



T.C.  
MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

TİNEA PEDİSLİ HASTALARDA REGULATUVAR  
T HÜCRE DÜZEYİ

Dr. Arzu YURTSEVER BAKIR  
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. H. Gülçin ESKANDARI

MERSİN-2013



T.C.  
MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

TİNEA PEDİSLİ HASTALARDA REGULATUVAR  
T HÜCRE DÜZEYİ

Dr. Arzu YURTSEVER BAKIR  
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. H. Gülçin ESKANDARİ

Bu tez, BAP BAP-TF TTB (AYB) 2011-5 TU kodlu proje olarak Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

MERSİN-2013

## TEŐEKKÖRLER

Uzmanlık eğitimim süresince her zaman destek ve yardımlarını yanımda hissettiğim, bilgisini, sabrını ve hoş görüsünü esirgemeyen, tezimin hazırlanmasında büyük emeği geçen değerli hocam Prof. Dr Gülçin Eskandari'ye,

Eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, destek ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Gürbüz Polat, Prof. Dr. Lülüfer Tamer Gümüş, Prof. Dr. Burak Çimen ve Doç. Dr. Necati Muşlu'ya,

Tezime ait hasta grubu örneklerinin toplanması ve tezimin klinik sürecindeki katkılarından dolayı Dermatoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Tamer İrfan Kaya'ya ve asistan arkadaşlarım Arş. Gör. Dr. Bilal Bulut ve Arş. Gör. Dr. Sevgi Yüksekbağ'a,

Tezimin istatistik analizlerini yapan Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Arş. Gör. Didem Derici'ye,

Tezimin laboratuvar aşamasındaki katkılarından dolayı çalışma arkadaşlarım Cemil Gülüm, Murat Ağca ve tüm teknisyen arkadaşlarıma,

Asistanlığım süresince birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, destek ve yardımlarını esirgemeyen tüm asistan arkadaşlarıma,

Yaşamım süresince her zaman destek ve sevgilerini yanı başımda hissettiğim sevgili aileme,

En içten duygularıyla teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa No</b>
ÖZET	5
İNGİLİZCE ÖZET	6
GİRİŞ VE AMAÇ	7
GENEL BİLGİLER	10
YÜZEYEL DERMATOFİT ENFEKSİYONLARI	10
Tinea Pedis	11
Epidemiyoloji ve Prevalans	12
Risk Faktörleri	12
Patogenez	13
Dermatofitid (ID Reaksiyonu)	15
Klinik	15
İnterdijital-tip Tinea Pedis	15
Mokasen-tip Tinea Pedis	16
Vezikülobülloz Tinea Pedis	16
Tanı	16
Mikroskopik İnceleme Yöntemi	16
Nativ Preparat	16
Wood Işığı	16
Kültür Yöntemi	16
Deri veya Tırnak Biyopsisi	17
İMMUNİTE	17
Doğal İmmunite	17
Edinsel İmmunite	18
Periferik Kan Lenfosit Grupları	19
İmmunolojik Tolerans	24
T Hücrelerinde Santral Tolerans	24
Periferik T Lenfosit Toleransı	26
T Hücre Anergisi	26

Aktivasyona Bağlı Hücre Ölümü	26
İmmun Baskılama	28
REGULATUVAR T HÜCRE	29
Regulatuvar T Hücre Sınıflaması	29
Doğal Treg Hücreleri (Natural Treg, nTreg )	29
Adaptif (İnducible) Treg Hücreler	30
Treg Hücrelerin Moleküler Karakteristikleri	31
Forkhead Box P3 (FoxP3)	31
CD25 (IL-2R $\alpha$ )	33
GITR (Glucocorticoid-Induced TNF Receptor)	33
Sitotoksik T Lenfosit İlişkili-4 (Cytotoxic T Lymphocyte Associated-4, CTLA-4)	33
Programlanmış Ölüm Reseptörü-1 (PD-1)	34
Lenfosit Aktivasyon Gen-3 (Lymphocyte Activation Gene-3, LAG-3)	34
CD127	35
HLA-DR (Human Leukocyte Antigen-DR)	35
Regulatuvar T Hücrelerin Etki Mekanizmaları	35
DERMATOFİTOZİSDE İMMÜN SİSTEM	37
Dermatofitoziste Doğal İmmun Sistem	38
Keratinizasyon ve Epidermal Proliferasyon	38
Antifungal Maddeler	39
Doymamış Transferrin	39
Kemotaksis ve Fagositik Hücrelerin Antifungal Mekanizmaları	39
Dendritik Hücreler	40
Dermatofitoziste Edinsel İmmun Sistem	41
Th1 Hücreleri	41
Th2 Hücreleri	43
Th17 Hücreleri	43
$\gamma\delta$ T Hücreleri	44
Regülatuvar T Hücreler	44
GEREÇ VE YÖNTEMLER	48
Çalışma Grubu	48
Kullanılan Araç ve Gereçler	48

Kullanılan Reaktif ve Kitler	49
Örneklerin Toplanması	49
Periferik Kan Mononükleer Hücre İzolasyonu	49
Hazırlanan Solusyonlar	50
Çalışma Prosedürü	50
Flowsitometrik Değerlendirme	51
Prensip	51
İstatiksel Analiz	55
BULGULAR	56
TARTIŞMA	59
SONUÇ VE ÖNERİLER	66
KAYNAKLAR	67
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	77
ŞEKİLLER DİZİNİ	80
TABLolar DİZİNİ	81

## ÖZET

Tinea pedis, ayağın dermatofitler tarafından oluşturulan kronik fungal enfeksiyonudur. Hücresel immün yanıt, özellikle CD4+T lenfosit yanıtı ile dermatofitlere karşı gelişen konak savunmasında etkin rol oynamaktadır. Regulator T hücreleri ise antiinflamatuar etkisiyle patolojik doku yıkımını azaltmakta, immün yanıtı suprese ettiği için de enfeksiyonun kronikleşmesine sebep olmaktadır. Dermatofit enfeksiyonlarında bu hücrelerin rolü ile ilgili sınırlı sayıda çalışma vardır. Bu çalışmada Regulator T hücrelerin Tinea pedisteki rolünü belirlemeyi amaçladık.

Bu çalışmaya Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Hastanesi Dermatoloji Polikliniğine başvuran tinea pedis tanısı almış 53'ü ayak parmak arası ve ayak tabanı, 12'si vezikülobülloz tip olmak üzere toplam 65 hasta ve 65 sağlıklı birey kontrol grubu olarak dahil edildi. Kontrol ve hasta gruplarında periferik kanda akım sitometri yöntemiyle CD4+T hücre yüzdeleri, CD4+CD25+FoxP3+ (Treg) hücre yüzdeleri ve absolut sayı/ $\mu$ L düzeyleri hesaplandı.

Çalışmamızda hasta grubu CD4+%, CD4+CD25+FoxP3+%, CD4+CD25+FoxP3+ absolut sayı/ $\mu$ L değerlerinin kontrol grubu değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu bulundu. Ayak Parmak arası/Ayak Tabanı, Vezikülobülloz ve kontrol gruplarını karşılaştırdığımızda ise CD4+% değerleri bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmazken, CD4+CD25+FoxP3+%, CD4+CD25+FoxP3+ absolut sayı/ $\mu$ L değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulundu. Bu farklılığın Ayak Parmak arası/Ayak Tabanı hasta grubu değerlerinin kontrol ve Vezikülobülloz hasta grubuna göre düşük olmasından kaynaklandığı bulundu.

Sonuç olarak regulator T hücre değerlerinin Ayak Parmak arası/Ayak Tabanı hasta grubunda düşük olmasının bu klinik formdaki yetersiz inflamatuvar yanıtla ilişkili olabileceği düşünüldü. Hasta grubundaki düşük CD4+% değerlerinin enfeksiyona karşı konak yanıtının yetersiz kalarak enfeksiyonun kronikleşmesine katkıda bulunduğunu, ayrıca Ayak Parmak arası/Ayak Tabanı hasta grubu düşük Treg değerlerinin düşük CD4+% değerleriyle de ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz

**Anahtar kelimeler:** CD4+ T lenfosit, İnflamasyon, Tinea Pedis, Treg.

## ABSTRACT

Tinea pedis known as Athlete's foot is a chronic fungal infection of the foot by dermatophytes. Cellular immune response, especially CD4+T lymphocyte response developed against dermatophytes plays active role in host defense. Regulatory T cells reduces pathological tissue destruction caused by inflammation by blocking the development of inflammatory reaction. So, they causes to the chronicity of infection because of the suppression of immune responses. There are limited investigations about the role of Treg cells on dermatophyte infections. The purpose of this study is to show the role of Treg cells on tinea pedis.

The patients who admitted to dermatology clinic of the Mersin University School of Health Research and Application Center Hospital and diagnosed as tinea pedis were included to the study. We studied 65 healthy controls and 65 patients with tinea pedis who had not any systemic diseases. 65 patients with tinea pedis were divided into interdigital (53) and vesiculobullous type (12). CD4+ T cell percentages and CD4+CD25+FoxP3+ cell percentages and absolute number/ $\mu$ L were evaluated in control and patient groups.

In our study, it is found that CD4+%, CD4+CD25+FoxP3+%, absolute number/ $\mu$ L of CD4+CD25+FoxP3+ were statistically lower in patient group than in control group. When compared to interdigital, vesiculobullous and control group, it is found that no significant difference between groups with regard to CD4+% values. We found that significant difference between interdigital, VB and control group in terms of CD4+CD25+FoxP3+% and absolute number/ $\mu$ L of CD4+CD25+FoxP3+ this significant difference derived from low levels of interdigital group.

In conclusion, we thought that low values of Treg cells in interdigital group were associated with poor inflammatory response in this clinical form. The low values of CD4+% in patient group may be related with poor response of host against infection and result in chronicity of the infection. Additionally, we suppose that the low Treg values in interdigital group may be associated with low CD4+% values.

**Key words:** CD4+ T lymphocyte, Inflammation, Tinea Pedis, Treg.



## GİRİŞ VE AMAÇ

Mantar enfeksiyonları yüzeysel ve derin mikozlar olarak ayrılırlar<sup>1</sup>. Yüzeysel mikozların majör etkeni dermatofitlerdir. Dermatofitler tarafından oluşturulan deri enfeksiyonları tinea ya da dermatofitoz olarak adlandırılır<sup>2,3</sup>. Tinea pedis ayağın dermatofitler tarafından oluşturulan kronik fungal enfeksiyonudur. İnsanlarda en sık görülen mantar enfeksiyonu olan tinea pediste inflamasyonlu, eritemli, kaşıntılı bölgeler ayak üzerinde tek bölgede lokalize (vesikülobülloz), ayağın lateral kısmında (mokasen tip) ve bazen de ayak parmakları arasında olabilir<sup>4,5</sup>. Hastalığın en önemli özellikleri tekrarlaması, kronikleşmesi, alt ekstremitelerde lenfanjit ve sellülit gibi sekonder bakteriyel enfeksiyonlara zemin hazırlamasıdır<sup>6</sup>.

Konağın immün direnci diğer enfeksiyonlarda olduğu gibi dermatofitozlarda da hastalığın klinik formunu, seyir ve prognozunu etkiler. Fungal antijen ile konağın immun yanıtı arasındaki ilişkiye bağlı olarak hastalık akut ve inflamatuvar ya da kronik ve noninflamatuvar olarak görülebilir. İmmun sistemin zayıf olduğu hastalarda dermatofitoz insidansı artmakta ve enfeksiyon kronikleşebilmektedir. Kutanöz mantar enfeksiyonlarının immünolojik defektli hastalarda daha sık görülmesi ve daha ağır seyretmesi, fungal antijenlere karşı verilen immün yanıtın, konağın bu enfeksiyonlara karşı savunmasının önemli bir parçasını oluşturduğunu göstermektedir<sup>7</sup>. Dermatofitozlara direnç doğal immun sistem ve kazanılmış immun yanıt kombinasyonu ile oluşan inflamatuvar bir reaksiyondur<sup>8</sup>.

Dermatofitlere karşı gelişen konak hücresel immun yanıtı enfeksiyonun temizlenmesi için en önemli faktör olarak görünmektedir<sup>9</sup>. Fungal antijen sunumu sonrası CD4+ ve CD8+ T lenfositlerden antifungal immüniteyi düzenleyen çok sayıda sitokin salgılanmaktadır. Normal durumlarda epidermiste bulunmayan lenfositler, tinea tablosunda etkilenen deri bölgesine doğru göç ederler ve patojen savunmasında görev alırlar<sup>10</sup>. CD4+ T lenfosit düşüklüğü olan hastalarda dermatofit enfeksiyonlarında kronikleşme eğiliminin arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur<sup>11</sup>.

Fungal antijen sunumu sonrası ortaya çıkan CD4+ T lenfosit subpopulasyonlarının farklı immun yanıt yolları vardır ve Th1, Th2 alt grupları patojenlere karşı bağışıklığı düzenlemekte ve enfeksiyonun sonucunun ne olacağını belirlemektedir<sup>12</sup>. Genel olarak Th1 ve Th17'nin yanıtları antifungal savunmaya katkı sağlamaktadır. Th1 immun yanıt sonucu gelişen inflamatuvar süreç enfeksiyonun eliminasyonunda önemli rol oynarken, Th2 hücreleri antiinflamatuvar etkinin artışı sağlarlar ve enfeksiyona duyarlılığı artırırlar<sup>12,13</sup>.

1980'lerin sonunda Th1 ve Th2 hücrelerinin keşfi ile supressör hücrelerin varlığı sorgulanmaya başlanmıştır<sup>14</sup>. Son yıllardaki çalışmalar ise ayrı bir hücre grubu olarak Treg hücrelerinin varlığını yeniden gündeme getirmiştir<sup>15</sup>. 2001 yılında Sakaguchi ve arkadaşları CD4+CD25+T hücreleri reglatuvar T hücreleri olarak adlandırmış ve böylece yeni bir T hücre alt grubu ortaya konulmuştur. Baskılayıcı hücreler zaman içerisinde CD4+CD25+ Treg hücreleri olarak anılmaya başlanmıştır<sup>16</sup>.

Reglatuvar hücreler dolaşımdaki lenfositlerin %2'sinden daha azını oluştururlar. Bu hücrelerin vücutta gelişen oto-antijenlere karşı oluşacak sitotoksik T lenfosit (Cytotoxic T Lymphocytes, CTL) ve T helper hücre etkinliğini baskılayarak, immün sistemi baskılayıcı yönde kontrol ettikleri bilinmektedir<sup>17</sup>. Bu hücrenin homojen bir topluluk olmadığı, bir kısmı doğal Treg olup direkt olarak timustan kaynaklanırken, bir diğer grubun uyarı sonucu oluşan Treg'ler olup naif CD4+ veya CD8+ hücrelerden antijen ile temas sonrası ortaya çıktıkları gösterilmiştir<sup>18</sup>.

Treg hücre-enfeksiyon immunitesi ilişkisini araştıran çok sayıda çalışma vardır. Eftör evrede CD4+ T lenfositler, hücrel bağışıklığı uyarmak üzere aktive olarak, inflamatuvar sitokin ve kemokinlerin salınımına sebep olurlar. Bu sitokinler makrofaj, nötrofil ve enfeksiyon bölgesindeki diğer hücrelerin etkinleşmesine yol açarak enfeksiyona karşı koruyucu inflamatuvar yanıtın oluşmasını sağlarlar<sup>19</sup>. Treg hücreler ise enfeksiyon sırasında oluşan bu inflamatuvar yanıtı baskılayarak patolojik doku yıkımını azaltmakta fakat koruyucu immün yanıtları suprese ettiği için patojen persistansının uzamasına yol açarak enfeksiyonun kronikleşmesine sebep olmaktadır<sup>13,20</sup>.

Kronik fungal enfeksiyonlarda Treg hücre immunitesi ilişkisini araştıran çalışmalar yapılmıştır. Ancak yüzeysel dermatofit enfeksiyonlarında çalışmalar oldukça sınırlıdır. Tinea pedis ve Treg hücre düzeyleri arasında ilişki bulunması

dermatofitozların tanı ve tedavisinde yeni yaklaşımlar sağlanması açısından önemlidir. Biz bu çalışmada Tinea pedis hastalarıyla sağlıklı kontroller arasında Treg hücre düzeyi açısından fark olup olmadığını araştırdık. Böylece Treg hücrelerin yüzeysel dermatofit enfeksiyonlarındaki rolünün daha iyi anlaşılır olmasını amaçladık.

## GENEL BİLGİLER

### YÜZEYEL DERMATOFİT ENFEKSİYONLARI

Mantar enfeksiyonları yüzeysel ve derin mikozlar olarak ayrılırlar. Deride oluşan mantar hastalıklarından en sık görüleni yüzeysel mantar enfeksiyonları olup, epidermis, saç ve tırnaklarla sınırlıdır<sup>1</sup>.

Yüzeysel mikozların majör etkeni dermatofitlerdir. Dermatofitler tarafından oluşturulan deri enfeksiyonları tinea ya da dermatofitoz olarak adlandırılır. Dermatofitler aerop funguslar olup, keratini besin maddesi olarak kullandıkları için keratinofilik funguslar olarak da adlandırılırlar<sup>2,3</sup>.

Derinin yüzeysel mantar enfeksiyonlarına üç farklı dermatofit neden olur; Trichophyton, Microsporum ve Epidermophyton. Daha az sıklıkta nondermatofit mantarlar (örn. *Malassezia furfur*) ve kandida türleri de yüzeysel deri enfeksiyonu etkenleri olarak karşımıza çıkmaktadır<sup>21</sup>.

Dünya üzerindeki en yaygın enfeksiyonlardan biri olan, çoğunlukla tropikal ülkelerde görülen dermatofitozların sıklığı ve etyolojik etkenin tipi coğrafi bölgenin yanı sıra toplumun sosyoekonomik seviyesi, halkın yaşam tarzı, göçler, incelemenin yapıldığı zaman, iklim değişiklikleri, kişilerin yaşları ve evcil hayvan besleme gibi birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Yeryüzünde çok sayıda bulunan küf ve maya mantarlarının yaklaşık olarak 100 kadarı, insanlarda enfeksiyonlara sebep olmaktadır<sup>22</sup>.

Dermatofitler, Arthrodermataceae sınıfında yer alan hifomiçetlerdir. Bütün dermatofitler stratum korneum tabakasında, saç ve tırnaklarda bulunan keratin tabakasını bozabilme özelliğine sahiptir. Bu özellikleri nedeniyle insanlarda keratin içeren yüzeysel dokularda enfeksiyona yol açabilmektedirler. Dermatofitlerin dermis ve üst subkutis tabakasına penetrasyonu, özellikle saç foliküllerine invazyonda görülür. Fakat derinin daha alt tabakaları ya da viseral organlar genellikle tutulmaz. Antropofilik türler (Tablo 1) ağırlıklı olarak insanları enfekte ederken; zoofilik türler ise aksine primer olarak hayvanlarda bulunur ve bazı durumlarda hayvan konaktan direkt ya da indirekt şekilde insanlara geçebilir. Jeofilik türler ise, keratin tabakasını kendi başlarına değil, özellikle bir

travmayı takiben oluşan cilt yaralarının ardından deriye ekilme yöntemi ile bozarlar ve bu yolla insanlarda enfeksiyona neden olurlar<sup>10,23</sup>.

**Tablo 1:** Antropofilik dermatofitler.

<b>Antropofilik dermatofitler</b>	
Dünya genelinde	Belirli bölgelerdeki dağılımı
<ul style="list-style-type: none"><li>• Tricophyton rubrum T. rubrum çeşitleri sınırlı dağılım gösterirler.</li><li>• Tricophyton megnii (Portekiz, İspanya, Sardinia, Burundi)<ul style="list-style-type: none"><li>○ kanei (Kuzey Amerika, Avrupa, Afrika)</li><li>○ krajdinii ( Kuzey Amerika, Avrupa)</li><li>○ raubitschekii (Asya, Güney Afrika, Güney Amerika)</li></ul></li><li>• Tricophyton interdigitale (antropofilik suşları)</li><li>• Tricophyton tonsurans</li><li>• Epidermophyton floccosum</li><li>• Microsporum audouinii</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Tricophyton schönleinii (Avrasya, Kuzey Afrika)</li><li>• Tricophyton violaceum (Batı Avrupa, Kuzey Afrika, Orta Amerika)</li><li>• Microsporum ferrugineum (Asya, Afrika, Doğu Avrupa)</li><li>• Tricophyton concentricum (Pasifik Adaları, Güneydoğu Asya, Orta Amerika)</li></ul>

İnsan enfeksiyonlarından izole edilen dermatofit türleri çoğunlukla Trichophyton cinsi içinde yer almaktadır. Dermatofit enfeksiyonları tuttukları anatomik alana göre sınıflandırılır ve isimlendirilirler<sup>24</sup>. Trichophyton türleri saç, deri ve tırnağı enfekte eder. Antropofilik olan Trichophyton rubrum; tinea pedis, tinea corporis, tinea manum ve tinea unguium olgularında en önemli etkindir<sup>2</sup>.

### **Tinea Pedis**

Atlet ayağı olarak da bilinen tinea pedis, ayağın dermatofitler tarafından oluşturulan kronik fungal enfeksiyonudur. İnsanlarda en sık görülen mantar enfeksiyonu olan tinea pedisde inflamasyonlu, eritemli, kaşıntılı bölgeler ayak üzerinde tek bölgede lokalize (vesikülobülloz), ayağın lateral kısmında (mokasen tip) ve bazen de ayak parmakları arasında olabilir<sup>4,5</sup>.

Hastalığın en önemli özellikleri tekrarlaması, kronikleşmesi, alt ekstremitelerde lenfanjit ve sellülit gibi sekonder bakteriyel enfeksiyonlara zemin hazırlamasıdır<sup>6</sup>.

### **Epidemiyoloji ve Prevalans**

Tinea tanısı almış hastalarda yapılan çalışmalarda onikomikoz ve tinea pedisde en sık etkenin dermatofitler olduğu gösterilmiştir<sup>25</sup>. *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* ve *Epidermophyton floccosum* tüm dünyada görülen tinea pedis enfeksiyonlarının çoğundan sorumludurlar. Bu keratinofilik organizmalar arasında kronik tinea pedis enfeksiyonu ile en fazla ilişkili olan *Trichophyton rubrum*dur<sup>4,26</sup>.

Coğrafi ve mevsimsel özelliklere bağlı olarak dünyanın değişik bölgelerinde farklı dermatofit florası bulunur ve zamanla bu flora değişiklik gösterebilir. Türkiye’de dermatofitozlar 1950-1970 yılları arasında daha çok tinea kapitis şeklinde izole edilirken, takip eden yıllarda tinea pedis baskın klinik form haline gelmiştir<sup>22,27</sup>.

Prevalans çalışmalarında dermatofitoz oranları, farklı meslek ve hasta gruplarında farklılık göstermektedir. Askerlerde %60,1, tekstil işçilerinde %16,9, diabetes mellitusu olanlarda %26, romatoid artritli olanlarda %32 bulunmuştur<sup>27</sup>.

Tüm hastaların 1/3’ünde tinea pedis ile beraber onikomikoz olduğu tahmin edilmektedir. Diabetes mellitus önemli bir risk faktörü olup, olmayanlara göre mantar enfeksiyonu olma olasılığı bu hastalarda %50 artmaktadır<sup>21</sup>.

Yetişkinlerde özellikle 20-40 yaş grubu arasında ve erkeklerde daha sık görülür, çocuklarda ender rastlanır. Bazı dermatofit etkenleri zoofilik veya jeofilik olabildiğinden, çiftçilikle uğraşanlarda ve hayvan besleyenlerde hastalığa daha sık rastlanmaktadır. *Microsporum canis* genellikle kedi ve köpeklerle temas eden kişilerde hastalık oluşturur<sup>21,25</sup>.

### **Risk Faktörleri**

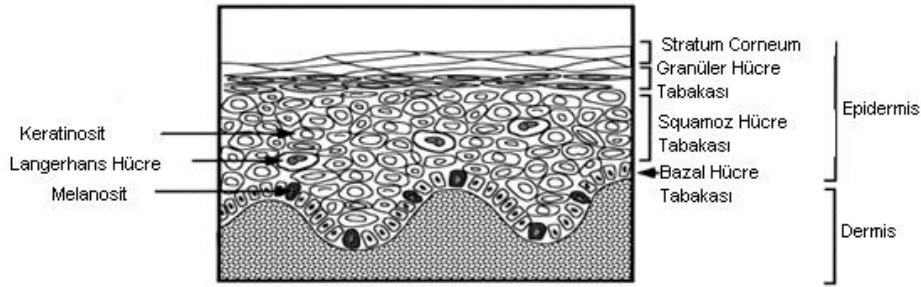
Tinea pediste risk faktörleri genel ve lokal risk faktörleri olarak sınıflandırılabilir. Hastanın genel sağlık durumu tinea pedis oluşmasında önemli bir risk faktörüdür. Yaşlı, obez ya da zayıf kontrollü diabetes mellitus gibi sistemik problemleri olan hastalar büyük risk altındadır. Kemoterapi, steroidler gibi immun supresif ilaçlar, Edinsel İmmun Yetmezlik Sendromu (Acquired Immune Deficiency Syndrome, AIDS), organ transplantasyonu ve parenteral

nutrisyon gibi immun sistemin zayıfladığı durumlar da tinea pedis insidansını arttıran genel faktörler arasında sayılabilir<sup>4</sup>.

Tinea pedis enfeksiyonunun oluşmasında lokal faktörler de etkilidir. Kötü hijyen, kapalı ayakkabılar, küçük deri ve tırnak yaralanmaları, uzun süreli nemli cilt mantar için ideal ortam yaratır. Tinea pedis insanlarla direk temas yoluyla ya da ortak kullanılan duşlar, çorap, ayakkabı, soyunma odaları ve havuz yüzeyleri gibi objeler aracılığıyla bulaşır. Evcil hayvanlar mantarı taşıyabilir ve bulaşma kaynağı olabilir<sup>29</sup>. İsrail’de okul çocukları arasında yapılan bir çalışma sık ayak yıkamanın stratum corneumun delipidasyonuna ve pH değişikliklerine yol açarak mantar üremesini kolaylaştırdığını göstermiştir<sup>3,4</sup>.

