

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

BEHÇET HASTALARINDA VE SAĞLIKLI BİREYLERDE ÜROEPİTEL
HÜCRELERİNİN *STREPTOCOCCUS PYOGENES* VE *ESHERICHIA*
COLI'YE KARŞI BAKTERİSİDAL ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. EVRİM AKSU

MİKROBİYOLOJİ VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Aydın KARAARSLAN

ANKARA
2010

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tıpta Uzmanlık eğitimi çerçevesinde yürütülmüş olan

Behçet Hastalarında ve Sağlıklı Bireylerde Üroepitel Hücrelerinin *Streptococcus pyogenes* ve *Esherichia coli*'ye Karşı Bakterisidal Etkisinin Araştırılması başlıklı, **Dr. Evrim Aksu**'ya ait bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **Tıpta Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:

04 / 05 / 2010

Ünvanı, Adı, Soyadı

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Prof. Dr. Aydın KARAARSLAN

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Jüri Başkanı



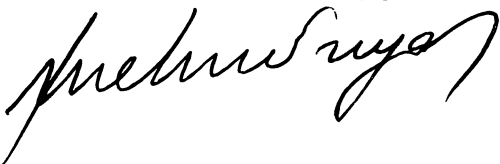
Ünvanı, Adı, Soyadı

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Prof. Dr. Mehmet KIYAN

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji

Anabilim Dalı



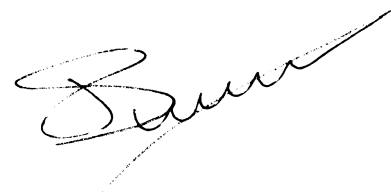
Ünvanı, Adı, Soyadı

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Doç. Dr. Devran GERÇEKER

Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji

Anabilim Dalı



ÖNSÖZ

Öncelikle, uzmanlık eğitimim süresindeki katkılarından dolayı ve danışmanlığımı üstlenerek bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli hocalarım Prof. Dr. Aydın Karaarslan ve Prof. Dr. Hatice Özenci'ye teşekkür ederim.

Ve; sevgili hocam Prof. Dr. Mehmet Kıyan'a, tezimi bir dilbilimci titizliğiyle okuduğu; her düzeltmesinde ne kadar az şey bildiğimi bana hissettirdiği; bana güvendiği için çok teşekkür ediyorum.

Ve de; tıp fakültesine ve nihayet mikrobiyolojiye teşvik edip; tezin başlangıcından sonuna kadar da yanımda olan; sadece yanımda olmayıp tezin istatistikî analizlerine varıncaya kadar akademik anlamda her türlü yardımı sevgiyle ve sabırla veren, bana güvenen, aynı zamanda en can arkadaşım, sırdaşım olan canım teyzem Prof. Dr. Bahtışen Kavak'a burada bir kez daha çok teşekkür ediyorum.

Tez süresince önemli teknik yardımlarından ve manevi desteğinden dolayı Biyolog Dr. Derya Biriken Salın'a teşekkür ederim. Tezin özetini edit eden Uzm. Dr. Gülay Aral Akarsu'ya; manevi desteğinden dolayı sevgili arkadaşım Arş. Grv. Dr. Begüm Saran'a teşekkür ederim. Deneylerin yapılması sırasındaki teknik yardımlarından ve her aşamadaki samimi desteklerinden dolayı sevgili Neriman Köse ve Melek Balcı'ya teşekkür ederim.

Can dostum Ebru Sezen Demirci'ye katkılarından ve zor günlerimde hep yanımda olduğundan dolayı teşekkür ederim. Kuzinim Eylem Saraç'a yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Canım Aileme;

Bana güvendikleri, yanımda oldukları ve derin sevgilerini hiçbir zaman esirgemedikleri için sevgili Annem ve Babam başta olmak üzere; uzakta yaşamalarına rağmen hep yanımda olan ablam Semiha Aydemir'e, İhsan Aydemir'e ve 'Mert-Erşen ikilisi'ne çok teşekkür ederim. Ailemin çok özel bir parçası olan 'sevgili amcam' Prof. Dr. Ersoy Akıncı'ya çok teşekkür ederim.

Soner Dayıcım, sen gittin her şey çok zor oldu! Sonsuzluğa sonsuz sevgilerimle...

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	i
Önsöz	ii
İçindekiler	iii
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	vi
Tablolar Dizini	ix
Şekiller Dizini	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Behçet Hastalığı	5
2.1.1. Epidemiyoloji	5
2.1.2. Etyopatogenez	5
2.1.2.1. Genetik ve HLA Tiplemesi	6
2.1.2.2. Enfeksiyöz Ajanlar	7
2.1.2.3. Isı Şok Proteinleri (HSP) ve $\delta\gamma$ T Lenfositleri	7
2.1.2.4. $\alpha\beta$ -Kristalin ve Self Antijenler	8
2.1.2.5. Hücresel İmmünite	8
2.1.2.6. Humoral İmmünite	9
2.1.2.7. Nötrofiller ve Monositler	9
2.1.2.8. Endotel Hücreleri, Nitrik oksit (NO) ve Yeni İnflamatuar Moleküller	10
2.1.2.9. Oksidatif Stres, Antioksidatif Savunma ve Eser Elementler	12
2.1.2.10. Koagülasyon ve Fibrinolizis	12
2.2. Epitel Hücreleri	13
2.2.1. Epitelial Sinyal Yolları	13
2.2.2. Epitel Hücrelerinin Görevleri	14
2.2.2.1. Bariyer Fonksiyonu	14
2.2.2.1.1. Mukus ve Müsin Üretimi	15
2.2.2.1.2. Antimikrobiyal Peptid Oluşumu	16
2.2.2.2. Mikroorganizmayı Tanıma	18
2.2.2.3. Fagositoz	19

2.2.2.4.	MHC Molekül Ekspresyonu	20
2.2.2.5.	Sitokin ve Kemokin Salınımı	20
2.2.2.6.	Adezyon Moleküllerinin Ekspresyonu	22
2.2.2.7.	Antikor Oluşumu	23
2.2.2.8.	Diğer Medyatörlerin Salınımı	23
2.2.3.	Epitel Hücresinin Diğer İmmün Hücreler İle Etkileşimi	24
2.2.3.1.	Nötrofiller ile Etkileşim	24
2.2.3.2.	Makrofaj ile Etkileşim	25
2.2.3.3.	Dendritik Hücre ve NK ile Etkileşim	25
2.2.3.4.	T ve B Hücresi ile Etkileşim	26
2.2.4.	Epitel Hücresinin İmmün Yanıtın Düzenlenmesindeki Rolü	27
2.2.4.1.	Özgül Olmayan Savunma Mekanizmalarının Uyarılması	27
2.2.4.2.	Doğal ve Kazanılmış İmmün Yanıtın Uyarılması	28
2.2.4.3.	Toleransın Uyarılması	28
2.2.5.	Epitel Hücresinin Normal Flora İle İlişkisi	29
2.3.	<i>Streptococcus pyogenes</i> (Grup A Streptokoklar)	31
2.3.1.	Morfoloji ve Boyanma Özellikleri	31
2.3.2.	Kültür ve Biyokimyasal Özellikleri	31
2.3.3.	Antijenik Yapı ve Patojenite	32
2.3.4.	Yaptığı Hastalıklar	33
2.4.	<i>Escherichia coli</i>	33
2.4.1.	Morfoloji ve Boyanma Özellikleri	34
2.4.2.	Kültür Özellikleri	34
2.4.3.	Antijenik Yapı	34
2.4.4.	Virulans ve Patojenite Özellikleri	34
2.4.5.	Plazmidleri	36
2.4.6.	Bakteriyosinleri	36
2.4.7.	Yaptığı Hastalıklar	36
3.	GEREÇ VE YÖNTEM	38
3.1.	Gereçler	38
3.1.1.	Sarf Malzemeler	38
3.1.2.	Kimyasal Malzemeler	38

3.1.3.	Araçlar	38
3.2.	Yöntemler	39
3.2.1.	İdrar Epitel Hücresinin (İEH) Hazırlanması	39
3.2.2.	Mikroorganizmaların Hazırlanması	40
3.2.3.	Hücrelerin Mikroorganizmalar İle Karşılaştırılması	40
3.3.	İstatistiksel Değerlendirme	41
4.	BULGULAR	42
4.1.	İdrar Epitel Hücresi (İEH)	42
4.1.1.	İdrar Epitel Hücresi (İEH)'nin <i>S. pyogenes</i> ve <i>E. coli</i> ' ye Karşı Bakterisidal Etkisi	42
5.	TARTIŞMA	45
	SONUÇLAR	50
	ÖZET	52
	SUMMARY	54
	KAYNAKLAR	56

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADA	Adenozin Deaminaz
Ang-4	Angiogenin-4
ASH	Antijen Sunan Hücre
BE	Bakterisidal Etki
BH	Behçet Hastalığı
BPI	Bakterisidal Permeabilite Artırıcı Protein
Caco-2	İnsan Kolon Epidermal Adenokarsinom Hücre Dizini
cfu	Koloni Oluşturan Birim
DH	Dendritik Hücre
EAgEC	Enteroagregatif <i>E. coli</i>
E/H	Efektör Hücre/Hedef Hücre
EH	Epitel Hücre
EHEC	Enterohemorajik <i>E. coli</i>
EIEC	Enteroinvaziv <i>E. coli</i>
EMB	Eosin Metilen Blue
EPEC	Enteropatojenik <i>E. coli</i>
ETEC	Enterotoksijenik <i>E. coli</i>
FCS	Fetal Sığır Serumumu
G-CSF	Granülosit Koloni Stimüle Edici Faktör
GM-CSF	Granülosit Monosit Koloni Stimüle Edici Faktör
HBD	İnsan Beta Defensin
HBSS	Hanks Dengeli Tuz Solüsyonu
HLA	İnsan Lökosit Antijeni

Hms	Homosistein
HSP	Isı Şok Proteini
HSV	Herpes Simpleks Virüs
ICAM-1	İntersellüler Adezyon Molekülü
IFN- γ	İnterferon Gama
Ig	İmmunglobulin
IL	İnterlökin
iEH	İncebağırsak Epitel Hücre
İEH	İdrar Epitel Hücre
KB	İnsan Ağız Epitel Hücre Dizini
LPS	Lipopolisakkarit
LT	Labil Toksin
LTB	Lökotrien
M-CSF	Monosit Koloni Stimüle Edici Faktör
mRNA	Messenger Ribonükleik asit
MHC	Major Doku Uygunluk Antijeni
MIC	MHC Sınıf-1 Zincir İlişkili
MICA	MHC Sınıf-1 Zincirine Bağlı Gen A
MIP	Makrofaj İnflamatuar Protein
NF- κ B	Nükleer Faktör KappaB
NK	Doğal Öldürücü Hücre
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentetaz
İNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentetaz

PAMP	Patojen İlişkili Moleküler Patern
PBS	Fosfat Tamponlu Tuz
PG	Prostoglandin
pIgR	Polimerik İmmunglobulin Reseptörü
PMNL	Polimorf Nüveli Lökosit
PRR	Patojen Tanıyan Reseptör
PRRP	Patojen Tanıyan Reseptör Paterni
RANTES	Aktivasyonu Düzenlenmiş Normal T Hücre Ekspresyonu ve Sekresyonu
RNA	Ribonükleik asit
RPMI 1640	Roswell Park Memorial Institute'nün 1640 Kodlu Hücre Vasatı
SPSS	Sosyal Bilimler İçin İstatistiksel Paket Programı
ST	Stabil Toksin
Th	Yardımcı T Hücre
TLR	Köprü Benzeri Reseptör
TLRs	Köprü Benzeri Reseptörler
TNF	Tümör Nekroz Faktör
TGF	Dönüştürücü Büyüme Faktörü
UPEC	Üropatojenik <i>E .coli</i>
VCAM-1	Vasküler Hücre Adezyon Molekülü
VEGF	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü
$\gamma\Delta T$	Gama Delta T Lenfositleri

TABLolar DİZİNİ

Tablo 4.1.1. EH'nin 1/1 E/H oranlarında <i>S. pyogenes</i> ve <i>E. coli</i> 'ye karşı 1. saatte gösterdikleri bakterisidal etki ortalamaları	43
--	----

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 4.1.** Canlı ve ölü epitel hücresi (a/b) 42
- Şekil 4.1.1.** İEH'nin 1/1 E/H oranlarında *S. pyogenes* ve *E. coli*'ye karşı
1. saatte gösterdikleri bakterisidal etki ortalamaları 43

1. GİRİŞ

Behçet hastalığı (BH) ilk olarak 1937 yılında Türk Dermatolog Hulusi Behçet tarafından tanımlanmış olan tekrarlayıcı oral aftlar, genital ülserler, deri lezyonları ve üveit ile karakterize sistemik inflamatuvar bir hastalıktır (Yıldırım ve ark., 2009). Hastalığın etyolojisi bilinmemesine rağmen, immunolojik bozukluklar üzerinde durulmakta, gelişiminden genetik, çevresel, virolojik, bakteriyel ve immunolojik faktörler sorumlu tutulmaktadır (Kaneko ve ark., 1997; Çelenk ve ark., 2009).

Mikroorganizmalar, insan ve hayvanlarda vücuda değişik yollardan girerek bozukluklara neden olmakta ve çeşitli mekanizmalarla hastalık oluşturmaktadır. Patolojiye neden olan enfeksiyon ajanları patojen mikroorganizma olarak adlandırılmaktadır. Mukozal immun sistem egzojen antijene karşı ilk savunma hattını oluşturur (Janeway ve ark., 2001). Derinin yanında, respiratuvar, gastrointestinal ve ürogenital sistemin mukozal yüzeyleri içteki steril ortamla dış çevreyi ayırır ve böylece mikroplara karşı ilk hat savunmasını oluşturur (Steele ve ark., 2000; Basset ve ark., 2003).

Epitel hücresi mukozal patojenden korunmada oldukça seçici bir bariyer rolü üstlenmektedir ve fiziksel bir bariyer olmaktan çok daha fazla etkiye sahiptir (Albayrak ve ark., 2005). Mukozal immun sistemde epitel hücresi özgül olmayan immun yanıtta kazanılmış immun yanıtta geçişte ve immun homeostazın regülasyon veya tolerans yönünde belirlenmesinde kavşak noktası oluşturmaktadır. Bu hücreler, antijene, antijenin yapısına, miktarına ve sunum şekline göre nasıl bir yanıt oluşturulacağını belirlemektedir (Albayrak ve ark., 2006a).

Mukozal yüzeylere tutunma, mukozal enfeksiyonun patogenezinde kritik ilk adımdır. Konağa tutunma, mikroorganizmanın dokudaki sürekliliğini kolaylaştırmakta ve inflamatuvar yanıtı tetikleyen ve mukozal hücrelere bakteri

girişine neden olan konak ile etkileşimi başlatmaktadır (Basset ve ark., 2003; Albayrak ve ark., 2006a).

Birinci hat savunmasını organizmanın doğal (innate) direnç mekanizmaları oluşturmaktadır. Bu mekanizmalar, mikroorganizmalar için seçicilik göstermeksizin (non-spesifik) ve süreklilik içinde gözetici ve kontrol edici bir görev yaparlar. Doğal immünite, konağın patojen mikroorganizmaya maruz kalmasını izleyen ilk saatler içinde enfeksiyonu sınırlamayı hedefleyen konak savunmasını temsil eder (Kılıçturgay, 2003). Doğal immun sistem başlıca mekanik, kimyasal ve hücresel elementlerden oluşur. Mekanik element, epidermis ve mukozanın fiziksel bariyer fonksiyonu yanında silial hareket, motilite, desquamasyon ve mukus sekresyonudur. Kimyasal element, patojen tanıyan reseptör paternleri (PRRP), sitokinler ve kemokinler olmak üzere üç subkomponente ayrılır. Doğal immun sistemin hücresel elementleri, epitel hücreleri, mast hücreleri, dendritik hücreler, makrofaj, granülosit, NK hücreleri ve yδT hücreleri gibi fagositik hücreleri içerir (Basset ve ark., 2003).

Doğal immun sistem patojenlere karşı güçlü bir erken savunma sistemi oluşturmaktadır. Konak hücrede bulunmayan, buna karşın farklı mikroorganizma üzerinde ortak olarak bulunan lipopolisakkarit (LPS), peptidoglikan, lipoteikoikasit ve lipopeptidleri içeren çok sayıdaki bakteriyel komponentler doğal immun sistemi uyarmaktadır (Mori ve ark., 2003). Epitel hücreleri pasif bir bariyerden daha ziyade, proinflamatuvar genlerin ekspresyonu, inflamatuvar sitokinlerin salınımı ve patojenik bakteriler ve onların ürünlerine cevapta inflamatuvar hücrelerin toplanmasını sağlayarak mukozal immun cevaba aktif olarak katılmaktadır (Melmed ve ark., 2003).

Epitel hücresi, mukozal patojenin girişine karşı güçlü bir bariyer görevi yapmaktadır. Bu hücreler, kontrollü, seçici geçişe izin vermekte ve epitelin bütünlüğü patojen mikroorganizmaların çevre dokulara geçişini sınırlamaktadır. Epitel hücresi; defensin, katepsin, lizozim, peroksidaz, katelidin ve müsin gibi antimikrobiyal bileşenler ile prostoglandin, lökotrien, ve

nitrik oksit gibi moleküller salgılamaktadır. Toll-like reseptörler (TLRs) birçok mikrobiyal yapıyı tanır, MHC molekülü eksprese eder ve antijen sunumu yapabilir (Acheson ve Luccioili, 2004; Albayrak ve ark., 2005). Sitokin ve kemokinler doğal ve kazanılmış immun cevabın önemli düzenleyicileridir. Bunlar, epitel ve endotel hücrelerinin yanısıra immun hücreler tarafından üretilirler. Doğal immun cevabın bir parçası olarak kazanılmış immun cevabın hangi yönde (Th1 veya Th2) baskın olacağı konusunda anahtar rol oynar (Basset ve ark., 2003).

Erişkin bireyde 400 m²'lik yüzey ile vücudun besin maddeleri, toksinler, allerjenler ve mikroorganizmalar ile karşılaşan en geniş bölgesinin mukozalardır (Badur ve ark., 2001). *Streptococcus pyogenes* ve *Escherichia coli* vücuda mukoza yüzeyini aşarak giren en sık mikroorganizmalardandır.

S. pyogenes, doğada yaygın olarak bulunan gram pozitif, hareketsiz ve çoğunlukla zincirler oluşturan koklardır. İnsanda anjin, yılanık, kızıl, tonsil absesi, lohusalık ateşi ve menenjit gibi akut cerahatli hastalıklar ve sepsise neden olabildikleri gibi akut eklem romatizması ve post streptokoksik glomerulonefrit gibi süpüratif olmayan hastalıklara neden olurlar (Brooks ve ark., 1995).

E. coli gram negatif ve çoğu hareketli basildir. Kalın barsak florası içinde, en yaygın fakültatif anaerop türüdür. Barsakların normal flora üyesi olmasına rağmen barsak enfeksiyonları yanında üriner sistem enfeksiyonu, bakteriyemi, menenjit, pnömoni gibi barsak dışı enfeksiyonlara da neden olabilirler (Gilchrist, 1995).

