



Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni
Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association
e-ISSN 2667-8381, 12 (1): 21-32, 2021
DOI: 10.38137/vftd.897776

SİTOKİNLER VE KANATLILARDA SİTOKİNLERİN AŞI ADJUVANTI OLARAK KULLANIMI

Aziz Utku ÖNEL ^{1a}, Murat YILDIRIM ^{1b}

¹ Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale

ORCID^a: 0000-0003-4596-7461, ORCID^b: 0000-0002-9576-2280

*Sorumlu Yazar: Aziz Utku ÖNEL
E-Posta: autkuvi@hotmail.com

Geliş Tarihi: 18.03.2021
Kabul Tarihi: 23.04.2021

ÖZET

Kanatlı hayvanlarda hastalıkların önlenmesi ve sağaltımı aşılarda ve antibiyotiklerin kullanılması ile sağlanır. Antibiyotiklerin uzun yıllar boyunca kullanılması antibiyotiğe dirençli bakterilerin ortaya çıkması ile ilgili sorunları beraberinde getirmiştir. Hastalıkların önlenmesinde kullanılan aşılarıdaki adjuvantlar, sağlık üzerinde yan etkilere sahip olabilir ve immun yanıtı yetersiz bir şekilde uyarabilir. Bu nedenle kanatlı endüstrisinde yeni aşı stratejilerinin geliştirilmesi oldukça önemli bir konu haline gelmiştir. Sitokinler, yangı reaksiyonlarında hayati rol oynayan hücreler tarafından salgılanan immun sistem hücrelerinin aktivasyonu ve düzenlenmesini sağlayan peptitlerdir. Kanatlı immunolojisi ve genetik alanındaki gelişmeler, özellikle tavukta çeşitli sitokinlerin keşfedilmesine ve bu sitokinlerin işlevsel özelliklerinin ve mekanizmalarının anlaşılmasını sağlamıştır. Kanatlı hayvanlarda enfeksiyöz ajanlara karşı kullanılan aşılarıda sitokinlerin potansiyel bir aşı adjuvantı olarak kullanılması yönünde birçok çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu derlemede kanatlı sitokinlerinin çeşitleri, fonksiyonel özellikleri ve sitokinlerin aşı adjuvantı olarak kullanımı hakkında bilgi vermek amaçlandı.

Anahtar Kelimeler: Adjuvant, Aşı, Kanatlı İmmunolojisi, Sitokinler.

CYTOKINES AND THE USE OF CYTOKINES AS VACCINE ADJUVANT IN POULTRY

ABSTRACT

Prevention and treatment of diseases in poultry is provided by the use of vaccines and antibiotics. The use of antibiotics for many years has brought problems with the emergence of antibiotic-resistant bacteria. Adjuvants in vaccine used in the prevention of diseases may have adverse health effects and may inadequately stimulate the immune response. Therefore, the development of new vaccine strategies has become a crucial issue in the poultry industry. Cytokines are peptides that enable the activation and regulation of immune system cells secreted by cells that play a vital role in inflammation reactions. Avian immunology and genetic components have led to the discovery of various cytokines, especially in chicken and to understand the functional properties and mechanisms of these cytokines. Many studies have been conducted on the use of cytokines as a potential vaccine adjuvant in vaccines used against infectious agents in poultry. In this review, we aimed to give information about the types and functional properties of avian cytokines and the use of cytokines as vaccine adjuvants.

Keywords: Adjuvant, Avian Immunology, Cytokines, Vaccine.

GİRİŞ

Sitokin terimi ilk olarak Cohen ve ark. (1974) tarafından kullanılmıştır. Sitokinler, immunolojik gelişim ve immun yanıtın gelişimi esnasında hücreler arasında hücre dışı sinyaller olarak etki eden moleküler ağırlıkları 30 kilodalton (kDa)'dan daha az olan düzenleyici peptitlerdir. Sitokinler bir

immun yanıtı ortaya çıkarır ve bu immun yanıtı düzenler ve aslında immun sistem hücreleri üzerinde pleiotropik etkiye sahip tüm hücre çeşitleri aracılığıyla üretilebilmelerinin yanı sıra yangı yanıtını da düzenlemektedirler (Kaiser ve Staheli, 2014). Son yıllarda, kanatlı immunolojisi ve genetik çalışmalarındaki gelişmeler, esas olarak tavuk ve

diğer kuş türlerinde bir dizi sitokin keşfedilmesine olanak sağlamıştır (Umar ve ark., 2015). Kanatlı sitokinlerine karşı göreceli olarak az sayıda rekombinant sitokin ya da monoklonal antikor üretilmesine rağmen, real-time kantitatif PCR gibi yeni teknolojilerin mevcudiyeti, protein veya antikorlara ihtiyaç duyulmadan sitokin genlerinden mRNA ekspresyonunun ölçülmesine izin verir (De Boever ve ark., 2010; Downing ve ark., 2010). Bu teknoloji, hastalıkta sitokin seviyesini belirleme olasılıklarını artırmıştır. Sitokin seviyelerinin belirlenmesi hem patogeneze hem de bağışıklık mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır (Kalaiyarasu ve ark., 2013; Yao ve ark., 2014).

Kanatlı hayvanların kümeslerde yoğun bir şekilde yetiştirilmesi patojen mikroorganizmalardan kaynaklanan enfeksiyonların artmasına neden olmaktadır. Hayvan beslemede kullanılan antibiyotikler, enfeksiyonun üstesinden gelmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Umar ve ark., 2015). Bununla birlikte, antibiyotiklerin beslemede uzun süre kullanımı antibiyotiğe dirençli bakterilerin ortaya çıkması ile ilgili birçok sorunu ortaya çıkarmıştır (Meng ve ark., 2011). Beslemede antibiyotik kullanımından uzaklaşma, daha etkili aşı stratejilerinin kullanımına olan vurguyu kritik bir şekilde artırır (Umar ve ark., 2015).

Kanatlı hayvanlar için aşılarda, özellikle yıllık olarak büyük ölçekte ihtiyaç duyulduğunda uygun maliyetli olmalıdır. Bu neden ile ruhsatlı veteriner aşılarda bulunan en yaygın adjuvantlar alüminyum tuzları ve yağ emülsiyonları olmak üzere mevcut aşılama ekonomisine dayalı olarak tasarlanmıştır (Redmond ve ark., 2009). Veteriner ve insan aşı üreticileri, göreceli güvenliği nedeniyle yaygın olarak alüminyum hidroksit (alum)

adjuvantı kullanmıştır (Umar ve ark., 2015). Alum, hücre-aracılı bağışıklığı özellikle sitotoksik T hücre yanıtını yetersiz bir şekilde uyarır; bu, hücre içi parazitler ve bazı virüslere karşı aşılarla kullanımı için önemli bir dezavantajdır (Wigley ve Kaiser, 2003). Alum adjuvantlar, immunoglobulin E (IgE)-aracılı immün yanıtı provoke etme kabiliyetine sahiptir ve IgE-aracılı allerjik reaksiyonları artırmaktadır (Hilton ve ark., 2002). Buna karşılık yağ bazlı adjuvantların kullanımı, ateş ve aşırı duyarlılık reaksiyonları ile birlikte enjeksiyon bölgesinde ülserasyon ve yangıya neden olduğu için yan etkileri sebebi ile kullanımı sınırlıdır. Bu neden ile doğru adjuvantı seçmek endüstriyel üretim gereksinimleri açısından önemlidir ve hayvan refahı için kritik öneme sahiptir. Kanatlı endüstrisi, et kalitesine büyük ölçüde güvenir ve karkas hasarına yol açan enjeksiyon bölgesi reaksiyonları, et kalitesini etkileyerek ekonomik kayıplara neden olur. Bu konulardan dolayı hayvanlarda yan etkileri olmayan, etkili aşı adjuvantlarına ihtiyaç olduğu açıktır (Umar ve ark., 2015).