### Patogenez

Deri histolojik olarak üç tabakadan oluşmuştur; epidermis, dermis ve hipodermis. Derinin normal anatomisi Şekil 1’de gösterilmiştir<sup>7</sup>.



**Şekil 1.** Derinin anatomisi.

Cildin fiziksel ve kimyasal yapısı, mantar patojenlerine karşı savunma olanağı sağlar. Normal sağlıklı deri pH’sı 4.0-6.8 arasındadır. Aşırı neme maruziyet ile pH yükselir<sup>31,32</sup>. Derinin yüzeyi, mantar elemanlarının büyümesine görece daha az olanak sağlar. Derinin nem miktarının az olması ve normal deri florası nonspesifik savunma mekanizmalarına katkıda bulunur. Derideki bazı yağ asidi türleri ise, direkt olarak antifungal etkilere sahiptir<sup>7,10,33-35</sup>. Derinin bakteriyel florası nem, kapalı kalma, deskuamasyon, mikrobiyal antagonizma gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir<sup>36</sup>.

Dermatofitler, özellikle keratin tabakasını bozabilen hifomiçetlerdir. Bu özellik, dermatofitlere keratin-içeren yüzeyel dokularda enfeksiyon yapabilme özelliği kazandırmaktadır<sup>10</sup>. Enfeksiyonun bu yüzeyel tabakada olması, enfekte

edici organizmaları immün sistemin en azından bazı efektör hücreleri ile direkt temastan koruyabilmektedir. Her ne kadar nötrofiller ve bir miktar lenfosit epidermis tabakasına geçebilse de, hücrel immün yanıtın büyük bölümü, genellikle dermisle sınırlıdır<sup>7</sup>.

Enfeksiyonun ilk aşaması fungal elementlerin, derinin germinal tabakasına ya da stratum corneum tabakasına yerleşmesidir<sup>37</sup>. Stratum korneum tabakasındaki defektler ve maserasyonlar enfeksiyonun bu ilk aşamasını kolaylaştıran faktörlerdir. Vital fungal elemanlar (genellikle artrosporlar) stratum corneum'a yapışmaya yetecek kadar geliştiklerinde, germinasyon yerleşir ve özellikle stratum corneum'un alt tabakalarında sentrifugal olarak yayılan hif yapıları meydana gelir<sup>10,38</sup>.

Germinasyon esnasında mitotik proteinleri kodlayan birkaç fungal gen aktifleşir. Bu süreçte, fungal enzimlerin ve diğer patojenik faktörlerin salgılanması da etkilidir. Dermatofitlerin çoğundan keratinaz, proteinaz, serin proteaz, peptidaz, amino peptidaz, elastaz, alkalın fosfataz gibi yapısal olarak birbirlerine benzeyen, farklı moleküler ağırlıkta, birden fazla proteinaz enzimi salgılanır. Büyüme esnasında dermatofitlerden salınan bu enzimler büyümüş hifaların yerleşmelerini, keratinleri yıkmalarını kolaylaştırır. Keratinazlar ve enfeksiyon sırasında üretilen diğer enzimler, mantarların invazyonunda ve dermatofitozla ilişkili aşırı duyarlılık reaksiyonlarında rol oynarlar<sup>39</sup>. Enzimlere ek olarak, dermatofit invazyonunda "ksantomegnin" olarak isimlendirilen dermatofit toksini, immünsupresif etken olarak mannanlar ve hemaglutininler gibi potansiyel patojenik mikotik faktörler de rol almaktadır<sup>10,40,41</sup>.

Dermatofit invazyonu sonrası keratinositler aktifleşir, epidermal bariyer yıkıma uğrar, epidermal farklılaşma meydana gelir ve epidermisten defansinler (savunmacı) salgılanır. Bunlara ek olarak hem doğal hem de spesifik immün yanıt oluşturulur. Bu yanıt nötrofilleri, makrofajları, antikorları ve T hücrelerini içerir. İyileşme için hücrel mekanizmaların çok önemli olduğu düşünülmektedir<sup>10</sup>.

Enfekte deride gözlenebilen majör değişiklikler veziküller, püstüller, anüler dermatit ve ağır inflamatuvar reaksiyonlar (kerionlar) olabilmektedir. Mikroskopik olarak bu lezyonlar, akut enfeksiyonlarda enfekte deride nötrofil birikimi ile karakterize iken, daha kronik seyreden lezyonlarda ise mononükleer hücre infiltratları görülmektedir. Akut inflamatuvar yanıt epidermal mikroabseler



olarak karşımıza çıkabilmektedir. Epidermal proliferasyonun göstergeleri olan hiperkeratoz ve parakeratoz da kronik enfeksiyonlarda görülebilmektedir<sup>7,42</sup>.

### **Dermatofitid (ID Reaksiyonu)**

İnsanlarda dermatofit enfeksiyonlarına sekonder olarak deri döküntüleri gelişebilir. Dermatofit enfeksiyonlarına karşı gelişen bu allerjik reaksiyonlar “dermatofitid” ya da “id reaksiyonu” olarak adlandırılmaktadır. Dermatofitid bir aşırı duyarlılık reaksiyonudur<sup>7</sup>. Lezyonlar enfeksiyon odağından uzakta meydana gelir, genellikle veziküler, bazen de papüler, ekzematöz, ürtikeryal ya da eritem multiforme tarzında olabilir. Lezyonlardan fungal elemanlar izole edilemez. Veziküler dermatofitid, genellikle inflamatuvar enfeksiyonu işaret eder ve böyle hastaların çoğu dermatofit antijenlerine karşı gecikmiş tipte aşırı duyarlılık gösterirler. Ürtikeryal dermatofitidli hastaların çoğunda ise dermatofit antijenlerine karşı erken tipte aşırı duyarlılık reaksiyonu gözlenir<sup>7</sup>.

Tinea pedis olgularında aniden ellerde, genellikle parmak yan kısımlarında kaşıntı ve yanma ile başlar. Birkaç gün içerisinde giderek genişleyip avuç içine yayılan küçük veziküllere dönüşür. İkincil enfeksiyon eritem ve ağrıya neden olabilir. Primer enfeksiyonun tedavisiyle döküntüler kaybolur. Dermatofit enfeksiyonu tedavi edilmezse, dermatofitid haftalarca sürebilir<sup>43</sup>.

### **Klinik**

Tinea pedisin tipik olarak interdigital, mokasen ve vezikülobülloz olmak üzere 3 tipi vardır.

### **İnterdijital-tip Tinea Pedis**

En sık görülen tiptir ve tipik olarak 4. ve 5. ayak parmakları arasında ortaya çıkar. Hastalar sıklıkla kaşıntı ve yanma hissinden yakınır ve kötü ayak kokusu eşlik eder<sup>4,5,44</sup>. İnterdijital tinea pedis genellikle iki türdür. Birincisi dermatophytosis simplex olarak adlandırılan kuru, pullanan tiptir. Parmak arası alan genellikle kurudur ve düşük derecede soyulma vardır. Bu form zaman zaman kaşıntı dışında genellikle asemptomatiktir<sup>4,45</sup>. İkinci tip, parmak arasında ıslak ve masere alanlarla kendini gösterir. Dermatophytosis complex olarak adlandırılan bu tipte parmak arasında çatlaklar, hiperkeratoz, lökokeratoz ya da erozyonlar olabilir. Fungal invazyonun olduğu nemli koşullarda bakteriyel enfeksiyon sıklığı da artar. T. mentagrophytes olan hastalarda bül formu olabilir. Bozulmuş T hücre fonksiyonu olan hastalarda tinea lezyonlarının ayak sırtına

kadar geniş olarak yayıldığı görülür. Ayrıca bu hastaların bazılarında enfeksiyon tedaviye dirençli hale gelebilir<sup>4,45</sup>.

### **Mokasen-tip Tinea Pedis**

Ayağın alt ve lateral kısmını kaplayan çok şiddetli ve uzamış formudur. Subungual onikomikozun eşlik ettiği bu formda en sık etken *T. rubrum*dur. Bu enfeksiyon tipinde inflamasyonlu alan ayak tabanı ve ayak yanlarıdır. Eritemle birlikte hiperkeratotik ve pullanmış görünümündedir. Eritemli hattın etrafında papüller olabilir. Sıklıkla bilateral tutulum görülür<sup>4,5,44</sup>.

### **Vezikülobülöz Tinea Pedis**

Çoğunlukla intertriginöz tiple beraber bulunur. En çok görüldüğü yer tabanın iç yan ortası ve topuktur. İlerlerse bütün tabanı tutabilir. Çoğunlukla ayak sırtını tutmaz, veziküller derine oturmuştur. Tabandaki st. corneum çok kalın olduğu için veziküller papül görünümündedir. Veziküller ve büller yırtılınca altında kırmızı, çok duyarlı bir saha ortaya çıkar. Kaşıntı çok fazladır<sup>4</sup>. Bazen püstüler varyantı görülebilir. Ayırıcı tanıda bakteriyel enfeksiyon düşünülmelidir ve mikroskopi ve kültürle ekarte edilmelidir. Sıvı dolu veziküller genellikle berraktır. Püye genellikle *Staphylococcus aureus* ya da grup A Streptococcus kaynaklı sekonder bakteriyel enfeksiyonu düşündürür. Tinea pedisin bu formu dermatofitid ile ilişkili olabilir<sup>4</sup>.

### **Tanı**

Mantar enfeksiyonlarının klinik belirtileri birçok deri hastalığının belirtileriyle karışabilir. Kesin tanı, klinik görünüm ve etyolojik tanı yöntemleri ile konur<sup>21</sup>.

**Mikroskopik İnceleme Yöntemi:** Epidermiste yerleşen mantarlar çevreye doğru ilerledikleri ve ortadan iyileştikleri için, buradan materyel alınırken lezyonun kenarlarından almak uygun olur<sup>21</sup>.

**Nativ Preparat:** Saç, deri ve tırnaktan alınan materyal bir lam üzerine konduktan sonra üzerine %15-20 Potasyum hidroksit (KOH) solüsyonu damlatılır ve üzeri lamelle kapatılır. 0.5-1 saat sonra mikroskopla bakılır. KOH sellüloza etki etmeyeceğinden, sporlar ve hifalar görülebilir hale gelir. Hifaların görünmesinde yardımcıdır, dermatofit enfeksiyonu tanısını doğrular<sup>21</sup>.

**Wood Işığı:** Çoğu dermatofit floresan vermediği için kullanımı sınırlıdır<sup>21</sup>.

**Kültür Yöntemi:** Direkt mikroskopik muayene ile kesin tanı konamayan ve mantarın cinsinin saptanması istenilen durumlarda kültür metodlarına

başvurulur. Lezyon derideyse, kültür için materyal steril bistüri ile kazınarak alınır. Tırnaklardan kültür alınacaksa, steril bir bistüri ile tırnağın serbest ucunun alt kısmından elde edilen kazıntı veya tırnaktan alınan bir parça besi yerine ekilir. Besi yerinde mantarın üreme hızı, kolonisinin makroskopik ve mikroskopik morfolojisi incelenir. Genellikle 7-14 günde sonuçlanır, negatif sonuç için materyal 21 gün bekletilmelidir<sup>21</sup>.

**Deri veya Tırnak Biyopsisi:** Tedaviye yanıt vermeyen dermatofit enfeksiyonlarında ve tanı sorunu olan hastalarda uygulanır<sup>21,29</sup>.

## **İMMÜNİTE**

İmmünite, hastalığa özellikle enfeksiyon hastalıklarına karşı direnç olarak tanımlanır. İmmün sistem ise enfeksiyonlara karşı savunmayı sağlayan hücreler, dokular ve moleküllerin toplamıdır. İmmün sistemin fizyolojik işlevi enfeksiyonları engellemek ve yerleşmiş enfeksiyonları yok etmektir<sup>46</sup>. İnsanlarda birbirleriyle bağlantılı ve karmaşık bir şekilde çalışan, doğal (nonspesifik) ve edinsel (adaptif) olmak üzere, iki çeşit immün sistem vardır<sup>19</sup>. Bu iki sistem birbiriyle çok hassas bir denge içerisinde ve yardımlaşma ile çalışarak, konağı patojenlere karşı korumaktadır<sup>47</sup>.

Doğal immünite saatler içinde etkenin ortadan kaldırılmasını sağlar, aynı zamanda edinsel immüniteyi başlatır. Edinsel immünite ise humoral immüniteyi oluşturan B lenfositler ve hücresel immüniteyi oluşturan T lenfositler ile görev yapar. Bu görevin tamamlanması ise günler sürebilir<sup>46</sup>.

### **Doğal İmmünite**

Doğal immünite, bir patojenle karşılaşınca ilk yanıtı doğumdan itibaren oluşturabilen, konağın kendisine ait olan ve olmayan antijenik yapıyı tanıma kapasitesine sahip savunma sistemidir<sup>47</sup>. Doğal immün sistem saniyelerle ölçülecek kadar kısa sürede mikroorganizmalara yanıt verir. Ancak değişik türde mikroorganizmalara hep aynı biçimde spesifik olmayan tepki verdiği için, kalıcı etkiden yoksundur<sup>19</sup>.

Epitelyal bariyerler, fagositler (nötrofiller ve monosit/makrofajlar), doğal öldürücü hücreler (Natural Killer, NK), kompleman sistemi, doğal bağışıklık sitokinleri ve doğal bağışıklığın diğer plazma proteinleri doğal immünitenin bileşenlerini oluşturmaktadır<sup>46</sup>.

Doğal immün sistem patojenlerde ortak olan bir dizi moleküler yapıyı tanıyarak, konağa aıt olan ve olmayanı ayırt edebilmektedir. Böylece mikroorganizmaları tanıyarak yanıt vermekte, mikroorganizma dışı maddelere ise yanıt oluŐturmamaktadır. Patojenler üzerinde bulunan ve doğal immün sistem hücreleri tarafından tanınmalarını sağlayan bu moleküler yapılaraya Patojen İlişkili Moleküler Patern (Pathogen Associated Molecular Patterns, PAMP) denmektedir. Doğal immün sistem hücreleri üzerinde bunları tanıyan reseptörlere de Patojen Tanıma Reseptörü (Pattern Recognition Receptor, PRR) adı verilmektedir. Bu reseptörler endositik, sekrete edilen ve sinyal ileten olmak üzere üç gruba ayrılır. Sinyal ileten reseptör grubunu TLR (Toll Like Receptor) ailesi oluşturmaktadır. TLR'ler mikrobiyal ajanlar tarafından üretilen PAMP'ları tanırlar<sup>19,46,47</sup>.

Mikroorganizmaların doğal immün sistem hücreleri tarafından tanınmasını, fagositoz aşaması izler. Aktive fagositler mikroorganizmaların yok olmasını sağladıkları gibi, bu sırada önemli mediatör görevi yapan sitokinleri de sentezlerler. Sentezlenen kemokin ve sitokin gibi kimyasal mediatörler aracılığıyla inflamatuvar yanıt oluşumu sağlanmakta ve edinsel immünite uyarılmaktadır<sup>19</sup>. Ancak doğal immünite birçok enfeksiyona karşı efektör olarak savaŐsa da, insanlar için patojenik olan mikroorganizmalar doğal immün yanıtı direnecek Şekilde geliŐmektedirler<sup>46</sup>.

### **Edinsel İmmünite**

Enfeksiyona yol açan maddelere karşı savunma oluşturmak edinsel immün yanıtın görevidir. Edinsel immünite, dokuları istila eden mikroorganizmalarla harekete geçen bir konak savunmasıdır. Bu nedenle istilacı mikroorganizmalara göre uyarlanmaktadır<sup>46</sup>. Değişik hücre ve moleküllerden oluşan, hücre dışı ile hücre içi mikroorganizmalara karşı savunma sağlayan, humoral ve hücreyel olmak üzere iki türlü edinsel immünite vardır. Humoral immünite B lenfositlerin ürettiği antikorlar tarafından oluşturulur. Antikorlar dolaŐıma ve mukoza sıvılarına salgılanarak kanda ve mukozal yüzeylerde mevcut olan mikroorganizmaları ve toksinleri etkisiz hale getirirler. Ancak antikorlar hücre içi mikroorganizmalara karşı savunmada etkisizdirler. Hücre içi mikroorganizmalara karşı savunmada hücreyel immünite komponenti olan T lenfositler devreye girer<sup>46</sup>.

Edinsel immunitenin en önemli özelliği yapısal olarak birbirinden farklı antijenlere gösterdiği özgüllük ve antijenle daha sonra karşılaşma sonucu gelişen bellektir (Tablo 2)<sup>46</sup>.

**Tablo 2.** Edinsel immun yanıtın özellikleri.

<b>Özellik</b>	<b>Mikroorganizmalara Karşı İmmunitedeki Önemi</b>
Özgüllük	Çok sayıda mikroorganizmayı tanıma ve bunlara yanıt oluşturabilme
Bellek	Tekrarlayan ve inatçı enfeksiyonlara artmış immun yanıt
Özelleşme	Farklı mikroorganizmalara karşı olan yanıtlar, bu mikroorganizmalara karşı savunma için en uygun hale getirilebilir
Öz-antijenlere tepki	Konak doku veya hücrelerine karşı gelişebilecek zararlı immun yanıtları önler

Vücudun antijenle ilk karşılaşmasında naif lenfositler tarafından oluşturulan immun yanıtı primer immun yanıt denir. Edinsel immün sistem, aynı antijenle tekrarlayan karşılaşmalarda primer yanıtı göre daha hızlı ve güçlü sekonder immun yanıt oluşturma gibi üstünlüklere de sahiptir<sup>46,47</sup>.

### **Periferik Kan Lenfosit Grupları**

Lenfositler, antijenlere özgül reseptörler taşıyan tek hücre grubudur. Lenfositler morfolojik olarak birbirine çok benzemelerine karşın işlevsel anlamda köken aldığı dizi ve fenotip olarak birbirinden farklıdır. Periferik kandaki üç tip lenfosit; T lenfosit, B lenfosit ve NK hücreleridir. Günümüzde bu hücreler, monoklonal antikör panelleri ile tanımlanabilen yüzey proteinleri aracılığıyla birbirlerinden ayırılmaktadır. Bu proteinlerin standart adlandırılması "CD" (Cluster of Differentiation, Ayırım Kümesi) sayısal tanımlamasıdır. CD'ler belli bir hücre tipini tanımlamak için kullanılırlar ve bir antikör kümesi veya grubu tarafından tanınırlar<sup>46</sup>.

Tüm lenfositler kemik iliğindeki kök hücrelerden gelişir. B lenfositler kemik iliğinde, T lenfositler timusta olgunlaşır. T lenfositlerin T Hücre Reseptörü (THR) kompleksi ve CD gibi bazı spesifik yüzey moleküllerini kazanması timik korteksteki bu olgunlaşma aşamasında gerçekleşir ve olgunlaşan T lenfositler

antijenik uyarılara yanıt verecek yeteneğe ulaşırlar. Olgun naif T lenfositler dolaşım ile sekonder lenfoid organlara göçerler. Periferik lenfoid organlarda Antijen Sunan Hücre (ASH) tarafından sunulan antijenlerle karşılaştıklarında bu antijenik uyarılara immun yanıt oluşturmak üzere aktive olarak efektör faza geçerler<sup>46</sup>.

Periferik kandaki lenfositlerin %60-70'i T lenfositlerden oluşur. T lenfositlerin yüzey belirteci CD3'tür. T lenfositler hücre sel immünitenin hücreleridir. T lenfositler arasında, CD4+ T hücrelerine T helper (Th) hücreleri adı verilir. Bu hücreler antikor yapımı için B lenfositlere ve hücre içine alınmış mikroorganizmaların yıkımı için fagositlere yardım ederler. CD8+ T lenfositler ise sitotoksik T lenfositleri (Cytotoxic T Lymphocyte, CTL) olarak adlandırılırlar. Bu hücreler hücre içi mikroorganizmaları ve yabancı antijenleri taşıyan hücreleri lizise uğratırlar. B lenfositler periferik kan lenfositlerinin %20-30'unu oluştururlar. Yüzey belirteçleri CD19 ve CD20'dir<sup>46</sup>.

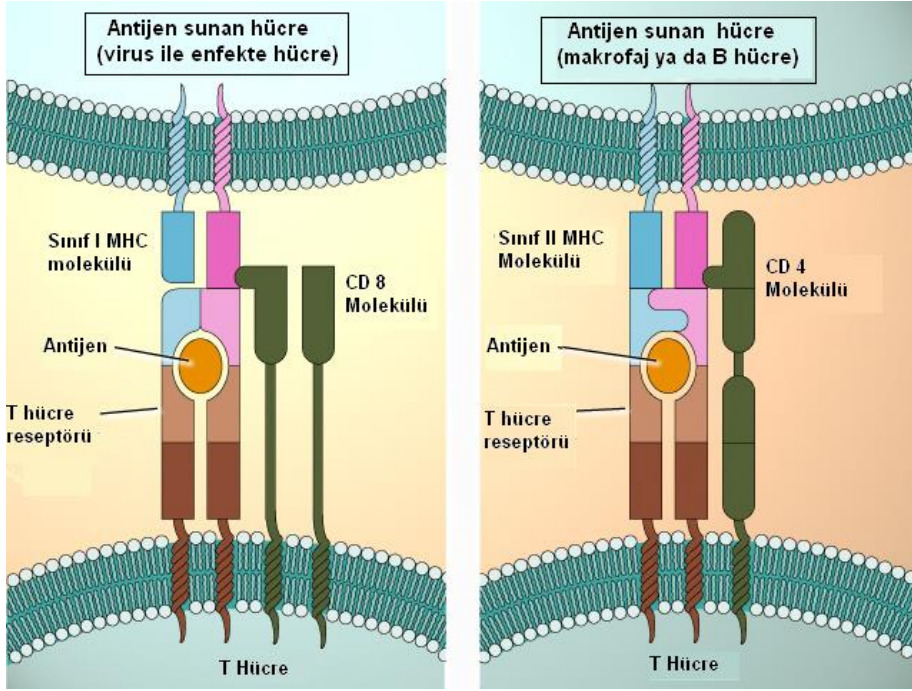
İmmun yanıt birbirini izleyen evrelerden oluşur:

- Tanıma evresi: Antijenin yakalanması ve lenfositlere sunumu,
- Etkinleşme evresi: Lenfositlerin aktivasyonu,
- Efektör evre: Antijenlerin ortadan kaldırılması,
- Sönme evresi: İmmun yanıtın sonlandırılması,
- Bellek

İmmun yanıt organizmaya giren antijenlerin immun sistem hücreleri tarafından tanınmasıyla başlar. Özgül antijen tanıma, humoral immun sistemde B lenfositlerin membrana bağlı antikorları ile sağlanırken, hücre sel immun sistemde THR'nin görevidir<sup>48</sup>.

B lenfositler protein, lipid, karbohidrat ve nükleik asitler gibi molekülleri tanıırken, THR yalnızca peptid yapılı antijenleri tanır. T lenfositlerin yüzeyinde bulunan THR'nin peptid yapılı antijenleri tanıyabilmesi için, bu antijenlerin ASH'ler tarafından yakalanıp, işlenerek sunulması gerekmektedir. İşleme sürecinde peptid yapılı antijenler ASH'de epitoplarına kadar ayrıştırılarak, yine ASH'de sentezlenen Major Histokompatibilite Kompleksi (Major Histocompatibility Complex, MHC) adı verilen membran proteinleriyle kompleks oluştururlar ve birlikte ASH yüzeyine aktarılırlar<sup>46,49</sup>. MHC moleküllerinin THR'ye

bağlanması sırasında THR'nin yanında CD4+ ve CD8+ T lenfosit yüzeyinde bulunan CD4 ve CD8 eş-reseptörlerine gereksinim vardır (Şekil 2)<sup>46,49</sup>.

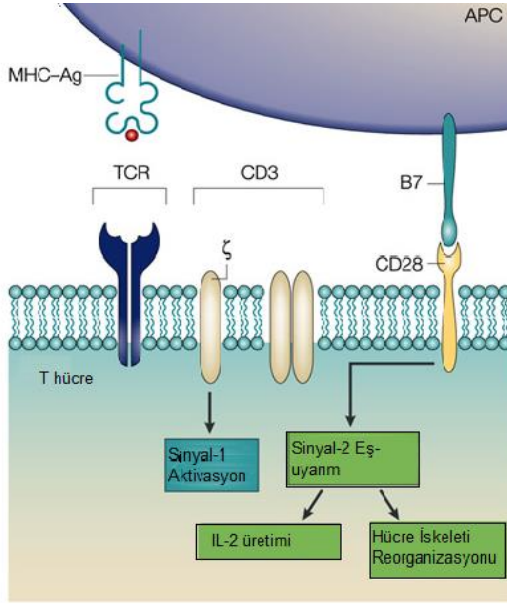


**Şekil 2.** CD4+ ve CD8+ T lenfositlere antijen sunumu.

Peptid antijen kompleksinin T hücresi tarafından tanınması, T hücre aktivasyonu için başlatıcı ya da birinci sinyaldir. Ancak T lenfositlerin aktive olabilmesi için bu başlatıcı sinyal yanında T lenfositler ile ASH arasında kurulacak eş-uyaran bağlantılarına ya da ikinci sinyale de gerek vardır<sup>49,50</sup>. T hücreleri için en iyi tanımlanmış eş-uyaranlar ASH'de eksprese olan B7-1 (CD80) ve B7-2 (CD86) proteinleridir. B7 proteinlerinin, T hücrelerinde eksprese olan CD28 reseptörüne bağlanması ikinci sinyali oluşturmaktadır (Şekil 3)<sup>50</sup>. Ayrıca T hücrelerinde bulunan CD40 ligandının (CD40L) ASH üzerinde bulunan CD40 molekülüne bağlanması da ASH'nin daha fazla B7 eş-uyaran eksprese etmesini sağlayarak, eş-uyaran sinyallerini artırmaktadır<sup>50</sup>.

