T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ
(2.CİLT)

İNSAN KEMİK İLİĞİ ENDOSTEAL OSTEOBLASTİK NİŞ BÖLGESİ MEZENKİMAL KÖK/STROMA HÜCRELERİNİN İMMÜNOREGULATUVAR ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

ZEYNEP ZEHRA COŞKUN

İMMÜNOLOJİ ANA BİLİM DALI

KASIM 2018


GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Gazi
1926

İNSAN KEMİK İLİĞİ ENDOSTEAL OSTEOBLASTİK NİŞ BÖLGESİ MEZENKİMAL KÖK/STROMA HÜCRELERİNİN İMMÜNOREGULATUVAR ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Zeynep Zehra COŞKUN

DOKTORA TEZİ
İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KASIM 2018

Zeynep Zehra COŞKUN tarafından hazırlanan "İnsan Kemik İliği Endosteal Osteoblastik Niş Bölgesi Mezenkimal Kök/Stroma Hücrelerinin İmmünoregulatuvar Özelliklerinin İncelenmesi'' adlı tez çalışması aşağıdaki jüriler tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi İmmünoloji Ana Bilim Dalı'nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

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

Başkan: Prof. Dr. Ayşegül ATAK YÜCEL
İmmünoloji Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum. A. Atak .....

Üye: Prof. Dr. Fahriye Duygu UÇKAN ÇETİNKAYA
Kök Hücre Bilimleri Ana Bilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum. .....

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

Üye: Prof. Dr. Bilkay BAŞTÜRK
İmmünoloji Ana Bilim Dalı, Başkent Üniversitesi
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum. .....

Tez Savunma Tarihi: 23/11/2018

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Doktora Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....
Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

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

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

Zeynep Zehra COŞKUN

23/11/2018

İNSAN KEMİK İLİĞİ ENDOSTEAL OSTEOBLASTİK NİŞ BÖLGESİ MEZENKİMAL KÖK/STROMA HÜCRELERİNİN İMMÜNOREGULATUVAR ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

(Doktora Tezi)

Dr. Zeynep Zehra COŞKUN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kasım 2018

ÖZET

Mikro çevrenin MHH'larda MKH1 ve MKH2 yönünde plastisiteye ve makrofajlarda M1, M2a, M2b, M2c ve M2d/TAM yönünde plastisiteye neden olduğu bilinmektedir. MKH'lerin etkisiyle plastisite gösteren makrofajlar MEM (MKH tarafından etkilenen makrofajlar) olarak adlandırılmaktadır. Poli(I:C) viral bulaşları taklit etmek amacıyla kullanılır. Bu çalışmada poli(I:C), rhİFN-γ+düşük doz LPS, rhİL-4+rhİL-10+rhİL-13, rhTNF-α ve yüksek doz LPS kullanıldı. THP-1'ler 100 nM PMA ile makrofajlara dönüştürüldü. İnsan BM-MKH'lar kullanıldı. Süpernatan kültürleri, direkt ve transvel ko-kültürleri yapıldı. Ko-kültür sonrası hücreler akım sitometri ve ELISA ile incelendi. Viral yangının kronik dönemdeki mikro çevre taklit edilmek amacı ile hem MKH ve hem de PMA/THP-1'ler 1 μg/ml poli(I:C) ile prime edilerek 48 saat transvel ko-kültür yapıldı. Viral yangıda İL-18R , TLR4 eksprese eden MKH'ların yüzdesinin artırabileceği, CD80 eksprese etmeden, HLA-G, CD86 ve CD206 eksprese ederek, immün baskılayıcı bir tipe dönüşmüş olabileceğini, CD192 ve/veya CD197 üzerinden viral yangı bölgesine göç edebileceğini göstermektedir.Viral yangı bölgesinde TLR4, CD80 ve CD86 eksprese eden makrofajların yüzdesinin artabileceği, makrofajların HLA-G, CD206 ekprese ederek immün baskılayıcı bir tipe dönüşmüş olabileceğini, CD192 aracılığı ile yangı alanına göç edebileceğini göstermektedir. İL-18R eksprese eden makrofaj yüzdesi hafif artığı bulunmuş olsada makrofajların tek başına yangı ortamında bulunduğu duruma göre belirgin baskılanma vardı. MKH'ların ve makrofajların transvel ko-kültüründe, İNF-γ, İL-17A ve TNF−α orta düzeyde salgılandığı, CCL2 yüksek, İL-6, CXCL10, CCL22 ve CCL4'ün çok yüksek seviyede salgılandığı, tekli kültüre göre CCL22, CCL4, TNF-α, IDO, ve İL-1β'nın baskılandığı ve İL-6, CXCL10, CCL2, İNF-γ, İL-17A ve İL-15 (hafif) artığı, hem MKH ve hem de PMA/THP-1'ler 1 μg/ml poli(I:C) ile prime edilerek 48 saat transvel ko-kültür yapıldığında İL-6, İNF-γ (hafif) ve İL-17A'nın (hafif) artığı, CXCL10, CCL22, IDO'nun azaldığı gösterildi. Sonuç olarak viral yangının kronik fazında MKH ve makrofajların immün baskılayıcı özellikte olabileceği öne sürüldü.

Bilim Kodu	:	1.064
Anahtar Kelimeler	:	Mezenkimal kök hücre, mezenkimal kök hücre plastisitesi, monosit, makrofaj, makrofaj plastisitesi, mezenkimal kök hücre tarafından eğitilmiş makrofajlar, immunomodulasyon
Sayfa Adedi	:	706
Danışman	:	Prof. Dr. Vedat BULUT

INVESTIGATION OF IMMUNOREGULATORY PROPERTIES OF HUMAN BONE MARROW ENDOSTEAL OSTEOBLASTİC NİCHE ZONE MESENCHYMAL STEM CELLS / MESENCHYMAL STROMAL CELLS

(Ph. D. Thesis)

Zeynep Zehra COŞKUN

GAZI UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

November 2018

ABSTRACT

It is known that micro environment causes plasticity in MKH1 and MKH2 directions in MSCs and plasticity in M1, M2a, M2b, M2c and M2d / TAM directions in macrophages. Macrophages exhibiting plasticity with effect of MSC are called MEM. In this study, poly (I:C), hINF-γ+low dose LPS, rhIL-4+rhIL-10+rhIL-13, rhTNF−α and high dose LPS were used. THP-1 transformed into macrophages using 100 nM PMA. Human BM-MSC is used. Conditioned medium culture, direct and transwel co-cultures of two cell groups were performed. Cells after co-culture were examined by flow cytometry and ELISA. To simulate the microenvironment of the chronic period of viral fire zone both MKH and PMA/THP-1 prime with 1 μg/ml poly(I: C) for 48 hours in transwell ko-culture system. In the viral fire zone could increase the percentage of MSCs which expressing IL-18R and TLR4. By without expressing CD80, with expressing HLAG, CD86 and CD206, MSC may be turned into an immunosuppressive type. It can be migrate to the viral fire zone with CD192 and/or CD197. İn the viral fire zone could increase the percentage of macrophages which expres TLR4, CD80 and CD86. By expresing HLA-G and CD206 macropahge may be turned into an immunosuppressive type. It can be migrate to the viral fire zone with CD192.There was a slight increase in the percentage of macrophages expressing IL-18R but there was a marked suppression of macrophages in the viral infection environment alone. Transwell ko-culture of MSC and macrophages is secreted with medium level of İNF-γ, İL-17A and TNF−α, high level of CCL2, very high level of İL-6, CXCL10, CCL22 and CCL4. Compared with singular culture, suppressed secretion of CCL22, CCL4, TNF-α, IDO, and İL-1β. İncreased secretion of İL-6 , CXCL10, CCL2, İNF-γ, İL-17A and İL-15 (slightly). İL-6, İNF-γ (slightly) ve İL-17A'nın (slight) is increased and CXCL10, CCL22 and IDO are suppresed in transwell ko-culture system which MKH and PMA/THP-1 prime with 1 μg/ml poly(I: C) for 48 hours. In conclusion, it was suggested that MSCs and macrophages may be immunosuppressive in the chronic phase of viral fire.

Bilim Kodu : 1.064
Anahtar Kelimeler : Mesenchymal stem cells, plasticity of mesenchymal stem cells, monocytes, macrophages, plasticity of macrophage, mesenchymal stem cells educated macrophages, immunomodulation
Sayfa Adedi : 706
Danışman : Vedat BULUT, M.D., PhD.

TEŞEKKÜR

Bu doktora tez döneminde bana öncülük eden, her aşamada ilgisini ve önerilerini göstermekten kaçınmayan, kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek olan, gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağım, öğrencisi olduğum için gurur duyduğum çok saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Vedat BULUT'a, Tez İzleme Komitemde bulunarak desteği ile beni onurlandıran Prof. Dr. Cemalettin AYBAY hocama, çalışmam süresince birlikte çalışmaktan zevk aldığım bilgi ve desteğini esirgemeyen Pedi-Stem ekibinde yer alan herkese, özellikle akademik ve kişisel özellikleri ile özel bir insan olan, öğrencisi olduğum için kendimi çok şanslı hissettiğim, doktoraya başlama kararıma vesile olup ve doktora tez sürecimde merkezinin kapılarını açıp ekibin desteğini sağlayan, o olmasaydı bu süreci tamamlayamayacağım aynı zamanda Tez İzleme Komitemin üyesi olan Hacettepe Üniversitesi Pedi-Stem Merkez Müdürü çok kıymetli hocam Prof. Dr. Duygu Uçkan ÇETİNKAYA'ya, Pedi-Stem ekibinden Yrd. Doç. Dr. Fatima AERTS KAYA hocama, yine Pedi-Stem ekibinden çalışma süresince tüm zorlukları benimle birlikte göğüsleyen hayatımda hep özel bir yeri olacak olan Emine KILIÇ'a, Uzm. Dr. Hamza OKUR'a, teşekkürün az kalacağı Pedi-Stem (Hacettepe Üniversitesi Kök Hücre Araştırma ve Uygulama Merkezi) ekibinde yer alan diğer arkadaşlarım İrem AKAR SOYCAN, Yağız ANASIZ, Selda AYHAN, Ebubekir AKBAYIR ve Çağla Zübeyde KÖPRÜ, kanatsız bir çözüm meleği olan Özlem KÜÇÜKBAYRAK ve Hacer CÜZDANCI'ya, seçilen resimlerin kalitesinin düzenlenmesinde verdiği teknik ve arkadaşlığıyla verdiği manevi destekten ötürü grafik dizaynı ve görsel animasyon uzmanı aynı zamanda iş arkadaşım Halil İbrahim ÇOLAK Beye, SBAG-1001 proje no:115S563 kapsamında maddi destek sağlayan TÜBİTAK'a, proje süreci içerisinde taleplerimizi süratle yanıtlayan SBAG heyetine ve çalışanlarına, kaynakça yazılımında teknik destek veren ''EndNote/Researchsoftware'' ekibinden Kadir DİREN Beye, akademik yönden kendimi geliştirmemde idari desteğini vererek başarmamda büyük katkısı olan Oğuzhan ÖZKAN Beye, bana manevi destek olan ve bitirmemde büyük katkı sağlayan Doç. Dr. Eylem ŞAHİN CANKURTARAN'a, en son olarak da teşekkürlerin az kalacağı, bu hayattaki en büyük şansım olan, hayatta güzel şeylerin de olduğunu bana hatırlatan kızım Fatma Nur ÖZEN'e, bana olan güvenini, desteğini ve sevgisini esirgemeyen canım ailem annem İclal (İnci), babam Hüseyin, kardeşlerim Ali, Ayşe, Ebubekir, Ömer Faruk COŞKUN'a, teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iv

ABSTRACT v

İÇİNDEKİLER vii

ÇİZELGELERİN LİSTESİ xxii

ŞEKİLLERİN LİSTESİ xxx

RESİMLERİN LİSTESİ xliv

SİMGELER VE KISALTMALAR liii

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 21

2.1. Kök Hücre (Stem Cell) 21

2.2. Kemik İliği 24

2.2.1. Hematopoietik kök hücreler 25

2.2.2. Mezenkimal kök hücreler 26

2.2.3. Hematopoietik kök hücre nişi 26

2.3. MKH'nın Elde Edilmesi, Üretilip Saklanması ve Karakterize Edilmesi 30

2.4. MKH'nın Fonksiyonları 31

2.4.1. MKH'nın tümördeki rolü 32

2.4.2. MKH'nın vücut hemostazındaki rolü 32

2.4.3. MKH'nın yara iyileşmesi ve yangıdaki rolü 32

2.5. MKH'dan Salgılanan ve Eksprese Edilen Moleküller 41

2.6. MKH ve İmmün Hücre Etkileşimi 43

2.6.1. MKH ve doğal immün sistem hücreleri arasındaki ilişki 43

2.6.2. Makrofajların MKH'lerin yaşamları üzerine etkileri 47

2.6.3. Mikroçevrenin MKH'ların yaşam ve çoğalmaları üzerine etkisi 47

2.7. MKH Tedavisinin Klinikteki Önemi 47

Sayfa

2.8. Monositler 49
2.9. Makrofaj Fenotipleri 50
2.10. İnsan Monosit Hücre Dizileri 54
2.10.1. U937 54
2.10.2. ML-2 54
2.10.3. HL-60 54
2.10.4. MonoMac6 55
2.10.5. THP-1 55
2.11. Makrofajların Görevleri 57
2.11.1. M1 makrofajların başlıca görevleri 57
2.11.2. M2 makrofajların başlıca görevleri 58
2.12. Makrofaj Plastisitesine Neden Olan Moleküller 59
2.12.1. Makrofajlarının M1 yönünde plastisiteye neden olan moleküller 59
2.12.2. Makrofajlarının M2 yönünde plastisiteye neden olan moleküller 59
2.12.3. Makrofajların M1 ve M2 yönünde plastisitesini sağlayan durumlar 60
2.13. Monosit ve Makrofajların Morfolojik Görüntüsü 61
2.14. Makrofajlardan Salgılanan Moleküller 63
2.15. Hücre Stres Cevabı İle İlgili Moleküller 63
2.16. Solunum Patlaması (Respiratory Burst) 64
2.17. NOS, RNS/RNI (NO, NO2, HNO2), Arg-1 ve L-ornitin 67
2.18. Demir Metabolizması 70
2.19. Fagositoz 71
2.20. MEM'lerle T Lenfosit İlişkisi 73
2.21. MEM'lerle Nötrofiller Arasındaki İlişki 75
2.22. MKH'ların ve MEM'lerin Çoğalması 75
2.23. MEM'lerin Organ Fonksiyonu ve Hayatta Kalmaya Etkisi 76

Sayfa

2.24. MEM ve Doku Tamiri 76

2.25. MEM ve Tümör 77

2.26. İmmün Modülatör Moleküller 77

2.26.1. IDO 77

2.26.2. TSG-6 79

2.26.3. Fas/FasL (CD95) 81

2.26.4. PGE-2 82

2.26.5. MIF (makrofajların migrasyonunu inhibe eden faktör/macrophage migration inhibitory factor) 85

2.26.6. GC/GR (glukokortikoid reseptörü) ve PG (progesteron)/PR (progesteron reseptörü) 87

2.26.7. TGF 89

2.26.8. Sitokinler 92

2.26.9. İFN 93

2.26.10. TNF-alfa 98

2.26.11. İL-1 103

2.26.12. İL-2 108

2.26.13. İL-5 109

2.26.14. İL-6 110

2.26.15. LIF 115

2.26.16. İL-7 116

2.26.17. İL-9 116

2.26.18. İL-4 ve İL-13 117

2.26.19. İL-10/CSIF 120

2.26.20. İL-11 126

2.26.21. İL-12 (İL-p70) 127

2.26.22. İL-15 129

Sayfa

2.26.23. İL-17 130

2.26.24. İL-18 (İFN-gama uyaran faktör/IFN-gama inducing factor) ve İL-18R 132

2.26.25. İL-23 135

2.26.26. İL-27 135

2.26.27. RANKL 136

2.26.28. Kemokinler ve kemokin reseptörleri 136

2.26.29. CCL1 ve CCR8(CDw198) 138

2.26.30. CCL2/MCP-1/JE (farede CCL12/MCP-5) ve CCR2 (CD192) 138

2.26.31. CCL3/MIP-1alfa, CCR1(CD191) ve CCR5(CD195) 142

2.26.32. CCL4/MIP-1beta ve CCR5 (CD195) 144

2.26.33. CCL5/RANTES, CCR1(CD191), CCR3(CD193) ve CCR5(CD195) . 145

2.26.34. CCL7/MCP3, CCR1(CD191), CCR2 (CD192) ve CCR3(CD193), ... 146

2.26.35. CCL8/MCP2 ve CCR2(CD192) 146

2.26.36. CCL9/CCL10/MIP-1gama, CCR1(CD191), CCR3(CD193) ve CCR5(CD195) 146

2.26.37. CCL11/eotaksin-1 (eosinophil chemotactic protein-1), CCL24/eotaksin-2, CCL26/ eotaksin-3 ve CCR3 (CD193) 146

2.26.38. CCL13/MCP-4, CCR1(CD191), CCR2(CD192) ve CCR3(CD193) ... 147

2.26.39. CCL14 /HCC-1 (hemofiltrate CC chemokine-1) ve CCR5 (CD195) .. 147

2.26.40. CCL15/MIP-5/MIP-1delta/leukotactin-1, CCR1 (CD191) ve CCR3 (CD193), ... 147

2.26.41. CCL16/LEC(karaciğerde salgılanan kemokin/liver expressed chemokine)/MTN-1(monotaktin-1), CCR1(CD191), CCR2(CD192), CCR5 (CD195) ve CCR8 148

2.26.42. CCL17/TARC (timus ve aktivasyon düzenlenmiş kemokine/thymus and activation regulated chemokine) ve CCR4 (CD194) 148

Sayfa

2.26.43. CCL18/PARC (akciğer aktivasyon düzenlenmiş kemokine/ pulmonary and activation-regulated chemokine)/DC-CK1(DC kemokini-1)/AMAC-1(alternatif makrofaj aktivasyonu ile ilgili CC kemokini-1/alternative macrophage activation-associated CC chemokine-1)/MIP-4 148

2.26.44. CCL19/MIP-3beta, CCL21/6Ckine/SLC (ikincil lenfoid doku kemokini/ secondary lymphoid tissue chemokine) ve CCR7(CD197) 149

2.26.45. CCL20/MIP-3alfa ve CCR6 150

2.26.46. CCL22/MDC (makrofaj kaynaklı kemokin /macrophage derived chemokine) ve CCR4(CD194) 150

2.26.47. CCL25/TECK (timusta salgılanan kemokin/thymus expressed chemokine)/ CCR9(CDw199) 151

2.26.48. CCL27/ CTACK (Deriden salgılanan T hücrelerini çeken kemokin/cutaneous T cell attracting chemokine) ve CCR10 151

2.26.49. CXCL1/GRO-alfa (büyüme ile alakalı onkogen-alfa/growth related oncogene alfa)/KC (keratinosit kaynaklı kemoatraktan/keratinocyte derived chemoattractant)/NAP-3 (nötrofil aktive eden protein-3/ neurophil activating protein-3)/MSGA-alfa (melanoma büyümesini uyaran-alfa/melanoma growth stimulating activity-alfa), CXCL2/MIP-2/GRO-beta ve CXCL3/MIP-2/GRO3/GRO-gamma 151

2.26.50. CXCL5/ENA-78/LIX 152

2.26.51. CXCL6/GCP-2 (granülosit kemotaktik protein/granulocyte chemotactic protein-2), CXCR1(CD181) ve CXCR2(CD182)..... 153

2.26.52. CXCL7/ NAP-2 ve CXCR7(GPR159) 153

2.26.53. CXCL8/İL-8 ve CXCR7 (GPR159) 154

2.26.54. CXCL9/MIG (İFN-gama tarafından uyarılan monokin/monokine induced by IFN-gama), CXCL10/IP10 (İFN-gama tarafından oluşturulan protein/IFN-gama inducible protein-10) ve CXCR3 (CD183)..... 155

2.26.55. CXCL11/i-TAC (İFN-gama tarafından oluşturulan T lenfosit-alfa kemoatraktan/INF inducible T-cell-alfa chemoattractant)/IP-9 (interferon tarafından oluşturulan protein-9/interferon-inducible protein 9) ve CXCR3 (CD183)..... 156

2.26.56. CXCL12 / SDF-1, CXCR4(CD184) ve CXCR7(GPR159)..... 156

2.26.57. CXCL13/BLC (B lenfosit kemoatraktanı/B lymphocyte chemoattractant) ve CXCR5 (CD185) 157

Sayfa

2.26.58. CXCL16 ve CXCR6(CD186) 157

2.26.59. CX3CL1 /fraktalkin ve CX3CR1 158

2.27. Farklılaşma Faktörleri 158

2.27.1. M-CSF, G-CSF ve GM-CSF 158

2.28. Büyüme Faktörleri 159

2.28.1. IGF-1 159

2.28.2. HGF 160

2.28.3. FGF 161

2.28.4. PDGF 161

2.28.5. VEGF 162

2.28.6. Ang (Angiopoetin) 163

2.28.7. MFG-E8 (süt yağı globülini/milk fat globule)-E8)/laktadherin 164

2.29. HLA/MHC 164

2.29.1. MHC sınıf-I (HLA- A, B, C) 165

2.29.2. Serbest HLA-G ve membrana bağlı HLAG (klasik olmayan HLA sınıf-I molekülü) 166

2.29.3. MHC sınıf-II (HLA-DP, DR, DQ) 168

2.30. Ko-stimülatör ve Ko-inhibitör Moleküller 170

2.30.1. CTLA-4/CD152 170

2.30.2. PD-L1/B7-H1/CD274 ve PD-L2/B7-DC/CD273 171

2.30.3. B7-H4 (B7 homologu-4/B7 homolog-4) 173

2.30.4. Galektin-1, Galektin-3 ve Galektin-9 173

2.30.5. LILRB (lökosit immünglobülin benzeri alt ailesi üyesi-B/leukocyte immunoglobulin like receptor subfamily member-B) ve KIR (öldürücü hücre immünglobülin benzeri reseptör/killer cell ımmunoglobulin-like receptors) 174

2.31. Diğer Reseptörler 174

Sayfa

2.31.1. DECTIN-1 1 (doğal öldürücü hücre reseptör benzeri c-tipi lektin-1/ natural killer (NK)-cell-receptor-like c-type lectin-1) 174

2.31.2. NURR1 175

2.31.3. CD200/CD200R 175

2.31.4. TREM2 176

2.31.5. NOTCH-R 176

2.32. Hücre Yapışmasına Aracılık Eden Moleküller 176

2.33. TLR 179

2.33.1. TLR2 ve ligandları 183

2.33.2. TLR3 (CD283) ve poli(I:C) 185

2.33.3. TLR4 ve LPS 209

2.33.4. TLR9 ve CpG 222

2.34. CD (Farklılaşma Kümesi/Cluster of Differentiation) İşaretleri 223

2.34.1. Ly71/F4/80 224

2.34.2. CD11b 224

2.34.3. CD14 225

2.34.4. CD31/PECAM-1 225

2.34.5. CD33 226

2.34.6. CD36 226

2.34.7. CD40 227

2.34.8. CD45 228

2.34.9. CD64 229

2.34.10. CD80/B7.1 229

2.34.11. CD86 231

2.34.12. CD127/İL-7R 233

2.34.13. CD1 233

2.34.14. CD16/Fc gamma RIII 233

Sayfa

2.34.15. CD23/Fc epsilon RII 234

2.34.16. CD68 235

2.34.17. CD93/C1qRp 235

2.34.18. CD150/SLAM 235

2.34.19. CD163 (hemoglobin çöpçü reseptörü/hemoglobin scavenger receptor) 236

2.34.20. CD192/CCR2 237

2.34.21. CD197/CCR7 237

2.34.22. CD204/SR-A (çöpçü reseptör/scavenger receptor A)/Msr1 238

2.34.23. CD205/DEC-205/lenfosit antijen-75 (lymphocyte antigen-75) 238

2.34.24. CD206/mannoz reseptörü 239

2.34.25. CD209/DC-SIGN 241

2.34.26. CD226/DNAM-1 (DNAX yardımcı molekülü/DNAX accessory molecule-1) PTA1 (trombosit ve T hücre aktivasyon antijeni/ platelet and T cell activation antigen) 243

3. ARAÇ, GEREÇ VE YÖNTEM 245

3.1. Araç ve Gereçler 245

3.1.1. Cihazlar 245

3.1.2. Sarf Malzeme 246

3.1.3. Kimyasallar 247

3.1.4. Kitler 248

3.2. Yöntem 248

3.2.1. Kemik iliği vericilerinin seçimi 249

3.2.2. Kİ örneklerinin alınması 249

3.2.3. İnsan Kİ örneklerinden MNC (tek çekirdekli hücreler/mononuclear cell) eldesi 250

3.2.4. MKH gelişim ve dondurma mediumlarının hazırlanması 250

3.2.5. Havuz MKH oluşturma protokolü 252

Sayfa

3.2.6. MKH'ların in vitro kültüre ekilmesi ve çoğaltılması 252

3.2.7. Tripsinizasyon 253

3.2.8. MKH ve MNH'ları dondurma ve çözme 253

3.2.9. Akım sitometri ile immün fenotipik olarak incelenmesi 254

3.2.10. MKH'ların analizi 254

3.2.11. Tripan mavisi almama testi (trypan blue exclusion test) 258

3.2.12. THP-1 kültürleri 259

3.2.13. Ko-kültür çalışmaları 261

3.2.14. Ko-kültür sonrası hücrelerin akım sitometri ile immün fenotipik olarak incelenmesi 271

3.2.15. Hücrelerin immünolojik salgılarının araştırılması 272

3.2.16. BrdU ve akım sitometri ile çoğalmanın test edilmesi 276

3.2.17. Fagositoz deneyi 280

4. BULGULAR 283

4.1. Kemik İliği Vericileri 283

4.2. Kemik İliği Örneklerinin Alınması 283

4.3. MKH'ların Analiz Edilmesi 283

4.3.1. MKH'ların morfolojik olarak analiz edilmesi ve histokimyasal mikroskobik sonuçlar 283

4.3.2. İmmün fenotiplendirme ile yüzey moleküllerinin analiz sonuçları 284

4.3.3. MKH'lerin farklılaşma özelliklerinin gösterilmesi 285

4.4. THP-1 Hücre Hattına Ait Hücrelerin PMA İle Farklılaştırma Sonuçları 296

4.5. PMA/THP-1 ve MKH'ların Hematopoietik ve Bağ dokusu Belirteçleri Açısından karşılaştırılması 299

4.6. THP-1, PMA/THP-1 ve MKH'ların Prime Öncesi ve Sonrası İmmün Fenotipik Olarak Değerlendirilme Sonuçları 303

4.7. Prime PMA/THP-1 ve Prime MKH'ların Transvel Ko-kültürü Sonrası İmmün Fenotipik Olarak Değerlendirilme Sonuçları 326

Sayfa

4.7.1. Prime PMA/THP-1 ve prime MKH'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubu olan her iki hücre grubunun da uyarımsız olduğu örnekte insertteki MKH'ların analiz sonuçları 326

4.7.2. Poli(I:C) ile prime MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların analiz sonuçları 328

4.7.3. İFN-gamma ve düşük doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların analiz sonuçları 330

4.7.4. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların analiz sonuçları 333

4.7.5. TNF-alfa ile prime MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların analiz sonuçları 335

4.7.6. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların analiz sonuçları 338

4.7.7. Prime PMA/THP-1 ve prime MKH'ların transvel ko-kültürünün kontrol grubundaki PMA/THP-1'lerin analiz sonuçları 340

4.7.8. Poli(I:C) ile prime MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin analiz sonuçları 343

4.7.9. İFN-gama ve düşük doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin analiz sonuçları 346

4.7.10. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin analiz sonuçları 349

4.7.11. TNF-alfa ile prime MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin analiz sonuçları 352

4.7.12. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin analiz sonuçları 355

4.8. Uyarımsız MKH'lerin ve Prime PMA/THP-1'lerin Transvel Kültürü Sonrası İmmün Fenotipik Olarak Değerlendirilme Sonuçları 358

4.8.1. Uyarımsız MKH'lerin ve prime PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubundaki insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçları 358

4.8.2. Uyarımsız MKH ve poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçları 360

Sayfa

4.8.3. Uyarımsız MKH ve İFN-gamma ve düşük doz LPS ile prime PMA/ THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçları 363

4.8.4. Uyarımsız MKH ve İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçları 365

4.8.5. Uyarımsız MKH ve TNF-alfa ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçları 368

4.8.6. Uyarımsız MKH ve yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçları 370

4.8.7. Uyarımsız MKH'lerin ve prime PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubundaki tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçları 373

4.8.8. Uyarımsız MKH ve poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçları 375

4.8.9. Uyarımsız MKH ve İFN-gama ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçları 378

4.8.10. Uyarımsız MKH ve İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçları 381

4.8.11. Uyarımsız MKH ve TNF-alfa ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçları 384

4.8.12. Uyarımsız MKH ve yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçları 387

4.9. Prime MKH'lerin ve Uyarımsız PMA/THP-1'lerin Transvel Kültürü Sonrası İmmün Fenotipik Olarak Değerlendirilme Sonuçları 390

4.9.1. Prime MKH'lerin ve uyarımsız PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubundaki insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçları 390

4.9.2. Poli(I:C) ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçları 392

Sayfa

4.9.3. İFN-gamma ve düşük doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçları 395

4.9.4. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçları 398

4.9.5. TNF-alfa ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçları 400

4.9.6. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçları 403

4.9.7. Prime MKH'lerin ve uyarımsız PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubundaki tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçları 405

4.9.8. Prime MKH'lerin ve uyarımsız PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubundaki tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçları 405

4.9.9. Poli(I:C) ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçları..... 408

4.9.10. İFN-gamma ve düşük doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçları..... 410

4.9.11. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçları..... 413

4.9.12. TNF-alfa ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçları 416

4.9.13. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçları 419

4.9.14. Uyarımsız MKH süpernatan ile uyarımsız PMA/THP-1'lerin kültürü .. 421

4.10. MKH'lerin ve PMA/THP-1'lerin ELİSA ile Sitokin ve Kemokin Ölçümleri.. 424

4.10.1. Ko-kültürde İL-5 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 437

Sayfa

4.10.2. Ko-kültürde İL-4 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 437

4.10.3. Ko-kültürde İL-10 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 438

4.10.4. Ko-kültürde İL-13 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 439

4.10.5. Ko-kültürde TGF-beta salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 440

4.10.6. Ko-kültürde CCL-22 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 440

4.10.7. Ko-kültürde İL-1beta salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 441

4.10.8. Ko-kültürde İL-6 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 441

4.10.9. Ko-kültürde TNF-alfa salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 442

4.10.10. Ko-kültürde İL-12 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 443

4.10.11. Ko-kültürde IDO salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 444

4.10.12. Ko-kültürde İL-15 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 444

4.10.13. Ko-kültürde İL-17A salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 445

4.10.14. Ko-kültürde İFN-gama salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 446

4.10.15. Ko-kültürde MIP-1alfa salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 447

4.10.16. Ko-kültürde MIP-1beta salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 447

4.10.17. Ko-kültürde MCP-1 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 448

4.10.18. Poli(I:C) ile prime ko-kültürlerinin ELISA ile analiz sonucu 452

4.10.19. İFN-gamma+düşük doz LPS ile prime ko-kültürlerinin ELISA ile analiz sonucu 459

4.10.20. İL-4+İL-10+İL-13 ile prime ko-kültürlerinin ELISA ile analiz sonucu 466

4.10.21. TNF-alfa ile prime ko-kültürlerin ELISA ile analiz sonucu 473

4.10.22. Yüksek doz LPS ile prime ko-kültürlerin ELISA ile analiz sonucu 480

4.11. BrdU ve 7AAD Kullanılarak Yapılan Hücre Çoğalması Testinin Akım Sitometri ile Analiz Sonuçları 487

4.12. MKH'ların PMA/THP-1'lerin Fagositoz Kapasitesi Üzerine Etkileri 494

5. TARTIŞMA 499

Sayfa

5.1. Poli (I:C) 501

6. SONUÇ 551

KAYNAKLAR 561

EKLER 631

EK-1. MKH'lardan salgılanan moleküller 632

EK-2. MKH'lardan eksprese edilen moleküller 635

EK-3. MKH'ların kısa ve uzun süreli çeşitli dozlarda POLİ(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin yüzey molekül üretimi üzerine etkisi 637

EK-4. MKH'ların kısa süreli çeşitli dozlarda poli(ı:c) ile TLR3 üzerinden prime edildiğinde üretilen immün moleküller 638

EK-5. MKH'ların kısa süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisinin özeti 643

EK-6. MKH'ların uzun süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisi 645

EK-7. MKH'ların uzun süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisinin özeti 651

EK-8. Makrofajlardan salgılanan moleküller 654

EK-9. Makrofajlardan eksprese edilen moleküller 657

EK-10. Makrofajların Poli(I:C) İle TLR3 üzerinden uzun ve kısa süreli çeşitli dozlarda prime edilmesinin yüzey molekül üretimi üzerine etkisi 659

EK-11. Makrofajların kısa süreli çeşitli dozlarda Poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisi 660

EK-12. Makrofajların poli(I:C) ile kısa süreli çeşitli dozlarda TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisinin özeti 662

EK-13. Makrofajların uzun süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisi 664

EK-14. Makrofajların poli(I:C) ile uzun süreli çeşitli dozlarda TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisi 668

EK-15. THP-1 yüzey belirteçleri 670

EK-16. Uyarımsız MKH ve makrofaj ko-kültür sonuçları 671

EK-17. MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi ... 672

Sayfa

EK-18. Etik kurul kararı 697

EK-19. Etik kurul'un revizyon kararı 698

EK-20. Biobanka onam kararı 699

EK-21. Biobanka tıbbi onam formu..... 700

ÖZGEÇMİŞ 701

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 2.1. ISCT'nın 2006 yılında belirlediği MKH'ların tanımlama kıstaslarının özeti 31

Çizelge 2.2. THP-1 monositleri ile insan PBMC-monositlerinin kullanıldığı çalışmalarda verdikleri cevapların karşılaştırılması W. Chanput ve diğerleri (2014) 57

Çizelge 2.3. Farklılaşmış THP-1 makrofajlarda tespit edilen makrofaj işaretleri W. Chanput ve diğerleri (2014) 61

Çizelge 2.4. Sitokinlerin sınıflandırması Turner ve diğerleri (2014) 93

Çizelge 2.5. Kemokin ve kemokin reseptörlerinin gruplandırılması Tarique ve diğerleri (2015) 137

Çizelge 2.6. Fare ve insan makrofajların yüzey belirteçlerine ve kemokin reseptörlerine göre sınıflandırması Chao Shi ve diğerleri (2011) 139

Çizelge 2. 7.MKH'ların LPS/TLR4 üzerinden prime edilmesinin etkisi (DelaRosa ve diğerleri, 2010) 211

Çizelge 2.8. Prime MKH'lar tarafından doğal immün sistemin düzenlenmesi (Saparov ve diğerleri, 2016) 212

Çizelge 2.9. İnsan ve fare monositlerinin alt grupları Italiani ve diğerleri (2014) 234

Çizelge 3.1. Kullanılan cihazların listesi 245

Çizelge 3.2. Kullanılan sarf malzemenin listesi 246

Çizelge 3.3. Kullanılan kimyasalların listesi 247

Çizelge 3.4. Kullanılan kitlerin listesi 248

Çizelge 3.5. MKH'ların immünfenotiplendirme ile yüzey molekül analizinde kullanılan antikorlar ve konjugeleri 255

Çizelge 3.6. Adipojenik farklılaşma medyumunun içinde bulunan kimyasalların listesi 257

Çizelge 3.7. Osteojenik farklılaşma medyumunun içinde bulunan kimyasalların listesi 258

Çizelge 3.8. Prime solüsyonunu hazırlamak için kullanılan moleküllerin listesi 262

Çizelge 3.9. Deney gruplarında bulunan örneklerin listesi 263

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 3.10. Direkt ko-kültürün 1.grubu olan prime MKH ile prime PMA/THP-1 hücrelerinin ko-kültürünün deney süreci 264

Çizelge 3.11. Direkt ko-kültürün 2.grubu olan uyarımsız MKH ile prime PMA/THP-1 hücrelerinin ko-kültürünün deney süreci 265

Çizelge 3.12. Direkt ko-kültürün 3. grubu olan prime MKH ile uyarımsız PMA/THP-1 hücrelerinin ko-kültürünün deney süreci 266

Çizelge 3.13. Transvel ko-kültürün 1.grubu olan prime MKH ile prime PMA/THP-1 hücrelerinin ko-kültürünün deney süreci 267

Çizelge 3.14. Transvel ko-kültürün 2. grubu olan uyarımsız MKH ile prime PMA/THP-1 hücrelerinin ko-kültürünün deney süreci. 269

Çizelge 3.15. Transvel ko-kültürün 3.grubu olan prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1'lerin ko-kültürünün deney süreci..... 270

Çizelge 3.16. Uyarımsız MKH süpernatanı ile uyarımsız PMA/THP-1'lerin kültürünün deney süreci. 271

Çizelge 3.17. Deney gruplarının listesi..... 272

Çizelge 3.18. BrdU ve akım sitometri ile çoğalmasının test edilmesi deneyinin deney planı 279

Çizelge 3.19. Fagositoz deneyinin deney süreci..... 281

Çizelge 4. 1. Üç vericiye ait osteojenik dokuya farklılaştırılması gerçekleşen MKH'ları içeren kuyucuğun içerisinden toplanan IGEPAL/isopropanol boya karışımının mikroplate de okutulan değerlerin analiz sonuçlarının tablosu..... 294

Çizelge 4.2. Üç donöre ait osteojenik farklılaştırılması gerçekleşen MKH'ları içeren kuyucuğun içeriğinin Quantichrom Calcium Assay Kiti (Bioassay Systems, ABD, DICA-500) prosedürüne göre işlem yapıldıktan sonra mikroplate okuyucuda okutulan değerlerin analiz sonu..... 295

Çizelge 4.3. THP-1, PMA/THP-1 ve MKH hücrelerin bağ dokusu ve hematopoietik belirteçler açısından akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu..... 303

Çizelge 4.4. THP-1, PMA/THP-1 ve MKH'ların prime öncesi ve PMA/THP-1 ve MKH'ların prime sonrasında immün fenotiplendirmesinde kullanılan antikor paneli ve konjugeleri 304

Çizelge 4.5. THP-1, PMA/THP-1 ve MKH'ların prime öncesi akım sitometri ile analiz sonuçlarının özet tablosu 306

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 4.6. DMF-10 eklenen, poli(I:C), İFN-γ ve düşük doz LPS, İL-4, İL-10 ve İL-13, TNF-α ve yüksek doz LPS ile 24 saat prime edilen MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının özet tablosu 311

Çizelge 4.7. DMF-10 eklenen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu 314

Çizelge 4.8. Poli(I:C) ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu 316

Çizelge 4.9. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime edilen PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu 318

Çizelge 4.10. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının özet tablosu 320

Çizelge 4.11. TNF-α ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu 322

Çizelge 4.12. Yüksek doz LPS ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu 324

Çizelge 4.13. PMA/THP-1'lerin beş farklı kondisyonda 24 saatlik prime edilmesi sonucunda yüzey molekül ekspresyonun akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu 325

Çizelge 4.14. Her iki grubunda uyarımsız olduğu transvel ko-kültürü grubunda MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu 327

Çizelge 4.15. Poli(I:C) ile her iki grubun prime edildiği transvel ko-kültürü sonrasında MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu 329

Çizelge 4.16. MKH ve PMA/THP-1'in İFN-γ ve düşük doz LPS prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu 332

Çizelge 4.17. MKH ve PMA/THP-1'lerin İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu 334

Çizelge 4.18. MKH ve PMA/THP-1'lerin TNF-α ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonuçlarının tablosu 337

Çizelge 4.19. MKH ve PMA/THP-1'lerin yüksek doz LPS ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu 339

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 4.20. Kontrol grubu olan PMA/THP-1 ve MKH'nın uyarımsız olduğu transvel ko-kültürü sonrası, PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu 342

Çizelge 4.21. MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri analiz sonucunun tablosu 345

Çizelge 4.22. MKH ve PMA/THP-1'lerin İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu 348

Çizelge 4.23. MKH ve PMA/THP-1'lerin İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu 351

Çizelge 4.24. MKH ve PMA/THP-1'lerin TNF-α ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu 354

Çizelge 4.25. MKH ve PMA/THP-1'lerin yüksek doz LPS ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu 357

Çizelge 4.26. Uyarımsız MKH'lerin ve prime PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubu olan iki hücre grubunun da uyarımsız olduğu örnekte MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu 359

Çizelge 4.27. Uyarımsız MKH ve poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu..... 362

Çizelge 4.28. Uyarımsız MKH ve İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu..... 364

Çizelge 4.29. Uyarımsız MKH ve İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu..... 367

Çizelge 4.30. Uyarımsız MKH ve TNF-α ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu..... 369

Çizelge 4.31. Uyarımsız MKH ve yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu 372

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 4.32. Uyarımsız MKH'lerin ve prime PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubu olan iki grubunda uyarımsız olduğu örnekteki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu 374

Çizelge 4.33. Uyarımsız MKH ve poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu..... 377

Çizelge 4.34. Uyarımsız MKH ve İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu 380

Çizelge 4.35. Uyarımsız MKH ve İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu 383

Çizelge 4.36. Uyarımsız MKH ve TNF-α ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu..... 386

Çizelge 4.37. Uyarımsız MKH ve yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu 389

Çizelge 4.38. Prime MKH'lerin ve uyarımsız PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubunu oluşturan her iki hücre grubunun da uyarımsız olduğu örnekte MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu..... 391

Çizelge 4.39. Poli(I:C) ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu 394

Çizelge 4.40. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu..... 397

Çizelge 4.41. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu..... 399

Çizelge 4.42. TNF-α ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu..... 402

Çizelge 4.43. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu..... 404

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 4.44. Prime MKH'lerin ve uyarımsız PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubu olan iki grubunda uyarımsız olduğu örnekteki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu 407

Çizelge 4.45. Poli(I:C) ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu 409

Çizelge 4.46. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu 412

Çizelge 4.47. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu 415

Çizelge 4.48. TNF-α ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu 418

Çizelge 4.49. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu 420

Çizelge 4.50. Uyarımsız MKH ile uyarımsız PMA/THP-1'in kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu 423

Çizelge 4.51. Prime moleküllerinin eklendiği kültür medyumunun analiz sonuçları..... 432

Çizelge 4.52. Hem MKH'ların ve hem PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürlerde çeşitli uyaranlarla prime edilmesi sonrası ELISA sonuçları (pg/mL, Ort.+SE) 433

Çizelge 4. 53. Hem MKH'ların ve hem PMA/THP-1'lerin direkt ko-kültürlerde çeşitli uyaranlarla prime edilmesi sonrası ELISA sonuçları (pg/mL, Ort.+SE) 434

Çizelge 4.54. MKH'ların tek başına farklı uyaranlarla prime edilmesi sonrası ELISA sonuçları (pg/mL, Ort.+SE) 435

Çizelge 4.55. Yalnızca PMA/THP-1'lerin farklı uyaranlarla prime edilmesi sonrası ELİSA sonuçları (pg/mL, Ort.+SE) 436

Çizelge 4.56. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde sitokin salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun değerlendirmesi 451

Çizelge 4.57. Poli(I:C) ile prime sonrası ko-kültürlerde sitokin düzeyi değişimi 458

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 4.58. İFN-γ+düşük doz LPS ile prime sonrası ko-kültürlerde sitokin düzeyi değişimi 465

Çizelge 4.59. İL-4+İL-10+İL-13 ile prime sonrası ko-kültürlerde sitokin düzeyi değişimi 472

Çizelge 4. 60. TNF-α ile prime sonrası ko-kültürlerde sitokin düzeyi değişimi 479

Çizelge 4.61. Yüksek doz LPS ile prime sonrası ko-kültürlerde sitokin düzeyi değişimi 486

Çizelge 4.62. Prime PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılmış MKH'ların 7AAD ve anti-BrdU boyaması sonucu hücre döngüsünün S fazında olan hücrelerin akım sitometri ile tespit edilen oranı tablo halinde verilmiştir 493

Çizelge 4.63. Prime MKH'ların süpernatanı ile aktive edilen PMA/THP-1'lerin AF-488 konjuge E Koli biopartiküllerini fagositoz kapasitesinin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu 496

Çizelge 5. 1. Poli(I:C) ile prime edilen MKH'ların fare yara modelinde ve kültür ortamında makrofajlarla karşılıklı etkileşmesinin MKH ve makrofaj yüzey molekül ile makrofajlardaki arginaz üretimi üzerine etkisi 502

Çizelge 5 2. Çalışmamızdaki uyarımsız ve poli(I:C) ile prime tek başına ve ko-kültür kontrol gruplarında MKH yüzey belirteçlerinin akım sitometri ile analiz sonuçlarının literatürdeki analiz bulgusuyla karşılaştırılması..... 509

Çizelge 5.3. Viral yangı ortamında tek başına TLR3 üzerinden uyarılan makrofajların ve viral yangı ortamında MKH'ların salgıladıkları faktörlerden etkilenen makrofajların yüzey molekül ekspresyonundaki değişikliklerin özeti-I 519

Çizelge 5. 4. Viral yangı ortamında tek başına TLR3 üzerinden uyarılan makrofajların ve viral yangı ortamında MKH'ların salgıladıkları faktörlerden etkilenen makrofajların yüzey molekül ekspresyonundaki değişikliklerin özeti-II 520

Çizelge 5. 5. MKH'ların poli(I:C) ile uzun ve kısa süreli çeşitli dozlarda prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisinin karşılaştırması..... 522

Çizelge 5. 6. Makrofajların uzun ve kısa süreli TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisinin karşılaştırılması 524

Çizelge 5. 7. Poli(I:C) ile prime edilen MKH'ların kültür ortamında fare kardiyomiyopati modelinde makrofajlarla karşılıklı etkileşmesinin MKH ve makrofaj immün molekül üretimi üzerine etkisi. 525

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 5.8. Literatürde ve bizim yaptığımız uyarımsız ve poli(I:C) ile prime MKH ve PMA/THP-1 lerin tek başına ve ko-kültürlerinin immün molekül üretim sonuçlarının karşılaştırılması 548

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.1. Yara iyileşmesine verilen fizyolojik tepkinin üç safhasında MKH tedavisinin etkisinin yangı seviyesi ile ilişkisi (Y. Wang ve diğerleri, 2014) 40

Şekil 3.1. Hücre döngüsünün BrdU ve 7AAD ile akım sitometride değerlendirilmesi. BDPharmingen (2017) 278

Şekil 4.1. MKH'larda immünfenotiplendirme ile bağ dokusu belirteçlerinin floresan intensity görüntüleri 284

Şekil 4.2. MKH'larda immünfenotiplendirme ile hematopoietik belirteçlerin floresan intensity görüntüleri 285

Şekil 4.3. MKH'larda immünfenotiplendirme ile bağ dokusu ve hematopoietik yüzey molekül analizi sonuçları..... 285

Şekil 4.4. Üç vericiye ait adipojenik dokuya farklılaştırılması gerçekleşen MKH'ları içeren kuyucuğun içerisinden toplanan IGEPAL/isopropanol-boya karışımının mikroplatede okutulan değerlerin bar grafiği 294

Şekil 4.5. Üç verici ait osteojenik farklılaştırılması gerçekleşen MKH'ları içeren kuyucuğun içeriğinin ''Quantichrom Calcium Assay Kiti'' (Bioassay Systems, ABD, DICA-500) prosedürüne göre işlem yapıldıktan sonra mikroplate okuyucuda okutulan değerlerin analiz sonu..... 295

Şekil 4.6. THP-1'lerin bağ dokusu belirteçleri açısından akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 300

Şekil 4.7. THP-1'lerin hematopoietik belirteçler açısından akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 300

Şekil 4.8. PMA/THP-1'lerin bağ dokusu belirteçleri açısından akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 301

Şekil 4.9. PMA/THP-1'lerin hematopoietik belirteçler açısından akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 301

Şekil 4.10. MKH'lerin bağ dokusu belirteçleri açısından akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 302

Şekil 4.11. MKH'lerin hematopoietik belirteçler açısından akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 302

Şekil 4.12. THP-1, PMA/THP-1 ve MKH hücrelerin bağ dokusu ve hematopoietik belirteçler açısından akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 303

Şekil 4.13. THP-1'lerin prime öncesi akım sitometri ile analiz sonuçlarının dot plot görüntüsü..... 305

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.14. PMA/THP-1'lerin prime öncesi akım sitometri ile analiz sonuçlarının dot plot görüntüsü 305

Şekil 4.15. MKH'ların prime öncesi akım sitometri ile analiz sonuçlarının dot plot görüntüsü..... 306

Şekil 4.16. THP-1, PMA/THP-1 ve MKH'ların prime öncesi akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği..... 307

Şekil 4.17. Sadece DMF-10 eklenen MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü..... 308

Şekil 4.18. Poli(I:C) ile prime edilen MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü..... 309

Şekil 4.19. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime edilen MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 309

Şekil 4.20. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edilen MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü..... 310

Şekil 4.21. TNF-α ile prime edilen MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü..... 310

Şekil 4.22. Yüksek doz LPS ile prime edilen MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü..... 311

Şekil 4.23. DMF-10 eklenen, poli(I:C), İFN-γ ve düşük doz LPS, İL-4, İL-10 ve İL-13, TNF-α ve yüksek doz LPS ile 24 saat prime edilen MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 312

Şekil 4.24. MKH'ların beş farklı kondisyonda 24 saatlik prime edilmesi sonucunda İL-18R ekspresyonun akım sitometri ile analiz sonucunun bar grafiği 312

Şekil 4.25. MKH'ların beş farklı kondisyonda 24 saatlik prime edilmesi sonucunda CD192(CCR2) ekspresyonun akım sitometri ile analiz sonucunun bar grafiği..... 312

Şekil 4.26. DMF-10 eklenen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü..... 313

Şekil 4. 7. DMF-10 eklenen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği..... 314

Şekil 4. 8. Poli(I:C) ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü..... 315

Şekil 4. 9. Poli(I:C) ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 316

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.30. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 317

Şekil 4.31. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği..... 318

Şekil 4.32. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü..... 319

Şekil 4.33. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği..... 320

Şekil 4.34. TNF-α ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 321

Şekil 4.35. TNF-α ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 322

Şekil 4.36. Yüksek doz LPS ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü..... 323

Şekil 4.37. Yüksek doz LPS ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği..... 324

Şekil 4.38. PMA/THP-1'lerin beş farklı kondisyonda prime edilmesi sonucunda yüzey molekül ekspresyonun akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği..... 325

Şekil 4.39. Her iki grubunda uyarımsız olduğu transvel ko-kültürü grubunda MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun bar grafiği..... 327

Şekil 4. 40. Poli(I:C) ile her iki grubun prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonuçlarının histogram görüntüsü 329

Şekil 4.41. Poli(I:C) ile her iki grubun prime edildiği transvel ko-kültürü grubunda MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun bar grafiği..... 330

Şekil 4.42. MKH ve PMA/THP-1'in İFN-γ ve düşük doz LPS prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonuçlarının histogram görüntüsü..... 331

Şekil 4.43. MKH ve PMA/THP-1'in İFN–γ ve düşük doz LPS prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun bar grafiği..... 332

Şekil 4.44. MKH ve PMA/THP-1'lerin İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun sonuçlarının histogram görüntüsü 334

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.45. MKH ve PMA/THP-1'lerin İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun bar grafiği 335

Şekil 4.46. MKH ve PMA/THP-1'lerin TNF- ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonuçlarının histogram görüntüsü 336

Şekil 4.47. MKH ve PMA/THP-1'lerin TNF-α ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun bar grafiği..... 337

Şekil 4.48. MKH ve PMA/THP-1'lerin yüksek doz LPS ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonuçlarının histogram görüntüsü 339

Şekil 4.49. MKH ve PMA/THP-1'lerin yüksek doz LPS ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun bar grafiği 340

Şekil 4.50. Kontrol grubu olan PMA/THP-1 ve MKH'nın uyarımsız olduğu transvel ko-kültürü sonrası, PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonuçlarının histogram görüntüsü 341

Şekil 4.51. Kontrol grubu olan PMA/THP-1 ve MKH'nın uyarımsız olduğu transvel ko-kültürü sonrası, PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun bar grafiği 342

Şekil 4.52. MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 344

Şekil 4.53. MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri analiz sonucunun bar grafiği 345

Şekil 4.54. MKH ve PMA/THP-1'lerin İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonuçlarının histogram görüntüsü 347

Şekil 4.55. MKH ve PMA/THP-1'lerin İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun bar grafiği 348

Şekil 4.56. MKH ve PMA/THP-1'lerin İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonuçlarının histogram görüntüsü 350

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.57. MKH ve PMA/THP-1'lerin İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun bar grafiği 351

Şekil 4.58. MKH ve PMA/THP-1'lerin TNF-α ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun sonuçlarının histogram görüntüsü 353

Şekil 4.59. MKH ve PMA/THP-1'lerin TNF-α ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun bar grafiği 354

Şekil 4.60. MKH ve PMA/THP-1'lerin yüksek doz LPS ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonuçlarının histogram görüntüsü 356

