

**BAKTERİ-EPİTEL HÜCRE İLİŞKİSİNİN IŞIK VE SCANNING  
(TARAMALI) ELEKTRON MİKROSKOBU İLE  
İNCELENMESİ**

**LIGHT AND SCANNING ELECTRON MICROSCOPIC  
OBSERVATION OF BACTERIA-EPITHELIAL CELL  
INTERACTIONS**

**FUNDA GERÇEKER**

**PROF. DR. ŞAYESTE DEMİREZEN**

**Tez Danışmanı**

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Biyoloji Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Olarak Hazırlanmıştır.

**2013**

**FUNDA GERÇEKER'** in hazırladığı “**BAKTERİ-EPİTEL HÜCRE İLİŞKİSİNİN IŞIK VE SCANNING (TARAMALI) ELEKTRON MİKROSKOBU İLE İNCELENMESİ**” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **GENEL BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Prof. Dr. M. Sinan BEKSAÇ

Danışman

Prof. Dr. Şayeste DEMİREZEN

Üye

Prof. Dr. Zekiye SULUDERE

Üye

Prof. Dr. Güldeniz SELMANOĞLU

Üye

Prof. Dr. Nursel GÜL

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fatma Sevin Düz

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu ,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

20/12/2013

Funda GERÇEKER

*Canim aileme*

## ÖZET

# BAKTERİ-EPİTEL HÜCRE İLİŞKİSİNİN IŞIK VE SCANNING (TARAMALI) ELEKTRON MİKROSKOBU İLE İNCELENMESİ

**Funda GERÇEKER**

**Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Şayeste DEMİREZEN**

**Aralık 2013, 80 Sayfa**

Bakteriyel vajinoz (BV), fertil dönemdeki kadınlarda en sık rastlanılan vajinal enfeksiyonlardan biridir. *Gardnerella vaginalis* başta olmak üzere *Mobiluncus* spp., *Bacteroides* spp. ve *Mycoplasma hominis*'in de BV'ye yol açtığı bilinmektedir. Bu enfeksiyonda beyazımsı-gri renkli balık kokusu tarzında akıntı ve pH'nın 5'in üzerinde olması önemli klinik tanı kriterleridir. BV'nin ışık mikroskopik tanısında ise en önemli kriter Papanicolaou metoduna uygun olarak boyanan yaymalarda, "clue cell" hücreleri olarak adlandırılan üzeri bakterilerle kaplı epitel hücrelerinin görülmesidir. Ayrıca yayma zemininde serbest kokların bulunması, polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) ve laktobasillerin bulunmaması ise BV'nin diğer mikroskopik tanı kriterlerini oluşturmaktadır. Bu çalışmada amacımız BV tanısı verilen hastalarda bakteri-epitel hücre yapışmasında rol oynayan yapıların belirlenmesidir. Araştırma kapsamında öncelikle 200 hastadan alınan serviko-vajinal yayma örnekleri ışık mikroskobu ile değerlendirilmiştir. Yapılan değerlendirmelerde 10 hastaya ait örnekler BV (+) olarak belirlenmiş ve çalışma grubu olarak kabul edilmiştir. Daha sonra belirlenen bu yaymalara ait ikinci örnekler ise taramalı (scanning) elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. Bu incelemelerde epitel hücre ve bakteri arasındaki iletişim, bu iletişime aracılık eden pililer, biyofilm yapıları, epitel hücre ve bakterilerin yüzey özellikleri detaylı olarak irdelenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** servikovajinal yayma, taramalı elektron mikroskobu, clue cell, biyofilm, hücre yüzey özellikleri

## ABSTRACT

### LIGHT AND SCANNING ELECTRON MICROSCOPIC OBSERVATION OF BACTERIA-EPITHELIAL CELL INTERACTIONS

FUNDA GERÇEKER

Master of Science, Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. ŞAYESTE DEMİREZEN

December 2013, 80 Pages

Bacterial vaginosis (BV) is one of the most common vaginal infectious in woman on fertil period. It is known that *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus spp.*, *Bacteroides spp.*, *Mycoplasma hominis* cause BV. Milky discharge, fishy odor and being vaginal pH higher than ph 5 are the important clinical symptoms of bacterial vaginosis. In smears which is prepared according to Papanicolaou method, appearance of the known as “clue cell” epithelial cell covered with bacteria is important criteria of BV. Also, absence of *Lactobacilli* and polymorphonuclear leukocytes (PMNLs) and existence of free cocci are cytological criterias, too. In this study, our aim is to determine which structures were roled bacteria-epithelial cell interaction in BV. Firstly cervico-vaginal slides of 200 patients cervico-vaginal smears’ examined with light microscopy and BV positive 10 patients were chosen for study group. And second cervico-vaginal smears of BV patients investigated with scanning electron microscopy. Details of clue cell detected in high magnification. In these examination epithelial cell and bacterial interaction, pili mediated interaction, biofilm, epithelial cell and bacterial surface feature were semtinized in detail.

**Key Words:** cervicovaginal smears, scanning electron microscopy, clue cell, biofilm, sell surface feature

## TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca ilminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim, ayrıca tecrübelerinden yararlanırken ve tez yazımı aşamasında göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Şayeste DEMİREZEN'e,

Araştırmanın yürütülmesindeki büyük katkılarından ve servikovajinal örneklerin toplanmasındaki yardımından dolayı Sayın Prof. Dr. M. Sinan BEKSAÇ' a,

Elektron mikroskopik çalışmanın gerçekleştirilmesi için gerekli donanım ve olanakları sağlayan Sayın Prof. Dr. Zekiye SULUDERE'ye,

Yüksek lisans eğitimim boyunca acı tatlı her anı birlikte paylaştığım, tez çalışmalarım sırasında bana yardım eden, birlikte çalışmaktan ve yıllarımı birlikte geçirmiş olmaktan sonsuz mutluluk duyduğum değerli arkadaşlarım Aydan Mutlu'ya, Ayşegül Yücel'e, Merve Özcan'a ve değerli hocalarım Hanife Dönmez ve Remma Gülsoy'a,

Sevgisini ve desteğini hep yanımda hissettiğim, çalışmalarım sırasında da büyük bir özveri ile bana yardımcı olan "hayat arkadaşım" Yusuf Arcan Demirel'e,

Ve Atatürk ilke ve inkılaplarına bağlı, kendi ayakları üzerinde durabilen bir birey olarak beni yetiştiren, maddi ve manevi desteklerini hiç bir zaman esirgemeyen canım aileme çok teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGE DİZİNİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Normal Vajinal Flora .....	3
2.2. Normal Florayı Bozan Faktörler.....	6
2.2.1. Hormonal Değişimler .....	6
2.2.2. Antibiyotikler .....	7
2.2.3. Vajinal Duş .....	7
2.2.4. Diyabet .....	8
2.2.5. Diğerleri.....	8
2.3. Çok Katlı Yassı Epitel Hücreleri.....	8
2.3.1. Genel Özellikler .....	8
2.3.2.Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscopy, SEM).....	12
2.3.2.1. SEM Tanım, Tarihçe ve Çalışma Prensibi.....	12
2.3.2.2. Çok Katlı Yassı Epitel Hücrelerinin SEM Görünümleri.....	13
2.4. Epitel Hücre – Bakteri İlişkisi .....	14
2.4.1. Epitel Hücre Adhezyon Molekülleri.....	14
2.4.1.1. İntegrinler .....	14



2.4.1.2. Kaderinler .....	17
2.4.1.3. MannoZ Reseptörü .....	19
2.4.2. Bakterilerde Adhezyon Molekülleri ve Yapıları .....	20
2.4.2.1. Hücre Duvarı .....	20
2.4.2.1.1. Gram Pozitif Hücre Duvarı.....	21
2.4.2.1.2. Gram Negatif Hücre Duvarı .....	22
2.4.2.2. Pili.....	24
2.4.2.3. Biyofilm.....	25
2.5. Bakteriyel Vajinoz.....	27
2.5.1. Tanım ve Tarihçe .....	27
2.5.2. BV Etkeni Mikroorganizmalar .....	28
2.5.2.1. <i>Gardnerella vaginalis</i> .....	28
2.5.2.2. <i>Mobiluncus</i> Türleri .....	30
2.5.2.3. <i>Bacteroides</i> Türleri .....	31
2.5.2.4. <i>Mycoplasma hominis</i> ve <i>Ureaplasma urealyticum</i> .....	31
2.5.2.5. <i>Prevotella</i> Türleri .....	32
2.5.2.6. <i>Peptostreptococcus</i> Türleri.....	32
2.5.3. BV Oluşum Mekanizması ve Risk Faktörleri.....	32
2.5.4. BV Tanı Kriterleri ve Tanıda Kullanılan Yöntemler .....	33
2.5.4.1. Klinik Tanı Kriterleri .....	33
2.5.4.2. BV Tanısında Kullanılan Yöntemler.....	34
2.5.4.2.1 Papanicolaou Boyama Yöntemi .....	34
2.5.4.2.2. Gram Boyama Yöntemi .....	35
2.5.4.2.3. Gaz-Sıvı Kromatografisi .....	35
2.5.4.2.4. Prolin Aminopeptidaz Aktivitesi .....	36
2.5.4.2.5. <i>G. vaginalis</i> Kültürü .....	36

2.5.4.2.6.BVBlue Test .....	36
2.5.4.2.7.Taze İnceleme .....	37
2.5.5. Tedavi.....	37
3. YÖNTEM VE GEREÇLER.....	40
3.1. Örneklerin Alınması .....	40
3.2. Örneklerin Işık Mikroskopik İnceleme İçin Hazırlanması .....	40
3.3. Örneklerin Taramalı Elektron Mikroskopik (SEM) İnceleme İçin Hazırlanması .....	41
4. SONUÇLAR .....	42
4.1. Servikovajinal Örneklerin Sitolojik Yöntemle İncelenmesi ve İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi.....	42
4.2 “Clue Cell” Tipi Hücrenin Scanning (Taramalı) Elektron Mikroskopik (SEM) Yöntemle İncelenmesi ve Değerlendirilmesi.....	54
5.TARTIŞMA .....	62
6. KAYNAKLAR.....	70
7. ÖZGEÇMİŞ .....	70

# ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

<b>Şekil 2. 1:</b> İntegrin molekülünün yapısı .....	16
<b>Şekil 2. 2:</b> Kaderin molekülünün yapısı.....	18
<b>Şekil 2. 3:</b> Mannoze reseptörünün yapısı .....	20
<b>Şekil 2. 4:</b> Gram pozitif bakteri hücre zarı ve hücre duvarı yapısı.....	21
<b>Şekil 2. 5:</b> Gram negatif bakteri hücre zarı ve hücre duvarı yapısı .....	23
<b>Şekil 2. 6:</b> Tip 1 pilinin yapısı .....	25
<b>Şekil 4. 1:</b> Üzeri bakterilerle kaplı iki clue cell (cc) tipi hücre görülmektedir (Papanicolaou x 1000). .....	48
<b>Şekil 4. 2:</b> Clue cell tipi hücrelerin (cc) etrafında dizilmiş polimorfonükleer lökositler (P) görülmektedir (Papanicolaou x 1000). .....	48
<b>Şekil 4. 3:</b> Clue cell tipi hücre (cc), hücrenin etrafında eritrositler (E), bu eritrositlerden birinin hemen hemen clue cell tipi hücre zarına yapışık olacak şekilde yaklaşmış olması (kalın ok), eritrositlerin etrafında eritrosit zarı ile kaynaşmak üzere olan serbest koklar (ok) ve serbest koklar arasında bir adet <i>Trichomonas vaginalis</i> (çift ok) (Papanicolaou x 1000). .....	49
<b>Şekil 4. 4:</b> Sitoplazmasında geniş vakuollerin ve vakuoller içerisinde fagosite edilmiş maddelerin bulduğu bir makrofaj (M) ve etrafında sıralı dizilim gösteren eritrositler (ok) görülmektedir. Eritrositlerin üzerinde bakterilerin bulunduğu dikkat çekmektedir (Papanicolaou x 1000). .....	49
<b>Şekil 4. 5:</b> BV (+) hasta preparatında etrafta çok bol serbest koklar (yıldız), ortada çekirdeği irileşmiş ve sitoplazması incelmış olan ASCUS kategorisindeki hücre (kalın ok) ve etrafında eritrositler (E) görülmektedir. Bazı eritrositlerin tamamen şeklini kaybettiği, zarının bozularak çukurluklar oluşturduğu ve zarının içeri doğru çöktüğü dikkat çekmiştir (ok) (Papanicolaou x 1000). .....	50
<b>Şekil 4. 6:</b> BV (+) olan bir hasta preparatında sitoplazmasında koilosun varlığı (kalın ok), çekirdek zarında düzensizlik ve irileşmenin görüldüğü koilosittik hücreler (ok) (Papanicolaou x 1000). .....	50

- Şekil 4. 7:** BV (+) olan hastada zeminde serbest koklar (yıldız), eritrositler (E) ve hiperkromatik, iri çekirdekli HSIL kategorisindeki epitel hücresi (kalın ok) görülmektedir (Papanicolaou x 1000).....51
- Şekil 4. 8:** Sitoplazmasında çok sayıda sindirmiş olduğu apoptotik hücre çekirdekleri bulunan bir makrofaj hücresi (kalın ok) Papanicolaou x 1000). .....51
- Şekil 4. 9:** Kontrol hasta grubunda overlerden köken aldığı düşünülen AGC kategorisinde sınıflandırılan, etrafında çok az sitoplazması kalmış çok iri ve hiperkromatik çekirdekli hücre (kalın ok) görülmektedir (Papanicolaou x 600). .....52
- Şekil 4. 10:** Kontrol grubu hastasına ait bir simirde epitel hücresi üzerine yerleşmiş olan uzunca bir kandida hifi (ok), septalar ve etrafı şeffaf olan iki blastospor (kalın ok)görülmektedir (Papanicolaou x 1000). .....52
- Şekil 4. 11:** Normal kornifiye tipte bir hücre (KH) ve metaplazik hücreler (MH) (Papanicolaou x 1000). .....53
- Şekil 4. 12:** Apikalinde siller (kalın ok) bulunan normal endoservikal salgı hücrelerinin yandan görünümü dikkat çekmektedir (Papanicolaou x 1000).....53
- Şekil 4. 13:** Epitel hücre yüzeyine yapışmış olan bakterilerin görüldüğü clue cell tipi bir hücre (cc), clue cell tipi hücredeki bakterilerin bir kısmının kok tarzında (kalın ok), bir kısmının kokobasil tarzında (çift ok), bir kısmının da seyrek olarak kıvrık basil tarzında (ok) yapılar olduğu ve yüzeye yapıştığı dikkat çekmektedir...56
- Şekil 4. 14:** Clue cell tipi hücrelerin hücre kenarlarında bakterilerin çok yoğun yerleşim gösterdiği görülmektedir (kalın ok). .....56
- Şekil 4. 15:** Katlanmış bir hücre yüzeyinde serbest basiller. Hücre zarına yönelmiş bazıları zarla kaynaşmış serbest kokobasiller (kalın ok) görülmektedir. ....57
- Şekil 4. 16:** Normal bir epitel hücre (NH), üzerinde bakterilerin bulunduğu üç adet clue cell tipi hücre (CC1, CC2 ve CC3) görülmektedir.....57
- Şekil 4. 17 :** Daha büyük büyütmelerde üzerinde bakterilerin bulunduğu clue cell tipi bir hücre (cc) ve normal bir epitel hücresi (E). .....58
- Şekil 4. 18 :** Hücrenin kenar kısmına yoğun olarak toplanmış bakteriler (ok) ve epitel hücre yüzeyindeki mikroriç (MÇ) denilen yapıların görülmektedir. ....58
- Şekil 4. 19 :** Üzerinde bol çukurların olduğu normal bir epitel hücresine (EH) ve birbirlerine pilileri aracılığıyla tutunmuş olan kokobasiller (ok) görülmektedir. ....59
- Şekil 4. 20 :** Üzerinde MÇ'lerin bulunduğu normal bir hücre (NH) ile clue cell tipi bir hücre (CC) arasında bulunan eritrosit görülmektedir. Eritrositin pseudopod (ok) çıkararak bakterilere yapışması dikkat çekmektedir. ....59

**Şekil 4. 21** : Pseudopodlar çıkararak epitel hücre üzerindeki bakterilere yapışmış olan birbiriyle kaynaşmış 3 adet eritrosit (E1, E2 ve E3) görülmektedir.....60

**Şekil 4. 22** : Bakterilerin kendi üzerlerine yerleşmiş olan filamentöz bir yapı gösteren biyofilm (ok) olduğunu düşündüğümüz materyali görülmektedir.....60

**Şekil 4. 23** : İki eritrosit (E) ve eritrositlerin birinde iki bakteri (ok), bakterilerin etrafında biyofilm materyali olduğunu düşündüğümüz maddeler (yıldız) görülmektedir.....61

## ÇİZELGE DİZİNİ

Sayfa No

<b>Çizelge 4. 1:</b> Çalışma grubundaki hastalar ile kontrol grubundaki hastaların PAP yaymalarının BV kriterleri açısından değerlendirilmesi.....	45
<b>Çizelge 4. 2:</b> Çalışma ve kontrol grubu hastalarından elde edilen sitolojik bulguların karşılaştırılması.....	46
<b>Çizelge 4. 3:</b> Çalışma grubundaki hastalar ile kontrol grubundaki hastaların klinik şikayetlerinin değerlendirilmesi.....	47

# SİMGELER VE KISALTMALAR

## Simgeler

$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
Ca	Kalsiyum
Mg	Magnezyum
$\mu\text{m}$	Mikrometre
mg	Miligram

## Kısaltmalar

AGC	Atypic Glandular Cells (Atipik Endoservikal Hücreler)
AHL	Açılhomoserin lakton
ASCUS	Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance (Önemi Belirlenememiş Yassı Epitel Hücreler)
BV	Bakteriyel vajinozis
CC	Clue cell
CPD	Critical Point Dryer
ÇKYE	Çok Katlı Yassı Epitel Hücreleri
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EPS	Ekzopolisakkarit
ES	Ekstraselüler bölge (hücre dışı kısım)
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksit
H <sub>2</sub> S	Hidrojen sülfür
HAV	Histidin-Alanin-Valin

Hbp	Hemoglobin bağlayıcı protein
HIV	Human Immunodeficiency Virus ( İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü)
HSIL	High Grade Squamous Intraepitelial Lesion (Yüksek Dereceli Skuamoz Lezyon)
kDa	Kilo Dalton
KOH	Potasyum hidroksit
LPS	Lipopolisakkarit
LSIL	Low Grade Squamous Intraepitelial Lesion (Düşük dereceli skuamoz lezyon)
MÇ	Mikroriç
MIBYK	Metal-İyon-Bağımlı Yapışma Kısmı
MMP	Matriksmetalloproteinaz
MR	Mannoz reseptörü
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NAG	N-asetil glukoz amin
NAM	N-asetil muramik asit
PAP	Papanicolaou
PIH	Pelviğin İltihabi Hastalığı
PMNL	Polimorfonükleer lökosit
RIA	Rahim İçi Araç
RGD	Arjinin-Glisin-Aspartik asit
SEM	Scanning (Taramalı) Elektron Mikroskop
SPSS	Statistical Package of Social Sciences (Sosyal Bilimleri için istatistik programı)
TEM	Transmission Elektron Mikroskop
VK	Vulvovajinal Kandidiozis



# 1. GİRİŞ

Vajinal florada en sık görülen enfeksiyonlardan biri Bakteriyel vajinoz (BV)'dur. BV özellikle fertil dönemdeki kadınlarda en sık rastlanan vajinit tipidir. Bu enfeksiyonun bilinen klinik belirtileri grimsi - beyaz kokusuz bir akıntı, akıntıya potasyum hidroksit (KOH) damlatıldığında açığa çıkan balık kokusu ve pH'nın 5'in üzerinde olmasıdır. Mikroskopik olarak tanıda ise simirlerde ipucu hücrelerinin (clue cell) varlığı, polimorfonükleer lökositlerin ortamda bulunmaması, Laktobasillerin az veya hiç olmaması ve ortamda serbest halde bulunan kok veya kokobasillerin varlığı önemlidir [1].

BV etkeni mikroorganizmaların başında *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* spp., *Bacteroides* spp., *Mycoplasma hominis* gelmektedir. Enfeksiyon oluşturabilmek için öncelikle bu organizmaların epitel hücrelerine tutunması gerekmektedir. Bakteri ve epitel hücre arasındaki bu tutunmaya bazı moleküller ve yapılar aracılık etmektedir. Bakteri hücre duvarı tutunmada rol oynayan başlıca faktörlerden biridir. Gram pozitif bakteri hücre duvarı yapısındaki teikoik asit ve Gram negatif hücre duvarı yapısındaki lipopolisakarit molekülleri, bakterilerin epitel hücrelere tutunmasına aracılık eden moleküllerdir. Araştırmalar pilinin de tutunmada rol aldığını göstermektedir. Bakteriler hücre duvarlarından dışarı doğru uzanan bu yapılarla hücrelere tutunmaktadır. Bakterilerin epitel hücrelerine tutunmasını sağlayan bir diğer faktör de sentezlemiş oldukları biyofilm materyalidir. Bakterilerin belirli bir sayıya ulaştıktan sonra salgıladıkları bu madde, oluşan bakteri kolonisinin üzerini kaplayarak antibiyotiklere karşı korunmalarını sağlamaktadır. Böylece enfeksiyonun uzun süreli olmasına ve tekrarlamasına neden olmaktadır [2][3].

Bakterilerin hücrelere tutunmasını sağlayan molekül ve yapılarının olduğu gibi, epitel hücrelerinde de bu tutunmaya aracılık eden moleküller yer almaktadır. Epitel hücrelerinin yüzeyinde bulunan tutunmada rol oynayan moleküller arasında integrinler, kaderinler ve mannoz reseptörleri yer almaktadır. İntegrinler hücre matriks, kaderinler ise hücre – hücre bağlantılarında görev alan moleküllerdir. Mannoze reseptörleri ise patojen organizmaların yüzey antijenlerinin hücre tarafından tanınmasında rol oynayan moleküllerdir.

Bakteri-epitel hücre yapışmasına aracılık eden bu yapılar ışık ve elektron mikroskopik olarak farklı araştırmalarda incelenmiştir. Fakat yapılan literatür taramasında her iki değerlendirmenin de bir arada yapıldığı çalışmalara rastlanılmamıştır.

Araştırmamızın amacı, öncelikle kliniğe gelen hastalardan alınan serviko-vajinal örnekleri sitolojik olarak inceleyerek BV pozitif olan hastaları belirlemektir. Daha sonra BV pozitif hastaların Scanning (Taramalı) Elektron Mikroskobu (SEM) ile incelenerek bakteri-epitel hücre tutunmasında rol oynayan yapıların gösterilmesidir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Normal Vajinal Flora

Vajina kadın genital sisteminde yer alan 8-10 cm uzunluğunda muskulomembranöz bir yapıdır. Bu yapı aynı zamanda cinsel ilişki sırasında semenin aktarıldığı ve menstrual kanamanın vücuttan atıldığı yer olup doğum kanalı olarak da işlev görür. Doğum sonrasında belirli bir süre steril durumdadır ve pH değeri yaklaşık olarak 5.0'dır. Doğumdan 2 - 8 hafta sonra Döderlein'in basilleri olarak da bilinen Laktobasiller ortama yerleşerek vajinada enfeksiyonsuz homojen bir salgı oluşmasına neden olurlar. Çocukluk döneminde basiller seyrek olarak bulunur ve florada bu basillerin yanı sıra streptokoklar, difteroidler ve diğer koklar da yer alır. Ergenlik döneminde ise menstruasyon döngüsü nedeniyle Laktobasiller hakim duruma geçerek, menopoza kadar basiller floraya hakim olmaktadır. Menopozla birlikte vajinal flora tekrar değişime uğrayarak ergenlik öncesi dönemin florasına benzemekte ve laktobasil sayısı azalmaktadır [4].

Fertil bireylerin normal vajen floraları incelendiğinde, baskın organizmaların *Laktobacillus* türleri olduğu görülmektedir. Laktobasiller dışında *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides* spp., *Staphylococcus* spp., *Mobiluncus* spp., *Mycoplasma hominis*, Difteroidler, *Bifidobacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Peptococcus niger*, *Streptococcus* spp., *Neisseria* spp., *Ureaplasma urealyticum* ve *Candida* spp. gibi türler de bulunmaktadır [5][6][7][8][9].

Laktobasiller Gram pozitif, laktik asit fermantasyonu yapan, fakültatif anaerop veya zorunlu anaerop, asite toleranslı basillerdir [10]. Sağlıklı kadınların vajinasında *L. acidophilus*, *L.jensenii*, *L.cateniforme*, *L.delbrueckii*, *L.brevis*, *L.fermentum*, *L.crispatum*, *L.salivarius*, *L.plantarum*, *L.casei* gibi türler mevcuttur. Bu türler arasında *L.acidophilus* ve *L.fermentum* vajinadan en sık izole edilen türlerdir [10][11][12].

Normal vajinal floranın korunmasında Laktobasiller önemli bir yer tutmaktadır. Bu mikroorganizmalar organik asit, hidrojen peroksit ve bakteriyosin-benzeri metabolitler üreterek patojen organizmaların çoğalmasını engellerler [13]. Laktobasiller vajinayı döşeyen çok katlı yassı epitel hücrelerinde glikojen olarak depo edilen glukozu fermente ederek enerji üretirler. Fermantasyon sonucu

laktobasiller tarafından üretilen laktik asit ortam pH'sını düşürerek, vajen asiditesinin sabit bir değerde, yaklaşık olarak pH 4-4.5, kalmasını sağlar [11][13][14]. Böylelikle vajinal floranın bu asitli ortamında üreyebilen laktobasillerin sayısı artarken, asite duyarlı olan organizmaların çoğalması önlenmiş olur [15]. Buna ek protonlanmış formdaki laktik asit, bakteri hücre zarından geçer ve sitoplazmada protonlar ayrılarak pH düşer. Düşük pH bakterinin hücresel işlevlerini engelleyerek patojenlerin ölmesine yol açar [16]. Laktobasiller dışında *Atopobium*, *Megasphaera* ve *Leptotrichia* gibi bakterilerin ve vajinal epitel hücrelerinin de laktik asit ürettiği bilinmektedir [17].

Bakterilerin hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) üreterek ortamda bulunan diğer bakterilerin çoğalmalarını engelledikleri bilinen bir mekanizmadır [15]. Hidrojen peroksit reaktif oksijen türevlerinden biri olan toksik etkiye sahip bir moleküldür ve bakterilerde DNA hasarlarına yol açar [18]. Özellikle katalaz gibi  $H_2O_2$  'yi parçalayan enzimlerden yoksun olan ya da az miktarda bulunduran bakteriler,  $H_2O_2$  'nin toksik etkisinden daha fazla etkilenirler. Araştırmalar vajinal florada bulunan Laktobasil cinsinden *L. acidophilus*, *L. jenseii*, *L. cateniforme* ve *L. leichmannii* türlerinin  $H_2O_2$  ürettiklerini ortaya koymuştur [15]. Japon kadınların yer aldığı bir çalışmada ise, vajinadan izole edilen Laktobasil türleri arasında en fazla  $H_2O_2$  üreten türün *L. crispatus* olduğu bildirilmiştir (40). Ürettikleri  $H_2O_2$  sayesinde *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella bivia* ve *Neisseria gonorrhoeae* gibi mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyen Laktobasiller, böylelikle vajinal floranın enfeksiyonlara karşı korunmasını sağlarlar [19].

Bakteriyosinler, bakterilerin sitoplazmasına dağılmış olan, ribozomlarda sentezlenen antimikrobiyal proteinlerdir [20]. Bu moleküller düşük moleküler ağırlıklı, yapılarında pozitif yüklü amino asitleri bulunduran amfipatik (suda çözünen ve çözünmeyen fonksiyonel gruplara sahip) proteinlerdir [21]. Bakteriyosinler sahip oldukları pozitif yükten dolayı, negatif yüklü fosfolipid içeren bakteri dış zarı ya da asidik yapıdaki bakteri hücre duvarıyla etkileşim gösterirler. Buna ek olarak amfipatik özelliklerinden dolayı zar geçirgenliğinde de rol oynarlar. Bakteri zarıyla etkileşime giren bakteriyosinler kısa süreli voltaj-bağımlı porlar oluşturmakta ya da bakteri enzimlerinin işlevlerini engellemektedirler [20]. Böylelikle Gram pozitif ve Gram negatif anaerobik, fakültatif anaerobik ve zorunlu

anaerobik bakterilerin çoğalmalarını önlerler [21]. Vajinanın normal flora üyesi olan Laktobasiller tarafından üretilen bakteriyosinler, ortamda bulunan diğer mikroorganizmalara karşı savunma amaçlı olarak sentezlenir [16]. Araştırmalar insan vajinasında bulunan *Lactobacillus salivarius* türü tarafından üretilen Salivaricin CRL 1328 adlı ısıya dayanıklı bir bakteriyosinin, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* ve *Neisseria gonorrhoeae* türlerini etkilediği bildirilmiştir [16][21][22]. Yapılan başka bir araştırmada Gardnerella vaginalis'in *Lactobacillus acidophilus* 160 tarafından üretilen bakteriyosinin bulunduğu ortamda çoğalamadığı gösterilmiştir [21]. Nisin, *Lactobacillus lactis* türünün ürettiği ve ticari olarak da elde edilebilen bir bakteriyosindir. Spermisidal etkiye sahip olan bu bakteriyosin aynı zamanda gebeliği önleyici olarak da kullanılmaktadır. Araştırmalar nisinin patojen mikroorganizmalar yanı sıra Laktobasillus türleri üzerinde de güçlü bir bakteriyosidal etki gösterdiğini ortaya koymuştur [16].

Laktobasillerin vajinal epitel hücrelerine tutunabilme özellikleri vajinal ortamda çoğalmaları için önemli bir faktördür. Bu bakterilerin hücre yüzeyinde yer alan proteinler ve karbonhidratlar, epitel hücre reseptörlerine tutunmalarını sağlamaktadır. Hücre yüzeyine tutunan Laktobasiller, *Gardnerella vaginalis* ve *Candida albicans* gibi diğer patojen mikroorganizmaların vajinal epitel hücrelerine tutunmasını önleyerek çoğalmalarını engellemektedir [12][19]. Vajinal florada bulunan *Lactobasillus acidophilus* ve *Gardnerella vaginalis*'in epitel hücre yüzeyindeki aynı reseptörlere bağlandıkları düşünülmektedir. Fakat *L.acidophilus*'un reseptörlere tutunma eğiliminin daha fazla olduğu araştırmalarda gösterilmiştir. Bu durum Laktobasillerin varlığında patojen organizmaların epitel hücrelerine daha az tutunabilmelerinin nedeni olarak açıklanmaktadır [23].

