



**DENDRİTİK HÜCRELERİN ATEROSKLEROZ GELİŞİMİNDEKİ
ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI**

Gülay İMADOĞLU YETKİN

**DOKTORA TEZİ
İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ARALIK 2016

Gülay İMADOĞLU YETKİN tarafından hazırlanan "Dendritik Hücrelerin Ateroskleroz Gelişimindeki Rolünün Araştırılması" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / ~~OY ÇOKLUĞU~~ ile Gazi Üniversitesi İmmünoloji Anabilim Dalı'nda DOKTORA TEZİ olarak Kabul edilmiştir.

Başkan ve Danışman: Prof. Dr. Ayşegül ATAK YÜCEL
İmmünoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Ek Danışman: Doç. Dr. İshak ÖZEL TEKİN
İmmünoloji Anabilim Dalı, Bülent Ecevit Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Prof. Dr. Vedat BULUT
İmmünoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Prof. Dr. Lale DOĞAN
Temel Onkoloji Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Prof. Dr. Hüseyin TUTKAK
İç Hastalıkları Anabilim Dalı- İmmünoloji Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Prof. Dr. Cemalettin AYBAY
İmmünoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Prof. Dr. Işıl FİDAN
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum



Tez Savunma Tarihi: 19/12/2016

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

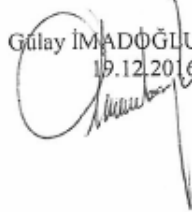
Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Gülşay İMADÖĞLU YETKİN

19.12.2016



DENDRİTİK HÜCRELERİN ATEROSKLEROZ GELİŞİMİNDEKİ ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

(Doktora Tezi)

Gülay İMADOĞLU YETKİN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Aralık 2016

ÖZET

Dendritik hücreler (DH) antijen sunan hücreler ailesinin önemli elemanlarından biridir. Bağışıklık sisteminin antijene cevabını başlatır, artırır veya yavaşlatabilirler. Bu hücreler ilk olarak 1868 yılında cilt dokusunda bulunmuş ve “Langerhans Hücreleri” olarak adlandırılmıştır. 1973 yılında ise Ralph Steinman tarafından dalakta gösterilmişlerdir. Daha sonra işlevlerine ve buldukları dokuya göre DH’lerin çeşitli alt tipleri tanımlanmıştır. Ateroskleroz; damar dokusunda kontrol edilemeyen lipid depolanması ile giden kronik ve ciddi bir sağlık problemidir. Ateroskleroz konusundaki klinik çalışmalar uzun yıllardır yapılmakla birlikte bu kontrolsüz lipid depolanma olayını başlatan ve ilerleten immünobiyolojik hücresel parametrelerin araştırılması son yıllarda daha çok önem kazanmıştır. Şimdiye kadar aterosklerozda özellikle monositler ve makrofajların rolleri ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Burada sunulan tez çalışmasında, DH’lerin aterosklerozda görülen kronik enflamatuvar süreci yöneten elemanlar olduğu öne sürülerek patolojideki rolleri araştırılmıştır. Tez çalışmasına dahil edilen 29 kişinin 6 tanesi negatif kontrol grubunu oluşturmaktadır; bu grupta koroner arter hastalığı (KAH) olmayan, ancak mitral kapak replasmanı (MVR) veya aort kapak replasmanı (AVR) ameliyatı geçirmiş 5 hasta ile 1 tane sağlam-sağlıklı gönüllü bulunuyordu. Çalışmaya dahil edilen diğer 23 hasta ise çeşitli derecelerde aterosklerozu olup bu nedenle koroner arter *bypass* cerrahisi (CABG) geçirmiş hastalardı. CABG operasyonu geçiren 23 hastadan 9’unda aynı zamanda diabetes mellitusu (DM) vardı. Negatif kontrol grubundaki hiç bir hastada DM tespit edilmedi. Hastalardan operasyon öncesi alınan periferik venöz kan örneklerinden önce mononükleer lökositler; daha sonra da magnetik separasyon yöntemi ile dendritik ön hücre izolasyonu yapıldı. Bu hücreler okside LDL’li (ox-LDL’li) ve LDL’siz ortamlarda 37°C’da 48 saat, %5 karbondioksitli, su ceketli inkübatörde bekletildikten sonra, CD 80, CD86, CD45, CD11c, CD141, CD14, HLA-DR, LIN, CD123 yüzey antijenlerinin tespiti için akan hücre ölçer analizleri yapıldı. Koroner arter hastalığı olmayan kontrol grubunda CD86 düzeyi en yüksek saptandı. Koroner arter hastalığı olmayan hastalardan izole edilen ve ox-LDL ile uyarılan DH’ler de belirgin yüksek CD86 ekspresyonu gösterdi. Hem koroner arter hastalığı hem de DM olan hasta grubunda, DM olmayanlara göre ox-LDL ile uyarımın CD86 ekspresyonunu belirgin olarak baskıladığı saptandı. Bu tez çalışmasında aterosklerozun artan patolojisi ile birlikte DM olan grupta dendritik hücrelerin giderek artan oranda inhibisyona uğradığı tespit edilmiştir. KAH olmayan kişilerde en yüksek düzeyde DH aktivasyonu gözlenmiştir, buna karşın KAH olan ancak DM olmayan hastalarda daha az DH aktivasyonu tespit edilmiştir. Normal koroner arterlere sahip bireylerde okside LDL ile uyarı sonrası CD86 aktivasyon düzeylerinde yaklaşık 3 kat artış olduğu gözlenmiştir.

Bilim Kodu : 1039.2
Anahtar Kelimeler : Dendritik hücre, ateroskleroz, diabetes mellitus, LDL
Sayfa Adedi : 125
Danışman : Prof. Dr. Ayşegül ATAK YÜCEL

THE INVESTIGATION OF THE ROLE OF DENDRITIC CELLS IN THE
DEVELOPMENT OF ATHEROSCLEROSIS

(Ph.D. Thesis)

Gülay İMADOĞLU YETKİN

GAZİ UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

December 2016

ABSTRACT

Dendritic cells are an important elements of antigen presenting cell family. They have been assumed to begin, tolerize or suppress the antigenic response of immunologic cascade. They were first recognized as “Langerhans Cells” in the skin in 1868. Then they were visualized in spleen by Ralph Steinman in 1973. Since then they have been classified into subtypes according to their functions and presence in different tissues. Atherosclerosis has been considered as a chronic health problem defined by dysregulated lipid storage in vascular tissue. Although many clinical studies have been performed in atherosclerosis, researchers have just started to focus on immunologic parameters that propagate and accelerate the inflammation related to this dysregulated lipid storage in recent years. There have been many studies in atherosclerosis on the role of monocytes and macrophages. The role of Dendritic cell was investigated by suggesting that these cells involved in the thesis study were the managing staff in the process of atherosclerosis. The study group consisted of 29 subjects. Among the negative control group of 6 subjects; 5 had no coronary artery disease and would undergo mitral valve or aortic valve replacement operation, and 1 was a completely healthy person. Among coronary artery disease group 23 patients had different degrees of atherosclerosis and would undergo coronary artery bypass surgery (CABG). Among 23 CABG patients, 9 had Diabetes Mellitus (DM). DM was not diagnosed in any of negative control group. Mononuclear phagocytes were isolated from peripheral blood samples of patients before they underwent surgery and dendritic cells were isolated with magnetic separation. The isolated cells were cultured with or without oxidized LDL (ox-LDL). Then flowcytometric analysis was performed for CD80, CD86, CD45, CD11c, CD141, CD14, HLA-DR, LIN, CD123. The highest CD86 level was found in negative control group. Besides, DCs isolated from subjects with normal coronary arteries had highest CD86 expression in response to ox-LDL stimulation. DCs from patients with atherosclerosis and DM, CD86 response to ox-LDL stimulation was evidently more more suppressed comparedto DCs of non-diabetic group. In this thesis work; we have found that dendritic cells have been suppressed with increasing pathology of atherosclerosis in coronary artery patients who also had DM. The highest level of DC activation was observed in patients who do not have CAD althoughless DC activation was detected in patients with CAD but not DM. In persons with normal coronary arteries, CD86 levels after ox-LDL stimulation was detected to increase 3 folds.

Science Code : 1039.2
Key Words : Dendritic cell, atherosclerosis, diabetes mellitus, LDL
Page Number : 125
Supervisor : Prof. Dr. Ayşegül ATAĞ YÜCEL

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren, danışmanım İmmünoloji Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Ayşegül ATAK YÜCEL'e; ek danışmanım Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. İshak Özel TEKİN'e; akan hücre ölçer çalışmalarımızı birlikte yürüttüğümüz Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Hematoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mustafa YILMAZ'a ve akan hücre ölçer laboratuvarındaki çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen biyolog Hatice İRDAY'a; doktora eğitimim sırasında değerli katkılarından dolayı Prof. Dr. Vedat BULUT'a ve İmmünoloji Anabilim Dalımızdaki diğer Hocalarımıza; hasta seçiminde ve kan örneklerin toplanmasında yardımcı olan Mersin Özel Orta Doğu Hastanesi Kardiyoloji Servisi'nde çalışmakta olan eşim Prof. Dr. Ertan YETKİN'e ve damar numunelerinin temini sağlayan Mersin Özel Orta Doğu Hastanesi Kalp Damar Cerrahisi Servisi'nde çalışmakta olan Op. Dr. Hasan Hakan ATALAY'a; Mersin Özel IMC Hastanesi'nde hasta tam kan örneklerinden hücre izolasyonu yaptığım sırada yardımlarını esirgemeyen laboratuvar teknisyeni Dilek AVKAROĞULLARI'na, tez yazımındaki katkılarından dolayı Merkez Laboratuvarı Bölüm sekreterimiz Ebru KAYADELEN'e, laboratuvarımızdaki tüm teknik ekibe ve manevi desteklerinden dolayı mesai arkadaşım Biyokimya Laboratuvarı sorumlusu Uzm. Dr. Gülseren PEHLİVANOĞLU'na; kit temininde her an yardımımıza koşan DETAY Laboratuvarı çalışanları'na; çocuklarım Yağmur ve Yıldız YETKİN'e ve kit temininde bizi destekleyen Vasküler ve Moleküler Kardiyoloji Derneği'ne teşekkürü borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	v
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER	viii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xiii
RESİMLERİN LİSTESİ	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE VE İLGİLİ ARAŞTIRMALAR.....	7
2.1. Ateroskleroz Epidemiyolojisi.....	7
2.2. Ateroskleroz Hastalığı Klinik Bulguları.....	8
2.2.1. Akut koroner sendromlar.....	8
2.2.2. İskemi.....	10
2.2.3. Koroner arter hastalığının belirtileri	10
2.2.4. Koroner arter hastalığının risk faktörleri.....	11
2.2.5. Aterosklerozun hücresel elemanları.....	12
2.3. Tedavi.....	14
2.4. Adaptif İmmünitinin Dendritik Hücre İle Yönlendirilmesi.....	18
2.4.1. Konvansiyonel dendritik hücreler (cDCs) (KDH)	20
2.4.2. Langerhans hücreleri (LH)	21
2.4.3. Dermal dendritik hücreler (DDH)	21
2.4.4. Lenfoid doku dendritik hücreleri (LDH).....	21
2.4.5. Kanda dolaşan dendritik hücreler.....	24

	Sayfa
2.4.6. Monosit kökenli dendritik hücreler (moDH'ler)	24
2.4.7. Plazmositoid dendritik hücreler (PDH)	24
2.5. Dendritik Hücrelerin Arter Dokusundaki Yerleşimi	25
2.6. Dolaşımdaki Dendritik Hücre Havuzu	25
2.7. Dendritik Hücre Aktivasyonu	27
2.8. Dendritik Hücrelerin Plak Stabilize Edici Etkisi	28
2.9. Antijen Sunan Hücreler	29
2.10. Dendritik Hücre Gelişimi	31
2.10.1. Olgunlaşma	32
2.10.2. Antijen tanıma	32
2.10.3. C-tipi lektin reseptörleri (CLR)	33
2.10.4. Retinoik asit indüklenebilir gen I (RIG-I)-benzeri reseptörler (RLR)	34
2.10.5. Nükleotid-bağlayan oligomerizasyon domain (NOD)- benzeri reseptörleri NLR)	34
2.10.6. Apoptotik hücre tanıma reseptörleri	34
2.10.7. Fc reseptörleri (FcR)	35
2.10.8. Antijen sunumu	35
2.10.9. T Hücre aktivasyonu	38
2.10.10. B hücre aktivasyonu	39
2.10.11. Doğal öldürücü (NK) hücre aktivasyonu	40
2.11. Dendritik Hücre Tanımlanması	48
3. YÖNTEM	53
3.1. Çalışma Grubu	53
3.2. Yöntemler	55
3.2.1. Periferik venöz kan örneğinden mononükleer lökosit izolasyonu	55
3.2.2. Periferik venöz kan örneğinden dendritik ön hücre izolasyonu	57

	Sayfa
3.2.3. Manyetik seperasyon: dendritik hücrelerin pozitif seçimi.....	58
3.2.4. Periferik venöz kan örneğinden izole edilen DH kültürü.....	58
3.2.5. Okside LDL' nin (ox-LDL) hazırlanması	59
3.2.6. Akan hücre ölçer analizleri	60
3.3. İstatistiksel Analiz.....	63
4. BULGULAR VE YORUM.....	65
4.1. Çalışma Popülasyonunun Özellikleri	65
4.2. Akan Hücre Ölçer Analiz.....	66
4.3. CD86 Ekspresyonu.....	66
4.4. Ateroskerozu Olan (CABG Operasyonu Planlanan) Bir Hasta Örneğinin ox-LDL ile Uyarılmadan Önceki ve Sonraki FSC-SSC Grafiği	67
4.5. Ateroskerozu Olan(CABG Operasyonu Planlanan) Bir Hasta Örneğinin ox-LDL ile Uyarılmadan Önceki ve Sonraki Akan Hücre Ölçer Analiz Raporları Histogram Grafikleri	70
4.6. Ateroskerozu Olan (CABG Operasyonu Planlanan) Bir Hasta Örneğinin ox-LDL ile Uyarılmadan Önceki Akan Hücre Ölçer Total Analiz Raporları.....	72
4.7. Ateroskerozu Olan (CABG Operasyonu Planlanan) Bir Hasta Örneğinin Ox-LDL İle Uyarıldıktan Sonraki Akan Hücre Ölçer Total Analiz Raporları.....	73
4.8. Ateroskerozu Olmayan Koroner Damarları Açık Hasta Örneğinin ox-LDL İle Uyarılmadan Önceki Ve Sonraki FSC-SSC Grafiği	74
4.9. Ateroskerozu Olmayan, Koroner Damarları Açık Hasta Örneğinde ox-LDL İle Uyarımdan Önceki Akan Hücre Ölçer Histogram Grafikleri	77
4.10. Ateroskerozu Olmayan (negatif kontrol) bir Hasta Örneğinin ox-LDL ile Uyarılmadan Önceki Akan Hücre Ölçer Total Analiz Raporları ...	79
4.11. Ateroskerozu Olmayan(Negatif Kontrol) Bir Hasta Örneğinin ox-LDL İle Uyarıldıktan Sonraki Akan Hücre Ölçer Total Analiz Raporları.....	80
4.12. Periferik Venöz Kan Örneğinden İzole Edilen, Uyarılmamış Lenfositlerin Işık Mikroskopik(100X) Görüntüleri	81
4.13. Uyarılmış Lenfositlerin Işık Mikroskopik Görüntüsü 100X.....	82
4.14. Ox-LDL ile Uyarılmış DH'lerin Işık Mikroskopik Görüntüsü 100X.....	83

Sayfa

4.15. Koroner Arter Hastalığı Olmayan (Negatif Kontrol) ve Koroner Arter Hastalığı Olan Kişilerin DH'lerinin ox-LDL İle Uyarım Öncesi ve Uyarım Sonrası CD86 Ekspresyon Düzeylerinin Akan Hücre Ölçer Analizleri Ölçüm Düzeyleri.....	86
4.16. İstatistiksel Analiz: Koroner Arter Hastalığı Olan Ve Olmayanlarda Akım Sitometri Analizlerinin Karşılaştırılması.....	89
4.17. Koroner Arter Hastalığı Olanlarda Diabetes Mellitus Olan Ve Olmayanların Karşılaştırılması.....	90
4.18. Koroner Arter Hastalığı Olanlarda Dendritik Hücre Aktivasyonu	90
4.19. Koroner Arter Hastalığı Olup Diabetes Mellitus Olmayanlarda Dendritik Hücre Aktivasyonu.....	90
4.20. Koroner Arter Hastalığı Olup Diabetes Mellitus Olanlarda Dendritik Hücre Aktivasyonu.....	90
5. TARTIŞMA	91
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	97
KAYNAKLAR	99
EKLER.....	113
Ek-1. Etik Kurul Onayı.....	114
ÖZGEÇMİŞ	121

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 1.1. Kemokinler ve kemokin reseptörleri	5
Çizelge 2.1. Dendritik hücrelerin normal dokudaki dağılımı ve histolojik terminolojisi.....	14
Çizelge 2.2. Miyeloid ve plazmositoid dendritik hücreler.....	19
Çizelge 2.3. Dendritik hücre alt-tipleri ve özellikleri	20
Çizelge 2.4. İnsan ve fare örneklerinde önerilen DH boya kombinasyonları	22
Çizelge 2.5. Aterosklerotik hastalıkta dendritik hücre aktivasyonu yapan immunolojik aktivasyon belirteçleri	27
Çizelge 2.6. Dendritik hücreler tarafından eksprese edilen TLR'ler ve Ligandları	32
Çizelge 2.7. Dendritik hücre alt-tipleri ve özellikleri	35
Çizelge 2.8. Doğal bağışık yanıtta rol oynayan sitokinler	41
Çizelge 2.9. Bazı seçilmiş CD moleküllerinin temel özellikleri (Abbas Cellular and Molecular Immunology, 6-519 Appendix II). (İnsan hücre farklılaşma belirteçleri	42
Çizelge 2.10. Antijen sunucu hücreler (ASH) ve fonksiyonları	44
Çizelge 2.11. Bölgesel bağışık yanıtın gelişimi.....	47
Çizelge 3.1. Kitler	54
Çizelge 3.2. Kimyasallar.....	54
Çizelge 3.3. Cihazlar.....	55
Çizelge 4.1. Çalışma popülasyonu hasta bilgileri	65
Çizelge 4.2. Koroner arter hastalığı olan ve olmayanlarda akan hücre ölçer ölçümlerinin karşılaştırılması	89
Çizelge 4.3. Koroner arter hastalığı olanlarda diabetes mellitus olan ve olmayanların karşılaştırılması.....	90
Çizelge 4.4. KAH olanlarda DH aktivasyonu.....	90
Çizelge 4.5. KAH Olup DM Olmayanlarda DH Aktivasyonu	90
Çizelge 4.6. KAH Olup DM Olanlarda DH Aktivasyonu	90

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Langerhans hücresi	2
Şekil 1.2. Birbeck granülü.	2
Şekil 1.3. Retiküloendotelial sistem.....	2
Şekil 1.4. Dendritik hücrelerin bağışık yanıtta olan etkileri aracılığı ile tümöral doku ile etkileşimi	4
Şekil 2.1. Koroner arterdeki aterosklerotik plak dokusu. Lipidten zengin kor bölgesi ..	13
Şekil 2.2. Yardımcı T (TH) hücrelerinin salgısal ve hücre sel bağışıklıktaki ana rolü...	15
Şekil 2.3. Antijen sunucu hücrelerin lenfoid doku içerisine göçü	16
Şekil 2.4. Dendritik hücre oluşumu ve etkili sitokinler	17
Şekil 2.5. Adaptif immü nitenin dendritik hücre ile yönlendirilmesi	18
Şekil 2.6. Dendritik hücrelerin aterosklerotik lezyona girişi	26
Şekil 2.7. Antijen sunucu hücrelerin lenfoid doku içerisine göçü	29
Şekil 2.8. Hücre gelişim basamakları	31
Şekil 2.9. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış dendritik hücrelerin antijen yakalaması ve sunumu	36
Şekil 2.10. B hücresi aktivasyonu.....	40
Şekil 2.11. Th17 ve Treg hücrelerinin oluşumu	41
Şekil 2.12. Otoantijene özgül santral ve periferik tolerans	44
Şekil 2.13. Antijen sunan hücreler ve ligandları ve T hücrelerinin CD28 aile reseptörleri; T hücrelerinin majör fonksiyonları ve inhibitör fonksiyonları	47
Şekil 4.1. Aterosklerotik lezyonu olan hastada akan hücre ölçer çalışma total görünüm	67
Şekil 4.2. Aterosklerotik lezyonu olan hastada akan hücre ölçer çalışmada LIN-HLA-DR fraksiyonu	68
Şekil 4.3. Aterosklerotik lezyonu olan hastalardan biri akan hücre ölçer çalışmada LIN CD45 fraksiyonu	69

Şekil	Sayfa
Şekil 4.4. Aterosklerotik lezyonu olan hasta akan hücre ölçer çalışmada CD11c CD45 fraksiyonu	70
Şekil 4.5. Aterosklerotik lezyonu olan hasta akan hücre ölçer çalışmada CD86 HLA-DR fraksiyonu	71
Şekil 4.6. Aterosklerotik lezyonu olan hasta numunesi ox-LDL ile uyarılmamış dendritik hücre pelleti akım sitometri çalışması.....	72
Şekil 4.7. Aterosklerotik lezyonu olan hasta örneği ox-LDL ile uyarılmış dendritik hücre pelleti akım sitometri çalışması	73
Şekil 4.8. Ateroskleroza olmayan hasta (negatif kontrol) akım sitometri çalışması total görünüm	74
Şekil 4.9. Ateroskleroza olmayan hasta (negatif kontrol) akan hücre ölçer çalışması LIN HLA-DR fraksiyonu	75
Şekil 4.10. Ateroskleroza olmayan hasta (negatif kontrol) akan hücre ölçer çalışması LIN CD45 fraksiyonu	76
Şekil 4.11. Ateroskleroza olmayan hasta (negatif kontrol) akan hücre ölçer çalışması CD11c CD45 fraksiyonu.....	77
Şekil 4.12. Ateroskleroza olmayan hasta (negatif kontrol) akan hücre ölçer çalışması CD86 HLA-DR fraksiyonu	78
Şekil 4.13. Ateroskleroza olmayan hasta (negatif kontrol), ox-LDL ile uyarılmamış dendritik hücre pelleti akan hücre ölçer çalışması	79
Şekil 4.14. Ateroskleroza olmayan hasta (negatif kontrol), ox-LDL ile uyarılmış dendritik hücre pelleti akan hücre ölçer çalışması	80
Şekil 4.15. NKA ve KAH olanlarda bazal CD86 düzeyleri	86
Şekil 4.16. NKA ve KAH ox-LDL stimülasyon sonrası CD86 düzeyleri.....	87
Şekil 4.17. KAH+DM (+), KAH+DM (-): Koroner arter hastası olup aynı zamanda diabetes mellitusu olan ve koroner arter hastası olup diabetes mellitusu olmayan hastaların CD86 düzeyleri	87
Şekil 4.18. KAH olanlarda DM (-) ve (+) olanların stimülasyon sonrası değerleri.....	88
Şekil 4.19. NKA olanlarda stimülasyon sonrası CD86 değerleri	88
Şekil 4.20. Tüm hasta ve negatif kontrol gruplarında Okside LDL sonrası CD86 değerleri.....	89

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 1.1. Dendritik hücre - elektronmikroskopik görüntü	2
Resim 1.2. Dendritik hücre immünohistokimyasal boyama	6
Resim 2.1. Değişik hasta örneklerinde aterosklerotik damar doku kesitleri.....	9
Resim 2.2. Bir sıçan (rat) lenf düğümünün T hücre bölgesindeki interdiyite dendritik (IDC) hücrelerin ince yapısı	30
Resim 2.3. Folliküler dendritik hücre	30
Resim 3.1. Manyetik seperasyon kolonu ve miknatısı	62
Resim 3.2. Manyetik seperasyon kolonu manyetik filtre	62
Resim 3.3. FICOLL içeren mononükleer lökosit ayırma solüsyon kiti 2.....	62
Resim 3.4. FICOLL ile hücre izolasyon şematik görüntüsü.....	63
Resim 4.1. Uyarı işlemi yapılmamış periferik kan mononükleer lökosit ışık mikroskopi görüntüsü 100X.....	81
Resim 4.2. GMCSF ve IL-4 ile uyarılmış lenfosit ışık mikroskopi görüntüsü 100X.....	82
Resim 4.3. GMCSF ve IL-4 ile uyarılmış lenfosit ışık mikroskopi görüntüsü 100X.....	82
Resim 4.4. GMCSF ve IL-4 ile uyarılmış lenfosit ışık mikroskopi görüntüsü 100X....	83
Resim 4.5. Ox-LDL ile uyarılmış dendritik hücre ışık mikroskopi görüntüsü 100X.....	83
Resim 4.6. Ox-LDL ile uyarılmış dendritik hücre ışık mikroskopi görüntüsü 100X.....	84
Resim 4.7. Ox-LDL ile uyarılmış dendritik hücre ışık mikroskopi görüntüsü 100X.....	84
Resim 4.8. Ox-LDL ile uyarılmış dendritik hücre ışık mikroskopi görüntüsü 100X.....	85

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
µl	: Mikrolitre
Ab	: Antikor
As	: Ateroskleroz (<i>atherosclerosis</i>)
ASH	: Antijen sunan hücreler (APC: <i>Antigen presenting cell</i>)
AVR	: Aort kapak replasmanı (<i>Aortic valve replacement</i>)
BDCA	: Plazmasitoid dendritik hücre spesifik tip II C-lektin (CLEC4C) (<i>Plasmacytoid Dendritic cell-specific type II C-type lectin</i>)
C	: Santrigrat (<i>Celcius</i>)
CABG	: Koroner arter <i>bypass</i> cerrahisi (<i>Coronary artery bypass graft</i>)
CCR	: CC tipi kemokinler için reseptör (<i>C-type lectin chemokine receptor</i>)
CD11c	: İntegrin, alfa X (<i>complement component 3 receptor 4 subunit</i>) (ITGAX)
CD14	: CD14 gen protein (doğal bağışık yanıt proteini) (<i>Cluster of differentiation 14</i>)
CD19	: B lenfosit antijeni (<i>Cluster of differentiation 19</i>)
CD1C	: (<i>Cluster of differentiation 1C</i>) (BDCA-1)
CD3	: T hücre koreseptörü (<i>Cluster of differentiation 3</i>)
CO₂	: Karbon dioksit
G	: Rölatif yer çekimi kuvveti (<i>Gravity</i>)
kDa	: Kilo dalton
ml	: Mililitre
NO	: Nitrik oksid (<i>Nitric oxide</i>)
Ox-LDL	: Okside düşük dansiteli lipoprotein (<i>oxydized low density lipoprotein</i>)
Pg	: Pikogram

Kısaltmalar	Açıklamalar
CD45	: Protein tirozin fosfataz (PTPRC) (<i>Cluster of differentiation leukocyte common antigen</i>)
CD56	: Nöral hücre adezyon molekülü (NCAM: <i>Neural cell adhesion molecule</i>)
CD86	: Kostimülör molekül 86 (BD7-2) (<i>Cluster of differentiation 86</i>)
CLP	: Genel lenfoid öncül hücre (<i>Common lymphoid precursor</i>)
CLR	: C tipi lektin reseptörü (<i>C type lectin receptor</i>)
CMP	: Myeloid öncül hücre (<i>Common myeloid precursor</i>)
CRP	: C-reaktif protein (<i>C-reactive protein</i>)
CTLA-4	: Sitotoksik T lenfosit ilişkili protein 4 (<i>Cytotoxic T-lymphocyte-Associated protein 4</i>) (CD152)
CXCR	: CXC tipi kemokinler için reseptör
DAMP	: Tehlike ile ilişkili moleküler patern (<i>Damage-associated molecular pattern</i>)
DC-Sign	: Dendritik hücre içi adezyon molekülü 3 (CD209) (<i>Dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3 grabbing non-integrin</i>)
DDH	: Dermal dendritik hücre (<i>DDC: Dermal dendritic cell</i>)
DEC-205	: Lenfosit antijen 75 (<i>Lymphocyte antigen 75</i>)
DH	: Dendritik Hücre (<i>Dendritic cell</i>)
DM	Şeker hastalığı (<i>Diabetes mellitus</i>)
E-Cadherin	: Epitelyal kadherin (CD324) (<i>Epithelial cadherin</i>) (CAM120/80)
EGF	: Vasküler endotel büyüme faktörü (<i>Vascular endothelial growth factor</i>) Vasküler geçirgenlik faktörü
EPO	: Eritropoitein (<i>Hematopoitein</i>)
E-Selektin	: Endotel lökosit adezyon molekülü 1 (<i>Endothelial leukocyte adhesion molecule</i>) (CD62E)
FasL	: Fas ligand (CD95L) (APO-1L)
FBS	Fetal sığır serumu (<i>Fetal bovine serum</i>)
FC	: Lipitten zengin kor bölgesi (köpük hücre) (<i>Foam cell</i>)
FDC	: Foliküler dendritik hücre (<i>Follicular dendritic cell</i>)

Kısaltmalar	Açıklamalar
GM-CSF	: Granülosit-makrofaj koloni uyarıcı factor (<i>Granulocyte- macrophage colony-stimulating factor</i>)
HEV	: Yüksek endotelial venül (<i>High endothelial venule</i>)
HL	: Hiperlipidemi (<i>Hyperlipidemia</i>)
HLA	: İnsan Lökosit Antijeni (<i>Human Leukocyte Antigen</i>)
HLA-DR	: MHC tip 2 hücre yüzey reseptörü (<i>Human leukocyte receptors</i>)
HSC	: Kan üreten kök hücre (<i>Hematopoitic stem cell</i>)
HSP	: Isı şoku proteini (<i>Heat Shock Protein</i>)
HT	: Hipertansiyon (<i>Hypertension</i>)
ICAM	: İnterselüler adezyon molekülü (<i>Intercellular adhesion molecule</i>)
ICOS	: İndüklenebilir T hücre CO Stimülatörü (<i>Inducible T-cell CO Stimulator</i>)
IDC	: Parmaksı dendritik hücreler (<i>Interdigitating dendritic cell</i>)
İFN	: İnterferon
İL	: İnterlökin
İP-10	: İnterferon gama ile indüklenen protein-10 (<i>Interferon gamma-induced Protein-10</i>)
IRBP	: İnterfotoresptör retinoid bağlayıcı protein (<i>Interphotoreceptor retinoid binding protein</i>)
ITIM	: <i>Immunoreceptor tyrosine-rich inhibition motif</i>
iTreg	: İndüklenebilen regülatör T hücre (<i>inducible regulatory T cell</i>)
ITSM	: <i>Immunoreceptor tyrosine based switch motif</i>
KAH	: Koroner arter hastalığı (<i>CAD</i>)
KDH	: Konvansiyonel (klasik) dendritik hücre (<i>Conventional dendritic cells</i>)
Langerin	: Tip II transmembranöz C tipi lektin (<i>CD207: Cluster of differentiation 207</i>)
LDH	: Lenfoid doku dendritik hücreleri (<i>Lymphoid tissue dendritic cell</i>)
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein (<i>Low density lipoprotein</i>)
LFA-2	: Lökosit fonksiyon ilişkili antijen 2 (<i>Leukocyte function related antigen 2</i>) (<i>CD2: Cluster of differentiation 2</i>) (<i>T-cell surface antigen T11/Leu-5</i>)

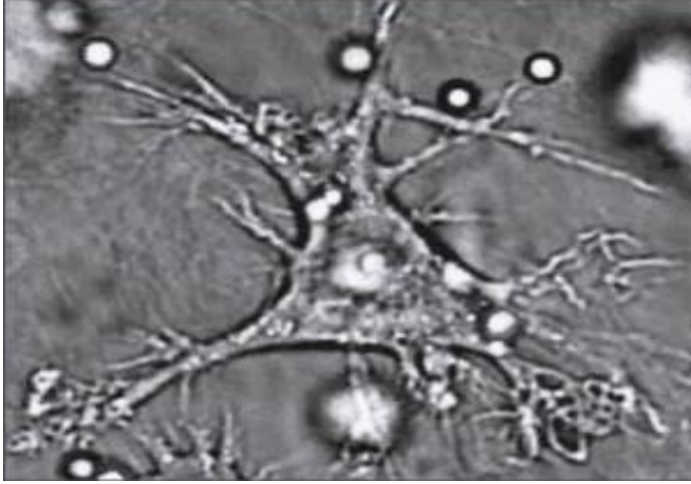
Kısaltmalar	Açıklamalar
LFA-3	: Lökosit fonksiyon ilişkili antijen 3 (<i>Leukocyte function related antigen 3</i>) (CD58)
LH	: Langerhans hücresi (<i>Langerhans cell</i>)
Lin (CD3,CD14, CD19,CD56)	: <i>Anti-human lineage cocktail</i>
LOX-I	: Lektin tipi okside LDL reseptörü I (<i>Lectin-type oxidized receptor-I</i>)
LPS	: Lipopolisakkarit (<i>Lipopolysaccharide</i>)
MALT	: Mukoza ile ilişkili lenfoid doku (<i>Mucosa associated lymphoid tissue</i>)
MCP-1	: Monosit kemoatraktan protein (<i>Monocyte chemoattractant protein</i>)
M-CSF	: Makrofaj koloni uyarıcı faktör (<i>Macrophage colony-stimulating factor</i>)
MHC	: Majör/Ana Doku Uygunluk Kompleksi (<i>Major Histocompatibility Complex</i>)
MIP-1	: Makrofaj enflamatuvar/inhibitor proteini-1 (<i>Macrophage inflammatory/ inhibitory protein-1</i>)
moDC	: Monosit kökenli dendritik hücre (<i>Monocyte derived dendritic cell</i>)
MPP	: Çok yönlü multipotansiyel progenitorlar (<i>Multipotent progenitors</i>)
MVR	: Mitral kapak replasmanı (<i>Mitral valve replacement</i>)
NK	: Doğal öldürücü (<i>Natural Killer</i>)
NKT	: Doğal öldürücü T (<i>Natural Killer T</i>)
NO	: Nitrik oksit (<i>Nitric oxide</i>)
NOD	: Nükleotid bağlayan oligomerizasyon parçası proteinleri (<i>Nucleotide-binding oligomertization domain</i>)
NOS	: Nitrik oksit sentaz (<i>Nitric oxide synthases</i>)
NSAID	: Steroid olmayan anti-enflamatuvar ilaç (<i>Non-steroidal Anti-Inflammatory Drug</i>)
NTreg	: Doğal regülatör T hücreler (<i>natural regulatory T cell</i>)
PAMP	: Patojen ilişkili moleküler patern (<i>Pathogen-associated molecular patern</i>)

Kısaltmalar	Açıklamalar
P-ANCA	: Perinükleer anti-nötrofil sitoplazmik antikor (<i>Perinuclear Anti-Neutrophil Cytoplasmic Antibody</i>)
PBS	: Fosfat tamponlu tuz solüsyonu (<i>Phosphate-buffered saline</i>)
PDH	: Plazmasitoid dendritik hücre (<i>Plasmasitoid Dendritic cell</i>)
PRR	: Patern tanıyan reseptör (<i>Pattern recognition receptor</i>)
P-Selektin	: (CD62P) Hücre adezyon molekülü (<i>Granule membrane protein 140</i>)
RANTES	: Aktivasyon ile kontrol edilen, normal T hücrelerde ifadelenen ve salınan sitokin (<i>Regulated on Activation, Normal T cell Expressed and Secreted</i>)
RES	: Retiküloendoteliyal sistem (<i>reticuloendothelial system</i>)
RF	: Romatoid faktör (<i>Rheumatoid factor</i>)
RIG-I	: Retinoik asit indüklenebilir gen I (<i>Retinoic acid-inducible gene I</i>)
ROR	: RAR ilişkili orfan reseptör gama (<i>RAR-related orphan receptor</i>)
RPM	: Dakikadaki dönüş sayısı (<i>Revolutions per minute</i>)
RPMI	: (<i>Roswell Park Memorial Institute</i>)
SCF	: Kök hücre faktörü (<i>Stem cell factor</i>)
STAT	: Sinyal iletici ve transkripsiyonu aktive edici (<i>Signal transducer and activator of transcription</i>)
TCR	: T hücre reseptörü (<i>T-cell receptor</i>)
TGF-β	: Transforme edici büyüme faktörü beta (<i>Transforming Growth Factor Beta</i>)
TLR	: Toll-benzeri reseptör (<i>Toll-like receptor</i>)
TMB	: Tetra metil benzidine (<i>Tetramethyl benzidine</i>)
TNF-α	: Tümör nekroze edici faktör alfa (<i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>)
TPA	: Doku plazminojen aktivatörü (<i>Tissue plasminogen Activator</i>)
TPO	: Trombopoitein (<i>Thrombopoitein</i>)
Tr1	: Tip1 regülatör T hücre (<i>type 1 regulator T cell</i>)
Treg	: Regülatör T (<i>regulatory T</i>)
TSLP	: Timik stromal lenfopoitein
VCAM	: Damar hücresi adhezyon molekülü (<i>Vascular cell adhesion molecule</i>)

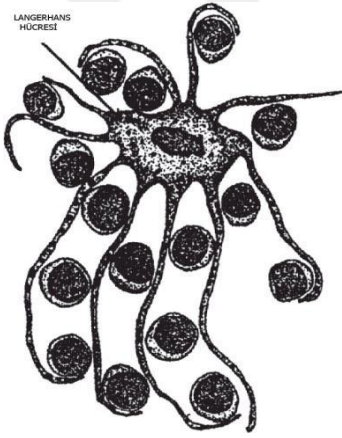
1. GİRİŞ

İlk olarak 1973'te Steinman ve Cohn tarafından tanımlanan "Dendritik Hücre"nin (Steinman ve Cohn, 1973) daha sonra fenotipik ve işlevsel olarak farklı pek çok alt-popülasyonu tanımlanmıştır. Bu alt-tiplerin fazlalığında dendritik hücre (DH) plastisitesinin rolü vardır. Tüm vücut dokularına dağılmış olarak bulunan DH'lerin işlevsel adaptasyon kapasiteleri buldukları mikroçevreden etkilenmektedir. Gün geçtikçe tanımlanan DH alt-tipleri artmaktadır. Tanımlamalar belirlenen fenotipik ve morfolojik belirteçlere göre yapılmaktadır (Kamath, Pooley, O'Keeffe, Vremec, Zhan, Lew, D'Amico, Wu, Tough ve Shortman, 2000; Steinman ve Nussenzweig, 1980). Yapılan çalışmalarda makrofajların ve DH öncülerinin kemik iliğinden aynı atadan gelerek "klasik DH öncüsü (KDH), plasmositoid DH öncüsü (pDH) ve monosit öncüsü" olarak farklılaştığı gösterilmiştir (Liu, Victora, Schwickert, Guermonprez, Meredith, Yao, Chu, Randolph, Rudensky ve Nussenzweig, 2009).

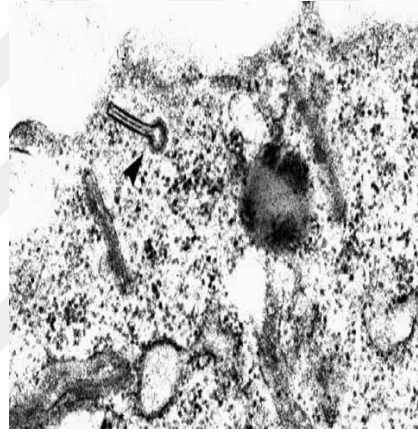
Dendritik hücreler, tiplerindeki heterojeniteye rağmen aynı özgül işlevsel özellikleri paylaşırlar ve doğal ve edinsel bağışıklık arasındaki ana bağlantıyı oluştururlar (Del, Maria, Bernhardt, Rodriguez-Barbosa ve Förster, 2010). DH'ler profesyonel antijen sunan hücrelerin en önemli ailesidir (Resim 1.1). Dendritik hücreler naif T hücrelerinin etkin olarak uyarılmalarını sağlarlar. Dendritik hücreler, tarafından alınarak işlenen antijenler, ana doku uygunluğu kompleksi (*major histocompatibility complex: MHC*) sınıf I veya MHC sınıf II peptidleri aracılığı ile T hücrelere sunulurlar. Bu sunumdan sonra enflamasyonun gidişatı DH/T hücre ilişkisine bağlı olarak değişir. Patojenin tanınması ile birlikte oluşan tehlike sinyalleri (*danger signals*) ile DH hızlıca olgunlaşma aşamasına girer: Hücrede MHC molekülleri ve eş uyaran (kostimülatör) moleküller artar; DH, bölgesel lenf düğümüne göç eder. Buna karşılık tolerojenik sinyaller üretilirse DH, T hücresi ile birlikte anergi oluşturur. T hücresi, koruyucu Foxp3⁺ regülatör T (Treg) hücresine dönüşür. Dendritik hücreler sürekli olarak periferik organlardan sekonder lenf düğümlerine göç ederler. Bunun nedeni DH'lerin rutin zararsız antijenlerle (ör. yiyecek antijenleri) sürekli karşılaşmasıdır. Bu durum periferik toleransın sağlanmasında önemlidir. Homeostatik veya enflamatuvar olayların başlatılması veya başlatılmaması için anahtar regülatör molekülün CCR7 olduğu düşünülmektedir (Ohl, Mohaupt, Czeloth, Hintzen, Kiafard, Zwirner, Blankenstein, Henning ve Förster, 2004; Hintzen, Ohl, del-Rio, Rodriguez-Barbosa, Pabst, Kocks, Krege, Hardtke ve Förster, 2006).



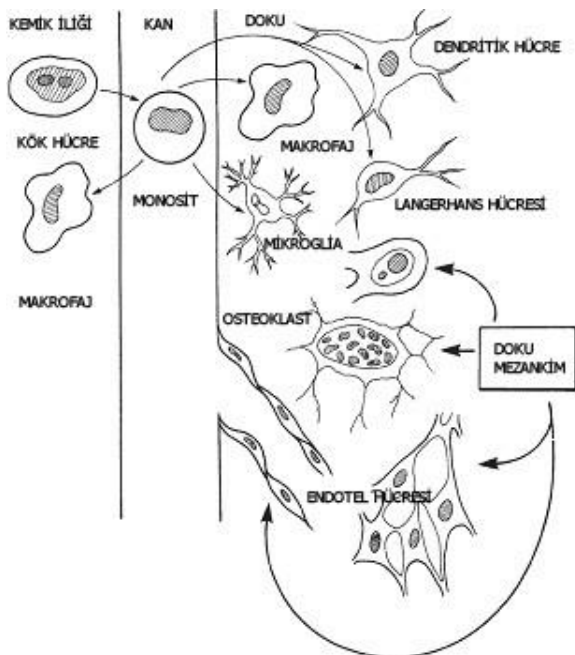
Resim 1.1. Dendritik hücre - elektronmikroskopik görüntü (wikipedia)



Şekil 1.1. Langerhans hücresi
(Cruse ve Lewis, 2010c)



Şekil 1.2. Birbeck granülü.
(Cruse ve Lewis, 2010b)



Şekil 1.3. Retiküloendotelial sistem (RES) (Cruse ve Lewis, 2010d)

Dendritik hücrelerin; non-spesifik esteraz, Birbeck granülleri (Şekil 1.3), endojen peroksidaz (muhtemel CD1), kompleman reseptörleri CR1 ve CR3 ile Fc reseptörleri vardır. Dendritik hücreler immün sistemin nöbetçi hücreleridir. Kemik iliği öncüllerinden köken alır, kana geçer, lenfoid olmayan dokulara yerleşerek yabancı antijenleri peptid-MHC kompleksleri şeklinde hücre yüzeyinde sunarlar; kan yoluyla göç ettikleri sekonder lenf düğümlerinde T lenfositleri ile iletişim kurarlar. Hem yardımcı T, hem de öldürücü T hücrelerini aktive edebilirler (Cruse ve Lewis, 2010e:354).

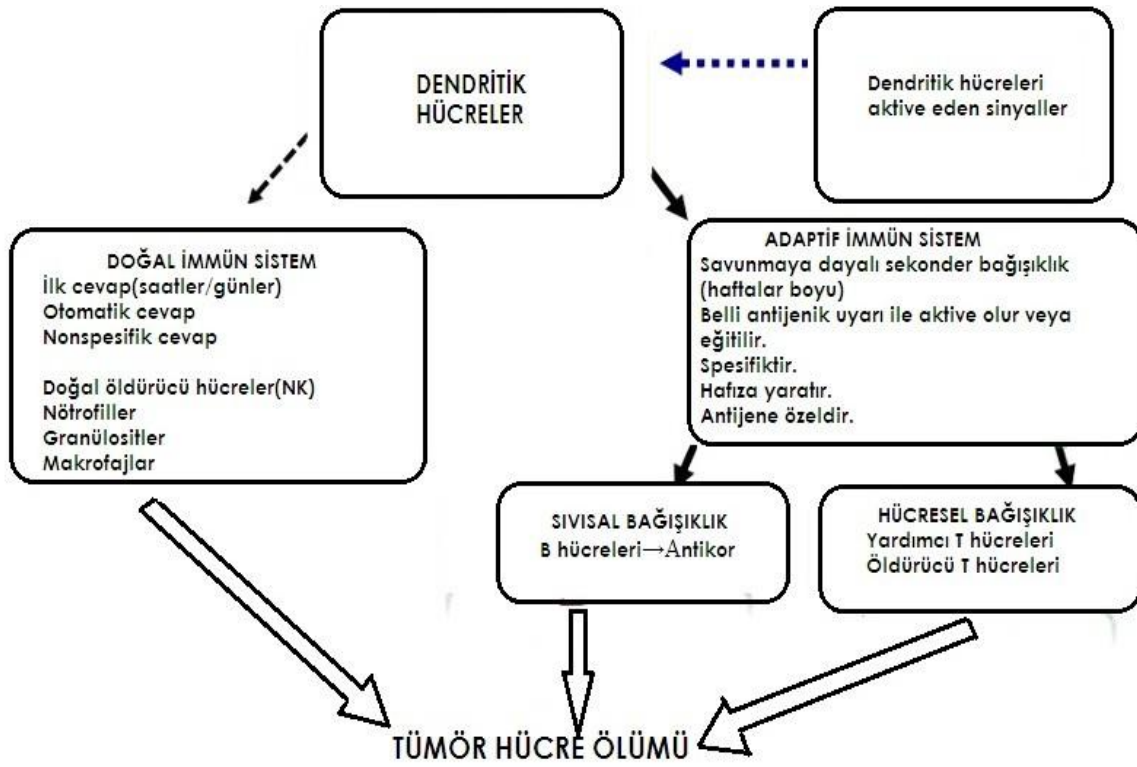
Günümüzde DH'ler görünümüne ve vücutta dağılımlarına göre isimlendirilirken, yakın zamana kadar, olgunlaşma derecelerine, fenotipik karakterlerine ve işlevlerine göre isimlendirilmekteydiler. Dendritik hücrelerin antiviral ve antitümör bağışıklıkta adjuvan etkiye sahip oldukları düşünülmektedir (Şekil 1.4). Olgunlaşmamış DH'ler yüzey belirteçleri ile tanımlanabilirler. Yüzeylerinde taşıdıkları kemokin reseptörleri (CCR-1, CCR-2, CCR-5, CCR-6 ve CXCR-1) (Çizelge 1.1) sayesinde enflamasyonlu dokuya göç edebilirler. Olgunlaşmamış DH'ler fagositiktir ve makropinositoz yapabilirler. Böylece antijeni MHC sınıf I molekülü ile sunabilirler. Fc γ (CD64) ekspresyonu, mannoz içeren IgG immün komplekslerinin yakalanmasını sağlarken, E-kadherin ekspresyonu DH'lerin doku ile temasını ve dokuda kalmasını kolaylaştırmaktadır. Antijen işlenmesinden sonra DH'ler tekrar modellenirler: Fc ve mannoz reseptörleri azalır, endositik aktivite kaybolur. Bu olgunlaşma süreci sırasında kemokin reseptör ekspresyonu değişir. Olgunlaşan DH'ler sekonder lenf düğümlerinin T hücre bölgesine gelerek burada naif T hücrelerine antijen sunarlar. Dendritik hücrelerin *in vitro* kültürlerinde CD40L, LPS, ve TNF- α ile "olgun DH" elde edilebilir. Bu hücreler allojenik T hücrelerinin çok iyi uyarıcılarıdır. Dendritik hücre-T hücre ilişkisinin iki yönlü olduğu düşünülmektedir. T hücreleri ile CD40 aracılı ilişki kuran DH'lerin hem aktivasyonları hem de T hücre uyarıcı etkileri artmaktadır (Şekil 2.6). *In vitro* LPS uyarısı CD40L uyarısından daha zayıf etki yaratır.

Dolaşan dendritik hücreler antijeni aldıklarında lenf düğümleri gibi sekonder lenfoid dokuya göç edebilirler (Alvarez, Vollmann ve von Andrian, 2008).

Olgunlaşmamış dendritik hücreler: Değişik vücut dokularında bulunabilirler. Antijeni alabilirler. Fakat eş uyaran molekülleri bulunduramazlar ve profesyonel antijen sunan hücre gibi naif T hücrelerini aktive edemezler.

İnterstisyel dendritik hücreler: Pek çok organda bulunurlar. Örneğin; kalp, akciğerler, karaciğer, gastrointestinal sistem.

Plazmositoid dendritik hücreler (PDCs): Bu hücreler doğal bağışık yanıtın üyesi olup kanda dolaşırlar ve periferik lenfoid organlarda bulunurlar. İnsanlarda CD123, BDCA-2, BDCA-4 yüzey belirteçlerini bulundurmalarıyla beraber, CD11c ve CD14 belirteçlerine yüksek düzeyde bulundurmazlar. Bu özellikleri onları klasik dendritik hücrelerden ayırır (Mckenna, Beignon ve Bhardwaj 2005).