Şekil 4.61. MKH ve PMA/THP-1'lerin yüksek doz LPS ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun bar grafiği 357

Şekil 4.62. Uyarımsız MKH'ların ve prime PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubu olan iki hücre grubunun da uyarımsız olduğu örnekte MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 359

Şekil 4.63. Uyarımsız MKH'lerin ve prime PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubu olan iki hücre grubunun da uyarımsız olduğu örnekte MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 360

Şekil 4.64. Uyarımsız MKH ve poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 361

Şekil 4.65. Uyarımsız MKH ve poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 362

Şekil 4.66. Uyarımsız MKH ve İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 364

Şekil 4.67. Uyarımsız MKH ve İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 365

Şekil 4.68. Uyarımsız MKH ve İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 366

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.69. Uyarımsız MKH ve İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 367

Şekil 4.70. Uyarımsız MKH ve TNF-α ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 369

Şekil 4.71. Uyarımsız MKH ve TNF-α ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 370

Şekil 4.72. Uyarımsız MKH ve yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 371

Şekil 4.73. Uyarımsız MKH ve yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 372

Şekil 4.74. Uyarımsız MKH'lerin ve prime PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubu olan iki grubunda uyarımsız olduğu örnekteki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 374

Şekil 4.75. Uyarımsız MKH'lerin ve prime PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubu olan iki grubunda uyarımsız olduğu örnekteki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 375

Şekil 4.76. Uyarımsız MKH ve poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 377

Şekil 4.77. Uyarımsız MKH ve poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 378

Şekil 4.78. Uyarımsız MKH ve İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 380

Şekil 4.79. Uyarımsız MKH ve İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 381

Şekil 4.80. Uyarımsız MKH ve İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 383

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.81. Uyarımsız MKH ve İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 384

Şekil 4.82. Uyarımsız MKH ve TNF-α ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 386

Şekil 4.83. Uyarımsız MKH ve TNF-α ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 387

Şekil 4.84. Uyarımsız MKH ve yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 388

Şekil 4.85. Uyarımsız MKH ve yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 389

Şekil 4.86. Prime MKH'lerin ve uyarımsız PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubunu oluşturan her iki hücre grubunun da uyarımsız olduğu örnekte MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 391

Şekil 4.87. Prime MKH'lerin ve uyarımsız PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubunu oluşturan her iki hücre grubunun da uyarımsız olduğu örnekte MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 392

Şekil 4.88. Poli(I:C) ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 393

Şekil 4.89. Poli(I:C) ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 394

Şekil 4.90. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının dot plot görüntüsü 396

Şekil 4.91. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 397

Şekil 4.92. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının sonuçlarının histogram görüntüsü 399

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.93. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 400

Şekil 4.94. TNF-α ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 401

Şekil 4.95. TNF-α ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 402

Şekil 4.96. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 404

Şekil 4.97. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 405

Şekil 4.98. Prime MKH'lerin ve uyarımsız PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubu olan iki grubunda uyarımsız olduğu örnekteki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 406

Şekil 4.99. Prime MKH'lerin ve uyarımsız PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubu olan iki grubunda uyarımsız olduğu örnekteki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 407

Şekil 4. 100. Poli(I:C) ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 409

Şekil 4.101. Poli(I:C) ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 410

Şekil 4.102. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının dot plot görüntüsü 411

Şekil 4.103. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 412

Şekil 4. 104. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 414

Şekil **Sayfa**

Şekil 4. 105. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği-1 415

Şekil 4.106. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği-2 416

Şekil 4.107. TNF-α ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 417

Şekil 4.108. TNF-α ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 418

Şekil 4.109. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 420

Şekil 4.110. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 421

Şekil 4.111. Tek başına uyarımsız PMA/THP-1'in DMF-10 ile kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 422

Şekil 4.112. Uyarımsız MKH ile uyarımsız PMA/THP-1'in kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü 423

Şekil 4.113. Uyarımsız MKH ile uyarımsız PMA/THP-1'in kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği 424

Şekil 4.114. Birinci ve ikinci plaktaki MIP-1β'nın standart eğrisi 425

Şekil 4.115. Birinci ve ikinci plaktaki İL-6'nın standart eğrisi 425

Şekil 4.116. Birinci ve ikinci plaktaki İFN-γ'nın standart eğrisi 425

Şekil 4.117. Birinci ve ikinci plaktaki İL-1ra'nın standart eğrisi 425

Şekil 4.118. Birinci ve ikinci plaktaki İL-5'in standart eğrisi 426

Şekil 4.119. Birinci ve ikinci plaktaki GM-CSF'in standart eğrisi 426

Şekil 4.120. Birinci ve ikinci plaktaki TNF-α'nın standart eğrisi 426

Şekil 4.121. Birinci ve ikinci plaktaki RANTES'in standart eğrisi 426

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.122. Birinci ve ikinci plaktaki İL-2'nin standart eğrisi 427

Şekil 4.123. Birinci ve ikinci plaktaki İL-1β'nın standart eğrisi 427

Şekil 4.124. Birinci ve ikinci plaktaki eotaksin'in standart eğrisi 427

Şekil 4.125. Birinci ve ikinci plaktaki FGF'ün standart eğrisi 427

Şekil 4.126. Birinci ve ikinci plaktaki VEGF'ün standart eğrisi 428

Şekil 4.127. Birinci ve ikinci plaktaki PDGF'in standart eğrisi 428

Şekil 4.128. Birinci ve ikinci plaktaki IP-10'nun standart eğrisi..... 428

Şekil 4.129. Birinci ve ikinci plaktaki İL-13'ün standart eğrisi 428

Şekil 4.130. Birinci ve ikinci plaktaki İL-4'ün standart eğrisi 429

Şekil 4.131. Birinci ve ikinci plaktaki MCP-1'in standart eğrisi..... 429

Şekil 4.132. Birinci ve ikinci plaktaki İL-8'in standart eğrisi 429

Şekil 4.133. Birinci ve ikinci plaktaki MIP-1α'nın standart eğrisi 429

Şekil 4.134. Birinci ve ikinci plaktaki İL-10'nun standart eğrisi 430

Şekil 4.135. Birinci ve ikinci plaktaki G-CSF'in standart eğrisi 430

Şekil 4.136. Birinci ve ikinci plaktaki İL-15'in standart eğrisi 430

Şekil 4.137. Birinci ve ikinci plaktaki İL-7'nin standart eğrisi 430

Şekil 4.138. Birinci ve ikinci plaktaki İL-12p70'in standart eğrisi 431

Şekil 4.139. Birinci ve ikinci plaktaki İL-17A'nın standart eğrisi 431

Şekil 4.140. Birinci ve ikinci plaktaki İL-9'un standart eğrisi 431

Şekil 4.141. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde İL-5 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği..... 437

Şekil 4.142. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde İL-4 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği..... 438

Şekil 4. 143. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde İL-10 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği..... 439

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.144. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde İL-13 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği..... 439

Şekil 4.145. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde TGF-β salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği..... 440

Şekil 4.146. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde CCL22 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği..... 441

Şekil 4.147. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde İL-1β salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği..... 441

Şekil 4.148. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde İL-6 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği..... 442

Şekil 4.149. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde İL-6 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği..... 443

Şekil 4.150. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde İL-12 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği..... 443

Şekil 4.151. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde IDO salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği..... 444

Şekil 4.152. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde İL-15 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği..... 445

Şekil 4.153.MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde İL-17A salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği..... 446

Şekil 4.154. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde İFN-γ salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği..... 446

Şekil 4.155. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde MIP-1α salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği..... 447

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.156. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde MIP-1β salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği 448

Şekil 4.157. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde MCP-1 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği 449

Şekil 4.158. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde CXCL10 (IP10) salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği 450

Şekil 4.159. Poli(I:C) ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde İL-5, İL-4, İL-10, İL-13 ve TGF–β salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 453

Şekil 4.160. Poli(I:C) ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde CCL22, İL-1β, İL-6, TNF-α ve İL-12 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 455

Şekil 4.161. Poli(I:C) ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde IDO, İL-15, İL-17A ve İFN-γ salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 456

Şekil 4.162. Poli(I:C) ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde MIP-1α, MIP-1β, CXCL10 ve MCP-1 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 458

Şekil 4.163. İFN-γ+düşük doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde İL-5, İL-4, İL-10, İL-13 ve TGF–β salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 460

Şekil 4.164. İFN-γ+düşük doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde CCL22, İL-1β, İL-6, TNF-α ve İL-12 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 462

Şekil 4.165. İFN-γ+düşük doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde IDO, İL-15, İL-17A ve İFN-γ salgılanımının ELISA ile analiz sonucu.... 463

Şekil 4.166. İFN-γ+düşük doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde MIP-1α, MIP-1β, CXCL10 ve MCP-1 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 465

Şekil 4.167. İL-4+İL-10+İL-13 ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde İL-5, İL-4, İL-10, İL-13 ve TGF–β salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 467

Şekil 4.168. İL-4+İL-10+İL-13 ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde CCL22, İL-1β, İL-6, TNF-α ve İL-12 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 469

Şekil 4.169. İL-4+İL-10+İL-13 ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde IDO, İL-15, İL-17A ve İFN-γ salgılanımının ELISA ile analiz sonucu... 470

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.170. İL-4+İL-10+İL-13 ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde MIP-1α, MIP-1β, CXCL10 ve MCP-1 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 472

Şekil 4.171. TNF-α ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde İL-5, İL-4, İL-10, İL-13 ve TGF−β salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 474

Şekil 4.172. TNF-α ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde CCL22, İL-1β, İL-6, TNF-α ve İL-12 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu..... 476

Şekil 4.173. TNF-α ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde IDO, İL-15, İL-17A ve İFN-γ salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 477

Şekil 4.174. TNF-α ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde MIP-1α, MIP-1β, CXCL10 ve MCP-1 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 479

Şekil 4.175. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde İL-5, İL-4, İL-10, İL-13 ve TGF−β salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 481

Şekil 4.176. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde CCL22, İL-1β, İL-6, TNF-α ve İL-12 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 483

Şekil 4.177. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde IDO, İL-15, İL-17A ve İFN-γ salgılanımının ELISA ile analiz sonucu..... 484

Şekil 4.178. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde MIP-1α, MIP-1β, CXCL10 ve MCP-1salgılanımının ELISA ile analiz sonucu 486

Şekil 4.179. Üzerine sadece DMF-10 eklenen MKH'ların çoğalma testi akım sitometri sonuçları 489

Şekil 4.180. Uyarımsız PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan MKH'ların çoğalma testi akım sitometri sonuçları..... 489

Şekil 4.181. Poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan MKH'ların çoğalma testi akım sitometri sonuçları 490

Şekil 4.182. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan MKH'ların çoğalma testi akım sitometri sonuçları..... 490

Şekil 4.183. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan MKH'ların çoğalma testi akım sitometri sonuçları..... 491

Şekil 4.184. TNF-α ile prime PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan MKH'ların çoğalma testi akım sitometri sonuçları 491

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.185. Yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan MKH'ların çoğalma testi akım sitometri sonuçları 492

Şekil 4.186. Prime PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılmış MKH'ların 7AAD ve anti-BrdU boyaması sonucu hücre döngüsünün S fazında olan hücrelerin akım sitometri ile tespit edilen oranı bar figürü şeklinde verilmiştir..... 493

Şekil 4.187. Prime MKH'ların süpernatanı ile aktive edilen PMA/THP-1'lerin AF-488 konjuge E Koli biopartiküllerini fagositoz kapasitesinin akım sitometri ile analizinin histogram görüntüsü 496

Şekil 4.188. Prime MKH'ların süpernatanı ile aktive edilen PMA/THP-1'lerin E Koli biopartiküllerini fagositoz kapasitesinin akım sitometri ile analizi sonucunun bar grafiği..... 497

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim **Sayfa**

Resim 2.1. Kemik iliği anatomisi Morrison ve diğerleri (2014)..... 27

Resim 2.2. Endosteal niş bölgesinde HKH'lerin diğer hücrelerle ilişkisinin mekanizması Ehninger ve diğerleri (2011) 29

Resim 2.3. Damarsal niş bölgesinde HKH'lerin diğer hücrelerle ilişkisinin mekanizması Ehninger ve diğerleri (2011) 30

Resim 2.4. Damarsal nişte monositlerin Kİ'den ayrılma mekanizması Le Blanc ve diğerleri (2012)..... 34

Resim 2.5. MKH'ların doku hücreleri, damar hücreleri, immün hücreler ve bağ dokuya etkisi ile dokuda plastisitesinin mekanizması (Y. Wang ve diğerleri, 2014) 36

Resim 2.6. MKH'nın üç germ tabakasına farklılaşması (Uccelli ve diğerleri, 2008) 37

Resim 2.7. Doku onarımı sırasında MKH'lar ve bağışık yanıtı arasındaki etkileşim mekanizması (S. Ma ve diğerleri, 2014) 41

Resim 2.8. Mikroçevrenin MKH'lardan salgılanan moleküller üzerine etkisi (Y. Shi ve diğerleri, 2012)..... 42

Resim 2.9. MKH'lar ile doğal immün sistem hücreleri arasındaki ilişkinin şeması (Glenn ve diğerleri, 2014) 43

Resim 2.10. MKH'larla kazanılmış immün sistem hücreleri arasındaki ilişkinin şeması (Prockop ve Oh, 2012) 44

Resim 2.11. MKH'ların kazanılmış immün sistem hücreleri üzerine etkisinin şeması (Glenn ve Whartenby, 2014) 45

Resim 2.12. MKH'ların monositler üzerinden Treg oluşturma mekanizması (Melief ve diğerleri, 2013b) 46

Resim 2.13. Embriyonik hayatta yolk sak ve karaciğerden gelen monositlerle doku makrofajlarının oluşumunun mekanizması (Ginhoux ve diğerleri, 2014) . 51

Resim 2.14. Doğumdan sonra Kİ kaynaklı monositlerin doku makrofajlarını oluşturmasının mekanizması (Ginhoux ve diğerleri, 2014) 52

Resim 2.15. Makrofajların plastisitesi, yüzey reseptörleri ve saldıkları/salgıladıkları faktörler (Bulut, 2017)..... 53

Resim 2.16. Gelişim evrelerine göre monositlerin görüntüsü (Goasguen ve diğerleri, 2009)..... 61

Resim **Sayfa**

Resim 2.17. Makrofajların M1 plastisite medyumu (TNF-α ve İFN-γ) ve M2a plastisite medyumu (İL-4) muamelesi sonrası morfolojik değişimi (Cassol ve diğerleri, 2009) 62

Resim 2.18. THP'lerin M1 plastisite medyumu (İFN-γ ve LPS) ve M2 plastisite medyumu (İL-4 and İL-13) muamelesi sonrası morfolojik değişimi (Freytes ve diğerleri, 2013) 62

Resim 2.19. Oksijen patlaması ile bakterilerin öldürülmesi mekanizması (Satyanarayana ve diğerleri, 2014)..... 64

Resim 2.20. Yangı ve ROS arasındaki ilişkinin şeması (Ingram ve diğerleri, 2017)..... 65

Resim 2.21. ROS'un makrofaj fagositozu ve M1 plastisitesine etkisinin mekanizması (Tan ve diğerleri, 2016)..... 66

Resim 2.22. Makrofajlarda L-arginin katabolizmasının mekanizması (Muraille ve diğerleri, 2014) 68

Resim 2.24. MKH'ların eksozomlar üzerinden makrofaj ve T lenfositlerine immün modülatör etkilerinin mekanizması (B. Zhang ve diğerleri, 2014) 74

Resim 2.25. L-triptofanın IDO tarafından parçalanmasının mekanizması (Mbongue ve diğerleri, 2015)..... 78

Resim 2.26. İFN-γ ile aktive MKH'lardan salınan IDO'nun makrofajlar üzerine direkt etkisi ve T hücreler üzerine direkt ve makrofajlar üzerinden indirekt etkisinin şeması (François ve diğerleri, 2012) 79

Resim 2.27. MKH'nın TSG-6 aracılı yangı söndürücü etkisinin şeması (H. Choi ve diğerleri, 2011) 81

Resim 2.28. MKH ve T lenfositler arasında FasL/Fas bağlantısının oluşmasının makrofajlar üzerinden Treg oluşumunun mekanizması (Akiyama ve diğerleri, 2012) 82

Resim 2.29. Küre şeklinde üretilen insan BM-MKH'ların makrofaj plastisite üzerine etkisinin şeması (Ylostalo ve diğerleri, 2012)..... 83

Resim 2.30. MKH'lardan salınan PGE-2'nin makrofaj plastisitesine etkisinin şeması (Vasandan ve diğerleri, 2016) 85

Resim 2.31. MIF'nin makrofaj fonksiyonlarına etki mekanizması (Morand ve diğerleri, 2006) 86

Resim 2.32. MKH'larda TLR3 ve TLR4 uyarımının MIF salgılanması üzerine etkisinin mekanizması (Le Blanc ve diğerleri, 2012)..... 87

Resim 2.33. P-MKH'ların GC ve PG üzerinden monosit plastisitesine etkisi (Abumaree ve diğerleri, 2013). 89

Resim **Sayfa**

Resim 2.34. TGF-β'nın immün regülasyonda ki rolü (Akhurst ve diğerleri, 2012)..... 90

Resim 2.35. TGF–β'nın tümör mikro çevresindeki rolü (Akhurst ve diğerleri, 2012) .. 90

Resim 2.36. Sinyal yolaklarının makrofaj plastisitesine etkisinin mekanizması (Sica ve diğerleri, 2012) 94

Resim 2.37. İFN-γ, TLR2 ve TLR4 üzerinden gelen sinyallerin makrofajları M1 yönünde plastisiteye neden olmasının mekanizması (Muraille ve diğerleri, 2014) 95

Resim 2.38. Makrofajlar üzerindeki İFN-γ pozitif geri dönüşüm mekanizması Heinonen ve diğerleri (2004) 96

Resim 2.39. TNF-α salgılayan hücreler ve TNF-α'nın etki mekanizması (Neurath, 2014) 99

Resim 2.40. Makrofajlardan salgılanan TNF-α'nın kronik yangı patojeninizdeki rolünün mekanizması (Parameswaran ve diğerleri, 2010) 100

Resim 2.41. MKH'lardan salgılanan İL-6'nın LPS ile aktive makrofajlarda TNF-α, İFN-γ ve İL-1β salınımını bloke etme mekanizması (H. J. Zhang ve diğerleri, 2016) 102

Resim 2.42. İL-1 sitokin ailesinin doğal ve edinsel immünitedeki rolünün şematik görünümü (Garlanda ve diğerleri, 2013) 104

Resim 2.43. İnflamazomların yangı başlatıcı sitokin oluşumundaki rolü (Gombault ve diğerleri, 2013) 106

Resim 2.44. İL-4 ve GM-CSF ile kültüre edilen MKH'ların monositlerden iDC oluşumunu engelleyip MEM'leri oluşturması mekanizması (Melief ve diğerleri, 2013a) 111

Resim 2.45. MKH İL-6 üzerinden diğer antijen sunan hücreleri etkilemesi (Brenner ve diğerleri, 2016) 115

Resim 2.46. İL-4/İL-13 aksının ve serbest yağ asitlerinin makrofajları M2a yönünde plastisiteye neden oluş mekanizması (Muraille ve diğerleri, 2014)..... 118

Resim 2.47. LPS ve İL-4 aracılığı ile M1 ve M2 plastisitesi sağlanmış makrofajların MKH plastisitesine etkisi (A. R. Wolfe ve diğerleri, 2016)..... 119

Resim 2.48. Gastrointestinal sistem makrofajların kaynağı ve homeostaz ve yangıdaki plastisitesinin mekanizması (Mantovani ve diğerleri, 2014)..... 121

Resim 2.49. NLRP3'ün inflamazome kompleksi oluşturma mekanizması (Tschopp ve diğerleri, 2010) 122

Resim **Sayfa**

Resim 2.50. İFN-β ve İL-10'nun MKH'larda IDO üretimi ve salgılanan IDO'nun T lenfositleri üzerine etki mekanizması (J. Lim ve diğerleri, 2016) 125

Resim 2.51. İL-17'nin nötrofil oluşumu üzerine etkisinin mekanizması (Mojsilović ve diğerleri, 2015)..... 131

Resim 2.52. İL-17'nin MKH üzerine etkisinin mekanizması (Mojsilović ve diğerleri, 2015) 131

Resim 2.53. İL-18'in doğal ve kazanılmış immünitedeki rolü (Garlanda ve diğerleri, 2013) 133

Resim 2.54. Sitokin fırtınası ve MAS'ın gelişmesinin mekanizması (Schulert ve diğerleri, 2014)..... 134

Resim 2.55. Aktive olan MKH'ların makrofaj plastisitesine etkisinin mekanizması Le Blanc ve diğerleri (2012) 143

Resim 2.56. MKH'lardan HLA-G'nin salgılanmasına etkili olan faktörler ve eksozomlar içinde salınan HLA-G'nin diğer immün moleküllerle birlikte immün hücrelere etkisinin mekanizması (Rebmann ve diğerleri, 2014) 167

Resim 2.57. İL-10 salgılayan makrofajların MKH'lar da HLAG ekspresyonunu arttırışı (Melief ve diğerleri, 2013a)..... 167

Resim 2.58. Ko-stimülatör ve ko-inhibitör moleküller ve reseptörleri (Bakdash ve diğerleri, 2013)..... 170

Resim 2.59. MKH'lardan salgılanan PD-L1 ve PD-L2 nin T lenfositler üzerine etkisinin mekanizması (Davies ve diğerleri, 2017)..... 172

Resim 2.60. Hücre yapışma molekülleri (SABbiotechnology, 2017) 177

Resim 2.61. PAMP'larla TLR'lerin ilişkisi (Christmas, 2010) 180

Resim 2.62. TLR1-9'un lokalizasyonu ve sinyal yolakları (Misch ve diğerleri, 2008) . 180

Resim 2.63. TLR5 ve TLR11-13'ün lokalizasyonu ve sinyal yolakları (Broz ve diğerleri, 2013)..... 181

Resim 2.64. TLR sinyali ile ilgili yardımcı moleküller (C. C. Lee ve diğerleri, 2012). 181

Resim 2.65. PRR'ların immune hemostaz üzerine etkisi (X. Cao, 2016) 182

Resim 2.66. MKH'larda eksprese edilen TLR ve ligandlarının şeması (Najar ve diğerleri, 2017)..... 183

Resim 2.67. MKH'ların TLR2 ve TLR4 üzerinden uyarımının nötrofiller ve M1 makrofajlar üzerine etkisinin mekanizması (Le Blanc ve diğerleri, 2015). 184

Resim **Sayfa**

Resim 2.68. Tip-1 İFN'ların MD-DC'lerde TLR3 ekspresyonuna etkisinin mekanizması (Fragale ve diğerleri, 2011)..... 193

Resim 2.9. Mikrogliaların HIV enfeksiyonu sonrası M1 ve M2 plastisitesinin mekanizması (Salemi ve diğerleri, 2011) 194

Resim 2.70. Yüksek doz TNF-α+İFN–γ ve poli(I:C) ile TLR3 üzerinden MKH2 plastisitesi ve direkt Treg oluşturma mekanizması (Bernardo ve diğerleri, 2013) 195

Resim 2.71. TLR3 üzerinden MKH2 plastisitesi (Glenn ve diğerleri, 2014)..... 195

Resim 2.72. MKH'ların poli(I:C) ile farklı zamanlarda prime edilmesinin NK fonksiyonlarına etkisi (Petri ve diğerleri, 2017)..... 196

Resim 2.73. MKH'ların TLR3 ve TLR4 üzerinden uyarımı ile IDO üretim mekanizması (Opitz ve diğerleri, 2009) 204

Resim 2.74. MKH'ların poli(I:C) ile farklı sürelerde prime edilmesinin MKH'lardan İL-6, İL-8 ve tip-1 İFN salgılaması üzerine etkisinin mekanizması (Dumitru ve diğerleri, 2014)..... 206

Resim 2.75. MKH'ların poli(I:C) ile farklı sürelerde prime edilmesinin MKH'ların plastisitesi üzerine etkisi (Petri ve diğerleri, 2017) 206

Resim 2.76 TLR3 ve TLR4 üzerinden prime edilen MKH'ların plastisitesi ve makrofaj plastisitesi üzerine etki mekanizması M. Krampera (2011)..... 207

Resim 2.77. LPS'in TLR4 tarafından tanınmasının mekanizması (Maeshima ve diğerleri, 2013) 209

Resim 2.78. MKH-1 oluşumu ve T lenfositleri direkt aktivasyon mekanizması (Bernardo ve diğerleri, 2013) 218

Resim 2.79. TLR4 aktivasyonu ile MKH'ların MKH1 yönünde plastisitesi (Glenn ve diğerleri, 2014) 218

Resim 2.80. TLR9 ile aktive MKH'ların B lenfositler üzerine etkisinin mekanizması Glenn ve diğerleri (2014) 223

Resim 3.1. Pedistemde MKH eldesi ve depolanması (Fotoğraf: Dr. Zeynep Zehra COŞKUN) 249

Resim 3.2. PMA/THP-1'lerin kazınarak toplanması (İşlemi yapan: Dr. Zeynep Zehra COŞKUN/Fotoğrafı çeken: Emine KILINÇ)..... 261

Resim 3.3. "Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-Plex Immunoassay'' kitinin a) içeriğinin fotoğrafı ve b) çalışma prensibinin şeması (Hazırlayan: Dr. Zeynep Zehra COŞKUN)..... 275

Resim **Sayfa**

Resim 3.4. Bio-Plex sistemi (MAG-PIX multiplex reader) (Fotoğrafı çeken: Dr. Zeynep Zehra COŞKUN) 276

Resim 3.5. Hücre döngüsünün safhaları (TheUniversityofLeicester (2017)) 277

Resim 4.1. Uyarımsız MKH'ların mikroskobik (inverted) görüntüsü, pasaj 4, 4x 283

Resim 4.2. Üç vericiye ait MKH'ları içeren kontrol kuyucuğunun ORO boyanması sonrası çekilen 4x görüntüsü 286

Resim 4.3. Üç vericiye ait MKH'ları içeren kontrol kuyucuğunun ORO boyanması sonrası çekilen 20x görüntüsü 287

Resim 4.4. Üç vericiye ait MKH'ları içeren kontrol kuyucuğunun ORO boyanması sonrası çekilen 40x görüntüsü 287

Resim 4.5. Üç vericiye ait adipojenik dokuya (yağ dokusuna) farklılaştırılan MKH'ları içeren deney kuyucuğunun ORO boyanması sonrası çekilen 4x görüntüsü 288

Resim 4.6. Üç vericiye ait adipojenik dokuya (yağ dokusuna) farklılaştırılan MKH'ları içeren deney kuyucuğunun ORO boyanması sonrası çekilen 20x görüntüsü 288

Resim 4.7. Üç vericiye ait f adipojenik dokuya (yağ dokusuna) farklılaştırılan MKH'ları içeren deney kuyucuğunun ORO boyanması sonrası çekilen 40x görüntüsü 289

Resim 4.8. Üç vericiye ait MKH'ları içeren kontrol kuyucuğunun ARS boyanması için sonrası çekilen 4x görüntüsü 290

Resim 4.9. Üç vericiye ait MKH'ları içeren kontrol kuyucuğunun ARS boyanması sonrası çekilen 20x görüntüsü 291

Resim 4.10. Üç vericiye ait MKH'ları içeren kontrol kuyucuğunun ARS boyanması sonrası çekilen 40x görüntüsü 291

Resim 4.11. Üç vericiye ait osteojenik dokuya (kemik dokusuna) farklılaştırılması gerçekleşen MKH'ları içeren deney kuyucuğunun ARS boyanması sonrasında çekilen 4x görüntüsü 292

Resim 4.12. Üç vericiye ait osteojenik dokuya (kemik dokusuna) farklılaştırılması gerçekleşen MKH'ları içeren deney kuyucuğunun ARS boyanması sonrasında çekilen 20x görüntüsü 292

Resim 4.13. Üç vericiye ait osteojenik dokuya (kemik dokusuna) farklılaştırılması gerçekleşen MKH'ları içeren deney kuyucuğunun ARS boyanması sonrasında çekilen 40x görüntüsü 293

Resim **Sayfa**

Resim 4.14. 100 nM PMA ile aktive edilen çeşitli yoğunluktaki THP-1'lerin aktivasyonun birinci gündeki 4x ve 20x görüntüleri 297

Resim 4.15. 100 nM PMA ile aktive edilen çeşitli yoğunluktaki THP-1'lerin ve kontrol kuyucuğunun kültürün 4./5. gündeki 10x görüntüleri 298

Resim 4.16. Her iki hücre grubunun da uyarımsız olduğu transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin gösterimi 326

Resim 4.17. Poli(I:C) ile her iki grubun prime olduğu transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi 328

Resim 4.18. MKH ve PMA/THP-1'in İFN-γ ve düşük doz LPS prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi 330

Resim 4.19. MKH ve PMA/THP-1'lerin İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi 333

Resim 4.20. MKH ve PMA/THP-1'lerin TNF-α ile prime edildiği olduğu transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi 335

Resim 4.21. MKH ve PMA/THP-1'lerin yüksek doz LPS ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi 338

Resim 4.22. PMA/THP-1 ve MKH'nın uyarımsız olduğu transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi 340

Resim 4.23. MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi 343

Resim 4.24. MKH ve PMA/THP-1'lerin İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi 346

Resim 4.25. MKH ve PMA/THP-1'lerin İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi 349

Resim 4.26. MKH ve PMA/THP-1'lerin TNF-α ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi 352

Resim 4.27. MKH ve PMA/THP-1'lerin yüksek doz LPS ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi 355

Resim **Sayfa**

Resim 4.28. İki hücre grubunun da uyarımsız olduğu örnekte transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi..... 358

Resim 4.29. Uyarımsız MKH ve poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi..... 360

Resim 4.30. Uyarımsız MKH ve İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi 363

Resim 4.31. Uyarımsız MKH ve İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi 365

Resim 4.32. Uyarımsız MKH ve TNF-α ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi..... 368

Resim 4.33. Uyarımsız MKH ve yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi 370

Resim 4.34. İki grubunda uyarımsız olduğu transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi..... 373

Resim 4.35. Uyarımsız MKH ve poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi..... 375

Resim 4.36. Uyarımsız MKH ve İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi 378

Resim 4.37.Uyarımsız MKH ve İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi 381

Resim 4.38. Uyarımsız MKH ve TNF-α ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi..... 384

Resim 4.39. Uyarımsız MKH ve yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi 387

Resim 4.40. Her iki hücre grubunun da uyarımsız olduğu transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi 390

Resim 4.41. Poli(I:C) ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi..... 392

Resim **Sayfa**

Resim 4.42. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi 395

Resim 4.43. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi 398

Resim 4.44. TNF-α ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi..... 400

Resim 4.45. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi 403

Resim 4.46. İki grubunda uyarımsız olduğu transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi..... 405

Resim 4.47. Poli(I:C) ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi..... 408

Resim 4.48. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi 410

Resim 4.49. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi 413

Resim 4.50. TNF-α ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi..... 416

Resim 4.51. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi 419

Resim 4.52. Uyarımsız MKH süpernatantı ile uyarımsız PMA/THP-1'in kültürü sonrası hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi..... 421

Resim 7.1. Viral yangının kronik fazında MKH ve makrofajların birbirlerinden uzakta olduklarında etkileşimlerinin sonuçunun şematizasyonu (Hazırlayan: Dr. Zeynep Zehra COŞKUN) 559

Resim 7. 2. Viral yangının kronik fazında MKH ve makrofajların birbirlerine yakın olduklarında etkileşimlerinin sonuçunun şematizasyonu (Hazırlayan: Dr. Zeynep Zehra COŞKUN)..... 559

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simge	Açıklaması
α	Alfa
β	Beta
Dk	Dakika
δ	Delta
γ	Gama
g	Gram
κ	Kappa
L	Litre
μl	Mikrolitre
mg	Miligram
ml	Mililitre
ng	Nanogram
nmol	Nanomol
pg	Pikogram
Sn	Saniye
U	Ünite

Kısaltmalar	Açıklaması
7-AAD	**7-**amino aktinomisin D
Ang	Angiopoietin (anjiopoetin)

Kısaltmalar	Açıklaması
AP-1	Activator protein-1 (aktive eden protein-1)
APC	Antigen presenting cell (antijen sunan hücreler)
ARDS	Acute respiratory distress syndrome (akut solunum yetmezliği sendromu)
Arg-1	Arginase-1
ARS	Alizarin red S dye (alzerin kırmızsı S boyası)
AT-MKH	Adipose tissue-derived MSC (yağ dokusundan elde edilen MKH'lar)
B7-H	B7-homolog (B7-benzeri)
BAL	Broncho alveolar lavage (bronko alveoler lavaş sıvısı)
BM-DM	Bone marrow derived macrophages (kemik iliği kaynaklı makrofajlar)
BM-MKH	Bone marrow derived MSC (kemik iliği kaynaklı MKH)
BM/Kİ	Bone marrow (kemik iliği)
BrdU	Bromodeoxyuridine (bromo deoksi üridin)
BV2	Mouse microglial cell lines (fare mikroglia hücre dizisi)
Ca	Calcium (kalsiyum)
CAM	Calmodulin (kalmodülin)
CA-MKH	Cancer associated MSC (Kanserle ilgili MKH'lar/Pankreatik kanserin genetik mühendislikle hazırlanan fare modelinde pankreastan elde edilen MKH'lar)
CAR	CXCL12 abundant reticular cells (CXCL12 zengin retikülar hücreler)
CCL	C- chemokine ligand (C-kemokin ligandı)
CCR	C-chemokine receptor (C-kemokin reseptörü)
CD	Cluster of differentiation (farklılaşma kümesi)

Kısaltmalar	Açıklaması
CD11b	Macrophage-1 antigen / integrin αMβ2 / macrophage integrin
CD45	Lymphocyte common antigen (lenfosit ortak antijeni)
CLP	Cecal ligation and puncture model (çekal bağlama ve delinme modeli)
CpG/CG	Bir sitozin nükleotidinin guanin nükleotidi tarafından izlendiği DNA bölgeleri
CO2	Carbon dioxide (karbon dioksit)
ConA	Concanavalin A (konanavalin A)
CTL	Cytotoxic T lymphocytes (Sitotoksik T lenfositleri / CD8+T lenfositleri)
CTLA-4	Cytotoxic T lymphocyte associated protein-4 (CTL ile ilgili protein-4)
CXCL	C-X chemokine ligand (CX-kemokin ligandı)
CX3CL	C-X3 chemokine ligand (CX3-kemokin ligandı)
CX3CR	CX3 chemokine receptor (CX3-kemokin reseptörü)
DAMP	Damage associated molecular patterns (hasara bağlı moleküler kalıplar)
DC	Dendritic cells (dendritik hücre)
ddH2O	Ultra pure and sterile water (steril ve ultra saf su)
DECTIN	Natural killer (NK)-cell-receptor-like C-type lectin (doğal öldürücü hücre reseptör benzeri C-tipi lektin)
DMSO	Dimethyl sulfoxide
DNA	Deoxyribo nucleic acid (deoksiribo nükleik asid)
DSS	Dextran sodium sulfate (dekstran sülfat sodyum)
EBMT	European Blood And Marrow Transplantation (Avrupa Kan ve Kİ Transplantasyon Birliği)
ECM	Extra cellular matrix (hücre dışı matriks)
EDTA	Ethylene diamine tetra acetic acid (etilen diamin tetra asetik asit)

Kısaltmalar	Açıklaması
EGF	Epidermal growth factor (epidermal büyüme faktörü)
EL4	Fare T hücre lenfoma hücre dizisi
ELISA	The enzyme linked immunosorbent assay (enzime bağlı immünosorbent analizi)
ENA	Epithelium-derived neutrophil-activating peptide (epitel kaynaklı nötrofil aktive eden peptid)
EOTAXIN	Eosinophil chemotactic protein (eozinofilik kemotaktik protein)
EPC	Endothelial progenitor cell (damar endotel öncü hücreleri)
EPO	Erythropoietin (eritropoetin)
ESC/EKH	Embryonic stem cell (embryonik kök hücreler)
FasL	Fas ligandı
FBS	Fetal bovine serum (fetal sığır serumu)
FGF	Fibroblast growth factor (fibroblast büyüme faktörü)
FS	Forward scatter (ileri dağılım)
GC	Glucocorticoids (glukokortikoid)
G-CSF	Granulocyte colony-stimulating factor (granüosit kolonilerini uyaran faktör)
GCP	Granulocyte chemotactic protein (granülosit kemotaktik protein)
GM-CSF	Granulocyte macrophage colony stimulating factor Granüosit monosit kolonilerini uyaran faktör
G-MKH	Gingiva derived MSC (diş eti dokusundan elde edilen MKH'lar)
Gr(-)	Gram negatif
Gr(+)	Gram pozitif

Kısaltmalar	Açıklaması
GRO	Growth regulated oncogene (büyüme düzenleyen onkogen)
GVHD	Graft versus host disease (graftın alıcıya karşı oluşturduğu hastalık)
HA	Hyaluronik asid
HGF	Hepatocyte growth factor (hepatosit büyüme faktörü)
HIF	Hypoxia-inducible factor (hipoksi tarafından oluşturulan faktör)
HLA	Human leukocyte antigens (insan lökosit antijeni)
HSC/HKH	Hematopoietic stem cells (hematopoietik kök hücre)
HSCT/KİT	Hematopoietic stem cell transplantation (kemik iliği nakli)
HO-1/HOX-1	Heme oxygenase-1 (hem oksijeneaz-1)
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule-1 (hücreler arası yapışma molekülü-1)
IDO	Indoleamine 2,3-dioxygenase
Ig	İmmunoglobulin
IGF-1	Insulin like growth factor-1 (insüline benzer büyüme faktörü-1)
IP	İNF-γ inducible protein (İFN- tarafından oluşturulan protein)
IRF	Interferon regulatory factor (interferon düzenleyici faktör)
ISCT	International Society for Cellular Therapy (Uluslararası Hücresel Terapi Derneği)
IV	Intravenous infusions (intra venöz enjeksiyon)
iDC	İmmature dendritic cells (immatür dendritik hücre)
İL	Interleukins (interlökin)
İL-1ra	Interleukin-1 receptor antagonisti (interlökin-1 reseptör antagonisti)
İL-10/CSIF	Cytokine synthesis inhibitory factor (sitokin sentezi inhibitör faktörü)
İFN	İnterferon

Kısaltmalar	Açıklaması
iNOS	Inducible nitric oxide synthase (uyarılabilir nitrik oksit sentezleyen enzim)
iPSC/ uPKH	Induced pluripotent stem cell (uyarılmış pluripotent kök hücre)
i-TAC	INF inducible T-cell-α chemoattractant
	(İFN-□ tarafından oluşturulan T lenfosit-α kemoatraktan)
J774A.1	Fare makrofaj hücre dizisi
JAK	Janus kinaz
JNK	Jun N-terminal kinaz
KGF	Keratinocyte growth factor (keratinosit büyüme faktörü)
KIT/CD117	Stem cell growth factor receptor (kök hücre büyüme faktörü reseptörü)
LFA	Lymphocyte function-associated antigen
	(lenfosit fonksiyonu ile ilgili antijen)
LIF	Leukaemia inhibitory factor (lösemi inhibitör faktör)
LIX/CXCL5/	The limb expression / LPS induced CXC chemokine
	(LPS tarafından oluşturulan CXC kemokini)
ENA-78	Epithelial neutrophil activating peptide
	(epitelde nötrofil aktive eden peptid)
L-MKH	Lymphomas associated MSC
	(kendiliğinden oluşan lenfoma geliştiren farelerin tümör dokusundan elde edilen MKH'lar)
LPS	Lipopolysaccharides (lipopolisakkarit)
M1	Klasik olarak aktifleştirilmiş/yangı oluşturucu yönünde farklılaşmış makrofajlar
M2	Alternatif olarak aktive edilen /yangı söndürücü yönde farklılaşmış makrofajlar
MAS	Macrophage activation syndrome (makrofaj aktivasyon sendromu)

Kısaltmalar	Açıklaması
MCP	Monocyte chemotactic protein (monosit kemotaktik protein)
M-CSF	Macrophage colony-stimulating factor (monosit koloni uyarıcı faktör)
MDSCs	Myeloid derived suppressor cells (myeleodid kaynaklı baskılayıcı hücreler)
MEM	MSC-educated macrophages (MKH'lar tarafından etkilenmiş makrofajlar)
MFG	Milk fat globule (süt yağı globülini)
MHC	Major histocompatibility complex (major doku uygunluk kompleksi)
MI	Myocardial infarction (miyokart enfarktüsü)
MIF	Macrophage migration inhibitory factor (makrofajların göçünü engelleyen faktör)
MIG	Monokine induced by gamma interferon(İNF-γ) (İFN-γ tarafından uyarılan monokine)
MIP	Macrophage inflammatory proteins (makrofaj yangısal protein)
MMP	Matrix metalloproteinase
MNC	Mononuclear cell (tek çekirdekli hücreler)
mRNA	Messenger ribo nucleic acid (mesajcı ribo nükleik asit)
MKH	Mesenchymal stem cells (mezenkimal kök hücre)
MSGA	Melanoma growth stimulating activity-α (melanoma büyümesini uyaran-α)
TOR	Mammalian target of rapamycin (memelilerin rapamisin hedefi)
MyD88	Myeloid differentation primary response protein 88 (myeloid farklılaşma birincil cevap proteini 88)
N9	Mouse microglial cell lines (fare mikroglia hücre dizisi)

Kısaltmalar	Açıklaması
NAP	Neurophil activating protein (nötrofil aktive eden protein)
NF-κB	Nuclear transcription factor-kappaB (çekirdek transkripsiyon faktör-kappaB)
NIH	National institutes of health, USA (Amerikan ulusal sağlık enstitüsü)
NK	Naturel killer cells (doğal öldürücü hücreler)
NKT	Naturel killer T cells (doğal öldürücü T hücreleri)
NLRP3	NACHT, LRR and PYD domains containing protein-3 (NACHT, LRR ve PYD domainlerini içeren protein-3)
NO	Nitric oxide (nitrik oksit)
NOS	Nitric oxide synthase (nitrik oksit sentezleyen enzim)
NR8383	Keme alveolar makrofaj hücre dizisi
NURR1	The nuclear receptor related protein-1 (çekirdek reseptör ile ilgili protein -1)
ORO	Oil Red O (yağ dokusu kırmızı O boyası)
PAMPs	Pathogen associated molecular patterns (patojenle ilişkili moleküler kalıplar)
PARP	Poly ADP-ribose polymerase
PBMC	Peripheral blood mononuclear cell (periferik kan mononükleer hücreleri)
PBS	Phosphate buffered saline (fosfat tamponlu salin)
PDGF	Platelet derived growth factor (trombosit kaynaklı büyüme faktörü)
PD-L	Programmed death ligand (programlanmış ölüm ligandı)
Pedi-Stem	Hacettepe Üniversitesi Kök Hücre Araştırma ve Uygulama Merkezi
PG	Progesterone

Kısaltmalar	Açıklaması
PGE-2	Prostaglandin E-2
PMA	Phorbol 12-myristate 13-acetate
P-MKH	Placenta derived MSC (plasenta dokusundan elde edilen MKH'lar)
PMNC	Poly morpho nuclear cells (çok çekirdekli hücreler)
Poli(I:C)	Polyinosinic-polycytidylic acid (çift sarmallı RNA analoğu)
PPAR	Peroxisome proliferator activated receptor (peroksizome çoğaltıcı ile aktive edilmiş reseptör)
PRR	Pattern recognition receptors (kalıp tanıma reseptörleri)
RANKL	Receptor activator of NF-κB ligand (NF-κB'nin reseptör aktive eden ligan)
RANTES	Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted (normal T lenfositlerinden eksprese edilip salgılanan aktivasyon düzenleyicisi)
RAW264.7	Fare monosit hücre dizisi (murine macrophage cell line)
RNI	Reactive nitrogen intermediates (reaktif nitrojen aracıları)
RNS	Reactive nitrogen species (reaktif nitrojen türleri)
ROI	Reactive oxygen ıntermediates (reaktif oksijen ara maddeleri)
ROS	Reactive oxygen species (reaktif oksijen türleri)
RPM	Revolutions per minute of rotor (çarkın dakikada ki dönüş hızı)
SCF	Stem cell factor (kök hücre faktörü)
SCID	Severe combined immunodeficiency (kombine immün yetmezlik hastalığı)
SDF-1	Stromal cell-derived factor-1 (bağ dokusu hücreleri kaynaklı faktör-1)
SOCS	Suppressors of cytokine signaling (sitokin sinyal baskılayıcı)

Kısaltmalar	Açıklaması
STAT	Signal transducer and activator of transcription (transkripsiyonun sinyal ileticisi ve aktive edici)
TAM/M2d	Tumor-associated macrophages (tümörle ilişkili makrofajlar)
TARC	Thymus and activation regulated chemokine (timus ve aktivasyon düzenleyen kemokine)
TGF	Transforming growth factor (dönüştürücü büyüme faktörü)
Th1	Type 1 T helper cells (tip 1 yardımcı T hücreleri/lenfositleri)
Th2	Type 2 T helper cells (tip 2 yardımcı T hücreleri/lenfositleri)
Th17	Type 17 T helper cells (tip 17 yardımcı T hücreleri/lenfositleri)
THP-1	AML'li bir hastadan elde edilen insan monositik hücre dizisi
TIE2	Tyrosine kinase with Ig and EGF homology domains-2 (Ig ve EGF benzer domaini olan tyrozin kinaz)
TLR	Toll like receptor (toll benzeri reseptör)
TNF	Tumor necrosis factor (tümörde nekroz yapan faktör)
TPA	12-O-tetradecanoyl phorbol-13-acetate
TPA/THP-1	TPA ile makrofajlara dönüştürülmüş THP-1 hücre dizisi
TPO	Thrombopoietin (trombopoetin)
Treg	Regulatory T cells (CD4+CD25+Foxp3+ düzenleyici T hücreleri)
TREM	Triggering receptor expressed on myeloid cells (sadece miyeloid hücrelerde eksprese edilen tetikleyici reseptör)
TSG-6	TNF-α stimulated gene-6 (TNF-α ile uyarılan gen-6)
UC-MKH	Umbilical cord tissue MSC (göbek kordonlarından türetilen MKH'lar)
Vb	Ve benzeri

Kısaltmalar	Açıklaması
VCAM	Vascular cell adhesion molecule (damarlardaki hücre yapışma molekülü)
VEGF	Vascular endothelial growth factor (damar endotel tabakası için büyüme faktörü)
Vit D3	Vitamin D3
VLA-4	Very late antigen-4/integrin α4β1 (çok geç antijen-4)

1. GİRİŞ

TÜBİTAK/SBAG-1001 proje numarası: 115S563 ile desteklenen ve Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanan bu çalışma kapsamında çeşitli mikro çevrelerde insan Kİ/BM (Kemik İliği/Bone Marrow) niş bölgesine ait MKH (Mezenkimal Kök Hücre/Mesenchymal Stem Cell) ile insan kaynaklı makrofajların (THP-1 (AML'li bir hastadan elde edilen insan monositik hücre dizisi)) arasındaki fonksiyonel ilişkinin, MKH'nin MKH1/MKH2 plastisistesi ve makrofajların M1/M2 (Klasik olarak aktifleştirilmiş/yangı oluşturucu yönünde farklılaşmış makrofajlar)/(Alternatif olarak aktive edilen/yangı söndürücü yönde farklılaşmış makrofajlar) plastisitesi üzerine etkileri incelendi.

Kök hücreler, gelişim sürecinde tüm doku ve organların yapımında temel yapı taşlarıdır.

Doğumdan sonra bir organizmada da başta cilt, barsak, hematopoetik sistem olmak üzere hızlı döngüye sahip dokularda eksilen hücrelerin yerine konması, hasar veya stres durumunda ise hasar onarımı ve artan ihtiyacın yerine konmasında kritik role sahip hücrelerdir.

Kök hücreleri, dokularda farklılaşmış halde bulunan olgun/fonksiyonel hücre tiplerinden ayıran en önemli özellikleri, kendini yenileme (self renewal) ve farklılaşarak tüm dokulara ait özelleşmiş hücre tiplerini oluşturabilme kapasiteleridir.

Bu özellikleriyle öne çıkan başlıca kök hücre tipi olan embriyonik kök hücreler (embryonic stem cell), embriyonik hayatta doku ve organ gelişiminde yer alan, her 3 germ yaprağına ait doku ve organlara ait çok farklı hücre tiplerine farklılaşabilen en potent (pluripotent) hücrelerdir.

Göbek kordonu, plasenta kaynaklı kök hücreler de vardır. Bunlar, bazı araştırıcılar tarafından fetal kök hücreler diye adlandırılmaktadır.

Doğumdan sonra bir organizmada bulunan kök hücreler ise erişkin kök hücre (adult stem cell olarak) adlandırılır. Erişkin kök hücreler birçok organ/dokuda bulunur, kendini yeniler

ve o organa ait tüm hücre tiplerine farklılaşabilir. Ancak bu çok yönlü farklılaşabilme özellikleri embriyonik kök hücrelere göre sınırlıdır. Bu nedenle bu hücreler pluripotent değil, multipotent özelliktedir. Ait oldukları doku dışındaki doku hücrelerine farklılaşma kapasiteleri sınırlıdır. Örneğin HKH/HSC (Hematopoetik Kök Hücreler/Hematopoietic Stem Cells) tüm kan ve immün sistem hücrelerini oluşturabilir, nöral kök hücreler sinir sisteminde bulunan tüm hücre tiplerine farklılaşabilir ancak kardiyak hücreye farklılaşma kapasiteleri sınırlıdır. Diğer bir erişkin kök hücre tipi olan MKH'lardan ise başlıca bağ (konnektif) doku kökenli hücreler geliştiği gibi üç germ tabakasına da farklılaşabilirler.

Kök hücre tipleri içerisinde son yıllarda üzerinde en çok durulan ve Yamanaka adlı Japon araştırıcıya 2012 yılı Nobel ödülünü kazandıran hücre tipi ise uPKH/iPSC'lerdir (uyarılmış pluripotent kök hücre/induced pluripotent stem cell) (Yanhong Shi, Inoue, Wu ve Yamanaka, 2017; Kazutoshi Takahashi ve Yamanaka, 2006). Bu hücreler; in-vitro ortamda olgunlaşmış bir hücreye (ör. Fibroblast) embriyonik dönemde aktif genlerin aktarılmasıyla elde edilirler. Böylece farklılaşmış, olgun bir hücre yeniden programlanarak embriyonik kök hücreye benzer pluripotent özellik kazanır. Böylelikle, hastalık mekanizmalarının çalışılabilmesi, hastalık modellenmesi, ilaç denemeleri ve istenilen doku tipine farklılaşabilme özellikleri nedeniyle hasar onarımında kullanılabilme potansiyeli taşımaları uPKH'leri günümüz tıbbının en ilgi çeken konularından birisi haline getirmiştir.

Kök hücreler arasında klinik kullanım için uygun olan başlıca hücre tipleri HKH'ler ve MKH'lerdir. Hematopoetik kök hücreler, 1960'lı yıllardan beri kemik iliği nakli, kordon kanı nakli ve periferik kan kök hücre nakli uygulamalarıyla klinikte uygulama alanı bulmuş ve standart tedavi yöntemleri arasına girmiştir. EBMT (Avrupa Kan ve Kİ Transplantasyon Birliği/European Blood and Marrow Transplantation) verilerine göre yılda yaklaşık 40 000 hastaya malign ve malign olmayan hastalıklar nedeniyle KİT/HSCT yapılmaktadır ve kayıtlı vaka sayısı 500 000'i aşmıştır (EBMT, 2017).

2000'li yıllardan sonra ise, HKH'lerin transplantasyon dışında, organ hasarlarında rejeneratif amaçlı kullanımı gündeme gelmiş ve klinik araştırma kapsamında çok sayıda merkezde bu uygulamalar yapılmaya başlanmıştır. HKH'lerin hasar onarımındaki rolleri olduğu kabul edilse de bu amaçla yapılan klinik uygulamalarda etkinlik sınırlı kalmış, rejeneratif tıpta bu hücrelerin yerini bağ doku kökenli olan MKH'ler almaya başlamıştır.

MKH'ler kemik iliği, yağ dokusu başta olmak üzere birçok dokuda, stromal hücrelerin ana kaynağını teşkil ederler; farklılaşma özellikleri, hasar bölgesine migrasyon kapasiteleri, hasar bölgesinde büyüme faktörleri salgılaması ve immünmodulatuvar özellikleriyle klinik araştırma protokolleri içerisinde yer almaktadır.

Vücutta en iyi tanımlanmış kök hücre tipi HKH olup niş bölgesi de Kİ/BM nişidir. Diğer dokularda da o dokuya ait kök hücrelerin, benzer koşullardaki fiziksel ve metabolik ortamda nişlerde bulundukları bilinmektedir (ör. intestinal kök hücre nişi, ciltte epidermal kök hücre nişi gibi).

Kİ vücudun başlıca kök hücre deposudur. Kİ'de, HKH'ler yanında, MKH'ler ve endotel öncü hücreleri de (endotelial progenitor cells) bulunmaktadır. Bu hücreler, bir taraftan organizmanın devam eden hücre ihtiyacını karşılamakta diğer taraftan da hasarlı dokulardan gelen sinyallerle Kİ'den mobilize olup hasar yerine giderek onarım sürecinde kritik rol oynamaktadırlar.