THR aracılığıyla peptid antijen kompleksinin tanınması ve eş uyanlar, antijne özgü T hücrelerinin aktivasyon sürecini başlatır. Aktive T lenfositler farklı etkilere sahip sitokinler salgırlar. CD4+ T lenfositlerinden üretilen ve hücre büyüme faktörü olarak da adlandırılan interlökin-2 (IL-2) ve diğer sitokinlerin etkisiyle aktive T lenfositler hücre döngüsüne girer ve bölünmeye başlar,

çoğalır<sup>50</sup>. Çoğalan naif T lenfositlerin antijene karşı immun yanıt oluşturabilmesi için efektör T lenfositlere dönüşmeleri gerekmektedir<sup>50</sup>.



**Şekil 3.** T lenfosit aktivasyonu sırasında sinyal iletimi ve antijen tanınması.

Efektör evrede CD4+ T lenfositler, yüzey molekülleri ve sitokinleri üreterek efektör hücre alt gruplarına farklılaşırlar. Tip I yardımcı T hücreleri (Th1 hücreleri) ve Tip II yardımcı T hücreleri (Th2 hücreleri) bu alt gruplardan en iyi bilinenlerdir. Naif CD4+ T lenfositlerin hangi efektör hücreye farklılaşacağı bu evrede salınan sitokinlere bağlı olarak değişmektedir. Bu sitokinlerden en önemlileri ASH tarafından antijen sunumu sırasında salınan interlökin-12 (IL-12) ve T hücreleri tarafından salınan interlökin-4 (IL-4)'tür. IL-12, interlökin-23 (IL-23), interlökin-27 (IL-27) CD4+ T lenfositleri Th1 alt grubuna farklılaşma yönünde uyarırken, IL-4 Th2 alt grubuna farklılaşmasını sağlamaktadır<sup>50</sup>. Efektör T lenfositler oluştuktan sonra, bu lenfositlerden salınan sitokinler immun sistem hücrelerini uyararak, antijene özgül bağışık yanıtın oluşmasında etkin görev almaktadırlar (Tablo 3)<sup>50</sup>.

Th1 hücreleri hücre sel bağışıklığı uyarmak üzere aktive olarak, inflamatuvar sitokin ve kemokinlerin salınımına sebep olurlar. Bu sitokinler makrofaj, nötrofil ve enfeksiyon bölgesindeki diğer hücrelerin etkinleşmesine yol açar. Aynı zamanda Th1 hücreleri B lenfositlerin çoğalmasını ve immunglobulin



üretimini de uyarmaktadırlar. Th1 hücreleri tarafından üretilen en önemli sitokin interferon-gamma (IFN $\gamma$ )'dır. Hücre içi patojenlere karşı savunma için gerekli olan IFN $\gamma$ , makrofajların güçlü bir aktivatörüdür<sup>19,51</sup>.

ASH'den salınan IL-12 aynı zamanda Th1 hücrelerinden IFN $\gamma$  üretimini de uyarmaktadır. Th1 hücrelerinden artmış IFN $\gamma$  üretilmesi de ASH'den daha fazla IL-12 salınmasına neden olmaktadır. IL-12 ve IFN $\gamma$  Th1 yanıtını uyarırken, Th2 yanıtını baskılamaktadırlar<sup>52</sup>.

Th2 hücreleri atopide eozinofilik yanıtı ve IgE üretimini uyaran IL-4, interlökin-5 (IL-5) antiinflamatuar etkili interlökin-10 (IL-10) ve interlökin-13 (IL-13) gibi sitokinleri üretirler. Th2 hücreleri tarafından üretilen sitokinler, makrofaj aktivasyonunu inhibe eder ve Th1 hücre aracılı immunitiyi baskılar<sup>53</sup>.

Son zamanlarda Th17 hücresi diye adlandırılan yeni bir T helper hücresi alt tipi tanımlanmış ve bu hücrelerin interlökin-17A (IL-17A), interlökin-17F (IL-17F), interlökin-21 (IL-21) ve interlökin-22 (IL-22)'den oluşan farklı bir sitokin profiline sahip olduğu gözlemiştir. IL-17A nötrofil göçü ve ekstrasellüler bakteri ve mantar konak savunması için önemlidir<sup>12</sup>.

**Tablo 3.** Seçilmiş T hücre sitokinlerinin biyolojik etkileri.

Sitokin	Temel Rolü	Hücresel Kaynaklar
IL-2	T hücre büyümesinin uyarılması	CD4 ve CD8 T hücreleri
IL-4	B hücrelerinde IgE'ye dönüşüm	CD4 T hücreleri, mast hücreleri
IL-5	Eozinofillerin aktivasyonu	CD4 T hücreleri, mast hücreleri
IFN- $\gamma$	Makrofajların aktivasyonu	CD4 ve CD8 T hücreleri, NK hücreleri
TGF- $\beta$	T hücre aktivasyonunun inhibisyonu	CD4 T hücreleri; birçok diğer hücre tipi

CD8+ T lenfositleri ise efektör evrede enfekte hücreleri öldürme yeteneğindeki CTL'lere farklılaşırlar. Sitotoksik etkilerini iki yolla gerçekleştirebilirler. CTL granüllerinde bulunan perforin adı verilen proteinler, hedef hücre membranında delikler oluşturur. Granzim adı verilen granül

enzimleri perforin deliklerinden geçerek veya hücre membran reseptörlerine bağlanarak, endositozla hücre içine alınırlar. Hedef hücre sitoplazmasında bulunan kaspazları aktive ederek apoptozu uyarırlar<sup>54</sup>.

Aktive CTL'ler ayrıca bir membran proteini olan Fas Ligand (FasL) da eksprese ederler. Fas ligandın hedef hücredeki Fas (CD95) adı verilen ölüm-uyarıcı resptörlere bağlanması, CTL'nin sitotoksik etkisinden sorumlu bir başka yoldur. Fas Ligand-Fas bağlanması hedef hücrede kaspazları aktive ederek, apoptozu uyarır. Sitotoksik T lenfositlerin bu efektör mekanizmalarının net sonucu enfekte hücrelerin ölümüdür<sup>54</sup>.

Enfeksiyon temizlendiğinde ve lenfosit aktivasyonuna yol açan uyarım sona erdiğinde, çoğalan efektör hücrelerin çoğu apoptoz ile ortadan kaldırılır. Ancak bir grup hücre immun yanıt sonlansa bile varlıklarını devam ettirirler. İmmun yanıt ortadan kalktıktan sonra kalan bu hücreler bellek hücrelerini oluşturur. Aynı antijenle tekrar karşılaşma durumunda, daha etkili ve daha hızlı bir sekonder yanıt oluşturulmasını sağlarlar<sup>46</sup>.

### **İmmunolojik Tolerans**

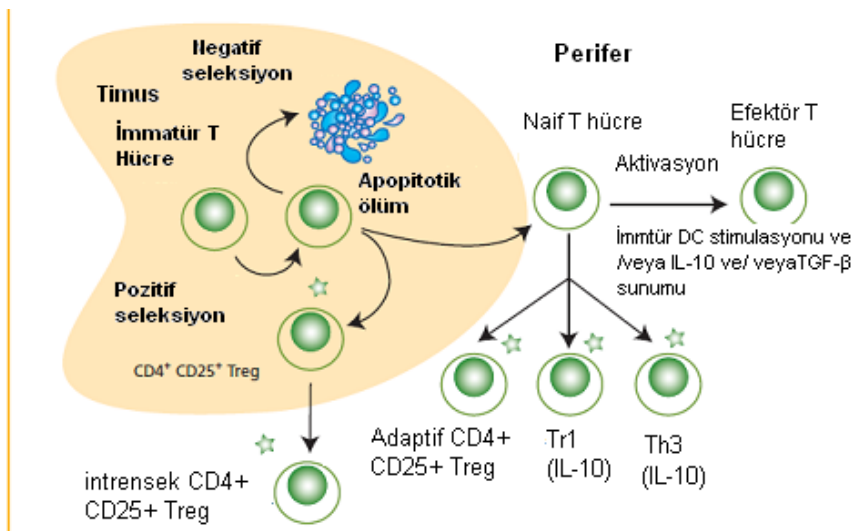
İmmunolojik tolerans immun sistemin, yabancı antijenlere yanıt oluştururken bireyin kendi antijenlerine karşı yanıt oluşturmamasıdır. Bu özellik öz antijen ile karşılaşan lenfositlerin yanıt vermemesi olarak da tanımlanabilir<sup>54</sup>. İmmun tolerans farklı öz antijenlerle daha lenfositler oluşurken sağlanabileceği gibi (santral tolerans), olgun lenfositlerin periferde öz antijenle karşılaşmasının sonucu da oluşturulabilmektedir (periferik tolerans)<sup>54</sup>.

### **T Hücrelerinde Santral Tolerans**

Santral tolerans, timusta T hücrelerinin olgunlaşması sırasında gelişmektedir. T lenfositlerde santral tolerans ile T hücre ölümü gerçekleşmekte ve böylece otoreaktif T hücrelerinin perifere ulaşması engellenmektedir<sup>55</sup>. Santral T hücre toleransında timus önemli bir rol oynamaktadır. Timustaki olgunlaşma sürecinde T hücre, THR  $\alpha$  ve  $\beta$  zicirlerini bulundurur ve bu sırada CD4 ve CD8 çift negatif safhadadır. Bundan sonra hem CD4 hem CD8 reseptörlerini eksprese eden çift pozitif aşamaya geçer. T hücre reseptör kompleksi ile CD4 ve CD8 reseptörlerinin ekspresyonu yapılamazsa, T hücre ölümü gerçekleşir. T hücre reseptör sinyalinin düzenlenmesi gerek toleransın sürdürülmesinde, gerekse hücresel aktivasyonda önemlidir<sup>56,57</sup>.

Çift pozitif T hücrelerinin MHC ile bağlantılı antijenik peptidleri tanıma yeteneği timusta geliştirilir. MHC molekülünü tanımayan T hücresi apoptoz ile ölürken, öz antijen-MHC moleküllerini THR aracılığıyla tanıyan T hücreleri apoptozdan korunur. T hücrelerinin apoptozdan korunarak yaşamlarına devam etmeleri pozitif seleksiyon olarak tanımlanır. Bu işlem sırasında MHC sınıf I moleküllerini tanıyan T hücreleri CD8 ekspresyonunu korurken, MHC sınıf II moleküllerini tanıyan hücreler CD4 ekspresyonunu devam ettirir. Sonuçta öz antijen-MHC molekülünü tanıyan çift pozitif T lenfositleri CD4+ T lenfosit ve CD8+ T lenfositleri yönünde olgunlaşırlar<sup>54,55,57</sup>.

Olgunlaşma aşamasında CD4-CD8 çift pozitif T hücreler pozitif seleksiyon dışında, negatif seleksiyona da uğrayabilir. T hücresinin pozitif ya da negatif seleksiyona uğraması öz antijen-MHC moleküllerine olan aviditesine bağlıdır. T hücreleri öz antijen-MHC moleküllerini düşük aviditeyle tanırsa pozitif seleksiyon, yüksek aviditeyle tanırsa negatif seleksiyon (klonal delesyon) gerçekleşir. Negatif seleksiyonda MHC moleküllerini güçlü olarak tanıyan çift pozitif T hücreleri apoptozla giderler. Böylece self antijenlere karşı güçlü reaksiyon oluşturan T hücrelerinin perifere ulaşmadan yaşamlarına son verilir (Şekil 4). Negatif seleksiyon santral toleransın temelini oluşturur ve bu sayede öz antijen-MHC moleküllerini tanıyan, ancak öz antijenlere duyarlı T lenfositler oluşmaktadır. Negatif ve pozitif seleksiyon öncelikle MHC peptitlerinden zengin timik epitelyal hücrelerde olmaktadır<sup>54, 55,57</sup>.



**Şekil 4.** Santral tolerans ve Treg hücre gelişimi.

Timusta öz antijenleri tanıyan bazı olgunlaşmamış T hücreleri ise reglatuvar hücre niteliği kazanarak, periferik dokulara girerler. Öz antijene bağlanan olgunlaşmamış T hücresinin negatif seleksiyon ile silinmesini veya reglatuvar hücre niteliğini kazanmasını neyin belirlediği henüz bilinmemektedir<sup>54</sup>.

### **Periferik T Lenfosit Toleransı**

Olgun T lenfositler, periferik dokulardaki öz antijenleri tanıdığına T lenfosit ölümü, T lenfositlerin Treg hücreler tarafından baskılanması ya da T hücre anerjisiyle sonuçlanan periferik tolerans oluşur. Periferik tolerans öz antijenlere T hücre yanıtının önlenmesi açısından önemlidir<sup>54</sup>.

### **T Hücre Anerjisi**

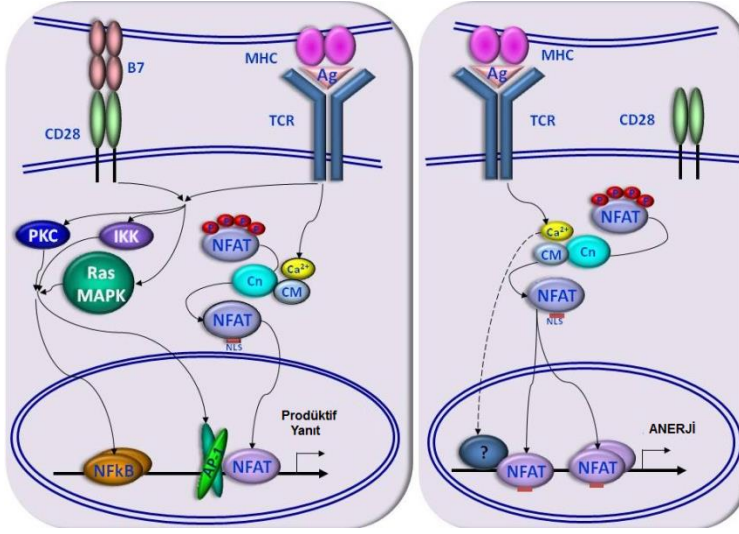
T hücresinin antijenle karşılaşmasından sonra işlevsel olarak inaktif olması anerji olarak tanımlanmaktadır. Anerji T hücresinin tam aktivasyonu için gerekli olan eş uyarıların yokluğuna bağlı olarak gelişmektedir. Antijen sunan hücreler tarafından işlenerek T lenfositlere sunulan öz antijenler T lenfositlerde bulunan THR'ler tarafından tanınır. Ancak T hücre aktivasyonu için eş-uyaran moleküllere de gerek vardır. T hücre anerjisinde eş-uyaran moleküller denilen B7 proteinlerinin T hücrelerinde eksprese olan CD28 reseptörüne bağlanması gerçekleşmediğinden eş-uyarım oluşmaz. Eş-uyarım eksikliği T lenfosit aktivasyonunun tamamlanmasını engeller<sup>54</sup>.

Bazı durumlarda, öz antijenle karşılaşan T hücresi B7 molekülünü yüksek afiniteyle bağlayan ve sitotoksik T lenfosit ilişkili protein-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4, CTLA-4) olarak adlandırılan bir molekülünü eksprese eder. Bu molekülün B7 molekülüne bağlanması T hücre aktivasyonunu engelleyici sinyal oluşturur ve sonuç olarak T hücre anerjisi gelişir. T hücresinin aynı B7 molekülüne bağlanmak için aktivatör CD28 ile baskılayıcı CTLA-4 arasında nasıl seçim yaptığı bilinmemektedir (Şekil 5)<sup>54</sup>.

### **Aktivasyona Bağlı Hücre Ölümü**

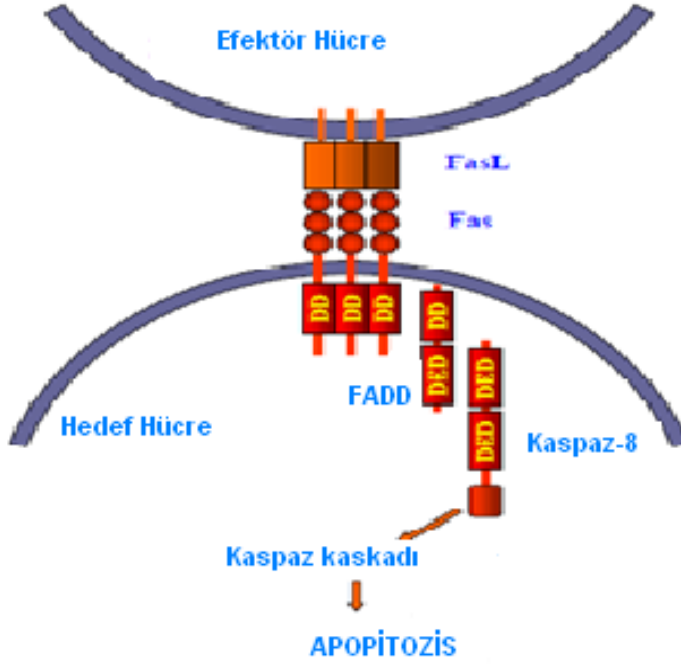
T hücre farklılaşma ve proliferasyonu apoptozis ile düzenlenmektedir<sup>58</sup>. T hücre apoptozu santral ve periferik delesyon da dahil olmak üzere immün sistem homeostazında rol oynar<sup>59</sup>. Periferik T hücrelerinde apoptozisin bir çeşidi tekrarlayan THR stimülasyonu ile indüklenir ve aktivasyona bağlı hücre ölümü (Activation-Induced Cell Death, AICD) olarak adlandırılır<sup>58,60</sup>. AICD, daha

önceden antijenle karşılaşarak aktive olan T hücrelerinde apoptozisin uyarılması olarak da tanımlanabilir<sup>59</sup>.



**Şekil 5.** T hücre anerjisi.

AICD reseptörleri TNF $\alpha$  (Tumor necrosis factor alfa) reseptör ailesinin bir üyesidir ve kaspaz aktivasyonu ile apoptozu indüklerler. Fas reseptörü, AICD'de hücre-hücre etkileşimi yoluyla ölümü tetikleyen, en önemli ölüm reseptörüdür. Öz antijenlerle tekrarlayan uyarıya bağlı olarak, olgun T lenfositleri Fas reseptörü ve FasL'ı birlikte taşımaya başlarlar. Aktive T hücrelerinde Fas reseptörü FasL ile bağlanarak oluşan sinyaller hücre içine iletilir, kaspazlar ve sitolitik enzimler aktive olur ve apoptoz gelişir (Şekil 6)<sup>54,60</sup>.



**Şekil 6.** Aktivasyona bağlı hücre ölümü.

Aktivasyona bağlı hücre ölümünde, periferel T hücrelerinde ölüm ligandı olan FasL ekspresyonunun artışı önemli rol oynar ve FasL aracılı AICD doğrudan bu ligandın düzeyiyle ilişkilidir<sup>59</sup>. FasL ekspresyonu ağırlıklı olarak transkripsiyonel düzeyde regüle edilir ve FasL aracılı AICD'nün kontrolünde bu ana yoldur<sup>58</sup>. Fas aracılı AICD öz antijenlere karşı toleransın sağlanmasında önemli bir mekanizmadır<sup>58</sup>. Fas kaynaklı apoptozun artışında IL-2 de rol oynamaktadır. IL-2 hem T hücre yanıtının başlamasında hem de sonlandırılmasında etkindir<sup>54</sup>.

Aktivasyonla oluşturulan hücre ölümü için ileri sürülen bir başka mekanizma da, antijenle uyarılan T hücresinde öncül antiapoptotik proteinlerin oluşmasıdır. T hücresi mikroorganizmalarla uyarıldığında T hücre apoptozuna engel olan antiapoptotik proteinler, uyarıcı öz antijene oluşmaz ve öz antijenle uyarılan T hücre apoptozu gider<sup>54</sup>.

### **İmmun Baskılama**

Santral toleranstan kaçabilen bazı otopreaktif T hücreleri ise periferde supressor özellik kazanırlar. Bu hücreler öz antijene karşı oluşan T lenfosit aktivasyonunu sitokin yolu ile veya direkt temas yolu ile baskılayabilirler. Günümüzde Treg olarak adlandırılan bu hücreler hem timusta hem de periferde

oluşabilirler ve otoimmün yanıt oluşturabilecek hücelere baskılayıcı etki gösterirler<sup>18,54,56</sup>.

## **REGULATUVAR T HÜCRE**

T lenfositlerin B hücreleri üzerine yardımcı etkilerinin keşfinden hemen sonra 1960'ların sonunda RK Gershon, T hücrelerinin immün yanıtı düzenleyici rollerinin olabileceğini ileri sürdü<sup>61</sup>. 1980'lerin sonunda Th1 ve Th2 hücrelerinin keşfi ile supressör hücrelerin varlığı sorgulanmaya başlandı<sup>14</sup>.

Son yıllardaki çalışmalar ise ayrı bir hücre grubu olarak Treg hücrelerinin varlığını yeniden gündeme getirmiştir<sup>15</sup>. 1995 yılında ilk kez CD4+ hücrelerin %10'unda IL-2R $\alpha$  (IL-2 alfa reseptörü) zinciri (CD25) taşıyan özel bir grubu saptanmış. Bu otoreaktif T hücrelerin denetleme özellikleri belirlenmiştir. Daha sonra Treg olarak isimlendirilen bu grup hücrenin homojen bir topluluk olmadığı, bir kısmı doğal Treg olup direkt olarak timustan kaynaklanırken, bir diğer grubun uyarı sonucu oluşan adaptif Treg'ler olup naif CD4+ veya CD8+ hücrelerden antijen ile temas sonrası ortaya çıktıkları gösterilmiştir<sup>18</sup>.

Regulatuvar hücreler dolaşımda lenfositlerin %2'sinden daha azını oluştururlar. Bu hücrelerin vücutta gelişen oto-antijenlere karşı oluşacak CTL ve T helper hücre etkinliğini baskılayarak, immün sistemi baskılayıcı yönde kontrol ettikleri bilinmektedir<sup>17</sup>. Regulatuvar T hücreleri, efektör hücrelerin aktivasyonunu hücre-hücre teması ve inhibitör sitokinlerin sekresyonu ile kontrol eder. Bu hücreler IL-4, IL-10 ve TGF $\beta$  (Transforming growth factor beta) için mRNA taşırlar. İn-vitro CD4+CD25-T efektör hücreler CD4+CD25+ Treg hücreler tarafından IL-2 gen ekspresyonunun baskılanması suretiyle antijen spesifik biçimde inhibe edilirler<sup>62</sup>. IL-10 ve TGF- $\beta$  üreten NK hücreler,  $\gamma\delta$  T hücreler, timustan köken alan CD8+CD25+ T hücreler, CD8+CD28- T lenfositlerin de düzenleyici özellikleri vardır<sup>12</sup>.

### **Regulatuvar T Hücre Sınıflandırması**

#### **Doğal Treg Hücreleri (natural Treg, nTreg)**

Doğal Treg hücreler bugüne kadar tespit edilen Treg subpopulasyonları arasında, immün tolerans bakımından kritik öneme sahiptir<sup>63</sup>. Bu hücreler; immünpatoloji, otoimmün hastalıklar, transplantasyon, tümör immünitesi ve enfeksiyöz hastalıklar gibi bir çok immünolojik durumda T hücrelerinin aktivasyon, proliferasyon ve efektör fonksiyonlarını düzenlemektedirler<sup>64</sup>.

Doğal Treg hücreleri timustan kaynaklanır, periferde CD4+T lenfositlerin %5-10'unu oluşturur. Yapısal olarak CD25 ifade ederler ve yüzeylerinde CTLA-4 ve Glukortikoid İndükleyen Tümör Nekroz Faktör Reseptör Ailesiyle İlgili Gen (Glucocorticoid-induced tumour necrosis factor receptor family related protein, GITR) ile ilişkilidirler<sup>63</sup>.

CD4+CD25+ Treg hücreleri ayrıca kendi gelişimi ve fonksiyonları için anahtar görevi yapan forkhead-box3 (FoxP3) transkripsiyon faktörünü ifade ederler (Şekil 7)<sup>63</sup>. CD4+CD25+FoxP3 Treg hücreleri IL-10 ve TGFβ sitokinlerini üreterek, immunsupresyonda kritik role sahiptirler. Eksikliği birçok dokuya karşı otoimmün presipitatların oluşmasına neden olur. Hem fare, hem insan CD4+CD25+ Treg hücreleri, CD4+CD25- efektör T hücrelerinin aktivasyonunu hücre-sel-bağlantı-bağımlı şekilde suprese eder<sup>63</sup>.

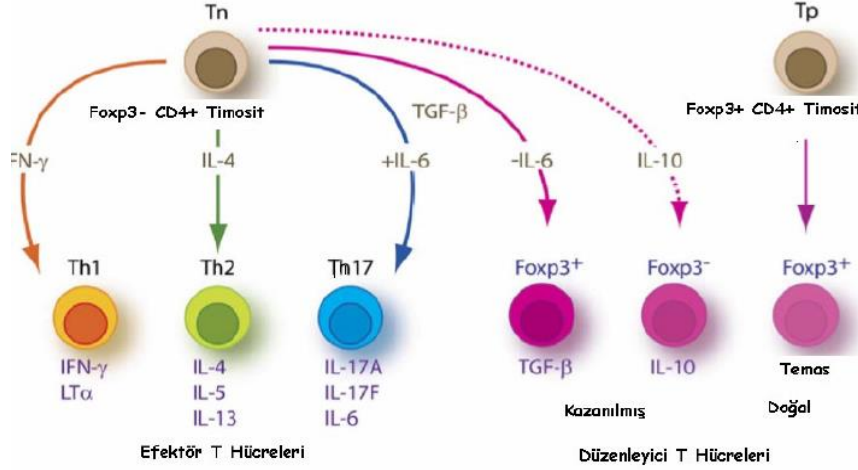
### **Adaptif (Inducible) Treg Hücreler**

Adaptif Treg'lerin (InducibleTreg, iTreg,) biyolojisi karışıktır ve nTreg'ler kadar iyi anlaşılammıştır. Bu hücreler antijenin tanınmasından sonra CD4+CD25- naif T lenfositler tarafından ortamda IL-10, IL-4, TGF gibi diğer bazı faktörlerin olması durumunda periferde üretilirler. FoxP3 ve CD25 ekspresyonu yapabilirler ve baskılayıcı özellik kazanırlar<sup>65,66</sup>.