Stafilokoklar gram pozitif, fakültatif anaerobik, üzüm salkımı şeklinde bakterilerdir. Bu cinsin türleri arasında normal flora üyesi olanlar ve patojen olan mikroorganizmalar mevcuttur. *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus albus* normal vajinal florada yer alan türlerdir. Lindner ve arkadaşları tarafından sağlıklı kadınların vajen florasında yer alan mikroorganizmaların incelendiği bir araştırmada, *Staphylococcus albus* türünün vajinada yüksek miktarda bulunduğu tespit edilmiştir [9].

Normal vajinal flora üyesi mikroorganizmalardan bir diğeri de korineform bakterilerdir. Bu mikroorganizmalar Gram pozitif, aerobik, hareketsiz basillerdir. Korineformlar yaymalarda çin harfleri şeklinde bir dizilim gösterirler [24]. Araştırmalar korineform bakterilerin sağlıklı kadınların normal floralarında %68 oranında bulunduğunu göstermiştir [7].

Peptostreptokoklar ve Peptokoklar Gram pozitif, zorunlu anaerobik, hareketsiz organizmalardır. Vajinanın normal flora üyesi olan bu organizmalar fermantasyon ile çoğalırlar ve şekerlerden ziyade proteinleri fermente ederler [24].

Kandida, blastosporla çoğalan dimorfik bir mantar çeşitidir (A1). Bu mantar cinsi doğal vajen flora üyesi olup, fırsatçı patojen bir organizmadır. Günümüzde kabul edilmiş 200 türü olup *Candida albicans* vajnal florada baskın olarak bulunan türdür [25]. Bu tür dışında *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* gibi türlerde normal florada yer alan mantarlar arasında bulunmaktadır [26]. Araştırmalar sağlıklı kadınların %20-50'sinin vajen florasında kandidanın asemptomatik olarak bulunduğunu ortaya koymuştur [27].

## **2.2. Normal Florayı Bozan Faktörler**

### **2.2.1. Hormonal Değişimler**

Vajinayı döşeyen çok katlı yassı epitel hücreleri östrojen hormonunun etkisi altındadırlar. Bu hücreler menstrual döngü sırasında değişen östrojen miktarına bağlı olarak çoğalır ve epitelin katlarını tamamlarlar. Östrojen sekresyon evresinde az miktarda iken, proliferasyonla birlikte kandaki düzeyi yükselerek ovulasyonda en yüksek seviyeye ulaşır [8]. Epitel hücrelerinde meydana gelen bu maturasyon, vajinada fiziki bir bariyer görevi üstlenerek patojenlere karşı koruma sağlar.

Bir diğer yandan kandaki yüksek östrojen miktarı epitel hücrelerinde glikojen birikimini artırmaktadır. Epitel hücrelerindeki glikojen konsantrasyonu arttığında ise, hücreler tarafından glukozaya yıkılarak laktik asit elde edilmektedir. Epitel hücrelerinde oluşan bu laktik asit, hücre dışına verilerek vajen pH'sının düşürülmesine katkı sağlamaktadır [28].

### 2.2.2. Antibiyotikler

Antibiyotik kullanımı normal flora üyesi olan Laktobasiller gibi organizmaların vajinada çoğalmasını önlemektedir. Normal flora organizmalarının antibiyotik kullanımı sonucu ortadan kalkması vajinanın asiditesinin değişmesine yol açmaktadır. Bunun sonucu olarak fırsatçı patojen organizmalar olan *Candida* türleri hızla üreyerek vajina ortamına hakim olmakta ve enfeksiyon oluşturmaktadırlar [29]. *Candida* türlerinin neden olduğu bu enfeksiyona vulvovajinal kandidiozis (VK) adı verilmektedir. VK kadınlarda sık rastlanan bir enfeksiyondur. *Candida albicans* türü ise en sık rastlanılan VK etkeni organizmadır. Dünya çapında yapılan bir araştırmada, asemptomatik genç kadınlar 12 ay boyunca enfeksiyon varlığı açısından takibe alınmış ve Türkiye'deki kadınların %17'sinde ABD'deki kadınların ise %30'unda genital kandidanın varlığı tespit edilmiştir [30].

Erişkin kadınlar üzerinde yapılan araştırmalar, antibiyotik kullanım süreleri ile mantar enfeksiyonuna yakalanma sıklıkları arasında pozitif bir ilişki ortaya koymaktadır. Ağız yoluyla alınan antibiyotiklerin 3 ile 4 gün arasında kullanımı *Candida* türlerinin vajina ortamında üremesini artırmaktadır. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin 10 ile 15 gün arasında kullanımı sonucunda ise kandidaya yakalanma riskinin 3 kat arttığı araştırmalarda gösterilmiştir [29][31].

### 2.2.3. Vajinal Duş

Vajinal duş, su veya kimyasallar yardımıyla vajina içinin yıkanarak temizlenmesidir. Kadınların vajinal duşa sıklıkla başvurma nedenleri, menstruasyon ve cinsel ilişkiden sonra temizlenmek ve hamileliği önlemektir. Vajina yıkanmasında su, sabun, antiseptik solusyonlar ve sirke kullanılmaktadır. Vajinal duş pelviğin iltihabi hastalığı (PİH), bakteriyel vajinoz, servikal kanser, insan bağışıklık yetmezlik virüsünün (HIV) taşınması, cinsel yolla bulaşan hastalıklar, dış gebelik, tekrarlayan vulvovajinal kandidiozis ve kısırlık ile ilişkili olarak bulunmuştur [32][33].

Vajinanın yıkanması sonucu normal flora elemanları ortadan kaldırılarak patojen organizmaların çoğalması için uygun ortam hazırlanmaktadır. Yıkama sırasında oluşan sıvı basıncı alt genital sistem enfeksiyonlarının serviksten geçerek üst kısımda yer alan uterus ve fallopiyan tüplere taşınmasına yol açmaktadır. Özellikle

menstrual döngüde östrojenin en fazla olduğu ovulasyonda, hormonun etkisiyle servikal os açıklığı artmakta ve enfeksiyon taşınma riski daha fazla olmaktadır. Vajinal duş sonrası PİH görülme riski diğer enfeksiyonlara göre daha fazladır. Çünkü ektoserviksi döşeyen çok katlı yassı epitel ile endoservikal kanalı döşeyen kolumnar epitelin birleşim yeri (squamo-kolumnar junction), bakteri, mantar ve virüslere daha fazla duyarlılık göstermektedir [33].

#### **2.2.4. Diyabet**

Diyabet, insülin hormonunun yeterli derecede salgılanamaması ya da insülinin dokular tarafından kullanılamaması sonucu oluşan bir hastalıktır. Pankreasın beta hücrelerinin salgılamış olduğu insülin hormonu, glukozun hücrelere alınmasını uyarır. Diyabetli kişilerde bu mekanizmada meydana gelen bozukluklar sonucu glukoz hücrelere alınamaz ve böylece kandaki şeker seviyesi yükselir. Bu durum hiperglisemi olarak bilinir.

Diyabet bakteri ve mantar enfeksiyonlarına zemin hazırlar. Genital dokularda artan glukoz miktarı vajinal floranın bozulmasına yol açarak mantarların hücrelere tutunmasını ve çoğalmasını artırır. Yapılan çalışmalarda hipergliseminin VK oluşumunda önemli bir faktör olduğu ortaya konulmuştur. *Candida albicans*'ın vajinal epitel hücrelerine yapışma eğiliminin diyabetli hastalarda arttığı görülmüştür [34]. Bu durumun nedenlerinden biri glukozun *Candida* için besin maddesi olması, diğeri *Candida*'nın epitel hücrelerine yapışmasında rol oynayan ve glukoz izomeri içeren fukoz (6-deoksi-galaktoz) reseptörü miktarının artmasıdır [35].

#### **2.2.5. Diğerleri**

Araştırmacılar çok sayıda cinsel partnere sahip olma, cinsel ilişki sıklığı ve doğum kontrol hapı kullanımının da vajinal ekosistemi bozarak enfeksiyonlara yakalanma riskini arttırdığını ortaya koymuşlardır [1][19].

### **2.3. Çok Katlı Yassı Epitel Hücreleri**

#### **2.3.1. Genel Özellikler**

Epitel doku vücudun dış yüzeylerini, kapalı iç boşlukları ve dışarıyla açılan sistemleri kaplayan hücrelerden meydana gelir. Bu doku bazal membran aracılığıyla bağ dokudan ayrılır. Epitel hücreleri bu dokuyu meydana getiren



hücreler olup, dokunun sınıflandırılması epitel hücre katlarının sayısına ve en üst katta bulunan hücre tipine göre yapılmaktadır. Çok katlı yassı epitel hücrelerinde (ÇKYE) hücre katları fazla olup, en üst tabakadaki hücreler yassı şekildedir.

Kadın genital sisteminde vajina ve ektoserviksi döşeyen hücreler de ÇKYE'dir. Bu hücreler 10-15 kattan meydana gelir ve dokuyu dış etkilere karşı korurlar. Aynı zamanda patojenlerin dokuya girmesini de önleyerek bir bariyer görevi görürler. Kan damarları ve sinirlerden yoksun olan bu doku, beslenmeyi bağ dokuda bulunan kan damarlarından difüzyon aracılığıyla gerçekleştirir. Bağ doku kılcaları aracılığıyla öncelikle bazal hücreler tarafından alınan oksijen, besin maddeleri ve hormonlar, hücreler arası boşluklara verilir. Hücrelerin beslenmesi bu boşluklardan maddelerin alınması sonucunda gerçekleştirilir. Bazalden apikale doğru çıkıldıkça bu dokuyu oluşturan hücrelerin sitoplazmaları genişler, yassılaşıp ve çekirdekleri de küçülür. Bazal membran üzerine oturmuş olan çok katlı yassı epitel hücrelerini oluşturan hücre tipleri alttan üstte doğru şunlardır:

**Bazal hücreler :** Bazal laminanın lamina propria kısmı üzerinde yer alan, yaklaşık 10µm çapında, tek sıra halinde dizilmiş olan epitel hücreleridir. Histolojik olarak bu tabaka "Stratum Basale" olarak adlandırılır. Bazal hücreler poligonik (çok köşeli) ve polihedral (çok yüzeyle) bir morfolojiye sahip olup, 8 µm çapında, iri, yuvarlağımsı, merkezde ve büyük çekirdekleri vardır. Kromatinler çekirdek zarı boyunca yoğunlaşmıştır fakat seyrek olarak kaba kümelenme de görülür. Bu hücrelerde çekirdekçikler görünür durumdadır. Bazofilik boyanan ve az miktarda sitoplazmaya sahip olan bu hücrelerin çekirdek/sitoplazma (N/C) oranları büyüktür. Bu hücreler çok sayıda desmozom ve birbirine kenetlenmiş mikrovilluslar içerirler [36][37][38][39].

Epitel dokunun kök hücreleri olarak da bilinen bazal hücrelerin en önemli özellikleri mitoz yapabilme yetenekleridir. Bazal hücrelerin bölünmesi sonucu ÇKYE'in hücre katlarının tamamlanması sağlanır. Buna ek olarak bu hücreler epitel dokuyu bağ dokuya yarım desmozomlar aracılığıyla bağlarlar [36][37]. Bazal hücreler epitel dokunun tabanında yer aldıklarından ve bağ doku ile sıkı bağlantı halinde olduklarından dolayı normal simirlerde görülmezler [39]. Bazal hücreler transmission elektron mikroskobu (TEM) ile incelendiklerinde, sitoplazmalarında

bol miktarda serbest ribozomlara rastlanır, çekirdek çevresinde ise mitokondriler ve Golgi cisimleri çoktur [37].

**Parabazal hücreler** : Bazal hücre tabakasının üstünde 2-3 sıradan meydana gelen hücre grubudur. Bu hücre tabakası histolojik olarak “Stratum spinosum profundum” olarak adlandırılır. Parabazal hücreler yuvarlağımsı, oval şekilde olup, polihedral bir morfolojiye sahiptir. Çekirdek neredeyse sitoplazmanın yarısını kaplar ve kromatin detayı incedir. Hücreler arasında sitoplazmik köprüler mevcuttur. Parabazal hücrelerin N/C oranı bazal hücrelere göre daha az olup, sitoplazmaları bazofilik boyanır. Parabazal hücrelere postmenopozal kadınların atrofik simirlerinde ve fertil dönemdeki kadınların postpartum simirlerinde büyük oranda rastlanır. Yeterli seviyede tespit edilmediklerinde ya da enfeksiyon durumunda parabazal hücrelerin boyanmalarında değışiklik olabilmektedir. Böyle durumlarda çekirdek çevresi eozinofilik boyanırken, sitoplazmanın periferi ise siyanofilik boyanmaktadır [36][37][39].

Parabazal hücreler TEM ile incelendiklerinde sitoplazmalarında çok sayıda ribozom, mitokondri ve tonofilament yığınları bulunduğu görülmüştür. Buna ek olarak hücreler arasında bağlantıyı sağlayan desmozomlara da bol miktarda rastlanmıştır [37].

**İntermediyet hücreler** : Parabazal hücre tabakasının üst kısmında bulunan hücrelerdir. Bu hücrelere intermediyet veya kayık şekilli hücreler de denilmektedir. Histolojik olarak da “stratum spinosum superficiale”ye denk gelen hücrelerdir [37]. Polihedral bir morfolojiye sahiplerdir. Sitoplazmaları şeffaf, soluk yeşil renkte ve bol miktarda olup parabazal hücrelere oranla daha ince ve yayılmış şekildedir. İntermediyet hücre çekirdekleri yuvarlak ya da oval bir morfolojidedir. Bazal hücrelere göre çekirdekleri daha küçüktür. Veziküler yapıda olan çekirdeklerde, kromatin yapısı incedir [39].

İntermediyet hücreler hormonal duruma bağılı olarak simirlerde gruplar halinde ya da ayrı olarak görülebilirler. Bu hücrelerde desmozomlar boldur ve hücreler arası köprülerle birbirlerine bağılıdır. Hücre sınırlarında bol miktarda mikrovillus bulunmaktadır. Geç sekresyon evresinde, intermediyet hücrelerin glikojeni Laktobasiller tarafından kullanılarak, ortamda lizise olmuş sitoplazma artıkları ve

çıplak çekirdekler bulunur. Fazla miktarda salgılanan progesteron hormonu intermediyet hücrelerin glikojen biriktirme eğilimini artırır. Hücrelerde biriken glikojen, sitoplazmada sarıya boyanan düzensiz bir boşluk şeklinde gözlenmektedir [36][37][39].

**Prekornifiye hücreler :** İntermediyet hücre tabakasının üzerinde uzanan hücre tabakasıdır. “Intraepithelial zone” ya da “Condensation zone” olarak da adlandırılan bu tabaka değişebilen kalınlıkta olup histolojik olarak ise “Stratum Granulosum” a karşılık gelmektedir. Prekornifiye hücreler polihedral bir morfolojiye sahiptir. Bu hücrelerin sitoplazmaları yassılaştırmış ve çekirdekleri de alt tabakalara oranla daha da küçülmüştür. Prekornifiye hücrelerin sitoplazmalarında bol miktarda keratohyalin granülleri bulunur [37][40].

**Kornifiye hücreler:** Epitel dokunun en üst kısmında yer alan yüzeyel hücre tabakasıdır. Bu tabakadaki hücreler birbirlerine zayıf bir şekilde tutunmuş olup 3-4 kattan meydana gelir [36]. Yüzeyel hücre tabakası histolojik olarak “Stratum corneum” tabakasına karşılık gelir [37]. Yüzeyel hücreler geniş, ince, pembe veya turuncu renkte boyanabilen sitoplazmaya sahip ve katlanmalar gösterebilen hücrelerdir. Bu hücreler diğer tabakalara oranla en küçük çekirdek boyutuna sahiptir. Çekirdekte kromatin yoğunlaştığı için kromatin detayı görülmez, bu nedenle çekirdekleri “piknotik” (Yunanca “pyknos” = yoğun) bir hal almıştır [36][39]. Özellikle östrojenin yüksek seviyede olduğu durumda bu hücrelerde keratinizasyon görülebilir [37]. Bu hücreler eksfoliasyon mekanizmasıyla posterior fornikte toplanır ve vücuttan uzaklaştırılırlar. Yüzeyel hücreler tek tek dökülebildikleri gibi gruplar halinde de dökülürler. Desmozom yapılarının bozulması ile eksfoliasyonun arttığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [36].

Çok katlı yassı epitel tabakasının maturasyonu hormonal duruma bağlı olarak değişir. Menstruasyonun bitimiyle birlikte artmaya başlayan östrojen miktarı ilerleyen günlerde daha da artar ve buna bağlı olarak hücre sayısında da artış gözlenir. Östrojenin en yüksek seviyede olduğu ovulasyonda, epitelin tüm katları tamamlanır. Bu evrede intermediyet ve yüzeyel hücre tabakaları kalınlaşır. Ovulasyondan sonra ise azalan östrojen ve artan progesteron miktarına bağlı

olarak intermediyet hücre tipinde artış görülür. Kadınlarda hormon seviyesinin azaldığı menopoz döneminde ise epitelin katları tamamlanamaz ve epitelin tümü bazal ve parabazal hücre katlarından ibaret kalır. Bu nedenle menopoz simirlerinde parabazal hücreler ortamda bol miktarda görülür [37].

### **2.3.2.Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscopy, SEM)**

#### **2.3.2.1. SEM Tanım, Tarihçe ve Çalışma Prensibi**

Taramalı elektron mikroskobu (Scanning Electron Microscopy, SEM) ilk kez 1935 yılında Knoll adlı araştırmacı tarafından katı cisimlerin yüzeylerini incelemek amacıyla icat edilmiştir [41]. Knoll televizyonlarda görüntü elde edilmesinde kullanılan katot ışın tüpü metodundan yola çıkmış, elektronların enerjisinden faydalanarak görüntü elde edilebileceğini keşfetmiştir. Sonraki yıllarda von Ardenne, Zworykin, Hiller and Snyder gibi araştırmacılar Knoll'un tekniğini geliştirerek daha fazla büyütme gücüne ve daha iyi çözünürlüğe sahip olan SEM'i geliştirmişlerdir [42].

SEM başlıca üç kısımdan meydana gelmektedir: optik kolon, örnek haznesi ve görüntüleme sistemi. Optik kolon, elektron tabancası adı verilen ve incelenecek örnek üzerine gönderilecek olan elektron ışınının üretildiği kısımdır. Elektron tabancasının ısınması ile uç kısımda elektron bulutu oluşturulur ve alt kısımda yer alan anot plaka tarafından elektronların çekilmesi sonucu ışın demeti elde edilir. Mercekler vasıtası ile elde edilen bu demet yoğunlaştırılır ve örnek üzerine odaklanır. Örnek haznesinde incelenmek üzere hazırlanmış materyal bulunmaktadır. Görüntünün elde edilmesi ise gelen elektron ışınlarının örnek yüzeyinden yansımalarının ardından değerlendirilmesi sonucunda olmaktadır. İncelenecek örneğin yüzeyine çarpan elektronların bir kısmı materyalin yüzeyindeki elektronların enerjilerini artırır ve bunlar koparak örnekten uzaklaşırlar. Bu kopan elektronlara ikincil elektronlar adı verilmektedir. Yüzeye çarpan elektronların diğer kısmı ise enerji transferine uğramadan geri yansır. Bu elektronlara da geri saçılan elektronlar adı verilir. Ayrıca elektron tabancasından gelen elektronların örnekle etkileşimi sonucu örnekten X ışınları yayılmaktadır. Bütün bu elektron ve ışınımaların detektörlerde toplanması ve değerlendirilmesi sonucu, incelenen materyalin topografik yapısı ve görüntü kontrastı oluşturulmaktadır [43].

### **2.3.2.2. Çok Katlı Yassı Epitel Hücrelerinin SEM Görünümleri**

SEM ile hücrelerin yüzey özelliklerinin incelenmesi, ışık mikroskobu ve geçirimli elektron mikroskobuyla elde edilemeyen bulguları ortaya koymaktadır [44]. ÇKYE hücrelerinin SEM görüntülerinde dikkat çeken özellikleri hücre yüzeyinde yer alan parmak benzeri yapılardır. Bu yapılara mikrovillus adı verilmektedir. Mikrovilluslar absorpsiyonda görev alan parmaksı çıkıntılardır [45]. Bu yapılar hücrelerin ihtiyaç duyduğu besin maddelerinin hücreler arası boşluktan hücre içerisine alınmasını sağlamaktadırlar. ÇKYE hücre tabakaları artarken, bazalden apikale doğru çıkıldıkça, hücre yüzeyinde yer alan mikrovillusların kısalıp kalınlaştığı elektron mikroskopik incelemeler sonucu ortaya çıkarılmıştır. Bu epitelin en alt tabakasında yer alan bazal ve parabazal hücrelerin SEM görüntülerinde bol miktarda mikrovilluslar bulunmaktadır [40]. Bu yapılar 15 µm genişliğinde 40 µm uzunluğunda olup, iki mikrovillus arasında yaklaşık olarak 25 µm mesafe vardır. Polihedral morfolojiye sahip olan intermediyet hücrelerin SEM görüntülerinde de çok sayıda mikrovillus göze çarpmaktadır. Prekornifiye hücreler de ise SEM görüntülerinde hücre yüzeyinde "mikroriç" (MÇ) (microridge) adı verilen ve mikrovilluslara oranla daha küçük yapılar (yaklaşık 1 µm) izlenmiştir. Bu yapılar çok sayıda olup yan yana dizildiklerinden dolayı SEM görüntülerinde çizgi şeklinde görülmektedir. ÇKYE hücre tabakasının yüzeyinde bulunan kornifiye hücrelerde ise MÇ'lere daha seyrek rastlanılmaktadır [37]. Dökülen ve keratinize olan epitel hücreleri SEM ile görüntülendiğinde ise bu hücrelerin yüzeylerinde MÇ'lerin olmadığı dikkat çekmiştir [44]. Bu bilgiler ışığında mikrovillusların temel görevinin emilim ve hücrelerin birbirine tutunmasını sağlamak olduğu ve epitel tabakasında maturasyonun artmasıyla birlikte mikrovillusların kısalarak MÇ adı verilen yapıları oluşturduğu, beslenmenin ve tutunmanın en az olduğu yüzey tabakasında ise bu yapıların sayıca azalarak hücrelerin dökülmesine yol açtığı düşünülmektedir [46].

## 2.4. Epitel Hücre – Bakteri İlişkisi

### 2.4.1. Epitel Hücre Adhezyon Molekülleri

#### 2.4.1.1. İntegrinler

Hücrelerin yapışma (adhezyon) özellikleri büyüme, çoğalma ve göç gibi işlevlerini gerçekleştirmesi bakımından çok önemlidir. Yapışmaya aracılık eden temel yapılar ise hücre adhezyon molekülleridir. Hücre yüzeyinde bulunan adhezyon moleküllerden biri ilk kez 1980’li yıllarda keşfedilmiş olan integrinlerdir. İntegrinler hücre-matriks yapışmasında rol alan moleküllerdir. Ayrıca integrinlerin kan pulcuklarının kümelenmesinde, doku tamirinde ve tümör invazyonunda da görev aldığı bilinmektedir [47][48].

İntegrinler, glikoprotein yapısında hücre yüzey molekülleridir. Bu moleküller alfa ( $\alpha$ ) ve beta ( $\beta$ ) olmak üzere iki alt birimden meydana gelmiştir. Bu nedenle heterodimerik yapıdadırlar [49].  $\alpha$  ve  $\beta$  alt birimleri birbirlerine kovalent olmayan bağlarla bağlanmaktadır [47][50]. Günümüze kadar tanımlanmış 8 farklı  $\beta$  ve 18 farklı  $\alpha$  alt birimi mevcuttur. Bu alt birimlerin değişik kombinasyonları 24 farklı integrin moleküllerinin oluşmasını sağlamaktadır [51][52]. Genel olarak integrin moleküllerinin yapısına bakacak olursak üç farklı bölgenin olduğu görülür. Bu kısımlar hücrenin dışında kalan “dış bölge”, hücre zarını boydan boya kat eden “transmembran bölge” ve sitoplazma içinde kalan “sitoplazmik bölge” dir.

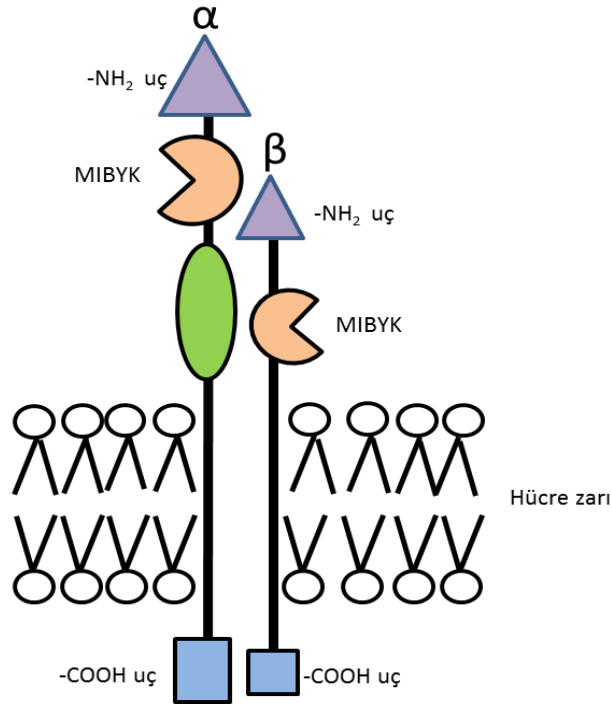
İntegrin molekülünün  $\alpha$  alt biriminin hücre dışında kalan kısmı incelendiğinde yaklaşık 1000 amino asitten meydana gelen dört kısımdan oluştuğu görülmektedir. Bu bölgelerden hücre zarından en uzakta bulunan kısım “N-terminal uç” olarak adlandırılır. Bu kısmın altında 200 amino asitten meydana gelen “I-bölgesi” (inserted) yer alır. I-bölgesi iki değerlikli metal iyonlarının ( $Mg^{+2}$ ) bağlandığı kısımdır. Bundan dolayı bu kısma “metal-iyon-bağımlı yapışma kısmı” (MIBYK) ismi de verilir. Ayrıca bu bölgenin diğer önemli bir özelliği ligandların bağlanmasında önemli bir rol oynamasıdır. Molekülün hücre zarına en yakın olan üçüncü kısmı ise 140-170 amino asitten oluşmaktadır [51][52]. Bu kısımda yer alan  $Ca^{+2}$  bağlanma bölgeleri molekülün esnek bir yapı kazanmasında görev almaktadır [48]. Hücrede  $Ca^{+2}$  miktarı arttığı zaman  $Ca^{+2}$  iyonları bu bölgeye

bağlanarak integrin molekülünün dik konumda sabit kalmasını sağlarlar. Böylelikle açığa çıkan uç kısımlara ligandların bağlanmasını kolaylaşmaktadır [53].

$\beta$  alt birimin ise 750 amino asit içeren bir proteinden oluşmaktadır [52].  $\beta$  alt birimin kısımları incelendiğinde  $\alpha$  alt birimdekine benzer bir I-bölgesinin ve MIBYK kısmının olduğu görülmektedir. Bu bölgelerin temel işlevi  $\alpha$  alt birimde olduğu gibi ligandları kendine bağlamaktır [51]. Molekülün hücre zarına yakın olan kısmı ise  $\beta$  alt birime esnek bir yapı kazandırmaktadır [52]. Her iki alt birimin sahip olduğu esneklik özelliği integrin molekülünün aktif ve inaktif durumlarında farklı pozisyon kazanmasına imkan sağlamaktadır. Yapılan araştırmalarda farklı  $\beta$  alt birimlerin %40-48 oranında benzerlik gösterdiği bulunmuştur [49].

İntegrin molekülünün transmembran bölgesi hücre zarını boydan boya tek seferde kat eder ve yaklaşık olarak 25-29 amino asitten oluşmaktadır. Aktif olmayan durumdaki  $\alpha$  ve  $\beta$  alt birimlerinin transmembran kısımları bağlantı halindedir. Bu bağlantı moleküllerin yapısında yer alan glisin amino asitleri arasında olmaktadır. İki alt birimin bağlantılı olması molekülün inaktif durumda kalmasını sağlamaktadır [51].

İntegrin molekülünün sitoplazmik kısmı incelendiğinde ise yaklaşık 10-70 amino asitten meydana gelen kısa bir bölge olduğu görülmektedir [51].  $\alpha$  ve  $\beta$  alt birimlerin sitoplazmik ucunda yer alan farklı amino asit dizileri ligandların tanınmasında özgüllük sağlamaktadır [54]. Bu iki alt birim arasında tuz köprüleri kurulmaktadır. Proteinler arasındaki iyonik bağ ve hidrojen bağı gibi kovalent olmayan bağlantılara tuz köprüleri adı verilmektedir [55]. Bu köprüler integrin moleküllerinin aktivasyonunda anahtar rol oynamaktadır. Tuz köprüleri aracılığıyla birbirine bağlanan molekül alt birimlerinin ligandlara olan afinitesi azalmakta ve inaktif durumda kalması sağlanmaktadır [51][54].



**Şekil 2. 1:** İntegrin molekülünün yapısı

İntegrin moleküllerinin en belirgin özellikleri çok sayıda farklı liganda bağlanabilmeleridir [52]. Hücre dışı alanda yer alan integrin ligandları arasında fibronektin, laminin, fibrin yer alırken hücre içi ligandları arasında talin, kindlin,  $\alpha$ -actinin gibi proteinler yer almaktadır [47][51]. İntegrinler ligand bağlanmasına bağlı olarak “içten-dışa” ve “dıştan-içe” olmak üzere iki farklı şekilde sinyal iletiminde görev alırlar. İçten-dışa sinyalizasyon mekanizması hücre göçü gibi fizyolojik süreçlerde önemli bir mekanizmadır. İntegrinler sitoplazmada inaktif durumdayken hücre dışı kısımları ligandlara bağlanamaz. Bu durumda integrinler “eğik” pozisyondadır. Ancak hücrede protein fosforilasyonu, sitoplazmik pH değişikliği gibi olaylar sonucu meydana gelen aktivasyon uyarılarının ardından hücre dışı bölge dikleşerek aktif konuma geçer [51]. Molekülün konformasyonunda meydana gelen bu değişiklik hücre dışı kısımda ligandların bağlanacağı alanların açığa çıkmasını sağlar.