Son yıllarda, vücudun çeşitli bölgelerindeki epitel hücrelerinin mukozal yüzeylerdeki doğal ve kazanılmış immün cevabın düzenlenmesinde oynadığı aktif rol son yıllarda anlaşılmaya başlamıştır. Mikroorganizmalara yanıt olarak sekretuar ürünler salgılayabilme özelliği vücuttaki tüm epitelyal hücrelerin genel özelliğidir (Kagnoff, 1996).

Konu ile ilgili yapılan çalışmalarda, epitel hücrelerinin antibakteriyel etkilerini araştıran sınırlı sayıda yayın bulunmaktadır. Yukarıda özetlenen bilgiler ışığında epitel hücrelerinin konağın doğal savunmasında oynadıkları rol düşünüldüğünde, çeşitli hasta gruplarında enfeksiyona yatkınlık açısından bu hücre grubunun katkılarının incelenmesinin hastalığın patogenezeine katkısı olacağını düşünmekteyiz. Bu çalışmada epitel hücrelerinin idrar örneklerinden invaziv olmayan yöntemlerle elde edilecek olması ve Behçet hastalarının idrar epitel hücreleri ile ilgili başka çalışmaya rastlanılmamış olması nedeniyle üriner sistem epitel hücreleri ile çalışmayı seçtik. Sağlıklı kontrol grubu ile Behçet hastalarından oluşan grup arasında üroepitel hücrelerinin bakterisidal etkinliği açısından herhangi bir fark bulunması durumunda bu bulguların hastalığın patogenezeini açıklayacak yeni çalışmalara ışık tutması beklenmektedir.

nceki çalışmalarda vajen, barsak, ağız ve ürogenital epitel hücrelerinin bakterisidal etkinlik gösterdiği belirlenmiştir (Steele ve ark 1999; zenci ve ark., 2001; Albayrak ve ark., 2005; Fidan ve ark., 2006). Bununla birlikte, Behçet hastalarında oral epitel hücresinin bakterisidal etkinliğinin azaldığı gösterilmiştir (Dolapçı ve ark., 2003). Bu alışmada Behçet hastalarında ve sağlıklı bireylerde üroepitel hücrelerinin *Streptococcus pyogenes* ve *Esheria coli*'ye karşı bakterisidal etkisi ve aralarında etki farkının olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Behçet Hastalığı

Behçet hastalığı (BH) tekrarlayan ürogenital ülserler, üveit, deri ve mukoza bulguları, eklem, nörolojik, vasküler, intestinal ve pulmoner tutulum ile karakterize olabilen sistemik bir vaskülitir. İlk kez bir Türk dermatolog olan Prof. Dr. Hulusi Behçet tarafından tanımlanmıştır (Yıldırım ve ark., 2009; Mendes ve ark., 2009).

2.1.1. Epidemiyoloji

Tüm dünyada ve hemen her ırkta görülebilen BH, kuzey yarım kürede ve baskın olarak tarihi İpek Yolu üzerinde bulunan ülkelerde oldukça sık görülmektedir (Önder ve Gürer, 2007).

BH genellikle ikinci ve üçüncü dekattaki genç erişkinleri etkilemektedir. BH'nin erkeklerde daha sık olduğunu bildiren yayınlar mevcut olsa da yapılan son çalışmalarda hastalığın kadınlarda da erkeklere benzer sıklıkta görüldüğü bildirilmektedir (Önder ve Gürer, 2001).

BH prevalansının en yüksek olduğu ülke Türkiye'dir. Türkiye'de görülme sıklığına yakın olan ülkelerin başında İran, ardından Kore ve Japonya gelmektedir (Pamuk ve Çakır, 2005).

2.1.2. Etyopatogenez

BH'nin etyopatogenezi henüz kesin olarak ortaya konamamıştır. Ancak, günümüzde genetik olarak bu hastalığa duyarlı bir bireyde, uygun çevresel faktörlerin etkisiyle immün sistemin tetiklendiği, bu süreçte endotel harabiyeti olduğu ve BH'nin klinik bulgularının ortaya çıktığı kabul edilmektedir (Doğanavşargil ve Keser, 2005).

2.1.2.1. Genetik ve HLA Tiplemesi

BH'nin özel bir coğrafi dağılım göstermesi, sınıf-I HLA antijen ile birlikteliği ve ailesel yatkınlığın olması, BH'nin patogenezinde genetik faktörlerin rol oynadığı hipotezini desteklemektedir (Yıldırım ve ark., 2009).

Major histokompatibilite kompleksi (MHC), 6. kromozomun kısa kolunda yer alır ve T hücrelerine antijen sunumunda görevli çok sayıda HLA'nın kodlanmasından sorumludur (Pay, 2005).

HLA-B5 lokusu HLA-B51 ve HLA-B52 alellerinden oluşmaktadır ve BH ile ilişkili olan alel HLA-B51 ya da HLA-B51'in major alt tipi olan HLA-B5101 alelidir (Yıldırım ve ark., 2009).

Tümör nekrozis faktör (TNF)- α çeşitli inflamatuvar hastalıkların patogenezinde rolü gösterilmiş olan önemli bir proinflamatuvar sitokindir. MHC ilişkili hastalıklara TNF gen polimorfizmlerinin katkısı ayrıntılı olarak araştırılmış ve ilk kez 1992'de Japon Behçet hastalarında ve daha sonra Orta Doğulu hastalar arasında, BH ile TNF promotor bölgesindeki aleller arasında ilişki bildirilmiştir (Pay, 2005). Mukozal immünitede önemli olan MHC sınıf-I zincir ilişkili (MIC) gen ailesi ilk kez 1994 yılında tanımlanmıştır. Son zamanlarda BH ile ilişkisi gösterilmiş immünogenetik lokus olan MHC sınıf-I zincirine bağlı gen A (MICA) 6. kromozom üzerinde bulunan HLA-B51 aleli ile TNF- α geninin arasında lokalize olduğu bildirilmiştir (Everekliolu, 2005). Isı şok proteinlerinin salınması sırasında MICA moleküllerinin ekspresyonunda artış saptanmıştır. MICA moleküllerinin bakteriyel peptidleri $\gamma\delta$ T hücrelerine sunabilme özelliğine sahip oldukları gösterilmiştir (Boyyat, 2004).

BH patogenezinde, MHC bölgesinin dışında bulunan IL-1, koagülasyon faktör V, ICAM-1 ve endotelial nitrik oksit sentetaz genlerinin yer aldığı öne sürülmüştür (Mendes ve ark., 2009). Faktör V Leiden mutasyonu 1. kromozom üzerinde yer alır ve idiyopatik sistemik venöz tromboz için risk

faktörüdür (Verity ve ark., 2003). BH'de tromboz ve göz tutulumu ile birlikte Faktör V Leiden gen mutasyonunun birlikteliği gösterilmiştir (Cebeci ve ark., 2009).

2.1.2.2. Enfeksiyöz Ajanlar

Tüm hastalıklarda olduğu gibi, BH'nin tetiklenme ve gelişmesinde de çevresel faktör olarak enfeksiyöz ajanlar sorumlu tutulmuştur. BH'de etiolojiden sorumlu tutulan enfeksiyöz ajanlar arasında *Streptococcus spp.* (örneğin *S. sangius*, *S. faecalis*, *S. pyogenes*, *S. salivarius*), Mikobakteriler, *Helicobacter pylori*, *Borrelia burgdorferi*, HSV, *Human Herpes Virus(HHV)-6*, Parvovirus B19 ve Hepatit A, B, C ve E virüsleri bulunmaktadır (Doğanavşargil ve Keser, 2005; Direskeneli, 2006; Pay ve ark., 2007). Enfeksiyöz ajanların BH'nin patogenezinde rol oynadığı histopatolojik ve istatistiksel olarak gösterilmesine rağmen, bu mikroorganizmalardan hiçbiri BH nedeni olarak izole edilmemiş ve kanıtlanmamıştır (Evereklioğlu, 2005; Mendes ve ark., 2009).

Bugün için genel görüş BH'nin doğrudan enfeksiyon sonucunda ortaya çıkan bir hastalık olmadığı ancak viral veya bakteriyel antijenlerin etkisiyle oluşan immün disregülasyona bağlı olabileceği yönündedir (Evereklioğlu, 2005).

2.1.2.3. Isı Şok Proteinleri (HSP) ve δyT Lenfositleri

Stres proteinleri olarak da adlandırılan ısı şok proteinleri (HSP), tüm prokaryotik ve ökaryotik hücrelerde bulunan ve enfeksiyon, travma, ısı gibi çevresel faktörler tarafından indüklenebilen stresle ilişkili immünreaktif proteinlerdir. HSP'ler, BH'nin patogenezinde suçlanan streptokok ve mikobakteriler gibi mikroorganizmalar ile ortak antijenik epitoplara sahiptirler (Yıldırım ve ark., 2009).

Streptokok ve mikobakteri gibi bakterilerden elde edilen HSP'ler konakçı HSP'si ile benzerlik gösterir. Mikobakterilerden elde edilen HSP65 insan

HSP60 ile benzerlik gösterir. HSP65'in BH'deki epidermal ekspresyonu özellikle eritema nodosum ve mukokutanöz ülser gibi aktif deri lezyonları varlığında artar. BH'deki $\gamma\delta$ T hücrelerinin artışı mikobakterial 65 kDa'luk HSP peptidi ile olmaktadır. Genel olarak kabul edilir ki, mikrobiyal HSP ile insan HSP'si arasındaki çapraz reaksiyon, otoimmün enfeksiyonun temelini oluşturur (Evereklioğlu, 2005; Direskeneli, 2006; Pay ve ark., 2007).

2.1.2.4. $\alpha\beta$ -Kristalin ve Self Antijenler

$\alpha\beta$ -kristalin omurgalılarda beyin, lens, çizgili kas ve böbrek gibi çeşitli dokulardan salgılanan küçük bir stres proteinidir. Nörolojik tutulumu olan Behçet hastalarında, vasküler hastalıktan çok parankimal tutulumu gösteren $\alpha\beta$ -kristaline karşı serum ve serebrospinal sıvıda IgG antikor cevaplarında artış gösterilmiştir (Pay ve ark., 2007).

DeneySEL otoimmün üveite neden olabilen Retinal-S antijeni immünolojik olarak ayrıcalıklı bir antijendir. Bu antijenin oküler inflamatuvar hastalık için bir hedef olduğu düşünülmektedir. Bu proteine karşı immün yanıtın sadece üveite bağlı doku hasarından sonra ortaya çıktığı gösterilmiştir (Pay ve ark., 2007; Yıldırım ve ark., 2009).

2.1.2.5. HücreSEL İmmünite

HLA-B51'in bağladığı antijeni yalnızca sitotoksik T hücrelerine sunabilmesi, BH'de $\gamma\delta$ T hücrelerinin artması, Th1 sitokin sunumunun hastalık aktivitesi ile ilişkili olması, ayrıca T hücrelerinin çeşitli viral ve bakteriyel antijenlere aşırı duyarlı olması, paterji reaksiyonunun geç döneminde T hücresinden zengin infiltrasyon izlenmesi ve siklosporin-A gibi T lenfosit fonksiyonlarını baskılayan ilaçların BH üveitinde etkili olması, BH'nin patogeneğinde T lenfositte bağlı immün yanıtın önemli olduğunu göstermektedir (Doğanavşargil ve Keser, 2007; Borlu, 2007).

Sitokinler üzerinde yapılan çalışmalarda, Th1 sitokinlerin etkisinin Behçet hastalarında ön planda olduğu düşünülmektedir (Borlu, 2007). Behçet hastalarında proinflamatuvar mediyatörler olarak adlandırılan IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, IL-18, TNF- α ve IFN- γ 'yı üreten Th1 lenfositlerin arttığı bildirilmiştir (Pay ve ark., 2007; Yıldırım ve ark., 2009). Bazı çalışmalarda, Behçet hastalarının serumunda Th2 sitokinleri olan IL-4, IL-10, ve IL-13'ün arttığı gösterilmiştir. Bu bulgular Th1 tip cevaba karşılık kompansatuvar mekanizma ile açıklanabilir (Pay ve ark., 2007).

Adenozin deaminaz (ADA) düzeyinin T lenfositlerin aktivasyonu ve proliferasyonu ile karakterize inflamatuvar hastalıklarda arttığı bilinmektedir (Yıldırım ve ark., 2009). T hücre proliferasyonu, olgunlaşma ve farklılaşmasında etkili olan Adenozin deaminazın Behçet hastalarında arttığı gösterilmiştir (Borlu, 2007).

2.1.2.6. Humoral İmmünite

Behçet hastalarında genellikle poliklonal olarak immunoglobulin düzeyinde artış saptanmaktadır. Kompleman düzeyleri ise, normal düzeyde kalmaktadır. Behçet hastalarının % 44 - % 60'ında IgG, IgA ve IgM tipinde immün kompleksler bulunmaktadır. Anti-HSV antikoru ve streptokokal antijenlere karşı gelişen antikolar dışında nonspesifiklerdir. Behçet hastalarında saptanan poliklonal B hücre aktivasyonu, supresör T hücre disfonksiyonu veya B hücre aktivasyonuna neden olan IL-6, IL-1 ve IL-10 gibi sitokinlerin aşırı miktarda salgılanması sonucu olabilir. Poliklonal B hücre aktivasyonu sonucu oluşan immün komplekslerin, nötrofil hiperfonksiyonuna neden olarak doku hasarı oluşturabileceği ileri sürülmektedir (Everecklioğlu, 2005; Borlu, 2007).

2.1.2.7. Nötrofiller ve Monositler

BH'de aktif olan monositler, IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α ve Granülosit monosit

koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) gibi bazı proinflamatuvar sitokinleri üretirler. Başlıca nötrofiller yoluyla doku hasarına neden olan bu sitokinler, endotel hücreleri ile etkileşime girerek PMNL aktivasyonuna katkıda bulunurlar. Özellikle major kemokin olan IL-8'in hastalığın patogeneğinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir ve aktif Behçet hastalarında serum IL-8 düzeyinde artış gösterilmiştir (Evereklioğlu, 2005).

BH'de gösterilen immünolojik bozukluklardan biri de nötrofil hiperaktivasyonudur (Yıldırım ve ark., 2009). Behçet hastalarında PMNL hücre fonksiyonlarında, enzimatik aktivitede (metiltransferaz, fosfolipaz A-2), kemotaksiste, fagositozda ve süperoksit salınımında normale göre artış saptanmaktadır (Borlu, 2007). Nötrofil hiperaktivitesinden Th1 kaynaklı IFN- γ , TNF- α , IL-8, IL-12, IL-17 ve IL-18 gibi sitokin ve kemokinlerin sorumlu olduğu düşünülmektedir (Yıldırım ve ark., 2009). Daha çok aktif CD4(+) ve CD8(+) T lenfositlerden üretilen IL-17'nin, nötrofillerin inflamasyon bölgesine toplanmasından sorumlu olduğu bulunmuştur. IL-18, Th1 hücrelerinin immun yanıtındaki rolünü ve nötrofil fonksiyonlarını artırıyor olabilir (Pay ve ark., 2007; Krause ve Weinberger, 2008).

2.1.2.8. Endotel Hücreleri, Nitrik oksit (NO) ve Yeni İnflamatuvar Moleküller

BH'deki vasküler tutulum ve trombozun temelinde endotel hasarı ve endotel işlev bozuklukları bulunur. Endotel hücre disfonksiyonu vasküler geçirgenlik, lökosit migrasyonu ve trombozda önemli rol oynamaktadır. Prostatiklin üretiminin bozukluğu, fibrinolitik sistem anormallikleri, endotel kaynaklı von Willebrand faktör, trombomodulin ve E-selektinin serum düzeylerinin yüksekliği BH'deki endotel disfonksiyonunun başlıca kanıtlarıdır (Evereklioğlu, 2005).

NO immünite ve inflamasyonun önemli bir mediyatörüdür. Sitokinler, IFN- γ , LPS'ler ve endotoksin gibi immünolojik, infeksiyöz ve inflamatuvar stimuluslar

ile endotel hücreleri tarafından üretilmektedir. Trombosit adezyonunun inhibisyonu ve endotelial vazodilatasyon önemli fonksiyonlarıdır. Yapılan çalışmalarda, aktif Behçet hastalarının serum NO metabolitlerinin düzeylerinin inaktif hastalara göre daha yüksek olduğu ve bu artışın hastalık aktivitesi ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (Doğanavşargil ve Keser, 2005; Pay ve ark., 2007).

Yakın zamanda çeşitli moleküllerin BH'nin seyri ile ilişkisi gösterilmiştir. Bu moleküllerin ilki, BH'de yüksek düzeyde bulunan homosisteindir. Homosistein, endotel hücrelerinden NO sentezini artırır, serbest oksijen radikalleri ile kemoatraktantların ekspresyonunu indükler. IL-6, IL-8 ve TNF- α için güçlü bir indükleyicidir (Everekliolu 2002). Son çalışmalar Behçet hastalarında hiperkoagülabilitate ve trombotik komplikasyonlar açısından Hms'nin yeni bir risk faktörü olduğunu göstermektedir (Everekliolu, 2005; Krause ve Weinberger, 2008). İkincisi, endotele spesifik sitokin olan Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)'dir. Makrofajlar, aktive insan nötrofilleri, monositler ve vasküler endotel hücreleri tarafından üretilen VEGF hem sistemik, hem de retinal vasküler endotel hücreleri üzerinde lokalize olan reseptörleri ile anjiogenez, endotele bağlı vazodilatasyon ve NO üretimini kuvvetle stimüle eder. Serum VEGF düzeyinin Behçet hastalarında arttığı ve VEGF gen polimorfizmleri ile oküler hastalığın ilişkili olduğu bulunmuştur (Everekliolu 2002; 2005).

Yakın zamanlarda serum leptin düzeylerinin Behçet hastalarında yükseldiği gösterilmiştir. Leptin insan kan damarlarından ve endotel hücrelerinden eksprese edilir, inflamasyonda kritik bir rol oynar ve bozulan endotel fonksiyonunda leptin replasmanı ile düzelme görülür. TNF- α , insanda serum leptin düzeyini artırır ve leptin doğrudan endotel hücrelerinden NO'nun salınmasını artırmaktadır (Everekliolu, 2005).

2.1.2.9. Oksidatif Stres, Antioksidatif Savunma ve Eser Elementler

BH etyopatogenezinde damar duvarındaki hasarın oluşumunda serbest oksijen radikalleri suçlanmıştır. Behçet hastalarında artmış oksidatif stresin göstergesi olarak süperoksitler, ADA, hidrojen peroksit düzeylerinde artış, antioksidatif fonksiyonlarda azalmanın göstergesi olarak da süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz ve katalazın azaldığı bildirilmektedir. Behçet hastalarında PMNL hücre fonksiyonlarında, enzimatik aktivitede, (metiltransferaz, fosfolipaz A-2) kemotaksiste, fagositozda ve süperoksit salınımında normale göre artış saptanmaktadır. Bununla birlikte bazı çalışmalarda Behçet hastalarında plazma SOD düzeyleri yüksek oranda bulunmaktadır ve bu artışın doku hasarı nedeni ile oluştuğu düşünülmektedir. Ancak, mononükleer hücrelerde, T ve B lenfositlerde, SOD düzeyi normale göre azalmış bulunmaktadır ki bu durum oksijen radikallerinin yeteri kadar ortadan kaldırılamadığını ve doku hasarının gelişimine neden olabileceğini düşündürmektedir (Borlu, 2007; Yıldırım ve ark. 2009).

