızın lenf yumruları, gastrointestinal kanal ve kardiyovasküler sistemde

amiloid toplanmasıdır. Böyle amiloid birikimleri, bozuk immunglobülin üretiminin bir sonucudur. AA amiloidozis ise tüberküloz, osteomyelitis ve metritis gibi uzun süren kronik enfeksiyonlardan sonra iç organlarda amiloid birikimi ile karakterizedir. En sık biriktiği organlar dalak, karaciğer, böbrekler ve böbrek üstü bezleridir (1,2). "Amiloid artropati" amiloidozisin özel bir formu olup, eklemlerde amiloid birikimi ile karakterizedir. İnsanlarda,

kronik hemodiyaliz hastalarının karpal dokularında ve eklemlerinde (3,4), multiple miyeloma'lı hastaların periartiküler dokularında ve sinoviyal sıvılarında (5,6) AL tip amiloid birikimi gözlemlenmektedir. Ayrıca eklem kapsülleri ve kıkırdakta artan yaşla ilişkili olarak amiloid birikimleri de bildirilmiştir (7,8). AA tip amiloidozisin artiküler yerleşimi ise ne insan ne de hayvanlarda yaygın değildir. Buna karşılık araştırmacılar (9-11) son yıllarda tavuklarda AA tip amiloidozisin artiküler yerleşimine dikkat çekmektedirler. AA amiloid artropati, tavuklar dışında sadece romatoid artrit bulguları bulunan iki köpekte (12) ve iki fare türünde (5,13) rapor edilmiştir. AA amiloidozisin oluşumunda kronik enfeksiyonlar, yangısel durumlar, tümör oluşumları ve çeşitli predispoze kılıcı faktörlerin etkili olduğu sanılmaktadır (1,14). Fiziksel stres, viral hastalıklar ve bakteriyel enfeksiyonlar gibi durumlarda, serum amiloid A (SAA) düzeyinin yükseldiği ve dokularda parçalanıp çökerek spesifik amiloid fibrillerini oluşturduğu bildirilmektedir (14-17). SAA'nın başlıca yapım yeri karaciğer olmakla birlikte ekstrahepatik olarak (fibroblastlar, monositler ve sinoviyal hücrelerden) da üretilebilmektedir (18-20). Örneğin romatoid artrit ve diğer artrit olgularında eklem dokusundaki sinoviyal hücrelerden SAA'nın biyosentezi yüksek oranda teşvik edilmektedir (20,21). Amiloidozisin oluşumunda immun sistemin etkili bir rolü olduğu düşünülmektedir. SAA'nın hepatik ve ekstrahepatik sentezinin interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor (TNF $\alpha$ ) ve macropahage colony stimulating factor (M-CSF) gibi çeşitli sitokinler tarafından artırıldığı bildirilmektedir (21-23). Ayrıca SAA'nın parçalanmasında ve dokularda çökmesinde çeşitli serine proteinase'ların da etkili olduğu bildirilmiştir. SAA'nın parçalanmasının muhtemelen doku makrofajlarının hücre yüzeyleri etrafında geliştiği belirtilmektedir. Özellikle nötrofillerin azurofil granüllerinde ve daha az miktarda da monositlerde bulunan proteazların prekürsör proteinleri parçalayıp amiloid fibrillerinin oluşumunda önemli role sahip oldukları düşünülmektedir (24-26).

A vitamininin immun sistemi indükleyici rolü bugüne kadar yapılan çok sayıdaki çalışma ile kanıtlanmıştır (27-31). Bu konuda yapılan çeşitli çalışmalar sonunda A vitamininin nötrofil, makrofaj ve lenfosit gibi immun sistem hücrelerinin fonksiyonunu artırdığı ve çeşitli sitokinlerin salgılanmasını indüklediği bildirilmektedir (32-37).

Patomorfolojisine ve epidemiyolojisine yönelik yapılmış sayısız çalışmalara rağmen amiloidozisin patogenezi hakkındaki bilgiler hala yeterli değildir (23). Bu çalışmada, A vitamininin immun sistem üzerindeki ve immun sistemin de amiloidozis oluşumu üzerindeki etkilerinden yola çıkarak, yüksek düzeyde A vitaminli yemlemenin *Enterococcus faecalis* ile indüklenen amiloid artropati oluşumu üzerinde artırıcı bir etkisinin bulunup bulunmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metot

Bu çalışmada, çeşitli araştırmacılar (38,39) tarafından amiloid oluşumuna daha yatkın oldukları bildirilen, kahverengi yumurtacı (Isabrown) piliçler (72 adet) kullanıldı. Cinsiyetin amiloid oluşumu üzerindeki etkisinin de araştırılması amacıyla çalışma materyalinin yarısını dişi, yarısını da erkek piliçler oluşturdu. Piliçler 1 günlük iken alındı ve 24'er hayvandan oluşan 3 gruba ayrıldı. Ancak çalışmanın ilk haftasında I. grupta bulunan civcivlerden dört tanesi öldü. Bu nedenle bu gruptaki denek sayısı 20'ye düştü.