Şekil 1.4. Dendritik hücrelerin bağışık yanıtı olan etkileri aracılığı ile tümöral doku ile etkileşimi

Çizelge 1.1. Kemokinler ve kemokin reseptörleri

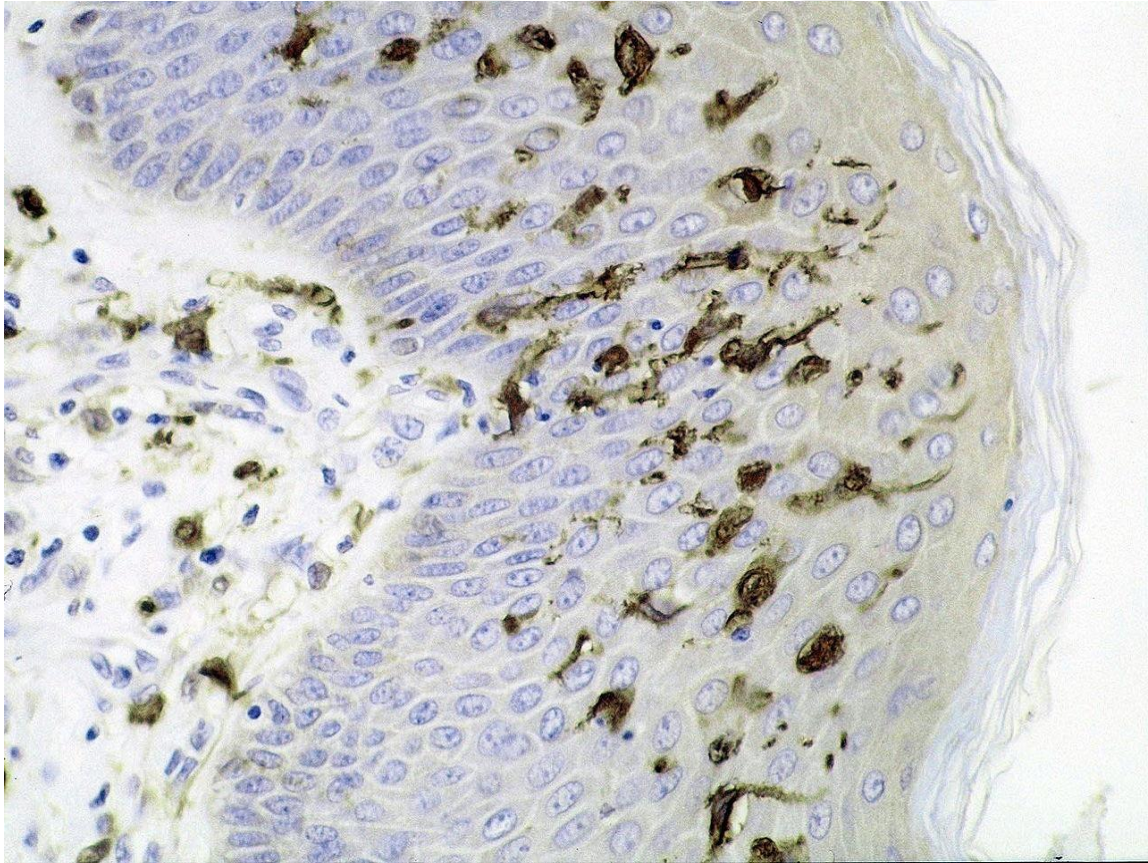
Kemokin	İsim	Kemokin Reseptörü	Majör Fonksiyon
CCL9/CCL10		CCR1	
CCL11	Eotaxin	CCR3	Eozinofil,bazofil ve Th2
CCL12		CCR2	Mix lökosit takviyesi
CCL13	MCP-4	CCR2, CCR3	Mix lökosit takviyesi
CCL14	HHC-1	CCR1, CCR5	
CCL15	MIP-1 δ	CCR1, CCR3	Mix lökosit takviyesi
CCL16	HHC-4	CCR1, CCR2	
CCL17	TARC	CCR4	T hücre ve bazofil takviyesi
CCL18	DC-CK1	?	Lenfosit ve dendritik hücre çağırısı
CCL19	MIP-3 β /ELC	CCR7	TH ve DH' nin parafollüker zona göçü
CCL20	MIP-3 α	CCR6	
CCL21	SLC	CCR7	TH ve DH' nin parafollüker zona göçü
CCL22	MDC	CCR4	TH ve bazofil takviyesi
CCL23	MPIF-1	CCR1	
CCL24	Eotaxin-2	CCR3	Eozinofil,bazofil ve Th2 takviyesi
CCL25	TECK	CCR9	Astrosit göçü
CCL26	Eotaxin-3	CCR3	Eozinofil,bazofil ve Th2 takviyesi
CCL27	CTACK	CCR10	Dermal hücre göçü
CCL28	MEC	CCR10	Dermal hücre göçü
CXC Kemokin			
CXCL1	GRO α	CXCR2	Nötrofil takviyesi
CXCL2	GRO β	CXCR2	Nötrofil takviyesi
CXCL3	GRO γ	CXCR2	Nötrofil takviyesi
CXCL4	PF4	CXC3B	Trombosit kümeleşmesi
CXCL5	ENA-78	CXCR2	Nötrofil takviyesi
CXCL6	GCP-2	CXCR1, CXCR2	Nötrofil takviyesi
CXCL7	NAP-2	CXCR2	Nötrofil takviyesi
CXCL8	IL-8	CXCR1, CXCR-2	Nötrofil takviyesi
CXCL9	Mig	CXCR3	Efektör T hücre takviyesi
CXCL10	IP-10	CXC3, CXCR3B	Efektör T hücre takviyesi
CXCL11	I-TAC	CXC3	Efektör T hücre takviyesi
CXCL12	SDF-1 $\alpha\beta$	CXCR4	Mix lökosit takviyesi, HIV koreseptörü
CXCL13	BCA-1	CXCR5	B hücrenin follüküle göçü
CXCL14	BRAK		
CXCL16	—	CXCR5	CXCL16
C Kemokin			
XCL1	Lymphotactin	XCR1	T hücre ve NK takviyesi
XCL2	SCM-1 β	XCL1	
CX3C Kemokin			
CX3CL1	Fractalkine	CX3CR1	TH,NK,Makrofaj takviyesi NK aktivasyonu

(Abbas, 2012a)

Langerhans Hücreleri: (Şekil 1.1) Langerhans hücreleri fagositik, dendritik görünümlü olup derinin üst epidermis katmanları arasında yerleşmiştir. Antijen sunumu yapar, sitokin üretir ve lenfositleri cilt dokusuna çekebilirler. Doku örneklerinde altın-klorid boyama ile gösterilebilirler (Resim 1.2). Elektron mikroskopisinde tonofibrilleri kaybolur. Tenis raketi şeklindeki “Birbeck granülleri” görülebilir (Şekil 1.3). Bu granüller 10 nm çapındaki küçük vakuollerdir.

Langerhans hücreleri, kemik iliğinde ana kök hücreden gelişirler. Epidermise ve lenf düğümlerine göç ederler ve “klasik DH” halini alırlar. Langerhans hücreleri hem sınıf I hem sınıf II MHC antijenleri bulundurarak antijen sunan hücre görevi görürler; hem de C3b reseptörü ve IgG Fc reseptörü bulundururlar. Epidermal Langerhans hücreleri kompleman reseptör 1 ve 3, Fc γ reseptörleri ve değişik miktarda CD1 eksprese ederler. Lenf düğümlerindeki Langerhans hücreleri derin kortekste yer alırlar. Epidermal Langerhans hücreleri gecikmiş tip (Tip IV) aşırı duyarlılık gelişiminde önemlidir. Deride antijen yakalamak ve lenf noduna taşımakla görevlidirler.

Retiküloendotelial Sistem (RES): Mononükleer fagositik sistem olarak da tanımlanmaktadır. Karaciğer sinüzoidlerini döşeyen Kupffer hücrelerini, dalak ve lenf düğümü makrofajlarını betimler (Şekil 1.4). Makrofajlara ek olarak daha az fagositik fibroblastlar ve endotel hücreleri de orijinal tanıma girmektedir. Mononükleer fagositlerin temel görevi kandaki yabancı antijenleri temizlemektir. Mononükleer fagositler kemik iliği kök hücrelerinden “monosit”e başkalaşır ve son olarak dokuda “makrofaj”a dönüşürler.



Resim 1.2. Dendritik hücre immünohistokimyasal boyama (Wikipedia)

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE VE İLGİLİ ARAŞTIRMALAR

2.1. Ateroskleroz Epidemiyolojisi

Ateroskleroz tüm dünyada kardiyovasküler mortalite ve morbiditenin en önemli sebeplerinden biridir. Eşlik eden risk faktörleri, predispozan ve tetikleyici faktörlerle ilgili yapılan çalışmalarda hem patogenez, hem tedavi anlamında çok büyük gelişmeler kaydedilmiş olmakla birlikte henüz açıklığa kavuşturulamamış ve önlenememiş pek çok mekanizma ve süreç vardır. Mortalite ve morbiditedeki yükseklik halen ilk sıradadır (White, 2008; Libby, 2001). Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri (TEKHARF) Çalışması'na göre ise ülkemizde her yıl toplam olarak yaklaşık 230 bin yeni koroner arter hastalığı olayın gerçekleşmektedir. Yıllık mortalite erkeklerde 160 bin, kadınlarda 120 bin kişidir. Bunlardan koroner kökenli ölümün erkeklerde yaklaşık 66.000 (%41), kadınlarda 61.000 (%51) olarak meydana geldiği tahmin edilmektedir (Onat, 1996).

Aterosklerotik süreçte birçok risk faktörü tanımlanmış olmasına rağmen bu geleneksel risk faktörleri iskemik semptomların ortaya çıkmasına neden olan durumları açıklamada her zaman yeterli olmamaktadır. Aynı risk faktörlerine sahip olan her hasta aynı klinik seyri veya ciddiyeti göstermemektedir. Bu durum geleneksel risk faktörleri dışında diğer yeni risk faktörlerinin (homosistein, lipoprotein a (Lpa)), hemostatik veya trombojenik risk faktörleri, dolaşımdaki antioksidan düşüklüğü veya genetik mutasyonların önemini ön plana çıkarmıştır (Güleç, 2009). Bunların dışında henüz bilmediğimiz mekanizma ve süreçlerin yer alabileceği düşünülmektedir.

Ateroskleroz sürecinde son nokta genellikle iskemi ile tayin edilmektedir. Koroner arter hastalığı da, koroner arterlerin genellikle ateroskleroz nedeniyle daralması veya tıkanmasıdır; koroner dolaşımda darlık sonucu gelişen iskemi kliniğinin gelişmesine, kardiyovasküler mortalite ve morbiditenin oluşmasına neden olmaktadır. Ateroskleroz, orta boy ve büyük boy arterlerin iç duvarlarında kolesterol ve yağ birikintilerinin (plak) oluşmasıdır (Resim 2.1). Bu plaklar arteri fiziksel olarak tıkayarak kalp kasına kan akışını sınırlandırmaktadır.

Koroner arterlerin yapısı tüm orta boy vasküler sistemle benzer olarak, intima, media ve adventisya tabakalarından oluşur. İntima endotel ve subendotelyal alandan oluşurken, media tabakası çoğunlukla düz kas hücreleri ve elastik destek dokusundan oluşur.

Adventisya ise daha gevşek yapıda bağ dokusundan ibarettir. Endotel ateroskleroz sürecinde hem çok önemli rol oynar hem de başlangıç noktası olarak kabul edilir. Endotel, özetlenecek olursa; damar düz kas vazomotor fonksiyonunda (vazodilatasyon ve vazokonstriksiyonda), vasküler geçirgenlikte, fibrinolitik ve koagülasyon sisteminde, proliferasyonda ve enflamatuvar süreçte çok büyük role sahiptir.

Yağlı çizgilenme ile başlayan süreç, risk faktörlerinin de katkıları ile pek çok sitokin, enflamatuvar hücrenin ve monosit-makrofajların katılımı ile aterosklerozun dokuda şekillenmesi ile devam eder (Stary, 1994). Sessiz bir klinik dönemi takiben ortaya çıkan klinik durumlar; kararlı angina pectoris, kararsız angina pectoris, ST yükselmeli miyokard infarktüsü, ST yükselmez miyokard infarktüsü, ani ölüm şeklinde özetlenebilir. Bu klinik durumlar plak yapısında meydana gelen moleküler, hücrel ve morfolojik değişiklikler sonrasında oluşur. Burada plağın yapısı çok önemlidir. Hem plağın içerdiği lipid, kolesterol, inflamatuvar hücre yoğunluğu hem de plak kılıfının kalınlığı çok önemlidir. Lipidden yoğun ve ince kapsüle sahip plak, çabuk yırtılmaya ve ardından trombus oluşturarak “akut koroner sendrom” denilen klinik durumun oluşmasına yol açarken; lipid içeriği az, fibröz komponenti fazla, kalın kapsüle sahip plaklar ise klinikte daha çok “kararlı angina pectoris” şeklinde karşımıza çıkar (Stary,1994).

2.2. Ateroskleroz Hastalığı Klinik Bulguları

2.2.1. Akut koroner sendromlar

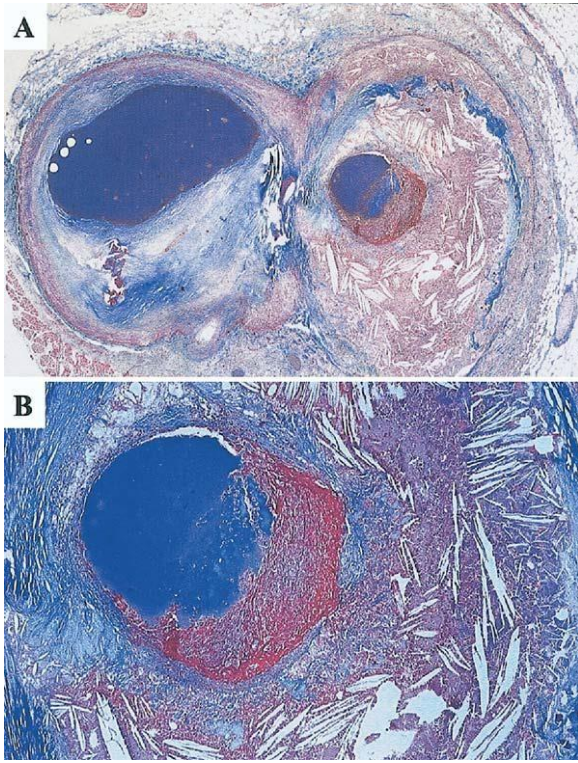
Kararsız anjina

Adından da anlaşılacağı üzere kararsız angina bir geçiş sürecidir. Hasta kararsız anjina atağı ya da dönemini miyokard infarktüsü ile sonlandırabileceği gibi, kararlı angina aşamasına da geçebilir. Hastanın bu süreçte tanınması olası bir miyokard infarktüsüne ve miyokard hasarına engel olmak anlamında çok önemlidir. Yoğun bir tedavi veya girişimsel tedavi bu süreçte uygulanması gereken tedavi modalitelerindedir.

ST segmenti elevasyonu olmayan miyokardiyal enfarktüsü (NSTEMI)

Akut koroner sendrom dediğimiz klinik durumlardan bir diğeri olan NSTEMI da miyokard infarktüsü tablosu mevcuttur. Miyokard hasarını gösteren enzimlerde yükselme belirgindir. Ancak bu durumda T ST, dalga değişiklikleri olmakla birlikte ST yükselmesi oluşmaz. NSTEMI daha çok koroner kan akımında kısmi veya geçici tıkanma sonucu oluşan bir klinik durumdur (Hamm, 2009).

ST segment elevasyonlu miyokardiyal enfarktüs (STEMI)



Resim 2.1. Değişik hasta örneklerinde aterosklerotik damar doku kesitleri. (A) Bifurkasyonun distalinden alınmış koroner arter kesit örneği. (B) Plak-trombüs geçiş örneği lipid kor oldukça ince ve enflamasyonlu gözükmetedir (Falk, 2006)

Bu kalp krizi tipi is daha çok koronerlerin tam tıkanması ile oluşan EKG’de ST yükselmesi ve miyokard hasarının olduğu bir miyokard infarktüsüdür. Kalp kasının geniş bir bölgesini etkiler ve EKG’nin yanı sıra önemli biyokimyasal parametrelerde değişikliklere de neden olur. Bazı kişiler kısa süre sonra bir akut koroner sendrom geliştirebileceklerine dair belirtiler gösterirken, bazıları bir şey meydana gelene kadar akut koroner sendromun hiçbir belirtisine sahip olmayabilirler. Tüm akut koroner sendromlarda acil değerlendirme yoğun medikal veya girişimsel tedavi gerektirir.

2.2.2. İskemi

İskemi kalp kasının kasılması olarak tanımlanan bir duruma neden olur. Kalbin iskemisi bacadaki bir krampa benzetilebilir. Kalp kasının kan akışı, ihtiyaçlarını karşılamaya yetmiyorsa iskemi meydana gelir ve göğüs ağrısı veya başka belirtiler olur. Kalp fazladan oksijene ihtiyaç duyduğunda iskeminin meydana gelme ihtimali en yüksektir. Bu durum en yaygın olarak efor (aktivite), yemek yeme, heyecan veya stres zamanlarında veya soğuğa maruz kalındığında görülür. İskemi herhangi bir uyarıcı işaret olmadan meydana gelebilir, buna “sessiz iskemi” adı verilir. Sessiz iskemi kalp rahatsızlığı olan her kişide meydana gelebilirken, diyabet hastaları, koroner bypass geçirmiş kişilerde ve yaşlı kişiler arasında daha yaygındır.

2.2.3. Koroner arter hastalığının belirtileri

Koroner arter hastalığının en yaygın belirtisi “*angina pectoris*” adı verilen göğüs ağrısıdır. Aynı zamanda göğüste rahatsızlık, ağırlık, darlık, baskı, ağrı, yanma, uyuşma, doluluk veya sıkıştırma gibi de tarif edilebilir. Nefes darlığı da anjina eşdeğeri olarak koroner arter hastalığı semptomlarından biridir. Bazen gastrointestinal sistem şikâyetlerine benzer; mide yanması, gaz şikâyetleri, bulantı kusma gibi semptomlarla kendini gösterebilir. Çarpıntı, senkop da koroner arter hastalığında gördüğümüz semptomlarından. Hazımsızlık veya mide yanmasıyla karıştırılabilir. Anjina genellikle göğüste hissedilirken klasik tanım olarak mandibula ile göbek arasında her yerde olabilir.

Koroner arter hastalığı tanısında kullanılan yöntemler

- Klinik değerlendirme
- Elektrokardiyogram
- Ekokardiyografi
- Ezgersiz stres testi
- Stres ekokardiyografi
- Miyokard perfüzyon sintigrafisi
- Koroner anjiyografi
- Optik koherans tomografi
- Çok dilimli (*multislice*) kardiyaktomografi

2.2.4. Koroner arter hastalığının risk faktörleri

Majör risk faktörleri

Diyabet ve insülin direnci

Diyabet, ateroskleroz oluşumu ve AKS gelişiminde bir risk faktörüdür. Hiperglisemi ve bunların sonucunda ortaya çıkan glikolize metabolitler ateroskleroz patogeneğinde önemli bir rol oynamaktadır. Diyabetli hastalarda kardiyovasküler ölüm riski 5-6 kat daha fazladır (Gaede, 2003). Diyabet endotel fonksiyonlarını bozarak, trombosit agregasyonunu ve koagülasyon aktivitesini artırarak artırarak, kardiyovasküler hastalık ve komplikasyonlarının artmasına sebep olmaktadır. Diyabetik hastalarda belirgin endotel ve düz kas hücre fonksiyon bozukluğunun yanında lökositlerin endotele yapışmasında, trombosit agregasyonunda ve koagülasyon sisteminin aktivitesinde artış izlenmektedir. İnsülin direnci, belirgin diyabet oluşmadan önce bile başlı başına ateroskleroza belirgin katkı sağlamaktadır. Adipoz doku ise insülin duyarlılığını bozan ve sistemik enflamatuvar yanıtı yol açan sitokinleri salgılamaktadır.

Yaş ve cinsiyet

Ateroskleroz kronik enflamatuvar bir hastalıktır. Yaş doğal olarak ateroskleroz oluşumu ve akut koroner sendrom gelişiminde en güçlü bağımsız belirleyicidir. Erkeklerde risk kadınlara göre daha fazladır. Ancak menapoz sonrası kadınlarda risk artışı belirgin hale gelmektedir.

Sigara

Koroner arter hastalığında değiştirilebilen önemli bir majör risk faktörüdür. Sigara etkilerini, artmış sempatik sinir sistemi aktivasyonu, artmış LDL oksidasyonu, azalmış vazodilatasyon, artmış trombotik aktivite ve artmış enflamasyon mekanizmaları üzerinden gösterir. Sigara koroner arter hastalığı riskini 2-3 kat artırırken, artmış miyokard infarktüsü ve kardiyak ölüm riskini 5-7 kat artırabilmektedir (Bazzano, 2003).

Hiperlipidemi

Risk faktörleri arasında üzerinde en çok araştırma yapılan hiperlipidemidir. Pek çok çalışmada yüksek total kolesterol düzeyi, artmış LDL VLDL düzeyi ve azalmış HDL kolesterol düzeylerinin aterosklerozle ilişkisi olduğu gösterilmiştir (Lamarche, 1999). Bununla paralel olarak da tedaviyle bu parametrelerin azaltılması aterosklerozda azalmaya neden olmaktadır. LDL kolesterol yüksekliği endotel hasarı ve damar duvarındaki enflamatuvar yanıtta artışla yakından ilişkilidir. LDL arteriyel endotele infiltre olarak intima tabakasına geçmektedir. Okside LDL lerin oluşumu ve makrofaj infiltrasyonu ile köpük hücre oluşumu ve aterosklerotik plak oluşum süreci başlamaktadır.

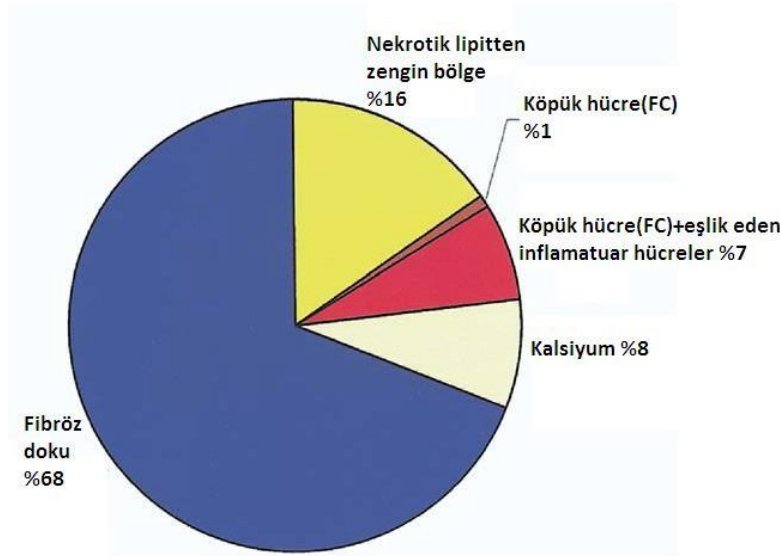
Hipertansiyon

HT, koroner arter hastalığı yanında, kalp yetersizliği, periferik arter hastalığı, inme, böbrek yetmezliği için de önemli bir risk faktörüdür. Kardiyovasküler olayların yaklaşık 1/3'ünden sorumludur. Hipertansiyon bu sürece özellikle endotel fonksiyonlarında bozulma aşamasında ve damar vazomotor fonksiyonlarının bozulması aşamalarında katkıda bulunur.

2.2.5. Aterosklerozun hücresel elemanları

Ateroskleroz (AS) kronik immünoenflamatuvar, fibroproliferatif ve lipid dokusu birikimi ile giden bir hastalıktır (Libby, 2002). Endotel hücreleri, lökositler ve intimal düz kas hücreleri hastalıkta rol oynayan esas hücrelerdir. Lezyonlu bölgelerde epitelin zayıf ve işlev bozukluğuna sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bu dokuya trombositler yapışarak eşlik edebilir veya bulunmayabilirler (Davies, Woolf, Rowles ve Pepper, 1988). Plazma lipoproteinleri defektif endotelden endotel altı boşluğa geçer ve burada modifiye olarak (oksidlenerek) sitotoksik, proenflamatuvar, kemotaktik ve proaterojenik özellik kazanırlar (**Şekil 2.2**). LDL'nin aterojenik modifikasyonuna neden olan mekanizma halen bilinmemektedir (Glass ve Witztum, 2001). Nitrik oksit (NO) endotel hücreleri ve makrofajlar tarafından salgılanan kuvvetli oksidan molekül olup hem koruyucu hem de aterojenik olabilmektedir. Endotel hücreleri tarafından üretilen NO vazodilatördür ve AS'a karşı potansiyel olarak koruyucudur. Tersine makrofaj tarafından üretilen NO potansiyel olarak aterojeniktir.

Erken yağlı lezyonlarda sadece endotel hücreleri, makrofajlar ve az sayıda T hücreleri bulunmuştur. Ateroskleroz ilerledikçe enflamatuvar yanıt eşlik etmekte ve intimal düz kas hücreleri artmaktadır. Yıllar içerisinde lümen tamamen bu doku ile dolmakta ve kan akışı yavaşlamaktadır (Kragel, Reddy, Wittes ve Roberts, 1989).



Şekil 2.1. Koroner arterdeki aterosklerotik plak dokusu. Lipidten zengin kor bölgesi (köpük hücre) (*foam cell*: FC) (Kragel, ve diğerleri, 1989).

Antijen sunumu edinsel immün yanıtın anahtar noktasıdır: 1973'e kadar sadece makrofajların ve B hücrelerinin antijen sunumu yaptığı biliniyordu, Steinman ve Cohn tarafından yapılan çalışmalarda edinsel bağışık yanıtı başlatan ve çok kuvvetli antijen sunan başka bir grup hücre olan dendritik hücre DH'ler gösterilmiştir (Steinman ve Cohn, 1973). Bu ilk tanımlamadan sonra DH'lerin bağışık yanıtındaki rolleri üzerine pek çok çalışma başlatılmıştır. Dendritik hücreler hem primer, hem de sekonder bağışıklık yanıtında rolleri olan hücrelerdir. Primer bağışık yanıtta tehlike sinyali olarak algılanan moleküllere karşı hızlı koruyucu sitokinler üretebilirler (Gee, Guzzo, Che Mat, Ma ve Kumar, 2009). DH'lerin çok etkin antijen sunma kapasiteleri mevcuttur ve naif, bellek veya efektör T hücreleri güçlü olarak uyarabilirler (Lotze ve Thomson, 2001). Bununla birlikte sadece klasik T hücreleri değil, aynı zamanda doğal öldürücü T hücreleri (NKT) de uyarma yetenekleri vardır (Blanco, Palucka, Pascual ve Banchereau, 2008). Olgunlaşmamış DH'ler çoğunlukla epitel yüzeylerde, vücut boşluklarının yüzeylerinde, asıl olarak deride, aynı zamanda solunum sistemi ve sindirim sisteminde de bulunurlar (Çizelge 2.1). (Yuri ve Bobryshev, 2010).

Çizelge 2.1. Dendritik hücrelerin normal dokudaki dağılımı ve histolojik terminolojisi

Hücre tipi	Yerleşim yeri	Ana fonksiyonu	Yapısal elemanları
Kan dendritik hücreleri	Periferik kan	DH'lerin hareketli dolaşan formu	-
Langerhans hücreleri	Derinin epidermisi; ösefagusun çok katlı yassı epiteli	Antijen yakalama/işleme	Lag+Birbeck granülleri ve atipik granüller
İnterstitial dendritik hücreler		Antijen yakalama/işleme	Kısmi gelişmiş tübiloveziküler sistem
Damar dendritik hücreleri	Arterlerin intiması ve adventisyası	Antijen yakalama/işleme	Kısmi gelişmiş tübiloveziküler sistem ve Lag+ Birbeck granülleri
Parmaksı dendritik hücreler	Lenf düğümlerinin parakorteksi/dalak periarterioler lenfatik kılıf	Antijen sunumu	İyi gelişmiş tübiloveziküler sistem
Foliküler dendritik hücreler	Germinal merkezler	B hücre hafızasının regülasyonu	İyi gelişmiş tübiloveziküler sistem

(Yuri ve Bobryshev, 2010).

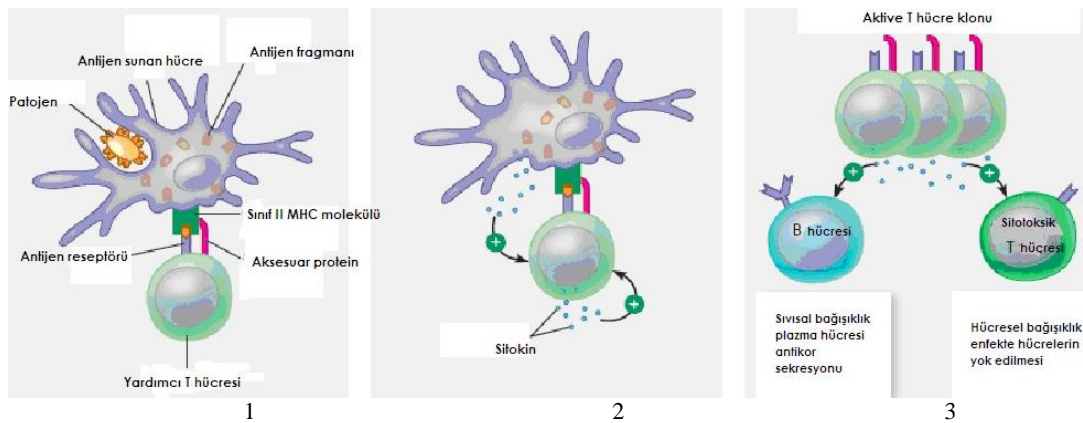
2.3. Tedavi

Koroner arter hastalığının tedavisi risk faktörlerinin azaltılması ile başlar. Öncelikle hipertansiyonun kontrolü, *Diyabetes Mellitus*'un regülasyonu ve kontrolü ve sigaranın bırakılması çok önemlidir. Bunun yanında sedanter yaşamdan aktif spor içeren bir yaşam şekline geçiş olmalıdır. Dengeli beslenme ve kilo kontrolü, obezite ile mücadele çok önemlidir. Yine majör risk faktörlerinden olan hiperlipidemi de agresif şekilde ortadan kaldırılmalıdır. Tedavide bir diğer aşama semptomların giderilmesine yönelik koroner vazodilatörlerin ve miyokard oksijen ihtiyacını azaltmak için beta blokör veya kalsiyum antagonistlerinin kullanımınıdır. Majör kardiyovasküler olayları önlemek amacı ile antitrombotik kullanımı (aspirin vb) aterosklerozun her aşamasında gündeme gelmesi gereken ajandır. Kararlı anjinal hastalarda medikal tedavi ile rahatlama sağlanamayan veya yüksek riskli hastalarda, koroner anjiyografi, koroner anjiyoplasti ve stent uygulaması da girişimsel tedavi seçeneklerini oluşturmaktadır (Smith, 2011). Koroner arter by-pass greft operasyonu da uygun vakalarda seçilen cerrahi tedavi yöntemidir. Tüm bunlara rağmen perkütan girişime ve cerrahiye uygun olmayan refrakter anjinal vakalarda EECP (*enhanced external counter pulsation*) ve transmiyokardial revaskülarizasyon diğer tedavi alternatifleri arasında yer almaktadır (Smith, 2011).

Kemik iliği kaynaklı ASH'ler özellikle lenfoid dokularda, deride ve mukozada bulunurlar. Langerhans hücreleri şeklindeki ASH'ler epidermiste bulunur ve özel granüllere sahiplerdir (Tennis raketi şeklinde bu granüllere "Birbeck granülleri" adı verilir. (Resimde gösterilmemiştir). Langerhans hücreleri MHC sınıf II moleküllerinden zengindir ve sunulan antijeni tanırlar. Aferent lenfatikler yoluyla direne oldukları lenf düğümlerinin parakorteksine göç ederler ("peçeli (*veiled*) hücreler" olarak görülürler). Parakortekste T hücreleriyle temas ederler. Parmaksı uzantıları olan bu DC'ler (*interdigitating* DC: IDC) lenf düğümünün T hücre bölgelerinde bulunur ve antijeni yardımcı T (Th) hücrelerine sunarlar. Antijen B hücresi folliküllerinde germinal merkezlerdeki folliküler dendritik hücrelerle (FDC) B hücelere sunulur. Bazı makrofajlar dış korteks ve marjinal sinüste yerleşerek ASH olarak etki ederler. Timusta ASH'ler, medullada IDC olarak görülür (HEV: Yüksek endotelial venül).

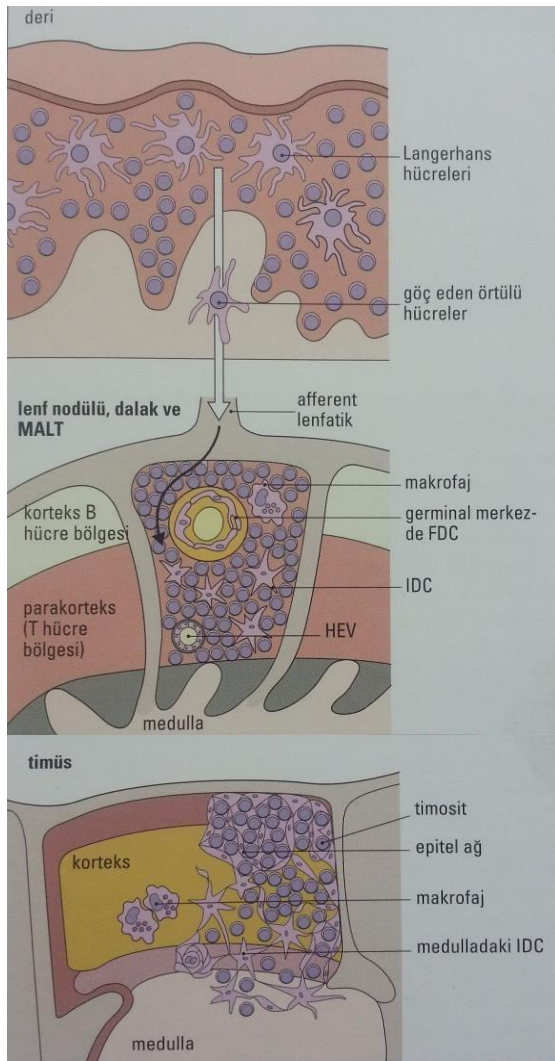
Profesyonel antijen sunan hücreler

Profesyonel ASH'ler dendritik hücreler, makrofajlar ve B hücreleridir. Naif T hücrelerine antijen sunarak yanıt başlatabilirler (Şekil 2.4). Bu hücreler uygun MHC molekülleri aracılığı ile kostimülatör yüzey moleküllerinin ekspresyonu ile birlikte antijenik peptid fragmanları sunarlar. Dendritik hücreler en önemli profesyonel antijen sunan hücrelerdir (ASH). Bu üç grup ASH içerisinde, DH'ler sürekli yüksek düzeyde kostimülatör B7 eksprese eden ve antijeni hem MHC Sınıf I hem de MHC Sınıf II molekülleri ile sunabilen tek ASH türüdür. Bu sayede hem CD8+ hem de CD4+ T hücrelerini doğrudan olarak aktive edebilirler.



Şekil 2.2. Yardımcı T (TH) hücrelerinin salgısal ve hücrel bağışıklıktaki ana rolü

1 Antijen sunan hücre patojeni yutar, parçalar ve antijenik peptid parçaları sınıf II MHC aracılığı ile hücre yüzeyinde sunar. Özgül yardımcı T hücresi bu kompleksle kendi antijen reseptörü ve aksesuar proteini olan CD4 ile bağlanır. 2 Yardımcı T hücresinin bağlanması ile antijen sunan hücre sitokin salgılar. Bu sitokinlerle birlikte yardımcı T hücresinin salgıladığı kendi sitokinleri; yardımcı T hücresini aktive eder ve çoğalmasına yol açar. 3 Hücre proliferasyonu ile aktive yardımcı T hücresi klonu oluşur. Klondaki tüm hücrelerin aynı antijenik epitopa karşı aynı reseptör kompleksi vardır. Aktive olan bu T hücreler, B hücreleri ve sitotoksik T hücreleri aktive eden diğer sitokinleri salgırlar (Cumpbell ve Reece, 2008).



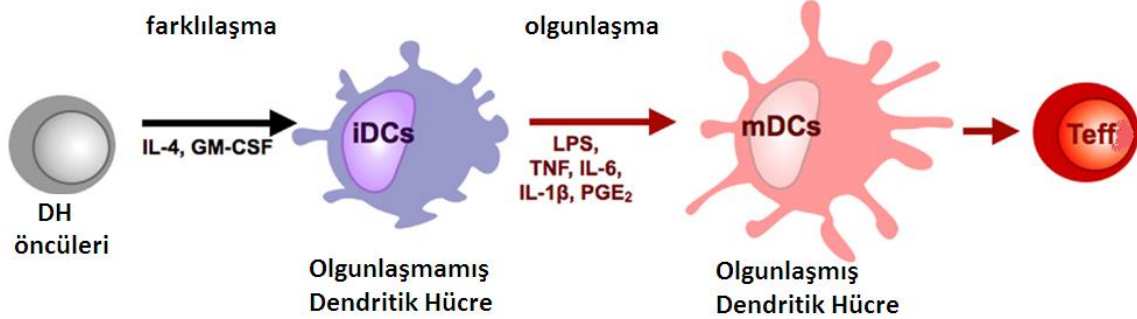
Şekil 2.3. Antijen sunucu hücrelerin lenfoid doku içerisine göçü (Roitt, 2008b)

Langerhans hücreleri derideki tipik antijen sunan hücrelerdir. Bu hücreler deriye giren antijenleri alır ve işlerler (Şekil 2.3). Langerhans hücreleri bölgesel lenf düğümünün parafoliküler kortikal bölgesine deri lenfatikleri ile gelirler. Bu hücreler etkili ASH'lere

dönüşür; Sınıf II MHC yüzey molekülleri ve kostimülator moleküller artar ve lenf düğümlerinde CD4⁺ T lenfositlerine antijen sunarlar.

Granülosit-makrofaj koloni-stimulan faktör (GM-CSF)

Miyeloid ve monositik hücre serisinin çoğalma ve farklılaşmasını sağlayan sitokindir. Dendritik hücreler, monositler, makrofajlar, granülositleri etkiler. GM-CSF lenfositler, monositler, fibroblastlar ve endotel hücreleri tarafından üretilebilir (Şekil 2.5). AIDS hastalarında, lökosit indüksiyonu için kemoterapiden sonra, anemi hastalarında, malign neoplazilerde hematopoetik hücrelerin çoğalma ve farklılaşmasını sağlamak amacı ile kullanılmaktadır. İnsan ve hayvan GM-CSF'si sırası ile 124-127 aminoasit içerir. Üretici gen insanlarda 5. kromozomun uzun kolunda yerleşmiştir. *In vivo*, GM-CSF hematopoezin kuvvetli uyarıcısıdır. Verilmesi ile birlikte kemik ağrıları ve influenza benzeri semptomlar oluşabilir. Düşük dozları nötrofil sayısını artırır. Klinikte otolog kemik iliği transplantasyonlarında nötropenik süreyi azaltmak ve ciddi enfeksiyonların önlenmesi amacıyla kullanılmaktadır.



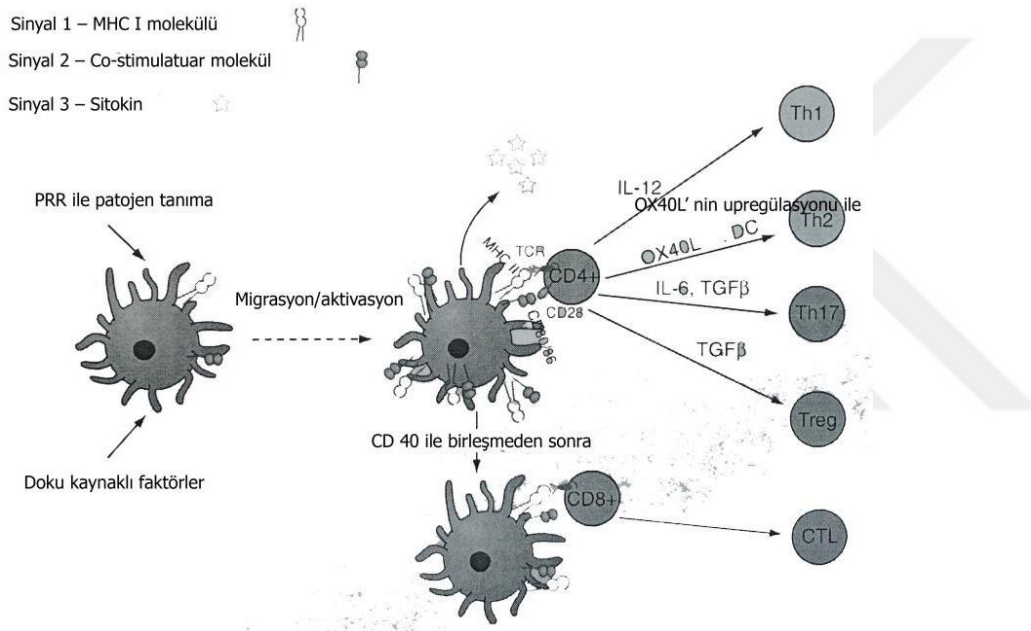
Şekil 2.4. Dendritik hücre oluşumu ve etkili sitokinler (Raker, Domogalla, ve SteinbrinkK. 2015)

Tolerojenik dendritik hücreler

Naif T hücrelerini aktive etmekten daha çok anerjik hale gelmelerini sağlar. Bunlar modülasyona uğramış dendritik hücreler olarak da kabul edilir ve Treg hücrelerinin çoğalmasını sağlar. *In vitro* dendritik hücre ve T supresör hücre eş kültüründe (düşük düzeyli GM-CSF, yüksek interlökin-10 veya TGF-β) bu modülasyon gerçekleşir.

Dendritik hücre immünoterapisi

Tümöre özgül immünoterapi araştırmaları sayesinde otolog DH immünoterapileri geliştirilme aşamasındadır. Dendritik hücreler, DH ana hücresinden laboratuvar ortamında üretilip tümör antijenleri ile yüklenip tekrar infüze edilmektedir. Yöntem viral ve nonviral vektörlerle kodlanmış genetik olarak değiştirilmiş DH'ler kullanılmasını öngörmektedir. Dendritik hücrelerin aynı zamanda primer tümör rezeksiyonundan sonra anti-tümöral tedavi amaçlı kişinin aşılanması için kullanılması öngörülmektedir. Bunun metastaza karşı koruyucu olması planlanmaktadır.



şekil 2.5. Adaptif immünitinin dendritik hücre ile yönlendirilmesi (Khan ve diğerleri, 2013a)

2.4. Adaptif İmmünitinin Dendritik Hücre İle Yönlendirilmesi

İmmatür dendritik hücreler Toll-benzeri reseptörlerle (TLRs), nükleotid bağlayan oligomerizasyon domain proteinleri (NOD) ile veya retinoik asit indüklenbilir gen I (RIG-I) benzeri reseptörler veya doku faktörleri ile aktive edilirler (şekil 2.6). Dendritik hücre aktivasyonu sonucu hücreler olgunlaşır ve sekonder lenf düğümüne göç ederler; burada naif T hücreleri ile etkileşirler. Sinyal 1 MHC Sınıf II kompleksinin artması ile düzenlenir. Sinyal 2 T hücreleri üstündeki CD80, CD86 ve CD28'in artması ile regüle edilir. Sinyal 3 DH tarafından üretilen IL-12, IL-23, TNF, IL-6, IL-1 β gibi sitokinlerle oluşturulur. Th1 cevabı çoğunlukla IL-12 tarafından yönetilir. Epitel hücreleri, mast hücreleri, bazofiller

timik stromal lenfopoitein (TSLP) salgırlarlar. Bu moleküller dendritik hücre üzerindeki OX40 ligand (OX40L)'ı indükler ve Th2 cevabı oluşturur. Dendritik hücreden TLR uyarımı ile salgılanan IL-6 Th17 cevabına yönlendirir. Proenflamatuvar sitokinlerin yokluğunda TGF- β ile Treg farklılaşması gerçekleşir. Dendritik hücreler ile CD4⁺ T hücreleri arasındaki CD40-CD40L ilişkisi ile dendritik hücreler CD8⁺ T hücrelerini uyarır.

Bu T hücre feed-back uyarısı dendritik hücrenin sitotoksik T hücrelerini (CTL) uyarması için esastır ve CD8⁺ bellek hücreleri oluşturulur.

Dendritik hücreler (DH) potent antijen sunan hücrelerdir. Tüm bağışık yanıtın düzenlenmesinde ve tolerans gelişiminde rol alan önemli hücrelerdir. DH'ler kemik iliği kaynaklı olup tüm vücut dokularında dağılmışlardır. Olgunlaşmamış hallerinde antijeni yakalayıp pek çok reseptör eksprese ederek bağışık yanıtı yönetirler. Self ve non-self antijenleri tanıyabilirler. Patojen-ilişkili moleküler paternler (PAMPs) veya tehlike ile ilişkili moleküler paternler (DAMPs) ile karşılaşma sonrasında olgunlaşma geçirirler. Bu olgunlaşma fenotipik, antijenik değişiklikler ile migrasyon ve lenf nodu göçüne sebep olur. Normal şartlar altında DH'ler özantijenlere karşı toleransta aktif rol oynamaktadırlar. Pek çok otoreaktif hücre timusta yok ediliyor olmakla birlikte diğerleri aktif olarak yaşam boyu tolerize edilmektedir.

Hali hazırda tüm dendritik hücre gruplarını belirleyen bir antijen alt tipi yoktur. Bu durum DH'lerin heterojenite ve çok değişik alt tipleri olmasından kaynaklanmaktadır (Çizelge 2.2). Örneğin; konvansiyonel DH'ler (cDC), plazmositoid DH'ler (pDC). Bu hücreler IL-12 ve IFN- α üretirler. Bu ayrışma DH'ler için ilk basit tanımlama olabilmektedir. Dendritik hücre heterojenitesi değişik DH gruplarının değişik dokularda değişik antijenik refleksiyonlarından kaynaklanmaktadır.

Çizelge 2.2. Miyeloid ve plazmositoid dendritik hücreler

	Miyeloid DC	Plazmositoid DC
Öncü hücrenin kökeni	Miyeloid(DC1)	Lenfoid(DC2)
Yerleşimi	Diffüz-epidermis,mukoza, timus ve ikincil lenfoid organlar ve dokuların T hücre bölgeleri	İkincil lenfoid organ ve dokuların kısıtlı T hücre bölgeleri
Miyeloid belirteçler	Çok bulunur	Yoktur
Üretilen karakteristik sitokinler	Temel olarak IL-8 ve IL-12	Temelde tip I interferonlar (zarflı virüslere karşı üretilir)

(Ivan Roitt, 2008a)

2.4.1. Konvansiyonel dendritik hücreler (cDCs) (KDH)

Konvansiyonel DH'ler veya miyeloid DH'ler buldukları yerlere, işlevlerine ve fenotiplerine göre değişik isimler alırlar (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3. Dendritik hücre alt-tipleri ve özellikleri

Konvansiyonel Dendritik Hücreler(cDCs)						
		Dermal DH' ler		Kan DH' leri		
Subtipler	Langerhans Hücreleri	CD14+	CD1a+	BDCA1+	BDCA3+	Plasmositoid DH' ler(pDCs)
TLR	TLR1,2,3,6,10	TLR2,4,5,6,8,10	TLR2,3,4,5	TLR1,2,3,4,5 6,7,8,10	TLR2,3,8	TLR7,9
C-tiplektinler	Langerin	DC-SIGN, DEC-205 LOX-1, CLEC-6	Langerin, DEC-205	DEC-205 BDCA-1	CLEC9A BDCA-3	BDCA-2
Sitokin Üretimi	IL-12, IL-15, IL-23, IL-6, TNF, IL1 β					IFN- α , β , IL-6, TNF
Fonksiyon	Antijen spesifik CD4+, 8+ T hücreleri, B hücreleri ile etkileşme; NK aktivasyonu, yardımcı T diferansiyasyonu					IFN- α ile Tregs indüksiyonu plazma hücre indüksiyonu NK aktivasyonu

(Khan ve diğerleri, 2013c)

KDH'ler yüksek fagositik aktiviteli ASH'lerdir. Yüksek miktarda sitokin salgırlar (Steinman ve Banchereau, 2007). Bu hücreler miyeloid belirteçler (CD11c, CD33, CD13) ve yüksek düzeyde MHC sınıf I ve sınıf II antijenleri ile CD80 ve CD86 kostimulatör molekülleri eksprese ederler. Bu hücreler dolaşımda; tüm periferik dokularda ve lenfoid organlarda bulunabilirler. Bunlar yüksek düzeyde migratuvar hücrelerdir. Olgunlaşma ile birlikte CCR7 eksprese ederler ve bu sayede dokudan lenfoid organların T hücre zonlarına ve subkapsüler sinüslerine göç ederler. Lenf düğümlerinde KDH'ler T hücre cevabını regüle ederler (tolerans indüklerler veya anerji oluşturular). KDH'ler çok miktarda IL-12 üretir ve naïf T hücrelerini Th1'e yönlendirirler. KDH'ler buldukları yerlere (lokasyonlarına) göre 3 kategoriye ayrılabilirler: (1) Periferik doku elemanları (örneğin; deri); (2) Sekonder lenfoid doku elemanları, (3) Dolaşımdaki KDH'ler (Klechevsky, Liu, ve Morita 2009). Cilt dokusunda 3 tip KDH tanımlanmıştır: Epidermiste sadece Langerhans hücreleri (LH), dermiste CD1a+ ve CD14+ KDH'ler vardır.