Süperoksit salınımında artış ile HLA-B51 pozitifliği arasında bir ilişki olduğu ileri sürülmektedir. HLA-B51(+) sağlıklı bireylerde nötrofillerden TNF- α üretimi de artmaktadır. Ancak, HLA-B51(+) kişilerin sadece 1/1000'inde Behçet hastalığı gelişmektedir (Borlu 2007). Yine antioksidan sistemin kofaktörü durumundaki selenyum, demir, manganez, çinko elementlerinin serum düzeylerinin düşük olduğu gösterilirken bazı çalışmalarda serum bakır, çinko ve manganez düzeylerinde artış bildirilmiştir. Antioksidan vitaminlerden A,C,E ve Beta-karotenin Behçet hastalarında azalmış olduğunu ileri süren çalışmalar bulunmaktadır (Erel ve ark., 2003; Noyan ve ark., 2003).

2.1.2.10. Koagülasyon ve Fibrinolizis

BH'nin klinik özelliklerinden biri venöz ve arteriyel tromboz ve artmış kompansatuar fibrinolitik süreç ile aktive olan hemostatik sistemdir. Genellikle, bozulmuş fibrinoliz ile birlikte aşırı bir trombin oluşumu vardır.

Koagülasyon yolağının aktivasyonunu gösteren faktörlerden trombin-antitrombin-III kompleksi ve protrombin fragmant düzeylerinin yüksek saptanması, Behçet hastalarında intravasküler trombin yapımının arttığını göstermektedir. Behçet hastalarında plazmin/ α 2-antiplazmin kompleksi gibi fibrinolitik sistem aktivasyonunu gösteren mediyatör düzeylerinin de yüksek olduğu saptanmıştır (Everekliolu, 2005; Pay ve ark., 2007; Yıldırım ve ark., 2009).

Sonuç olarak, BH'nin patogenezinden, genetik yatkınlığı olan bireylerde, başta enfeksiyöz ajanlar olmak üzere çeşitli antijenik uyaranlar ve çevresel faktörlerin etkisiyle hücrel ve hümoral immünitede meydana gelen disfonksiyonun sorumlu olduğu düşünülmektedir (Everekliolu, 2005; Borlu, 2007; Yıldırım ve ark., 2009; Mendes ve ark., 2009).

2.2. Epitel Hücresi

Epitel, sindirim, solunum, üreme ve idrar yollarının ve çeşitli bezlerin kanallarını ve salgı hücrelerini, epidermis, gözün yüzeyleri, follow tüp ve kese yüzeylerini döşeyen benzer hücrelerin birbiriyle bağlanması ile oluşan dokulardır (Ganz, 2002).

Vücuda değişik yollardan girerek bozukluklara neden olan ve çeşitli mekanizmalarla hastalık oluşturan mikroorganizmaların çoğunluğu (tüm hastalık etkenlerinin %90'ı), insan organizmasına mukozal yüzeyleri, dolayısıyla EH'yi aşarak girmektedir (Bouvet ve Fischetti, 1999; Janeway ve ark., 2001).

2.2.1. Epitelyal Sinyal Yolları

Epitel hücresinin mikroorganizmaya cevapta kullandığı sinyal yolları, proinflamatuvar yanıt genlerinin düzenlenmesini sağlayan, hücre

çekirdeğinde bulunan nükleer faktör-kappa B (NF-κB) ile ve kalsiyumun geçici ve hızlı düzenlenen hücre içi değişimi ile ilişkilidir (Haller ve ark. 2004).

Patojenik bakteriye maruz kaldıktan sonra EH, sitokin ve kemokin sentezi için NF-κB yolu ile aktive olmaktadır (Hayday ve Viney, 2000).

Epitel hücreleri apikal ve bazolateral yüzeylerde ve hücre içinde potansiyel saldırganların varlığını algılama mekanizmalarını düzenlerler. Bu durum NF-κB ve diğer transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu ile sitokin ve kemokin sekresyonuna yol açar. Böylece kemokin ve sitokinler, kolonize patojenlerin varlığına cevap oluşturmak için doğal immunitenin diğer etmenlerini ve adaptif sistemin komponentlerini uyarır (Janeway ve ark., 2002).

2.2.2. Epitel Hücresinin Görevleri

2.2.2.1. Bariyer Fonksiyonu

Epitelin immun sistemdeki önemli bir fonksiyonu bariyer fonksiyonunun yapılanmasıdır (Schleimer ve ark., 2007). Respiratuar, gastrointestinal, deri ve ürogenital müköz membranların epitel hücreleri primer hücre bariyerini oluşturur (Fritz ve ark., 2008). Farklı mukozal alanlarda değişik fizyolojik, histolojik ve immünolojik özelliklere sahip olan epitel hücresi, iç dünya ile patojenlerin bulunduğu dış dünya arasında fiziksel bir bariyer oluşturmaktadır (Ganz, 2002; Quayle, 2002).

Epitelde, hücreler arasında moleküllerin geçişini sağlamak için sıkı bağlantı moleküllerinin varlığı bir diğer önemli özelliktir. Bunlar aynı zamanda, LPS, flagellin ve metillenmemiş CpG içeren DNA gibi pek çok kommensal ve patojenik bakteriyel faktörü tanıyan PRRP'nin geniş bir oranını da ekspres ederler (Mason ve Hufnagle, 2009). EH bariyeri, apikal ve bazal olarak bir arada tutulan sıkı bağlantı ve adezyon molekülleri ve desmozomları içeren bağlantı komplekslerinin farklı şekillerdeki ekspresyonları ile dış ortama karşı

etkin bir engel oluşturmakta, dipeptid ve tripeptidler gibi büyük moleküllerin geçişini engellemekte, kontrollü ve seçici geçişe izin vermektedir (Hamzaqui ve Pringault, 1998; Janeway ve ark., 2001; Mayer, 2003; Mavris ve Sansonetti, 2004).

Yüzey epitel hücrelerine tutunan mikroorganizmanın epitel dökülmesi sırasında atılması, böylece konaktan uzaklaştırılması etkin bir konak savunmasıdır ve epitelin patojen ile invazyonunu önlemektedir (Abbas ve Lichtman, 2003a).

Organizmanın mukozal bütünlüğü, çoğu mikroorganizmanın girişine karşı etkin bir koruma sağlamaktadır (Janeway ve ark., 2001). Mukoza altındaki dokulara ulaşmak için patojenler hem epitele zarar verir hem de hücrelere saldırır. Epitelin hasarlanması, ekstraselüler matriks ve epitel hücreleri arasındaki bağlantıları hedef alan glikanaz ve/veya proteazların sekresyonu ile hücre nekrozu ve apoptozun indüklenmesiyle oluşabilir (Basset ve ark., 2003).

2.2.2.1.1. Mukus ve Müsin Üretimi

Müsin glikoproteinleri, nazal boşluk ve orofarinksten rektuma kadar epitel yüzeylerini örten mukus tabakanın temel bileşenini oluşturmaktadır (Mayer, 2003; Acheson ve Luccioli, 2004). Bu bariyer, güçlü patojenleri mukus içinde tutmakta (Acheson ve Luccioli, 2004) ve antijenlerin alttaki epitele geçişine engel olmaktadır (Mayer, 2003). Mukus α 1-antitripsin gibi enzimleri, albümin, lizozim, laktoferrin ve salgısal immunglobulin A'yı (slgA) içermekte; bu bileşenlerle sinerjik etki içinde patojeni daha iyi yakalayabilmekte, mikroorganizmanın EH'ye tutunmasını engellemekte ve patojeni konaktan uzaklaştırabilmektedir (Mavris ve Sansonetti, 2004). Mikroorganizmanın yayılmasını önleyen mukus örtü, böylece EH'nin bariyer ve immün fonksiyonunu kolaylaştırmaktadır (Boyaka ve ark., 2001).

Akıcı özelliği ile mekanik olarak yabancılarla mücadele eden mukus, zengin karbonhidrat yapısı gereği, içeriğindeki şeker molekülleri ile patojenleri bağlayarak interferens yapmakta, immünglobülin, sitokin gibi maddelerin bölgeye yığılmalarına yol açarakn fagositik hücre aktivitesini arttırmakta ve laktoferrin, lizozim ya da antikorların optimal etki göstermeleri için uygun ortamı hazırlamaktadır (Badur, 2001; Mahida, 2004; Mavris ve Sansonetti, 2004).

Ek olarak, mukusun EH reseptörleri ile benzer reseptörleri bulunmakta, bu reseptörler EH reseptörleri ile yarışmaya girmekte ve mikroorganizmanın konak EH'ye tutunmasını engellemektedir (Janeway ve ark., 2001).

2.2.2.1.2. Antimikrobiyal Peptid Oluşumu

Antimikrobiyal peptidlerin konsantrasyonu ve aktivitesi mukosa-lümen ara yüzeyinde en fazladır. Mikrobiyal tutunma ve mukozaya invazyonu sınırlandırmak başlıca fonksiyonlarıdır (Mason ve Hufnagle, 2009).

Defensinler mikroorganizmayla doğrudan temas ile patojenlerin inhibisyonundan başka, doğal ve kazanılmış immun cevabı tetikleyerek konağı dolaylı olarak koruma kapasitesine sahiptir (Aerts ve ark., 2008). α -defensinler özelleşmiş fagositlerin organellerinde bulunan ve nonoksidatif olarak öldürülmeye aracılık eden granüllerde yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır. β -defensinler ise, çoğu mukozal alanlardaki epitel hücrelerinde (ürogenital organlarda, ağız, burun, trakea ve akciğer epitelinde) sentezlenmektedir. Defensinler Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterileri, mantarları, protozoaları ve virüsleri kapsayan geniş bir mikroorganizma topluluğunu inaktive etme ve öldürme kapasitesine sahiptir (Cunliffe, 2003; Mason ve Hufnagle, 2009).

Membran yapısını bozan bir diğer antimikrobiyal peptid katelisidinlerdir. Bu peptidler kolon, akciğer ve üriner sistem gibi mukozal yüzeylerdeki epitel

hücreleri ve nötrofillerden eksprese edilirler. Defensinlere benzer bakterisidal etki gösteren katelisidinler elektrostatik etkileşim ile gram pozitif ve gram negatif bakteriler yanında bazı mantarların da membranına bağlanırlar (Mason ve Hufnagle, 2009).

Antibakteriyel bir enzim olan lizozim gözyaşı ve tükürük gibi vücut salgılarından sekrete edilen antimikrobiyal bir enzimdir. Bakteri hücre duvarını enzimatik olarak eritmesi yanında, enzimatik olmayan bir mekanizma ile bakteriyi öldürebilmektedir (Janeway ve ark.,2001; Ganz, 2004).

Doğrudan mikrobisidal etkiye sahip olan laktoferrin, midenin pH'sı ve üst sindirim yollarının sindirim enzimleri enfeksiyona karşı önlemleri kimyasal bariyer oluşturmaktadır. Laktoferrin demire yüksek affinite gösteren bir proteindir. Demiri bağlayarak mikroorganizmaların yararlanmalarını ve çoğalmalarını engellemektedir (Ganz, 2004; Basset ve ark., 2003).

Barsak epitelyumundan kriptosidin adı verilen bir antimikrobiyal peptid sentezlemektedir. Bu doğal antibiyotiğin etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir (Boyaka ve ark., 2001; Abbas ve Lichtman, 2003b). Yassı mukozal epitel, yapısal olarak sitoplazmalarında bulunan kalprotektin eksprese eder. Bu antimikrobiyal molekül, patojen mikroorganizmaya karşı epitel hücre direncini güçlendirmektedir (Nisapakultorn ve ark., 2001).

Akciğer epitel hücrelerinden sekrete edilen surfaktan A ve D gibi antimikrobiyal proteinler patojenin yüzeyini kaplayarak mikroorganizmanın alveoler makrofajlar tarafından daha kolay fagosite edilmesine katkı sağlamaktadır (Janeway ve ark., 2001; Rastogi ve ark., 2001).

Bir başka geniş spektrumlu antimikrobiyal protein, ribonükleaz ailesidir. Angiogenin-4 (Ang-4) bu ribonükleaz ailesinin bir üyesidir ve diğer RNAazlar gibi RNA'yı hidroliz edebilir, ancak bu enzimatik aktivite doğrudan bakterisidal

fonksiyonuna bağlı değildir. Ang-4 gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı bilinmeyen bir mekanizma ile geniş antibakteriyel etki gösterir (Mason ve Hufnagle, 2009).

Epitel hücrelerinin membranlarında, polimorfonükleer lkositlerce (PMNL) oluşturulan ve antimikrobiyal olarak bilinen bakterisidal permeabilite arttırıcı protein (BPI) eksprese edilmektedir. BPI, gram negatif bakterilerin LPS'lerine bağlanarak bakterisidal etki göstermektedir (Ganz, 2002).

2.2.2.2. Mikroorganizmayı Tanıma

EH, patojen tanıyan reseptörler (PRR) yolu ile birçok mikrobiyal yapıyı tanımakta, hücresel NF-κB aracılı sinyal yanıtlarını başlatmaktadır (Acheson ve Luccioli, 2004). PRR'lerin başlıca fonksiyonları opsonizasyon, kompleman ve koagülasyon kaskadının aktivasyonu, fagositoz, proinflamatuvar sinyal yolağı ve apoptozisin indüksiyonudur (Janeway ve ark., 2002).

Konak savunmasının en eski ve köklü ęekli olan doğal immun sistem, mikrobiyal temas hızlı ve erken yanıtı izin verir. Bu cevap patojen ilişkili moleküler paternler (PAMP) ile PRR arasındaki spesifik etkileşim temelinde olmaktadır. Bu PAMP'lar bakteriyel, viral ve fungal kaynaklı olabilirler ve PRR esas olarak makrofaj, dendritik hücre (DH) gibi APC'lerden ve enterositlerden eksprese edilir. Doğal immun sistem antijen bağımsız fakat PAMP bağımlıdır. Adaptif immun yanıt ise, antijen bağımlıdır. Adaptif immun yanıt APC'ler ile T ve B hücreler arasındaki etkileşme temeline dayanır. Etkin olması birkaç gün sürer ve hayat boyu kalıcı cevap oluşturur. Ancak doğal immun cevabın hafıza etkisi yoktur (Ruemmele, 2009).

PRR'ler, epitel hücresi, makrofaj-monosit, granülosit, mast hücresi ve dendritik hücreler gibi doğal immun sistem ile ilişkili pek çok hücre üzerinde bulunurlar. PRR'lerin birçok farklı ailesi vardır. Bunlar p reseptörler,

TLRs, formil peptid reseptörler, mannoz ve glikan reseptörleri, kompleman reseptörleri ve CD14'tür (Basset ve ark., 2003).

TLR'nin mukozal alanlardaki yerleşimi farklılıklar göstermektedir. Solunum sistemi EH'si TLR 1-10'u, intestinal epitel hücresi (iEH) TLR 1-4, 6 ve 9'u, kadın genital sistem EH'si TLR 1-3, 5 ve 6'yı ve üriner sistem EH'si TLR 2, 4, 5 ve 11'i eksprese etmektedir (Weichhart ve ark., 2008).

Mikroorganizma ligandları ile TLR'nin etkileşimi HBD-2, IL-1 β , IL-6, TNF- α oluşumuna yol açmakta; böylece, DH matürasyonu, MHC ve kostimulatör molekül ekspresyonunda artışa neden olmaktadır (Hertz ve ark., 2003; Pasare ve Medzhitov, 2004).

2.2.2.3. Fagositoz

İnvaziv bakteriler, epitel hücrelerine 'bakteri ile indüklenen fagositoz' diye adlandırabileceğimiz yol ile kendini hücre içine aldırma yeteneğine sahiptir. Fagositler ile fagositoz sırasında bakteri pasif rol almaktadır. Ancak bakteri ile indüklenen fagositoz esnasında bakteri, invaziv mikroorganizma ile konak hücre arasındaki karmaşık etkileşimin anahtar ve aktif oyuncusudur (Cossart ve Sansonetti, 2004). Fagositoz açısından profesyonel olmayan bu hücrelerde fagositozu başlatmanın bir yolu, normalde hücrenin bir diğer hücreye tutunmak için kullandığı ekstraselluler matriks adezyon moleküllerine tutunan adezinleri eksprese etmektir. Örnek olarak, E-cadherin gibi transmembran adezyon molekülüne bakterinin bağlanması ile bakteri EH'ye tutunmakta ve hücre içerisine fagositik alım ile girmektedir. İkinci yol ise; bakteri salgısal sistemi yoluyla konak hücre sitoplazmasına efektör moleküller injekte ettiğinde başlamakta ve bu efektör moleküller bakterinin yakalanmasını sağlayan konak hücre yüzeyinde lokalize büyük endositik veziküllerin oluşumuna neden olmaktadır (Navigation, 2002).

EH'nin süperoksit oluşturmaları, invaze olan bakteriyi oksidatif yolla öldürdüğünü göstermektedir (Battistoni ve ark., 2004). EH'nin patojenle mücadelesinde hücre-hücre temasının yanında eriyen faktörlerin önemli olduğu ve epitel hücrelerinden salınan ürünlerin fagositlerin konak fonksiyonlarını yönlendirmede etkin olduğu bildirilmiştir (Rosseau ve ark., 2000; Rosseau ve ark., 2004).

2.2.2.4. MHC Molekül Ekspresyonu

EH, diğer antijen sunan hücreler (ASH) gibi antijeni internalize etmekte ve işlemektedir. Diğer ASH'lerden farkı, oral alınan antijenin kimyasal yapısı ve antijenitesinin çok çabuk değişebilmesidir (Hershberg ve Mayer, 2000). EH'nin antijen alımı profesyonel ASH'nin antijen alımından daha yavaş olarak gerçekleşmektedir (Laiping ve ark., 2000).

Normal EH'nin MHC sınıf II ekspresyonu düşüktür ve antijenin işlenmesi seçici olarak CD8+ T hücrelerini uyarmaktadır (Berin ve ark.,1999). MHC molekülleri EH'de yapısal olarak bulunabilmekte ve lümendeki peptidi alıp bazolateral yüze transfer etmektedir (Mayer, 2000). Normal, inflamasyonun olmadığı durumda, MHC sınıf-II molekülleri ile antijenin işlenmesi sadece apikal yüzeyden internalizasyon ile başlatılmakta ve peptidin sunumu sadece bazolateral yüz ile sınırlı kalmaktadır (Quayle, 2002).

İntestinal epitel hücrelerinin doğal immünitede T hücre yanıtı ile ilişkili olan yüzey moleküllerini eksprese ettiği ve profesyonel olmayan antijen sunan hücre olarak rol aldığı ortaya konmuştur (Mayer, 2003).