Kİ, ana hematopoez dokusudur. HKH'lerin yaşam boyu hematopoezi sağlayabilmeleri için HKH havuzunun korunması, HKH sayılarının yaşam boyu yeterli tutulması gerekmektedir. Bunun için de kök hücrelerin önemli bir kısmının siklusa girmeden korunması, ileride hücre ihtiyacının karşılanması için yedeklenmesi lazımdır.

Kök hücrelerin toksik etkilerden, immün sistem atağından kaçabilmesi ve hücre döngüsüne girmeden G0 fazında kalabilmeleri için özel bölgelere ihtiyacı vardır. Kemik iliğinin kalsiyumdan zengin ve oksijenden fakir olan osteoblastik bölgesi, kök hücrelerin yerleşimi ve korunması için gerekli mikro çevresel koşulları sağlamaktadır. Bu özelleşmiş mikro çevreye osteoblastik/endosteal niş (niche) denilmektedir.

Niş, kök hücreleri çevreleyen ortamda yer alan stromal hücreler, MKH'ler, diğer hücre tipleri, ESM/ECM (ekstraselüler matriks/extracellular matrix), fiziksel yapı, hücre-hücre, hücre-ESM ilişkileri sonucu ortama salınan suda çözünebilen faktörler ve hormonal, parakrin faktörlerle oluşan kimyasal/metabolik ortamın bütününü ifade etmektedir. Kİ'de endosteal niş bölgesindeki bu ortam HKH'lerde glikolitik metabolizmayı uyarır ve hücrelerin G0 fazında kalmasını sağlar. Hipoksik olan bu alanda bulunan kök hücrelerde ilaç

akış (eflux) pompaları da aktif olup hücreleri toksik etkilerden korumaktadır. Ayrıca endosteal niş alanının immün ayrıcalıklı bir bölge olduğu ve immün baskılayıcı Treg'ler (Regulatory T cells/CD4+CD25+Foxp3+ Düzenleyici T Hücreleri) yönünden zengin olduğu ileri sürülmektedir.

Bu bölgede sessiz halde bulunan kök hücrelerin gerektiğinde döngüye girerek, stres/hasar halinde ise devamlı döngüde kalıp ardından farklılaşarak organizmanın hücre ihtiyacını karşılaması gerekmektedir. Endosteal alanda osteoblastlar ve stromal hücrelere kuvvetli adezyon gösteren ve sessiz halde bulunan HKH'lerin farklılaşması için bu alandan çıkması, büyüme faktörlerinden zengin olan vasküler/damar yönünden zengin bölgeye göçü gerekmektedir. Vasküler/damarsal niş diye de adlandırılan bu bölgede MKH'ler HKH'lerin tüm hematopoetik hücre tiplerine farklılaşması için gerekli olan G-CSF (Granulocyte colony-stimulating factor/granüosit kolonilerini uyaran faktör), TPO (Thrombopoietin/trombopoetin), EPO (Erythropoietin/eritropoetin) gibi büyüme faktörlerini salgılamaktadır. Bu suda çözünebilen faktörlerin ve mitokondrial aktiviteyi, ROS (Reactive Oxygen Species/Reaktif Oksijen Türleri) yapımını uyaran metabolik ortamın etkisiyle farklılaşan hücreler sinüzoidlerden kana göç ederek/mobilize olarak hematopoetik ve immün fonksiyonları yerine getirirler. Hematopoezin devamı için şart olan bu süreçte sürekli bir hücre trafiği vardır. HKH'nin Kİ endosteal nişine yerleşmesi, gerektiğinde kendini yenilemesi, nişten çıkarak kana mobilize olması, vasküler/damarsal alanda farklılaşması, kana geçerek gerekli dokulara ulaşmasını içeren bu süreçte en önemli rolü oynayan faktörlerin başında kemokinler (örneğin; CXCL12 (C-X chemokine ligand/CX-kemokin ligandı)/SDF-1α (Stromal Cell-Derived Factor-1/Bağ Dokusu Hücreleri Kaynaklı Faktör-1) ve bunların reseptörleriyle ilişkileri (CXCR4), sitokinler, büyüme faktörleri, mobilizan faktörler, ESM yıkımı ve şekillenmesi yer almaktadır.

MKH'lar vücutta eksilen hücrelerin yerini alarak hemostazın sağlanması, zedelenen doku ve organların tamiri ve immün düzenleyici gibi birçok fonksiyonu vardır. MKH tedavilerinin organ zedelenmesinden koruduğu ve yaşam sürelerinin uzamasına neden olduğu, kalp dokusunda fibrozisin azalmasında, damar geçirgenliğinin azalmasında rolü olduğu, VGEF salgılayarak yeni damar oluşumuna katkıda bulunduğu, bir dizi büyüme faktörü salgılayarak dokunun kendi kendisini tamir etmesini sağladıkları, ektoderm tabakası (epitelial hücreler

ve nöron), mezodermal tabaka (bağ doku (stromal) hücreleri, kıkırdak, yağ hücreleri ve kemik hücreleri) ve endoderm tabakası (kas hücreleri, gastrointestinal sistem epitel hücreleri ve karaciğer hücreleri) olan 3 germ tabakasına da farklılaşarak o doku ve organa özgü hücrelere farklılaşıp çoğalmasıyla zedelenme ve hasarın onarılmasına katkı sağladığı, bağ dokusu hücrelerini etkileyerek onları bağ dokuyu oluşturmasını sağladıkları, yangısal sitokinlerin en yoğun olarak salgılandığı başlangıç fazında yangısal sitokinler tarafından uyarılan MKH'ların lisanslanarak yüksek miktarda kemokin ve immün baskılayıcı madde salgılayan ve bu yolla immün cevabı baskılayan bir özellik kazandıkları gösterilmiştir. Bu fonksiyonlarını ekte listelenen immün düzenleyici moleküllerin salgılanması ve eksprese edilmesi ile yapmaktadır.

MKH'lar doğal immün sistem hücrelerinden DC'lerin (Dendritik Hücre/Dendritic Cells), NK (Doğal Öldürücü Hücre/Natural Killer Cells), mast hücreleri, nötrofilleri ve makrofajları baskılayarak, DC düzenleyici DC'lere, M1'lerinde yönünde plastisitesine engel olarak onları MEM (MKH'lar Tarafından Eğitilmiş Makrofaj/MSC Educated Macrophages) tipine dönüşmesini sağladığı, kazanılmış immün sistem hücrelerinden CTL (Cytotoxic T lymphocyte associated protein-4/CTL ile ilgili protein-4), Th1 (Type 1 T Helper Cells/Tip 1 Yardımcı T Hücreleri/Lenfositleri) ve Th17'yi (Type 17 T Helper Cells/Tip 17 Yardımcı T Hücreleri/Lenfositleri) baskıladığı, Th2 (Type 2 T Helper Cells/Tip 2 Yardımcı T Hücreleri/Lenfositleri) ve Treg oluşumunu desteklediği, B hücrelerin aktivasyonunu baskıladığı gösterilmiştir. M2 makrofajların MKH yaşam süresi üzerine pozitif katkı sağladığı bulunmuştur.

MKH'ların immün düzenleyici etkisi nedeni ile klinikte kullanıldığı hastalıkların başında GVHD (Graft versus host disease / graftın alıcıya karşı oluşturduğu hastalık) gelmektedir. Makrofajların aktivasyonun önemli olduğu akut GVHD patofizyolojisinde, MKH'ların makrofajları etkileyerek MEM'lere dönüştürerek yangının baskılanmasında ve belirtilerin gerilemesine katkı sağladığı gösterilmiştir.

Monositler, fetal dönemde yolk sac ve fetal karaciğerdeki hematopoez sırasında ve doğumdan sonrada doğum sonrası hematopoezin ana organı olan Kİ'de HKH'lerden meydana gelirler. Doku makrofajları dokuda yerleşik makrofajlar (tissue resident makrofajlar) ve monosit kaynaklı makrofajlar (monocyte derived macrophages) olmak üzere

iki gruba ayrılır. Plastisiteye neden olan makrofaj aktivasyonu, ilk defa bipolar modda meydana geldiği tanımlanmıştır, sonuçta M1 ve M2 makrofajları oluşur. M2'ye farklılaşan doku makrofajları daha sonra M2a, M2b, M2c olmak üzere alt gruplara ayrılmış ayrıca M2d/TAM (Tumor-Associated Macrophages/Tümörle İlişkili Makrofajlar) alt grubu da tanımlanmıştır. Biomedikal araştırmalarda U937, ML-2, HL-60, MonoMac6, THP-1 monosit hücre dizileri de kullanılmaktadır.

THP-1 akut monositik lösemiye yakalanmış hastadan elde edilen bir hücre dizisidir. THP-1'ler PMA (Phorbol 12-Myristate 13-Acetate) ile inkübe edildiğinde, PBMC'den (Periferik Kan Mononükleer Hücreleri/Peripheral Blood Mononuclear Cell) elde edilen monosit kaynaklı makrofaj hücrelerine plastik yüzeylere yapışması, yüksek fagositik kapasiteye sahip olması ve hücre yüzey belirteçlerini eksprese etmesiyle (CD14 (Cluster of differentiation/farklılaşma kümesi14), CD36, TLR2 (Toll Like Receptor/Toll Benzeri Reseptör) ve CR3 (CD11b/Macrophage-1 Antigen/Integrin αMβ2/Macrophage Integrin)/CD18) benzerlik gösteren THP-1 monosit türevi makrofaj elde edilmektedir.

Makrofajlar immün fonksiyonlarını alt gruplarına göre farklı salgıladıkları ve eksprese ettikleri ekteki immün moleküller aracılığı ile yapmaktadır.

Makrofajlar bakterileri oksijene bağımlı ROS/ROI (Reaktif Oksijen Türleri/Reactive Oxygen Species) ve RNS/RNI (Reaktif Nitrojen Türleri/Reactive Nitrogen Species/Reaktif Nitrojen Aracıları/Reactive Nitrogen Intermediates) ve oksijenden bağımsız (defensinler, TNF-α (Tumor necrosis factor /tümörde nekroz yapan faktör), lizozim ve hidrolitik enzimler iki yolla öldürdükleri bulunmuştur.

MKH ile PMA/THP-1 (PMA ile makrofajlara dönüştürülen THP-1) salmonella enterika varlığında yapılan ko-kültürlerinde ROS seviyesinde artış tespit edilirken, insan PBMC'den elde edilen monositlerle aynı ortamda ko-kültür yapıldığında değişme olmadığı ama ortama LPS (Lipopolysaccharides/lipopolisakkarit) eklendiğinde ROS seviyesinde baskılanma gerçekleştiği bulunmuştur.

Makrofajlar alt gruplarına göre L-arginini farklı enzimler aracılığı ile katabolize ederler. M1 makrofajlar iNOS (Inducible nitric oxide synthase/uyarılabilir nitrik oksit sentezleyen

enzim) aracılığı ile L-arginin'den NO (Nitric oxide) üretimini katalize eder, iNOS ve NO M1 plastisite belirteci olarak kullanılmaktadır. M2 yönünde plastisite makrofajlar ise Arg-1 (Arginase-1) kullanarak L-arginin L-ornitin dönüştürdükleri bulunmuştur. Bu nedenle araştırmacılar tarafından Arg-1 aktivitesi M2 yönünde plastisite belirteci olarak kullanılmaktadır.

MKH ile PMA/THP-1 salmonella enterika varlığında yapılan ko-kültürlerinde NO seviyesinde artış bulunurken, LPS, İFN-γ (İnterferon-gamma) ve TLR9 ligandı olan CpG (Bir sitozin nükleotidinin guanin nükleotidi tarafından izlendiği DNA (Deoxyribo nucleic acid/deoksiribo nükleik asid) bölgeleri) ile ayrı ayrı aktive edilen N9 (Mouse Microglial Cell Lines/Fare Mikroglia Hücre Dizisi) ile uyarımsız ortamda yapılan ko-kültürlerde iNOS mRNA (Messenger Ribo Nucleic Acid/Mesajcı Ribo Nükleik Asit) seviyesinde ve NO metabolitlerinin (Nitrite Ve Nitrat) seviyesinde azalma bulunmuştur. Fare yara modelinde, MI (Miyokard İnfarktüsü/Myocardial Infarction) modelinde, yüksek glikozlu ortamda PMA/THP-1 ile İFN-γ ve LPS varlığında fare BM-DM (Bone marrow derived macrophages/kemik iliği kaynaklı makrofajlar) yapılan ko-kültürlerde Arg-1 seviyesinin arttığı gösterilmiştir.

Makrofajlar demir metabolizmasında da alt gruplarına göre farklı görev almaktadır. M1 makrofajların, yıkılan eritrositlerden heme demirini geri dönüştürdükleri, demirin hücre içi depolanmasında rol oynayan ferritini indükledikleri, serbest demir havuzunu azalttıkları ve hücrelerin içinde metabolik aktive için kullanılan demiri artırdıkları, demirin mikroorganizma için değil kişi için kullanılmasını sağlayarak mikrosidal bir etki gösterdikleri, M2 makrofajların ise hem'' parçalanmasının birinci basamağını katalize eden karbon monoksit, serbest demir ve biliverdin üreten HO-1 / HOX-1 (hem oksijeneaz-1 / heme oxygenase-1) uyarılması ile demir depolanmasını azaltarak demirin salınmasını artırdıkları gösterilmiştir.

Konakçı savunmasında ayrıca otoimmün, malign ve metabolik hastalıkların patogenezine rol oynayan fagositoz, Ilya Mechnikov tarafından 1908 yılında tanımlanmıştır. Ilya Mechnikov bu buluşu ile immünolojiye yaptığı katkılarından ötürü Paul Ehrlich ile birlikte Nobel Fizyoloji veya Tıp Ödülü'nü kazanmıştır. M1 ve M2 plastisite makrofajlarının her ikisinin naif makrofajlara kıyasla artmış fagositik kapasitesi olduğu, ancak yalnızca M1

makrofajların bakterileri fagozomdan temizlemek için solunum patlaması (Respiratory Burst) yapabildikleri M2 makrofajlar artan fagositik kapasitesiyle zedelenen ve apopitoza giden dokuları temizleyerek doku tamir ve yenilenmesinde rol oynadığı bulunmuştur.

MKH'lar makrofajlar ile ko-kültüre edildiklerinde zimozan partiküllerinin, apoptotik partiküllerin, GFP işaretli salmonellanın ve kırmızı renkli floresan parlak mikro küreleri (red dyed fluoresbrite microspheres) fagositozunun arttığı gösterilmiştir.

IDO (indoleamine 2, 3-dioxygenase) hem immün baskılayıcı hem de anti-mikrobial etki gösteren bir enzimdir. İnsan MKH'larının aşırı yüksek seviyelerde IDO salgıladığı ve çok düşük seviyelerde iNOS ürettiği, fare MKH'larının bol miktarda iNOS üretip ve az miktarda IDO salgıladığı ettiği tespit edilmiş, aynı kültür koşulları altında insan MKH'larının immün baskılanmasının IDO aracılı olduğu, fare MKH'ları NO kullandığı gösterilmiştir. MKH ve makrofajların yangı ile ilgili moleküllerin eklendiği ko-kültürlerinde MKH'lardan ve MEM'lerden IDO üretiminin arttığı, yangı söndürücü moleküller eklendiğinde ise IDO üretiminin azaldığı gösterilmiştir.

TSG-6'nın (TNF-α ile uyarılan gen/protein-6/TNF-α stimulated gene/protein-6) yangı ortamında M1 makrofajlardan salgılanarak negatif bir döngüyle yangı sitokinlerinin baskılanmasını sağladığı, makrofajların CD206+ İL-4 ve İL-10/CSIF (Cytokine synthesis inhibitory factor /sitokin sentezi inhibitör faktörü) salgılayan M2 plastisitesine neden olduğu bulunmuştur. MKH ve makrofajların uyarımsız ve yangı ile ilgili moleküllerin eklendiği ko-kültürlerinde MKH'lardan ve MEM'lerden TSG-6 üretiminin arttığı bulunmuştur.

Fas hücre ölüm yüzey reseptörü olarak adlandırılmaktadır. Fas'ın FasL (Fas ligandı / CD95) bağlanması kaspaz aktivasyonu aracılığı ile Fas eksprese eden hücrenin apopitozuna neden olduğu gösterilmiştir. MKH, T lenfosit ve makrofajların yapılan ko-kültürlerinde, MKH ve T lenfositler arasında FasL/Fas bağlantısının sonucu T lenfositlerin apopitozu gerçekleştiği, apopitoza giden T lenfositlerinin makrofajlar tarafından fagositoz edildiği ve TGF-β (Transforming Growth Factor/Dönüştürücü Büyüme Faktörü) salgılandığı bulunmuştur.

PGE-2'nin (Prostaglandin E-2) COX2'ye bağlı olarak üretildiği ve immün hücreleri baskılayarak Treg oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir. MKH ve makrofajların uyarımsız

ve yangı ile ilgili moleküllerin eklendiği ko-kültürlerinde MKH'lardan PGE2 salgılandığı, MEM'lerde CD206 ve EP2 ekspresyonun arttığı TNF-α salgılanmasını baskıladığı, İL-10 ve İL-1ra (Interleukin-1 receptor antagonisti /interlökin-1 reseptör antagonisti) salgılanmasının arttığı bulunmuştur.

Kortikosteroidler, omurgalıların adrenal korteksinde üretilen steroid hormonlardır. Kortikosteroidler GC'ler (Glucocorticoids / glukokortikoid) ve mineralokortikoidler olarak iki ana grubu ayrılır. GC'ler yangı ile ilgili mediatörlerin etkisini engelleyerek ve yangı söndürücü mediatörlerin salınımını artırarak yangı söndürücü etki gösterdiği, PG'nun (Progesteron) ise santral sinir sisteminin hipotalamik, hipofiz ve gonadal aks üzerinden (hypothalamic-pituitary-gonadal axis) uyarımları ile salgılanan ve GC'lerin salgılanmasını sağlayan bir steroid ve seks hormonu olduğu gösterilmiştir. MKH ve makrofajların GM-MCF eklendiği ko-kültürlerinde MKH'ların GC ve PG salgılayarak monositleri MEM plastisitesine neden olduğunu bulunmuştur.

TGF-β (Dönüştürücü Büyüme Faktörü-Beta/Transforming Growth Factor-Beta)'nın makrofajlar başta olmak üzere immun ve immün olmayan hücreden inaktif formda salgılandığı daha sonra integrinlere bağlanarak aktive olduğu, makrofajların efektör fonksiyonu ve antijen sunumunu baskıladığı, M2 plastisitesini sağladığı gösterilmiştir. MKH ve makrofajların yangı ile ilgili ve yangı söndürücü moleküllerin eklendiği ko-kültürlerinde hem MKH'dan hem MEM'den TGF-β üretimin arttığı bulunmuştur.

Sitokinler akut ve kronik yangıda rol oynayan ve hücrelerin fonksiyonlarını düzenleyen moleküllerdir.

İFN-γ'nın makrofajlar tarafından üretildiği, monositleri aktive ettiğinde M1 plastisitesine ve onlardan yüksek seviyelerde IFN-γ ve TNF-α salgılanmasına, MKH'nın ise lisanslamasına ve yangı söndürücü özellik kazanmasına neden olduğu gösterilmiştir. Fare kolit modelinde MKH'ların uygulandıktan sonra kolon dokusunda İFN-γ'nın azaldığı bulunmuştur.

TNF-α'nın yangı başlatıcı olarak birçok yangısal hastalığın patogenezinde rol oynadığı bildirilmiştir. Makrofajlar, yangı ortamında DAMP'ların (Damage associated molecular patterns/hasara bağlı moleküler kalıplar) ve LPS uyarımına yanıt olarak TNF-α'nın başlıca

üreticileri olup aynı zamanda TNF-α'ya karşı da oldukça duyarlı oldukları, makrofajların çoğalıp uzun süre yaşaması üzerine otokrin salınan TNF-α'nın etkisi olduğu, TNF-α'nın İFN-γ ile birlikte makrofajlarda M1 yönünde plastisiteye neden olduğu MKH'ların ise lisanslamasına ve yangı söndürücü özellik kazanması (PGE2 salgılanması), VEGF (Vascular endothelial growth factor/ damar endotel tabakası için büyüme faktörü), FGF2 (Fibroblast growth factor/fibroblast büyüme faktörü), HGF (Hepatocyte growth factor/hepatosit büyüme faktörü) ve IGF-1 (Insulin like growth factor-1/insüline benzer büyüme faktörü-1) gibi büyüme faktörleri salgılayarak doku iyileşmesine katkısında ve iskemik dokulara göçünün artması neden olduğu gösterilmiştir. MKH ve makrofajların yangı ile ilgili moleküllerin eklendiği ko-kültürlerinde hem de MKH'nın tedavi olarak uygulandığı fare yangı modellerinde MEM'lerden TNF-α üretiminin azaldığı bulunmuştur.

İL-1α (Interleukin-1alfa) makrofajlarda hem salgılandığı hem de membran formunda da bulunduğu, İL-1β'nın ise kan monositleri ve doku makrafajları gibi hematopoietik kökenli hücrelerde TLR aktivasyonu ve yangı sitokinlerine yanıt olarak üretildiği daha sonra aktive olduğu, İL-1α ve İL-1β'nın aynı reseptöre bağlandığı, İL-1α ve TNF sinerjik etki göstererek akut faz sitokini (acute phase cytokines) olarak yangı oluşumuna neden olduğu, İL-1α'nın fonksiyonu İL-1ra tarafından baskılandığı, uyarılmayan MKH'ların sürekli İL-1ra salgıladıkları, İL-1α veya İL-1β ile uyarılanların ise hareket edip ve aktive oldukları, G-CSF ile NO salgısını artırdığı gösterilmiştir. MKH ve makrofajların uyarımsız ve yangı ile ilgili moleküllerin eklendiği ko-kültürlerinde, fare yangı modellerinde İL-1α ve İL-1β seviyesinin düştüğü bulunmuştur. Ayrıca ko- kültürlerde MKH'larda İL-1ra seviyesinin arttığı buna bağlı MEM'lerde TNF-α salgılanmasının inhibe edildiği ve MKH'lardan salgılanan PGE2'ye bağlı olarak MEM'lerde İL-1ra gen düzeyinin arttığı gösterilmiştir.

İL-2'nın makrofajlardan **ve** MKH'lardan salgılandığı, üzerlerinde İL-2R bulunduğu gösterilen monosit ve makrofajların aktivasyonunda rol oynadığı bildirilmiştir. MKH ve makrofajların uyarımsız ve yangı ile ilgili moleküllerin eklendiği ko-kültürlerinde İL-2 seviyesinin düştüğü bulunmuştur.

İL-5'nın İL-10 ve İL-23/İL-33 uyarımına yanıt olarak Th2 sitokini olan İL-5 ve İL-13 salgıladıkları gösterilmiştir. MKH ve makrofajların uyarımsız ve yangı ile ilgili moleküllerin eklendiği ko-kültürlerinde İL-5 seviyesinin düştüğü bulunmuştur.

İL-6'nın hem yangı başlatıcı bir sitokin hem de yangı söndürücü bir miyokin gibi davranan bir interlökin olduğu, yangı başlatıcı olarak aktive M1 makrofajlardan doku zedelenmesini takiben akut faz cevabının/yangı oluşması için salgılandığı ve monositlerin makrofajlara dönüşümüne neden olduğu, yangı söndürücü olarak da kaslardan salgılanarak immün hücrelerde TNF-α ve İL-1 salgılanmasını inhibe edip İL-1ra ve İL-10 salgılanmasını uyardığı ayrıca aktive M1 makrofajlardan salgılanan İL-6'nın yangı kontrol altına almak adına makrofajların M2 yönünde plastisitesinde rolü olduğu, MKH'ların uyarımsız halde İL-6 salgıladığı yangı ortamında bu salgısının daha da arttığı gösterilmiştir. MKH ve insan kaynaklı makrofajların uyarımsız ve yangı ile ilgili moleküllerin eklendiği ko-kültürlerinde ve fare modellerinde MKH'lar İL-6 salgılarken, MEM'lerdeki İL-6 salgılanma düzeyi hücrenin kaynağı ve uyarıma göre değişiklik göstermektedir.

LIF (Leukemia Inhibitory Factor) İL-6 sitokin ailesinin en pleiotropik üyesidir. İnsan MKH'larında salgılandığı ve monosit/makrofaj aktivasyonunda rol oynadığı gösterilmiştir. MKH ve makrofajların GM-CSF (Granulocyte macrophage colony stimulating factor/granüosit monosit kolonilerini uyaran faktör) eklendiği ko-kültürlerinde MKH'larda LİF salgısının arttığı bulunmuştur.

İL-7, MKH ve makrofajlardan salgılandığı ve yangı oluşumunda rol oynadığı gösterilmiştir.

İL-9 varlığının LPS ile uyarılan makrofajlarda solunum patlamasını TNF–α ve İFN-γ salgılanmasını engelleyerek Th1 cevabını oluşturamadığını ve TGF-β salgısına neden olduğu, MKH'ların T lenfositlerden İL-9 salgılanmasına neden olduğu bulunmuştur.

İL-4 ve İL-13 makrofajların M2 plastisitesinin sağlanmasında genelde birlikte kullanılmaktadır. İL-4 yangı söndürücü bir sitokin olarak kabul edilmektedir. Yapılan çalışmada hem fare hem de insan BM-MKH'ların (Bone marrow derived MSC / kemik iliği kaynaklı MKH) İL-4 salgıladıkları, makrofajların hem uyarıma yanıt olarak hem de otokrin

olarak İL-13 salgıladıkları gösterilmiştir. MKH ve makrofajların ko-kültürlerinde İL-13 salgısında artma olduğu bulunmuştur.

İL-10/CSIF M2 makrofajlardan salgılanarak M1 makrofajların fonksiyonunu inhibe ettiği, ortamda bulunan İL-10 aracılığı ile monositlerin M2 yönünde plastisitesine neden olduğu, MKH'ların uyarımsız koşulda İL-10 salgılamasına ait değişik bulgular vardır. MKH'lerin İL-10 salgılayıp salgılamadığı halen araştırma konusudur. MKH ve makrofajların ko-kültürlerinde ve hayvan modellerinde MKH'lardan salgılanan İL-10, PGE2, İL-6 ve İDO aracılığı ile MEM'lerden İL-10 salgılandığı bulunmuştur.

İL-11'in MKH'lardan İL-11 salgılandığı, İL-11'in M1 makrofajlar üzerinde inhibe etkisi olduğu bulunmuştur.

İL-12(İL-p70)'nin p35 ve p40 alt birimlerinden oluştuğu, aktive makrofajlardan salgılandığı, İL-12p80 (p40/p40) homodimerinin İL-12 reseptörüne bağlandığı ve güçlü bir İL-12 (İL-12p70) antagonisti olarak davrandığı gösterilmiştir. MKH ve makrofajların uyarımlı ve uyarımsız ko-kültürlerinde ve hayvan modellerinde İL-12 (İL-12p70)(p35/p40) salgılamasının azaldığı p40 alt biriminin seviyesinin ise arttığı gösterilmiştir.

İL-15'nın makrofajlarda yüksek konsantrasyonda otokrin bir yangı başlatıcı olarak rol oynayarak TNF-α, İL-1 ve İL-6 salgılanmasını sağladığı, düşük konsantrasyonda ise İL-10 salgılanmasına neden olduğu, MKH'ların da İL-15 salgıladıkları gösterilmiştir. MKH ve makrofajların uyarımsız ko-kültürlerinde İL-15 seviyesinin düştüğü bulunmuştur.

İL-17'nin astımda makrofajlardan salgılandığı, İL-17A ve İL-17F yangı yeri ve tipine göre yangı başlatıcı cevaba aracılık ettiği, MKH'ların İL-17R eksprese ettikleri ve İL-17Ra salgıladıkları, MKH'ların bir alt grubunun İL-17 salgılayarak otokontrolle MKH aracılı immün modülasyonu azalttığı gösterilmiştir. MKH ve makrofajların uyarımsız ve uyarımlı ko-kültürlerinde ve hayvan modellerinde İL-17 seviyesinde azalma olduğu bulunmuştur.

İL-18'nın (İFN-γ uyaran faktör/IFN-γ inducing factor) makrofajlardan salgılandığı ve monositleri aktive ederek M1 yönünde plastisiteye neden olduğu, kontrolsüz aşırı salınımının MAS (Makrofajların Aktive Olduğu Sendrom/Macrophage Activation

Syndrome) neden olduğu bulunmuştur. MKH ve makrofajların yangısal moleküllerle yapılan ko-kültürlerinde İL-18 salgısının azaldığı bulunmuştur.

İL-23'ün M1 makrofajlardan salgılandığı ve monositleri M1 yönünde plastisitesine neden olduğu gösterilmiştir. MKH ve makrofajların yangısal moleküllerle uyarımlı ve uyarımsız ko-kültürlerinde İL-23 salınımının azaldığı, MKH'larda osteojenik farklılaşmasında artma bulunmuştur.

İL-27'nin aktive makrofajlardan salgılanarak aktivasyonu inhibe ettiği, MKH'larda da üretildiği bulunmuştur.

RANK-L (NF-κB (Çekirdek Transkripsiyon Faktörü kappaB /Nuclear Transcription Factor-kappaB) Reseptör Aktivatör Ligandı/Receptor Activator of NF-κB Ligand) MKH'lar tarafından salgılandığı, monositlerin RANKR eksprese ettiği, MKH ve makrofajların uyarımsız ko-kültürlerinde RANK-L seviyesinin değişmediği bulunmuştur.

M-CSF (Macrophage Colony-Stimulating Factor), G-CSF ve GM-CSF farklılaşma faktörleri olarak adlandırılmaktadır. MKH'lardan ve makrofajlardan salgıladığı gösterilmiştir. MKH ve makrofajların uyarımsız ko-kültürlerinde M-CSF seviyesi azalırken yangısal moleküllerle uyarımlı ko-kültürlerinde arttığı bulunmuştur.

IGF-1, HGF, PDGF (Platelet Derived Growth Factor/Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü), EGF (Epidermal Growth Factor), FGF-9 ve Ang Angiopoietin (Anjiopoetin) düzeyinin MKH ve makrofajların uyarımsız ko-kültürlerinde azaldığı, VEGF seviyesinin ise arttığı bulunmuştur.

MHC (Major Doku Uygunluk Kompleksi/Major Histocompatibility Complex) sınıf-I ve sınıf-II hücre yüzeyi proteinlerinin, antijen sunan hücrelerde antijen bağlanma bölgesinde (Antigen Binding Groove) peptit parçacıklarına bağlanarak bunları hücre yüzeyinde uygun T lenfositlerine sunmakla görevli olduğu, MKH'ların normal koşullarda MHC sınıf-I moleküllerini eksprese ettikleri halde MHC sınıf-II molekülleri eksprese etmedikleri, HLA-G (klasik olmayan HLA (Human leukocyte antigens/insan lökosit antijeni) sınıf-I molekülü) üzerinden immün baskılama yaptığı, MKH'ların İFN-γ ile uyarıldıklarında MHC sınıf-I

ekspresyonunu artırdığı MHC sınıf-II ekspresyonunu da uyardığı gösterilmiştir. MKH ve makrofajların uyarımsız ko-kültürlerinde MEM'lerin MHC sınıf-I (A,B ve C) eksprese etmeye devam ettikleri, MKH tarafından eksprese edilen HLA-G üzerinden MEM'lerin fonksiyonlarının baskılandığı, MHC sınıf-II (HLA-DP, DR, DQ) ekspresyonu incelendiğinde MEM'ler de azaldığı, spesifik olarak insan PBMC'den üretilen makrofajlarla yapılan ko-kültürlerde MEM'lerde HLA-DR ekspresyonun arttığı PMA/THP-1'lerle olanda HLA-DR ekspresyonunda azalma olduğu bulunmuştur.

CTLA-4/CD152 (CTL İle İlgili Protein-4/CTL Associated Protein-4), PD-L1/B7-H1/CD274 (Programlanmış Ölüm Bağı-1/Programmed Death-Ligand-1), PD-L2/B7-DC/CD273 ve B7-H4 (B7 Homoloğu-4/B7 Homolog-4) ko-inhibitör molekül olarak adlandırılmaktadır. MKH'ların bu ko-inhibitör moleküller aracılığı ile immün baskılama yaptığı, MKH ve makrofajların ko-kültürlerinde MEM'lerde ko-inhibitör moleküllerin ekspresyonun arttığı bulunmuştur.

Galektinlerin beta-galaktozidlere afiniteye sahip bir hayvan lektin ailesi olduğu, hücre içi ve hücre dışında inhibitör fonksiyon gösterdiği, makrofajlarda da bulunduğu aynı zamanda galaktinler aracılığı ile M2 yönünde plastistesinin sağlandığı, MKH'larında galaktinler aracılığı ile immün baskılama yaptığı bulunmuştur.

NURR1'un (çekirdek reseptör ile ilgili protein -1/the nuclear receptor related protein-1) yangıyı baskılamakta rol oynadığı, MKH'larda yüksek düzeyde eksprese edildiği, MKH ve makrofajların ko-kültürlerinde MEM'ler de NURR1 mRNA üretiminin azaldığı bulunmuştur.

CD200R inhibitör bir reseptör olarak tanımlanmış olup İL-4 ve İL-13 ile M2a plastisitesi sağlanmış makrofajlar da CD200R ekspresyonun arttığı bu yüzden M2 makrofajlar için bir belirteç olarak kullanılabileceği MKH'lerin de CD200 eksprese etikleri gösterilmiştir. MKH ve makrofajların ko-kültürlerinde MEM'ler de CD200R ekspresyonunun arttığı bulunmuştur.

TREM2'un (Sadece Miyeloid Hücrelerde Eksprese Edilen Tetikleyici Reseptör-2/Triggering Receptor Expressed On Myeloid Cells-2) MKH ve M2 makrofajlar da eksprese

edilen bir inhibitör reseptör olduğu gösterilmiştir. MKH ve makrofajların ko-kültürlerinde MEM'ler de TREM2 ekspresyonun arttığı bulunmuştur.

ICAM-1/CD54 (Hücreler Arası Yapışma Molekülü-1/Intercellular Adhesion Molecule-1)/LFA-1 (Lenfosit Fonksiyonu İle İlgili Antijen-1/Lymphocyte Function Associated Antigen-1) ve VCAM-1 (Damar Hücre Yapışma Molekülü-1/Vascular Cell Adhesion Molecule-1)/VLA-4 (Integrin α4β1/Çok Geç Antijen/Very Late Antigen) hücre yapışmasına aracılık eden moleküller olarak adlandırılmakta olup makrofaj ve MKH'larda da eksprese edildiği gösterilmiştir. MKH ve makrofajların ko-kültürlerinde MKH'lar da ICAM-1/CD54 ekspresyonu artarken MEM'ler de azaldığı bulunmuştur.

HA (Hyaluronik Asid) bir diğer hücre yapışmasına aracılık eden molekül olduğu gösterilmiştir. MKH ve makrofajların ko-kültürlerinde MKH'lar da artarak MEM'lerin MKH'lara yapışmasına aracılık ettiği gösterilmiştir.

TLR'ler PRR (Kalıp Tanıma Reseptörleri/Pattern Recognition Receptors) grubunda yer almakta olup ve PAMP (Patojen İlişkili Moleküler Paternleri /Pathogen Associated Molecular Patterns) olarak adlandırılan yapıların tanınmasına aracılık ettiği, hem MKH'larda hem de makrofajlar da eksprese edildiği gösterilmiştir.

Makrofajların TLR2 üzerinden uyarılması yangısal bir rol oynarken, MKH ve makrofajların ko-kültürlerinde MEM'lerin TLR2 ekspresyonunu azalttıkları ve sinyal yolağının engellendiği bulunmuştur.

Makrofajlar dsRNA (Çift Sarmallı RNA/Double Stranded RNA) ve poli(I:C) (Polyinosinic-Polycytidylic Acid/dsRNA (Çift Sarmallı RNA) Sentetik Analoğu) ile TLR3 üzerinden uyarıldıkları zaman anti-viral immünite de rol oynarlar. MKH'ların yüksek düzeyde İFN-γ ve TNF-α bulunduğu ortamda TLR3 üzerinden uyarılması ise MKH'ların "yangı söndürücü MKH''/MKH2 olarak adlandırılan tipine plastisitesine neden olduğu gösterilmiştir. MKH ve makrofajların ko-kültürlerinde MEM'lerin CD206+,CD163+, İL-6, İL-10 ve CCL18 (C-chemokine ligand / C-kemokin ligandı) salgılayan MKH'lara daha yüksek oranda yapışan bir tipe dönüştükleri bulunmuştur.

LPS/TLR4 üzerinden gelen sinyallerin makrofajları M1 yönünde plastisitesine neden olduğu, MKH'ların yüksek doz LPS ile TLR4 üzerinden prime edilmesinin IDO, İL-6 ve PGE2 gibi immün baskılayıcı moleküllerin sentezine neden olduğu makrofajlarda yapılan ko-kültürlerde ve yangısal hayvan modellerinde makrofajlarda yangı ile sitokinlerin salgısının azalarak İL-10 salgısının arttığı MEM'lerin yangı söndürücü özellik kazandığı gösterilmiştir.

MKH'lerin TNF–α (20 ng/ml) ve İFN-γ (20 ng/ml) veya LPS (10 ng/mL) ile TLR4 üzerinden kısa süreli düşük dozda prime edilmesinin ise, makrofajların M1 yönünde plastisitesine neden olan, yangısal tipte MKH plastisitisitesine neden olduğu bulunmuş ve bu tür MKH1 olarak adlandırılmıştır. Bu durum MKH'nın yangının erken dönemindeki veya bulaştan uzak olduğu durumunu taklit ettiği düşünülmektedir.

CpG veya CG (bir sitozin nükleotidinin guanin nükleotidi tarafından izlendiği DNA bölgeleri)/TLR9 üzerinden gelen sinyallerin makrofajların yangı başlatıcı yönde plastisitesine neden olduğu, MKH'ların CpG/TLR9 prime edildiğinde ise B lenfosit yaşamının uzaması, çoğalmasına ve farklılaşmasına neden olduğu gösterilmiştir. MKH'ların CpG/TLR9 prime makrofajlarla yapılan ko-kültürlerinde MEM'lerde CX3CR (CX3 chemokine receptor/CX3-kemokin reseptörü), NURR1, HOX1, PARP (Poly ADP-ribose polymerase) ve TNF-α mRNA seviyesinin düştüğü bulunmuştur.

Kemokinler, hücreler tarafından salgılanan ve duyarlı hücrelerde kemotaksi/göçü, hücrelerin yaşamda kalmasını, integrin aktivasyonunu ve adezyonunu uyarma yeteneği olan kemotaktik sitokinlerdir. MKH ve makrofajların ko-kültürlerinden sonra MKH'larda CCL-1, CCL-2/MCP-1 (Monosit Kemoatraktan Protein-1/Monocyte Chemoattractant Protein-1), CCL-5/RANTES (Aktivasyonda düzenlenen, normal T lenfositler tarafından salgılanan ve eksprese edilen/ Regulated On Activation, Normal T Cell Expressed And Secreted), CXCL5/ENA-78/LIX (Epitelde Nötrofil Aktive Eden Peptid/Epithelial Neutrophil Activating Peptide) (The Limb Expression-1/LPS Induced CXC Chemokine/LPS Tarafından Uyarılan CXC Kemokini/Lipopolysaccharide Induced CXC-Chemokine), CXCL10 ve CX3CL1'de (C-X3 chemokine ligand /CX3-kemokin ligandı) artma, CXCL1/ GROα/KC (Büyüme İle Düzenlenen Onkogen Alfa/Growth Regulated Oncogene Alpha) ve İL8/CXCL8'de azalma olduğu gösterilmiştir. Ko-kültür sonrası MEM'lerde ise CCL-1,

CCL2/MCP-1, CCL18, CCR7(CD197) (C-C kemokin reseptör tip 7/C-C chemokine receptor type 7), CXCL12/SDF-1 ve CXCL1de artma ve CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-α (Makrofaj yangısal Protein-alfa/Macrophage Inflammatory Protein-alfa), CCL5/RANTES, CCR7(CD197), CCL22/MDC (Makrofaj Tarafından Üretilmiş Kemokin/Macrophage-Derived Chemokine), İL-8/CXCL8 ve CXCR1'de kültür şekli ve kullanılan hücrenin kaynağına göre azalma olduğu bulunmuştur.

CD (Farklılaşma Kümesi/Cluster of Differentiation) işaretleri lökositler ve bağışıklık sistemi ile ilgili diğer hücrelerin yüzeyinde sentezlenmekte olup hücrelerin immün fenotipini belirlemeye yarayan bir moleküldür. MKH'ların makrofajlarla yapılan ko-kültürlerinde MEM'ler de CD54/ICAM-1 (Intercellular adhesion molecule-1/hücreler arası yapışma molekülü-1) ekspresyonun arttığı, MEM'ler de, CD54/ICAM-1, CD50/ICAM-3, CD11b ve CD40 ekspresyonun azaldığı, CD16, CD68, CD163, CD204, CD205 ve CD206'nın arttığı ko-kültür koşulları ve hücre kaynağına göre CD14, CD36, CD80, CD86 ve CD209'un ekspresyon seviyesinin değişiklik gösterdiği bulunmuştur.

Vücutta yangıda iyileşme yangı ajanın uzaklaştırılması, aktive olan immün sitemin baskılanarak bazal seviyeye dönmesi ve zedelenen doku ve organın tamiri ile mümkündür. Kİ niş bölgesinde ve yangı alanında oldukça dinamik çözünür halde olan immün moleküller ve hücre-hücre etkileşimleri (crosstalk) MKH'ların plastisitesi üzerine etkilidir. MKH'lar yangı ortamında zedelenen doku ve organın hücrelerine dönüşerek, büyüme faktörler salgılayarak zedelenen doku ve organın kendisine ait hücreleri aktive ederek çoğalmasını sağlayarak, fibroblastları aktive ederek destek dokunun oluşumunu sağlayarak ve aktive olan immün hücreleri baskılayarak doku ve organ zedelenmesinin tedavisine katkı sağlamaktadır. Yangıda aktif olarak rol oynayan immün sistem hücrelerinin başında monosit/makrofajlar gelmektedir. Çeşitli yangısal hastalıklarda, Hemofagositik Sendromda, özellikle KİT/HSCT sonrasında gelişen komplikasyonların (GVHD) patogenezinde makrofajların aşırı aktivasyonun rol oynadığı gösterilmiştir.

MKH'lar hastalık mikro çevresini taklit eden uyaranlarla prime edildiği zaman immün düzenleyici özellikleri daha da artabilmektedir. Ancak prime MKH'ların klinikte makrofaj aktivasyonun patogenezinde rol oynadığı hastalıklarda tedavi amaçlı rutin olarak kullanılabilmesi için MKH'ların çeşitli mikro çevrelerde karakterizasyonu, makrofajlar

üzerine olan immün düzenleyici etkilerinin, makrofajların çeşitli mikro çevrelerde karakterizasyonu ve mikro çevre ile makrofajların MKH üzerine etkisinin detaylı olarak karakterize edilmesi gerekmektedir. Buna amaca yönelik insan çalışmaları çok kısıtlı olması nedeniyle klinikte etkin bir şekilde kullanılamamaktadır.

Biz de bu nedenle MKH'ların immunoregulatuvar özelliklerinin incelenmesi amacıyla in-vitro olarak çeşitli hastalık ortamlarını taklit eden mikro çevrelerde insan BM-MKH'lerin makrofajlar ile karşılıklı etkileşimlerini ve plastisitelerini araştırdık.

Çeşitli hastalık modellerini taklit eden mikro çevrelerde MKH ve PMA/THP-1'lerin plastisitesini yüzey işaretleri, immün molekül salgısı, hücre çoğalması ve fonksiyonu açısından detaylı olarak ilk defa inceleyecek bu kapsamlı çalışma, bu alanda bilgi birikimine, dolayısıyla da tedavisinde MKH'ların immün modülatör özelliklerini artırarak optimal tedavi koşulların sağlanabilmesine ve kişiye özel tedavi geliştirilmesine katkıda bulunacağından dolayı translasyonel tıp alanında özel bir önem taşımaktadır.

Bu çalışma insan vücudunda bulunan monosit/makrofajlardan bazı yönlerden farklılık gösteren PMA ile aktive insan monositik hücre dizisi olan THP-1 ile yapıldığı için insan vücudundaki olayları yüzde yüz yansıtamaması bu çalışmanın en büyük sınırlılığıdır.

Bu çalışmada MKH kaynağı olarak, Pedi-Stem biobankası tarafından örnekleri araştırma amaçlı depolanmak üzere onamları alınan sağlıklı gönüllü vericilerin Hacettepe Üniversitesi Pediatrik Kemik İliği Nakil Ünitesinde Kİ toplanması sırasında alınan Kİ örneklerinden laboratuvar ortamında dansiteye göre ayrıştırma yöntemi ile izole edilen elde edilen MNC'lerden (Mononuclear Cell/Tek Çekirdekli Hücreler) üretilen daha sonrada birleştirilerek havuz oluşturulan pasaj 3 ile pasaj 6 arasındaki BM-MKH'ları, monosit kaynağı olarak da PMA/THP-1'ler kullanıldı.

MKH'ler ISCT (International Society for Cellular Therapy/Uluslararası Hücresel Terapi Derneği) kriterlerine uygunluğu morfolojik olarak inverted mikroskop ile incelendi, immün fenotiplendirme ile bağ dokusu (stromal) yüzey işaretleri (pozitif: CD105, CD90, CD73, CD44 VE CD29) ve hematopoietik işaretler (negatif: CD45 (Lymphocyte common antigen (lenfosit ortak antijeni), CD34 ve CD14) açısından analiz edildi, osteojenik farklılaşmaları

(kemik dokusu) ARS (Alizarin red S dye/alzerin kırmızsı S boyası) boyası ile boyanarak, adipojenik (yağ dokusuna) farklılaşmaları ORO (Oil Red O/yağ dokusu kırmızı O boyası) boyasıyla ile boyanarak ve farklılaşmanın 492 nm dalga boyunda okutulan kolorimetrik sonuçları analiz edilerek gösterildi.

Monosit kaynağı olarak 100 nM PMA içeren RPMI%10 içinde makrofajlara dönüştürülen THP-1'lerin kullanılmasına karar verildi.

İlk aşamada uyarımsız MKH kültür süpernatanlarının THP-1'lere etkileri daha sonra MKH ve PMA/THP-1'ler plastisite sürüklemek için ayrı ayrı ve birlikte (prime MKH+prime PMA/THP-1, uyarımsız MKH+prime PMA/THP-1 ve prime MKH+uyarımsız PMA/THP-1) poli(I:C), İFN-γ + düşük doz LPS, TNF-α ve yüksek doz LPS ve İL-4+ İL-10 +İL-13 ile muamele edildikten sonra direkt ve transvel ortamında ko-kültürü yapılarak hem çözünür faktörler hem de hücre-hücre temas etkilerinin MKH'ler ve makrofajların plastisitesi üzerine karşılıklı etkileşimleri; akım sitometri ile yüzey belirteçlerinin analiz edilmesi, Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-Plex Immunoassay kiti (FGF basic, Eotaxin (Eosinophil chemotactic protein/eozinofilik kemotaktik protein), G-CSF, GM-CSF, IFN-γ, İL-1β, İL-1rRA, İL-2, İL-4, İL-5, İL-6, İL-7, İL-8, İL-9, İL-10, İL-12 (p70), İL-13, İL-15, İL-17, IP-10, MCP-1, MIP-1α, MIP-1β, PDGF-BB, RANTES, TNF-α ve VEGF), hTGF-β ELISA (The enzyme linked immunosorbent assay/enzime bağlı immünosorbent analizi) kiti, hCCL-22 ELISA kiti ve hIDO ELISA kiti ile salgılanan immün moleküllerin değerlendirilmesi, BrdU (Bromodeoxyuridine/bromo deoksi üridin) ve 7AAD işaretlenen PMA/THP-1'lerin çoğalması akım sitometri ile test edilmesi, E. Koli (Escherichia coli (K-12 strain)) biopartikülleri kullanılarak fagositoz değerlendirilerek incelendi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kök Hücre (Stem Cell)

Kök hücreler, çeşitli dokulara farklılaşma potansiyeline sahip, herhangi bir doku spesifik fonksiyonu olmayan farklılaşmamış hücrelerdir. Evrim Teorisi Darwin (1860) tarafından ortaya atıldıktan sonra Alman Biyolog Haeckel (1873) "Yaradılışın Doğal Tarihi'' isimli çalışmasında ilk defa kök hücre terimini kullanmış, embriyodaki daha özel hücrelere dönüşebilen farklı hücre kısımlarına atıfta bulunan kök hücre terimi ise August Weismann tarafından "germ plasm" teorisi (Die Continuita¨ t des Keimplasmas als Grundlage einer Theorie der Vererbung) olarak 1885 yılında ortaya atılmıştır (Britannica, 1998).

Embriyonik kök hücreyi somatik hücrelerden ayıran en belirgin özellik olan kök hücre havuzunun devamını sağlaması amacıyla kök hücrenin bölünerek kendisine benzer bir kök hücre oluşturduğu simetrik hücre bölünmesi (kendini yenileme/self renewal) ve özelleşmiş bir hücre tiplerini oluşturabilme potansiyeline sahip başka bir hücrenin oluşumunun sağladığı asimetrik hücre bölünmesi (Wilson ve Trumpp, 2006) Haecker (1892) tarafından embriyodaki kök hücrelerde tanımlamıştır.

Artur Pappenheim 1905 yılında hematopoezin diyagramını çizerek bütün kan sistemi hücrelerinin "kök hücre/stem cell" olarak adlandırdığı ortak bir öncü hücreden köken aldığını ilk defa teorilemiştir (Ramalho-Santos ve Willenbring, 2007).

Kök hücre literatür içeriğinde ilk defa Sabin, Doan ve Forkner (1932) tarafından ve literatür başlığında başlığın da ise Arrick (1947) tarafından "Stem cell lymphoma of the newborn" başlıklı makalesinde kullanılmıştır. (Sabin ve diğerleri, 1932) tarafından yayınlanan makalede veriler açık ve net bir şekilde HKH/HSC var olduğunu ve radyasyonla zarar gördüğüne işaret edilmesiyle birlikte Becker, McCulloch ve Till (1963) tarafından yüksek etkili bir çalışma ile (high impact paper) fare Kİ/BM'un (Kemik İliği/Bone Marrow) nakledilmesi ile dalakta kolonilerin oluşumunun gösterilmesi ile ilk defa Kİ'nin kök hücre içeriği ispatlanmıştır.

İlk defa Gatti, Meuwissen, Allen, Hong ve Good (1968) HKH'leri transfer ederek KİT/HSCT (Kemik İliği Transplantasyonu/Hematopoietic Stem Cell Transplantation)

gerçekleştirmiş ağır SCID'li (Kombine İmmün Yetmezlik Hastalığı/Severe Combined İmmunodeficiency) ikiz kardeşleri başarıyla tedavi etmiştir.

Prindull ve Prindull (1978) tarafından insan kordon kanında HKH'lerin varlığı gösterilmesinden sonra G. R. Martin (1981) tarafından ilk defa farelerden, Doetschman, Williams ve Maeda (1988) tarafından sıçanlardan ve Thomson ve diğerleri (1995) primatlarda in vitro olarak kök hücre dizisi oluşturulmasıyla kök hücre çalışmaları hız kazanmış ve 19. yüzyılın sonunda Edinburgh'da Roslin Enstitüsü'nde "Dolly'' ismi verilen bir koyunun klonlanması başarılmıştır (Campbell, McWhir, Ritchie ve Wilmut, 1996). Her ne kadar (Thomson ve diğerleri, 1998) tarafından insan embriyonik kök hücre dizisi türetilmiş olsa da etik nedenlerden dolayı insan embriyonik kök hücreler alanında araştırma yapılamamaktadır. Bonnet ve Dick (1997) yaptıkları bir çalışma ile kanser kök hücrelerinin varlığını ortaya koymuştur.

Bu gün birçok araştırmacı kök hücrelerle ilgili çalışmalarına devam etmektedir. NIH (Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü/National Institutes of Health, USA) tarafından hazırlanan Amerikan Tıp Kütüphanesi'nin (US National Library of Medicine) araştırma motorunda bulunan kök hücreyle ilgili yapılan çalışma sayısı hali hazırda 376 099 geçmiştir (PubMed, 2018).

Kök hücreler; embriyonik kök hücre (embryonic stem cells), fetal kök hücre (fetal stem cells), amniyotik kök hücre (amniotic stem cells), kordon kanı kök hücresi (cord blood stem cells) ve erişkin kök hücresi (adult stem cell) olarak alt gruplara ayrılırlar.

İnsan embriyonik kök hücreleri, preimplantasyon aşamasındaki bir embriyodan 5. günde blastokist evresinde iç hücre dokusundan (inner cell mass) alınan hücrelerin iç yüzeyi bölünmeyecek şekilde özel olarak muamele edilmiş fare embriyonik deri hücreleri ile kaplanan bir kültür plağında medyum içinde üretilmesi ile elde edilebilir (Thomson ve diğerleri, 1998; J. Yu ve Thomson, 2016).