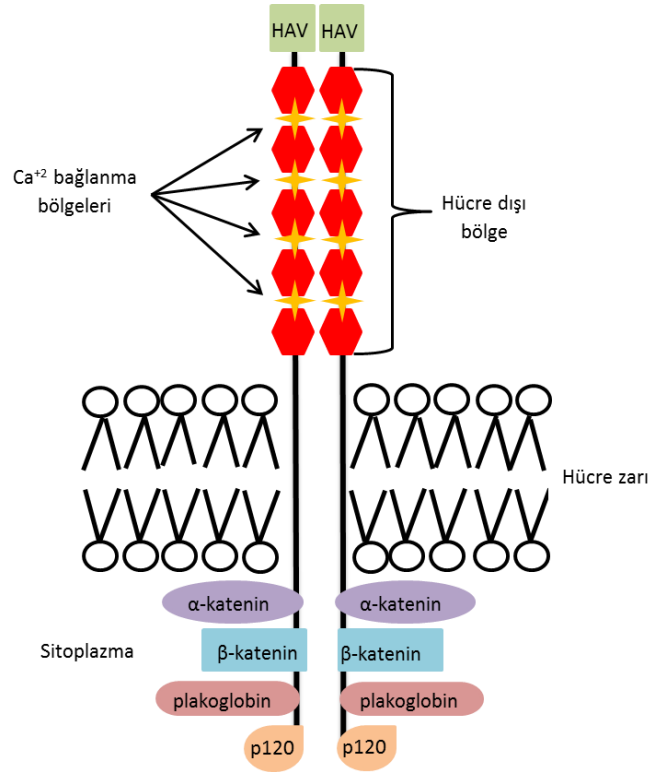
Dıştan içe sinyal mekanizması ise molekülün hücre dışında yer alan kısımlarında RGD (arjinin-glisin-aspartik asit) dizisine ligandların bağlanmasıyla gerçekleştirilir [51][53]. Hücre dışı bölgeye ligandın bağlanması integrinlerin aktifleşmesini sağlar. İntegrinlerin aktifleşmesi transmembran kısmındaki glisin-glisin bağlarının ve sitoplazmik kısımdaki tuz bağlarının bozulmasıyla olmaktadır [48]. Aktifleşmiş integrinlerin sitoplazmik kısmına ise talin, flamin gibi hücre içi proteinler bağlanır. Bu proteinler aktin filamentlerine bağlanarak mekanizma başlatılmış olur. Böylece integrinler hücre iskelet proteinlerinden olan aktinler için de bağlantı bölgesi oluşturmuş olurlar [48][51].

#### **2.4.1.2. Kaderinler**

Kaderinler hücre-hücre bağlantısından sorumlu yapışma molekülleridir. Bu moleküller glikoprotein yapısında olup, yapışmaları  $Ca^{+2}$  bağımlı olarak gerçekleşmektedir. Kaderinler doku morfogenezinde, hücre tanınmasında, hücre farklılaşmasında, yapısal ve işlevsel olarak hücre ve dokuların kutuplaşmasında rol alırlar [56][57]. Kaderinler geniş bir protein ailesi olup çok sayıda alt aileden meydana gelmektedirler. Bunlar klasik kaderinler, desmozomal kaderinler, protokaderinler, T-kaderin, yedi transmembran (7TM) kaderinler ve FAT-ailesi kaderinlerdir [58].

Klasik kaderinler yapısı en iyi anlaşılmış olan kaderin ailesidir. Bu ailenin üyeleri arasında E-kaderin (epitel hücrelerde bulunur), N-kaderin (sinir hücresinde bulunur) ve P-kaderin (plasantada bulunur) yer almaktadır [59][60]. Klasik kaderinler yapısal olarak incelendiğinde 3 farklı bölgeden oluştuğu görülmektedir. Bunlar hücre dışında yer alan dış kısım (amino uç), zarı boylu boyunca kat eden transmembran kısım ve sitoplazmada bulunan sitoplazmik kısımdır (karboksil uç) [56]. Bu moleküllerin hücre dışında bulunan kısmı ard arda gelen beş bölgeden meydana gelir. Bu beş kısmın her biri yaklaşık 110 amino asitten oluşmaktadır [59]. Bu bölgeler hücre dışı, ekstraselüler (ES), olarak adlandırılırlar ve her bir ES bölgesi arasında  $Ca^{+2}$  iyonu bağlanma bölgesi yer almaktadır.  $Ca^{+2}$  bağlanması molekülü kararlı hale getirmektedir. Kaderin molekülünün amino ucunda ise "HAV" (histidin-alanin-valin) amino asit dizisi bulunmaktadır. Bu dizilerin görevi iki hücre

arasındaki kaderin moleküllerinin bağlanmasına aracılık etmektedir [56][57][59]. Kaderin moleküllerinin transmembran kısmı zarı bir kez boydan boya kat etmektedir [58]. Bu bölge oldukça hidrofobik yapıda olup hücre zarına gömülü olarak bulunmaktadır [60]. Molekülün sitoplazmik kısmı ise yaklaşık olarak 151-160 amino asitten meydana gelmektedir. Klasik kaderinlerin sitoplazmik uç kısmı, sitoplazmadaki  $\alpha$ -katenin,  $\beta$ -katenin, plakoglobin ve p120 gibi sitoplazmik proteinlerle doğrudan temas halindedir. Kaderinlerin sitoplazmik uç kısmına bağlanan  $\beta$ -katenin ve plakoglobin,  $\alpha$ -katenin aracılığı ile aktin filament ağına bağlanmaktadır. Böylece hücreler arasında sıkı bağlantı sağlanmaktadır [53][57][58].



**Şekil 2. 2:** Kaderin molekülünün yapısı

X-ray kristalografisi araştırmaları E- ve N-kaderinlerin hücreler arası bağlantılarda dimer oluşturduklarını ortaya koymuştur [59]. Molekülün dimer oluşturmasında hücre dışı kısımda yer alan  $Ca^{+2}$  bağlanma bölgelerinin rol aldığı düşünülmektedir [58]. Dimer oluşturan kaderin molekülleri komşu hücrelerde yer alan kaderinler ile amino uçlarındaki yapışma bölgeleri (HAV) aracılığıyla birbirlerine tutunmaktadırlar. Böylelikle hücreler arasında fermuar benzeri bir görünüm

oluşturarak hücreleri birbirine kenetlemektedirler [56]. Yapılan araştırmalar kaderinlerin çoğunlukla benzer hücreleri birbirine bağladıklarını ortaya çıkarılmıştır. Çalışmalarda  $Ca^{+2}$  eksikliğinde hücre-hücre bağlantı sınırlarında kaderin miktarının azaldığı, artan  $Ca^{+2}$  miktarı ile de kaderinlerin tekrar artış gösterdiğini ortaya konulmuştur [60].

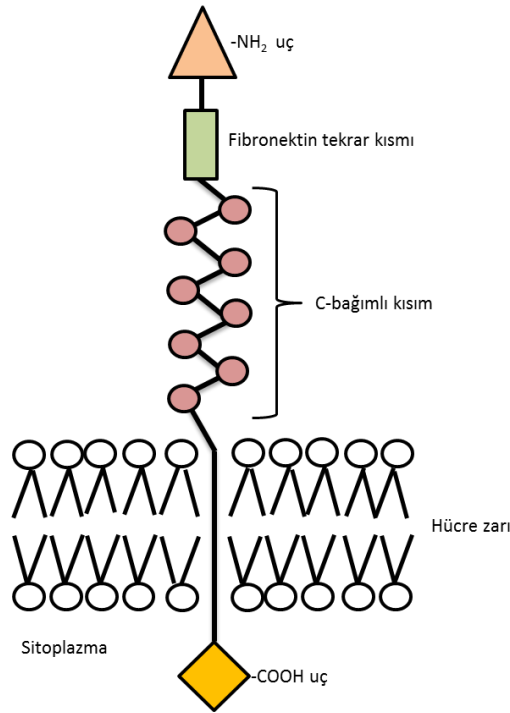
#### **2.4.1.3. Mannoze Reseptörü**

Mannoze reseptörleri (MR) patojen organizmaların hücre duvarındaki karbonhidratları tanıyan proteinlerdir (74). Makrofajların, epitel hücrelerinin ve endotel hücrelerinin hücre zarında bulunan MRler, Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler, mantarlar ve parazitler gibi patojen mikroorganizmaların yüzey antijenlerini (karbonhidratları) tanıyabilme özelliğine sahip moleküllerdir [61][62].

MR tip I transmembran protein olup, 180-kDa moleküler ağırlığındadır. Bu molekül üç kısımdan oluşmaktadır. Bunlar hücre zarının dışında kalan kısım, hücre zarı içinde kalan kısım (transmembran kısım) ve sitoplazmada kalan kısımdır [61]. Hücre dışında yer alan kısım incelendiğinde kendi içinde üç farklı bölgeye ayrıldığı görülmektedir. Bunlardan birincisi en dışta olan  $NH_2$ - uç kısmıdır. Bu kısım sistein amino asitlerince zengindir. Bu nedenle sülfatlanmış glikoproteinlere ve transmembran proteinlere bağlanabilmektedir. Uç kısmın altında bulunan ve fibronektin tip-II tekrarlarından ibaret olan bölge, denatüre olmuş kollajenin bağlanmasında görev almaktadır [63]. Hücre zarına bağlı olan üçüncü kısım ise sekiz adet ard arda gelen C-tipi (kalsiyum-bağımlı) lektin-benzeri karbonhidratları tanıyan proteinlerden meydana gelmiştir. Hücre zarına bağlı olan bu üçüncü kısım mannoze, fukoze ve N-asetilglukozamin gibi karbonhidratlara bağlanmaya aracılık etmektedir. Bu bölgeye karbonhidratların bağlanabilmesi için kalsiyum gereklidir [61][62][63]. MR ve karbonhidratlar arasındaki bağlanma, protein yan zincirleri ile karbonhidratların hidroksil grupları arasındaki hidrojen bağları aracılığıyla olmaktadır [61]. Antijenlere bağlanma işlevi MR'nin hücre dışında kalan kısmıyla gerçekleşmektedir. MR'nin transmembran ve sitoplazmik kısmı ise endositoz ve fagositoz işlevlerinde görev almaktadır [62].

Epitel hücre yüzeyinde yer alan MRlerin patojenlerle nasıl etkileşime geçtiğine dair çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalara göre örneğin HIV'in gp120 molekülü

epitel hücrelerinde bulunan MRLere bağlanarak matriksmetalloproteinazlar (MMP) denilen enzimlerin sentezini uyarmaktadır ve sentezlenen MMPIler hücre dışı matrikste ve hücreler arası bağlantılarda görev alan proteinleri parçalayarak epitel hücrelerin dökülmesine neden olmaktadır. Böylece çok katlı yassı epitelin koruyucu bariyer görevi ortadan kalkmaktadır [64]. Ayrıca, *Candida albicans*'ın epitel hücrelerine yapışmasında D-mannoz, L-fukoz ve N-asetil-D-glukozamin içeren epitel reseptörlerinin görev aldığı da çalışmalarda gösterilmiştir [65]. *Esherichia coli* bakterisinin yüzeyinde bulunan lektin-benzeri maddelerin epitel hücre yüzeyindeki MRLere bağlandığı da bildirilmiştir [63].



**Şekil 2. 3:** Mannoz reseptörünün yapısı

## 2.4.2. Bakterilerde Adhezyon Molekülleri ve Yapıları

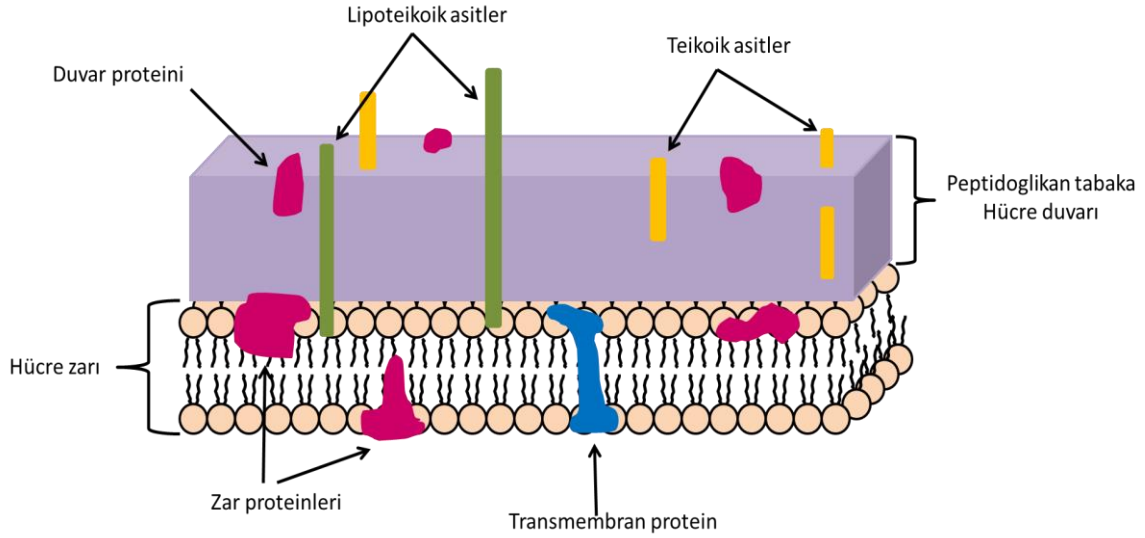
### 2.4.2.1. Hücre Duvarı

Bakterilerin dış kısmında hücre zarı ve onun üstünde ise hücre duvarı bulunmaktadır. Hücre zarı iki lipid tabakası içerisine gömülü protein ve karbonhidrattan meydana gelmektedir. Zarın hemen üstünde yer alan hücre duvarı ise bakterilere göre farklı moleküllerden meydana gelmektedir. Hücre duvarının temel görevi bakteriye şeklini kazandırmak, mekanik etkilerden ve ozmotik basınçtan korumaktır [66][67][68].

Bakterilerin sahip oldukları hücre duvar yapıları birbirinden farklılık göstermektedir. Danimarkalı eczacı ve fizikçi Hans Christian Joachim Gram tarafından 1884 yılında bakteriyi mikroskop altında görünür kılmak için bir boyama metodu geliştirmiştir. Bu metoda göre bakteriler farklı hücre duvarı yapısına bağlı olarak mor ve pembe renkte boyanmakta olup Gram pozitif ve Gram negatif olarak adlandırılmaktadırlar.

#### 2.4.2.1.1. Gram Pozitif Hücre Duvarı

Gram pozitif bakterilerin çoğunda hücre duvarının %90'ını peptidoglikan tabaka oluşturmaktadır. Bu tabaka hücre zarının hemen üstünde yer almaktadır ve murein tabaka da denilmektedir. Peptidoglikan tabaka çok sayıda karbohidratlardan ve amino asitlerden meydana gelmiş bir tabakadır. Bu tabaka karbohidratlar [*N*-asetilglukozamin (NAG) ve *N*-asetilmuramik asit (NAM)] ve onlara bağlı olan amino asitlerden (D-glutamik asit, D ve L-alanin ve L-lizin) oluşmaktadır [68]. Bu moleküller birbirlerine glikozidik ve peptid bağları ile bağlanarak sağlam bir peptidoglikan tabaka oluştururlar. Bu sağlam yapı oluşturulurken çok sayıda NAM ve NAG molekülleri ard arda dizilerek uzun zincirler meydana getirirler. Karşılıklı zincirlerde yer alan karbohidratlara bağlı amino asitler birbirlerine glisin ara köprüleri aracılığıyla bağlanırlar [69]. Bu bağlar zinciri oluşturan bir karbohidrata bağlı D-alanin'in terminal ucundaki karboksil grubu ile diğer zincirdeki karbohidrata bağlı L-lizin amino asiti arasında gerçekleşmektedir [68].



**Şekil 2. 4:** Gram pozitif bakteri hücre zarı ve hücre duvarı yapısı

Teikoik asitler sadece Gram pozitif hücre duvarı yapısında bulunan asidik bileşenlerdir. Bu moleküller poligliserol fosfat, poliribitol fosfatlar ve poliglukozil fosfattan meydana gelmektedir. Teikoik asitler içerdikleri fosfat grubundan dolayı negatif yüke sahip anyonik moleküllerdir ve hücre zarına negatif yük kazandırır. Ayrıca iki değerlikli iyonları ( $Ca^{+2}$  ve  $Mg^{+2}$ ) bağlayarak hücre içerisine taşınmasında görev alırlar. Teikoik asitler hücre duvarını oluşturan peptidoglikanlara ya da hücre zarında bulunan lipitlere kovalent olarak bağlanırlar. Lipitlere kovalent olarak bağlanan bu teikoik asitlere lipoteikoik asitler denir. Lipoteikoik asitler Gram pozitif bakterilerin hücre duvarı yüzeyinden başlayıp peptidoglikan tabakaya hatta sitoplazmik zar içerisine kadar uzanırlar [67][70].

#### **2.4.2.1.2. Gram Negatif Hücre Duvarı**

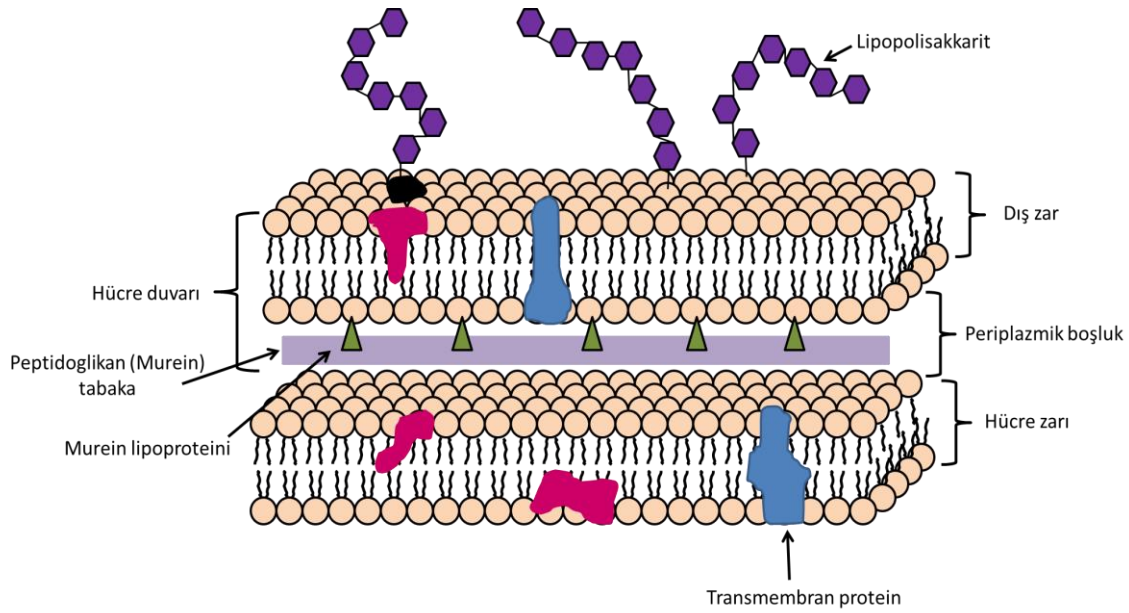
Gram negatif bakteri hücre duvarı yapısal olarak Gram pozitif bakteri hücre duvarından bazı farklılıklar göstermektedir. Gram negatif bakterilerde sitoplazmik zar ve dış zar olmak üzere iki farklı zar bulunmaktadır. Bu zarlar arasında ise peptidoglikan tabaka ve Gram pozitiflerde bulunmayan periplazmik boşluk yer almaktadır.

Gram negatif bakterilerde sitoplazmik zarın hemen üstünde 30-70 nm genişliğinde periplazmik boşluk adı verilen bir kısım bulunmaktadır. Bu kısım toplam hücre ağırlığının %20-40 'ını oluşturmaktadır [68]. Periplazm adı verilen jel benzeri bir madde içeren bu boşlukta su, besin maddeleri, sindirim enzimleri ve proteinler gibi maddeler bulunmaktadır. Boşlukta yer alan enzimlerin görevi hücre içerisine taşınmayacak kadar büyük olan moleküllerin katabolize edilmesi, peptidoglikan tabakanın sentezi ve toksik maddelerin modifiye edilmesidir [68][69].

Gram negatif bakteri hücre duvarında periplazmik boşluk içinde Gram pozitif bakteri hücre duvarına oranla daha ince bir peptidoglikan tabaka yer almaktadır. Yapısal olarak Gram pozitif benzer olan bu tabakanın hücre şeklinin korunmasına katkı sağladığı araştırmalarda gösterilmiştir [71]. Bu tabaka karbonhidratlar [*N*-asetilglukozamin (NAG) ve *N*-asetilmuramik asit (NAM)] ve onlara bağlı olan amino asitlerden (D-glutamik asit, D ve L-alanin ve meso-diaminopimelik asit)

oluşmaktadır. Bu bağlar bir polimerde yer alan D-alanin'in terminal ucundaki karboksil grubu ile diğer polimerdeki diaminopimelik asitin amino grubu arasında gerçekleşmektedir [68].

Gram negatif bakteri duvarını Gram pozitif bakteri duvarından ayıran diğer bir yapı ise dış zardır. Bu dış zar peptidoglikan tabakanın üzerinde yer almakta olup, çift katlı bir zar yapısındadır. Bu zarın iç kısmında lidipler ve proteinler bulunurken, dış kısmında ise lipopolisakkaritler (LPS) yer almaktadır [69]. LPSlerin yapısında hem lipid hem de proteinler bulunmaktadır. LPSlerin yapısında bulunan bu moleküller lipid A, polisakkarit merkez ve O-spesifik polisakkarit kısmı olmak üzere üç kısımdan meydana gelmektedirler. Lipid A molekülü LPSlerin dış zara tutunmasından ve zarın kararlılığından sorumludur. Aynı zamanda lipid A'nın toksik etkisinin olduğu da çalışmalarda gösterilmiştir. LPS'nin yapısında bulunan O-spesifik polisakkarit kısmı ise immun cevapta rol oynamaktadır ve bakteriyi konak savunmasına karşı korumaktadır [68].



**Şekil 2. 5:** Gram negatif bakteri hücre zarı ve hücre duvarı yapısı

LPS moleküllerinin bir diğer önemli özelliği de bakteri yüzeyine negatif yük sağlamasıdır. Aynı zamanda bakterinin yüzeye tutunmasına ve biyofilm oluşturmasına da aracılık etmektedir. LPSlerin komşu LPSler ile olan etkileşimleri

dış zarda yarı geçirgen bir bariyer oluşturmaktadır. Böylece bakteri için zararlı olan safra asitleri, antibiyotikler ve toksik maddelerin hücreye geçişi engellenmektedir [68].

#### **2.4.2.2. Pili**

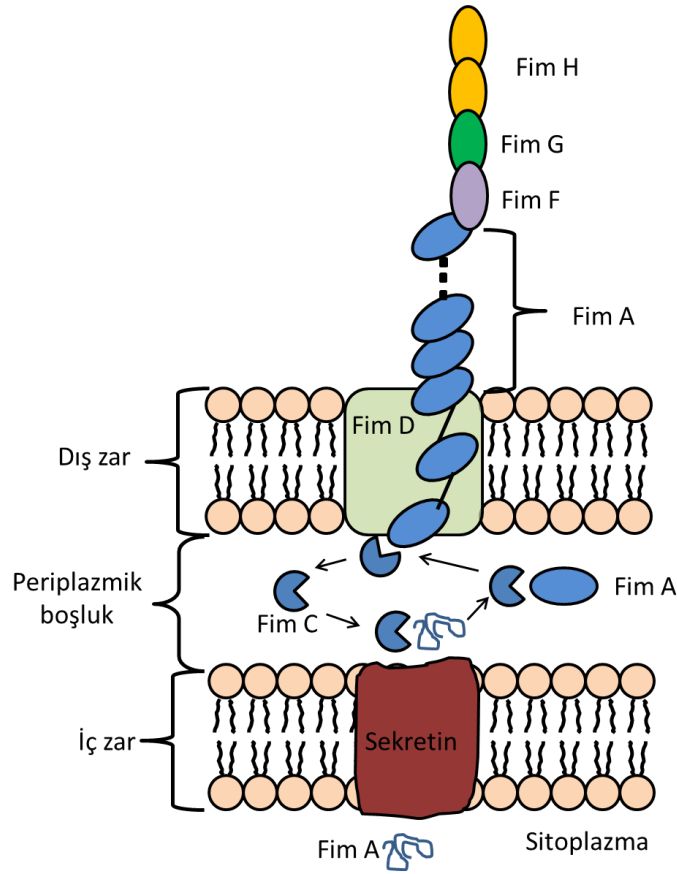
Bakterilerin enfeksiyon oluşturabilmeleri için ilk basamak buldukları ortama tutunmalarıdır. Fakat bakterilerin hücre duvarı yapılarından kaynaklanan negatif yük ile konak hücre zarının sahip olduğu negatif yük arasındaki itme kuvveti bu tutunmayı engelleyen en önemli faktördür. Bu kuvveti aşabilmek ve konak hücrelere tutunabilmek bakterilerin hücre yüzeyinden dışarı doğru uzanan, “pili” olarak adlandırılan çıkıntılar aracılığıyla olmaktadır. Pili yüzlerce alt birimden oluşan, 15-25 kDa ağırlığında filamentöz bir yapıdır. Pili hücrelere tutunmayı sağlamasına ek olarak faj bağlanması, DNA transferi, biyofilm oluşturma, hücre çökmesi, konak hücre istilası ve kıpırtı şeklinde hareket gibi işlevlerde de rol almaktadır [72].

Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerde farklı tipte pili yer almaktadır. Günümüzde Gram negatif bakteri pilisine ait çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Bunlar arasında en çok çalışılan Tip 1 pilidir. Tip 1 pili 6,9nm kalınlığında, 1-2 µm uzunluğunda, 500-3000 alt birimden meydana gelen, sarmal şeklinde bir yapıdır [72]. Bu yapı Fim A, Fim F, Fim G ve Fim H alt birimlerinden meydana gelmektedir [73]. Sitoplazmada sentezlenen Fim A birimleri, bakteri hücre duvarının iç zarında yer alan sekretin transmembran proteini ile periplazmik boşluğa aktarılır. Periplazmik boşlukta yer alan Fim C şaperonu Fim A alt birimine bağlanarak, Fim A'nın konformasyonel olarak değişimini ve daha kararlı hale gelmesini sağlamaktadır. Daha sonra Fim D proteini ile Fim A altbirimleri hücre dışına aktarılmaktadır. Fim D dış zarda yer alan 833 amino asit rezidusundan oluşan bir proteindir. Bu proteinin temel işlevi periplazmik boşlukta bulunan Fim A alt birimlerinin uç uca eklenerek hücre duvarından dış ortama doğru uzamasına aracılık etmektir. Fim D aynı zamanda pilinin hücre duvarına sabitlenmesinde de rol oynamaktadır [74]. Tip 1 pilinin hücre dışında kalan uç kısmında yer alan Fim H altbirimi 297 amino asitten meydana gelmektedir. Fim H'nin en önemli özelliği



yapışmada görev almasıdır. Konak hücre yüzeyinde bulunan mannoz reseptörlerine bağlanma Fim H alt birimi aracılığıyla olmaktadır. Pilinin yapısında yer alan Fim F ve Fim G alt birimleri ise Fim H'yi Fim A birimlerine bağlamada görev almaktadırlar [72].

Vajinal florada yer alan ve enfeksiyon oluşturan organizmalardan biri olan *Gardnerella vaginalis*'in piliye sahip olduğu araştırmalarda gösterilmiştir (90). *G.vaginalis* pilisi aracılığıyla epitel hücrelerine tutunmakta ve kolonize olarak enfeksiyon oluşumuna yol açmaktadır [75].



**Şekil 2. 6:** Tip 1 pilinin yapısı

#### 2.4.2.3. Biyofilm

Biyofilm, Costerton ve arkadaşları tarafından “bakteri hücrelerinin cansız ya da canlı yüzeylerde bir araya gelerek, kendi ürettikleri polimerik bir madde ile etraflarını çevrelemeleri sonucu oluşan yapısal birlik” olarak tanımlanmıştır. Elder ve arkadaşları biyofilmi “yoğun bir ekzopolimer matriks içerisinde yer alan mikroorganizma birliği” olarak tanımlarken, Carpentier ve Cerf adlı araştırmacılar ise

bu tanımı daha basite indirgeyerek “ bir yüzeye yapışan organik bir polimer matriks içerisine gömülü bakteri topluluğu” şeklinde ifade etmişlerdir. Yapılan araştırmalar ve tanımlar incelendiğinde biyofilmin adlandırılmasında temeli oluşturan etmenlerin yüzey, polimer matriks ve bakteriler olduğu görülmektedir [76].

Konak yüzeyi, mikroorganizmaların tutunması ve çoğalabilmesi açısından biyofilm oluşumunda önemlidir. Bakterilerin konak yüzeyine ilkin tutunmalarının tesadüfi olarak gerçekleştiği düşünülmektedir. Bunun için organizmaların yüzeye tutunabilecek kadar yakın olmaları gerekmektedir. Organizmalar ile yüzey arasındaki bu mesafe kritik bir noktaya geldiğinde ise, tutunmayı belirleyen faktör bakteri-yüzey arasındaki etkileşimlerdir. Bu etkileşimler arasında elektrostatik ve hidrofobik çekim, sterik engel, sıcaklık ve hidrodinamik kuvvetler gibi faktörler rol almaktadır. Bakteri-yüzey arasındaki tutunmaya etki eden bir diğer faktör ise Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin hücre duvarında yer alan molekül çeşitleridir. Gram pozitif bakteriler hücre duvar yapılarında bulunan teikoik asitten ve Gram negatif bakterilerde hücre duvar yapılarında bulunan lipopolisakkaritlerden dolayı negatif yüke sahiplerdir. Diğer taraftan konak hücreler sahip oldukları çift katlı lipit tabakasından dolayı negatif yüklüdür. Tutunmada karşılaşılan en temel problem de bu negatif yükten kaynaklanan elektrostatik itme kuvvetinin oluşmasıdır. Bakteriler bu elektrostatik engeli pilileri ya da özgül adhezyon molekülleri aracılığıyla aşmaktadırlar [76].

Epitel hücre yüzeyine tutunan bakteriler, buldukları yüzeyde devamlılıklarını sağlayabilmek için ekzopolisakkarit (EPS) adı verilen bir madde sentezlemektedirler. EPS polisakkaritler, proteinler ve/veya nükleik asitlerden meydana gelmektedir [77]. Fakat EPS'nin bileşimi organizmalar arasında farklılık göstermektedir. Bazıları nötral makromoleküllerden oluşurken, bazıları ise polianyonik bileşiklerden meydana gelmektedir. EPS'yi meydana getiren polisakkaritler iplikler bakteri hücre yüzeyinden çevreye doğru uzanan bir ağ oluşturarak etraflarını çevrelemektedirler [78]. Böylelikle bakteriler kendilerine koruyucu bir kalkan oluşturarak antibiyotiklere, sürfektanlara, bakteriyofajlara ve lökositlere karşı savunma sağlamaktadırlar [76]. Biyofilmin antibiyotik direnci

üzerine yapılan araştırmalar bu durumun iki olası nedeni olduğunu ortaya koymaktadır. Bunlardan birincisi antimikrobiyal maddelerin sadece çok az bir kısmının biyofilm içerisine aktarılması, ikincisi ise biyofilm oluşturan bakterilerin antimikrobiyal ajanlara karşı kendilerini koruyacak yönde hücre duvarlarında değişiklikler yapabilmeleridir [77].