Bu derlemenin amacı kanatlılarda bulunan sitokinlerin başlıca türleri ve sitokinlerin yapısal ve işlevsel özellikleri ve kanatlılarda sitokinlerin potansiyel aşı adjuvantı olarak kullanımı hakkında bilgi vermektir.

SİTOKİNLER

Sitokinler, bağışıklık sisteminin hücrelerini aktive ederek ve düzenleyerek yangı reaksiyonlarında hayati rol oynayan hücreler tarafından salgılanan proteinler ya da peptitlerdir (Umar ve ark., 2015). Bütün sitokinler, hedef hücrelerin yüzeyindeki reseptörler aracılığıyla hareket ederek hücre fonksiyonlarını düzenlemektedirler (De Boever ve ark., 2010). Tarihsel olarak sitokinler, lenfositler tarafından üretilen lenfokinler, monositler

tarafından üretilen monokinler olarak ve hematopoietik koloni-uyarıcı faktör ve bağ doku büyüme faktörü olarak çeşitli şekillerde tanımlanmıştır. Sitokinler yapısal ve işlevsel özelliklerine göre interleukinler (IL), interferonlar (IFN), transforme büyüme faktörü-beta (TGF- β), tümör nekrozis faktörü süper ailesi (TNFSF), koloni stimulan faktörler (CSF) olarak çeşitli şekillerde adlandırılmaktadır (Kaiser ve Staheli, 2014).

İnterleukinler

İnterleukin-1 (IL-1)

IL-1'in ana kaynağı makrofajlar olmasına rağmen dendritik hücreler, T hücreleri, B hücreleri, NK hücreleri, vasküler endotel, fibroblastlar ve keratinositler tarafından üretilir. IL-1, T hücreleri, B hücreleri, NK hücreleri, nötrofiller, eozinofiller, dendritik hücreler, fibroblastlar, endotel hücreleri ve hepatositler üzerine etki eder (Tizard, 2004). Tavuklarda tanımlanmış olan dört yeni IL-1 aile üyesi bulunmaktadır. Tavuklarda bulunan bu dört yeni IL-1 ailesinin üyeleri IL-1 β , IL-18, IL-1RN (reseptör antagonisti) ve IL-36RN'dir. IL-1 aile üyelerinin işlevleri tam olarak anlaşılammıştır fakat bunların hepsi ya pro-inflamatuar ya da anti-inflamatuar sitokinlerdir (Kaiser ve Staheli, 2014).

Tip 1 T yardımcı (Th1) ve Tip 2 T yardımcı (Th2) İnterleukinler

Th1 hücrelerin farklılaşması, antijen sunan myleoid dendritik hücreleri, makrofajlar, B hücreleri ve CD80 ile birlikte uyarımı aracılığı ile üretilen IL-12 tarafından yönlendirilmektedir (Tizard, 2012a). IL-12 ailesi içerisinde Th hücre yanıtını düzenleyen iki sitokinin mevcut olduğu bildirilmiştir. Bu sitokinler IL-23 ve IL-27'dir. IL-23, özellikle Th17 hücrelerinin farklılaşmasını sağlar. Bunlar her iki

pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar özelliklerine de sahiptir (Kaiser ve Staheli, 2014). IL-12 sekrete etmeyen dendritik hücreler, Th2 hücre farklılaşmasını uyarır. Th2 hücreleri, plazmasitoid dendritik hücreler ve makrofajlar tarafından sunulan antijene karşı en iyi yanıtı verir. Plazmastoid dendritik hücreleri, CD86 aracılığı ile birlikte uyarımı sağlar (Tizard, 2012a). Th2 sitokin gen kümesi, tavuklarda çoklu gen aileleri için geçerli olan bir istisnasıdır. Th2 sitokinler için tavuklar, memelilerde henüz tanımlanmamış fazladan bir aile üyesine sahiptir. Bu nedenle kanonikal Th2 sitokin gen kümesi genlerinin IL-3, IL-4, IL-5, IL-13 ve GM-CSF tavuk kümesi, tavuk γ - δ T hücrelerinde farklı şekilde eksprese edilen başka bir sitokin benzeri transkript olan KK34'ü kodlamaktadır. Memelilerde KK34 ortologu tanımlanmamıştır (Kaiser ve Staheli, 2014).

Th1-Th2 Paradigması

Memeliler, sırasıyla hücre içi veya hücre dışı patojenler ile enfeksiyonları çözen tip-1 veya tip-2 immun yolağa işlevsel olarak polarize olabilen bir bağışıklık sistemine sahiptir. Kazanılmış immun yanıtın polarizasyonu büyük ölçüde antijene özgü Th hücreler tarafından düzenlenir. Th1 hücreler tipik olarak IL-12 ve IL-18'in erken üretimi ile harekete geçirilerek IFN- γ 'yı sekrete eder (Kaiser ve Staheli, 2014). Th1 hücreler, gecikmiş aşırı duyarlılık reaksiyonu ve makrofaj aktivasyonu gibi hücre aracılı immun yanıtları uyarır. Bu durumdan dolayı Th1 hücreler, hücre içi organizmalara karşı bağışıklık oluşturmaktadır (Tizard, 2012a). Th2 hücreler ise IL-4 ya da IL-13 aracılığıyla harekete geçirilerek IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 ve IL-19'u sekrete etmektedir (Kaiser ve Staheli, 2014). Th2 hücreler tarafından sekrete edilen sitokinler B hücre proliferasyonunu ve immunoglobulin sekresyonunu

uyarır. Th2 yanıtları, helmintlere karşı gelişen bağışıklık ile ilişkilidir (Tizard, 2012a). Henüz, tavukta bu CD4 T hücre alt kümelerinden herhangi birinin varlığı resmi olarak bildirilmemiştir. Yakın zamana kadar Th1-Th2 paradigmasının varlığı memeli türlerin dışında bilinmiyordu. Memeliler ile kıyaslandığında, tavuklarda humoral immun yanıtın belirli bileşenleri mevcut değildir. Örneğin, tavuklarda IgE ve IgY (IgG'nin kanatlı homologu)'nin alt sınıfları eksik olmasına ek olarak fonksiyonel eozinofillerin mevcut olmadığı görülmektedir; eotaksinler ve eotaksin reseptörü bulunmamaktadır. L-5 mRNA ekspresyonu, Th2 yanıtları sırasında kapatılır ve Th2 ile ilişkili allerjiler kanatlılar için tanımlanmamıştır (Kaiser ve Staheli, 2014).