Tr1 iTreg hücreler, naif CD4 T hücrelerinin IL-10 ile tekrarlayan stimülasyonları sonucu oluşmaktadırlar. Tr1 hücreleri yüksek derecede IL-10, orta derecede TGFβ, yanısıra IL-5 ve IFNγ salgırlar. FoxP3 negatiftirler (Şekil 7)<sup>13</sup>.

Th3 iTreg hücreler in-vitro olarak CD4+CD25-FoxP3- hücreler TGFβ stimülasyonu ile CD4+CD25+FoxP3+ hücrelere dönüşmektedir (Şekil 7). Th3 hücreler, nTreg'lere benzerler ve yüzeylerinde CTLA-4 molekülü taşırlar. Th3 hücrelerinin TGFβ sekresyonu yaptıkları gösterilmiştir<sup>67</sup>.



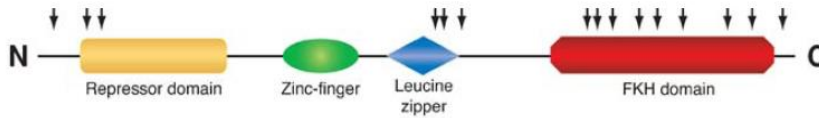


**Şekil 7.** Reglatuvar T Hücre alt grupları.

### Reglatuvar T Hücrelerin Moleküler Karakteristikleri

CD4+CD25+ Treg hücreler CD25, CTLA-4, CD127, GITR, FoxP3,  $\alpha$ E $\beta$ 7, lenfosit aktivasyon gen-3 (Lymphocyte Activation Gene-3, LAG-3), programlanmış ölüm reseptörü-1 (Programmed death-1, PD-1), CD5, OX40'ı kapsayan birçok aktivasyon belirteçleri ile karakterize edilir<sup>68</sup>.

**Forkhead Box P3 (FoxP3):** CD25+ Treg hücrelerin gelişim ve fonksiyonlarının programlanmasında görevli, çatal başlı/kanatlı ve heliks yapısında, adına Foxp3 denilen bir transkripsiyon faktörü eksprese ettiği gösterilmiştir<sup>69</sup>. FoxP3, transkripsiyon faktör forkhead ailesi içerisinde yer almaktadır ve forkheadwinged helix transkripsiyon faktör geninin ürünüdür<sup>70,71</sup>. Bu protein, 11 ekzon tarafından kodlanır ve insanlarda en az üç ayrı yapısal oluşum içerir: Fork head (FKH), lösin zipper ve C2H2 çinko uzantısı (Şekil 8)<sup>70</sup>.



**Şekil 8.** İnsan FoxP3'ün şematik gösterimi.

FoxP3'ün DNA'ya bağlandığı, esas olarak hücre çekirdeğinde yer aldığı<sup>72</sup> ve FKH yapısının DNA'ya bağlanmada ve proteinin çekirdeğe yerleşiminde önemli olduğu bilinmektedir<sup>70</sup>. Bunlara ek olarak proteinin N ucu reseptör aktivitesi için çok önemli bir bölgedir<sup>73</sup>. FoxP3 FKH yapısı diğer Fox

proteinlerinden farklıdır. Burada FKH yapısı proteinin karboksil ucuna oldukça yakın yerleşmiştir<sup>72</sup>.

FoxP3 hem nTreg hem de iTreg hücrelerde eksprese edilir<sup>73</sup>. İnsanlarda Foxp3+CD4+ ve CD25 yüksek T hücrelerinde çok güçlü bir şekilde eksprese edilirken, efektör CD4+ T hücrelerinde düşük düzeylerde ekspresyon gösterir. Foxp3'ün, CD25-, CD25 intermediate ve CD8+ T hücre alt tiplerinde de küçük bir miktar eksprese olduğuna dair kanıtlar öne süren çalışmalar mevcuttur<sup>74</sup>. FoxP3 Treg için en spesifik belirteçtir ve ekspresyonu, süpresif kapasite ile ilişkilidir<sup>74</sup>. FoxP3'ün CD4+ T hücrelerindeki ekspresyonu bu hücrelerin Treg hücreler olarak görev alma kapasitesini belirler<sup>70</sup>.

Aktive T hücre nükleer faktörü (Nuclear factor of activated T-cells, NFAT), IL-2'nin transkripsiyonel aktivatörü olduğundan IL-2 ekspresyonu NFAT'ye bağlıdır. Ancak IL-2 ekspresyonunun FoxP3 eksprese eden hücrelerde belirgin olarak azaldığı gözlenmiştir. Bu protein doğrudan veya NFAT ile birlikte, IL-2 promotör bölgesine bağlanabilmektedir. Bu şekilde IL-2 mRNA transkripsiyonunu baskılamakta ve bu da inhibisyonda olası kompetitif mekanizmaların etkili olduğunu göstermektedir. Bunun yanı sıra IL-2 transkripsiyonunun baskılanması NFAT veya Nükleer Faktör-kappaB (Nuclear Factor kappa B, NF-κB) ile direkt etkileşim sonucu da olabilir<sup>72,73</sup>.

Foxp3 ekspresyonu THR aktivasyonu ile ilişkilidir ve yakın zamanda yapılan çalışmalar Treg ve non-Treg hücrelerde THR-ilişkili sinyallerin yönetilmesinde FoxP3'ün rolü olduğunu düşündürmektedir. Bu mekanizma; FoxP3'ün hem Treg hücrelerin intrasellüler regülasyonunda ana bir gen olduğu, hem de THR'nin intrasellüler kontrol aktivasyonu yollarında rol oynadığını açıklamaktadır<sup>73</sup>.

İnsan T hücrelerinde Foxp3 ile ilişkili kompleks etkileşimler, retroviral vektörler tarafından yapılan ve ektopik FoxP3 ekspresyonunu açıklayan farklı çalışmalardan elde edilen sonuçları doğrulamaktadır<sup>75</sup>. 2003 yılında Hori ve arkadaşları yaptıkları çalışmada naif T hücrelerini FoxP3'ü kodlayan geni taşıyan retrovirüslerle transdükte ettiklerinde, naif T hücrelerinin T reg hücrelerine dönüştüğünü gösterdiler<sup>76</sup>.

FoxP3 immun hemostaz için gerekli olan nTreg hücrelerin fonksiyonu için önemli olan transkripsiyon faktörüdür. Otoimmün hastalıklar, viral hastalıklar, tümör oluşumu da dahil olmak üzere bir dizi patolojik süreçte rol oynar<sup>77</sup>. nTreg

hücrelerin fonksiyon bozukluğunda ya da genetik olarak FoxP3'e müdahale edildiğinde IPEX (Immunodisregulasyon, Poliendokrinopati, Enteropati, X' e bağlı geçiş gösteren sendrom) meydana geldiği, bunun birçok otoimmün hastalığı ortaya çıkardığı ve şiddetli allerjik reaksiyonlara yol açtığı gözlenmiştir<sup>17</sup>. Sonuç olarak FoxP3 protein ekspresyon bozukluğu; insanlarda ciddi inflamatuvar patoloji ile sonuçlanmaktadır.

**CD25 (IL-2R $\alpha$ ):** T hücreleri immun yanıt sırasında dinlenme durumundan aktive hale geçerek, IL-2 reseptör transkripsiyonu ve IL-2 denovo sentezi yapabilirler<sup>78</sup>. IL-2 reseptörü 55 kD moleküler ağırlığında ve yoğun glikozile yapıda olan bir membran glikoproteinidir. Bu reseptör, IL-2R $\alpha$ , IL-2R $\beta$  ve IL-2R $\gamma$  olmak üzere 3 subunitten oluşmuştur. IL-2 reseptör subtiplerinin varlığı klonal genişleme ve T hücreleri aktivasyonun devamlılığı için önemlidir<sup>78</sup>. IL-2R $\alpha$  T hücre aktivasyonu ile belirmektedir ve ekspresyonu Treg hücrelerin karakteristik bir özelliği olarak kabul edilir. CD25, T hücrelerin erken aktivasyon belirteçidir ve yüksek ekspresyon CD4 T hücrelerin reglatuvar aktivitesiyle ilişkilidir<sup>68</sup>.

Yapılan çalışmalarda CD25 eksikliği olan farelerde gelişen otoimmunitenin CD4+CD25+ normal singeneik hayvanlardan yapılan aşılama ile önlenebildiği görülmüştür<sup>68</sup>. Enfeksiyon ilişkili immun yanıt oluşumunda aktive T hücrelerdeki CD25 upregulasyonu Treg ile efektör T hücreleri arasında ayırım yapmayı sağlar<sup>67</sup>.

**GITR (Glucocorticoid-Induced TNF Receptor):** TNFRSF18 olarak da bilinen glukokortikoidle indüklenen tümör nekrozis faktör reseptörü, baskın olarak CD4+CD25+ Treg hücreleri ve CD4+CD8- CD25+ timositler tarafından ifade edilmektedir<sup>67,68</sup>. CTLA-4'ün aksine GITR, CD4+CD25+ Treg-aracılı supresyonun azaltılması için gereklidir. Soluble GITR ligandının (sGITR-L), CD4+CD25+ T hücre aracılı supresyonu engellediği görülmüştür. sGITR-L, CD4+CD25+ T hücrelerin çoğalmasına ve farelerde inflamasyon gelişimine katkıda bulunur. Fare ASH'lerin yapısal olarak ifade ettikleri sGITR-L, antijen kaynaklı naif T hücre proliferasyonunun kostimulatörüdür. Buna ek olarak sGITR-L-GITR etkileşimi CD4+CD25+ Treg hücrelerin supresor aktivitesini inhibe etmektedir<sup>67,68</sup>.

**Sitotoksik T Lenfosit İlişkili-4 (Cytotoxic T lymphocyte-Associated-4, CTLA-4):** CTLA-4, hücresel bağışıklığın negatif reglatörüdür<sup>79</sup>. Fare ve insanda CTLA-4, CD4+CD25+ Treg hücrelerde ifade edilmektedir<sup>68</sup>. Tümör,

parazit enfeksiyonu ve otoimmün hastalıklar gibi birçok durumda, CTLA-4 blokajı ile T hücre aracılı immünitede artış olduğu görülmüştür<sup>68</sup>. CTLA-4 gibi immun reglatuvar molekülün eksikliği olan farelerde letal lenfoproliferatif hastalıklar görülmektedir<sup>79</sup>.

T hücre aktivasyonu için gerekli olan CD28 reseptörü, işlevini tamamlayan T hücresi üzerindeki yerini CTLA-4 (CD152) molekülüne bıraktığında, bu kez T hücrelerin artık uyarı sinyali alamadıkları ve devre dışı kaldıkları saptanmıştır<sup>18</sup>. CTLA-4, eş-uyaran B7 molekülünü yüksek affiniteli bağlamakta ve immunsupresyon bu bağlanmayla gerçekleşmektedir<sup>68</sup>. CD28 molekülü ile %30 oranında homoloji gösteren CTLA-4 molekülünün devreye girmesi, sonuçta immün yanıtın sonlanmasına yol açar. CTLA-4'ün, CD4+ T lenfositlerin aktivasyonu için ortamda bulunması gereken IL-2 üretimini ve IL-2 reseptör ekspresyonunu baskılayarak, ayrıca T hücrelerin gelişimini G1 fazında bloke ederek etki gösterdikleri kabul edilir<sup>18</sup>.

**Programlanmış Ölüm Reseptörü-1 (PD-1):** PD-1, CD28 ailesinden 55 kDa'luk bir transmembran proteindir ve amino asid dizisi %24 CTLA-4 ile homoloji gösterir. PD-1 aktive T hücreler, B hücreler ve monositlerden eksprese edilir<sup>80</sup>. PD-1'in PD-L1 ve PD-L2 olmak üzere iki ligandı vardır. Bu ligandlarla PD-1 bağlanması T hücre aktivasyonu, tolerans ve immun aracılı doku hasarı arasındaki dengenin düzenlenmesinde inhibitör sinyaller sunar<sup>81</sup>.

Yapılan çalışmalarda PD-1'den yoksun farelerde lupus-benzeri glomerulonefrit, artrit ve otoimmün dilate kardiyomiyopati geliştiği görülmüştür<sup>68</sup>. Bu bulgular PD-1'in immun yanıtın baskılanmasında ve periferik toleransın sürdürülmesindeki önemini göstermektedir<sup>80</sup>.

**Lenfosit Aktivasyon Gen-3 (Lymphocyte Activation Gene-3, LAG-3):** MHC sınıf II ligandı LAG-3 (CD223), CD4+CD25+ Treg hücrelerde ve periferdeki indüklenebilir Treg hücrelerde eksprese edilen negatif bir düzenleyicidir<sup>68</sup>. LAG-3 yüksek affiniteyle MHC sınıf II'ye bağlanmakta ve MHC:CD4 ya da MHC:THR etkileşimini bloke etmektedir. LAG-3 eksikliği reglatuvar aktiviteyi inhibe ederken, LAG-3 artmış ekspresyonu supresor aktiviteyi destekler. LAG-3 aynı zamanda çözünür form olarak da salınabilir. sLAG-3 (Soluble LAG-3) aktive T hücrelerden salınır ve serumda bulunur<sup>68,82</sup>. LAG-3 yıkımı, LAG-3'ün hücre yüzeyindeki ekspresyonunu düzenlemektedir. Hücre yüzeyinde LAG-3 sinyalizasyonu azaldığında hücre yüzeyinden LAG-3

kaldırılır ve sLAG-3 üretimi olur. sLAG-3 MHC Sınıf II molekülüne bağlanmak için membran-ilişkili LAG-3 ile yarışmaya girerek LAG-3 sinyalizasyonunu ve fonksiyonunu azaltır. Bu da ASH bağımlı MHC sınıf II sinyalizasyonu aktive ederek, invivovo ve invitro olarak artmış antijen bağımlı T hücre yanıtına neden olur<sup>68,82</sup>.

**CD127:** CD127 timositlerde, T ve B progenitor hücrelerde, olgun T lenfositler, monosit ve diğer lenfoid ve myeloid hücrelerde eksprese edilir. CD127 heterodimerik IL-7 reseptörünün (IL-7R) parçasıdır ve diğer sitokin (IL-2, IL-4, IL-9, IL-15 ve IL-21) reseptörlerinde de bulunmaktadır. CD127 ekspresyonunun Treg hücrelerde down modülasyona sebep olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmalar Treg hücrelerdeki düşük CD127 ekspresyonunun, bu hücrelerin belirlenmesinde oldukça önemli olduğunu göstermiştir<sup>67</sup>.

**HLA-DR (Human Leukocyte Antigen-DR):** CD4+ yüksek CD25 eksprese eden regulatuvar hücrelerin en çarpıcı özelliklerinden biri, HLA-DR ekspresyonu da yapmalarıdır. HLA-DR ekspresyonunun, insan Treg hücrelerin hangi yöne doğru farklılaşıp, işlev göreceğini belirlediği bilinmektedir. Foxp3 salınımı da HLA-DR+ Treg hücrelerde anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur. HLA-DR+ Treg hücreler, HLA-DR negatif alt tiplerden daha erken dönemde aktive T hücre supresyonu sağlamaktadır. HLA-DR negatif hücreler, daha geç dönemde aktive olmakta ve daha az aktive T hücre supresyonu sağlamaktadır<sup>74</sup>.

### **Regulatuvar T Hücrelerin Etki Mekanizmaları**

Gerek doğal olarak oluşan gerekse adaptif Treg hücrelerin tamamı, baskılayıcı fonksiyonlarının başlatılması için THR'ne ihtiyaç duyarlar. Bununla birlikte bir kez aktive olduklarında baskılama aktiviteleri antijen açısından seçici değildir. Günümüze kadar efektör T hücre aktivasyonunu ve/veya fonksiyonunu baskılayan Treg mekanizması tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Fareler ve insanlar üzerinde gerçekleştirilen birçok çalışmadan elde edilen sonuçlar ise bazen birbirleriyle çelişebilmektedir<sup>83</sup>. nTreg hücrelerin THR aracılı aktivasyonları, CD4+ ve CD8+ efektör hücre proliferasyonu ve IL-2 mRNA transkripsiyonunu baskılamaktadır. Yapılan çok sayıda çalışmaya rağmen bu supresif mekanizma açıklığa kavuşmamıştır<sup>73</sup>.

Treg hücreler inflamasyonun olduğu alanlara göç etme yeteneğindedirler. Bu nedenle CCR6, CCR7, CD103 gibi kemokin reseptörlerin ekspresyonu in

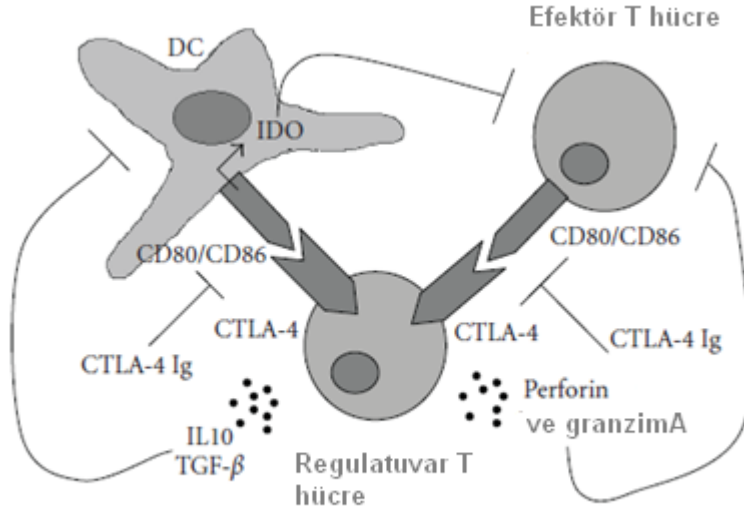
vivo Treg hücre fonksiyonu için gereklidir<sup>73</sup>. Genel anlamda Treg hücrelerin süpresif etki mekanizmasının hücre-hücre kontağı ve sitokin aracılı olmak üzere iki yolla gerçekleştiğı belirlenmiştir<sup>83</sup>. Hem farelerde, hem insanlarda nTreg supresyon mekanizması ağırlıklı olarak hücre-hücre kontak aracılı mekanizmadır<sup>73</sup>. Birkaç in vitro çalışmada, efektör T hücre proliferasyonu ve IFN-γ üretiminin, direkt hücre-hücre etkileşimine ve GITR ile CTLA-4 ekspresyonuna bağılı olarak CD4+CD25+ Tregler tarafından baskılandığı gözlenmiştir. Efektör hücrelerin üzerindeki CD80/CD86'nın, Treg hücre yüzeyindeki CTLA-4 ile bağlanmasının ardından efektör T hücre inhibisyonu gerçekleşmektedir<sup>83</sup>.

Efektör T hücreye etki eden diğere bir Treg mekanizması dendritik hücre (Dendritic Cell, DC) fonksiyonunun modülasyonu ile meydana getirilir. Treg hücre üzerindeki CTLA-4 ile DC üzerindeki CD80/CD86 ligasyonu, triptofan yıkımı sırasında meydana gelen ve bir katabolik enzim olan indolamin 2,3-dioksigenazın (IDO) ekspresyon ve aktivasyonu ile sonuçlanır (Şekil 9). Kültür ortamındaki düşmüş triptofan konsantrasyonunun T hücre azalması ve azalan T hücre aktivasyonu ile ilgili olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca in vivo olarak yapılan çalışmalarda CTLA-4 blokajının fare (inflamatuvar barsak hastalığı) ve insan (melanoma) Treg'lerin baskılayıcı fonksiyonunu ortadan kaldırdığı gösterilmiştir<sup>83</sup>.

Bu sonuçlar CTLA-4'ün Treg'in baskılayıcı aktivitesi üzerinde önemli bir fonksiyonu olduğunu göstermiştir. Diğere yandan CTLA-4'leri olmayan farelerde, Treg spesifik transkripsiyon faktörü FoxP3 ekspresyonu yapan ve baskılama kapasitesine sahip hücreler gözlenmiştir. Bu gözlemler CTLA-4'ün Treg fonksiyonuna etki eden tek molekül olmadığını göstermiştir<sup>83</sup>.

Diğere in vitro çalışmalarda Tr1 ve Th3 hücrelerinin aracılık ettiği baskılama mekanizmalarında sırasıyla IL-10 ve TGF-β gibi immünsupresif sitokinlerin üretiminin etkili olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte hala Treg'lerin in vivo baskılayıcı mekanizmaları tam olarak açıklanamamıştır<sup>83</sup>.

Bir diğere mekanizma da aktif CD4+ ve CD8+ T hücrelerin apoptozla ortadan kaldırılmasıdır. Adaptif Treg'ler Fas-FasL etkileşimi ile apoptotik yolağı aktive ederken, CD4+CD25+ nTreg hücreler perforin/granzim apoptotik yolağını kullanırlar<sup>63,73,83</sup>.



**Şekil 9.** Regulatoruvar T hücrelerin supresyon mekanizmaları.

### DERMATOFİTOZİSDE İMMÜN SİSTEM

Kutanöz mantar enfeksiyonları immünolojik defekli hastalarda daha sık görülmekte ve daha ağır seyretmektedir. Fungal antijenlere karşı verilen immün yanıt konağın bu enfeksiyonlara karşı savunmasının önemli bir parçasını oluşturmaktadır<sup>7</sup>.

Dermatofitozlara direnç nonspesifik, doğal immun sistem ve kazanılmış immun yanıt kombinasyonuyla oluşan inflamatuvar bir reaksiyondur<sup>8</sup>. Normal konağın immünolojik savunma mekanizmaları, enfeksiyon eğer stratum korneum gibi yüzeysel tabaka ile sınırlı ise etkili şekilde enfeksiyonu elimine edebilmektedir. Yapılan çok sayıda çalışma derinin epidermis tabakasının, enfekte edici mikroorganizmalara karşı pasif bir bariyer olmaktan daha fazlasını yaptığını göstermiştir<sup>7</sup>.

Kutanöz immün sistem tutulumunda birçok farklı hücre tipinin görev aldığına inanılmaktadır. Deriden başlatılan immün yanıt yabancı antijenlere, örneğin kontakt allerjenlere, tümörlere ve transplant elemanlarına, aynı zamanda mantar patojenlerine karşı gelişir. Bu nedenle bu sistemin başlangıç immün yanıtta sorumlu olduğu ve konakta etken olan organizmanın temizlenmesini sağladığı düşünülmektedir. Bunlara ek olarak, bu tip yanıtların aynı zamanda bu enfeksiyonların semptomatolojisini ortaya çıkaran inflamasyona da neden olabildikleri bilinmektedir<sup>7</sup>.

Derinin keratin tabakasını tutan enfeksiyonun daha derin dokulara invazyonu; keratinositler,  $\alpha$ 2-makroglobulin keratinaz inhibitörü, doymamış transferrin, lenfositler, makrofajlar, nötrofiller ve mast hücrelerinin aktivasyonu ile engellenir<sup>84,85</sup>.

Dermatofitler birçok antijenik determinantı paylaşırlar. Çesitli dermatofit antijenleri içerisinde en önemlileri glikopeptitler ve keratinazlardır. Glikopeptitlerin protein kısmı hücre aracılı, polisakkarit kısmı ise humoral immüniteyi uyarır. Deriye invazyonu sağlayan keratinazlar ise gecikmiş tip aşırı duyarlılık (Delayed Type Hipersensitivity, DTH) reaksiyonlarına neden olurlar. Keratinazlar, proteolitik aktiviteyi engelleyen antikor üretimine neden olduklarından dolayı, dermatofitlerin en önemli antijenleri olarak kabul edilirler. Hücre duvarında yer alan kitin ve glukon da antijenik özellik gösteren diğer maddelerdir<sup>7,43,84</sup>.

### **Dermatofitozide Doğal İmmun Sistem**

#### **Keratinizasyon ve Epidermal Proliferasyon**

Bazal epidermal hücreler, epidermin sürekli olarak büyümesini sağlar. Epidermis büyüdükçe yüzeye çıkan epidermal hücreler farklılaşarak “keratinosit” adını alırlar. Stratum korneum tabakası, birçok mikroorganizmanın beslenme için kullanamadığı bu keratin hücreleri tarafından oluşturulmuştur<sup>7,85</sup>. Keratinositler, saçsız deri enfeksiyonlarındaki dermatofitler için hayati öneme sahip hücrelerdir<sup>10</sup>. Bu matür hücreler nükleuslarını kaybettikleri için keratinize olmuş hücre halini alırlar. Stratum korneum tabakasındaki sürekli keratinizasyon ve bu tabakadaki epidermal hücrelerin yenilenmesi, enfekte alanda organizmalara karşı konak savunmasının gelişimine katkıda bulunmaktadır<sup>7</sup>.

Epidermal proliferasyon ve keratinizasyon, fungal elemanların deskuamasyonuna yol açmaktadır. Fakat *C. Albicans* ve dermatofitler, bu tabakayı eritici özellikte bir enzim olan keratinazı üretme yeteneğine sahiptirler<sup>7</sup>. Keratinositler, dermatofitlere karşı savunmada bizzat görev aldıkları gibi, IFN $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-8 ve IL-16 salınımı yaparak, inflamatuvar doku reaksiyonlarında önemli rol oynarlar. Keratinositler, TLR’leri salgılayarak patojenin tanınmasına yardımcı olur. Bu reseptörlerle oluşan sinyal aktivasyonu, nonspesifik immün yanıtı tetikleyebilmektedir<sup>10,86,87</sup>.