Biyofilmin kimyasal içeriğinin araştırıldığı çalışmalarda farklı tipte EPS molüküllerinin bir arada var olduğu dikkat çekmiştir. Bunun olası açıklaması ise biyofilmi oluşturan farklı bakteri türlerinin bir arada bulunmasıdır. Biyofilm içerisinde küçük koloniler oluşturan bu bakteriler birbirleriyle besin alış verişinde bulunmakta ve artıkları da koloniden uzaklaştırmaktadırlar. Gram negatif bakteriler incelendiğinde bakteri hücreleri arasındaki bu haberleşmenin ailhomoserin laktonlar (AHL) aracılığıyla olduğu görölmüştür [77]. Farklı bakteri türlerinin yer aldığı biyofilm hiyerarşisinde ise, bir bakteri türünün metabolik ürünü diğer türün çoğalmasını desteklemektedir. Benzer şekilde bir bakteri türünün yüzeye tutunması da diğer türün tutunabileceği bir ligand sağlaması açısından önemlidir. Fakat biyofilmi oluşturan bu türler arasındaki besin rekabeti ve toksik ürünlerin birikimi ise tür çeşitliliğini sınırlayan bir faktör olarak rol oynamaktadır [76].

Biyofilmin bakterilere sağlamış olduğu avantajlar patojenlerin uzun süreli enfeksiyon etkeni olmalarının temel nedeni olarak görölmektedir. Bu durum tekrar eden BV vakalarında görölmektedir. BV’de en sık rastlanan mikroorganizma olan *Gardnerella vaginalis*’in pilisi aracılığıyla vajinal epitel hücrelerine tutunduğu ve biyofilm oluşturduğu araştırmalarda gösterilmiştir. Sentezlediği biyofilm sayesinde vajinada bulunan Laktobasillerin ürettikleri H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve laktik asitten korunan *G.vaginalis* uzun süreli enfeksiyonlara yol açmaktadır [77].

## **2.5.Bakteriyel Vajinoz**

### **2.5.1. Tanım ve Tarihçe**

Bakteriyel vajinoz (BV), fertil dönemdeki kadınlarda en sık rastlanan vajinit çeşitlidir [79]. Trichomoniasis ve Kandidiyazis gibi diğer vajinit çeşitlerinden ayırt etmek amacıyla önce “non-spesifik vajinit” olarak adlandırılmıştır [80]. Daha sonra Gardner ve Duker adlı araştırmacılar 1955 yılında bu enfeksiyona neden olan

organizmayı *Haemophilus vaginalis* olarak açıklamışlardır. Böylece enfeksiyonun adı “*Haemophilus vaginalis* vajinit” olarak değiştirilmiştir. 1961 yılına gelindiğinde ise Lapage adlı araştırmacı çalışmaları sonucu hemin ve nikotinamid adenin dinükleotid’in (NAD<sup>+</sup>) organizmanın çoğalması için elzem olmadığını göstermiş ve *H.vaginalis*’in *Corynebacterium* cinsine ait olduğunu ileri sürmüştür. Bu nedenle *H.vaginalis*’in adı *Corynebacterium vaginale* olarak, enfeksiyonun adı ise “*Corynebacterium vaginale* vajinit” olarak tekrar değiştirilmiştir. Ardından Greenwood ve Picket yaptıkları biyokimyasal, mikroskopik ve DNA testleri sonucu enfeksiyon oluşturan organizmayı Gardner adlı araştırmacının onuruna *Gardnerella vaginalis* olarak adlandırmışlardır ve böylece enfeksiyonun adı da “bakteriyel vajinozis” olarak değiştirilmiştir [81].

Bu enfeksiyona “bakteriyel” denilmesinin temel nedeni, etken organizmaların protozoon ve mantar kaynaklı olmadığını belirtilmek istenmesidir. BV olgularından inflamatuvar hücre grupları [polimorfo nükleer lökositler (PMNL) ] görülmediğinden ve artan vajinal akıntının da vurgulamak istenmesi amacıyla “vajinit” yerine “vajinozis” kelimesi kullanılmıştır [82].

### **2.5.2. BV Etkeni Mikroorganizmalar**

BV polimikrobiyal bir enfeksiyondur. İlk yıllarda enfeksiyona sadece *G.vaginalis*’in neden olduğu düşünülmüştür. Fakat daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalar *Bacteroides* türleri, *Mobiluncus* türleri, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Prevotella* türleri ve *Peptostreptococcus* türlerinin de BV oluşumunda rol oynadığını ortaya koymaktadır [79][81].

#### **2.5.2.1. *Gardnerella vaginalis***

*Gardnerella vaginalis*, Bifidobacteriaceae ailesinde yer alan fakültatif anaerobik bir bakteri türüdür [83]. Pleomorfik basil morfolojisine sahip olan bu organizma, kamçıya sahip değildir ve hareket yeteneği yoktur. *G.vaginalis*’in çoğalabilmesi için en uygun sıcaklık 35 °C’dir. Bakteri hücre duvarı yapısı alanin, glutamik asit, glisin, lizin amino asitlerini, glukoz, galaktoz ve 6-deoksitaloz karbonhidratlarını içermektedir [2]. Hücre duvarı Gram pozitif bakterilerdekine oranla daha ince bir peptidoglikan tabakaya sahip olup, teikoik asit içermemektedir [84]. Fakat hücre duvarı diğer Gram pozitif bakterilerde olduğu gibi penisilin, klindamisin ve

vankomisine duyarlıdır. *G.vaginalis* hücre duvarı Gram negatif bakteri hücre duvarında bulunan lipopolisakkaritlere sahip değildir fakat kırmızı-pembe renkte boyanmaktadır. Bu nedenle de *G.vaginalis* Gram değişken bir mikroorganizma olarak sınıflandırılmaktadır [2][85].

*G.vaginalis* hücre yüzeyinden dışarı uzanan ve pili adı verilen yapılara sahiptir. Pililerin kalınlığı 3.0-7.5 nm arasında değişmektedir. Pili *G.vaginalis*'in epitel hücrelere tutunmasını sağlamaktadır. BV vakalarında kadınların vajinasından izole edilen bu organizmaların piliye sahip olduğu gösterilmiştir [2][75].

*G.vaginalis* tarafından üretilen toksin ve enzimlerin enfeksiyon oluşumunda önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Bu toksin ilk kez 1990 yılında keşfedilmiş olup daha sonra vajinolizin olarak adlandırılmıştır [86]. Vajinolizin 11 amino asit dizisinden oluşan, kolesterol bağımlı sitolizin ailesine ait bir proteindir [87]. Bu toksin vajinal epitel hücrelerinde ve eritrositlerde por oluşumunu sağlayarak lizise olmalarını ve *G.vaginalis*'in mukozal yüzeylerde kolonize olmasını sağlayarak, BV enfeksiyonunda önemli bir rol oynamasına neden olmaktadır [86][87]. Bu toksin dışında *G.vaginalis* tarafından üretilen siyalidaz ve prolidaz gibi hidrolitik enzimler de mukozal yüzeylerin parçalanmasında görev alarak enfeksiyon oluşumuna katkı sağlamaktadırlar [86].

Elektron mikroskopik çalışmalarda *G.vaginalis* hücre duvarının dışında hücreyi örümcek ağı gibi saran bir maddenin varlığına dikkat çekilmiş ve histokimyasal boyamalar sonucu bu maddenin polisakkaritlerden oluştuğu belirlenmiştir. Birbirine yakın konumlanmış hücrelerin ekzopolisakkarit adı verilen bu ağı yapı aracılığı ile bağlantı kurduğu düşünülmektedir. Ayrıca *G.vaginalis*'in epitel hücrelerine yapışmasında bu maddenin rol oynadığı araştırmacılar tarafından gösterilmiştir [2].

*G.vaginalis* normal vajinal floranın üyesi olan bir mikroorganizmadır. Fakat BV enfeksiyonu durumunda sayıca çoğalarak (100-1000kat) baskın konuma geçmektedir [88]. Araştırmalar *G.vaginalis*'in BV olmayan kadınların vajinasından %26, BV enfeksiyonu durumunda ise %91 oranında izole edildiğini göstermiştir [80].

### 2.5.2.2. *Mobiluncus* Türleri

*Mobiluncus* türleri BV enfeksiyonlarında vajinadan izole edilen hareketli, anaerobik, kıvrık şekilli bakterilerdir. Bu organizma ilk olarak 1980'de büyük ve küçük olmak üzere iki farklı morfolojide tanımlanmış ve "süksinat üreten *Vibrio*'lar" olarak adlandırılmışlardır. *Vibrio* cinsine direkt olarak dahil edilememelerinin nedeni anaerobik olmaları ve karakteristik özelliklerinin bu cinste yer alan diğer mikroorganizmalarla uyuşmamasıdır [80]. Daha sonraki yıllarda Spiegel ve Roberts adlı araştırmacılar bu bakterileri yeni bir cins olan, "*Mobiluncus*" içerisinde sınıflandırmışlardır [89].

*Mobiluncus* türleri yavaş çoğalan organizmalar olup zenginleştirilmiş besi yerinde üretilirler. Bu türler spor oluşturmaz; katalaz, oksidaz ve hidrojen sülfür (H<sub>2</sub>S) negatiftir. Metabolik yan ürünleri süksinat, asetik asit ve laktik asittir. Gram boyanmaları negatif olmasına rağmen, elektron mikroskopik incelemeleri Gram pozitif hücre duvar yapısına sahip olduğunu göstermektedir. Gram pozitif bakterilere benzer yönleri, hücre duvar yapılarında lipopolisakkaritlerin bulunmaması ve penisiline duyarlı olmalarıdır [80].

*Mobiluncus* cinsine ait iki tür bulunmaktadır. Bunlar *Mobiluncus curtisii* ve *Mobiluncus mulieris*'tir. Morfolojilerine göre *M.curtisii* uzun kıvrık basil ve *M.mulieris* ise kısa kıvrık basil olarak da tanımlanmaktadır. İki türün ortak özellikleri ise hareketlerine olanak sağlayan çok sayıda kamçıya sahip olmalarıdır [89]. *M.mulieris* hücre yüzeyinde farklı noktalardan uzanan 8 adet kamçıya sahipken, *M.curtisii* tek bir noktadan uzanan 6 adet kamçıya sahiptir [80].

BV enfeksiyonunda *Mobiluncus* türlerine sık rastlanılmaktadır. Bu olgularının mikroskopik incelemeleri sonucu %77 oranında *Mobiluncus* türlerinin izole edildiği gösterilmiştir [80]. Işık mikroskopik incelemelerde üzerinde kıvrık basillerin bulunduğu hücreler "kıvrık hücre" olarak adlandırılmıştır. Elektron mikroskopik incelemelerde ise bakterilerin bir ucu ile (unipolar) epitel hücreleri yüzeyinde yer alan MÇlere tutundukları gösterilmiştir [89].

### 2.5.2.3. *Bacteroides* Türleri

*Bacteroides* türleri Gram negatif, spor formu olmayan, hareketsiz, zorunlu anaerobik mikroorganizmalardır [90]. Vajinal florada *Bacteroides*'lerin varlığı ilk kez 1928 yılında Burdon adlı araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalar ise bu türün normal vajinal flora üyesi olduğunu ortaya koymuştur. Vajinal florada bulunan bu türler *B.bivius*, *B.disiens*, *B.ruminicola*, *B.intermedius* ve *B.asaccharolyticus* olup, en sık rastlanan ise *Bacteroides bivius*'tur [7][90].

Yapılan bir araştırmada BV olgularında vajinadan izole edilen anaerobik bakterilerin %16,7'sini *Bacteroides* türünün oluşturduğunu gösterilmiştir [91].

### 2.5.2.4. *Mycoplasma hominis* ve *Ureaplasma urealyticum*

Mikoplazmalar kendi kendine çoğalma yeteneği olan ve serbest yaşayan en küçük organizmalardır. İnsanda bulunan 12 türü olmasına rağmen sadece üç tür genital sistemde bulunmaktadır. Bu üç tür *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* ve *Mycoplasma genitalium*'dur. Vajinal floranın doğal üyesi olan Mikoplazmalar ise *Ureaplasma urealyticum* ve *Mycoplasma hominis*'tir [92].

Mikoplazma türleri arasında sadece *U.urealyticum* üreyi metabolize edebilme özelliğine sahiptir. *U.urealyticum* eritrositlere ve diğer ökaryotik hücrelere tutunarak hemolizin üretir ve eritrositlerin lizisine neden olur. Bunlara ek olarak mukozal yüzeylerin korunmasında rol oynayan IgA antikorlarını parçalayan proteazları da sentezlemektedir. Hayvan deneyleri araştırmaları *U.urealyticum*'un vajinada kolonize olmasının hormonal olarak etkilendiğini göstermiştir. Bu çalışmaya göre artan östrojen miktarı bakterilerin vajinada çoğalmasını artırmaktadır [92].

BV ile ilişkili olan bir diğer Mikoplazma türü *M.hominis*'dir. *M.hominis* BV'li kadınların %24-75'inde bulunurken, BV şikayeti olmayan kadınların %11-22'sinde bulunmaktadır [93]. Bu organizma ökaryotik hücrelere tutunabilmektedir. *U.urealyticum*'da olduğu gibi vajinal kolonizasyonu, östrojen hormonuna bağlı olarak değişmektedir. BV olgularında sayıca artan *M.hominis*'in erken doğuma yol açtığı çalışmalarda gösterilmiştir [92].

### 2.5.2.5. *Prevotella* Türleri

*Prevotella* türleri Gram negatif, anaerobik, spor formu bulunmayan, hareketsiz ve pleomorfik basillerdir. Glukoz fermentasyonu yapmaktadırlar. Bu grupta yer alan bakterilerin fermentasyon son ürünleri asetik asit ve süksinik asittir [94]. Bu cinse ait bakteriler siyalidaz aktivitesine sahiptir. Bu enzim aracılığı ile glikoproteinler ve glikolipitlerin glikozil kalıntıları ile siyalik asit arasındaki bağlantıyı koparırlar. Aynı zamanda bu enzim virülans faktörü olarak da bilinmektedir. Briselden ve arkadaşları 1991 yılında BV(+) kadınların vajinal florasındaki mikroorganizma çeşitliliğini ve siyalidaz aktivitesini inceledikleri çalışmalarında, *Prevotella* türüne ait bakterilerin BV oluşturan türler arasında %15'lik kısmı oluşturduğunu ve siyalidaz aktivitelerinin olduğunu göstermişlerdir [95].

### 2.5.2.6. *Peptostreptococcus* Türleri

*Peptostreptococcus*'lar Gram pozitif, zorunlu anaerobik fakat bazı türleri aerotolerant, zincir, tetratlar ya da kümeler halinde görülen sporsuz koklardır [96]. Fermantasyon ürünleri çok çeşitli olup, süksinat, bütirat ve asetat bunlardan bazılarıdır. Araştırmalar vajinal florada artan süksinik asit konsantrasyonunun PMNL'lerin fagositoz yapmasını engellediğini ve kemotaktik uyarılara karşı cevaplarının azaldığını ortaya koymaktadır. *Peptostreptococcus* türlerinin bir diğer özelliği ise, proteaz enzimi üretmeleridir. Bu enzim ile proteinleri parçalayarak enerji kaynağı olarak kullanmaktadırlar [97].

*Peptostreptococcus* türleri; *P. anaerobius*, *P. asaccharolyticus*, *P. barnesae*, *P. heliotrinreducens*, *P. hydrogenalis*, *P. indolicus*, *P. lacrimalis*, *P. lactolyticus*, *P. magnus*, *P. micros*, *P. prevotii*, *P. productus*, *P. tetradius*, *P. vaginalis*'tir. Bu türlerden BV etkeni olanlar ise *P. asaccharolyticus*, *P. anaerobius*, *P. magnus*, *P. prevotii* ve *P. tetradius*'tur [97]. Aggarwal ve arkadaşları çalışmalarında, BV'li kadınların vajinal florasından izole edilen anaerobik organizmaların %53.3'ü *Peptostreptococcus* türlerinin oluşturduğunu göstermişlerdir [91].

### 2.5.3. BV Oluşum Mekanizması ve Risk Faktörleri

BV polimikrobiyal bir enfeksiyondur. Bu enfeksiyonun oluşmasında vajinal florada bulunan bakterilerin konsantrasyonları ve görülme sıklıkları çok önemlidir. Bu değişiklikleri sıralayacak olursak;



1. Vajinal floranın asiditesinden sorumlu olan ve koruyucu rol oynayan Laktobasillerin sayısındaki azalma sonucu, *G.vaginalis*, *M.hominis*, *Peptostreptococcus* ve *Bacteroides* gibi bakteriler çoğalarak floraya hakim konuma geçerler. Bunun sonucunda vajinal pH yükselir.
2. Vajinal florada anaerobik bakterilerin artışı proteolitik karboksilaz enzimlerinin miktarını fazlalaştırmaktadır. Yüksek pH koşullarında bu enzimler vajinal peptidleri aminlere parçalarlar.
3. Bu aminler çok katlı yassı epitel hücrelerinin dökülmesine ve vajinal sıvının artmasına yol açarak BV'ye karakteristik olan akıntının oluşumuna neden olurlar [79][81].

Araştırmalarda artan pH ortamında *G.vaginalis*'in dökülen epitel hücrelerine daha iyi tutunduğu, vajinal florada artan amin miktarının ise *M.hominis* için substrat kaynağı olduğunu ve organizmaların çoğalmasında rol oynadığı bildirilmektedir [79]. BV'nin risk faktörleri arasında vajinal floranın asiditesini ve bakteriyel çeşitliliğini bozan faktörler de bulunmaktadır. Bunlar arasında rahim içi araç kullanımı, antiseptik su ile vajinanın yıkanması, antibiyotik kullanımı, hamilelik, korunmasız ve fazla cinsel ilişki yer almaktadır [79][81].

#### **2.5.4. BV Tanı Kriterleri ve Tanıda Kullanılan Yöntemler**

##### **2.5.4.1. Klinik Tanı Kriterleri**

BV'nin tanı kriterleri Amsel ve arkadaşlarının çalışmaları sonucunda belirlenmiştir. Bu kriterler;

1. Vajinal pH'nın 5'den büyük olması (pH>5)
2. Homojen, yapışkan özellikte, grimsi-beyaz bir akıntı
3. Pozitif whiff testi
4. "clue cell" hücrelerinin varlığıdır [79][80][88].

BV enfeksiyonunda normal vajinal flora üyesi olan Laktobasillerin sayıca azalması, laktik asit üretiminin de azalmasına neden olmaktadır. Bu durum ise normal koşullarda 4.5 olan vajinal pH'nın yükselmesine yol açmaktadır [79]. BV'li

kadınların %91'inde vajen pH'sının 5'in üzerinde olduğu bulunmuştur. Araştırmacılar tanıda kullanılan pH kriterinin hassas fakat özgül bir yöntem olmadığını savunmaktadırlar [88]. Çünkü yapılan araştırmalar vajinal pH'nın menstrual dönemdeki kanamalar, servikal sıvılar ya da semenden dolayı da değişebildiğini göstermektedir [82].

Vajinanın normal koşullardaki akıntısı beyaz ve kıvamlı olup pH'sı yaklaşık olarak 4-4.5'dur. BV'li hastalarda ise grimsi-beyaz renkte, yapışkan, normale göre daha akışkan bir akıntı görülmektedir. Bu akıntının bakteriyel metabolik ürünler olan aminlerden kaynaklandığı bilinmektedir [88].

BV tanı kriterleri arasında yer alan "balık kokusu tarzında akıntı" tanımlaması ilk kez Pfeifer ve arkadaşları tarafından vajinal akıntı örneklerine %10'luk potasyum hidroksit (KOH) damlatılmasıyla tanımlanmıştır. Vajinal florada dekarboksilasyon metabolizması sonucu açığa çıkan aminler, KOH damlatılması sonucu artan pH'dan dolayı uçucu hale gelmekte ve balık kokusuna benzer bir koku yaymaktadırlar [88]. Bu metod whiff testi olarak da bilinmektedir [79][80][81].

Yaymalarda "clue cell" tipi hücrelerin varlığı da en önemli BV tanı kriterleri arasında yer almaktadır. Gardner ve Duke servikal yaymalarda üzeri bakterilerle kaplı olarak görülen vajinal epitel hücrelerini "clue cell" olarak tanımlamışlardır. Bu hücrelerin sınırları, yapışan çok sayıda bakteriden dolayı ayırt edilememektedir. İlk araştırmalar sadece *G.vaginalis*'in "clue cell" tipi hücre oluşturduğunu göstermekle birlikte, daha sonraki çalışmalar *Mobiluncus* türlerinin de vajinal epitel hücrelerinin yüzeyine yapışabildiğini göstermektedir [88]. BV tanısında kullanılan en güvenilir metod, bu hücre tipinin Papanicolaou (PAP) simirlerinde görülmesidir [79]. Araştırmacılar epitel hücrelerinin %20'sinin clue cell görünümünde olmasının BV tanısında belirteç olduğunu göstermişlerdir [80].

#### **2.5.4.2. BV Tanısında Kullanılan Yöntemler**

##### **2.5.4.2.1 Papanicolaou Boyama Yöntemi**

Papanicolaou (PAP) yöntemi, serviko-vajinal yaymalarda bakteriyel flora değişikliklerinin değerlendirilmesini kapsayan bir metottur. Işık mikroskopik olarak

yapılan bu inceleme yönteminde önemli olan kriterler; (i) clue cell hücrelerinin görülmesi, (ii) ortamda laktobasillerin az sayıda bulunması ya da hiç bulunmaması, (iii) PMNL'lerin görülmemesi ve (iv) zeminde serbest halde kok veya kokobasillerin görülmesidir.

Clue cell hücrelerinin yaymalarda görülmesi BV tanısında güvenilir bir habercidir [79]. BV'nin klinik tanı yöntemleri ile karşılaştırıldığında clue cell hücrelerinin görülmesi %90 hassasiyet ve %97 özgüllük sağlamaktadır [88]. Araştırmalar BV olgularında clue cell oluşturan bakterilerin büyük bir kısmının *Gardnerella vaginalis* olduğunu, *Mobiluncus* ve *Bacteroides* türlerinin de daha az oranda olmakla birlikte epitel hücrelerine yapıştığını göstermiştir [98].

PAP yöntemi ile incelenen yaymalarda dikkat çeken bir diğer özellik ise ortamda PMNL bulunmamasıdır. PMNL hücreleri enfeksiyon durumunda ortama gelerek patojen organizmaları fagosite etme yeteneğindedirler. Fakat BV enfeksiyonuna yol açan bakteriler tarafından salınan aminler, PMNL hücrelerinin ortama gelmesini engellemektedirler [97].

#### **2.5.4.2.2.Gram Boyama Yöntemi**

Gram boyama yöntemi ilk kez Dunkelberg tarafından BV olgularında *G.vaginalis*'i belirlemek amacıyla kullanılmıştır [80]. Bu yöntem yaymalarda sadece küçük Gram negatif basillerin görülmesine dayanmaktadır. Yaymalarda görülen büyük Gram pozitif basiller Laktobasil olarak değerlendirilmektedir. Gram değişken olarak görülen küçük basiller ise *G.vaginalis* olarak tanımlanmaktadır. Her iki morfolojinin birlikte görüldüğü yaymalar ise normal olarak değerlendirilmektedir. Fakat *Gardnerella* morfolojisinin dışında, Gram negatif kıvrık basillerin, Gram pozitif kokların görüldüğü yaymalar BV olarak kabul edilmektedir. Bu yaymalarda laktobasiller ise görülmemektedir [80][88]. Yapılan araştırmalarda bu yöntemin hassasiyetinin %93, özgüllüğünün ise %70 olduğu bildirilmektedir [79].

#### **2.5.4.2.3.Gaz-Sıvı Kromatografisi**

BV tanısında kullanılan bir diğer yöntem de gaz-sıvı kromatografisidir. Bu yöntemde vajinal yıkama veya akıntı örneği tuzlu su ya da distile su içerisine alınarak analiz edilmektedir. Yöntemin amacı BV enfeksiyonunda bakteriler

tarafından üretilen organik asitlerin belirlenmesidir. Enfeksiyona yol açan bakterilerin karakteristik olan metabolik yan ürünlerinden yola çıkılarak organizmalar tespit edilmektedir. Laktobasiller çoğunlukla laktik asit, *G.vaginalis* asetik asit, *Prevotella*, *Bacteroides* ve *Mobiluncus* türlerinin ise süksinik asit ürettikleri bilinmektedir. Ayrıca *Prevotella* ve *Bacteroides* türleri bütirik asit, propiyonik asit ve izovalerik asit de üretmektedirler [88].

BV olgularında azalan Laktobasil konsantrasyonuna bağlı olarak laktik asit miktarı azalırken, diğer organik asitlerin miktarı ise artmaktadır. Vajinal sıvıdaki süksinik asit / laktik asit oranının 0.4'den büyük olması BV'nin tanı kriteri olarak kullanılmaktadır [88]. Bu yöntem BV tanı yöntemi olmasına rağmen çoğu hastane ve laboratuvarında bu cihazın olmamasından dolayı rutinde kullanılmamaktadır [80].

#### **2.5.4.2.4.Prolin Aminopeptidaz Aktivitesi**

Prolin aminopeptidaz yöntemi BV tanısında hızlı sonuç veren bir yöntemdir. Bu yöntem prolin aminopeptidaz enzim aktivitesinin belirlenmesine dayalı olarak yapılmaktadır. Bu yöntemde göre vajinal florada yer alan enzim, L-prolin  $\beta$  naptilamidi naptilamine ayırmaktadır [88]. Üzerine Fast Garnet diazonyum tuzu ilave edildiğinde ise kırmızı ya da pembe bir renk oluşumu gözlenmektedir. Gaz-sıvı kromatografisi ile karşılaştırıldığında daha hassas (%81) olan bu yöntemin özgüllüğü ise %96'dır [80].

#### **2.5.4.2.5.G.vaginalis Kültürü**

BV tanısında kullanılan yöntemlerden biri de *G.vaginalis*'in kültür yöntemi ile izole edilmesidir. Kültür yöntemi BV tanısında düşük hassasiyete sahiptir. Çünkü *G.vaginalis* normal vajen florasında yer alan bir mikroorganizmadır. Bu nedenle BV'li ve sağlıklı kadınların kültür yöntemi sonuçları benzer çıkabilmektedir. Yapılan bir araştırmada sağlıklı vajinal flora sahip kadınların %55'inden fazlasında kültür yöntemi ile *G.vaginalis* izole edilebilmiştir [88].

#### **2.5.4.2.6.BVBlue Test**

BVBlue Test, BV enfeksiyonunun tanısında kullanılan basit ve hızlı sonuç veren bir yöntemdir. Yöntemin temeli siyalidaz enzim aktivitesinin belirlenmesine dayanmaktadır. Siyalidaz enzimi *Bacteroides*, *Gardnerella* ve *Prevotella* türleri

tarafından üretilmektedir. Yapılan araştırmalarda, BV'li kadınların %96'sında siyalidaz aktivitesinin pozitif olduğunu göstermiştir [99].

Bu testin uygulanmasında, hastalardan alınan serviko-vajinal akıntı örnekleri BVBlue test kutusuna batırılmakta ve 10 dakika boyunca 37°C'de inkübe edilmektedir. Daha sonra örnek üzerine birkaç damla BVBlue solüsyonu damlatılıp, gözlenen renk değişikliği anlık olarak kaydedilmelidir. Mavi ya da yeşil renk değişikliği örnekte siyalidaz aktivitesinin yüksek olduğunu ve testin pozitif çıktığını, sarı renk ise enzim aktivitesinin olmadığını dolayısıyla negatif sonucu göstermektedir [99].

BV tanısında kullanılan bu yöntemde alınan örneğin ilgili birime taşınması, boyanması, mikroskopik olarak değerlendirilmesi gibi zaman ve emek isteyen PAP ve Gram boyama yöntemine göre daha çabuk sonuç elde edilmesi nedeniyle avantaj sağlarken, karışık enfeksiyon durumlarında (Trichomonas vaginalis, mantar enfeksiyonları vb) siyalidaz aktivitesinin kaynağının belirlenememiş olması dezavantaj oluşturmaktadır. Bu nedenle bu test PAP ve Gram boyamanın yerini alamamıştır. Ayrıca yanlış sonuçları önlemek için vajinal duş ve cinsel ilişki sonrasında, sperm öldürücü ve vajinal kayganlaştırıcı kullanımının ardından BVBlue testin uygulanmaması önerilmektedir [99].

#### **2.5.4.2.7. Taze İnceleme**

Taze inceleme metodunda, hastadan alınan serviko-vajinal örnekler öncelikle lama yayılır ve üzerine %0,9'luk NaCl çözeltisinden birkaç damla ilave edilerek incelemeye hazır hale getirilir. Daha sonra ışık mikroskopunda 40'luk objektif kullanılarak incelenir. BV tanısı verilebilmesi için, toplam hücrelerin %20'sinden fazlasının clue cell tipi hücre olması gerekmektedir [100].

#### **2.5.5. Tedavi**

BV polimikrobiyal bir enfeksiyondur. Bu nedenle tedavisi zordur. Tedavi yöntemi oral ve intravajinal olmak üzere iki farklı şekilde uygulanmakta olup, hamile kadınlara daha düşük dozlarda bir tedavi uygulanmaktadır.

Metronidazole BV'nin oral tedavisinde kullanılan bir antibiyotik çeşididir. Bu ilaç Gram negatif anaerobik bakterilere karşı etkili olmasına rağmen *G.vaginalis* ve *Peptostreptococcus*'lara karşı zayıf bir etki göstermektedir. Metronidazole 'ün önemli bir özelliği ise fakültatif Laktobasillere karşı zararlı etkisinin olmamasıdır. Böylece bu organizmalar çoğalabilmekte ve sağlıklı vajinal floranın tekrar oluşturulmasını sağlanmaktadır [88]. Yapılan çalışmalarda farklı dozlarda ve kullanım sıklığında Metronidazole hastalara verilmiş ve sonuçlar değerlendirilmiştir. Buna göre en uygun tedavi dozu ve uygulama biçiminin 500 mg Metronidazole'un 7 gün boyunca günde 2 kere ağız yolu ile alınması olarak belirlenmiştir. Yüksek riskli hamile kadınlarda uygulanan BV tedavisi ise Metronidazole'nin günde 3 defa 250 mg'lık dozda 7 gün boyunca alınması şeklindedir [101].