2.2.2.5. Sitokin ve Kemokin Salınımı

Sitokinler bakteriye yanıtta oldukça önemli medyatörlerdir. Sitokinler inflamatuvar ve immün süreçte, hücreler arası sinyal oluşumunda görev alan salgısal proteinlerdir (Mikamo ve ark., 2004). EH, immün yanıtta görevli çeşitli

sitokin ve kemokinler salgılamakta ve bu özellikleri mikroorganizmaya karşı konak savunmasına yardımcı olmaktadır (Boyaka ve ark., 2001). EH'nin sitokin profili; EH'nin bulunduğu mukozal alana, mikroorganizma ile EH'nin karşılaşma süresine, mikroorganizmanın patojenitesi ve dozuna göre değişmektedir (Ma ve ark., 2003).

Bakteri ile konağın etkileşimi bir veya daha fazla sitokin salgılanmasına neden olmakta, oluşan sitokin, bakteri ve konak hücre doğasına göre belirlenmektedir (Wilson ve ark., 1998). Proinflamatuvar sitokinler (IL-1, IL-6, IL-8 ve TNF gibi) inflamatuvar hücrelerin aktivasyonu ve görev alanına çağrılmasında ve efektörlerin uyarılması kaskadında rol alan bileşenlerdir. Patojene karşı oluşan proinflamatuvar yanıt (sitokinler, PG ve NO'dan oluşan), mukozal patolojiye sebep olmakta; konağın korunması için IL-10 ve TGF- β gibi antiinflamatuvar sitokinlere ihtiyaç duyulmaktadır (Mikamo ve ark., 2004).

Kemokinler; nötrofil, eozinofil, monosit gibi granülositler ve T hücreleri için kemoatraktan etki oluşturmakta ve bu hücrelerin epitele göç etmesine yol açmaktadır (Kagnoff, 1996; Berin ve ark., 1999). Kemokinlerin oluşumu oldukça hızlıdır ve invaziv patojene karşı immünositlerin alana getirilmesini sağlayarak konak savunmasına katkıda bulunmaktadır (Berin ve ark., 1999).

EH'nin oluşturduğu sitokin ve kemokinler:

IL-1 α , IL-1 β , IL-10, (Boyaka ve ark., 2001),

IL-3, IL-6, IL-7, IL-8, IL-15, Monosit kemoatraktan protein (MCP)-1, (Ma ve ark., 2003),

TNF- α , TGF- α , TGF- β , interferon (IFN) (Hedges ve ark., 1995).

Granülosit-Monosit koloni stimüle edici faktör (GM-CSF), Granülosit koloni stimüle edici faktör (G-CSF), Monosit koloni stimüle edici faktör (M-CSF),

Kemokin ligandları (CXCL-8, CCL-20, CCL-2), (Rescigno ve ark., 2001),

CCL-5 (RANTES), Makrofaj inflamatuvar protein (MIP)-1 α , (Berin ve ark., 1999),

MIP-1 β (Mowat ve Viney, 1997),
IL-11, (Ernst ve ark., 1999),
IL-4, IL-13, (Madden ve ark., 2002).

Üropatojenik *E. coli* (UPEC)'ye karşı doğal konak savunmasını başlatan mekanizmanın mesane epitel hücresi tarafından salınan sitokinler tarafından oluştuğu, UPEC ile uyarımında adherens ve P fimbria gibi bakteriyel virulans faktörlerinin epitel hücrelerinde IL-6 ve IL-8 oluşumunu artırdığı gösterilmiştir (Schilling ve ark., 2001). Epitel hücresinde IL-6 ve IL-8'in sekresyonunu ve sentezini IL-1 α ve TNF- α 'nın aktive ettiği bulunmuştur. Bu sonuçlar enfeksiyonun erken evresinde sitokin aracılı yanıtta epitel hücresinin rolünü vurgulamaktadır (Hedges ve ark., 1994).

Wilson ve ark. (1998), *Salmonella typhimurium*'ün adezyon moleküllerinin intestinal epitel hücrelerinde IL-8 salınımını indüklediğini, takiben bu mikroorganizmanın adezinleri ve murine makrofajlarında IL-1 β , IL-6, GM-CSF ve MIP-1 β gibi kemokinlerin mRNA seviyelerini arttırdığını saptamıştır.

2.2.2.6. Adezyon Moleküllerinin Ekspresyonu

EH, endotelyal yüzeylerde PMNL için hedef olan ICAM-1 (intrasellüler adezyon molekülü) ve VCAM-1 (vasküler adezyon molekülü-1) ekspresyonunu düzenlemekte; böylece inflamatuvar yanıtın oluşumunda aktive PMNL'ye yardım etmektedir (Strober ve James, 1991; Rosseau ve ark., 2004).

ICAM-1 bronşiyal, üriner ve kolon EH'de düşük miktarlarda yapısal olarak eksprese olmakta; ekspresyon inflamasyon durumunda belirgin olarak artmaktadır (Huang ve ark., 1996).

2.2.2.7. Antikor Oluşumu

IgA, mukozal sekresyonların temel immünglobulinidir. IgA, epitel hücrelerinden salınabilen glikoprotein, sekretuar komponentler tarafından luminal proteazlardan korunmaktadır (Mayer, 2003).

IgA, çoğunlukla iki IgA molekülünün disüfit köprüsü ile bağlı olduğu dimerik (dIgA) formda bulunmaktadır. Polimerik Ig reseptörü (pIgR) bronşiyal, ince ve kalın barsak epiteli tarafından oluşturulmaktadır (Boyaka ve ark., 2001). İntestinal lamina propriada, plazma hücreleri tarafından sentezlendikten sonra, dIgA epitelin bazal membranında bulunan pIgR'ye kovalan olarak bağlanmakta, endositoz ile içeri alınmakta ve transitoz ile apikal yüzeye ulaşmakta, buradan reseptörün bir kısmı ile birlikte lümene salgılanmaktadır (sIgA; salgısal IgA) (Brandzaeg, 1997; Mavris ve Sansonetti, 2004). pIgR, EH'den transmembran proteini olarak sentezlenmekte ve EH'nin bazolateral yüzünde yerleşmektedir. pIgR, polimerik IgA (pIgA) ve pentamerik IgM'nin endositozu için reseptör olarak etki etmektedir. pIgR bronşiyal IFN- γ , TNF- α , IL-1 α , IL-1 β ve TGF- β ile arttırılabilmektedir (Boyaka ve ark, 2001).

Benzer bir mekanizma IgM için bulunmakta ve IgM, sIgM olarak lümene sekrete edilmektedir. Ancak IgM'nin pIgR'ye bağlanması, kovalen olmayan bağlarla olmakta ve lümene çıktığında, pIgR'ye kovalen bağlanan IgA'nin aksine proteolitik yıkıma daha duyarlı halde bulunmaktadır (Brandzaeg, 1997; Mavris ve Sansonetti, 2004).

2.2.2.8. Diğer Medyatörlerin Salınımı

Çalışmalar epitel hücrelerinden NO, endotelinler, araşidonik asit metabolitleri, prostaglandin (PG), lökotrien (LTB), eikozanoidler ve sitokinleri içeren proinflamatuvar mediyatörlerin sentezlendiğini ve salındığını göstermiştir (Berin ve ark.. 1999; Mills ve ark., 1999; Hurley ve McCormick, 2004).

NO, L-arjinin tarafından sentezlenmektedir. NO bağımsızlık sisteminin bir düzenleyicisidir. Bu etki birçok azot ve oksijen ara ürünleri ile gerçekleşir. Nitrik oksit sentaz (NOS)'ın indüklenebilir formu (iNOS) tarafından çok fazla sentezlenen (nanogram miktarda) NO, intrasellüler mikrobiyal patojenleri öldürerek veya replikasyonu kontrol ederek doğal immün yanıtta katkıda bulunmaktadır. iNOS enzimi normal olarak vücutta sentezlenmez. LPS, sitokinler (IFN- γ , IL-1, TNF- α gibi) ile uyarıldığı zaman aktif hale geçer ve uzun süreli etkisini gösterir. LPS, IFN- γ , IL-1 ve TNF- α en önemli fizyolojik indükleyicileridir (Mills ve ark., 1999; Bogdan ve ark., 2000; Poljakovic ve ark., 2002).

Ayrıca epitel hücreleri GM-CSF, G-CSF ve M-CSF gibi büyüme faktörlerini de oluşturarak hücrelerin hayatta kalmasına ve farklılaşmasına katkıda bulunmaktadır (Mills ve ark., 1999; Hurley ve McCormick, 2004). Epidermal GM-CSF tarafından indüklenen NO ve iNOS ekspresyonunun NF- κ B'yi aktive ettiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Vital ve ark., 2003). Epitel hücresi tarafından oluşturulan PG ve NO'nun immün düzenleyici etkileri yanında sekresyon ve bariyer fonksiyonunun düzenlenmesi gibi otokrin etkileri de bulunmaktadır (Kılıçturgay, 2003).

2.2.3. Epitel Hücresinin Diğer İmmün Hücreler İle Etkileşimi

2.2.3.1. Nötrofiller ile Etkileşim

PMNL'nin epitele göçü, patojen ile EH'nin etkileşimi sonucu düzenlenmektedir. PMNL ile EH'nin etkileşimi, PMNL'nin endotel ile olan etkileşiminden farklılıklar göstermektedir (Parkos, 1997).

PMNL'nin epitele göçü ve aktive edilmesi, kemoatraktanlar ve ICAM-1 ekspresyonunun EH'de artımı ile düzenlenmekte; PMNL'nin transepitelyal geçişi, kısmen IFN- γ ve IL-4'ü içeren bir dizi sitokin oluşumu ile ilişkili

bulunmaktadır (Parkos, 1997; Frick ve ark., 2000; Zen ve ark., 2002; Shen ve ark, 2004).

2.2.3.2. Makrofaj ile Etkileşim

EH'nin mikroorganizma ile uyarılması sonucu makrofajların aktivasyonu gerçekleşmekte, EH-makrofaj etkileşimi ile NO ve proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasında artış ortaya çıkmaktadır (Pechkovsky ve ark., 2002). EH ve makrofajların aktivasyonu ile salınan proinflamatuvar sinyaller immün yanıtın güçlenmesine aracılık etmektedir (Farbermann ve ark., 2005).

2.2.3.3. Dendritik Hücre ve NK ile Etkileşim

Dendritik hücreler (DH), göç eden fagositik hücrelerdir. Antijeni toplama ve sunma kapasitesine sahiptir. DH, occludin, claudin-1, E-cadherin ve Beta-katenin gibi sıkı bağlantı proteinlerini eksprese etmekte (Rescigno ve ark., 2001) ve EH bütünlüğünün sürdürülmesine katkıda bulunmaktadır (Rimoldi ve Rescigno, 2005).

EH'nin bakteri veya bakteriyel ürün ile karşılaşması, HBD-1 ve HBD-2 ekspresyonu ve sitokin ve kemokinlerin oluşumu ile immatür DH'ye kemotaktik etki göstermekte ve DH'nin güçlü ASH'ye dönüşümüne yol açan olgunlaşmasını başlatmaktadır (Quayle, 2002; Rimoldi ve ark., 2005).

EH'nin ürettiği IL-15, NK hücrelerinin gelişimini ve yayılımını düzenlemekte; aktive olan NK hücreleri hücre ölümünü perforin bağımlı yol ile indüklemektedir. NK hücreleri, NK inhibitör reseptörünün bağlandığı klasik MHC sınıf-I molekülünü eksprese eden hücrelere bağlandığında aktive olmamakta ve hücrelere karşı öldürücü etki göstermemektedir. EH'nin oluşturmuş olduğu sitokinler, NK'nin uyarılmasına yol açtığından, NK inhibitör reseptörünün bağlandığı klasik MHC sınıf I molekülünü eksprese etmeyen

EH'ne karşı perforin aracılı ölüm, EH'nin kendi ölümüne yol açması şeklinde gerçekleşmektedir (Kinoshita ve ark., 2002).

2.2.3.4. T ve B Hücreleri ile Etkileşim

Gastrointestinal EH'nin bazolateral yüzeyinde bulunan intraepitelyal lenfositler (iEL), CD3+ ve CD8+ T hücrelerine sahiptir. iEL; sitokin salgılanması, fagositozun aktivasyonu ve enfekte hücreleri öldürmesi ile konak savunmasında rol almaktadır (Mowat ve Viney, 1997; Boyaka ve ark., 2001).

EH, iEL ve T hücre ilişkisi, immünolojik dengenin başlatılması ve devam ettirilmesinde birbirlerini etkilemektedir. Düzenleme iki yönlü olmakta; EH, bağlantı moleküllerini oluşturmakta, iEH'nin eksprese ettiği yüzey molekülleri T hücreleri ile ilişki kurmaktadır (Mayer, 2003; Inagaki-Ohara ve ark., 2005). iEH, ASH olarak etki etmekte ve mukozada T hücre yanıtını düzenlemektedir (Herhsberg ve Mayer, 2000). EH'nin oluşturduğu sitokinler T hücre gelişimine ve fonksiyonuna katkıda bulunmaktadır (Inagaki-Ohara ve ark., 2005).

γδT hücreleri, epitel hücreleri ve mukozal yüzeylerde bulunan doğal T hücrelerinin özel bir grubudur. γδT hücreleri, epitel hücrelerinin proliferasyonunu indükleyen keratinosit growth faktör-1'in sekresyonu aracılığı ile immün homestaza etki eder. Bu hücreler aynı zamanda doku hasarına cevapta inflamatuvar hücrelerin eksikliğini doldurur. Bu hücreler yaralanmadan sonra doku tamirinde hayati rol oynar (Mason ve Hufnagle, 2009).

Peritoneal boşlukta B lenfosit alt grubunda yer alan ve γδT lenfositlerinin analogu olan B-1 hücreleri, özgül olmayan poliklonal yanıt oluşturmaktadır. B-1 hücrelerinin çoğu fosforilkolin ve LPS gibi lipit antijenleri ve polisakkarid için özgüldür. B-1 hücreleri epitelyal bariyeri geçebilen penetre mikroorganizmalara karşı savunmada rol oynayan IgA, IgM ve IgG gibi

antikorları oluşturmaktadır (Boyaka ve ark., 2000; Boyaka ve ark., 2001; Abbas ve Lichtman, 2003b).

2.2.4. Epitel Hücresinin İmmün Yanıtın Düzenlenmesindeki Rolü

EH, ilk olarak mikroorganizmanın yüzey antijenlerini ve salgıladığı ürünleri tanımaktadır. Dakikalar içinde etkisi artan hücre içi ve hücre dışı duyu proteinlerini oluşturularak özgül olmayan savunma yollarını ve doğal immün yanıtı uyarmakta ve mikroorganizmaya karşı bölgesel savunmayı başlatmaktadır. Bunu antijene özgül olan kazanılmış immün yanıtın uyarılması ve yönünün belirlenmesi takip etmektedir (Hershberg ve Mayer, 2000; Janeway ve ark., 2001; Mavris ve Sansonetti, 2004). Ayrıca EH, patojenle mücadelede organizmanın fazla inflamasyondan korunması için tolerans mekanizmalarını etkinleştirebilmektedir (Shao ve ark., 2001). Böylece mikroorganizma saldırısı ve konak savunması arasındaki mücadele biri diğerinin üstesinden gelene dek sürdürülmektedir (Mavris ve Sansonetti, 2004).

2.2.4.1. Özgül Olmayan Savunma Mekanizmalarının Uyarılması

Mukozalarda konağın çevresel faktörleri, enfeksiyon oluşumu ile baş etmeye çalışmaktadır. Sürekli peristaltik hareketler, safra asitleri, organik asitler ve normal floranın varlığı patojene karşı koruma sağlamaktadır (Mavris ve Sansonetti, 2004). Salgısal mukozal bileşenlere mikroorganizmanın tutunması, sürekli olarak epitelyal yüzeylerin yıkanmasına yol açmakta ve bakterinin hücre yüzeyine kolonizasyonunu engellemektedir. Böylelikle potansiyel patojenin EH'ye tutunması, konağın özgül olmayan savunma mekanizmaları ile engellenmeye çalışılmaktadır (Abbas ve Lichtman, 2003a).

2.2.4.2. Doğal ve Kazanılmış İmmün Yanıtın Uyarılması

Doğal immünitinin bakteri saldırısına erken ve artmış bölgesel yanıtı inflamasyondur. İnflamasyon; lökositlerin enfeksiyon alanına göçü ve enfeksiyon ajanlarını elimine etmek için lökositlerin aktivasyonudur (Abbas ve Lichtman, 2003b).

Doğal immünite çoğu inflamatuvar cevabın arkasında yer alır. Bunlar makrofaj, PNL ve mast hücrelerinin doğal immün reseptörleri aracılığı ile ilk hat savunmasında tetiklenirler. Doğal immün sisteme ilaveten adaptif immünite, protein, karbonhidrat, lipid, nükleik asit ve patojenleri spesifik olarak tanıır; fakat, antijen spesifik efektör hücreler doğal immün tanıma ile meydana gelmezler. Yani, iki sistem aynı efektör hücrelerin kullanımında da ilişkilidirler (Janeway ve ark., 2002).

EH'nin mikroorganizma ile invazyonu, çeşitli sitokinlerin oluşumuna neden olmakta; bu sitokinler T hücrelerine EH'nin antijen sunumunda aracılık etmekte ve fagositer hücrelerin enfeksiyon alanına göçünde ve kazanılmış immünitinin uyarılmasında etkili olmaktadır (Bodet ve ark., 2005). Epitelin doğal immün sistemdeki fonksiyonu bozulursa potansiyel patojenlere karşı adaptif immün cevap gerekli ve hayat kurtarıcıdır (Schleimer ve ark., 2007). Kazanılmış immün yanıt; profesyonel immün sistem hücrelerinin (makrofaj, T ve B hücresi) aracılığı ile antijene özgül, maksimum etki için günler-haftalara ihtiyaç gösteren, immünolojik belleği olan hücresel ve humoral immün yanıtı geliştirmektedir (Huttner ve Bevins, 1999).

2.2.4.3. Toleransın Uyarılması

Oral tolerans; ağız yolundan alınmış ve daha önceden maruz kalınmış olan antijene karşı sistemik immün yanıtın aktif olarak baskılanmasıdır (Blum ve ark., 1999; Chehade ve Mayer, 2005). Mukozal alanlarda görülen immün yanıtın çoğunluğu yanıtızsızlıktır (Bu ve ark., 2001). Bu yanıtızsızlık durumu

pasif bir olay değil, immün yanıtın aktif olarak söndürülmesidir. EH, bu immünolojik durumun anahtar düzenleyicisidir ve yüzey etkileşimleri bu düzenlemeye rehberlik etmektedir (Mayer, 1998). Profesyonel olmayan ASH olarak tanımlanan EH, yapısal olarak MHC sınıf II molekülü ve optimal CD4 T hücre aktivasyonu için gerekli olan B7-1 ve B7-2 gibi kostimulatör molekülleri eksprese etmemekte ve T hücrelerini aktive edememekte; böylece antijenin lokal olarak EH ile sunumu immüniteden ziyade tolerans ile sonuçlanmaktadır (Kagnoff, 1996; Mayer, 1998; Ernst ve ark., 1999). EH, sağlıklı durumda CD4 T hücrelerinde anergiye neden olmakta ve CD8 T hücrelerini uyarıp lokal yanıtı inhibe etmektedir (Mowat ve Viney, 1997).