İnterleukin-10 (IL-10)

İnsanlarda IL-10 ailesi farklı kromozomlar üzerinde iki küme halinde kodlanan altı üyeden oluşmuştur. IL-10, IL-19, IL-20 ve IL-24 kromozom 1 üzerinde sentenik iken IL-22 ve IL-26 kromozom 12 üzerinde senteniktir. Tavuklar, IL-10 ailesinin sadece dört üyesine sahiptir. Bunlar; kromozom 26 üzerinde bulunan IL-10, IL19 ve kromozom 1 üzerinde bulunan IL-22 ve IL-26'dır (Kaiser ve Staheli, 2014). IL-10, hem doğal hem de kazanılmış bağışıklık yanıtlarını engelleyen bir immuno-regülatör sitokindir (Tizard, 2012b). IL-19, B hücreleri ve aktive edilmiş monositler tarafından salgınır ve IL-19, IL-6 ve TNF- α üretimini artırmak için monositler üzerine etki eder ve monositlerin apoptozisine neden olur (Tizard, 2004). Rekombinant tavuk IL-19 ayrıca IL-4, IL-13 ve IL-10'u eksprese etmek için tavuk splenositlerini ve IL-1 β , IL-6 ve IL-19'u eksprese etmek için tavuk monositlerini uyarır. Tavuk IL-22, IL-10 ekspresyonunu uyarmasının yanı sıra pro-

inflamatuvar sitokinlerin, kemokinlerin ve tavuk böbrek hücrelerindeki anti mikrobiyal peptitlerin, hepatositlerdeki akut faz proteinlerin ve heterofillerdeki β -defensinlerin ekspresyonunu uyarır (Kaiser ve Staheli, 2014). IL-26, Th1 hücreler tarafından salgınır ve keratinositler ve T hücrelerin proliferasyonunu uyarır (Tizard, 2004).

Diğer İnterleukinler

IL-6, makrofajlar, T hücreler ve mast hücreleri tarafından oluşturulan 22 ila 28 kDa'lık sitokindir. IL-6 salgınımı bakteriyel endotoksinler, IL-1 ve TNF- α tarafından tetiklenir (Tizard, 2012). IL-6, tavuklarda ve memelilerde pro-inflamatuvar sitokindir. IL-17, IL-9, IL-16 ve IL-34'ün tümü tavuk genomunda kodlanmıştır ve tamamı eksprese edilmiştir (Kaiser ve Staheli, 2014). IL-9, yalnızca Th2 hücreler tarafından salgınan bir kök hücre büyüme faktörü olup T yardımcı hücrelerin ve mast hücrelerin gelişimini teşvik eder (Tizard, 2004). IL-16, hem tavuklarda hem de memelilerde dalak lenfositleri için kemotaktik aktiviteye sahip bir inflamatuvar sitokindir (Kaiser ve Staheli, 2014). İmmun yanıtın düzenlenmesinde rol oynayan bir sitokin ailesi olan IL-17, T bellek hücreleri tarafından salgınır (Tizard, 2004). İnsan için tanımlanan altı IL-17 aile üyesinin beşi tavuk genomunda kolayca tanımlanır. Bunlar; IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D ve IL-17F'dir (Kaiser ve Staheli, 2014). IL-17 ailesi, fibroblastlar, keratinositler, epitel ve endotel hücreler tarafından sitokin sentezini artırır. Bu konulara ek olarak IL-17, T hücrelerin ve myeloid köken hücrelerin proliferasyonunu uyarır (Tizard, 2004).

İnterferonlar (IFN)

İnterferonlar, lökositler ve virüs ile enfekte somatik hücreler tarafından viral enfeksiyonlara, immün

aktivasyona, yangı uyarımı ve kimyasal uyarılara yanıt olarak üretilen glikoproteinlerdir. İnterferonların iki ana sınıfı belirlenmiştir. Bunlar: virüs ile enfekte mononükleer hücreler ve virüs ile enfekte fibroblastlar tarafından üretilen Tip I interferonlar ve uyarımı takiben T lenfositlerden ve doğal öldürücü hücrelerden türetilmiş Tip II interferonlardır (Kogut, 2000). Virüs ile uyarılan Tip I IFN'un üç alt grubu tavukta memelilerde olduğu gibi IFN-alfa (α), IFN-beta (β) ve IFN-lambda (λ) olarak tanımlanmıştır. Tavukta hem IFN- α hem de IFN- β antiviral aktiviteye sahiptir. Klonlanmış tavuk IFN- λ , makrofaj benzeri tavuk HD11 hücre hattında nitrat üretimi ve tavuk embriyo hücrelerinde virüs korumasını uyarır (Kaiser ve Staheli, 2014). IFN-gamma (γ), 17 kDa'lık bir glikoproteindir ve ana rolü Th1 hücre yanıtının düzenlenmesidir (Tizard, 2012a). IFN- γ , hücre içi patojenler ile enfeksiyonları kontrol etmede çok önemlidir (Kaiser ve Staheli, 2014).

Transforme Büyüme Faktörü- β (TGF- β Ailesi)

TGF- β , beş glikoprotein ailesinden oluşur: bunlardan üçü (TGF- β 1, TGF- β 2 ve TGF- β 3) memelilerde bulunur iken diğer ikisi (TGF- β 4 ve TGF- β 5) ise tavuklarda ve Afrika pençeli kurbağalarında bulunmaktadır. TGF- β ailesinin üyeleri, trombositler, aktif makrofajlar, nötrofiller, B hücreler ve T hücreler tarafından üretilir ve T hücrelerin, B hücrelerin, dendritik hücrelerin, makrofajların, nötrofillerin ve fibroblastların üzerine etki eder. TGF- β , T ve B hücrelerin proliferasyonunu engeller ve T ve B hücrelerin apoptozisini uyarır (Tizard, 2012b). Memeli TGF- β 2 ve TGF- β 3'ün doğrudan ortologları olmasına karşın memeli TGF- β 1'in tavuk ortologu, tavuk TGF- β 4'tür. TGF- β 4, anti-inflamatuar özelliklere sahiptir (Kaiser ve Staheli, 2014).