Çalışma süresince rutin aşılama programı çerçevesinde hayvanlara; 4. ve 21. günlerde Newcastle (Hipraviar-clon), 10. ve 17. günlerde Gumboro (Hipragumboro-Bp12), ve 35. günde İnfeksiyöz bronşitis (Hipraviar) aşılı uygulandı.

Çalışmanın başından sonuna kadar I. gruptaki (A vitamini grubu) piliçlere yüksek oranda (75.000 IU/kg) A vitamini içeren civciv büyütme yemi verilirken, II. (pozitif kontrol) ve III. (negatif kontrol) gruptakiler normal düzeyde A vitamini (5000 IU/kg) içeren ticari civciv büyütme yemi ile beslendiler.

Çalışmada, daha önce sahadaki amiloid artropati olgularından izole edilmiş (9) ve birçok deneysel çalışmada (10,11,40) piliçlerde amiloid artropati oluşturduğu kanıtlanmış olan amiloidojenik ve artropatik *E. faecalis* 6085.94 no'lu suş kullanıldı. Animal Health Service Center (Deventer, Hollanda) tarafından liyofilize halde gönderilen suş Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında  $10^9$  cfu/ml olacak şekilde sulandırılarak enjeksiyona hazır hale getirildi.

Beşinci haftanın sonunda I. ve II. gruptaki piliçlere amiloid artropati oluşturmak amacıyla sol tibio-metatarsal eklem içerisine  $10^9$  cfu/ml *E. faecalis* 6085,94 (0,25 ml) enjekte edilirken, III. gruptaki civcivlerin sol tibio-

metatarsal eklemlerine 0,25 ml % 0,9'luk NaCl solusyonu enjekte edildi (10). Piliçler enjeksiyonu takiben beş hafta süreyle gözlem altında tutuldu ve daha sonra nekropsileri yapıldı. Nekropside, tüm piliçlerin sol tibio-metatarsal eklemleri alınarak % 10'luk tamponlu formaldehid solusyonunda tesbit edildi. Takiben doku örnekleri bilinen rutin yöntemlerle parafin blok haline getirildi ve 5 µ kalınlığında kesitleri alınarak hematoxylin-eosin (H.E.), Congo red ve streptavidin biotin peroxidase boyama yöntemleri ile boyandı. Peroxidase boyama için amiloid-A Ab-1 (mcl) Mouse mab (Biogen) antikoru kullanıldı. Tüm preparatlar ışık mikroskobu altında değerlendirildi. Congo red ile boyanmış preparatlar ayrıca polarize filtre altında incelendi. Gruplardaki amiloid oluşum oranları ve şiddeti yarı kantitatif bir skorlama yöntemi (41) ile 10'luk büyütmede değerlendirildi; Congo red ve peroxidase boyama uygulanmış kesitlerdeki pozitif boyanmanın dağılımı ve yoğunluğu göz önüne alınarak; negatif (-), hafif-orta (1+) ve şiddetli (2+) olmak üzere bir skala kullanıldı. Değerlendirmeler iki kişi tarafından yapıldı. Elde edilen değerler gruplar arası Kikare (Chi square) testi ve gerekli görülenler Fisher Kesin Kikare testleri ile değerlendirildi (42).

#### *Enterococcus faecalis*'in reizolasyonu

Nekropsi esnasında deney gruplarına ait piliçlerin sol tibio-metatarsal eklemlerinden svab örnekleri alındı ve *E.*

*faecalis*'in reizolasyonu Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yapıldı.

#### Bulgular

**Klinik Bulgular:** İntra-artiküler enjeksiyonları takip eden bir hafta içerisinde I. ve II. gruplardaki tüm piliçlerde topallık ve sol tibio-metatarsal eklemlerde şişlik dikkati çekti. III. grupta ise böyle bir bulguya rastlanmadı. I. ve II. gruplardaki bu bulgular çalışma sonuna kadar giderek artış gösterdi.