Mukozal alanlardaki kommensal bakterilerin mukozal toleransa katkısı olduğu hipotezi ileri sürülmektedir (Quayle, 2002). Lüminal antijenle tekrarlayan karşılaşma durumunda, antijenleri tanıyan özgül TLR (Toll-like Reseptör)'nin ekspresyonu azalmakta, bu reseptörleri eksprese eden lenfositlerin eliminasyonuna, inhibitör sitokinleri oluşturan antijen spesifik CD8 T hücre uyarımına yol açmakta ve immünolojik düşük yanıt oluşmaktadır (Ernst ve ark., 1999; Strober, 2004). Ayrıca, TLR'nin EH bazolateral yüzündeki yerleşimleri, invazyon yapmayan kommensal bakteriye karşı yanıt oluşmamasını açıklamaktadır (Quayle, 2002).

2.2.5. Epitel Hücresinin Normal Flora İle İlişkisi

İmmün yanıt, self-nonsel self ayırımını yapabilmektedir. Lokal immün ve inflamatuvar yanıt, patojen antijenlerini lümeninde bulunan kommensal flora elemanlarından ayırt edebilmelidir (Ernst ve ark., 1999). Mukozal bariyer, barsakta kalıcı olan mikroplar ile konak arasındaki simbiozisin sürdürülmesine yardımcı olmaktadır (Acheson ve Luccioli, 2004).

Patojen bakteriler ile enfeksiyondan sonra EH, NF- κ B yolu ile sitokin ve kemokin sentezi ve efektör hücreleri uyaran ve/veya enfeksiyon alanına çağırılan diğer moleküllerin sentezi için aktive olmaktadır; patojenik olmayan

mikroorganizma direkt olarak epitele bağlanmakta ve NF-κB'yi inhibe ederek antiinflamatuvar bir etkiye yol açmaktadır (Hayday ve Viney, 2000).

Patojen olmayan bakteri konağı invaze etmemekte, EH ile etkileşerek mukozal dokuya immün düzenleyici sinyaller göndermektedir (Blum ve ark., 1999). EH'nin tekrarlayan antijen sinyalleri sonucu TLR ve koreseptör yüzey ekspresyonunda azalma, sitokin profili ve hücre-hücre etkileşimindeki değişiklikler, tripsin gibi lüminal bileşenler normal floraya yanıt oluşmamasını açıklamaktadır (Strober, 2004; Cario ve ark., 2005).

Farklı mukozal alanlardaki EH'nin oluşturduğu doğal korunma ve patojen saldırısına karşı erken yanıt farklı olmaktadır. Ağız, kolon ve vajen gibi floralı alanların; mesane, böbrek ve fallop tüpleri gibi steril alanlara göre farklı yanıt gösterdiği ileri sürülmektedir (Quayle, 2002). Steril alanlardaki EH, kan makrofajları gibi davranarak en küçük mikroorganizma miktarını zararlı kabul edip mikroorganizmayı hızlıca yok eden konak savunmasını uyarmaktayken; floralı bölgelerdeki EH'nin küçük miktarlardaki mikroorganizmaya karşı yanıtı olabileceği savunulmaktadır (Quayle, 2002).

Normal flora bakterileri, patojen bakteriler ile besinlerin alınması ve epitel hücrelerine tutunma açısından yarışmakta; *Escherichia coli* tarafından oluşturulan kolisin gibi antimikrobiyal madde üretimi patojenlerin kolonizasyonunu önlemekte, geçici mikrobiyal toplulukların çoğalmasını engellemekte ve geçici mikrobiyal toplulukları öldürmektedir (Blum ve ark., 1999; Janeway ve ark., 2001; Mahida, 2004). Kommensal bakteriler, EH'nin oluşturduğu inflamatuvar etkili molekülleri seçici olarak baskılama yeteneğindedir ve böylelikle toleran bir ortamın oluşmasına katkıda bulunabilmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar; patojen olmayan flora bakterilerine karşı konak yanıtı zınlığının, EH'nin inflamasyonu başlatan transkripsiyon faktörün oluşumunu baskılaması sonucunda ortaya çıktığını düşündürmektedir. Böylelikle bu bakterilerin mukozal toleransa katkıda

bulunduğu (Quayle, 2002) ve konağı mukozal hasardan ve bununla ilişkili ölümlerden koruduğu iddia edilmektedir (Nahoum ve ark., 2004).

2.3. *Streptococcus pyogenes* (Grup A Streptokoklar)

Streptococcus cinsi içerisinde yer alan, doğada yaygın, zincir yapan, hareketsiz, katalaz negatif, fakültatif anaerob, gram pozitif koklardır. *Streptococcus pyogenes*, serolojik temellere dayanan Lancefield sınıflamasında A grubu streptokok sınıfına girmektedir. Kanlı agarda hemoliz yapma özelliklerine göre β hemolitik bir streptokoktur (Ruoff ve ark., 2003).

2.3.1. Morfoloji ve Boyanma Özellikleri

0.6-1.5 μm çapında oval veya yuvarlak şekilli koklardır. Sıvı besiyerlerindeki kùltürlerinden yapılan preparatlarda genellikle uzun kok zincirleri halinde görülürken, katı besiyerlerindeki kolonilerinden hazırlanan preperatlarda diplokoklar veya kısa zincirli koklar halinde görülürler. Sporsuz ve hareketsizdirler. İnsan bađ dokusunda bulunan hyalüronik asitten yapılmış antijenik olmayan bir kapsüle sahiptir (Söyletir ve Över, 2002; Bozkaya, 2005).

2.3.2. Kùltür ve Biyokimyasal Özellikleri

Streptokoklar fakültatif anaerob, optimal üreme ısıları 35-37°C olan bakterilerdir. Üremeleri için basit besiyerleri yeterli olsa da kan ve serum ile zenginleştirilmiş besi yerlerinde oldukça iyi ürerler. Kanlı agarda 24-48 saatlik inkübasyondan sonra 1-2 mm çapında yarı saydam, β hemoliz zonu ile çevrili, gri-beyaz renkte, S (smooth) tipinde koloniler oluştururlar. Kapsüllü olanlar taze hazırlanmış besiyerlerinde M (mukoid), kapsülsüz olanlar daha küçük ve parlak koloniler oluştururlar (Bozkaya, 2005). Diğer streptokoklar gibi aerop ortamda glikozu parçalarlar. Laktik asit oluşması nedeniyle ortam pH'sı değiştiğinden bakterinin üremesi ve canlı kalması güçleşir.

Tam hemoliz oluşturmaları dışındaki biyokimyasal özellikleri arasında, eskülin ve arginini fermente etmeleri, basitrasine duyarlılık, trimetoprim-sülfametaksazola dirençlilik, genellikle maltoz, sukroz, laktoz pozitif olmaları ve inülin, mannitol ve katalaz negatif olmaları sayılabilir. Isıya ve dezenfektanlara karşı duyarlıdırlar.

2.3.3. Antijenik Yapı ve Patojenite

Grup A streptokokların hücre yüzeyi çeşitli antijenik yapılar içermektedir. Majör hücre duvarı karbonhidrat antijeni olan ve gruba adını veren A antijeni, L- Rhamnose ve N-Acetyl-D-glucosamine içeren kompleks bir polisakkarittir. Hücre duvarının dış yüzeyi ile ilişkili diğer fibriler proteinler ise Grup A streptokokların fimbrialarında bulunan ve epitel hücrelerine tutunmada rol olarak virülans ile ilgili ve tipe özgül antijenik yapıları oluşturan M proteindir. Asit ve ısıya dirençli ve tripsine duyarlı olan M proteini, esas virülans antijeni olup fagositlerin tutunmasını (adezyonunu) engeller. Hücre yüzeyi ile ilgili diğer antijenler, tripsinle muameleye dirençli, virulanstaki rolü tam olarak bilinmemekle birlikte Grup A streptokokları tiplendirmek için kullanılan T ve R antijenleridir (Söyletir ve Över, 2002; Ruoff ve ark., 2003; Bozkaya, 2005).

Gram pozitif bir bakteri olan Grup A streptokokların L-alanin-D-glutamil-L-lysin-A alanin yan zincirleriyle bağlanmış olan, tekrarlayan N-acetyl-D-glucosamin-N-acetyl-D-muramic asit ünitelerinden yapılmış peptidoglikanı gram negatif bakteri endotoksini ile aynı etkileri oluşturmakta (ateş, deri nekrozu, eritrosit ve trombosit erimesi gibi), farklı pek çok bakterinin peptidoglikanına benzediğinden çapraz reaksiyonlarda rol almaktadır. Konak hücreye tutunmayı sağlayan lipoteikoik asit, M proteini ile ilgili olduğundan M proteinine sahip suşlar, bakterinin ağız ve deride bulunan epitel hücrelerine tutunmasını sağlayarak virulansı artırır ve bir çok hücre için sitotoksik özellik gösterir. Hücre duvarının bir diğer önemli komponenti hiyalüronik asit yapısındaki antijenik olmayan kapsül olup, bakteriyi fagositozdan korur (Cengiz, 2004; Bozkaya, 2005).

Grup A streptokokların virülansında rol alan pek çok enzim ve toksin bulunmaktadır. Kızıl oluşumunda rol alan eritrojenik toksin, kanlı plakların yüzeyinde streptokok kolonilerinin etrafındaki hemoliz oluşumundan sorumlu olan streptolizin S, oksijene duyarlı, kuvvetli antijenik ve geçmiş veya geçirilmekte olan bir enfeksiyonunun saptanması ve takibinde kullanılan streptolizin O, kan pıhtısını eritip mikroorganizmanın enfekte dokulara hızla yayılmasından sorumlu olan streptokinase, deri enfeksiyonlarını tanımlayan DNase, yayılma faktörü olan hyalürinidaz ve bazı proteinleri parçalayarak bakterinin yayılmasını kolaylaştıran proteinaz bunlardan bazılarıdır (Bozkaya, 2005; Cengiz, 1999; Söyletir ve Över, 2002; Ruoff ve ark., 2003).

2.3.4. Yaptığı Hastalıklar

Grup A streptokokların oluşturduğu hastalıklar süpüratif olanlar ve olmayanlar diye iki başlık altında toplanabilir. Süpüratif olanlar; anjin, tonsillit, farenjit, kızıl, erizipel, impetigo, puerperal sepsis, septisemi, akut bakteriyel endokardit, toksik şok benzeri hastalıklar ve nadiren sellülit, lenfanjit ve pnömonidir. Süpüratif olmayan hastalıklar, mikroorganizmanın yaptığı enfeksiyondan veya tamamen belirtisiz geçen 1-5 haftalık dönemden sonra ortaya çıkan poststreptokoksik tablolardır. Bunlar; akut romatizmal ateş ve akut glomerülofrittir (Cengiz, 1999; Söyletir ve Över, 2002).

2.4. *Escherichia coli*

Escherichia coli, *Enterobacteriaceae* familyasında *Escherichia* genusu içinde yer alır. İnsan ve hayvanların kalın barsağında yaşayan normal flora bakterisidir. Kalın barsak florası içinde, gram negatif ve çoğu hareketli basil olan en yaygın fakültatif anaerop türdür. Barsakların normal flora üyesi olmasına rağmen, barsak enfeksiyonlarının yanında üriner sistem enfeksiyonu, bakteriyemi, menenjit ve pnömoni gibi barsak dışı enfeksiyonlara da neden olurlar (Baysal, 2004).

2.4.1. Morfoloji ve Boyanma Özellikleri

E. coli, yaklaşık olarak 2-6 µm boyunda, 1.0-1.5 µm eninde, düz, uçları yuvarlak basil şeklindedir. Kültürlerde koka benzer küçük, kısa şekilleri veya uzun, dallanan şekilleri bulunabilir. Peritriş kirpikleri ile hareketlidir. Kapsüllü hareketsiz suşları da vardır (Erdem, 1999; Baysal, 2004).

2.4.2. Kültür Özellikleri

Kan, serum, asit sıvısı, glikoz gibi maddeler ilave edilmemiş adi besiyerlerinde kolay ürerler. En iyi üreme ısı 37°C ve pH: 7-7.2 dir. Buyyonda, peptonlu suda bol ürer, homojen bulanıklık yapar. Adi agarda 2-3 mm çapında, hafif kabarık, yuvarlak, kenarları düzgün, gri-beyaz koloniler yapar. Laktoza etki etmeleri, laktoza etki etmeyen Salmonella ve Shigella cinsi bakterilerden ayırt edilmelerini sağlar. Mac Conkey agarda laktoz pozitif koloniler yapar. Eozin Metilen Blue (EMB) agarda laktoz pozitif, metalik koloniler oluşturur. Pigmentsiz bir bakteridir (Erdem, 1999; Töreci, 2002).

2.4.3. Antijenik Yapı

E. coli'nin somatik (O), kirpik (H) ve kapsül (K) antijenleri vardır. *E. coli* suşlarının serotiplendirilmesi, Kauffmann tarafından geliştirilen şemaya göre yapılabilir. Serotiplendirmede öncelikle O ve H antiserumları kullanılır. *E. coli* suşlarının antijen yapılarının belirlenmesi özellikle epidemiyolojik çalışmalarda yararlıdır (Erdem, 1999; Töreci, 2002; Baysal, 2004).

2.4.4. Virulans ve Patojenite Özellikleri

E. coli'nin çok sayıda virulans faktörü vardır. Bunlar, yapısal faktörler veya hücre dışına salgılanan toksinler, enzimler gibi ürünlerdir.

K1 kapsülü: *E. coli*, B grubu streptokoklarla birlikte yeni doğan menenjitinin en önemli etkenlerindedir. Menenjitli yeni doğanlardan izole edilen *E. coli* suşlarının %80'i K1 kapsülü taşımaktadır. Bu kapsül yapısı, mikroorganizmayı in vitro ortamlarda insan nötrofillerinin ve normal insan serumunun öldürücü etkisine karşı dirençli kılar. K1 kapsülü ayrıca beyin omurilik sıvısında ve kanda mikroorganizmanın canlılığını sürdürmesine yardımcı olur (Erdem,1999; Töreci, 2002; Baysal, 2004).

Tip I (MS- Mannoze sensitif) fimbria: Mannoze reseptörlere bağlanan fimbriyalardır. Birçok ökaryotik hücreye tutunmayı sağladığı halde, patojenik fonksiyonu yoktur ve hiçbir hastalıkla ilişkili değildir. Tip I (MS) fimbria, *E. coli* suşlarının kolon mukozasına, ağız boşluğuna ve vagen mukozasına tutunmasını sağlar (Erdem, 1999; Baysal, 2004).

Tip II (MR-Mannoze rezistans) fimbria: Tip I'den daha karmaşıktır ve değişik yapıda kolonizasyon faktörleri ve adezinler bu ad altında toplanmıştır. Bunlar S fimbria, P fimbria, X faktör ve çeşitli kolonizasyon faktörleridir. S fimbria, bakteriyemi yapan *E. coli* suşlarında bulunur. Beyin ventriküllerine, koroid pleksus ve damar epitelinde bulunan reseptörlere tutunmayı sağlar. P fimbria, üropatojen *E.coli* suşlarında bulunur ve üriner sistem enfeksiyonları ile ilişkilidir. Pyelonefrit yapan suşların %70'i, sistit yapan suşların %36'sı ve kolonda bulunan suşların %19'unda P fimbria bulunur. X faktör, *E. coli*'nin üropatojenitesinde önemli bir faktördür (Erdem, 1999; Baysal, 2004).

Enterotoksinler: ETEC suşları, yapımı plasmidle kodlanan, ısıya duyarlı LT (kolera toksinine benzer) ve ısıya dirençli ST olmak üzere, barsaklarda aktif olan 2 ekzotoksin salgırlar. LT, ince barsaklarda GM1 reseptörlere bağlanan, B parçası beş birimden oluşan kolera toksinine benzeyen bir toksindir. Reseptörlere bağlandıktan sonra ince barsaklarda hücre içine giren A parçası, toksik etkilerden sorumludur. Adenilat siklazı aktive eder. Hücre içinde artan cAMP barsak boşluğuna bol miktarda NaCl ve sıvı salgılanmasına neden olur (Erdem 1999; Baysal, 2004).

ST, disülfid bağları ile birbirine bağlanan, uzunlukları 18-50 aminoasit arasında değişen birkaç küçük polipeptitten oluşur. Disülfid bağları, ısıya dirençliliği sağlar. Etkisini guanilatsiklazı aktive ederek, cGMP'yi artırarak yapmaktadır. LT' de olduğu gibi barsak lümenine bol sıvı ve elektrolit salgılanmasına neden olur (Töreci, 2002; Baysal, 2004).

E. coli suşları sitotoksik etki yapabilen verotoksinler salgılar. Bu toksin 057, H7 serotipi tarafından salgılanır ve bu serotip diyareye, hemorajik kolite, hemolitik üremik sendroma yol açar (Baysal, 2004).

2.4.5. Plazmidleri

E. coli suşlarında antibiyotiklere direnç özelliği kazandıran R plazmidleri ve virulans faktörlerini kodlayan çeşitli plazmidler bulunmaktadır (Erdem, 1999; Baysal, 2004).

2.4.6. Bakteriyosinleri

E. coli suşlarının salgıladığı bakteriyosinlere kolisin denir. Epidemiyolojik araştırmalarda kolisin incelemesi ve bakteriyosin tiplendirmesi yapılmaktadır (Erdem, 1999).

2.4.7. Yaptığı Hastalıklar

E. coli, normal barsak florasını oluşturan bakterilerindendir. Barsaklarda diyare oluşturan suşları dışında, kommensal olarak yaşarlar. Ancak vücutta başka bir organa, dokuya geçtiklerinde enfeksiyonlara neden olurlar (Baysal, 2004).

Enfeksiyona neden olan beş farklı *E. coli* grubu bulunmaktadır. Bunlar, Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), Enteropatojenik *E. coli* (EPEC), Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), Enterohemorajik *E. coli* (EHEC), Enteroagregatif

E. coli (EAgEC)'dir. Barsak enfeksiyonları dışında, üriyer sistem enfeksiyonları, solunum yolu enfeksiyonları, menenjit (özellikle yeni doğanda) ve bakteriyemiye de neden olurlar (Erdem, 1999; Töreci, Baysal, 2004).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Sarf Malzemeler

Doku kültür plağı, 96 kuyucuklu (TTP, İsveç)
Santrifüj tüpü, 15 ve 50 ml'lik (Orange, Belçika)
Serolojik pipet, 5, 10 ve 25 ml'lik (LP, İtalya)
Ependorf 1,5 ml'lik- cam tüp (Greiner, Almanya)
Sarı ve mavi pipet ucu (Ependorf, Almanya)
İdrar özesi (LP, İtalya)

3.1.2. Kimyasal Malzemeler

L-glutamine (Sigma, A.B.D.)
Fetal calf serum (PAA, Avustralya)
RPMI 1640 (PAA, Avustralya)
HBSS (PAA, Avustralya)
Blood agar base (Lab M, İngiltere)
Eosin Metylen Blue(Merck, Almanya)
Trypan blue (Sigma, A.B.D.)