Tümör Nekrozis Faktör Süper-Ailesi (TNFSF)

TNFSF, yangı, apoptozis, hücre proliferasyonu ve immun sistemin uyarımının dahil olduğu hem doğal hem de kazanılmış bağışıklıkta oldukça önemli bir role sahiptir. TNFSF proteinleri yapısal olarak homotrimerik yapıdadırlar. TNFSF üyelerinin birçoğu sitokinden ziyade uyarıma yardım eden moleküller olarak düşünülmektedir. Sitokin olarak kabul edilebilecek TNFSF üyelerinden olan TNF- α , lenfotoksin (LT)- α , LT- β ve B hücre aktive edici faktör (BAFF)'dür (Kaiser ve Staheli, 2014). TNF- α , makrofajlar, mast hücreleri, T hücreleri, endotel hücreleri, B hücreleri ve fibroblastlar tarafından üretilir. TNF- α , bazı tümör hücrelerinin ve virüs ile enfekte olmuş hücrelerin öldürülmesini tetikleyebilir (Tizard, 2004). Memelilerde, TNF- α , LT- α ve LT- β büyük doku uyuşum kompleksi sınıf III (MHC sınıf III) bölgesinde birlikte kümelenmiştir. Tavuk MHC gen lokusunda veya aslında tavuk genom dizisinde bu üç TNFSF üyesinin hiçbirine dair herhangi bir kanıt yoktur. LT genleri, lenf nodüllerinin dahil olduğu ikincil lenfoid organların gelişiminde oldukça önemlidir. Tavukta lenf nodüllerinin olmamasının LT genlerinin eksikliğinden kaynaklanabileceğini düşünmek oldukça mantıklıdır (Kaiser ve Staheli, 2014). TNF- β , tümör hücrelerini öldürür ve nötrofilleri, makrofajları, endotel hücreleri ve B hücreleri aktive eder (Tizard, 2004).

Koloni Stimulan Faktör (CSF)

Koloni stimulan faktör, hematopoietik hücrelerin proliferasyonu, farklılaşması, olgunlaşması ve hayatta kalmasında rol oynadığı gösterilen bir büyüme faktörü ailesidir. Koloni stimulan faktörler, kemik iliği progenitör hücrelerinden farklı hücre soylarının oluşumunu uyarma yetenekleri ile adlandırılmaktadır (Kogut, 2000). Memelilerde ve

tavuklarda, üç CSF vardır. Bunlar; granülosit makrofaj (GM)-CSF (veya CSF2), granülosit (G)-CSF (veya CSF3) ve makrofaj (M)-CSF (veya CSF1)'dir. Tavuk CSF1, kültürdeki tavuk kemik iliği hücrelerinden makrofaj gelişmesini meydana getirir. Tavuk CSF2, kromozom 13 üzerinde Th2 gen kümesinde yer almaktadır. CSF2, kemik iliği ve diğer dokularda eksprese edilir ve tavuk kemik iliği hücrelerinin proliferasyonunu uyarabilir IL-4 ile kemik iliğinden dendritik hücrelerin kültürasyonuna imkan tanır. Tavuk CSF3, myelomonositik hücrelerin farklılaşmasını sağlar (Kaiser ve Staheli, 2014). Bu konuya ek olarak tavuklarda, tavuk myelomonositik büyüme faktörü (cMGF) olarak adlandırılan yalnızca tek bir CSF benzeri faktör tanımlanmış ve klonlanmıştır. Tavuk myelomonositik büyüme faktörü, kemik iliğinden mononükleer hücrelerin farklılaşmasını uyararak bir sitokindir (Leutz ve ark., 1989).

SİTOKİN YANITININ DÜZENLENMESİ

Sitokinlerin güçlü biyolojik aktiviteleri organizma için potansiyel olarak zararlıdır. Bu durumda, aşırı sitokin yanıtlarını önlemek için çeşitli mekanizmaların mevcut olması belki şaşırtıcı değildir. Sitokin gen ekspresyonunu durduran ve böylece immun yanıtını sonlandıran sitokin sinyalleşmesinin baskılayıcıları (SOCS) ve aktive edilmiş STAT (PIAS) proteinlerinin protein inhibitörleri gibi negatif düzenleyici faktörlerin sitokin ile indüklenebilir sentezini içerir. Gen ifadesi durdurulmuş farelerle yapılan deneyler, bu negatif düzenleyicilerin eksikliğinin kronik yangıya ve hastalığa yol açabileceğini göstermiştir. Bugüne kadar memeli SOCS ve PIAS'ın kanatlı homologları karakterize edilmemiştir (Kaiser ve Staheli, 2014).

Sitokinlerin Pozitif ve Negatif Düzenlenmesi

Mevcut yaklaşımlar, bir immunoajuvant olarak sitokinleri kullanmak için hem pozitif hem de negatif düzenlemeye odaklanmaktadır. Bu durum ile birlikte, sitokinlerin bağışıklık sistemlerini düzenlediği mekanizma, kanatlı patojenlerine karşı aşılarda geliştirilmesinde yeni hedefler sağlayabilir. Çeşitli sitokinlerin hücre içi sinyal yolları kapsamlı bir şekilde çalışılmıştır ve bu yolların tümü nihayetinde sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü (STAT) ve nükleer faktörü-kappa B (NF-k B) gibi transkripsiyon faktörlerini aktive eder (Darnell, 1997; Kumar ve ark., 2010). Janus tirozin kinaz (JAK) ve STAT, immun sitokinlerin temel araçlarıdır. Sitokin reseptör sinyalizasyonu, sitokinlerin, hücre yüzeyinde bulunan reseptörüne bağlanmasıyla başlatılır, bu da JAK fosforilasyonuna izin verir. Janus tirozin kinazlar, sitoplazmada dimerleşen ve bağışıklığı düzenleyen genlerin transkripsiyonunu başlatmak için hücre çekirdeğine göç eden STAT'ı aktive eder (Kumar ve ark., 2010). Bu sinyal yollarının, negatif geri bildirim düzenlemesinin sitokin ile indüklenebilir SH2 proteinler/sitokin sinyalleşmesini baskılayıcılar (CIS/SOCS)'ı içerdiğini gösterilmiştir. (Inagaki-Ohara ve ark., 2003). Sitokin sinyallerinin uzun ömürlü olması CIS/SOCS tarafından düzenlenir. CIS, sitokin reseptörlerinin fosforile tirozin kalıntısına bağlanır ve böylece STAT kenetlenme bölgesini maskeler. Diğer yandan SOCS, kinaz engelleyici bölgesini (KIR/KEB) kullanarak substratın katalitik bölgeye erişimini engelleyerek JAK aktivitesini engeller (Kumar ve ark., 2010).