**Nekropsi Bulguları:** Nekropsi esnasında I. ve II. gruplarda enjeksiyon yapılan sol tibio-metatarsal eklemin sağ eklemle karşılaştırıldığında değişen derecelerde şişmiş olduğu gözlemlendi (Şekil 1). Bu piliçlerin eklemlerine kesit yapıldığında eklem yüzeyinden bulanık bir eksudatın aktığı ve eklemde kavuniçi renkli yumuşak bir birikim bulunduğu gözlemlendi. Buna karşılık I. ve II. gruplardaki hayvanların sağ tibio-metatarsal eklemlerinde ve III. gruptaki hayvanların her iki tibio-metatarsal ekleminde herhangi bir patolojik bulguya rastlanılmadı.

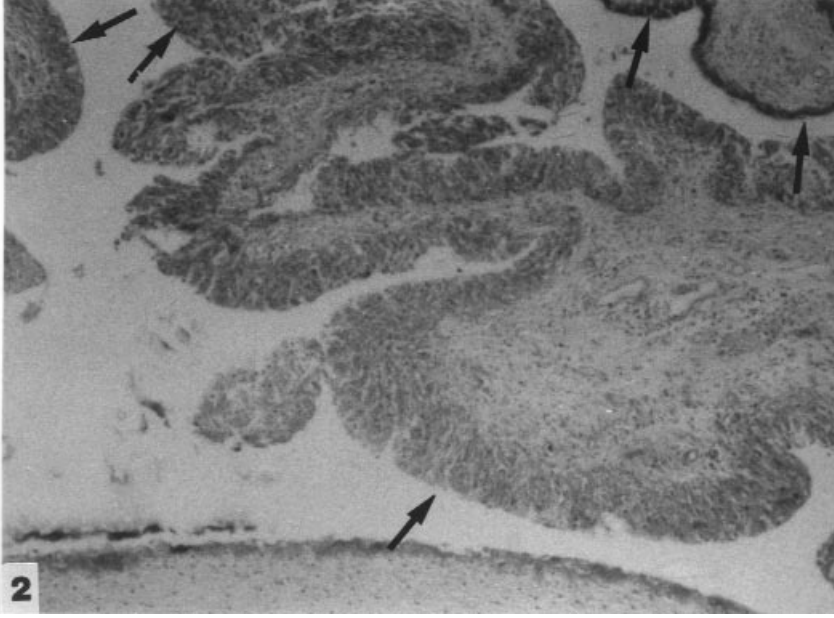
**Mikroskopik Bulgular:** I. ve II. gruptaki piliçlerin eklemlerinde değişen şiddette artrit ve sinovitis bulguları gözlemlendi. Sinoviyal membranda ve sinoviyal boşlukta heterofillerden ve mononükleer hücrelerden oluşan infiltrasyonlar dikkati çekti. Sinoviyal hücreler değişen



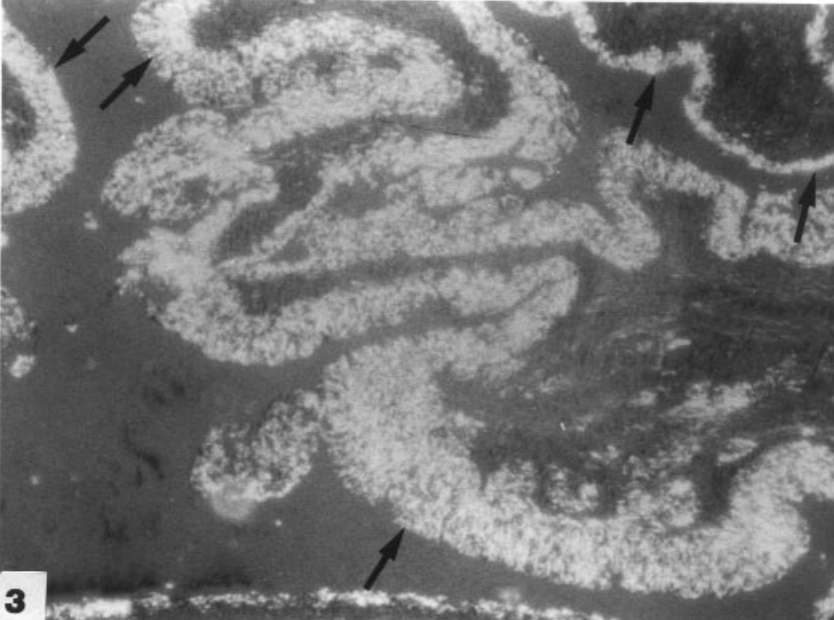
Şekil 1. Vitamin A grubunda amiloid artropati oluşumuna bağlı olarak sol tibio-metatarsal eklemlerde şişkinlik (oklar)

derecelerde hiperplaziye uğramıştı. Congo red ile boyanmış kesitlerde amiloid birikimine farklı yoğunlukta olmak üzere sinoviyal hücreler arasında, sinoviyal boşlukta ve sinoviyal membrandaki damarların çevresi ile kıkırdak yüzeylerinde (Şekil 2) polarize filtre altında yansı