2.4.2. Langerhans hücreleri (LH)

Langerhans hücreleri epidermiste bulunurlar. CD1a ve C-tip lektin reseptörü (CLR), langerin (CD207) bulundurlar. LH'ler "Birbeck granülleri" içerirler (Hunger, Sieling, Ochoa, Sugaya, Burdick, Rea, Brennan, Belisle, Blauvelt, Porcelli ve Modlin, 2004). Normal şartlar altında immatür LH'ler lenf düğümüne göç ederek T hücre toleransını indüklerler. İnflamasyon durumunda LH'ler MHC II, CD40 (eş uyaran molekül) ve CCR7 moleküllerini artırır. Farelerde LH'lerin kendini yenileyebildiği ve normal şartlar altında kemik iliğinden transferle yenilenmediği gösterilmiştir (Jaensson, Uronen-Hansson, Pabst, Eksteen, Tian, Coombes, Berg, Davidsson, Powrie, Johansson-Lindbom ve Agace, 2008).

2.4.3. Dermal dendritik hücreler (DDH)

CD14⁺ dermal DDH'ler değişik C-tip lektinleri içerirler. Örneğin; DEC-205 (Çizelge 2.3). CD40⁺ B hücrelerinin Ig-M üreten plazma hücrelerine dönüşmesini sitokin sekresyonu ile (IL-12) ve doğrudan hücre-hücre teması ile sağladığı gösterilmiştir (Klechevsky, Liu, Morita ve Liu, 2008). CD14⁺ DDH'ler CD4⁺ T hücrelerini folliküler tip yardımcı T (Tfh) hücrelerine yönelttiği ve böylece naif T hücrelerine büyük miktarlarda immünoglobulin salgılattığı gösterilmiştir (Klechevsky ve diğerleri, 2008). CD1a⁺ DDH'ler BDCA-1 antijeni eksprese ederler ve derminin üst tabakasında bulunurlar. Fenotipik olarak Langerhans hücreleri (LH) ile benzerdir. Fakat Langerin ve E-catherin eksprese etmezler (Klechevsky ve diğerleri, 2009). Uyarı ile Th2 cevabını ve sitotoksik T lenfosit (CTL) yanıtını arttırırlar.

2.4.4. Lenfoid doku dendritik hücreleri (LDH)

Bu tip DH'ler tonsiller, lenf düğümleri ve dalakta bulunurlar. İntestinal LDH'lar lamina propriada, Peyer plaklarında, katı lenfoid dokuda ve mezenterik lenf düğümlerinde bulunurlar (Jaensson ve diğerleri, 2008). BDCA-3⁺ ve CD103⁺ dirler. BDCA-3⁺ (CD141) LDH'ler fare CD8 α ⁺ DH'lerin karşılığı olduğu düşünülmektedir (Poulin, Salio ve Greissinger 2010; Jongbloed, Kassianos, McDonald, Clark, Ju, Angel, Chen, Dunbar, Wadley, Jeet, Vulink, Hart ve Radford, 2010). (Çizelge 2.4). Bu DH'ler lenf düğümlerinde, tonsillerde, kemik iliğinde ve dalakta T hücre zonlarında bulunurlar. Fakat bu hücreler kanda bulunan DH tiplerinin en az görülenleridir. Bu hücreler Toll-benzeri reseptör (*Toll-like receptor*: TLR)-3 eksprese ederler. Bu DH'ler ölü hücreleri fagosite eder, antijenleri sindirir ve CD8⁺ T hücrelerine sunarlar. CD8⁺ T hücrelere antijenin bu şekilde

sunulması; kanser hücrelerinin, virüslerin ve diğer tüm patojenlerin ölümünü sağlayan yolak olduğu için son derece önemlidir. Bu nedenle BDCA- 3⁺ DH'ler kanser aşısı araştırmalarının hedefindeki temel hücredir.

CD103+ Dendritik Hücreler

Bu DH'ler bağırsaklardaki (intestinal) lenf düğümlerinde bulunurlar. CCR9 ve $\alpha 4\beta 7$ bağırsak reseptörleri içerirler. Naif CD4⁺ T hücrelerinin regülatör T hücrelerine (T-reg) geçişi sağlarlar (Coombes, Siddiqui, Arancibia-Carcamo, Hall, Sun, Belkaid ve Powrie, 2007).

Çizelge 2.4. İnsan ve fare örneklerinde önerilen DH boya kombinasyonları

FARE DENDRİTİK HÜCRELERİ			
DH Kaynağı	DH Tipi	MACS Hücre Ayrıştırma Ürün Katalogları	Akım Ölçer Analizleri Pozitif Belirteçler Negatif Belirteçler
DALAK	CD4 ⁺ Görülme sıklığı %0.5-%0.9	CD4 ⁺ Dendritik hücre izolasyon kiti, fare(130-091-262)	CD11c Mikroboncuklar, fare (130-052-001) CD8 mPDCA-1(BST-2)
	CD8 ⁺ Görülme sıklığı %0.5-%0.9	CD8 ⁺ Dendritik hücre izolasyon kiti, fare(130-091-169)	CD11c Mikroboncuklar, fare (130-052-001) CD8 CD11b MHC II Clec9A SiglecH CD4 mPDCA-1(BST-2)
	CD4 ⁺ CD8 ⁻ Görülme sıklığı %0.7-%0.9		Pan DC Mikroboncuklar, fare (130-092-465) CD11c Mikroboncuklar, fare (130-052-001) CD8 CD11b MHC II CD4 CD8 mPDCA-1(BST-2) SiglecH CD207
	PDH'ler Görülme sıklığı %0.7-%0.9	Plazmositoid dendritik hücre izolasyon kit II, fare(130-092-786) Anti-mPDCA-1 Mikroboncuklar Fare(130-091-965)	mPDCA-1(BST-2) Siglec-H CD11c CD45R(B220) Ly 6c CD11b
*Fare türüne, yaşa, hazırlama metodu ve diğer parametrelere bağlı olarak			
EPİDERMİS	LH Langerhans Hücreleri	Epidermal Langerhans Hücreleri Mikroboncuk Kiti, fare(130-095-408)	CD207 CD11c CD11b MHC II CD205 CD326(EpCAM) CD3 CD103
DERMİS	CD205 CD207 ⁺ dermal DH	CD11c Mikroboncuklar, Fare(130-052-001)	CD11c CD207 CD103 HLA-DR CD11b
	CD207 ⁻ dermal DH		CD11c CD205 CD11b HLA-DR CD207
AKCİĞER	Geleneksel Kalıcı DC'ler	CD11c Mikroboncuklar, fare(130-052-001) Pan DC Mikroboncuklar, fare(130-092-465)	CD11c CD103 CD207 CD11b
	PDH'ler	Anti-mPDCA-1 Mikroboncuklar fare(130-091-965)	CD11c SiglecH mPDCA-1 CD11b
LAMİNA PROPRIYA	DH öncülünden üretilmiş DH'ler	CD11c Mikroboncuklar, fare(130-052-001) Pan DC Mikroboncuklar(130-092-465)	CD11c CX3CR1 CD103 CD207 CD11b HLA-DR
	Monositten üretilmiş DH'ler	CD11c Mikroboncuklar, fare (130-052-001)	CD11c CX3CR1 CD11b HLA-DR CD103 CD207

Çizelge 2.4. (devam) İnsan ve fare örneklerinde önerilen DH boya kombinasyonları

İNSAN DENDRİTİK HÜCRELERİ				
DH Kaynağı	DH Tipi	MACS Hücre Ayırıştırma Ürün Katalogları	Akım Ölçer Analizleri Pozitif Belirteçler Negatif Belirteçler	
KAN	MDH1 (Miyeloid DH Tip 1) PKMNH'ler İçinde Görülme Sıklığı %0.3-%0.8	CD1c(BDCA-1)Dendritik Hücre İzolasyon Kiti,insan (130-090-506)	CD1c(BDCA-1) HLA-DR CD11c CD19 Clec9A LIN(CD3,CD14, CD19,CD56) CD123	
	MDH2 (Miyeloid DH Tip 2) PKMNH'ler İçinde Görülme Sıklığı %0.02-%0.06	CD141(BDCA-3) Mikroboncuk Kiti, insan(130-090-512)	CD141(BDCA-3) CD1c(BDCA-1) Clec9A LIN(CD3,CD14, HLA-DR CD19,CD56) CD11c CD14 CD123	
	PDC (Plazmasitoid DH) PKMNH'ler içinde görülme sıklığı 0.3%-0.8%	Plazmasitoid Dendritik Hücre İzolasyonu Kiti II, insan(130-097-415) Diamond Plazassitoid Dendritik Hücre Kiti II, insan(130-097-240)	Kan Dendritik Hücre İzolasyonu Kiti, insan (130-091-379)	PKMNH'leri: CD303(BDCA-2) or CD11c CD304(BDCA-4) IN(CD3,CD14, CD123 CD19,CD56 ILT7 HLA-DR
		CD304(BDCA-4/Neuropilin-1) Mikroboncuk Kit, insan(130-090-532)		Lenfoid kodu: CD303(BDCA-2) CD11c CD123 LIN(CD3,CD14, CD19,CD56)
		CD303(BDCA-2) Mikroboncuk Kit, insan((130-090-509)		Bone marrow: CD303(BDCA-2) CD34 CD45RA IN(CD3,CD14, CD19,CD56)
	DERİ	LC'leri (Langerhans Hücreleri)	CD1A Mikroboncuk Kit, insan(130-051-001)	CD207 CD3 CD1a CD205 CD45 CD1a HLA-DR CD324(E-Cadherin) CD326(EpCAM) CD45 CD11c
İN-VİTRO ÜRETİLMİŞ DH'LER	iMo-DH'ler (Monositin üretilmiş Olgunlaşmamış DH)	CD14 Mikroboncuklar, insan(130-050-201) Monositizolasyon Kiti II, insan (130-091-153)	CD209 CD14 CD1c(BDCA-1) CD83 CD304(BDCA-4) CD1a HLA-DR	
	mMo-DH'ler (Monositin üretilmiş Olgunlaşmış DH)	Pan Monosit İzolasyon Kiti, insan (130-096-357) CD34 Mikroboncuklar, insan (130-046-702)	CD83 CD14 CCR7 CD209 CD40 CD86 HLA-DR CD80	
	HSC-DCs (Hematopoetik kök hücreden Üretilmiş DH)		CD1a LIN(CD3,CD14, CD19,CD56) CD34 HLA-DR BDCA-4(Neuropilin-1) CD1c CD11c	

(www.miltenyibiotech.com/cellanalysis)

İnsan ve fare örneklerinde önerilen DH boya kombinasyonları yeşil/kırmızı ile belirtilmiştir. Ekstra yüzey belirteçleri siyah ile belirtilmiştir. Kolay flow-sitometrik DH

alt-tiplerinin tanımlaması için gerekli yüzey belirteçleri (*The blood dendritic cell enumeration kit*) listelenmiştir.

2.4.5. Kanda dolaşan dendritik hücreler

Kanda hem KDH hücreleri hem de Plazmositoid DH'ler (PDH) bulunmaktadır. KDH'ler önce enflamasyon alanına göç eder, oradan da sekonder lenfoid dokuya giderler. Fizyolojik rolü dolaşımdaki patojenleri yok etmek ve doku DH'lerini yenilemektir. KDH'ler iki alt-gruba ayrılabilir: BDCA-1 (CD1c), CD16⁺ ler ve BDCA-3⁺ ler. Monositlerin de DH'ye dönüştüğü *in vivo* ve *in vitro* gösterilmiştir.

2.4.6. Monosit kökenli dendritik hücreler (moDH'ler)

Monositler makrofaj öncülüdür ve dendritik hücreye dönüşebilirler (moDCs: *Monocyte-derived dendritic cell*). Monositler, GM-CSF ve IL-4 varlığında, DH morfolojisi kazanırlar, enflamatuvar sitokinler üretirler ve T hücrelerini aktive ederler ([Şekil 2.3.](#)).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda farelerde LPS uyarımının monositleri moDH'ye dönüştürdüğü gösterilmiştir (Cheong, Matos, Choi, Dandamudi, Shrestha, Longhi, Jeffrey, Anthony, Kluger, Nchinda, Koh, Rodriguez, Idoyaga, Pack, Velinzon, Par, ve Steinman, 2010). Kan monositleri enflamasyon anında göç eden DH'lerin rezervuarı olabilir.

2.4.7. Plazmositoid dendritik hücreler (PDH)

Plazmositoid DH'ler yüksek düzeyde tip I IFN üretebilirler. PDH'ler periferik kanda, timusta, pek çok lenfoid dokuda bulunabilirler. PDH'ler plazma hücresi morfolojisi göstermektedirler. Oldukça fazla miktarda endoplazmik retikulumları vardır, CD4 ve yüksek düzeyde CD123 eksprese ederler. Ancak CD11c gibi miyeloid belirteçleri bulundurmazlar (*Lineage* (soy-nesil) belirteçleri). Yüksek miktarda IFN- α salgırlar fakat IL-12 salgılamazlar. Zayıf antijen yakalama kapasitesine sahiptirler. Aktive olmaları ile birlikte KDH'ler gibi karakteristik özellik oluştururlar (dendritik morfoloji, MHC sınıf II ekspresyonu) fakat naif T hücrelerini uyarma kapasiteleri düşüktür (Soumelis ve Liu, 2006). Plazmositoid DH'ler naif T hücrelerini Th1 yolağına yönlendirebilir, ama aynı zamanda Treg hücrelerini aktive edebilirler. SLE (sistemik lupus eritamotoz) hastalığının

ve HIV enfeksiyonunu immunopatogenezinde böyle olduğu düşünülmektedir (Manches, Munn ve Fallahi 2008).

2.5. Dendritik Hücrelerin Arter Dokusundaki Yerleşimi

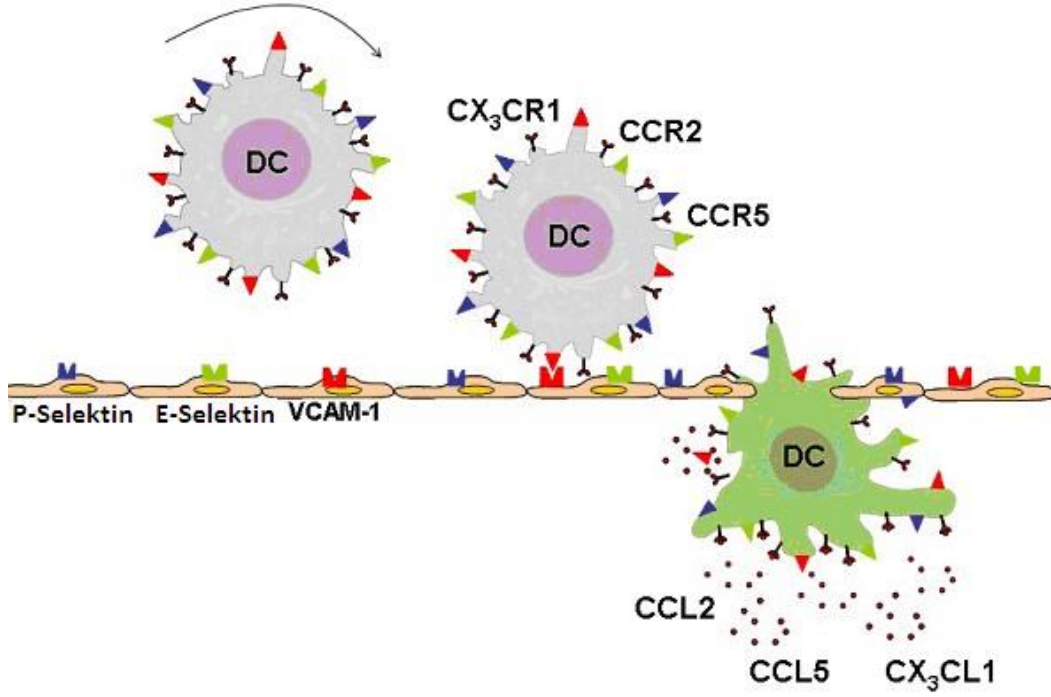
Dendritik hücreler, sağlıklı arter yapısında, tipik olarak subendoteliyal bölgede ve media adventisya birleşkesinde bulunurlar (Ma-Krupa, Jeon, Spoerl, Tedder, Goronzy ve Weyand, 2004; Pryshchep, Ma-Krupa, Younge, Goronzy ve Weyand 2008). Arteriyel duvar bütünlüğünde ve T hücrelerin susturulması ile otoantijen toleransında önemli rolleri bulunmaktadır (Steinman, Hawiger, Liu, Bonifaz, Bonnyay, Mahnke, Iyoda, Ravetch, Dhodapkar, Inaba ve Nussenzweig, 2003). Bununla birlikte, vasküler DH aktive olduklarında T hücrelere doğrudan otoantijen sunumu yaparak damar duvarında enflamatuvar sürecin başlamasına yol açarlar.

DH'lerin vasovazorumlara komşu bölgelerde lokalize olması damar duvarına en önemli giriş yolunu gözetmelerine, eksojen ve endojen stres faktörlerini kontrol etmelerine olanak sağlar. Millionig ve diğerleri aterosklerozun erken dönemlerinde yüksek türbülans akıma maruz kalan bölgelerde DH varlığını göstermişlerdir (Millonig, Niederegger, Rabl, Hochleitner, Hofer, Romani ve Wick, 2001). Bobryshev ve diğerleri ise ilk kez DH'lerin aterosklerotik plakta toplandığını göstererek hastalığın seyrinde önemli bir yeri olacağını ileri sürmüşlerdir (Bobryshev ve Lord, 1995). Yılmaz ve diğerleri de DH'lerin özellikle yırtılmaya eğilimli (stabil olmayan) aterosklerotik plaklarda bulunduğunu göstermişlerdir. Benzer şekilde Niessner ve diğerleri (Niessner ve Weyand, 2010a). DH'lerin anstabil plaklarla ilişkili olduğunu gösterdiler. Karotis arter hastalığında; semptomatik olan hastalarda daha fazla DH yoğunluğu bulunduğu gösterilmiştir (Kawahara, Kitagawa, Tsutsumi, Nagata, Hayashi ve Koji, 2007). Dendritlerin görüntülenmesine ilave olarak, aterosklerotik plakta DH varlığı; CD11c, Cd1a, CD83 ve DC-SIGN gibi belirteçler kullanılarak gösterilmiştir (Hansson, 2006; Bobryshev, 2005).

2.6. Dolaşımdaki Dendritik Hücre Havuzu

Sağlıklı kişilerde DH'ler, kanda dolaşan mononükleer hücrelerin %0,3'ünü oluşturmaktadır (Yılmaz, 2006). Stabil koroner arter hastalığında, sağlıklı kişilere göre, dolaşımdaki DH sayısı ile ilgili çelişkili yayınlar bulunmaktadır (Shi, 2007; Yılmaz, 2008).

Akut koroner sendromu tablosunda dolaşımdaki DH sayısı azalırken, hassas aterosklerotik plakta DH birikimi görülür (Yılmaz, 2006). Ancak bu, dolaşımdaki DH'lerin tamamen aterosklerotik plak tarafından tutulduğu anlamına gelmemelidir. Enflamatuvar süreçte DH'lerin lenfoid dokuya göçü gerçekleşmektedir. Ateroskleroda önemli rol oynayan lipid profili DH dağılım ve dokuda birikme sürecinde rol alabilir (Angeli, 2004).



Şekil 2.6. Dentritik hücrelerin aterosklerotik lezyona girişi (Niessner ve Weyand, 2011)

Adezyon ve kemotaksi olayları DH'lerin enflamatuvar ateroma invazyonu için gerekli süreçlerdir. P-selektin, E-selektin, VCAM-1 gibi adezyon molekülleri DH'lerin mikrovasküler yatağa tutunması için gereklidir (Şekil 2.7). (Bobryshev, 1996; Alvarez, 2008). Hipoksi, okside LDL, TNF- α ve endotelial NOS'ın inhibisyonu DH'lerin endotele adezyonunu artırır (Weis, 2002). DH'lerin hasarlı damara adezyonunda, lezyonu kaplayan trombositler de rol alırlar (Langer, 2007). Bunun aksine; statin tedavisinin de DH adezyonunu azalttığı gösterilmiştir (Kofler, 2008). Dentritik hücrelerin damar duvarına tutunmasını takiben mikroinvazyonu devam ettirmesi için kemotaktik uyarımlar gereklidir. Liu ve arkadaşları, fraktalkinin de DH'lerin aterosklerotik plakta toplanmasını sağlayan önemli bir kemokin olduğunu gösterdiler (Liu ve diğerleri, 2009). Fraktalkin reseptörü CXRCR1'nin eksikliğinde aterosklerozun ve DH birikiminin azaldığı gösterilmiştir. Dolaşımda bulunan monositler de transformasyonla DH'lere dönüşebilmektedirler. Bu

dönüşüm, granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) aracılığı ile olmaktadır (Shortman, 2007).

2.7. Dendritik Hücre Aktivasyonu

Hasarla ilgili moleküler değişikliklerden sonra DH aktivasyon kaskadı başlar. DH'ler doğal (*innate*) immün sistem mediatörlerini üretmeye başlar; CD40, CD80, CD86 gibi eş uyaran molekülleri eksprese ederler (Wang, 2008). Bunlara ek olarak en çok incelenen Toll-benzeri reseptörlerdir (TLR) (Çizelge 2.5). TLR4 aterosklerozun başlamasında ve ilerlemesinde başlıca rol oynar. Akut koroner sendromlu hastalarda TLR4'ün DH'lerin aktivasyonunu ve olgunlaşmasını sağladığı gösterilmiştir (Wang, 2008).

Çizelge 2.5. Aterosklerotik hastalıkta dendritik hücre aktivasyonu yapan immunolojik aktivasyon belirteçleri

Reseptör	Ligand	Kaynak
TLR2	Lipoproteinler, Peptidoglikanlar, Lipoteikoik asit	Gram-pozitif bakteriler, Mikoplazma ve diğer patojenler
	?	CMV(Sitomegalovirüs)
	?	HSV(Herpes simpleks virüs)
	Isı şoku proteini 60	İnsan ve Chlamydia spp.
	Lipopolisakkaritler	Porhyromonas gingivalis
TLR3	Çift sarmallı RNA	Virüsler
	?	CMV(Sitomegalovirüs)
TLR4	Lipopolisakkaritler	Gram-negatif bakterilerin dış membranları
	Lipoteikoik asit	Gram-pozitif bakteriler
	Protein F	RSV(Solunum sinsityal virüsü)
	Isı şok proteini 60	İnsan ve Chlamydia spp.
	Dış membran proteini?	İnsan ve Chlamydia spp.
	Okside LDL (ox-LDL) (İnhibitör rol?) Minimal modifiye olmuş LDL	İnsan
	Fibronektin Ekstra Domain A	İnsan
TLR5	Filajellin	Flajelli bakteriler ör:Salmonella spp.
TLR7	Tek sarmallı RNA	Virüs
TLR9	Metillenmemiş CpG motifleri	Bakteri DNA'sı
	CMV, HSV, Hepatit B virüs DNA'ları	Virüs
	İnsan DNA'sı?	Apoptotik hücreler?

(Niessner ve Weyand, 2010b)

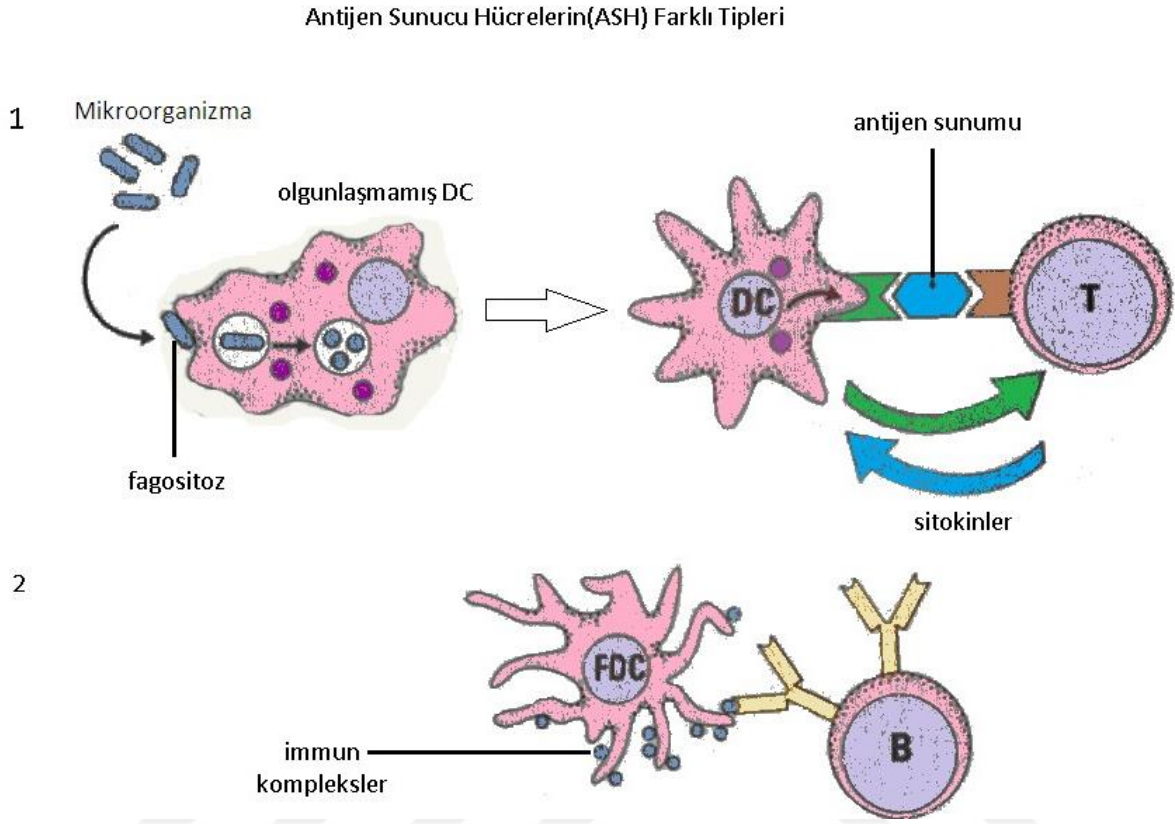
Akut Koroner Sendrom (AKS) hastalarında dolaşan DH'lerde aktivasyon belirteçlerinin spontan ekspresyonu, DH'lerin stimülatör ligandlara maruz kaldığını düşündürmektedir. Bakteriyel fragmanlar, örneğin, LPS (lipopolisakkarid); okside LDL ve ısı şoku proteinleri TLR4 tarafından tanınır ve takip eden sinyal kaskadını aktive ederler. Bununla birlikte okside LDL'nin TLR aktivasyonunu inhibe edebileceği de gösterilmiştir (Schlieffen, 2008).

Dislipidemi lokal enflamasyonu artırıcı yönde etki gösterirken, ileri dislipidemi TLR reseptörleri üzerinden efektör sitokinlerin üretimini inhibe edebilir (Shamshiev, 2007). Yüksek konsantrasyondaki okside LDL, artmış apoptoza bağlı olarak DH aktivitesinde azalmaya yol açabilir (Alderman, 2002). Nikotinin de güçlü bir DH uyarıcısı olduğu gösterilmiştir (Aicher, 2003). Trombositler de DH aktivasyonunu ve DH-bağımlı lenfosit proliferasyonunu uyarmaktadır (Langer, 2007).

2.8. Dentritik Hücrelerin Plak Stabilize Edici Etkisi

Dentritik hücrelerin yapay damara eklenmesi CD4+T hücre infiltrasyonuna yol açmaktadır (Han, 2008). Dentritik Hücreler IL-12 salınımına da neden olur; salınan bu IL-12, CCR5 reseptörleri aracılığı ile T hücre fonksiyonunu etkiler ve T hücrelerin aterosklerotik plakta toplanmasına neden olur. Diltiazem'in DH'lerde IL-12 üretimini azaltarak DH bağımlı T hücre aktivasyonunu azalttığı gösterilmiştir (Bachetoni, 2002). Aterosklerotik plaklarda T hücreleri DH'lerle yakın komşuluk içindedir (Bobryshev, 1998). DH'ler profesyonel ASH'ler olarak; IFN- γ üretimi ile ölçülen T hücre şartlanmasında (*priming*) anahtar role sahiptir (Han, 2008).

2.9. Antijen Sunan Hücreler

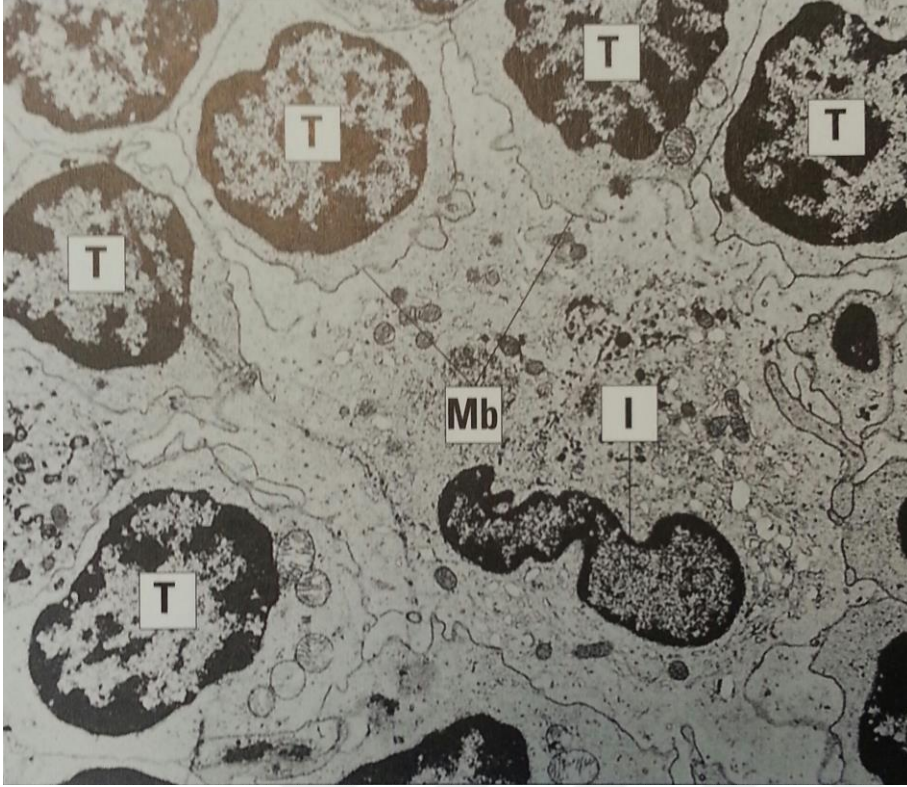


Şekil 2.7. Antijen sunucu hücrelerin lenfoid doku içerisine göçü (Roitt, 2008b)

Özelleşmiş ASH'lerin iki tipi; dendritik hücreler (DH) ve folliküler dendritik hücrelerdir (FDH). 1. Olgunlaşmamış DH'ler kemik iliğinden kaynaklanır ve temel olarak T hücrelerle etkileşir. Bu hücreler oldukça fagositiktir; mikropları içlerine alır, yüzeylerindeki özelleşmiş MHC molekülleriyle yabancı mikrobik antijenleri sunar ve olgun ASH haline gelirler (Şekil 2.8). Özgül T hücreler işlenip sunulan antijeni tanır ve olgun DH'lerden üretilen sitokinlerin varlığında çoğalır ve kendi sitokinlerini üretirler.

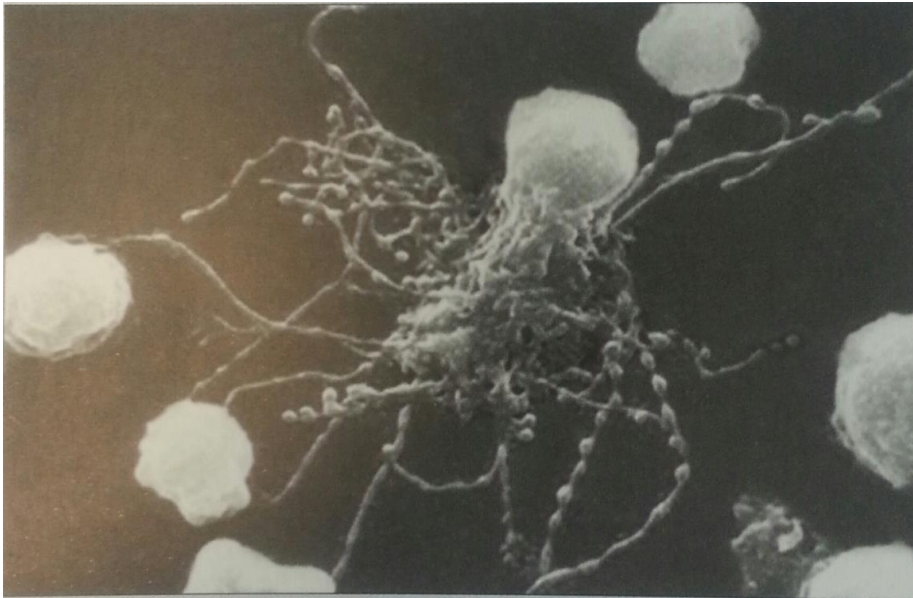
2. Foliküler Dendritik Hücreler(FDH) kemik iliği kaynaklı değildir ve B hücrelerle etkileşirler. Lenfoid organ ve dokuların foliküllerinde küçük immün komplekslere (ikkozom: IC) bağlanır.

İkkozomların içerdiği antijen lenfoid folliküllerde özgül B hücrelere sunulur. Bu durum B hücreleri ölümden korur. Böylece B hücreler çoğalır ve T hücrelerin yardımıyla follikülü terk ederek plazma veya hafıza B hücrelerine farklılaşırlar.



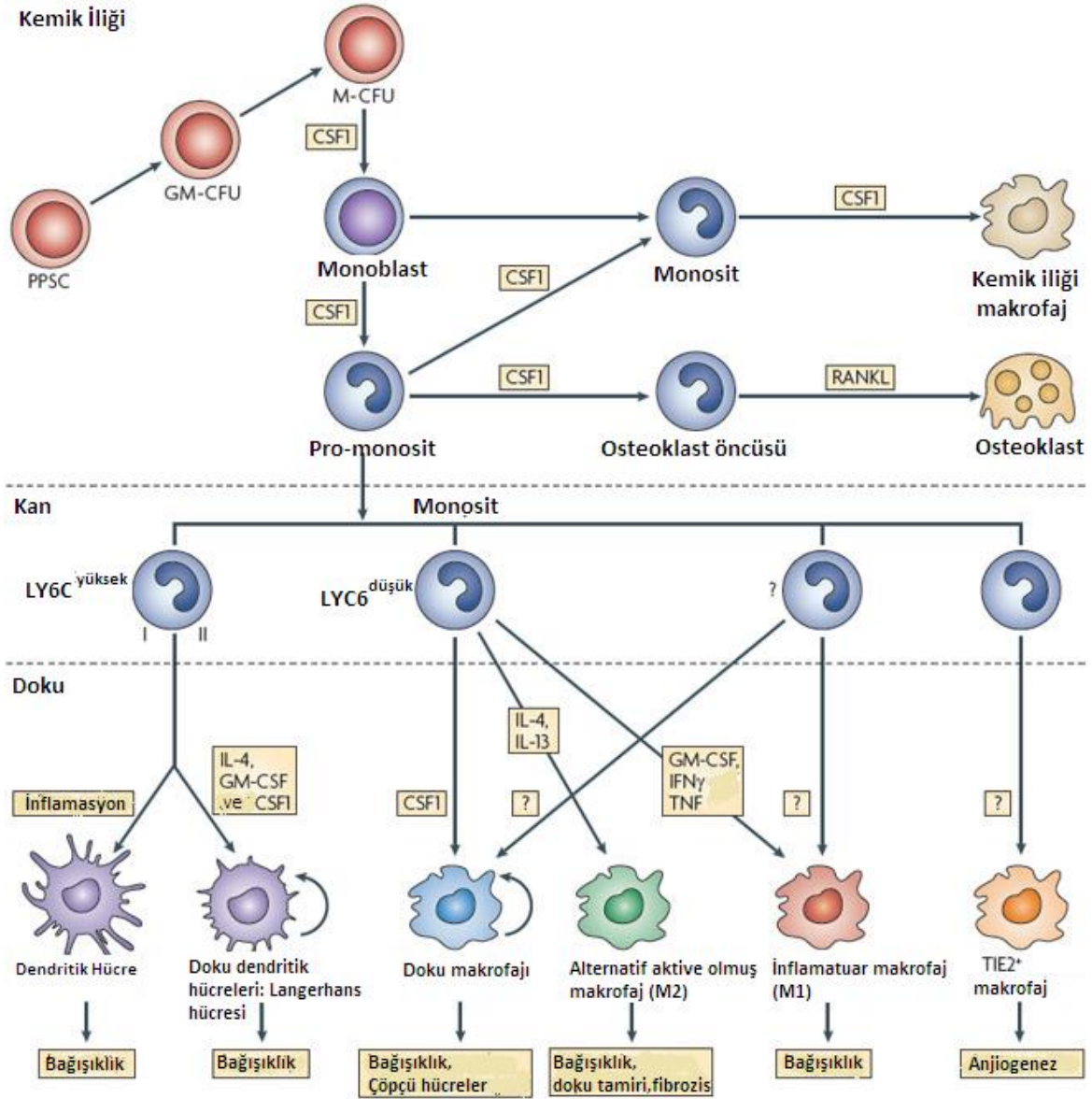
IDC'ler ve onları çevreleyen T hücrelerin membranları yakın temas halindedir. Sitoplazması iyigelişmiş bir endozomal sistem içerir ve deri Langerhans hücrelerindeki karakteristik Birbeck granüllerini göstermez. X2000 büyütmede gösterilmiştir(I:IDC nükleusu, Mb:IDC membranı, T:T hücre nükleusu) (Dr. BH Balfour'dan alınmıştır).

Resim 2.2. Bir sıçan (rat) lenf düğümünün T hücre bölgesindeki interdijite dendritik (IDC) hücrelerin ince yapısı (Roitt, 2008c)



Antijenin 24 saatlik enjeksiyonundan sonra immünize olmuş bir farenin lenf düğümünden izole edilen bir folliküler dendritik hücre (FDH). Tipik düz filiform uzantıları olan bu genç FDH orta derecede olgunluktadır, olgun FDH'lerde ikkozomların (küçük immün kompleksler) oluştuğu yerlerde yuvarlaklaşmış uzantılar vardır. Bunlara tutunan küçük beyaz hücreler lenfositlerdir (Elektron mikroskopi, Dr. Andras Zakal'dan Journal of Immunology'nin izni ile alınmıştır).

Resim 2.3. Folliküler dendritik hücre (Roitt, 2008e)



Şekil 2.8. Hücre gelişim basamakları (Pollard, 2009)

2.10. Dendritik Hücre Gelişimi

Günümüzde PDH'lerin ve KDH'lerin kökeni henüz tartışmalıdır. Bu hücreler, sırasıyla, genel lenfoid öncüllerden (CLP) ve genel miyeloid öncüllerden (CMP) gelişmektedirler (Şekil 2.9). Bu iki öncül hücre hematopoez sırasında farklı ön hücrelerden gelmektedir. Dendritik hücre öncülleri diğer hemapoietik öncüller gibi patojenden bağımsız yolak olan $CD34^+$ hemapoietik kök hücre (HSC)'den kemik iliğinde üretilir (Şekil 2.9). Dendritik hücre gelişimi; hemapoietik kök hücreden (HSC), makrofaj kökenli öncü (MDP) DH'ye kadar ve genel DH öncüsüne (CDP) kadar pek çok basamak içermektedir. Proliferatif CDP'ler daha sonra DH öncülerine (pre-DC) dönüşmektedir.

2.10.1. Olgunlaşma

Dinlenme halinde olan olgunlaşmamış DH'ler yüksek antijen yakalama kapasitesi sergilemektedirler. Olgunlaşma ile birlikte DH'ler fenotipik ve fonksiyonel değişiklikler gösterirler (Şekil 2.6). İmmatür DH'ler (imDC) antijeni, fagositozla, makropinositozla ve Fc reseptörü (Fcγ reseptör tip I (CD64) ve tip II (CD32)), integrinler ($\alpha V\beta 3$ veya $\alpha V\beta 5$, C-tip lektinler (DEC-205), Toll-benzeri reseptörler (TLR), nükleotit bağlayan oligomerleşme bükümleri (NOD) proteinleri kullanarak endositozla yakalarlar (Çizelge 2.3). Olgunlaşmadan sonra kemokin reseptörleri, adezyon molekülleri ve kostimülatuar moleküller eksprese ederler ve DH'ler sekonder lenfoid organlara göç ederek orada T hücreleri ile etkileşirler (Şekil 2.4).

Uyarı ile DH'lerin CCR7 molekülleri çoğalır ve bu uyarı onları lenfoid dokunun T hücre alanına yönlendirir (Scholer, Hugues, Boissonnas, Fetler ve Amigorena, 2008) (Çizelge 1.1). Olgunlaşmış DH'ler yüksek düzeyde MHC molekülleri ve T hücre kostimülatör molekülleri eksprese ederler (Şekil 2.13). Dendritik hücreler B7 süper ailesinin pek çok üyesini eksprese eder; örneğin B7-1 (CD80) ve B7-2 (CD86). Bu B7 molekülleri aracılığı ile DH'ler T hücrelerinin aktive ya da inhibe edebilirler (Linsley, Brady, Urnes, Grosmaire, Damle ve Ledbetter, 1991). DH hücresi yapısal olarak CD40 eksprese eder. Olgunlaşma ile birlikte eksprese edilen CD40 miktarı artar ve CD40L ile bağlanır. Böylece MHC molekül ekspresyonu ve sitokin üretimi artar.

2.10.2. Antijen tanıma

Çizelge 2.6. Dendritik hücreler tarafından eksprese edilen TLR'ler ve Ligandları

Konvensiyonel DH	Plazmositoid DH	Ligantları
TLR1 TLR2 Peptidoglikan(<i>Staphylococcus</i>	TLR1	Çoklu triasil lipopeptid <i>aureus</i>), lipoprotein Glikofosfotidil Inozitol (<i>Trypanosoma cruzi</i>) Lipoarabinomannan (<i>Micobacterium tuberculosis</i>) Çift halkalı RNA
TLR3 TLR4 Lipopolisakkarit,heparan sülfat,		fibronektin Flajellin(<i>Salmonella typhimurium</i>)
TLR5		
TLR6	TLR6	
TLR8	TLR7 TLR8 TLR9	Tek halkalı RNA Tek halkalı RNA
TLR10		

(Khan ve diğerleri, 2013b)

Dendritik hücreler yüksek kapasiteli antijen yakalama, işleme ve antijen sunma yeteneğine sahiptir ve antijeni T hücresine sunarlar. DH'ler çevrelerini PRR'ler (*pattern recognition receptors*) aracılığı ile tanır. Bu reseptörler PAMP şablonlarını tanır. PRR'ler doğal ve adaptif bağışık yanıt arasındaki en önemli bağlantılardan biridir. PRR'ler TLR, CLR (C-tipi lektin reseptörü), NOD-benzeri reseptörler (NLR) ve RIG-I-benzeri reseptörler (RLR) gibi sınıflara ayrılırlar.

TLR'ler çeşitli PAMP şablonlarını tanır; örneğin; viral, bakteriyel ve fungal nükleik asitler (Çizelge 2.6). TLR'ler kabaca iki alt grubu ayrılabilir: a) Hücre yüzeyinde bulunanlar (TLR-1,2,4,5,6), b) endozomal bölümde bulunanlar (TLR-3,7,8,9) (Takeuchi ve Akira, 2010).

2.10.3. C-tipi lektin reseptörleri (CLR)

Dendritik Hücreler CLR'ler ile patojenlerde bulunan değişik karbonhidrat moleküllerini tanıyıp bağlayabilme özelliğine sahiptir; örneğin, MMR (makrofaj mannoz reseptörü), DEC205, DC-spesifik ICAM-3 (DC-SIGN), Dektin-1, Dektin-2, dendritik hücre inhibitör reseptörü (DCIR), myeloid inhibitör C-tip lektin-benzeri reseptör (CLEC12A), CLEC9A, BDCA-2 gibi. Bu reseptörlerle antijenin endositozu, hücre içine alınması, sindirilmesi, işlem görmesi ve sunulması işlevlerini yaparlar (Geijtenbeek ve Gringhuis, 2009) (Çizelge 2.3).

CLR'ler antijeni değişik hücre içi kompartmanlara yönlendirme özelliğinden dolayı, aşı çalışmalarında hedef molekül olarak seçilmektedir (Steinman ve diğerleri, 2007). Antijenin DEC-205 spesifik antikoru ile bağlı şekilde hedeflenmesinin, antijen alımını arttırdığı ve DH'lerin hem CD4+ ve hem de CD8+ T hücrelerine sunum yapmasını sağladığı gösterilmiştir (Hawinger, Inaba, Dorsett, Guo, Mahnke, Rivera, Ravetch, Steinman ve Nussenzweig, 2001). CLR'lerin spesifik ekspresyon paternleri vardır ve bazı CLR'ler, örneğin; DC-SIGN ve Dektin-1 çeşitli DH alt-tiplerinde bulunmaktadır. Diğer CLR'ler ise diğer DH alt-tiplerinde bulunmaktadır (Şekil 2.6). CLEC9A ölü hücreleri tanır. BDCA-3+ hücreler CLEC9A eksprese ederler ve bu şekilde viral antijenleri CD8+ T hücrelerine sunarlar. Bu çapraz-sunumun otoantijenlere verilen bağışık yanıtta, yani otoimmunitede önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Bachem, Güttler, Hartung, Ebstein, Schaefer, Tannert, Salama, Movassaghi, Opitz, Mages, Henn, Kloetzel, Gurka ve Kroczeck, 2010).

2.10.4. Retinoik asit indüklenebilir gen I (RIG-I)-benzeri reseptöler (RLR)

Sitoplazmik PRR'lerdir. Viral çift sarmallı RNA'yı (dsRNA) tanırlar. RLR aktivasyonu, tip I IFN genlerini eksprese eden kaskadı aktive eder, NFκB'nin nükleer taşınmasını, kaspaz 8 ve 10'un yıkılmasını sağlar (Takeuchi ve diğerleri, 2010).

2.10.5. Nükleotid-bağlayan oligomerizasyon domain (NOD)-benzeri reseptörleri NLR)

NLR ailesi sitozolik hücre içi PRR'lerdir. NFκB'nin aktivasyonuna yol açarlar ve enflamatuvar sitokinlerin üretimini indüklerler. NLR1 ve NLR2 çeşitli bakteriyel PAMP'ları tanırlar. Böylece enflamatuvar sitokinler üretilir ve mitojen ilişkili protein kinaz aktive olur (MAPK) (Kumar, Kawai ve Akira, 2009).

DH'lerin patojeni tanınması TLR, NLR ve RLR molekülleri aracılığı ile olur. NLR'ler aynı zamanda pek çok inflamatuvar ve otoimmün hastalıkta rol alırlar. NOD2 sinyal yolağının TH17 cevabını arttırdığı ve bakterilerin temizlenmesini sağladığı gösterilmiştir. Bu yolağın Crohn hastalarında sekteye uğradığı NOD2 mutasyonu ile gösterilmiştir (Van-Belen, Zelinkova, Taanman-Kueter, Muller, Hommes, Zaat, Kapsenberg ve de-Jong, 2007).

2.10.6. Apoptotik hücre tanıma reseptörleri

İmmünojenik antijenlere ilave olarak DH'ler apoptotik hücrelerin periferden temizlenmesini de sağlarlar. Apoptotik hücrelerin alımı ile DH'ler immünomodülatör fenotipik etkilere sebep olurlar. Bu DH'lerde eş uyaran moleküller azalır (CD80/86) ve TGF-β üretirler. Bu sitokin naif T hücreleri Treg hücrelerine yönlendirir (Stuart, Lucas, Simpson, Lamb, Savill ve Lacy-Hulbert, 2002). Tam tersine nekrotik hücreler olgunlaşmaya ve proenflamatuvar sitokin üretimine sebep olurlar. Apoptotik hücrelerin temizlenmesindeki yetersizlik ve sekonder nekroz SLE'nin (sistemik lupus eritomatosis) patogenezinde rol oynar. DH üzerindeki CD36 ve αvβ3, apoptotik hücreleri bağlar (Skoberne, Beingnon, Larsson ve Bhardwaj, 2005). Mekanizmasından bağımsız olarak hücre ölümünün artması, dolaşımdaki otoantijenlerin artmasına ve DH'lerin daha fazla antijen sunumu yapmasına yol açar.

2.10.7. Fc reseptörleri (FcR)

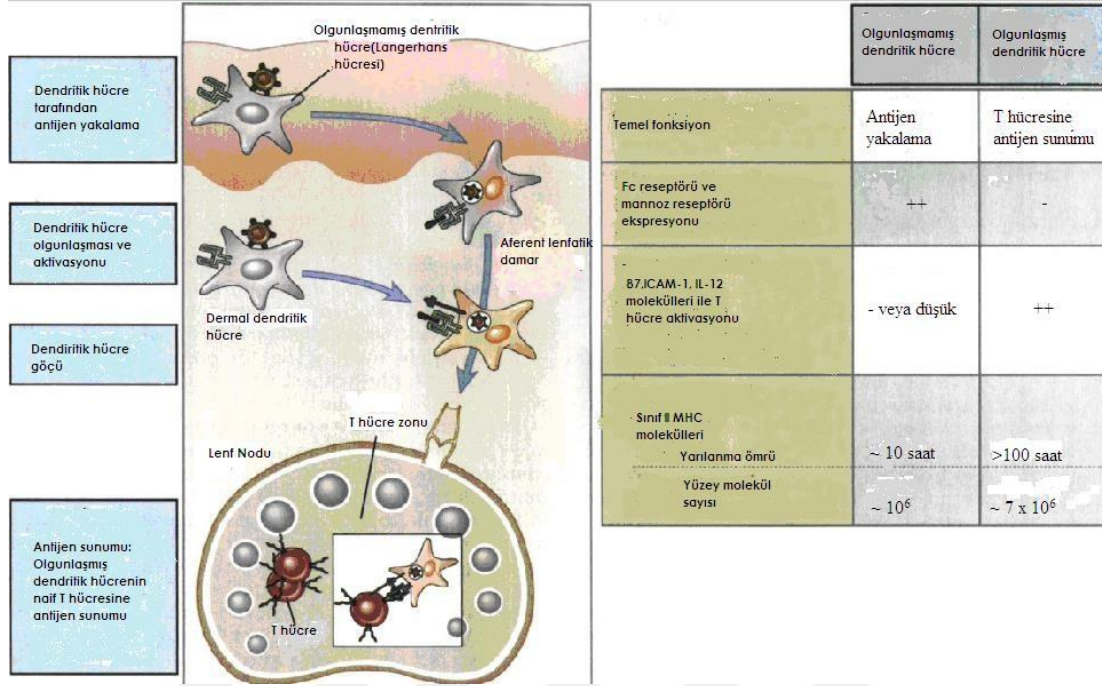
Fc reseptörleri bağışık yanıtın pek çok hücresi üzerinde bulunur ve immünkomplekslere (IC) verilen yanıtının düzenlenmesinde önemli rol oynarlar. FcR'ler bazen antijen-antikor bağlanmasında bazen de kompleman sisteminde rol oynamaktadır. Dendritik hücrelerin yüzeyinde FcγRI, FcγRIIA, FcγRIIIA, gibi aktivatör reseptörler ve inhibitör reseptör FcγRIIB bulunur. IgG ile kaplı patojen FcγR aracılı temizleme mekanizmasını aktive eder. Bunu antikora dayalı hücrel sitotoksite (ADCC: *Antibody-dependent cellular cytotoxicity*) mekanizması ile yapar. FcγRIIB DH'nın immün kompleks (IC) aracılı matürasyonunu kontrol etmektedir Sağlıklı kişilerin serumunda da düşük düzeyde IC bulunabilir. Böylece FcγRIIB, spontan DH olgunlaşmasını önler. SLE ve RA (romatoid artrit) hastalarında FcγRIIB gen polimorfizmi gösterilmiştir (Huang, Hunter ve Chien, 2011).