Kendini yenileme (self-renewal) ve farklılaşarak tüm dokulara ait özelleşmiş hücre tiplerini oluşturabilme kapasiteleri öne çıkan başlıca kök hücre tipi olan embryonik kök hücreler, embriyonik hayatta doku ve organ gelişiminde yer alan, her 3 germ yaprağına ait doku ve

organlara ait çok farklı hücre tiplerine farklılaşabilen kök hücreler içinde en potent (pluripotent) hücrelerdir (Thomson ve diğerleri, 1998). Kültürdeki embriyonik kök hücreler uygun koşullar altında büyütüldüğü sürece, farklılaşmamış olarak kalabilirler. Fakat hücreler, embriyoid cisimlerin oluşması için bir araya toplanmalarına izin verilirse, kendiliğinden farklılaşmaya başlarlar. Kas hücreleri, sinir hücreleri ve diğer birçok hücre tipini oluşturabilirler (EuroStemCell, 2017; NIH, 2016).

Erişkin kök hücresi (somatik kök hücre) ise doğum sonrası dönemde (postnatal) birçok doku ve organda bulunan bölünerek kendini yenileyebilen ve ikamet ettiği dokuda mevcut daha özel hücre tiplerine neden olan hücrelerdir. Dokunun devamını sağlamak ve onarmak için hizmet ederler (Nature, 2018).

Fetal (doğum öncesi) dokularından izole edilen kök hücrelere fetal kök hücreler denir. Birinci üç aylık dönemde (trimester) fetal kan, hematopoezi destekleyen ve birden fazla soy boyunca farklılaşabilen bir hematopoietik olmayan MKH'ları içerir. Uygulama açısından fetal MKH'nın yetişkin MKH'lara kıyasla daha iyi bir dokuya gitme (homing) ve oraya yerleşme (engraftmenta) özelliğine sahip olduğu, onlara göre daha iyi farklılaşma kapasitesinde (multipotansiyel) olduğu ve onlara göre düşük immünojenite göstermesi gibi avantajlara sahip olduğu gösterilmiş olup ayrıca fetal kök hücrelerin embriyonik kök hücrelere göre daha etik olduğu belirtilmektedir (O'Donoghue ve Fisk, 2004).

Fetusun amniyo sıvısından da kök hücreler elde edilmiştir. Bunlar, embriyonik ve yetişkin kök hücreleri arasında ara özelliklere sahip yeni bir pluripotent kök hücre sınıfını temsil ettikleri ve üç germline da dönüşebildikleri ancak in vivo enjekte edildiğinde tümörler oluşturmadıkları gösterilmiştir. Bu özellikleri ve etik sorunlarının bulunmaması nedeniyle amniyotik sıvıda bulunan kök hücrelerin umut veren adaylar olabileceğini düşündürmektedir (Cananzi, Atala ve De Coppi, 2009).

Ayrıca doğumda toplanan kordon kanından da kök hücreler elde edilebilir (Prindull G., Prindull B. ve Meulen,1978). Bunlar multipotent özelliktedir (M. L. Weiss ve Troyer, 2006) ve klinikte günümüzde tedavi amaçlı kullanılmaktadır (Ballen, Gluckman ve Broxmeyer, 2013).

Vücutta birçok doku ve organın örneğin kemik iliği kardiyak, nöronal, hepatik, intestinal, deri vb. kök hücresi bulunmaktadır. Bunlar erişkin kök hücreler olarak adlandırılır. Erişkin kök hücreler bulundukları organa ait tüm hücre tiplerine farklılaşıp bulundukları dokuya hücre temininde görevlidirler. Örneğin; HKH tüm kan hücrelerini oluşturabilir, nöronal kök hücreler sinir sisteminde bulunan tüm hücre tiplerine farklılaşabilir, MKH'lardan ise bağ doku kökenli hücreler gelişebilir. Ancak farklılaşma özellikleri embriyonik kök hücrelere göre sınırlıdır. Bu nedenle bu hücreler pluripotent değil, multipotent özelliktedir. Ait oldukları doku dışındaki doku hücrelerine (örneğin HKH'nin kardiyak hücreye) farklılaşma kapasiteleri sınırlıdır (Passier ve Mummery, 2003; Sylvester ve Longaker, 2004).

Kök hücre tipleri içerisinde son yıllarda üzerinde en çok durulan ve Yamanaka adlı Japon araştırıcıya 2012 yılı Nobel ödülünü kazandıran hücre tipi ise iPSC'lerdir (Kazutoshi Takahashi ve diğerleri, 2006). Bu hücreler; in vitro ortamda olgunlaşmış bir hücreye (ör. fibroblast) embryonik dönemde aktif genlerin aktarılmasıyla elde edilirler. Böylece farklılaşmış, olgun bir hücre yeniden programlanarak embriyonik kök hücreye benzer pluripotent özellik kazanır (Swisher, Haddad, McGrath, Boekhoudt ve Feldman, 2014). Böylelikle, hastalık mekanizmalarının çalışılabilmesi, hastalık modellenmesi, ilaç denemeleri ve istenilen doku tipine farklılaşabilme özellikleri nedeniyle hasar onarımında kullanılabilme potansiyeli taşımaları iPSC'leri günümüz tıbbının en ilgi çeken konularından birisi haline getirmiştir (Yanhong Shi ve diğerleri, 2017).

2.2. Kemik İliği

Kİ kemiklerin içindeki boşluklara yerleşmiş esnek bir dokudur (Clarke, 2008). Doğumdan sonra Kİ, HKH'lerin devamının ana alanı ve bireyin yaşamı boyunca kan hücreleri üretiminin (postnatal hematopoezin) olmasının yanı sıra, timüsle beraber primer lenfoid dokuları oluştururlar. Aynı zamanda immünolojik hafıza hücrelerinin bulunduğu dokudur (Tokoyoda, Hauser, Nakayama ve Radbruch, 2010). Kİ'inde hematopoez bozukluğu lösemi, aplastik anemi, lenfoma, miyelodisplazi, myeloproliferatif bozukluklar ve hemofagositik sendrom gibi hastalıklara yol açar.

Kİ, ise özellikle sadece kendi ihtiyaçları için değil, vücudun ihtiyaçları içinde kök hücre bulundurur. Bu nedenle vücudun başlıca kök hücre deposudur. Kİ'de bulunan kök hücre

tipleri; HKH, MKH ve EPC'dir (Damar Endotel Tabakası Öncü Hücreleri/Endothelial Progenitor Cell) (Urbich ve Dimmeler, 2004).

2.2.1. Hematopoietik kök hücreler

Kİ'in de erişkin kök hücreleri içinde en çok araştırma yapılan ve en iyi bilinen hücrelerden biri olan HKH'ler yer alır. Kİ'deki tüm çekirdek hücrelerin %0,5'inden daha azı HKH'lerdir (Morrison, Uchida ve Weissman, 1995).

HKH'ler, hücre-hücre teması, hücre-matris etkileşimleri (Flt-3/CD135 (Fms Like Tyrosine Kinase 3/Farklılaşma Kümesi (Cluster of Differentiation) 135) ve SCF (Kök Hücre Faktörü/Stem Cell Factor), İL-6 (İnterlökin/Interleukins), İL-7, İL-8, İL-11, EPO, TPO, LIF, RANKL (NF-κB'nin Reseptör Aktive Eden Ligan/Receptor Activator of NF-κB Ligand), CXCL12 (CX-Kemokin Ligandı 12/C-X Chemokine Ligand 12), SDF-1, N-ligand, M-CSF, G-CSF, GM-CSF gibi çözünür faktörler aracılığıyla hayatta kalma, kendini yenileme, farklılaşma ve göç fonksiyonlarını yerine getirirler (Mojsilović, Jauković, Santibañez ve Bugarski, 2015).

HKH'ler, E. Donnall Thomas'ın Nobel Ödülünü kazanmasına neden olan (NobelPrize, 1990) 1957 yılında ilk allojenik KİT gerçekleştirmesi ile (E.D. Thomas, 1994; E. D. Thomas, Lochte Jr, Lu ve Ferrebee, 1957) KİT, kordon kanı nakli ve periferik kan kök hücre nakli uygulamalarıyla klinikte uygulama alanı bulmuş ve standart tedavi yöntemleri arasına girmiştir.

EBMT verilerine göre yılda yaklaşık 40 000 hastaya malign ve malign olmayan hastalıklar nedeniyle KİT yapılmaktadır ve kayıtlı vaka sayısı 500 000 aşmıştır (EBMT, 2017).

2000'li yıllardan sonra ise, HKH'lerin transplantasyonu dışında, organ hasarlarında rejeneratif amaçlı kullanımı gündeme gelmiş ve klinik araştırma kapsamında çok sayıda merkezde bu uygulamalar yapılmaya başlanmıştır.

HKH'lerin hasar onarımındaki rolleri olduğu kabul edilse de bu amaçla yapılan klinik uygulamalarda etkinlik sınırlı kalmış, rejeneratif tıpta bu hücrelerin yerini bağ doku kökenli

olan MKH'ler almaya başlamıştır (Lagasse, Shizuru, Uchida, Tsukamoto ve Weissman, 2001).

2.2.2. Mezenkimal kök hücreler

HKH nişinde bulunan temel hücre tiplerinden diğer bir tanesi de 19. Yüzyılın ortalarında bulunan ve daha sonra birçok araştırmaya konu olan MKH'lardır (Friedenstein, 1976; Owen, 1988; Owen ve Friedenstein, 1988). MKH'ların Kİ'de tüm çekirdekli hücrelere oranı yaklaşık olarak 1/3,4x10^4 olarak hem periferik kandan hem de kordon kanından çok yüksek olduğu gösterilmiştir (Wexler ve diğerleri, 2003).

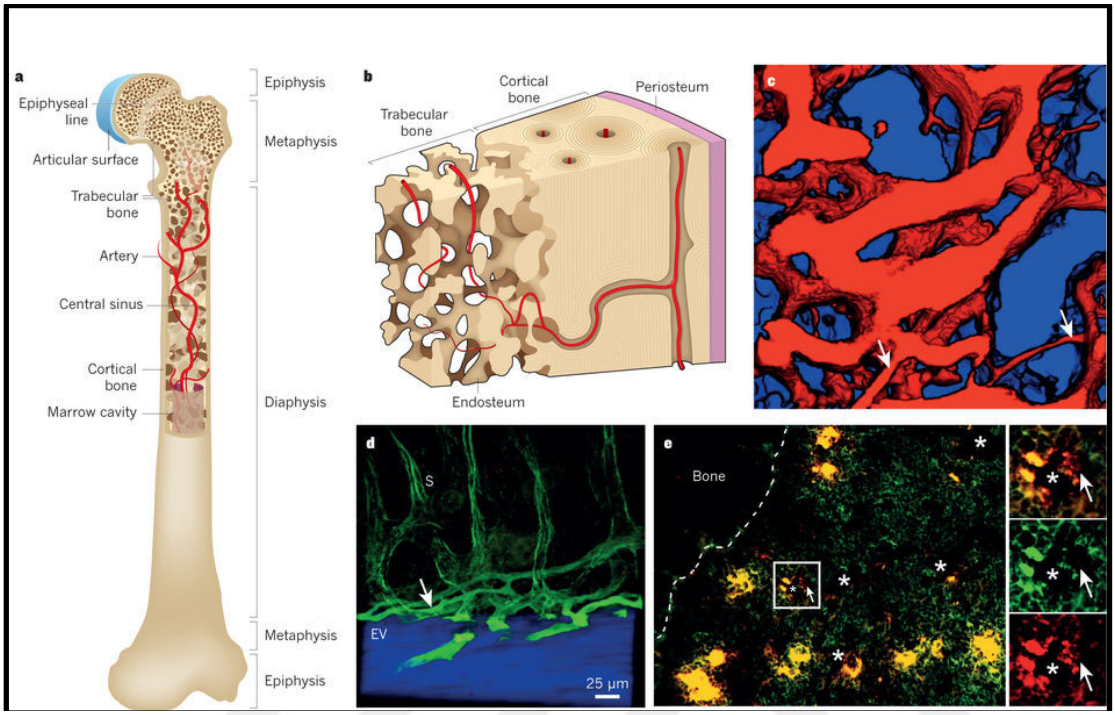
MKH'lar bağ dokusu kökenli hücreler olduklarından aynı zamanda bağ dokusu (stromal) kök hücreler olarak da adlandırılırlar. Tüm dokulardaki doku özgün fonksiyonların yürütülmesinde dokuya destek olan hücrelerdir. MKH'ler Kİ, yağ dokusu başta olmak üzere birçok dokuda, bağ dokusu hücrelerinin ana kaynağını teşkil ederler ve bu dokulardaki kemik, kıkırdak, yağ dokusu, tendon, ligament, bağ dokusunun diğer hücreleri vb (ve benzeri) farklılaşabilirler. Bu özelliklerinden dolayı rejeneratif tıpta organ ve doku hasarının tamirinde önemli role sahiptir.

2.2.3. Hematopoietik kök hücre nişi

Kök hücrelerin içinde bulunduğu özellikli mikroçevre ilk defa Schofield (1978) tarafından "niş'' olarak adlandırılmıştır. Kök hücreleri çevreleyen ortamda yer alan hücreler, ECM fiziksel yapı ile hücre-hücre, hücre-ECM ve diğer ilişkileri sonucu direkt temasın etkisi, kök hücrelerin bulunduğu ortamdaki hücrelerden salınan (parakrin) faktörlerin etkisi ve kök hücre nişine vücuttan gelen sıvı ortamlarda çözünebilen ve hormonlar (endokrin) gibi faktörler etkisiyle oluşan fiziksel, kimyasal/metabolik ortamın bütünü kök hücre nişinin özelliğinin belirlenmesinde rol oynadığı gösterilmiştir (Ehninger ve Trumpp, 2011; Le Blanc ve Mougiakakos, 2012).

Vücuttaki birçok dokuda intestinal kök hücre nişi (Barker, 2014), epitelial kök hücre nişi (Tumbar ve diğerleri, 2004) gibi kök hücreler nişleri tanımlanmıştır, ama vücutta en iyi tanımlanmış kök hücre tipi olan HKH'lerin ve ayrıca MKH'ların bulunduğu Morrison ve Scadden (2014) tarafından Resim 2.1'de şematize edilen HKH nişi olarak adlandırılan Kİ

bu kök hücre nişleri arasında en çok araştırma yapılanıdır. Resim 2.1'de Kİ yerleşimli CD150+ CD48− CD41− Lineage− HKH'ler gösterilmektedir.



Resim 2.1. Kemik iliği anatomisi Morrison ve diğerleri (2014)

HKH nişinde Treg'lerin varlığının gösterilmesiyle bu bölgenin testis, göz, beyin gibi immün ayrıcalıklı bir bölge olduğu öne sürülmektedir (Fujisaki ve diğerleri, 2011; Zou ve diğerleri, 2004).

HKH niş bölgesi endosteal/osteoblastik ve damar nişi olarak bazı yazarlar tarafından ayrılmaktadır (Ehninger ve diğerleri, 2011; Le Blanc ve diğerleri, 2012).

Endosteal/osteoblastik niş (osteoblastic niche)

HKH'lerin yaşam boyu hematopoezi sağlayabilmeleri HKH havuzunda HKH sayısının yaşam boyu yeterli sayıda tutulmasına bağlıdır. Bu ancak HKH'ların döngüye girmeden sessiz/uyku fazında (Go/dormant) tutulmaları ile mümkün olabilir. Bu nedenle HKH'lerin toksik etkilerden, immün sistem atağından kaçabilmesi ve hücre döngüsüne girmeden G0 fazında kalabilmeleri için özel bölgelere ihtiyacı vardır. Kİ'nin Ca'dan (Kalsiyum/Calcium)

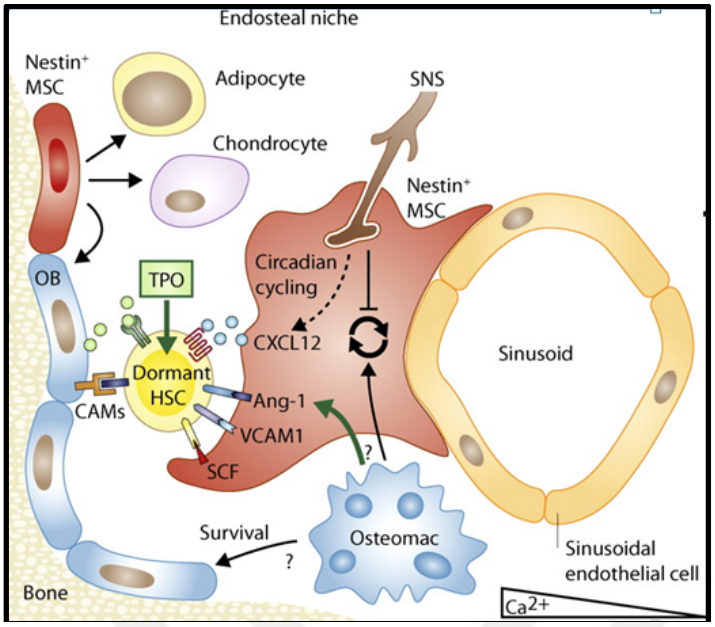
zengin ve oksijenden fakir olan endosteal bölgesine endosteal/osteoblastik niş denilmektedir.

Endosteal niş başta MKH'lar, makrofajlar ve osteoblastlar olmak üzere orda bulunan hücreler vasıtasıyla HKH'lerin yerleşip muhafaza edilmeleri (retention), glikolitik metabolizmayı uyararak sessiz (quiescence)/uyku fazında (G0/dormant) kalmaları ve devamlılığının sağlaması, varlığının sürdürülmesi (maintenance) için gerekli mikro çevresel koşulları sağlamaktadır. Hipoksik olan bu alanda bulunan kök hücrelerde ilaç dışarı akış (effluks) pompaları da aktif olup hücreleri toksik etkilerden korumaktadır (Ehninger ve diğerleri, 2011; Le Blanc ve diğerleri, 2012).

Ehninger ve diğerleri (2011) tarafından Resim 2.2'de şematize edildiği gibi MKH'ler nişte HKH'ler ile yakın ilişki içerisinde olmaları nedeniyle fiziksel temas halinde Ang-1 (Anjiopoetin/Angiopoietin)/TIE2 (Ig ve EGF Benzer Domaini Olan Tyrozin Kinaz/Tyrosine Kinase with Immunoglobulin And Epidermal Growth Factor Homology Domains-2) sinyali, VCAM-1 (CD106)/VLA4 (Çok Geç Antijen-4/Very Late Antigen-4) sinyali ve SCF/KIT (CD117) sinyali aracılığı ile hem de salgılanan faktörler aracılığı ile HKH'lerin hücrelerin sessiz/uyku (dormant) halinde kalmalarını sağlarlar.

Kök hücreler santral sinir siteminden gelen sinyallerin MKH'ları etkilemesiyle gerektiğinde döngüye girerek hem kendine benzer bir hücre yaparak çoğalıp kendini yedekler hem de damarsal nişe geçip dolaşıma karışıp hemostazın devamını sağlarlar. Endosteal nişte bulunan MKH'lar adiposit, kondrosit ve osteoblastlara dönüşebilirler. Osteoblastlar direkt olarak hem salgıladıkları TPO hem de CAM'lar (Kalmodülin/ Calmodulin) vasıtasıyla HKH'lerin sessiz/uyku halinde (dormant) kalmalarını sağlarlar.

Dolayısıyla MKH'lar osteoblastlara dönüştükleri için dolaylı yoldan da osteoblastlar üzerinden de HKH'lerin sessiz/uyku halinde (dormant) kalmalarına katkıda bulunurlar. Ayrıca endosteal nişte bulunan makrofajlar dolaylı olarak hem osteoblastlar üzerine olan pozitif etkilerinden dolayı hem de dolaylı olarak MKH'lar üzerine olan onların osteoblastlara dönüşmesine destek olmaları ve direkt olarak MKH üzerine pozitif etkilerinden dolayı HKH'lerin sessiz/uyku halinde (dormant) kalmalarına dolaylı yönden pozitif katkı sağlarlar (Chow ve diğerleri, 2011; Ehninger ve diğerleri, 2011; Le Blanc ve diğerleri, 2012).



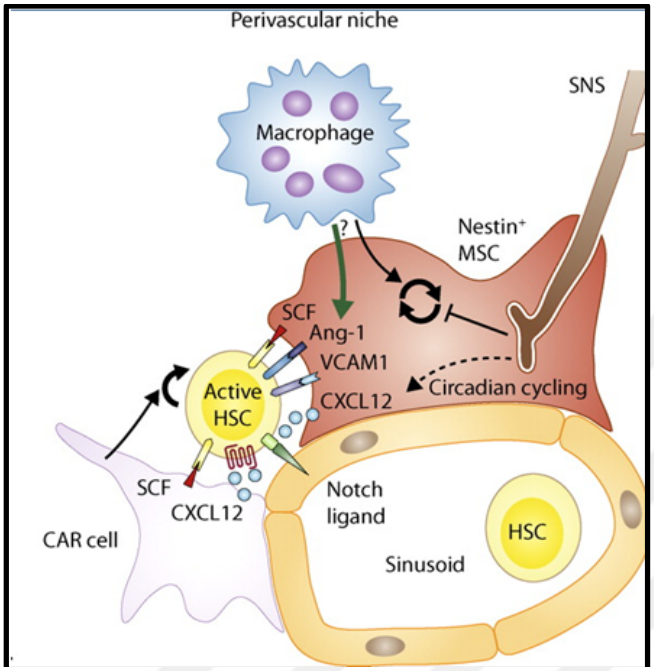
Resim 2.2. Endosteal niş bölgesinde HKH'lerin diğer hücrelerle ilişkisinin mekanizması Ehninger ve diğerleri (2011)

Damar nişi (perivascular niche)

Endosteal niş alanında osteoblastlar ve bağ dokusu hücrelerine kuvvetli adezyon gösteren ve sessiz/uyku fazında bulunan HKH'lerin hemostaz için ara ara döngüye girerek, stres/hasar halinde ise organizmanın artan hücre ihtiyacını karşılaması için devamlı döngüye girerek bu alandan çıkması gerekmektedir Kemik iliğinde damarlardan zengin olan HKH'lerin çoğalıp, bölünüp, farklılaşıp Kİ'ni terk ettiği Ca+'dan fakir ama oksijenden zengin bu bölge damar nişi (perivascular niche) olarak adlandırılmaktadır (Ehninger ve diğerleri, 2011; Le Blanc ve diğerleri, 2012).

Ehninger ve diğerleri (2011) tarafından Resim 2.3'de şematize edildiği gibi damar nişinde MKH'ların HKH'lerin aktive olup, bölünüp, çoğalıp tüm hematopoietik hücre tiplerine farklılaşması için hem HKH'lerle direkt temas halinde bulunmakta hem de gerekli olan GM-CSF ve EPO gibi faktörleri salgılamaktadır. Bu sıvıda çözüne bilen faktörlerin ve mitokondrial aktiviteyi, ROS yapımını uyaran metabolik ortamın etkisiyle aktive olup, bölünüp, çoğalan ve farklılaşan hücreler santral sinir sitemi ile uyarılan MKH'lar ve CAR (CXCL12'dan zengin retiküler hücreler/CXCL12 Abundant Reticular Cells) hücreleri aracılığı ile salınan CXCL12(SDF-1)/CXCR4 sinyal yolağının etkisiyle olarak sinüzoidlerden kana mobilize olarak hematopoietik ve immün fonksiyonları yerine getirirler.

Damar nişte bulunan makrofajlar MKH'lerin üzerine olan pozitif etkilerini devam ettirirler (Ehninger ve diğerleri, 2011; Le Blanc ve diğerleri, 2012) CXCL12(SDF-1)/CXCR4 aksı aynı zamanda HKH'lerin Kİ'ne geliş yerleşmesinde de (homing) rol oynadığı gösterilmiştir (Moll ve Ransohoff, 2010).



Resim 2.3. Damarsal niş bölgesinde HKH'lerin diğer hücrelerle ilişkisinin mekanizması Ehninger ve diğerleri (2011)

2.3. MKH'nın Elde Edilmesi, Üretilip Saklanması ve Karakterize Edilmesi

MKH'ların daha sonra yöntem bölümünde de detaylı olarak açıklanacağı gibi Kİ'den ve yağ dokusu, karaciğer, beyin, kas dokusu, pankreas, böbrek, diş vb. birçok dokudan laboratuvar ortamında elde edilip, ex vivo olarak kolaylıkla genişletilip, azot tanklarında depolanıp daha sonra tekrardan kullanım avantajları vardır (Marion ve Mao, 2006; Marquez-Curtis, Janowska-Wieczorek, McGann ve Elliott, 2015). MKH'lar hücre dizileri gibi immortal değildir. Bununla birlikte MKH'ları immortal yapılmak için çalışmalar devam etmektedir (Piper ve diğerleri, 2012). MKH'larda maling transformasyon olduğuna dair yayınlar bulunmakla birlikte (Tang ve diğerleri, 2012; Y Wang ve diğerleri, 2005) düşük maling transformasyon riski taşıdıkları kabul edilmekte ve klinik kullanımdan önce biogüvenirlilik açısından genetik stabilite testlerinin yapılması önerilmektedir (Cornélio ve Medeiros, 2014).

ISCT tarafından 2006 yılında belirlenen Çizelge 2.1'de listelendiği gibi standart kültür ortamında hücrenin plastik yüzeye yapışmasını, fenotipik olarak CD73, CD90, CD105'ün %95 üzerinde pozitif olmasını ve CD34, CD45, CD11b veya CD14, CD79α veya CD19, HLA-DR %2'nin (İnsan Lökosit Antijeni-DR/Human Leukocyte Antigens-DR) altında bir oranla negatif olmasını, in vitro olarak osteoblastlara, kondrositlere ve adipositlere farklılaşmasını insan MKH'lerinin tanımlanması için asgari kriterler olarak önermiştir (Dominici ve diğerleri, 2006).

Çizelge 2.1. ISCT'nın 2006 yılında belirlediği MKH'ların tanımlama kıstaslarının özeti

MKH'ların tanımlama kıstaslarının özeti		
1. Standart kültür koşullarında plastiğe yapışması		
2. Fenotip	pozitif (%95 ≤ +)	negatif (≤%2 +)
	CD105	CD45
	CD73	CD34
	CD90	CD14 veya CD11b
		CD79α veya CD19
		HLA-DR
3. İn vitro farklılaşma: osteoblast, adiposit, kondroblast		

Laboratuvarda standart kültür ortamında MKH'lar iğsi bir özellik göstererek plastik yüzeye yapışma eğilimiyle diğer kemik iliği kaynaklı hücrelerden kolaylıkla ayrılırlar (Alhadlaq ve Mao, 2004).

2.4. MKH'nın Fonksiyonları

MKH'lar uzun yıllar hipoimmünojenik veya 'bağışıklık ayrıcalığı' olduğu bildirilmiştir; MKH'ların normal koşullarda MHC sınıf-II, CD40, CD80 ve CD86 gibi ko-stimülatör molekülleri eksprese etmemeleri (S. A. Jacobs, Roobrouck, Verfaillie ve Van Gool, 2013) immün düzenleyici moleküler salgılayarak baskılayıcı bir yerel mikro çevreyi oluşturup direkt ve dolaylı olarak dendritik hücrelerin modülasyonu ile immün cevabın oluşmasını engelledikleri için (Ryan, Barry, Murphy ve Mahon, 2005) kültürde büyütülmüş MKH'ları içeren terapilerin mümkün olduğu düşünülmekte ve uygulanmaktadır. Bununla birlikte, allogeneik verici MKH'lara karşı antikor oluşumunun ve immün reddini gösteren son çalışmalar doğrultusunda MKH'nin aslında bağışıklık ayrıcalığına (immune privileged) sahip olmayabileceği öne sürülmektedir (James A Ankrum, Ong ve Karp, 2014; Campeau

ve diğerleri, 2009; Eliopoulos, Stagg, Lejeune, Pommey ve Galipeau, 2005; Griffin ve diğerleri, 2013).

MKH'lar vücutta eksilen hücrelerin yerini alarak hemostazın sağlanması, zedelenen doku ve organların tamiri ve immün regülasyon gibi birçok fonksiyonu vardır.

2.4.1. MKH'nın tümördeki rolü

MKH'ların tümörlerin bulunduğu bölgeye göç ederek tümör bağlantılı anjiyojenezin artırılması, immün baskılayıcı bir mikroçevre oluşturulması, M2 (Klasik Olarak Aktifleştirilmiş/Yangı Söndürücü Yönde Farklılaşmış Makrofajlar) makrofajlarının oluşumunu artırması, tümör hücresi apopitozunun inhibisyon ile tümör ilerlemesini teşvik ettiği ve tümör metastazını artırdığı belirtilmektedir (Hass ve Otte, 2012; Ren ve diğerleri, 2012; Rhee, Lee ve Eom, 2015).

2.4.2. MKH'nın vücut hemostazındaki rolü

Kök hücreler, gelişim sürecinde tüm doku ve organların yapımında temel yapı taşlarıdır. Vücudumuzun fizyolojik şartlarda eksilen hücrelerini yerine koyması ve doku hasarında hasarı tamir etmesi ile biyolojik sisteminin varlığını denge halinde devam ettirmesi süreci homeostaz olarak adlandırılır. Kök hücreler doğumdan sonra (postnatal) organizmada başta cilt, bağırsak, hematopoietik sistem olmak üzere hızlı döngüye sahip dokularda özelleşmiş hücrelere farklılaşarak eksilen hücrelerin yerine konması özelliklerinden dolayı vücutta homeostazın devamında, doku ve organ hasarı durumunda hasar onarımında ve stres durumunda da artan ihtiyacın yerine konmasında kritik role sahip hücrelerdir (Biteau, Hochmuth ve Jasper, 2011; Blanpain ve Fuchs, 2009; Calvi ve Link, 2015). Özellikle kemik zedelenmesiyle giden hastalıklarda kemik dokusunun iyileşmesine faydalı olduğu bildirilmiştir (Kovach, Dighe, Lobo ve Cui, 2015).

2.4.3. MKH'nın yara iyileşmesi ve yangıdaki rolü

Doku hasarına çoğu zaman artan bir yangı eşlik etmektedir. Bir yara oluştuğu zaman bakteri ve diğer patojenler yarayı kontamine ederler. Zedelenen damar içindeki trombositler kanamayı durdurmak için pıhtılaşmanın olabilmesi adına pıhtılaşma proteinleri salgılarlar.

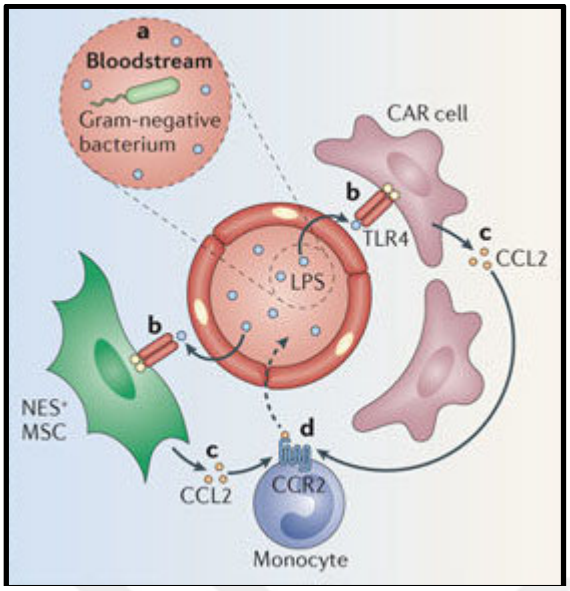
Nötrofiller doğal immün yanıtın ilk cevabı olarak patojenleri fagositozla yok etmeye çalışır. Mast hücrelerinden salgılanan faktörler vazodilatasyona, hasar durumunda nekrotik hücrelerden salınan hücresel bileşenler ve patojenle ilgili moleküller mikrovasküler hasar damar geçirgenliğinin artmasına neden olur. Zedelenmiş dokudan salgılanan CCL5 (C-C-Kemokin Ligandı-5/Chemokine Ligand-5/RANTES gibi kemotaktik faktörlerin yardımıyla monositler kandan yangı alanına göç ederler (Haberstroh ve diğerleri, 2002).

Yangı alanında makrofajların üzerinde bulunan PRR, DAMP veya PAMP'larla (Wiersinga, Leopold, Cranendonk ve van der Poll, 2014) aktive olan makrofajlar CCL3/MIP-1α ve CCL4/MIP-1β de etkisiyle de yüksek düzeyde yangısal sitokinlerin (TNF-α, İL-1 ve İL-6 vb.) (Arango Duque ve Descoteaux, 2014), kemokinlerin (CCL2, CCL3 /MIP-1α ve CCL4/MIP-1β) (Deshmane, Kremlev, Amini ve Sawaya, 2009; Menten, Wuyts ve Van Damme, 2002) salgılanması, "Solunum Patlaması/Oksidatif Patlama" (Respiratory Burst/Oxidative Burst) ile ROS'ların (Superoxide Radical ve Hydrogen Peroxide) oluşması (Slauch, 2011), iNOS'un aktive olmasıyla NO (Nitrik Oksit) oluşması ve onların ROS'larla birlikte RNS oluşumu (MacMicking, Xie ve Nathan, 1997) mikropların ROS ve RNS ile öldürülmesi ile yangının akut faz cevabının oluşumuna neden olur.

Makrofajlar bakterileri hücre dışında (extracellular killing) ve fagositozun gerçekleşmesi hücre içinde öldürerek (intracellular killing) bulaşa neden olan ajanlar temizlenmeye çalışılır.

Doku hasarın tamiri için yangınında kontrol altına alınması gerekmektedir (Koh ve DiPietro, 2011).

Le Blanc ve diğerleri (2012) tarafından Resim 2.4'de şematize edildiği gibi doku hasarı ve yangı durumunda damar nişine sistemik dolaşıma karışarak gelen LPS'in burada bulunan CAR hücreleri ve MKH'lerin TLR4'lerine (Toll Benzeri Reseptör/Toll Like Receptor) bağlanarak aktive etmesiyle salınan CCL2'nin HKH'lerden farklılaşmayla oluşan monositlerin üzerindeki CCR2'ye bağlanmasıyla, monositler aktive olur ve dolaşıma karışırlar.



Resim 2.4. Damarsal nişte monositlerin Kİ'den ayrılma mekanizması Le Blanc ve diğerleri (2012)

Doku hasarı ve yangı durumunda MKH'lar sadece monositlerin Kİ'den kan dolaşımına verilmesinde rol oynamakla kalmaz, kendileri de Kİ'den çıkarak yangı gelişmiş hasarlı dokuya gelir.

Bulaş temizlendikten sonra burada anjiogenezi uyararak yeni damar oluşumunun meydana gelmesini, damar geçirgenliğinin azalmasını, hasarlı dokudaki hücrelerin çoğalarak yerine konulması, hasarlı dokudaki hücrelere dönüşerek hasarlı dokunun tamir edilmesi, yangının baskılanması gibi fonksiyonlar göstererek yara iyileşmesinde rol oynar. Diğer immün hücreleri etkilediği gibi MKH'lar tarafından salınan biyoaktif moleküller ve direkt fiziksel temasla makrofajların fonksiyonel özelliklerini de düzenler.

İn vivo ve direkt (hücre kontağı ve parakrin sinyaller) ile transvel ko-kültür (parakrin sinyaller) ortamında CD206 pozitif (Farklılaşma Kümesi/Cluster of Differentiation), İL-10/CSIF ve İL-6'yı yüksek düzeyde İL-12 ve TNF-α'yı ise düşük düzeyde salgılayan ve yüksek fagositik aktiviteye sahip olan yara iyileşmesinde ve tümör gelişimde rol oynayan hücrelere dönüştürdüğü gösterilmiş J. Kim ve Hematti (2009) tarafından ilk defa bu hücreler MEM olarak adlandırılmıştır (Bartholomew ve diğerleri, 2002; Bernardo ve Fibbe, 2013; Delarosa, Dalemans ve Lombardo, 2012; F. Gao ve diğerleri, 2016; E. Lombardo, van der

Poll, DelaRosa ve Dalemans, 2015; S. Ma ve diğerleri, 2014; Prockop, 2016; Prockop ve Oh, 2012; Y. Shi ve diğerleri, 2012; L. T. Wang ve diğerleri, 2016).

MKH'ların yara iyileşmesi ve yangıdaki rolüne yapılan çalışmalar açısından detaylı olarak değinecek olursak;

MKH'ların organ işlev bozuklukları ve yaşam süresi üzerine etkisi

Öldürücü sepsis organ işlev bozuklukları ile karakterize olduğu, farede CLP (Çekal bağlama ve delinme modeli/cecal ligation and puncture model) modelinde çekal bağlama ve delinme yapıldıktan sonra IV (Ven İçine Enjeksiyon) yoldan fare BM-MKH verildiği zaman fareleri sepsis dolayısıyla oluşacak böbrek, karaciğer ve dalak gibi organ zedelenmesinden koruduğu ve yaşam sürelerinin uzamasına neden olduğu gösterilmiştir (Nemeth ve diğerleri, 2009).

MKH'ların kalp damar sistemi üzerine olan etkileri

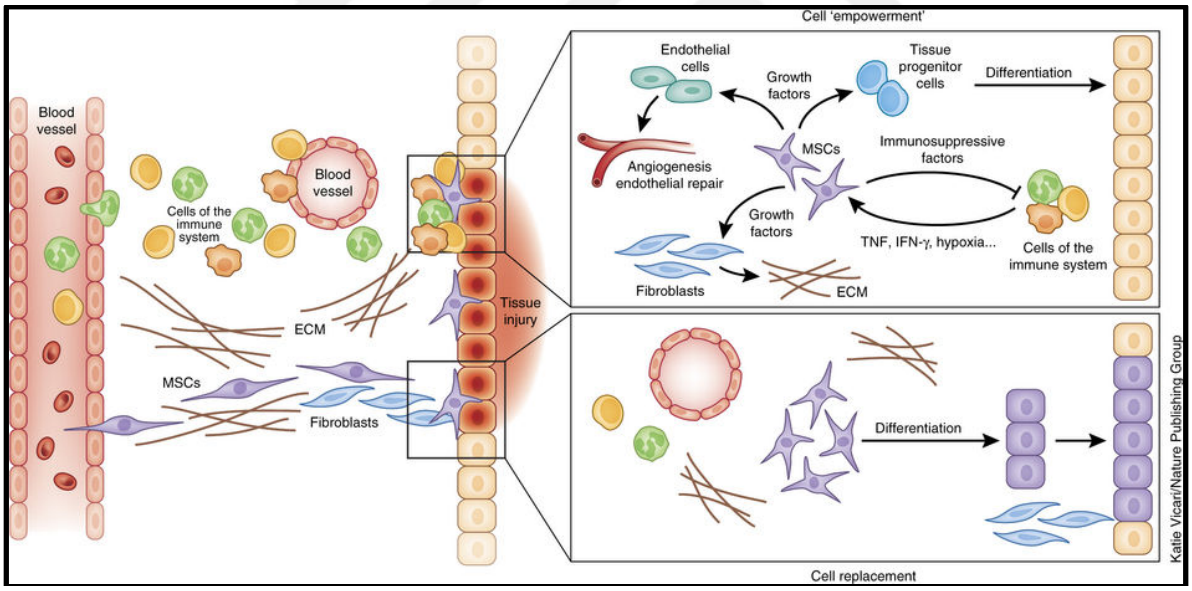
- Kemelerin koroner arterlerinin bağlanarak oluşturulan MI (Miyokart Enfarktüsü / Myocardial Infarction) modelinde, MI geliştikten sonra fare BM-MKH'ların direkt enfarktüs alanına enjeksiyonu ile kalp dokusunda fibrozis oluşumunun azaldığı ve sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunda (left ventricular ejection fraction) artma olduğu (Cho ve diğerleri, 2014),

- Fare endotoksinle oluşturulan akciğer zedelenmesi modelinde fare BM-MKH'ların intra treakeal olarak verildiğinde (Gupta ve diğerleri, 2007) ve bir sistemik sepsis modeli olan CLP'de çekal bağlama ve delinme yapıldıktan sonra verildiğinde (Nemeth ve diğerleri, 2009) damarsal geçirgenliğin azalmasına olumlu yönde katkıda bulunarak akciğer ödeminin ve sepsise bağlı peritoneal, karaciğer ve böbrek damar geçirgenliğinde artışın azalmasına neden olduğu,

- VGEF (Damar Endoteli İçin Büyüme Faktörü/Vascular Endothelial Growth Factor) konusunda da daha detaylı değinildiği gibi MKH'ların VGEF salgılayarak yara iyileşmesi ve tümör gelişmesinde rol oynadığı gösterilmiştir (Ren ve diğerleri, 2012; Yi Yang ve diğerleri, 2016).

MKH'nın doku hücreleri üzerine olan etkisi

Y. Wang, Chen, Cao ve Shi (2014) tarafından Resim 2.5'de şematize edildiği gibi MKH'lar mikro çevrede bulunan TNF-α gibi yangıya neden olan sitokinler (proinflammatory cytokines), LPS veya hipoksi nedeniyle aktive olarak NF-κB (Çekirdek Transkripsiyon Faktör kappa B/Nuclear Transcription Factor kappa B) bağlı bir mekanizma ile; VEGF, EGF, FGF, PDGF, TGF-β, HGF, IGF-1, Ang-1 ve KGF gibi bir dizi büyüme faktörü ve CXCL12/SDF-1 gibi kemotaktik faktörler salgılayarak yeni damar oluşumuyla dokunun beslenmenin sağlanması, fibroblastlardan ECM üretilmesi ile destek dokusunun oluşumu ve dokunun kendi kök ve öncü (progenitor) hücrelerinin farklılaşıp, çoğalıp, büyümesini sağlayarak, başta nötrofil ve monositlerin dokuya göçüyle bulaşın temizlenmesini sağlayarak dokunun kendi kendisini tamir etmesini sağladıkları bulunmuştur (Alfaro ve diğerleri, 2013; Crisostomo ve diğerleri, 2008; S. Ma ve diğerleri, 2014; Y. Wang ve diğerleri, 2014).



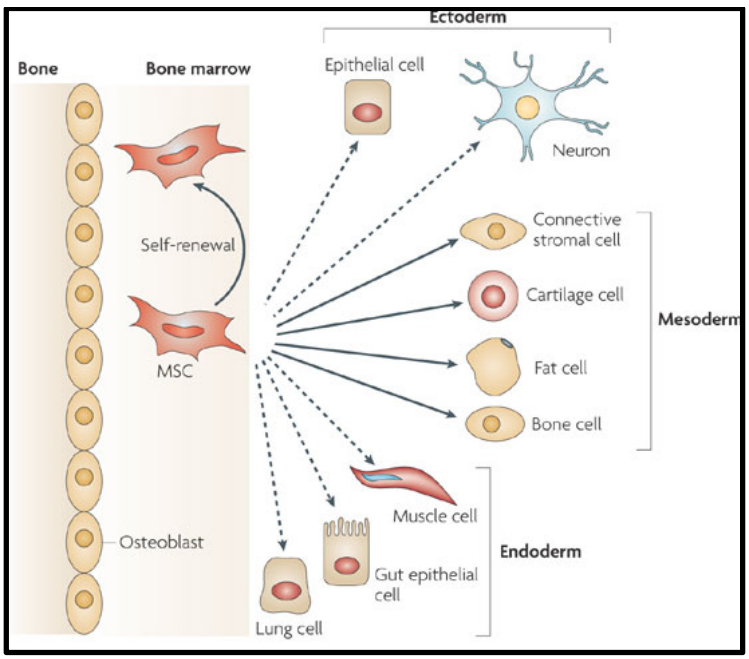
Resim 2.5. MKH'ların doku hücreleri, damar hücreleri, immün hücreler ve bağ dokuya etkisi ile dokuda plastisitesinin mekanizması (Y. Wang ve diğerleri, 2014)

Bu faktörlerin yanı sıra kısmen karaciğerinin bir kısmı çıkarılmış farelerde, fare yağ dokusundan elde edilen MKH'ların LPS ile TLR4 üzerinden uyarılması NF-κB'nin aktive olmasına, İL-6 gen transkripsiyonuna ve salgılanmasına, parakrin mekanizma ile İL-6'nın karaciğer üzerindeki İL-6 reseptörüne bağlanmasına, STAT3 (Transkripsiyonun Sinyal

İleticisi ve Aktive Edici/Signal Transducer and Activator of Transcription) aktivasyonuna, karaciğer dokusunun yenilenmesi ile ilgili genlerin transkripsiyonuna neden olduğu gösterilmiştir (S. C. Lee, Jeong, Lee ve Kim, 2015). LPS ile ön koşullandırılmış insan UC-MKH'dan (Göbek Kordonlarından Türetilen MKH'lar/Umbilical Cord Tissue MSC) salınan eksozomların (LPS-preconditioned MSC-derived exosomes/LPS pre-Exo) özellikle bu eksozomların içindeki let-7b'nin kronik yangı ve yara iyileşmesi modelinde iyileşmede önemli bir rol oynadığı bulunmuştur (Ti ve diğerleri, 2015).

MKH'nın zedelenmiş doku ve organ hücrelerine dönüşmesi

Uccelli, Moretta ve Pistoia (2008) Resim 2.6'da şematize edildiği gibi MKH'ların ektoderm tabakası (epitelial hücreler ve nöron), mezodermal tabaka (bağ doku (stromal) hücreleri, kıkırdak, yağ hücreleri ve kemik hücreleri) ve endoderm tabakası (kas hücreleri, gastrointestinal sistem epitel hücreleri ve karaciğer hücreleri) olan 3 germ tabakasına da farklılaşabildiği gösterilmiştir (Catacchio ve diğerleri, 2013; Uccelli ve diğerleri, 2008; Y. Wang ve diğerleri, 2014). Bu özelliklerinden dolayı zedelenen doku ve organlara göç eden hem de orda yerleşik bulunan hücrelerin o doku ve organa özgü hücrelere farklılaşıp çoğalmasıyla zedelenme ve hasarın onarılmasına katkı sağlayacağı bulunmuştur (Y. Wang ve diğerleri, 2014).



Resim 2.6. MKH'nın üç germ tabakasına farklılaşması (Uccelli ve diğerleri, 2008)

Bağ dokuya etkisi

Vücutta bağ dokusu, fibroblast ve yağ hücreleri gibi sabit ve başka bölgelerden bağ dokusuna gelip bağ dokusunda katılan hareketli hücreleri içermektedir. Bağ dokusunda en fazla bulunan hücre tipi fibroblastlar olup ECM ve kollajeni (collagen) sentezler. Yukarda kısaca bahsedildiği gibi MKH'lar faktörler (FGF) salgılayıp fibroblastları etkileyerek onları bağ dokuyu oluşturmasını sağladıkları gösterilmiştir (R. A. Denu ve diğerleri, 2016; Hematti, 2012).

Zedelenen doku ve organlarda yenilenmeyi teşvik etmek için mühendislik ve yaşam bilimi prensiplerini uygulayan disiplinler arası bir alan olan rejeneratif tıp, hastalıklı ve yaralı dokuları ve bütün organları potansiyel olarak eski haline getirebilmeyi amaçlamaktadır. MKH'lar zedelenen doku ve organların hücrelerine dönüşme özelliklerinden dolayı rejeneratif tıpta bir tedavi seçeneği olarak kullanılmaktadır (Mao ve Mooney, 2015; Patel, Shah ve Srivastava, 2013). MKH'lar yağ hücreleri gibi bağ doku hücrelerine farklılaştıklarında immün baskılayıcı özelliklerini korudukları ve yağ hücrelerinin oluşumu ile hem bağ dokusunu destekledikleri hem de immün baskılanma yaptıkları gösterilmiştir (Fournier, Larjava ve Hakkinen, 2013; H. Munir ve diğerleri, 2017).

Ayrıca doku mühendisliği alanında MKH'lar ile doku iskeletinin oluşturulabileceği de bulunmuştur (Caplan, 2007).

İmmün sistem üzerine etkisi ve lisanslanma teorisi

Y. Wang ve diğerleri (2014) tarafından şematize edildiği gibi MKH'ların immün baskılayıcı/yangı söndürücü (anti-inflamatuvar) etki gösterebilmesi için yangısal sitokinler tarafından uyarılması gerekir bu teori "Lisanslanma Teorisi" olarak adlandırılmaktadır (Prockop ve diğerleri, 2012; Ren ve diğerleri, 2008). Bu nedenle MKH'ların immün baskılayıcı/yangı söndürücü olarak tedavide en etkin olduğu dönemin yangının en yoğun olduğu ve yangısal sitokinlerin en yoğun olarak salgılandığı başlangıç fazı olduğu öne sürülmüştür. Akut kuvvetli yangı olduğu durumda, yangısal sitokinlerle lisanslanan MKH'lar yüksek miktarda kemokin ve immün baskılayıcı madde salgılayan ve bu yolla

immün cevabı baskılayan bir özellik kazandıkları in vitro ve in vivo çalışmalarda gösterilmiştir (Y. Wang ve diğerleri, 2014).

Bu alanda yapılan çalışmalarda;

- İnsan UC-MKH, in vitro çeşitli yangısal faktörler, interlökinler, vitaminler ile muamele edildikten sonra immünojenite ve immün düzenleyici kapasiteleri incelenmiş. İFN-γ ve İFN-γ/TGF-β ve retinoik asidi kapsayan çoklu bir sitokin kokteyli, immün düzenleyici faktör PD-L1/B7-H1/CD274 ve IDO etkinliğinin ekspresyonunu arttırdığı. UC-MKH'nın CD4 ve CD8 T lenfosit çoğalmasını ve İFN–γ üretimini engellediği, NK hücreleri tarafından parçalanması için duyarlılığı azalttığı, farelerde karaciğer yangıda faydalı olduğu (de Witte ve diğerleri, 2017),

- Yüksek dozda ConA (ConcanavalinA) veya yangısal sitokinler ile muamele edilen MKH'ların güçlü immün baskılayıcı etki yaptığı ancak düşük dozda ConA veya İL-10 ile muamele edilen MKH'ların immün baskılayıcı etkisinin ortadan kaldırıldığı (Renner ve diğerleri, 2009; Y. Shi ve diğerleri, 2012),

- Farede sepsis modeli olan CLP'da IV olarak fare BM-MKH'lar verildikten sonra dalak hücrelerinde yapılan mikroarray çalışmasında sepsiste artan birçok yangı düzenleyicileri ile ilgili birçok genin baskılandığı (bu bulgu MKH tedavisinin sepsiste yangıyı baskılayarak immün sistemi normal düzeye getirdiğini göstermektedir) (Mei ve diğerleri, 2010),

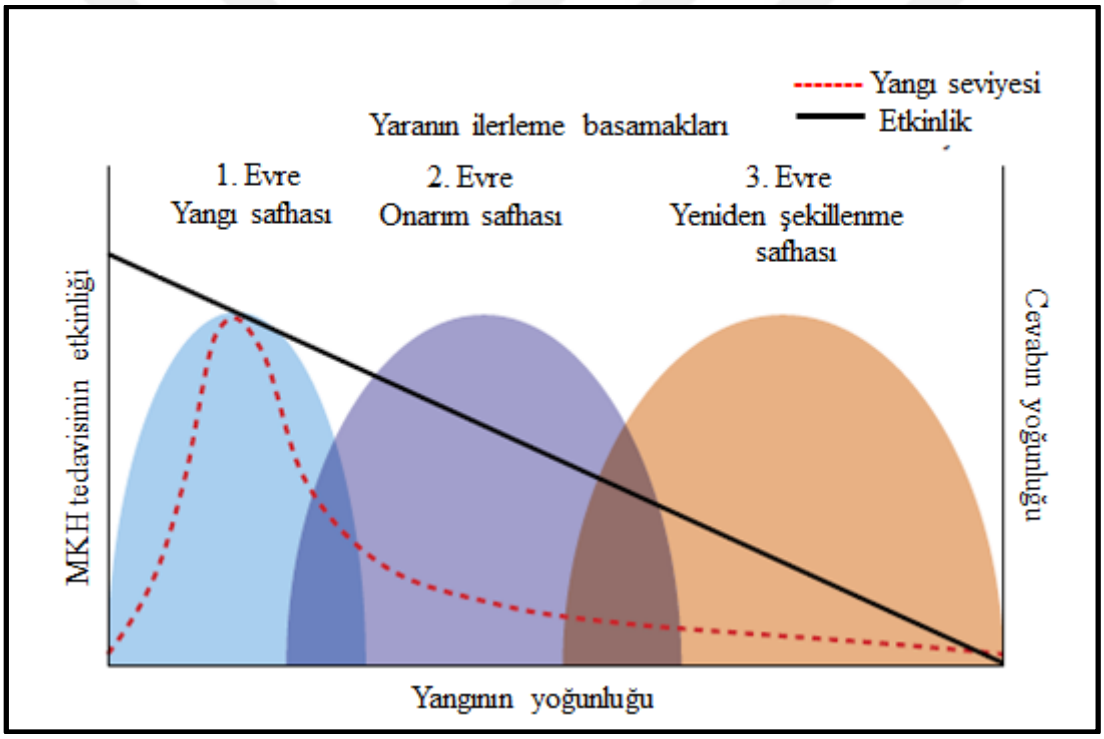
- İFN-γ (İnterferon-gama) ile muamele edilen MKH'ların fareleri GVHD sonucu oluşan ölümden koruduğu (Polchert ve diğerleri, 2008),

- İFN-γ ile muamele edilen MKH'ların deneysel otoimmün ensefalomiyelit modelinde klinik bulguların baskıladığı (Rafei, Birman, Forner ve Galipeau, 2009),

- İFN-γ ile muamele edilen MKH'ların deneysel kolit modelinde mukoza dokusunda hasarı azalttığı (Duijvestein ve diğerleri, 2011),

- TNF-α ile muamele edilen MKH'ların oksijensiz kalma, zedelenme ve sonrasında miyokardiyumda kanlanmanın yeniden sağlanması (Ischemia Reperfusion Injury) sonrası iyileşmeye yardımcı olduğu gösterilmiştir (Herrmann ve diğerleri, 2010).