### **Antifungal Maddeler**

Erişkin saç yapısındaki lipidler, doymuş yağ asitleri içerir. Bu yağ asidi yapıları, *Microsporum Audouinii*'ye karşı fungistatik etkiye sahiptir. Erişkindeki sebum tabakası, çocuklara göre kiloya oranla daha fazla olduğundan, erişkindeki fungistatik aktivite çocuklara göre daha fazladır<sup>7,35</sup>. Buna ek olarak normal epidermisten fungisidal proteinler de izole edilmiştir ve bu proteinlerin, kutanöz mantar enfeksiyonlarına karşı savunmada bazı roller üstlendiği düşünülmektedir<sup>7,88</sup>.

### **Doymamış Transferrin**

Dermatofit enfeksiyonlarının genellikle keratinize stratum korneum tabakasına sınırlı olmasının dermis tabakasında doymamış transferrin varlığı ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir<sup>7</sup>. Transferrin, demire bağlanarak fungal büyümeyi inhibe edebilmektedir<sup>10</sup>. Dermisteki doymamış transferrin, demire bağlanmak için organizmalarla yarışmakta ve bu mantar etkenlerinin derinin derin tabakalarına doğru büyümesini önlemektedir<sup>7</sup>.

### **Kemotaksis ve Fagositik Hücrelerin Antifungal Mekanizmaları**

Nötrofil ve monosit/makrofajlar, kutanöz mantarlara karşı geliştirilen savunma mekanizmasında önemlidirler. Nötrofil ve makrofajlar opsonize ve nonopsonize maya hücrelerini TLR, mannoz reseptörleri ve  $\beta$ -glukan reseptörleri gibi hücre yüzey reseptörleriyle tanır ve fagosite ederler. TLR'ler ve IL-1 reseptörüne (IL-1R) bağlanma, nötrofiller ve diğer fagositler üzerinde antifungal fonksiyonları aktive eder. Bu reseptörlerin uyarılması sitoplazmadaki hücre içi proteinlere sinyal gönderir, MyD88 sinyal kaskadını başlatır ve mikrobisidal molekülerin ve sitokinlerin ekspres olmasını sağlar<sup>89,90</sup>.

Nötrofiller direkt olarak patojenlere, değişik mikrobisidal süreçlerle saldırarak etki gösterebilir. Öldürme, reaktif oksijen ve nitrojen ara bileşikleri de dahil olmak üzere oksidatif mekanizmalar ve non-oksidatif mekanizmalarla gerçekleşir. Fagositoz ve öldürme, opsonizasyon ve proinflamatuvar sitokinlerin etkisiyle güçlendirilmektedir<sup>7,10,91,92</sup>. Alternatif olarak nötrofiller non-oksidatif granül mikrobisid yapıları (katepsin, defensinler, bakterisid/permeabilite artış proteini, laktoferrin, lizozim, elastaz, azurisin ve birkaç diğer protein) üzerinden de etki gösterebilmektedir<sup>7,10</sup>.

Nötrofiller mikrobisid özelliklerine ek olarak aynı zamanda ciddi derecede büyüme inhibitörü etkisine sahiptirler. Bu hücreler içerisinde yüksek oranlarda

bulunan kalsiyum ve çinko proteinlere bağlar. Bu bağlanmış proteinlere calprotectin ismi verilir ve *C. Albicans* ile diğer mantar etkenlerine karşı güçlü mikrobistatik aktiviteye sahiptirler. Bu proteinler nötrofillerin enfeksiyon bölgesinde ölmelerini takiben salınırlar<sup>7,93</sup>.

Makrofajlar NO (Nitrik Oksit) üreterek patojenlerin büyümesini inhibe eder, bu nedenle ek bir antimikrobiyal mekanizmaya sahiptir. Bu mekanizma aynı zamanda yüzeysel mantar enfeksiyonuna neden olan organizmalara karşı da aktivite gösterebilir<sup>7,94</sup>.

### **Dendritik Hücreler**

Diğer dokulardaki dendritik hücreler gibi derideki dendritik hücrelerin de bekçilik fonksiyonu mevcuttur. Spesifik immün yanıtın ilk fazını bu hücreler belirlerler. Deride bulunan dendritik hücreler, hem dermis hem epidermis tabakalarında yer almaktadır. Epidermal dendritik hücreler (Langerhans hücreleri), vücuda zararlı olabilecek mantar gibi ajanların tanınması için kritik öneme sahiptir ve lenfositik savunmanın aktivasyonu esas olarak bu hücreler tarafından gerçekleştirilir<sup>10</sup>.

Tinea tablosunda Langerhans hücreleri enfeksiyon bölgesine göç ederler, bu nedenle enfeksiyon bölgesinde Langerhans hücrelerinin sayısı artmıştır<sup>10</sup>. Epidermal Langerhans hücrelerinin kütanöz savunma sistemindeki rolü temelde ASH olarak rol oynamalarından kaynaklanmaktadır<sup>95</sup>. ASH'lerin diğer tipleri gibi, Langerhans hücrelerinin de antijen fagositozu yaptıkları gösterilmiştir<sup>7</sup>. İmmünolojik olarak önemleri, Ig reseptörlerine (Fc-IgG), C3 reseptörlerine ve MHC moleküllerine sahip olduklarının gösterilmesi ile birlikte ortaya konmuştur. Langerhans hücreleri ile T lenfositler üzerindeki antijen reseptörleri, sınıf-II bağımlıdır<sup>7</sup>.

Uygun antijen sunumu ile T lenfosit aktivasyonu ve klonal büyümesi için, Langerhans hücreleri ile T lenfositler arasında uygun bir fiziksel etkileşim gereklidir. ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1) ve LFA-1 (Leukocyte Function Associated Antigen-1) gibi adezyon molekülleri T lenfositlerle Langerhans hücrelerinin etkileşimini artırarak, T lenfosit aktivasyonunu uyarır<sup>7</sup>.

Dermal dendritik hücreler hareketli hücreler olup, geniş bir yelpazede ICAM-1, LFA-1 ve adezyon molekülü B7 gibi markerları eksprese edebilmektedir<sup>7</sup>. Bu hücreler derideki immünolojik reaksiyonun başlatılmasında önemli, özellikle de dermisteki antijenlerin sunulması için gereklidirler<sup>7</sup>.

## **Dermatofitozide Edinsel İmmün Sistem**

Tinea patogenezinde spesifik immün sistem tutulumu vardır. Hem humoral hem de hücre sel immün yanıt görülebilmektedir<sup>10</sup>. Ancak humoral bağışıklığın dermatofit enfeksiyonlarında enfeksiyon etkeninin temizlenmesinde etkili olmadığı düşünülmektedir<sup>9</sup>. Dermatofit enfeksiyonu sırasında IgM, IgA, IgE ve IgG gibi antikor çeşitleri oluşsa da, bu antikorların hastalığın eliminasyonunu sağlamadıkları ve kronik dermatofitozli hastalarda yüksek düzeyde oldukları görülmüştür. IgE akut hipersensivite reaksiyonunda rol oynar ve dermatofitlere karşı savunma sürecinde etkili değildir<sup>84</sup>.

Dermatofitlere karşı gelişen konak hücre sel immün yanıtı enfeksiyonun temizlenmesi için en önemli faktör olarak görünmektedir<sup>9</sup>. Fungal antijen sunumu sonrası CD8 ve CD4 lenfositlerden antifungal immüniteyi düzenleyen çok sayıda sitokin salınmaktadır. Normal durumlarda epidermiste bulunmayan lenfositler, tinea tablosunda etkilenen deri bölgesine doğru göç ederler ve patojen savunmasında görev alırlar<sup>10</sup>. Koga ve arkadaşları dermatofitoz cilt lezyonlarından immunhistokimyasal analiz yapmışlar ve lezyon bölgesindeki dermal infiltratta CD4 ve CD8 T hücreleri elde etmişlerdir<sup>11</sup>.

Özellikle CD4+ lenfosit yanıtının funguslara karşı gelişen immunitede etkin olduğu bilinmektedir. Dermatofit enfeksiyonlarına karşı yeterli immün yanıt gelişiminin CD4/CD8 relatif oranıyla ilişkili olduğu ve CD8+ lenfositlere göre CD4+ T lenfosit düşüklüğü olan hastalarda dermatofit enfeksiyonlarında kronikleşme eğiliminin arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur<sup>9</sup>.

Fungal antijen sunumu sonrası ortaya çıkan CD4+ T lenfosit subpopulasyonlarının farklı immün yanıt yolları vardır ve Th1, Th2 alt grupları patojenlere karşı bağışıklığı düzenlemekte ve enfeksiyon sonucunun ne olacağını belirlemektedir<sup>11</sup>. Ortaya çıkan Th1 yanıt enfeksiyona direnç ile, özellikle Th1 yanıtın azaldığı durumlarda baskın Th2 yanıt ise enfeksiyona duyarlılık ile ilgilidir<sup>96</sup>.

### **Th1 Hücreleri**

Temel olarak IFN- $\gamma$  gibi hücre sel immün yanıtı ve fagosit aktivasyonunu uyaran sitokinlerin yapımını sağlayıp funguslara karşı koruyucu konak savunması sağlar<sup>96,97</sup>. Th1 lenfositler tarafından üretilen IFN- $\gamma$ , nötrofillerin antifungal aktivitesinin stimülasyonu için oldukça önemlidir. IFN- $\gamma$ , anti-kandida konak savunmasına, hem makrofajlar tarafından üretilen NO salınımına hem de

kandida-spesifik immunoglobulin üretimine katkıda bulunabilir. Ayrıca orofaringeal kandidiyazisin insidansının, düşük CD4+ T hücre sayısı ve dolayısıyla düşük Th1 yanıtı olan HIV (Human immunodeficiency virus) hastalarında çok yüksek olduğu iyi bilinmektedir. Bu veriler Th1 hücrelerinin anti-kandida konak yanıtlarındaki önemini yansıtmaktadır<sup>12</sup>.

Fungal enfeksiyonların patogeneğinde major rol oynayan DTH de Th1 tipinde bir immun yanıttır. DTH, antijen spesifik allerjik bir reaksiyondur. Antijeni daha önce tanımış konakta aynı antijenin deri içine verilmesinden sonra, 24-72 saatte gelişen lokal hücresel yanıtı temsil eder. Lezyonun hücresel yapısını, CD45RO+ bellek CD4+ T hücreleri ile monosit/makrofajlar ve daha az sayıdaki nötrofiller oluştururlar. Bu reaksiyonda immun kompleksler ve kompleman yer almaz<sup>98</sup>. Geç tip aşırı duyarlılık reaksiyonunda aktive lenfosit ve makrofajlar tarafından geliştirilen inflamasyon, enfeksiyona karşı bağışık yanıtın gelişiminde önemlidir<sup>43</sup>. Deneysel olarak *T.Mentagrophytes* ile enfekte edilen gönüllülerde hücresel bağışık yanıtla ilişkili olarak T hücre aracılı DTH eşliğinde yoğun inflamasyon görülmüştür<sup>84</sup>.

Dermatofitler tarafından üretilen ve dermatofitlerin cilde invazyonunda rol oynayan keratinazların insan ve hayvanlarda intradermal enjeksiyonları DTH'yi uyarmaktadır<sup>43</sup>. Bu immün reaksiyon pozitif trichophytin testi ile görülebilir ve enfeksiyon bölgesinin iyileşmesinde önemli rol oynamaktadır<sup>10</sup>. Mantar etkeninin yarattığı inflamasyonun derecesi ile enfeksiyonun kronikleşmesi arasında ilişki olduğu saptanmıştır<sup>84</sup>. Yinelene enfeksiyon öncelikle o alandaki kısa süreli ve düşük inflamasyonla ilişkilidir<sup>43</sup>. Bu nedenle kronik ya da tekrarlayan enfeksiyon gelişiminin düşük ya da zayıf DTH ile ilişkili olduğu düşünülmektedir ve deri testlerinde dermatofit antijenlere karşı gelişen DTH ile enfeksiyonun temizlenmesi arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir<sup>84</sup>.

Zoofilik ve jeofilik dermatofit enfeksiyonlarında DTH bağlı olarak yoğun inflamasyon görülmektedir. Antropofilik mantarlarda ise genellikle inflamatuvar yanıt zayıftır, yoğun DTH gelişimi daha az olasıdır<sup>84</sup>. Buna bağlı olarak antropofilik dermatofitlerin oluşturduğu enfeksiyonlar zoofilik ve jeofilik türler tarafından oluşturulan yüksek inflamatuvar yanıtla seyreden mantar enfeksiyonlarına göre daha sık kronikleşmektedir<sup>7</sup>.

## Th2 Hücreleri

Th2 immün yanıt çoğu kez allerjik reaksiyonlardan sorumludur. Mantar enfeksiyonlarındaki Th2 yanıtları genel olarak mikozlara duyarlılığı belirleyen sağlığa zararlı yanıtlardır. Buna karşın Th2 hücreleri IL-3 ve IL-4 gibi sitokinlerin salınımı sonucu antikor yapımını da sağlamaktadır<sup>12</sup>.

Antifungal savunmada Th1 ve Th2 arasındaki dengenin önemi bilinen bir bilgidir<sup>96,97</sup>. CD4+ T hücrelerinin Th1 ve Th2 hücrelere farklılaşması, konağın duyarlılığının veya invaziv mantar enfeksiyonlarına direncin önemli bir belirleyicisidir. Th1 yanıtının gelişmesi, sitokin aktivitesinden ve IL-4, IL-10 gibi Th2 sitokinlerin yokluğundan etkilenir. Allerjik reaksiyonları tetikleyen Th2 immün yanıt, makrofaj aktivasyonunu inhibe ederek, efektör hücrelerin antifungal etkisini azaltmakta ve böylece fungusların ortadan kaldırılmasını önleyici etki göstermektedir<sup>96</sup>.

Yapılan çalışmalarda, yaygın kandidiyaziste koruyucu Th1 yanıtları ve zararlı Th2 yanıtlarının arasındaki dengenin önemine dikkat çekilmektedir<sup>12,99</sup>. Th2 hücrelerinin ana transkripsiyon faktörü olan GATA-3'ün aşırı salınımı, muhtemelen kandida enfeksiyonuna yanıt olması gereken IFN- $\gamma$  üretimini azaltarak, sistemik kandida enfeksiyonuna duyarlılık geliştirir<sup>100</sup>. Th2 yanıtlarının deneysel akciğer kriptokokal enfeksiyonunda da enfeksiyona duyarlılığı arttırdığı raporlanmıştır<sup>12</sup>. Bu çalışmalar; mantar enfeksiyonlarına karşı savunmada Th1'in Th2'ye üstünlüğünün önemini ve baskın Th2 yanıtlarının, genel olarak vücuda zararlı olduğunu göstermiştir<sup>12</sup>.

## Th17 Hücreleri

IL-17 Reseptör A (IL-17RA) eksikliği olan farelerde yaygın *C. Albicans* enfeksiyonunun artan bir duyarlılık göstermesi ve ayrıca Th17 yanıtı düşük olan farelerde yüksek derecede orofaringeal kandidiyazis yatkınlığı görülmesi, IL-17A ve Th17 yanıtlarının anti-kandida konak savunmasındaki kritik tutumunu göstermektedir. Yaygın kandidiyazis olgularında IL-17'nin nötrofil mobilizasyonunu arttırarak nötrofil aracılı inflamasyona aracılık ettiği ve funguslara karşı pyogranülomatöz ve granülomatöz konak yanıtında temel rol üstlendiği, IL-17 ve IL-23 birlikteliğinin nötrofillerin apoptozunu azalttığı gösterilmiştir. Bu çalışmalar kandida enfeksiyonlarında IL-17A ve Th17 yanıtlarının koruyucu bir rolü olduğunu ileri sürse de, farelerde Th17 aracılı

inflamatuvar yanıtların mide içindeki *C.Albicans* enfeksiyonunda negatif etkileri olduğu da raporlanmıştır<sup>12,13</sup>.

Kandida enfeksiyonlarına yanıt için gerekli olan Th17'nin indüksiyonu CLR'ye (C-tip lektin reseptörleri) bağlıdır. CLR, dectin-1, MR (Mannose Receptor ), DC-SIGN (Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin), dectin-2, ve MBL'den (Mannose-Binding Lectin) oluşan büyük bir reseptör ailesidir. Bu reseptörlerin mantar tanınması ve doğuştan gelen bağışıklık tepkisinin modülasyonunda rol oynadığı gösterilmiştir. Son zamanlarda, dectin-1 genetik defekli hastaların kronik mukozal mantar enfeksiyonlarından çok yakındıkları rapor edilmiştir<sup>12</sup>.

*C. Neoformans* ile infekte olan Th1 ve Th17 yanıtlarının her ikisinden de yoksun fareler, Th17 yanıt yokluğunda Th1 yanıtı yokluğundan daha fazla mortalite göstermişlerdir. Bu durum *C.Neoformans* enfeksiyonunda Th17 yanıtlarının koruyucu rol üstlendiğini göstermektedir. Genel olarak bu veriler, mantarların Th17 yanıtlarını uyardığı ve IL-17 yolunun koruyucu antifungal konak savunmalarında önemli bir rol oynadığını göstermektedir<sup>12</sup>.

### **γδ T Hücreleri**

Tanımlanmış T hücre alt tiplerinin yanı sıra, γδ T hücreleri antifungal konak savunmasında, mukozal bariyerin korunmasında ilk savunma hattı olarak hareket ederek önemli bir role sahip olmaktadır. Yapılan çalışmalarda, farelerde, γδ T hücrelerinin, *C.albicans*'ın intraperitoneal inokülasyonu sonrası hızlı ve seri bir şekilde ve in vitro şartlarda makrofajlardan NO üretebildiği ve bunun da antifungal konak savunmasında önemli olduğu belirtilmiştir. Öte yandan, γδ T hücrelerinden yoksun farelerde deneysel kandida vajinitlerine karşı daha az hassasiyet olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur. Bu veriler sonucunda γδ T hücrelerinin kandidalara karşı koruma sağlayabileceği gibi, onları duyarlılaştırabileceğini de düşündürmektedir. Bu durum enfeksiyonun gelişme şekline bağlı olabilir<sup>12</sup>.

### **Regülatuvar T Hücreler**

Regülatuvar T hücreler yaygın kandidiyazisteki inflamatuvar yanıtları baskılar. Onların koruyucu proinflamatuvar yanıtta bu tavrı *C. Albicans*'la infekte farelerde hastalığa yüksek oranda yatkınlık yaratarak sonuçlanmaktadır. Treg hücreleri; özellikle, yaygın ve gastrointestinal kandida enfeksiyonlarında çok aktiftir. Kandida enfeksiyonları esnasında Treg'ler Th1 ve

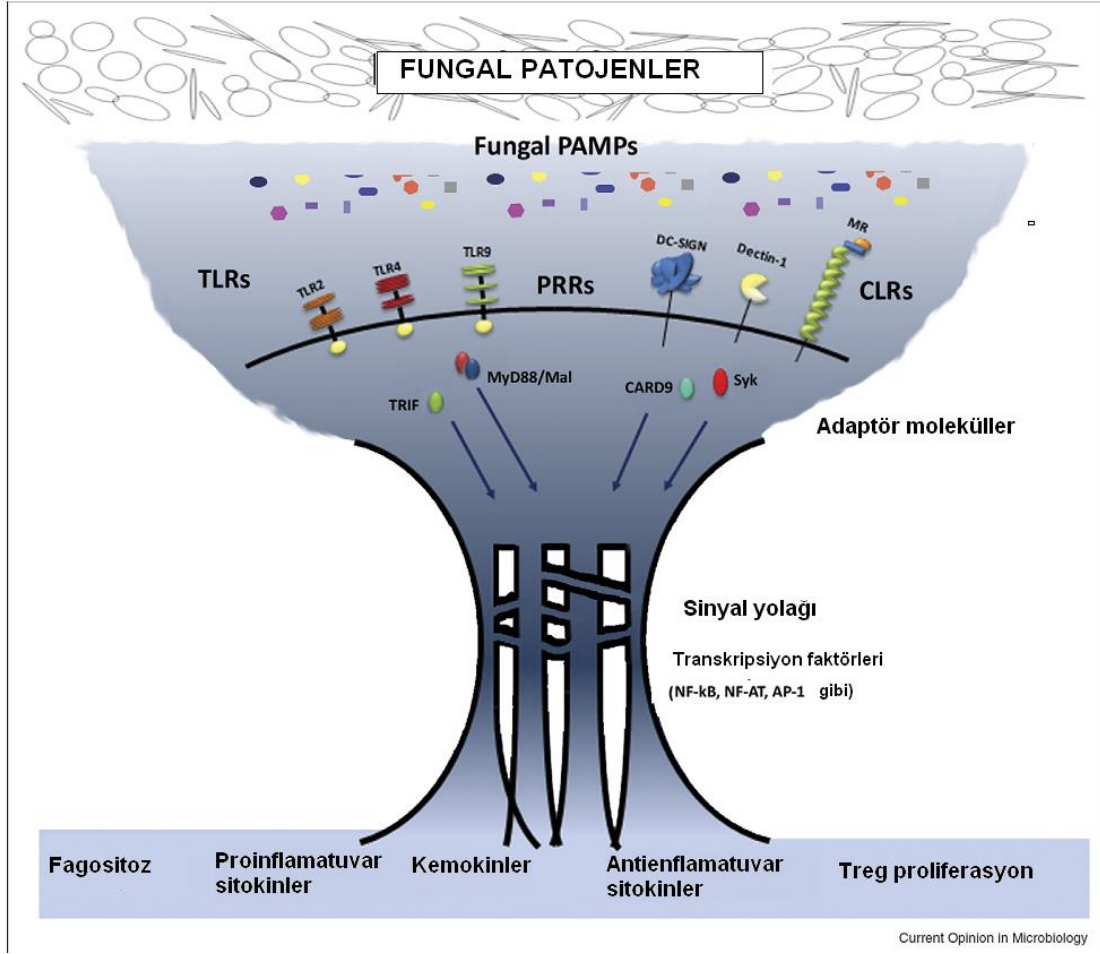
Th17'nin inflamatuvar yanıtlarını inhibe eden IL-4, IL-10 ve TGF- $\beta$  üreterek fungal enfeksiyonlarda immun yanıt kontrolünü sağlamaktadır<sup>12,97</sup>. Treg hücreleri bir yandan immun sistemin kandida enfeksiyonu karşısındaki kontrolünü azaltırken, diğer yandan re-enfeksiyona karşı konak direncini arttırlar<sup>12</sup>.

Treg hücrelerin kandidal enfeksiyon sırasındaki indüksiyonu CD28 ve CD86 gibi kostimulator molekülünün ekspresyon düzeyine, TLR 2 ve TRIF sinyalizasyon (TIR domain-containing adapter inducing IFN-beta) yollarına bağlıdır (Şekil11)<sup>97</sup>. TLR2 ile indüklenen immunmodülatör etkinin Treg hücrelerin immunsupresif potansiyeline aracılık ettiği bulunmuştur<sup>101</sup>. TLR2 zayıf proinflamatuvar etkiye sahiptir. Bununla birlikte güçlü antiinflamatuvar etkili olan IL-10 ve TGF- $\beta$  gibi sitokinlerin üretimini de indüklemektedir<sup>101</sup>.

Kandidiyaziste olduğu gibi *P. Brasiliensis*'te de Th17 hücreleri adaptif bağışık yanıt için önemli bir unsurdur. Genetik olarak TLR2 eksikliği olan farelerde Treg hücre yanıtının azalması ile bağlantılı olarak Th17-aracılı bağışıklık belirgin hale gelir. Bu nedenle TLR2 sinyalizasyon, Th17 ve Treg hücre dengesini korur ve yokluğunda baskın yanıt Th17 yönünde olur<sup>102</sup>.

*Paracoccidioidomycosis* hastalarında yapılan çalışmalarda enfekte granülomatöz lezyonlarda Treg hücreleri identifiye edilmiştir. Lezyonlardaki Treg hücreleri TGF- $\beta$  bağımlı olarak supresif aktivite göstermektedir. Treg ile ilgili çalışmalar, bu hücrelerin mantar enfeksiyonlarında büyümeyi azaltma ve durdurmada zararlı etkileri olduğunu, ancak aynı zamanda yararlı da olabileceğini göstermektedir. Treg hücreleri T hücre sitokin ailesinden IL-17 üretimini de arttırmaktadır<sup>102</sup>.

Sonuç olarak T hücreleri mantarlara karşı konak savunmasında kritik bir rol oynamaktadır<sup>12</sup>. Pek çok mantarın tanınması fungal PAMPs' lar ile TLR ve CLR ailesinden oluşan PRRs'ler arasındaki etkileşimler aracılığıyla olmaktadır. Bu sinyaller ortak adaptör moleküller, hücre içi yollar ve transkripsiyon faktörlerinin kullanılması ile birleşmekte (Şekil 10) ve böylece Th1, Th2, Th17 ve Treg hücreler gibi farklı T hücrelerinin proliferasyonu sağlanarak adaptif immun yanıtın gelişimi oluşmaktadır<sup>13,101</sup>.

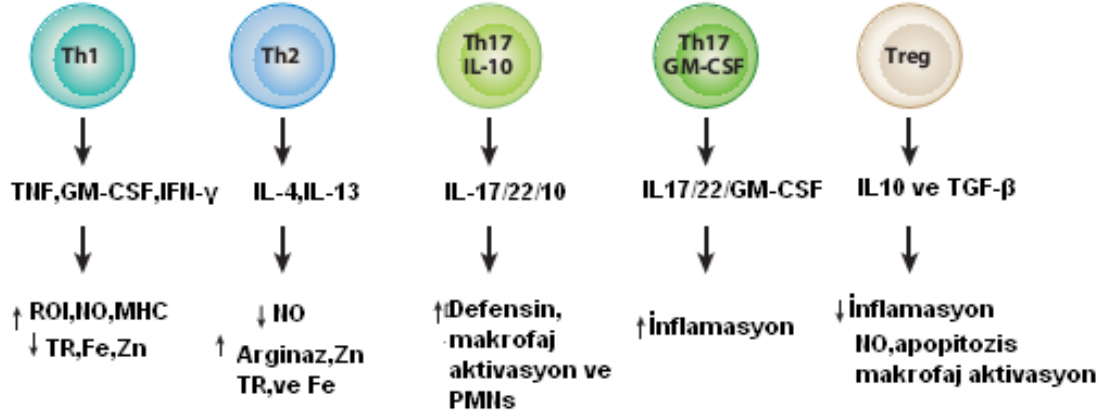


**Şekil 10.** Genel fungal patern tanıma modeli.

T hücre alt tiplerinin çeşitli fonksiyonlara sahip oldukları tanımlanmış olmasına rağmen, genel olarak Th1 ve Th17 yanıtları antifungal savunmaya katkı sağlamaktadır. Th1 immun yanıt sonucu gelişen inflamatuvar süreç enfeksiyon eliminasyonunda önemli rol oynarken, Th2 hücreleri antiinflamatuvar etkinin artışı sağlarlar ve enfeksiyona duyarlılığı artırırlar<sup>12,13</sup>.