2.10.8. Antijen sunumu

Çizelge 2.7. Dendritik hücre alt-tipleri ve özellikleri

Belirteç	Miyeloid DH CD8 negatif	Plazmositoid DH	Miyeloid DH CD8 pozitif
Yüzey belirteçleri	CD11c-yüksek CD11b-yüksek	CD11c-düşük CD11b-negatif B220- yüksek	CD8α ⁺ CD11c-düşük/yüksek CD11b-negatif
<i>In-vitro</i> türetme için Growth faktörler	GM-CSF, Flt3-ligand	Flt3-ligand	Flt3-ligand?
Toll-benzeri reseptör ekspresyonu (TLR)	TLR-4,5,8 yüksek	TLR-7,9 yüksek	TLR-3 yüksek
Üretilen majör sitokinler	TNF,IL-6	Tip I interferonlar	IL-12
Çapraz sunum kabiliyeti	+/-	+/-	+/+
Kabul edilen majör fonksiyonlar	Pek çok antijene karşı T hücre cevabının indüksiyonu	Doğal bağışık yanıt ve virüslere karşı T hücre cevabı indüksiyonu	CD8 ⁺ T hücrelerinin çapraz tanıtım ile aktivasyonu

(Abbas, 2007a)



Şekil 2.9. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış dendritik hücrelerin antijen yakalaması ve sunumu (Abbas, 2007b)

MHC Sınıf I Antijen Sunumu

MHC I molekülleri hemen tüm hücre tiplerinde bulunan sitozolik proteinlerdir; sitozolik viral veya bakteriyel proteinleri CD8⁺ T hücrelerine sunarlar. MHC Sınıf I molekülü α ağır zincirlerden ve $\beta 2$ mikroglobulinden meydana gelir. Bu antijenik peptidler *ubiquitin*-proteozom sisteminden sentezlenir (ERAD pathway). IFN- γ bu yolağı active eser (Huang ve diğerleri, 2011).

DH'ler bu proteozomları içeren alt üniteleri eksprese ederler. Böylece antijenin CD8⁺ T hücrelerine sunumu ve değişik peptidlerle olan kombinasyonun spektrumunu genişletebilirler (Huang ve diğerleri, 2011). Peptidler endoplazmik retikuluma MHC sınıf I moleküllerinin üstünde taşınırlar. MHC sınıf I ağır zincirlerinin üçlü kompleksleri, $\beta 2$ mikroglobulin ve peptidler uygun bir şekilde katlanır, glikozillenirler ve hücre yüzeyine taşınırlar.

Çapraz sunum

DH'ler dış (ekzojen) antijenleri alır, onları işleyerek MHC sınıf I molekülleri ile sunarlar. Buna "çapraz sunum" denir (Albert, Pearce, Francisco, Sauter, Roy, Silverstein ve

Bhardwaj, 1998). Bu özellik atipik olarak kabul edilmektedir. Çünkü MHC sınıf I molekülü çoğu hücrede endojen olarak bulunur. Çapraz sunum peptidlerin sitozole alınmasını gerektirir, bu da proteozom ile gerçekleştirilir ve endoplazmik retikuluma MHC sınıf I molekülü üzerinde gönderilir (Şekil 2.6). Bunun mekanizması halen tartışmalı olmakla birlikte DH'lerin bu sistemi kullanarak CD8⁺ T hücrelerini aktifleştirdiği kesinlik kazanmıştır. DH'ler antijenleri; apoptotik hücre formunda, nekrotik hücre formunda, antikora kaplanmış hücrelerden, immün komplekslerden, ısı şoku proteinlerinden (HSP), eksozomlardan, hatta yaşayan hücrelerden alarak edinebilirler (Savill, Dransfield, Gregory, ve Haslet, 2002). DH'lerin TLR yoluyla aktivasyonu da MHC sınıf I molekülleri yoluyla olur (Çizelge 2.7).

MHC sınıf II antijen sunumu

MHC sınıf II yolağı yapısal olarak sadece antijen sunan hücrelerde (ASH) vardır (Şekil 2.10). MHC sınıf II $\alpha\beta$ heterodimerleri özel tip II transmembranöz proteinleridir (Jensen, 2007). Sınıf II MHC molekülleri endozomal kompartmanlara taşınır. Bunlara MHC sınıf II içeren kompartmanlar denir (MIIC). Antijenler alınır, fagozomla birleştirilir. Daha sonra lizozomla birleşerek fagolizozom oluşur. Eşlik eden TLR sinyalleri proton pompasını aktive eder ve lizozomal asitleşme artarak antijen proteolizi gerçekleşir (Trombetta, Ebersold, Garrett, Pypaert, ve Mellman, 2003). TLR molekülleri fagozom olgunlaşmasını düzenler (Blander ve diğerleri, 2006), aynı zamanda antijen alımını arttırır. DH'lerde MHC sınıf II yüzey ekspresyonu sitoplazmik parçaların ubiquitinasyonu ile kontrol edilir (Shin, Ebersold, Pypaert, Delamarre, Hartley ve Mellman, 2006). Bu durum olgunlaşmamış DH'lerin daha düşük düzeyde MHC sınıf II eksprese etmesini açıklar, olgunlaşmadan sonra MHC sınıf II ekspresyon düzeyleri artar ve sekonder lenfoid organa göçten sonra antijen sunumu belirgin olarak artar.

Lipid sunumu

CD1 molekülleri lipid antijenleri T hücrelerine tanıtır. CD1 ailesinin (*MHCI-like glycoproteins*: MHC sınıf I-benzeri glukoproteinler) üyeleri olan CD1a-d, dendritik hücre yüzeyinde, CD1e endoplazmik retikulumda bulunur. CD1a-c sınırlı T hücreleri ya CD4 veya CD8 eksprese ederler ya da ikisini de eksprese etmezler (çift negatif: *double negative*). Bunun aksine, CD1-d sınırlı T hücrelerin büyük bölümü semi- invariant T hücre

reseptörleri (TCR) ve NK hücre belirteçleri eksprese ederler ve “*invariant* NK T (iNKT)” hücreleri olarak adlandırılırlar.

MHC I ve MHC II molekülleri gibi CD1 molekülleri de endoplazmik retikulumda birleştirilir ve şaperonlar, kalneksin, kalretikulin, ERp57, β 2 Mikroglobulin kovalan olmayan bağlarla bağlanırlar (Barral ve Brenner, 2007). Lipid antijenler fagozomlarda oluşturulurlar, membranla bağlı lipid vezikülleri veya apoptotik moleküller veya ekzozomlar olarak CD1 moleküllerinin üstüne yüklenirler.

2.10.9. T Hücre aktivasyonu

Konvansiyonel DH'ler, lenf düğümünde naif T hücreleri ile, enflamatuvar alanda hafıza T hücreleri etkileşirler (Çizelge 2.10). Bu etkileşim MHC molekülü ile antijen sunumu, CD80 ve CD86 gibi eş uyaran moleküller ve sitokinler aracılığı ile olur. Bazı yüzey molekülleri inhibitördür, örneğin; PDL1, veya CD80/86 ile T hücre CTLA-4 reseptör etkileşimi gibi. Sitokinler ASH'lerden salgılanarak antijene özgül T hücrelerini etkiler, örneğin; IL-12, IL-23, TNF, IL-6, IL-1 β ve tip I IFN gibi moleküller dendritik hücrelerden salgılanır.

T hücre aktivasyonu DH-T etkileşiminin kuvveti ve uzunluğu ile ilgili olarak artmaktadır. DH-T hücre temasının uzun süreli olması eş uyaran moleküller ve integrin molekülleri (ICAM-1, ICAM-3) aracılığı ile olmaktadır (Resim 2.3). Bu integrinler Lenfosit İşlevsel Antijen-1 (LFA-1)'i içeren bölgelerle komşudurlar (Barreio, de la Fuente, Mittlebrunn ve Sanchez-Madrid, 2007).

CD4⁺ T yardımcı (Th) hücreleri salgısal ve hücresele bağışık yanıtta hayati rol oynamaktadır, B hücrelerini ve CD8⁺ T hücrelerine aktive eden sinyaller üretirler. Uyarılmış DH'ler tarafından kontrol edilen CD4⁺ T hücreleri Th1 hücrelerine dönüşerek, interferon- γ ve IL-2 üretirler; Th2 hücrelerine dönüşerek IL-4, IL-5 ve IL-13 üretirler; folliküler yardımcı T hücrelerine (TFh) dönüşerek IL-21 üretirler; Th17 hücrelerine dönüşerek IL-17 veya regülatör T (T-reg) hücrelerine dönüşerek TGF- β veya IL-10 üretirler (Çizelge 2.8), (Şekil 2.12).

DH'ler Th1 yanıtını hem NK hücrelerini aktive ederek, hem de CD4⁺ T hücrelerini aktive ederek oluştururlar. IFN- γ ve IL-12 Th1 dönüşümünü ve devamlılığını sağlar. DH'lerdeki OX40L indüksiyonu ise Th2 cevabını oluşturur. DH'lerdeki OX40 indüksiyonu timik stromal lenfopoyetin (TSLP) ile oluşur ve bu molekül epitel hücrelerinden, mast hücrelerinden ve bazofillerden salgılanır (Ito, Wang, Duramad, Hori, Delespesse, Watanabe, Qin, Yao, Cao ve Liu, 2005). IL-12'nin yokluğu veya azalması da T hücre cevabını Th2 yönüne kaydırır. Th2 hücrelerinden IL-10 salınımı DH'leri negatif olarak regüle eder. Bazı kronik enflamatuvar hastalıklarda (enflamatuvar bağırsak hastalıkları, vb.) DH'lerin TSLP uyarısına cevabı bozuktur. Bu da Th1 ve Th17 bağışık yanıtı ile sonuçlanır (Rimoldi, Chippa, Salucci, Avogadri, Sonzogni, Sampietro, Nespoli, Viale, Allavena ve Rescigno, 2005).

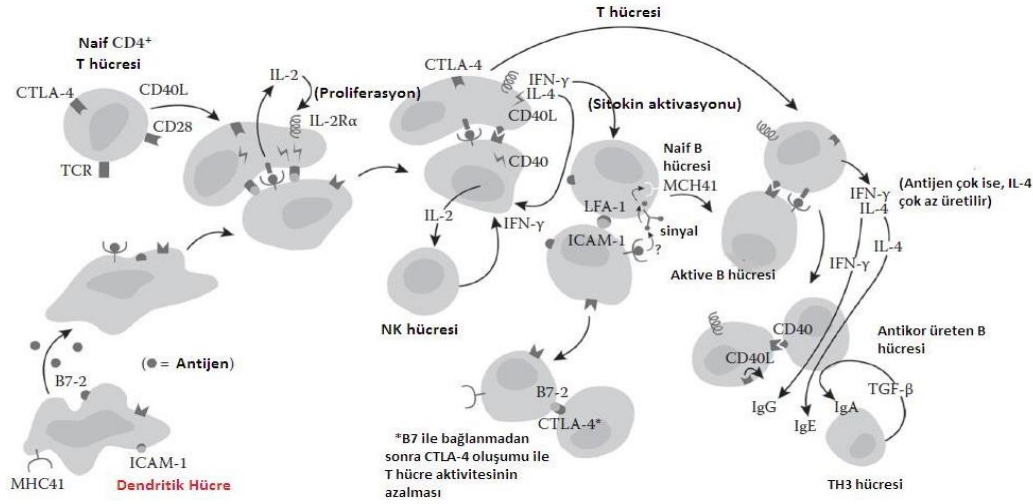
Plazmositoid DH'ler tip I IFN'lerin etkin üreticisidir. Aynı zamanda viral ve tümör antijenlerini sunarak hem CD4⁺ hem de CD8⁺ T hücre cevabını başlatırlar. Böylece doğal ve adaptif bağışık yanıt arasındaki çok önemli bir bağlantıyı gerçekleştirirler (Foteneau, Gilliet, Larsson, Dasilva, Münz, Liu ve Bhardwaj, 2003).

2.10.10. B hücre aktivasyonu

B hücreleri hem antijen spesifik B hücre reseptörleri (BCR: *B cell Receptor*) hem de pek çok TLR ekspres ederler. Böylece hem doğal, hem de adaptif bağışık yanıtta rol oynarlar.

T hücreler kendilerine MHC molekülleri aracılığı ile sunulan antijenleri tanıyabilirken, B hücreleri antijenleri doğal işlenmemiş halde de tanıyabilirler. DH'ler ve B hücreler aynı antijeni aldıklarında; DH'ler B hücreleri antijen spesifik CD4⁺ T hücre bağlı yolk ile aktive edebilirler. Böylece B hücre aktivasyonu, sınıf/izotip eşleşmesi (IgG, IgA, IgE) ve hafıza B hücre oluşumu gerçekleşir (**Şekil 2.11.**).

DH'ler B hücre proliferasyonunu, tümör nekroze edici faktör reseptör aile üyeleri (APRIL) ekspresyonu ile de uyarabilirler (Craxton ve diğerleri, 2003). Ayrıca DH'lerden salgılanan enflamatuvar sitokinler de B hücreleri aktive edebilirler. PDH'ler tarafından ekspres edilen IFN α ve IL-6 veya ICAM-1, B hücrelerin plazma hücrelerine farklılaşmasına yol açabilir.



Şekil 2.10. B hücresi aktivasyonu (B7/CD40 yolu) (Cruse, 2010a)

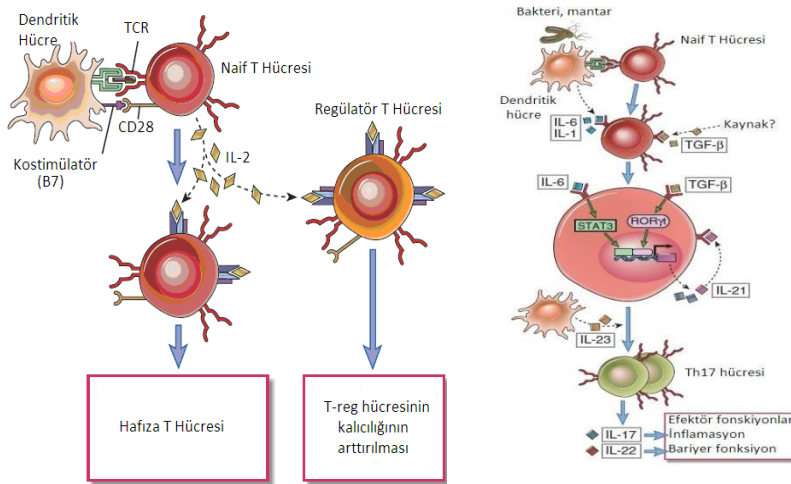
2.10.11. Doğal öldürücü (NK) hücre aktivasyonu

Dendritik hücreler, NK hücreleri aktive edebilir ve çoğalmalarını uyarabilirler. Böylece NK hücre sitotoksik aktivitesi ve $IFN\gamma$ üretimi artar. Bu aktivite hem hücre-hücre teması, hem de sitokin sinyalleri ile oluşturulur. DH'lerin NK aktivasyonunda LFA-1/ICAM-1 ilişkisi de rol oynamaktadır. Tip I IFN 'lar NK hücrelerin sitotoksik aktivitesini artırırlar. IL-12, $IFN\gamma$ salınımını ve hücre büyümesini artırır; IL-15 hücre farklılaşmasını sağlar; bazı diğer sitokinler: örneğin; IL-18, de DH aracılıklı NK aktivasyonunda rol oynarlar. Buna karşılık NK hücreleri de DH'leri aktive ederler (Piccioli, Sbrana, Melandri ve Valiante, 2002) (Çizelge 1.1.).

Çizelge 2.8. Doğal bağışık yanıtta rol oynayan sitokinler

Sitokin Hedef ve Biyolojik Etki	Molekül Büyüklüğü	Primer Kaynak	Temel Hücresel
Tümör nekroze edici faktör (enflamasyon, (TNF) (kaşeksi)	17 kD	Makrofajlar, T hücreleri	Endotel hücreleri; aktivasyon koagülasyon) Nötrofiller: aktivasyon Hipotalamus: ateş Karaciğer: akut faz proteinlerinin sentezi Kas doku, yağ dokusu: katabolizma Pek çok doku tipi: apoptoz
IL-1 (enflamasyon,	17 kD	Makrofajlar, endotel hücreleri Bazı epitel hücreleri	Endotel hücreleri: aktivasyon koagülasyon) Hipotalamus: ateş Karaciğer: akut faz proteinlerinin sentezi
Kemokinler	8-12 kD	Makrofajlar, endotel hücreleri T hücreleri, fibroblastlar, Trombositler	Lökositler: kemotaksis, aktivasyon, dokuya göç
IL-12 sentezi,	Heterodimer 35 kD-40 kD	Makrofajlar, dendritik hücreler	T hücreleri: Th1 dönüşümü NK hücreleri ve T hücreleri: IFN- γ Sitotoksik aktivite artışı
Tip I interferonlar (IFN- α ,IFN- β)	IFN- α : 15-21 kD IFN- β : 20-25 kD	Makrofajlar Fibroblastlar	Tüm hücreler: anti viral, MHC sınıf I ekspresyonunun artışı NK hücreleri: aktivasyon
IL-10 ekspresyonu	34-40 kD	Makrofajlar, T hücreleri (çoğunlukla regülatör T hücreleri, T-reg)	Makrofajlar, Dendritic hücreler: IL-12 inhibisyonu ve sınıf II MHC
IL-6 artışı	19-26 kD	Makrofajlar, endotel hücreleri T hücreleri	Karaciğer: akut faz proteinlerinin sentezi B hücreleri, antikor üreten hücrelerin
IL-15	13 kD	Makrofajlar ve diğerleri	NK hücreleri: çoğalma, T hücreleri
IL-18 sentezi	17 kD	Makrofajlar	NK hücreleri ve T hücreleri: IFN γ
IL-23 devamı	Heterodimer 19 kD-40 kD	Makrofajlar, dendritik hücreler	T hücreleri: IL-17 üreten T hücrelerinin
IL-27 hücrelerinin	Heterodimer 28 kD-13 kD	Makrofajlar, dendritik hücreler	T hücreleri: Th1 dönüşümü; Th1 İnhibisyonu NK hücreleri: IFN γ sentezi

(www.microbiologybook.org)



Şekil 2.11. Th17 ve Treg hücrelerinin oluşumu (Abbas, 2007h)

DH aktivasyonu antijenin MHC sınıf I ve sınıf II molekülleri ile sunulması (Çizelge 2.9.) ile ve lipid antijenlerin CD1 molekülleri ile sunulmasıyla oluşur.

Çizelge 2.9. Bazı seçilmiş CD moleküllerinin temel özellikleri (Abbas 2007j Cellular and Molecular Immunology, 6-519 Appendix II). (İnsan hücre farklılaşma belirteçleri(HCDM: *Human Cell Differentiation Markers*)

CD subtipleri	Simge	Moleküler aile	Hüresel ekspresyon	Bilinen fonksiyonu
CD1a	T6	49 kD;sınıf I MHC; β 2 mikroglobulin	Timosit, Dendritik hücre ve Langerhans hücreleri	Non-peptid (lipid ve glikolipid) antijenlerinin T hüresine sunumu
CD1b	T6	45 kD;sınıf I MHC; β 2 mikroglobulin	Timosit, Dendritik hücre ve Langerhans hücreleri	CD1a ile aynı
CD1c	T6	43 kD;sınıf I MHC β 2 mikroglobulin	Timosit, Dendritik hücre ve Langerhans hücreleri , bazı B hücreleri	CD1a ile aynı
CD1d	-	49 kD;sınıf I MHC β 2 mikroglobulin	Timosit, Dendritik hücre ve Langerhans hücreleri , intestinal epitel hücreleri, bazı B hücreleri	CD1a ile aynı
CD1e	-	28 kD;sınıf I MHC β 2 mikroglobulin	Dendritik hücreler	CD1a ile aynı
CD2	T11;LFA-2;koyun kırmızı kan hücresi reseptörü	50 kD;Ig süper ailesi;CD2/48/58 ailesi	T hücreleri NK hücreleri	Adezyon molekülü (CD58'i bağlar); T hücre aktivasyonu NK hücresi ile hücre ölümü
CD3 γ	T3;Leu-4	25-28 kD;TCR kompleksi ile ilgili;Ig süper ailesi;ITAM	T hücreleri	T hüresinin antijen reseptör ekspresyonu ve sinyal iletimi
CD3 δ	T3;Leu-4	20 kD; TCR kompleksi ile ilgili;Ig süper ailesi;ITAM	T hücreleri	T hüresinin antijen reseptör ekspresyonu ve sinyal iletimi
CD3 ϵ	T3; Leu-4	20 kD; TCR kompleksi ile ilgili;Ig süper ailesi;ITAM	T hücreleri	T hücre antijen reseptörü, sinyal iletimi
CD4	T4;Leu-3;L3T4	55 kD;Ig süper ailesi	Sınıf II MHC ile ilişkili T hücreleri,monositler, Makrofajlar	Sınıf II MHC ile ilişkili T hücre aktivasyonu, Sinyal iletimi ve adezyon koreseptörü
CD5	T1;Ly-1	67 kD; çöpçü (<i>scavenger</i>) reseptör ailesi	T hücreleri B hücre alt-tipleri	Sinyal molekülü; CD72'yi bağlar
CD8 α	T8;Leu-2;Lyt2	34 kD; CD8 β ile birlikte eksprese olur	Sınıf I MHC ile ilişkili T hücreleri	Sınıf I MHC ile ilişkili antijenle indüklenen T hücre aktivasyonu; adezyon koreseptörü; timosit gelişimi

Çizelge 2.9. (devam). Bazı seçilmiş CD moleküllerinin temel özellikleri (Abbas 2007j Cellular and Molecular Immunology, 6-519 Appendix II). (İnsan hücresi farklılaşma belirteçleri (HCDM: *Human Cell Differentiation Markers*))

CD subtipleri	Simge	Moleküler aile	Hüresel ekspresyon	Bilinen fonksiyonu
CD8 β	T8;Leu-2;Lyt2	34 kD;CD8 α ile birlikte eksprese olur;Ig süper ailesi	Sınıf I MHC ile ilişkili T hücreleri	CD8 α ile aynı
CD10	Akut lenfoblastik lösemi antijeni(CALLA);nötral endopeptidaz	100 kD;tip II membran proteini	Olgunlaşmamış hücreleri,bazı olgunlaşmış hücreleri,lenfoid hücreler,granülositler	B Metaloproteinaz;B hücre gelişimi B ön
CD11a	LFA-1 α zincir	180 kD;CD18 ile bağlı LFA-1 integrini oluşturur	Lökositler	Hücre-hücre adezyonu;ICAM-1(CD54),ICAM-2(CD102),ICAM-3(CD50) moleküllerini bağlar
CD11b	Mac-1;CR3; α M integrin zinciri	165 kD;CD18 ile bağlı Mac-1 integrini oluşturur	Granülositler, monositler, makrofajlar, dendritik hücreler, NK hücreleri	CD3b ile kaplanmış partiküllerin fagositozu;nötrofil ve monosit adezyonu ve hücre dışı matriks proteinleri
CD11c	p150,95;CD4 α zinciri	145 kD;CD18 ile bağlı integrinleri oluşturur	Monositler,makrofajlar Granülositler, NK hücreleri	CD11b ile aynı
CD14	Mo2;LPS reseptörü	53 kD	Monositler,makrofajlar Granülositler	LPS' yi bağlar;LPS ile indüklenen makrofaj aktivasyonu
CD16a	Fc γ RIIIA	50-70 kD;transmembran proteini;Ig süper ailesi	NK hücreleri, Makrofajlar	IgG nin Fc bölgesini bağlar;fagositoz antikör bağımlı hüresel sitotoksite
CD16b	Fc γ RIIIB	50-70 kD;transmembran proteini;Ig süper ailesi	Nötrofiller	IgG nin Fc bölgesini bağlar; immünkompleks aracılı nötrofil aktivasyonu
CD18	LFA-1'in β zinciri	95 kD;CD11a,11b,11c ile bağlı, β 2 integrinleri oluşturur	Lökositler	CD11a,11b,11c ile aynı
CD19	B4	95 kD;Ig süper ailesi	Çoğu B ailesi	B hücre aktivasyonu
CD20	B1	35-37 kD	Çoğu B ailesi	?
CD21	CR2;C3d reseptörü	145 kD;kompleman aktivasyon regülatörü	Olgun B hücreleri Follüküler dendritik hücreler	Kompleman C3d reseptörü;B hücrelerine aktive eder,EBV virüs reseptörü

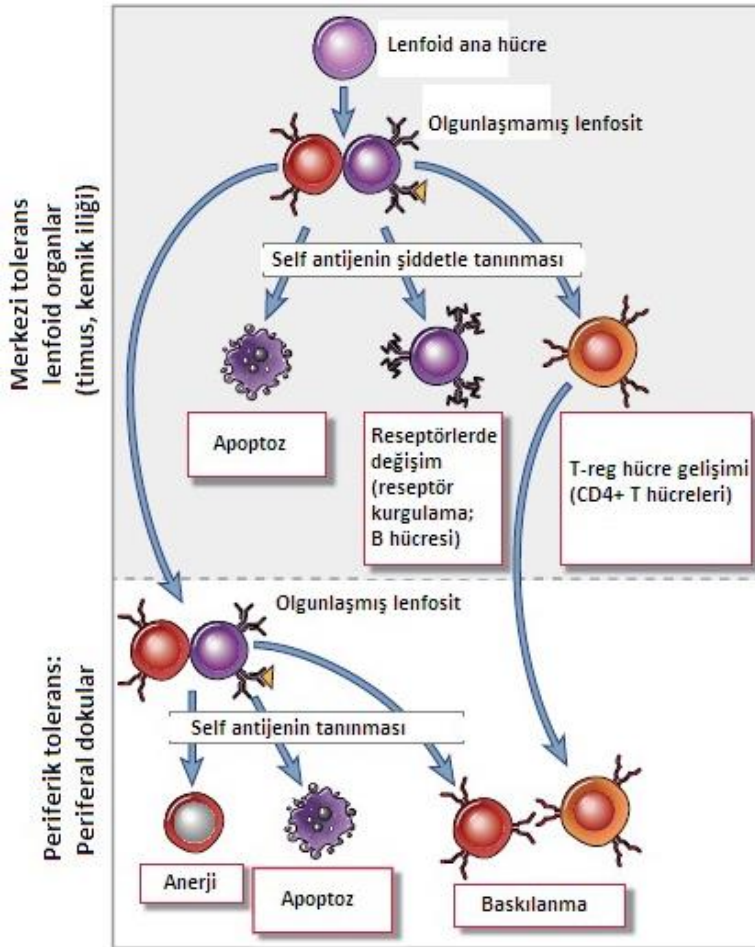
(<http://www.hlda8.org>)

Çizelge 2.10. Antijen sunucu hücreler (ASH) ve fonksiyonları

Antijen Sunan Hücrelerin Fonksiyonları			
Hücre Tipi	Sınıf II MHC	Kostimülatörler	Temel Fonksiyon
Dendritik Hücreler	Olgunlaşma ile birlikte artar, IFN γ ile birlikte artar yapısaldır	Yapısaldır. Olgunlaşma ile birlikte artar. IFN γ ile birlikte artar. CD40-40L etkileşimi	Protein antijenlere karşı T hücre cevabının artırılması
Makrofajlar	Düşük veya negatif IFN γ ile birlikte artar	LPS ile indüklenebilir, IFN γ , CD40-40L etkileşimi	Hücrel bağışık yanıt cevaplarının efektör fazı (fagosit edilmiş mikropların T hücre aracılı öldürülmesi)
B Lenfositler	Yapısaldır. IL-4 ile birlikte artar	Yapısaldır (farelerde indüklenebilir)	Sivisal bağışık yanıtta CD4+ T hücrelerine antijen sunumu (T hücre-B hücre etkileşimi)
Damar Endotel Hücreleri	İnsanlarda yapısaldır. IFN γ ile birlikte artar	Muhtemelen yok	Antijen sunum bölgesindeki antijen spesifik T hücrelerinin aktivasyonu
Değişik Epitel ve Mezankim Hücreleri	IFN γ ile birlikte artar		Bilinen fizyolojik etkisi yok
IFN- γ , IL-4, LPS			

(Abbas, 2012b).

Dentritik hücreler ve tolerans



Şekil 2.12. Otoantijene özgül santral ve periferik tolerans (Abbas, 2007d)

Tolerans bağışıklık sisteminin mikroorganizmalarla savaşırken aynı zamanda kendi yapı taşlarına karşı yanıtız olmasızdır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda oluşturulan otoimmün modellerde KDH, PDH ve Langerhans hücrelerinin timus tarafından azaltıldığı gösterilmiştir (Ohnmachth, Pullner, King, Drexler, Meier, Brocker ve Voehringer, 2009).

Timik tolerans yetmezliği önemli bir sorun olup otoimmün bir hastalıkla sonuçlanabilir. T hücreleri timusta self-MHC moleküllerine olan afinitesine göre seçilirler. Bu moleküller endojen self antijenlerdir ve timus kortikal epitel hücreleri tarafından sergilenir. Kendi antijenlerine reaksiyon gösteren T hücreleri meduller APC hücreleri tarafından sunularak negatif seleksiyonla yok edilirler. Bu APC'ler meduller epitel hücreleri (mTEC) ve meduller DH' ler (SIRP belirteci içeren) hücrelerdir (Hogquist, Baldwin ve Jameson, 2005).

Medullada epitel hücreleri (mTEC) otoimmün regülatör olan (AIRE) bir gen eksprese ederler. Bu hücreler, periferdeki doku antijenlerini (PTA) kontrol eder; örneğin; insülin ve tükrük bezi protein-1 gibi (Anderson, Vananzi, Klein, Chen, Berzins, Turley, von Boehmer, Bronson, Dierich, Benoist ve Mathis, 2002). Bu otoimmün regülatör genin (AIRE) yokluğunda tükrük bezi, gözyaşı bezi, karaciğer, pankreas, tiroid gibi organa özgül otoimmünite gelişmektedir. İnsanlarda bu sendroma otoimmün poliglandüler sendrom ve kandidiyaz (APECED) denir. Otoantijen sunumunun etkili olması timik APC hücrelerinin otoantijenleri işleme ve sunma kapasitesi ve MHC molekül yoğunluğu ve eş uyaran molekülleri eksprese etmesine bağlıdır. Periferik tolerans mekanizmaları, timustan perifere göç eden kendine reaktif T hücrelerinin ikinci basamak kontrolüdür. Merkezde yapılan elemenin aynısı periferik tolerans için de geçerlidir. Periferde hematopoetik ana hücreden evrilen istirahat halindeki DH' ler otoreaktif CD8⁺ T lenfositleri elerler. Doğal CD25⁺ FoxP3⁺ T-reg hücreleri santral olarak üretilirler. Otoantijenleri tanımlarına göre ve TEC hücreleri veya timik DH'lere afinitesine göre seçilirler (Aschenbrennier, D'Cruz, Vollman, Hinterberger, Emmerich, Swee, Rolink ve Klien, 2007). DH' ler periferik T-reg hücrelerini aynı zamanda uyarabilirler ve uyarılmış T-reg hücrelerine (iT-reg) dönüştürürler. Bu pek çok dokuda oluşabilir. Bağırsak epitelindeki CD103⁺ DH' ler naif T hücrelerini FoxP3⁺ T-reg hücrelerine çevirirler. Bu özel bir lamina propria tabakasında olur. Bu tabakadaki DH'ler retinal dehidrogenaz içerirler. Bu da retinali retinoik asite dönüştürür. Laboratuvar şartlarında bu dönüşüm naif T hücreleri ile DH'lerin stimülasyonu ve mitojenik anti-CD3 ve TGF-β varlığında oluşur. Diğer T-reg popülasyonu olan FoxP3⁻ CD25⁻ T regülatuar

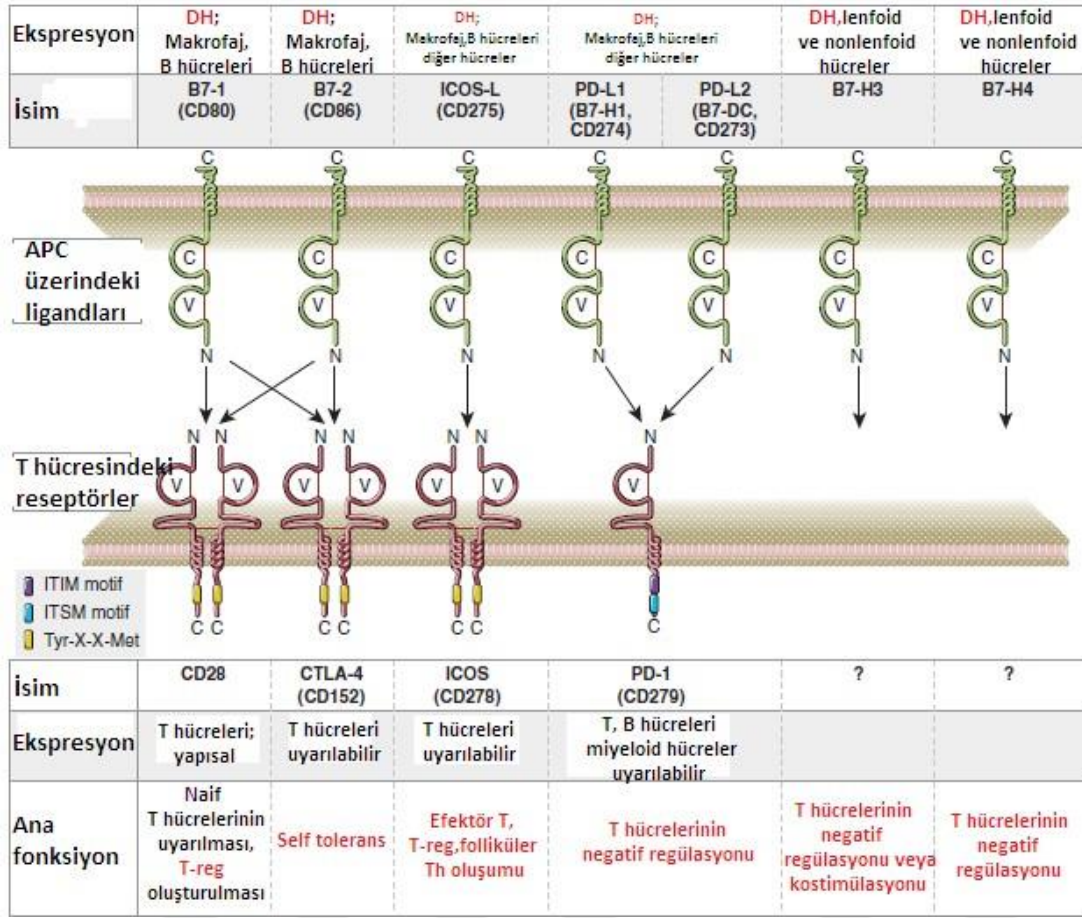
hücreler tip 1 hücreler olarak bilinir (Tr1). Bu hücreler yüksek düzeyli IL-10 ve IFN γ eksprese ederler ve DH'ler tarafından indüklenirler. Sonuç olarak FoxP3⁺ T-reg'ler periferde oluşurlar ve indolamin-2, 3-dioksijenaz enzimi varlığında (IDO) büyük bir baskılayıcı işlev gösterirler. IDO çeşitli APC'lerin varlığında örneğin; PDH, KDH gibi: triptofanı tüketir, kaynurenine çevirir (Munn, Sharma, Lee, Jhaver, Johnson, Keskin, Marshall, Chandler, Antonia, Burgess, Slingluff ve Jr, Mellor, 2002). Bu da T hücreleri için yaşamsaldır.

Kronik inflamatuvar hastalıklarda IDO⁺ APC'ler ve FoxP⁺ T hücreleri sağlam dokuya göre artmaktadır.

DH'lerin vücut dışında üretilmesi ve antijenlerle karşılaştırılması ve farelerde naif alıcılara transfer edilerek pek çok deney yapılabilmektedir.

Otoimmünite

Otoimmün hastalıklar sistemin kendi antijenlerine karşı toleransı azaldığında oluşur. Oтореaktif T ve B hücreleri aktive olur ve aynı zamanda doğal bağışık yanıtın inflamatuvar elemanları doku hasarı oluştururlar. DH'ler T hücre temelli otoimmün hastalıklarda esansiyel rol oynamaktadır. Periferdeki APC'ler tarafından yakalanan antijenler (modifiye (sitrullinlenmiş) edilmiş) sekonder lenfoid organlara giderler ve naif T hücrelerine sunulurlar (Ludewig, Odermatt, Ochsenbein, Zinkernagel ve Hengartner, 1999). Bu aynı zamanda lokal dokuda da gerçekleşebilmektedir. Değişik otoimmün hastalıklarda KDH'ler ve PDH'ler inflamatuvar dokunun perivasküler alanında zenginleşmektedir. DH'ler inflamasyonun oldukça erken evrelerinden itibaren dokuya göçmektedirler ve burada bağışıklık sisteminin diğer hücrelerinin organizasyonuna katkıda bulunmaktadır. Örneğin; fare hücreleri deneysel diyabetes mellitus modellerinde adacık hücrelerinde erken safhada DH infiltrasyonu gözlenmiştir. Otoimmün inflamasyonda dokuda lenfoid follikül benzeri yapılaşma olabilmektedir. Bu follikülerde, folliküler DH'ler (Resim 2.4.) ve fibroblast benzeri sinoviosidler bulunmakta ve otoantikörlerin kronik üretimini desteklemektedirler (Shi, Hayashida, Kaneko, Hashimoto, Tomita, Lipsky, Yoshikawa ve Ochi, 2001).



Şekil 2.13. Antijen sunan hücreler ve ligandları ve T hücrelerinin CD28 aile reseptörleri; T hücrelerinin majör fonksiyonları ve inhibitör fonksiyonları (Abbas, 2007f)

Çizelge 2.11. Bölgesel bağışık yanıtın gelişimi

Bölgesel Bağışıklığın Gelişimi			
Bölge	Özellik	Anatomik Yerleşim	Özelleşmiş hücreler veya moleküller: Fonksiyonlar
Gastrointestinalis sistem	Yiyecek antijenlerine tolerans Yerleşik mikrobiyotaya tolerans ve nadir patojenlere yanıt büyük yüzey alanı	Bademcikler Payer plakları, Laminapropriya follikülleri	Barsak epitel hücreleri: Mukus salgınımı M hücreleri: Luminal antijen örnekleme Panet hücreleri: Defansin üretimi Salgısal IgA, IgM: Mikropların lümeninde nötralizasyonu DH sub tipleri: Luminal antijen örnekleme, Laminapropriya antijen örnekleme, T hücre tolerans indüksiyonu, Efektör T hücre aktivasyonu, B hücre IgA sınıf ayrımı, barsak B ve T hücre fenotiplerinin belirlenmesi
Solumun sistemi	Hava yoluyla alınan patojenlerle ve zararsız mikroplarla ve partiküllerle karşılaşma	Adenoidler	Silli solumun epitel hücreleri: mukus ve defansin üretimi ve mikropları yakalamış mukusun hareketleri ve parçacıkların hava yolundan atılması Salgısal IgA, IgM, IgG: Mikropların epitel bariyerleri dışında nötralizasyonu
Deri bağışıklık sistemi	Geniş yüzey alanı	Keratinize çok katlı epitel bariyeri	Keratinosit: Keratin üretimi, sitokin ve defansin üretimi Langerhans hücreleri: Epidermis antijen örnekleme DH sub tipleri: Cilt antijen örnekleme; T hücre tolerans indüksiyonu; yardımcı T hücre aktivasyonu ve cilt T hücre fenotip belirlenmesi.

(Abbas, 2007c)

2.11. Dendritik Hücre Tanımlanması

Dendritik hücreler; antijeni yakalayan, işleyen ve T lenfositlerine sunarak antijenik reaksiyon veya tolerans oluşturan, bağışık yanıtın özelleşmiş hücreleridir (Steinman, 2007). Monosit oluşumu sırasında dendritik hücre ayrışmasının hangi aşamadan sonra olduğu ve dendritik hücre öncülerinin kemik iliğinden hangi hassas koşullar altında farklılaşarak periferik lenfoid organlara göç ettiği henüz bilinmemektedir (Shortman, 2007).

Lenfoid doku dendritik hücreleri (cDC ve pDC) ve monositler aynı ortak atadan farklılaşırlar: MDP (Makrofaj γ dendritik hücre öncüsü). Bu ana hücrenin yüzey fenotipi $LIN^- c Kit^{hi}$, $CD115^+$, $CX3CR1^+$, $Flt3^+$ şeklindedir (Fogg, Sibon, Miled, Jung, Aucouturier, Littman, Cumano ve Geissmann, 2006). CDP (Ana DC öncüsü) kök hücresi ise sadece cDC ve pDC hücrelerini oluşturur ve yüzey fenotipi $LIN^- c Kit^{lo}$, $CD115^+$, $Flt3^+$ şeklindedir (Naik, Sathe, Metcalf, Proietto, Dakic, Carotta, O'Keeffe, Bahlo, Papenfuss, Kwak, Wu ve Shortman, 2007; Onai, Obata-Onai, Schmid, Ohteki, Jarrossay ve Manz, 2007).

Hem MDP hem de CDP ana hücreleri akan hücre ölçer ile incelendiğinde dalakta ve kanda olmadığı sadece kemik iliğinde bulunduğu gözlemlenmiştir (Liu, K. ve diğerleri, 2009). Pre cDC hücre popülasyonunun ise kemik iliğinde (0,2%) kanda (0,03%) ve dalakta (0,05%) oranlarında bulunduğu gözlemlenmiştir (Liu ve diğerleri, 2009). Pre cDC hücre popülasyonunun akan hücre ölçer ile incelenmesinde yüzey belirteçlerinin $LIN^- CD115^+$ MHC II olduğu gözlemlenmiştir (Liu ve diğerleri, 2009).

Dolaşımdaki cDC popülasyonunun çok az sayıda olmasının hücrelerin yarılanma ömrünün çok kısa olmasıyla bağlantılı olduğu düşünülmektedir (Liu, 2007).

$CD4^+$ $Foxp3^+$ Treg hücrelerinin azalmasının DH sayısında ani artışa sebep olduğu gösterilmiş olup, bu etkileşimin nasıl ve nerede olduğu henüz aydınlatılmamıştır (Kim, Rasmussen ve Rudensky, 2007).

Periferik mononükleer lökositlerden taze DH izolasyonu belli bazı immunofenotipik özelliklerin varlığı veya yokluğu ile saptanabilmektedir. Hücrelerin DH izolatı olduğunu

gösterebilmek için LIN belirteci yokluğunda (lökosit soy antijen negatif) (CD3, CD14, CD19, CD56) HLADR, CD4 veya CD33 varlığının gösterilmesi gerekmektedir (Thomas, Davis ve Lipsky, 1993).

Taze periferik kan izolatlarının analizlerinde DH'lerin homojen bir popülasyon olmadığı daha ziyade her iki dendritik hücre popülasyonunun karışımı şeklinde olduğu gözlemlenmiştir. 1: Plazmositoid morfolojide olan CD11c⁻ CD45RA⁺ olan ve kuvvetli T hücre uyarıcı fonksiyonu bulunan hücreler, 2: Monositoid morfolojisi olan, CD11c⁺ CD45RO⁺ immünofenotipe sahip ve herhangi bir sitokin etkisi olmadan tipik DH morfolojisine dönüşebilen hücreler şeklindedir (Olweus, BitMansour, Warnke, Thompson, Carballido, Picker ve Lund-Johansen, 1997; Cella, Jarrossay, Facchetti, Alebardi, Nakajima, Lanzavecchia ve Colonna, 1999).

Biz de tezimizde CD45, CD123, CD141, CD80, CD86, CD11c, HLADR, CD14 ve LIN belirteçlerini kullanarak her iki hücre popülasyonlarından oluşan hücre izolatları ile çalışmalarımızı gerçekleştirdik.

Kullanılan antikolar

CD11c: İntegrin alfa X zincir proteinidir. İntegrinler heterodimerik integral membran proteinleridir. Alfa ve beta zincirlerinden oluşurlar. Bu protein beta 2 zinciri ile birleşir (ITGB2) ve lökosit spesifik integrini oluşturur. Nötrofillerin ve monositlerin uyarılmış endotel hücrelerine yapışmasında rol oynar ve kompleman ile kaplı parçacıkların fagositozunda yardımcıdır. Ayrıca tip I transmembran protein olarak pek çok dendritik hücrelerde monositlerde, makrofajlarda ve bazı B hücrelerinde bulunmaktadır (Abbas, 2007:284).

LIN (Lineage): Hücre yüzey molekülleri, mRNA' lar veya hücre içi proteinler gibi hücre yüzey soy belirteçleri için karakteristik moleküllerdir. CD3 (T lenfosit), CD14 (monosit), CD19 (B lenfosit), CD56 (NK hücresi) antikor kokteylleri içerir (Çizelge 2.4.).

CD45 (PTPRC) (Protein tirozin fosfataz reseptör): Lökosit genel antijeni (LCA) olarak da bilinir. CD45 ailesinin pek çok alt grubu vardır. Protein tirozin fosfatazlar pek çok hücre

grubunda hücre gelişimi, farklılaşması, mitotik döngüler ve onkojenik dönüşümü kontrol eden sinyal moleküllerini içerir (Abbas, 2007:508).

CD86 (B7-2): Antijen sunan hücrelerde bulunan ve T hücre aktivasyonu için gerekli eş uyaran sinyal molekülüdür. T hücre yüzeyindeki iki farklı protein için liganttır: CD28 ve *CTLA-4*: T hücrelerinin aktive etmek için CD80 molekülü ile beraber çalışır (Abbas, 2007:509).

HLA-DR: (Human Leukocyte Antigen-antigen DRelated). MHC sınıf II hücre yüzey reseptörüdür. T hücre reseptörü için ligand oluşturur (Çizelge 2.4.).

CD14: Bakteri lipopolisakkarit koreseptörü. Aynı zamanda lipoteikoik asit reseptörünü de tanıyabilir. Genellikle makrofaj ve nötrofillerde bulunur. Anne sütünde de bulunmaktadır. CD14⁺ monositler IL-4 ve GM-CSF varlığında dendritik hücrelere dönüşmektedirler (Abbas, 2007: 60).

CD80: (B7-1) Aktive olmuş B hücreleri ve monositlerde bulunur. T hücre aktivasyonu ve canlılığı için kostimülatör sinyalidir. T hücre yüzeyindeki CD28 ve *CTLA-4* moleküllerinin ligantıdır. CD86 ile birlikte T hücre aktivasyonunda rol alır (Abbas, 2007:147).

CD123: İnterlökin 3 reseptörü. Tip I sitokin reseptör aile üyesidir. Multipotent ana hücrelerde bulunur. Tirozin fosforilasyonunu sağlayarak hematopoetik hücre dizilerinin farklılaşmasında rol alır. Bazofillerde, pDC ve cDC (klasik ve plazmositoid DH)'lerde periferik mononükleer hücrelerde bulunur (Cruse, 2010).

CD141: Trombomodulin (BDCA-3) Koagülasyonda rol alan bir enzim olan trombini antikoagülan enzim formuna dönüştürür. Endotel yüzeyinde bulunan integral membrane proteindir. Trombin için kofaktör görevi görür. Endotel dışında mezotel hücrelerinde, monositlerde ve dendritik hücrelerde bulunur (Verhagen, Heijnen-Snyder, Pronk, Vroom, van Vroonhoven, Eikelboom, Sixma ve de Groot, 1996).

Kullanılan sitokinler

IL-4: İnterlökin 4 naif yardımcı T hücrelerinin (Th0) Th2 dönüşümünü sağlamaktadır. Bu Th2 hücreleri tekrar kendileri IL-4 üretmektedirler (pozitif feedback). Bu aşamada IL-4'ü

ilk üreten hücreler tam olarak kesinleşmemekle birlikte bazofillerden salgılandığı düşünülmektedir (Sokol, Barton, Farr ve Medzhitov, 2008). Fonksiyon olarak IL-13 ile benzerdir. B hücrelerini ve T hücrelerini aktive eder. B hücrelerinin plazma hücrelerine dönüşümünü sağlar. Hümmoral bağışık yanıtta ana regülatör moleküldür. B hücrelerinden IgE oluşumunu ve MHC sınıf II üretimini kontrol eder. Fazla üretimi alerji ile ilgilidir. Ekstravasküler dokuda makrofaj ve dendritik hücre aktivasyonu yapar. IL-10 ve TGF- β sekresyonu ile patolojik inflamasyonu azaltır. Klinik olarak rabdomyosarkomun metastazında ve mitogenezinde rolü olduğu gösterilmiştir (Hosoyama, Aslam, Abraham, , Prajapati, Nishijo, Michalek, Zarzabal, Nelson, Guttridge, Rubin ve Keller, 2011).