SİTOKİNLERİN UYGULAMA YOLLARI

Kanatlı konakta sitokinlerin iletimi için dikkate alınması birincil faktör maliyettir. Son yıllarda, aşılama yöntemi olarak in-ovo aşılamasının kullanımı artmıştır, bu da daha az işlem gerektirir ve kanatlıların daha fazla strese maruz kalmasını önler. İn ovo uygulama kanatlılara bağışıklık sağlamak için aşının embriyoya amniyotik kaviteden, allantoik keseden veya damar içi enjekte edilmesini içerir (Kumar ve ark., 2010). Kanatlı türlerinde in ovo uygulamalar nispeten güvenlidir çünkü kuluçka randımanı etkilenmez (Rautenschlein ve ark., 2000). Ek olarak, rekombinant sitokinler, DNA aşılı ile birlikte kullanıldığında kas içi yolla verilir. Dahası, viral vektör teknolojisi, kümes hayvanlarında çeşitli sitokinlerin uygulamasına ve eksprese edilmesine izin vermiştir. Yeni nesil uygulama mekanizmaları, büyük kümes hayvanı popülasyonu için basit, etkili ve ucuz olan yem, su ve aerosol yoluyla aşı antijenleri ile kombinasyon halinde tek veya çoklu sitokinlerin uygulanmasına da izin verir (Kumar ve ark., 2010).

KANATLILARDA SİTOKİNLERİN AŞI ADJUVANTI OLARAK KULLANIMI

Endojen sitokinler, immunolojik tepkilerin güçlü düzenleyicileri olduğundan, eksojen sitokinler içeren aşı formülasyonlarının gelişmiş immun yanıt verebileceğine inanmak mantıklıdır. Kanatlı hayvanlarda çeşitli sitokinlerin aşı adjuvantı olarak kullanıldığı bilimsel çalışmalar sitokinlerin yararlı etkilerini göstermiştir (Kaiser ve Staheli, 2014).

ChIFN- γ 'nın tavuklarda antikor yanıtını geliştirme yeteneğini incelemek için bir model antijen olarak koyun kırmızı kan hücreleri (SRBC) kullanılmıştır. Spesifik patojenden ari (SPF) ve ticari etlik piliç (broiler tavuk) gruplarına hem

ChIFN- γ olmadan hem de ChIFN- γ ile birlikte uygulanan SRBC'nin iki farklı dozu enjekte edilmiştir. SPF tavukların, yalnızca SRBC'nin düşük bir dozu ile aşılması, tavukların yalnızca %20'sinin yanıt vermesine neden olmasına karşılık ChIFN- γ ile birlikte uygulanması, immun yanıt verenlerin oranını %90'a çıkarmıştır (Lowenthal ve ark., 1998). Dahası yapılan farklı bir çalışma ile ChIFN- γ 'nın adjuvant etkisi kanıtlanmıştır (Karaca ve ark., 1998). İlk kez bir kanatlı çiçeği virüsü (FPV) vektöründe eksprese edilen rekombinant tavuk tip II IFN'un, hindilerdeki aşı yanıtını artırmak için adjuvant olarak kullanılabileceğini göstermiştir (Rautenschlein ve ark., 2000). Başka bir çalışma tavuklarda, ChIFN- α , ChIFN- β , ChIFN- γ 'nın kombine uygulaması tetanoz toksinine karşı antikor yanıtını artırmıştır (Schijns ve ark., 2000). ChIFN- γ 'nın adjuvant etkisi, tavukların oral yol ile maruz kaldıktan sonra *Salmonella Enteritidis* (SE)'in bağırsak kolonizasyonuna karşı korunması için incelenmiştir. Çalışmada, grup başına 10 adet 7 haftalık tavuk, ChIFN- γ ile birlikte kas içi uygulaması ile veya ChIFN- γ olmaksızın iki kez inaktif SE ile aşılanmıştır ve tüm tavuklar SE ile epruvasyon yapılmıştır. ChIFN- γ 'nın birlikte uygulanması, bağırsak kolonizasyonunu önemli ölçüde azaltmıştır. Epruvasyondan sonraki 13. gün, organlarda SE'nin bakteri sayısının da ChIFN- γ uygulanmış gruplarda azaldığı tespit edilmiştir. Bu veriler, ChIFN- γ 'nın SE antijeni ile birlikte uygulanmasının, antikor üretimini hızlandırmadan SE'ye karşı korumayı artırdığını göstermiştir (Takehara ve ark., 2003). Moleküler adjuvant olarak tavuk IFN-gamma (provac-chIFN- γ) cDNA ve bir kimyasal adjuvant olarak levamisol (LMS) ile birleştirilen NDV'nin hemagglütinin-nöraminidaz ve füzyon genlerini kodlayan bir

DNA aşısı geliştirilmiş ve letal NDV epruvasyonuna karşı korumadaki etkinliği açısından test edilmiştir. Tek başına DNA aşısı ile karşılaştırıldığında, provax-chIFN- γ ve LMS formülasyonlu DNA aşısı, IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-12 ve IL-13 ekspresyonunu artırmış ve T hücre proliferasyonu seviyelerinin gösterdiği gibi önemli ölçüde daha yüksek humoral ve hücre aracılı yanıtları indüklemiştir. Bu iki adjuvant, virulent NDV suşunun letal bir dozu ile epruvasyona karşı tavuklarda %80 koruma sağlamıştır (Yin ve ark., 2007). Rekombinant kanatlı çiçeği virüsü (rFPV) ile eksprese edilen infeksiyöz bronşitis virüsü (IBV) S1 geni (S1) ve IFN- γ 'nın, IBV heterolog suşlarına karşı immün koruyuculuğu değerlendirilmiştir. Heterolog IBVsuşlarına karşı, rFPV-IFN- γ -S1 aşısı ile 4 haftalık yaştaki SPF tavuklar aşılanmış gruplardaki tavuklarda, periferik kandaki CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfositlerin sayısında hızlıca bir artış olmuş ve virüsün saçılma oranında düşüş ve lezyonlarda azalma olduğu tespit edilmiştir (Shi ve ark., 2011). ChIL-1 β mutantlarının aşı adjuvantı olarak kullanıldığı bir çalışmada ise ChIL-1 β Q19A ve R140A olarak adlandırılan iki sitokin mutan geliştirilmiş ve tavuklarda, NDV aşısı ile Q19A veya R140A'nın intranazal yol ile tek doz uygulanarak, mutant Q19A ve R140A'nın mukozal adjuvant aktivitesi değerlendirilmiştir. Tek başına NDV aşısı ile aşılanmış tavuklar, NDV aşısı ve vahşi-tip rekombinant ChIL-1 β ile aşılanmış tavuklar, Q19A veya R140A ile aşılanmış tavuklar ile kıyaslandığında, 1 hafta sonra önemli ölçüde artmış serum hemaglutinasyon-inhibisyon antikor titreleri ve anti NDV özgü IgA antikor düzeyleri, splenositlerden yüksek miktarda IFN- γ salgısı ve nazal dokularda sekretör IgA'nın artmış olduğu gözlemlenmiştir (Chen ve ark., 2017). Benzer bir

çalışmada rChIFN- α 'nın SPF tavuklara içme suyu ile oral yolla uygulanması ile adjuvant etkisi gösterilmiştir (Marcus ve ark., 1999). İnaktif düşük patojeniteli avian influenza (LPAI) H9N2 aşısının etkinliğini geliştirmek için prokaryotik ekspresyon rekombinant tavuk interferon-alfa (rchIFN- α) aşı adjuvantı olarak kullanılmıştır. Rekombinant (r) chIFN- α ile birlikte uygulanan aşı ile tavukta AI H9N2 aşısının koruyucu bağışıklığını değerlendirmek için, rchIFN- α ile birlikte uygulanan aşıyla tavuklar aşılanmıştır ve ardından AI H9N2 ile epruvasyon yapılmıştır. İnaktif AI aşısı ile aşılama, ölüm oranını %25'e düşürmüştür ve rchIFN- α ile birlikte uygulanan AI aşısı ise ölüm oranını %0'a kadar düşürmüştür. LPAI H9N2'ye karşı tavukta etkili bir aşı stratejisi oluşturmak için aşı ile birlikte rchIFN- α uygulamasının değerini göstermiştir (Gan ve ark., 2019).