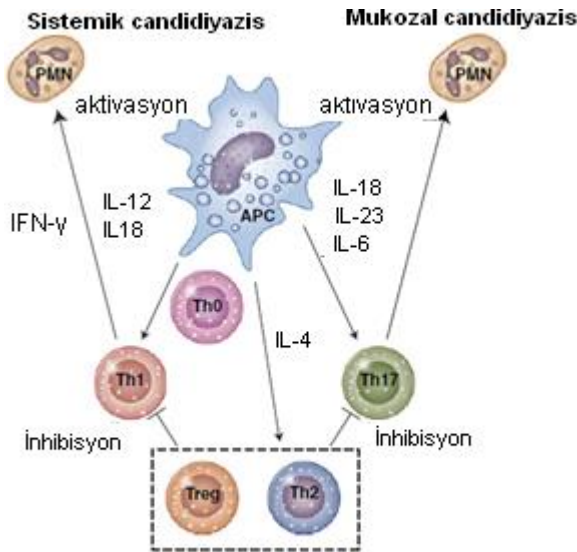
Artmış Treg hücreleri ise inflamatuvar reaksiyon gelişimine engel olarak enfeksiyon bölgesinde inflamasyondan dolayı oluşan patolojik doku yıkımını azaltmaktadır. Fakat koruyucu immün yanıtları suprese ettiği için patojen persistansının uzamasına ve enfeksiyon yükünün artmasına yol açarak enfeksiyonun kronikleşmesine sebep olmaktadır (Şekil 11)<sup>13,20</sup>.





**Şekil 11.** Fungal enfeksiyonlarda efektör T hücrelerin fonksiyonları.

Dermatofit enfeksiyonlarında yararlı ve zararlı immün yanıtlar arasındaki dengenin çok önemli olduğu da yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur (Şekil 12)<sup>20</sup>.



**Şekil 12.** T hücre alt tiplerinin antifungal konak savunmasındaki rolü.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

### Çalışma Grubu

Bu çalışmada, Mayıs 2011-Aralık 2011 tarihleri arasında Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Hastanesi Dermatoloji Polikliniğine başvuran tinea pedis tanısı almış, 18 yaş üzeri 65 hasta, bilgilendirilmiş olur formu alındıktan sonra çalışmaya dahil edildi. Klinik olarak tinea pedis tanısı olan hastalardan çalışma öncesi nativ preparat alındı ve nativ pozitif hastalar çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya alınan 65 hastanın 53'ü ayak parmak arası/ayak tabanı (APA/AT), 12'si vezikülobüllöz (VB) tip tinea pedis hastalarından oluşturuldu. Hastalara sosyo-demografik özelliklerini, ilaç kullanımı öyküsünü ve tinea pedis süresini içeren anket formu uygulandı. Kontrol grubu olarak 18 yaş üzeri, klinik olarak sağlıklı bulunan 65 birey bilgilendirilmiş olur formu alındıktan sonra çalışmaya alındı.

Tüm gruplarda 18 yaş altı, astım, egzema, alerjik rinit, malignensi, otoimmün hastalık öyküsü olan bireyler çalışmadan dışlandı.

Bu çalışma Helsinki Deklarasyonu özelliklerine göre yapılmış ve Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

### Kullanılan Araç ve Gereçler

Akım sitometri cihazı	BD Facs Calibur
Santrifüj cihazı	Nüve NF 800
+4°C Buzdolabı	Electrolux
Otomatik ayarlanabilir pipet (2-20 µL)	Eppendorf
Otomatik ayarlanabilir pipet (20-100 µL)	Gilson Pipetman
Otomatik ayarlanabilir pipet (200-1000 µL)	Gilson Pipetman
Pastör pipeti (0,5-3mL)	Citotest
Plastik pipet ucu (sarı, mavi)	LP Italiana SPA
Falkon 12x75mm, 5ml polistren tüp	BD (352054)
Falkon 17x120mm, 15ml polipropilen konik tüp	BD (352097)

## Kullanılan Reaktif ve Kitler

**Tablo 4:** Kullanılan reaktif ve kitler.

	İsim	Katalog No
1.	BD Pharmingen™ FOX P3 (SCURFİN, IPEX, JM2) PE 100 test	BD-560046
2.	BD Pharmingen™ FOX P3 (SCURFİN, IPEX, JM2) PE 25 test	BD-560082
3.	BD Pharmingen™ CD 4 FITC	BD-555346
4.	BD Pharmingen™ CD 25 APC	BD-555434
5.	BD Pharmingen™ Pharmingen Stain Buffer (FBS)	BD-554656
6.	BD Pharmingen™ FOX P3 FIX/Perm Buffer	BD-560098
7.	BD Vacutainer CPTTM (4 mL) sodyum sitratlı fikollü tüp	BD-362781,
8.	BD CellWASH	BD-342409

Kullanılan antikorlar:

CD4: T helper lenfositleri,

CD25: Regulator T lenfositleri,

FoxP3: Regulator T lenfositleri belirlemek için kullanıldı.

### Örneklerin Toplanması

Çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubuna ait bireylerin periferik venöz kanları BD (Becton Dickinson) Vacutainer CPTTM (4 mL) sodyum sitratlı fikollü tüplere alındı. Analizler aynı gün içerisinde Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarında BDFacs Calibur (USA) flow sitometri cihazında gerçekleştirildi.

### Periferik Kan Mononükleer Hücre İzolasyonu

Hidrofilik bir polisakkarit olan fikol, kanı bileşenlerinden (eritrosit ve lökositlerinden) ayırmak için kullanılmaktadır. Bu amaçla fikollü tüplere alınan kan örneklerinin tüp içerisindeki antikoagulan maddeyle (sodyum sitrat) yeterince temas edebilmesi amacıyla kan alınır alınmaz 8-10 defa alt üst edilerek karıştırıldı. Kan örneği 3000 rpm'de 30 dakika santrifüj edildi. Dansite

gradient santrifüj temel prensibine dayanan bu yöntemle tüpün üstünde kalan plazma tabakası tüpten uzaklaştırıldı. Ardından separasyon jelinin üzerindeki beyaz renkli mononükleer hücre tabakası pipet yardımıyla alınarak, falkon tüpüne ayrıldı. Akım sitometrik analiz öncesi hücre sayısı 10 milyon/ml olacak şekilde BD Pharmingen Stain Buffer (FBS) ile dilüe edildi.

### **Hazırlanan Solusyonlar**

Human FoxP3 Buffer Set; Human FoxP3 Buffer A ve Human FoxP3 Buffer B olmak üzere iki adet tampon solusyonu içermektedir.

- Human FoxP3 Buffer A (x10): 1/10 oranında distile suyla dilüe edilerek her bir hasta örneği için 2,5 mL %10'luk Buffer A hazırlandı.
- Human FoxP3 Buffer B (x50): %10'luk Buffer A ile 1/50 oranında Buffer B dilüe edilerek, her bir hasta örneği için 0,5 mL Buffer C hazırlandı.

### **Çalışma Prosedürü**

Her bir kan örneğinin çalışılmasında sırasıyla aşağıdaki adımlar takip edildi:

1. Tamponlar oda ısısına getirilerek Buffer A ve Buffer C solusyonları hazırlandı.
2. Falkon tüpüne (12x75 mm) monoklonal antikorlar uygun miktarlarda kondu: 20 µL CD 4 (FITC), 20 µL CD 25 (APC) monoklonal antikor boyaları pipetlendi.
3. Çalışma tüpüne mononükleer hücre izolasyonu yapılarak, hücre sayısı ayarlanmış örnekten 100'er µL ilave edildi. Tüpler vortekslenerek 20 dakika karanlıkta oda ısısında bekletildi.
4. İnkübasyon sonrası çalışma tüpüne 2 ml FBS eklenerek vortekslendi. 1300 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.
5. Santrifüj edilen tüp tek hamlede ve hızlıca ters çevrilerek FBS uzaklaştırıldı. Tüpü düz çevirmeden tüpün çevresinde kalan fazla sıvı gazlı bezle alındı.
6. Çalışma tüpüne %10'luk Buffer A solusyonundan 2 ml eklenerek vortekslendi ve 10 dakika oda sıcaklığında, karanlıkta bekletildi.
7. 2000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra tek hamlede ve hızlı bir şekilde ters çevrilerek Buffer A solusyonu ortamdaki uzaklaştırıldı. Tüpü düz çevirmeden tüpün çevresinde kalan fazla sıvı gazlı bezle alındı.
8. Çalışma tüpüne 2ml FBS eklendi, vortekslenerek 2000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüp tek hamlede ve hızlı bir şekilde ters

- çevrilerek FBS solusyonu ortamdan uzaklaştırıldı. Tüpü düz çevirmeden tüpün çevresinde kalan fazla sıvı gazlı bezle alındı.
9. Bu aşamadan sonra hücreleri permeabilize edebilmek için tüpe 500 µL Buffer C ilave edilerek, vortekslendi. 30 dakika oda sıcaklığında karanlıkta bekletildi.
  10. Çalışma tüpüne 2ml FBS eklendi, vortekslenerek 2000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüp tek hamlede ve hızlı bir şekilde ters çevrilerek, FBS solusyonu ortamdan uzaklaştırıldı. Tüpü düz çevirmeden tüpün çevresinde kalan fazla sıvı gazlı bezle alındı.
  11. 10. basamak tekrar edildi.
  12. Çalışma tüpüne 20 µL FoxP3 (SCURFİN, IPEX, JM2) monoklonal antikoru ilave edilip, vortekslendi. 30 dakika oda sıcaklığında karanlıkta bekletildi.
  13. 2 ml FBS eklenerek vortekslendikten sonra 2000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi, sonrasında tüp tek hamlede ve hızlı bir şekilde ters çevrilerek FBS solusyonu ortamdan uzaklaştırıldı. Tüpü düz çevirmeden tüpün çevresinde kalan fazla sıvı gazlı bezle alındı.
  14. Son olarak çalışma tüpüne 300 µL FBS ilave edilerek vortekslendi.

Belirtildiği şekilde hazırlanan örnekler flow sitometri cihazı BD FACS Calibur Flow Cytometer (BD Biosciences) ve BD CellQuest Pro Version The Premier Acquisition and Analysis Software'i kullanılarak değerlendirildi.

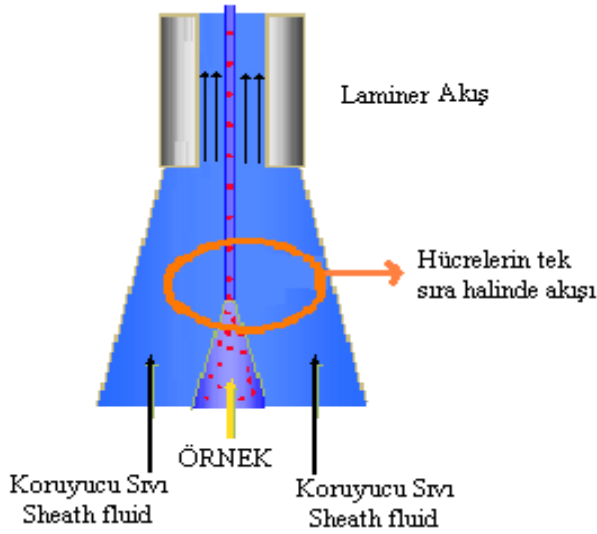
### **Flowsitometrik Değerlendirme**

#### **Prensip**

Sitometri, hücrelerin veya biyolojik partiküllerin fiziksel ya da kimyasal karakterlerinin ölçülmesidir. Flow sitometri ise, akan bir sıvının içerisindeki hücrelerin özelliklerinin incelenmesi olarak tanımlanabilir. Flow sitometrik ölçüm yönteminde, hücrelerin büyüklük ve granülaritelerine göre sınıflandırılması floresan yoğunluğuna göre tek hücre seviyesinde, hücre populasyonlarını, organelleri veya benzer ölçüde partikülleri kantitatif olarak araştırma imkanı sağlamaktadır<sup>103</sup>.

Flow sitometri birçok sistemin birleşmesinden oluşmuştur. Bunlar; örnek toplayıcı ve taşıyıcı sistem, akış sistemi (sheath fluid), ışık kaynağı (laser kaynağı), sferik ve çapraz silindirik filtreler, odaklama aynaları, sinyal dedektörleri (optik ve elektrik sinyal) ve bilgisayardan (veri toplanması, saklanması, sunumu ve analizi) oluşur<sup>103</sup>.

Fluoresimetric analiz için süspansiyon haline getirilmiş hücrelerin floresan işaretli (FITC, PE, Rhodamine, vs) monoklonal antikorlar ile direkt/indirekt yoldan işaretlenmesi gerekmektedir. Analiz için, işaretlenmiş, süspansiyon halindeki bu hücreler hava basıncı ile akış sistemi (sheath fluid) içinden geçirilmektedir. Sıvının çok hızlı akışı yüksek bir hidrostatik basıncı oluşturmakta ve bu basıncıla hücreler cam veya quartzdan yapılmış (flow chamber) akış kabineine gelmektedirler. Bu kabinin geometrik şekli ve sıvının laminer akışı, hücrelerin tek sıra halinde geçişini sağlar (şekil14) ve tek sıra halindeki hücreler lazer işığı içinden geçerek görünür hale gelirler Lazer kaynağı olarak; argon, kripton, helyum-kadmiyum, helyum-neon veya daha yüksek yoğunluktaki işık kaynakları kullanılabilir. Işaretlemede kullanılan probler lazer kaynağıyla aktive olduklarından, işın yayarlar ve bu sayede dedekte edilebilirler.



**şekil 13.** Flow sitometrinin şematik gösterimi.

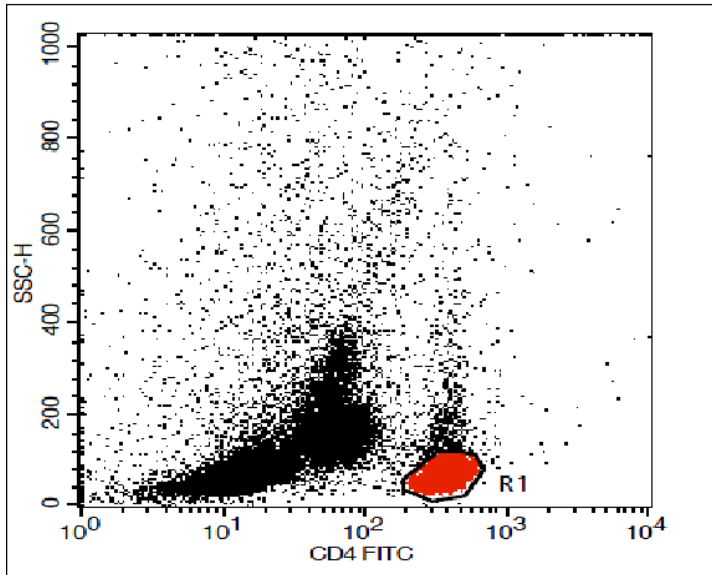
Genellikle lazer kaynağı olarak Argon iyonu kullanılır ve Fluorescein isothiocyanate (FITC), phycoerythrin (PE), propidium iodide (PI) gibi florokrom maddelerin 488 nm'de aktivasyonu sağlanır. Hücreye bağlı florokrom lazer işığı ile belli bir dalga boyunda aktiflenir ve bu enerjiyle farklı bir dalga boyunda işın yayar. İleri ve yana olan işık saçılımına göre hücre boyutu, iç yapısı hakkında, prob bağlanma yoğunluğuna göre de antijenik özellikleri ve hücrelerin canlılığı

hakkında bilgi edinilir. Aktiflenme sonucu açığa çıkan floresan fotodiodlarla toplanır. Photo Multiply Tubes (PMT's) ile elektrik sinyaline çevrilerek amplifiye edilir ve sonuçlar bilgisayara aktarılır<sup>103</sup>.

Tek hücre olarak lazer kaynağının önünden geçen floresan işaretli hücrelerin analizi için sistemde; FSC (Forward Scatter Channel; ileri saçılım kanal) dedektörü, SSC (Side Scatter Channel; yana saçılım kanal) dedektörü ve floresan dedektörler, (FL-1, FL-2, FL-3, FL-4 vs) bulunmaktadır. FSC hücre yüzey alanı veya büyüklüğü hakkında bilgi verirken SSC granülarite veya hücre iç yapısı hakkında bilgi verir<sup>103</sup>.

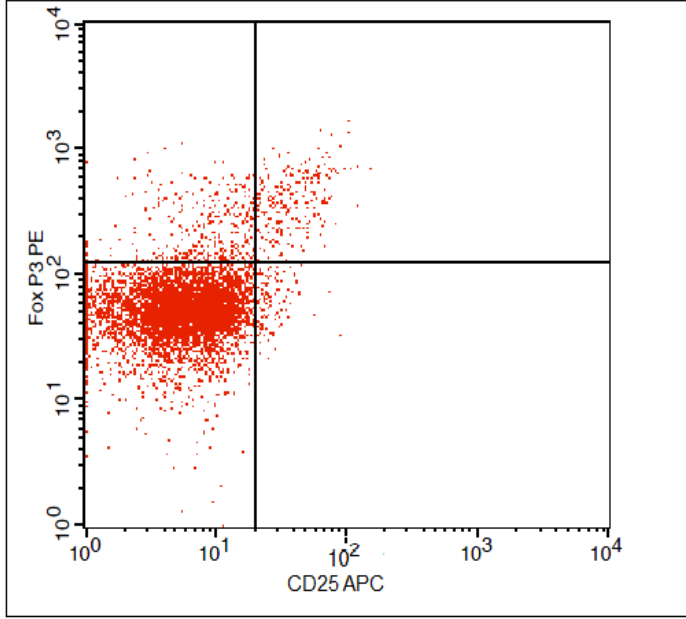
FSC/SSC histogramı ile hücre süspansiyonu içindeki farklı hücre populasyonları birbirinden ayrılmaktadır. Sistemin dedektörleri kullanılarak süspansiyon içinde büyüklük ve granülarite özelliklerine göre ayrılmış bu farklı hücre populasyonları içinde bilgi edinilmek istenen hücre gruplarını grafik bir çerçeve ile belirleme işlemine "gating/kapılama" işlemi adı verilmektedir. Bu işlemden sonra, sistem verilen komutlara uygun olarak sadece kapı içindeki hücreler hakkında bilgi vermektedir<sup>103</sup>.

Değerlendirmede; öncelikle CD4-FITC'nin ışığa verdiği fluoressansa karşı SSC kullanılarak oluşturulan dot plotta CD4 ekspresyonu değerlendirildi (Şekil 14).



**Şekil 14.** İşaretli alan PBMC içindeki CD4+ T lenfositleri göstermektedir.

Daha sonra CD4 kapısı kullanılarak, CD25 APC/FoxP3 PE parametreleri kullanılarak oluşturulan floresans dot plot görüntüsünde CD25 ve FoxP3 ekspresyonları değerlendirildi. CD4 kapısında 25.000 hücre saydırıldı. CD4 pozitif hücrelerde CD4+CD25+FoxP3+ ekspresyonları yüzde değer olarak saptandı (Şekil 15).



Quad	Events	% Gated	% Total
UL	1494	5.51	1.17
UR	981	3.62	0.77
LL	24191	89.23	18.92
LR	445	1.64	0.35

**Şekil 15.** Sağ üst; CD4+CD25+FOXP3+ T regülatuar (Treg) hücrelerin yüzde oranı (% 3.62).

Bütün bu değerlendirmelerin ardından kan sayım sonuçlarından yararlanılarak her bir parametre için aşağıdaki formül uygulanarak absolut sayı/ $\mu$ L cinsinden sonuçların hesaplanması aşağıda verilen formülle gerçekleştirilmiştir.

$$\text{Absolut sayı}/\mu\text{L} = \frac{\text{Lökosit sayısı} \times \% \text{lenfosit} \times \% \text{antikor pozitifliği}}{10.000}$$



## **İstatiksel Analiz**

Gruplara göre değişkenlerin normal dağılıma uygun olup olmadıkları Shapiro Wilk testi ile incelenmiştir. Dağılım varsayımı gruplara göre değiştiiğinden sürekli değişkenler medyan [min.-max.] ve ortalama±standart sapma şeklinde özetlenmiştir. Kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde cinsinden özetlenmiştir. İki grup karşılaştırılmasında dağılım varsayımı sağlandığı durumda independent sample t testi, sağlanmadığı durumda ise Mann Whitney U testinden yararlanılmıştır. İki den fazla grup karşılaştırılmasında dağılım varsayımı sağlandığı durumda ANOVA testinden, dağılım varsayımı sağlanmadığı durumda Kruskal Wallis testinden yararlanılmıştır. Gruplar arasındaki farklılığın kaynağını bulmak için Kruskal Wallis testinin ardından post hoc testlerden dunn testi uygulanmıştır. Analizler MedCalc v.12.3.0 programları ile yapılmıştır.  $p < 0,05$  istatistiksel anlamlılık düzeyi olarak kabul edilmiştir.

## BULGULAR

Bu çalışma 2011 tarih ve 169 no'lu Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul izni alındıktan sonra Mayıs 2011/ Aralık 2011 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Çalışmaya, Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Hastanesi Dermatoloji Polikliniğine başvuran klinik olarak Tinea pedis tanısı almış nativ pozitif, 18 yaş üzeri, 33'ü kadın, 32'si erkek olmak üzere toplam 65 hasta alındı. Kontrol grubu olarak klinik olarak sağlıklı bulunan, 18 yaş üzeri, 33'ü kadın, 32'si erkek olmak üzere 65 birey alındı. Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarını oluşturan olguların yaşa ve cinsiyete göre dağılımları Tablo 5'de gösterilmiştir.

**Tablo 5.** Grupların yaşa ve cinsiyete göre dağılımı.

	Yaş		Cinsiyet n (%)	
	Ortalama	Standart sapma	Kadın	Erkek
<b>Hasta</b>	41,00	12,27	33 (%50,8)	32 (%49,2)
<b>Kontrol</b>	32,98	8,17	33 (%50,8)	32 (%49,2)

n : Hasta Sayısı

Parametreler açısından genel olarak hasta ve kontrol grubunun karşılaştırılması Tablo 6'da gösterilmiştir.

**Tablo 6.** Parametreler açısından hasta ve kontrol grubunun karşılaştırılması.

<b>CD Belirteç</b>	<b>Hasta</b> Ort.±Std. Sapma Medyan[Min.-Max.]	<b>Kontrol</b> Ort.±Std. Sapma Medyan[Min.-Max.]	<b>P Değerleri</b>
CD4+CD25+FoxP3+%	1,69±1,08 1,71[0,07-5,28]	2,36±1,09 2,47[0,16-4,77]	<0,001
CD4+CD25+FoxP3 (absolut sayı/μL)	35,02±24,70 34,95[1,18-110,33]	54,56±27,61 51,90[0,00-134,48]	<0,001
CD4+ %	23,74±7,49 23,86[3,99-36,61]	26,77±7,86 27,02[8,94-43,88]	0,026

Hasta ve kontrol grupları arasında CD4+CD25+FoxP3+% değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ( $p<0,001$ ). Hasta grubu değerleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşüktü. Hasta ve kontrol grupları arasında CD4+CD25+FoxP3+ absolut sayı/μL değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ( $p<0,001$ ). Hasta grubu değerleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü. Hasta ve kontrol grupları arasında CD4+% değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ( $p=0,026$ ). Hasta grubu değerleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşüktü. Parametreler için APA/AT ve VB hasta grupları ve kontrol grubununun sonuçlarının karşılaştırılması Tablo 7'de gösterilmiştir.

**Tablo 7.** Parametreler açısından APA/AT ve VB hasta ve kontrol grupları sonuçlarının karşılaştırması.

		CD4+CD25+FoxP3+%	CD4+CD25+FoxP3 (Absolut sayı/ $\mu$ L)	CD4 %
<b>VB</b>	Ort. $\pm$ Std. Sapma	2,21 $\pm$ 0,80	45,49 $\pm$ 16,49	23,75 $\pm$ 8,10
	Medyan [Min.-Max.]	2,34 [0,94-3,62]	42,31 [21,05-67,07]	24,68 [3,99-34,97]
<b>APA/AT</b>	Ort. $\pm$ Std. Sapma	1,57 $\pm$ 1,11	32,65 $\pm$ 25,73	23,73 $\pm$ 7,42
	Medyan [Min.-Max.]	1,52 [0,07-5,28]	30,47 [1,18-110,33]	23,86 [5,72-36,61]
<b>Kontrol</b>	Ort. $\pm$ Std. Sapma	2,36 $\pm$ 1,09	54,56 $\pm$ 27,61	26,77 $\pm$ 7,86
	Medyan [Min.-Max.]	2,47[0,16-4,77]	51,90 [0,00-134,48]	27,02 [8,94-43,88]
<b>P Değeri</b>		<0,001	<0,001	0,084

CD4+CD25+FoxP3+% değerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulundu ( $p < 0,001$ ). Bu farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığını tespit etmek amacıyla post hoc testlerden Dunn testi uygulanmıştır. APA/AT grubu ile kontrol ve VB grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardı. APA/AT grubu CD4+CD25+FoxP3+% değerleri diğer gruplara göre daha düşüktü ( $p < 0,05$ ).