GM-CSF: (Granülosit-makrofaj koloni-stimülan factor). Miyeloid ve monosit hücre serisinin üreme ve diferansiyasyonunu sağlayan sitokindir. GM-CSF kök hücreleri uyarak granülosit üretimini (nötrofilleri, eozinofilleri ve bazofiller) ve monosit üretimini sağlar. Monositler dokuya göç eder ve olgun makrofajları ve dendritik hücreleri oluşturur (Francisco-Cruz, Aguilar-Santelises, Ramos-Espinosa,, Mata-Espinosa, Marquina-Castillo, Barrios-Payan ve Hernandez-Pando, 2014). AIDS hastalarında lökosit indüksiyonu için kemoterapiden sonra, anemi hastalarında, malign neoplazmlarda kullanılmaktadır. Hematopoetik hücrelerin çoğalması ve farklanmasını sağlar. İn vivo, GM-CSF hematopoezin kuvvetli uyarıcısıdır. Verilmesi ile birlikte kemik ağrıları ve influenza benzeri semptomlar oluşturabilir. Düşük dozları nötrofil sayısını artırır (Vacchelli, Eggermont, Fridman, Galon, Zitvogel, Kroemer ve Galluzzi, 2013). Klinikte otolog kemik iliği transplantasyonlarında nötropeniyi azaltmak için ve antibiyotiğe bağlı ciddi enfeksiyonların önlenmesinde kullanılır.



3. YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubu

Çalışmaya 11'i kadın, 18'i erkek olmak üzere toplam 29 hasta dahil edildi. Çalışma grubunun yaş ortalaması 64 ± 9 yaş (minimum: 46 yaş, maksimum: 80 yaş). Yirmi dokuz hastanın 6 tanesinde (4 erkek ve 2 kadın) koroner arter hastalığı ve *diabetes mellitus* bulunmamaktaydı. Bu 6 hastadan 1 tanesi hariç, diğerleri kalp kapak hastalığı nedeni ile opere edilen hastalardı. Çalışmaya dahil edilen diğer 23 hastada ise koroner arter hastalığı tanısı konmuştu ve bu nedenle koroner arter by-pass cerrahisi uygulandı. Bu 23 hasta *diabetes mellitus* olan (10 hasta) ve olmayan (13 hasta) olmak üzere 2 grubu ayrıldı. Hastaların koroner arterleri Özel Mersin Ortadoğu Hastanesi'nde anjiyografik inceleme ile değerlendirildi ve koroner arter hastalığı varsa, tanı kondu ve koroner anjiyografi sonrası koroner by-pass operasyonu kararı verildi.

Dışlama kriterleri: Çalışmaya aktif infeksiyonu olan hastalar, kollejen doku hastalığı olan hastalar, hematolojik veya onkolojik malignansi veya patolojisi olan hastalar ile akut koroner sendromu (miyokard infarktüsü, anstabil angina) olan hastalar dahil edilmedi.

Her hastalardan 8ml periferik kan örneği CPT vacutainer (Milteny-Biotec Ficoll içeren) tüpüne alındı. Kan örnekleri tüm hastalardan sabah 08:00-10:00 zaman aralığında, ameliyat öncesi dönemde alındı.

Kitler

Çalışmalar sırasında kullanılan kitler Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Kitler

Sıra No	Kitin Adı	Kitin markası, katalog numarası ve üretim yeri
1	Vacutainer CPT(Ficoll içeren mononükleer lökosit ayırma solüsyonu kiti)	BD, Katalog No. NJ 07417, ABD
2	Kan dendritik hücre izolasyon kiti	MagCelect™ RD Systems, Katalog No. MAGH120, ABD
3	LDL kiti	Sigma, Katalog No. L8292, ABD
4	CD86	BD, Katalog No. 561129, ABD
5	CD45	BD, Katalog No. 555591, ABD
6	CD11c	BD, Katalog No. 555392, ABD
7	CD141	BD, Katalog No. 559781, ABD
8	CD14	BD, Katalog No. 345784, ABD
9	CD80	BD, Katalog No. 557226, ABD
10	CD123	BD, Katalog No. 558663, ABD
11	HLA-DR	BD, Katalog No. 559712, ABD
12	LIN	BD, Katalog No. 555570, ABD
13	IL-4	MiltenyiBiotech, Katalog No. 120-001-742 Almanya
14	GMCSF	MiltenyiBiotech, Katalog No. 120-001-741 Almanya

Kimyasallar

Çalışmalar sırasında kullanılan kimyasallar Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Kimyasallar

Sıra No	Kimyasalın adı	Kimyasalın markası, katalog numarası ve üretim yeri
1	PBS 10 mM (pH 7,4 2 mM EDTA ilaveli)	CliniMACS MiltenyiBiotech, Katalog No. 130-070 Almanya
2	RPMI 1640	Omega, Katalog No. 13344, ABD
3	Dendritik hücre zenginleştirici kokteyl	MiltenyiBiotech, Katalog No. 120-001-742, Almanya
4	Dendritik hücre dışı yok etme kokteyli	MiltenyiBiotech, Katalog No. 120-001-741 Almanya
5	FcR bloklama reaktifi	MiltenyiBiotech, Katalog No. 120-000-442 Almanya
6	Heparin flakon	Mustafa Nevzat, Katalog No. 600, Türkiye
7	BSA (sığır serum albumin Roche, %10)	Katalog No. 107114, Almanya
8	Paraformaldehit (%4’lük)	Merck İlaç Ecza, Katalog No. 402253604, Türkiye
9	NaCl (154 mEq/L)	Eczacıbaşı, Katalog No. M1509045, Türkiye
10	Bakır sülfat (CuSO ₄)	Merck İlaç Ecza, Katalog No. 10279781, Türkiye

Cihazlar

Çalışmalar sırasında kullanılan cihazlar Çizelge 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. Cihazlar

Sıra No	Cihazın adı	Cihazın markası, modeli ve üretim yeri
1	Biyogüvenlik kabini sınıf 2	NÜVE MN 090, Türkiye
2	Santrifüj (soğutmalı)	NÜVE NF 1200R, Türkiye
3	Santrifüj (soğutmasız)	NÜVE NF 1200R, Türkiye
4	Çift lazerli akım sitometri cihazı	FACS Calibur BD, Model No. M8570, ABD
5	Vorteks	Isolab, Katalog No. 162201, Türkiye
6	Işık mikroskobu	Olympus CX31, Almanya

Sarf malzemeler

Çalışmalar sırasında kullanılan sarf malzemeler. Çizelge 3.5'te verilmiştir.

Çizelge 3.5. Sarf malzemeler

Sıra No	Malzemenin adı	Malzemenin markası, üretim yeri
1	Vakumlu kan alma sistemi	Plymouth, İngiltere (UK)
2	96 kuyucuklu hücre kültür plağı	Kocintok, Türkiye
3	Polistren kaplı FACs tüpü (5 ml)	Falcon BD, ABD
4	Steril pipet, 10 ml	
5	Steril pipet, 25 ml	
6	Steril filtreli pipet ucu, 100, 200 µl	
7	Mikroskop slide lam 24X76 mm	True Line, Çin

3.2. Yöntemler

3.2.1. Periferik venöz kan örneğinden mononükleer lökosit izolasyonu

Gereçler

- Taze periferik venöz kan örneği
- Ficoll İçeren Mononükleer Lökosit Ayırma Kiti 1 (Vacutainer CPT FICOLL, 2ml, BD, ABD).
- Ficoll içeren mononükleer lökosit ayırma solüsyon kiti 2 (Katalog no: NJ 07417 Vacutainer CPT, BD, ABD) (**Resim 3.9**)
- PBS 10 mM, pH 7,4 (2 mM EDTA ilaveli) (CliniMACS 130-070 MiltenyiBiotec,

Almanya)

- RPMI 1640 (Omega Katalog no: 13344, ABD)
- Soğutmalı santrifüj, opsiyonel frenli (NÜVE NF 1200 R, Türkiye).

Yöntem

- Tüm hücre izolasyon ve kültür işlemleri laminar akımlı kabinde yapıldı (Laminar Akımlı Kabin, NÜVE MN 090, Türkiye).
- İzolasyon tüpü oda sıcaklığına getirildi (Vacutainer CPT FICOLL, 16X125 ml, BD, ABD) (Resim 3.9).
- Vakumlu kan alma sistemi ile çalışma grubundaki her bireyden Radyal venden 8 ml periferik venöz tam kan örneği alınarak bu tüpün üzerine ilave edildi (Vacutainer CPT).
- Kan örneği içeren tüp 2500 rpm'de 20°C'da 1 dk. santrifüj edildi.
- Daha sonra tüp 2500 rpm'de (frensiz olarak) 20°C'da 15 dk santrifüj edildi.
- Elde edilen mononükleer hücre (MNC) tabakası (*buffy coat*: bulutsu tabaka) pipetle alındı (Resim 3.10).
- Alınan buffy coat temiz bir cam tüpe aktarıldı ve üzerine 2 ml PBS/EDTA (CliniMACS 130-070 MiltenyiBiotec, Almanya) eklendi.
- Cam tüp 1500 rpm'de 20°C'da 8 dk santrifüj edildi.
- Süpernatant alındı ve 10 ml PBS/EDTA(CliniMACS 130-070 MiltenyiBiotec, Almanya) ilave edilerek 8 dk 1800 rpm'de 20°C'da 8 dk santrifüj edildi.
- 10 µL hücre süspansiyonu alındı ve 1100 rpm'de 20°C'da 8 dk santrifüj edildi.
- 4 ml PBS/EDTA (CliniMACS 130-070 MiltenyiBiotec, Almanya) eklendi.
- Elde edilen mononükleer hücreler kontrol amaçlı Giemsa boyası ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi.

3.2.2. Periferik venöz kan örneğinden dendritik ön hücre izolasyonu

Gereçler

- Kan dendritik hücre izolasyon kiti (Human Blood Cell Isolation Kit II; order no: 130-091-379, ABD)
- Manyetik Separasyon Kolonları ve Separatörleri (MACS Columns ve MACS Separators; MiniMACS, MiltenyiBiotec, Almanya) (**Resim 3.6**)
- Manyetik işaretleyiciler: CD14-FITC, CD19-FITC, CD303 (BDCA-2-PE), BDCA- 1-PE, BDCA-3-PE (**Resim 3.7**).
- Dendritik hücre zenginleştirici kokteyl (*DC Enrichment Coctail*, human 2 mL, Katolog no: 120-001-742 (Miltenyi Biotec MACS, Almanya)
- Dendritik hücre dışı yok etme kokteyli (*Non-DC Depletion Coctail*, human 2 mL, Katolog no: 120-001-741 (Miltenyi Biotec MACS, Almanya)
- FcR Bloklama Reaktifi (*FcR Blocking Reagent*, human 2 mL, Katolog no: 120-000-442(Miltenyi Biotec MACS, Almanya)

Yöntem

Dendritik hücre pozitif izolasyonu

- Çalışma Tampon Solüsyonu (*Assay-Buffer*) hazırlandı: PBS pH 7,2 üzerine %0,5'lik sığır serum albumini (BSA) ve 2 mM EDTA eklendi.
- Mononükleer hücre (MNH) pelleti 300 µl *Assay-Buffer* içerisinde enkübe edildi.
- 100 µl FcR bloklama reaktifi eklendi.
- 100 µl *Non-DC Depletion Cocktail* eklendi.
- Kokteyl buzdolabında (2-8 °C'da) 15 dk. enkübe edildi.
- Hücreler 10 mL Çalışma Tampon Solüsyonu ile yıkandı ve 1100 rpm'de 10 dk santrifüj edildi.
- MNH pelleti 6 mL Çalışma Tampon Solüsyonu içinde enkübe edildi.
- Ayırıştırıcı magnetik kolon MACS separatörüne eklendi ve 3 mL Çalışma Tampon Solüsyonu ile yıkandı (**Resim 3.6**).
- Hücre süspansiyonu 1800 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi.
- Hücre pelleti üzerine 400 µl Çalışma Tampon Solüsyonu ilave edildi.

- Bunun üzerine 100 µl Dendritik Hücre Zenginleştirici Kokteyl (*DC Enrichment Cocktail*) ilave edildi ve homojenize etmek amacı ile pipet ile karıştırıldı.
- Homojenize edilen hücre solüsyonu buzdolabında (2-8 °C'da) 15 dk. enkübe edildi.
- Pellet 5-10 mL Çalışma Tampon Solüsyonu ilave edilerek yıkandı ve 1500 rpm'de 10 dk. santrifüjlendi ve süpernatant aspire edildi.
- Aspire edilen süpernatant 500 µl Çalışma Tampon Solüsyonu içinde enkübe edildi.
- Manyetik separasyona aşamasına geçildi.

3.2.3. Manyetik separasyon: dendritik hücrelerin pozitif seçimi

- Manyetik separasyon (MS) kolonu manyetik alana yerleştirildi.
- Kolon 500 µl Çalışma Tampon Solüsyonu ile yıkandı.
- Hücre süspansiyonu kolona eklendi ve akan işaretlenmemiş hücreler toplandı.
- Yıkama aynı şekilde tekrar edildi.
- Kolon separatörden ayrıldı ve toplama (koleksiyon) tüpüne kondu.
- 500 µl Çalışma Tampon Solüsyonu kolona eklendi ve manyetik olarak işaretlenmiş hücreler yıkanarak toplandı.

3.2.4. Periferik venöz kan örneğinden izole edilen DH kültürü

Gereçler

- 96 Kuyucuklu/çukurlu, steril polipropilen hücre kültür plağı (Kocintok A.Ş., Katolog no: L120030, Türkiye).
- Elde edilen dendritik hücre pelleti.
- Steril heparin 5000 IU/mL. (Mustafa Nevzat, Katolog no:600, Türkiye)
- RPMI kültür besiyeri (RPMI 1640 Omega, ABD).
- %10'luk fetal sığır serumu (*Bovine Serum Albumin*, Katolog no:107114, Roche Diagnostic, Almanya)
- Manyetik separasyon çalışma tuz solüsyonu (MACs buffer saline (DPBS) (%0,1'lik BSA ve 2 mM EDTA ilaveli) (Miltenyibiotec, Katolog no:130-091-271, Almanya)
- İnterlökin-4 (IL-4) (Miltenyibiotec, Katolog no:120-001-742, Almanya)
- Granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör. (GM-CSF) (Miltenyibiotec, Katolog no:120-001-741, Almanya)

- %5 CO₂'li Su Ceketli Etüv (NÜVE EN 400 Türkiye).
- Manyetik ayrıştırıcıdan geçirilmiş hücre pelleti.
- Yıkama solüsyonu: (10X) PBS, pH 7,4 (%0,2 BSA ilaveli) (CliniMACS 110-070 MiltenyiBiotec, Almanya)
- % 4'lük Paraformaldehit (Merck İlaç Ecza, Katolog no:402253604, Türkiye)
- 5 ml, polistren kaplı FACs tüpü (BD Falcon, Katolog no:352052, ABD)
- Vorteks cihazı (Isolab, Katolog no:162201, Türkiye)
- Işık Mikroskobu (Olympus CX31, Almanya)

Yöntem

- Hücre pelleti alındı.
- Üzerine 10 IU/mL heparin eklendi.
- Örnek 1:1 oranında %5'lik FBS içeren RPMI ile inkübe edildi.
- Pellet buzdolabında (2-8 °C'da) 15 dk. inkübe edildi.
- 100 ng/mL GM-CSF ve 50 ng/mL IL-4 içerecek şekilde RPMI solüsyonu hazırlandı.
- Hücre pelletinin üzerine hücre konsantrasyonu 5×10^5 hücre/mL olacak şekilde RPMI solüsyonu ilave edildi. Hücreler thoma lamında sayıldı.
- Elde edilen hücre solüsyonu kültür plaklarına kuyucuk başına 300'er µl dağıtıldı ve %5 CO₂'li etüvde 2 gün inkübe edildi.

3.2.5. Okside LDL' nin (ox-LDL) hazırlanması

Gereçler

- Düşük dansiteli lipoprotein: LDL (β -lipoprotein, Sigma, Ürün no:L8292, ABD)
- NaCl (154 mEq/L, Eczacıbaşı, Katolog no: M1509045, Türkiye)
- EDTA, pH 7,4 (CliniMACS 130-070 MiltenyiBiotec, Almanya)
- Bakır sülfat (CuSO₄) (Merck İlaç Ecza, Katolog no:10279781, Türkiye)

Yöntem

- 2 mg/mL LDL, 20 mM bakır sülfat (CuSO₄) ile 37°C'da 18 saat inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrası 0,5 mM EDTA eklenerek reaksiyon durduruldu.

- Tüm solüsyonlar 0,2 mikronluk enjektör filtresinden geçirildi.
- Periferik kan örneğinden manyetik MACs filtreleme metodu ile elde edilen dendritik hücre izolatları ikiye ayrıldı: Bir kısım izolat ox-LDL'li, diğer kısım izolat ox-LDL'siz ortamda ve her çukura 20 µl olacak şekilde LDL ilave edilerek 2 gün inkübe edildi.

3.2.6. Akan hücre ölçer analizleri

Gereçler

- Çift lazerli akan hücre ölçer cihazı (FACS Calibur BD, model no:M8570, ABD)
 - Dendritik hücre kültürü
 - Monoklonal antikorlar
- 1- FITC Fare anti-insan CD123 (BD, Katolog no:558663, ABD)
 - 2- PerCP-Cy 5.5 Fare anti-insan CD86 (BD, Katolog no:561129, ABD)
 - 3- APC Fare anti-insan CD45 (BD, Katolog no:555591, ABD)
 - 4- PE Fare anti-insan CD11c (BD, Katolog no:555392, ABD)
 - 5- PE Fare anti-insan CD141 (BD, Katolog no:559781, ABD)
 - 6- FITC Fare anti-insan CD80 (BD, Katolog no:557226, ABD)
 - 7- FITC Fare anti-insan CD14 (BD, Katolog no:345784, ABD)
 - 8- HLA-DR APC Fare anti-insan (BD, Katolog no:559712, ABD)
 - 9- LIN FITC Fare anti-insan (BD, Katolog no:555570, ABD)
- Vorteks (Isolab, Katolog no:162201, Türkiye)

Yöntem

- 4 adet (4 ml'lik konik tabanlı polietilen tüp, BD) tüp alındı.

Tüp No:1 CD123-FITC
 CD11c-PE CD45-
 APC
 CD86-PerCP Cy 5.5

Tüp No:2 CD11c-PE
 HLA-DR-APC
 CD80-FITC

Tüp No:3 CD141-PE
 CD14-FITC
 CD45-APC
 CD86-PerCP Cy 5.5

Tüp No:4 Lin-FITC HLA-DR-APC

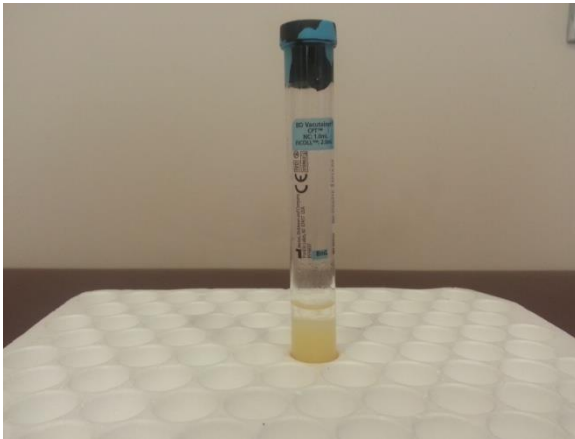
- 300 µL pellet tüpe eklendi.
- Tercih edilen monoklonal APC için 5 µL, diğer antikorlar için 10 µL tüpe eklendi.
- Vortekslendi.
- Vortekslenen tüp oda sıcaklığında 20 dk karanlıkta inkübe edildi.
- Her tüpe 2 ml PBS ilave edildi.
- Tüpler vortekslendi.
- Vortekslenen tüpler daha sonra 1500 rpm'de 5 dk santrifüj edildi.
- Süpernatant alındı.
- Her tüpe 500 µL 10x PBS eklendi.
- Vortekslendi.
- Akan hücre ölçer cihazına yüklenerek çalıştırıldı.
- Örnekler akan hücre ölçer cihazında okunmadan önce 4 ayrı tüpte 9 ayrı antikor kullanılarak (CD123-FITC, CD11c PE, CD40 APC, CD86 Percp, LIN FITC, HLADR APC, CD80 FITC, CD141 PE, CD14 FITC) boyandı. Tüm hücre grupları içinde HLADR⁺ LIN⁻ hücreler dendritik hücre olarak kabul edildi.
- Hücreler akan hücre ölçer cihazında yaklaşık yirmibin hücre sayılarak analiz edildi. Mononükleer hücreleri içererecek şekilde kapı alındı. HLADR⁺ LIN⁻ bölgeden geri kapılama (back gating) yöntemiyle bu işlemin doğruluğu denetlendi.



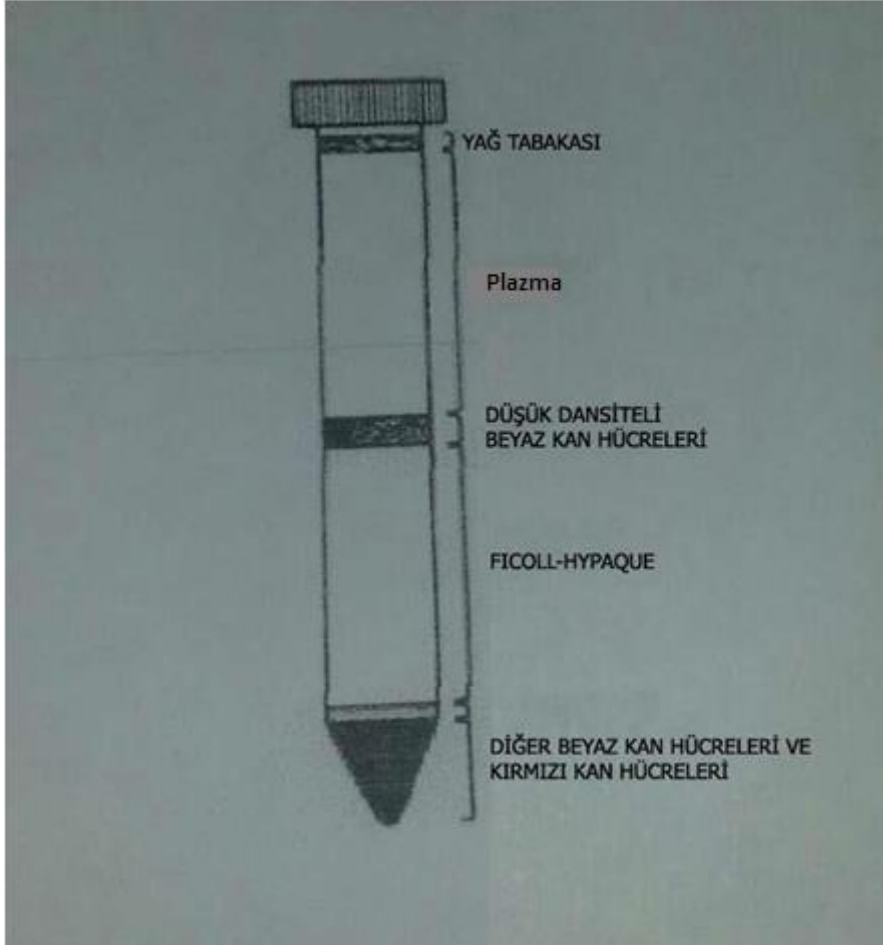
Resim 3.1. Manyetik seperasyon kolonu ve miknatısı (MACS)



Resim 3.2. manyetik seperasyon kolonu manyetik filtre (MACS)



Resim 3.3. FICOLL içeren mononükleer lökosit ayırma solüsyon kiti 2 (Vacutainer CPT,BD)



Resim 3.4. FICOLL ile hücre izolasyon şematik görüntüsü

3.3. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizde sürekli değişkenler ortalama \pm standart hata, kategorik değişkenler % (yüzde) ile ifade edildi. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki-kare testi kullanıldı. Bağımsız gruplarda sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında student's-t testi, bağımlı gruplarda sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında paired-t testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık olarak pdeğeri $\leq 0,05$ olarak sınır alındı. İstatistiksel analiz için bilgisayar tabanlı bir istatistik programı olan SPSS 15 versiyonu kullanıldı.

29 hastaya ait veriler incelendiğinde koroner arter hastalığı olan ve olmayan gruba ait dendritik hücrelerin oksitlenmiş LDL uyarısına verdikleri CD86 molekül düzeyine ait yanıtta istatistiksel olarak anlamlı sonuç alınmıştır ($p \leq 0,05$).



4. BULGULAR VE YORUM

Bulgular

4.1. Çalışma Popülasyonunun Özellikleri

Çizelge 4.1. Çalışma popülasyonu hasta bilgileri

Hasta	KAH	Operasyon	DM	Yaş	Beyaz Küre	DH Sayısı	Sigara	HT	HL
1	0	2	0	64	6.500	2	1	0	1
2	0	2	0	60	11.000	156	1	1	0
3	0	0	0	46	8.700	50	0	0	1
4	0	2	0	69	8.200	16	0	0	0
5	0	2	0	51	1.1300	72	0	1	0
6	0	2	0	65	8.400	149	0	0	0
7	1	1	0	67	8.200	52	0	0	0
8	1	1	1	53	5.500	166	0	1	1
9	1	1	0	76	10.900	83	1	1	0
10	1	1	0	68	5.200	74	0	1	0
11	1	1	0	73	11.100	192	0	0	1
12	1	1	1	53	4.100	50	1	0	0
13	1	1	0	68	7.400	51	0	1	0
14	1	1	1	63	10.000	41	0	0	1
15	1	1	1	61	8.400	52	0	1	1
16	1	1	1	59	5.900	118	1	1	1
17	1	0	0	80	4.500	22	0	0	1
18	1	1	1	73	10.800	51	0	0	0
19	1	0	0	60	7.600	99	1	0	1
20	1	1	0	67	6.600	121	0	1	0
21	1	1	1	65	8.900	95	0	0	0
22	1	1	0	59	9.200	210	0	0	1
23	1	1	0	65	5.100	85	1	0	0
24	1	1	0	59	8.200	158	0	0	0
25	1	1	1	82	13.100	97	0	1	0
26	1	1	0	52	9.800	44	0	1	1
27	1	1	1	65	12.400	32	0	0	0
28	1	1	0	70	11.200	18	0	0	0
29	1	1	1	76	7.400	19	1	1	1

KAH : Koroner arter hastalığı

Operasyon 1 : CABG (Koroner arter bypass greft)

Operasyon 2 : Mitral kapak replasmanı(MVR) veya aort kapak replasmanı(AVR) DM
: *Diabetes mellitus*

HT : Hipertansiyon

HL : Hiperlipidemi

1 : Var

0 : Yok

Çalışmaya toplam 29 hasta dahil edildi. Bunların 11'i kadın hasta, 18'i erkek hastadan oluşmaktaydı. Çalışma grubunun yaş ortalaması 64±9 yaş (minimum: 46 yaş, maksimum: 80 yaş). Yirmi dokuz hastanın 6 tanesinde koroner arter hastalığı bulunmamaktaydı. Bunlardan 1 tanesi hariç diğerleri kalp kapak hastalığı nedeni ile opere edilen hastalardan oluşmaktaydı. Bu hastalardan hiçbirinde *Diabetes Mellitus* bulunmamaktaydı. Bu

hastalardan 4'ü erkek ikisi ise bayan hastalardan oluşmaktaydı. Koroner arter hastalığı bulunan ve bu nedenle koroner arter by-pass cerrahisi uygulanan 23 hasta çalışmaya dahil edildi. Bu hastalar da Diabetes Mellitus olan (10 hasta) ve olmayan (13 hasta) olarak 2 grubu ayrıldılar.

4.2. Akan Hücre Ölçer Analiz

Tüm örneklerde dendritik hücre izolasyonu başarı ile gerçekleştirildi. Dendritik hücreler akım sitometri cihazında sayıldı. Örnekler akım sitometri cihazında okunmadan önce 4 ayrı tüpte 9 ayrı antikor kullanılarak (CD123-FITC, CD11c PE, CD40 APC, CD86 Percp, LIN FITC, HLADR APC, CD80 FITC, CD141 PE, CD14 FITC) boyandı. Tüm hücre grupları içinde HLADR⁺ LIN⁻ hücreler dendritik hücre olarak kabul edildi.

Örneklerde dendritik hücre saflaştırılmasında yeterince başarı sağlanamadığı görüldü. Dendritik hücreler dışında mononükleer hücre sayısı hala yüksekti. Örneklerde En az 2, en çok 210 dendritik hücre saptandı.

4.3. CD86 Ekspresyonu

Tüm hasta gruplarının periferik kanlarından izole edilen mononükleer lökositlerin kültürlerinde bazal ve okside LDL ile uyarıldıktan sonra akan hücre ölçer ile CD86 ekspresyonu ölçüldü.

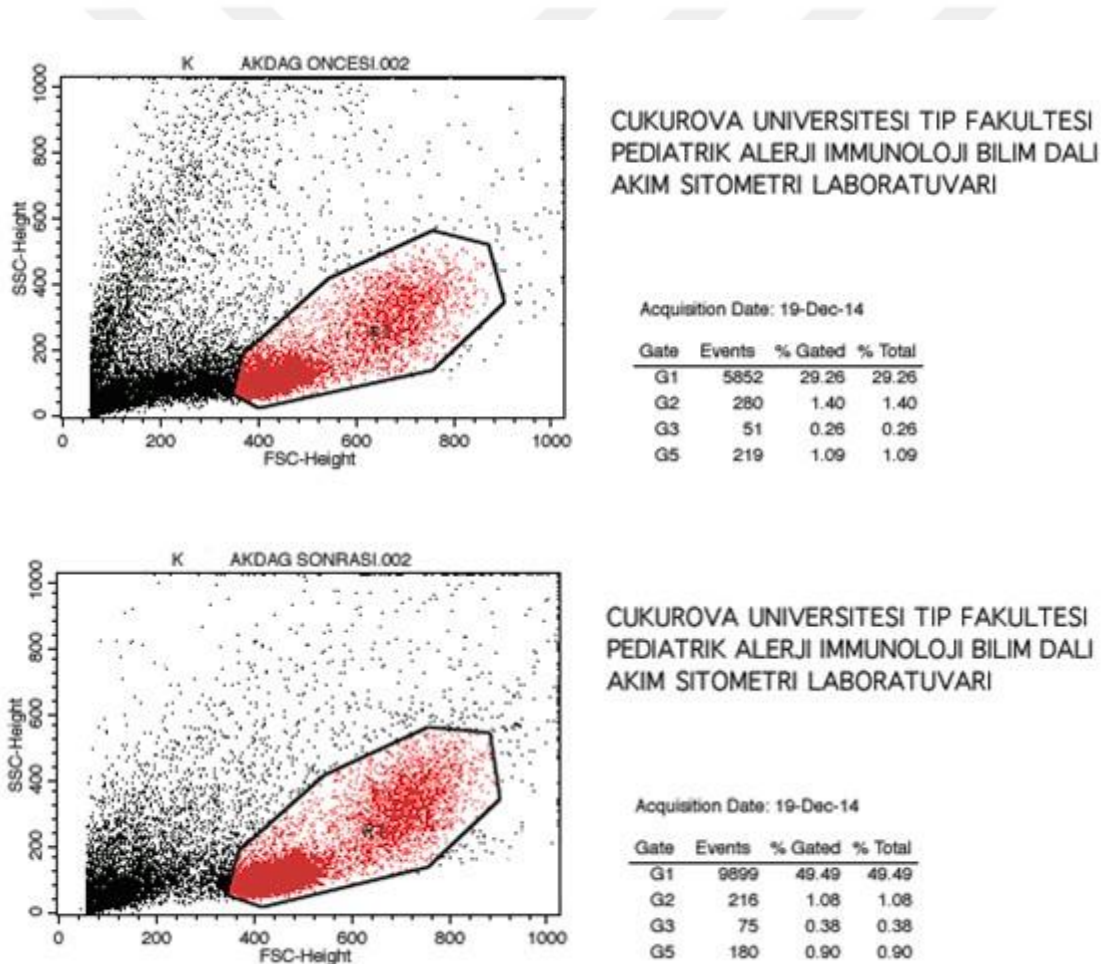
Koroner arter anjiyografisi sonrası koroner arterleri normal olan hastalarla, koroner arter hastalığı olan hastalar arasında ortalama bazal CD86 aktivasyon düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı ($p=0,58$) (Şekil 4.15). Ancak aynı hastalar okside LDL ile uyarım sonrası CD86 aktivasyon düzeyleri ölçüldüğünde, normal koroner arterlere sahip hasta grubunda CD86 aktivasyon düzeyleri, koroner arter hastalığı olanlara göre anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p=0,012$) (Çizelge 4.0, Şekil 4.16).

Koroner arter hastalığı olan hastalar DM (-) ve DM (+) olarak iki gruba ayrıldığında her iki grup arasında bazal CD86 aktivasyon düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,32$) (Şekil 4.17) (Çizelge 4.0.1.). Hem koroner arter hastalığı hem de DM (+) olan hastalarda bazal ve uyarım sonrası CD86 aktivasyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,54$, Çizelge 4.4, Şekil 4.18). Ancak koroner arter hastalığı

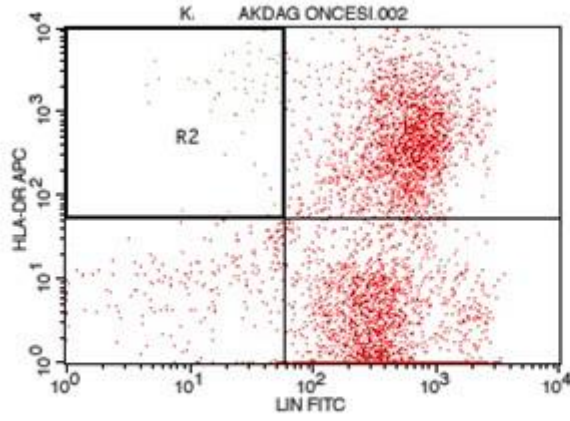
olduğu halde DM (-) olan hastalarda okside LDL uyarımı sonrasında CD86 aktivasyon düzeyinde artış saptandı ($p=0,027$, Şekil 4.18) (Çizelge 4.3).

Normal koroner arterlere sahip hastalarda okside LDL ile uyarım sonrası CD86 aktivasyon düzeylerinde yaklaşık 3 kat artış gözlemlendi (öncesi 142, sonrası 547. Şekil 4.19). Ancak istatistiksel anlamlılık olarak p değeri sınıra yakındı ($p=0,15$). Bu sonuç daha çok normal koroner arterlere sahip hasta vaka sayısının az olmasına bağlandı.

4.4. Ateroskleroza Olan (CABG Operasyonu Planlanan) Bir Hasta Örneğinin ox-LDL ile Uyarılmadan Önceki ve Sonraki FSC-SSC Grafiği



Şekil 4.1. Aterosklerotik lezyonu olan hastada akan hücre ölçer çalışma total görünüm (mononükleer hücre kısmının alınması)

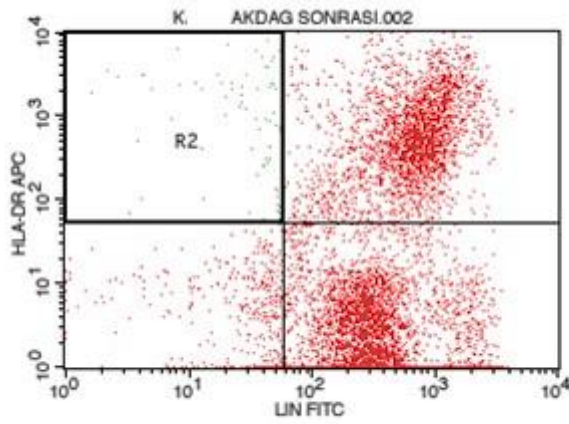


Gate: G1

Gate	Events	% Gated	% Total
G1	5852	100.00	29.26
G2	51	0.87	0.26
G3	51	0.87	0.26
G5	49	0.84	0.24

Tube: tube #2 Gate: G1

Quad	Events	% Gated	% Total
UL	56	0.96	0.28
UR	2153	36.79	10.76
LL	210	3.59	1.05
LR	3433	58.66	17.16



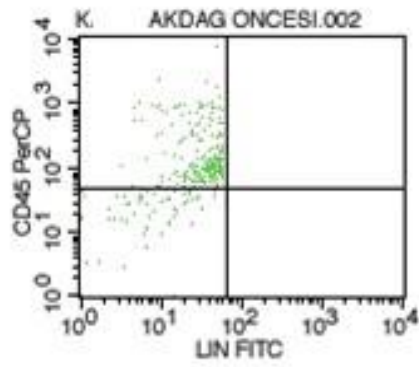
Gate: G1

Gate	Events	% Gated	% Total
G1	9899	100.00	49.49
G2	75	0.76	0.38
G3	75	0.76	0.38
G5	72	0.73	0.36

Tube: tube #2 Gate: G1

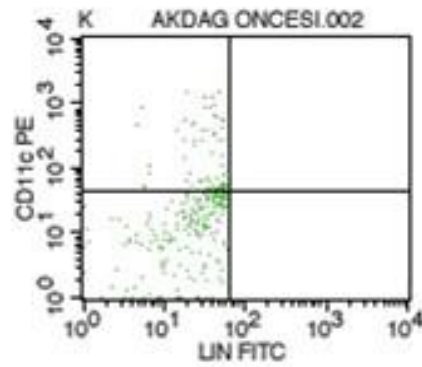
Quad	Events	% Gated	% Total
UL	81	0.82	0.40
UR	2792	28.20	13.96
LL	392	3.96	1.96
LR	6634	67.02	33.17

Şekil 4.2. Aterosklerotik lezyonu olan hastada akan hücre ölçer çalışmada LIN-HLA-DR fraksiyonu (mononükleer hücre kapısında)



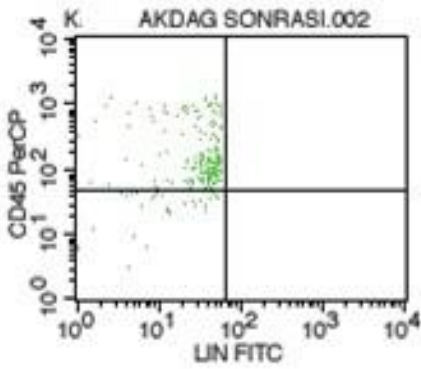
Tube: tube #2 Gate: G2

Quad	Events	% Gated	% Total
UL	219	78.21	1.09
UR	0	0.00	0.00
LL	61	21.79	0.30
LR	0	0.00	0.00



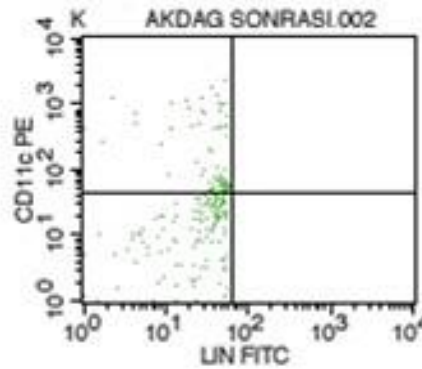
Tube: tube #2 Gate: G2

Quad	Events	% Gated	% Total	X
UL	66	23.57	0.33	
UR	0	0.00	0.00	
LL	214	76.43	1.07	
LR	0	0.00	0.00	



Tube: tube #2 Gate: G2

Quad	Events	% Gated	% Total
UL	186	86.11	0.93
UR	0	0.00	0.00
LL	30	13.89	0.15
LR	0	0.00	0.00

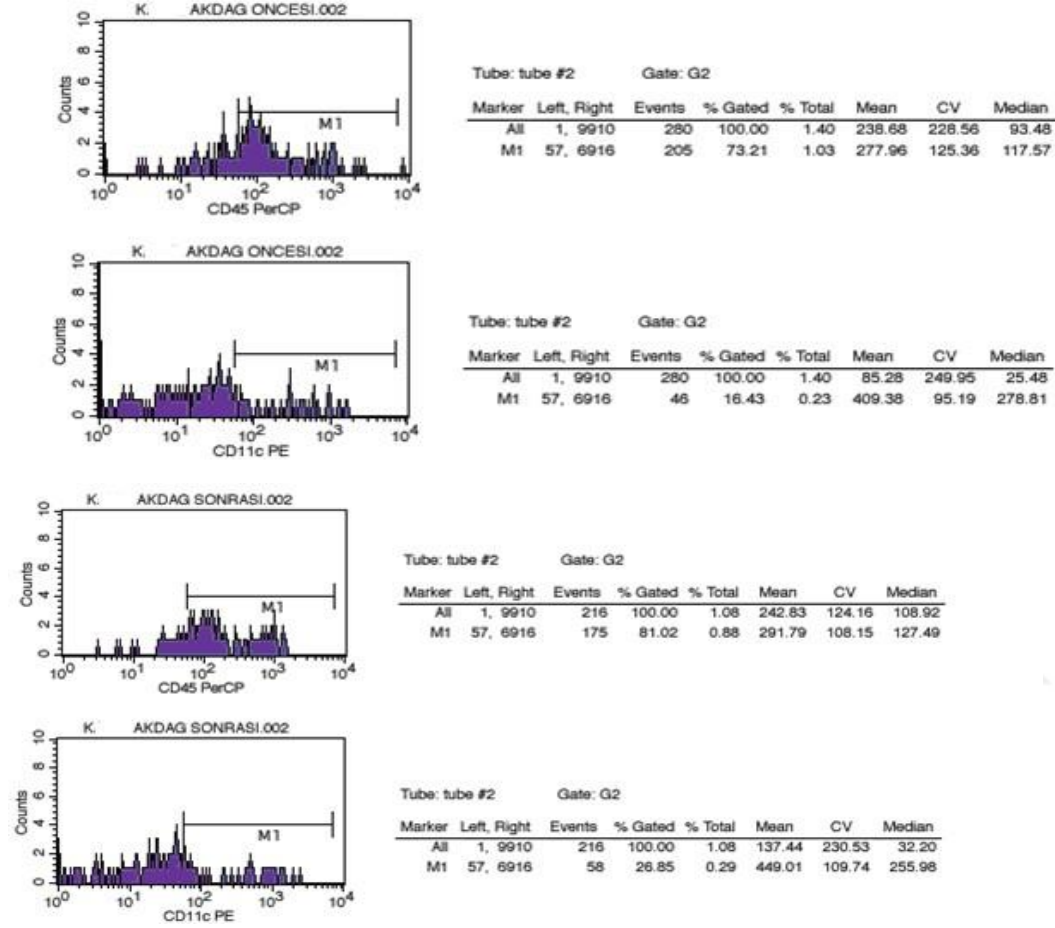


Tube: tube #2 Gate: G2

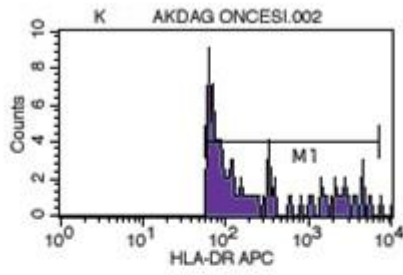
Quad	Events	% Gated	% Total	X
UL	80	37.04	0.40	
UR	0	0.00	0.00	
LL	136	62.96	0.68	
LR	0	0.00	0.00	

Şekil 4.3. Aterosklerotik lezyonu olan hastalardan biri akan hücre ölçer çalışmada LIN CD45 fraksiyonu (mononükleer hücre kapısında)

4.5. Ateroskleroza Olan(CABG Operasyonu Planlanan) Bir Hasta Örneğinin ox-LDL ile Uyarılmadan Önceki ve Sonraki Akan Hücre Ölçer Analiz Raporları Histogram Grafikleri



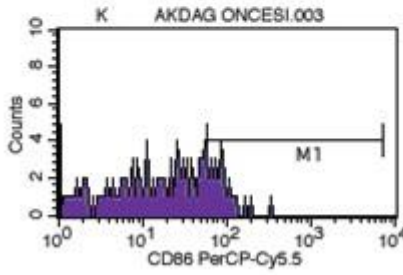
Şekil 4.4. Aterosklerotik lezyonu olan hasta akan hücre ölçer çalışmada CD11c CD45 fraksiyonu (kapılar izotip kontrole göre alınmıştır).



Tube: tube #2

Gate: G2

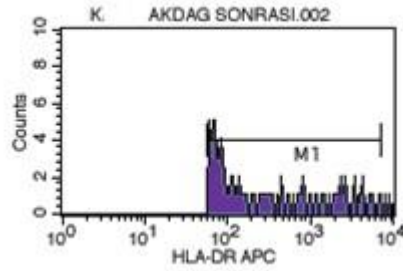
Marker	Left, Right	Events	% Gated	% Total	Mean	CV	Median
All	1, 9910	280	100.00	1.40	601.58	207.47	81.31
M1	57, 6916	272	97.14	1.36	583.63	196.57	82.79



Tube: tube #3

Gate: G2

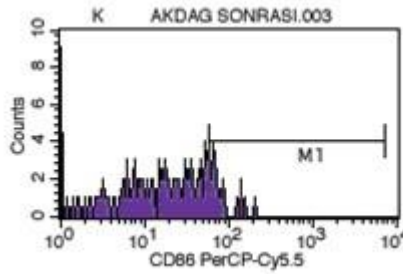
Marker	Left, Right	Events	% Gated	% Total	Mean	CV	Median
All	1, 9910	385	100.00	1.93	32.82	104.82	21.67
M1	57, 6916	78	20.26	0.39	86.42	39.64	81.31



Tube: tube #2

Gate: G2

Marker	Left, Right	Events	% Gated	% Total	Mean	CV	Median
All	1, 9910	216	100.00	1.08	808.63	194.17	88.17
M1	57, 6916	206	95.37	1.03	724.22	180.24	91.40



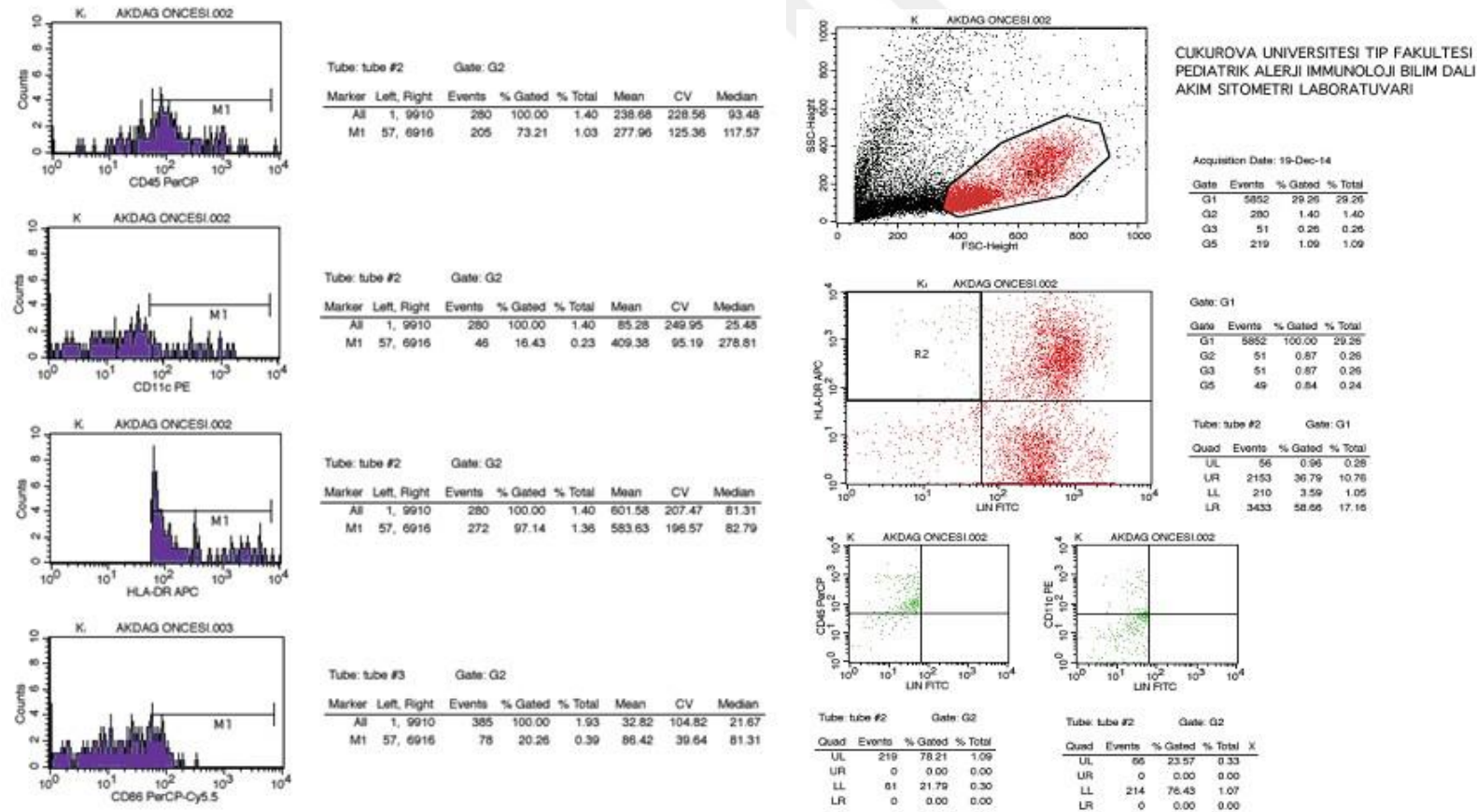
Tube: tube #3

Gate: G2

Marker	Left, Right	Events	% Gated	% Total	Mean	CV	Median
All	1, 9910	259	100.00	1.29	31.79	87.31	24.80
M1	57, 6916	47	18.15	0.24	74.71	35.75	66.12

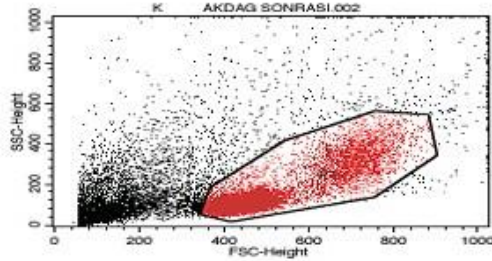
Şekil 4.5. Aterosklerotik lezyonu olan hasta akan hücre ölçer çalışmada CD86 HLA-DR fraksiyonu (kapılar izotip kontrole göre alınmıştır).