Rekombinant tavuk IL-7 (chIL-7)'nin enfeksiyöz bursal hastalık virüs (IBDV)'üne karşı uygulanan aşılarında, aşı adjuvantı olarak kullanılabileceğini gösteren bir çalışmada, IBDV VP2 antijenik bölge geni ve chIL-7 gen vektörleri düzenlenmiş ve bu vektörler ile IBDV VP2 DNA aşısı ile SPF tavuklar aşılanmıştır. Aşılamadan sonraki 35. gün 1x10³ ELD₅₀ (Embriyo Letal Doz 50) virulent IBDV ile epruvasyon çalışması yapılmıştır. ChIL-7 geninin VP2 DNA aşısı ile birlikte kullanılmasının IBDV'ye karşı özgül serum antikor titresini, lenfosit proliferasyonunu ve IFN- γ ve IL-4 üretimini artırdığını göstermiştir. Bu çalışmadan elde edilen bilgiler ışığında chIL-7, IBDV VP2 DNA aşısı için potansiyel aşı adjuvantı aktivitesine sahip olduğu tam olarak gösterilememiş olmasına rağmen chIL-7 geninin aşı adjuvantı olarak kullanılması için önemli deneysel bilgiler elde edilmiştir (Huo ve ark.,

2016). Başka bir çalışmada ise rekombinant chIL-7'nin farklı dozları ile aşılana SPF tavuklarda yapılan bir çalışmada, plazmid tabanlı bir chIL-7 gen ekspresyon vektörünün, tavuklarda, IBDV'ye karşı bir VP2 DNA aşısı için güçlü adjuvant aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Cui ve ark., 2018).

Tavuk IL-18 (chIL-18)'in aşı adjuvantı olarak kullanılmasının, immun sistem üzerinde uyarıcı etkisinin olduğu ve tavukları, NDV'ye karşı korumada etkili olabileceği gösterilmiştir (Su ve ark., 2011). Tavuklarda IBDV'ye karşı DNA aşılamaında chIL-18'in adjuvant etkisi üzerine gerçekleştirdikleri çalışmada, 14 günlük SPF civcivler, pCAGVP243, pCAGVP243-IL-18 ve pCAGGS plazmid DNA aşılı ile iki hafta aralıkla iki kez aşılanmış ve iki hafta sonra çok virulent IBDV (vvIBDV) suşu ile epruvasyon çalışması yapılmıştır. Tavuklarda IBDV'ye karşı koruyucu bağışıklık sağlamak için umut verici bir DNA aşısı adayı olduğu ve chIL-18'in, DNA aşılarının hem humoral hem de hücrel bağışıklık yanıtlarını verimli bir şekilde artırabilen güçlü bir adjuvant olduğu gösterilmiştir (Li ve ark., 2013). Bu çalışmalara ek olarak ChIL-18 ve ChIL-15'in DNA aşılamaındaki adjuvant etkileri farklı çalışmalarda açıkça kanıtlanmıştır (Degen ve ark., 2005; Hung ve ark., 2010; Lim ve ark., 2012).

Rekombinant protein aşılarının koksidiyoza kontrol etme potansiyelini araştırmak için iki *Eimeria* sp. genleri (EtMIC2 ve 3-1E), kodlanmış proteinlerini eksprese edip saflaştırılmış ve *Eimeria* enfeksiyonlarına karşı koruma sağlamak için ise sekiz tavuk sitokin geni (IL-1 β , IL-2, IL-8, IL-15, IFN- α , IFN- γ , TGF- β 4, lenfotaktin), 3-1E parazit genini (pcDNA3-1E) taşıyan bir *Eimeria* DNA aşısı (Min ve ark., 2002) ve EtMIC2 ile IL-18, IL-16, TGF- β 4 veya lenfotaktin ile birlikte aşı uygulaması

(Lillehoj ve ark., 2005) üzerindeki adjuvant etkileri ağırlık kaybının azaltılması, ookist saçılmasının azaltılması veya CD3 ekspresyonunun artırılması açısından değerlendirilmiş ve sitokinlerin kullanılması ile en az bir parametreyi güçlendirdiği kanıtlanmıştır (Min ve ark., 2002; Lillehoj ve ark., 2005).

Tavuk myelomonositik büyüme faktörü (cMGF), kanatlı kemik iliği öncü hücrelerinden makrofaj ve granüositlerin gelişimini artırır ancak adjuvant işlevi henüz karakterize edilmemiştir (Leutz ve ark., 1984). Canlı bir kanatlı çiçeği virüsü (fp/cMGF) aracılığı ile teslim edilen cMGF'nin in vivo biyolojik aktivitesi, önceki bir çalışmada gösterilmiştir (York, 1996). Daha yeni bir çalışmada, Marek hastalığı virüsü (MDV)'ne oldukça duyarlı olan kanatlılar fp/cMGF ile tedavi edilmiştir. Kanatlılar daha sonra ticari bir aşı ile aşılanmış, hindilerin herpes virüsü (HVT) 4 gün sonra ve sitokin tedavisinden 1 hafta sonra MDV'nin virulent (RB-1B) bir suşu ile epruvasyon yapılmıştır. Aşılanmamış kanatlılarda %100 ölüm gözlemlenir iken cMGF ile tedavi edilen aşılanmış kanatlılarda ise hiç ölüm olmamış ve buna ek olarak daha az tümör insidansı olduğu gözlemlenmiştir. MDV'ye karşı korumayı artırmak için aşılar da kullanılan viral suşlar için bir aşı adjuvantı olarak cMGF'nin potansiyel kullanımını açıkça göstermiştir (Djeraba ve ark., 2002). Bu çalışmaların çoğunda sitokinlerin adjuvant etkisi önemli olmasına rağmen bunların kanatlı aşılarda yaygın kullanımı, esas olarak yüksek üretim maliyetleri ve ek pratik engeller nedeniyle belirgin değildir (Kaiser ve Staheli, 2014).