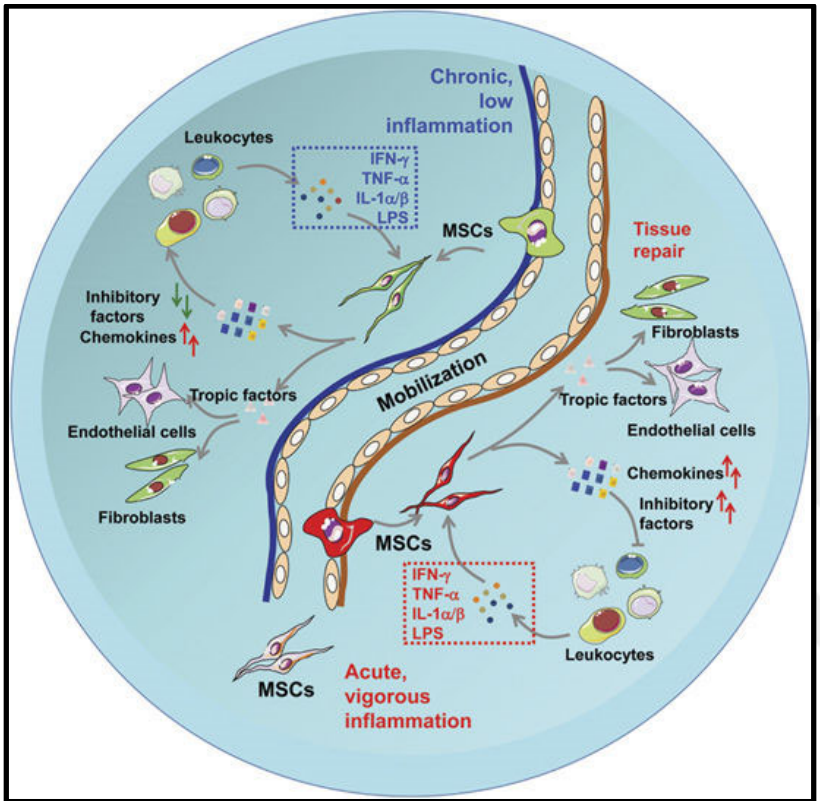
Y. Wang ve diğerleri (2014) tarafından Şekil 2.1'de şematize edildiği gibi yara iyileşmesine verilen fizyolojik tepkinin, birinci safhası yangı fazı, ikinci safhası düzeltici faz ve üçüncü safhası yeniden şekillenme fazı olarak adlandırılmaktadır. Bu safhalarda MKH tedavisinin etkisinin yangı seviyesi ile ilişkisine bakıldığında mikroçevrede yangısal sitokinlerin fazlaca bulunduğu yangının erken evrelerinde birinci safhada MKH tedavisinin en etkili olduğu bulunmuştur.



Şekil 2.1. Yara iyileşmesine verilen fizyolojik tepkinin üç safhasında MKH tedavisinin etkisinin yangı seviyesi ile ilişkisi (Y. Wang ve diğerleri, 2014)

İmmün baskılayıcı etkisinin belirgin olarak gösterilmesi nedeniyle MKH'lar son yıllarda hızla klinik kullanıma geçmiş KİT sonrası görülen GVHD'nin önlenmesi ve tedavisinde kullanılmaya başlanmış (Almeida, Caires, Vasconcelos ve Barbosa, 2016) hatta bu uygulama ülkemizde de bir tedavi seçeneği olarak kabul edilerek geri ödeme kapsamına alınmıştır.

S. Ma ve diğerleri (2014) tarafından Resim 2.7'de şematize edildiği gibi kronik yangı durumunda ise MKH'ların hasar tamirine destek vermeye devam etse bile yangısal sitokinlerin düzeyinin azalması ile birlikte immün baskılayıcı özelliklerinde azalma görüldüğü bulunmuştur.

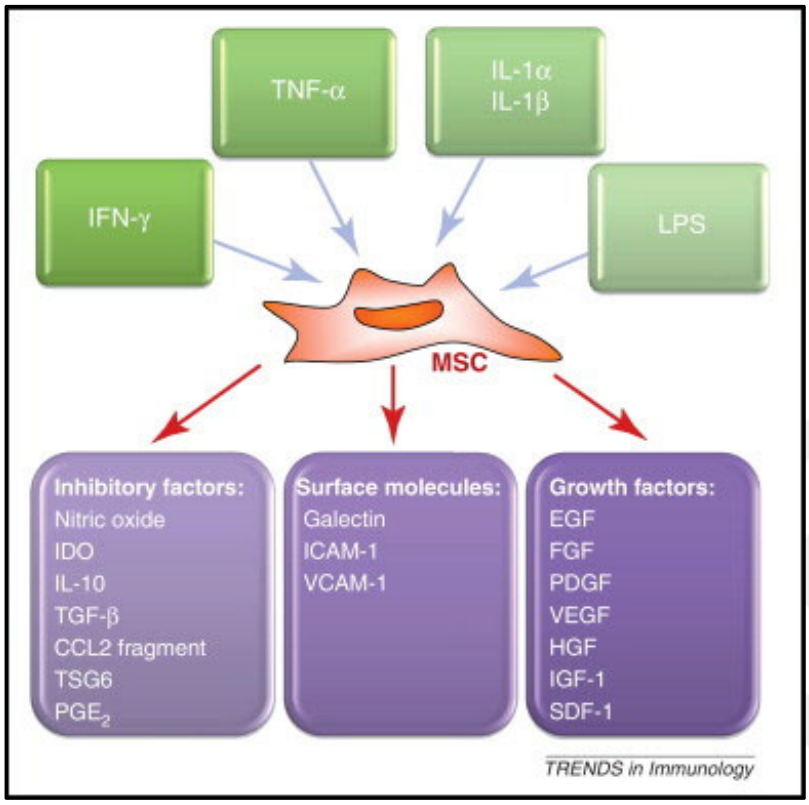


Resim 2.7. Doku onarımı sırasında MKH'lar ve bağışık yanıtı arasındaki etkileşim mekanizması (S. Ma ve diğerleri, 2014)

2.5. MKH'dan Salgılanan ve Eksprese Edilen Moleküller

Mikroçevre MKH'ların yaşamlarının devamında, Kİ'den ayrılmalarında, çoğalmalarında ve farklılaşmalarında etkilidir. TLR konusunda da detaylı değinildiği gibi MKH'lar bulundukları ortama/mikro çevreyi üzerlerinde bulunan reseptörler aracılığı algıladıkları ve aldıkları sinyaller doğrultusunda plastisite gösterdikleri (Delarosa ve diğerleri, 2012), Y. Shi ve diğerleri (2012) tarafından Resim 2.8'de şematize edildiği gibi yangısal bir ortamda LPS dışında bulunan İFN-□, TNF-α, İL1-α, İL-1β gibi yangısal sitokinlerle uyarılan MKH'ların EK-1 ve EK-2'de daha detaylı listelenen birçok molekülü salgılayıp ve eksprese ettikleri bulunmuştur. MKH'ların doku homeostazını düzenlemeleri ve zedelenmiş doku ve

organların iyileşmesi vb. fonksiyonları ile ilgili tedavi edici etkilerini büyük ölçüde bu salgılanan ve eksprese edilen moleküller aracılığı ile yapmaktadır.



Resim 2.8. Mikroçevrenin MKH'lardan salgılanan moleküller üzerine etkisi (Y. Shi ve diğerleri, 2012)

Ancak hastanın kendisine, hastalığın çeşidine ve evresine bağlı olarak mikroçevre de bulunan moleküllerde değiştiğinden, mikroçevrenin özelliğine bağlı olarak MKH'ların farklı yönde plastisite gösterir ve vücutta farklı etki gösterdiği düşünülmektedir. MKH tedavilerinde hastaların farklı yanıt vermesinin bir nedeni de bu olabilir.

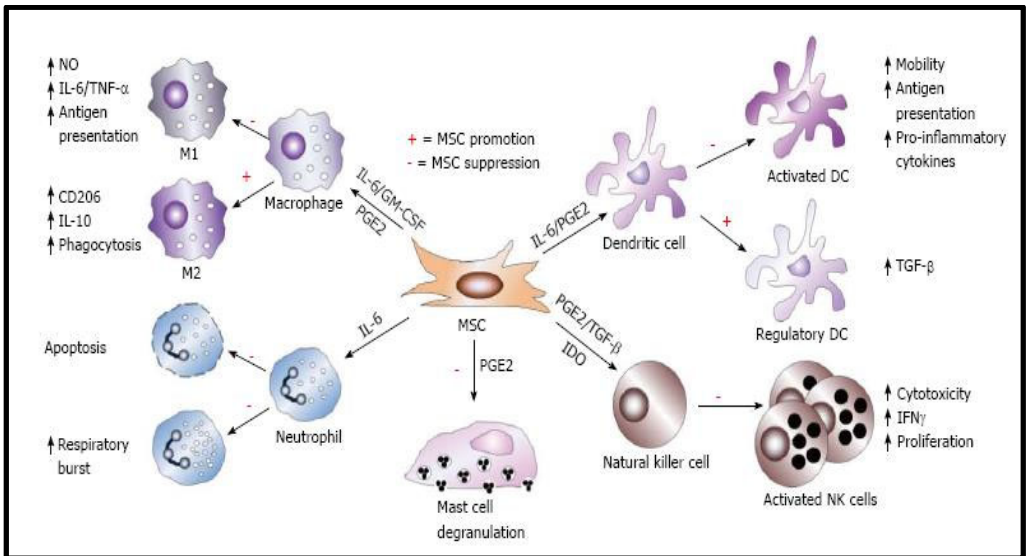
Yangı dışında TNF-α'nın tümör mikro çevresinde bulunduğu ve tümörle ilgili hücrelere etki ederek tümörün gelişmesini sağladığı gösterilmiştir (Grivennikov ve Karin, 2011). TNF-α ile muamele edilen fare BM-MKH'ların EL4 (Fare T Hücre Lenfoma Hücre Dizisi) ile birlikte immün baskılanmış farelere verildiğinde tümör oluşumunu artırması ve bu MKH'ların EL4 ile birlikte monosit ve makrofajlardan yoksun hale getirilmiş (depletion) farelere (transjenik CD11b DTR (diphtheria toxin receptor) fare modeli) verildiğinde ise bu etkinin görülmediğinin gösterilmesi, BM-MKH'nın tümör dokusunda salgılanan TNF-α

etkisiyle makrofajlar üzerinden tümör gelişmesine neden olan bir tipe dönüştüğünü düşündürmektedir (Ren ve diğerleri, 2012).

2.6. MKH ve İmmün Hücre Etkileşimi

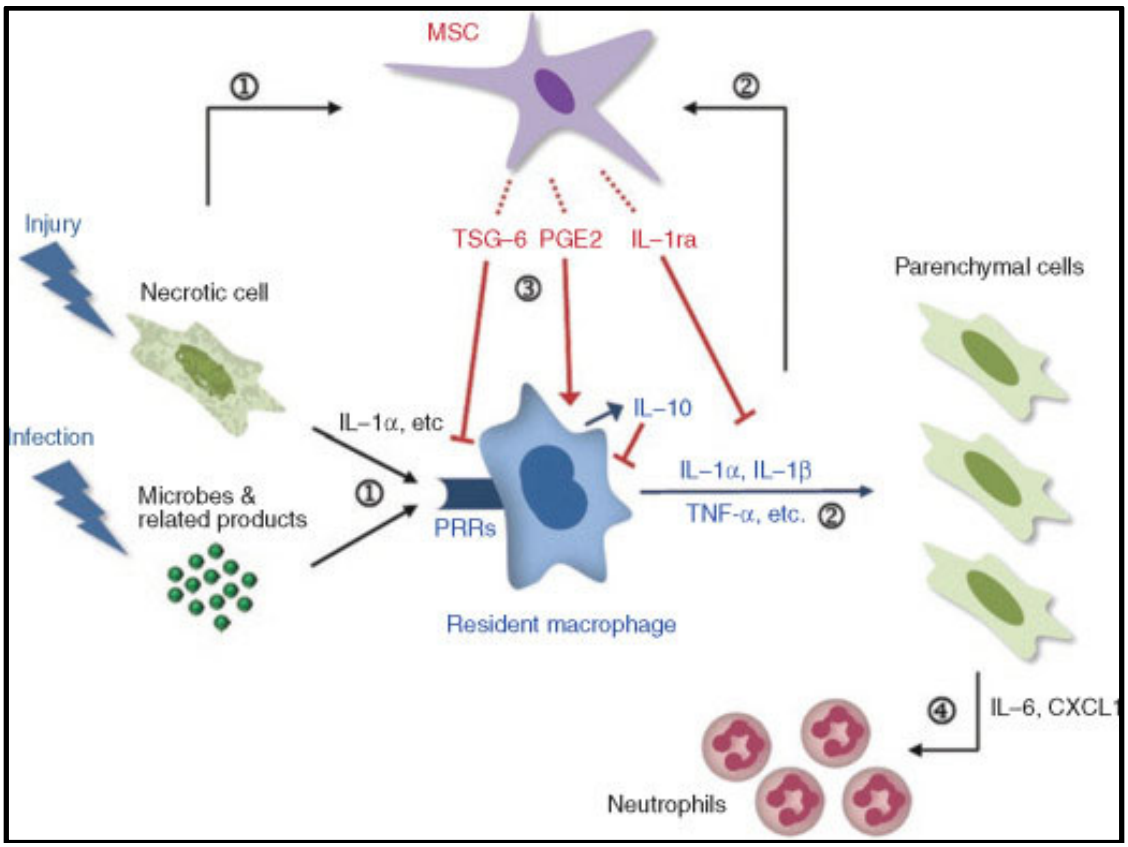
2.6.1. MKH ve doğal immün sistem hücreleri arasındaki ilişki

Birçok araştırmacı tarafından çalışılan MKH'nın doğal immün sistem hücreleri üzerine Glenn ve Whartenby (2014) tarafından Resim 2.9'da şematize edildiği gibi etki ederek, İL-6 ve PGE-2 üzerinden DC'lerin aktivasyonunu baskılayarak onların hareketini, antijen sunumunu ve yangısal sitokin salgılanmasını baskılayarak onları TGF-β salgılayan düzenleyici DC'lere dönüştürdüğü (Uccelli ve diğerleri, 2008), MKH'ların PGE2, TGF-β ve IDO aracılığı ile NK (Doğal Öldürücü Hücre/Natural Killer Cells) hücre çoğalmasını, sitotoksisitesini ve İFN-□ üretimini engellediği (Spaggiari ve diğerleri, 2008; Uccelli ve diğerleri, 2008), MKH'ların İL-6 salgılayarak nötrofillerde apopitoza neden olduğu ayrıca solunum patlamasının ve anti bakteriyel aktivitenin baskıladığı (Brandau ve diğerleri, 2014; Uccelli ve diğerleri, 2008) PGE-2 üzerinden mast hücrelerinin granüllerini salgılamasına engel oldukları, daha sonra detaylı değinileceği gibi makrofajların M1 (Alternatif Olarak Aktive Edilen/Yangı Oluşturucu Yönünde Farklılaşmış Makrofajlar) yönünde plastisitesine engel olarak onları MEM tipine dönüşmesini sağladığı bulunmuştur.



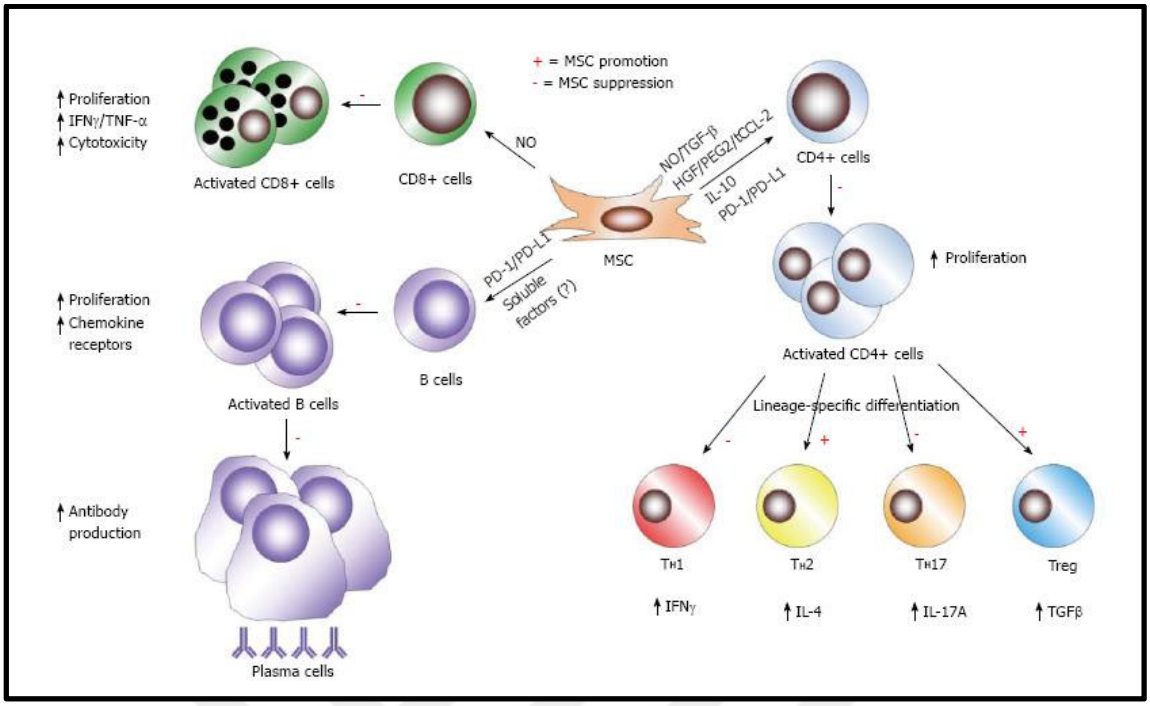
Resim 2.9. MKH'lar ile doğal immün sistem hücreleri arasındaki ilişkinin şeması (Glenn ve diğerleri, 2014)

Ayrıca dolaylı yoldan Prockop ve diğerleri (2012) tarafından Resim 2.10'da şematize edildiği gibi MKH'lar İL-1ra salgılayarak ve makrofajlardan otokrin İL-10 salgılanmasını tetikleyerek, makrofajların parankimal hücrelerden İL-6 ve CXCL1 salgılanması üzerine etkisine ve nötrofil kemotaksisine engel olduğu gösterilmiştir.



Resim 2.10. MKH'larla kazanılmış immün sistem hücreleri arasındaki ilişkinin şeması (Prockop ve Oh, 2012)

MKH'nın kazanılmış immün sistem hücreleri ile ilişkisi birçok araştırmacı tarafından çalışılmış altta daha detaylı açıklandığı gibi Glenn ve diğerleri (2014) tarafından Resim 2.11'de şematize edilmiştir.



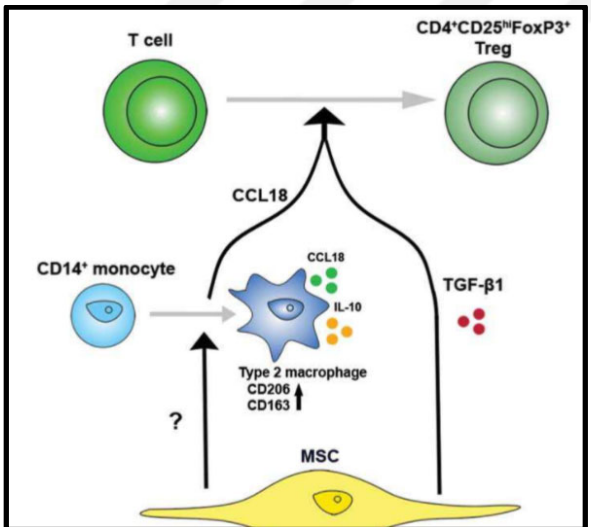
Resim 2.11. MKH'ların kazanılmış immün sistem hücreleri üzerine etkisinin şeması (Glenn ve Whartenby, 2014)

MKH ve T lenfosit ilişkisi

MKH'nın iNOS, PD-L1/B7-H1/CD274 ve PGE2 aracılığı ile T lenfositlerinin anti-CD3 antikoru ile oluşturulan çoğalmasının baskılandığı, FasL aracılığı ile T lenfosit apopitozuna, ICAM-1, VCAM-1, galektinler, MMP-2 (Matrix Metalloproteinase), MMP-9 ve IDO aracılığı ile T lenfosit çoğalmasına engel olduğu (Glenn ve diğerleri, 2014; Kovach ve diğerleri, 2015), İL-1ra aracılığı ile T lenfositleri fonksiyonlarını baskıladığı (Luz-Crawford ve diğerleri, 2016), TGF-β, HLAG, NOTCH sinyali, HO-1/HOX-1 aracılığı ile Treg oluşumuna neden olduğu (Kovach ve diğerleri, 2015), Th1'lerin İFN-□ salgılanmasını bastırdıkları (Glenn ve diğerleri, 2014; Uccelli ve diğerleri, 2008), Th17'lerde PGE2, PD-L1/B7-H1/CD274 ve İL-10 aracılığı ile çoğalmasına engel olarak İL-17A salgılamasını azalttığı (Glenn ve diğerleri, 2014; Kovach ve diğerleri, 2015), Th2'lerin İL-4 salgısını artırdıkları (Glenn ve diğerleri, 2014; Uccelli ve diğerleri, 2008), Treg'lerden TGF-β salgısını artırdıkları (Glenn ve diğerleri, 2014; Uccelli ve diğerleri, 2008), MKH'lar NO salgılayarak CTL çoğalmasını azalttıkları, aktivasyonunu engelleyerek İFN-γ ve TNF-α salgısını ve sitotoksik aktivitesini azalttıkları (Glenn ve diğerleri, 2014) B7-H4 aracılığı ile

ise baskılanma yaparak CTL'in hücre içi döngüsünü bastırdıkları (Kovach ve diğerleri, 2015; Uccelli ve diğerleri, 2008) bulunmuştur.

MKH'ların T lenfositleri üzerine dolaylı olarak DC'ler üzerinden baskılanma yaptığı, MKH'ların DC'lerin aktivasyonuna engel oldukları (X.-X. Jiang ve diğerleri, 2005; Ramasamy ve diğerleri, 2007; Uccelli ve diğerleri, 2008) ve onları düzenleyici tipe dönüştürdüğü (Aggarwal ve Pittenger, 2005; Y.-P. Li ve diğerleri, 2008). Düzenleyici DC aracılığı ile Th17, CD4 ve CD8 T lenfositlerin oluşumunu engellediği Th2 oluşumunu ve Treg oluşumunu sağladığı (Aggarwal ve diğerleri, 2005; Castro-Manrreza ve Montesinos, 2015; Le Blanc, Tammik, Rosendahl, Zetterberg ve Ringdén, 2003; H. J. Lee ve diğerleri, 2015; Shigemoto-Kuroda ve diğerleri, 2017; Uccelli ve diğerleri, 2008), ayrıca Melief ve diğerleri (2013b) tarafından Resim 2.12'de şematize edildiği gibi MKH'ların T lenfositleri üzerine yine dolaylı olarak makrofajlar aracılığı ile de baskılanma yaptığı, MKH'ların kendi salgıladıkları TGF-β'nın da desteği ile monositlerin CD206+ CD163+ CCL18 ve İL-10 salgılayan M2 tipine dönüşmesini sağlayarak onlar üzerinden CD4+ CD25yüksek FoxP3+ Treg oluşumuna neden oldukları gösterilmiştir.



Resim 2.12. MKH'ların monositler üzerinden Treg oluşturma mekanizması (Melief ve diğerleri, 2013b)

MKH ve B lenfosit ilişkisi

İnsan BM-MKH'ların insan kanı kaynaklı B hücrelerin çoğalmasını, plazma hücrelerine farklılaşmasını, antikor salgılamasını ve kemotaksisine engel olduğu (Corcione ve diğerleri,

2006; Glenn ve diğerleri, 2014; Traggiai ve diğerleri, 2008; Uccelli ve diğerleri, 2008), İL-1ra (-/-) farelerden elde edilen MKH'larla yapılan çalışmada İL-1ra'nın sessiz evredeki B lenfositlerin yaşamasını desteklenmesinde ve onların IgG salgılayan CD19(+) CD138(+) plasmoblastlara farklılaşmasının engellenmesinde rol oynadığı gösterilmiştir (Luz-Crawford ve diğerleri, 2016).

2.6.2. Makrofajların MKH'lerin yaşamları üzerine etkileri

PMA/THP-1'in M1 plastisite ortamında (LPS ve İFN-□) ve M2 plastisite ortamında (İL-4 ve İL-13) plastisitesi sağlandıktan sonra insan BM-MKH'lar ile direkt ve transvel ortamında ko-kültüre edildiklerinde M1 tipinde THP-1 ile ko-kültüre edilen MKH'ların ölürken M2'ye dönüşmüş THP-1 ile ko-kültüre edilen MKH'ların ölmedikleri gösterilmiştir (Freytes, Kang, Marcos-Campos ve Vunjak-Novakovic, 2013).

2.6.3. Mikroçevrenin MKH'ların yaşam ve çoğalmaları üzerine etkisi

İnsan BM-MKH'ların yangısal sitokinler (İL1-β, İL-6, TNF-α, İFN-□, ve hepsi birlikte) ve M1 plastisite sinyali (LPS ve İFN-□) ile ko-kültüre edildiği kültür ortamında sadece İL1-β'nın MKH'ların çoğalmasını belirgin düzeyde azaltmakta ve TNF-α'nın ise artırmakta olduğu, insan BM-MKH'ların yangıyı söndürücü sitokinler (İL-10, TGF-β1, TGF-β2, VEGF ve hepsi birlikte) ve M2 plastisite sinyali (İL-4 ve İL-13) ile ko-kültüre edildiği yangıyı söndürücü kültür ortamında İL-10, sitokin kombinasyonu ve İL-13'ün MKH'ların çoğalmasını belirgin düzeyde artırmakta olduğu, insan BM-MKH'ların kemokinlerle kültüre edildiği ortamda ise CXCL12/SDF-1'in MKH'ların çoğalmasını belirgin düzeyde azaltmakta olduğu (Freytes ve diğerleri, 2013), ayrıca LPS'in MKH'nın çoğalmasını artırdığı da gösterilmiştir (Z. j. Wang ve diğerleri, 2009). Bunların dışında prototip bir TLR2 ligandı olan Pam3Cys'nin, MKH'nın İL-6 salınımını artırdığı, NF-κB translokasyonunu başlattığı, MKH'nın bazal hareketliliğini düşürdü ve MKH'nın çoğalmasını arttırdığı gösterilmiştir (Pevsner-Fischer ve diğerleri, 2007).

2.7. MKH Tedavisinin Klinikteki Önemi

Alerjik rinit, astım, otoimmün duyu kaybı, kolit, immün trombositopeni, otoimmün ensefalomiyelitis, romatoid artrit, sistemik lupus eritamatozus, GVHD, otoimmün tiroid,

otoimmün myasthenia ve kontak dermatit gibi birçok hastalık için oluşturulan hayvan modelinde MKH tedavisinin ümit verici sonuçlar vermesi (F. Gao ve diğerleri, 2016) MKH'nın tedavi seçeneği olarak kullanıldığı 6 000'den fazla klinik çalışmanın önünü açmıştır (NIH, 2017).

Yaş, hastalık, hasar veya doğuştan bozukluklar sebebiyle fonksiyonlarını yitiren doku veya organların tamiri veya yenilenmesi için mühendislik ve yaşam bilimi prensiplerini uygulayan kök hücrelerin üretimi ve kullanımı, doku mühendisliği ve yapay organların üretimi içeren disiplinler arası bir alan olan rejeneratif tıp ile hastalıklı ve yaralı dokular ve organlar potansiyel olarak eski haline getirilebilir veya değişimi için canlı işlevsel dokular yaratılabilir (Lagasse ve diğerleri, 2001; Mao ve diğerleri, 2015).

MKH'lar bağ doku kökenlidir ilerde açıklanacağı gibi ayrıca bağ dokunun diğer hücrelerine dönüşebildikleri için bağ doku hasarının tamirinde önemli rol oynarlar. Bu yüzden bağ doku hasarı başta olmak üzere rejeneratif tıp alanında bir tedavi seçeneği olarak kullanılmaktadırlar (Law ve Chaudhuri, 2013).

Solid organ nakillerinde MKH'ların in vitro ve preklinik modellerde immün modülatör ve rejeneratif özellik gösterdiği ortaya konmuştur (Benseler ve diğerleri, 2014; Colmenero ve Sancho-Bru, 2017).

MKH'lar, nöronları ve oligodendrositleri, trofik ve anti-apoptotik moleküllerin salınması yoluyla apopitozisden kurtarabildikleri ve mikroglial hücreler ve astrositler üzerinde yangıyı söndürücü ve çoğalmayı engelleyici etkiye sahip olabildikleri; bu da bir nöroprotektif mikro ortamın indüksiyonuyla sonuçlandığı ve buna ek olarak, MKH'lar, lokal nöronal öncü hücrelerin çoğalmasını ve olgunlaşmasını teşvik edebildiği böylece olgun nöronlar ve oligodendrositlere farklılaşmalarına neden oldukları bu özelliklerinden dolayı nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde kullanılmak için çalışmalar devam etmektedir (Sakthiswary ve Raymond, 2012; Uccelli ve diğerleri, 2008).

Miyokart enfarktüsünde (Przybyt ve Harmsen, 2013) otoimmün hastalıklarda (Hafsa Munir ve McGettrick, 2015), diyabette (Zang ve diğerleri, 2017) MKH'ların bir tedavi seçeneği olabileceği düşünülmektedir.

MKH'ların immün düzenleyici etkisi nedeni ile klinikte kullanıldığı hastalıkların başında GVHD gelmektedir. GVHD KİT'in morbidite ve mortaliteye neden olan ağır kemoterapi ve radyoterapi sonucu ağır immün baskılanmış hastalarda verici kaynaklı T lenfositlerin hastanın başta gastrointestinal sistem, cilt, safra kesesi epitel dokuları olmak üzere epitel dokularını atağı sonucu ciddi yangı ve organ ile doku hasarı ile seyreden en önemli komplikasyonlarından bir tanesidir. KİT dışında ağır kombine immün yetmezlik ve kemoterapi sonucu immün baskılanma meydana gelen hastalarda kan nakli sonucu da gelişebilir. Deneysel aşamadaki birçok tedavi seçeneğinin de kullanıldığı GVHD vakalarında çoğu zaman kontrol altına alınamayan bir immün aktivasyon sonucu ağır bir yangı meydana gelmektedir (Socié ve Ritz, 2014).

GVHD patofizyoloji kısaca aşama I'de, alıcı tedavisi, alıcının dokularını tahrip ettiği ve TNF-α, İL-1 ve İL-6 gibi yangısal sitokinlerin salınmasına neden olduğu, bu sitokinlerin artan seviyeleri alıcının antijen sunan hücrelerin aktivasyonuna yol açtığı, aşama II'de, alıcının antijen sunan hücreleri olgun verici hücrelerini aktive ettiği, aktive edilmiş T hücrelerinin çoğalması ve farklılaşması ile doku hasarına aracılık eden ek faktörleri ürettiği, zarar gören bağırsak mukozasından sızan LPS, ilave TNF-α üretimi tetiklediği, TNF-α, TNF reseptörleri ya da Fas yoluyla deride ve gastrointestinal sistemde nekroz ve apopitozisi indükleyerek dokuya doğrudan zarar verdiği, TNF-α'nın bağırsak GVHD hasarında doğrudan bir rol oynadığı ve bu "sitokin fırtınasında" deride, karaciğerde ve akciğerde hasarı daha da artırdığı gösterilmiştir (Ferrara, Levine, Reddy ve Holler, 2009). Bilhassa patofizyolojisinde makrofajların aktivasyonun önemli olduğu akut GVHD'de MKH'ların makrofajları etkileyerek MEM'lere dönüştürerek yangının baskılanmasında ve belirtilerin gerilemesine katkı sağladığı gösterilmiştir (Bouchlaka, Kim, Bloom, Hematti ve Capitini, 2015; Bouchlaka ve diğerleri, 2017). Ancak bu yangı söndürücü etki her hastada görülmemekte ve düzeyi hastadan hastaya değişmektedir. Bunun nedenin hastanın yangı düzeyi ile alakalı olarak mikro çevresinde bulunan faktörlerin MKH'ların farklılaşarak immün düzenleyici etki gösterme düzeyi ve şekli ile alakalı olduğu düşünülmektedir.

2.8. Monositler

Doku makrofajlarının öncü hücresi olan ve kanda bulunan monositler doğuştan gelen bağışıklık sistemine (innate immune system) ait immün hücrelerdir. Monositler, fetal

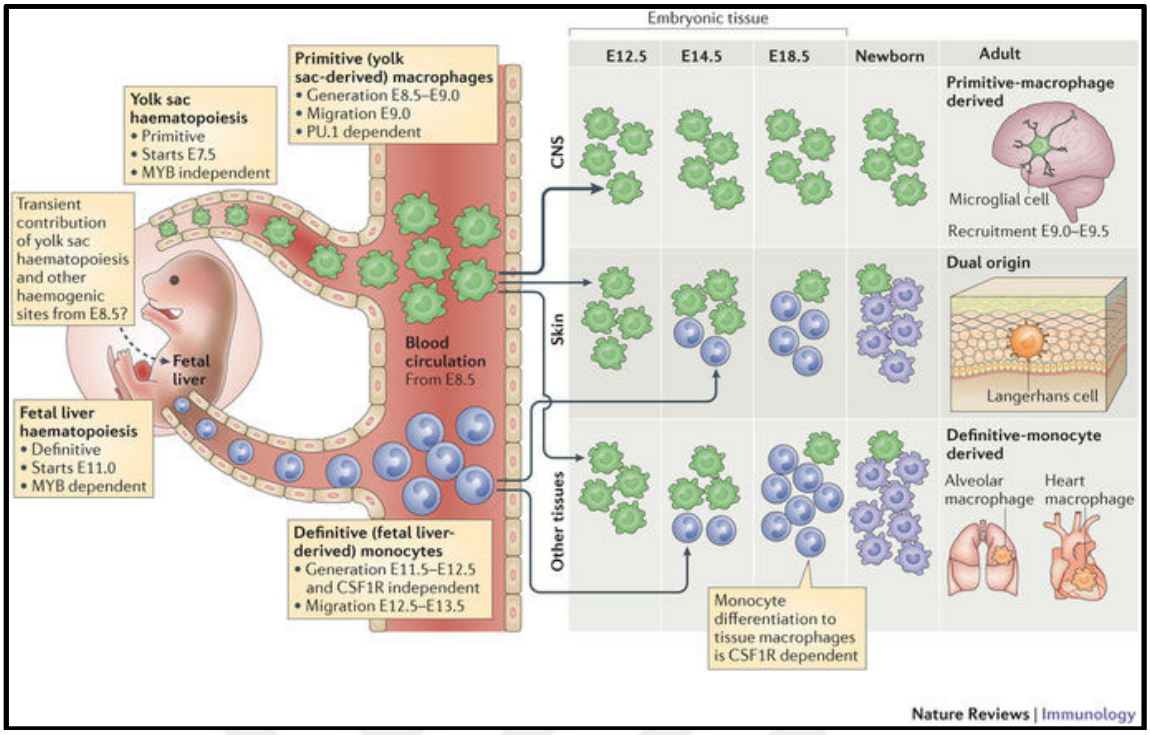
dönemde yolk sak ve fetal karaciğerdeki hematopoez sırasında ve doğumdan sonrada doğum sonrası hematopoezin ana organı olan Kİ'de HKH'lerden meydana gelirler (Varol, Mildner ve Jung, 2015). Kandaki lökositlerin %2-10'nu oluşturmaktadır. Farede Ly6C yüksek ve Ly6C düşük olarak insanda ise CD14+ ve CD14 düşük CD16+ olarak alt gruplara ayrıldığı gösterilmiştir (Ginhoux ve Jung, 2014; Misharin ve diğerleri, 2014).

2.9. Makrofaj Fenotipleri

Ilya Mechnikov 18 yüzyılın sonlarında makrofajları keşfetti ve fagositoz bölümünde detaylı değinildiği gibi fagositozu tanımlayarak 1908 yılında immünolojiye yaptığı katkılarından ötürü Paul Ehrlich ile birlikte Nobel Fizyoloji veya Tıp Ödülü'nü kazanmıştır (NobelPrize, 1908).

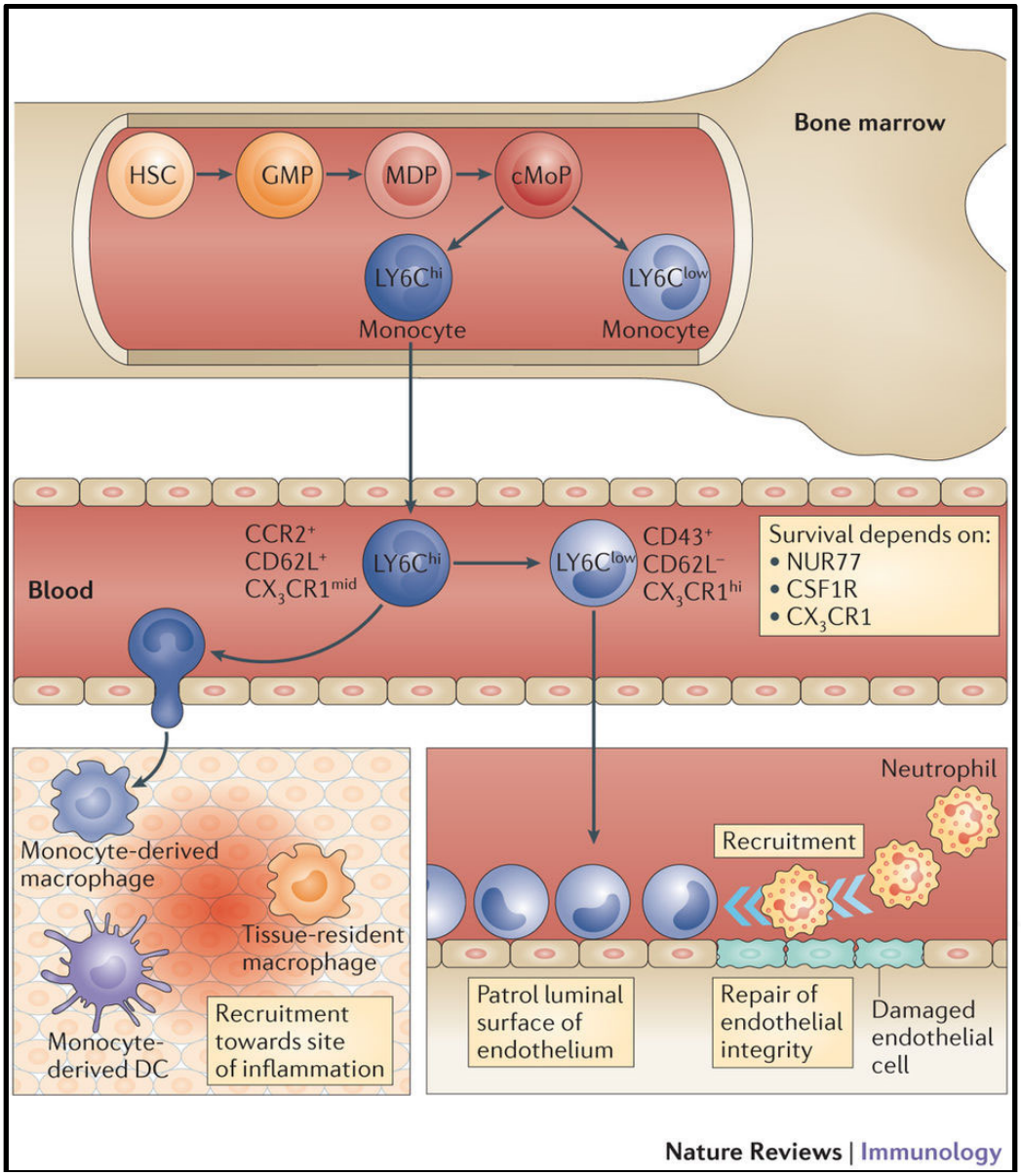
Doku makrofajları, bir gardiyan gibi yerel ortamı izleyerek oluşan değişiklikleri ilk fark eden ve bulundukları dokudan göç etmeyen hücrelerdir. Doku makrofajları dokuda yerleşik makrofajlar (tissue resident makrofajlar) ve monosit kaynaklı makrofajlar (monocyte derived macrophages) olmak üzere iki gruba ayrılır (Ginhoux ve diğerleri, 2014). Hem doğuştan gelen immün cevapta hem de edinsel immün cevapta rol oynarlar (Lavin, Mortha, Rahman ve Merad, 2015).

Ginhoux ve diğerleri (2014) tarafından Resim 2.13'de şematize edildiği gibi dokuda yerleşik makrofajlar fetal dönemde (prenatally) yolk sak ve fetal karaciğerdeki hematopoez sırasında oluşan monositlerin kanla dokulara gelip yerleşmesi sonucu oluşur ve hayat boyu kendini yenileyen (self-renewal) bir bölünme ile çoğalarak kendini idame ettirir ve uzun ömürlüdürler. Bu hücresel bölmeler kendi ikamet ettikleri dokularda diğer dokulardaki makrofajlardan ve hematopoietik girdilerden bağımsızdır. İnsanda CD14 düşük, CD16-, CX3CR1 yüksek, farede CD115+, Ly6C düşük, GR1+,CCR2-, CX3CR1 yüksek, CD62L- karakterde olduğu bulunmuştur (David ve Kroner, 2011).



Resim 2.13. Embriyonik hayatta yolk sak ve karaciğerden gelen monositlerle doku makrofajlarının oluşumunun mekanizması (Ginhoux ve diğerleri, 2014)

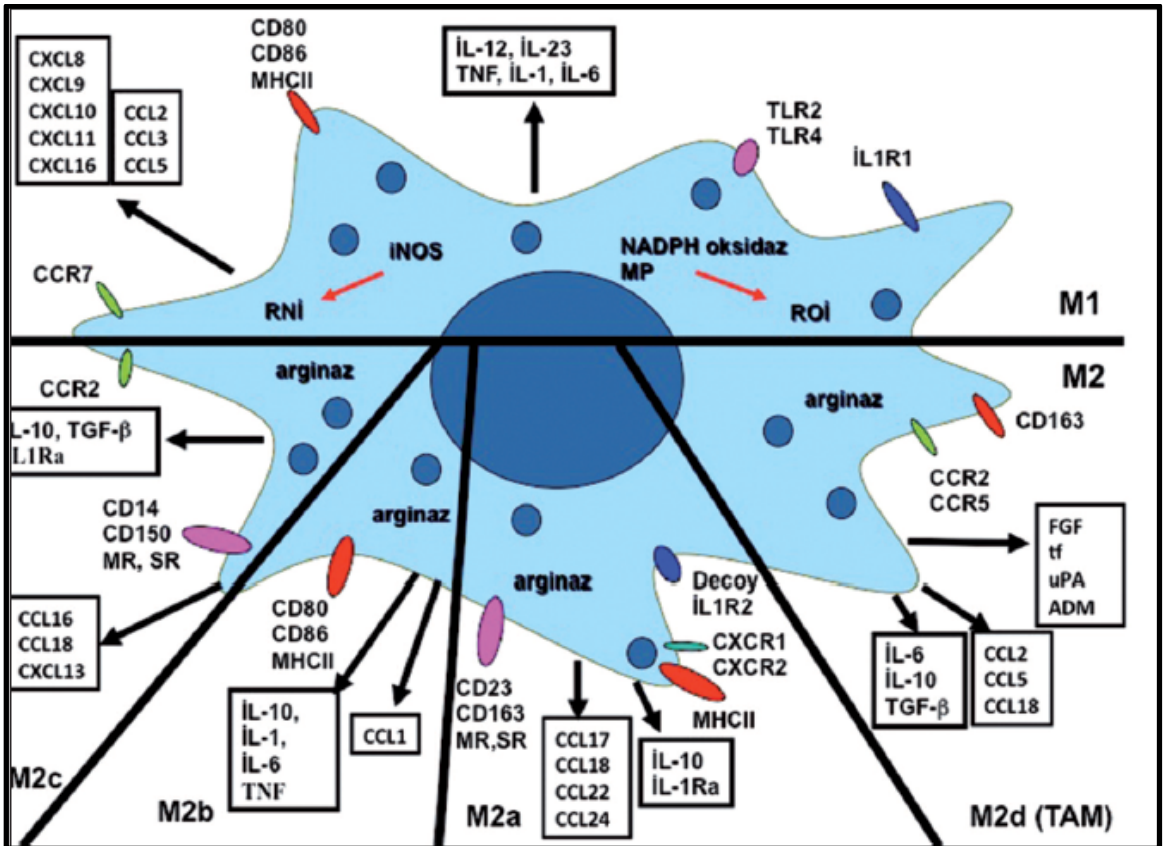
Ginhoux ve diğerleri (2014) tarafından Resim 2.14'de şematize edildiği gibi doğumdan sonra (postnatally) Kİ'deki hematopoez sırasında HKH'lerden köken alan ortak monosit öncülerinden (cMoPs) CSF gibi faktörlerin etkisiyle meydana gelen monositlerden farede LY6C düşük olan grup CD43+, CD62L-, CX3CR1 yüksek karakterde olup daha çok nötrofillerin endotelde oluşturduğu hasarı tamirle görevlidir. Farede LY6C yüksek olan grup ise CCR2+, CD62L+, CX3CR1 düşük, CD115+, GR1+ insanda ise CCR2+, CD14 yüksek, CD16-, CX3CR1 düşük karakterdedir ve CCR2 bağımlı olarak kemik iliğinden mobilize olarak kana karışarak ve dokuya gelip yerleşerek monosit kaynaklı doku makrofajlarını oluştururlar. Kısa ömürlü ve kendilerini yenileme kapasitesi olmamasıyla (non-self-renewing) karakterizedirler (David ve diğerleri, 2011; Norbert Gerdes ve diğerleri, 2002).



Resim 2.14. Doğumdan sonra Kİ kaynaklı monositlerin doku makrofajlarını oluşturmasının mekanizması (Ginhoux ve diğerleri, 2014)

Bu yolak patolojik yangısal reaksiyonlar (Serbina ve Pamer, 2006), sürekli hemostatik yangı (bağırsak lamina propriası), mekanik olarak stres altındaki dokularda (kalp) ve tekrar şekillenmeye giden (remodeling) dokularda aktive olur. Monositler, hızla değişen çevresel sinyallere efektif bir şekilde uyum sağlamalarına ve farklı aktivitelerle yanıt vermelerine olanak tanıyan olağanüstü plastisite sahiptirler. Plastisiteye neden olan makrofaj aktivasyonu, Mills, Kincaid, Alt, Heilman ve Hill (2000) tarafından ilk defa bipolar modda meydana geldiği tanımlanmıştır, sonuçta M1 ve M2 makrofajları oluşur. M2'ye farklılaşan doku makrofajları daha sonra Mantovani ve diğerleri (2004) tarafından birçok araştırmacı

tarafından da kabul edildiği şekilde Bulut (2017) tarafından Resim 2.15'de şematize edildiği gibi M2a, M2b, M2c olmak üzere alt gruplara ayrılmış daha sonra ayrıca M2d/TAM alt grubu da tanımlanmıştır (Chanmee, Ontong, Konno ve Itano, 2014; Hao ve diğerleri, 2012; Q. Wang ve diğerleri, 2010).



Resim 2.15. Makrofajların plastisitesi, yüzey reseptörleri ve saldıkları/salgıladıkları faktörler (Bulut, 2017)

Yolk sak ve Kİ kaynaklı monositlerden oluşan doku makrofaj türü olarak da bilinen tümörün oluşum ve metastazını destekleyen TAM/M2d olarak adlandırılan makrofajlar (Chanmee ve diğerleri, 2014; Hass ve diğerleri, 2012; F. Li, Yang, Zhu, Huang ve Xu, 2015; L. Yang ve Zhang, 2017), hipoksik bir ortam olan tümör mikro çevresi tümör hücreleri, MDSCs (Myeloid Kaynaklı Baskılayıcı Hücreler/Myeloid Derived Suppressor Cells), Treg, B lenfosit, Th2 ve MKH'ların salgıladıkları ve eksprese ettikleri faktörlere belirlenir ve CCL2/CCL3/CCL14 kemotaktik cevapla tümör dokusuna gelen Kİ kaynaklı monositler veya halihazırda burada bulunan doku kaynaklı makrofajlar başta tümör hücresinden eksprese edilen HMGB-1 (Yüksek Hareketliliğe Sahip Grup Proteini-1/High Mobility

Group Box Protein-1) ve salgılanan İL-10/İL-4, Treg'lerden salgılanan İL-10, B lenfositlerden salgılanan Ig'ler (İmmun globülin), Th2 salgılanan İL-4/İL-13, MKH'lardan salgılanan MGF-E8 gibi birçok faktörün etkisiyle M2d/TAM'a dönüşürler (L. Yang ve diğerleri, 2017).

Ayrıca İL-6 (Duluc ve diğerleri, 2007), LIF (Duluc ve diğerleri, 2007) ve Adenosinin M2d/TAM oluşumuna neden olabileceği gösterilmiştir (Csóka ve diğerleri, 2012; Haskó ve Pacher, 2012). Ayrıca ilk defa J. Kim ve diğerleri (2009) tarafından MKH'lerle direkt (hücre kontağı ve parakrin sinyaller) ve transvel ko-kültür (parakrin sinyaller) ortamında ko-kültür yapılan makrofajlar MEM olarak adlandırılmış, daha sonraki bölümlerde özelliklerine detaylı değinilecek olan bu hücreler genel anlamada CD206 pozitif olmaları, İL-10 ve İL-6'yı yüksek düzeyde İL-12 ve TNF-α'yı ise düşük düzeyde salgılamaları ve yüksek fagositik aktiviteye sahip olmaları ile karakterize edilmişlerdir.Bunların dışında CD169+ ve TCR+ makrofajlar tanımlanmıştır (Chávez-Galán, Olleros, Vesin ve Garcia, 2015).

2.10. İnsan Monosit Hücre Dizileri

Biyomedikal araştırmalarda kullanılan monosit hücre dizileri;

2.10.1. U937

Histiositik lenfomalı bir hastadan elde edilen hücre dizsidir. Diğerlerine göre daha olgun hücrelerden oluşur. PMA ve vitamin D3 uygulaması ile makrofajlara dönüştürülebilir (García ve diğerleri, 1999; H.-Z. Liu ve diğerleri, 2005; Sundström ve Nilsson, 1976).

2.10.2. ML-2

ML-1 hücre dizisinden insan myeloblastik hücre dizisidir. PMA ile aktive edildiğinde makrofajlara benzer bir özellik kazanır (Ohyashiki, Ohyashiki ve Sandberg, 1986).

2.10.3. HL-60

Diğer bir taneside promyelositik lösemili hastadan elde edilen hücre dizisidir (Birnie, 1988; Collins, 1987).

2.10.4. MonoMac6

Monoblastik lösemi hastasının periferik kanından elde edilen hücre dizisidir. PMA ile aktive edildiğinde makrofajlara benzer özellik kazanır (HW Ziegler-Heitbrock ve diğerleri, 1994).

2.10.5. THP-1

Akut monositik lösemiye yakalanmış hastadan elde edilen bir hücre dizisidir (Shigeru Tsuchiya ve diğerleri, 1980).

THP-1, monosit-makrofaj farklılaşmasının altında yatan moleküler mekanizmaları incelemek için yaygın olarak bir hücresel model olarak kullanılmaktadır (Bosshart ve Heinzelmann, 2016; W. Chanput, Mes ve Wichers, 2014). Forbol esterler ile aktivasyondan sonra, THP-1'lerin, çeşitli açılardan doğal monosit türevi makrofajları taklit eden makrofaj benzeri hücrelere dönüştüğü bulunmuştur (Auwerx, 1991; Tsuchiya ve diğerleri, 1982).

Bunun yanında TPA (12-O-Tetradecanoyl Phorbol-13 Acetate), Vit D3 (vitaminD3/1α, 25-dihydroxyvitamin D3) ve M-CSF kullanılarak yapılan çalışmalarda vardır (Bender, Ostenson, Giordano ve Beavo, 2004; Datta ve diğerleri, 1992; Schwende, Fitzke, Ambs ve Dieter, 1996; Tsuchiya ve diğerleri, 1982).

THP-1'ler RPMI%10'da (% 10 Hi-FBS (Sıcakla İnaktive Edilmiş FBS / Heat inactive Fetal Bovine Serum), 2mmol/L-glutamin ve % 1 penisilin-streptomicin ilave edilmiş RPMI 1640 besi ortamı) tutulduktan sonra 3 gün boyunca 100 nmol/L PMA ile ardından 1 gün PMA içermeyen medyumla 37°C'de %5 C02 içeren ortamda inkübe edildiğinde, PBMC'den elde edilen monosit kaynaklı makrofaj hücrelerine plastik yüzeylere yapışması, yüksek fagositik kapasiteye sahip olması ve hücre yüzey belirteçlerini eksprese etmesiyle (CD14, CD36, TLR2 ve CR3 (CD11b/CD18) benzerlik gösteren THP-1 monosit türevi makrofaj elde edile bilindiğinin gösterilmesiyle araştırmacılar tarafından PMA en etkili farklılaşma ajanı olarak kullanılmıştır (Paulomi B Aldo, Vinicius Craveiro, Seth Guller ve Gil Mor, 2013; Alessio ve diğerleri, 1996; Daigneault, Preston, Marriott, Whyte ve Dockrell, 2010; Maeß, Sendelbach ve Lorkowski, 2010).