3.1.3. Araçlar

Laminar flow (Bilser, Türkiye)
Vortex (Stuart, UK)
Santrifüj aleti (Herolab, Almanya)
Işık mikroskobu (Nikon, Japonya)
CO₂'li etüv (Sanyo, Japonya)
Etüv (Hearus, Almanya)
Derin Dondurucu (-80 °C) (Nuare, Japonya)

Neubauer improved bright line (Marienfeld, Germany)

Otomatik pipet (Genex, Finlandiya)

Pipetör (Greiner, Almanya)

3.2. Yöntemler

Çalışmamızda, idrar epitel hücrelerinin antibakteriyel etkinliğinin değerlendirilmesi için, Behçet hastalığı tanısı ile Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Bilim Dalı tarafından izlenmekte olan 10 inaktif Behçet hastası ile kendisi ve ailesinde Behçet hastalığı veya immünolojik hastalıklar bulunmayan 10 sağlıklı birey kontrol olarak alındı. Örnekler; sigara içmeyen ve son bir haftadır antibiyotik kullanmayan gönüllülerden toplandı.

Çalışma, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı İmmünoloji laboratuvarında Helsinki Deklerasyonu prensiplerine uygun olarak, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik kurulundan onay ve katılımcılardan “bilgilendirilmiş olur” formu alınarak yürütülmüştür.

3.2.1. İdrar Epitel Hücresinin (İEH) Hazırlanması

Gönüllülerin idrarları steril idrar kabına alındıktan sonra 50 ml'lik santrifüj tüpüne aktarıldı, 1000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi, süpernatant atıldı ve çökelti 10 ml antibiyotiksiz Hanks Balanced Salt Solution konarak yıkandı. Yıkama işlemi 3 kez 1000 rpm'de 10'ar dakika santrifüj edilerek gerçekleştirildi, son santrifüj işleminden sonra süpernatant atıldı ve çökelti 1 ml %10 fetal sıgır serumu (FCS) içeren Roswell Park Memorial Institute'ün 1640 kodlu hücre kültürü vasatı (RPMI 1640) içinde süspansiyon edildi. 20 µl hücre süspansiyonu %4'lük tripan mavisi ile boyandı, boya almayan canlı hücreler Neubauer lamında sayıldı ve 1×10^5 hücre/ml olacak şekilde süspansiyon edildi (Albayrak ve ark., 2005; 2006a).

3.2.2. Mikroorganizmaların Hazırlanması

Streptococcus pyogenes ATCC 49619 suşu (Refik Saydam Hıfzıssıhha Kültür Koleksiyonundan sağlandı) koyun kanlı agara ekilerek 37 °C'de bir gece inkübe edildi. Ertesi gün plak yüzeyinden koloniler toplanarak 15 ml'lik santrifüj tüpü içindeki steril fosfat tampon solüsyonu(PBS) içinde sulandırıldı. PBS ile 3 kez 3000 rpm'de 10'ar dakika santrifüj edilerek yıkandı, son santrifüj işleminden sonra süpernatant döküldü, çökelti 2 ml % 10 fetal sığır serumu (FCS) içeren RPMI içerisinde süspansiyon edildi. 20 µl bakteri asaltısı %4'lük tripan mavisi ile boyandı, boya almayan canlı hücreler Neubauer lamında sayıldı ve 1×10^5 olacak şekilde RPMI+%10 FCS ile sulandırıldı (Özenci ve ark., 2001; Dolapçı ve ark., 2003).

E. coli 075 suşu (Refik Saydam Hıfzıssıhha Kültür Koleksiyonundan sağlandı) Eosin Methylen Blue Agara (EMB) ekildi, 37°C'de bir gece inkübe edildi. Ertesi gün plak yüzeyinden koloniler toplanarak PBS içinde sulandırıldı. Bakteriler PBS ile 3 kez 3000 rpm'de 10'ar dakika santrifüj edilerek yıkandı, çökelti 1 ml RPMI+%10 FCS içerisinde süspansiyon edildi. 20 µl bakteri süspansiyonu %4'lük tripan mavisi ile boyandı, boya almayan canlı hücreler Neubauer lamında sayıldı ve 1×10^5 olacak şekilde besiyeri ile sulandırıldı (Albayrak ve ark., 2005; 2006a).

3.2.3. Hücrelerin Mikroorganizmalar İle Karşılaştırılması

İdrar epitel hücrelerinin (İEH) *S. pyogenes* ve *E. coli*'ye karşı göstermiş olduğu bakterisidal etkiye, daha önceden tanımlandığı şekilde 1/1 efektör hücre (idrar epitel hücresi) / hedef hücre (mikroorganizma) (E/H) oranında bakıldı (Özenci ve ark., 2001; Dolapçı ve ark., 2003, Albayrak ve ark., 2005, Albayrak ve ark., 2006a). İEH, 96 kuyucuklu plaklara 100'er µl 3'er kuyucuğa konuldu, üzerlerine 100'er µl 1×10^5 /ml mikroorganizma içeren süspansiyonlardan ilave edildi. İEH hazırlanan bir kuyucuk negatif kontrol için konup üzerine sadece RPMI+%10 FCS ilave edildi. *S. pyogenes* ve *E. coli*

kontrolleri 100'er µl 3'er kuyucuğa konarak üzerlerine 100'er µl RPMI+%10 FCS ilave edildi. 96 kuyucuklu plak 37°C'de %5 CO₂'li etüvde 1 saat inkübe edildi. 1 saatlik inkübasyondan sonra, *S. pyogenes* için her bir kuyucukdan 100'er µl süpernatant alınarak uygun sulandırılmaları yapıldı ve koyun kanlı agara ekildi. *E. coli* için her bir kuyucuktan 100'er µl alındı ve uygun sulandırılmaları yapılarak adi agar besiyerine ekildi. Plaklar 37°C'de bir gece inkübe edildikten sonra meydana gelen koloni oluşturan birimler (cfu) sayıldı. Bakterisidal etki (BE) yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$BE (\%) = \frac{\text{Ortalama cfu (kontrol kuyucuğu)} - \text{Ortalama cfu (deney kuyucuğu)} \times 100}{\text{Ortalama cfu (kontrol kuyucuğu)}}$$

3.3. İstatistiksel Değerlendirme

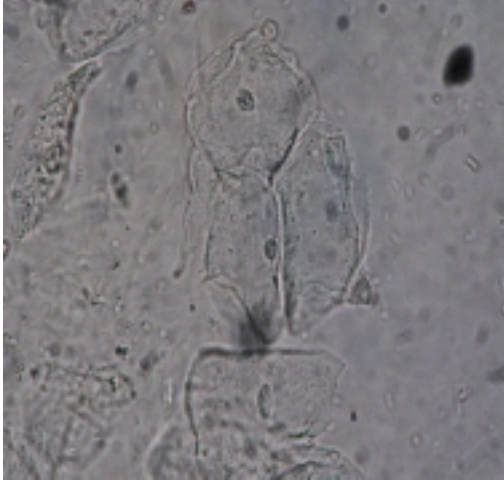
Çalışmaların istatistiksel değerlendirmesi SPSS parametrik testler ile yapılmıştır. İEH'nin *S. pyogenes* ve *E.coli*'ye karşı bakterisidal etkileri arasındaki fark için *t* test uygulanmış, $p < 0.001$ anlamlı olarak kabul edilmiş, veriler Dixon testi ile kontrol edilmiştir (Caulcutt, 1983; Kavak, 2008).

4. BULGULAR

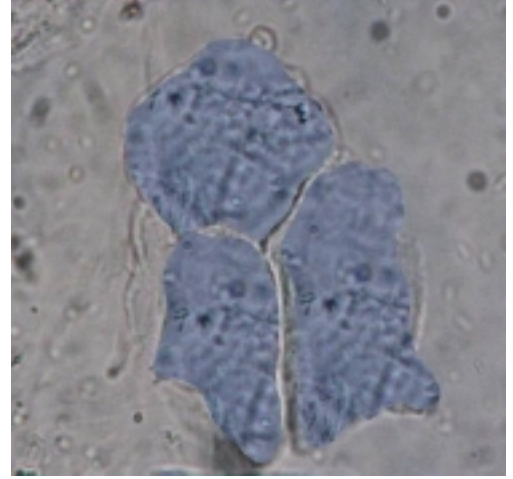
4.1. İdrar Epitel Hücresi (İEH)

Epitel hücrelerinin tripan mavisi ile boyanmamış olanları canlı epitel hücresi olarak değerlendirildi ve çalışmaya dahil edildi (Şekil 4.1/a ve b).

ŞEKİL 4.1: Canlı ve ölü epitel hücresi



a- Canlı epitel hücresi



b- Ölü epitel hücresi

4.1.1. İdrar Epitel Hücresi (İEH)'nin *S. pyogenes* ve *E. coli*'ye karşı bakterisidal etkisi

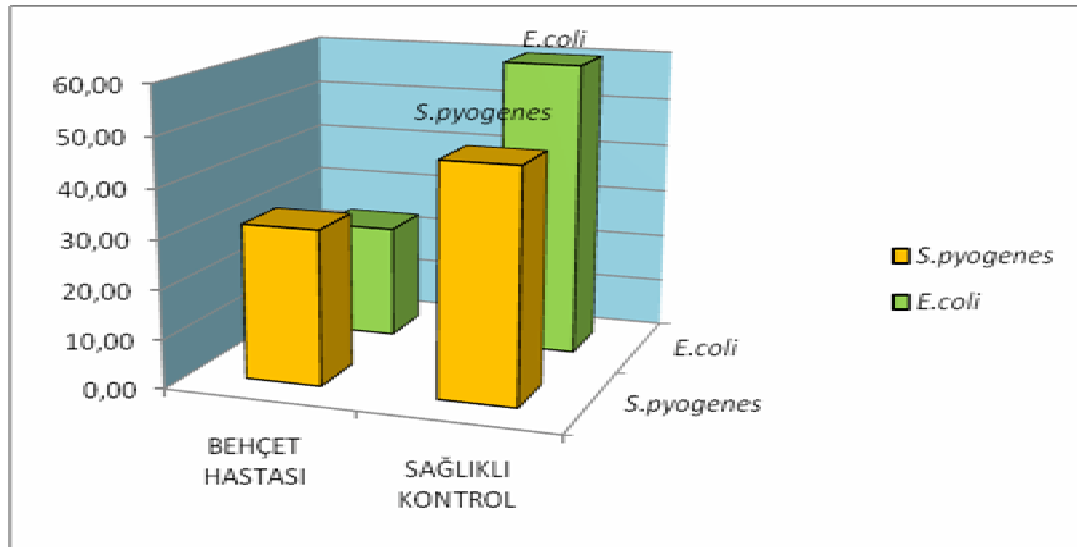
1/1 E/H oranındaki İEH'nin Behçet hastalarında 1. saatte *S. pyogenes*'e karşı ortalama %31.6, *E. coli*'ye karşı %23.3, sağlıklı kontrollerde ise *S.pyogenes*'e karşı %46.8, *E.coli*'ye karşı %60 bakterisidal etki gösterdiği saptanmıştır. (Tablo 4.1.1; Şekil 4.1.1)

Tablo 4.1.1: İEH'nin 1/1 E/H oranlarında *S. pyogenes* ve *E. coli*'ye karşı 1. saatte gösterdikleri bakterisidal etki ortalamaları

	İEH (BEHÇET HASTASI) 1/1 E/H $X \pm ss^{**}$ Ortanca	İEH (SAĞLIKLI KONTROL) 1/1 E/H $X \pm ss$ Ortanca
<i>S.pyogenes</i> 1. saat	32.0 ± 23.7 31.6	46.9 ± 27.5 46.8
<i>E. coli</i> 1. saat	24.0 ± 19.5 23.3	59.4 ± 17.7 60.0

* ; ortalama

**; standart sapma



Şekil 4.1.1: İEH'nin 1/1 E/H oranlarında *S. pyogenes* ve *E. coli*'ye karşı 1. saatte gösterdikleri bakterisidal etki ortalamaları

Behçet hastaları ve sağlıklı kontrollerin İEH'i 1/1 E/H oranında karşılaştırıldığında 1. saatteki bakterisidal etki açısından *S. pyogenes*'e karşı hasta grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı ($p>0.001$), *E. coli*'ye karşı ise kontrol grubunda hasta grubundan anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı ($p<0.001$) (Tablo 4.1.1; Şekil 4.1.1).

Behçet hasta grubunda İEH'nin 1/1 E/H oranında karşılaştırıldığında *S. pyogenes* ve *E. coli* bakterileri arasında bakterisidal etki açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı saptandı ($p>0.001$).

Sağlıklı kontrol grubunda da İEH'nin 1/1 E/H oranında karşılaştırıldığında *S. pyogenes* ve *E. coli* bakterileri arasında bakterisidal etki açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı saptanmıştır ($p>0.001$).

5. TARTIŞMA

Behçet hastalığı, etyolojisi bilinmeyen sistemik inflamatuvar bir vaskülitir (Yıldırım ve ark., 2009). Hastalığın etyolojisi bilinmemesine rağmen, immunolojik bozukluklar üzerinde durulmakta, gelişiminden genetik, çevresel, virolojik, bakteriyel ve immunolojik faktörler sorumlu tutulmaktadır (Kaneko ve ark., 1997; Çelenk ve ark., 2009).

Konağa mikroorganizma girişi ve hastalık oluşumunun en sık ve önemli yolu mukozal alanlardır (Ganz, 2002; Albayrak ve ark., 2006a). Derinin yanında, respiratuvar, gastrointestinal ve ürogenital sistemin mukozal yüzeyleri içteki steril ortamla dış çevreyi ayırır ve böylece mikroplara karşı ilk hat savunmasını oluşturur (Steele ve ark., 2000; Basset ve ark., 2003). Mukozal immun sistemde epitel hücresi, özgül olmayan immun yanıtta kazanılmış immun yanıtta geçişte ve immun hemostazın regülasyon veya tolerans yönünde belirlenmesinde kavşak noktası oluşturmakta; antijene, antijenin yapısı, miktarı ve sunum şekline göre nasıl bir yanıt oluşturulacağını belirlemektedir (Albayrak ve ark., 2006a).

Çalışmamızda Behçet hastalarında ve sağlıklı bireylerde üroepitel hücrelerinin *Streptococcus pyogenes* ve *Esheria coli*'ye karşı bakterisidal etkisinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. Bunun için Behçet hastası ve sağlıklı bireylerin idrar epitelleri ile *S. pyogenes* ve *E. coli*'nin 1/1 E/H oranında 96 kuyucuklu plaklarda karşılaştırılarak EH'nin hücresel etkisinin ve oluşturduğu çözünür faktörlerin yansması olan bakterisidal etkisine bakılmıştır.

İnsan oral epitel hücrelerinin *C. albicans*'ın üremesini hücre-hücre teması ile engellediği, insan oral epitel hücrelerinin ve fare vaginal epitel hücrelerinin *Candida albicans*'ın üremesini belirgin şekilde azalttığı (Steele ve ark., 1999; Nomanhboy ve ark., 2002), insan kolon epidermal adenokarsinom hücre

dizini (Caco-2)'nin *C. albicans*'ın ve nonalbicans *Candida*'ların üremesini engellediği (Özenci ve ark., 2001) gösterilmiştir.

Dolapçı ve ark. (2003) tarafından Behçet hastaları ile sağlıklı bireylerin ağız epitel hücrelerinin *S. pyogenes*'e karşı antibakteriyel kapasitesinin araştırıldığı bir çalışmada, ağız epitel hücrelerinin streptokoklara karşı bakterisidal etkinliği Behçet hastalarında %8, sağlıklı bireylerde ise %34 olarak bulunmuştur. Ağız epitel hücrelerinin bakterisidal etkisinin Behçet hastalarında sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede düşük olduğu gösterilmiş ve ağız epitel hücrelerinin bakterisidal etkisinin sağlıklı bireylerde önemli bir konak savunması olduğu sonucuna varılmıştır.

Albayrak ve ark. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada üriner ve oral epitel hücrelerinin farklı *E. coli* suşlarına karşı bakterisidal etkisi araştırılmış ve ağız epitel hücrelerinin bakterisidal etkisi *E. coli* K12'ye karşı %49.8, *E. coli* O75'e karşı %45.7, idrar epitelyum hücrelerinin antibakteriyel gücü *E. coli* K12'ye karşı %34.7, *E.coli* O75'e karşı %29.2 olarak bulunmuş ve ağız epitel hücreleri ve idrar epitel hücrelerinin *E.coli* K12 ve O75'e karşı bakterisidal etki gücü arasındaki fark istatistiksel olarak sınırda anlamlı bulunmuştur.

İEH'nin farklı antijenik miktarlardaki *E. coli*'ye karşı bakterisidal etkisinin araştırıldığı bir çalışmada idrar epitel hücresi *E. coli* ile 1/10, 1/100, 1/1.000, 1/10.000, 1/100.000, 1/1.000.000, 1/10.000.000 E/H oranlarında 6 saat karşılaştırılmıştır. İEH'nin 1/100.000 ve altındaki E/H oranlarında ortalama %60.7, 1/1.000.000 ve üzerindeki E/H oranlarında ortalama %11.3 bakterisidal etki gösterdiği bulunmuştur. Bakteri miktarının artışı ile epitel hücrelerinin oluşturduğu bakterisidal etkinin anlamlı bir şekilde azaldığı gözlenmiş ve idrar epitel hücrelerinin *E. coli*'ye karşı doz bağımlı antibakteriyel etkinlik oluşturduğu sonucuna varılmıştır (Albayrak ve ark., 2006a).

Fidan ve ark. (2006) tarafından yapılan benzer bir çalışmada *E.coli* ile uyarılmış idrar epitel hücrelerinde 1/1 E/H oranında bakterisidal etki ortalama %25, 1/10 E/H oranında ortalama %33.3; 1/100 E/H oranında ortalama %37.5 ve 1/1000 E/H oranında ortalama %33.3 olarak bildirilmiştir.

Albayrak ve ark. (2006b) tarafından yapılan bir başka çalışmada farklı miktarda *S. pyogenes* ile uyarılan ağız epitel hücrelerinin 1. saatte ortalama %38.7, 6. saatte ortalama %54.5 bakterisidal etki gösterdiği bulunmuştur ve 6. saatte gösterdiği bakterisidal etkinin 1. saatte gösterdiği bakterisidal etkiye göre anlamlı derecede yüksek olduğu ve doza bağımlı bakterisidal etki gösterdiği; insan ağız epitel hücre dizininin (KB) ise 1. saatte ortalama %36.3 ve 6. saatte %37.7 bakterisidal etki gösterdiği ve antibakteriyel etkinlik açısından anlamlı bir fark bulunmadığı sonucuna varılmıştır.

Biriken ve ark. (2009) tarafından Caco-2 epitel hücrelerinin *S. pyogenes* ve *E. coli*'ye karşı bakterisidal etkisinin araştırıldığı diğer bir çalışmada Caco hücrelerinin *S. pyogenes*'e karşı bakterisidal etkisi %21.9, *E. coli*'ye karşı %36.2 olduğu bulunmuş ve *E. coli*'ye karşı oluşan bakterisidal etkinin *S. pyogenes*'e karşı olan antibakteriyel etkiden anlamlı olarak daha yüksek bulunduğu bildirilmiştir.