SONUÇ

Kanatlı hayvan endüstrisi, dünyada özellikle gelişmekte olan ülkelerdeki insanların, hayvansal

protein ihtiyacını karşılayacak hayvansal et ve yumurta gibi gıdalardan yararlanması için önem arz etmekte ve her geçen gün üretim hacmi artarak gelişmektedir. Kanatlı broyler endüstrisinin karşılaştığı en büyük sorunlardan biri hastalıklardan kaynaklanan verimlilik kaybıdır. Kanatlı hayvanlar, yoğun bakım koşullarında yetiştirildiği için patojenlerin neden olduğu enfeksiyonların görülme olasılığı artar. Bu nedenle hastalıkların önlenmesinde antibiyotikler yaygın olarak kullanılır. Antibiyotiklerin uzun yıllar boyunca kullanılması neticesinde antibiyotiklere dirençli bakteriler ortaya çıkmıştır. Buna ek olarak, kanatlı hayvanlarda kullanılan aşılardaki adjuvantların olumsuz etkileri de göz önüne alındığında yeni aşı stratejilerinin geliştirilmesi gerektiği ortadadır (Asif ve ark., 2004). Sitokinlerin, immun sistem üzerindeki etkileri bilindiğinden kanatlılarda, eksojen sitokinlerin aşı adjuvantı olarak kullanılmasını düşünmek oldukça mantıklı olacaktır. Kanatlı sitokinlerinin çeşitli bilimsel çalışmalarda aşı adjuvantı olarak kullanılması ile elde edilen bilgiler ışığında, hücrel ve humoral immun yanıtı güçlendirmeleri, hastalık etkenlerine karşı kanatlı hayvanların korunmasında doğal, etkili ve güvenilir potansiyel aşı adjuvantı olduğu kanıtlanmıştır. Ancak yapılan bilimsel çalışmalar yararlı sonuçlar ortaya koymasına rağmen kanatlı sitokinlerinin hem yapısal hem de işlevsel özelliklerinin tam olarak belirlenmesi, aşı adjuvantı olarak kullanımlarını takiben sitokinlerin, kanatlı hayvanlarda yan etkilere sebep olup olmadığının anlaşılması ve kanatlı hayvanlara uygun uygulama yollarının ve yöntemlerinin belirlenmesi için yeni bilimsel araştırmalara ve mevcut çalışmaların geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Asif, M., Jenkins, K.A., Hilton, L.S., Kimpton, W.G., Bean, A.G., Lowenthal, J.W. (2004). Cytokines as adjuvants for avian vaccines. *Immunology and Cell Biology*, 82(6), 638–643.
- Chen, W.T., Chang, H.K., Lin, C.C., Yang, S.M., Yin, H.S. (2017). Chicken interleukin-1 β mutants are effective single-dose vaccine adjuvants that enhance mucosal immune response. *Molecular Immunology*, (87), 308-316.
- Cohen, S., Bigazzi, P., Yoshida, T. (1974). Similarities of thymus-derived lymphocyte function in cell-mediated immunity and antibody production. *Cellular Immunology*, (12), 150-159.
- Cui, D., Zhang, J., Zuo, Y., Huo, S., Zhang, Y., Wang, L., Li, X., Zhong, F. (2018). Recombinant chicken interleukin-7 as a potent adjuvant increases the immunogenicity and protection of inactivated infectious bursal disease vaccine. *Veterinary Research*, 49(1), 10.
- Darnell, J.J. (1997). STATs and gene regulation. *Science (New York, N.Y.)* (277 (5332)), 1630–1635.
- De Boever, S., Croubels, S., Demeyere, K., Lambrecht, B., De Backer, P., Meyer, E. (2010). Flow cytometric differentiation of avian leukocytes and analysis of their intracellular cytokine expression. *Avian Pathology*, (39), 41-46.
- Degen, W.G., van Zuilekom, H.I., Scholtes, N.C., van Daal, N., Schijns, V.E. (2005). Potentiation of humoral immune responses to vaccine antigens by recombinant chicken IL-18 (rChIL-18). *Vaccine*, (23), 4212-4218.
- Djeraba, A., Musset, E., Lowenthal, J.W., Boyle, D.B., Chausse, A.M., Peloille, M., Quere, P. (2002). Protective Effect of Avian Myelomonocytic Growth Factor in Infection with Marek's Disease Virus. *Journal of Virology*, 1062-1070.
- Downing, T., Lloyd, A., O'farrelly, C., Bradley, D.G. (2010). The Differential Evolutionary Dynamics of Avian Cytokine and TLR Gene Classes. *The Journal of Immunology*, (184), 6993-7000.
- Gan, L., Tian, Y., Zhao, Y., Shan, X.Q., Zhou, W., Xia, B.B., Chen, J., Wang, M.L., Zhao, J. (2019). Enhancing immunogenicity and protective efficacy of inactivated avian influenza H9N2vaccine with recombinant chicken IFN- α in chicken. *Veterinary Microbiology*, (234), 77-82.
- Hilton, L., Bean, A., Lowenthal, J. (2002). The emerging role of cytokines as immunotherapeutic and adjuvants in vaccine. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 85 (3-4), 119-128.
- Hung, L.H., Li, H.P., Lien, Y.Y., Wu, M.L., Chaung, H.C. (2010). Adjuvant effects of chicken interleukin-18 in avian Newcastle disease vaccine. *Vaccine*, (28), 1148-1155.
- Huo, S., Zuo, Y., Li, N., Zhang, Y., Wang, L., Liu, H., Zhang, J., Cui, D., He, P., Xu, J., Li, Y., Zhu, X., Zhong, F. (2016). Chicken IL-7 as a potent adjuvant enhances IBDV VP2 DNA vaccine