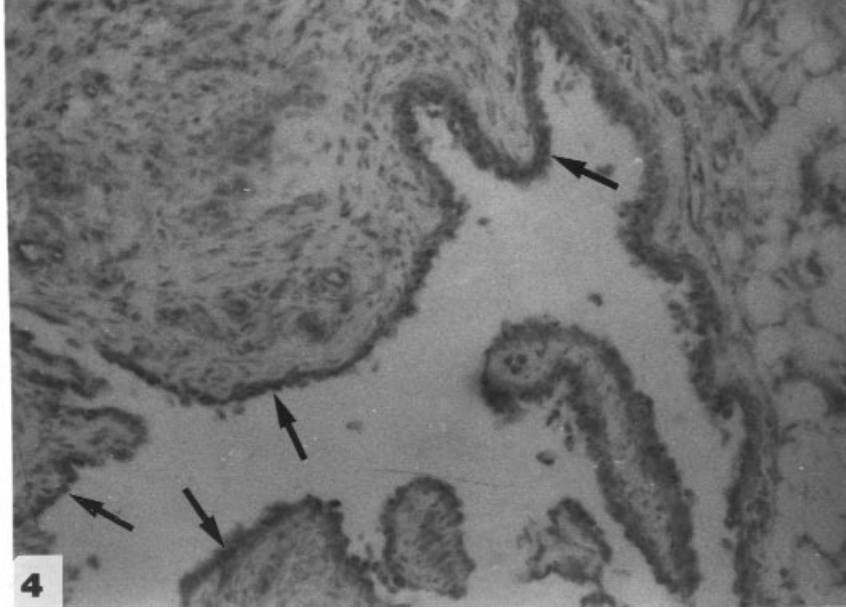
veren amorf şekilsiz yapılar şeklinde, rastlandı (Şekil 3). İmmunohistokimyasal boyamada aynı eklemlerde amiloid birikiminin yoğunluğuna göre değişen şiddet ve yaygınlıkta pozitif boyanma sahaları gözlemlendi (Şekil 4).



Şekil 2. Vitamin A grubunda sinoviyal membranda şiddetli amiloid birikimi (oklar). Congo red, x 240.



Şekil 3. Şekil 2 deki kesitin polarize filtre altında amiloid birikimlerinin yansımaları (oklar). Congo red, x 240.



Şekil 4. Pozitif kontrol grubunda Streptavidin biotin peroksidaz boyamada sinoviyal membranda hafif-orta şiddette pozitif boyanma (oklar), x 360.

Amiloid artropati oluşum oranları ve şiddetinin gruplara göre dağılımı Tablo ve Şekil 5' te verilmiştir. Buna göre amiloid artropati oluşumu A vitamini grubunda 19/20 (% 95), pozitif kontrol grubunda 18/24 (% 75) ve negatif kontrol grubunda 0/24 (% 0) oranlarında gözlemlendi. Gruplar arasındaki bu farklılık istatistik olarak önemli ( $P < 0,01$ ) bulundu. Amiloid birikimlerinin şiddetini belirlemek için yapılan skorlama sonucunda; şiddetli derecede amiloid birikimine A vitamini grubunda 8/19 (% 42,1) oranında rastlandı. Buna karşılık pozitif kontrol grubunda şiddetli birikim hiç gözlenmedi (0/18).

İki grup arasındaki bu fark da istatistik olarak anlamlı ( $P < 0,05$ ) bulundu. Amiloid oluşum oranı ve şiddeti bakımından gruplardaki dişi ve erkek piliçler arasında belirgin bir farklılık saptanamadı.

#### Reizolasyon Bulguları:

*Enterococcus faecalis* ( $10^9$  cfu/ml) verilen I. ve II. gruptaki hayvanların sol tibio-metatarsal eklemlerinden yapılan ekim sonucunda, I. gruptaki hayvanlardan 19/20 (% 95), II. gruptaki hayvanlardan ise 23/24 (% 96) oranında *E. faecalis* reizole edildi.