Bizim çalışmamızda, İEH Behçet hastalarında ve sağlıklı kontrollerde 1/1 E/H oranında *S. pyogenes* ve *E. coli* ile 1 saat karşılaştırılan idrar epitel hücrelerinin (İEH) bakterisidal etki yüzdeleri *S. pyogenes* için Behçet hastalarında ortalama %31.6 ve sağlıklı kontrollerde %46.8 olarak saptanmıştır. Bu verilere göre antibakteriyel etkinlik açısından Behçet hastaları ve sağlıklı kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.001$). *E. coli* için sonuçlar değerlendirildiğinde ise, bakterisidal etki yüzdeleri Behçet hastalarında ortalama %23.3 ve sağlıklı kontrollerde %60 olarak saptanmıştır (Tablo 4.1.1, Şekil 4.1.1). Bu verilere göre Behçet hastalarının İEH'nin *E. coli*'ye karşı bakterisidal etkisinin sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır ($p<0.001$).

Behçet hastalarının İEH'leri *S. pyogenes* ve *E. coli* bakterileri ile karşılaştırıldığında farklı mikroorganizmalar açısından bakterisidal etki ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.001$). Sağlıklı kontroller arasında da yine aynı şekilde bakterisidal etki ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.001$). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda farklı mukozal alanlardaki epitel hücrelerinin *S. pyogenes* ve *E. coli* bakterilerinin ve *C. albicans*'a karşı bakterisidal etki gösterdiği saptanmıştır. Sonuçlarımız, epitel hücrelerinin bakterisidal etkinliğinin olup olmaması açısından daha önce yapılan bu çalışmalarla uyumludur (Steele ve ark., 2000; Özenci ve ark., 2001; Nomanhboy ve ark., 2002; Dolapçı ve ark., 2003; Albayrak ve ark., 2005; Albayrak ve ark., 2006(a,b); Fidan ve ark., 2006; Biriken ve ark., 2009). Biriken ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada Caco-2 epitel hücrelerinin 5. saatte göstermiş olduğu bakterisidal etki yüzdeleri antibakteriyel etkinlik açısından değerlendirildiğinde; *E. coli*'ye karşı saptanan etki *S. pyogenes*'e kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Bizim çalışmamızda bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu durum, kullanılan EH veya EH hücre dizininin farklı mukozal alanlardan elde edilmiş olması ve mikroorganizma ile karşılaşma süresinin farklı olmasından kaynaklanıyor olabilir. Behçet hastalarının ağız epitel hücreleri *S. pyogenes* ile karşılaştırılmış ve Behçet hastalarında sağlıklı kontrollere karşı anlamlı olarak daha düşük bakterisidal etki saptanmıştır (Dolapçı ve ark., 2003). Bizim çalışmamızda, Behçet hastalarının İEH'nin *E. coli*'ye karşı bakterisidal etkisinin sağlıklı bireylere göre anlamlı olarak daha düşük olduğu saptanmıştır. Bu durum Behçet hastalarında, üriner sistem enfeksiyonlarının en sık etkeni olan *E. coli*'ye karşı konak savunmalarında koruyucu immun mekanizmaların eksikliğinin bir sonucu olabilir.

Farklı mukozal hücreler, farklı mukozal alanlar, farklı mikroorganizmalar, farklı süre, farklı E/H oranları hücrelerin mikroorganizma ile birlikte olma süresindeki değişiklikler hücrelerin farklı yanıt oluşturmalarına yol açabilir;

farklı immun yanıt oluşturan hücrelerin flora yerleşimleri ve flora ilişkileri de farklı olabilir.

Epitel hücreleri konak savunması, inflamasyon ve immun cevabın düzenlenmesinde önemli rol oynar. Mikroorganizmaya karşı antibakteriyel etkinliğin daha iyi anlaşılması için, EH'nin yanında konak savunmasının diğer hücrelerinin de ayrıntılı olarak araştırılmasına ihtiyaç vardır. Konak savunması, inflamasyon ve immun cevabın daha iyi anlaşılması, hastalıkların patogenezinin aydınlatılmasına büyük katkı sağlayacaktır.

SONUÇLAR

1- 1/1 E/H oranında *S. pyogenes* ile karşılaştırılan İEH'nin *S. pyogenes*'e karşı 1. saatte Behçet hastalarında ortalama %31.6, sağlıklı kontrollerde ortalama %46.8 bakterisidal etki gösterdiği saptanmıştır. Behçet hastaları ve sağlıklı kontroller arasında bakterisidal etki açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.001$).

2- 1/1 E/H oranında *E. coli* ile karşılaştırılan İEH'nin *E.coli*'ye karşı 1. saatte Behçet hastalarında ortalama %23.3, sağlıklı kontrollerde ortalama %60 bakterisidal etki gösterdiği saptanmıştır. Behçet hastaları ve sağlıklı kontroller arasında bakterisidal etkinin Behçet hastalarında sağlıklı kontrollerden anlamlı derecede düşük olduğu bulunmuştur ($p<0.001$).

3- 1/1 E/H oranında *S. pyogenes* ve *E. coli* bakterileri ile karşılaştırılan İEH'nin 1. saatte antibakteriyal etki açısından Behçet hastaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.001$).

4- 1/1 E/H oranında *S. pyogenes* ve *E. coli* bakterileri ile karşılaştırılan İEH'nin 1. saatte antibakteriyal etki açısından sağlıklı kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.001$).

Farklı mukozal hücreler, farklı mukozal alanlar, farklı mikroorganizmalar, farklı süre, farklı E/H oranları hücrelerin mikroorganizma ile birlikte olma süresindeki değişiklikler hücrelerin farklı yanıt oluşturmalarına yol açacak; farklı immun yanıt oluşturan hücrelerin flora yerleşimleri ve flora ilişkileri de farklı olacaktır.

Epitel hücreleri konak savunması, inflamasyon ve immun cevabın düzenlenmesinde önemli rol oynar. Mikroorganizmaya karşı antibakteriyel etkinliğin daha iyi anlaşılması için, EH'nin yanında konak savunmasının diğer hücrelerinin de ayrıntılı olarak araştırılmasına ihtiyaç bulunmakta; konak

savunması, inflamasyon ve immun cevabın daha iyi anlaşılması, hastalıkların patogenezinin aydınlatılmasına büyük katkı sağlayacaktır.

ÖZET

Behçet Hastalarında ve Sağlıklı Bireylerde Üroepitel Hücrelerinin *Streptococcus pyogenes* ve *Esherichia coli*'ye Karşı Bakterisidal Etkisinin Araştırılması

Behçet hastalığı (BH) tekrarlayıcı oral aftlar, genital ülserler, deri lezyonları ve üveyit ile birlikte vasküler, nörolojik ve gastrointestinal bulgular ile karakterize ve sistemik inflamatuvar bir hastalıktır. Hastalığın etyolojisi bilinmemesine rağmen, immunolojik bozukluklar üzerinde durulmakta, gelişiminden genetik, çevresel, virolojik, bakteriyel ve immunolojik faktörler sorumlu tutulmaktadır.

Mukozal immun sistemde epitel hücresi, özgül olmayan immun yanıtın kazanılmış immun yanıtı geçişte ve immun hemostazın regülasyon veya tolerans yönünde belirlenmesinde kavşak noktası oluşturmakta; antijene, antijenin yapısı, miktarı ve sunum şekline göre nasıl bir yanıt oluşturulacağını belirlemektedir.

Çalışmamızda, Behçet hastalarında ve sağlıklı bireylerde üroepitelyal hücrelerin *Streptococcus pyogenes* ve *Esherichia coli*'ye karşı bakterisidal etkisinin olup olmadığı araştırılması amaçlanmıştır. Behçet hastalarında oral epitel hücresinin azalmış bakterisidal etkisi gösterilmiştir. Çeşitli hasta gruplarında, epitel hücresinin enfeksiyona yakınlıktaki etkisinin incelenmesiyle, hastalığın patogeneze katkısının olacağını düşünmekteyiz.

Efektör hücre olarak kullanılan idrar epitel hücresi (İEH) ve hedef hücre olarak kullanılan *S. pyogenes* ATCC 49619 ve *E. coli* O75 suşları 1/1 E/H oranında plaklarda karşılaştırılmıştır. 1 saatlik inkübasyonun ardından her bir kuyucuk içeriği toplanmış ve *S. pyogenes* kanlı agara, *E. coli* adi agar besiyerine ekilmiştir. 37°C'de 1 gecelik inkübasyondan sonra plaklarda meydana gelen koloni oluşturan birimler sayılmış ve bakterisidal etki yüzdesi hesaplanmıştır. Çalışmaların istatistiksel değerlendirmesi *t* test ve Dixon testi ile yapılmıştır.

Çalışmalar sonucunda İEH'nin 1. saatte Behçet hastalarında *S. pyogenes*'e karşı ortalama %31.6, *E. coli*'ye karşı %23.3, sağlıklı kontrollerde ise *S.pyogenes*'e karşı %46.8, *E.coli*'ye karşı %60 bakterisidal etki gösterdiği tesbit edilmiştir.

Behçet hastaları ve sağlıklı kontroller arasında *S. pyogenes*'e karşı antibakteriyel etkinlik açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.001$). Bunun yanında, Behçet hastalarında *E. coli*'ye karşı bakterisidal etkinin, sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır ($p<0.001$). Behçet hasta grubunda ve sağlıklı kontrol

grubunda *S. pyogenes* ve *E. coli* arasında bakterisidal etki açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.001$).

Bizim alışmamızda, Behçet hastalarının İEH'nin *E. coli*'ye karşı bakterisidal etkisinin sağlıklı bireylere göre anlamlı olarak daha düşük olduğu saptanmıştır. Bu durum Behçet hastalarında, üriner sistem enfeksiyonlarının en sık etkeni olan *E. coli*'ye karşı konak savunmalarında koruyucu immun mekanizmaların eksikliğinin bir sonucu olabilir.

Anahtar sözcükler: Bakterisidal etki, Epitel hücresi, Behçet hastalığı, *S. pyogenes*, *E. coli*

SUMMARY

Investigation of Bactericidal Effects of Uroepithelial Cells Against *Streptococcus pyogenes* and *Escherichia coli* in Behcet's Disease and Healty Controls

Behcet's disease (BD) is a systemic inflamatur disorder, characterized by recurrent oral aphthous ulcers, genital ulcers, skin lesions and uveitis with the other manifestasions, including vasculer, gastrointestinal and neurological involvement. Although ethiology of the disease is unknown, viral and bacteriologic agents, genetic, environmental and immunologic factors are responsible for ethiology.

Epithelial cells have critical role at designate immun homeostasis whether as immun regulation or tolerance and according to antigen structure, dose and form of the presentation way response type will be a determinant in the mucosal immun system.

The aim of the present study is to investigate whether bactericidal effect of the epithelial cells against *S. pyogenes* and *E. coli* in Behcet's disease and healty controls. In the previous studies, bactericidal effects of vagen, intestine, oral and urogenital epithelial cells and decreased bactericidal effect of the oral epithelial cells in Behcet's disease have been found. We suggest that analyzing the effect of epithelial cells on susceptibility to infection in several disease groups; thus the contribution to pathogenesis is expected. The investigation with urinary epithelial cells has been chosen due to the absence of the studies in this topic, and getting epithelial cells from urine samples with non-invasive methods. If there is any significant bactericidal effect of uroepithelial cells in between Behçet and healty conrols, findings of this study would probably lead further studies, which could explain the pathogenesis of Behçet's disease.

Before the experiment, urine epithelial cells (used for effector cell) and *S. pyogenes* ATCC 49619 and *E. coli* O75 (used for target cell) strains were prepared, and the cells were stimulated with bacteria in plates with an effector cell/target cell ratio of 1/1. At the end of 1 hour incubation, well contents were collected from each wells and were inoculated to blood agar for *S. pyogenes* and agar plates for *E. coli*. Following overnight incubation at 37°C colony forming units were enumarated and bacterisidal effect were calculated. Final data were controlled with Dixon test, and analyzed with *t* test.

According to the results, the bacterisidal effects against *S. pyogenes* and *E. coli* in Behcet's disease patients are 31,6%, and 23,3%, respectively. These percentages are 46.8% and 60% for healty controls.

In terms of bactericidal effect against *S. pyogenes*, there was no statistically significant difference between Behcet's disease patients and healthy controls ($p>0.001$). Besides, the bactericidal effects against *E. coli* was significantly lower in Behcet's disease patients than that healthy controls ($p<0.001$). Between *S. pyogenes* and *E. coli*, there was no significant difference in Behcet's disease patients and healthy control groups ($p>0.001$).

In our study, the bactericidal effect of uroepithelial cell against *E. coli* is found significantly lower in Behcet's disease patients than healthy controls. This is probably due to the result of lack of productive immun mechanisms in host defence against *E. coli*, the most frequently agent of urinary tract infections in Behcet's disease patients.

KEY WORDS: Bactericidal effect, Epithelial cell, Behcet's disease, *S. pyogenes*, *E. coli*

KAYNAKLAR

Abbas, A.K., Lichtman A.H. (2003a). Doğal Bağışıklık: *Temel İmmunoloji* (ed. Y. Camcioğlu, G. Deniz), pp. 21-30. Medikal Yayıncılık:İstanbul.

Abbas, A.K.. Lichtman. A.H. (2003b). Innate Immunity: In *Cellular and Molecular Immunology*, Fifth edition, pp. 243-298. Saunders: Philadelphia.

Acheson, D.W.K, Luccioli, S. (2004). Mucosal Immune Responses. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology* **18**: 387-404.

Aerts, A., François, I., Cammue, B., Thevissen, K. (2008). The mode of antifungal action of plant, insect and human defensins. *Celluler and Moleculer Life Sciences* **65**(13): 2069-2079.

Albayrak, N., Biriken, D., Ozenci, H. (2005). İnsan ağız ve üriner sistem epitel hücrelerinin farklı *Eschericha coli* suşlarına karşı bakterisidal etkisinin araştırılması. *Mikrobiyoloji Bulteni* **39**: 161-167.

Albayrak, N., Biriken, D. Özenci, H. (2006a). Üriner epitel hücrelerinin farklı dozlardaki *Eschericha coli*'ye karşı bakterisidal etkisinin araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni* **40**(3): 195-200.

Albayrak, N., Biriken, D. Özenci, H. (2006b). İnsan ağız epitel hücrelerinin farklı antijenik miktarlardaki *Streptococcus pyogenes*'e karşı bakterisidal etkisinin ve sitokin yanıtının araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni* **40**(1-2): 29-37.

Badur, S. (2001). Mukozal Bağışıklık Yapı Taşları, İşlevi ve Aşı Çalışmaları: *İmmünolojide gelişmeler III* (ed. G. Deniz, S. Badur), ss:75-86. Erka matbaacılık: İstanbul.

Basset, C., Holton, J., O'Mahony, R., Roitt, I. (2003). Innate immunity and pathogen–host interaction. *Vaccine* **21**: S2/12–S2/23.

Battistoni, A., Ajello.M., Ammendola, S., Superti, F., Rotilio, G., Valenti, P. (2004). Involvement of reactive oxygen species in bacterial killing within epithelial cells. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology* **17**: 71-76.

Baysal, B. (2004). *Escherichia coli: Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji* (ed. A.T. Cengiz), ss. 454-458. Güneş Kitabevi: Ankara.

Berin, CM., Mckay, D.M., Perdue, M.H. (1999). Immune-epithelial interactions in host defense. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **60**: 16-25.

Biriken, D., Albayrak, N., Yıldız, S., Özenci, H. (2009). Caco-2 Epitel hücresi ve THP-1 makrofaj hücrelerinin *Streptococcus pyogenes* ve *Esherichia coli*'ye karşı bakterisidal etki ve nitrik oksit yanıtının araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni* **43**: 373-381.

Blum, S., Delneste, Y., Alvarez, S., Haller, D., Perez, P.F., Bode, Ch., Hammes, W.P., Pfeifer, A.M.A., Schiffrin, E.J. (1999). Interactions between commensal bacteria and mucosal immunocompetent cells. *International Dairy Journal* **9**: 63-68.

Bodet, C, Chandad, F., Grenier, D. (2005). Modulation of cytokine production by *Porphyromonas gingivalis* in a macrophage and epithelial cell co-culture model. *Microbes and Infection* **7**: 448-456.

Bogdan, C, Rollinghoff. M.. Diefenbach, A. (2000). The role of nitric oxide in innate immunity. *Immunological Reviews* **173**: 17-26.

Borlu, M. (2007). Behçet Hastalığında Etyopatogenez. *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Science)* **16**(1): 63-72.

Bouvet, J.P., Fischetti, V.A. (1999). Diversity of antibody-mediated immunity at the mucosal barrier. *Infection and Immunity* **67**(6): 2687-2691.

Boyaka, P.N., Wright, P.F., Marinaro, M., Kiyono, H., Johson, J.E., Werkhaven, J.A., Jackson, R.J., Fujihashi, K., Di Fabio, S., Staats, H.F., McGhee, J.R. (2000). Human nasopharyngeal-associated lymphoreticular tissues. *American Journal of Pathology* **157**: 2023-2035.

Boyaka, P.N., Marinaro, M., Fujihashi, K., McGhee, J.R. (2001). Host defenses at mucosal surfaces. In *Clinical Immunology Principles and Practice* (ed. R.R. Rich, T.A. Fleischer, W.T. Shearer, B.L. Kolzin, H.W. Schroeder), pp. 20.1-20.18. Mosby: Washington.

Boyyat A. (2004) Behçet hastalığının etiyopatogenezi. *Türkiye Klinikleri Journal of Dermatology* **14**: 15-21.

Bozkaya, E. (2005). Gram Pozitif Koklar: *Tıbbi Mikrobiyoloji*, ss. 15-19. Nobel Tıp Kitabevleri: İstanbul.

Brandzaeg, P. (1997). Mucosal immunity in the female genital tract. *Journal of Reproductive Immunology* **36**: 23-50.

Bu, P., Kesharvarzian, A., Stone, D.D., Liu, J., Le, P.T., Fisher, S., Qiao, L. (2001). Apoptosis: one of the mechanisms that maintains unresponsiveness of the intestinal mucosal immune system. *The Journal of Immunology* **166**: 6399-6403.

Caulcutt, R. (1983). Outliers: *Statistical in Research and Development*, pp: 99-105. Chapman and Hall Ltd: New York.

Cebeci, F., Topçu, E., Onsun, N., Su, Ö. (2009). Behçet Hastalığında Sistemik Tutulum ve Faktör V Leiden Gen Mutasyonu Arasındaki İlişki. *Türkdermatoloji-Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi Dergisi* **43**: 21-24.

Cengiz, A.T. (1999). *Streptococcus. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji* (ed. Ş. Ustaçelebi), ss. 349-365. Güneş Kitabevi: Ankara.

Cengiz, A.T. (2004). *Streptococcus. Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji* (ed. A.T. Cengiz), ss. 454-458. Güneş Kitabevi: Ankara.

Celenk, C., Aydın F., Unsal, M. (2009). Pulmonary alterations in Behcet's disease. *European Journal of Radiology* **70**: 317–319.

Cehade, M., Mayer, L. (2005). Oral tolerance and its relation to food hypersensitivities. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **115**: 3-12.

Cossart, P., Sansonetti, P.J. (2004). Bacterial invasion: the paradigms of enteroinvasive pathogens. *Science* **304**: 242-248.

Cunliffe. R.N. (2003). α -Defensin in the gastrointestinal tract, *Molecular Immunology* **40**: 463-467.