- immunogenicity and protective efficacy. *Veterinary Microbiology*, (193), 145-155.
- Inagaki-Ohara, K., Hanada, T., Yoshimura, A. (2003). Negative regulation of cytokine signaling and inflammatory diseases. *Current opinion in Pharmacology*, 3(4), 435-442.
- Kaiser, P., Staheli, P. (2014). Avian Cytokines and Chemokines. K. A. Schat, B. Kaspars, & P. Kaiser (Dü) içinde, *Avian Immunology* (second ed b., s.). USA: Elsevier Ltd. s:189-204.
- Kalaiyarasu, S., Kumar, D., Kumar, M., Sankar, P., Elamurugan, A., Karikalan, M. (2013). Cytokines as potent therapeutic agent and vaccine adjuvant in poultry. *Research News for U (RNFU)* (10), 2250-3668.
- Karaca, K., Sharma, J., Winslow, B., Junker, D., Reddy, S., Cochran, M., McMillen, J. (1998). Recombinant fowlpox viruses coexpressing chicken type I IFN and Newcastle disease virus HN and F genes: influence of IFN on protective efficacy and humoral responses of chickens following in ovo or post-hatch administration of recombinant viruses. *Vaccine*, (16), 1496-1503.
- Kogut M.H. (2000). Cytokines and prevention of infectious diseases in poultry: a review. *Avian Pathology: Journal of the W.V.P.A.*, 29(5), 395-404.
- Kumar, S., Koul, M., Rai, A. (2010). Role of Immunostimulatory Molecules in Poultry Vaccines. *Recent Patents on Biotechnology*, 4(3), 235-241(7).
- Leutz, A., Beug, H., Graf, T. (1984). Purification and characterization of cMGF, a novel chicken myelomonocytic growth factor. *The EMBO Journal*, pp.3191 - 3197.
- Leutz, A., Damm, K., Sterneck, E., Kowenz, E., Ness, S., Frank, R., Gausepohl, H., Pan, Y.C., Smart, J., Hayman, M., Graf, T. (1989). Molecular cloning of the chicken myelomonocytic growth factor (cMGF) reveals relationship to interleukin 6 and granulocyte colony stimulating factor. *The EMBO Journal*. 8(1), 175-181.
- Li, K., Gao, H., Gao, L., Qi, X., Gao, Y., Qin, L., Wang, Y., Wang, X. (2013). Adjuvant effects of interleukin-18 in DNA vaccination against infectious bursal disease virus in chickens. *Vaccine*, (31), 1799-1805.
- Lillehoj, H.S., Ding, X., Dalloul, R.A., Sato, T., Yasuda, A., Lillehoj, E.P. (2005). Embryo vaccination against *Eimeria tenella* and *E. acervulina* infections using recombinant proteins and cytokine adjuvants. *The Journal of Parasitology*, 91(3), 666-673.
- Lim, K.L., Jazayeri, S.D., Yeap, S.K., Alitheen, N.M., Bejo, M.H., Ideris, A., Omar, A.R. (2012). Co-administration of avian influenza virus H5 plasmid DNA with chicken IL-15 and IL-18 enhanced chickens immune responses. *BMC Veterinary Research*, 8, 132.
- Lowenthal, J., O'neil, T.E., Broadway, M., Strom, A., Digby, M.R., Andrew, M., York, J.J. (1998). Coadministration of IFN- γ Enhances Antibody Responses in Chickens. *Journal of Interferon and Cytokine Research*, (8), 617-622.
- Marcus, P.I., van der Heide, L., Sekellick, M. (1999). Interferon Action on Avian Viruses. I. Oral Administration of Chicken Interferon-alpha Ameliorates Newcastle Disease. *Journal of Interferon and Cytokine Research*, 19(8), 881-885.
- Meng, S., Yang, L., Xu, C., Qin, Z., Xu, H., Wang, Y., Sun, L., Liu, W. (2011). Recombinant chicken interferon- α inhibits H9N2 avian influenza virus replication in vivo by oral administration. *Journal of Interferon Cytokine Research*, 31, 533-538.
- Min, W., Lillehoj, H.S., Burnside, J., Weining, K.C., Staeheli, P., Zhu, J.J. (2002). Adjuvant effects of IL-1 β , IL-2, IL-8, IL-15, IFN- α , IFN- γ TGF- β 4 and lymphotactin on DNA vaccination against *Eimeria acervulina*. *Vaccine*, 20, 267-274.
- Rautenschlein, S., Sharma, J.M., Winslow, B.J., McMillen, J., Junker, D., Cochran, M. (2000). Embryo vaccination of turkeys against Newcastle disease infection with recombinant fowlpox virus constructs containing interferons as adjuvants. *Vaccine*, (18), 426-433.
- Redmond, S., Chuammitri, P., Andreasen, C., Palic, D., Lamont, S. (2009). Chicken heterophils from commercially selected and non-selected genetic lines express cytokines differently after in vitro exposure to *Salmonella enteritidis*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, (132), 129-134.
- Schijns, V., Weining, K.C., Nuijen, P., Rijke, E.O., Staeheli, P. (2000). Immunoadjuvant activities of *E. coli*- and plasmid-expressed recombinant chicken IFN-a/b, IFN-g and IL-1b in 1-day- and 3-week-old chickens. *Vaccine*, 18, 2147-2154.
- Shi, X.M., Zhao, Y., Gao, H.B., Jing, Z., Wang, M., Cui, H.Y., Tong, G.Z., Wang, Y.F. (2011). Evaluation of recombinant fowlpox virus expressing infectious bronchitis virus S1 gene and chicken interferon-gene for immune protection against heterologous strains. *Vaccine*, (29), 1576-1582.
- Su, B., Shen, P., Hung, L., Huang, J., Yin, H., Lee, L. (2011). Potentiation of cell-mediated immune responses against recombinant HN protein of Newcastle disease virus by recombinant chicken IL-18. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 141, 283-292.
- Takehara, K., Kobayashi, K., Ruttanapumma, R., Kamikawa, M., Nagata, T., Yokomizo, Y., Nakamura, M. (2003). Adjuvant Effect of Chicken Interferon-gamma for Inactivated *Salmonella Enteritidis* Antigen. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 65(12), 1337-1341.
- Tizard, I.R. (2004). Cytokines and the Immune System. I. R. Tizard içinde, *Veterinary Immunology* (7th ed b). W.B. Saunders Co. s. 133-143.
- Tizard, I. R. (2012). Innate Immunity: Proinflammatory and Antimicrobial Mediators. I. R. Tizard içinde, *Veterinary Immunology* (9th ed b). Saunders. s. 21-28
- Tizard, I.R. (2012a). Helper T Cells and Their Response

- to Antigen. I. R. Tizard içinde, Veterinary Immunology (9th ed. b). Saunders. s. 137-149.
- Tizard, I.R. (2012b). Regulation of Adaptive Immunity. I. R. Tizard içinde, Veterinary Immunology (9th ed. b.). Saunders. s. 209-224.
- Umar, S., Arif, M., Shah, M., Munir, M., Yaqoob, M., Ahmed, S., Khan, M.I., Younus, M., Shahzad, M. (2015). Application of avian cytokines as immuno-modulating agents. World's Poultry Science Journal, 71, 643-654.
- Wigley, P., Kaiser, P. (2003). Avian cytokines in health and disease. Brazilian Journal of Poultry Science, 5(1), 1-14.
- Yao, Q., Fischer, K.P., Arnesen, K., Tyrrell, DL., Gutfreund, K.S. (2014). Molecular cloning, expression and characterisation of Pekin duck interferon- λ . Gene, 548, 29-38.
- Yin, J., Jin, H., Yang, F., Ding, Z., Huang, C., Zhu, Q., Wang, B. (2007). Synergistic Effects of Adjuvants Interferon-gamma and Levamisole on DNA Vaccination against Infection with Newcastle Disease Virus. Viral Immunology, 20, 288-299.
- York, J.J. (1996). In vivo effects of chicken myelomonocytic growth factor: delivery via a viral vector. The Journal of Immunology, 156(8), 2991-2997.