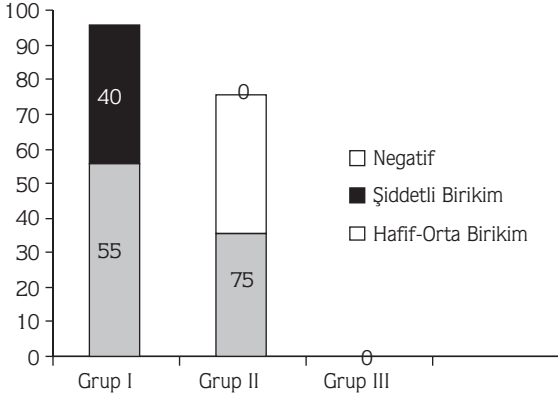
Tablo. Gruplara göre amiloid artropati oluşum oranı ve şiddeti.

Gruplar	Hayvan Sayısı (n)	Amiloidozis Oluşumu		Amiloidozis Şiddeti	
		Pozitif	Negatif	Hafif-Orta	Şiddetli
Vit. A + <i>E. faecalis</i>	20	19 <sup>a</sup> (% 95)	1 (% 5)	11 (% 57,9)	8 <sup>c</sup> (% 42,1)
<i>E. faecalis</i>	24	18 <sup>b</sup> (% 75)	6 (% 25)	18 (% 100)	0 <sup>d</sup> (% 0)
Kontrol	24	0 (% 0)	24 (% 100)	---	---

a-b: Gruplar arası farklılık istatistik olarak önemli ( $P < 0,01$ )

c-d: Gruplar arası farklılık istatistik olarak önemli ( $P < 0,05$ )





Şekil 5. Gruplara göre amiloid oluşum oranları ve şiddeti.

### Tartışma

AA amiloidozisin artiküler lokalizasyonu hem insan, hem de hayvanlarda pek alıılmamış bir durumdur ve son yıllarda tavuklarda rastlanması dikkati çekmiştir. Eklemlerde AA amiloid birikimi ile karakterize olan amiloid artropati olgularıyla günümüzde özellikle kahverengi yumurtacı tavuklarda kümesin % 20-30'unu etkileyen ve ekonomik kayba yol açan bir klinik problem olarak Avrupa'nın bir çok ülkesinde giderek artan bir önemde karşılaşılmaktadır (9). Yapılan sayısız çalışmalara rağmen, amyloid fibrillerinin oluşumu ve dokularda çökmesi konusundaki bilgiler hala yetersizdir. Amiloid fibrillerinin prekürsör proteini olduğu kanıtlanan SAA'nın hepatik ve ekstrahepatik sentezinin IL-1, IL-6, TNF $\alpha$ , M-CSF gibi sitokinlerce artırıldığı ileri sürülmektedir (21-23). Dokulara gelen akut faz proteini SAA'nın dokularda amiloid fibrilleri şeklinde çökmesinin bu proteinin nötrofiller ve doku makrofajları gibi lökositlerin enzimleri olan çeşitli proteazlara maruz kalarak yıkımlanmaları sonucunda gerçekleştiği sanılmaktadır (24-26). Kuşkusuz ki bütün bu bilgiler amiloidozis oluşumunda immun sistem hücrelerinin aktif rolüne işaret etmektedir. Diğer yandan, A vitamininin immun sistemi indükleyici rolü, yapılan çeşitli çalışmalarla bu vitaminin nötrofil, makrofaj ve lenfositlerin aktivitesini artırıcı ve çeşitli sitokinlerin salgılanmasını indükleyici rollerinin gösterilmesi ile ortaya konmuştur (27-36). Clark ve Seawright (43), kronik hipervitaminozis A saptadıkları 6 kedinin çeşitli organlarında amiloid birikimlerine rastladıklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu kedilerin hiçbirisinde amiloidozis sebebi olabilecek kronik bir enfeksiyon