4.6. Aterosklerozu Olan (CABG Operasyonu Planlanan) Bir Hasta Örneğinin ox-LDL ile Uyarılmadan Önceki Akan Hücre Ölçer Total Analiz Raporları



Şekil 4.6. Aterosklerotik lezyonu olan hasta numunesi ox-LDL ile uyarılmamış dendritik hücre pelleti akım sitometri çalışması

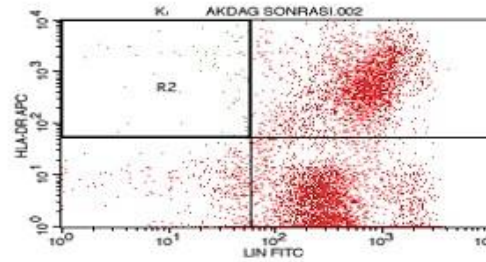
4.7. Ateroskleroza Olan (CABG Operasyonu Planlanan) Bir Hasta Örneğinin Ox-LDL İle Uyarıldıktan Sonraki Akan Hücre Ölçer Total Analiz Raporları



ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ PEDIATRİK ALERJİ
İMMÜNOLOJİ BİLİM DALI
AKIM SİTOMETRİ LABORATUVARI

Acquisition Date: 19-Dec-14

Gate	Events	% Gated	% Total
G1	9899	49.49	49.49
G2	216	1.08	1.08
G3	75	0.38	0.38
G5	180	0.90	0.90

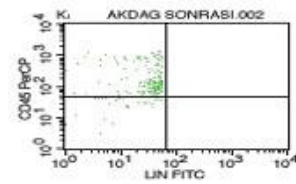


Gate: G1

Gate	Events	% Gated	% Total
G1	9899	100.00	49.49
G2	75	0.76	0.38
G3	75	0.76	0.38
G5	72	0.73	0.36

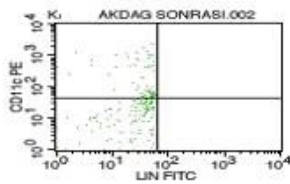
Tube: tube #2 Gate: G1

Quad	Events	% Gated	% Total
UL	81	0.82	0.40
UR	2792	28.20	13.96
LL	392	3.96	1.96
LR	6634	67.02	33.17



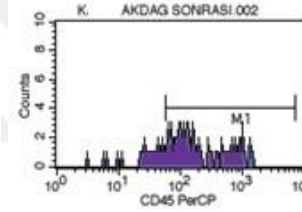
Tube: tube #2 Gate: G2

Quad	Events	% Gated	% Total
UL	186	86.11	0.93
UR	0	0.00	0.00
LL	30	13.89	0.15
LR	0	0.00	0.00



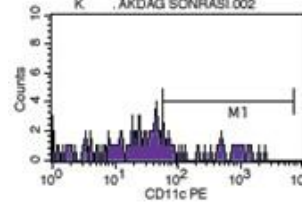
Tube: tube #2 Gate: G2

Quad	Events	% Gated	% Total
UL	80	37.04	0.40
UR	0	0.00	0.00
LL	136	62.96	0.68
LR	0	0.00	0.00



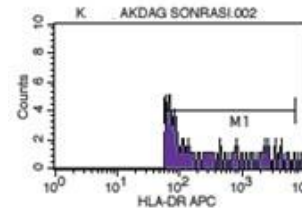
Tube: tube #2 Gate: G2

Marker	Left, Right	Events	% Gated	% Total	Mean	CV	Median
All	1, 9910	216	100.00	1.08	242.83	124.16	108.92
M1	57, 6916	175	81.02	0.88	291.79	108.15	127.49



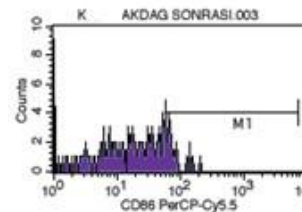
Tube: tube #2 Gate: G2

Marker	Left, Right	Events	% Gated	% Total	Mean	CV	Median
All	1, 9910	216	100.00	1.08	137.44	230.53	32.20
M1	57, 6916	58	26.85	0.29	449.01	109.74	255.98



Tube: tube #2 Gate: G2

Marker	Left, Right	Events	% Gated	% Total	Mean	CV	Median
All	1, 9910	216	100.00	1.08	808.63	194.17	88.17
M1	57, 6916	206	95.37	1.03	724.22	180.24	91.40

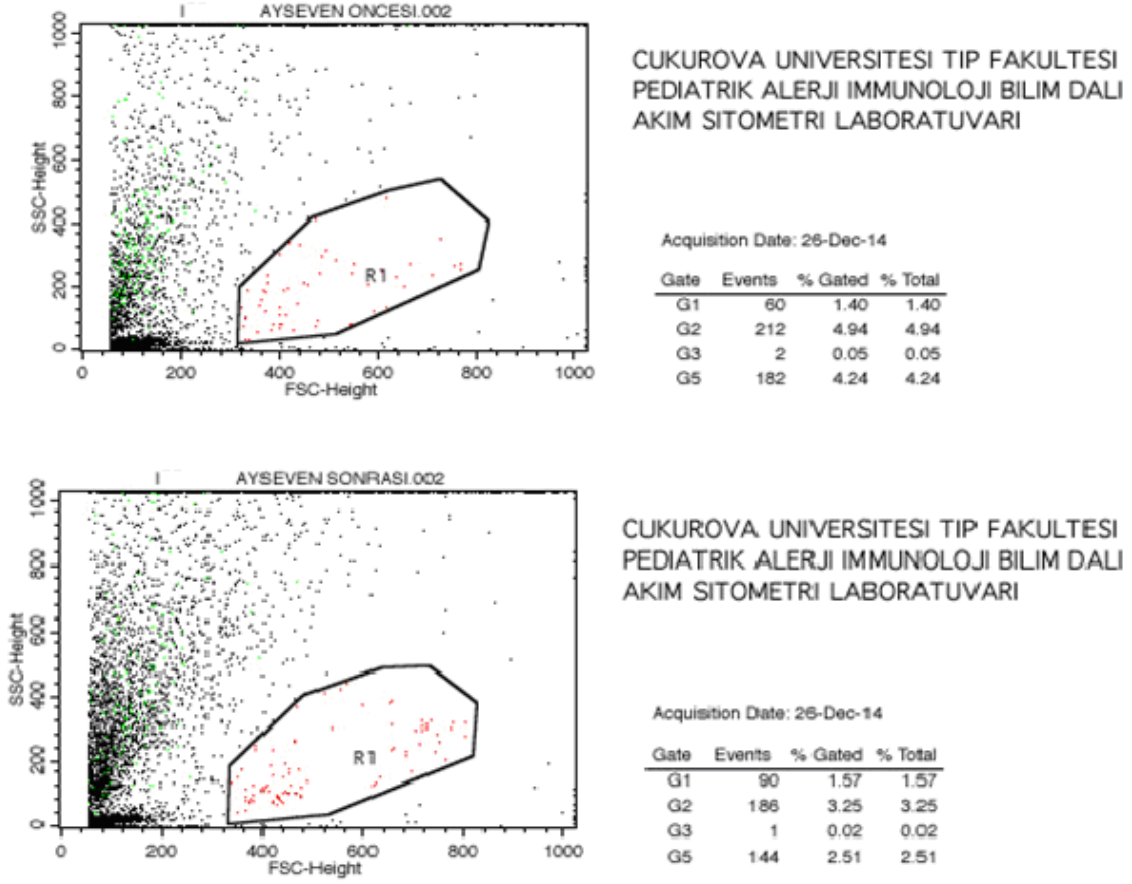


Tube: tube #3 Gate: G2

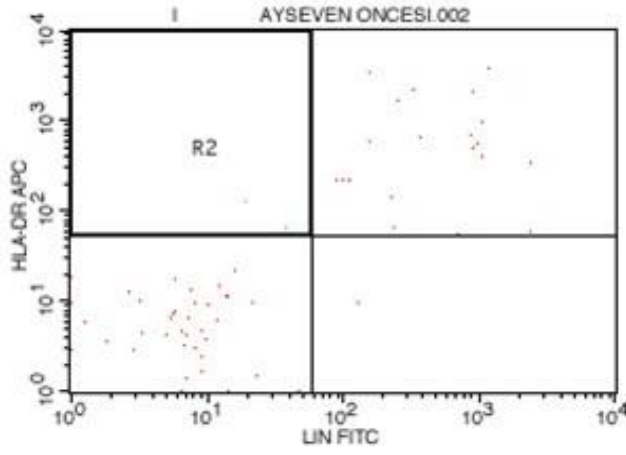
Marker	Left, Right	Events	% Gated	% Total	Mean	CV	Median
All	1, 9910	259	100.00	1.29	31.79	87.31	24.80
M1	57, 6916	47	18.15	0.24	74.71	35.75	66.12

Şekil 4.7. Aterosklerotik lezyonu olan hasta örneği ox-LDL ile uyarılmış dendritik hücre pelleti akım sitometri çalışması

4.8. Aterosklerozu Olmayan Koroner Damarları Açık Hasta Örneğinin ox-LDL İle Uyarılmadan Önceki Ve Sonraki FSC-SSC Grafiği



Şekil 4.8. Aterosklerozu olmayan hasta (negatif kontrol) akım sitometri çalışması total görünüm (mononükleer hücre kapısı).

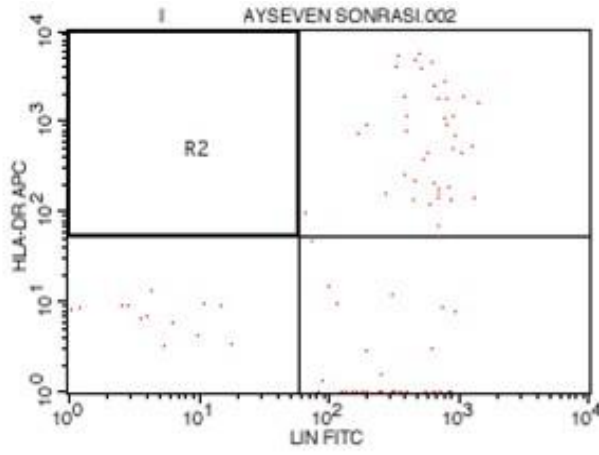


Gate: G1

Gate	Events	% Gated	% Total
G1	60	100.00	1.40
G2	2	3.33	0.05
G3	2	3.33	0.05
G5	2	3.33	0.05

Tube: tube #2 Gate: G1

Quad	Events	% Gated	% Total
UL	2	3.33	0.05
UR	20	33.33	0.47
LL	37	61.67	0.86
LR	1	1.67	0.02



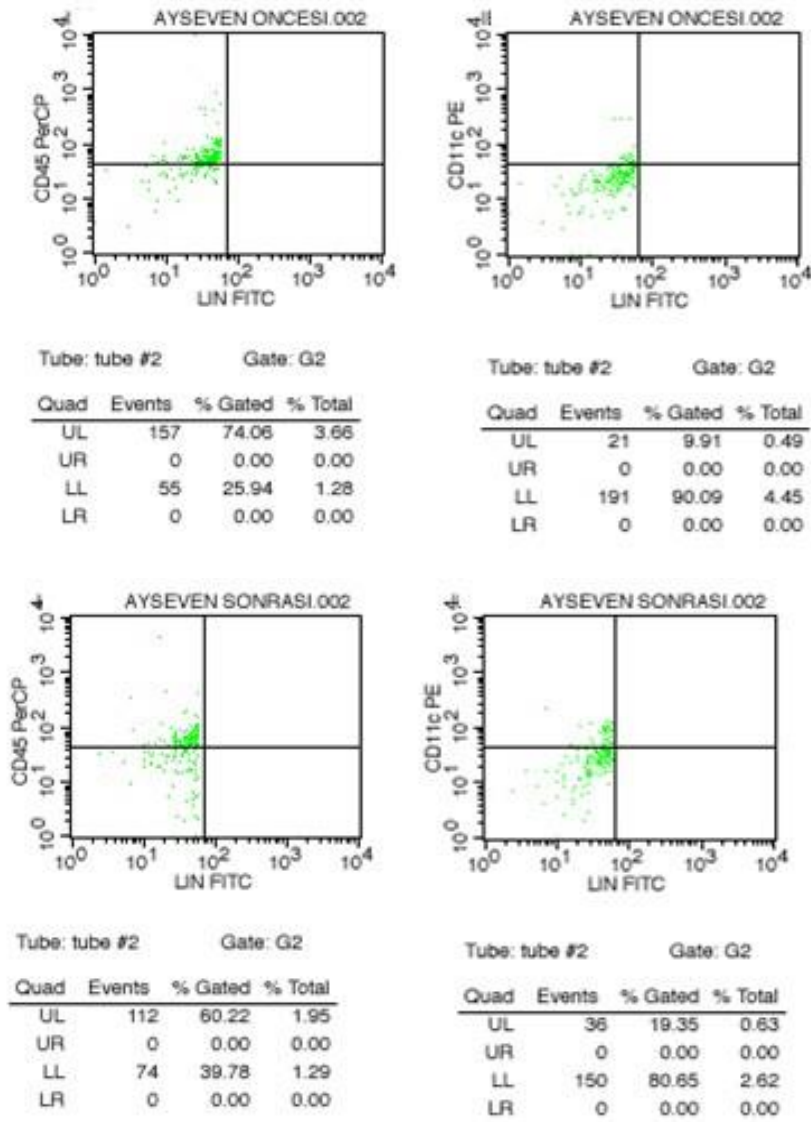
Gate: G1

Gate	Events	% Gated	% Total
G1	90	100.00	1.57
G2	1	1.11	0.02
G3	1	1.11	0.02
G5	0	0.00	0.00

Tube: tube #2 Gate: G1

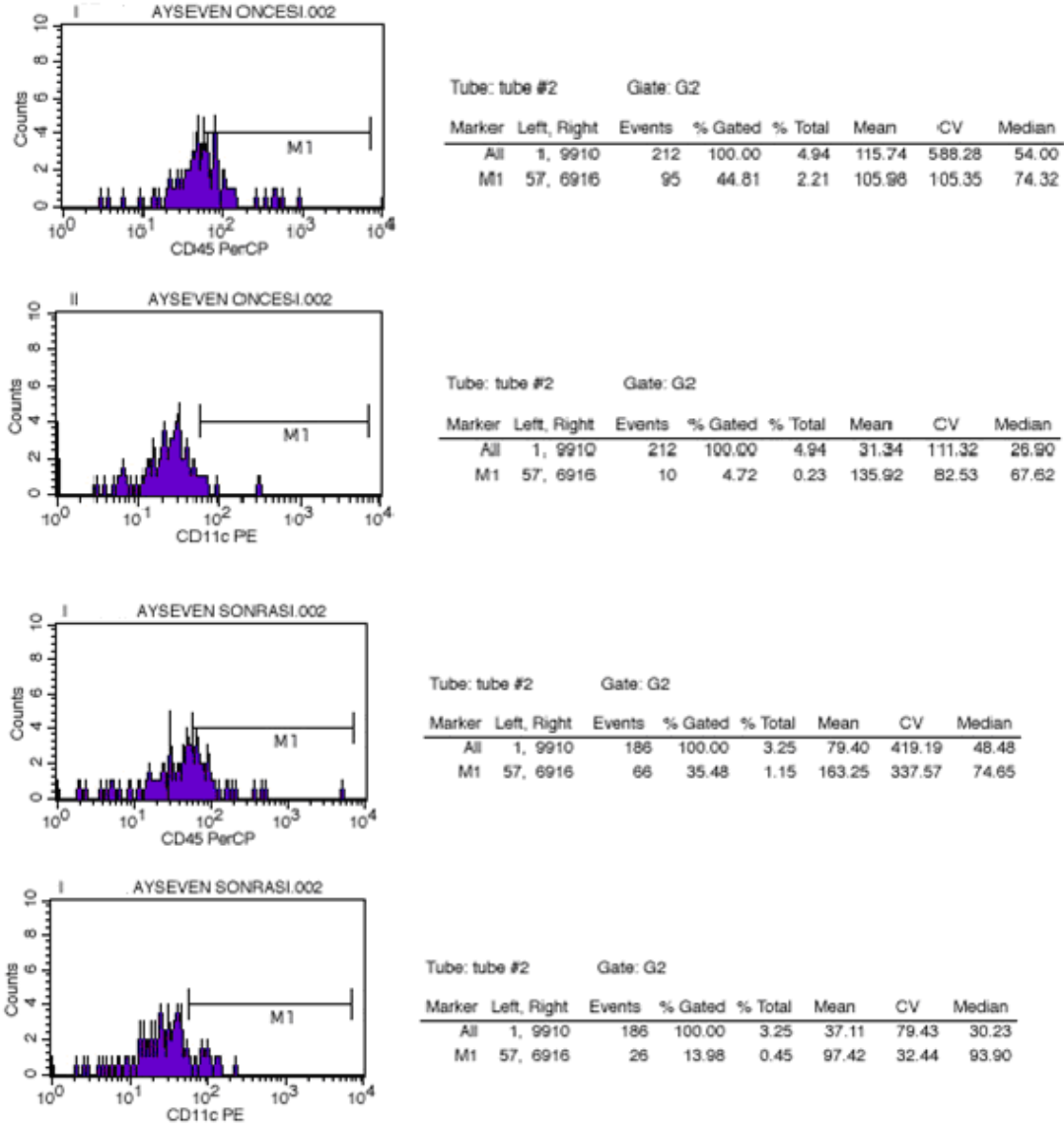
Quad	Events	% Gated	% Total
UL	1	1.11	0.02
UR	40	44.44	0.70
LL	13	14.44	0.23
LR	36	40.00	0.63

Şekil 4.9. Aterosklerozu olmayan hasta (negatif kontrol) akan hücre ölçer çalışması LIN HLA-DR fraksiyonu

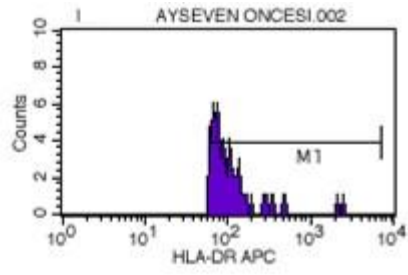


Şekil 4.10. Aterosklerozu olmayan hasta (negatif kontrol) akan hücre ölçer çalışması LIN CD45 fraksiyonu

4.9. Ateroskleroza Olmayan, Koroner Damarları Açık Hasta Örneğinde ox-LDL İle Uyarımdan Önceki Akan Hücre Ölçer Histogram Grafikleri

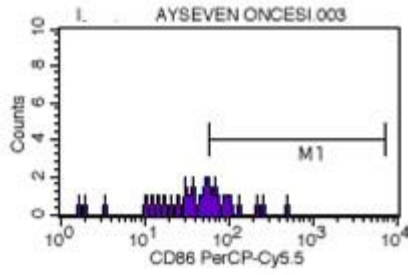


Şekil 4.11. Ateroskleroza olmayan hasta (negatif kontrol) akan hücre ölçer çalışması CD11c CD45 fraksiyonu (kapılar izotip kontrole göre alınmıştır)



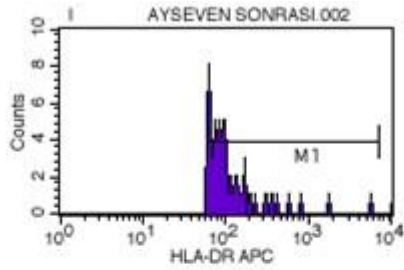
Tube: tube #2 Gate: G2

Marker	Left, Right	Events	% Gated	% Total	Mean	CV	Median
All	1, 9910	212	100.00	4.94	111.81	178.58	78.09
M1	59, 6916	195	91.98	4.55	116.60	178.00	80.58



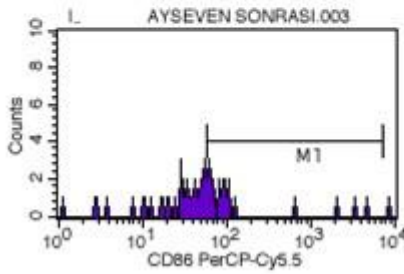
Tube: tube #3 Gate: G2

Marker	Left, Right	Events	% Gated	% Total	Mean	CV	Median
All	1, 9910	72	100.00	1.96	55.87	110.88	46.98
M1	57, 6916	24	33.33	0.65	104.84	82.70	77.39



Tube: tube #2 Gate: G2

Marker	Left, Right	Events	% Gated	% Total	Mean	CV	Median
All	1, 9910	186	100.00	3.25	188.11	434.83	78.09
M1	59, 6916	167	89.78	2.91	144.03	288.23	80.58

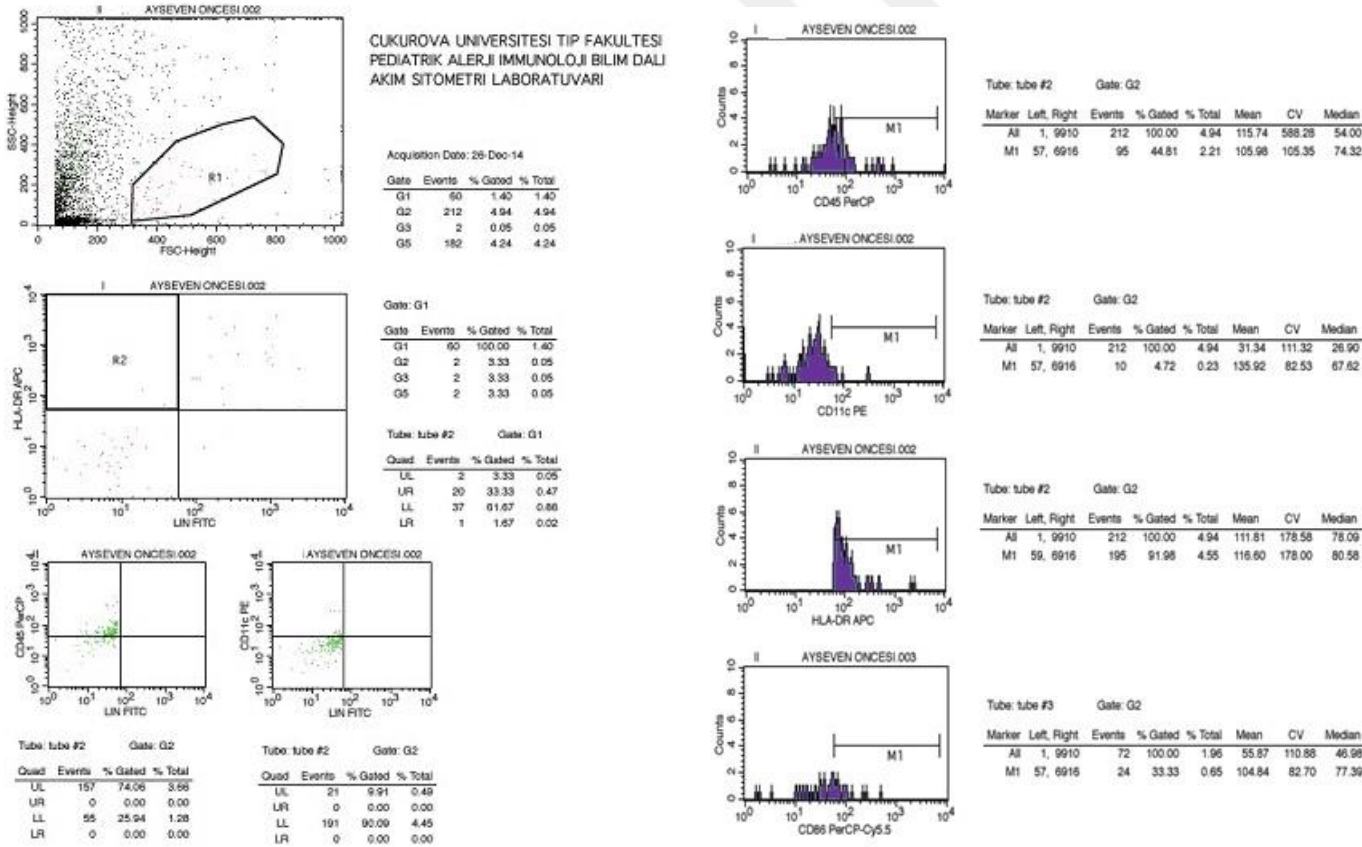


Tube: tube #3 Gate: G2

Marker	Left, Right	Events	% Gated	% Total	Mean	CV	Median
All	1, 9910	94	100.00	1.59	228.79	418.91	47.83
M1	57, 6916	37	39.36	0.63	322.57	263.43	68.54

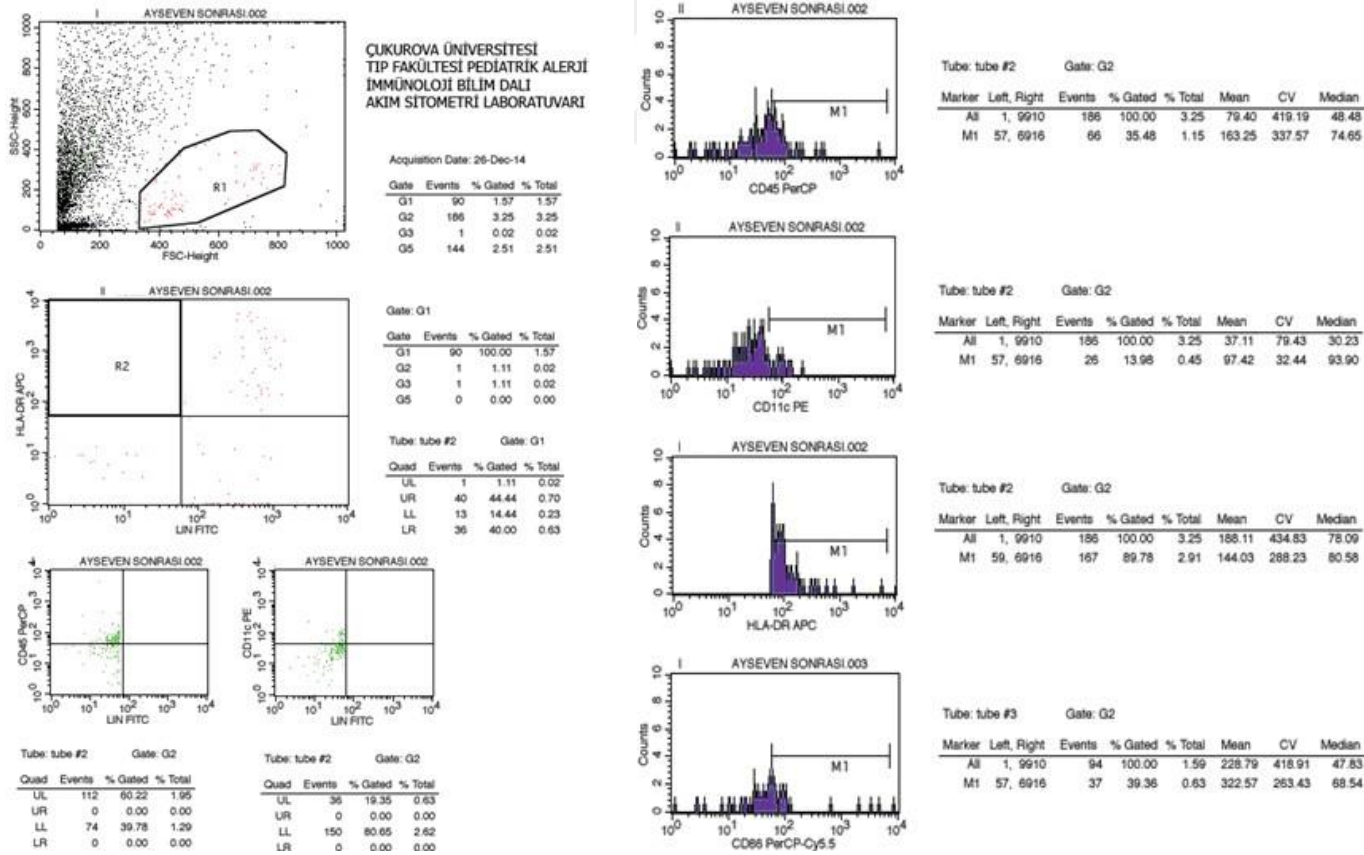
Şekil 4.12. Aterosklerozu olmayan hasta (negatif kontrol) akan hücre ölçer çalışması CD86 HLA-DR fraksiyonu (kapılar izotip kontrole göre alınmıştır)

4.10. Aterosklerozu Olmayan (negatif kontrol) bir Hasta Örneğinin ox-LDL ile Uyarılmadan Önceki Akan Hücre Ölçer Total Analiz Raporları



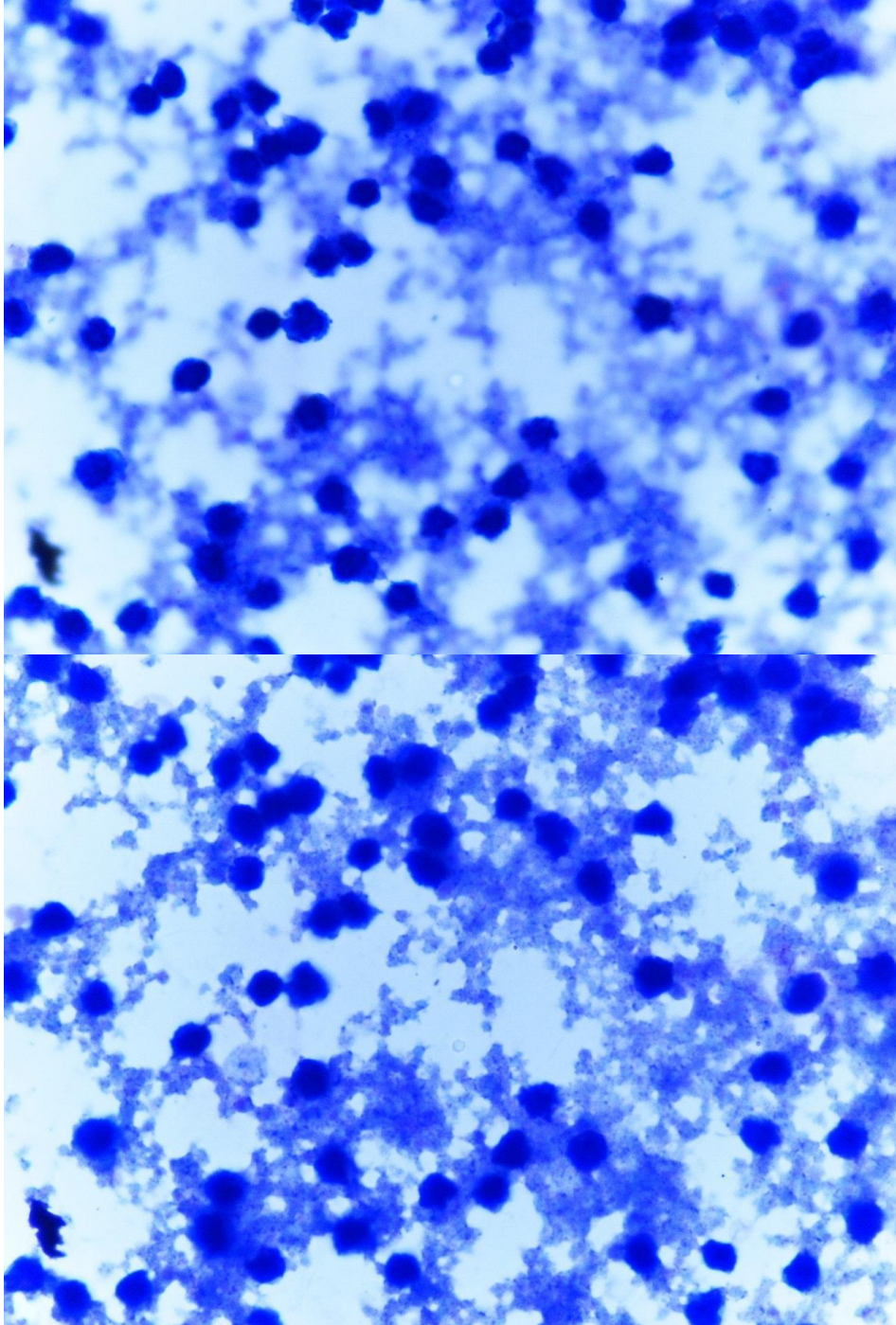
Şekil 4.13. Aterosklerozu olmayan hasta (negatif kontrol), ox-LDL ile uyarılmamış dendritik hücre pelleti akan hücre ölçer çalışması (kapılar izotip kontrole göre alınmıştır).

4.11. Aterosklerozu Olmayan(Negatif Kontrol) Bir Hasta Örneğinin ox-LDL İle Uyarıldıktan Sonraki Akan Hücre Ölçer Total Analiz Raporları



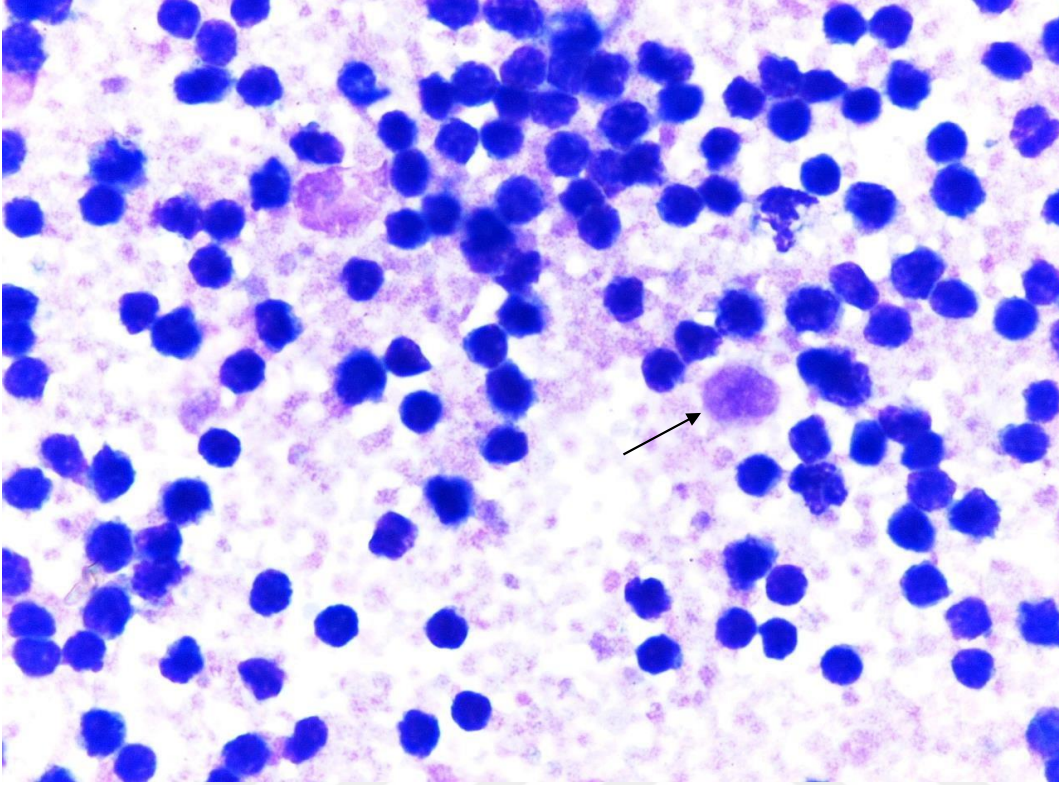
Şekil 4.14. Aterosklerozu olmayan hasta (negatif kontrol), ox-LDL ile uyarılmış dendritik hücre pelleti akan hücre ölçer çalışması (kapılar izotip kontrole göre alınmıştır).

4.12. Periferik Venöz Kan Örneğinden İzole Edilen, Uyarılmamış Lenfositlerin Işık Mikroskopik(100X) Görüntüleri

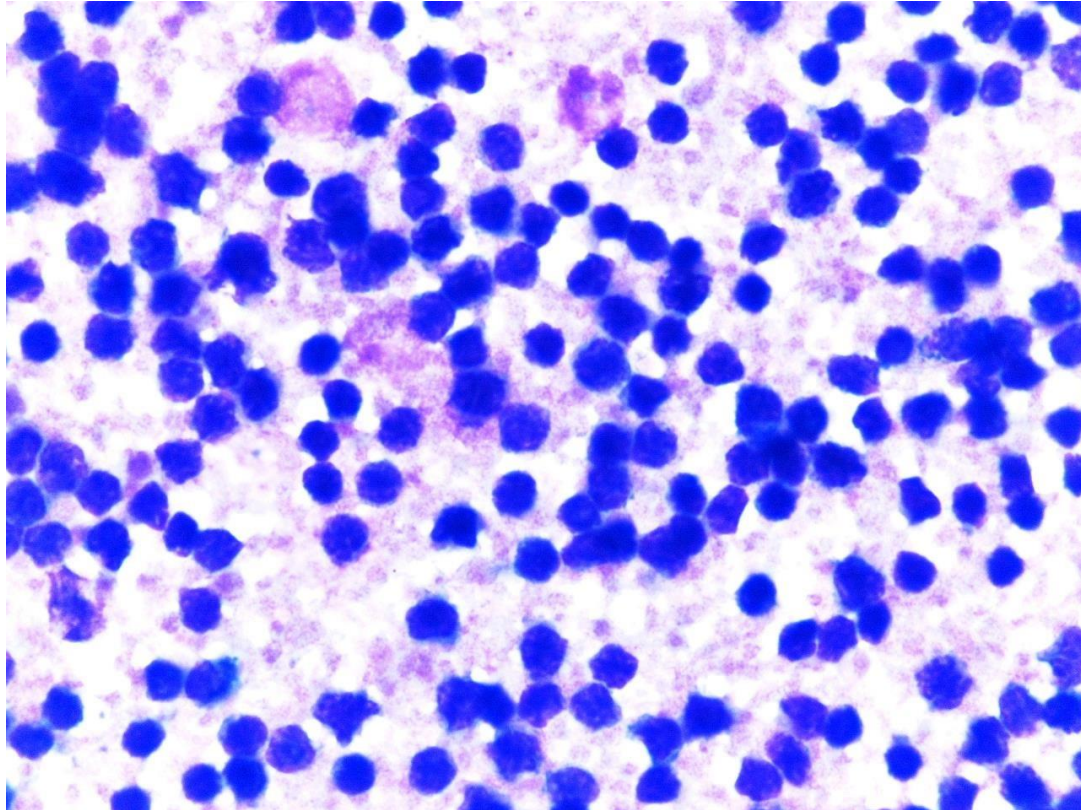


Resim 4.1. Uyarı işlemi yapılmamış periferik kan mononükleer lökosit ışık mikroskobu görüntüsü 100X

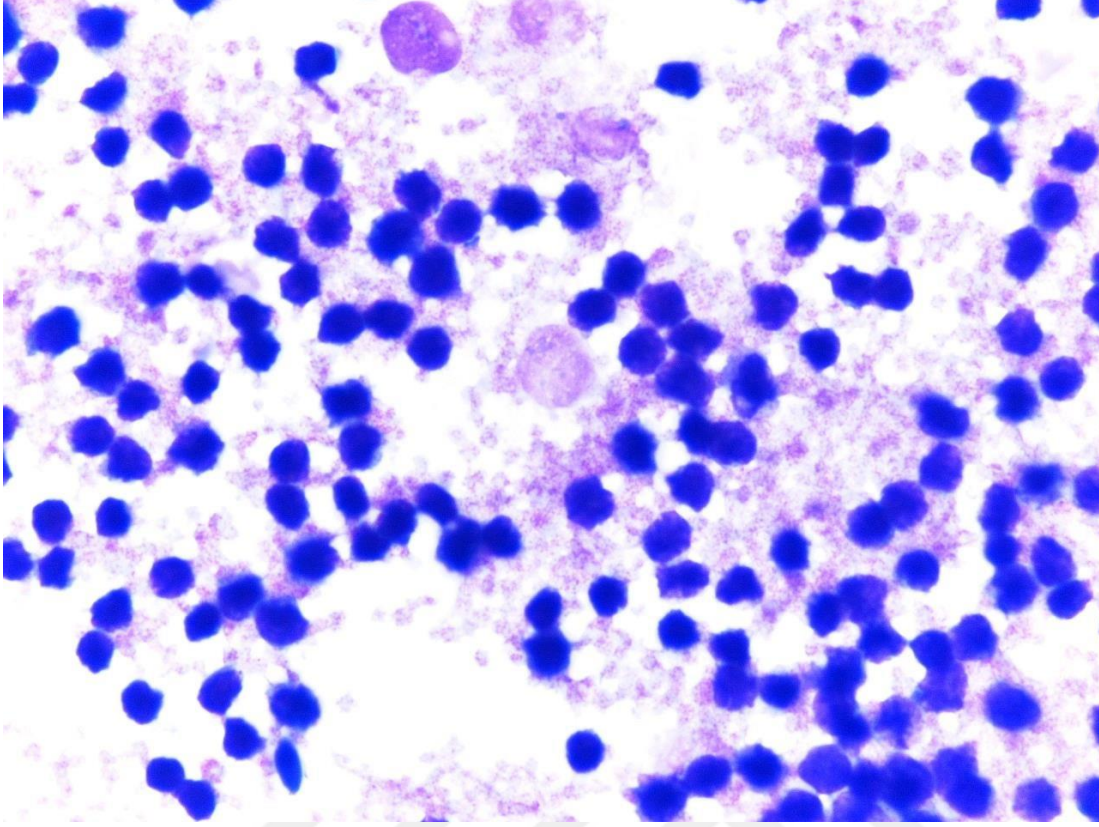
4.13. Uyarılmış Lenfositlerin Işık Mikroskobik Görüntüsü 100X



Resim 4.2. GMCSF ve IL-4 ile uyarılmış lenfosit ışık mikroskopi görüntüsü 100X

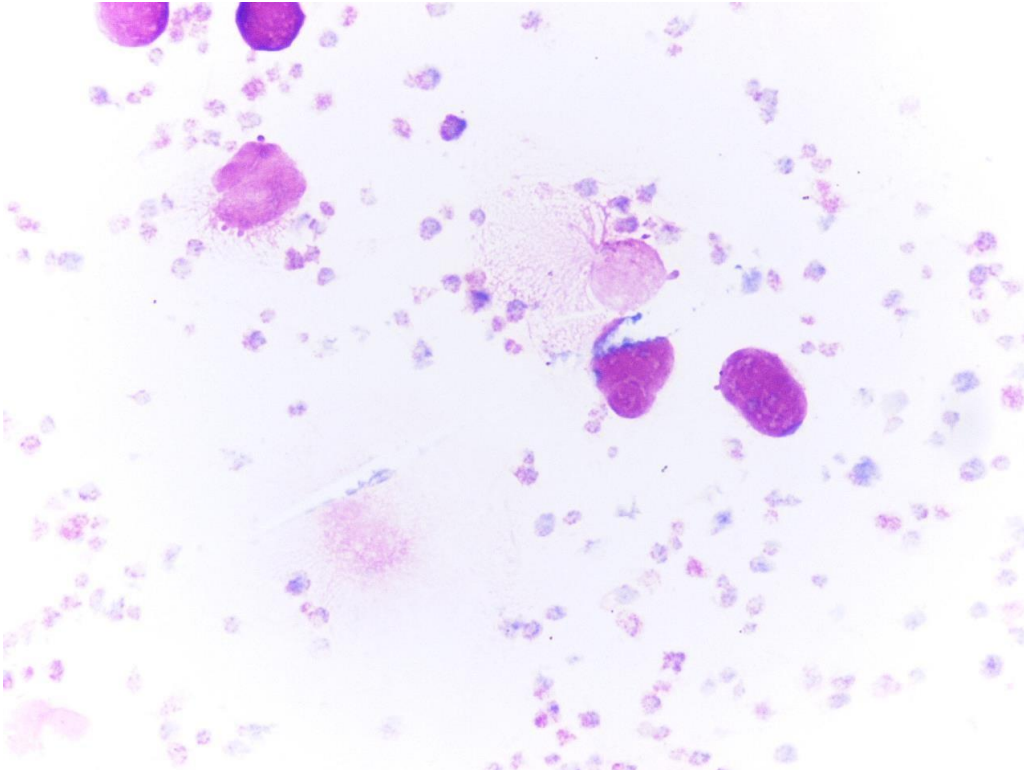


Resim 4.3. GMCSF ve IL-4 ile uyarılmış lenfosit ışık mikroskopi görüntüsü 100X

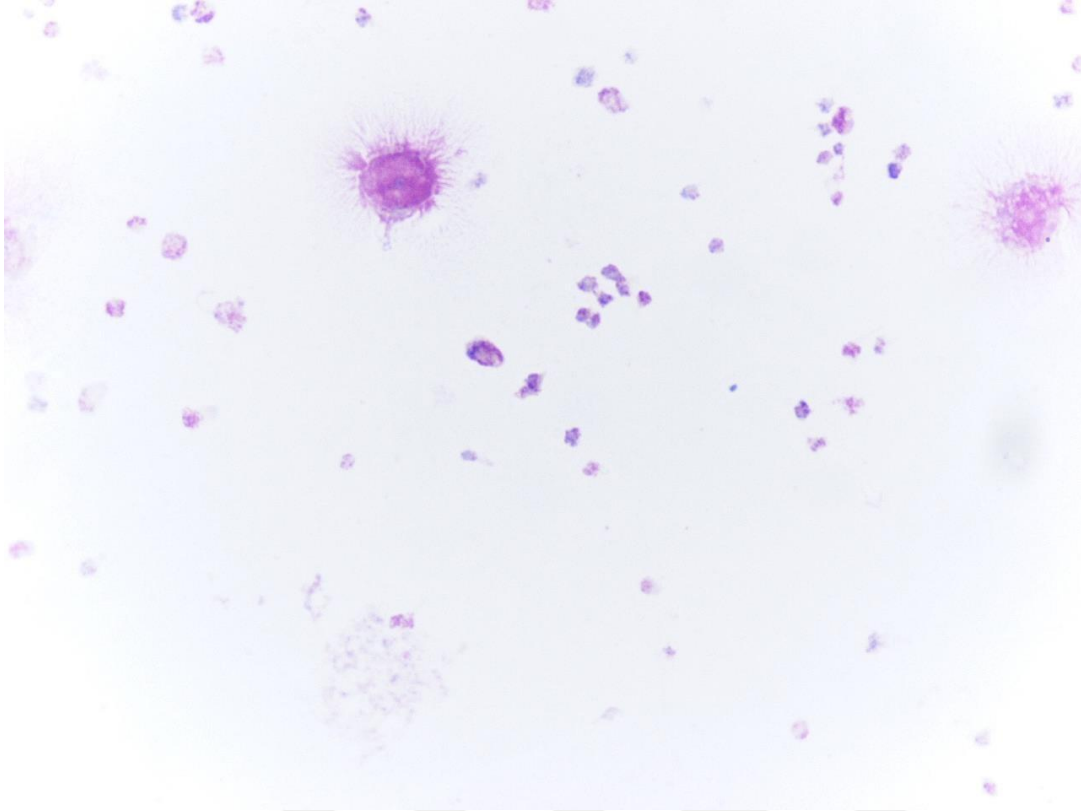


Resim 4.4. GMCSF ve IL-4 ile uyarılmış lenfosit ışık mikroskopi görüntüsü 100X

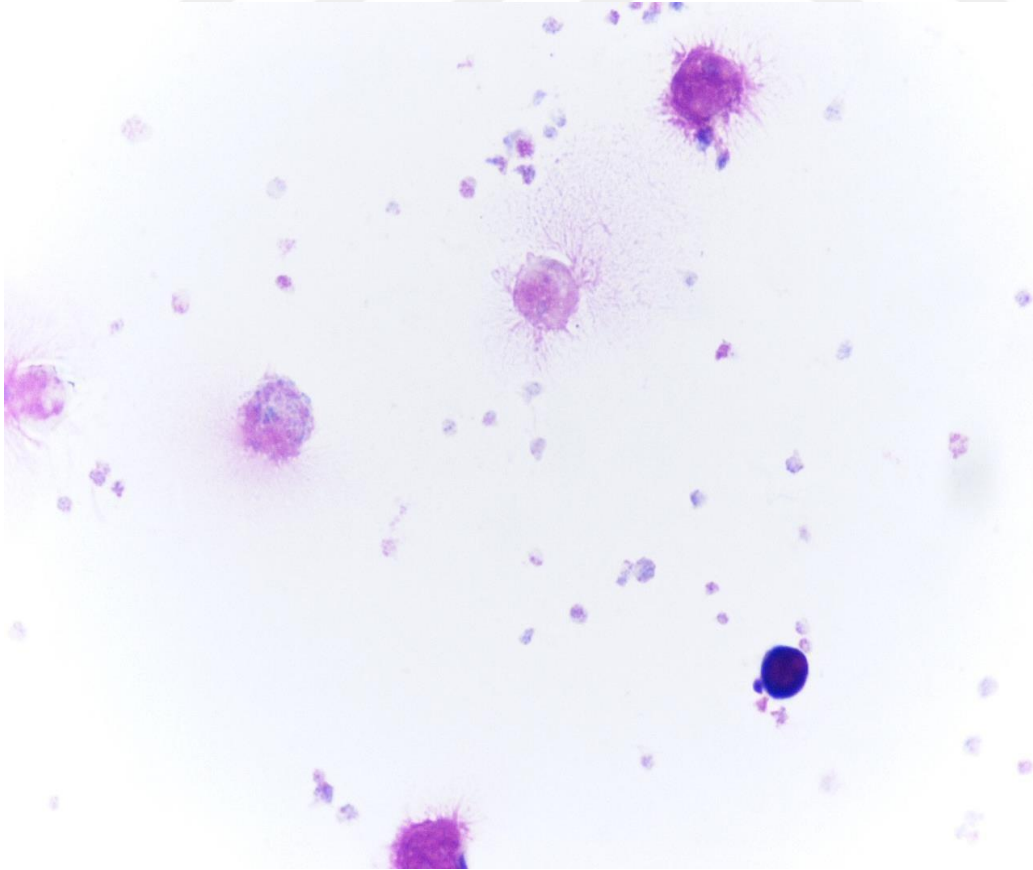
4.14. Ox-LDL ile Uyarılmış DH'lerin Işık Mikroskobik Görüntüsü 100X