Araştırmalar Metronidazol'un intravajinal yolla alındığında da BV tedavisine etkili olduğunu göstermiştir. Intravajinal tedavide ise 7 gün boyunca günde 1 defa 500 mg Metranidazol alınması önerilmektedir. Araştırmalar intravajinal yöntemin tedavi başarısının (%79) oral yöntemle (%74) oranla daha yüksek olduğunu göstermiştir (1,9). Buna ek olarak Metronidazol jel (%0.75) günde 2 defa 5 gün kullanılmak koşuluyla intravajinal BV tedavisinde önerilen bir yöntemdir [101].

BV tedavisinde kullanılan bir diğer antibiyotik ise Clindamycin'dir. Clindamycin anaerobik bakterilere ve *G.vaginalis*'e karşı etkili bir antibiyotiktir. Yapılan araştırmalarda 7 gün boyunca günde 2 kez 300 mg Clindamycin kullanıldığında BV tedavi oranının %94 olduğu bulunmuştur [88]. Özellikle Metronidazol'ün hamileliğin erken dönemlerinde teratojenik etki gösterdiği ve bazı hamile kadınlar tarafından tolere edilemediği durumlarda Clindamycin tedavisi faydalı olmaktadır [80][88]. Ayrıca Clindamycin vajinal krem (%2) günde 1 defa olmak üzere 7 gün boyunca kullanıldığında intravajinal tedavide etkili bir yöntemdir [101].

"Laktat jel" ise BV'nin intravajinal tedavisinde kullanılan bir diğer yöntemdir. Bu jel laktik asit ve Laktobasillerin çoğalması için gerekli maddeleri içermektedir. Jelin pH'sı 3.5 – 3.8 'e tamponlanmıştır. Laktat jel 1 hafta boyunca her gece 5 ml kullanıldığında oral Metronidazol tedavisi kadar etkili sonuç vermektedir [80][88].

Bunların dışında tetracycline ve erythromycin de BV tedavisinde kullanılmaktadır. Tetracycline *G.vaginalis*'e karşı etkili olmasına rağmen düşük anaerobik etkiye sahip olduğundan, erythromycin ise vajinal pH da inaktif olduğundan tedavide tercih edilmemektedir [80].

BV erken doğum, fetal zarların iltihaplanması, pelviğin iltihabi hastalığı, endometrit, idrar yolu enfeksiyonu ve operasyon sonrası vajinal cuff enfeksiyonlarıyla da ilişkili bulunmuştur [81]. Bu nedenle tedavisi edilmesi çok önemlidir. Fakat araştırmalar bu enfeksiyonun tedavisinin tam olarak yapılamadığını ve tekrarlayan BV olgularının sık olduğunu göstermektedir. Bu durumun olası nedenlerinin BV etkeni bakterilerin antibiyotiklere karşı kazanmış oldukları direnç ve bazı bakteriler tarafından sentezlenen biyofilm materyali olduğu düşünülmektedir [102].

### 3. YÖNTEM VE GEREÇLER

Tez çalışmamız kapsamında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'na rutin kontrol için gelen ve gebe olmayan 23 - 81 yaş arasındaki 200 hasta değerlendirilmiştir. Hastalardan serviko-vajinal örnekler alınmadan önce yaş, son adet tarihi, gebelik sayısı, geçirdiği jinekolojik operasyonlar, rahim içi araç kullanımı, akıntı ve kaşıntı gibi jinekolojik şikayetleri ile ilgili veriler toplanmış ve bilgisayara kaydedilmiştir. Jinekolog tarafından sitobraş (cytobrush) ile alınan serviko-vajinal akıntı örneği hem sitolojik hem de taramalı elektron mikroskopik inceleme için hazırlanmıştır. Elde edilen tüm değerler istatistiksel analiz için kaydedilmiştir. Araştırmanın istatistiksel analizleri SPSS (Statistical Package of Social Sciences) paket 15.0 programındaki "chi-square" ve "Fisher's Exact Test" kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel anlamlılık sınırı  $p < 0.05$  olarak kabul edilmiştir.

#### 3.1. Örneklerin Alınması

Sitolojik inceleme için sitobraş ile alınan akıntı örneği lama tek yönlü olarak yayılmış ve havada kurutulmadan %96'lık etil alkol tespit solüsyonu bulunan şaleye konulmuştur. Aynı fırçada geride kalan materyal lamel üzerine de yayılarak havada kurutulmadan taramalı elektron mikroskopik inceleme için %2.5'lik soğuk glüteraldehit bulunan küçük cam kavanoz içerisinde muhafaza edilmiştir.

#### 3.2. Örneklerin Işık Mikroskopik İnceleme İçin Hazırlanması

Tespit solüsyonu içinde bulunan serviko-vajinal yaymalar Sitoloji Laboratuvarında rutin Papanicolaou boyama metoduna göre boyanmıştır. Bu boyama yönteminde %96'lık etil alkol içerisine alınan örnekler öncelikle azalan alkol serisinden (%70 ve %50'lik etil alkol) geçirilerek rehidratasyon işlemi yapılmıştır. Daha sonra distile suda yıkanan örnekler Hematoksilen boyasında 3 dakika bekletilmiştir. Boyanın uzaklaştırılması için musluk suyunda yıkama işlemi yapılmıştır. Ardından %1'lik hidroklorik asite daldırılıp çıkarılan örnekler distile suda tekrar yıkanmıştır. Yıkamanın ardından doymuş lityum karbonat çözeltisine alınan örnekler, artan alkol serisinden geçirililerek Orange G boyasında 2 dakika boyanmıştır. Tekrar %95'lik alkole alınan örnekler, Eozin asit boyasında 2 dakika boyanmıştır. Boyamanın sonrasında alkole alınan örnekler daha sonra ksilen içerisinde



bekletilmiştir. Ksilende parlatma işleminden sonra lam üzerine entellan damlatılıp lamel ile kapatılarak mikroskopik inceleme için hazır hale getirilmiştir. Hazırlanan bu örnekler binoküler ışık mikroskopunda x10, x40, x60 ve x100 objektifler kullanılarak incelenmiştir. BV enfeksiyonu açısından önemli olduğu tespit edilen alanlar işaretlenerek daha sonra fotoğrafları çekilmiştir. Fotoğraf çekiminde "Leica" marka trinoküler floresan ataçmanlı dijital mikroskobun x60 ve x100'lük objektifleri kullanılmıştır.

### **3.3. Örneklerin Taramalı Elektron Mikroskopik (SEM) İnceleme İçin Hazırlanması**

Hastalardan alınan serviko-vajinal akıntı örnekleri öncelikle lamel üzerine yayılmıştır. Bu örnekler kurutulmadan %2.5'lik Gluteraldehit (pH 7.2, fosfat tamponlu) içine konularak, +4°C 'de 3 gün bekletilmiştir. Daha sonra fosfat tamponunda 2-3 kez yıkanmıştır. Yıkamanın ardından örnekler artan etil alkol serisinden geçirilerek dehidrasyon işlemi tamamlanmış ve kritik nokta kurutma cihazında basınç altında sıvı CO<sub>2</sub>'de kurutulmuştur (CPD, Critical Point Dryer, Polaron 7501). Taramalı elektron mikroskopunda (SEM) incelenmek üzere SEM staplarına yerleştirilen örneklerin üzeri, iletkenliğin sağlanması için altınla kaplanmıştır (Polaron SC502 Sputter Coater). Taramalı elektron mikroskopunda (JEOL JSM 6060 Scanning Electron Microscope) 5-15 kV (accelarating voltage) de çalışılan örneklerin görüntüleri dijital ortama aktarılmıştır.

## 4. SONUÇLAR

Araştırmamızda yer alan 200 hastanın serviko-vajinal örnekleri hem sitolojik hem de taramalı elektron mikroskopik olarak incelenmiş ve sitolojik inceleme ile elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmeleri yapılmıştır. Işık mikroskopik olarak BV enfeksiyonunun varlığı tespit edilen hasta örneklerinde epitel hücre bakteri ilişkisi taramalı elektron mikroskopu ile detaylı olarak incelenmiştir. Çalışmamızda yer alan 200 hastadan BV pozitif [BV(+)] olan 10 hasta çalışma grubu olarak, BV negatif [BV(-)] olan 190 hasta ise kontrol grubu olarak kabul edilmiştir.

### 4.1. Serviko-vajinal Örneklerin Sitolojik Yöntemle İncelenmesi ve İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Araştırmamız kapsamındaki 200 hastanın 10'unda saptanan BV(+) olguların hepsinde "clue cell" tipi hücreler görülmüştür (Şekil 4.1). BV(+) hastaların 8'inde serbest kok ve kokobasiller yoğun olarak görülürken 2'sinde ise az miktarda izlenmiştir. Clue cell ve serbest kokların yoğun olduğu BV(+) hastaların hiç birinde laktobasil görülmemiş olup, yaymaların sadece 3'ünde az sayıda PMNL'ye rastlanılmıştır (Şekil 4.2).

BV (+) olguların saptanmasında başvurmuş olduğumuz clue cell tipi hücre görülmesi, serbest kok ve kokobasillerin varlığı, laktobasillerin ve PMNL'lerin ise ortamda bulunmaması gibi tanı kriterlerinin istatistiksel değerlendirilmeleri ayrı ayrı yapılmış ve çizelge 4.1'de sunulmuştur. Tüm tanı kriterleri istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).

BV (+) hastalarda dikkat çeken diğer bir bulgu clue cell tipi hücreler ile eritrositlerin ilişkisi olmuştur. BV (+) hastaların 3'ünde (%30,0) eritrosit gözlenirken, 7'sinde (%70,0) gözlenmemiştir. Clue cell tipi hücrelerin etrafında hemen hemen hücre ile yapışık olacak şekilde yaklaşmış eritrositler ve eritrosit zarlarıyla adeta kaynaşmış olan serbest koklar dikkat çekmiştir (Şekil 4.3).

BV(+) hastalar diğer enfeksiyon etkenleri ve hücreler açısından değerlendirildiğinde ise 10 hastanın 1'inde (%10,0) seyrek makrofaj (Şekil 4.4), 1'inde (%10,0) *Trichomonas vaginalis* (Şekil 4.3), 1'inde (%10,0) ASCUS (Atypical Cells of Undetermined Significance) (Şekil 4.5), 1'inde (%10,0) LSIL (Low Grade

Squamous Intraepitelial Lesion) (Şekil 4.6) ve 1'inde (%10,0) HSIL (High Grade Squamous Intraepitelial Lesion) (Şekil 4.7) görülmüştür.

Şekil 4.4'te BV(+) hastada görülen makrofajların sitoplazmalarında geniş vakuoller görülmüştür. Ayrıca makrofaj zarına çok yakın yerleşmiş olan eritrositler ile eritrositlerin etrafında ve üstünde yoğun olarak serbest kokların bulunduğu dikkat çekmiştir. Bazı eritrositlerin zarı ile makrofaj zarı arasında adeta bir köprü oluşumu izlenmiştir.

Kontrol grubu hastalarının birinde ilginç bir makrofaja rastlanılmış olup, makrofaj sitoplazması içerisinde apoptotik cisimcikler olduğunu düşündüğümüz hücre çekirdeklerinin varlığı dikkat çekmiştir (Şekil 4.8).

Şekil 4.2'de görüldüğü gibi clue cell tipi hücre saptanan bir yaymada eritrositlerin yanı sıra *Trichomonas vaginalis* varlığı da ilginç bir bulgu olmuştur. Ayrıca *T.vaginalis* zarının etrafında serbest kokların çok yoğun bulunduğu, serbest koklar ile *T.vaginalis* zarının adeta kaynaştığı görülmüştür.

BV(+) hastalarda hücresel atipi açısından olgular incelendiğinde şekil 4.5'de görüldüğü gibi ASCUS kategorisinde yer alan iri çekirdeğe ve az miktarda sitoplazmaya sahip bir hücre ile bu hücrenin etrafında eritrositlerin yer aldığı, bazı eritrositlerin hücre zarına çok yaklaştığı görülmüştür. Zeminde bulunan serbest kokların eritrositlerin etrafında adeta eritrositlerle kaynaşmış olarak yer aldığı, eritrosit zarına yapıştığı, eritrositlerin şekillerini kaybederek zarlarında içeri doğru çöküntüler oluşturduğu dikkat çekmiştir.

Şekil 4.6'da çekirdekleri irileşmiş, orta derecede hiperkromatizmin var olduğu ve sitoplazmada geniş koilosların bulunduğu LSIL kategorisindeki koilositik atipik hücreler görülmüştür.

Şekil 4.7'de ise çekirdeği ileri derecede irileşmiş ve hiperkromatizm gösteren, çekirdek zarında düzensizliklerin olduğu ve sınırlarının bozulduğu, çok az sitoplazması bulunan HSIL kategorisindeki bir epitel hücresi görülmüştür. Bu hücrenin bulunduğu alanda serbest koklar ve bol eritrositler dikkat çekmiştir.

Ayrıca kontrol grubu hastalarından 1'inde (%0.5) şekil 4.9'da görüldüğü gibi sitoplazmayı hemen hemen tamamen kaplamış olan, sitoplazmasının ince bir çizgi

gibi görülebildiği, çekirdeğin hafif derecede lobülleşmenin dikkat çektiği bir adet Atipik Glandular Hücre (AGC) görülmektedir.

Kontrol grubunda yer alan hastaların preparatlarında kandidal hif ve blastosporlar, metaplazik hücreler ve silli endoservikal hücreler görülmüştür. Hücrelerin üzerlerine yapışmış olan hifler ve etraflarında boşlukların bulunduğu blastosporlar dikkat çekmiştir (Şekil 4.10). Şekil 4.11'de normal bir epitel hücresinin üst kısmında dizilmiş, sitoplazmik uzantılara sahip metaplazik hücreler dikkat çekmiştir. Ayrıca 3 adet yan yana sıralanmış, apikalinde sillerin olduğu ve bir eritrositin sillere çok yakın bulunduğu endoservikal hücreler de kontrol grubundaki olgularda görülmüştür (Şekil 4.12).

Hem çalışma grubu hem de kontrol grubundaki hastaların elde edilen sitolojik bulgularının istatistiksel değerlendirilmesi çizelge 4.2'de gösterilmiştir. Çalışma grubundaki hastaların sayısının çok az olması nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı olmamasına karşın bulgular kendi içerisinde değerlendirildiğinde anlamlı olarak kabul edilmiştir ( $p < 0,05$ ).

BV(+) hastalar klinik şikayetler açısından istatistiksel olarak incelenmiş ve sonuçlar tablo 4.3'te gösterilmiştir. Tablo da görüldüğü gibi akıntı ve kaşıntı şikayetleri ile BV enfeksiyonu arasında anlamlı bir ilişki görülürken ( $p < 0,05$ ), yanma şikayeti ile anlamlı bir ilişki görülmemiştir.

**Çizelge 4. 1:** Çalışma grubundaki hastalar ile kontrol grubundaki hastaların PAP yaymalarının BV kriterleri açısından değerlendirilmesi

<b>BV Kriterleri</b>	<b>Çalışma grubu (n=10)</b>	<b>Kontrol grubu (n=190)</b>	<b>P değeri</b>
<b>Clue Cell</b>			*p= 0,000
VAR	10 (%100)	0(%0,5)	
YOK	0 (%0)	190(%99,5)	
<b>Serbest kok ve kokobasil</b>			*p= 0,000
VAR	8 (%80,0)	30 (%15,8)	
YOK	2 (%20,0)	160 (% 84,2)	
<b>PMNL</b>			*p= 0,010
VAR	3 (%30,0)	136 (%71,6)	
YOK	7(%70,0)	54 (% 28,4)	
<b>Laktobasil</b>			*p= 0,016
VAR	0 (%0)	66 (%34,7)	
YOK	10 (%100)	124 (%65,3)	

\*p < 0,05 anlamlı olarak kabul edilmiştir.

**Çizelge 4. 2:** Çalışma ve kontrol grubu hastalarından elde edilen sitolojik bulguların karşılaştırılması

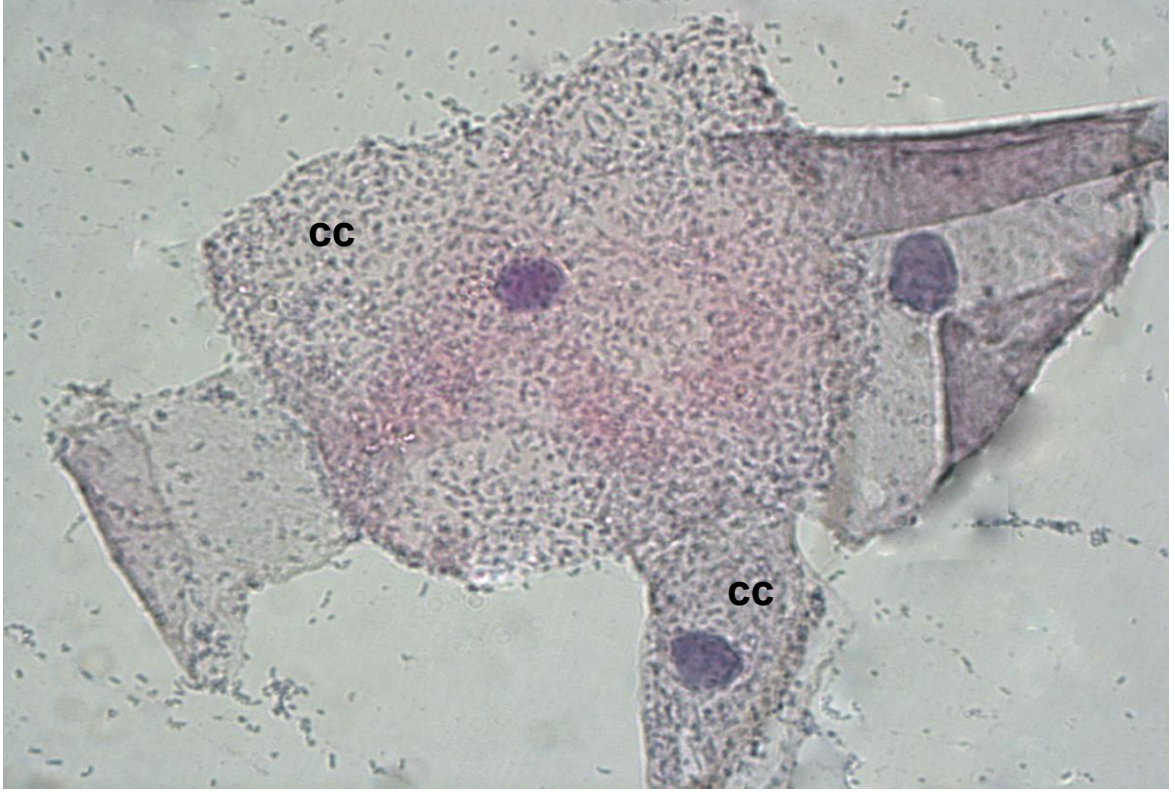
<b>Sitolojik Bulgular</b>	<b>Çalışma grubu (n=10)</b>	<b>Kontrol grubu (n=190)</b>	<b>P değeri</b>
<b>Eritrosit</b>			
VAR	3 (%30,0)	103 ( %54,2)	p= 0,121
YOK	7 (%70,0)	87 ( %45,8)	
<b>Makrofaj</b>			
VAR	1 (%10,0)	66 (%34,7)	p= 0,096
YOK	9 (%90,0)	124 (%65,3)	
<b>Kandidal hif ve blastospor</b>			
VAR	0 (%0)	12 (%6,3)	p= 0,531
YOK	10 (%100)	178 (%93,7)	
<b>ASCUS</b>			
VAR	0 (%0)	1(%0,5)	p= 0,950
YOK	10 (%100)	189 (%99,5)	
<b>LSIL</b>			
VAR	1 (%10,0)	1(%0,5)	p= 0,098
YOK	9 (%90,0)	189 (%99,5)	
<b>HSIL</b>			
VAR	1 (%10,0)	0 (%0)	p= 0,050
YOK	9 (%90,0)	190 (%100)	
<b>Over Kanseri (AGC)</b>			
VAR	0 (%0)	1(%0,5)	p= 0,950
YOK	10 (%100)	189 (%99,5)	

\*p < 0,05 anlamlı olarak kabul edilmiştir.

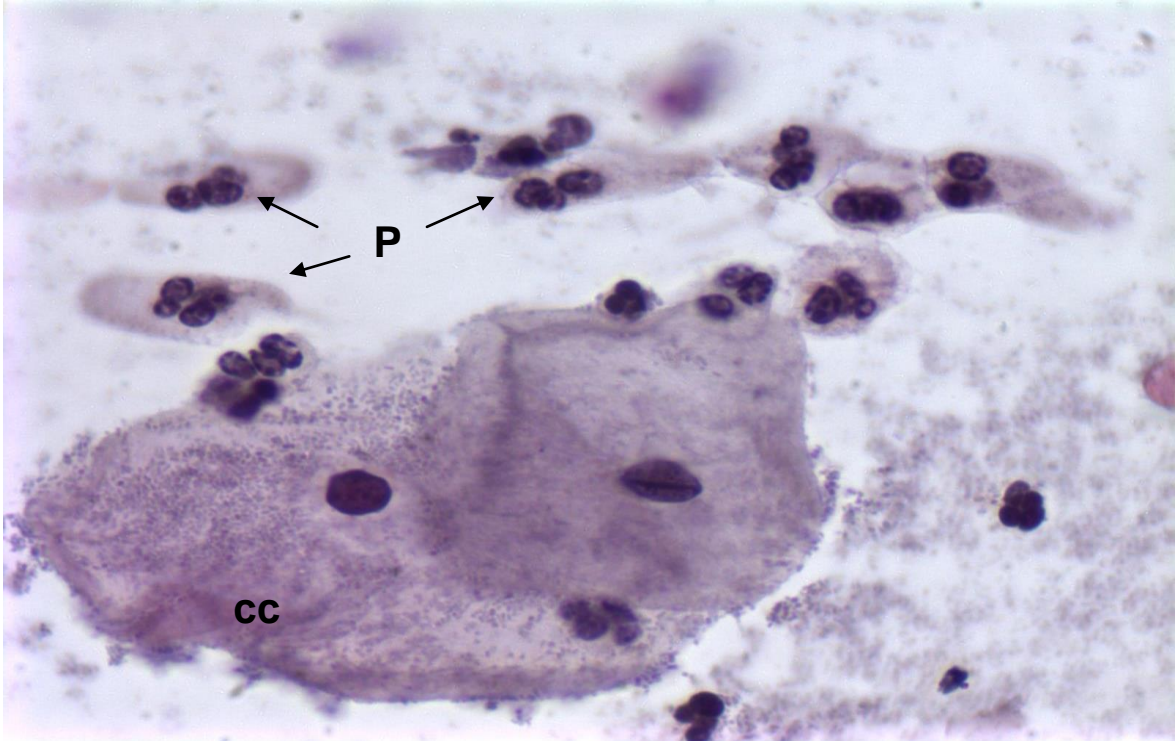
**Çizelge 4. 3:** Çalışma grubundaki hastalar ile kontrol grubundaki hastaların klinik şikayetlerinin değerlendirilmesi

<b>Klinik Şikayetler</b>	<b>Çalışma Grubu (n=10)</b>	<b>Kontrol Grubu (n=190)</b>	<b>p değeri</b>
<b>Akıntı</b>			
VAR	3 (%9,4)	29 (%4,2)	p= 0,202
YOK	7 (%90,6)	161 (%95,8)	
<b>Kaşıntı</b>			
VAR	0 (%0)	3 (%1,6)	p= 0,857
YOK	10 (%100)	187 (%98,4)	
<b>Yanma</b>			
VAR	0 (%0)	3 (%1,6)	p= 0,857
YOK	10 (%100)	187 (%98,4)	

\* p < 0,05 anlamlı olarak kabul edilmiştir.

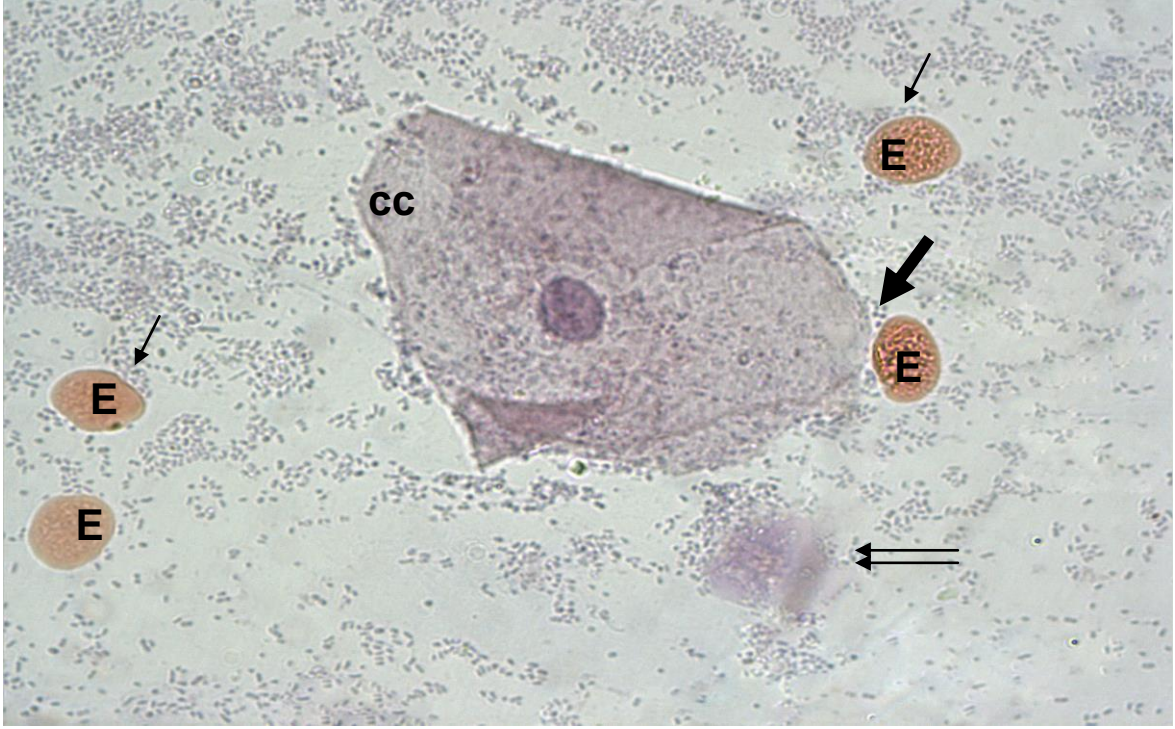


**Şekil 4. 1:** Üzeri bakterilerle kaplı iki clue cell (cc) tipi hücre görülmektedir (Papanicolaou x 1000).



**Şekil 4. 2:** Clue cell tipi hücrelerin (cc) etrafında dizilmiş polimorfonükleer lökositler (P) görülmektedir (Papanicolaou x 1000).



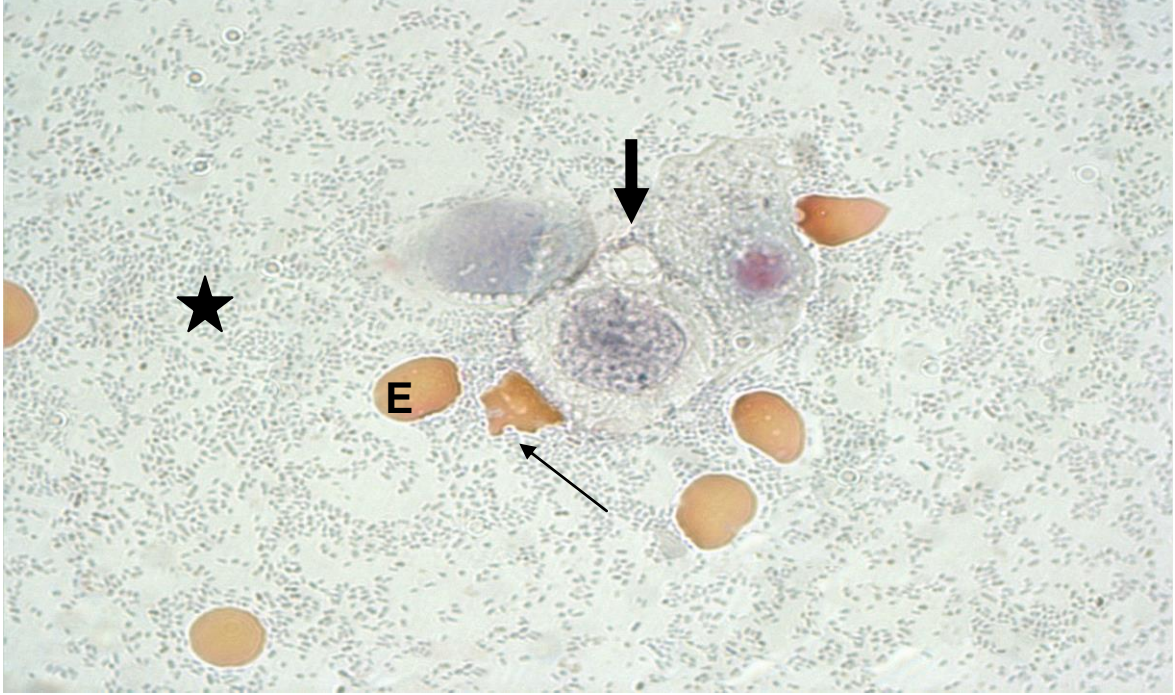


**Şekil 4. 3:** Clue cell tipi hücre (cc), hücrenin etrafında eritrositler (E), bu eritrositlerden birinin hemen hemen clue cell tipi hücre zarına yapışık olacak şekilde yaklaşmış olması (kalın ok), eritrositlerin etrafında eritrosit zarı ile kaynaşmak üzere olan serbest koklar (ok) ve serbest koklar arasında bir adet *Trichomonas vaginalis* (çift ok) (Papanicolaou x 1000).



**Şekil 4. 4:** Sitoplazmasında geniş vakuollerin ve vakuoller içerisinde fagosit edilmiş maddelerin bulunduğu bir makrofaj (M) ve etrafında sıralı dizilim gösteren eritrositler (ok) görülmektedir. Eritrositlerin üzerinde bakterilerin (ok başı) bulunduğu dikkat çekmektedir (Papanicolaou x 1000).





**Şekil 4. 5:** BV (+) hasta preparatında etrafta çok bol serbest koklar (yıldız), ortada çekirdeği irileşmiş ve çekirdek çevresinde az miktarda sitoplazması olan ASCUS kategorisindeki hücre (kalın ok) ve etrafında eritrositler (E) görülmektedir. Bazı eritrositlerin tamamen şeklini kaybettiği, zarının bozularak çukurluklar oluşturduğu ve zarının içeri doğru çöktüğü dikkat çekmiştir (ok) (Papanicolaou x 1000).