THP-1’nin avantajları

THP-1’nin diğer araştırmacıların belirttiği (W. Chanput ve diğerleri, 2014) bizim kendi çalışmalarımıza da kaydettiğimiz gibi laboratuvar araştırmalarında kandan elde edilen mononükleer hücrelerin kullanılmasına göre aşağı da listelenen birçok avantajı vardır;

THP-1 RPMI%10 medyumda üç gün içinde üç-dört kat artabilir. Bu büyüme oranı, PBMC türevi monositlere kıyasla çok daha yüksektir.

THP-1 dondurulup saklanabildiği ve kültür ortamında çoğaltılabildiği için istenildiği zaman erişilebilen kullanımı kolay ve güvenilir bir kaynak oluştururlar. PBMC elde edilen monositler dondurularak saklanamazlar ve vericilerden elde edildiği için her zaman kolaylıkla yeterli sayıda PBMC elde edilemeyebilir.

THP-1’in vitro koşullarda kültürlenebilen ölümsüzleştirilmiş bir hücre dizisidir. Yaklaşık 3 ay boyunca hücre özelliklerinde değişiklik yapmadan kültürde pasajlanabilir. PBMC türevi monositler kültürde yaşamlarını uzun süre devam ettirebilmek için İL-1β, TNF-α veya LPS gibi yangısal sitokinlere ihtiyaç duyarlar.

THP-1'in homojen genetik temeli, bulguların tekrarlanabilirliğini kolaylaştıran hücre fenotipindeki değişkenlik düzeyini en düşük düzeye indirir. Bireysel vericilerdeki yüksek varyasyon, PBMC’dan elde edilen monositlerin araştırmalarda kullanılmasında problem oluşturmaktadır.

THP-1 ile tek tip hücre elde ederiz. Sağlıklı erişkinlerde dansite gradienti metoduyla elde edilen PBMC içinde monosit oranı % 2-10'una kadar değişebilir ve diğer kan hücreleri ile kontaminasyon olduğu için yeterli saflıkta monosit elde edilemeyebilir.

Bütün bu avantajlarının yanında THP-1’lerin maling bir arka plana sahip olduğu için normal somatik hücrelerin doğal ortamlarında verdiklerinden daha farklı olabilir (W. Chanput ve diğerleri, 2014).

Çeşitli uyarım koşullarına verdikleri yanıtlara göre THP-1 ve insan PBMC'den (Poly morpho nuclear cells/çok çekirdekli hücreler) elde edilen monositlerin karşılaştırılması W. Chanput ve diğerleri (2014) tarafından Çizelge 2.2'de listelenmiştir.

Çizelge 2.2. THP-1 monositleri ile insan PBMC-monositlerinin kullanıldığı çalışmalarda verdikleri cevapların karşılaştırılması W. Chanput ve diğerleri (2014)

Karşılaştırma	Uyarım durumu	Bulgu
THP-1 ile PMNC-monositleri	P. Aeruginosa veya E.Koli kaynaklı LPS 10 ng/ml 24 saate kadar çeşitli zaman aralıklarında	PBMC'ler THP-1'den daha fazla yangı ile ilgili sitokinleri salgılıyor (TNF-α, İL-6, İL-8 ve İL-10
	Salmonella minnesota'dan elde edilen LPS 100 ng/ml 3 saat	THP-1: TLR1, 2 ve 4'dün PMNC-monositler:TLR1-5'in ekspresyonun artması
	İnsan oxLDL 50 μg/ml 48 saat	CNP, NPR2, NPR3,TNF–α, İL-β İL-6, CD14 ve CD68 bazal salgılanma düzeyi PMNC-monositlerde THP-1 göre daha yüksek
	Ganoderma tsugae-4'den elde edilen polisakkarit 40 μg/ml Yarım saat	Yanıt olarak PMNC-monositler THP-1 ile aynı düzeyde İL-1α ve TNF-α salgılıyor
	Ganoderma sinense den elde edilen aşırı dallı polisakkarit 0.0001-1000 μg/ml 72 saat	XTT çoğalma deneyine PMNC-monositler THP-1 ile aynı düzeyde yanıt veriyor

Araştırmacılar tarafından THP-1 ile diğer birçok hücre ile ko-kültür çalışmaları yapılmıştır. Örneğin; damar endotel hücreleri (X. Zhang ve diğerleri, 2008), adipositler (Spencer ve diğerleri, 2010), T lenfositler (Manie ve diğerleri, 1993), trombositler (Aslam ve diğerleri, 2007) bağırsak hücreleri (Watanabe, Satsu, Mochizuki, Nakano ve Shimizu, 2004) ve bu tezin kapsamında detaylı değinilen MKH'lar.

2.11. Makrofajların Görevleri

2.11.1. M1 makrofajların başlıca görevleri

PAMPs (Patojenle İlişkili Moleküler Kalıplar/Pathogen Associated Molecular Patterns) olarak adlandırılan bakteri, mantar ve virüs gibi yabancı patojenlerin yüzey yapılarını farklı PRRs (örneğin; TLR, RIG-I-like receptors, NOD-like receptors, ve C-type lectin receptors)

etkileşimi yoluyla tanımak, kompleman reseptörleri, Ig reseptörleri aracılığı ile bağlanmak, fagosite etmek ve öldürmek (Akira, 2000; Areschoug ve Gordon, 2008; S. Gordon, 2016; Takeuchi ve Akira, 2010; Thompson, Kaminski, Kurt-Jones ve Fitzgerald, 2011), hücre içi parazitleri oksidatif mekanizma ile öldürmek (Stafford, Neumann ve Belosevic, 2002; G. Weiss ve Schaible, 2015), bulaş alanına efektör hücrelerin göç etmesini sağlayan kemokinleri ve göç eden hücrelerin aktive olmasını sağlayan yangı sitokinleri salgılamak (Arango Duque ve diğerleri, 2014; Turner, Nedjai, Hurst ve Pennington, 2014), antijenleri işleyip sunarak Th1 ve Th17 immün yanıtın oluşmasını sağlamak (Elhelu, 1983; Ley, 2014) nakledilen dokuların reddedilmesini sağlamak sayılabilir.

Özellikle makrofajların, doku naklinden sonra gelişen "Akut Hücresel Allograft Reddi" (Acute Cellular Allograft Rejection) ile aynı zamanda dokunun kronik zedelenmesinde (Chronic Injury) rol oynadığı ve bir allogreftin makrofajlarla infiltrasyonun kötü graft fonksiyonu ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Mannon, 2012).

Th1 oluşumunu destekleyerek tümörün gerilemesine katkıda bulunduğu da bulunmuştur.

2.11.2. M2 makrofajların başlıca görevleri

M2 makrofajlar alt gruplarına göre faklı fonksiyon gösterirler.

M2a makrofajlar Tip II yangının oluşumunda, T hücrelerinin Th2 yönünde plastisite göstermesine, alerjinin devamında, parazitlerin öldürülmesinde, M2b makrofajlar T hücrelerinin Th2 yönünde plastisiste göstermesine ve immün baskılanmada, M2c makrofajlar immün baskılanmada, matriks depolanması ve dokunun tekrardan modellenmesinde, M2d/TAM makrofajlar; tümörün büyümesi ve metastazında ve MEM'ler ise ileriki kısımlarda daha da detaylı olarak değinileceği gibi yangı söndürücü sitokinleri salgılayarak, T lenfosit cevabının baskılanması, Treg oluşumu, yangının baskılanması, tümörün gelişmesi ve metastazında rol oynadığı gösterilmiştir (Arango Duque ve diğerleri, 2014; Benoit, Desnues ve Mege, 2008; Chanmee ve diğerleri, 2014; David ve diğerleri, 2011; Mantovani, Biswas, Galdiero, Sica ve Locati, 2013; Martinez ve Gordon, 2014; Miller ve diğerleri, 2009; Rőszer, 2015).

2.12. Makrofaj Plastisitesine Neden Olan Moleküller

2.12.1. Makrofajlarının M1 yönünde plastisiteye neden olan moleküller

İFN-□, TNF-α, LPS ve GM-CSF'dir (Amura, Kamei, Ito, Soares ve Morrison, 1998; Arango Duque ve diğerleri, 2014; Benoit ve diğerleri, 2008; Chanmee ve diğerleri, 2014; David ve diğerleri, 2011; Eleuterio Lombardo, Alvarez-Barrientos, Maroto, Boscá ve Knaus, 2007; Mantovani ve diğerleri, 2013; Martinez ve diğerleri, 2014; Miller ve diğerleri, 2009; Mosser ve Edwards, 2008; Parameswaran ve Patial, 2010; Rőszer, 2015), İFN-□, TNF-α ve LPS konusunda ilerde detaylı değinilmiştir.

GM-CSF

GM-CSF, M1 plastisitesine neden olan uyarılardan kabul edilmektedir. GM-CSF, antijen sunumunu, kompleman ve antikor aracılı fagositozu, makrofajın mikrop öldürücü kapasitesini, lökosit kemotaksisini ve yapışmayı arttırdığı, İL-6, İL-8, G-CSF, M-CSF, TNF–α ve İL-1β gibi sitokin üretimini uyardığı ancak LPS uyarımına göre daha zayıf bir uyaran olduğu gösterilmiştir (Martinez ve diğerleri, 2014).

Bakteri ve virüs bulaşı (bulaşın başında), glomerülonefrits, steatosis, artrit, ateroskleroz, diyabet gibi hastalıklar ayrıca obesite M1 makrofaj plastisitesine neden olabileceği (Olefsky ve Glass, 2010) bulunmuştur.

2.12.2. Makrofajlarının M2 yönünde plastisiteye neden olan moleküller

Çeşitli moleküller makrofajların M2 tipinin farklı alt gruplarına plastisitesine neden olur.

M2a alt grubu plastisitesine neden olan moleküller

İL-4 (Siamon Gordon, 2003; Rőszer, 2015; Stein, Keshav, Harris ve Gordon, 1992) ve İL-13 (Siamon Gordon, 2003; Mosser ve diğerleri, 2008) ile mantar (Erwig ve Gow, 2016; Y.-G. Kim ve diğerleri, 2014) ve helmint (Zhu ve diğerleri, 2014) bulaşı sayılabilir. İL-4 M2 plastisitesine neden olan genleri (Scarb1, Alox15 ve Mannose Receptor (Mrc1)) kontrol eden c-Myc transkripsiyon faktörünü aktive eder ve aynı zamanda STAT6 üzerinden PPAR-γ (Peroksizome Çoğaltıcı İle Aktive Edilmiş Reseptörü/Peroxisome Proliferator Activated

Receptor) aktivasyonuna neden olur (Siamon Gordon, 2003). M2 yönünde plastisite olmasını sağlar (Rőszer, 2015; Stein ve diğerleri, 1992). İL-13, İL-4 ile birlikte STAT6 üzerinden M2 plastisitesine neden olur (Siamon Gordon, 2003; Mosser ve diğerleri, 2008). Bu konuya ilerde detaylı değinilmiştir.

M2b alt grubuna plastisiteyi sağlayan moleküller

İmmün kompleksler (Rőszer, 2015; Swisher ve diğerleri, 2014; Yue ve diğerleri, 2017), TLR agonistleri (LPS) (Yue ve diğerleri, 2017), İL-1ra (Luz-Crawford ve diğerleri, 2016) ile aktive edilmiş makrofajlar M2b olarak adlandırılır.

M2c alt grubuna plastisiteyi sağlayan moleküller

GC, adrenal bezlerden günlük ritimde veya stres durumunda salgılanan steroid hormonlardır. Hem vücutta salgılanmakta hem de sentetik olarak üretilmektedir (Cain ve Cidlowski, 2017; Chapman ve diğerleri, 2006; Kugelberg, 2014) bu hormonlar, TGF-β (Q. Cao ve diğerleri, 2010; Gong ve diğerleri, 2012) ve İL-10 ile aktive edilmiş makrofajlar M2c olarak adlandırılır. M2c'ler M(İL-10), M(GC+TGF-β) ve M(GC) olarak alt gruplara da ayrılabileceği belirtilmiştir (Rőszer, 2015).

2.12.3. Makrofajların M1 ve M2 yönünde plastisitesini sağlayan durumlar

Bakteriyel bulaş (bulaşın kronik fazında) (Benoit ve diğerleri, 2008; Mège, Mehraj ve Capo, 2011), viral bulaş (bulaşın kronik fazında) (D. H. Lee ve Ghiasi, 2017; Sang, Miller ve Blecha, 2015), parazitler (Noël, Raes, Ghassabeh, De Baetselier ve Beschin, 2004), alerji (H. Y. Kim, DeKruyff ve Umetsu, 2010; Melgert ve diğerleri, 2011) ve obesite sonrası zayıflamanın (Castoldi, Naffah de Souza, Câmara ve Moraes-Vieira, 2016) makrofajların M2 tipinde plastisitesine neden olabileceği, kanserin ör: göğüs kanseri (Biswas ve Mantovani, 2010) Sistemik Lupus Eritomatozus/Lupus Nefritinde (F. Li ve diğerleri, 2015) ise hem M1 hem de M2 plastisitesinin görülebileceği belirtilmektedir.

THP-1'lerin plastisitesi; W. Chanput ve diğerleri (2014) tarafından Çizelge 2.3'de listelendiği gibi PMA ile aktive THP-1 hücre dizisinin İFN-γ ve LPS ile M1 plasitisite makrofajlara, İL-4 ve İL-13 uyarımı ile M2 plastisite makrofajlara benzer bir karaktere

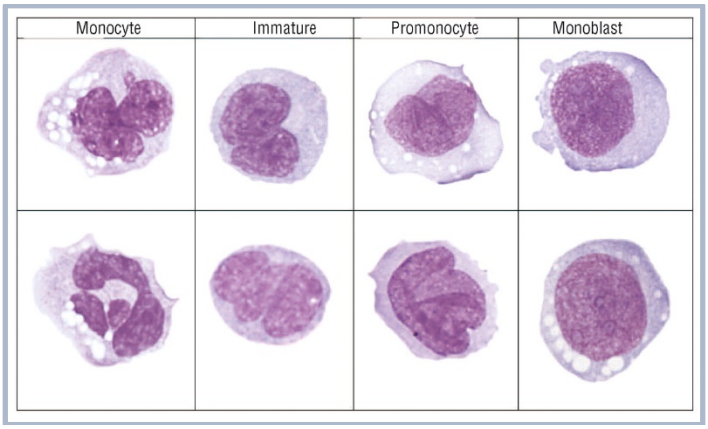
dönüştürülebildiği gösterilmiştir (Genin, Clement, Fattaccioli, Raes ve Michiels, 2015; Siamon Gordon, 2003; Mosser ve diğerleri, 2008).

Çizelge 2.3. Farklılaşmış THP-1 makrofajlarda tespit edilen makrofaj işaretleri W. Chanput ve diğerleri (2014)

Makrofaj işaretleri	Sitimülasyon durumu
Sitoplazma, mitokondri ve ribozom sayısında artış	200 nM PMA ile 72 saat
Eksprese edilen makrofaj yüzey belirteçleri: CD11b CD14 CD36	10 nM PMA 3 ve 72 saat
	5-100 ng/ml PMA 48 saat
	40 nM PMA 48 saat
Plastisite kabiliyeti	**M1**
	20 ng/ml LPS+20 ng/ml İFN-γ 24 saat
	1 μg/ml LPS+ 20 ng/ml İFN-γ 6 saat
	10 ng/ml LPS + 5 ng/ml İFN-γ 72 saat
	M2
	20 ng/ml İL-4 24 saat
	25 ng/ml İL ve 25 ng/ml İL-13 72 saat

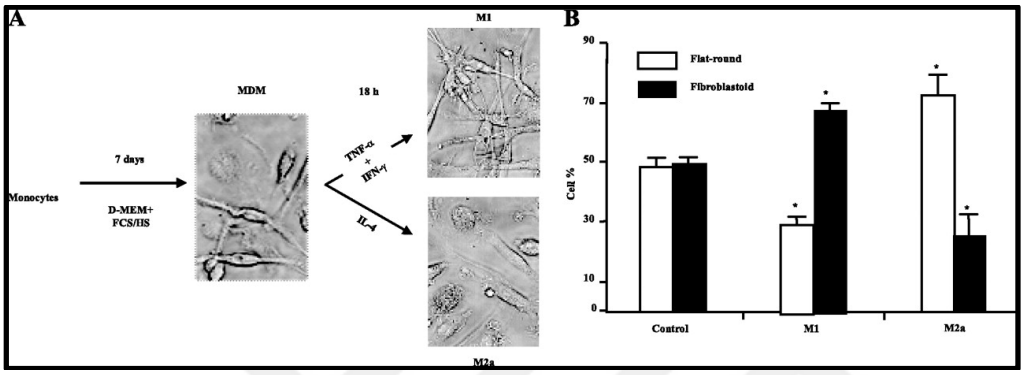
2.13. Monosit ve Makrofajların Morfolojik Görüntüsü

Monosit oluşumu incelendiğinde Goasguen ve diğerleri (2009) tarafından Resim 2.16'de görüntülendiği gibi monositlerin monoblast, promonosit, immatür monosit ve monosit diye ayrılabileceği, periferik kanda bulunan monositlerin lobüle dişli bir çekirdeğe sahip olduğu, görünebilen bir nükleoluslarının olmadığı, sitoplazmalarında nadiren azurofilik granüllerin ve vakuollerin olduğu, 20-25 mikron çapında büyük hücreler olduğu belirtilmektedir.



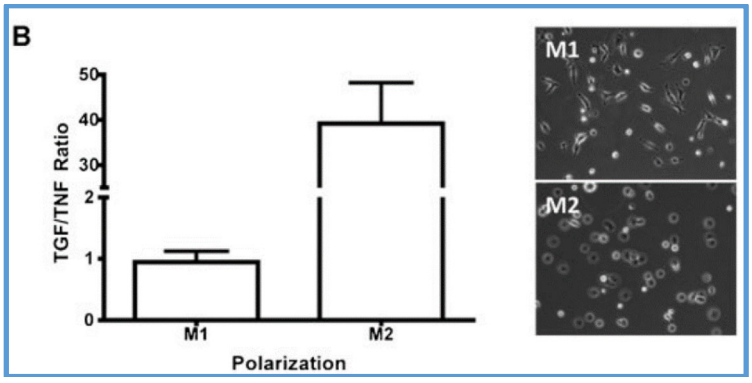
Resim 2.16. Gelişim evrelerine göre monositlerin görüntüsü (Goasguen ve diğerleri, 2009)

Cassol, Cassetta, Rizzi, Alfano ve Poli (2009) tarafından Resim 2.17'de görüntülendiği gibi PBMC'den plastik yüzeye yapışma özelliği ile elde edilen makrofajlar 7. günde yuvarlak ve fibroblasta benzer iğsi görünümündeki hücrelerin karışımı iken M1 plastisite medyumu (TNF-α ve İFN-γ) ile muamele edildiğinde çoğu iğsi görünüm kazandığı, M2a plastisite medyumu (İL-4) ile muamele edildiğinde ise çoğunun yuvarlak görünüm kazandığı gösterilmiştir.



Resim 2.17. Makrofajların M1 plastisite medyumu (TNF-α ve İFN-γ) ve M2a plastisite medyumu (İL-4) muamelesi sonrası morfolojik değişimi (Cassol ve diğerleri, 2009)

Aynı şekilde Freytes ve diğerleri (2013) tarafından Resim 2.18'de görüntülendiği gibi PMA ile makrofajlara farklılaştırılan THP-1'lerin M1 plastisite medyumu (İFN-□ ve LPS) ile muamelesinde TNF-α salgıladıkları ve iğsi görüntüde oldukları, M2 plastisite medyumu (İL-4 and İL-13) ile muamelede ise TGF-β salgılayıp daha yuvarlak görünümde oldukları gösterilmiştir.



Resim 2.18. THP'lerin M1 plastisite medyumu (İFN-□ ve LPS) ve M2 plastisite medyumu (İL-4 and İL-13) muamelesi sonrası morfolojik değişimi (Freytes ve diğerleri, 2013)

Adutler-Lieber ve diğerleri (2013) tarafından yapılan çalışmada ise insan PBMC'lerden elde edilen monositlerden yapışma özelliği ile elde edilen makrofajların 1.-7. gün arasında iğsi ve yuvarlak hücrelerin karışımı olduğu, 14. günde sadece yuvarlak hücrelerin hakim olduğu, insan PBMC'lerden elde edilen monositlerden yapışma özelliği ile elde edilen makrofajların MNC'ler ile transvel ortamında ko-kültüründe M1 plastisitesini taklit ederek 14. günün sonunda tamamen iğsi/yıldızsı görünüm kazandığı, insan PBMC'lerden elde edilen monositlerden yapışma özelliği ile elde edilen makrofajların AT-MKH (yağ dokusundan elde edilen MKH'lar/adipose tissue derived MSC) transvel ortamında ko-kültüre edildikleri zaman aynı M2 farklılaşan monositlere benzer şekilde 7. günde daha belirgin olmaya başlamakla birlikte yuvarlak görünüm kazandığı bulunmuştur.

Diğer bir çalışmada ise tam tersi olarak, insan PBMC elde edilen monositler GM-CSF içeren M1 farklılaşma medyumu ile tek başlarına muamele edildiklerinde M1 makrofajlara özgü olduğu iddia edilen kızarmış yumurta şeklinde mikroskobik görüntüsü olduğu, insan PBMC elde edilen monositlerin insan P-MKH'ler (Plasenta Dokusundan Elde Edilen MKH'lar/ Placenta Derived MSC) ile GM-CSF içeren farklılaşma medyumunda ko-kültüre edildiklerinde M2'lara özgü olduğu iddia edilen uzun iğsi görünüm aldıkları P-MKH'lar ortamdan uzaklaştırıldıklarında tekrardan kızarmış yumurta şeklini aldıkları gösterilmiştir (Abumaree ve diğerleri, 2013).

2.14. Makrofajlardan Salgılanan Moleküller

Makrofajlar plastisite oldukları tiplere göre EK-8, EK-9 ve EK-11'de listelendiği ve daha sonra detaylı değinileceği gibi çeşitli immün moleküller salgılar ve eksprese ederler (Arango Duque ve diğerleri, 2014; Benoit ve diğerleri, 2008; Chanmee ve diğerleri, 2014; David ve diğerleri, 2011; Mantovani ve diğerleri, 2013; Martinez ve diğerleri, 2014; Miller ve diğerleri, 2009; Rőszer, 2015).

2.15. Hücre Stres Cevabı İle İlgili Moleküller

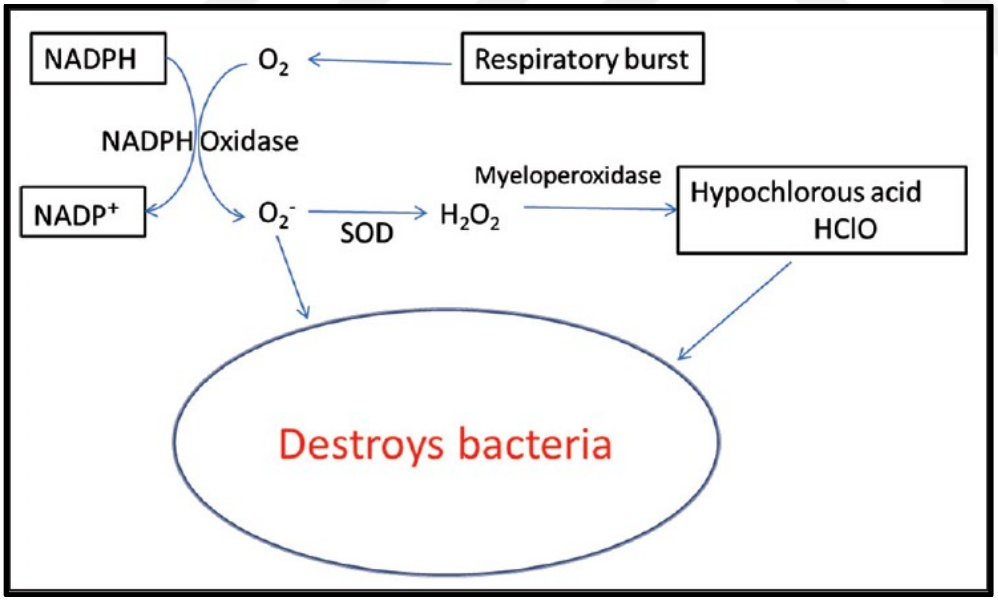
HOX-1/HO-1 hem katabolizmasında yer alan bir enzimdir ve hücre stres durumunda arttığı gösterilmiştir (Aggeli, Theofilatos, Beis ve Gaitanaki, 2011). PARP'ın ise hedef proteinlere ADP-riboz transferini katalize eden bir enzim olduğu, kromatin yapısının sabitliği, transkripsiyon, kopyalama, rekombinasyon ve onarımı gibi çeşitli hücresel süreçlerde

önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir. MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda, LPS, İFN-□ ve TLR9 ligandı CpG ile aktive edilen N9 ile fare BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiğinde hücre HOX1 ve PARP mRNA seviyesinin seviyesinde düşme tespit edilmiştir (Giunti ve diğerleri, 2012).

2.16. Solunum Patlaması (Respiratory Burst)

Makrofajlar bakterileri oksijene bağımlı (ROS/ROI ve RNS/RNI) ve oksijenden bağımsız (defensins, TNF-α, lizozim ve hidrolitik enzimler) iki yolla öldürdükleri bulunmuştur.

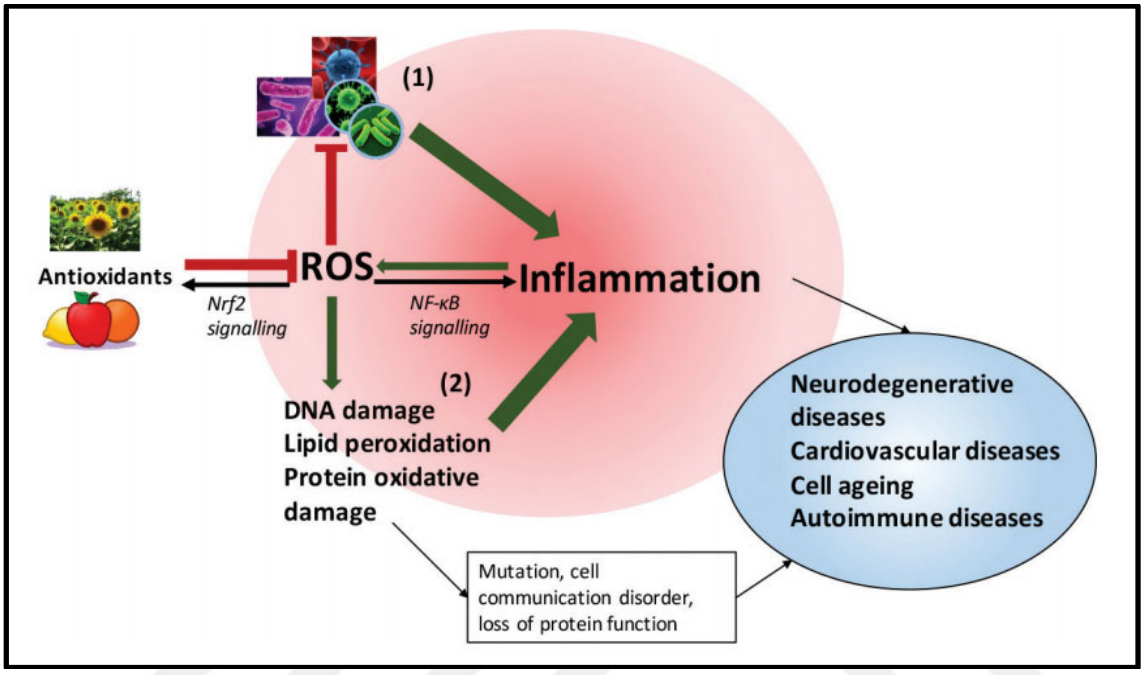
Oksidatif stres ROS/ROI ve RNS/RNI'nın oluştuğu durumdur. Makrofajların patojeni fagositoz etmesi sonucu NADPH oksidazin indüksiyonu ile ROS'un oluşmasına yol açan durum Satyanarayana, Kumar, Naidu ve Prasad (2014) tarafından Resim 2.19'da şematize edildiği gibi "Solunum Patlaması (Respiratory Burst)" olarak adlandırılır (Iles ve Forman, 2002) ve makrofajların oksijene bağımlı bakterileri öldürme mekanizmalarından bir tanesi olarak tanımlanmaktadır (Iles ve diğerleri, 2002; Satyanarayana ve diğerleri, 2014).



Resim 2.19. Oksijen patlaması ile bakterilerin öldürülmesi mekanizması (Satyanarayana ve diğerleri, 2014)

ROI/ROS dioksijene (O2) tek, çift veya üç elektron transferlerinden kaynaklanan; süperoksit radikalleri (O2-), hidrojen peroksit (H2O2) ve hidroksil kökleri (OH) içerir.

ROI/ROS, Ingram ve Diotallevi (2017) tarafından Resim 2.20'de şematize edildiği gibi doğuştan gelen bağışıklık sisteminde, antioksidan olarak ve hücrelerde programlanmış hücre ölümünün aracıları olarak rol oynar (Darrah, Hondalus, Chen, Ischiropoulos ve Mosser, 2000; Ingram ve diğerleri, 2017; Ohya ve diğerleri, 1998; Slauch, 2011).

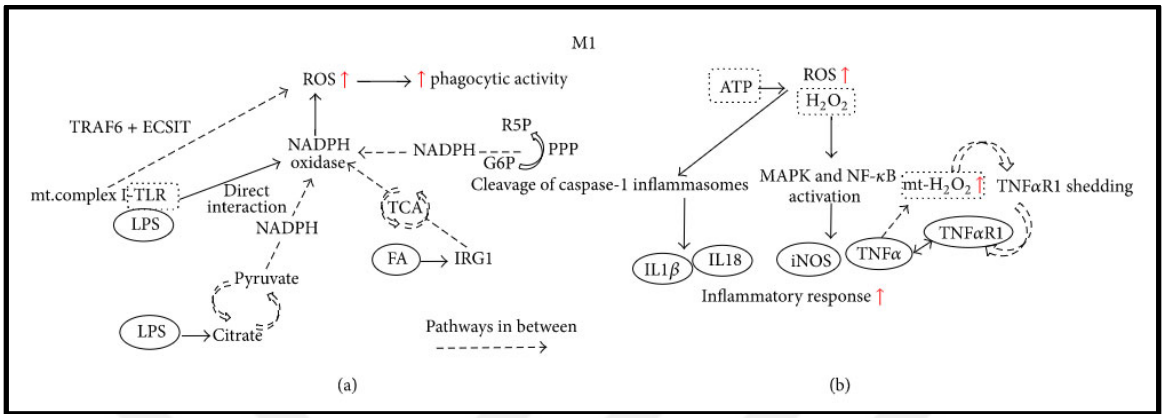


Resim 2.20. Yangı ve ROS arasındaki ilişkinin şeması (Ingram ve diğerleri, 2017)

ROI/ROS, NO ile tepkiye girer ve peroksi nitratlar (Peroxy Nitrates) veya RNI oluşmasına neden olur. RNI'ler ROI/ROS ile birlikte bakterilerin öldürülmesinde rol oynar (Jacob-Ferreira ve Schulz, 2013; Klebanoff, 1993).

ROS makrofajlar strese girdiklerinde ölüm mekanizmasında, bakteriyi öldürmede, ayrıca monositlerin göçünde, monositlerin makrofajlara farklılaşmasında ve Tan ve diğerleri (2016) tarafından Resim 2.21'de şematize ettiği gibi bakterilerin makrofajları uyardıklarında ROS aracılığı ile bakterilerin makrofajlar tarafından fagosite edilmelerinin artmasında ve ayrıca NF-κB üzerinden TNF-α salgılanmasına ve bunun otoregulasyonu ile makrofajların M1 yönünde plastisite olmasında böylelikle yangının oluşumunda rol oynadığı bulunmuştur.

Genel olarak artmış oksidatif stres/ROS MKH'ların çoğalmasını engellediği, yaşlanmasını arttırdığı, adipojenik farklılaşmasını artırırken osteojenik farklılaşmasını azalttığı ve immün düzenlemesini engelledikleri gösterilmiştir (Denu ve Hematti, 2016).



Resim 2.21. ROS'un makrofaj fagositozu ve M1 plastisitesine etkisinin mekanizması (Tan ve diğerleri, 2016)

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- Uyarılmamış THP-1'lerde bazal ROS seviyesinin çok düşük olduğu, Gr (-) (Gram negatif) bir bakteri olan salmonella enterika infekte edildiklerinde ROS seviyesinde hafif bir artış olduğu, transvelde uyarımın olmadığı ortamda insan BM-MKH'lar ile ko-kültür yapıldığında ROS seviyesinin hafif arttığı, salmonella enterika bulaşının eklendiği ortamda ko-kültüre edildiğinde ise ROS seviyesinin düştüğü (Vasandan ve diğerleri, 2016).

- Aynı çalışmada PMA/THP-1'ler incelendiğinde bazal ROS oluşumunun arttığı, salmonella enterika enfekte edildiğinde ROS oluşumunun daha da artırdığı, transvelde uyarımın olmadığı ortamda insan BM-MKH'lar ile ko-kültüre edildiğinde ROS seviyesinin değişmediği, salmonella enterika bulaşının eklendiği ortamda ko-kültüre edildiğinde ise ROS seviyesinin artış olduğu (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- Yine aynı çalışmada PBMC'den elde edilen uyarım yapılmayan makrofajlar incelendiğinde bazal ROS seviyesinin farklılaşmamış THP-1 oranla daha yüksek olduğu, uyarım yapılmayan makrofajların MKH ile transvelde ko-kültürde ROS seviyesinin arttığı, makrofajlar salmonella enterika ile infekte edildiklerinde tek başlarına ve

salmonella ile enfekte ortamda MKH'larla transvelde ko-kültüre edildiklerinde ROS seviyesinin aynı düzeyde olduğu, insan BM-MKH'ların PBMC'den elde edilen makrofajlarla ko-kültür yapıldığında bakterileri çok daha hızlı temizlediği (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- Yukarda bahsedilen Vasandan ve diğerleri (2016) tarafından yapılan çalışmanın bulgularına zıt olarak insan BM-MKH'ların insan PBMC kaynaklarla makrofajlarla LPS ve ATP uyarımı varlığında direkt ve transvel kültürü yapıldığında insan BM-MKH'lardan anti-apoptotik bir protein olan STC-1 (Stanniocalcin-1) ekspresyon ve salgısını artırdığı ve bu proteinin negatif geri dönüşümle makrofajlardaki mitokondri kaynaklı ROS oluşumunu baskıladığı bulunmuştur (Oh ve diğerleri, 2014).

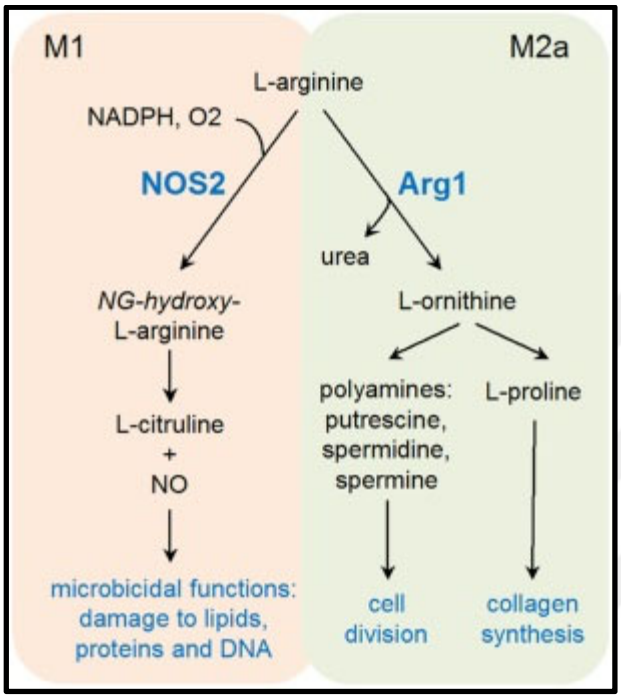
2.17. NOS, RNS/RNI (NO, NO2, HNO2), Arg-1 ve L-ornitin

L-arginin'den NO üretimini katalize eden bir enzim ailesi olan NOS (Forstermann ve Sessa, 2012) birçok hücre tipinde yangısal hastalıkta sitokin ve diğer ajanlar tarafından uyarılabilir ve iNOS olarak adlandırılır.

Fare BM-MKH'ların İFN-γ ve TNF-α, İL-1α, veya İL-1β ile kombine uyarılması sonucu MHK'larda kemokinlerin ve iNOS üretimi gerçekleşmesiyle NO üretiminin arttığı, kemokinlere yanıt olarak MKH'lara yaklaşan T hücrelerinin fonksiyonlarının NO tarafından baskılandığı gösterilmiştir (Ren ve diğerleri, 2008).

Muraille, Leo ve Moser (2014) tarafından Resim 2.22'de şematize edildiği gibi makrofajlarda plastisite oldukları duruma göre L-arginini katabolize ettikleri, M1 yönünde plastisite olan makrofajların L arginini katabolize etmek için iNOS kullanarak L-arginini L-sitrüline (L-Citruline) ve NO dönüştürdükleri, NO'in M1 makrofajların antimikrobiyal etkisinden sorumlu olduğu ayrıca vazodilatasyon gibi yangının birçok belirtinin ortaya çıkmasında rol oynadığı bulunmuştur. Bu yüzden araştırmacılar tarafından iNOS ve NO M1 plastisite belirteci olarak kullanılmaktadır (MacMicking ve diğerleri, 1997; J. M. Wong ve Billiar, 1995).

Muraille ve diğerleri (2014) tarafından Resim 2.22'de şematize edildiği M2 yönünde plastisite makrofajların ise Arg-1 kullanarak L-arginini L-ornitin dönüştürdükleri ve metabolitlerinin hücrelerin bölünmesi ve kollajen sentezinde görev aldığı gösterilmiştir. Bu nedenle araştırmacılar tarafından Arg-1 aktivitesi M2 yönünde plastisite belirteci olarak kullanılmaktadır.



Resim 2.22. Makrofajlarda L-arginin katabolizmasının mekanizması (Muraille ve diğerleri, 2014)

Bu konuda MKH ve makrofajların arasındaki ilişkiyi inceleyen araştırmalarda;

- Yüksek glikozlu ortamların makrofajları M1 yönünde plastisitesine neden olduğu, LPS ile uyarılan insan UC-MKH'lardan elde edilen eksozomları içeren medyumla PMA/THP-1'in yüksek glikozlu ortamda kültüre edilmesi sonucunda PMA-THP-1'de, hem de LPS ile uyarılan insan UC-MKH'lardan elde edilen eksozomları fare yara kenarına enjekte edildikten sonra alınan dokuların immünofloresan incelenmesinde Arg-1 üretiminin arttığı (Ti ve diğerleri, 2015),

- THP-1'lerin NO salgıladıkları, bunların insan BM-MKH ile transvelde ko-kültürlerinde NO seviyesinde değişiklik olmadığı, THP-1'lerin salmonella ile bulaş NO seviyesini

artırdıkları, ortama insan BM-MKH eklendiğinde NO seviyesinde hafif bir düşme olduğu (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- PMA/THP-1'lerin NO salgıladıkları, bunların insan BM-MKH ile transvelde ko-kültürlerinde NO seviyesinde değişiklik olmadığı, salmonella ile enfekte PMA/THP-1'in NO salınımını artırdıkları insan BM-MKH'larla kültüre eklenmesiyle NO seviyesinin daha da arttığı (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- Nemeth ve diğerleri (2009) tarafından yapılan çalışmada fare BM-MKH'lar ve fare BM-DM'lar transvelde ko-kültüre edildikleri zaman İL-10 salgılanırken, NOS-/- farelerden elde edilen BM-MKH'lar ile NOS-/- farelerden elde edilen BM-DM'lar transvelde ko-kültüre edildiğinde İL-10 salgılamadıklarını, (buda hem MKH hem de makrofajlardan salınan NO'in MKH üzerine etki ederek MKH'lardan PGE2 salgılanmasına, PGE'ninde makrofajlardan İL-10 salgılanmasında rol oynadığını düşündürmektedir)

- LPS, İFN-γ ve TLR9 ligandı olan CpG ile ayrı ayrı aktive edilen N9, fare BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiğinde iNOS mRNA seviyesinin ve NO metabolitlerinin (nitrite ve nitrat) seviyesinin azaldığı (Giunti ve diğerleri, 2012),

- Kemelerin koroner arterlerinin bağlanarak oluşturulan MI modelinde, MI geliştikten sonra fare BM-MKH'ların direkt infarkt alanına enjeksiyonundan sonra keme kalp dokusu incelendiğinde fare BM-MKH'ya yakın alanlarda CD68+ Arg-1+ makrofajların varlığı (Cho ve diğerleri, 2014),

- Fare Kİ'den elde edilen hücrelerin M-CSF ile makrofaja dönüştürülmesi ile elde edilen fare BM-DM'ların iNOS eksprese ettikleri, bu makrofajların fare BM-MKH'lar ile İFN–γ ve LPS varlığında transvel ortamında ko-kültüre edilmesi ile iNOS mRNA ve protein seviyesinin azaldığı, NO üretiminin inhibe edildiği, Arg-1 mRNA ve protein seviyesinin arttığı üre üretiminin uyarıldığı, İL-4 varlığında transvel ortamında ko-kültüre edilmesi ile üre üretiminin arttığı (Cho ve diğerleri, 2014),

- L-MKH'ların (Kendiliğinden lenfoma geliştiren farelerin tümör dokusundan elde edilen MKH'lar/Lymphomas associated MSC) EL4 ile birlikte immün baskılanmış farelere

verildiğinde tümör dokusunda makrofajların Arg-1 eksprese etmedikleri ama iNOS eksprese ettikleri (Ren ve diğerleri, 2012),

- Pankreatik kanserin genetik mühendislikle hazırlanan fare modelinde CA-MKH'ların (Pankreatik kanserin genetik mühendislikle hazırlanan fare modelinde pankreastan elde edilen MKH'lar/Cancer Associated MSC) tümör hücreleri ile birlikte normal farelere verilmesi sonrasında farede oluşan tümör dokusu incelendiğinde makrofajlarda iNOS ekspresyonun azaldığı Arg-1 ekspresyonun ise arttığı gösterilmiştir (Martinez ve diğerleri, 2014).

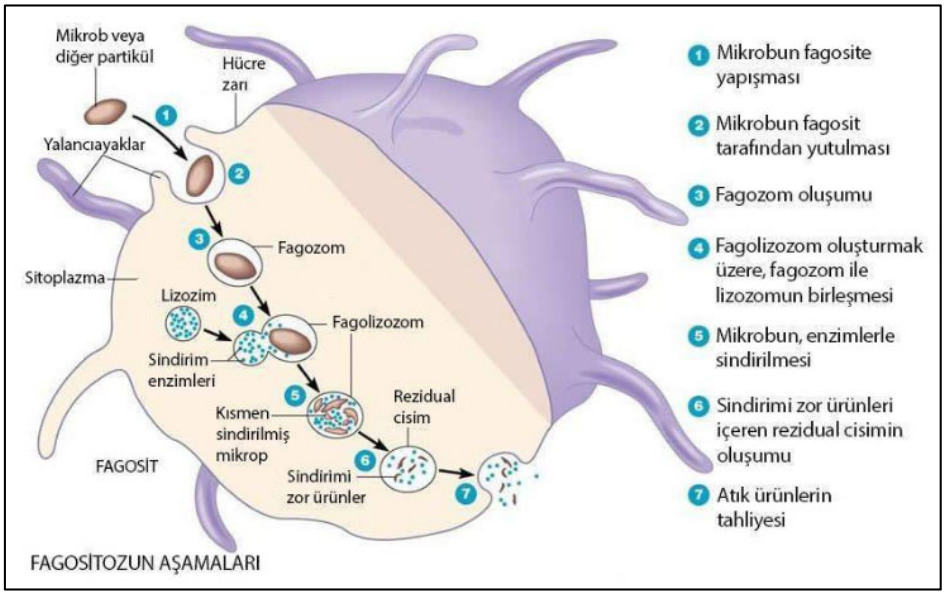
2.18. Demir Metabolizması

Hemen hemen tüm canlı organizmalar demire gereksinim gösterdiği, mikrobiyal hücrelerinde çoğalma ve virülansın devamı gibi birçok metabolik süreç için demire ihtiyaç duydukları (Nairz, Schroll, Sonnweber ve Weiss, 2010), M1 yönünde plastisite makrofajların, yıkılan eritrositlerden heme demirini geri dönüştürdükleri ve depolarını düzenledikleri için demir metabolizmasında merkezi bir rol oynadıkları, M1 makrofajların ferroportin (Hücresel Demiri Dışa atımcı/Cellular Iron Exporter) ve CD163 (Hemoglobin Çöpçü Reseptörü/Hemoglobin Scavenger Receptor) baskılarken demirin hücre içi depolanmasında rol oynayan ferritini indükledikleri, serbest demir havuzunu azalttıkları ve hücrelerin içinde metabolik aktive için kullanılan demiri artırdıkları, M1 makrofajların demirin mikroorganizma için değil konak için kullanılmasını sağlayarak mikrobisidal bir etki gösterdikleri bulunmuştur.

Oksidatif strese neden olan ajanlar, endotoksin, "heat shock protein", yangı sitokinleri ve prostaglandinler ile oluşturulan HO-1'un, "hem" parçalanmasının birinci basamağını katalize ederek karbon monoksit, serbest demir ve biliverdin ürettiği, hücre homeostazında rol oynadığı, potansiyel immün baskılayıcı bir enzim olduğu, M2 makrofajların da yangı söndürücü etkilerini HO-1 uyarılması ile demir depolanmasını azaltarak demirin salınmasını artırarak gösterdikleri belirtilmektedir (A. Choi ve Alam, 1996; Muraille ve diğerleri, 2014; Naito, Takagi ve Higashimura, 2014; Recalcati ve diğerleri, 2010). Erişkin keme modelinde T hücre çoğalmasının MKH'lardan salgılanan HO1 ve iNOS aracılığı ile baskılandığı gösterilmiştir (Chabannes ve diğerleri, 2007).

2.19. Fagositoz

Ilya Mechnikov 1908 yılında fagositozu tanımlayarak immünolojiye yaptığı katkılarından ötürü Paul Ehrlich ile birlikte Nobel Fizyoloji veya Tıp Ödülü'nü kazanmıştır (NobelPrize, 1908). Fagositoz konakçı savunmasında ayrıca otoimmün, malign ve metabolik hastalıkların patogenezine rol oynadığı, Resim 2.23'de şematize edildiği gibi (Ozdogan, 2018) fagositozun PAMP'lar ve kompleman reseptörleri aracılığı ile tanınan katı partiküllerin (> 0,5 m) fagozom olarak adlandırılan bir plazma-membran zarfında hücre içine alıp ikinci aşama olarak fagozomun lizozomla birleşerek fagolizozomu oluşturup oksijen bağımlı (ROS, hidrojen peroksit ve myeloperoksidaz) ve oksijen bağımsız (enzimler (lysozim) ve antimikrobial peptitler (defensin vb.)) mekanizmalar ile içindekileri parçaladığı ve patojen ve hücre artıklarının temizlediği süreç olarak tanımlandığı (S. Gordon, 2016) peptit fragmanlarının MHC molekülü ile hücre yüzeyine çıkarılıp T lenfositlerine sunulduğu, geri kalan parçacıkların ekzositosizle dışarı atıldığı, M1 ve M2 plastisite makrofajlarının her ikisinin naif makrofajlara kıyasla artmış fagositik kapasitesi olduğu, ancak yalnızca M1 makrofajların bakterileri fagozomdan temizlemek için solunum patlaması (Respiratory Burst) yapabildikleri (Aderem, 2003; Aderem ve Underhill, 1999; Lam ve diğerleri, 2016) M2 makrofajlar artan fagositik kapasitesiyle zedelenen ve apopitoza giden dokuları temizleyerek doku tamir ve yenilenmesinde rol oynadığı gösterilmiştir (Novak ve Koh, 2013; Ogle, Segar, Sridhar ve Botchwey, 2016; Teo ve Hughes, 2003).



Resim 2.23. Fagositozun basamakları (Ozdogan, 2018)

M2 yönünde plastisitesi sağlanmış THP-1 hücrelerinin fagositik aktivitelerini MO ve M1 plastisitesi sağlanmış THP-1'lere göre daha az olduğu bulunmuştur (Tedesco ve diğerleri, 2018).

Celhar ve diğerleri (2016) tarafından yapılan bir çalışmada BM-DM'ların LPS, poli(I:C) ve İFN-γ ile prime edildiğinde fagositoz yüzdesinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu ancak prime gruplar arasında fark olmadığı bulunmuştur.

MKH ve makrofaj arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan AT-MKH ve insan PBMC elde edilen monositlerden yapışma özelliği ile elde edilen makrofajlar transvel ortamında ko-kültüre edildikleri zaman 3. günde fagositik aktivitede düşme olduğu (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013),

- İnsan G-MKH'ların (Diş Eti Dokusundan Elde Edilen MKH'lar/Gingiva Derived MSC) insan PBMC'den elde edilen monositlerle yapılan transvel kültüründe zimozan partiküllerin fagositozunun arttığı (Q. Z. Zhang ve diğerleri, 2010),

- İnsan PBMC'den elde edilen monositlerin zimozan partiküllerini fagosite ettikleri, insan P-MKH'lar ile transvel ortamında ve P-MKH'ların GM-CSF içeren kültür medyumunda kültüre edildiklerinde fagositik kapasitede artış olduğu (Abumaree ve diğerleri, 2013),

- İnsan PBMC'den elde edilen monositler, insan P-MKH'ların GM-CSF içeren kültür medyumunda kültüre edildikten sonra, P-MKH'lardan dondur çöz metoduyla elde edilen apoptotik P-MKH parçacıkların eklenmesi durumunda, makrofajların apoptotik parçacıkları fagositik kapasitelerinde artış olduğu (Bu makrofajlarda apoptotik hücrelerin fagositozu için gerekli reseptörlerin artmış olduğu (örneğin: CD36 (Çöpçü Reseptör Scavenger Receptor) ve CD14 (Glycosyl Phosphatidylinositol Anchored LPS Receptor)) (Abumaree ve diğerleri, 2013),

- Transvel ortamında dekstran boncukları (bead) ile yapılan fagositoz deneyinde PMA/THP-1'lerin fagositik kapasitesinin olduğu, PMA/THP-1'ler ile insan BM-

MKH'ların transvel ortamında fagositik kapasitesinin değişmediği, THP-1'lerin PMA ile aktivasyonun fagositik kapasitede azalmaya neden olduğu (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- GFP işaretli salmonella ile yapılan mikrobisidal aktivitenin tespiti deneyinde PMA/THP-1 hücreleri transvel ko-kültür ortamında insan BM-MKH'lar ile ko-kültüre edildiğinde mikropları çok daha hızlı temizlediği (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- Fare peritonundan elde edilen yangısal makrofajların fare BM-MKH'larla ko-kültüre edildikten sonra ortama apoptotik timositler eklendiğinde makrofajların apoptotik hücreleri fagositik kapasitenin arttığı (Maggini ve diğerleri, 2010),

- Fare peritonundan elde edilen yangı ile ilgili makrofajların BM-MKH'larla ko-kültüre edildikten sonra ortama zimozan partikülleri eklenmiş ve makrofajların zimozan partikülleri fagositik kapasitenin değiştirmediği (Maggini ve diğerleri, 2010),

- Farede sepsis modeli olan CLP'de çekumun bağlanması ve delinmesi yapıldıktan sonra fare BM-MKH'lar verilip daha sonra dalak hücrelerinin fagositoz kapasite bakıldığında fagositoz kapasitenin arttığı, fare BM-MKH'lar ile makrofajlar ko-kültüre edilip Gr (+) (Gram pozitif) eklendiğinde fagositoz kapasitesinin artmadığı (Mei ve diğerleri, 2010),

- LPS ile aktive edilen N9 fare BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiğinde hücre içi Ca seviyesinde ve kırmızı renkli floresan parlak mikro küreleri (red dyed fluoresbrite microspheres) fagosite etme kapasitesinde artış gösterdiği bulunmuştur (Giunti ve diğerleri, 2012).