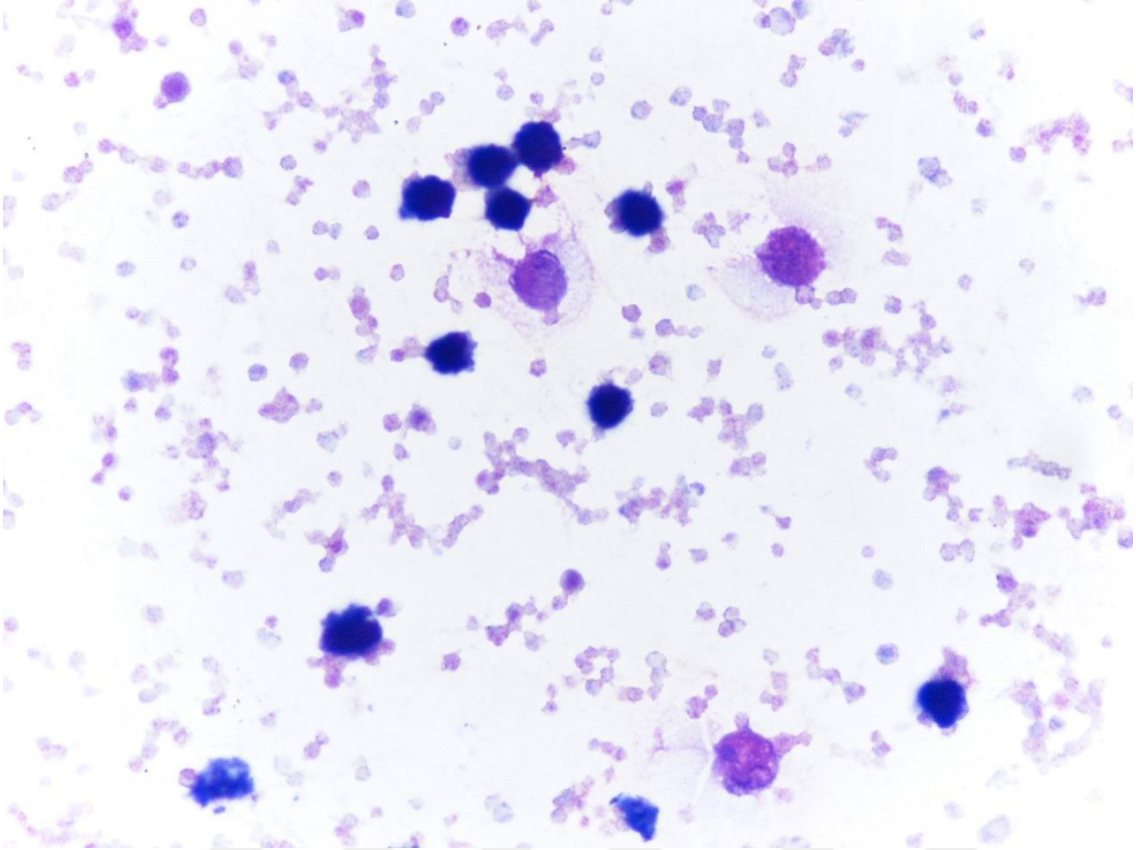
Resim 4.5. Ox-LDL ile uyarılmış dendritik hücre ışık mikroskopi görüntüsü 100X



Resim 4.6. Ox-LDL ile uyarılmış dendritik hücre ışık mikroskobî görüntüsü 100X



Resim 4.7. Ox-LDL ile uyarılmış dendritik hücre ışık mikroskobî görüntüsü 100X



Resim 4.8. Ox-LDL ile uyarılmış dendritik hücre ışık mikroskopi görüntüsü 100X

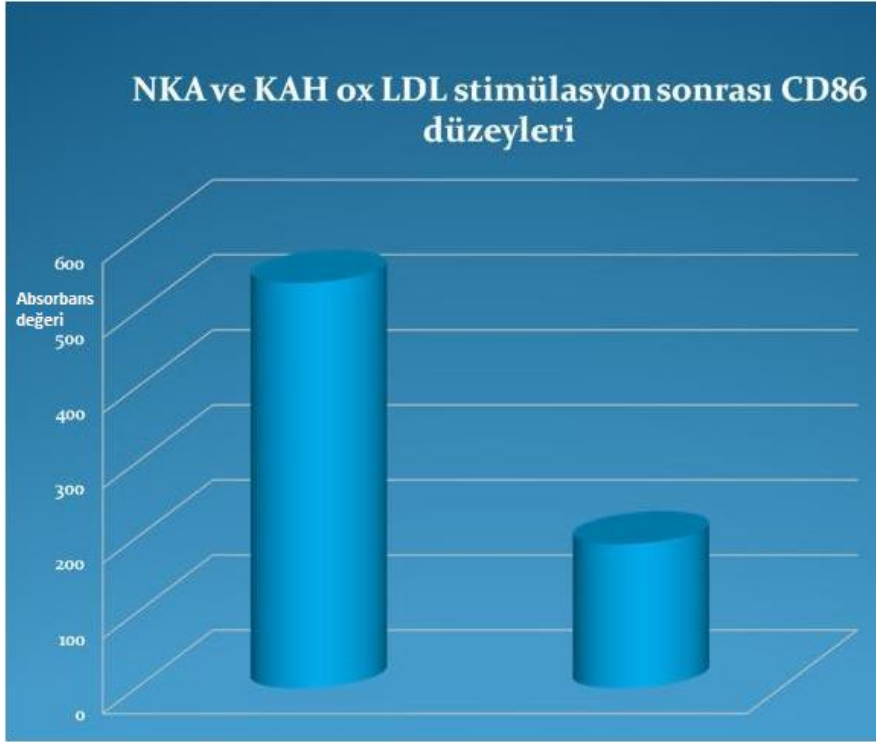
4.15. Koroner Arter Hastalığı Olmayan (Negatif Kontrol) ve Koroner Arter Hastalığı Olan Kişilerin DH'lerinin ox-LDL İle Uyarım Öncesi ve Uyarım Sonrası CD86 Ekspresyon Düzeylerinin Akan Hücre Ölçer Analizleri Ölçüm Düzeyleri



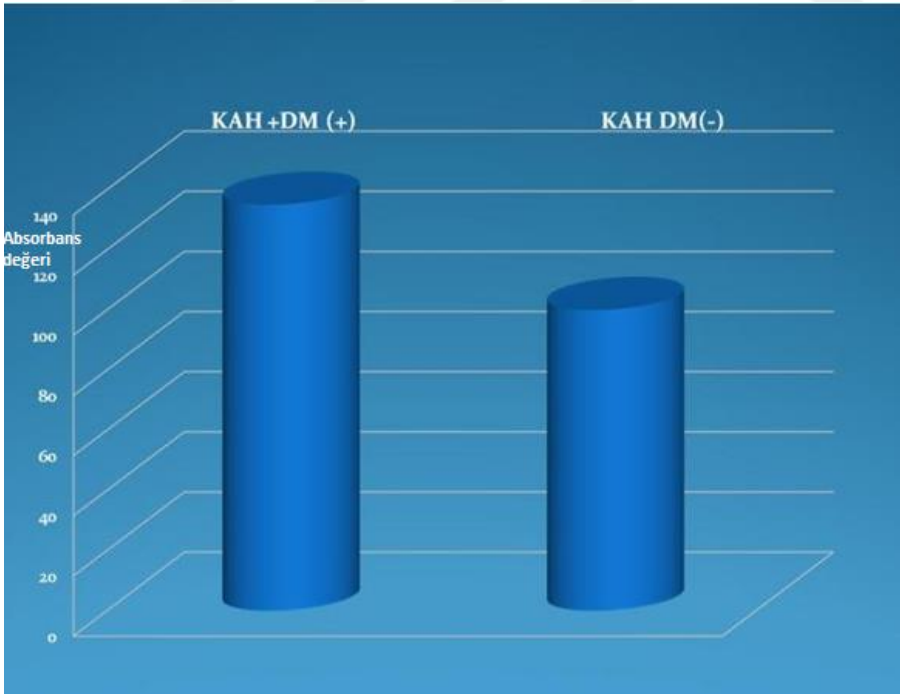
Şekil 4.15. NKA ve KAH olanlarda bazal CD86 düzeyleri (MFI: Ortalama floresan yoğunluğu)

(p=0,58) NKA: Normal koroner arteri olan (koroner arterleri açık) hastalar

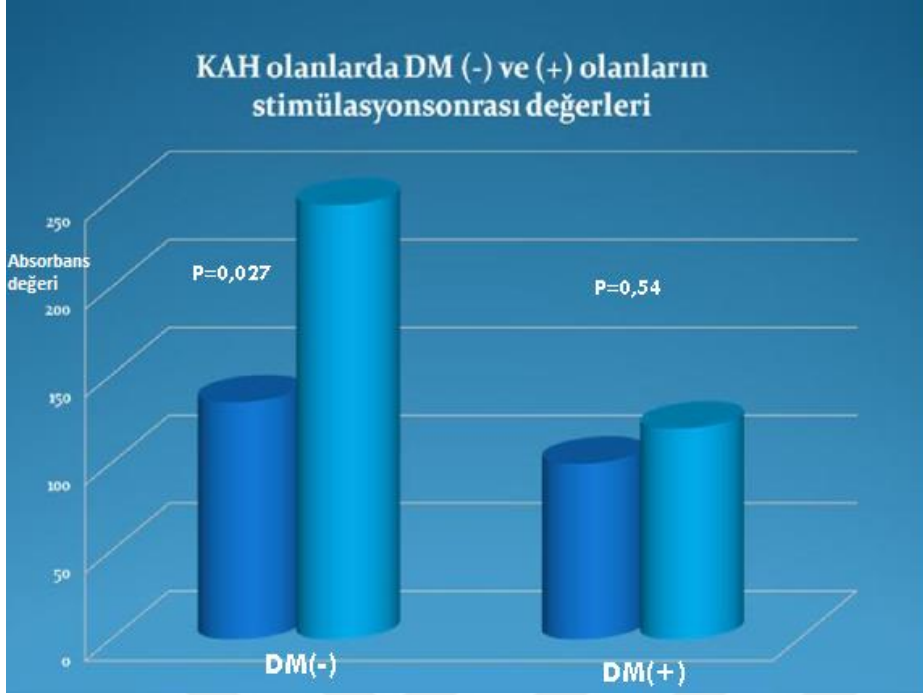
KAH: Koroner arterlerinde ateroskleroza bağlı tıkanıklığı bulunan (koroner arter hastası) hastalar



Şekil 4.16. NKA ve KAH ox-LDL stimülasyon sonrası CD86 düzeyleri (MFI: Ortalama floresan yoğunluğu) ($p=0.012$)



Şekil 4.17. KAH+DM (+), KAH+DM (-): Koroner arter hastası olup aynı zamanda diabetes mellitusu olan ve koroner arter hastası olup diabetes mellitusu olmayan hastaların CD86 düzeyleri (MFI: Ortalama floresan yoğunluğu) ($p=0.32$)



Şekil 4.18. KAH olanlarda DM (-) ve (+) olanların stimülasyon sonrası değerleri
(MFI: Ortalama floresan yoğunluğu)



Şekil 4.19. NKA olanlarda stimülasyon sonrası CD86 değerleri (MFI: Ortalama floresan yoğunluğu) (p=0.15)



Şekil 4.20. Tüm hasta ve negatif kontrol gruplarında Okside LDL sonrası CD86 değerleri (MFI: Ortalama floresan yoğunluğu)

Istatistik Tabloları

4.16. İstatistiksel Analiz: Koroner Arter Hastalığı Olan Ve Olmayanlarda Akım Sitometri Analizlerinin Karşılaştırılması

Çizelge 4.2. Koroner arter hastalığı olan ve olmayanlarda akan hücre ölçer ölçümlerinin karşılaştırılması

		KAH (n=23)	KAH (-) (n=26)	P değeri
Bazal DH aktivasyonu	Ortalama	120±92	142±69	0,58
	Ortanca	85,47±18,73	85,98±12,25	0,950
Uyarı sonrası DH aktivasyonu	Ortalama	192±168	547±560	0,012
	Ortanca	113,21±144,25	76,15±8,94	0,540

4.17. Koroner Arter Hastalığı Olanlarda Diabetes Mellitus Olan Ve Olmayanların Karşılaştırılması

Çizelge 4.3. Koroner arter hastalığı olanlarda diabetes mellitus olan ve olmayanların karşılaştırılması

		DM (+) (n=10)	DM (-) (n=13)	P değeri
Bazal DH aktivasyonu	Ortalama	101±21	136±121	0,32
	Ortanca	87,54±21,42	83,87±17,10	0,66
Uyarı sonrası DH aktivasyonu	Ortalama	120±97	247±193	0,05
	Ortanca	82,33±17,17	136,96±191,11	0,32

4.18. Koroner Arter Hastalığı Olanlarda Dendritik Hücre Aktivasyonu

Çizelge 4.4. KAH olanlarda DH aktivasyonu

		Bazal DH aktivasyonu	Uyarı sonrası DH aktivasyonu	P değeri
Ortalama		120,57±92,2	192±168,74	0,024
	Ortanca	85,4±18,7	113,2±144,2	0,363

4.19. Koroner Arter Hastalığı Olup Diabetes Mellitus Olmayanlarda Dendritik Hücre Aktivasyonu

Çizelge 4.5. KAH Olup DM Olmayanlarda DH Aktivasyonu

		Bazal DH aktivasyonu	Uyarı sonrası DH aktivasyonu	P değeri
Ortalama		135,77±121,21	247,85±193,21	0,027
	Ortanca	83,8±17,10	136,96±191,11	0,330

4.20. Koroner Arter Hastalığı Olup Diabetes Mellitus Olanlarda Dendritik Hücre Aktivasyonu

Çizelge 4.6. KAH Olup DM Olanlarda DH Aktivasyonu

		Bazal DH aktivasyonu	Uyarı sonrası DH aktivasyonu	P değeri
Ortalama		100,6±20,8	120,1±97,9	0,54
	Ortanca	87,54±21,42	82,3±17,17	0,46

5. TARTIŞMA

Ateroskleroz damar duvarının kronik enflamatuvar bir hastalığıdır ve batı ülkelerinde mortalite ve morbiditede ilk sırayı almaktadır (Ross, 1999). Hiperlipidemi ve sistemik enflamasyon eşliğinde endotel disfonksiyonu ve aktivasyonu ile karakterizedir. Daha sonra lökosit adezyonu, permeabilite artışı ile plazma lipid LDL kolesterol girişi lezyon oluşumuna katkıda bulunur. Monosit infiltrasyonu ve okside LDL ler ile köpük hücre formasyonu ve yağlı çizgilenme süreci devam eder. Lipid birikiminin devam etmesi, enflamatuvar hücre artışı, sitokinler, büyüme faktörleri, süreçte oluşan apoptozis ve nekrotik korlar aterosklerozdaki fibroproliferatif olayların devam etmesine ve sonuçta plak ve lümen stenozu oluşumu ile sonuçlar (Weber, 2008). Oluşan fibröz başlık matriks proteazların ve sitokinlerin etkisi ile incelik ve yırtılması ile plak erozyonu, trombüs formasyonu, damarın tıkanmasına ve akut koroner sendrom dediğimiz klinik tablolara neden olmaktadır (Libby, Hansson, 2002-2005).

Aterosklerotik süreçte birçok risk faktörü tanımlanmış olmasına rağmen bu geleneksel risk faktörleri iskemik semptomların ortaya çıkmasına neden olan durumları açıklamada her zaman yeterli olmamaktadır. Ateroskleroz, orta ve büyük boy arterlerin iç duvarlarında kolesterol ve yağ birikintilerinin (plak) oluşmasıdır. Bu plaklar arteri fiziksel olarak tıkayarak kalp kasına kan akışını sınırlandırmaktadır. Yağlı çizgilenme ile başlayan süreç, risk faktörlerinin de katkıları ile pek çok sitokin, enflamatuvar hücrenin ve monosit-makrofajların katılımı ile aterosklerozun dokuda şekillenmesi ile devam eder (Stary, 1994). Plazma lipoproteinleri defektif endotelden endotel altı boşluğa geçer ve burada modifiye olarak (oksidlenerek) sitotoksik, proenflamatuvar, kemotaktik ve proaterojenik özellik kazanırlar. Okside LDL'nin aterojenik mekanizmayı nasıl başlattığı ve nasıl ilerlettiği henüz netlik kazanmamıştır. Dendritik hücreler sağlıklı arterlerin endotelaltı dokusu ve aynı zamanda medya-adventisya bileşkesinde bulunmaktadır (Ma-Krupa W. ve diğerleri, 2004). Bu yerleşik dendritik hücrelerin zaman içinde otoantijenlere karşı T hücre cevabı başlattığı aterosklerotik plak oluşumunu ve ilerlemesini hızlandırdığı öngörülmektedir (Steinman, ve diğerleri, 2003). Bobryshev ve arkadaşları ilk defa aterosklerotik lezyonlarda dendritik hücrelerin biriktiğini ve lezyonun kötüleşmesinde rolleri olabileceğini göstermişlerdir. Yine karotis plağı olan hastalarda yapılan bir çalışmada semptomatik olan hasta grubunda asemptomatik gruba kıyasla dendritik hücre birikiminin çok daha fazla olduğu gözlemlenmiştir (Kawahara ve diğerleri, 2007).

Enflamatuvar süreci yönlendiren dendritik hücreler yüksek miktarda sitokin salgılamakta ve bu sitokinler özellikle tip 2 diyabetik hastalarda aterosklerotik sürecin hızlanmasından sorumlu tutulmaktadır (Biondi-Zoccai ve diğerleri, 2003). Ateroskleroz ve insulin direnci aynı patofizyolojik mekanizmaları kullanarak iki potent enflamatuvar sitokin olan IL-6 ve TNF- α üzerinden fizyopatolojik mekanizmaları etkilemektedir (Fernandez-Real ve diğerleri, 2003).

Çalışmamızda okside LDL'nin normal popülasyonda ve aterosklerotik hasta grubundan izole edilen periferik kan dendritik hücrelerine olan etkisini inceledik. Aktivasyon belirteci olarak CD86 molekülünü kullandık. Çalışmamızın temel sonuçlarından biri okside LDL uyarım sonrası elde edilen CD86 aktivasyon düzeylerinin anlamlı olarak en fazla normal koroner arterlere sahip hasta grubunda elde edilmiş olmasıdır. Yine okside LDL uyarı sonrası oransal olarak en fazla artış normal koroner arterlere sahip grubunda olmasına rağmen P değeri =0,15 düzeyinde kalmıştır. Bu durum, normal koroner arterlere sahip hasta sayısının az olmasına (6) bağlanabilir. Okside LDL uyarımı sonrası CD86 aktivasyonunda artış olmayan tek grup ise hem koroner arter hastalığı hem de DM (+) olan hastalardır. Literatürde KAH ve Dendritik Hücre aktivasyonunu *Diyabetes Mellitus* varlığında değerlendiren araştırma sayısı sınırlı olmakla birlikte diabetin oluşturduğu fizyopatolojik mekanizmaların aterosklerotik dokuda dendritik hücre sayısını belirgin olarak artırdığı bazı yazılarda gösterilmiştir (Biondi-Zoccai ve diğerleri, 2003).

Bilindiği üzere DM aterosklerozun en önemli ve majör risk faktörlerinden biridir.

Ateroskleroz ve komplikasyonları diyabetik hastalarda en önemli ölüm nedenidir (Michael, 2001). Diyabetik hastalarda diyabetik olmayanlara göre aterosklerotik plak oluşumu daha erken daha yaygın ve daha komplike olmaya eğilimlidir (Burke, 2004; Pajune, 1997). İnflamasyon ve immün reaksiyonlar aterosklerozda ve onun komplikasyonlarında başlıca rolü oynamaktadırlar. Bu süreçte pek çok faktör rol almaktadır ve bu faktörlerin rolü klinik süreçlerdeki farklılıklarla değişkenlik gösterebilmektedir (Ross, 1999; Fernandez-Real 2003). Aterosklerozdaki immün süreci aterosklerotik plaktaki lipid fraksiyonları ve buna bağlı apoproteinler indüklemektedirler (Libby, 2002). Bu antijenler APC ve T hücre atraksiyon ve aktivasyonu ile aterosklerotik süreçte rol almaktadırlar. En potent APC olan DH'ler de belli antijenlerle primer immün yanıt başlamasında özel bir işleve sahiptirler (Liu, 2001).

Yao ve diğeri (2001) diabetik ve KAH olan hastalarda kantitatif ve fonksiyonel anormallikler bulmuşlardır. USAP (stabil olmayan anjina) ve DM olan hastalarda dolaşımdaki total ve MDH sayısını diabetik olmayan USAP hastalarına göre daha düşük bulmuşlardır. Bununla birlikte PDH sayısında anlamlı bir farklılık bulamamışlardır. Benzer şekilde total DH sayısı DM+USAP olan hastalarda DM olan ancak KAH olmayan hastalara göre daha düşük bulunmuştur. İlginç olarak DM olan ve KAH olmayanlarda DH sayısı NKA sahip olan kişilerle benzer bulunmuştur. DH'lerin işlevsel durumu değerlendirildiğinde ise DM + USAP olan hastalarda, DM olan fakat KAH olmayan hastalara göre DH'ler daha olgun bulunmuştur.

Yine benzer şekilde DM olmayan ancak USAP olan hastalara göre DH'lerin daha olgun olduğunu göstermişlerdir. Ateroskleroz patogeneğinde önemli rol alan fraktalkin de benzer şekilde DM ve USAP birlikteliği olan hasta popülasyonunda en fazla bulunmuştur.

DM ateroskleroz için en geniş kabul gören risk faktörlerinden biridir. İnsulin rezistansı ve hiperglisemi sistemik proenflamatuvar bir süreç oluşması ve ateroskleroz gelişmesi süreci ile ilişkilidir. Yao ve arkadaşları DM +USAP olan hastalarda CD86 ile ölçülen DH aktivasyonunun daha fazla olduğunu göstermişlerdir (Bunn, 2010; Averill, 2011).

DH'lerin aterosklerotik damarlarda özellikle T hücre zengin bölgelerde sık görülmesi plak instabilitesinde veya duyarlılığında rolü olabileceğini düşündürmektedir. Ancak gerek hasta gruplarındaki farklılıklar, gerekse yöntem farklılıkları sonuçların yorumlanmasını ve karşılaştırılmasını zorlaştırmaktadır. Bizim çalışmamızda özellikle koroner by pass ameliyatı planlanan, yani çok damar hastalığı bulunan hastalar dahil edilmiştir. Diğer önemli bir faktör ise hastaların akut koroner sendrom tablosunda olmamalarıdır. Biz çalışmamızda DH sayıları bakımından KAH olup DM olan ve olmayan hastalar arasında bir fark saptamadık. Benzer şekilde KAH olan ve olmayan gruplar da karşılaştırıldığında DH sayı bakımından fark yoktu. Ancak bu hasta gruplarında izole edilen dentritik hücrelerin okside LDL ile uyarılması ile ortaya çıkan DH aktivasyonu veya olgunlaşması değerlendirildiğinde tablo biraz farklı çıktı. Dentritik hücre olgunlaşması en az DM+KAH olan hastalarda en fazla ise KAH olmayan kişilerde idi. Bu sonuç bu hasta grubunda inflamasyon regülasyonunun etkisine bağlı olabilir ve DH'lerin aterosklerozdaki rolü üzerinde biraz daha farklı bir bakış açısı ile bakılması gerektiğini göstermektedir.

DH olgunlaşmasının KAH olanlarda daha az olması ateroskleroz patogeneğinde azalmış DH işlevlerinin rolü olabileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde DM+KAH olanlarda bu olgunlaşmanın daha az olması sayıdan daha çok işlevlerin daha önemli olduğunu destekleyebilir.

Dolaşımdaki dentritik hücre veya monosit sayısının değişiminde birkaç patofizyolojik mekanizmadan söz edilebilir.

Akut koroner sendrom tablosunda veya USAP kliniğinde hassas plaklar tarafından tutulan artmış DH sayısı dolaşımdaki azalmış DH sayısını açıklayabilir.

Yılmaz ve arkadaşları akut koroner sendromlu hastalarda plaklarda artmış DH tutulumunu ve dolaşımda azalmış DH sayısını göstermişlerdir (Yılmaz, 2006). Bizim çalışmamızda gruplar arasında dolaşımda DH sayısının farklı olmaması hastaların stabil angina pectoris kliniğine sahip olmaları ile açıklanabilir.

Dentritik hücrelerin antijen sunumundan sonraki süreçte lenf nodları veya lenf dokusu tarafından tutulumu da dolaşımdaki DH sayısında etkili mekanizmalardan biri olabilir. Kemik iliğinden dolaşıma salınan DH sayısı da dolaşımdaki DH sayısını belirleyen diğer bir faktördür.

Corrales ve arkadaşları akut koroner sendrom olan hastaları dahil etmedikleri benzer bir çalışma da dolaşımdaki monosit ve DH'ler tarafından salınan sitokinleri değerlendirmişlerdir (Jose, 2007). Aterosklerozla komplike diyabetik erkek hastalarda inflamatuvar sitokin üreten DH veya anijen sunan hücre sayılarında azalma saptamışlardır. Benzer şekilde aterosklerozla komplike diyabetik hastalarda bazı sitokinlerin (IL-1 β , IL-6 ve TNF- α) azaldığını göstermişlerdir. Corrales ve arkadaşlarının bulduğu diyabetik hastalarda azalmış IL-1 β , IL-6 ve TNF- α üretimi literatürle ters gibi gözükmektedir (Tuttle, 2004). Genel olarak diyabetik hastalarda artmış sitokin düzeyleri gösterilmiştir. Bununla birlikte diyabetik hastalarda plasma sitokin düzeyleri üzerinde DH'ler hafif rol oynarlar. Asıl sitokin kaynağının adipoz doku olduğu gösterilmiştir (Aldhahi, 2003) Kan hücreleri sitokin üretimi ile plasma sitokin düzeyleri arasında uyumsuzluk yine diyabetik erkek hastalarda gösterilmiştir (Pickup, 2000).

Bizim çalışmamızda sitokin düzeyleri değerlendirilemedi ancak dolaşımdaki DH'lerin okside LDL ile uyarılmaları sonucunda diyabetik KAH olanlarda daha az olan DH aktivasyonu veya maturasyonu Corrales ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadaki sonuçları destekler niteliktedir. KAH olmayan kişilerde en yüksek düzeyde DH aktivasyonunun olması, buna karşın KAH olan ancak DM olmayan hastalarda daha az DH maturasyonunun olması farklı yorumlara yol açmaktadır. Ateroskleroz patogenezinde monosit makrofaj sisteminin ve DH'lerin rolü literatürde çokça gösterilmiştir. Koroner arter hastalarında veya KAH+DM olan hastalarda Azalmış dentritik hücre maturasyonu, bu hücre aktivasyonun ateroskleroz sürecinde koruyucu rolü olduğu yönünde yorumlanabilir. DH'ler ateroskelroz sürecine dahil olmakla birlikte patogenezindeki rolü tam olarak açıklanamamıştır. Çalışmamızda DH'ler okside LDL ile uyarılmıştır.

Özetle DH aktivasyonu en iyi normal koroner arterlere sahip hastalarda olmaktadır ($p=0,012$). Koroner arter hastalığında bu aktivasyon derecesi belirgin azalmaktadır. Koroner arter hastalığı + DM varlığında ise anlamlı DH aktivasyonu olmamaktadır ($p=0,54$). Bu da hastalık kronikleştikçe ve ağırlaştıkça DH'lerin aktivasyon kabiliyetlerini yitirdiklerini ya da inflamasyon regülasyonunun devrede olduğunu düşündürmektedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Dendritik hücreleri sadece morfolojik görünümüleriyle tanımlamak yeterli olmayıp, morfolojik görünümünün yanında yüzeylerindeki çeşitli moleküllerin varlığının veya yokluğunun ve fonksiyonel yeteneklerinin tanımlanması gerekmektedir. DH'lerin ana morfolojik görünümü hücre yüzeyinden dışarı doğru çok miktarda membran uzantılarının varlığıdır. Biz de çalışmamızda pek çok yüzey belirteci kullanarak dendritik hücrelerde olmayan belirteçleri kullanarak öncelikle dendritik hücre olmaması gereken hücre grubunu dışladık. Örneğin; LIN belirtecinin kuvvetle muhtemel negatif olması gerekliliği esas alınarak pek çok hücre grubu dışlanmıştır. Bu aşamadaki çalışmalarda nokta atışı olarak dendritik hücreyi tarif eden kesin pozitif bir belirteç bulunmamaktadır. İlerleyen yıllarda yapılacak çalışmalarda sadece dendritik hücre grubunu tarifleyecek bir belirteç bulunması muhtemeldir.

Çalışmamızda DH aktivasyonunda hasta gruplarımıza bağlı olarak gösterdiğimiz farklılıklar DH'lerin ateroskleroz patogeneğinde ve *Diabetes Mellitusun* ateroskleroz üzerine etkisinde farklı bir bakış açısı getirmiştir. Dendritik hücre aktivasyonunun en fazla normal koroner arterlere sahip hastalarda olması DH'lerin aterosklerozun sürecinde aslında koruyucu bir rolü olabileceğini akla getirmektedir. Koroner arter hastalarının hepsinin koroner by pass cerrahisine giren hastalar olması ileri yaygın ateroskleroz olarak kabul edilirse, DH bu aşamada azalmış aktivasyonlarının, koruyuculuk mekanizmasını yitirmiş olması şeklinde yorumlanabilir. Çalışmamızın en önemli kısıtlaması vaka sayılarının az olmasıdır. DH'lerin aktivasyonun değerlendirildiği daha çok vakayı ve hasta spekturumunu kapsayan yeni çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır. *Diabetes mellitus* DH aktivasyonu üzerine olan etkilerinin koroner arter hastalığı alt gruplarında yani stabil angina pektoris olan hastalar, akut miyokard infarktüsü geçiren hastalar veya anstabil anginaya sahip hasta gruplarında da incelenmesi, DH, ateroskleroz ve DM ilişkisini daha iyi anlamamıza neden olacaktır.



KAYNAKLAR

- Abbas, A. K. (2007b). Antigen processing and presentation to T lymphocytes dendritic cell subsets, *Cellular and Molecular Immunology*, 6th ed., chapter 6, 119.
- Abbas, A. K. (2007c). Features of Regional Immunity, *Cellular and Molecular Immunology*, 7th ed., chapter 13, 294.
- Abbas, A. K. (2007d). General features of immunologic tolerance, *Cellular and Molecular Immunology*, 7th ed., chapter 14, 321.
- Abbas, A. K. (2007e). Role of dendritic cells in antigen capture and presentation, *Cellular and Molecular Immunology*, 6th ed, chapter 6, 121.
- Abbas, A. K. (2007f). Antigen receptors and accessory molecules of T lymphocytes, *Cellular and Molecular Immunology*, 6th ed, chapter 7, 147.
- Abbas, A. K. (2007g). Signals for T lymphocyte activation, *Cellular and Molecular Immunology*, 7th ed., chapter 9, 209.
- Abbas, A. K. (2007h). The nascency of Th17 and T-reg, *Cellular and Molecular Immunology*, 7th ed, chapter 9, 213.
- Abbas, A. K. (2007i). Effector Mechanisms of Humoral Immunity, *Cellular and Molecular Immunology*, 7th ed, chapter 12, 284.
- Abbas, A. K. (2007j). Principal Features of Selected CD Molecules, *Cellular and Molecular Immunology*, 7th ed, appendix III, 508-509.
- Abbas, A.K. (2012a). Chemokines and chemokine receptors, *Cellular and Molecular Immunology*, Leukocyte Migration Into Tissues, 7th ed., chapter 3, 42.
- Abbas, A.K. (2012b). Major histocompatibility complex molecules and antigen presentation to T lymphocytes, *Cellular and molecular immunology*, 7th ed., chapter 6, 112.
- Aicher, A., Heeschen, C., Mohaupt, M., Cooke, J.P., Zeiher, A.M. and Dimmeler, S. (2003). Nicotine strongly activates dendritic cell-mediated adaptive immunity: potential role for progression of atherosclerotic lesions. *Circulation*, 107(4), 604–11.
- Albert, M.L., Pearce, S.F., Francisco, S.M., Sauter, B., Roy, P., Silverstein, R.L. and Bhardwaj, N. (1998). Immature dendritic cells phagocytose apoptotic cells via alpha5beta1 and CD36, and cross-present antigens to cytotoxic T lymphocytes. *Journal Of Experimental Medicine*. 188(7), 1359-68.
- Alderman, C.J., Bunyard, P.R., Chain, B. M., Foreman, J.C., Leake, D.S. and Katz, D.R. (2002). Effects of oxidised low density lipoprotein on dendritic cells: a possible

- immunoregulatory component of the atherogenic micro-environment? *Cardiovasc Res*, 55(4), 806–19.
- Aldhahi, W. and Hamdy, O. (2003). Adipokines, inflammation, and the endothelium in diabetes. *Current Diabetes Report*, 3(4), 293-8.
- Alvarez, D., Vollmann, E.H. and von Andrian, U.H. (2008). Mechanisms and consequences of dendritic cell migration. *Immunity*, 29(3),325-42.
- American Heart Association, (1997). Heart and stroke facts. *Statistical Supplement WHO Yearbooks*, Annual Statistics.
- Anderson, M.S., Vananzi, E.S., Klein, L., Chen, Z, Berzins, S.P., Turley, S.J., von Boehmer, H., Bronson, R., Dierich, A., Benoist, C. and Mathis, D. (2002). Projection of an immunological self shadow within the timus by the aire protein. *Science*, 298(5597), 1395-401.
- Angeli, V., Llodra, J., Rong, J.X., Satoh, K., Ishii, S., Shimizu, T., Fisher, E.A. and Randolph, G.J. (2004). Dyslipidemia associated with atherosclerotic disease systemically alters dendritic cell mobilization. *Immunity*, 21(4), 561–74.
- Aschenbrenner, K., D’Cruz, L.M., Vollman, E.H., Hinterberger, M., Emmerich, J., Swee, L.K., Rolink, A. and Klien, L. (2007). Selection of Foxp3+ regulatory T-cells specific for self antigen expressed and presented by Aire+ medullary thymic epithelial cells. *Nat Immunol*, 8(4), 351-8.
- Averill, M.M., Barnhart, S., Becker, L., Li, X., Heinecke, J.W., Leboeuf, R.C., Hamerman, J.A., Sorg, C., Kerkhoff, C. and Bornfeldt, K.E. (2011). S100A9 differentially modifies phenotypic states of neutrophils, macrophages, and dendritic cells: implications for atherosclerosis and adipose tissue inflammation. *Circulation*, 123(11), 1216-26.
- Bachem, A., Güttler, S., Hartung, E., Ebstein, F., Schaefer, M., Tannert, A., Salama, S., Movassaghi, K., Opitz, C., Mages, H.W., Henn, V., Kloetzel, P-K., Gurka, S. and Kroczek, R.A. (2010). Superior antigen cross-presentation and XCR1 expression define human CD11c+ CD141+ cells as homologues of mouse CD8+ dendritic cell, *Journal Of Experimental Medicine*, 207(6), 1273-81.
- Bachetoni, A., D’Ambrosio, A., Mariani, P., Cortesini, R. and Quintieri, F. (2002). Diltiazem impairs maturation and functions of human dendritic cells. *Hum Immunol*, 63(7), 524–33.
- Barral, D. C. and Brenner, M. B. (2007). CDI antigen presentation: how it works. *Nat Rev Immunol*, 7(12), 929-41.
- Barreiro, O., de la Fuente, H., Mittlebrunn, M. and Sanchez-Madrid, F. (2007). Functional insight on the polarized redistribution of leukocyte integrins and their ligands during leukocyte migration and immune interactions. *ImmunologicalReview*, 218, 147-164.
- Bazzano, L.A., He, J., Muntner, P., Vupputuri, S. and Whelton, P.K. (2003). Relationship between cigarette smoking and novel risk factors for cardiovascular disease in the United States. *Annals Of Internal Medicine*, 138(11), 891-7.

- Biondi-Zoccai, G. G., Abbate, A., Liuzzo, G. and Biassucci, L. M. (2003). Atherotrombosis, inflammation and diabetes. *Journal American Collage Cardiology*, 41(7), 1071-7.
- Blanco, P., Palucka, A.K., Pascual, V. and Banchereau, J. (2008). Dendritic cells and cytokines in human inflammatory and autoimmune diseases, *Cytokine Growth Factor Review*, 19(1), 41–52.
- Blander, J. M. and Medzhitov, R. (2006). Toll-dependent selection of microbial antigens for presentation by dendritic cells. *Nature*, 440(7085), 808-812.
- Bobryshev, Y. V. and Lord, R. S. (1995). S-100 positive cells in human arterial intima and in atherosclerotic lesions. *Cardiovascular Research*, 29(5), 689-96.
- Bobryshev, Y.V. (2010). Dendritic cells and their role in atherogenesis, *Laboratory Investigation*, 90(7), 970-984.
- Bobryshev, Y.V. and Lord, R.S. (1998). Mapping of vascular dendritic cells in atherosclerotic arteries suggests their involvement in local immune-inflammatory reactions. *Cardiovascular Research*, 37(3), 799–810.
- Bobryshev, Y.V., Lord, R.S., Rainer, S.P. and Munro, V. F. (1996). VCAM-1 expression and network of VCAM-1 positive vascular dendritic cells in advanced atherosclerotic lesions of carotid arteries and aortas, *Acta Histochem*, 98(2), 185–194.
- Boruchov, A.M., Heller, G., Veri, M.C., Bonvini, E., Ravetch, J.V. and Young, J.W. (2005). Activating and inhibitory IgG Fc receptors on human DCs mediate opposing functions, *Journal Clinical Investigation*, 102, 2910-2915.
- Bunn, R.C., Cockrell, G.E., Ou, Y., Thrailkill, K.M., Lumpkin, C.K. and Jr, Fowlkes, J.L. (2010). Palmitate and insulin synergistically induce IL-6 expression in human monocytes, *Cardiovasc Diabetol*, 9,73.
- Burke, A.P., Kolodgie, F.D., Zieske, A., Fowler, D.R., Weber, D.K., Farb, A. and Virmani, R. (2004). Morphologic findings of coronary atherosclerotic plaques in diabetics: a postmortem study, *Arterioscler Thromb Vasc Bio*, 24(7), 1266-71.
- Cella, M., Jarrossay, D., Facchetti, F., Alebardi, O., Nakajima, H., Lanzavecchia, A. and Colonna, M. (1999). Plasmacytoid monocytes migrate to inflamed lymph nodes and produce large amounts of type I interferon, *Nature Medicine*, 5, 919-23.
- Cheong, C., Matos, I., Choi, J. H., Dandamudi, D.B., Shrestha, E., Longhi, M.P., Jeffrey, K.L., Anthony, R.M., Kluger, C., Nchinda, G., Koh, H., Rodriguez, A., Idoyaga, J., Pack, M., Velinzon, K., Park, C.G. and Steinman, R.M. (2010). Microbial stimulation fully differentiates monocytes to DC-SIGN/CD209 (+) dendritic cells for immune T cell areas, *Cell*, 143(3), 416-29.
- Coomes, J. L., Siddiqui, K. R., Arancibia-Carcamo, C. V., Hall, J., Sun, CM., Belkaid, Y. and Powrie, F. (2007). A functionally specialized population of mucosal CD103+ DC induces Foxp3+ regulatory T cells via a TGF-beta and retinoic acid-dependent mechanism, *Journal Experimental Medicine*, 204, 1757-64.

- Corrales, J. J., Almeida, M. J., Burgo, R.M., Hernández, P., Miralles, J. and Orfao, M.. (2007). Decreased production of inflammatory cytokines by circulating monocytes and dendritic cells in type 2 diabetic men with atherosclerotic complications, *Journal Diabetes Complications*, 21(1), 41-9.
- Craxton, A., Magaletti, D., Ryan, E. J. and Clark, E. A. (2003). Macrophage-and dendritic cell-dependent Regulation of human B-cell proliferation requires the TNF family ligand BAFF, *Blood*, 101, 4464-4471.
- Cruse, J. M. (2010). B hücreleri aktivasyonu (B7/CD40 yolu), B lymphocyte development and immunoglobulin genes, *Atlas of Immunology*, 3rd ed, 222.
- Cruse, J. M. and Lewis, R. E. (2010a). Birbeck granules, Molecules, Cells, and Tissues of the Immune Response *Atlas of Immunology*, 3rd ed., 122.
- Cruse, J. M. and Lewis, R. E. (2010b). Cytokines and Chemokines, *Atlas of Immunology*, 3rd ed., 354.
- Cruse, J. M. and Lewis, R. E. (2010c). Langerhans cell, Molecules, Cells, and Tissues of the Immune Response *Atlas of Immunology*, 3rd ed., 121.
- Cruse, J. M. and Lewis, R. E. (2010d). Reticuloendothelial system (RES), Molecules, Cells, and Tissues of the Immune Response *Atlas of Immunology*, 3rd ed., 122.
- Cruse, J. M. and Robert, E. L. (2010e). Molecules, Cells, and Tissues of the Immune Response, *Atlas of Immunology*, 3rd ed., 121.
- Cumpbell, N. and Reece, J. (2008). Yardımcı T hücrelerinin sıvısal ve hücresele bağışıklıktaki ana rolü, The central role of helper T cells in humoral and cell-mediated immune responses, *The Immun System Biology*, 8th ed., 43.
- Davies, M. J., Woolf, N., Rowles, P. M. and Pepper, J. (1988). Morphology of the endothelium over atherosclerotic plaques in human coronary arteries. *Br Heart Journal*, 60, 459-64.
- Dawe, K., Ohlsson, L. and Hedlund, G. (1998). Dendritic cells and macrophages are the first and major producers of TNF-alpha in pancreatic islets in the nonobese diabetic mouse, *Journal Immunol*, 160, 3585-3593.
- Del, R., Maria, L., Bernhardt, G., Rodriguez-Barbosa, J.I. and Förster, R. (2010). Development and functional specialization of CD103⁺ dendritic cells. *Immunol*, 234, 268-281.
- Falk, E. (2006). Pathogenesis of atherosclerosis, *Journal of the American College of Cardiology*, 8 (47).
- Fernandez-Real, J. M. and Ricart, W. (2003). Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome, *Endocrine Reviews*, 24, 278-301.

- Fogg, D.K., Sibon, C., Miled, C., Jung, S., Aucouturier, P., Littman, Dr., Cumano, A. and Geissmann, F. (2006). A clonogenic bone marrow progenitor specific for macrophages and Dendritic cells. *Science*, 6, 311, 83-7.
- Foteneau, J.F., Gilliet, M., Larsson, M. Dasilva, I., Münz, C., Liu, YJ. and Bhardwaj, N. (2003). Activation of influenza virus specific CD4+ and CD8+ T cells: a new role for plasmacytoid dendritic cells in adaptive immunity, *Blood*, 101, 3520-3526.
- Francisco-Cruz, A., Aguilar-Santelises, M., Ramos-Espinosa, O., Mata-Espinosa, D., Marquina-Castillo, B., Barrios-Payan, J. and Hernandez-Pando, R. (2014). Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor: not just another haematopoietic growth factor. *Medical Oncology*, 31, 774.
- Gaede, P., Vedel, P., Larsen, N., Jensen, G.V., Parving, H.H. and Pedersen, O. (2003). Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. *New English Journal Of Medicine*, 348(5):383-93.
- Gee, K., Guzzo, C., Che Mat, N. F., Ma W. and Kumar, A. (2009). The IL-12 family of cytokines in infection, inflammation and autoimmune disorders, *Inflamm Allergy Drug Targets*, 8, 40–52.
- Geijtenbeek, T. B. and Gringhuis, S. I. (2009). Signalling through C-type lectin receptors: shaping immune responses, *Nat Rev Immunol*, 9, 465-479.
- Glass, C. K. and Witztum, J. L. (2001). Atherosclerosis. *The road a head*, cell, 104, 503–516.
- Güleç, S. (2009). Kalp damar hastalıklarında global risk ve hedefler. *Türk Kardiyol Dern Arş*; 37(2), 1-10.
- Hamm, C.W., Möllmann, H., Bassand, J.P. and Van de Werf, F. (2009). Acute Coronary Syndrom. In: Camm AJ, Lücher TF, Serruys PW, editors. *The ESC Textbook of Cardiovascular Medicine*. 2nd ed. New York: Oxford University Press, 535-97.
- Han, J. W., Shimada, K., Ma-Krupa, W., Johnson, T. L., Nerem, R., Goronzy, M., Goronzy, J.J. and Weyand, C.M. (2008). Vessel wall-embedded dendritic cells induce T-cell autoreactivity and initiate vascular inflammation, *Circ Res*, 102, 546–553.
- Hansson G. K. (2005). Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *New English Journal Of Medicine*, 352, 1685–1695.
- Hansson, G. K. and Libby, P. (2006). The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword, *Nat Rev Immunol*, 6, 508–519.
- Hawinger, D., Inaba, K., Dorsett, Y., Guo, M., Mahnke, K., Rivera, M., Ravetch, J.V., Steinman, R.M. and Nussenzweig, M.C. (2001). Dendritic Cells induce peripheral T cell unresponsiveness under steady state conditions in vivo. *Journal Of Experimental Medicine*, 194, 769- 779.
- Hintzen, G., Ohl, L., del-Rio, M.L., Rodriguez-Barbosa, J.I., Pabst, O., Kocks, J.R., Krege, J., Hardtke, S. and Förster, R. (2006). Induction of tolerance to innocuous inhaled

antigen relies on a CCR7-dependent dendritic cell-mediated antigen transport to the bronchial lymph node. *Journal Immunol*, 177, 7346-7354.

Hogquist, K. A., Baldwin, T. A. and Jameson, S. C. (2005). Central tolerance: learning self control in the thymus, *Nat Rev Immunol*, 5, 772-782.

Horelli-Kuitunen, N., Yaspo, M.L. and Peltonen, L., (1997). An autoimmune disease, APECED, caused by mutations in a novel gene featuring two PHD-type zinc-finger domains: Finish-German APECED Consortium. *Nature Genetics*, 17(4), 399-403.

Hosoyama, T., Aslam, M.I., Abraham, J., Prajapati, S.I., Nishijo, K., Michalek, J.E., Zarzabal, L.A., Nelson, L.D., Guttridge, D.C., Rubin, B.P. and Keller, C. (2011). IL-4R Drives Dedifferentiation, Mitogenesis, and Metastasis in Rhabdomyosarcoma. *Clin Cancer Res*, 17(9), 2757-2766.

Huang, Z. Y., Hunter, S. and Chien, P. (2011). Interaction of two phagocytic host defense systems: Fcγ receptors and complement receptor 3, *Journal Biol Chem*, 286, 160-168.

Hunger, R. E., Sieling, P.A., Ochoa, M.T., Sugaya, M., Burdick, A.E., Rea, T.H., Brennan, P.J., Belisle, J.T., Blauvelt, A., Porcelli, S.A. and Modlin, R.L. (2004). Langerhans cells utilize CD1a and langerin to efficiently present nonpeptide antigens to T cells. *Journal Clin Invest*, 113, 701-708.

İnternet: Dendritic cell immunohistochemical staining, wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Dendritic_cell, adresinden 01 Eylül 2016'da alınmıştır.

İnternet: Dendritic cell subsets Magnetic separation and easy identification quickly identify and isolate your Dendritic cell subset with Miltenyi Biotech's fluorochrome-conjugated antibodies, MACS technology Miltenyi Biotech www.miltenyibiotech.com/cellanalysis. adresinden 01 Eylül 2016'da alınmıştır.

İnternet: Dendritik hücre elektronmikroskopik görüntü wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Dendritic_cell, adresinden alınmıştır. 01 Eylül 2016'da

İnternet: Doğal bağışık yanıtta rol oynayan sitokinler. Cytokines and Immunoregulation, <http://www.microbiologybook.org/mobile/m.immuno-13.htm>, adresinden 01 Eylül 2016'da alınmıştır.

İnternet: Pollard W. J. (2009). Hücre gelişim basamakları, The mononuclear phagocytic lineage and the control of its development by growth factors. http://www.nature.com/nri/journal/v9/n4/fig_tab/nri2528_F1.html, 01 Eylül 2016'da alınmıştır.

Ito, T., Wang, Y. H. and Duramad, O., Hori, T., Delespesse, G.J., Watanabe, N., Qin, F.X., Yao, Z., Cao, W. and Liu, Y.J. (2005). TSLP-activated dendritic cells induce an inflammatory T helper type 2 cell response through OX40 ligand, *Journal Of Experimental Medicine*, 202, 1213-1223.

Jaensson, E., Uronen-Hansson, H., Pabst, O., Eksteen, B., Tian, J., Coombes, J.L., Berg, P.L., Davidsson, T., Powrie, F., Johansson-Lindbom, B. and Agace, W.W. (2008).