durumu gözleyemediklerini ve bu nedenle bu hayvanlarda gözledikleri amiloid birikimlerinin, hipervitaminozis A'nın yol açtığı retiküloendotelial hücrelerdeki aşırı aktivasyondan kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir. Yaptığımız kaynak taramasında Clark ve Seawright (43)'ün çalışması dışında A vitamini ile amiloid ilişkisinin çalışıldığı başka bir yayına rastlanılamamıştır. A vitamininin amiloid oluşumu ve şiddeti üzerinde artırıcı etkisinin olup olmadığının sorgulandığı bu çalışmada amiloid artropati oluşturmak amacıyla, daha önce denenmiş bir kanatlı amiloid artropati modeli (10) kullanılmış ve her iki grupta da gözlenen makroskobik ve mikroskobik bulgular daha önce bildirilenler ile (10,11) benzer bulunmuştur. Çalışma boyunca normal ticari civciv büyüme yemi ile beslediğimiz kontrol grubu piliçlerde *E. faecalis* enjeksiyonu ile tibio-metatarsal eklemlerde amiloid birikimi 18/24 piliçte (% 75) gözlenebilmiştir. Landman ve ark. (40) *E. faecalis*'in intra-artiküler enjeksiyonları sonunda 5 haftalık piliçlerde 2/6 (% 33,33) oranında amiloid artropati oluşumu sağladıklarını bildirmişlerdir. Buna karşılık, çalışmanın başından itibaren yüksek düzeyde A vitamini içeren yem ile beslediğimiz piliçlerde amiloid artropati oluşumuna 19/20 (% 95) piliçte rastlanmıştır. İki grup arasında gözlediğimiz bu farklılık ( $P < 0,01$ ), A vitamininin amiloid oluşumu üzerinde artırıcı bir etkisinin bulunduğunu açıkça göstermektedir. Çalışmada ayrıca eklemlerdeki amiloid birikimlerinin şiddetini belirlemek amacıyla yapılan skorlama sonucunda yüksek düzeyde A vitamini ile beslenen amiloidozis oluşumunun pozitif olduğu civcivlerin 8/19 (% 42,1)'unda eklemlerde şiddetli derecede birikim saptanırken, normal yemle beslenen pozitif kontrol grubundaki piliçlerin hiçbirisinde şiddetli birikime rastlanamamış olması ( $P < 0,05$ ) da A vitamininin amiloidozisin şiddetini artırdığını düşündürmüştür.

Sonuç olarak; bu çalışmada amiloidozis oluşumu *E. faecalis* ile indüklenmiştir. Hem A vitamini hem de pozitif kontrol gruplarında sadece *E. faecalis* enjekte edilen sol eklemlerde amiloidozis oluşumu saptanmış, buna karşılık her iki grupta da enjeksiyon yapılmayan sağ eklemlerde değişiklik gözlenmemiştir. Sol tibio-metatarsal eklemlerde amiloidozis oluşum oranı ve şiddeti A vitamini grubunda pozitif kontrol grubuna oranla daha yüksek bulunmuştur. Elde edilen bulgular, amiloid fibrillerinin parçalanması ve çökmesi (21-23,26) ve A vitamininin immun sistem üzerine etkisini bildiren literatürler (27-36) eşliğinde değerlendirildiğinde, yemlerle yüksek düzeyde alınan A

vitamininin herhangi bir sebeple başlatılmış olan amiloidozis olayının ilerlemesinde, amiloid fibrillerinin dokularda parçalanıp çökmesini artırmak suretiyle artırıcı rol oynayabildiği, ancak yemlerle yüksek düzeyde alınan A vitamininin tek başına amiloidozis oluşumunda etkili olmadığı sonucuna varılmıştır.