Direskeneli, H. (2006). Autoimmunity vs autoinflammation in Behcet's disease:do we oversimplify a complex disorder? *Rheumatology* 1-5

Doğanavşargil E, Keser G. (2005). Behçet Hastalığı. *Türkiye Klinikleri Journal of International Medical Science* **1**: 80-91.

Dolapci, I., Albayrak, N., Boyvat, A., Ozenci, H. (2003). Antibacterial capacity of oral (epithelial) cells from healthy donors and patients with Behcet's disease. *Archives of Dermatological Research* **295**: 124-126.

Erdem, B. (1999). Enterobacteriaceae. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji* (ed. Ş. Ustaçelebi), ss. 480-485. Nobel Tıp Kitabevleri: Ankara.

Erel, A., Özsoy, E., Biberoğlu, G. (2003). Serum levels of vitamins A, C, and E, beta-carotene, selenium, and zinc in patients with Behçet's disease: a controlled study. *Biological Trace Element Research* **95**: 97–106.

Ernst, P.B., Song, F., Klimpel, G.R., Haeberle, H., Crowe, S.E., Ye, G., Reyes, V.E. (1999). Regulation of the mucosal immune response. *The American Journal of Medicine and Hygiene* **60**: 2-9.

Evereklioglu, C., Turkoz, Y., Er, H., Inaloz, H.S., Ozbek, E., Cekmen M. (2002). Increased nitric oxide production in patients with Behçet's disease: is it a new activity marker? *Journal of American Academic Dermatology* **46**: 50-4.

Evereklioglu C. (2005). Current concepts in the etiology and treatment of Behçet disease. *Survive Ophthalmology* **50**: 297-350.

Farbermann, M.M., deMello, D.E., Hoffmann, J.W., Ryerse J.S. (2005). Morphologic changes in alveolar macrophages in response to UVEC-activated pulmonary Type II epithelial cells. *Tissue and Cell* **37**: 213-222.

Fidan, I., Yeşilyurt, E., Yolbakan, S., Erdal, B. (2006). Üriner sistem epitel hücrelerinin bakterisidal aktivitesi, sitokin ve kemokin yanıtı. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* **36** (4) : 179-183.

Frick, A.G., Joseph, T.D., Pang, L, Rabe., A.M., St.Geme, J.W., Look, D.C. (2000). Haemophilus influenzae stimulates ICAM-1 expression on respiratory epithelial cells. *The Journal of Immunology* **164**:4185-4196.

Fritz, J.H., Le Bourhis, L., Magalhaes, J.G., Philpott, D.J. (2008). Innate immune recognition at the epithelial barrier drives adaptive immunity: APCs take the back seat. *Trends Immunology* **29**(1):41-9.

Ganz, T. (2002). Epithelia: Not just physical barriers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **99**: 3357-3358.

Ganz, T. (2004). Antimicrobial polypeptides. *Journal of Leukocyte Biology* **75**: 34-38.

Haller, D., Holt, L., Parlesak, A., Zanga, J., Bauerlein, A., Sartor, R.B., Jobin, C. (2004). Differential effect of immune cells on non-pathogenic Gram-negative bacteria-induced nuclear factor- κ B activation and pro-inflammatory gene expression in intestinal epithelial cells. *Immunology* **112**: 310-320.

Hamzaqui, N., Pringault, E. (1998). Interaction of microorganisms, epithelium and lymphoid cells of the mucosa-associated lymphoid tissue. *Annals of New York Academy of Sciences* **859**: 65-74.

Hayday, A. Viney, J. (2000). The ins and outs of body surface immunology. *Science* **290**: 97-100.

Hedges, S., Agace, W., Svensson, M., Sjogren, A.J., Ceska, M., Svanborg, C. (1994). Uroepithelial cells are part of a mucosal cytokine network. *Infection and Immunity* **62**: 2315-2321.

Hedges, S.R., Agace, W., Svanborg, C. (1995). Epithelial cytokine response and mucosal cytokine networks. *Trends Microbiology* **3**: 266-270.

Hershberg, R.M., Mayer, L.F. (2000). Antigen processing and presentation by

intestinal epithelial cells - polarity and complexity. *Immunology Today* **21**: 123-126.

Hertz, C.J., Wu, Q., Porter, E.M., Zhang, Y.J., Weismuller, K.H., Godowski, P.J., Ganz, T., Randell, S.H., Modlin, R.L. (2003). Activation of toll-like receptor 2 on human tracheobronchial epithelial cells induces the antimicrobial peptide human β defensin-2. *The Journal of Immunology* **171**: 6820-6826.

Huang, G.T.J., Eckmann, L, Savidge, T.C., Kagnoff, M.F. (1996). Infection of human intestinal epithelial cells with invasive bacteria upregulates apical intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression and neutrophil adhesion. *The Journal of Clinical Investigation* **98**: 572-583.

Hurley, B.P., McCormick, B.A. (2004). Intestinal epithelial defense systems protect against bacterial threats. *Current Gastroenterology Reports* **6**: 355-361.

Huttner, K.M., Bevins, C.L. (1999). Antimicrobial peptides as mediators of epithelial host defence. *Pediatric Research* **45**: 785-794.

Inagaki-Ohara, K., Sawaguchi, A., Suganuma, T., Matsuzaki' G., Yukifumi, N. (2005). Intraepithelial lymphocytes express junctional molecules in murine small intestine. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **331**: 977-983.

Janeway, C.A., Medzhitov, Jr. and R. (2002). Innate Immun Recognition. *Annual Review of Immunology* **20**: 197-216 .

Janeway, C.A., Travers, P., Walport, M., Shlomchik, M. (2005). Innate Immunity: In *Immunobiology*, Sixth edition, pp. 33-79. Garland Publishing: New York and London.

Kaneko, F, Oyama, N, Nishibu, A. (1997). Streptococcal infection in the pathogenesis of Behcet's disease and clinical effects of minocyclin on the disease symptoms. *Yonsei Medical Journal* **38**(4): 444-457.

Kagnoff, M.F. (1996). Mucosal immunology: new frontiers. *Immunology Today* **17**: 57-59.

Kavak, B. (2008). *t* test: Pazarlama Araştırmaları Tasarım ve Analiz, ss: 252-256. Hacettepe Üniversitesi Yayınları: Ankara.

Kılıçturgay, K. (2003). İmmunglobulinler: *İmmunoloji* (ed. Kaya Kılıçturgay), ss: 81-97. Nobel&Güneş: Bursa.

Kinoshita, N., Hiroi, T., Ohta, N., Fukuyama, S., Park, E.J., Kiyono, H. (2002). Autocrine IL-15 mediates intestinal epithelial cell death via the activation of neighboring intraepithelial NK cells. *The Journal of Immunology* **169**: 6187-6192.

Krause, I., Weinberger, A. (2008). Behcet's disease. *Current Opinion Rheumatology* **20**: 82–87.

Laiping, S.A., Pelton-Henrion, K., Small, G., Becker, K., Oei, E., Tyorkin, M., Sperber, K., Mayer, L. (2000). Antigen uptake and trafficking in human intestinal epithelial cells. *Digestive Diseases and Sciences* **45**: 1451-1461.

Ma, D., Wolvers, D., Stanisiz, A.M., Bienenstock, J. (2003). Interleukin-10 and nerve growth factor have reciprocal upregulatory effects on intestinal epithelial cells, *American Journal of Physiology- Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **284**: R1323-R1329.

Madden, K.B., Whitman, L, Sullivan, C, Gause, W.C., Urban, J.F., Katona, J.I.M., Finkelman, F.D., Shea-Donohue, T. (2002). Role of STAT6 and mast

cells in IL-4- and IL-13-induced alterations in murine intestinal epithelial cell function. *The Journal of Immunology* **169**: 4417-4422.

Mahida, Y.R. (2004). Epithelial cell responses. *Best Practice and Research of Clinical Gastroenterology* **18**: 241-253.

Mason, K.L., Huffnagle, G.B. (2009). Control of mucosal polymicrobial populations by innate immunity. *Cellular Microbiology* **11**(9):1297-305.

Mavris, M., Sansonetti, P. (2004). Epithelial cell responses. *Best Practice and Research of Clinical Gastroenterology* **18**: 373-386.

Mayer, L. (1998). Current concepts in mucosal immunity I. Antigen presentation in the intestine: new rules and regulations. *American Journal of Physiology* **274**: G7-G9.

Mayer, L. (2000). Mucosal immunity and gastrointestinal antigen processing. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* **30**: S4-S12.

Mayer, L. (2003). Mucosal Immunity. *Pediatrics* **111**: 1595-1600.

Melmed. G., Thomas. L.S., Lee, N., Tesfay. S.Y., Lukasek. K., Michelsen. K Zhou. Y., Hu, B., Arditi, M., Abreu, M.T. (2003). Human Intestinal Epithelial Cells Are Broadly Unresponsive to Toll-Like Receptor-2 Dependent Bacterial Ligands: Implications for Host-Microbial Interactions in the Gut. *Journal of Immunology* **170**: 1406-1415.

Mendes, D., Correia, M., Barbedo, M., Vaio, T., Mota, M., Gonçalves, O., Valente, J. (2009). Behçet's disease. *Journal of Autoimmunity* **32**: 178–188.

Mikamo, H., Johri, A.K., Paoletti, L.C., Mad off, L.C., Onderdonk, A.B. (2004). Adherence to, invasion by, and cytokine production in response to serotype

VIII group B streptococci. *Infection and Immunity* **72**: 4716-4722.

Mills, P.R., Davies, R.J., Devalia. J.L. (1999). Airway Epithelial cells, Cytokines, and Pollutants. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **160**(5): 38-43.

Mori A., Satsu, H., Shimizu, M. (2003). New model for studying the migration of immune cells into intestinal epithelial celi monolayers. *Cytotechnology* **43**: 57-64.

Mowat, A.M., Viney, J.L. (1997). The anatomical basis of intestinal immunity. *Immunological Reviews* **156**: 145-166.

Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, F.C., Tenover, R.H. (1999) Enterobacteriaceae: Opportunistic Pathogens and Other Genera. In *Manual of Clinical Microbiology*, Seventh edition, pp. 457-464. ASM Press: Washington DC.

Nahoum, S.R., Paglino, J., Eslami-Varzaneh, F., Edberg, S., Medzhitov R. (2004). Recognition of Commensal Microflora by Toll-Like Receptors Is Required for Intestinal Homeostasis. *Cell* **118**: 229-241.

Navigation, A. (2002). Cell biology of infection: In *Molecular Biology of The Cell* (ed. B. Alberts, A. Johson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter). Garland publishing: New York.

Nisapakultorn, K., Ross, K.F., Herzberg, M.C. (2001). Calprotectin Expression Inhibits Bacterial Binding to Mucosal Epithelial Cells. *Infection and Immunity* **69**: 3692-3696.

Nomanbhoy, F., Steele, C., Yano, J., Fidel, P.L. (2002). Vaginal and Oral

Epithelial Cell Anti-*Candida* Activity. *Infection and Immunity* **70**(12): 7081-7088

Noyan, T., Şahin, I., Şekeroğlu, M.R, Dülger, H. (2003). The serum vitamin C levels in Behçet's disease. *Yonsei Medical Journal* **44**: 771–778.

Önder M., Gürer M.A. (2001). The multiple faces of Behcet's disease and its aetiological factors. *Journal of European Academic Dermatology Veneral* **15**: 26-36.

Önder, M., Gürer, M.A. (2007). Ülkemizde Behçet hastalığı epidemiyolojisi *Türkiye Klinikleri Journal of International Medicine Science* **3**: 4-7.

Özenci, H., Çelik, H.İ., Tekeli, F.A., Aksoy A.M. (2001). Comparison of Growth Inhibition Effect of CaCo2 Human epithelial cells and polymorphonuclear neutrophils on various *Candida* species. *Turkish Journal of Infection* **15**: 527-532.

Pamuk, Ö.N., Çakır, N. (2005). Behçet hastalığı epidemiyolojisi. *Türkiye Klinikleri Journal of International Medicine Science* **1**: 3-9.

Parkos, C.A. (1997). Neutrophil adhesive interactions with intestinal epithelium. *American Journal of Physiology and Gastrointestinal Liver Physiology* **273**: G763-G768.

Pasare, C, Medzhitov, R. (2004). Toll-like receptors: linking innate and adaptive immunity. *Microbes and Infection* **6**: 1382-1387.

Pay S. (2005). Behçet hastalığı: etiyoloji ve patogenez. *Türkiye Klinikleri Journal of International Medicine Science* **1**(25): 10-8.

Pay., S., Şimsek., İ., Erdem., H., Dinç., A. (2007). Immunopathogenesis of

Behcet's disease with special emphasize on the possible role of antigen presenting cells. *Rheumatology International* **27**: 417–424.

Pechkovsky, D.V., Zissel, G., Stamme, C., Goldmann, T., Jaffe, H.A., inhaus, M., Taube, C. (2002). Human alveolar epithelial cells induce nitric oxide synthase-2 expression in alveolar macrophages. *European Respiratory Journal* **19**: 672-683.

Poljakovic, M., Karpman, D., Svanborg, C, Persson. K. (2002). Human renal epithelial cells express iNOS in response to cytokines but not bacteria. *Kidney International* **61**(2): 444.

Quayle, A.J. (2002). The innate and early immune response to pathogen challenge in the female genital tract and the pivotal role of epithelial cells. *Journal of Reproductive Immunology* **57** : 61-79.

Rastogi, D., Ratner, A.J., Prince, A. (2001). Host bacterial interaction in the initiation of inflammation. *Pediatric Respiratory Reviews* **2**: 245-252.

Rescigno, M., Urbano, M., Valzasina, B., Francolini, M., Rotta, G., Bonasio, R., Granucci, F., Kraehenbuhl, J.P., Ricciardi-Castagnoli, P. (2001). Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. *Nature Immunology* **2**(4): 361-367.

Rimoldi, M., Rescigno, M. (2005). Uptake and presentation of orally administered antigens. *Vaccine* **23**: 1793-1796.

Rimoldi, M., Chieppa, M., Salucci, V., Avogadri, V., Sonzogni, A., Sampietro, G.M., Nespoli, A., Viale, G., Ailavena, P., Rescigno, M. (2005). Intestinal immune homeostasis is regulated by the crosstalk between epithelial cells and dendritic cells. *Nature Immunology* **6**: 507 – 514.

Rosseau, S., Selhorst, J., Wiechmann, K., Leissner, K., Maus, L., Mayer, K., Grimmeinger, F., Seeger, W., Lohmeyer, J. (2000). Monocyte Migration Through the Alveolar Epithelial Barrier: Adhesion Molecule Mechanisms and Impact of Chemokines. *The Journal of Immunology* **164**: 427-435.

Rosseau, S., Wiechmann, K., Moderer, S., Selhorst, J., Mayer, K., Krull, M., Hocke, A., Slevogt, H., Seeger, W., Suttorp, N., Seybold, J., Lohmeyer, J. (2004). *Moraxella catarrhalis*-infected alveolar epithelium induced monocyte recruitment and oxidative burst. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* **32**: 157-166.

Ruoff K.R., Whiley, A., Beihgton, D. (2003). *Streptococcus*. In *Manual of Clinical Microbiology* (ed P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller and R.H. Tenover), pp. 405-421. ASM Press: Washington D.C

Ruemmele, F.M. (2009). Bacterial Mucosa Cross-talk and Pathophysiology of Inflammation. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* **48**:S49–S51.

Schilling, J.D., Mulvey, M.A., Vincent, C.D., Lorenz, R.G., Hultgren, S.J. (2001). Bacterial invasion augments epithelial cytokine response to *Escherichia coli* through a lipopolisaccharide-dependent mechanism. *The Journal of Immunology* **166**: 1148-1155.

Schleimer, R.P., A., Kato, A., Kern, R., Kuperman, D., Avila, P. (2007). Epithelium: At the interface of innate and adaptive immune responses. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **120**(6): 1279-1284

Shao, L., Serrano, D., Mayer, L. (2001). The role of epithelial cells in immune regulation in the gut. *Semin Immunology* **13**: 163-176.

Shen, L, Fahey, J.V., Hussey, S.B., Asin, S.N., Wira, C.R., Fanger, M.W. (2004). Synergy between IL-8 and GM-CSF in reproductive tract epithelial cell secretions promotes enhanced neutrophil chemotaxis. *Cellular Immunology* **230**: 23-32.

Söyletir, G., Över, U. (2008). Streptokokların Genel Özellikleri: Beta hemolitik Streptokoklar (ed: A.W. Topçu, G. Söyletir, M. Doğanay). *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi*. Cilt 2, ss: 2030-2044. Nobel Tıp Kitabevleri: İstanbul.

Steele, C., Ozenci, H., Luo, W., Scott, M., Fiedel, P.L. (1999). Growth inhibition of *Candida* by Vaginal Cells from naive mice. *Medical Mycology* **37**: 251-259.

Steele, C., Leigh, J., Swoboda, R., Fiedel, P.J. (2000). Growth inhibition of *Candida* by human oral epithelial cells. *The Journal of Infectious Disease* **182**:1479-1485.

Steele, C., Leigh, J., Swoboda, R., Ozenci, H., Fiedel, A., La, P. (2001). Potential role for a Carbohydrate Moiety in Anti-*Candida* Activity of Human Oral Epithelial Cells. *Infection and Immunity* **69** (11); 7091 -7099.

Strober, W., James, S.P. (1991). The mucosal immune system. *Basic and Clinical Immunology* (ed. D.P. Stites and A.I. Terr), pp. 175-186. Appleton and Lange: California.

Strober, W. (2004). Epithelial cells pay a Toll for protection. *Nature Medicine* **10**: 898-900.

Fındık, D. (2008). Enterobacteriaceae: *Esherichia* Türleri. *İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi* 2. cilt (ed. A.W. Topçu, G. Söyletir, M. Doğanay), ss: 2136-2147. Nobel Tıp Kitabevleri: İstanbul.

Verity, D.H., Wallace, G.R., Vaughan, R.W., Stanford, M.R. (2003). Behcet's disease: from Hippocrates to the third millennium. *British Journal of Ophthalmology* **87**:1175-83.

Vital, A.L., Goncalo, M., Cruz, M.T., Figueiredo, A., Duarte, C.B., Lopes, M.C. (2003). Dexamethasone prevents granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-induced nuclear factor-kappaB activation. inducible nitric oxide synthase expression and nitric oxide production in a skin dendritic cell line. *Environmental Health Perspective* **111**(1): 85-92.

Weichhart, T., Haidinger, M., Hörl, W.H., Säemann, M.D. (2008) Current concepts of molecular defence mechanisms operative during urinary tract infection. *European Journal of Clinical Investigation* **38**(S2) 29-38.

Wilson, M., Seymour, R., Henderson B. (1998). Bacterial perturbation of cytokine networks. *Infection and Immunity* **66**: 2401-2409.

Yıldırım, M., Kılınç, Y., Ceyhan, A.M. (2009). Behçet hastalığı patogeneziindeki yenilikler. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* **16**(3): 29-34.

Zen, K., Liu, Y., Cairo, D., Parkos, C.A. (2002). CD11/Cd18 dependent interactions of neutrophils with intestinal epithelium are mediated by fucosylated proteoglycans. *The Journal of Immunology* **169**: 5270-5278.