CD4+CD25+FoxP3 absolut sayı/ $\mu$ L bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardı ( $p < 0,001$ ). APA/AT grubu ile kontrol ve VB grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardı. APA/AT grubu CD4+CD25+FoxP3 absolut sayı/ $\mu$ L değerleri diğer gruplara göre daha düşüktü ( $p < 0,05$ ).

CD4% değerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ( $p = 0,084$ ).

## TARTIŞMA

Dermatofitlerin neden olduğu yüzeyel mantar enfeksiyonları dermatoloji polikliniklerine başvuran hastaların önemli bir kısmını oluşturmaktadır<sup>14</sup>. Dermatofitozlar yaşamı tehdit etmediği, fonksiyonel bir bozukluğa yol açmadığı halde, kişinin yaşam kalitesini büyük ölçüde etkilemektedir. Bu nedenle yüksek morbiditeye sahip yüzeyel mantar enfeksiyonlarında erken tanı ve etkin tedavi hem toplum sağlığı açısından hem de sağlık ekonomisi açısından büyük önem taşımaktadır.

Diğer enfeksiyonlarda olduğu gibi konağın immün direnci dermatofitozlarda da hastalığın klinik formunu, seyir ve prognozunu etkiler. Fungal antijen ile konağın immun yanıtı arasındaki ilişkiye bağlı olarak hastalık akut ve inflamatuvar ya da kronik ve noninflamatuvar olarak görülebilir. İmmun sistemin zayıf olduğu hastalarda dermatofitoz insidansı artmakta ve enfeksiyon kronikleşebilmektedir. Kutanöz mantar enfeksiyonlarının immünolojik defektli hastalarda daha sık görülmesi ve daha ağır seyretmesi, fungal antijenlere karşı verilen immün yanıtın, konağın bu enfeksiyonlara karşı savunmasının önemli bir parçasını oluşturduğunu göstermektedir<sup>18</sup>.

Dermatofit enfeksiyonları içinde en sık görüleni tinea pedisdir<sup>15</sup>. Tinea pedis ve Treg hücre düzeyleri arasında ilişki bulunması dermatofitozların tanı ve tedavisinde yeni yaklaşımlar sağlaması açısından önemlidir. T lenfositlerin bir alt kümesi olan Treg hücrelerin efektör T hücre etkinliğini baskılayarak T hücrelerinin aktivasyonunu, proliferasyonunu düzenledikleri, antiinflamatuvar etkiyle immün sistemi baskılayıcı-frenleyici yönde kontrol ettikleri bilinmektedir<sup>13,16</sup>.

Biz bu çalışmada Tinea pedisli hastalarda reglatuvar T hücre düzeyinin sağlıklı kontrol grubuyla tinea pedisli hasta grubu arasında anlamlı bir farkının olup olmadığını araştırdık. Tinea pedisin farklı klinik formları arasında Treg hücre sayısı bakımından farkı değerlendirmek için de hasta grubunu APA/AT ve VB olmak üzere iki gruba ayırdık. Çalışmaya aldığımız hastaların yaklaşık %80'i kronik tinea pedis hastasıydı. Çalışmamızda hasta ve kontrol grubu periferik

mononükleer hücrelerinde CD4%, CD4+CD25+FoxP3%, CD4+CD25+FoxP3 absolut sayı/ $\mu$ L düzeylerini karşılaştırdık.

Hasta grubu genel olarak ele alındığında CD4% değerleri açısından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardı ( $p=0,026$ ). Hasta grubu değerleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü. APA/AT ve VB hasta grupları ayrı ayrı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ise CD4% değerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ( $p=0,084$ ). Çalışmamızda hasta grubunda CD4% değerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olması, bu hastalarda hücresel bağışıklığın yetersizliği ve bunun tinea pedis hastalarındaki kronik gidişten sorumlu olabileceğini düşündürmektedir.

Yapılan çalışmalarla hücresel immun yanıtın dermatofit enfeksiyonlarına karşı konak savunmasında önemli olduğu kanıtlanmıştır<sup>104,105</sup>. Özellikle CD4+ lenfosit yanıtının funguslara karşı gelişen immunitede etkin olduğu bilinmektedir<sup>35</sup>. Yapılan bir çalışmada CD4+ T lenfosit eksikliği olan farelerde *C. Neoformans*'a karşı konak savunması incelenmiş, CD4+T lenfosit eksikliği periferik kan, dalak, lenf nodu ve akciğer T hücre analizi ile doğrulanmıştır. CD4+ T lenfosit eksikliği olan farelere ve kontrol grubuna intravenöz ve intratekal olarak virulan *C. Neoformans* enjekte edilmiş. *C. Neoformans* inokulasyonu sonrası CD4+ T lenfosit eksikliği olan farelerde ortalama yaşam süresi  $34\pm 0,9$  gün iken, kontrol grubunda  $40,6\pm 2,9$  gün bulunmuştur. Bu fark anlamlı kabul edilmiştir ( $p<0,001$ ). Bu da bizim çalışmamızla uyumlu olarak hücresel bağışık yanıtın fungal enfeksiyonlara karşı savunmadaki önemini göstermektedir<sup>106</sup>.

Dermatofit enfeksiyonlarına karşı yeterli immun yanıt gelişiminin CD4/CD8 relatif oranıyla ilişkili olduğu ve CD8+ lenfositlere göre CD4+ T lenfosit düşüklüğü olan hastalarda dermatofit enfeksiyonlarında kronikleşme eğiliminin arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur<sup>92,107,108</sup>.

Kronik dermatofitozlarda klinik ve mikolojik özellikler ile hücresel immünite ilişkisini araştırmak amacıyla Baz ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada 34 kronik tinea pedisli olguda etken dermatofit saptanmış, hücresel immüniteyi değerlendirmek için T lenfosit alt grupları ile PPD deri testi pozitifliği araştırılmıştır. Sonuçlar 20 sağlıklı bireyden oluşan kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. PPD sonuçları açısından hasta ve kontrol grupları arasında

farklılık gözlenmezken, CD4+ T lenfosit yüzdesi bizim çalışmamızla benzer olarak hasta grubunda, özellikle de kültürde *T. rubrum* üreyen grupta anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur<sup>107</sup>.

Waldman ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada dermatofit enfeksiyonlarına karşı hücrel immun yanıtın etkin olduğunu göstermektedir. Çalışmaya kronik dermatofitozlu hasta ve akut dermatofitoz öyküsü olan normal kişiler alınmıştır. Her iki grupta da dermatophytes homojenat kültüründe lenfosit proliferasyon ve sitotoksik aktivasyonu değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda bizim çalışmamızla uyumlu olarak normal popülasyonda, kronik dermatofitozlu hastalara göre yüksek T hücre proliferasyonu görülmüştür. Bu çalışmada kronik dermatofitozlu hastalarda lenfosit proliferasyon yanıtında baskılanma ve sitotoksik etkiye düşüklük görülmüştür. Sonuç olarak CD4 ve CD8 T hücrelerin dermatofitler üzerine sitotoksik aktiviteye sahip olduğu ve enfeksiyonun kronikleşmesinde CD4+ ve CD8+ T yanıtının yetersizliğinin rol oynadığı ileri sürülmüştür<sup>107</sup>.

Efektör evrede CD4+ T lenfositler, hücrel bağışıklığı uyarmak üzere aktive olarak, inflamatuvar sitokin ve kemokinlerin salınımına sebep olurlar. Bu sitokinler makrofaj, nötrofil ve enfeksiyon bölgesindeki diğer hücrelerin etkinleşmesine yol açarak, enfeksiyona karşı koruyucu inflamatuvar yanıtın oluşmasını sağlarlar<sup>35</sup>. CD4+ T hücreleri tarafından oluşturulan geç tip aşırı duyarlılık reaksiyonunun enfeksiyona karşı inflamatuvar yanıtın gelişiminde etkili olduğu, yinelenen enfeksiyonun öncelikle o alandaki kısa süreli ve düşük inflamasyonla ilişkili olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir<sup>31</sup>. Deri testlerinde dermatofit antijenlere karşı gelişen DTH ile enfeksiyonun temizlenmesi arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir. DTH deri testleri, akut, yüksek iltihaplı lezyonların varlığıyla ilişkili olma eğilimindedir<sup>80</sup>.

Tüm bu bulgular ele alındığında hücrel bağışık yanıtın ve özellikle de CD4+ T hücrelerinin fungal enfeksiyonlara karşı konak savunmasında çok önemli olduğu ve CD4+ hücre eksikliğinde lezyon bölgesinde yetersiz inflamasyon gelişimiyle beraber enfeksiyonun kronikleşme eğilimi gösterdiği anlaşılmaktadır<sup>7,107,108</sup>.

Çalışmamızda incelediğimiz diğer parametreler CD4+CD25+FoxP3% değerleri ve CD4+CD25+FoxP3 absolut sayısıydı. Genel olarak ele aldığımızda, hasta ve kontrol grubu arasında CD4+CD25+FoxP3% değerleri ve

CD4+CD25+FoxP3 absolut sayısı/ $\mu$ L bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu bulduk ( $p<0,001$ ). Her iki parametre açısından hasta grubu değerleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü. APA/AT ve VB hasta grupları ile kontrol grubunu karşılaştırdığımızda ise yine CD4+CD25+FoxP3% değerleri ve CD4+CD25+FoxP3 absolut sayısı/ $\mu$ L bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu bulduk ( $p<0,001$ ). APA/AT grubu değerleri VB ve kontrol grubuna göre daha düşüktü ( $p<0,05$ ). VB hasta grubu ile kontrol grubu Treg değerleri arasında anlamlı bir fark yoktu. VB hasta grubu değerlerinin APA/AT grubu değerlerine göre daha yüksek olmasının, VB hasta grubundaki akut inflamatuvar süreçle ilgili olabileceğini düşündük. Bilindiği gibi tinea pedisin APA/AT formu, VB formuna göre inflamasyonun daha az olduğu, kronik seyirli bir klinik formudur<sup>1,7,11</sup>. Genel olarak hasta grubunda kontrol grubuna göre düşük Treg düzeylerinin, CD4% değerinin yine bu grupta düşük olması ile paralel olduğunu gördük.

Treg hücre-enfeksiyon immunitesi ilişkisini araştıran çok sayıda çalışma vardır. Kronik fungal enfeksiyonlarda da Treg hücre immunitesi ilişkisini araştıran çalışmalar yapılmıştır. Ancak yüzeysel dermatofit enfeksiyonlarında çalışmalar oldukça sınırlıdır. Ayak parmağı onikomikozisi olan 43 hasta ve sağlıklı 30 kontrol periferik kan örnekleri alınarak flowsitometri yöntemi ile yapılan bir çalışmada, CD3, CD4, CD8, CD19 ve CD4+CD25+ Treg hücre değerleri araştırılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda kontrol grubu ve onikomikozisli hastaların periferik kan örneklerinde CD3, CD4, CD8, CD19 hücre sayısının benzer olduğu (sırasıyla  $p= 0.692, 0.348, 0.157, 0.145$ ) ancak CD4+CD25+ Treg hücre %'sinin kontrol grubuna göre arttığı bulunmuştur. Hasta grupta CD4+CD25+ Treg hücre değeri  $\%8.45\pm 4.47$  iken, kontrol grubunda bu değer  $\%4.64\pm 1.59$  olduğu bulunmuştur ( $p=0.001$ ). Bu çalışmada CD4+ hücrelerde CD25 ekspresyonuna bakılmış, ancak bu hücrelerden ne kadarının FoxP3 de eksprese ettiklerine bakılmamıştır<sup>101</sup>. Bilindiği gibi FoxP3 ekspresyonu Treg hücreleri gösterme açısından daha değerlidir. CD25+ olup, Treg hücresi olmayan T hücrelerini de bu çalışmadaki popülasyon içeriyor olabilir. Bizim çalışmamızda ise Treg'leri daha spesifik olarak saptayan nükleer transkripsiyon faktörü olan FoxP3 ekspresyonu saptanmıştır<sup>64,72</sup>.

Çalışmaya aldığımız hastaların yaklaşık %80'ini APA/AT grubu kronik tinea pedis hastaları, %20'sini VB grubu akut inflamatuvar klinik formdaki



hastalar oluşturmaktaydı. Treg hücrelerin kronik enfeksiyon sırasındaki fonksiyonları tam olarak açık değildir. Yapılan çalışmalarda *Leshmania major* ve *Plasmodium yoleei* gibi parazitlerin kronikleşmesinde FoxP3+ Treg hücrelerin rolü rapor edilse de, bu hücrelerin kronik enfeksiyonlardaki mekanizması belirsiz kalmıştır<sup>108</sup>.

Treg hücre fungal enfeksiyon ilişkisini değerlendiren çalışmalarda Treg hücrelerin enfeksiyonun erken ve geç dönemdeki rolü açısından farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Bir çalışmada, *Aspergillus* konidyumlarıyla enfekte edilen WT, B7-1-/-, B7-2-/-, CD28-/- farelerde CD4+CD25+Treg hücre sayısı ve fonksiyonu akciğer ve torasik lenf nodu (TLN)'nda izlenmiştir. Total hücre sayısı bakımından farklı fare grupları arasında önemli farklılık gözlenmezken, CD4+CD25+Treg hücreler açısından enfekte edilen farelerle enfekte edilmeyenler arasında anlamlı derece farklılık saptanmıştır. B71-/- farelerde enfeksiyon öncesi mevcut bulunan CD4+CD25+ Treg hücreler enfeksiyonun erken döneminde artış gösterirken, ilerleyen dönemde azaldığı saptanmıştır. Benzer olarak WT farelerde de CD4+CD25+ Treg hücreler enfeksiyonun erken döneminde akciğerlerde, geç dönemde ise TLN'de belirlenmiştir. Aynı çalışmada, farelerde erken ve geç dönem Treg sitokin üretimi değerlendirilmiş, erken dönem Treg hücreler tarafından salınan IL-10 inflamasyonu kontrol altına alırken geç dönem Treg hücrelerden salınan TGF- $\beta$ 'nın aeroallerjenlere toleransda rol oynadığı düşünülmüştür<sup>109</sup>.

Başka bir çalışmada, oral olarak *Porphyromonas gingivalis* ile enfekte edilen farelerin ve kontrol grubu farelerin gingiva mononükleer hücreleri, enfeksiyondan 1, 7, 15 ve 30 gün sonra izole edilerek, CD4+CD25+FoxP3+ Treg hücre sayıları değerlendirilmiştir. Önemli olarak CD4+CD25+FoxP3+ Treg hücre sayısının sadece enfeksiyondan 30 gün sonra deneysel grupta yükseldiği saptanmıştır. En önemlisi ilk dönemde değişiklik bulunmamasına rağmen enfeksiyondan 30 gün sonra CD4+CD25+ T hücrelerin intrasellüler FoxP3 ekspresyonu yaklaşık iki kat yüksek bulunmuş. Bu sonuçlara göre erken inflamatuvar yanıt sırasında CD4+ T hücre aktivasyonunun başladığı, CD4+CD25+FoxP3+ Treg hücrelerin ise akut inflamatuvar yanıtın pik yapmasından sonra belirmeye başladığı, böylelikle periodontitin kronik aşamasına katkıda bulunabileceği düşünülmüştür<sup>110</sup>.

Hepatit B enfeksiyonu akut ve kronik formlarında Treg hücre ve Th17 sayısını araştıran bir çalışmaya 10 akut hepatit B hastası (AHB), 12'si asemptomatik HBV taşıyıcısı, 18'i kronik hepatit B hastası (CHB), 18'i kronik karaciğer hastalığının akut atağı (ACHBLF) olmak üzere 48 kronik hasta alınmış. IL-17 sitokin düzeyi ELISA ile ve Treg hücre sayıları flowsitometrik yöntemle değerlendirilmiş. AHB ve ACHBLF'de CD4+ T hücrelerin önemli derecede arttığı ve Th17 yönünde farklılaştığı görülmüştür. Sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında AHB ve ACHBLF'de periferik kanda Th17 sayısının ( $p<0.01$ ) ve IL-17A seviyesinin ( $p<0.01$ ) daha yüksek oranda olduğu görülmüştür. Asemptomatik HBV taşıyıcıları ve CHB'de ise hücrel farklılaşmanın Treg hücre lehine olduğu bildirilmiştir<sup>111</sup>.

Zhang ve arkadaşları HBV ile ilişkili ACHBLF olan 30 hasta, CHB'li 30 hasta ve 30 sağlıklı kontrol grubundan alınan periferik kan örneklerinde Th-17 ve FoxP3+ Treg sayılarını değerlendirmişler. Th17 ve FoxP3+ Treg hücrelerin, enfeksiyonun kronik döneminde arttığını gösteren çalışmalardan farklı olarak ACLF'de arttığını, bu hastalarda Treg hücre sayısının kontrol grubuna ve CHB'li hasta grubuna göre çok daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir ( $6.69\pm 1.58\%$  ACLF,  $p<0.001$ ). CHB hastalarında ise normal kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Treg hücre düzeylerinde anlamlı bir fark görülmemiştir ( $4.91\pm 1.47\%$  CHB,  $4.40\pm 1.23\%$  Kontrol grubu;  $p>0.05$ )<sup>112</sup>.

81 HIV pozitif hasta ve 25 HIV negatif sağlıklı kontrolün dahil edildiği bir çalışmada HIV enfeksiyonuna karşı gelişen immün yanıt sırasında Treg hücre depleksiyonu olup olmadığı incelenmiş. Bu çalışmada aynı zamanda Treg hücre sayısı ile CD4+ T hücre sayısı ve aktivasyonu arasındaki ilişki de araştırılmış. Toplam CD4 hücre sayısı ve Treg hücreler arasındaki ilişkiyi incelemek için Treg hücreleri absolut sayı olarak ifade edilmiş ve absolut CD4 T hücre sayısına yönelik doğrusal bir regresyon gerçekleştirilmiş. Ve absolut CD4+ T hücre sayısındaki düşüş ile absolut Treg hücre sayısındaki düşüş arasında anlamlı bir korelasyon bulunmuştur. Bununla beraber CD4 sayısı tek başına Treg sayısının tahmini konusunda anlamlı olmadığı ve Treg hücre popülasyonunun CD4+T hücre sayısından bağımsız olarak analiz edilmesi gerektiği düşünülmüştür. Ayrıca bu çalışmada Treg hücre sayısı ile CD4+ ve CD8+ T hücre aktivasyonu arasında güçlü bir korelasyon olduğu bulunmuş, özellikle de CD4+ T hücre aktivasyonu ile Treg hücre sayısı arasındaki ilişkinin viral yük ve CD4+ T hücre sayısı dahil

olmak üzere incelenmiş diğer faktörlerle olandan daha güçlü olduğu sonucuna varılmıştır<sup>113</sup>.

Başka bir çalışmada, 95 HIV1-pozitif hasta ve 21 HIV1-negatif sağlıklı kontrol grubunda Treg hücre absolut sayıları ve FoxP3 ekspresyonları değerlendirilmiş. Karşılaştırmalı analiz için hastalar CD4+ hücre sayısına göre 200 hücre/ml'den düşük ve daha yüksek olanlar şeklinde iki grup olarak sınıflandırılmış. Bu çalışmada tedavi gören HIV1 CD4+ düşük hastalarda, yüksek CD4+ sayısı olan HIV1+ hastalara ve sağlıklı kontrollere göre Treg hücre absolut sayısının daha düşük olduğu tesbit edilmiş. Ancak bu hücrelerin FoxP3 ekspresyonu yapma oranı yüksek bulunmuştur. Treg hücre absolut sayısı, düşük CD4+ T hücre ve yüksek CD4+ T hücre sayısı olan grupta sırasıyla  $15 \pm 3$  ve  $34 \pm 2$  hücre/mL bulunmuştur<sup>114</sup>.

Bu bilgilerin ışığında Treg hücrelerin inflamasyonun en yoğun olduğu akut dönemde inflamasyona yanıt olarak ve inflamasyonu kontrol altına almak için yükseldiği görülmektedir. Bizim çalışmamızda da hasta grupları Treg hücre değerleri açısından karşılaştırıldığında VB ve APA/AT grubu arasında anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ( $p < 0,001$ ). VB grubundaki hasta sayısı APA/AT grubu hasta sayısına göre düşük olmasına rağmen VB hasta grubu Treg hücre değerleri APA/AT hasta grubuna göre daha yüksekti. APA/AT ve VB hasta grupları arasındaki farkın ve VB klinik formunda görülen yoğun inflamasyonla bağlantılı olabileceğini düşündük.

Yine yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar bize hastalarda antijene verilen inflamatuvar reaksiyonun yeterli olabilmesi için immün yanıtın yeterli olması gerektiğini göstermektedir. İmmün yanıtın yetersiz olduğu hastalarda Treg hücre sayısının da yetersiz inflamatuvar reaksiyon nedeniyle düşük olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak çalışmamızda, APA/AT hasta grubunda Treg hücre sayısının VB hasta grubu ve kontrol grubuna göre düşük olmasının, düşük CD4+T% değerleri ve yetersiz inflamasyon ile ilişkili olabileceği, bunun da APA/AT hasta grubundaki kronik seyirden sorumlu olabileceği düşünülmektedir.

## SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Hasta grubu genel olarak ele alındığında CD4% değerleri açısından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulundu. Hasta grubunda CD4% değerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olması, bu hastalarda hücresel bağışıklığın yetersizliğini ve bunun tinea pedis hastalarındaki kronik gidişten sorumlu olabileceğini düşündürdü.
2. Genel olarak hasta grubunda kontrol grubuna göre düşük CD4+CD25+FoxP3 değerlerinin düşük CD4 % değer ile ilişkili olabileceği düşünüldü.
3. Treg değerleri bakımından APA/AT ve VB hasta grupları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı. APA/AT grubu en düşük Treg düzeyine sahipti. Bunun inflamatuvar yanıtın düşüklüğü ile paralel olabileceği düşünüldü.
4. Çalışmamızda hastalığın akut klinik formu olan VB grubunda Treg hücre değerlerinin kronik form olan APA/AT grubuna göre daha yüksek olmasının, Treg hücrelerin enfeksiyonun akut döneminde yükselme eğilimi gösterdiğini düşündürdü.
5. Çalışmamıza dahil ettiğimiz APA/AT hasta sayısı 53 iken, VB grubu hasta sayısı 12'ydi. Akut alevlenmenin varlığına işaret eden VB klinik grup sayısı artırılarak yapılacak çalışmalar, akut ve kronik formlardaki Treg hücre cevabını değerlendirmek için yararlı olacaktır.
6. Bu çalışmada sadece CD4+CD25+FoxP3+ Treg hücrelerin kantitasyonu yapılmıştır. Çalışmanın Treg aktivasyon ve fonksiyonunu gösterecek ilişkili sitokin düzeyleriyle desteklenmesinin, dermatofit enfeksiyonunda Treg hücre rolünün daha iyi aydınlatılması açısından yararlı olacağı kanaatindeyiz.

## KAYNAKLAR

1. Özkaya D. Mantarların ve Mayaların Neden Olduğu Hastalıklar. İn: Aydemir E (ed.) Andrews Deri Hastalıkları, Klinik Dermatoloji, James W, Berger T, Elston D. İstanbul Medikal Yayıncılık 1. Baskı 2008;15:297-307.
2. Solgun G, Fındık D, Türkdağı H, Arslan U. Trichophyton Rubrum Klinik İzolatlarının Hemolitik Aktivitesi Ve Antifungal İlaçlara İn vitro Duyarlılığının Saptanması. Mikrobiyol Bül. 2011; 45(1): 159-167.
3. Brasch J. Dermatophyte species. Hautartz. 2008;59(12):971-979.
4. Al Hasan M, Fitzgerald SM, Saoudian M, Krishnaswamy G. Dermatology for the practicing allergist: Tinea Pedis And Its Complications. Clin Mol Allergy. 2004; 2(1):5.
5. Hainer BL. Dermatophyte Infections. Am Fam Physician. 2003;67:101-108.
6. Karaarslan A, Karaarslan F, Özsan M, Cengiz T. Tinea pedisli olgularda dermatofitlerin ve bölgesel bakteri florasının araştırılması. Ankara Üniv. Tıp Fak. Mecmuası.1999;52(3):135-138.
7. Wagner D, Sohnle P. Cutaneous defenses against dermatophytes and yeasts. Clinical Microbiology. 1995;8(3):317–335.
8. Gotham E, İmmunological reaktivite in dermatofitosis. Sci-Med-J-Cai-Med-Synd. 1990;2(1):63-70.
9. Smith M, Mcginnis M. Dermatophytosis. Sections II, Part G, Chapter82 [www.expertconsultbook.com/expertconsult/ob/do](http://www.expertconsultbook.com/expertconsult/ob/do). Erişim Tarihi: Mayıs 2012.
10. Brasch J. Pathogenesis of tinea. JDDG 2010; 8:780–786.
11. Almeida SR. Immunology of Dermatophytosis. Mycopathologia. 2008;166:277-283.
12. Van de Veerdonk FL, Netea MG. T-cell Subsets and Antifungal Host Defenses. Curr Fungal Infect Rep 2010;4:238–243.
13. Beissert S, Schwarz A, Schwarz T. Regulatory T Cells. Journal of Investigative Dermatology. 2006;126:15-24.