## Kaynaklar

1. Slauson, D.O., Cooper, B.J.: Disease at the Cellular Level, in: Mechanisms of Disease, Copyright, Williams & Wilkins, 83-87, 1990.
2. Erer, H., Kiran, M.M., Çiftçi, M.K.: Veteriner Genel Patoloji, Konya, Bahçivanlar Basım San., 116-119, 2000
3. Shirahama, T., Cohen, A.S., Skinner, M.: Haemodialysis-Associated Amyloid of  $\beta 2$  Microglobulin Nature, in: J. Marrink & M.H. van Rijswijk (Eds.). Amyloidosis, Dordrecht, Martinus Nijhoff, 83-89, 1986.
4. Athanasou, N.A., Ayers, D., Rainey, A.J., Oliver, D.O., Duthie, R.B.: Joint and Systemic Distribution of Dialysis Amyloid. Quart. J. Med. 1991; 78: 205-214.
5. Ryan, L.M.: Amyloid Arthropathy, in: J. Marrink & M.H. van Rijswijk (Eds.). Amyloidosis, Dordrecht, Martinus Nijhoff, 267-270, 1986.
6. Donnelly, S., Bourne, J.T., Levison, D.A., Doyle, D.V., Hammond, A.: Amyloid Arthritis Associated with IgM Kappa Lymphoplasmacytoid Lymphoma. Bri. J. Rheumatol. 1993; 32: 1004-1007.
7. Ladefoged, C.: Amyloid Deposits in the Knee Joint at Autopsy. Annal. Rheuma. Dis. 1986; 45: 668-672.
8. Ladefoged, C., Merrild, U., Jorgensen, B.: Amyloid Deposits in Surgically Removed Articular and Periarticular Tissue. Histopathology. 1989; 15: 289-296.
9. Landman, W.J.M., Gruys, E., Dwars, R.M.: A Syndrome Associated with Growth Depression and Amyloid Arthropathy in Layers: A Preliminary Report. Avian Pathol. 1994; 23: 461-470.
10. Landman, W.J.M., Peperkamp, N.H.M.T., Koch, C.A.M., Tooten, P.C.J., Crauwels, P.A.P., Gruys, E.: Induction of Amyloid Arthropathy in Chickens. Amyloid, 1997; 4: 87-97.
11. Peperkamp, N.H.M.T., Landman, W.J.M., Tooten, P.C.J., Ultee, A., Voorhout, W.F., Gruys, E.: Light Microscopic, Immunohistochemical and Electron Microscopic Features of Amyloid Arthropathy in Chickens. Vet. Pathol. 1997; 34: 271-278.
12. Colbatzky, F., Bruunberg, L., Linke, R.P., Geisel, O., Hermanns, W.: AA-Like Amyloid Deposits Confined to Arthritic Joints in Two Dogs With Rheumatoid Arthritis. J. Comp. Pathol. 1991; 105: 331-343.
13. Shimizu, K., Higuchi, K., Matsushita, M., Yamamuro, T., Takeda, T.: Immunohistochemical Studies of Age-Associated Amyloid Deposition in the Joint of Senescence-Accelerated Mouse (SAM). Zeitschr. Rheumatol. 1985; 51: 243-248.
14. Glenner, G.G.: Amyloid deposits and amyloidosis. The  $\beta$  fibrillosis. New England J. Med., 1980; 302: 1283-1292.
15. Chamanza, R., Toussaint, M.J.M., Van Ederen, A.M., van Veen, L., Hulskamp-Koch, C.: Serum amyloid A and transferrin in chicken. A preliminary investigation of using acute-phase variables to assess diseases in chickens. Vet. Quart. 1999; 21: 158-162.
16. Alsemgeest, S.P., Lambooy, I.E., Wierenga, H.K., Dieleman, S.J., Weerkkerk, B., van Ederen, A.M., Niewold, T.A.: Influence of physical stress on the plasma concentration of serum amyloid-A (SAA9 and haptoglobin (HP) in calves, Vet. Quart 1995; 17: 9-12.
17. Miwata, H., Yamada, T., Okada, M., Kudo, T., Kimura, H., Morishima, T.: Serum amyloid A protein in acute viral infections. Arch. Dis. Childhood, 1993; 68: 210-214.
18. Meek, R.L., Eriksen, N., Benditt, E.P.: Murine Serum Amyloid A (3) is high density apolipoprotein and is secreted by macrophages, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1992; 89: 7949-7952
19. Mitchell, T.I., Coon, C.I., Brinckerhoff, C.E.: Serum Amyloid A (SAA3) produced by rabbit synovial fibroblasts treated with phorbol ester sor interleukin-1 induces synthesis of collagenase and is neutralized with specific antiserum. J. Clin. Invest., 1991; 87: 1177-1185.
20. Sack, G.H., Zink, M.C.: Serum amyloid A gene transcription in synovial cells during retroviral arthritis. Am. J. Pathol. 1992; 141: 525-529.
21. Ray, A., Schatten, H., Ray, B.K.: Activation of Sp1 and its functional co-operation with serum amyloid A – activating sequence binding factor in synoviocyte cells trigger synergistic action of interleukin-1 and interleukin-6 in serum amyloid A gene expression. J. Biol. Chem. 1999; 274: 4300-4308.
22. Rivas, A.L., Title, L., Kimball, E.S., Scarlett, J., Quimby, F.W.: A canine febrile disorder associated with elevated interleukin-6. Clin. Immun. Immunopathol. 1992; 64: 36-45.

## Teşekkür

Bu çalışmada kullanılan amiloidojenik ve artropatik *E. faecalis* 6085.94 suşunu sağlama konusundaki yardımlarından ötürü Dr. Wil J.M. Landman ve Animal Health Service Center (Deventer, Hollanda) yetkililerine teşekkürü bir borç biliriz.