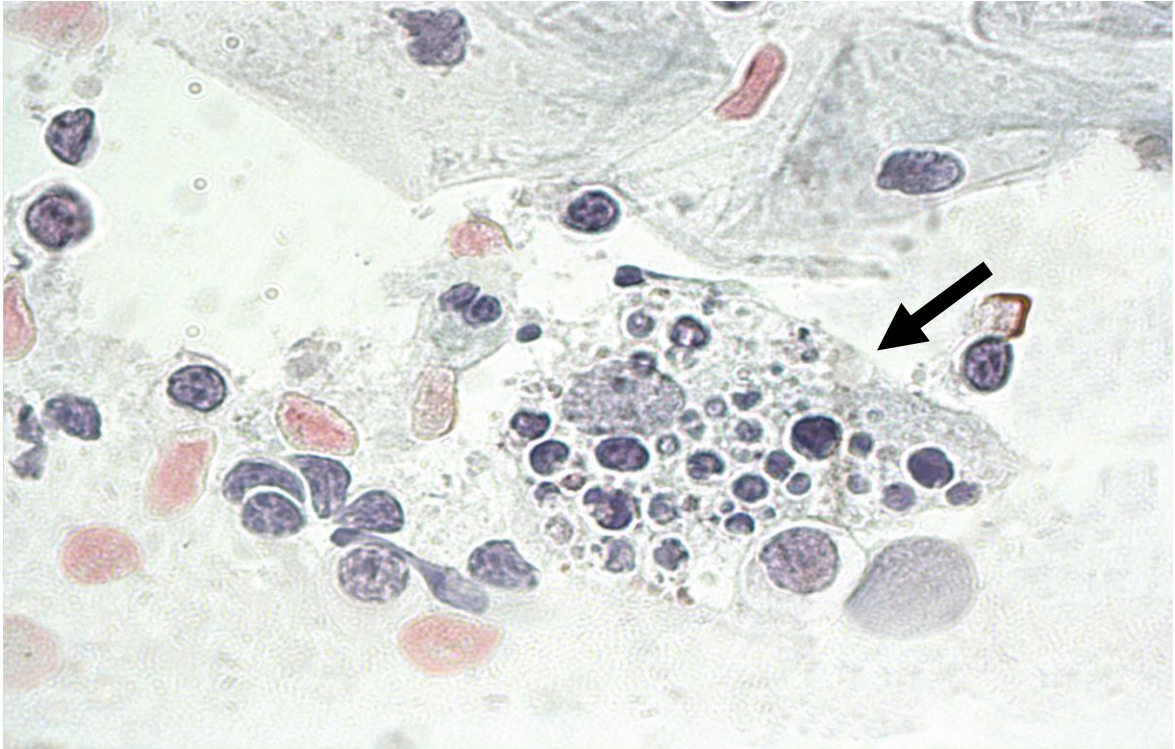


**Şekil 4. 6:** BV (+) olan bir hasta preparatında sitoplazmasında koilosun varlığı (kalın ok), çekirdek zarında düzensizlik ve irileşmenin görüldüğü koilosittik hücreler (ok) (Papanicolaou x 1000).



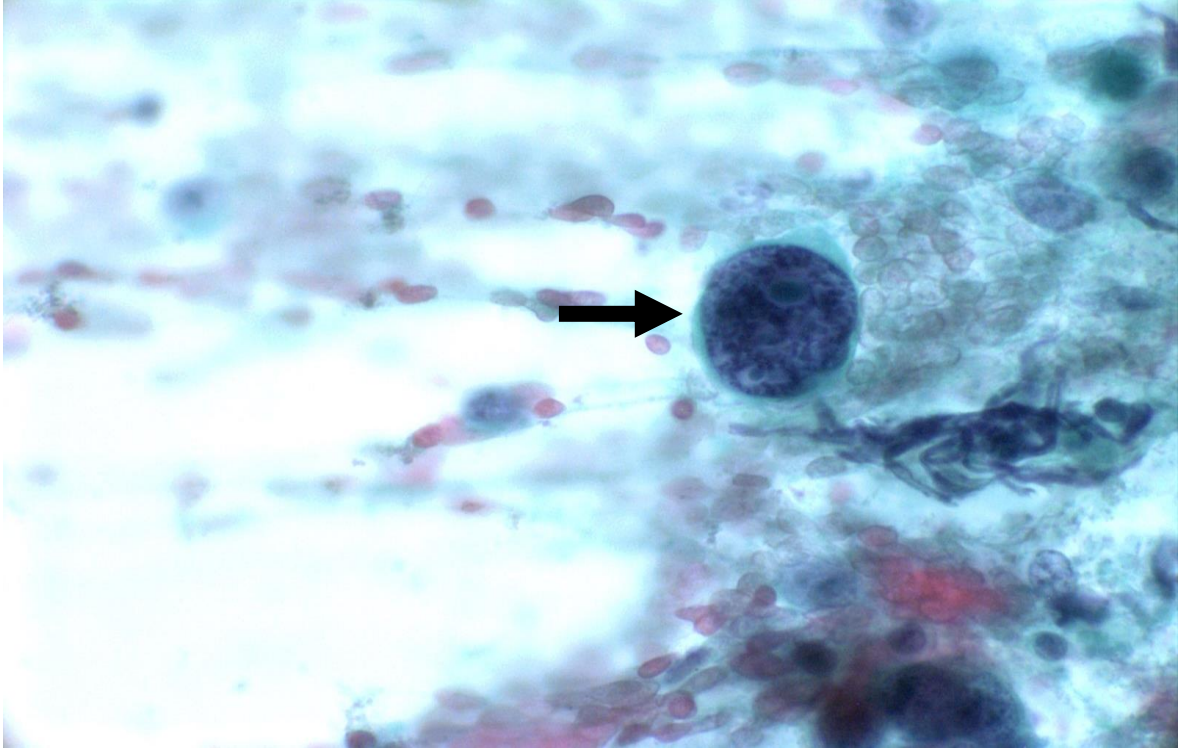


**Şekil 4. 7:** BV (+) olan hastada zeminde serbest koklar (yıldız), eritrositler (E) ve hiperkromatik, iri çekirdekli HSIL kategorisindeki epitel hücresi (kalın ok) görülmektedir (Papanicolaou x 1000).

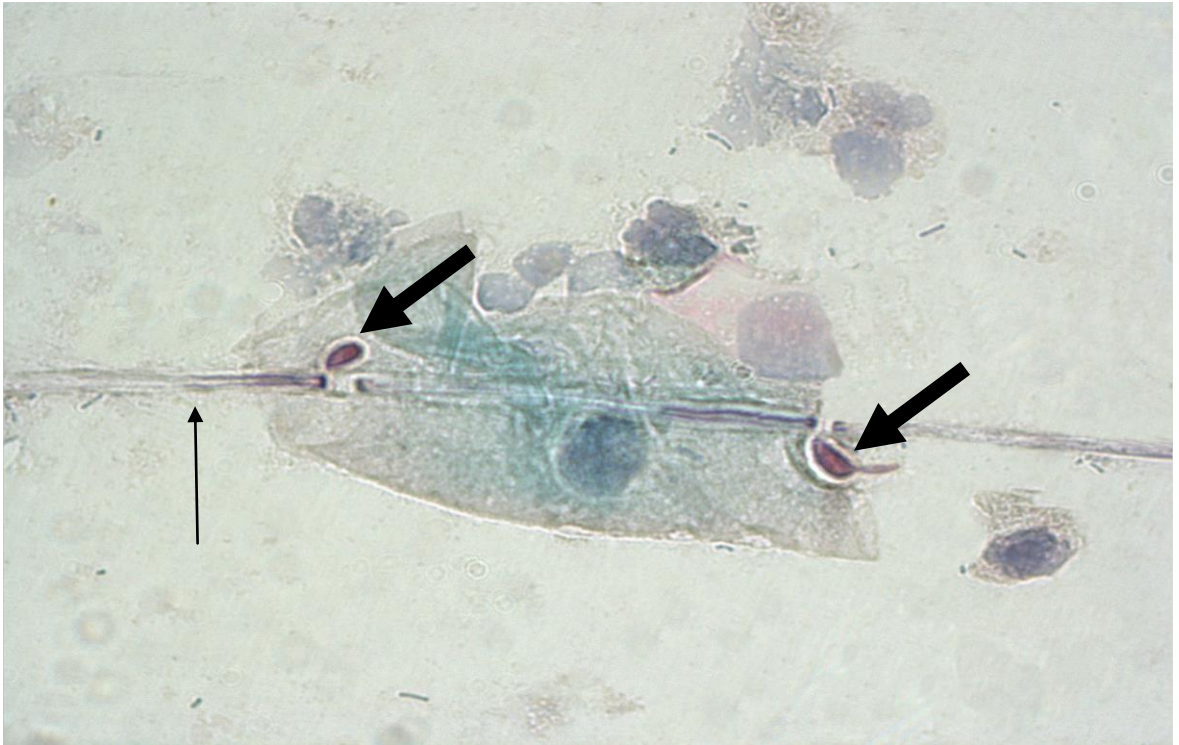


**Şekil 4. 8:** Sitoplazmasında çok sayıda sindirmiş olduğu apoptotik hücre çekirdekleri bulunan bir makrofaj hücresi (kalın ok) Papanicolaou x 1000).





**Şekil 4. 9:** Kontrol hasta grubunda overlerden köken aldığı düşünülen AGC kategorisinde sınıflandırılan, etrafında çok az sitoplazması kalmış çok iri ve hiperkromatik çekirdekli hücre (kalın ok) görülmektedir (Papanicolaou x 600).



**Şekil 4. 10:** Kontrol grubu hastasına ait bir simirde epitel hücresi üzerine yerleşmiş olan uzunca bir kandida hifi (ok), septalar ve etrafı şeffaf olan iki blastospor (kalın ok) görülmektedir (Papanicolaou x 1000).



**Şekil 4. 11:** Normal kornifiye tipte bir hücre (KH) ve metaplazik hücreler (MH) (Papanicolaou x 1000).



**Şekil 4. 12:** Apikalinde siller (kalın ok) bulunan normal endoservikal salgı hücrelerinin yandan görünümü dikkat çekmektedir (Papanicolaou x 1000).

## 4.2 “Clue Cell” Tipi Hücrenin Scanning (Taramalı) Elektron Mikroskopik (SEM) Yöntemle İncelenmesi ve Değerlendirilmesi

Clue cell tipi hücrelerin üzerinde ışık mikroskopunda görüldüğü gibi çok bol bakterilerin bulunduğu, bu bakterilerin bir kısmının kok, bir kısmının kokobasil, çok az sayıda da kıvrık basil olduğu dikkat çekmiştir (Şekil 4.13). Bazı hücrelerde bakteriler hücre yüzeyinde homojen olarak dağılım gösterirken, bazı hücrelerin ise kenarlarında çok yoğun biçimde birikim gösterdikleri izlenmiştir (Şekil 4.14). Buna ek olarak clue cell hücre zarıyla birleşmiş olan bakteriler de görülmüştür (Şekil 4.15).

Şekil 4.16’da yan yana birbirine bitişik dört hücre görülmektedir. Bunlardan birinin üzerinde bakteri bulunmayan normal epitel hücresi, diğer üçünün ise üzerinde çok yoğun koklar bulunan clue cell hücresi olduğu görülmektedir. Şekil 4.17’te ise daha büyük büyütme (X5000) clue cell tipi bir hücre görülmektedir.

Çok katlı yassı epitelin üst tabakalarında yer alan sitoplazması genişlemiş normal epitel hücrelerinin yüzeyinde kısalmış mikrovilluslar (mikroriç, MÇ) görülmüştür. Bakterilerin hücrenin kenarında toplandığı bir clue cell tipi hücrede, bakterilerin olmadığı alanlarda kısalmış MÇ’lerin çizgi şeklinde görülmesi dikkat çekmiştir (Şekil 4.18). Ayrıca bu normal hücrelerin çok bol oranda çukurlukların olduğu, bu basillerin de epitel hücre yüzeyine doğru uzattıkları pililer aracılığıyla hücreye tutunduğu büyük büyütmelerde gözlenmiştir (Şekil 4.19).

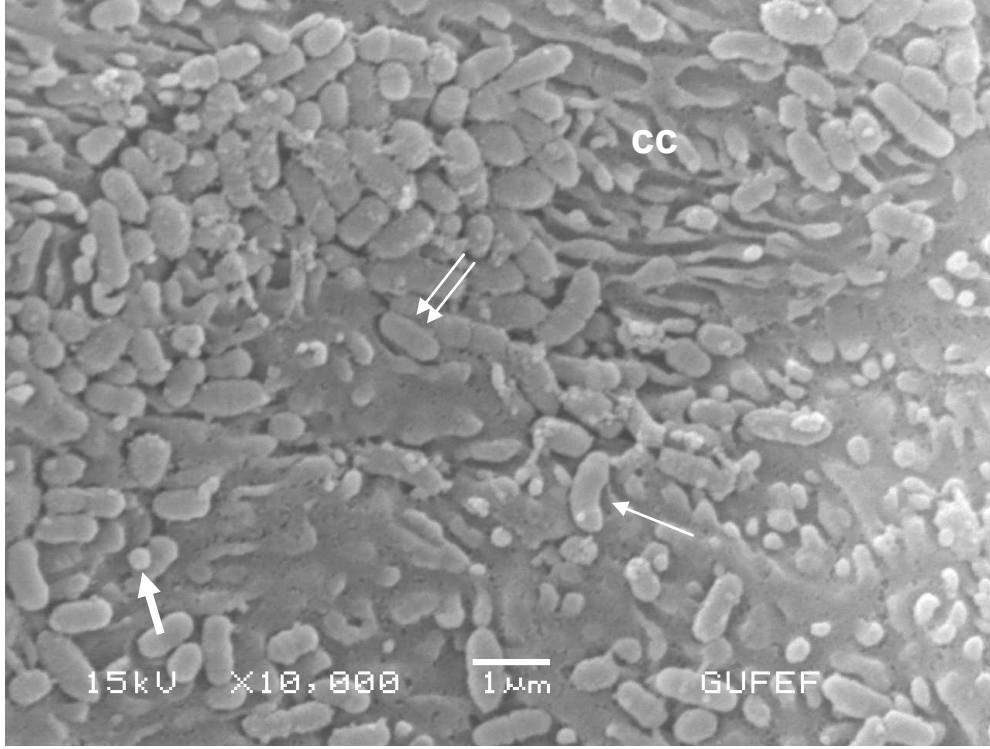
Taramalı elektron mikroskopik olarak göze çarpan diğer özellik de Papanicolaou yaymalarında gözlemiş olduğumuz eritrositlerle clue cell hücrelerinin yakın ilişkisi olmuştur. Şekil 4.20’de bir eritrositin clue cell tipi bir hücreye uzantılar çıkararak tutunduğu, üzerinde MÇ bulunan normal bir hücreye ise uzatma olmaksızın zarıyla tutunduğu görülmüştür.

Şekil 4.21’de birbirlerine tutunmuş, uzamış, şekli bozulmuş 3 eritrositin clue cell tipi hücre yüzeyindeki bakterilere, yüzeyinden uzattığı uzantılarla tutunduğu çok net olarak izlenmiştir.

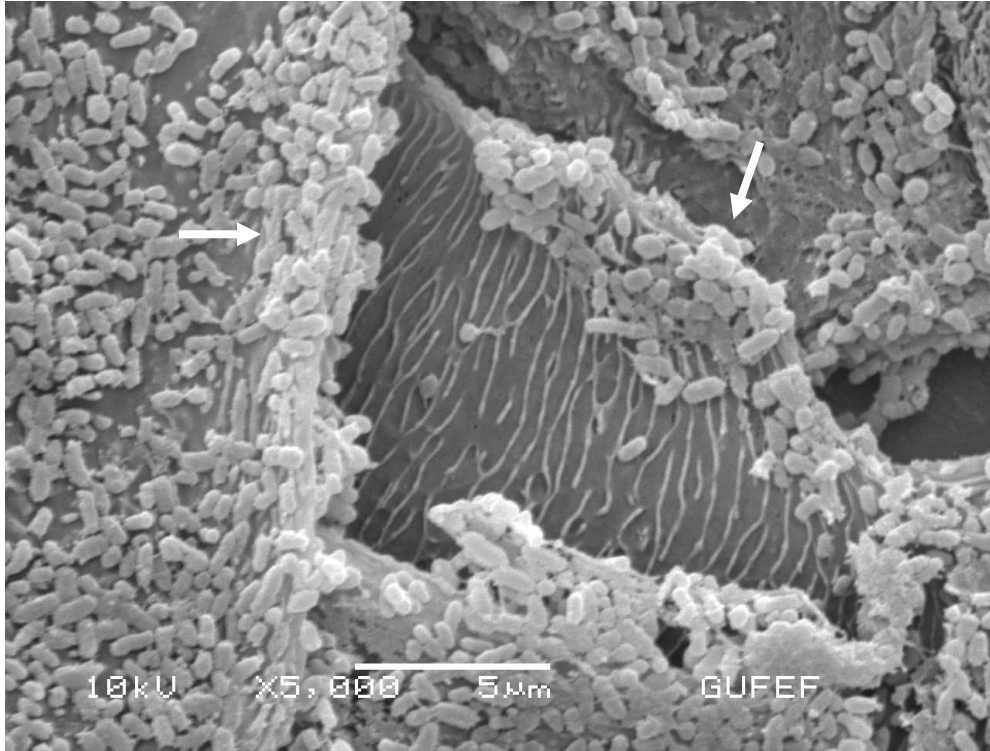
Şekil 4.22’de ise iki clue cell tipi hücre yüzeyine tutunmuş olan bir eritrosit ve hücre yüzeyinde toplu halde bulunan bakterilerin üzerinde biyofilm materyali olduğunu düşündüğümüz fibril şeklinde uzantıların varlığı dikkatimizi çekmiştir.

İki eritrositin ve eritrosit üzerinde fibril ve kümeler halinde biyofilm materyali olduğunu düşündüğümüz uzantıların görüldüğü şekil 4.23’de ise eritrosit üzerinde yer alan ve çevrede gruplar halinde yoğun olarak bulunan bakteriler izlenmiştir.



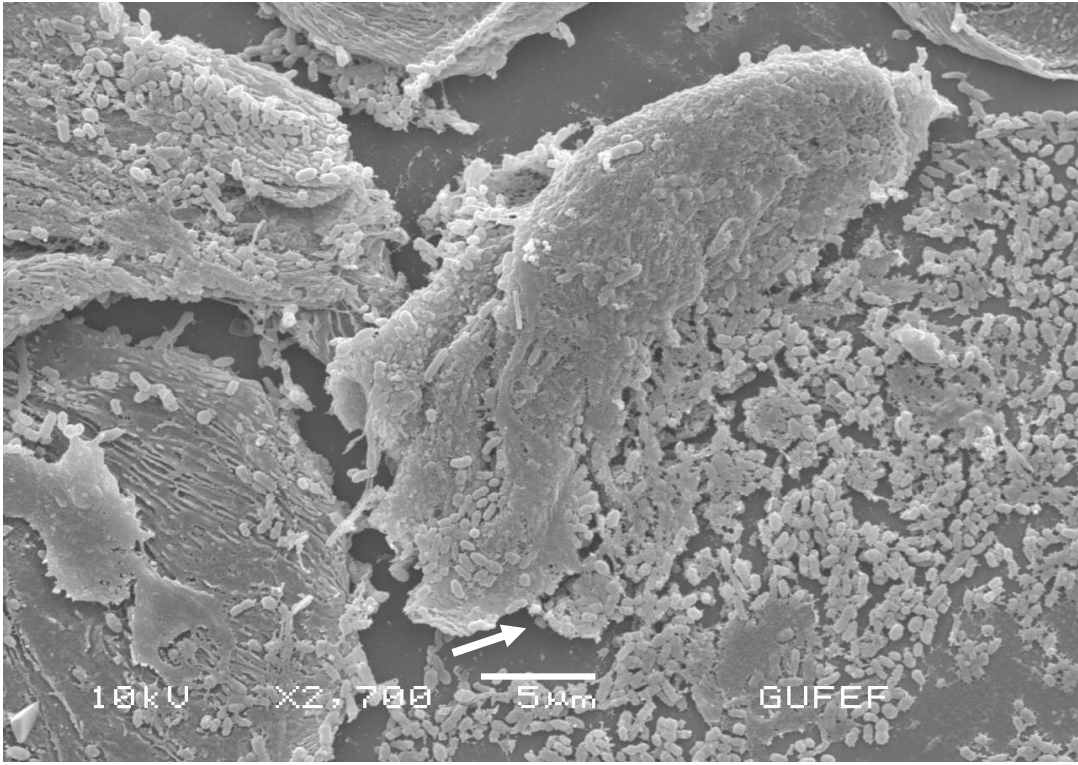


**Şekil 4. 13:** Epitel hücre yüzeyine yapışmış olan bakterilerin görüldüğü clue cell tipi bir hücre (cc), clue cell tipi hücredeki bakterilerin bir kısmının kok tarzında (kalın ok), bir kısmının kokobasil tarzında (çift ok), bir kısmının da seyrek olarak kıvrık basil tarzında (ok) yapılar olduğu ve yüzeye yapıştığı dikkat çekmektedir.

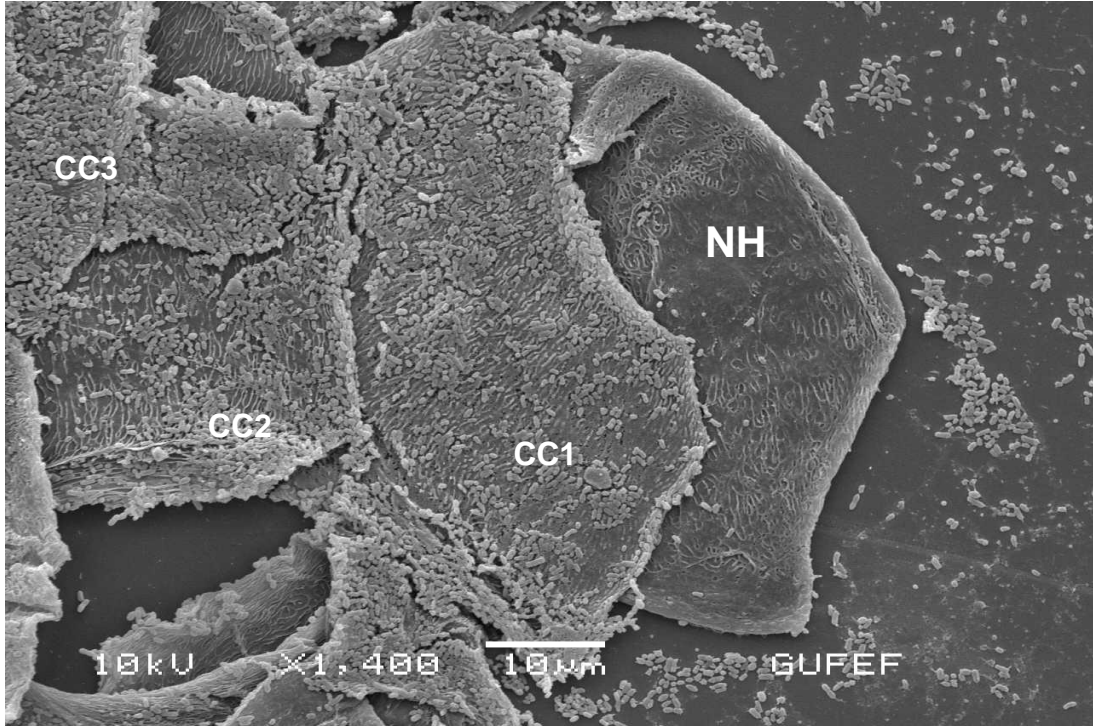


**Şekil 4. 14:** Clue cell tipi hücrelerin hücre kenarlarında bakterilerin çok yoğun yerleşim gösterdiği görülmektedir (kalın ok).

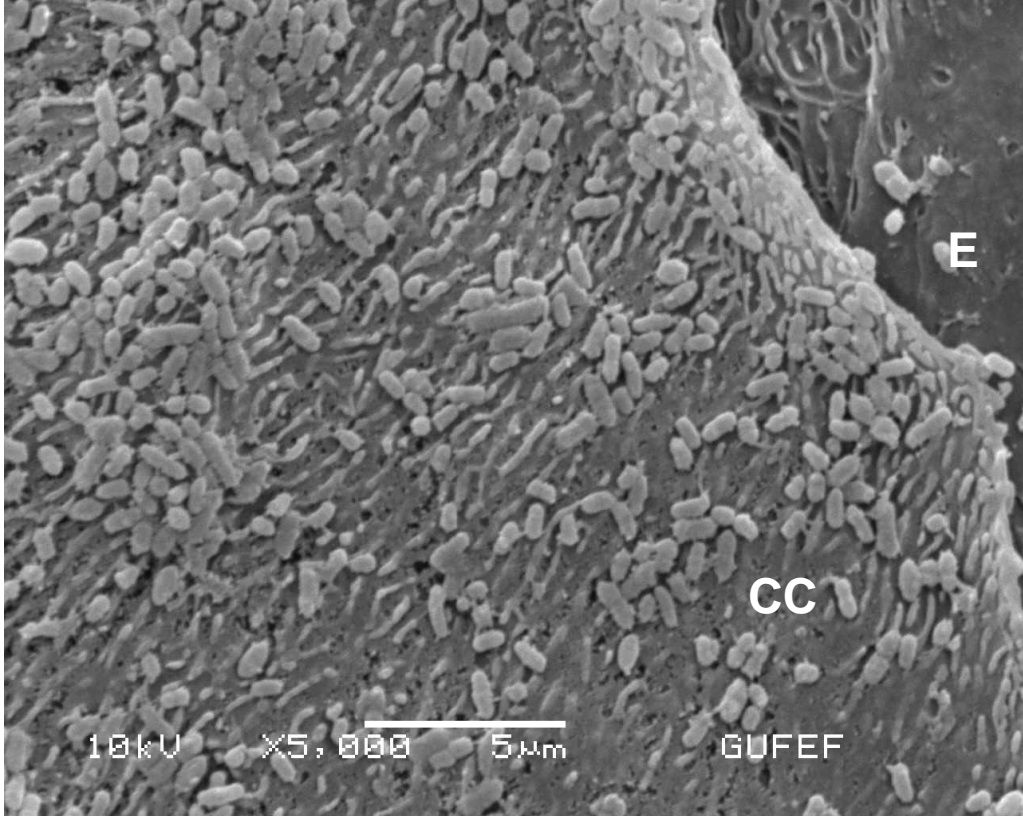




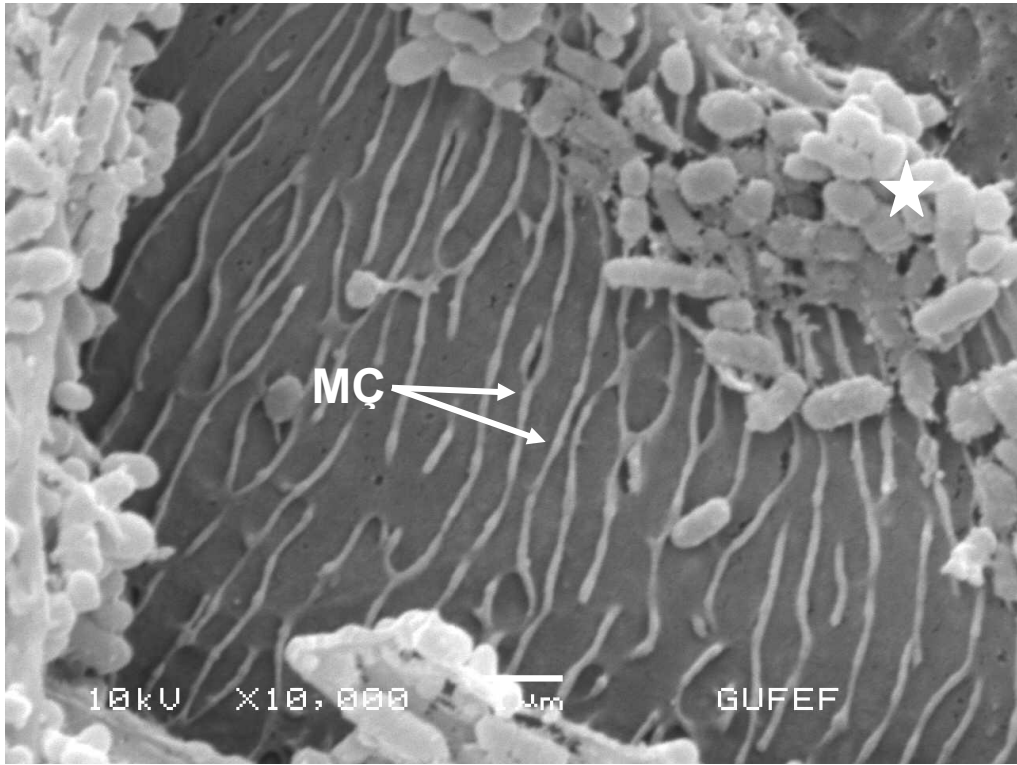
**Şekil 4. 15:** Katlanmış bir hücre yüzeyinde serbest basiller. Hücre zarına yönelmiş bazıları zarla kaynaşmış serbest kokobasiller (kalın ok) görülmektedir.



**Şekil 4. 16:** Normal bir epitel hücre (NH), üzerinde bakterilerin bulunduğu üç adet clue cell tipi hücre (CC1, CC2 ve CC3) görülmektedir.



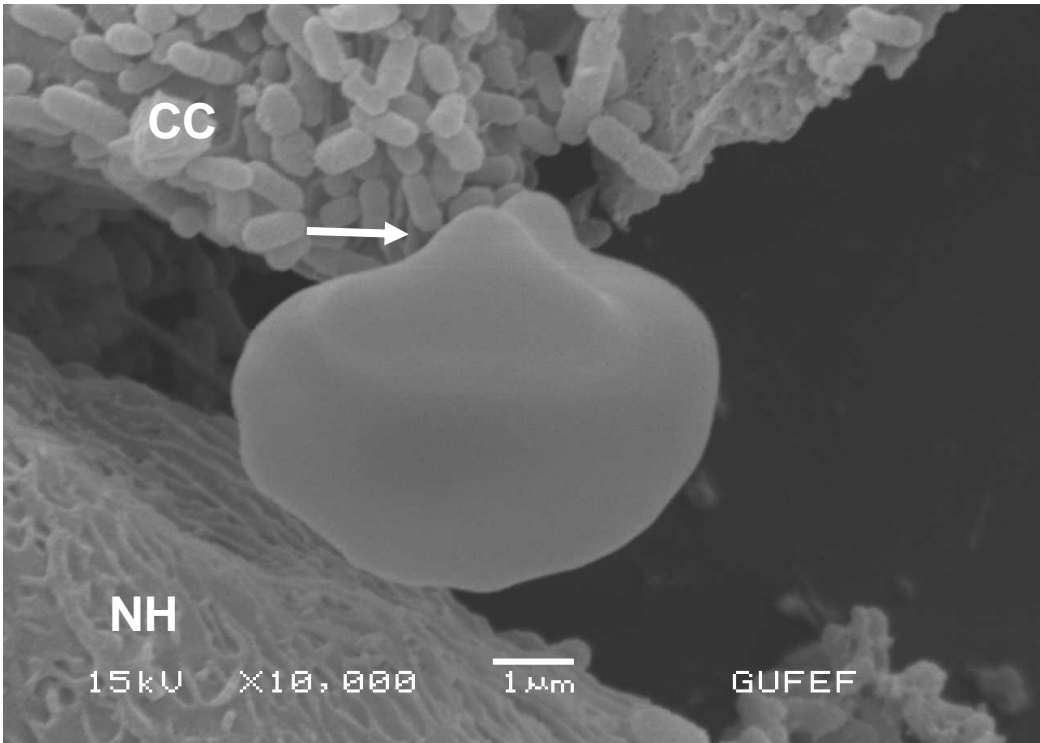
**Şekil 4. 17 :** Daha büyük büyütmede üzerinde bakterilerin bulunduğu clue cell tipi bir hücre (cc) ve normal bir epitel hücresi (E).