2.20. MEM'lerle T Lenfosit İlişkisi

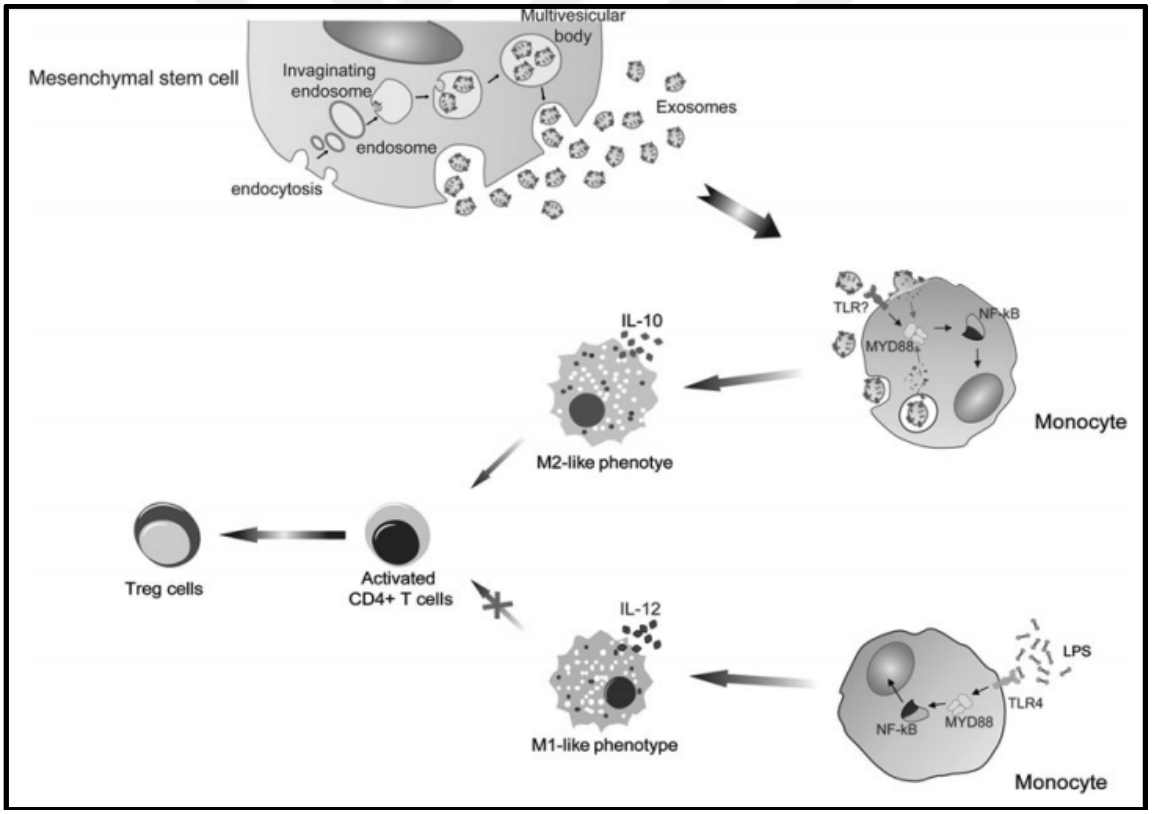
Yapılan çalışmalarda;

- PBMC'den elde edilen monositlerle insan BM-MKH'lar transvel ortamında 6 gün boyunca kültür ettikten sonra MEM'leri PBMC'den elde edilen CD4+CD25- ile kültüre edildiğinde bunları uyarılmadıkları dolayısıyla MKH'ların monositlerin CD4+CD25- T hücre çoğalma kabiliyetini engellediği (Melief, Geutskens, Fibbe ve Roelofs, 2013a),

- İnsan G-MKH'ların insan PBMC (monosit/T hücre) ile M-CSF varlığında direkt kültüre edildiği durumda Th17 hücrelerinin azaldığı (Q. Z. Zhang ve diğerleri, 2010),

- Fare peritonundan elde edilen yangısal makrofajların fare BM-MKH'ların kültür medyumu ile ko-kültüre edildikten sonra LPS ve OVA maruz bırakıldığı durumda OT-II farelerden elde edilen CD4 hücreleri çoğaltmak için aktive edemedikleri (Maggini ve diğerleri, 2010),

- Resim 2. 24'de şematize edildiği gibi insan MKH'lardan elde edilen eksozomların THP-1'lerle 6 saat inkübasyonundan sonra onları M2 tipine plastisitesine neden olduğu ve eksozomla prime edilen THP-1'lerin fare dalağından elde edilen T lenfositleri ile inkübe edildiğinde onları Treg'lere dönüştürdüğü bulunmuştur (B. Zhang ve diğerleri, 2014).



Resim 2.23. MKH'ların eksozomlar üzerinden makrofaj ve T lenfositlerine immün modülatör etkilerinin mekanizması (B. Zhang ve diğerleri, 2014)

2.21. MEM'lerle Nötrofiller Arasındaki İlişki

Farede bir sistemik sepsis modeli olan CLP'de çekal bağlanma ve delinme yapıldıktan sonra fare BM-MKH'lar verildiğinde kandaki nötrofil sayısının arttığı gösterilmiştir.

Bunun muhtemel nedenin MEM'lerden salınan İL-10'nun nötrofillerin damar endoteli üzerindeki yuvarlanma yapışma ve damar endotelinden dokuya geçme fonksiyonlarının inhibisyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir. Nötrofillerin damar içinde kalması kandaki bakterilerin temizlenmesine yardımcı olduğu gibi dokuya geçmemeleri nötrofil aracılı doku zedelenmesinin olmamasına neden olur. Buda MKH'lara bağlı organ zedelenmesinden korunma mekanizmasının muhtemelen MEM'lerden salınan İL-10'nun nötrofillerin dokuya geçip zarar vermesini önlemesi şeklinde olduğunu düşündürmektedir (Nemeth ve diğerleri, 2009).

2.22. MKH'ların ve MEM'lerin Çoğalması

Yapılan çalışmalarda;

- İnsan burun mukozasından elde edilen MKH'ların 1 saat süreyle 1 μg/ml poli(I:C) ve 10 ng/ml LPS ile prime edildikten sonra 7 gün boyunca çoğalmaları izlenmiş 2-4 gün arasında bütün gruplarda çoğalmaları hızla arttığı LPS ile uyarılanda biraz daha fazla olduğu (Hwang ve diğerleri, 2014),

- PMA/THP-1'lerin M1 plastisite koşullarda (LPS ve İFN-□) ve M2 plastisite koşullarında (İL-4 ve İL-13) muamele edildikten sonra insan BM-MKH'lar ile direkt kültür ortamında ko-kültüre edildiklerinde M2 plastisite gerçekleşen PMA/THP-1'lerin sayısının hafif bir şekilde yükseldiği (Freytes ve diğerleri, 2013),

- LPS ile aktive edilen N9 fare BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiğinde çoğalmasında değişiklik olmadığı (Giunti ve diğerleri, 2012),

- M1 (İFN-□ ve LPS) ve M2 (İL-4 ve İL13) plastisite sağlanan PMA/THP-1'ler kullanılarak gerçekleştirilen transvel aracılığı ve direkt yapılan ko-kültürlerde M2 makrofajların ve bunların ilişkili sitokinlerin insan BM-MKH'larının büyüme ve

çoğalmasını desteklerken, M1 makrofajların ve bunlarla ilişkili sitokinlerin insan MKH'larının büyüme çoğalmasını engellediği gösterilmiştir (Freytes ve diğerleri, 2013; Kota ve diğerleri, 2014; Valles ve diğerleri, 2015),

2.23. MEM'lerin Organ Fonksiyonu ve Hayatta Kalmaya Etkisi

Yapılan çalışmalarda;

- İFN–γ ve LPS ile M1 plastisite PBMC kaynaklı makrofajların insan göbek kordonu veni endotel hücre dizisinde apopitoza yol açarken, İFN-γ ve LPS ile M1 plastisite PBMC kaynaklı makrofajların MKH ile ko-kültüründen sonra insan göbek kordonu veni endotel hücre dizisi ile kültüre edildiğinde apopitoza yol açmadığı (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- Farede bir sepsis modeli olan CLP'de çekumun bağlanıp ve delindikten sonra fare BM-MKH'lar IV olarak verilmiş ve kanda organ işlev bozukluklarını gösteren düzenleyicilere bakılmış. Böbrek işlev bozukluklarını gösteren kreatin düzeyinde belirgin düşme ve kan üre nitrojen düzeyinde iyileşme gösterilmiş ayrıca sepsis sonrası böbrekteki apoptotik hücre sayısında meydana gelen artış MKH uygulaması ile düştüğü, karaciğer ve pankreas işlev bozuklukları belirteçlerinde ise iyileşme olmadığı (Bu bize MKH tedavisinin septik şokun en belirgin komplikasyonu olan böbrek yetmezliğini azaltacağını düşündürmektedir) (Nemeth ve diğerleri, 2009),

- Klodronatla dolu lipozomlar (Clodronate Filled Liposomes) verilerek monosit sayısının azaltılması yapılmış farelerde bir sistemik sepsis modeli olan CLP'de çekal bağlama ve delinme yapıldıktan sonra fare BM-MKH'lar verildiğinde MKH'nın sepsise bağlı organ işlev bozuklukları ve yaşam üzerindeki olumlu etkisinin ortadan kalktığı gösterilmiştir. Bu bulgu MKH'nın olumlu etkisini monosit/makrofaj üzerinden gösterdiğini düşündürmektedir (Nemeth ve diğerleri, 2009).

2.24. MEM ve Doku Tamiri

İn vivo olarak, fareye sırtında bir yara oluşturduktan sonra sistemik olarak verilen insan G-MKH'ların, konakçı yara dokusunda M2 makrofaj plastisitesine neden olduğu ve yara iyileşmesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Q. Z. Zhang ve diğerleri, 2010).

2.25. MEM ve Tümör

Pankreatik kanserin genetik mühendislikle hazırlanan fare modelinde CA-MKH'ların makrofajların tümör dokusuna infiltrasyonunu artırdığı, fare makrofajlarını Arg-1 CD206+ İL-10 salgılayan tümör oluşumunu destekleyen bir fenotipe dönüşümünü sağladığı gösterilmiştir (Martinez ve diğerleri, 2014).

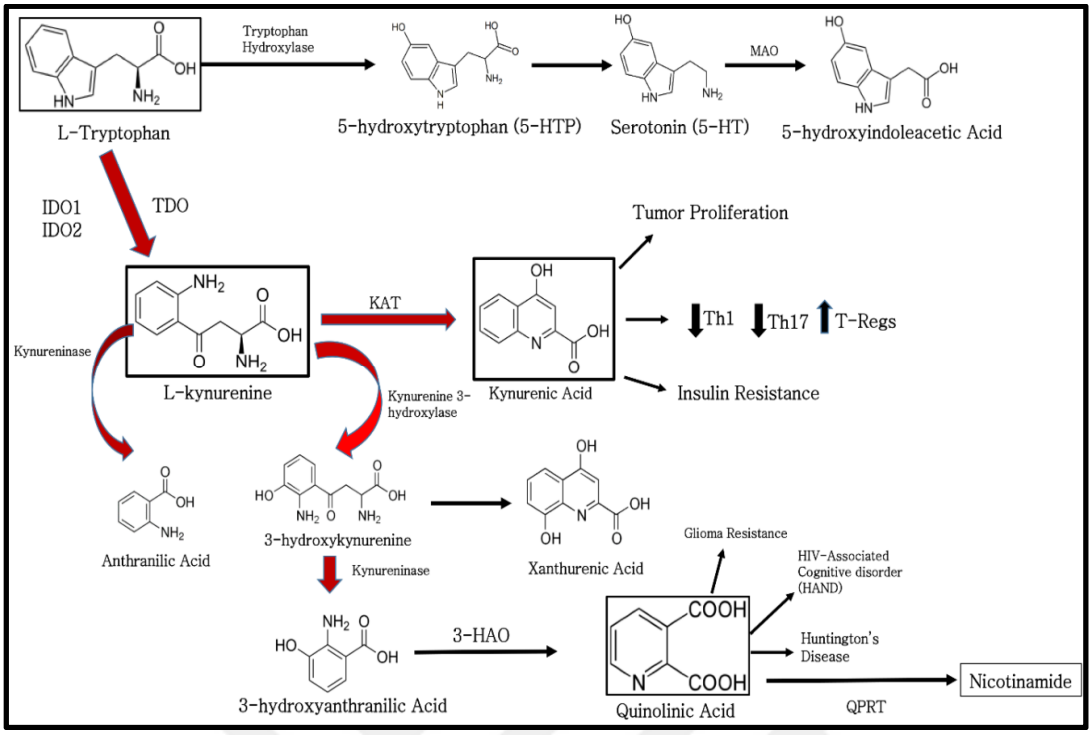
2.26. İmmün Modülatör Moleküller

MKH ve makrofaj arasındaki ilişki inceleyen ko-kültür çalışmalarının sonuçları özetle Ek-16 ve Ek-17'de bundan sonraki kısımda detaylı olarak verilmiştir.

2.26.1. IDO

Makrofaj ve DC'lerde İFN-□, TNF-α, İFN-β, LPS ve poli(I:C) ile uyarılabilir hücre içi bir enzim olan IDO'nun (Mbongue ve diğerleri, 2015; Opitz ve diğerleri, 2009) hem immün baskılayıcı hem de anti-mikrobiyal etki gösterdiği gösterilmiştir.

IDO'nun immün baskılayıcı etkisi; IDO Mbongue ve diğerleri (2015) tarafından Resim 2.25'de şematize edildiği gibi L-triptofanın L-kinurenin parçalanmasında TDO (Tryptophan 2, 3-Dioxygenase) ile birlikte ilk adımı katalize ettiği, L-kinurenin'de KAT (Kynurenine Aminotransferase) sayesinde kinurenik aside parçalandığı, kinurenik asidin tümörün çoğalmasında, Th1 ve Th17 cevabının baskılanması ve Treg'lerin oluşumunun artmasını sağlayarak (Fotopoulou ve diğerleri, 2011; Mbongue ve diğerleri, 2015), makrofajların M2 yönünde plastisiteye neden olarak immün baskılanmada rol oynadığı (X.-F. Wang ve diğerleri, 2014) bulunmuştur. IDO'nun anti-mikrobiyal etkisine gelince, İFN-γ makrofajları M1 plastisitesine neden olarak onlardan IDO salgılanmasına neden olduğu (X.-F. Wang ve diğerleri, 2014), salgılanan IDO'nun anti-mikrobiyal etkisini hücre içi parazitler (toksoplazma vb.), virüsler (herpes vb.), hücre içi bakteriler (klamidya ve rikettsiya vb.) ve hücre dışı bakteriler (streptokok, enterekok ve stafilokok vb.) gibi birçok patojenin büyümesi için gerekli olan L-tryptophanı L-kinurenine dönüştürüp seviyesini azaltarak ve ek olarak L-triptofanın parçalanmasıyla ortaya çıkan toksik metabolitlerin etkisiyle gösterdiği bulunmuştur (Bilir ve Sarısozen, 2017; MacKenzie, Heseler, Muller ve Daubener, 2007; R Meisel ve diğerleri, 2011; Muraille ve diğerleri, 2014).



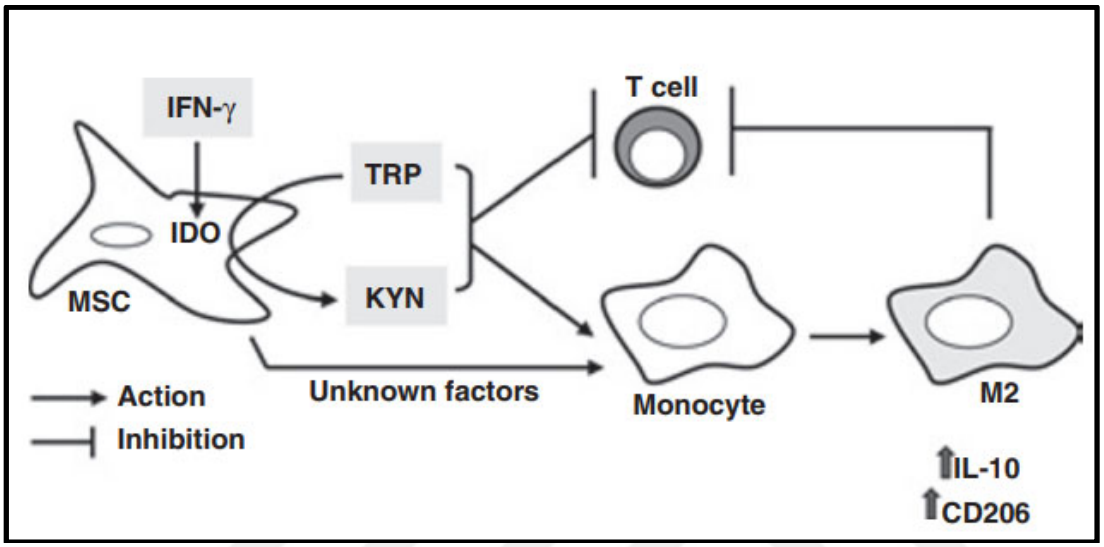
Resim 2.24. L-triptofanın IDO tarafından parçalanmasının mekanizması (Mbongue ve diğerleri, 2015)

Fare ve insan MKH'ları yangı ile ilgili sitokinler ile uyarıldıktan sonra iNOS üretimi ve IDO salgılanması incelendiğinde, insan MKH'larının aşırı yüksek seviyelerde IDO salgıladığı ve çok düşük seviyelerde iNOS ürettiği, fare MKH'larının bol miktarda iNOS üretip ve az miktarda IDO salgıladığı ettiği tespit edilmiş, aynı kültür koşulları altında insan MKH'larının immün baskılanmasının IDO aracılı olduğu, fare MKH'ları NO kullandığı gösterilmiştir (Renner ve diğerleri, 2009).

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- François, Romieu-Mourez, Li ve Galipeau (2012) tarafından Resim 2.26'da şematize edildiği gibi İFN-γ uyarılmasını ile insan BM-MKH'ların direkt kültür ortamında IDO salgıladığı (François ve diğerleri, 2012; Mauro Krampera ve diğerleri, 2006) IDO tarafından oluşturulan direkt immün baskılanma pro-apopitotik bir protein olan kinurenin CD4 ve CD8 T lenfositlerinde silinme (delesyon)/güçsüzlüğe (anerji) neden olması ve aynı zamanda Treg oluşumunun uyarılması ile oluşturduğu (François ve diğerleri, 2012; Roland Meisel ve diğerleri, 2004), IDO'nun T lenfosit immün baskılanmasını dolaylı yoldan yapmasının ise makrofajlar (insan PMMC elde edilen makrofajlar) üzerinden

olduğu, MKH'lardan salgılanan IDO makrofajların immün baskılama tipte İL-10 salgılayan ve CXCR4 (CD184) eksprese eden M2 tipine plastisitesini sağladığı (Mbongue ve diğerleri, 2015; X.-F. Wang ve diğerleri, 2014), makrofajlardan salınan İL-10 aracılığı ile T lenfosit apopitozu/anerjisini uyarıldığı ve Treg'lerin oluşmasını sağlandığı (François ve diğerleri, 2012; Grohmann, Fallarino ve Puccetti, 2003),



Resim 2.25. İFN-γ ile aktive MKH'lardan salınan IDO'nun makrofajlar üzerine direkt etkisi ve T hücreler üzerine direkt ve makrofajlar üzerinden indirekt etkisinin şeması (François ve diğerleri, 2012)

- Uyarımsız PMA/THP-1'lerin hafif düzeyde IDO mRNA seviyesi tespit edildiği, transvel ko-kültüründe PMA/THP-1'lerin insan BM-MKH varlığı ve yokluğunda İFN-γ ve LPS içeren M1 plastisite medyumu ile kültüre edildiğinde MKH varlığı ve yokluğunda aynı düzeyde olmak üzere IDO mRNA seviyesinin belirgin derecede arttığı, PMA/THP-1'lerin tek başına İL-4 içeren M2 plastisite medyumu ile kültüre edildiğinde IDO seviyesinin belirgin düzeyde azaldığı ve PMA/THP-1'lerin insan BM-MKH'lar ile İL-4 içeren M2 plastisite medyumu ile kültüre edildiğinde IDO mRNA düzeyindeki azalmanın daha az olduğu gösterilmiştir (Vasandan ve diğerleri, 2016).

2.26.2. TSG-6

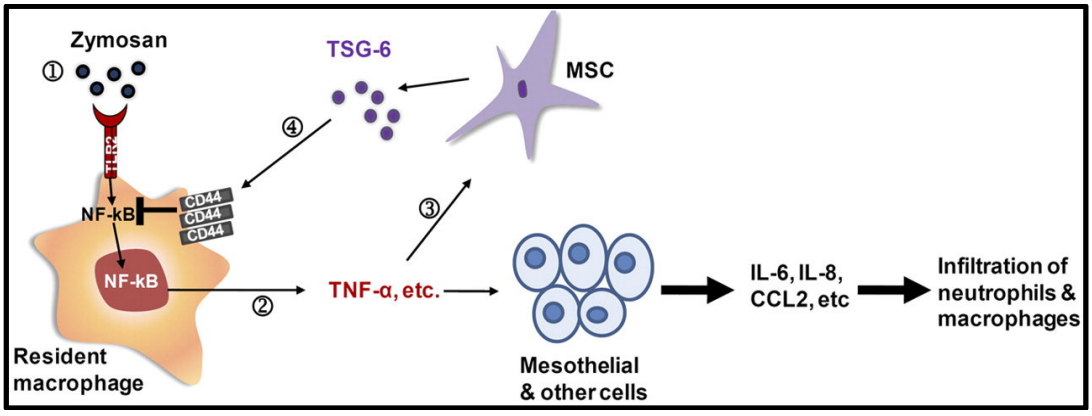
Yangı ortamında salgılanan yangı başlatıcı düzenleyicilerin ve büyüme faktörlerinin etkisiyle birçok hücreden olduğu gibi monosit ve makrofajlardan da salgılandığı, hücre dışı matriksin modellemesinde rol oynadığı, negatif bir döngüyle yangı sitokinlerinin

baskılanmasını sağladığı, makrofajların CD206+ İL-4 ve İL-10 salgılayan M2 plastisitesine neden olduğu bulunmuştur (Maina ve diğerleri, 2009; C. Milner, Higman ve Day, 2006; C. M. Milner ve Day, 2003; Mittal ve diğerleri, 2016).

İnsan BM-MKH'larının normal koşullarda TSG-6 salgılamadıkları (Bartosh ve diğerleri, 2010), üç boyutlu ortamda üretilenlerin insan BM-MKH'ların ise az miktarda salgıladıkları (Valles ve diğerleri, 2015), fare miyokart enfarktüsü modelinde insan BM-MKH'ların IV olarak verildiği zaman akciğerlerinde mikroemboli oluşturduğu ve buradan TSG-6 salgıladığı (R. H. Lee ve diğerleri, 2009) gösterilmiştir.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- H. Choi, Lee, Bazhanov, Oh ve Prockop (2011) tarafından yapılan çalışmada kullanılan farede zimozanla uyarılan peritonit modelinde Resim 2.27'de şematize edildiği gibi insan BM-MKH'lar periton içine verilerek yapılan ve ayrıca RAW264.7'nın (Fare monosit hücre dizisi/murine macrophage cell line) kullanıldığı çalışmada zimozanla TLR2 sinyal yolağı üzerinden uyarıldığında NF-κB'nin sitoplazmadan nukleusa geçerek TNF-α'nın transkribe olmasını sağladığı, TNF-α'nın insan BM-MKH'lardan TSG-6 salgılanmasına neden olduğu, TSG-6'nın makrofajların hücre yüzeyinde CD44 ekspresyonunu artırdığı, CD44'ün TLR2 sinyalini negatif etkilediği ve makrofajlardan TNF-α salgılamasını baskıladığı ve makrofajlardan TNF-α azalmasının mezoteliyal ve diğer hücrelerden İL-6, İL-8 ve CCL2 gibi faktörlerin salgılanmasının azalmasına dolayısıyla nötrofil ve makrofaj infiltrasyonun azalmasına neden olacağı (H. Choi ve diğerleri, 2011; Kawana ve diğerleri, 2008; R. H. Lee ve diğerleri, 2009; Lesley ve diğerleri, 2004; Liang ve diğerleri, 2007; Mittal ve diğerleri, 2016),



Resim 2.26. MKH'nın TSG-6 aracılı yangı söndürücü etkisinin şeması (H. Choi ve diğerleri, 2011)

- İnsan BM-MKH'larla ve TPA/THP-1'ler tek başlarınayken TSG-6 mRNA seviyesi çok düşükken, transvel ortamında yapılan ko-kültürlerinde TPA/THP-1'lerde daha fazla olmak üzere hem TPA/THP-1'lerde hem de MKH'larda TSG-6 mRNA seviyesinin arttığı (Valles ve diğerleri, 2015),

- Mittal ve diğerleri (2016) tarafından yapılan çalışmada kullanılan fare LPS ile uyarılan yangısal akciğer zedelenmesi modelinde TSG-6'nın BAL (Broncho alveolar lavage /bronko alveoler lavaş sıvısı) sıvısından elde edilen alveolar makrofajlarda TLR4/NF-κB sinyal yolağını engelleyerek iNOS, İL-6, TNF-α, İL-1β ve CXCL1 salınımını inhibe edip CD206 ekspresyonu ve İL-4 ile İL-10 salınımını artırarak onları yangı söndürücü M2 tipine dönüştürdüğü,

- Qi ve diğerleri (2014) tarafından yapılan çalışmada kullanılan fare akut yara iyileşmesi modelinde, insan BM-MKH'larla fare BM-DM'ların LPS ve İFN-γ uyarımı ile yapılan direkt kültürlerinde MKH'lardan TSG-6 salgılandığı ve bu makrofajların yara iyileşmesi bölgesine enjekte edildiğinde oradaki makrofajlardan TNF-α salınımını baskıladığı bulunmuştur.

2.26.3. Fas/FasL (CD95)

Hücre ölüm yüzey reseptörü olarak adlandırılan Fas'ın FasL (CD95) bağlanması kaspaz aktivasyonu aracılığı ile Fas eksprese eden hücrenin apopitozuna neden olduğu, bu mekanizmanın immün korunaklı bölgelerde, tümör dokusunda, aktive T lenfositlerinde,

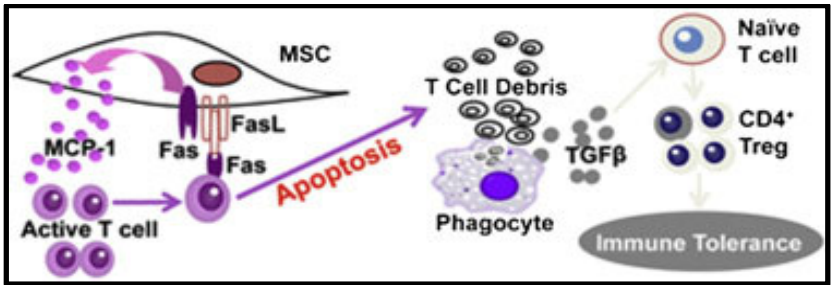
CD8+T lenfositlerde, mikroorganizmalarda (Fas sinyalini bloke ederek) ve enfekte hücrelerde (FasL eksprese ederek) kullanıldığı gösterilmiştir (D. Dockrell, 2003; Strasser, Jost ve Nagata, 2009).

Doku makrofajlarının virüs bulaşlarında FasL (CD95) ekspresyonu artırdıkları bulunmuştur (D. H. Dockrell ve diğerleri, 1998).

İnsan P-MKH'ların sürekli olarak FasL (CD95) moleküllerini ürettikleri ve bu yolla T hücre fonksiyonlarında baskılanma yaptığı belirtilmektedir (Y. Gu ve diğerleri, 2013).

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- Akiyama ve diğerleri (2012) tarafından yapılan çalışmada kullanılan fibrillin-1 mutasyonlu sistemik sklerozis (Systemic Sclerosis) ve DSS (Dekstran Sülfat Sodyum/Dextran Sodium Sulfate) ile oluşturulan deneysel kolit modelinde Resim 2.28'de şematize edildiği gibi direkt kültür ortamında fare BM-MKH'ların göç ederek kendilerine yaklaşan fare T lenfositlerinde FasL/CD95 aracılı apopitoza neden oldukları, apoptotik T lenfositlerin fare makrofajları tarafından fagosite edildiği, bunun makrofajların yüksek düzeyde TGF-β salgılamasına neden olduğu ve TGF-β'nın da Treg oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir.



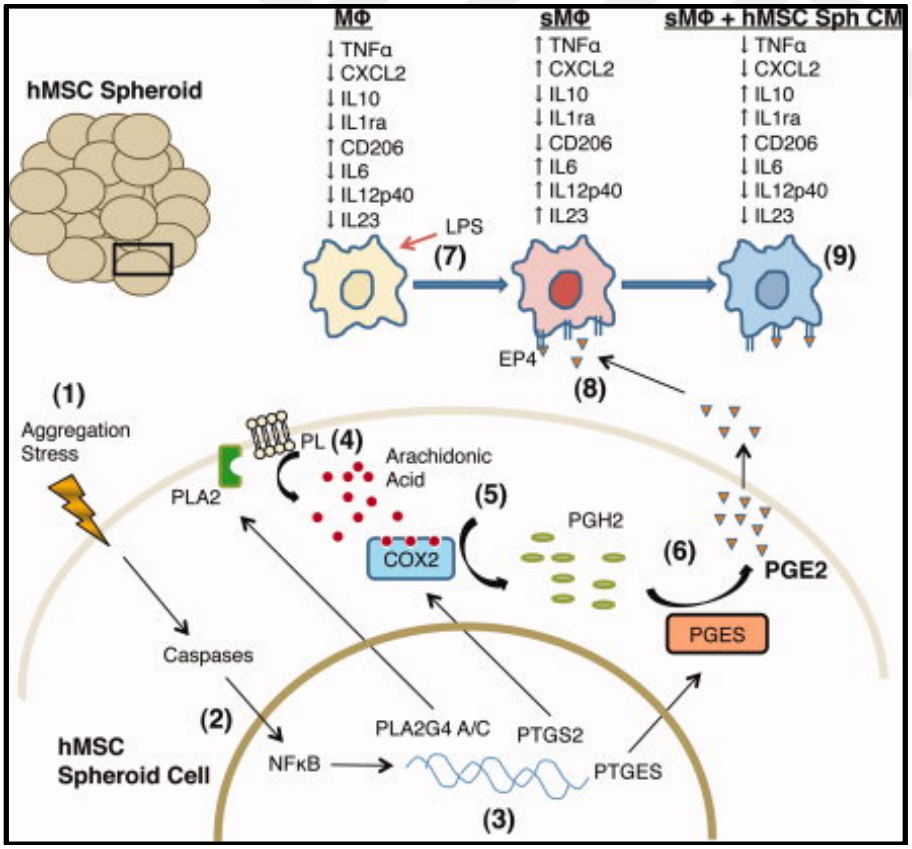
Resim 2.27. MKH ve T lenfositler arasında FasL/Fas bağlantısının oluşmasının makrofajlar üzerinden Treg oluşumunun mekanizması (Akiyama ve diğerleri, 2012)

2.26.4. PGE-2

PGE-2, COX2'ye bağlı olarak üretildiği bulaşlarda ve kanserde rol oynadığı, DC'ların, makrofajları, nötrofillerin, Th1, CTL ve NK hücrelerinin immün fonksiyonlarını baskıladığı

Th2, Th17 ve Treg oluşumunu desteklediği gösterilmiştir (Kalinski, 2012). Valles ve diğerleri (2015) yaptığı çalışmada normal kültür koşullarında insan BM-MKH'ların düşük düzeyde PGE2 salgılarken üç boyutlu ortamda üretildiklerinde PGE2 salgısının arttığı, Vasandan ve diğerleri (2016) yaptığı çalışmada insan BM-MKH'ların İFN-γ ile tek başına uyarımında ve François ve diğerleri (2012) yaptığı çalışmada TNF-α ve İFN-□ uyarımında PGE-2 salgısının arttığı bildirilmiştir.

Ylostalo, Bartosh, Coble ve Prockop (2012) tarafından Resim 2.29'de şematize edildiği gibi standart kültür ortamında üretilen insan BM-MKH'ların PGE-2 salgılamadığı ancak asılı damlalar halinde küresel şeklinde üretilen insan BM-MKH'ların NF-κB üzerinden aktive olarak PGE-2 ürettiği transvel ortamında LPS ile uyarılan J774A.1'de (fare makrofaj hücre dizisi) makrofajların TNF-α salgılanmasını baskılayarak onları İL-10 ve İL-1ra yüksek düzeyde salgılayan CD206 eksprese eden MEM dönüştürdüğü,



Resim 2.28. Küre şeklinde üretilen insan BM-MKH'ların makrofaj plastisite üzerine etkisinin şeması (Ylostalo ve diğerleri, 2012)

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- TPA/THP-1'lerde mRNA düzeyinde az miktarda COX2 ve hücre kültürü medyumunda az miktarda PGE2 gösterilirken insan BM-MKH'larla TPA/THP-1 hücrelerinin transvel ortamında yapılan ko-kültürlerinde kültür medyumunda PGE2 seviyesinin arttığı ve MKH hücrelerinde COX2 mRNA seviyesinin arttığı (Valles ve diğerleri, 2015),

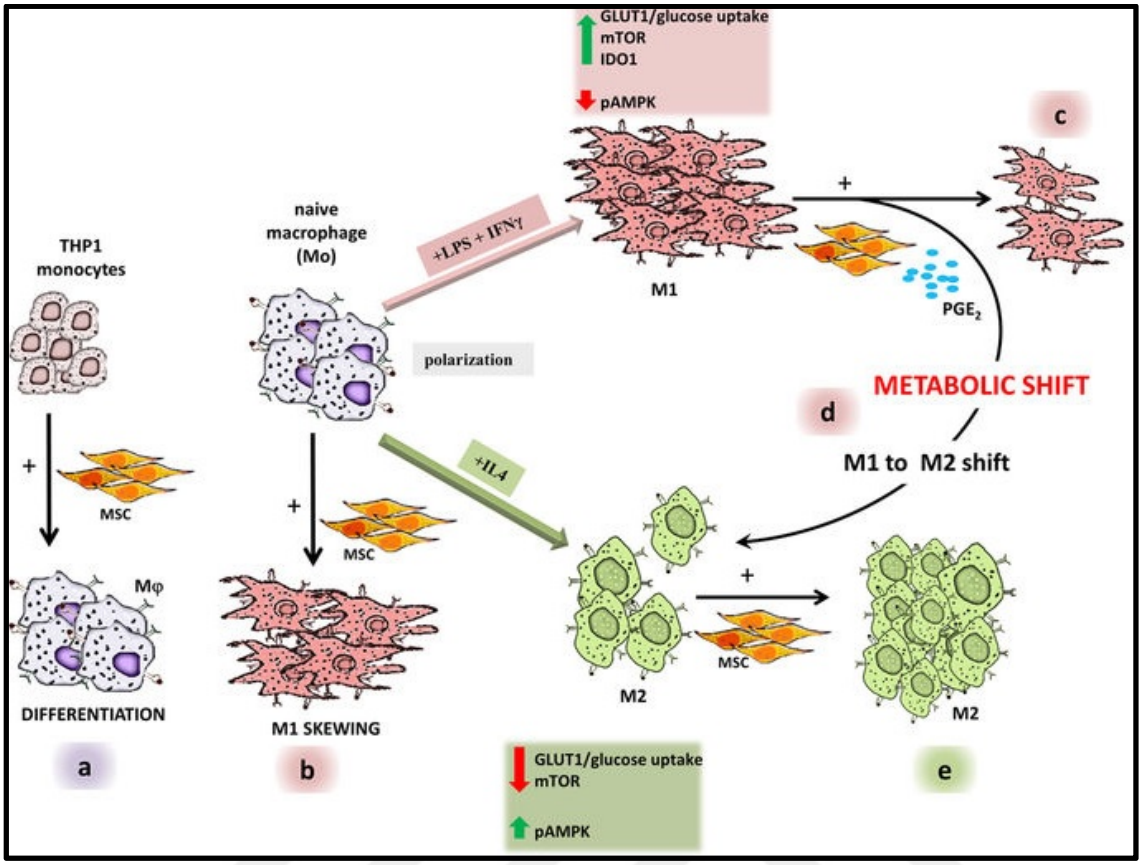
- N9 hücrelerinin çok düşük düzeyde EP2 (PGE-2 reseptörü-2) eksprese ettiği, LPS ile uyarımın ekspresyon seviyesini artırmadığı ancak N9 ve fare BM-MKH'lar LPS ile transvelde ko-kültüre edildiğinde EP2 ekspresyonun belirgin derecede arttığı (Giunti ve diğerleri, 2012),

- N9 hücrelerinin yüksek düzeyde EP4 (PGE-2 reseptörü-4) eksprese ettiği, LPS ile uyarımın ekspresyon seviyesini azaldığı, N9 ve fare BM-MKH'lar LPS ile transvelde ko-kültüre edildiğinde EP4 ekspresyonun artarak uyarımsız düzeydeki seviyesine geldiği (Giunti ve diğerleri, 2012),

- Nemeth ve diğerleri (2009) tarafından yapılan çalışmada fare BM-MKH'ların fare BM-DM'larla transvelde ko-kültür yapıldığı ortamda ortama LPS eklendiği taktirde, LPS ile TLR4 üzerinden gelen sinyalle, makrofajlardan salınan TNF-α uyarımı ile gelen sinyalle ve hem kendilerinin hem makrofajların ürettiği NO etkisiyle NF-κB aktivasyonun gerçekleştiği ve MKH'ların yüksek miktarda PGE2 salgıladıkları ve salgılanan PGE2'nin makrofajları etkileyerek onların İL-10 salgılayan MEM tipine plastisitesini sağladığı,

- CA-MKH'larda Cox2 mRNA ekspresyonun arttığı (Mathew ve diğerleri, 2016) bulunmuştur.

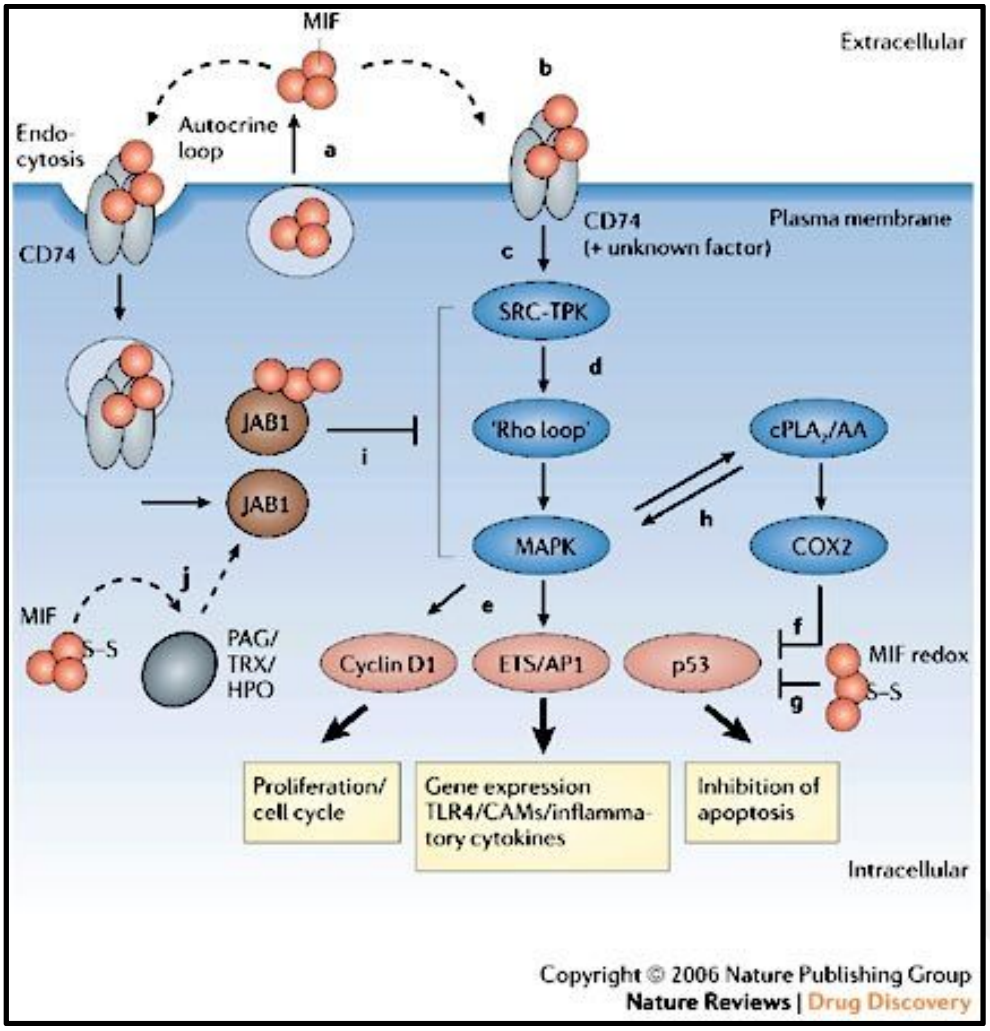
Özetle Vasandan ve diğerleri (2016) tarafından Resim 2.30'da şematize edildiği gibi MKH'lardan salınan PGE-2 nin makrofajları M2 benzeri MEM yönünde plastisitede katkısı olduğu düşünülmektedir.



Resim 2.29. MKH'lardan salınan PGE-2'nin makrofaj plastisitesine etkisinin şeması (Vasandan ve diğerleri, 2016)

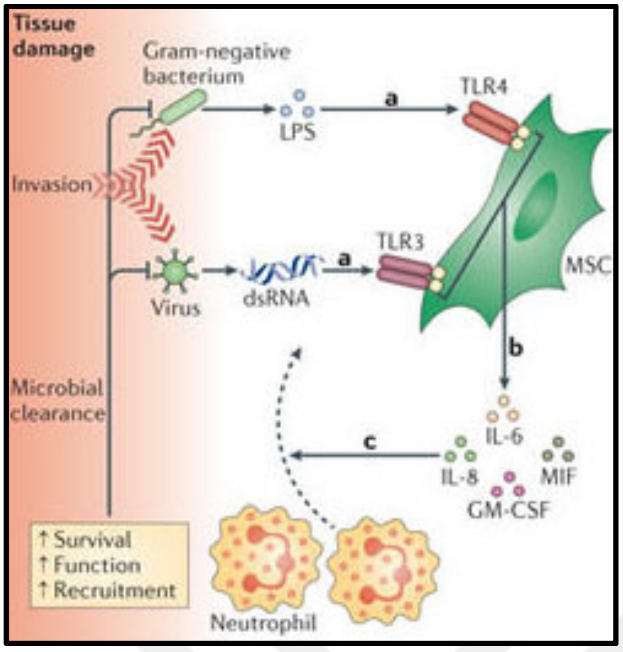
2.26.5. MIF (makrofajların migrasyonunu inhibe eden faktör/macrophage migration inhibitory factor)

Yangı ile ilgili bir sitokin olarak sınıflandırılan MIF makrofajlar başta olmak üzere birçok hücreden salgılanmaktadır. Morand, Leech ve Bernhagen (2006) tarafından Resim 2.31'de şematize edildiği gibi MIF'in hücre yüzeyinde bulunan CD74'e bağlanarak, hücrenin çoğalmasını, TLR4 gen ekspresyonunu, yangı ile ilgili sitokinlerinin salgılanmasını, hücrenin apopitoza gitmesinin önlediği sinyal yolakları otokrin üretilen MIF tarafından bloklandığı (Morand ve diğerleri, 2006; Onodera ve diğerleri, 1997) ve tümör hücresi gelişiminde katkısı olduğu bulunmuştur (Nishihira, 2000).



Resim 2.30. MIF'nin makrofaj fonksiyonlarına etki mekanizması (Morand ve diğerleri, 2006)

MKH'ların hem apopitozdan korunmasında (X.-X. Jiang ve diğerleri, 2005) hem de MIF/CXCR4 (CD184) aksı üzerinden tümör dokusunda göçünde (Lourenco ve diğerleri, 2015) diğer hücreler tarafından salgılanan MIF'in rolü olduğu ayrıca insan BM-MKH'ların MIF salgıladıkları ama fare BM-MKH'ların salgılamadığı (L. Chen, Tredget, Wu ve Wu, 2008), Le Blanc ve diğerleri (2012) tarafından Resim 2.32'de şematize edildiği gibi poli(I:C) ile TLR3 üzerinden yapılan uyarımında insan BM-MKH'lardan MIF salınımını artırdığı ifade edilmiştir. Kota ve diğerleri (2014) yaptığı çalışmada da inaktive insan BM-MKH'ların MIF salgıladıkları, LPS ile TLR4 üzerinden yapılan uyarımda MIF salınımının düzeyinin değişmeden devam ettiği, TLR3 agonisti olan poli(I:C) ile uyarımda ise MIF salınımında belirgin artış olduğu gösterilmiştir.



Resim 2.31. MKH'larda TLR3 ve TLR4 uyarımının MIF salgılanması üzerine etkisinin mekanizması (Le Blanc ve diğerleri, 2012)

2.26.6. GC/GR (glukokortikoid reseptörü) ve PG (progesteron)/PR (progesteron reseptörü)

Kortikosteroidler, omurgalıların adrenal korteksinde üretilen steroid hormonlardır. Kortikosteroidler GC'ler ve mineralokortikoidler olarak iki ana grubu ayrılır. GC'ler yangı ile ilgili mediatörlerin etkisini engelleyerek ve yangı söndürücü mediatörlerin salınımını artırarak yangı söndürücü, gecikmiş hipersensitivite reaksiyonlarını T-lenfositleri üzerine doğrudan etki ederek bastırarak immün baskılayıcı, DNA sentezinin ve epidermal hücre döngüsünün engellenmesi ile çoğalmayı önleyici ve histidin gibi yangı düzenleyicilerin inhibe edilmesiyle vazokonstriktif etkilere sahiptir (Coutinho ve Chapman, 2011; Franchimont, 2004). Bu nedenle GC'leri yangı söndürücü ve immün baskılayıcı olarak tedavide kullanılmaktadır.

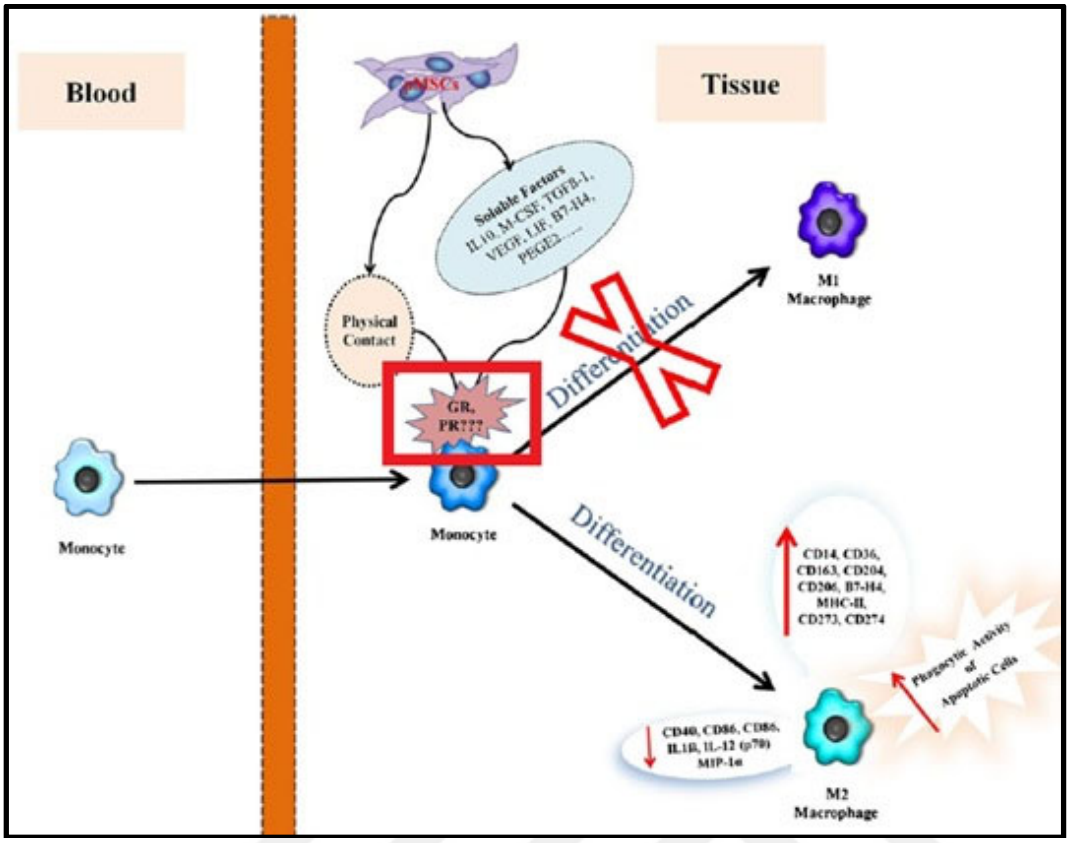
Monositlerin GR eksprese ettikleri, GR'lerin AP-1 (Aktive Eden Protein-1/Activator Protein-1) ve NF-κB üzerinden etki gösterdiği bulunmuştur (Chinenov, Coppo, Gupte, Sacta ve Rogatsky, 2014; Heck ve diğerleri, 1994; McKay ve Cidlowski, 1999).

İnsan BM-MKH'ların GR eksprese ettikleri ve GC'lerle uyarıldıklarında İFN-γ yanıt olarak IDO salgısının daha da arttığı gösterilmiştir (J. A. Ankrum, Dastidar, Ong, Levy ve Karp, 2014).

PG santral sinir sisteminin hipotalamik, hipofiz ve gonadal aks üzerinden (hypothalamic-pituitary-gonadal axis) uyarımları ile salgılanan ve GC'lerin salgılanmasını sağlayan bir steroid ve seks hormonu olduğu, monositler üzerine immün baskılayıcı etkisi bulunmuştur (Giannoni ve diğerleri, 2011; Pisetsky ve Spencer, 2011; Tait, Butts ve Sternberg, 2008).

MKH'lar ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

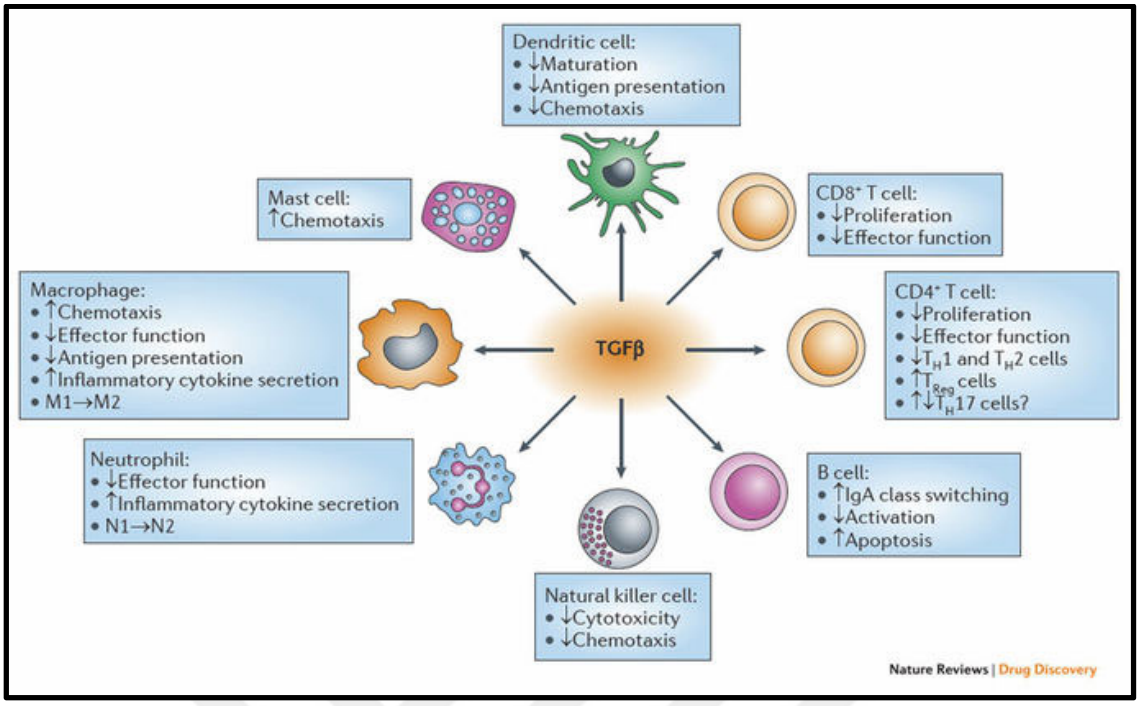
- İnsan PBMC'den elde edilen monositler ve insan P-MKH'ların kültür medyumuna GM-CSF ve mifepristone (Glukokortikoid Reseptörü/Glucocorticoid Receptor (GR) ve Progesteron Reseptörü/Progesterone Receptor (PR) antagonisti) eklenerek transvelde ko-kültüre edildikten sonra, mifepristone'nun P-MKH'lardan salgılan sıvıda çözünebilen faktörlerin PBMC'den elde edilen makrofajları M2 çevirme kapasitesini engellediği, M1, M2 ve yapışmayan hücrelerden oluşan karışık bir popülasyon ortaya çıktığı, B7-H4, CD163 ve CD204 seviyesinin belirgin düzeyde düştüğü, İL-10 seviyesi azalırken, İL-1β, İL-12(P70) ve MIP-1α düzeyinin arttığı gösterilmiş, bu bulgu Resim 2.33'de şematize edildiği gibi insan P-MKH'ların GC ve PG salgılayarak monositleri MEM plastisitesine neden olduğunu düşündürmektedir (Abumaree ve diğerleri, 2013).