23. Rysava, R., Merta, M., Tesar, V., Jirsa, M., Zima, T.: Can serum amyloid A or macrophage colony stimulating factor serve as marker of amyloid formation process? Am. J. Pathol. 1992; 141: 525-529.
24. Kawahara, E.I., Shiroo, M., Nakanishi, I., Migita, S.: The Role of Fibronectin in the Development of Experimental Amyloidosis. Am. J. Pathol. 1989; 134: 1305-1314.
25. Yamada, T., Liepnikes, J., Benson, M., Kluge, Beckerman, B.: Accelerated Amyloid Deposition in Mice Treated with the Aspartic Protease Inhibitor. Pepstatin. J. Immunol. 1996; 157: 901-907.
26. Stones, P.J., Campistol, J.M., Abraham, C.R., Rodgers, O., Shirahama, T., Skinner, M.: Neutrophil Proteases Associated with Amyloid Fibrils. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1993; 197: 130-136.
27. Yamamoto, M.: Retinoids in the Host Defence System. In: A.P., Simopoulos (Ed), Selected Vitamins, Minerals and Functional Consequences of Maternal Malnutrition. World. Rev. Nutr. Diet. 1991; 64: 58-84.
28. Mısırlıoğlu, D., Şen, A., Çetin, M.: Broiler Piliçlerde Vitamin A, E ve C'nin Humoral ve Hücre İmmün Yanıt Üzerine Etkisi. Veterinarium, 1996; 7: 78-81
29. Ross, C.A.: Vitamin A Status: Relationship to Immunity and the Antibody Response. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1992; 200: 303-320.
30. Elitsur, Y., Neace, C., Liu, X., Dosesco, J., Moshier, J.A.: Vitamin A and Retinoic Acids Immunomodulation on Human Gut Lymphocytes. Immunopathology. 1997; 3: 247-253.
31. Semba, R.D.: The Role of Vitamin A and Related Retinoids in Immune Function. Nut. Rev. 1998; 56: 38-48.
32. Cijbels, M.J.J., Ham, F., Bennekum, A.M. Hendriks, H.F., Rohall, P.J.: Alterations in Cytokeratin Expression Precede Histological Changes in Epithelia of Vitamin A-Deficient Rats. Cell Tissue Res. 1992; 268: 197-203.
33. Twining, S.S., Schulte, D.P., Wilson, P.M. Fish, B.L., Moulder, J.E.: Vitamin A Deficiency Alters Rat Neutrophil Function. J. Nutr. 1997; 127: 558-565.
34. Katz, D.R., Drzymala, M., Turton, J.A., Hicks, R.M., Hunt, R., Palmer, L., Malkosky, M.: Regulation of Accessory Cell Function by Retinoids in Murine Immun Responses. Brit. J. Exp. Path. 1987; 68: 343-350.
35. Turpin, J., Mehta, K., Blick, M. Hester, J.P., Lopez-Berestein, G.: Effect of Retinoids on the Release and Gene Expression of Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  in Human Peripheral Blood Monocytes. J. Leuk. Biol. 1990; 48: 444-450.
36. Tokura, Y., Edelson, R.L., Gasparro, F.P.: Retinoid Augmentation of Bioactive Interleukin-1 Production by Murine Keratinocytes. Brit. J. Dermatol. 1992; 126: 485-495.
37. Sijtsma, S.R., Rombout, J.H.W.M., West, C.E. Zijpp, A.J.: Vitamin A Efficiency Impairs Cytotoxic T Lymphocyte Activity in Newcastle Disease Virus-Infected Chickens. Vet. Immunol. Immunopathol. 1990; 26: 191-201.
38. Ovelgönne, H., Landman, W.J.M., Gielkens, A.L.J., Peeters, B.P. Gruys, E.: Two breeds of chickens with striking differences in susceptibility to develop AA-amyloidosis appear to have identical serum amyloid A proteins. Path. Res. Pract. 1998; 194: 297
39. Landman, W.J.M., Gruys, E., Gielkens, A.L.J.: Avian Amyloidosis. Avian Pathol., 1998; 27: 437-449.
40. Landman, W.J.M., Mekkes, D.R., Chamanza, R., Doornenbal, P., Gruys, E.: Arthropathic and Amyloidogenic *Enterococcus faecalis* Infection in Brown Layers: A Study on Infection Routes, Avian Pathol. 1999; 28: 545-557.
41. True, L.D.: Principles of immunohistochemistry. Ed.: True, L.D. Atlas of Diagnostic Immunohistopathology. New York, USA, J.B. Lippincott Company, 1.1-1.31, 1990
42. Özdamar, K.: Paket Programlar İle İstatistiksel Veri Analizleri, Kaan Kitabevi, Eskişehir, 338, 1999.
43. Clark, L., Seawright, A.A.: Amyloidosis Associated with Chronic Hypervitaminosis A in Cats. Aust. Vet. J. 1968; 44: 584.