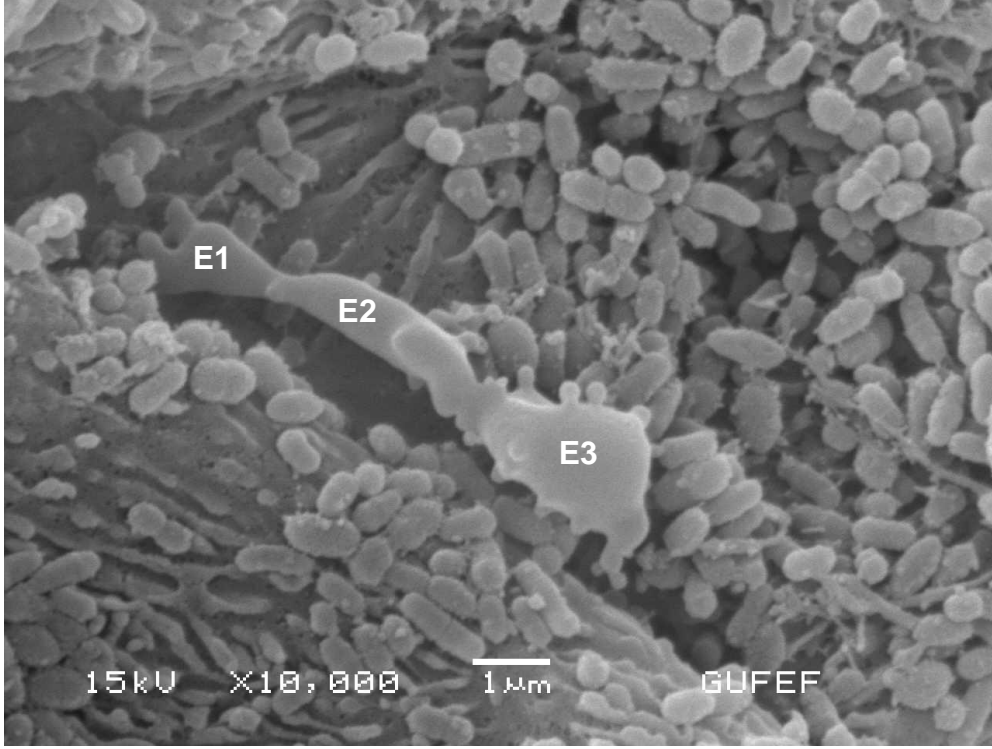
**Şekil 4. 18 :** Hücrenin kenar kısmına yoğun olarak toplanmış bakteriler (yıldız) ve epitel hücre yüzeyindeki mikroriç (MÇ) denilen yapılar görülmektedir.



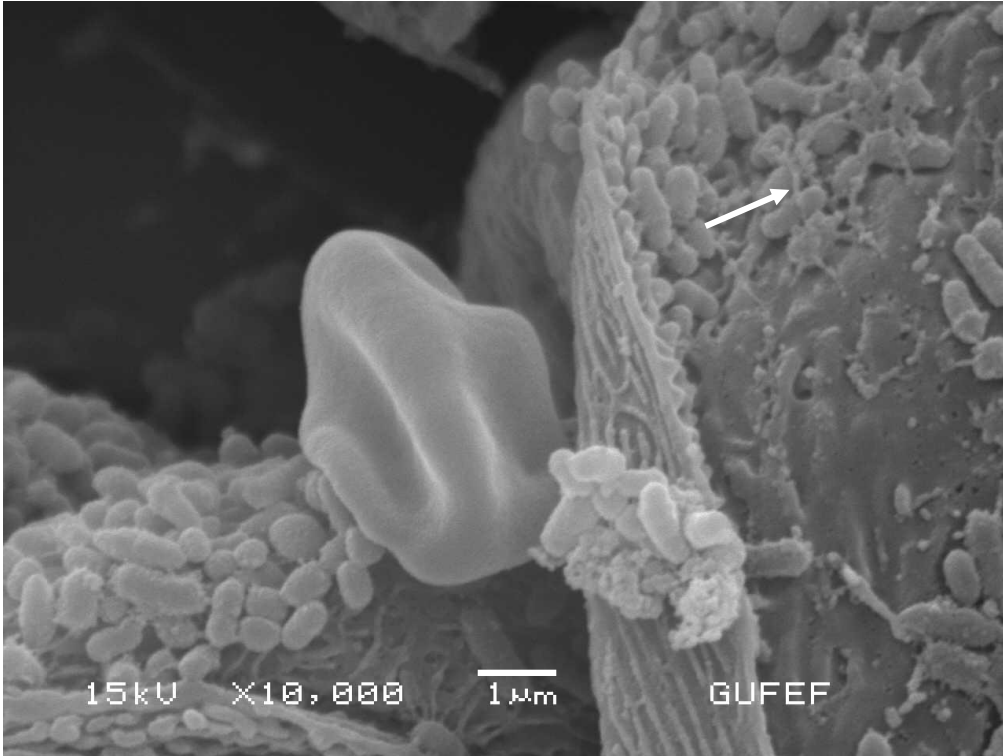
**Şekil 4. 19** : Üzerinde bol çukurların olduğu normal bir epitel hüresine (EH) ve epitel hücre yüzeyine pilileri aracılığıyla (ok) tutunmuş olan kokobasiller görülmektedir.



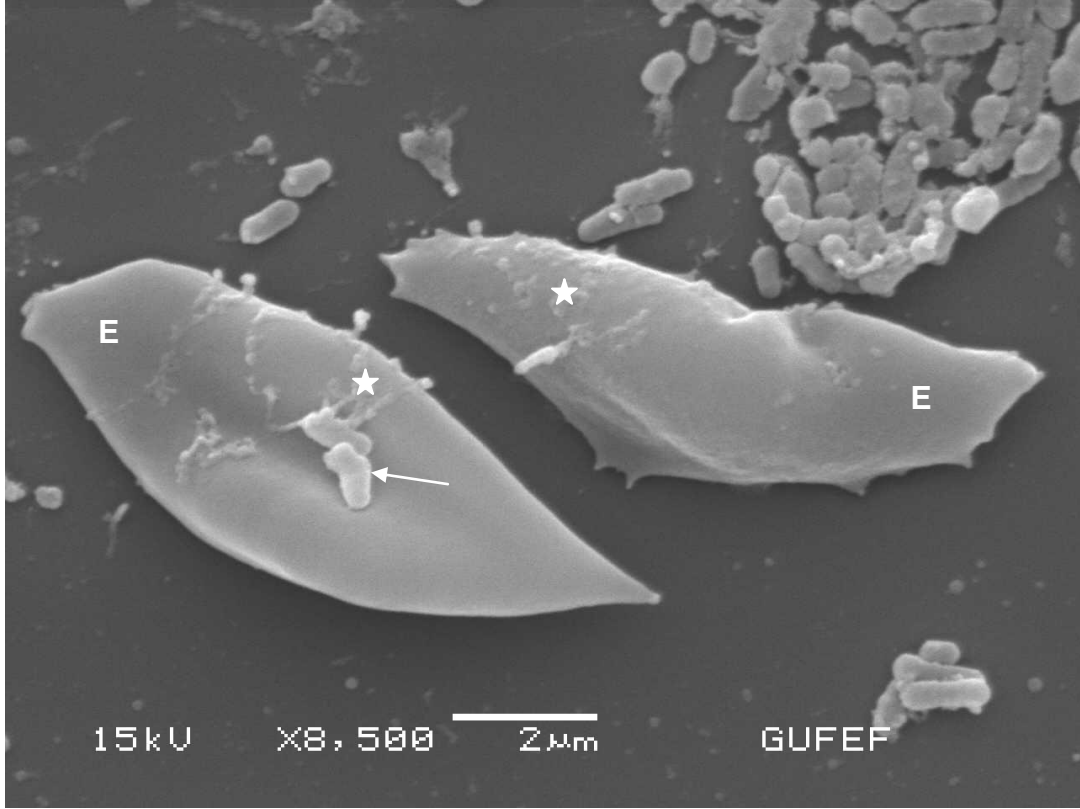
**Şekil 4. 20** : Üzerinde MÇ'lerin bulunduğu normal bir hücre (NH) ile clue cell tipi bir hücre (CC) arasında bulunan eritrosit görülmektedir. Eritrositin pseudopod (ok) çıkararak bakterilere yapışması dikkat çekmektedir.



**Şekil 4. 21** : Pseudopod'lar çıkararak epitel hücre üzerindeki bakterilere yapışmış olan birbiriyle kaynaşmış 3 adet eritrosit (E1, E2 ve E3) görülmektedir.



**Şekil 4. 22** : Bakterilerin kendi üzerlerine yerleşmiş olan filamentöz bir yapı gösteren biyofilm (ok) olduğunu düşünülen materyal görülmektedir.



**Şekil 4. 23** : İki eritrosit (E) ve eritrositlerin birinde iki bakteri (ok), bakterilerin etrafında biyofilm materyali olduğunu düşünülen maddeler (yıldız) görülmektedir.

## 5.TARTIŞMA

Bakteriyel vajinoz polimikrobiyal bir enfeksiyon çeşidi olup, fertil dönemdeki kadınlarda sık rastlanan bir enfeksiyondur. Bu enfeksiyona *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus spp.*, *Mycoplasma hominis* ve *Bacteroides* gibi bakteriler yol açmaktadır. BV oluşumu ilk olarak patojen mikroorganizmaların hücrelere tutunması ve ardından çoğalması şeklinde gerçekleşmektedir. Bizim araştırmamızın amacı da enfeksiyon oluşumu sırasında bakteri - epitel hücre tutunmasına aracılık eden yapıların ışık ve scanning (taramalı) elektron mikroskobik olarak ortaya konulmasıdır.

Yapılan çalışmalarda BV'nin ışık mikroskobik tanısında clue cell hücrelerinin teşhisi temel kriteri oluşturmaktadır. Bizim çalışmamızda PAP yaymalarının ışık mikroskobu ile incelenmesinde bakterilerle kaplı clue cell tipi hücreler dikkat çekmiştir. Çalışma kapsamındaki 200 hastanın 10'unda clue cell hücresi görülmüş olup, bu olgular BV tanısı olarak çalışma grubumuzu oluşturmuştur. Çalışmamızın amacı doğrultusunda clue cell hücrelerindeki bakteri-epitel hücre ilişkisi SEM ile de incelenmiştir. Bu incelemelerde de epitel hücrelerinin üzeri bakterilerle kaplı olarak görülmüştür (Şekil 4.16). Yapılan literatür taramasında clue cell hücrelerinin SEM incelemelerine ilişkin çok az çalışma bulunduğu ve bu çalışmalarda da sadece epitel hücre üzerinde bakteriler görülürken tutunmaya aracılık eden yapılar ise incelenmemiştir [103][104][105]. Bu nedenle bizim çalışmamız bakteri-epitel hücrelerini inceleyen orijinal bir çalışma olmuştur.

Çalışmamızın SEM incelemesinde clue cell hücrelerinin yüzeyindeki bakterilerin kok, basil ve kokobasil tarzında olduğu, bazı örneklerde de seyrek de olsa kıvrık tarzda morfoloji gösteren bakteriler olduğu dikkatimizi çekmiştir (Şekil 4.13). BV'nin polimikrobiyal bir enfeksiyon olduğunu sıklıkla da enfeksiyon etkeni organizmanın kokobasil formunda olan *G.vaginalis* olduğu araştırmacılar tarafından bildirilmektedir [79][81][88][98]. Bizim SEM bulgularımız bu bulguları destekler niteliktedir. Bizim SEM bulgularımız ve yazarların bulguları ışığında çalışmamızda epitel hücreleri üzerinde görmüş olduğumuz kokobasil tarzındaki bakterilerin *G.vaginalis*

olabileceği düşünölmüştür. Ancak bunun kesin tanısı için mikrobiyolojik incelemenin yapılması gerekmektedir.

Bakterilerin epitel hücreleriyle ilk karşılaşmalarında epitel hücre yüzeyindeki reseptörler, bakteri hücre duvarı ve hücre yüzeyindeki adhezyon yapıları önem taşımaktadır. Bakteri hücre yüzeyinde yer alan bu yapılardan birinin pili olduğu araştırmalarda gösterilmiştir [72][73][83][106]. Proft ve Baker adlı araştırmacılar [72] pili aracılığı ile bakterilerin hücreye tutunabildiklerini göstermişlerdir. Bu durumu ise epitel hücre yüzeyi ve bakteri hücre duvarının sahip olduğu negatif elektriksel yük alanından dolayı ortaya çıkan itme kuvvetinin pili aracılığıyla aşıldığını ve böylelikle tutunmanın sağlanabildiği bildirmişlerdir. Bizim SEM çalışmamızda da kokobasil morfolojisindeki bakterilerin pili olduğunu düşündüğümüz yapılar ile epitel hücrelerine tutunduğu görölmektedir (Şekil 4.14).

SEM incelemesinde bir diğere bulgumuz epitel hücre yüzeyinde bulunan çok sayıda bakterinin hücrenin kenar kısmında yoğunlaştığı ve kalın bir tabaka oluşturduğunun gözlenmiş olmasıdır. Pizarro-Cerda' ve Cossart [107] çalışmalarında *Esherichia coli* bakterisinin pilisi aracılığıyla mesaneyi döşeyen epitel hücrelerinin yüzeyindeki mannoz reseptörlerine tutunduklarını göstermişlerdir. Araştırmacıların sonuçları ve çalışmamız kapsamındaki SEM bulgularımızda elde edilen sonuçlar doğrultusunda, kokobasil formundaki bakterilerin pili olduğunu düşündüğümüz yapılar aracılığı ile epitel hücre yüzeyinde yer alan mannoz reseptörlerine tutunmuş olabilecekleri düşünölmüştür.

İncelenen SEM görüntülerinde epitel hücre yüzeyine pilileri aracılığıyla tutunan bakteriler yanı sıra direkt olarak hücre yüzeyine yapışan bakterilerde görölmektedir (Şekil 4.14). Araştırmacılar bakteri hücre duvarı yapısında bulunan teikoik asit ve lipopolisakkarit moleküllerinin hücrelere yapışmada rol oynadığını göstermiştir [67][68]. Bizim bulgularımızı literatür bulgularıyla birleştirdiğimizde, epitel hücreleri üzerine doğrudan yapışan bu bakterilerin tutunmasına aracılık eden yapıların hücre duvarı molekülleri olduğunu düşünmekteyiz. Ancak bu düşüncelerin netleşmesi için moleküler analizlerin yapılması gerekmektedir.

Jennifer L. Patterson ve arkadaşları in vitro koşullarda yaptıkları çalışmalarında bakterilerin epitel hücrelere tutunduktan sonra litik aktiviteler oluşturarak virülans özelliklerini ortaya koyduklarını göstermişlerdir. Çalışmalarında *G.vaginalis*'in ürettiği vajinolizin toksini, siyalidaz ve prolidaz gibi hidrolitik enzimler ile mukozal yüzeyleri parçalayarak, vajinal epitel hücrelerinin dökülmesini sağladıklarını ve hücre yüzeyinde por oluşturduklarını ortaya koymuşlardır [86]. Bizim SEM çalışmamızda da Şekil 4.17'de görüldüğü gibi epitel hücreleri tamamen kokobasil ve kok tarzındaki bakterilerle kaplanmış olduğu ve bakterilerin yoğun bulunduğu bölgelerde hücre zarında çukurluklar olduğu tespit edilmiştir. Bu çukurlukların diğer araştırmacılar tarafından da belirtildiği gibi toksik ve litik aktiviteler sonucu meydana geldiği düşünülmüştür.

*G.vaginalis*'in hemolitik aktivitesinin olduğu ilk kez 1955 yılında Gardner ve Dukes tarafından tanımlanmıştır. Daha sonra ise bu aktiviteye neden olan 59 kDa ağırlığındaki hemolizin molekülü Cauci ve arkadaşları tarafından belirlenmiştir. Yeoman ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ise *G.vaginalis*'in salgıladığı enzim ile eritrositleri parçalayarak demiri kullandığını ortaya koymuşlardır [83]. *G.vaginalis*'in hemolizin molekülünü, demir eldesi için eritrositleri parçalamada kullandığı araştırmalarda gösterilmiştir. Demir neredeyse bütün bakterilerin metabolizması için gerekli bir metaldir. Bu madde “hem, ferritin, hemoglobin, transferrin” gibi kanda bulunan ve lactoferrin gibi hücre dışında mukozal yüzeylerde bulunan moleküllere bağlı olarak bulunmaktadır [108][109]. Gregory P. Jarosik yaptığı araştırmada bakterilerin demiri elde edebilme özelliklerinin virülans potansiyelleriyle ilişkili olduğu ve *G.vaginalis*'in de insan eritrositlerindeki demiri kullandığını bildirmişlerdir. Demir eldesinde öncelikle *G.vaginalis*'in eritrositleri lizise uğrattığı, daha sonra yüzeyinde bulunan “hemoglobin bağlayıcı protein (Hbp)” ile eritrositlerde bulunan hemoglobine bağlanarak demiri elde ettiği bilinmektedir [108]. Buna ek olarak *G.vaginalis*'in eritrositler dışında laktoferrin molekülünü de demir kaynağı olarak kullandığı diğer araştırmacılar tarafından bulunmuştur. Bu mekanizmada ise *G.vaginalis*'in ürettiği 120kD ağırlığındaki “sidereophore” proteini aracılığı ile demiri bağlı bulunduğu molekülden ayırarak kendisine bağladığı gösterilmiştir [109][110]. Bizim çalışmamızda da BV olgularında hem sitolojik hem SEM bulgularında eritrositlere sıkça rastlanmıştır.



Işık mikroskopik incelemelerde bazı eritrositlerin epitel hücrelerinin zarına ve bakterilere çok fazla yaklaştığı, neredeyse zarlarının kaynaşmak üzere olduğu görülmüştür (Şekil 4.3). Ayrıca eritrositlerin bulunduğu BV olgularının SEM görüntülerinde ise, üzerinde yoğun olarak bakterilerin bulunduğu clue cell tipi hücrelere doğru uzantı yapmış eritrositler de görülmüştür (Şekil 4.21). Bu görüntüler bakterilerin demir eldesi için eritrositlerle yakın temasta olduklarını, birbirlerine uzantı oluşturmalarını düşündürmüştür. Fakat bakteri-eritrosit arasında oluşan köprülerin oluşmasında uyarıların bakteriler mi yoksa eritrosit kaynaklı mı olduğu ise bilinmemektedir.

BV enfeksiyonunun önemli bir özelliği ortamda PMNL'lerin görülmemesidir. Araştırmalar *G.vaginalis*, *Bacteroides* ve *Peptostreptococcus* bakterilerinin salgıladıkları süksinik asit gibi kimyasallar aracılığıyla PMNL'leri ortamdaki uzaklaştırdıklarını bildirmektedir [97][111][112][113]. Bizim çalışmamız kapsamında yer alan 200 hastadan 10'unda BV pozitif olup, 10 hastadan da sadece 3 olguda PMNL bulunmaktadır (Şekil 4.2). Bu durumun olası nedeni ise kemotaktik etki göstermeyen BV türlerinin hakim olduğu bir flora değişikliği sonucu enfeksiyonun oluşmasıdır. Aynı zamanda bu durum BV'nin polimikrobiyal bir enfeksiyon olduğu düşüncesini de destekler niteliktedir.

Araştırmamız kapsamında incelenen hasta örneklerinde makrofajların varlığı da gösterilmiştir. Makrofajların temel görevi patojenlerin, apoptotik hücrelerin ve nekrotik debrisin fagositoz ile ortadan kaldırılmasıdır [113]. Araştırmalar makrofajların apoptotik cisimleri fagosite ettiğini ve sitoplazmalarında vakuoller içerisinde apoptotik hücrelere ait parçaların yer aldığını bildirmektedir [114]. Araştırmamız kapsamında ışık mikroskopik olarak incelenen olgularda, çok sayıda apoptotik hücre çekirdeğini fagosite etmiş ve sitoplazmasındaki vakuollerde hücre kalıntılarının da yer aldığı veziküllerin bir makrofaj görülmüştür (Şekil 4.8).

Makrofajların diğer bir görevi ise demir molekülünün geri kazanımının sağlanmasıdır. Yetişkin bireylerde vücutta bulunan demirin 2/3'ü hemoglobine bağlı olarak eritrositlerde bulunmaktadır. Olgun eritrositler ömürlerini tamamladığında ya da hasar gördüklerinde kemik iliği, dalak ve karaciğerde

makrofajlar tarafından fagosite edilirler. Eritrositlerin makrofajlar tarafından fagositozunun ardından, ortaya çıkan hemoglobin proteolitik enzimler tarafından parçalanarak hem kısmı açığa çıkarılır. Hem kısmının ise oksidatif olarak yükseltgenmesi sonucu demir molekülü serbest kalarak ortama verilir. Açığa çıkan bu demir molekülü hücrelerin ihtiyaçlarına bağlı olarak dolaşıma verilir ya da makrofajlarda depo edilmektedir [115]. Çalışmamız kapsamında incelenen BV olgularında makrofajların eritrositlerle olan ilişkisi ışık mikroskopik olarak ortaya konulmuştur. Eritrositler makrofaj etrafında sıra halinde dizilim gösterirken, makrofajdan eritrositlere doğru uzanan sitoplazmik çıkıntılar dikkat çekmiştir. Makrofajdan eritrositlere doğru uzanan pseudopodların eritrositlerin fagosite edilme basamağının ilk aşaması olduğu düşünülmüştür (Şekil 4.4). Essner adlı araştırmacı yaptığı elektron mikroskopik çalışmada makrofajların eritrositleri fagositoz etmek için uzattığı pseudopodları göstermiştir [116]. Bu araştırma da bizim bulgularımızı destekler niteliktedir.

Clue cell tipi hücrelerin SEM incelemelerinde dikkat çeken bir diğer özellik ise hücrelerin yüzeyinde bulunan kısa uzantıların varlığıdır. Sobel ve arkadaşları 1981 yılında [103] vajinal epitel hücrelerini doku kültürü yöntemiyle çoğaltarak, SEM ile yüzey özelliklerini incelemişler ve mikrovilluslardan kısa uzantıların varlığını göstermişler ve bu uzantılara “mikroriç” (microridge) adını vermişlerdir. Aynı zamanda çalışmalarında MÇ'lere tutunan bakterileri de göstermişlerdir. MÇ'lerin üstten çizgi şeklinde görüldüğü SEM incelemelerinde tespit edilmiştir. Nadir olarak yandan kısa uzantılar şeklinde de görüntülenmişlerdir. Rubio (1976) ÇKYE hücrelerinin yüzeye çıktıkça yassılaşılmaya bağlı olarak sitoplazmalarının genişleyip MÇ uzantılarının da kısaldığını, buna bağlı olarak da üstteki yüzeyel hücrelerin döküldüğünü bildirmiştir [16]. Bizim çalışmamızda da MÇ'ler SEM incelenmesinde görülmüştür. MÇ'lere sahip ve geniş sitoplazmalı olan bu hücrelerin dökülmekte olan prekornifiye ve kornifiye hücreler oldukları düşünülmüştür. Ayrıca bu hücrelere tutunan bakterilerin de varlığı gösterilmiştir (Şekil 4.16, Şekil 4.18).

Bakterilerin epitel hücrelerine tutunmasına aracılık eden yapılardan birinin pili olduğu bilinmektedir. Johnson ve Davies araştırmalarında *G.vaginalis*'in piliye

sahip olduğunu elektron mikroskobu kullanarak göstermişlerdir [75]. Yeoman ve arkadaşları da [83] *G.vaginalis* suşların genomik olarak çalışarak *G.vaginalis*'in tipli pili yapısına sahip olduğu ortaya koymuşlardır. Boustouller ve arkadaşları da [106] araştırmalarında *G.vaginalis* suşlarını *in vitro* olarak incelemişler ve BV enfeksiyonu olan kadınlardan elde edilen suşların çok sayıda piliye sahip olduğunu yaptıkları SEM incelemesinde göstermişlerdir. Bakterilere ait pililer ile epitel hücre ilişkisini araştıran Pizarro-Cerda' ve Cossart [107] adlı araştırmacılar da pilinin hücreden dışarı uzanan en uç kısmında yer alan Fim H bölgesinin epitel hücrenin yüzeyinde yer alan MÇ'lere tutunduğunu *in vitro* olarak yaptıkları çalışmalarında göstermişlerdir. Araştırmamız kapsamında yaptığımız SEM incelemesinde, epitel hücreleri üzerinde görülen bakterilerde hücrelere doğru ince uzantıların olduğu dikkat çekmiştir. Bu yapılar dikkatli olarak incelendiğinde hücrelere tutunmayı sağladıkları görülmüştür. Bizim görüntülerimizde de bakteri hücre duvarından epitel hücreye uzanan çok küçük uzantıların adeta epitel hücre ile köprü oluşturduğu, epitel hücre tutunmasında aracılık ettiği ve bu yapıların pililer olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.19). BV enfeksiyonlarında en sık rastlanan mikroorganizma olan *G.vaginalis*'in de piliye sahip olması, SEM görüntülerinde izlenen kokobasil morfolojisindeki bakterilerin bu türe ait olabileceğini düşündürmüştür. Fakat bunun kesin olarak bilinmesi için mikrobiyolojik incelemeler gerekmektedir.

Başta *G.vaginalis* olmak üzere BV etkeni mikroorganizmaların belirli bir sayıya ulaştıktan sonra biyofilm denilen bir madde salgıladıkları birçok makale de bildirilmektedir. Swindski ve arkadaşları [117] yaptıkları çalışmada bakterilerin pilileriyle sadece epitel hücrelerine değil, birbirlerine ve farklı yüzeylere de tutunarak, biyofilm salgıladıklarını göstermişlerdir. Salgılanan bu maddenin bakterilerin yüzeyini örterek antibiyotiklere, bakteriyofajlara ve PMNL'lere karşı koruma sağladığı düşünülmektedir [76]. Bizim araştırmamızda SEM ile incelenen BV olgularında, bazı bakteri kümeleri üzerinde biyofilm olduğu düşünülen bu madde görülmektedir. Bu madde fibril şeklinde olabildiği gibi granül şeklinde de olabilmektedir. Şekil 4.23'te eritrositler üzerinde ve zeminde de fibriller olarak uzanmış biyofilm olduğu düşünülen maddeye rastlanılmıştır. Şekil 4.22 de ise bakterilerin üzerinde fibril ve granül şeklindeki biyofilm dikkat çekmektedir.

Biyofilmin kolonide yer alan bakterileri kimyasallardan ve savunma hücrelerinden korumadaki başarısı, tekrarlayan BV olgularının etkeni olabileceğini düşündürmektedir.

Sitolojik yaymalar incelendiğinde çalışma grubunda yer alan bir hasta preparatında *Trichomonas vaginalis* (TV) protozoonuna rastlanılmıştır. TV, mitokondrisi olmayan ve enerji üretimini hidrogenozom adı verilen organelde gerçekleştiren bir organizmadır. Parazit olan bu organizma fagositoz yeteneğine sahiptir. Vajinada koruyucu rol oynayan laktobasilleri fagosite ederek pH'yı yükseltmekte, BV için ortam oluşturmaktadır. Heller ve arkadaşları araştırmalarında BV'li kadınların vajinal floralarında TV görülme sıklığının daha fazla olduğunu ortaya koymuşlardır [118]. Bizim çalışmamızda BV'li bir hastada hücrenin yakınında bulunan TV dikkat çekmiştir (Şekil 4.3). Fakat sadece 1 hastada TV'ye rastlanıldığından bu bulgu istatistiksel olarak değerlendirilmeye alınmamıştır.

Araştırmacılar BV enfeksiyonu ve prekanseröz değişiklikler (ASCUS, LSIL ve HSIL) arasındaki ilişkileri incelemişler ve bu konuda çok sayıda yayın yapmışlardır. Işık mikroskopik incelemelerde hücrelerde gözlenen bu değişiklikler servikal kanserlerin erken tanısı için çok önemli bir adımdır. Bizim çalışmamızda yer alan kontrol ve çalışma grubundaki hastalarda prekanseröz hücresel değişikliklere rastlanılmıştır (Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7). Bu değişikliklerin görüldüğü preparatlar sayıca az olduğundan istatistiksel değerlendirilmeye alınmamıştır. Fakat literatür incelendiğinde BV ile prekanseröz değişiklikler arasında anlamlı bir ilişkinin olduğu, BV oluşumuna yol açan flora değişikliklerinin aynı zamanda kanser öncesi değişikliklere de yol açabileceği bildirilmektedir [119].

Araştırmacılar BV enfeksiyonunun klinik şikayetleri arasında beyazımsı-gri renkli homojen bir akıntının varlığını, orta derecede kaşıntı ve yanmanın olduğunu çalışmalarında bildirmişlerdir [81][88]. Fakat BV şikayeti ile kliniğe gelen kadınların %50'sinde bu semptomlara rastlanılmamıştır [88]. Bizim çalışmamızda da kliniğe gelen 200 hastanın şikayetleri incelendiğinde kontrol grubunda yer alan hastaların %4,2'sinde, çalışma grubundaki hastaların ise %9,4'ünde akıntının

varlığı görülmüştür. Elde edilen bulgular istatistiksel olarak değerlendirildiğinde ise anlamlı bir sonuç elde edilememiş olup sonuçlar literatürü destekler niteliktedir.