14. Cantor H, Hugenberger J, McVay-Boudreau L, et al. Immunoregulatory circuits among T cell subsets. Identification of a subpopulation of T-helper cells that induces feedback inhibition. *J. Exp. Med* 1978;148:871-877.
15. Sakaguchi S, Fukuma K, Kuribayashi K, Masuda T. Organ-specific autoimmune diseases induced in mice by elimination of T cell subset. *J. Exp. Med* 1985;161:72-87.
16. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Shimizu J, et al. Immunologic tolerance maintained by CD4+ CD25+ regulatory T cells: their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity, and transplantation tolerance. *Immunol Rev* 2001;182:18-32.
17. Ohata J, Miura T, Johnson TA, Hori S, Ziegler SF, Kohsaka H. Enhanced efficacy of regulatory T cell transfer against increasing resistance, by elevated FoxP3 expression induced in arthritic murine hosts. *Arthritis Rheum* 2007;56(9):2947-2956.
18. Badur S. Görevini tamamlayan immun yanıt nasıl durur. *ANKEM Derg* 2008;22(2):106-109.
19. Lilic D. Immune response to infection. *Anaesthesia And Intensive Care Medicine* 2009;10(5):218-220.
20. Kaya Tİ, Eskandari G, Guvenç U, et al. CD4+CD25+ Treg cells in patients with toenail onychomycosis. *Arch Dermatol Res* 2009;301:725–729.
21. Turhan Ö. Yüzeyel Mantar Hastalıkları. *Bamcag Bülteni*. 2011;2:12–17.
22. Dilek N, Yücel AY, Dilek AR, Saral Y, Toraman Aşçı Z. Fırat Üniversitesi Hastanesi Dermatoloji Kliniği'ne Başvuran Hastalardaki Dermatofitoz Etkenleri. *Turkish Journal of Dermatology* 2009; 3: 27-31.
23. Vermout S, Tabart J, Baldo A, Mathy A, Losson B, Mignon B. Pathogenesis of dermatophytosis. *Mycopathologia* 2008; 166:267–75.
24. Kulaç M, Karaca Ş, Çetinkaya Z. Bir Dermatofitik Blefarit Olgusu. *Türk derm* 2008;42:64-66.
25. Uslu H, Aktaş AE, Çelebi D, Aktaş O. Tıp Fakültesi Öğrencilerinin Ayak Mantar Florası. *AÜTD* 2004;36:53-56.
26. Weinstein A, Berman B. Topical treatment of common superficial tinea infections. *Am Fam Physician* 2002;65:2095-2102.

27. Gürcan Ş, Tikveşli M, Eskiocak M, Kılıç H, Otkun M. Dermatofitozlarda Etkenlerin ve Risk Faktörlerinin Araştırılması: Hastane Bazlı Bir Çalışma. Mikrobiyol Bül. 2008;42:95-102.
28. Uslu H, Aktaş AE, Ayyıldız A, Melikoğlu M. Farklı Klinik Tanılı Hastalardaki Dermatofitik Ayak Etkenleri. AÜTD 2004;36:83-87.
29. Carlo JC, MacWilliams BP. Tinea Pedis (Athlete's Foot). [http://www.bhchp.org/BHCHP%20Manual/pdf\\_files/PartPDF/TineaPedis.pdf](http://www.bhchp.org/BHCHP%20Manual/pdf_files/PartPDF/TineaPedis.pdf). ErişimTarihi: Ocak 2012.
30. Leibovici V, Evron R, Dunchin M, Strauss-Leviatan N, Westerman M, Ingber A. Population-based epidemiologic study of tinea pedis in Israeli children. Pediatr Infect Dis J. 2002;21:851-854.
31. Farage MA, Miller KW, Berardesca E, Maibach HI. Incontinence in the aged: contact dermatitis and other cutaneous consequences. Contact Dermatitis. 2007;57:211-217.
32. Gray M. Preventing and managing perineal dermatitis: a shared goal for wound and continence care JWOCN. 2004;31:52-59.
33. Jensen JM, Pfeiffer S, Akaki T, et al. Function, epidermal differentiation and human- $\beta$  defensin 2 expression in tinea corporis. J Invest Dermatol. 2007;127:1720-1727.
34. Treat J, James WD, Nachamkin I, Seykora JT. Growth inhibition of Trichophyton species by Pseudomonas aeruginosa. Arch Dermatol. 2007;143:61-64.
35. Rothman S, Smiljanic A, Shapiro AL, Weitkamp AW. The spontaneous cure of tinea capitis in puberty. J. Invest. Dermatol.1947;8:81-98.
36. Janniger C, Schwartz AR, Szepietowski J, Reich A. Intertrigo and common secondary skin infections. American Family Physician. 2005;72:833-838.
37. Duek L, Kaufman G, Ulman Y, Berdicevsky I. The pathogenesis of dermatophyte infections in human skin sections. J Infect 2004;48:175-180.
38. Yang L, Wang L, Peng J, et al. Comparison between gene expression of conidia and germinating phase in Trichophyton rubrum. Sci China C Life Sci 2007;50:377-384.

39. Kaufman G, Horwitz B, Duek L, Ullman Y, Berdicevsky I. Infection stages of the dermatophyte pathogen *Trichophyton*: microscopic characterization and proteolytic enzymes. *Medical Mycology* 2007;45:149-155.
40. Dahl MV, Grando SA. Chronic dermatophytosis: what is special about *Trichophyton rubrum*. *Adv. Dermatol.* 1994; 9: 97–109.
41. Schaufuss P, Brasch J, Steller U. Dermatophytes can trigger cooperative (CAMP-like) haemolytic reactions. *British Journal of Dermatology* 2005;153:584–590.
42. Swan JW, Dahl MA, Coppo PA, Hammerschmidt DE. Complement activation by *Trichophyton rubrum*. *J. Invest. Dermatol.* 1983;80:156-158.
43. Grappel S, Bishop CT, Blank F. Immunology of dermatophytes and dermatophytosis *Bacteriol. Rev.* 1974;38(2):222-250.
44. Hirschmann JV, Raugi GJ. Pustular tinea pedis. *J. Am Acad Dermatol.* 2000;42:132-133.
45. Gupta AK, Skinner AR, Cooper EA. Interdigital tinea pedis (dermatophytosis simplex and complex) and treatment with ciclopirox 0.77% gel. *International Journal of Dermatology* 2003;42(1):23–27.
46. Camcioğlu Y. İmmün Sisteme Giriş. İn: Camcioğlu Y, Deniz G (ed). *Temel İmmünoloji: İmmün Sistemin Fonksiyonları ve Bozuklukları*. 1. Baskı. İstanbul Medikal Yayıncılık, 2007;1-21.
47. Turul T, Ersoy F. Dostu düşmanı ayıran bir doğal immünite bileşeni: Toll-Like Reseptörler (TLR), *Hacettepe Tıp Dergisi* 2004;35:114-118.
48. Demiralp Ekşioğlu E. Edinsel İmmun Sistemde Antijen Tanıma İn: Camcioğlu Y, Deniz G (ed). *Temel İmmünoloji: İmmün Sistemin Fonksiyonları ve Bozuklukları*. 1. Baskı. İstanbul: Medikal Yayıncılık, 2007;63-83.
49. Saruhan Direskeneli G. Antijenin Yakalanması Ve Lenfositlere Sunumu İn: Camcioğlu Y, Deniz G (ed). *Temel İmmünoloji: İmmün Sistemin Fonksiyonları ve Bozuklukları*. 1. baskı. İstanbul: Medikal Yayıncılık, 2007;41-63.
50. Deniz G. Hücre Aracılı İmmun Yanıtlar İn: Camcioğlu Y, Deniz G (ed). *Temel İmmünoloji: İmmün Sistemin Fonksiyonları ve Bozuklukları*. 1. Baskı. İstanbul: Medikal Yayıncılık, 2007;83-105.



51. Bergers A. Science commentary: Th1 and Th2 responses: what are they? *BMJ* 2000;321; 424.
52. Erten G. Sitokinler. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Bağışıklık Sistemi ve Yetersizlikleri Sempozyum Dizisi. İstanbul 2013;80:55-62.
53. Kütükçüler N. Hücresel İmmüitenin Efeör Mekanizmaları İn: Camcioğlu Y, Deniz G (ed). Temel İmmünoloji: İmmün Sistemin Fonksiyonları ve Bozuklukları. 1. Baskı. İstanbul: Medikal Yayıncılık, 2007;105-122.
54. Yeğın O. İmmünolojik Tolerans ve Otoimmünite. İn: Camcioğlu Y, Deniz G (ed). Temel İmmünoloji: İmmün Sistemin Fonksiyonları ve Bozuklukları. 1. Baskı. İstanbul Medikal Yayıncılık, 2007;161-177.
55. Sönmez M. Dendritik Hücre İmmünobiyolojisi Moleküler Hematoloji ve Sitogenetik Alt Komitesi Temel Moleküler Hematoloji Kursu, 2005; 87-91.
56. İlhan F. T Lenfosit Toleransı. Türkiye Klinikleri J Immunol Rheumatol-Special Topics 2011;4(2):11-15.
57. Kılıçturgay K. Self Tolerans ve Otoimmünite. İmmunoloji 2000. 2. Baskı. İstanbul: Adilna Sanovel Yayın. 2000;241-263.
58. Zhang J, Xuemei X, Liu Y. Activation-Induced Cell Death in T Cells and Autoimmunity *Cellular & Molecular Immunology*. 2004;1(3):186-192.
59. Tong S, Yifeng Z, Hua L. FASL-844C polymorphism is associated with increased activation-induced T cell death and risk of cervical cancer. *JEM* 2005;202(7);967-974.
60. Green DR, Droin N, Pinkoski M. Activation-induced cell death in T cells. *Immunol Rev*. 2003;193:70-81.
61. Gershon RK, Kondo K. Cell interactions in the induction of tolerance: the role of thymic lymphocytes. *Immunology* 1970;18:723-737.
62. Kılıçturgay K. Kan Hücrelerinin Gelişimi. İmmunoloji 2000. 2. Baskı. İstanbul: Adilna Sanovel Yayın. 2000;15-50.
63. Talal AC. Role of regulatory t cells in human diseases allergy. *Clin Immunol* 2005;116(5):949-956.
64. Cavassani K, Campanelli AP, Moreira AP, Vancim J, Vitali LH, Rui C. Mamede Systemic and Local Characterization of in Humans Regulatory T Cells in a Chronic Fungal Infection. *J Immunol* 2006;177;5811-5818.

65. Zhu J, William E. CD4 T cells: fates, functions, and faults. *Blood* 2008;112:1557-1559.
66. Miller C, Ragheb JA, Schwartz RH. Anergy and cytokine-mediated suppression as distinct superantigen-induced tolerance mechanisms in vivo. *J Exp Med* 1999;190(1):53–64.
67. Brusko T, Putnam A, Bluestone J. Human regulatory T cells: role in autoimmune disease and therapeutic opportunities. *Immunological Reviews* 2008;223: 371–390.
68. Liu H, Leung BP. CD4+CD25+ Regulatory T Cells In Health And Disease. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2008;33:519-524.
69. Chen W, Jin W, Hardegen N, et al. Conversion of peripheral CD4+CD25-naive T cells to CD4+CD25+ regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3. *J Exp Med* 2003;198:1875-1886.
70. Ziegler SF. FOXP3: of mice and man. *Ann Rev Immunol* 2006;24; 209-226.
71. Nizar S, Copier J, Meyer B, et al. T regulatory cell modulation: the future of cancer immunotherapy? *Br J Cancer*. 2009;100(11):1697-703.
72. Schubert L, Jeffery E, Zhang Y, Ramsdell F, Ziegler S. Scurfin(FOXP3) acts as a repressor of transcription and regulates T cell activation. *J Biol Chem*. 2001;276(40); 37672–37679.
73. Bachetta R, Gambineri E, Roncarolo MG. Role of regulatory T cells and FOXP3 in human diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;120: 227-235.
74. Costantino CM, Baecher-Allan C, Hafler DA. Human regulatory T cells and autoimmunity. *Eur. J. Immunol*. 2008;38;901–937.
75. Abul KA, Lohr J, Knoechel B, Nagabhushanam V. T cell tolerance and autoimmunity. *Autoimmunity Reviews* 2004;3: 471–475.
76. Hori S, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by transcription factor Foxp3. *Science* 2003;299:1057-1061.
77. Zhou Z, Song X, Berezov A, Li B, Greene MI. Structural aspects of the FOXP3 regulatory complex as an immunopharmacological target. *International Immunopharmacology*. 2009; 9: 518–520.
78. Chao KH, Wu MY, Yang JH, Chen SU, Yang YS, Ho HN. Expression of the IL2 reseptör  $\alpha$  is selectively decreased on decidual CD4 and CD8 T

- lymphocytes in normal pregnancies. *Mol Hum Reprod*. 2002;8(7): 667-673.
79. Corthay A. How do Regulatory T Cells Work? *Scandinavian Scand J Immunol*. 2009;70(4):326–336.
  80. Kobayashi M, Kawano S, Hatachi S, et al. Enhanced Expression of Programmed Death-1 (PD-1)/PD-L1 in Salivary Glands of Patients with Sjögren's Syndrome. *J Rheumatol* 2005;32:2156-2163.
  81. Francisco LM, Sage PT, Sharpe A. The PD-1 Pathway in tolerance and Autoimmunity. *Immunological Reviews* 2010;236: 219–242.
  82. Hännier S, Tournier M, Bismuth G, Triebel F. CD3/TCR Complex-associated lymphocyte activation gene-3 molecules inhibit CD3/TCR signaling. *J. Immunol*. 1998;161(8):4058-4065.
  83. Cools N, Ponsaerts P, Van Tendeloo VF, Berneman ZN. Regulatory T Cells and Human Disease. *Clin Dev Immunol*. 2007;2007:89195. doi: 10.1155/2007/89195.
  84. Weitzman I, Summerbell RC. The Dermatophytes *Clinical Microbiology Reviews*, 1995;2:240–259.
  85. Berk SH, Penneys NS, Weinstein GD. Epidermal activity in annular dermatophytosis. *Arch. Dermatol*. 1976;112:485–488.
  86. Nakamura Y, Kano R, Hasegawa A, Watanabe S. Interleukin-8 and tumor necrosis factor alpha production in human epidermal keratinocytes induced by *Trichophyton mentagrophytes*. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9:935–937.
  87. Shiraki Y, Ishibashi Y, Hiruma M, Nishikawa A, Ikeda S. Cytokine secretion profiles of human keratinocytes during *Trichophyton tonsurans* and *Arthroderma benhamiae* infections. *J Med Microbiol* 2006;55:1175–1185.
  88. Kashima M, Takahashi H, Shimosuma M, Epstein WL, Fukuyama K. Candidacidal activities of proteins partially purified from rat epidermis. *Infect. Immun*. 1989;57:186–190.
  89. Shoham S, Levitz S. The immune response to fungal infections. *British Journal of Haematology*. 2005;129:569–582.

90. Bellocchio S, Montagnoli C, Bozza S, et al. The Contribution of the Toll-Like/IL-1 to innate and adaptive immunity to fungal pathogens in vivo. *Journal of Immunology* 2004;172:3059–3069.
91. Root RK, Cohen MS. The microbicidal mechanisms of human neutrophils and eosinophils. *Rev. Infect.* 1981;3:565–598.
92. Thomas EL, Lehrer RI, Rest RF. Human neutrophil antimicrobial activity. *Rev. Infect.* 1988;10(2):450–456.
93. Murthy A, Lehrer R, Harwig SL, Miyasaki K. In vitro candidastatic properties of the human neutrophil calprotectin complex. *J. Immunol.* 1993;151:6291–6301.
94. Alspaugh JA, Granger DL. Inhibition of *Cryptococcus neoformans* replication by nitrogen oxides supports the role of these molecules as effectors of macrophage-mediated cytostasis. *Infect. Immun.* 1991; 59:2291–2296.
95. Söker S. Dendritik Hücreler. *Dicle Tıp Dergisi.* 2005;32(3):158-160.
96. İnci R. Funguslar ve immun yanıt. *Türkiye Klinikleri J Inf Dis-Special Topics* 2008;1(2):53-57.
97. Blanco J, Garcia M. İmmune response to fungal infections. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2008;7787: 1-24.
98. Kılıçturgay K. Hipersensivite (Aşırı Duyarlılık). *İmmunoloji* 2000. 2. Baskı. İstanbul Adilna Sanovel Yayıncılık. 2000;265-281.
99. Ashman R, Dipti V, Wells C. IL-12 and Related Cytokines: Function and Regulatory Implications in *Candida albicans* infection. *Clin Dev Immunol.* 2011;2011:686597. doi: 10.1155/2011/686597.
100. Haraguchi N, Ishii Y, Morishima Y, et al. Impairment of host defense against disseminated candidiasis in mice overexpressing GATA-3. *Infect Immun* 2010;78:2302–2311.
101. Van de Veerdonk F.L, Kullberg B.J, van der Mee J, et al. Host–microbe interactions: innate pattern recognition of fungal pathogens. *Current Opinion in Microbiology* 2008;11:305–312.
102. Wuthrich M, Deepe G, Klein B. Adaptive Immunity to Fungi. *Annu. Rev. Immunol.* 2012;30:115–148.

103. Gazioğlu S. Flowsitometrinin tarihçesi, çalışma metodolojisi. Yılmaz MT, Deniz G, Yıllar G. (ed). Flowsitometri ve Tıpta Kullanımı. 2. Baskı. İstanbul: Bilmedya Grup, 2004:1-11.
104. Stahl D, Svejgaard E. Lymphocyte transformation in vitro in acute dermatophytosis: a follow-up study. *Acta Derm Venereol.* 1982;62(4):289-293.
105. Svejgaard E, Thomsen M, Morling N, Hein C. Lymphocyte transformation in vitro in dermatophytosis. *Acta Pathol Microbiol Scand C.* 1976;84(6):511-523.
106. Mody C, Lipscomb M, Street N, Toews G. Depletion of CD4+ (L3T4+) Lymphocytes In Vivo Impairs Murine Host Defense to *Cryptococcus neoformans*. *The Journal Of Immunology* 1990;144(4):1472-1477.
107. Baz K, Gülekon A, Gürer MA, şenel K. Kronik Dermatofitozlarda Klinik, Mikolojik Ve İmmünolojik Özellikler Arası İlişkinin Değerlendirilmesi. *T. Klin. Dermatoloji* 1998;8:139-144.
108. Waldman A, Segal R, Berdicevsky I, Gilhar A. CD4+ and CD8+ T cells mediated direct cytotoxic effect against *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes* *International Journal of Dermatology* 2010;(49): 149–157.
109. Wu Y, Wang Q, Zheng L, et al. *Plasmodium yoelii*: Distinct CD4+CD25+ regulatory T cell responses during the early stages of infection in susceptible and resistant mice. *Experimental Parasitology.* 2007;115:301–304.
110. Kobayashi R, Kono T, Bolerjack BA, et al. Induction of IL-10-producing CD4+ T-cells in Chronic Periodontitis *J Dent Res.* 2011;90(5):653-658.
111. Montagnoli C, Fallarino F, Gaziano R, et al. Immunity and Tolerance to *Aspergillus* Involve Functionally Distinct Regulatory T Cells and Tryptophan Catabolism. *J Immunol* 2006; 176:1712-1723.
112. Xue-Song L, Cheng-Zhong L, Ying Z, Mo-Bin W. Changes of Treg and Th17 cells balance in the development of acute and chronic hepatitis B virus infection *BMC Gastroenterology* 2012;12(43):1-9.
113. Song Z, Li Z, Shuangsoo D, et al. The Ratio of Th-17 to Treg Cells is Associated with Survival of Patients with Acute-on-Chronic Hepatitis B Liver Failure *Viral Immunology.* 2011;24(4):303-310.

114. Eggena M, Barugahare B, Jones N, et al. Depletion of Regulatory T Cells in HIV Infection Is Associated with Immune Activation, *The Journal of Immunology*. 2005;174: 4407–4414.
115. Xiuqiong B, Yasuhiro S, Hiroyuki G, Shinichi O. High Frequency and Proliferation of CD4+FOXP3+Treg in HIV-1-infected patients with low CD4 counts. *Eur. J. Immunol.* 2009;39:301–309.

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>AHB</b>	: Akut Hepatit B
<b>ACHBLF</b>	: Kronik Karaciğer Hastalığı Akut Atağı
<b>AICD</b>	: Activation-Induced Cell Death (Aktivasyona Bağlı Hücre Ölümü)
<b>AIDS</b>	: Acquired Immune Deficiency Syndrome (Edinsel İmmün Yetmezlik Sendromu)
<b>APA</b>	: Ayak parmak arası
<b>ASH</b>	: Antijen Sunan Hücre
<b>AT</b>	: Ayak tabanı
<b>CD</b>	: Cluster of Differentiation (Ayrım Kümesi)
<b>CD40L</b>	: CD40 Ligand
<b>CHB</b>	: Kronik Hepatit B
<b>CLR</b>	: C-tip Lektin Reseptörü
<b>CTL</b>	: Cytotoxic T Lymphocytes (Sitotoksik T lenfosit)
<b>CTLA-4</b>	: Cytotoxic T Lymphocyte Antigen-4 (Sitotoksik T lenfosit ilişkili protein-4)
<b>DC</b>	: Dendritic Cell (dendritik hücre)
<b>DC-SIGN</b>	: Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin
<b>DTH</b>	: Delayed Type Hipersensitivity (Gecikmiş Tip Aşırı Duyarlılık)
<b>Fas-L</b>	: Fas-Ligand
<b>FITC</b>	: Fluorescein isothiocyanate
<b>FKH</b>	: Fork head
<b>FoxP3</b>	: Forc head-box 3
<b>FSC</b>	: Forward Scatter Channel (İleri Saçılım Kanal)
<b>GITR</b>	: Glucocorticoid-Induced Tumor Necrosis Factor Receptor (Glukortikoid İndükleyen Tümör nekroz Faktör Reseptörü)
<b>HIV</b>	: Human Immunodeficiency Virus

<b>HLA</b>	: Human Leukocyte Antigen
<b>ICAM-1</b>	: Intercellular Adhesion Molecule-1
<b>IDO</b>	: İndolamin dioksijenaz
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	: İnterferon- $\gamma$
<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>IL-2R<math>\alpha</math></b>	: IL-2 alfa Reseptörü
<b>IPEX</b>	: İmmundisregulasyon, Poliendokrinopati, Enteropati, X linked Sendrom
<b>iTreg</b>	: Inducible Treg (Adaptif Treg)
<b>LAG-3</b>	: Lymphocyte Activation Gene-3 (Lenfosit aktivasyon gen)
<b>LFA-1</b>	: Leukocyte Function Associated Antigen-1
<b>MBL</b>	: Mannose-binding lectin
<b>MHC</b>	: Major Histocompatibility Complex
<b>MR</b>	: Mannose Receptor
<b>NFAT</b>	: Nuclear Factor of Activated T cells
<b>NF-<math>\kappa</math>B</b>	: Nuclear Faktör kappa B
<b>NK</b>	: Natural Killer (Doğal öldürücü)
<b>NO</b>	: Nitrik Oksit
<b>nTreg</b>	: Natural Treg (Doğal Treg)
<b>PAMP</b>	: Pathogen Associated Molecular Patterns (Patojen İlişkili Moleküler Patern)
<b>PD-1</b>	: Programmed Death 1 (Programlanmış Ölüm -1)
<b>PE</b>	: Phycoerythrin
<b>PI</b>	: Propidium İodide
<b>PMT's</b>	: Photo Multiply Tubes
<b>PRR</b>	: Pattern Recognition Receptor (Patojen Tanıma Reseptörü)
<b>S LAG-3</b>	: Soluble LAG-3
<b>sGITR-L</b>	: Soluble GITR Ligand
<b>SSC</b>	: Side Scatter Channel (Yana saçılım kanalı)
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	: Transforming Growth Factor- $\beta$
<b>Th</b>	: T helper
<b>THR</b>	: T Hücre Reseptörü
<b>TLN</b>	: Torasik Lenf Nodu



**TLRs** : Toll-Like Reseptör  
**TNF- $\alpha$**  : Tümör Nekroz Faktör alfa  
**Treg** : Regulatory T Lymphocyt (Regulatuvar T hücre)  
**TRIF** : TIR (Toll/interleukin-1 receptor) domain-containing adapter  
inducing IFN-beta  
**VB** : Vezikülobülloz

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekiller	Sayfa No
<b>Şekil 1</b> (Derinin Anatomisi )	13
<b>Şekil 2</b> (CD4+ ve CD+8 T lenfositlere antijen sunumu)	21
<b>Şekil 3</b> (T lenfosit aktivasyonu sırasında sinyal iletimi ve antijen tanınması)	22
<b>Şekil 4</b> (Santral tolerans ve Treg hücre gelişimi)	25
<b>Şekil 5</b> (T hücre anerjisi)	27
<b>Şekil 6</b> (Aktivasyona bağlı hücre ölümü)	28
<b>Şekil 7</b> (Reglatuvar T Hücre alt grupları)	31
<b>Şekil 8</b> (İnsan FoxP3'ünün şematik gösterimi)	31
<b>Şekil 9</b> (Reglatuvar T hücrelerin supresyon mekanizmaları)	37
<b>Şekil 10</b> (Genel fungal patern tanıma modeli)	46
<b>Şekil 11</b> (Fungal enfeksiyonlarda efektör T hücrelerin fonksiyonları)	47
<b>Şekil 12</b> (T hücre alt tiplerinin antifungal konak savunmasındaki rolü)	47
<b>Şekil 13</b> (Flow sitometrinin şematik gösterimi)	52
<b>Şekil 14</b> (PBMC içindeki CD4+ T lenfositler)	53
<b>Şekil 15</b> (CD4+CD25+FOXP3+ T reglatuvar hücrelerin yüzde oranı)	54

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablolar</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1</b> (Antropofilik Dermatofitler)	11
<b>Tablo 2</b> (Edinsel İmmun Yanıtın Özellikleri)	19
<b>Tablo 3</b> (Seçilmiş T hücre sitokinlerinin biyolojik etkileri)	23
<b>Tablo 4</b> (Kullanılan Reaktif ve Kitler)	49
<b>Tablo 5</b> (Grupların yaş ve cinsiyete göre dağılımı)	56
<b>Tablo 6</b> (Parametreler açısından hasta ve kontrol grubunun karşılaştırılması)	57
<b>Tablo 7</b> (Parametreler açısından APA/AT ve VB hasta ve kontrol grupları sonuçlarının karşılaştırılması)	58