- Small interstitial CD103⁺ Dendritic cells display unique functional properties that are conserved between mice and humans, *Journal Of Experimental Medicine*, 205, 2139-2149.
- Jensen, P. E. (2007). Recent advances in antigen processing and presentation, *Nat Immunol*, 8, 1041-1048.
- Jongbloed, S.L., Kassianos, A.J., McDonald, K J., Clark, G.J., Ju, X., Angel, C.E., Chen, C.J., Dunbar, P.R., Wadley, R.B., Jeet, V., Vulink, A.J., Hart, D.N. and Radford, K.J. (2010). Human CD141⁺ Dendritic cells represent a unique myeloid DC subset that cross-presents necrotic cell antigens, *Journal Of Experimental Medicine*, 207, 1247-260.
- Kamath, A.T., Pooley, J., O'Keeffe, M.A., Vremec, D., Zhan, Y., Lew, A.M., D'Amico, A., Wu, L., Tough, D.F. and Shortman, K. (2000). The development, maturation and turnover rate of mouse spleen dendritic cell populations. *Journal Immunol*, 165, 6762-6770.
- Kawahara, I., Kitagawa, N., Tsutsumi, K., Nagata, I., Hayashi, T. and Koji, T. (2007) The expression of vascular dendritic cells in human atherosclerotic carotid plaques, *Hum Pathol*, 38, 1378–1385.
- Khan, S., Ruutu, M., Thomas, R. and Bhardwa, N. (2009). TLR expressed by dendritic cells and their ligands, *Kelley' s Textbook of Rheumatology*, 2, 9-121.
- Khan, S., Ruutu, M., Thomas, R. and Bhardwa, N. (2013a). Cells involved in autoimmune diseases and inflammation, *Kelley' s Textbook of Rheumatology*, Part 2, Dendritic Cells, 9-119.
- Khan, S., Ruutu, M., Thomas, R. and Bhardwa, N. (2013b). Dendritic cell (DC) subsets, Cells involved in autoimmune diseases and inflammation, *Kelley' s Textbook of Rheumatology*, Dendritic Cells, 2, 9-121.
- Kim, J.M., Rasmussen, J.P. and Rudensky, A.Y. (2007). Regulatory T cells prevent catastrophic autoimmunity throughout the lifespan of mice, *Nat Immunol*, 8, 191-7.
- Klechevsky, E., Liu, M., Morita, R., Banchereau, R., Thompson-Snipes, L., Palucka, A.K., Ueno, H. and Banchereau, J. (2009). Understanding human myeloid dendritic cell subsets for the rational design of novel vaccines, *Hum Immunol*, 70, 281-288.
- Klechevsky, E., Liu, M., Morita, R., Liu, M., Cao, Y., Coquery, S., Thompson-Snipes, L., Briere, F., Chaussabel, D., Zurawski, G., Palucka, A.K., Reiter, Y., Banchereau, J. and Ueno, H. (2008). Functional specialization of human epidermal langerhans cells and CD14⁺ dermal dendritic cells, *Immunity*, 29, 497-540.
- Kofler, S., Schlichting, C., Jankl, S., Nickel, T. and Weis, M. (2008). Dual mode of HMG-CoA reductase inhibition on dendritic cell invasion, *Atherosclerosis*, 197, 105–110.
- Kragel, A. H., Reddy, S. G., Wittes, J. T. and Roberts, W. C. (1989). Bir koroner plak dokusunun ortalama kompozisyonu. Morphometric analysis of the composition of atherosclerotic plaques in the four major epicardial coronary arteries in acute myocardial infarction and in sudden coronary death, *Circulation*, 80, 1747–1756.

- Kumar, H., Kawai, T. and Akira, S. (2009). Pathogen recognition in the innate immune response, *Biochem Journal*, 420, 1-16.
- Lamarche, B., Lemieux, I. and Despres, J.P. (1999). The small, dense LDL phenotype and the risk of coronary heart disease: epidemiology, patho-physiology and therapeutic aspects. *Diabetes Metab*, 25(3), 199-211.
- Langer, H. F., Daub, K., Braun, G., Schonberger, T., May, A. E., Schaller, M., Stein G.M., Stellos, K., Bueltmann, A., Siegel-Axel, D., Wendel, H.P., Aebert, H., Roecken, M., Seizer, P., Santoso, S., Wesselborg, S., Brossart, P. and Gawaz, M. (2007). Platelets recruit human dendritic cells via Mac-1/JAM-C interaction and modulate dendritic cell function in vitro, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 27, 1463–1470.
- Libby P. (2001). Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation*; 104(3),365-72.
- Libby, P. (2002). Inflammation in atherosclerosis, *Nature*, 420, 868 –874.
- Libby, P., Ridker, P.M. and Maseri, A. (2002). Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*, 105, 1135-1143.
- Linsley, P. S., Brady, W., Urnes, M., Grosmaire, L.S., Damle, N.K. and Ledbetter, J.A. (1991). CTLA-4 is a second receptor for the B cell activation antigen B7. *Journal Of Experimental Medicine.*, 174, 561-569.
- Liu, K., Victora, G.D., Schwickert, T.A., Guernonprez, P., Meredith, M.M., Yao, K., Chu, F.F., Randolph, G.J., Rudensky, A.Y. and Nussenzweig, M. (2009). In vivo analysis of dendritic cell development and homeostasis. *Science*, 324, 392–397.
- Liu, K., Waskow, C., Liu, X., Yao, K., Hoh, J. and Nussenzweig, M., (2007). Origin of dendritic cells in peripheral lymphoid organs of mice. *Nat Immunol*, 8, 578-83.
- Liu, Y.J. (2001). Dendritic cell subsets and lineages, and their functions in innate and adaptive immunity, *Cell*, 106, 259-62.
- Lotze, M.T. and Thomson, A.W. (2001). Dendritic cells: biology and clinical applications, *Academic Press*, 2nd ed., San Diego, CA.
- Ludewig, B., Odermatt, B., Ochsenbein, A. F., Zinkernagel, R.M. and Hengartner, H. (1999). Role of dendritic cells in the induction and maintenance of autoimmune diseases, *Immunol, Rev* 169, 45-54.
- Ma-Krupa, W., Jeon, M.S., Spoerl, S., Tedder, T. F., Goronzy, J. J. and Weyand, C. M. (2004). Activation of arterial wall dendritic cells and breakdown of self-tolerance in giant cell arteritis, *Journal Of Experimental Medicine*, 199, 173–183.
- Manches, O., Munn, D. and Fallahi, A., Lifson, J., Chaperot, L., Plumas, J. and Bhardwaj, N. (2008). HIV-activated human plasmacytoid DCs induce tregs through an indoleamine 2,3-dioxygenase-dependent mechanism, *Journal Of Clinical Investigation*, 118, 3431- 439.

- Mckenna, K., Beignon, A. and Bhardwaj, N. (2005). Plasmacytoid Dendritic cells: Linking innate and adaptive immunity. *Journal of Virology*, 79, 17-27.
- Michael, B. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications, *Nature*, 414, 813-17.
- Millonig, G., Niederegger, H., Rabl, W., Hochleitner, B. W., Hoefler, D., Romani, N. and Wick, G. (2001). Network of vascular-associated dendritic cells in intima of healthy young individuals, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 21, 503–508.
- Munn, D. H., Sharma, M. D., Lee, J. R., Jhaver, K.G., Johnson, T.S., Keskin, D.B., Marshall, B., Chandler, P., Antonia, S.J., Burgess, R., Slingluff, C.L. and Jr, Mellor, A.L. (2002). Potential regulatory function of human Dendritic Cells expressing indoleamine 2,3-dioxygenase, *Science*, 297, 1867- 1870.
- Naghavi, M., Libby, P., Falk, E., Casscells, S.W., Litovsky, S., Rumberger, J., Badimon, J.J., Stefanadis, C., Moreno, P., Pasterkamp, G., Fayad, Z., Stone, P.H., Waxman, S., Raggi, P., Madjid, M., Zarrabi, A., Burke, A., Yuan, C., Fitzgerald, P.J., Siscovick, D.S., de Korte, C.L., Aikawa, M., Juhani-Airaksinen, K.E., Assmann, G., Becker, C.R., Chesebro, J.H., Farb, A., Galis, Z.S., Jackson, C., Jang, I.K., Koenig, W., Lodder, R.A., March, K., Demirovic, J., Navab, M., Priori, S.G., Reekhter, M.D., Bahr, R., Grundy, S.M., Mehran, R., Colombo, A., Boerwinkle, E., Ballantyne, C., Insull, W., Jr, Schwartz, R.S., Vogel, R., Serruys, P.W., Hansson, G.K., Faxon, D.P., Kaul, S., Drexler, H., Greenland, P., Muller, J.E., Virmani, R., Ridker, P.M., Zipes, D.P., Shah, P.K. and Willerson, J.T. (2003). From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies, *Circulation*, 108, 1664 –1672.
- Naik, S.H., Sathe, P., Park, P.Y., Metcalf, D., Proietto, A.I., Dakic, A., Carotta, S., O'Keefe, M., Bahlo, M., Papenfuss, A., Kwak, J.Y., Wu, L. and Shortman, K. (2007). Development of plasmacytoid and conventional dendritic cell subtypes from single precursor cells derived in vitro and in vivo, *Nat Immunol*, 1217-26.
- Niessner, A. and Weyand, C.M. (2010a). Atherosklerotik hastalıkta dendritik hücre aktivasyonu yapan immunolojik aktivasyon belirteçleri, dendritic cells in atherosclerotic disease, *Clin Immunol*, 134(1), 12-25.
- Niessner, A. and Weyand, C.M. (2010b). Dendritic cells in atherosclerotic disease, *Clin Immunol*, 134(1), 25.
- Niessner, A. and Weyand, C.M. (2011). Recruitment of dendritic cells into the atherosclerotic plaque, *Clin Immunol*, 10.
- Ohl, L., Mohaupt, M., Czeloth, N., Hintzen, G., Kiafard, Z., Zwirner, J., Blankenstein, T., Henning, G. and Förster, R. (2004). CCR7 governs skin dendritic cell migration under inflammatory and steady-state conditions. *Immunity*, 21, 279-288.
- Ohnmacht, C., Pullner, A., King, S. B. Drexler, I., Meier, S., Brocker, T. and Voehringer, D. (2009). Constitutive ablation of dendritic cells breaks Self-tolerance of CD4+ T cells and results in spontaneous fatal autoimmunity, *Journal Of Experimental Medicine*, 206, 549-559.

- Olweus, J., BitMansour, A., Warnke, R., Thompson, P.A., Carballido, J., Picker, L.J. and Lund-Johansen, F. (1997). Dendritic cell ontogeny: A human dendritic cell lineage of myeloid origin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America Proc. Natl Acad. Sci.*, 94, 12551–12556.
- Onai, N., Obata-Onai, A., Schmid, MA., Ohteki, T., Jarrossay, D. and Manz, MG. (2007). Identification of clonogenic common Flt3+M-CSFR+ plasmacytoid and conventional dendritic cell progenitors in mouse bone marrow. *Nat Immunol*, 1207-16.
- Onat, A., Kahraman, G., Ökçün, B., Dönmez, K., Keleş, İ. ve Sansoy, V. (1996). Türk Erişkinlerinde Ölüm ve Koroner Olaylar: TEKHARF Çalışması Kohortunun 5-Yıllık Takibi. *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi* 24(1), 8-15.
- Pajune, P., Nieminen, M.S. and Taskinen, M. R. (1997). Quantitative comparison of angiographic characteristics of coronary artery disease in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus compared with matched nondiabetic control subjects, *American Journal Of Cardiology*, 80, 550-56.
- Piccioli, D., Sbrana, S., Melandri, E. and Valiante, N. M. (2002). Contact-dependent stimulation and inhibition of dendritic cells by natural killer cells, *Journal Of Experimental Medicine*, 195, 335-341.
- Pickup, J. C., Chusney, G. D., Thomas, S. M. and Burt, D. (2000). Plasma interleukin-6, tumour necrosis factor α and blood cytokine production in type 2 diabetes, *Life and Science*, 67, 291 – 300.
- Poulin, L. F., Salio, M., Greissinger, E., Anjos-Afonso, F., Craciun, L., Chen, J.L., Keller, A.M., Joffre, O., Zelenay, S., Nye, E., Le Moine, A., Faure, F., Donckier, V., Sancho, D., Cerundolo, V., Bonnet, D. and Reise, S. C. (2010). Characterization of human DNCR-1+ BDCA3+ leukocytes as putative equivalents of Mouse CD-alpha+ dendritic cells, *Journal Of Experimental Medicine*, 207, 1261-271.
- Pryshchep, O., Ma-Krupa, W., Younge, B. R., Goronzy, J. J. and Weyand, C. M. (2008). Vessel-specific toll-like receptor profiles in human medium and large arteries, *Circulation*, 118, 1276–1284.
- Raker, V.K., Domogalla, M.P. and Steinbrink, K. (2015). Tolerogenic Dendritic cells for regulatory T cell induction in man, *Front Immunol*, 6, 569.
- Rimoldi, M., Chippa, M., Salucci, V., Avogadri, F., Sonzogni, A., Sampietro, G.M., Nespole, A., Viale, G., Allavena, P. and Rescigno, M. (2005). Intestinal immune homeostasis is regulated by the crosstalk between epithelial cells and Dendritic cells. *Nat Immunol*, 6, 507-514.
- Roitt, I. (2008a). Antijen sunucu hücrelerin farklı tipleri, Çev: Turgut İmir, *İmmünoloji*, Şekil 2, 14, 28.
- Roitt, I. (2008b). Antijen sunucu hücrelerin lenfoid doku içerisine göçü, Çev: Turgut İmir, *İmmünoloji*, Şekil 2, 15, 29.
- Roitt, I. (2008c). Bir rat lenf düğümünün T hücre bölgesindeki IDC hücrelerin ince yapısı, Çev: Turgut İmir, *İmmünoloji*, Şekil 2, 16, 29.

- Roitt, I. (2008d). İmmun sistemin hücre doku ve organları, Çev: Turgut İmir *İmmünoloji*, Şekil 2, 18, 30, 118.
- Ross, R. (1999). Atherosclerosis - an inflammatory disease, *New England Journal Of Medicine*, 340, 115-126.
- Savill, J., Dransfield, I., Gregory, C. and Haslet, C. (2002). A blast from the past: clearance apoptotic cells regulates immunresponses, *Nat Rev Immunol*, 2, 965-975.
- Scholer, A., Hugues, S., Boissonnas, A., Fetler, L. and Amigorena, S. (2008). Intercellular adhesion molecule-1 dependent stable interactions between T cells and dendritic cells determine CD8+ T cell memory, *Immunity*, 28, 258-270.
- Shamshiev, A. T., Ampenberger, F., Ernst, B., Rohrer, L., Marsland, B. J. and Kopf, M. (2007). Dyslipidemia inhibits Toll-like receptor-induced activation of CD8alpha-negative dendritic cells and protective Th1 type immunity, *Journal Of Experimental Medicine*, 204, 441-452.
- Shi, H., Ge, J., Fang, W., Yao, K., Sun, A., Huang, R., Jia, Q., Wang, K., Zou, Y. and Cao, X. (2007). Peripheral-blood dendritic cells in men with coronary heart disease, *Am Journal Cardiol*, 100, 593-597.
- Shi, K., Hayashida, K., Kaneko, M., Hashimoto, J., Tomita, T., Lipsky, P.E., Yoshikawa, H. and Ochi, T. (2001). Lymphoid chemokine B cell-attracting Chemokine-1(CXCL13) is expressed in germinal centre of ectopic lymphoid follicles within the synovium of chronic arthritis patients, *Journal Immunol*, 166, 650-655.
- Shin, J.S., Ebersold, M., Pypaert, M., Delamarre, L., Hartley, A. and Mellman, I. (2006). Surface expression of MHC Class II in dendritic cells is controlled by regulated ubiquitination. *Nature*, 444, 115-118.
- Shortman, K. and Liu, Y.J., (2002). Mouse and human dendritic cell subtypes, *Nat Rev Immunol*, 2,151.
- Shortman, K. and Naik, S. H. (2007). Steady-state and inflammatory dendritic-cell development, *Nat Rev Immunol*, 7, 19-30.
- Skoberne, M., Beignon, A. S., Larsson, M. and Bhardwaj, N. (2005). Apoptotic cells at the crossroads of tolerance and immunity, *Curr Top Microbiol Immunol*, 289, 259-292.
- Smith, S.C. Jr, Benjamin, E.J., Bonow, R.O., Braun, L.T., Creager, M.A., Franklin, B.A., Gibbons, R. J., Grundy, S. M., Hiratzka, L. F., Jones, D.W., Lloyd-Jones, D.M., Minissian, M., Mosca, L., Peterson, E. D., Sacco, R. L., Spertus, J., Stein, J. H., Taubert, K.A. (2011). World Heart Federation and the Preventive Cardiovascular Nurses Association. AHA/ACCF Secondary Prevention and Risk Reduction Therapy for Patients with Coronary and other Atherosclerotic Vascular Disease: update: a guideline from the American Heart Association and American College of Cardiology Foundation. *Circulation*, 124(22), 2458-73.

- Sokol, C.L., Barton, G.M., Farr, A.G. and Medzhitov, R. (2008). A mechanism for the initiation of allergen-induced T helper type 2 responses. *Nat Immunol*, 9(3), 310–318.
- Soumelis, V. and Liu, Y. J. (2006). From plasmacytoid to dendritic cell: morphological and functional switches during plasmacytoid pre-dendritic cell differentiation, *Eur Journal Immunol*, 36, 2286-2292.
- Stary, H.C., Chandler, A.B., Glagov, S., Guyton, J.R., Insull, W. Jr, Rosenfeld, M.E., Schaffer, S.A., Schwartz, C.J., Wagner, W.D. and Wissler, R.W. (1994). A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, *American Heart Association. Circulation*; 89(5), 2462-78.
- Steinman, R. M. and Cohn, Z. A. (1973). Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution, *Journal Of Experimental Medicine*, 137, 1142-1162.
- Steinman, R. M. (2007). Dendritic cells: versatile controllers of the immune system, *Nature Medicine*, 13:1155.
- Steinman, R. M. and Banchereau, J. (2007). Taking dendritic cells into medicine, *Nature*, 449, 419-426.
- Steinman, R. M. and Nussenzweig, M. C. (1980). Dendritic cells: features and functions. *Immunol Rev* 53, 127-147.
- Steinman, R. M., Hawiger, D., Liu, K., Bonifaz, L., Bonnyay, D., Mahnke, K., Iyoda, T., Ravetch, J., Dhodapkar, M., Inaba, K. and Nussenzweig, M. (2003). Dendritic cell function in vivo during the steady state: a role in peripheral tolerance, *Ann N Y Acad Sci, Annals of the New York Academy of Sciences*, 987, 15–25.
- Stuart, L. M., Lucas, M., Simpson, C., Lamb, J., Savill, J. and Lacy-Hulbert, A. (2002). Inhibitory effects of apoptotic cell ingestions upon endotoxin-driven myeloid dendritic cell maturation. *Journal Immunol*, 168, 1627-1635.
- Tacke, F., Alvarez, D., Kaplan, T. J., Jakubzick, C., Spanbroek, R., Llodra, J., Garin, A., Liu, J., Mack, M., vanRooijen, N., Lira, S.A., Habenicht, A. J. and Randolph, G.J. (2007). Monocyte subsets differentially employ CCR2, CCR5, and CX3CR1 to accumulate within atherosclerotic plaques, *Journal Clin Invest*, 117, 185–194.
- Takeuchi, O. and Akira, S. (2010). Pattern recognition receptors and inflammation, *Xell*, 140, 805-820.
- Thomas, R., Davis, L.S. and Lipsky, P.E. (1993). Isolation and characterization of human peripheral blood dendritic cells. *Journal Immunol*, 150, 821-34.
- Trombetta, E. S., Ebersold, M., Garrett, W., Pypaert, M. and Mellman, I. (2003). Activation of lysosomal function during dendritic cell maturation. *Science*, 299, 1400-1403.

- Tuttle, H. A., Davis-Gorman, G., Goldman, S., Copeland, J. G. and McDonagh, P. F. (2004). Proinflammatory cytokines are increased in type 2 diabetic women with cardiovascular disease, *Journal of Diabetes and its Complications*, 18, 343 – 351.
- Vacchelli, E., Eggermont, A., Fridman, WH., Galon, J., Zitvogel, L., Kroemer, G. And Galluzzi, L. (2013). Trial Watch: Immunostimulatory cytokines. *Oncoimmunology*, 2 (7), 24850.
- Van-Belen, A.J., Zelinkova, Z., Taanman-Kueter, E.W., Muller, F.J., Hommes, D.W., Zaat, S.A., Kapsenberg, M.L. and de-Jong, E.C. (2007). Stimulation of the intracellular bacterial sensor NOD2 programs dendritic cells to promote interleukin-17 production in human memory T cells. *Immunity*, 27, 660-669.
- Verena, K., Raker, M., Domogalla, P. and Kerstin, S. (2015). Dendritik hücre oluşumu ve etkili sitokinler. Tolerogenic Dendritic Cells for Regulatory T Cell Induction in Man, *Frontiers Immunology*, 6, 569.
- Verhagen, H.J., Heijnen-Snyder, G.J., Pronk, A., Vroom, T.M., van Vroonhoven, T.J., Eikelboom, B.C., Sixma, J.J. and de Groot, P.G. (1996). Thrombomodulin activity on mesothelial cells: perspectives for mesothelial cells as an alternative for endothelial cells for cell seeding on vascular grafts. *British Journal of Haematology* 95(3):542-9.
- von Schlieffen, E., Oskolkova, O. V., Schabbauer, G., Gruber, F., Bluml, S., Genest, M., Genest, M., Kadl, A., Marsik, C., Knapp, S., Chow, J., Leitinger, N., Binder, B.R. and Bochkov, V.N. (2008). Multi-hit inhibition of circulating and cell-associated components of the toll-like receptor 4 pathway by oxidized phospholipids, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*.
- Wang, L., Li, D., Yang, K., Hu, Y. and Zeng, Q. (2008). Toll-like receptor-4 and mitogen-activated protein kinase signal system are involved in activation of dendritic cells in patients with acute coronary syndrome, *Immunology*, 125, 122–130.
- Wang, X., Ishimori, N., Korstanje, R., Rollins, J. and Paigen, B. (2005). Identifying novel genes for atherosclerosis through mouse-human comparative genetics, *Am Journal Hum Genet*, 77, 1–15.
- Weber, C., Zernecke, A. and Libby, P. (2008). The multifaceted contributions of leukocyte subsets to atherosclerosis: lessons from mouse models. *Nat Rev Immunol*, 8, 802–815.
- Weis, M., Schlichting C.L., Engleman, E.G. and Cooke, J.P. (2002) Endothelial determinants of dendritic cell adhesion and migration: new implications for vascular diseases, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 22, 1817–1823.
- White, H.D. and Chew, D.P. (2008). Acute myocardial infarction. *Lancet*, 372(9638), 570-84.
- Yao, K., Lu, H., Qian, J., Huang, R., Zou, Y. and Ge, J. Z. (2011). Changes of dendritic cells and fractalkine in type 2 diabetic patients with unstable angina pectoris: a preliminary report, *Cardiovascular Diabetology*, 10, 50.
- Yilmaz, A., Weber, J., Cicha, I., Stumpf, C., Klein, M. and Raithel, D. (2006). Decrease in circulating myeloid dendritic cell precursors in coronary artery disease, *Journal Am Coll Cardiol*, 48, 70–80.






EKLER

Ek-1. Etik Kurul Onayı

Dendritik hücrelerin ateroskleroz gelişimindeki rolünün araştırılması konulu tez çalışması



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Baştabipliği

Sayı : B.10.4.JSM.4.06.68.49/ 11.07.2012
Konu: Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Etik Kurul Kararı

**KEÇİÖREN EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ KLİNİK ARAŞTIRMA
ETİK KURULU**

"Dendritik hücrelerin, Th17 hücrelerin ve Treg hücrelerinin ateroskleroz gelişimindeki rolünün araştırılması" adlı klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına ve kurulumuz kararının başvuru sahibi tarafından Sağlık Bakanlığı'na arzına gerek olmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.


Doç.Dr. K.Okhan AKIN
Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı

Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurul
Pınarbaşı Mahallesi Sanatoryum Cad.
Ardahan Sokak No:25 Keçiören / ANKARA
Web: www.akeah.gov.tr

Ek-1. (devam). Etik Kurul Onayı

KEÇİÖREN EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU					
BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Dendritik hücrelerin, Th17 hücrelerin ve Treg hücrelerinin ateroskleroz gelişimindeki rolünün araştırılması			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç.Dr. Aytegin Atak Yücel			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	İmmünoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel İmmünoloji Anabilim Dalı			
	DESTEKLEYİCİ				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZI	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endokasyon	<input type="checkbox"/>			
	Yüksek Doz Araştırması	<input type="checkbox"/>			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Akademik Çalışma (Doktora Tezi)				
	TEK MERKEZ <input type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

ASLI GİBİDİR
Zelha ÖZTÜRK
Başvuru ve Etik Kurul İşleri Birim Sorumlusu

AÇIKLAMA: Bu tez çalışmasının başında etik kurul onayı alınırken “Dendritik hücrelerin, Th17 hücrelerinin ve T-reg hücrelerinin ateroskleroz gelişimindeki rolünün araştırılması” orijinal tez başlığı ile alınmış, ancak deneysel çalışmalara başlanacağı sırada döviz kurunda meydana gelen beklenmeyen yükselmeler nedeni ile kit fiyatları tahmini bütçeyi çok aştığı için konu ve tez başlığı “Dendritik hücrelerin ateroskleroz gelişimindeki rolünün araştırılması” olarak daraltılmak zorunda kalınmış ve bunun için Anabilim Dalımızın ve Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun onayı alınmıştır. Bu çalışma “Vasküler ve Moleküler Kardiyoloji Derneği” tarafından desteklenmiştir.

Ek-1. (devam). Etik Kurul Onayı

KALP KATETERİZASYONU VE ANJİOGRAFI VE DENDRİTİK HÜCRELERİN ATROSKLEROZDAKİ ROLÜ ADLI ÇALIŞMA İÇİN AYDINLATILMIŞ RIZA BELGESİ			
Doküman Kodu: KRD.RB.03	Yürürlük Tarihi: 02.2012	Revizyon No/Tarihi: 01/06.2015	Sayfa No: 68 / 154
HASTANIN			
Adı-Soyadı		Protokol Numarası	
Doğum Tarihi		Telefon Numarası	
Hastaneye Kabul Tarihi		Adresi	
Servise Yatış Tarihi			
Hastalığın Ön Tanısı/Tanısı			
ACİL DURUMDA ONAM ALMAK İÇİN ULAŞILACAK YASAL TEMSİLCİLERİN			
Adı-Soyadı		Telefon Numarası	
Adı-Soyadı		Telefon Numarası	
SORUMLU HEKİM			
KASE / İMZA			

3.4. Kalp Katerizasyonu ve Anjiografi ve Dendritik Hücrelerin Aterosklerozdaki Rolü Adlı Çalışma İçin Aydınlatılmış Rıza Belgesi

Yazılı onam (rıza):

Bu bölüm hasta tarafından okunacak ve

doldurulacaktır. Sayın hastamız lütfen bu formu

dikkatlice okuyunuz.

- 1- Tıbbi durumunuz ve hastalığınızın tedavisi için size önerilen girişim/televi hakkında bilgi sahibi olmak en doğal hakkınız.
- 2- Önerilen girişim/televi hakkındaki bilgi formun ikinci bölümünde mevcuttur. Bu formun 1 kopyasını kendiniz için isteme hakkına sahipsiniz.
- 3- Bu açıklamaların amacı, sağlığınız ile ilgili konularda alınacak kararlara sizi daha bilinçli bir biçimde ortak etmektir.
- 4- Tanısal girişimcilerin, tıbbi ve cerrahi tedavilerin yararlarını ve olası risklerini öğrendikten sonra yapılacak işleme rıza göstermek yada göstermemek kendi kararınıza bağlıdır.

Ek-1. (devam). Etik Kurul Onayı

- 5- Önerilen girişimi/tedaviyi kabul etmemeniz durumunda bunu belirtmek zorundasınız.
- 6- Girişim/tedavi için onam belgesini imzalarsanız bile; istediğiniz zaman bu onamınızı geri çekme hakkına sahipsiniz. Ancak; unutmamalısınız ki, “yasal açıdan” onamınızı girişim başladıktan sonra geri almanız, ancak tıbbi yönden sakıncası bulunmaması şartına bağlıdır. Girişim/tedavi için verdiğiniz onamı geri çekmeniz durumunda bunu belirtmek zorundasınız.
- 7- Burada belirtilenlerden başka sorularınız varsa bunları yanıtlamak görevimizdir.
- 8- Tıbbi durumumun tanı ve tedavisi ile ilgili yapılacak girişim/tedavi-cerrahi tedavi konusunda bilgi aldım.
- 9- Bu formda tanımlananlar dışında yapılacak her hangi bir ilave girişimin, yalnızca sağlığıma yönelik ciddi zararların önlenmesi ve yaşamımın kurtarılması için uygulanabileceğini anlıyor ve kabul ediyorum.
- 10- Her koşulda girişimi gerçekleştirecek hekimin yeterli deneyimde olacağını anlıyor ve kabul ediyorum.
- 11- Oluşabilecek komplikasyonlar ve olası riskleri konusunda bilgilendirildim.
- 12- Bu tanı ve tedavi yöntemlerini reddettiğim zaman sağlığıma tehdit edici başka hangi risklerin oluşabileceğini, bu tedavi yerine uygulanabilecek başka bir tıbbi yöntemin bulunup bulunmadığı konusunda bilgilendirildim.

Çizelge 3.8. Rıza belgesi

<input type="checkbox"/> BU FORMDA TANIMLANAN GİRİŞİMİN/TEDAVİNİN UYGULANMASINI VE ARAŞTIRMANIN YAPILMASINI KABUL EDİYORUM.		Tarih / Saat:.....	
Hastanın Adı- Soyadı		İmzası	
HASTANIN BİLGİLENDİRİLDİĞİNE VE/VEYA OKUMA/YAZMASI OLMAYAN HASTALAR İÇİN İŞLEMİN SÖZLÜ OLARAK GERÇEKLEŞTİRİLDİĞİNE ŞAHİTLİK EDENİN:			
Adı-Soyadı		Tarih /Saat	
İmzası		Adresi	
Telefonu			
KANUNİ YETERLİLİĞİ OLMAYAN HASTALAR İÇİN (Hastanın Velisi / Yasala Vasisi ta doldurulacaktır.)			
Adı-Soyadı		Tarih / Saat	
İmzası		Adresi	
Telefonu			

Kalp kateterizasyonu ve anjiyografisi bilgilendirme (aydınlatma):

Ek-1. (devam). Etik Kurul Onayı

Kalp kateterizasyonu ve anjiografi nedir, neden bu işleme gereksiniz duyulur?

Kalp kateterizasyonu ve anjiografi tedavi değil, Tanı (Teşhis) yöntemidir. Kalp boşluklarının ve koroner arterlerin kontrast madde (bir çeşit tıbbi boya maddesi) verilmesi sırasında görüntülenmesi ve “X” ışınları kullanılarak hareketli film çekilmesi esasın dayanır. Elde edilen veriler tedavinin yönlendirilmesinde çok kıymetlidir ve çoğu hastada tedavi stratejisinin seçimi için temel belirleyici olmaktadır. Günümüzdeki teknolojik koşullar ve bilgi birikimi sayesinde, adı geçen işlemlerin başarı oranı %99’un üzerindedir.

Kalp kateterizasyonu ve anjiografi nasıl yapılır?

Kalp kateterizasyonu ve anjiografi öncesi 4-12 saat aç kalınması gereklidir (ilaçlar çok az miktarda su ile alınabilir). Hasta kateter laboratuvarına alınmadan önce, daha iyi bir sterilizasyon sağlanabilmesi için kasık bölgesi traşının yapılmış olması gerekir. Gereğinde sakinleştirici bir ilaç uygulanır. İşlemin yapılacağı kasık yada kol bölgesi uyuşturulur ve bu bölgedeki atardamara kanül yerleştirilir (giriş yolu açılır). Plastik benzeri maddeden yapılmış ince bir boru (kateter) ile kalp boşluklarına ulaşıp basınç kaydı yapılır; kontrast madde verilerek koroner arterler görüntülenir ve film kayıtları alınır.

Bu işlem 20-300 dakika kadar sürer. İşlem tamamlandıktan sonra kasıktaki kanül çıkartılır ve 15-20 dakika süre ile bu bölgeye bası yapılır. Kanamanın durduğu görüldükten sonra sıkı bir bandaj ile kapatılır. Ancak bazı tıbbi gereklilik hallerinde, kasıktaki kanülün daha uzun süre yerinde muhafaza edilmesi gerekebileceğinden bu uygulama değiştirilebilmektedir. İstisnai durumlar dışında, işlemden 24 saat sonra hastanın günlük yaşamına dönmesine izin verilmektedir.

Kalp kateterizasyonu ve anjiografi ile ilişkili istenmeyen olaylar söz konusu olabilir mi, işlemin riski nedir?

Kalp kateterizasyonu sırasında ve hemen sonrasında, nadir olmakla birlikte, işlemle ilgili sorun ve istenmeyen olaylarla (komplikasyonlarla) karşılaşılabilir. Koroner anjiografi işlemi sonrasında az sıklıkla işlem yapılan damar bölgesinde ağrı, hafif şişlik ve morarma (hematom, ekimoz, psödo-anevrizma) olabilmektedir. Ancak, işlem

Ek-1. (devam). Etik Kurul Onayı

bölgesinde onarım gerektirecek komplikasyonların olma olasılığı %2'dir. Nadiren inme (felç), miyokard enfarktüsü gelişme ihtimali vardır. Deneyimli kateter laboratuvarında bu olayların ortaya çıkma sıklığı 1000'de 2 civarındadır. Hayati riskin ise 1000'de 2'den düşük olduğu bilinmektedir. Bunlar dışında oluşabilecek bazı komplikasyonlar (acil cerrahi, kalp damarlarında ve boşluklarında delinme, ağır alerjik reaksiyona bağlı tansiyon düşüklüğü bazı ritim bozuklukları, geçici kalp pili gereksinimi, vb.) çok nadir de olsa görülebilmektedir. Kasık bölgesine kanül yerleştirilmesi sırasında veya girişim sonrasında kanülün kasıktan çekilmesine bağlı olarak hissedilen ağrı sebebi ile "vagal reaksiyon" adı verilen geçici tansiyon düşüklüğü ve soğuk terlemeyle seyreden reaksiyonlar gelişebilmektedir (%2). Sayılan bu tür komplikasyonların çoğunun tedavi ile telafi edilmesi imkanı vardır. İşlem sırasında kullanılan ilaçlara bağlı olarak, özellikle de iyotlu kontrast maddeye bağlı olarak böbrek yetersizliği gelişebilir. Böbrek yetersizliği gelişen hastaların çoğunda yetersizlik düzelmekle beraber nadiren hastaların daha sonraki hayatlarında diyaliz tedavisi almaları gerekebilir.

Kalp kateterizasyonu ve anjiografinin gerekli olmasına rağmen yapılmaması durumunda ne tür sorunlarla karşılaşılabilir?

Kalp kateterizasyonu ve anjiografinin yapılamaması durumunda, hastanın hastalığıyla ilgili yeterli bilgi edinilemeyeceğinden, gerekli olabilecek girişim ve tedavilerin planlanması sağlıklı biçimde gerçekleştirilemeyebilecektir.

Kalp kateterizasyonu ve anjiografinin yerini tutabilecek alternatif tetkik yöntemleri mevcut mu?

Teknolojideki gelişmelere paralel olarak, kalple ilgili görüntüleme yöntemlerinde de büyük gelişmelere olmakla birlikte, bugün için kalp kateterizasyonu ve anjiografinin yerini birebir alabilecek ve bu yöntemler kadar kesin bilgi verebilecek non-invaziv (kansız) tanı yöntemleri (bilgisayarlı tomografi veya manyetik rezonans yöntemleri ile yapılan incelemeler gibi) bulunmaktadır.

Kalp kateterizasyonu ve anjiografi neticesine göre karar verilen balon anjioplasti ve kalp ameliyatı hemen yapılabilir mi, yapılmalı mıdır?

Kateterizasyon ve anjiografi işleminin bir komplikasyonu sebebi ile yada hastanın incelemeye alınmasına neden olan esas hastalığına yönelik acil müdahale gerekliliğinin tespiti durumunda, aynı seansta koroner tedavi edici girişim (koroner balon anjioplasti, koroner stent uygulamaları, vb.) veya acil kalp cerrahisi ihtiyacı olabileceği bilinmelidir.

Ek-1. (devam). Etik Kurul Onayı

Yukarıda söz edilen acil durumlar dışında, anjiografinin değerlendirilmesi ile ileri inceleme ya da tedavi yönteminin ne olacağı konusunda karar verilmekte ve hasta bu konuda bilgilendirilerek gerekli girişim ve tedaviler planlanmaktadır. Ancak hastanın onam vermesi ve hekimin uygun görmesi durumunda koroner tedavi edici girişim aynı seansta da yapılabilir.

Çizelge 3.9. Önerilen girişimi, tedaviyi reddetme, onayı geri çekme

YUKARIDA BELİRTİLEN “KALP KATETERİZASYONU VE KORONER ANJİOGRAFİ BİLGİLENDİRME FORMU”NU OKUDUM VE ANLADIM.		Tarih / Saat:.....
Adı-Soyadı		İmzası
BİLGİLENDİRMEYİ YAPAN HEKİMİN		
Adı-Soyadı		İmzası

Çizelge 3.10. Kalp kateterizasyonu ve anjiyografi ve dendritik hücrelerin aterosklerozdaki rolü isimli çalışma için aydınlatılmış rıza belgesi

<input type="checkbox"/> BU FORMDA TANIMLANAN GİRİŞİMİN/TEDAVİNİN UYGULANMASINI KABUL ETMİYORUM / ONAYIMI GERİ ÇEKİYORUM.		Tarih / Saat:.....
Hastanın Adı-Soyadı		İmzası

HASTANIN BİLGİLENDİRİLDİĞİNE VE/VEYA OKUMA/YAZMASI OLMAYAN HASTALAR İÇİN İŞLEMİN SÖZLÜ OLARAK GERÇEKLEŞTİRİLDİĞİNE ŞAHİTLİK EDENİN:		
Adı-Soyadı		Tarih / Saat
İmzası		Adresi
Telefonu		
KANUNİ YETERLİLİĞİ OLMAYAN HASTALAR İÇİN (Hastanın Velisi / Yasala Vasisi ta doldurulacaktır.)		
Adı-Soyadı		Tarih / Saat
İmzası		Adresi
Telefonu		

HASTADAN SORUMLU HEKİM		Tarih / Saat:.....
Adı-Soyadı		İmzası
Kurum Sicil No		
ŞAHİT (KURUMDA GÖREVLİ BİR SAĞLIK PERSONELİ OLMASI ŞARTTIR.)		
Adı-Soyadı		İmzası
Kurum Sicil No		

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı, Soyadı : Gülşay İMADOĞLU YETKİN
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : Ankara, 18.07.1972
 Medeni hali : Evli
 Telefon : 0532 497 65 46
 Faks : (0324) 238 00 99
 e-mail : gulayyetkin03@hotmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Tıpta Uzmanlık	Dışkapı SSK Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Kliniği	2000
Lisans	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakóltesi	1996
Lise	Ankara Mimar Kemal Lisesi	1989

İç Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2010-2016	Mersin Özel IMC Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı	Uzman Doktor
2010	Abant İzzet Baysal Üniversitesi	Doç. Dr.
2008-2010	Abant İzzet Baysal Üniversitesi Temel Mikrobiyoloji AD	Öğretim Üyesi, Yrd. Doç. Dr.
2007-2008	Konya Özel GSM Hastanesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı	Uzman Doktor
2006-2007	Maastricht Üniversitesi, Hollanda İmmünoloji Bölümü	Doktora Öğrencisi

2001-2006	İnönü Üniversitesi, Malatya Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji AD	Yrd. Doç. Dr.
2001-2000	Malatya SSK Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı	Uzman Dr.
1997-2000	Ankara Dışkapı SSK Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Kliniği	Araştırma Görevlisi, Doktor
1996-1997	Emniyet Genel Müdürlüğü Sağlık Dairesi	Pratisyen Hekim

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

A. Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler :

1. Sirmatel, F., Yetkin, G., Sirmatel, P., Guzel, N. (2015). Infective endocarditis in native valve by Staphylococcus xylosus: Case report and review, *Case Study and Case Report*, 5(3): 142-148.
2. Yetkin, G., Sivri, N., Yalta, K., Yetkin, E. (2013). Golden Ratio Is Beating In Our Heart, *International Journal of Cardiology*. Volume 168, Issue 5, Pages 4925-4927.
3. Yucel, A.A., Gulen, Ş., Dincer, S., Yucel, A.E., Imadoglu Yetkin, G. (2012). Comparison of two different applications of the Griess method for nitric oxide measurement, *Journal of Experimental and Integrative Medicine*, doi: 10. 5455/jeim. 200312.
4. Engin-Üstün, Y., Ustün, Y., Türkçüoğlu, I., Mutlu Meydanlı, M., Kafkaslı, A., Yetkin, G.(2009). Short-term effect of tibolone on C-reactive protein in hypertensive postmenopausal women. *Arch Gynecol Obstet*. Mar;279(3):305-9.
5. Yetkin,G., Kuzucu, Ç., Durmaz, B., Durmaz, R., Çizmeci, Z., İşeri, L.(2009). Molecular typing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolated from bloodstream infections in a university hospital, *Turk J Med Sci*. 39(6): 959-968.
6. Yetkin, G., Ay, S., Kayabaş, Ü., Gedik, E., Güçlüer, N., Çalışkan, A. (2008). A pneumonia case caused by Cedecea lapagei, *Bulletin of Microbiology*. 42(4):681-4. Turkish.

7. Bayraktar, MR., Yetkin, G., Iseri, L.(2007). Infantile meningitis due to Salmonella enteritidis. *Indian J Pediatr*, Feb;74(2):206.
8. Begec, Z., Gulhas, N., Toprak, I., Yetkin, G., Kuzucu, C., Ersoy, O. (2007). Comparison of the antibacterial activity of lidocaine 1% versus alkalized lidocaine in vitro. *Current Therapeutic Research*, 68(4): 242-248.
9. Engin-Ustün, Y., Ustün, Y., Meydanli, MM., Kafkasli, A., Yetkin, G. (2006). Are polycystic ovaries associated with cardiovascular disease risk as polycystic ovary syndrome? *Gynecol Endocrinol*, Jun;22(6):324-8.
10. Yetkin, G. (2006). Chlamydia pneumoniae and coronary artery disease: controversial results of serological studies. *Int Immunopharmacol*, Sep;6 (9):1524-5. Epub, May 22.
11. Yetkin, G. (2006). Is seropositivity enough to show the association between coronary artery disease and Chlamydia pneumoniae and Helicobacter pylori infection? *Int J Cardiol*, Nov 18;113(3):432-4.
12. Yetkin, G., Kuzucu, C., Güçlüer, N. (2006). [Distribution of bacteria isolated from urine cultures in Malatya University Hospital Laboratory(letter)]. *Bulletin of Mikrobiyoloji*, Oct;40(4):445-6. Turkish.
13. Yetkin, G., Otlu, B., Cicek, A., Kuzucu, C., Durmaz, R. (2006). Clinical, microbiologic, and epidemiologic characteristics of Pseudomonas aeruginosa infections in a University Hospital, Malatya, Turkey. *Am J Infect Control*, May;34(4):188-92.
14. Kuzucu, C., Yetkin, G., Kocak, G., Nisanoglu, V. (2005). An unusual case of pericarditis caused by Cardiobacterium hominis. *J Infect*, May;50(4):346-7.
15. Yetkin, G., Ozerol, IH., Erbay, AR., Durmaz, R. (2005). Effect of coronary angioplasty on Helicobacter pylori IgG antibody: lack of association between high sensitive C reactive protein and Helicobacter pylori IgG antibody levels. *Int J Cardiol*, Sep 1;103 (3):340-2.
16. Yetkin, G., Yetkin, E., Aksoy, Y., Gurbuz, OA., Mert, A. (2004). Changes in antibody titers against Chlamydia pneumoniae after coronary angioplasty. *Int J Cardiol*, Jun;95 (2- 3):293-7.
17. Yetkin, E., Yetkin, G., Tandogan, I., Kocabas, NA., Ileri, M., Ozdemir, R., Kosar, F., Turhan, H., Cehreli, S., Mert, A. (2002). Detection of Chlamydia pneumoniae deoxyribonucleic acid in blood samples taken from coronary sinus after coronary angioplasty. *Am J Cardiol*, Jul 15;90 (2):179-81.
18. Yetkin, E., Erbay, AR., Ileri, M., Turhan, H., Balci, M., Cehreli, S., Yetkin, G., Demirkan, D. (2001). Levels of circulating adhesion molecules in rheumatic mitral stenosis. *Am J Cardiol*, Nov 15;88 (10):1209-11.
19. Yanik, A., Yetkin, E., Şenen, K., Yetkin, G., Göksel, S. (2000). Vegetation due to Streptococcus viridans in a child with patent ductus arteriosus. *International Journal of Cardiology*, 72:189-191.

B. Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler :

1. Sırmatel, F., Yetkin, G., E. Fatmanur, Tekin Koruk, S., Duygu, F., Karaağaç, L., Dinçer, S. (2012). Seroprevalance of Hepatitis B Virus, Hepatitis C Virus and Hepatitis D Virus in Healthy Blood Donors, *Viral Hepatitis Journal*, 18:19.
2. Yetkin, G. (2011). Tüberkülozun Mikrobiyolojik Tanısı. *Türkiye Klinikleri Enfeksiyon Hastalıkları Dergisi*, cilt:4, sayı no:2, sayfa:80, ISSN:1308-0970.
3. Yetkin, G., Ay, S., Yetkin, Ö., Taştekin, N., Güçlüer, N. (2010). “Sigara İçiminin Nazofarinks’ de Potansiyel Patojenlerin Taşıyıcılığına Etkisi”. *Erciyes Tıp Dergisi*, 32(1):009-014.
4. Yetkin, Ö., Tek, İ., Yetkin, G., Iraz, M. (2009). “Küçük Hücre Dışı Akciğer Kanseri Olgularında Serum Syndecan-1 Düzeyi” *Solunum Hastalıkları Dergisi*, 20 (1):6–9.
5. Yetkin, G., Kılıç, S., Söylemez, H., Altunoluk, B., Çalışkan, A. (2009). “ 6 Aylık Periyotta Üroloji Klinik ve Polikliniğine Üriner Enfeksiyon Ön Tanısıyla Başvuran Hastaların Semptom ve Laboratuvar Profili Yönünden İncelenmesi” *Abant İzzet Baysal Üniversitesi İzzet Baysal Tıp Fakültesi Dergisi*, 4: 11-4.
6. Türkçüoğlu, I., Engin Üstün, Y., Üstün, Y., Yetkin, G. (2008). Retrospective analysis of culture results of cases with acute vulvovaginitis: University experience, *Gynecology Obstetrics Reproductive Medicine*, 14;3 (179-181).
7. Yetkin, G., Ay, S., Tekerekoğlu, MS., İşeri, LA. (2008). İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi’ ne Başvuran 1-18 Yaş Grubu Çocuklarda Epstein-Barr Virüs (EBV) Seroprevalansı. *Flora İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi*, 13 (2): 79-82.
8. Begeç Z, Gulhas N, Toprak HI, Erdil F, Yetkin G, Ersoy MO. (2007). Alkalinize Bupivakain ve ropivakainin antibakteryel etkinliği. *Türk Anestezi Reanimasyon Dergisi* ; 35 (1): 11-15.
9. Yetkin, G., Çalışkan, A., Özen, M. (2007). Genişletilmiş Spektrumlu Beta Laktamaz Üreten Klebsiella Suşlarının Sıklığı. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 37 (2): 128-130.
10. Kuzucu Ç, Yetkin G, Çalışkan A. (2007). Bir Yıl İçerisinde Kan Kültürlerinden İzole Edilen Candida Türlerinin Dağılımı Ve Antifungal Duyarlılıkları *Erciyes Tıp Dergisi* ;29(2):115-119.
11. Yetkin, G., Iraz, M. (2006). Malatya İlinde Bir Yıllık Sürede Laboratuvar Verilerine Göre Bruselloz Seroprevalansı. *Antibiyotik Ve Kemoterapi (Ankem) Dergisi*, 20 (3):156- 158.
12. Özen, M., Yoloğlu, S., Işık, Y., Yetkin, G. (2006). Turgut Özal Tıp Merkezi' ne Başvuran 0-16 Yaş Grubu Çocuklarda Anti-Hbs Seropozitifliği. *Türk Pediatri Arşivi*, 41 (1):31- 35.

13. Yetkin, G., Bayraktar, Mr., Kılıç, S. (2006). Ateşle Gelen Böbrek Taşı Vakasında Mukormikoz İnfeksiyonu: Vaka Sunumu. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 13 (2):103-104.
14. Yetkin G, Kuzucu Ç, Bayraktar M, Iraz M. (2006). İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi'ndeyoğun Bakımlarda Yatan Hastalarda Ve Hastane Personelinde Staphylococcus Aureus Ve MRSA Taşıyıcılığı İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi ;13 (2):91-93.
15. Yetkin, G., Kuzucu, Ç., Çalışkan, A. (2006). İdrarda Üreyen Escherichia Coli'lerin Geniş Spektrumlu Beta Laktamazlar Yönünden İrdelenmesi. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 13 (4):249-252.
16. Yetkin, G., Kuzucu, Ç., Çalışkan, A., Ay, S. (2006). Kan Kültürlerinde Üreyen Escherichia Coli'lerin Antibiyotik Duyarlılıkları, GSBL Oranları Ve Hastane Birimlerine Göre Dağılımı. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 13 (3):147-150.
17. Yetkin, G., Kuzucu, Ç., Serindağ, A. (2006). Bir Yıl İçinde İncelenen Kan Kültürlerinde Üreyen Bakterilerin Dağılımı. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 36 (3): 155-159.
18. Tekerekoğlu, MS., Bayraktar, Mr., Yetkin, G., Çiçek, A., Nisanoğlu, V. (2005). Kalsifik Mitral ve Aortik Kapak Darlığı Olan Hastada Aspergillus Flavus İnfeksiyonu. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 12 (2):129-131.
19. Yetkin, G., Bayraktar, Mr., Sivri, N., Koşar, F. (2005). Ventriküler Septal Defekti Olan Hastada Chryseomonas Luteola İle Oluşan İnfektif Endokardit: Vaka Sunumu. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 12 (3):193-195.
20. Gürbüz OA, Ülkar GB, Yetkin G, Ceryan N, Mert A. (2001). Comparison of the efficiencies of sulbactam-ampicilin and amoxicillin-clavulonic acid against Escherichia coli strains. *Mikrobiyoloji Bülteni*.;35:219-22.



GAZİ GELECEKTİR..