Sonuç olarak çalışmamız kapsamında clue cell görülen, zeminde serbest kok ve kokobasillerin bulunduğu fakat laktobasillerin bulunmadığı yaymalar BV (+) olarak kabul edilmiştir. Bu olgular ışık ve taramalı elektron mikroskobu ile incelenerek bakteri-epitel hücre ilişkisi değerlendirilmiştir. Işık mikroskobik olarak görülen üzeri yoğun şekilde bakterilerle kaplı clue cell hücreleri SEM ile daha detaylı olarak incelenmiştir. SEM görüntülerinde bakterilerin epitel hücre yüzeyinde bulunan ve adeta uzun çizgiler şeklinde görülen MÇ'lere tutunduğu, bazı bakterilerde bu tutunmanın pili aracılığıyla olduğu gösterilmiştir. Ayrıca epitel hücrelerinin yüzeyinde bakterilerin özellikle hücre kenarlarında toplandığı; kok, kokobasil ve nadiren kıvrık morfoloji gösteren bakterilerin BV oluşumunda rol oynadığı dikkat çekmiştir. Bunlara ek olarak bakterilerin biyofilm salgıladıkları da gösterilmiştir. Elde edilen bu verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi ise anlamlı olarak bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

## 6. KAYNAKLAR

- [1] S. Srinivasan and D. N. Fredricks, "The human vaginal bacterial biota and bacterial vaginosis.," *Interdiscip. Perspect. Infect. Dis.*, vol. 2008, p. 750479, Jan. **2008**.
- [2] B. W. Catlin, "*Gardnerella vaginalis*: characteristics, clinical considerations, and controversies.," *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 5, no. 3, pp. 213–37, Jul. **1992**.
- [3] P. Klemm and M. A. Schembri, "Bacterial adhesins: function and structure.," *Int. J. Med. Microbiol.*, vol.290, no. 1, pp. 27-35, Mar. **2000**.
- [4] M. Rogosa and M. E. Sharpe, "Species differentiation of human vaginal lactobacilli.," *J. Gen. Microbiol.*, vol. 23, no. 1892, pp. 197–201, Aug. **1960**.
- [5] B. Larsen, "Vaginal flora in health and disease.," *Clinical obstetrics and gynecology*, vol. 36, no. 1. pp. 107–21, Mar.**1993**.
- [6] M. Wilks and S. Tabaqchali, "Quantitative bacteriology of the vaginal flora during the menstrual cycle.," *J. Med. Microbiol.*, vol. 24, no. 3, pp. 241–5, Nov. **1987**.
- [7] A. N. Masfari, B. I. Duerden, and G. R. Kinghorn, "Quantitative studies of vaginal bacteria.," *Genitourin. Med.*, vol. 62, no. 4, pp. 256–63, Aug. **1986**.
- [8] F. E. A. K. Mrcp, C. A. Ison, and D. T. Frcpath, "A longitudinal study of the vaginal flora over a menstrual cycle.," *International Journal of STD and AIDS.*, pp. 489–494, **1997**.
- [9] J. G. E. M. Lindner, F. H. F. Plantema and J. A. A. Hoogkamp-Korstanje, "Quantitative studies of the vaginal flora of healthy women and of obstetric and gynaecological patients.," *J. Med. Microbiol.*, vol.11, no.3, pp. 233-241, **1987**.
- [10] Çiçek, N. H. ve Mungan, T.,*Klinikte Obstetrik Jinekoloji*, Güneş Tıp Kitabevi, **2007**.
- [11] A. C. Vallor, M. A. Antonio, S. E. Hawes, and S. L. Hillier, "Factors associated with acquisition of, or persistent colonization by, vaginal lactobacilli: role of hydrogen peroxide production.," *J. Infect. Dis.*, vol. 184, no. 11, pp. 1431–6, Dec. **2001**.
- [12] S. Boris, J. E. Suárez, F. Vázquez, F. Va, and J. E. Sua, "Adherence of Human Vaginal Lactobacilli to Vaginal Epithelial Cells and Interaction with Uropathogens.," *Infection and Immunity*, vol. 66, no. 5, pp. 1985-1989, May. **1998**.

- [13] T. Dembélé, V. Obdržálek and M. Votava, "Inhibition of Bacterial Pathogens by lactobacilli," *Zent. bl. Bacteriol.*, vol. 288, no. 3, pp. 395-401, Nov. **1998**.
- [14] S. Boris and C. Barbés, "Role played by lactobacilli in controlling the population of vaginal pathogens.," *Microbes and Infection*, vol. 2, no. 5, pp. 543-546, Apr. **2000**.
- [15] C. M. Critchlow, K. K. Holmes, P. R. Davick, B. L. Williams, S. J. Klebanoff, K. Young-smith, C. M. Critchlow, and K. K. Holmes, "Prevalence of hydrogen peroxide-producing *Lactobacillus* species in normal women and women with bacterial vaginosis .," *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 27, no. 2, pp. 251-256, Feb. **1989**.
- [16] S. E. Dover, A. A. Aroutcheva, S. Faro, and M. L. Chikindas, "Natural Antimicrobials and Their Role in Vaginal Health: a Short Review.," *Int. J. Probiotics Prebiotics*, vol. 3, no. 4, pp. 219–230, Jan. **2008**.
- [17] I. M. Linhares, P. R. Summers, B. Larsen, P. C. Giraldo, and S. S. Witkin, "Contemporary perspectives on vaginal pH and lactobacilli.," *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 204, no. 2, pp. 120.e1–5, Feb. **2011**.
- [18] F. Rohwer and F. Azam, "Detection of DNA Damage in Prokaryotes by Terminal Deoxyribonucleotide Transferase-Mediated dUTP Nick End Labeling Detection of DNA Damage in Prokaryotes by Terminal Deoxyribonucleotide Transferase-Mediated dUTP Nick End Labeling," *Appl. Environ. Microbiol.* vol. 66, no. 3, pp. 1001-1006, Mar. **2000**.
- [19] S. E. Hawes, S. L. Hillier, J. Benedetti, C. E. Stevens, L. a Koutsky, P. Wolner-Hanssen, and K. K. Holmes, "Hydrogen peroxide-producing lactobacilli and acquisition of vaginal infections.," *J. Infect. Dis.*, vol. 174, no. 5, pp. 1058–63, Nov. **1996**.
- [20] J. Nissen-Meyer and I. Nes, "Ribosomally synthesized antimicrobial peptides: their function, structure, biogenesis, and mechanism of action," *Arch. Microbiol.*, vol. 167, no. 2/3, pp. 67–77, Mar. **1997**.
- [21] A. A. Aroutcheva, J. A. Simoes, and S. Faro, "Antimicrobial protein produced by vaginal *Lactobacillus acidophilus* that inhibits *Gardnerella vaginalis*." *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.*, vol. 9, no. 1, pp. 33–9, Jan. **2001**.
- [22] V. S. Ocaña, A. A. Pesce, D. R. Holgado, and E. Nader-macías, "Characterization of a Bacteriocin-Like Substance Produced by a Vaginal *Lactobacillus salivarius* Strain Characterization of a Bacteriocin-Like Substance Produced by a Vaginal *Lactobacillus salivarius* Strain," *Appl. Environ. Microbiol.* vol. 65, no. 12, pp. 5631-5635, Dec. **1999**.
- [23] L. Brabin, S. a Roberts, E. Fairbrother, D. Mandal, S. P. Higgins, S. Chandiook, P. Wood, G. Barnard, and H. C. Kitchener, "Factors affecting

- vaginal pH levels among female adolescents attending genitourinary medicine clinics.," *Sex. Transm. Infect.*, vol. 81, no. 6, pp. 483–7, Dec. **2005**.
- [24] Black, J., G., Microbiology. *Characteristics of Prokaryotic and Eukaryotic Cells*, 8. Edition, Wiley Publisher, **2013**.
- [25] A. Yücel and A. S. Kantarcioğlu, "Candida albicans'ın taksonomisindeki önemli değişiklikler," *Cerrahpasa J. Med.* vol. 30, no. 3, pp. 236-246, **1999**.
- [26] S. Faro, J. Apuzzio, N. Bohannon, K. Elliott, G. Mark, S. M. Mou, L. E. Phillips-smith, D. E. Soper, A. Strayer, and R. L. Young, "Treatment Considerations in Vulvovaginal Candidiasis," *The Female Patient*, vol. 22, pp. 1–17, March, **1997**.
- [27] M. Mahmoudi Rad, A. S. Zafarghandi, M. Amel Zabihi, M. Tavallaee, and Y. Mirdamadi, "Identification of *Candida* species associated with vulvovaginal candidiasis by multiplex PCR.," *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.*, vol. 2012, p. 872169-5 pages, Jan. **2012**.
- [28] D. A. Eschenbach, S. S. Thwin, D. L. Patton, T. M. Hooton, A. E. Stapleton, K. Agnew, C. Winter, A. Meier, and W. E. Stamm, "Influence of the normal menstrual cycle on vaginal tissue, discharge, and microflora.," *Clin. Infect. Dis.*, vol. 30, no. 6, pp. 901–7, Jun. **2000**.
- [29] A. Spinillo, E. Capuzzo, S. Acciano, A. De Santolo and F. Zara, "Effect of antibiotic use on the prevalence of symptomatic vulvovaginal candidiasis.," *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 180, no. 1, pp. 14-17, Jan. **1999**.
- [30] M. V Pirota and S. M. Garland, "Genital *Candida* species detected in samples from women in Melbourne, Australia, before and after treatment with antibiotics.," *J. Clin. Microbiol.*, vol. 44, no. 9, pp. 3213–7, Sep. **2006**.
- [31] J. Xu, K. Schwartz, M. Bartoces, J. Monsur, R. K. Severson, and J. D. Sobel, "Effect of antibiotics on vulvovaginal candidiasis: a MetroNet study.," *J. Am. Board Fam. Med.*, vol. 21, no. 4, pp. 261–8, **2008**.
- [32] G. Y. Ruche, N. Messuo, L. Ali-napo, V. Noba, H. Faye-Ketté, P. Combe, D. Bonard, F. Sylla-Koko, D. Dhéha, C. Welfens-ekra, M. Dosso and P. Msellati, "Vaginal Douching: Association With Lower Genital Tract Infections in African Pregnant Women.," *Sexually Transmitted Diseases*, vol. 26, no. 4, pp.191-196, April, **1999**.
- [33] J. L. Martino, "Vaginal Douching: Evidence for Risks or Benefits to Women's Health," *Epidemiol. Rev.*, vol. 24, no. 2, pp. 109–124, Dec. **2002**.
- [34] N. J. Bohannon, "Treatment of vulvovaginal candidiasis in patients with diabetes.," *Diabetes Care*, vol. 21, no. 3, pp. 451–6, Mar. **1998**.



- [35] E. M. De Leon, S. J. Jacober, J. D. Sobel, and B. Foxman, "Prevalence and risk factors for vaginal *Candida* colonication in women with type 1 and type 2 diabetes," *BMC Infectious Diseases*, vol. 6, pp. 1–6, **2002**.
- [36] L. G. Koss and M. R. Melamed, *Koss' Diagnostic Cytology and Its Histopathologic Bases*, Lippincott Williams and Wilkins, **2006**.
- [37] J. Jordan, A. Singer, H. Jones and M. Shafi, *The Cervix*, John Wiley and Sons, **2009**.
- [38] V. P. Eroschenko, *DiFiore's Atlas of Histology with Functional Correlations*, Lippincott Williams and Wilkins, **2008**.
- [39] W. Gray and G. Kocjan, *Diagnostic Cytopathology*, Elsevier Health Sciences, **2010**.
- [40] Demirezen, Ş., *In-situ kanser hücrelerinin biyolojik özellikleri*, Doktora tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **1982**.
- [41] D. McMullan, "Scanning electron microscopy 1928-1965," *Scanning*, vol. 17, no. 3, pp. 175–185, Dec. **2006**.
- [42] K. C. A. Smith and C. W. Oatley, "The scanning electron microscope and its fields of application," *British Journal of Applied Physics*, vol.6, pp. 391-399, Nov. **1955**.
- [43] D. Akçayöz, K. Köken, G. Kunt, İ. B. Müldür, S. G. Saykal, *Elektron Mikroskopun Tıpta Kullanım Alanları*.
- [44] A. E. Williams, J. A. Jordan, J. M. Allen, E. Williams, and J. F. Murphy, "The Surface Ultrastructure of Normal and Metaplastic Cervical Epithelia and of Carcinoma in Situ," *Cancer Res.* vol. 33, pp. 504–513, March, **1973**.
- [45] S. C. Rastogi, *Cell and Molecular Biology*, New Age International, **2006**.
- [46] G. M. Centola, "Surface features of exfoliated vaginal epithelial cells during the oestrous cycle of the rat examined by scanning electron microscopy," *J. Anat.* vol. 127, no. 3, pp. 553-561, May, **1978**.
- [47] E. Ruoslahti, "Integrins", *J. Clin. Invest.*, vol. 87, pp. 1-5, Jan. **1991**.
- [48] B. Luo, C. V Carman, and T. A. Springer, "Structural Basis of Integrin Regulation and Signaling," *Annu. Rev. Immunol.* vol. 25, pp. 619–647, **2007**.
- [49] S. M. Albelda and C. A. Buck, "Integrins and other cell adhesion molecules.," *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, vol. 4, no. 11. pp. 2868–80, Aug. **1990**.

- [50] A. Sonnenberg, J. Calafat, H. Janssen, H. Daams, L. M. van der Raaij-Helmer, R. Falcioni, S. J. Kennel, J. D. Aplin, J. Baker, and M. Loizidou, "Integrin alpha 6/beta 4 complex is located in hemidesmosomes, suggesting a major role in epidermal cell-basement membrane adhesion.," *J. Cell Biol.*, vol. 113, no. 4, pp. 907–17, May **1991**.
- [51] M. B. Srichai and R. Zent, "*Cell-Extracellular Matrix Interactions in Cancer*," Springer Science and Business Media, **2010**.
- [52] I. D. Campbell and M. J. Humphries, "Integrin structure, activation, and interactions.," *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, vol. 3, no. 3, Mar. **2011**.
- [53] P. S. Frenette and D. D. Wagner, "Molecular Medicine Adhesion Molecules-Part I," *T. H. E. New, E. Journal, and O. F. Medicine*, vol. 334, no. 23, pp. 1526–1529, **1996**.
- [54] A. Banno and M. H. Ginsberg, "Integrin activation," *Biochem. Soc. Trans.* vol. 36, no. 2, pp. 229–234, Apr. **2008**.
- [55] Salt bridge, [http://en.wikipedia.org/wiki/Salt\\_bridge\\_\(protein\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Salt_bridge_(protein)), (Kasim, **2013**).
- [56] M. Takeichi, "Morphogenetic roles of classic cadherins.," *Curr. Opin. Cell Biol.*, vol. 7, no. 5, pp. 619–27, Oct. **1995**.
- [57] J. M. Halbleib and W. J. Nelson, "Cadherins in development: cell adhesion, sorting, and tissue morphogenesis.," *Genes Dev.*, vol. 20, no. 23, pp. 3199–214, Dec. **2006**.
- [58] B. D. Angst, C. Marcozzi, and a I. Magee, "The cadherin superfamily: diversity in form and function.," *J. Cell Sci.*, vol. 114, no. Pt 4, pp. 629–41, Feb. **2001**.
- [59] J. R. Alattia, H. Kurokawa, and M. Ikura, "Structural view of cadherin-mediated cell-cell adhesion.," *Cell. Mol. Life Sci.*, vol. 55, no. 3, pp. 359–67, Mar. **1999**.
- [60] M. Takeichi, "The cadherins: cell-cell adhesion molecules controlling animal morphogenesis.," *Development*, vol. 102, no. 4, pp. 639–55, Apr. **1988**.
- [61] Y. Liu, A. J. Chirino, Z. Misulovin, C. Leteux, T. Feizi, M. C. Nussenzweig, and P. J. Bjorkman, "Crystal structure of the cysteine-rich domain of mannose receptor complexed with a sulfated carbohydrate ligand.," *J. Exp. Med.*, vol. 191, no. 7, pp. 1105–16, Apr. **2000**.
- [62] P. D. Stahl and R. a Ezekowitz, "The mannose receptor is a pattern recognition receptor involved in host defense.," *Curr. Opin. Immunol.*, vol. 10, no. 1, pp. 50–5, Feb. **1998**.

- [63] L. East and C.M.Isacke, "The mannose receptor", *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 1572, pp. 364-386, **2002**.
- [64] S. M. Velhal, A. Deshpande, and A. H. Bandivdekar, "Association of Human Mannose Receptor in Sexual Transmission of Human Immunodeficiency Virus in Serodiscordant Couples," *AIDS Research and Human Retroviruses*, vol. 29, no. 1, pp. 156–163, **2013**.
- [65] G. Estate, "Role of Glycosides as Epithelial Cell Receptors for *Candida albicans*.", *Journal of General Microbiology*, vol. 133, pp. 637–643, **1987**.
- [66] D. Sadava, H. C. Heller, G. H. Orians, W. K. Purves and D. M. Hillis, *Life: The Science of the Biology*, W. H. Freeman and Company, eighth edition, **2008**.
- [67] W. W. Navare and O. Schneewind, "Surface Proteins of Gram Positive Bacteria and Mechanisms of Their Targeting to the Cell Wall Envelope", *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* vol. 63, no. 1, pp. 174-229, **1999**.
- [68] K. P. Talaro, *Foundations in Microbiology*, McGraw Hill Education, fifth edition, **2005**.
- [69] R. Bauman, *Microbiology with diseases by Taxonomy*, Pearson, second edition, **2006**.
- [70] Madigan, M.T, Martinko, J., M., Stahl, A.D., Clark, D.P., Brock Biology of Microorganisms. *Cell Structure and Function in Bacteria and Archaea*, Benjamin Cummings Publishers, San Fransisco, 87-90, **2012**.
- [71] J. W. Costerton, J. M. Ingram, and K. Cheng, "Structure and function of the Cell Envelope of Gram-Negative Bacteria", *Bacteriological Reviews*, vol. 38, no. 1, pp. 87-110, **1974**.
- [72] T. Proft and E. N. Baker, "Pili in Gram-negative and Gram-positive bacteria- structure, assembly and their role in disease.", *Cell. Mol. Life Sci.*, vol. 66, pp. 613-635, **2009**.
- [73] G. E. Soto and S. J. Hultgren, "Bacterial Adhesins : Common Themes and Variations in Architecture and Assembly", *Journal of Bacteriology*, vol. 181, no. 4, pp.1059-1071, Feb. **1999**.
- [74] F. G. Sauner, M. A. Mulvey, J. D. Schilling, J. Martinez and S. J. Hultgen, "Bacterial pili: molecular mechanisms of pathogenesis.", *Current Opinion in Microbiology*, vol. 3, pp. 65-72, **2000**.
- [75] A. P. Johnson and H. a Davies, "Demonstration by electron microscopy of pili on *Gardnerella vaginalis*.", *Br. J. Vener. Dis.*, vol. 60, no. 6, pp. 396–7, Dec. **1984**.

- [76] W. M. D. Jr and W. M. Dunne, "Bacterial Adhesion : Seen Any Good Biofilms Lately ?", *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 15, no. 2, pp. 155-166, **2002**.
- [77] J. L. Patterson, P. H. Girerd, N. W. Karjane, and K. K. Jefferson, "Effect of biofilm phenotype on resistance of *Gardnerella vaginalis* to hydrogen peroxide and lactic acid.," *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 197, no. 2, pp. 170.e1–7, Aug. **2007**.
- [78] I. Sutherland, "Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework.," *Microbiology*, vol. 147, no. Pt 1, pp. 3–9, Jan. **2001**.
- [79] J. D. Sobel, "Bacterial vaginosis.," *Annu. Rev. Med.*, vol. 51, pp. 349–56, Jan. **2000**.
- [80] C. A. Spiegel, "Bacterial Vaginosis.," vol. 4, no. 4, pp. 485–502, **1991**.
- [81] A. G. P. Avilés, M. C. O. Zaragoza and A. I. Coria, "Bacterial vaginosis a Broad Overview", *Revista Latinoamericana de Microbiologia*, vol. 41, pp. 25-34, **1999**.
- [82] C. A. Spiegel , "Bacterial vaginosis: changes in laboratory practice.," *Clinical Microbiology Newsletter*, vol. 21, no. 5, March, **1999**.
- [83] C. J. Yeoman, S. Yildirim, S. M. Thomas, a S. Durkin, M. Torralba, G. Sutton, C. J. Buhay, Y. Ding, S. P. Dugan-Rocha, D. M. Muzny, X. Qin, R. a Gibbs, S. R. Leigh, R. Stumpf, B. a White, S. K. Highlander, K. E. Nelson, and B. a Wilson, "Comparative genomics of *Gardnerella vaginalis* strains reveals substantial differences in metabolic and virulence potential.," *PLoS One*, vol. 5, no. 8, p. e12411, Jan. **2010**.
- [84] K. Sadhu, P. A. G. Domingue, A. W. Chow, J. Nelligan, N. Cheng, J. W. Costerton, "*Gardnerella vaginalis* has a gram-positive cell-wall ultrastructure and lacks classical cell-wall lipopolysaccharide", *Journal of Medical Microbiology*, vol. 29, pp. 229-235, **1989**.
- [85] T. G. Scott, C. J. Smyth, and C. T. Keane, "In vitro adhesiveness and biotype of *Gardnerella vaginalis* strains in relation to the occurrence of clue cells in vaginal discharges.," *Genitourin. Med.*, vol. 63, no. 1, pp. 47–53, Feb. **1987**.
- [86] J. L. Patterson, A. Stull-Lane, P. H. Girerd, and K. K. Jefferson, "Analysis of adherence, biofilm formation and cytotoxicity suggests a greater virulence potential of *Gardnerella vaginalis* relative to other bacterial-vaginosis-associated anaerobes.," *Microbiology*, vol. 156, no. Pt 2, pp. 392–9, Feb. **2010**.
- [87] S. E. Gelber, J. L. Aguilar, K. L. T. Lewis, and A. J. Ratner, "Functional and phylogenetic characterization of Vaginolysin, the human-specific cytolysin

- from *Gardnerella vaginalis*,” *J. Bacteriol.*, vol. 190, no. 11, pp. 3896–903, Jun. **2008**.
- [88] M. K. Biswas, “Bacterial vaginosis”, *Clinical Obstetrics and Gynecology*, vol. 36, no. 1, pp. 166–176, March, **1993**.
- [89] J. M. De Boer and F. H. F. Plantema, "Ultrastructure of the in situ adherence of *Mobiluncus* to vaginal epithelial cells.", *Can. J. Microbiol.*, vol. 34, pp. 757-766, Jan. **1988**.
- [90] B. I. Duerden, “The isolation and identification of *Bacteroides* spp. from the normal human vaginal flora.”, *J. Med. Microbiol.*, vol. 13, pp. 79–87, **1980**.
- [91] A. Aggarwal, P. Devi, and R. Jain, “Anaerobes in bacterial vaginosis.”, *Indian J. Med. Microbiol.*, vol. 21, no. 2, pp. 124–6, **2003**.
- [92] H. M. McDonald, “*Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in pregnancy and obstetric outcome,” Diagnostic Microbiology Unit, Australia, pp. 69–78.
- [93] E. a. Keane, J. Thomas, B. Gilroy, a. Renton, and D. Taylor-Robinson, “The association of *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma genitalium* with bacterial vaginosis: observations on heterosexual women and their male partners,” *Int. J. STD AIDS*, vol. 11, no. 6, pp. 356–360, Jun. **2000**.
- [94] H. N. Shah and D. M. Collins, “*Prevotella*, a new genus to include *Bacteroides melaninogenicus* and related species formerly classified in the genus *Bacteroides*,” *International Journal of Systematic Bacteriology*, vol. 40, no. 2, pp. 205–208, **1990**.
- [95] A. M. Briselden, B. J. Moncla, C. E. Stevens, and S. L. Hillier, “Sialidases (neuraminidases) in bacterial vaginosis and bacterial vaginosis-associated microflora.”, *J. Clin. Microbiol.*, vol. 30, no. 3, pp. 663–6, Mar. **1992**.
- [96] D. A. Murdoch, “Gram-positive anaerobic cocci.”, *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 11, no. 1, pp. 81–120, Jan. **1998**.
- [97] J. Ng, *Characterization of Peptostreptococcus species by aminopeptidase profiles and genotyping methods*, Ph. D. degree, Ottawa-Carleton Institute of Biology, **1996**.
- [98] R. L. Cook, G. Reid, D. G. Pond, C. A. Schmitt and J. D. Sobel, "Clue cells in bacterial vaginosis: immunofluorescent identification of the adherent Gram-negative bacteria as *Gardnerella vaginalis*." *The Journal of Infectious Diseases*, vol. 160, no. 3, pp. 490-496, Sep. **1989**.

- [99] L. Myziuk, B. Romanowski, C. Stephen, and S. C. Johnson, "BVBlue Test for Diagnosis of Bacterial Vaginosis" *Journal of the Clinical Microbiology*, vol. 41, no. 5, pp. 1925-1928, **2003**.
- [100] R. Amsel, P. A. Totten, C. A. Spiegel, K. C. S. Chen, D. Eschenbach, K. K. Holmes, "Nonspecific Vaginitis: Diagnostic Criteria and Microbial and Epidemiologic Associations," *The American Journal of the Medicine*, vol. 74, pp. 14-22, **1983**.
- [101] M. R. Joesoef, G. P. Schmid, and S. L. Hillier, "Bacterial vaginosis: review of treatment options and potential clinical indications for therapy.," *Clin. Infect. Dis.*, vol. 28 Suppl 1, pp. S57-65, Jan. **1999**.
- [102] M. C. Meltzer, R. a Desmond, and J. R. Schwebke, "Association of *Mobiluncus curtisii* with recurrence of bacterial vaginosis.," *Sex. Transm. Dis.*, vol. 35, no. 6, pp. 611-3, Jun. **2008**.
- [103] J. D. Sobel, P. Myers, M. E. Levison, and D. Kaye, "Comparison of bacterial and fungal adherence to vaginal exfoliated epithelial cells and human vaginal epithelial tissue culture cells ." *Infectious and Immunity*, vol. 35, no. 2, pp. 697-701, **1982**.
- [104] B. Larsen, A. J. Markovetz, and R. P. Galask, "Spatial relationship of the vaginal microflora to the vaginal epithelium of female rats : scanning electron microscopy," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 34, no. 1, pp. 80-87, July, **1977**.
- [105] A. P. Foden, R. S. Freedman, and C. Abrahams, "Scanning electron microscopy of normal uterine cervix, carcinoma in situ and squamous cell carcinoma. Preliminary findings.," *S. Afr. Med. J.*, vol. 50, no. 15, pp. 571-3, Apr. **1976**.
- [106] Y. L. Boustouller and A. P. Johnson, "Pili on *Gardnerella vaginalis* studied by electronmicroscopy," *J. Med. Microbiol.* vol. 23, pp. 327-329, **1987**.
- [107] J. Pizarro-Cerdá and P. Cossart, "Bacterial adhesion and entry into host cells.," *Cell*, vol. 124, no. 4, pp. 715-27, Feb. **2006**.
- [108] G. P. Jarosik, "Identification of a *Gardnerella vaginalis* Hemoglobin-Binding Protein," *Current Microbiology*, vol. 42, pp. 49-52, **2001**.
- [109] G. P. Jarosik, C. B. Land, P. Duhon, R. Chandler, and T. Mercer, "Acquisition of iron by *Gardnerella vaginalis*," *Infect. Immun.*, vol. 66, no. 10, pp. 5041-7, Oct. **1998**.
- [110] G. P. Jarosik and C. B. Land, "Identification of a human lactoferrin-binding protein in *Gardnerella vaginalis*," *Infect. Immun.*, vol. 68, no. 6, pp. 3443-7, Jun. **2000**.

- [111] T. M. Randis, R. Kulkarni, J. L. Aguilar, A. J. Ratner, "Antibody-Based Detection and Inhibition of Vaginolysin, the *Gardnerella vaginalis* Cytolysin," *Public Library of Science One*, vol. 4, no. 4, pp.207, **2009**
- [112] G. Rottini, A. Dobrina, O. Forgiarini, E. Nardon, G. A. Amirante, and P. Patriarca, "Identification and partial characterization of a Identification and Partial Characterization of a Cytolytic Toxin Produced by *Gardnerella vaginalis*," *Infection and Immunity*, vol. 58, no. 11, pp. 3751-3758, **1990**.
- [113] A. W. Sturm, "Chemotaxis inhibition by *Gardnerella vaginalis* and succinate producing vaginal anaerobes: composition of vaginal discharge associated with *G vaginalis*," *Genitourin. Med.*, vol. 65, no. 2, pp. 109–12, Apr. **1989**.
- [114] C. D. Gregory and A. Devitt, "The macrophage and the apoptotic cell: an innate immune interaction viewed simplistically?," *Immunology*, vol. 113, no. 1, pp. 1–14, **2004**.
- [115] M. D. Knutson, M. Oukka, L. M. Koss, F. Aydemir, and M. Wessling-Resnick, "Iron release from macrophages after erythrophagocytosis is up-regulated by ferroportin 1 overexpression and down-regulated by hepcidin.," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 102, no. 5, pp. 1324–8, Feb. **2005**.
- [116] E. Essner, "An electron microscopic study of erythrophagocytosis.," *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, vol. 7, pp. 329–34, Apr. **1960**.
- [117] A. Swidinski, M. Mendling, V. Loening-Baucke, A. Ladhoff, S. Swindiski, L. P. Hale, H. Lochs," Adherent Biofilms in Bacterial vaginosis", *Obstetrics & Gynecology*, 106, no.5 (1), 1013-1023, **2005**.
- [118] D.S. Heller, S. Maslyak, J. Skurnick," Is the Presence of *Trichomonas* on a Pap Smear Associated with an Increased Incidence of Bacterial Vaginosis?", *Journal of Lower Genital Tract Disease*, vol. 10, no.3, pp. 137-139, **2006**.
- [119] E. Gillet, J. F. A Meys, H. Verstraelen, R. Verhelst, P. De Sutter, M. Temmerman, and D. Vanden Broeck, "Association between bacterial vaginosis and cervical intraepithelial neoplasia: systematic review and meta-analysis.," *PLoS One*, vol. 7, no. 10, p. e45201, Jan. **2012**.

## 7. ÖZGEÇMİŞ

### Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Funda GERÇEKER

Doğum Yeri : Çubuk

Medeni Hali : Bekar

E-posta : [gerceker.f@gmail.com](mailto:gerceker.f@gmail.com)

Adresi : Yeşiltepe mah. 1996.sok. No:22/12 Keçiören / Ankara

### Eğitim

Lise : 2002-2006, Yıldırım Beyazıt Anadolu Lisesi

Lisans : 2006-2011, Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans : 2011-2013, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji A.B.D

Doktora : -

### Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce – Upper Intermediate

### İş Deneyimi

Başkent Hastanesi Patoloji Laboratuvarı, 2013 Ocak-devam ediyor.

### Deneyim Alanları

Serviko-vajinal yaymaların ışık mikroskopik incelenmesi

### Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

-

### Tezden Üretilmiş Yayınlar

-

### Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar

-