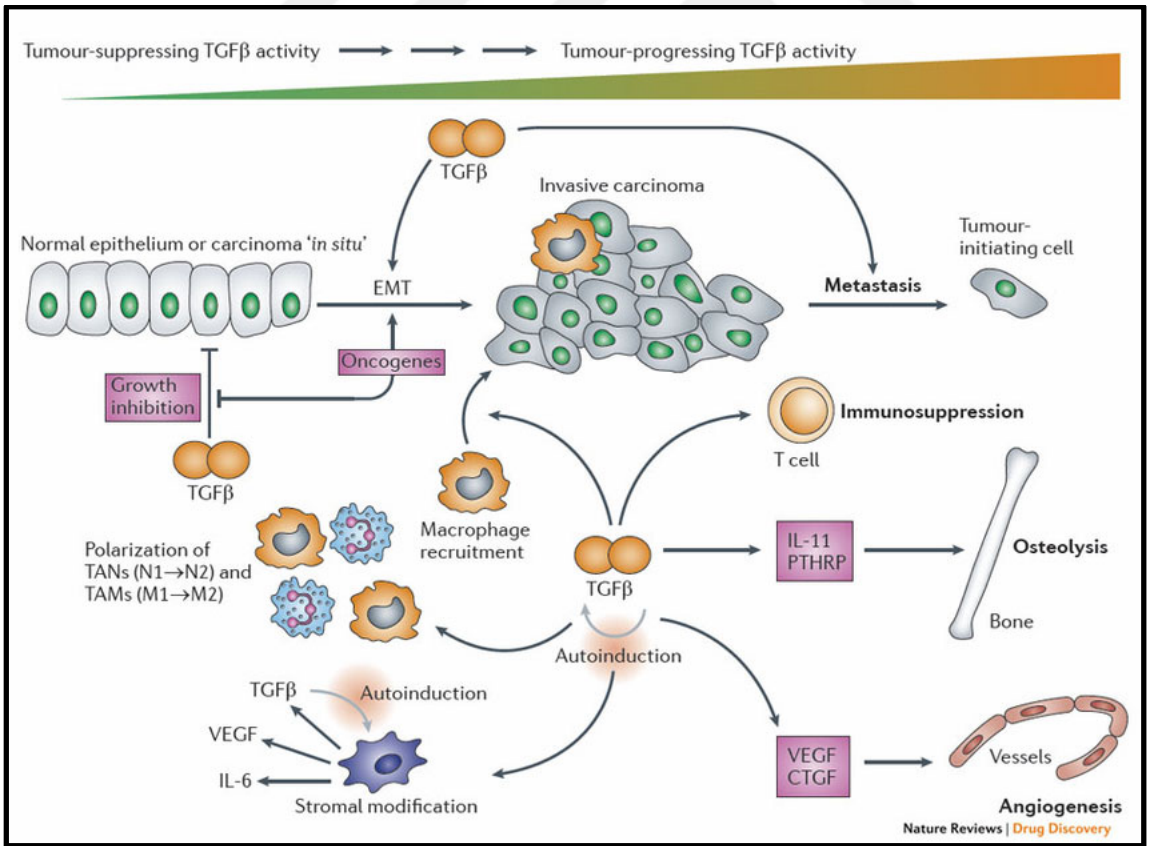
Resim 2.32. P-MKH'ların GC ve PG üzerinden monosit plastisitesine etkisi (Abumaree ve diğerleri, 2013).

2.26.7. TGF

Makrofajlar başta olmak üzere immune ve immün olmayan hücreden inaktif formda salgılanan TGF-β'nın daha sonra integrinlere bağlanarak aktive olduğu, TGF-β'nin Akhurst ve Hata (2012) tarafından Resim 2.34'de ve Resim 2.35'de şematize edildiği gibi makrofajların efektör fonksiyonu ve antijen sunumunu baskıladığı, M2 plastisitesini sağladığı, DC, CD8 T lenfositleri, CD4 lenfositleri, B lenfositleri, NK hücrelerini, nötrofillerin efektör fonksiyonlarını baskıladığı, Treg oluşumunu desteklediği, nötrofillerden ve makrofajlardan yangı sitokin salgılanmasını, Th17 ile Th9 oluşumunu sağlayarak iki yönlü etki gösterdiği, kanserde monositlerin yangı alanına çekilmesi ve TAM oluşumuna, stromal hücrelerden TGF-β salınmasına neden olduğu, embriyonik gelişim, yetişkin kök hücre farklılaşması, yara iyileşmesinde rol oynadığı gösterilmiştir (Akhurst ve diğerleri, 2012; Akiyama ve diğerleri, 2012; Ashcroft, 1999; Massagué, 2008; Nacu ve diğerleri, 2008; Rőszer, 2015; Santibañez, Quintanilla ve Bernabeu, 2011; Traggiai ve diğerleri, 2008; Travis ve Sheppard, 2014; F. Zhang ve diğerleri, 2016).



Resim 2.33. TGF-β'nın immün regülasyonda ki rolü (Akhurst ve diğerleri, 2012)



Resim 2.34. TGF–β'nın tümör mikro çevresindeki rolü (Akhurst ve diğerleri, 2012)

TGF-β'nın insan BM-MKH'larında az miktarda fare BM-MKH'larında ise salgılanmadığı (L. Chen ve diğerleri, 2008) bulunmuştur.

TGF-β'nın MKH'lar üzerinde doğrudan etkide bulunduğu, yangı ile ilgili sitokinlerin uyarıları ile iNOS ekspresyonunu SMAD3'e bağlı bir şekilde inhibe ederek MKH'ların NO aracılı anti-CD3 ile aktive edilmiş splenositler üzerindeki immün baskılayıcı etkisini tersine çevirdiği gösterilmiş ayrıca bu mekanizmayı iNOS ekspresyonunu azaltmak için otokrin bir şekilde kullandığı (C. Xu ve diğerleri, 2014) gösterilmiştir.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkileri inceleyen araştırmalarda;

- P-MKH'ların TGF-β salgıladıkları, insan PBMC'den elde edilen monositlerle GM-CSF içeren M1 plastisite medyumu ile transvel ortamında yapılan kültürlerde P-MKH'ların TGF-β seviyesinin daha da arttığı (Abumaree ve diğerleri, 2013),

- TGF-β'nın PMA/THP-1'ların M2 plastisitesini sağladığı (F. Zhang ve diğerleri, 2016),

- Farklılaşmamış THP-1'lerde ve PMA/THP-1'lerde çok düşük düzeyde TGF−β mRNA tespit edildiği, PMA/THP-1'lerin İL-4 ve İL-4 /İL-13 içeren M2 plastisite medyumu ile kültüre edildiğinde TGF-β mRNA düzeyini artırdıkları, PMA/THP-1'lerin insan BM-MKH'lar ile İL-4 içeren M2 plastisite medyumunda transvel ortamında ko-kültüre edildiklerinde TGF-β mRNA seviyenin daha da arttığı (Freytes ve diğerleri, 2013; Vasandan ve diğerleri, 2016),

- LPS ile uyarılan insan UC-MKH'lardan elde edilen eksozomları içeren medyumla THP-1'lerin yüksek glikozlu bir ortamda kültüre edildiğinde TGF-β mRNA seviyesinin yükseldiği (Ti ve diğerleri, 2015),

- Kemelerde akciğer yangı modeli olan bleomycinle oluşturulan akciğer yangı ve fibrozis modelinde (Bleomycin İnduced Pulmonary İnflammation and Fibrosis) kronik safhada doku onarımı ile ilgili olan bölgelerde alveolar makrofajların TGF-β salgıladıkları ve bu

yolla fibroblastlardan kollajen salgılanmasını sağlayarak doku tamirinde görev aldıkları (Khalil, Bereznay, Sporn ve Greenberg, 1989),

- Farede DSS içme suyuna katılarak oluşturulduğu DSS ile oluşturulan ülseratif kolit modelinde kuyruk veninden fare BM-MKH'ların verilmesiyle yangı da azalma ile birlikte kilo kaybı dışkı kıvamı ve rektal kanma üzerinden skorlanan Hastalık Aktivite İndeksinde (Disease Activity Index) düşme gözlemlenmiş, aynı çalışmada saponinle konjuge CD11b karşı antikorlar verildiğinde MKH'nın bu iyileştirici etkisi ortadan kalktığı, DSS grubunda sadece rekombinant TGF-β ile iyileştirici etkinin oluştuğu gösterilmiş ve MKH tedavisinin kolitteki iyileştirici etkisinin TGF-β salgılayarak makrofajları TGF−β salgılayan bir tipe dönüştürmesine bağlı olduğu öne sürülmüş, ayrıca aynı çalışmada DSS ile kolit oluşan farelerde fare BM-MKH'lar kuyruk veninden verildikten sonra kolon dokusunda TGF-β mRNA seviyesinin arttığı ve farenin akciğerinden elde edilen MKH, makrofaj ve miyofibroblastlar incelendiğinde TGF-β mRNA seviyesinin en fazla makrofajlarda arttığı (W. Liu, Zhang, Gu, Sang ve Dai, 2015),

- Farede ovalbümin ile oluşturulan alerjik astım modelinde de (Ovalbumin Induced Allergic Asthma Model) benzer bir mekanizma ile insan BM-MKH'larin TGF−β bağımlı olarak fare alveolar makrofajlarda M2 alt tiplerinde belirgin bir kutuplaşmayı tetiklediğini, toplam makrofaj sayısındaki artışa neden olduğunu, hava yolu aşırı duyarlılığı ve eozinofilik birikimi de içeren astım özelliklerini etkin bir şekilde inhibe ettiği (X. Song, Xie, Lu ve Wang, 2015),

- Pankreatik kanserin genetik mühendislikle hazırlanan fare modelinde CA-MKH'larda TGF-β1 mRNA ekspresyonun arttığı (Mathew ve diğerleri, 2016) gösterilmiştir

2.26.8. Sitokinler

Sitokinler akut ve kronik yangıda rol oynayan ve hücrelerin fonksiyonlarını düzenleyen moleküllerdir. Turner ve diğerleri (2014) tarafından Çizelge 2.4'de listelenmiştir.

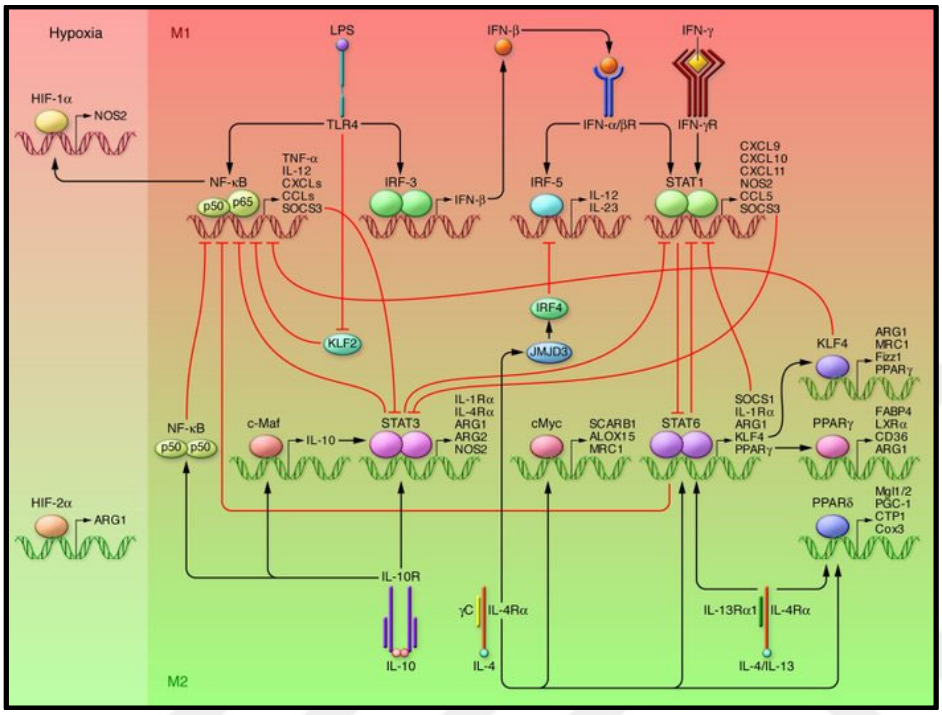
Çizelge 2.4. Sitokinlerin sınıflandırması Turner ve diğerleri (2014)

	AİLE	ÜYELERİ
Kazanılmış immünite	Ortak γ zincir reseptör ligandları	İL-2, İL-4, İL-7, İL-9, İL-15, İL-21
	Ortak β zincir reseptör ligandları	İL-3, İL-5, GM-CSF
	Paylaşılan İL-2β zinciri	İL-2, İL-15
	Paylaşılan reseptör	İL-13 (İL-13R-İL-4R kompleksi)
		TSLP (Timik stromal lenfopoetin) (TSLPR-İL-7R kompleksi)
Yangıya neden olanlar	İL-1	İL-1α, İL-1β, İL-1ra, İL-18, İL-33, İL-36α, İL-36β, İL-36ra, İL-37, İL-1hy2
	İL-6	İL-6, İL-11, İL-31, CNTF (Siliyer nötrofilik faktör), CT-1 (Kardiotropin), LİF (lösemi inhibe eden faktör), OPN (Osteopontin), OSM (Onkostatin M)
	TNF-α	TNF-α, TNF-β, BAFF, APRIL
	İL-17	İL-17A-F, İL-25 (İL-17E)
	Tip I-İFN	İFN-α, İFN-β, İFN-ω, İFN-κ, Limitin
	Tip II-İFN	İNF-γ
	Tip III-İFN	İL-29, İL-28A, İL-28B
Yangı söndürücü	İL-12	İL-12, İL-23, İL-27, İL-35
	İL-10	İL-10, İL-19, İL-20, İL-22, İL-24, İL-26, İL-28, İL-29

2.26.9. İFN

Makrofajlar, NK hücreleri, NKT hücreleri (Doğal Öldürücü T Hücreleri/Natural Killer T Cells), Th1, CTL, nötrofiller, DC ve B lenfositleri tarafından üretilen İFN-γ'nın monositleri, endotel hücrelerini, NK hücrelerini, granülositleri, T ve B lenfositlerini aktive ettiği, monositlerde M1 plastisitesine, T lenfositlerinde Th1 plastisitesine, B lenfositlerinde IgG2a tipinde antikor üreten plazma hücrelerine farklılaşmaya, tümörün kontrol edilmesine, otoinflamatuvar ve otoimmün hastalıkların oluşmasına neden olduğu bulunmuştur (Darwich ve diğerleri, 2009; Frucht ve diğerleri, 2001; Herbst, Schaible ve Schneider, 2011; John ve Darcy, 2016; Kelchtermans, Billiau ve Matthys, 2008; Mosser ve diğerleri, 2008; Schoenborn ve Wilson, 2007). Sica ve Mantovani (2012) tarafından Resim 2.36'da şematize edildiği gibi İFN-γ, İFN-γR üzerinden STAT-1 aktivasyonuna neden olur. LPS'de TLR4 üzerinden IRF-3 (Interferon regulatory factor/interferon düzenleyici faktör) transkripsiyonuna, İFN-β üretimine, İFN-β'da İFN-α /İFN-βR üzerinden yine STAT-1

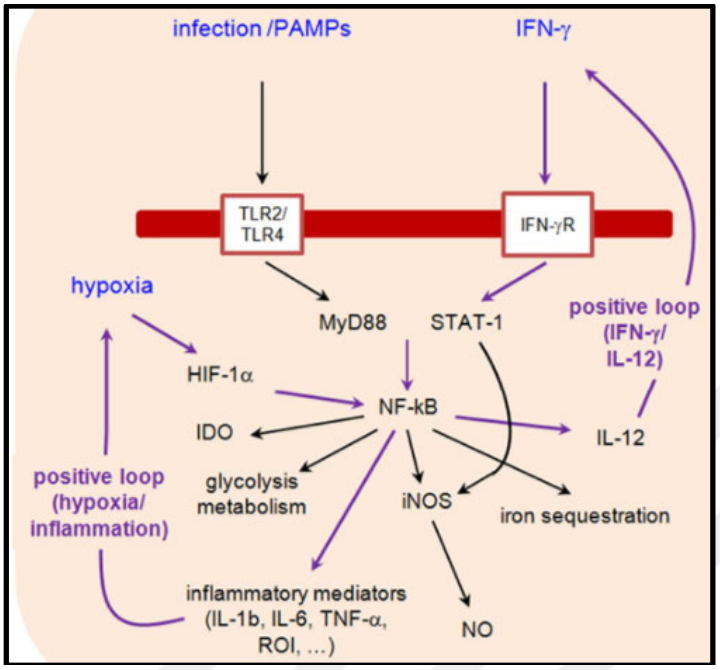
aktivasyonuna neden olur (Martinez ve diğerleri, 2014; Muraille ve diğerleri, 2014; Nathan, Murray, Wiebe ve Rubin, 1983; Shuai ve Liu, 2003; Sica ve diğerleri, 2012; Verreck, de Boer, Langenberg, van der Zanden ve Ottenhoff, 2006).



Resim 2.35. Sinyal yolaklarının makrofaj plastisitesine etkisinin mekanizması (Sica ve diğerleri, 2012)

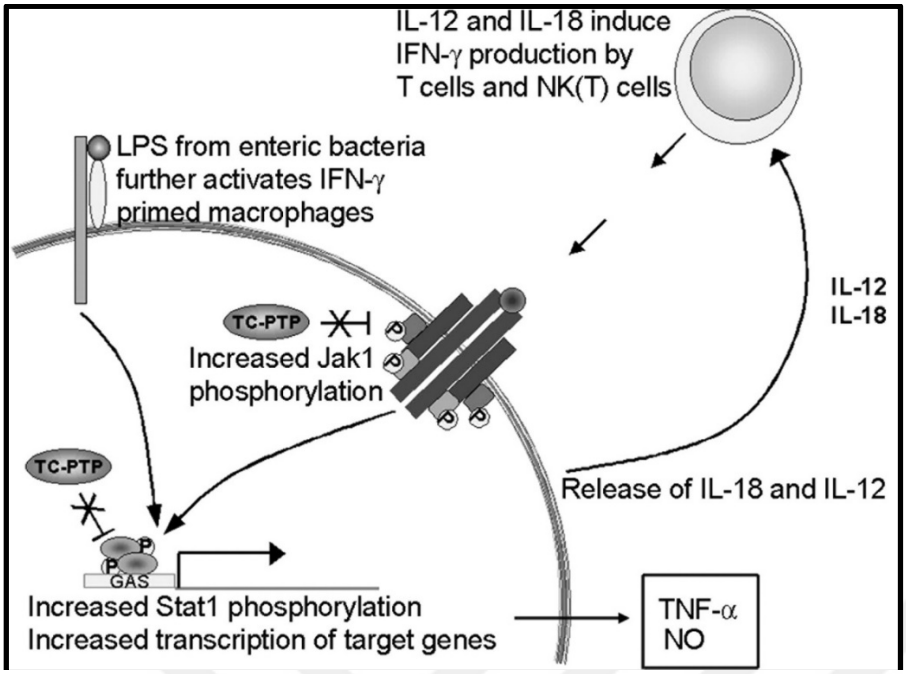
Muraille ve diğerleri (2014) tarafından Resim 2.37'de şematize edildiği gibi STAT1 sinyal yolağı ile NF-κB'nın aktive olmasıyla makrofajların M1 yönünde plastisitesine neden olan genler aktive olur. Makrofajlar NO ve ROI salgılayarak patojenlere karşı yüksek düzeyde anti-mikrobiyal özellik kazandığı ve hücre içi bakterileri öldürdüğü, İL-1β, İL-6, TNF-α, İL-8, IDO, İL-12 ailesi sitokinleri (İL-12/İL-23/İL-27), İL-15, kemokin ligandlarını salgılandığı, yangı sitokinlerinin pozitif bir döngü oluşturarak hipoksik ortamda salgılanan HIF-1α (Hipoksi Tarafından Oluşturulan Faktör/Hypoxia-Inducible Factor) üretimini artırdığı, bununda NF-κB aktivasyonuna neden olduğu, demir metobolizması bölümünde de detaylı değinildiği gibi demirin hücre tarafından kullanılmasını sağladığı, glikoliz metabolizmasına etki ettiği, CD36, CD38, CD69 ve CD97 gibi hücre aktivasyon belirteçlerinin eksprese ettiği, MHC sınıf-II ve ko-stimülatör moleküllerin ekspresyonunu artırarak antijen sunumunu artırdığı, kazanılmış immün cevabın oluşmasını sağladığı, salgılanan İL-12 aracılığıyla pozitif bir geri dönüşüm oluşarak makrofajlardan İFN-γ

salgılanmasının artırıldığı, Th1 hücrelerinin aktivasyonu ile tümör öldürülmesine destek verdiği bulunmuştur (Darwich ve diğerleri, 2009; Herbst ve diğerleri, 2011; John ve diğerleri, 2016; Muraille ve diğerleri, 2014; Schoenborn ve diğerleri, 2007; Sica ve diğerleri, 2012).



Resim 2.36. İFN-γ, TLR2 ve TLR4 üzerinden gelen sinyallerin makrofajları M1 yönünde plastisiteye neden olmasının mekanizması (Muraille ve diğerleri, 2014)

Heinonen ve diğerleri (2004) tarafından Resim 2.38'de şematize edildiği gibi İFN-□ ile prime makrofajlarda LPS'in İL-12 ve İL-18 salınımını artırdığı bunun NKT hücrelerine etki ederek İFN-□ salgılanmasını artırarak makrofajlar üzerine pozitif geri dönüşüm mekanizması oluşturduğu gösterilmiştir. Ayrıca TNF-α'nın İFN-γ ile birlikte makrofajlarda NF-κB aktivasyonunu ve NO artırdığı ve M1 yönünde plastisiteye neden olduğu bulunmuştur (Eleuterio Lombardo ve diğerleri, 2007; Martinez ve diğerleri, 2014; Mosser ve diğerleri, 2008; Parameswaran ve diğerleri, 2010).



Resim 2.37. Makrofajlar üzerindeki İFN- pozitif geri dönüşüm mekanizması Heinonen ve diğerleri (2004)

Akut yangı yanıtları sırasında M1 makrofajlar yüksek seviyelerde İFN-γ ve TNF-α salgıladıkları ve MKH'lerin mikroçevrede bulunan İFN-γ'dan etkilendiği, MKH lisanslamasına ve yangı söndürücü özellik kazanmasına neden olduğu (Marigo ve Dazzi, 2011) başta, HLAG, PD-L1//B7-H1/CD274 ekspresyonunu ile IDO, sıvıda çözülebilen HLAG, KYN, İL-10, PGE2 gibi faktörlerin salınımını artırdığı bunlar aracılığı ile immün baskılayıcı özellik kazandığının araştırmacılar tarafından gösterilmesi (English, Barry, Field-Corbett ve Mahon, 2007; Mauro Krampera ve diğerleri, 2006; X.-D. Liu ve diğerleri, 2014; Sheng ve diğerleri, 2008) giriş kısmında da detaylı belirtildiği gibi İFN- ile prime edilmiş MKH'ların tedavide bir seçenek olarak öne sürülmesine neden olmuştur (Polchert ve diğerleri, 2008). Aynı zamanda İFN-γ ve TNF-α birlikte uyarılan MKH'ların tümör oluşumuna katkı sağladığı da belirtilmektedir (L. Wang ve diğerleri, 2013). İnsan BM-MKH'lar 48 saat İFN-β 1 ng/ml ile uyarıldıktan sonra PGE''nin kontrole göre hafif miktarda salgılanmasının arttığı (Gray, Maguire, Schloss ve Yarmush, 2015), insan BM-MKH'lar 48 saat İFN-γ 1 ng/ml ile uyarıldıktan sonra PGE'nin kontrole göre hafif miktarda salgılanmasının arttığı (Gray ve diğerleri, 2015), daha öncede kısaca değinildiği gibi MKH'larda otokrin üretilen İFN–β ve Tr1'den salgılanan İL-10'nun etkisiyle STAT-1 üzerinden IDO salgılanmasının uyarıldığı, IDO'nun Treg oluşumunu sağladığı ve Th17

baskıladığı (J. Lim ve diğerleri, 2016), MHC konusunda da değinildiği gibi MKH'ların İFN-γ ile uyarılması MHC sınıf-II ekspresyonuna, T hücrelerine antijen sunabilmesine neden olduğu (Chan ve diğerleri, 2006; Khatibi, Szilagyi, Patil, Choi ve Bartholomew, 2015; Le Blanc ve diğerleri, 2003; Romieu-Mourez, François, Boivin, Stagg ve Galipeau, 2007; Stagg, Pommey, Eliopoulos ve Galipeau, 2006), V54/2'nin (immortalize MKH hücre dizisi) kullanıldığı modelde bunların sürekli düşük düzeyde IDO salgıladıkları, İFN-γ ile IDO salgısının arttığı bulunmuştur (Hemeda ve diğerleri, 2010).

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkileri inceleyen çalışmalarda;

- Normal koşullarda insan PBMC elde edilen monositlerden yapışma özelliği ile elde edilen makrofajların ve insan AT-MKH'ların İFN-γ salgılamadıkları, bunların direkt ve transvel ko-kültür ortamında ve MKH kültür medyumu olan ortamda İFN-□ düzeyinde değişme olmadığı (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013),

- İnsan BM-MKH'lar 48 saat 1 ng/ml İFN-β ile uyarıldıktan sonra süpernatant toplanmış toplanıp insan PBMC'den elde edilen monositlerin GM-CSF ile muamelesi ile oluşturulan makrofajların üzerine eklendikten sonra 48 saat inkübe edilip süpernatant toplanmış TNF-α salgılanmasının uyarımsız gruba göre arttığı (Gray ve diğerleri, 2015),

- İnsan BM-MKH'lar 48 saat 1 ng/ml İFN-γ ile uyarıldıktan sonra süpernatant toplanmış toplanıp insan PBMC'den elde edilen monositlerin GM-CSF ile muamelesi ile oluşturulan makrofajların üzerine eklendikten sonra 48 saat inkübe edilip süpernatant toplanmış TNF-α salgılanmasının uyarımsız grupla yaklaşık aynı düzeyde olduğu (Gray ve diğerleri, 2015),

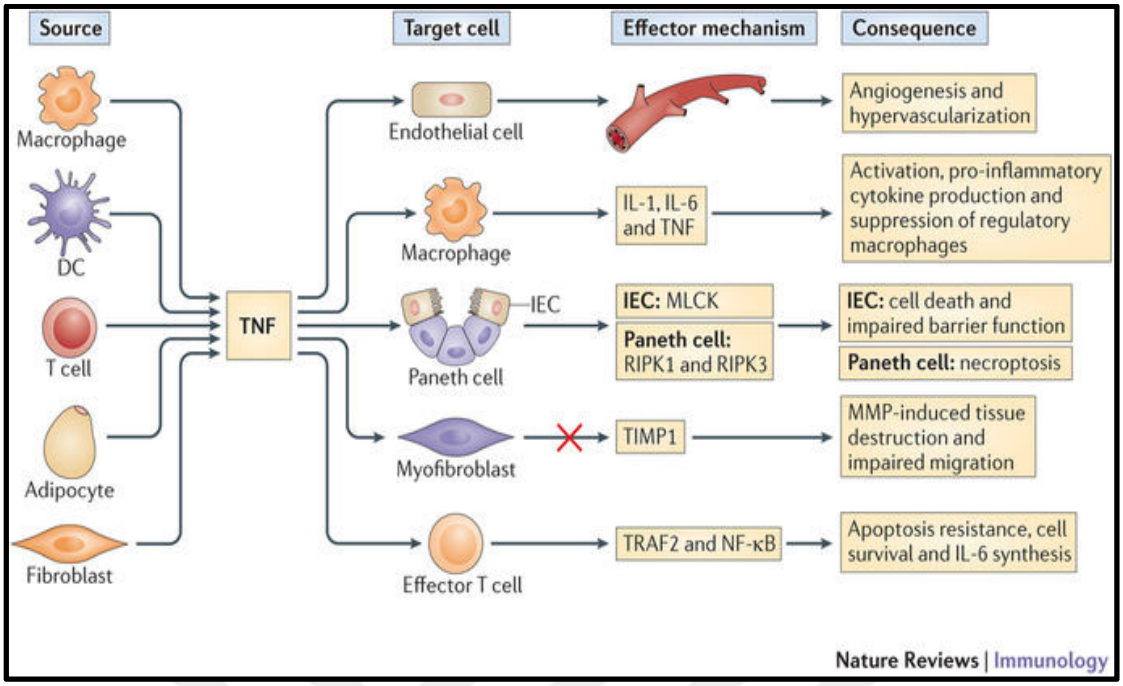
- At PBMC'den elde edilen monositler 6 saat 100 ng/ml İFN-γ ile uyarıldıktan sonra at BM-MKH'lar ile transvelde 6 saat ko-kültür yapıldığında MCP-1/CCL2 ve İL-6 arttığı ve CXCL10(IP10) çok fazla arttığı, İL-8'un baskılandığı (Cassano, Schnabel, Goodale ve Fortier, 2018),

- Farede DSS ile oluşturulan kolit modelinde, DSS'yi farenin içme suyuna katılarak kolit oluşturulduktan sonra kolon dokusunda İFN- mRNA seviyesinin belirgin derecede arttığı, farenin kuyruk veninden fare BM-MKH'lar verildikten sonra ise kolon dokusunda İFN- mRNA seviyesinin düştüğü (W. Liu ve diğerleri, 2015) bulunmuştur.

İFN-γ ve LPS uyarımı ve salınımı ile ilgili bulgulara daha detaylı olarak TLR4 konusunda değinilmiştir.

2.26.10. TNF-alfa

TNF-α'nın TNF süper ailesinin (superfamily) bir üyesi olduğu, bu grubun üyelerinin immün yanıtı birçok seviyede kontrol ettiği (Clark, Vagenas, Panesar ve Cope, 2005), TNF-α yangı başlatıcı olarak birçok yangısal hastalığın patogenezinde rol oynadığı bildirilmiştir (Parameswaran ve diğerleri, 2010). Neurath (2014) tarafından Resim 2.39'de şematize edildiği gibi başta makrofajlar olmak üzere, DC, T lenfositleri, yağ dokusu hücreleri ve fibroblastlardan salgılandığı, damar epitel hücreleri üzerine etki ederek anjiogeneze ve aşırı damar oluşumuna ayrıca damar endotel hücreleri üzerinde hücre yapışma moleküllerinin ekspresyonun artmasına, gastrointestinal sistemde epitel hücreleri ve Paneth hücrelerinde apopitoza, miyofibroblastlarda yıkıma, efektör T lenfositlerinde apopitoza dirence ve T lenfositlerinin yaşayıp, çoğalıp İL-6 salgılamasına neden olduğu bulunmuştur.

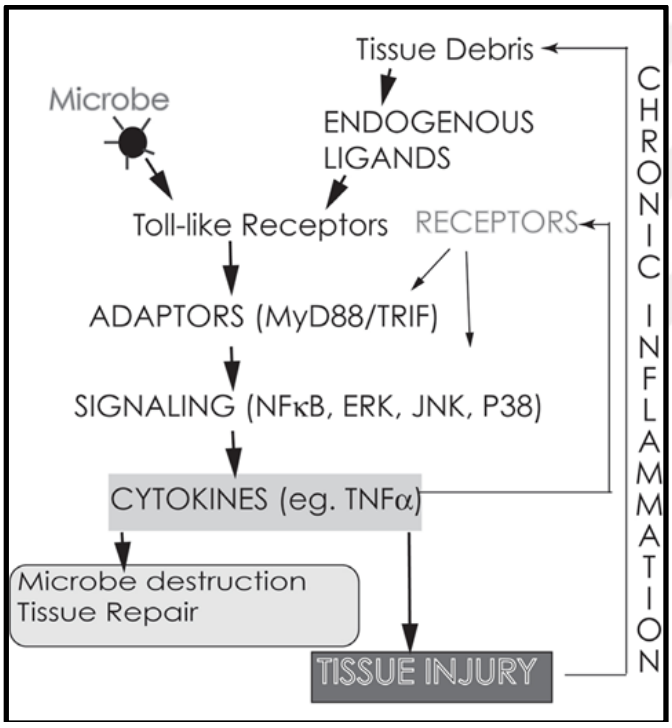


Resim 2.38. TNF-α salgılayan hücreler ve TNF-α'nın etki mekanizması (Neurath, 2014)

Makrofajlar, yangı ortamında DAMP'ların ve LPS uyarımına yanıt olarak TNF-α'nın başlıca üreticileri olup aynı zamanda TNF-α'ya karşı da oldukça duyarlı oldukları, makrofajların çoğalıp uzun süre yaşaması üzerine otokrin salınan TNF-α'nın etkisi olduğu, TNF-α'nın İFN- ile birlikte makrofajlarda NF-κB aktivasyonunu sağladığı, makrofajlarda M1 yönünde plastisiteye neden olduğu, NO, TNF-α, İL-1, İL-6 salınımını artırdıkları, Parameswaran ve diğerleri (2010) tarafından Resim 2.40'da şematize edildiği gibi sonuç olarak mikropların ölümü ve doku zedelenmesine neden olduğu, DAMP'ların ve TNF-α salgısının devamlı makrofajlar üzerinde pozitif bir geri dönüş mekanizması oluşturarak kronik yangıya neden olduğu gösterilmiştir (Eleuterio Lombardo ve diğerleri, 2007; Martinez ve diğerleri, 2014; Mosser ve diğerleri, 2008; Neurath, 2014; Parameswaran ve diğerleri, 2010).

İFN-γ ve TNF-α'nın ortak etkisiyle MKH'ların kompleman aktivasyonunu inhibe eden H faktörünü salgıladıkları, ayrıca MKH'lardan CD14+ monositleri İL-10 salgılayan yangı önleyici CD206+ M2 tipi makrofajlara plastisitesine neden olan IDO'nun salgılanmasına neden olduğundan (Saparov, Ogay, Nurgozhin, Jumabay ve Chen, 2016), TNF-α ile prime edilen MKH'ların İFN–γ ile prime edilenler kadar olmasa da özellikle PGE2 salgılayarak immün baskılanma yapabildiği (English ve diğerleri, 2007) VEGF, FGF2, HGF ve IGF-1

gibi büyüme faktörleri salgılayarak doku iyileşmesine katkıda bulunabileceği (Crisostomo ve diğerleri, 2008), TNF-α MKH'ların iskemik dokulara göçünü (Xiao ve diğerleri, 2012) ve İFN-γ ile birlikte tümör oluşumuna katkısını attırdığı (L. Wang ve diğerleri, 2013), İnsan BM-MKH'ların İFN-γ ve TNF-α ile 24 saat prime edildiğinde CXCL4 ve İL-1β'nın kontrol ve prime grubunda salgılanmadığı, TGF-β1'in kontrol ve prime grupta yaklaşık aynı düzeyde az miktarda salgılandığı, İL-6'nın kontrol grubunda bazal seviyede olmasına rağmen prime grupta arttığı, İL-8 ve CXCL10 (IP10)'nin kontrol grubunda bazal seviyede olmasına rağmen prime grupta belirgin derecede arttığı (Liotta ve diğerleri, 2008) gösterilmiştir.



Resim 2.39. Makrofajlardan salgılanan TNF-α'nın kronik yangı patojeninizdeki rolünün mekanizması (Parameswaran ve diğerleri, 2010)

Yapılan çalışmalarda;

- İnsan PBMC'den elde edilen monositlerden yapışma özelliği ile elde edilen makrofajlar normal koşullarda tek başlarına TNF-α salgılarken, bu makrofajların insan AT-MKH'lar ile direkt transvel ve MKH kültür medyumu ile kültüre edildiklerinde TNF-α seviyesinde azalma olduğu (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013),

- Uyarımsız kültür koşullarında insan BM-MKH'ların tek başına TNF-α salgılamadığı ama TPA/THP-1'lerin tek başlarına salgıladıkları, iki boyutlu ve üç boyutlu ko-kültür sonrasında aynı oranda TNF-α seviyesinin düştüğü (Valles ve diğerleri, 2015),

- THP-1/PMA ile farklılaştırılmadan önce ve sonra TNF-α salgıladığı, LPS ile uyarılma sonrası TNF-α seviyesinin farklılaştırılmış hücrelerde çok daha fazla olduğu (Takashiba ve diğerleri, 1999),

- Naif THP-1'lerin düşük düzeyde TNF-α salgıladığı, naif THP-1'lerin insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiğinde TNF-α düzeyin arttığı (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- PMA/THP-1'lerin TNF-α salgıladığı, PMA/THP-1'lerin ve insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiğinde TNF-α düzeyin arttığı, PMA/THP-1'lerin kültür medyumuna LPS eklendiğinde TNF-α seviyesinin belirgin düzeyde arttığı, PMA/THP-1'lerin ve insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edilirken ortama LPS eklendiğinde TNF-α salgılanma düzeyin azaldığı (Bu bize MKH'nın makrofajlardan TNF-α salgılamasını baskılaması için LPS gibi bir uyaranla lisanslanması gerektiğini düşündürmektedir) (Vasandan ve diğerleri, 2016),

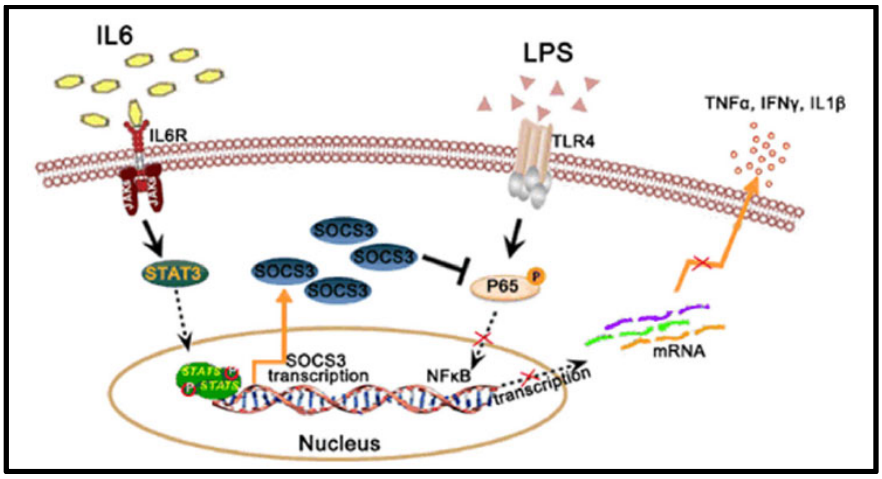
- İnsan BM-MKH'lar ile LPS ve İFN- ile M1 plastisitesi sağlanmış THP-1'lerin transvel ortamında ko-kültüre edildiği zaman TNF-α mRNA seviyesinde belirgin düşme olduğu (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- H. Choi ve diğerleri (2011) tarafından şematize edildiği gibi zimozanın RAW 264.7'dan elde edilen makrofajlarda eksprese edilen TLR2 sinyal yolağı üzerinden NF-κB nin sitoplazmadan nukleusa geçerek TNF-α'nın transkribe olmasını sağladığı, TNF-α'nın insan BM-MKH'lardan TSG-6 salgılanmasına neden olduğu, TSG-6 nın hücre yüzeyinde CD44 ekspresyonunu artırdığı, CD44'ün TLR2 sinyalini negatif etkilediği ve makrofajlardan TNF-α salgılamasını baskıladığı ve ayrıca makrofajlardan TNF-α azalması mesoteliyal ve diğer hücrelerden İL-6, İL-8 ve CCL2 gibi faktörlerin salgılanmasının azalmasına dolayısıyla nötrofil ve makrofaj infiltrasyonun azalmasına

neden olacağı (H. Choi ve diğerleri, 2011; Kawana ve diğerleri, 2008; R. H. Lee ve diğerleri, 2009; Lesley ve diğerleri, 2004; Liang ve diğerleri, 2007),

- LPS ile uyarılmış J774.A.1 ile asılı damlalar halinde küre şeklinde üretilen insan BM-MKH'lerin transvel ortamında yapılan ko-kültürlerinde ve LPS ile uyarılmış J774.A.1 ile asılı damlalar halinde küre şeklinde üretilen insan BM-MKH'lerin kültür medyumu ile yapılan kültürlerinde PGE'ye bağımlı bir şekilde makrofajlardan TNF-α düzeyinin azalttığı (Ylostalo ve diğerleri, 2012),

- ARDS'de (Akut Solunum Yetmezliği Sendromu/Acute Respiratory Distress Syndrome) Gr(-) bakterilerin membranındaki LPS ana bileşen olarak tanımlanmakta ve LPS'in TLR4 üzerinden makrofajları uyarması ve aktive etmesi sonucu salınan kemokin ligandları sayesinde ortamda belirgin makrofaj infiltrasyonu gözlenmektedir. H. J. Zhang ve diğerleri (2016) tarafından Resim 2.41'de şematize edildiği gibi buna model olarak oluşturulan kültür ortamında NR8383'ların (keme alveolar makrofaj hücre dizisi) LPS ile muamele edildiğinde TNF-α seviyesi belirgin derecede artarken, NR8383'ların kemelerin BM-MKH'lar LPS varlığında transvel ile ko-kültür yapıldığı çalışmada primer MKH kaynaklı İL-6 seviyesinin arttığı, bunun etkisiyle NR8383'lerde STAT3 fosforilasyonun arttığı SOCS3 (Sitokin Sinyal Baskılayıcı/Suppressors of Cytokine Signaling) seviyesini artırdığı, NF-κB aktivasyonun azaldığı, M1 sitokini kabul edilen TNF-α, İFN-□ ve İL-1β seviyesinin azaldığı,



Resim 2.40. MKH'lardan salgılanan İL-6'nın LPS ile aktive makrofajlarda TNF-α, İFN-γ ve İL-1β salınımını bloke etme mekanizması (H. J. Zhang ve diğerleri, 2016)

- Fare periton yangı modelinde thioglikolat'ın (thioglycolate) farenin peritonu içine enjeksiyonu sonrasında elde edilen yangı ile ilgili peritoneal makrofajlar LPS ile uyarıldıklarında TNF-α'yı yüksek düzeyde salgılarken fare BM-MKH'larla direkt ko-kültüre edilmesi ve daha sonradan ortama LPS eklenmesi neticesinde TNF-α düzeyinde azalma olduğu (Maggini ve diğerleri, 2010),

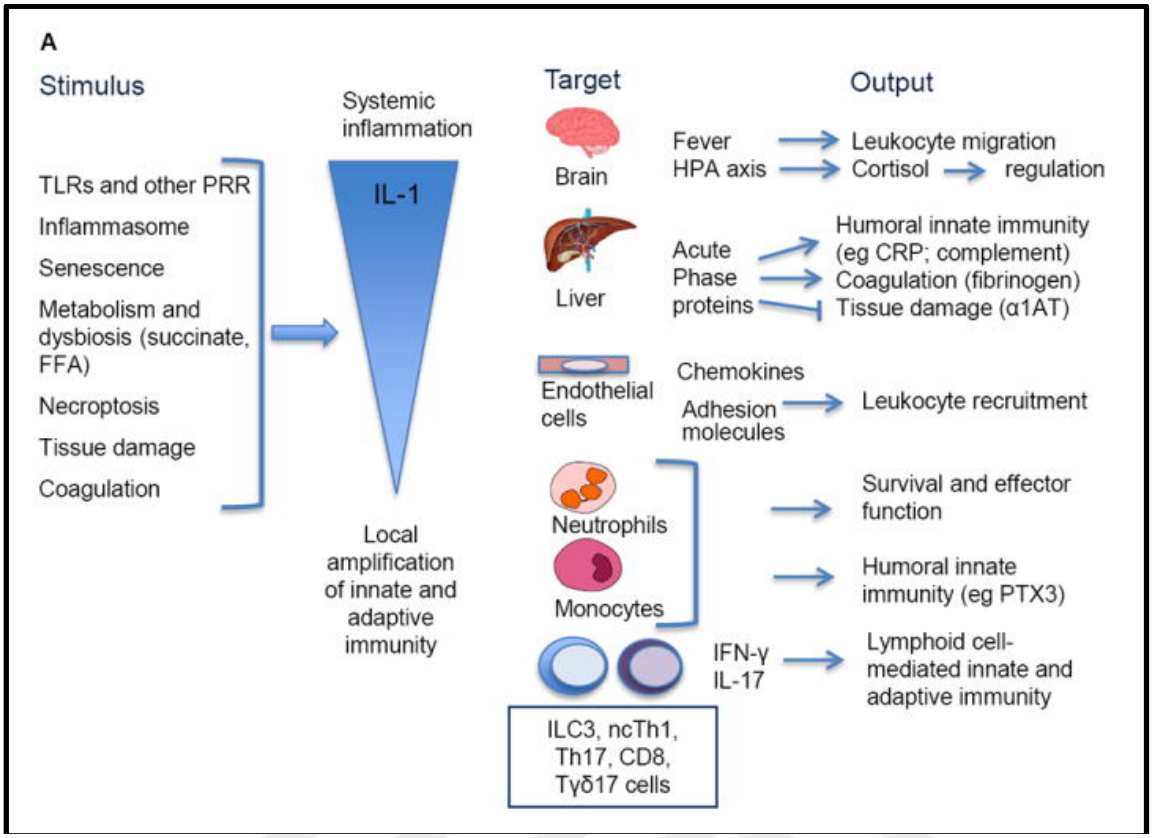
- DSS ile oluşturulan kolit modelinde, farede DSS içme suyuna katıldıktan sonra kuyruk veninden fare BM-MKH'lar verildikten sonra kolon dokusunda TNF-α mRNA seviyesinin düştüğü (W. Liu ve diğerleri, 2015),

- LPS olan ortamda N9 ile fare BM-MKH'lar transvelde ko-kültüre edildiğinde N9'de TNF-α mRNA seviyesinde düşme olduğu (Giunti ve diğerleri, 2012),

- Fare Kİ'den elde edilen hücrelerin M-CSF ile makrofaja dönüştürülmesi ile elde edilen fare Kİ kaynaklı makrofajların fare BM-MKH'lar ile İFN- ve LPS varlığında transvel ortamında ko-kültüre edilmesi ile makrofajlarda sTNF-R1 ve sTNF-R2 seviyesinin azaldığı (Cho ve diğerleri, 2014) gösterilmiştir. Tüm kısımlar (eksik cümleler) buraya bağlı ama anlaşılması çok zor.

2.26.11. İL-1

İL-1 ailesinin doğal immün sistem ve yangı merkezi molekülleri olduğu, agonistik aktiviteye sahip 7 ligandan (İL-1α, İL-1β, İL-18, İL-33, İL-36α, İL-36β, İL-36γ), üç reseptör antagonistinden (İL-1ra, İL-36ra, İL-38) ve bir yangı söndürücü sitokinden (İL-37) oluştuğu bildirilmiş ve fonksiyonları Garlanda, Dinarello ve Mantovani (2013) tarafından Resim 2.42'de özetlenmiştir.



Resim 2.41. İL-1 sitokin ailesinin doğal ve edinsel immünitedeki rolünün şematik görünümü (Garlanda ve diğerleri, 2013)

İL-1α epitel hücrelerinin içinde bulunduğu ve hücre ölümü ile ortama aktif formda salındığı nötrofil göçüne ve steril yangıya neden olduğu, ayrıca makrofajlarda hem salgılandığı hem de membran formunda da bulunduğu, İL-1β'nın ise kan monositleri ve doku makrofajları gibi hematopoietik kökenli hücrelerde TLR aktivasyonu ve yangı sitokinlerine yanıt olarak HIF-1α ya bağımlı şekilde üretildiği daha sonra aktive olduğu, İL-1α ve İL-1β'nın aynı reseptöre bağlandığı, ateş oluşmasında rol oynadığı, İL-1α ve TNF sinerjik etki göstererek akut faz sitokini (acute phase cytokines) olarak yangı oluşumuna neden olduğu, İL-1α'nın fonksiyonu İL-1ra konusunda detaylı değinilen İL-1ra tarafından baskılandığı, İL-1β'nın T lenfosit aktivasyonunda ve buna bağlı antikor oluşumunda görev yaptığı, İL-1β'nın monosit göçüne neden olarak steril yangıda rol aldığı gösterilmiştir (Beuscher, Günther ve Röllinghoff, 1990; Dinarello, 1996; Murakami, Sakata ve Watanabe, 1990; Nakae, Asano, Horai ve Iwakura, 2001; Rider ve diğerleri, 2011; Ulich, Del Castillo, Keys, Granger ve Ni, 1987).

İL-1β ile MKH'ler prime edildiğinde CCL5, CCL20, CXCL1, CXCL3, CXCL5, CXCL6, CXCL10, CXCL11, COX2, TNF-α, İL-23A, İL-6 ve İL-8 üretiminin, VCAM-1, ICAM-1, ICAM-4, CXCR4 ekspresyonun arttığı, deneysel kolit modelinde dalağa, lenf noduna ve kolona göçünün arttığı ve oradaki M1 makrofaj popülasyonun azalmasına neden olduğu belirtilmektedir (Saparov ve diğerleri, 2016).

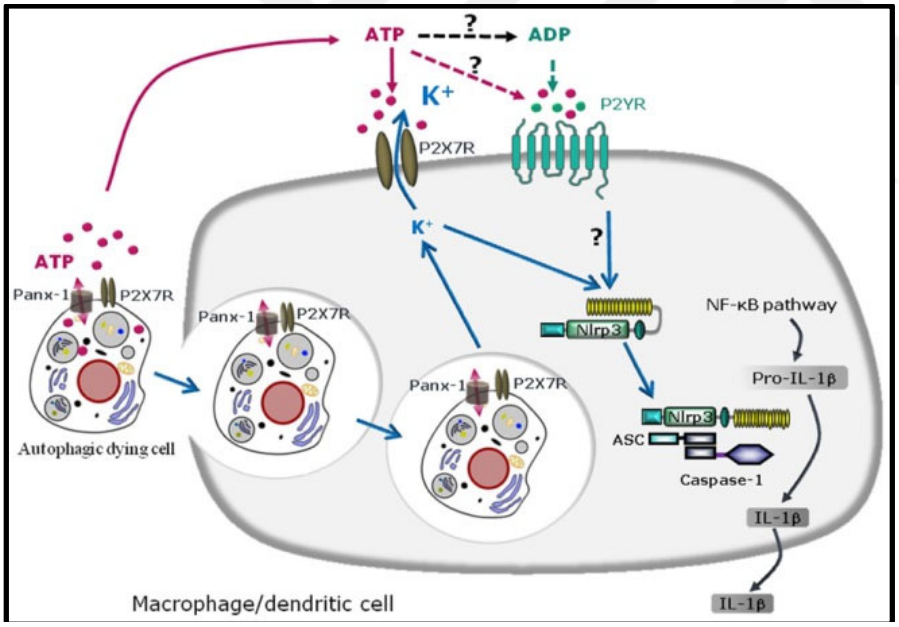
İnsan BM-MKH'lar 48 saat 1 ng/ml İL-1β ile uyarıldıktan sonra PGE'nin çok fazla miktarda salgılandığı (Gray ve diğerleri, 2015), kordon kanından elde edilen MKH'ların HLAG eksprese ettikleri bunun ekspresyonun İL-1 ile daha da arttığı, HLAG aracılığı ile PBMC'lerin çoğalmasının ve onlardan yangı sitokinlerin salgılanmasını azalttığı (Ding ve diğerleri, 2016; Rebmann, da Silva Nardi, Wagner ve Horn, 2014) İL-1β ve TNF-α nın MKH'ların kıkırdak dokusuna farklılaşmasını inhibe ettiği ve göç etmesine neden olduğu (Sullivan ve diğerleri, 2014; Wehling ve diğerleri, 2009), endotoksin ve İL-1β ile aktive edildiklerinde ise HGF reseptör ekspresyonunu artırdıkları ve cevap olarak hareket edip ve aktive oldukları (Galimi ve diğerleri, 2001), uyarılmayan MKH'ların sürekli İL-1ra salgıladıkları, İL-1α veya İL-1β ile uyarılanların ise G-CSF salgısını artırdığı (RedondoCastro ve diğerleri, 2017), İFN- ve TNF-α, İL-1α, veya İL-1β ile kombine uyarılması sonucu MHK'larda kemokinlerin ve iNOS üretimi gerçekleşmesiyle NO üretiminin arttığı, kemokinlere yanıt olarak MKH'lara yaklaşan T lenfositlerin fonksiyonlarının NO tarafından baskılandığı (Ren ve diğerleri, 2008) bulunmuştur.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan PBMC'den elde edilen monositlerden yapışma özelliği ile elde edilen makrofajların İL-1α ve İL-1β salgıladıkları, insan PBMC'den elde edilen monositlerden yapışma özelliği ile elde edilen makrofajlar insan AT-MKH'lar ile direkt, transvel ortamında ko-kültür yapıldıklarında İL-1α ve İL-1β seviyesinin daha da düştüğü ve İL-1α seviyesinin MKH kültür medyumundan etkilenmediği ama İL-1β seviyesinde artış olduğu (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013),

- Makrofajların tehlike sinyallerini almasıyla inflamazomların sentezlendiği, Gombault, Baron ve Couillin (2013) tarafından Resim 2.43'de şematize edildiği gibi

inflamazomların İL-1β ve İL-18 gibi yangı başlatıcı sitokinlerin aktif forma dönüşmesinde rol oynayan NLR'larla (Nucleotide Binding Domain and Leucine Rich Repeat Containing Protein) kompleks oluşturduğu (Awad ve diğerleri, 2017; Gombault ve diğerleri, 2013), NLRP3'ü (NACHT, LRR and PYD domains containing protein-3/NACHT, LRR ve PYD domainlerini içeren protein-3) aktive olan insan PBMC kaynaklı makrofajların insan BM-MKH'larla direkt ve transvelde ko-kültür yapıldığı zaman insan BM-MKH'lardan anti-apoptotik bir protein olan STC-1 (stanniocalcin-1) ekspresyon ve salgısını artırdığı ve bu proteinin negatif geri dönüşümle aktive makrofajlarda NLRP3-inflamazom aktivasyonu azalttığı (Oh ve diğerleri, 2014), insan BM-MKH'leri, LPS ve ATP ile uyarılan insan PBMC'den elden edilen ve fare peritoneal makrofajlar veya RAW264.7 ile direkt ve transvelde ko-kültüre yapıldıklarında NLRP3-inflamazom aktivasyonunu negatif yönde düzenlediği, İL-1β salgılanmasını azalttığı (Vasandan ve diğerleri, 2016),



Resim 2.42. İnflamazomların yangı başlatıcı sitokin oluşumundaki rolü (Gombault ve diğerleri, 2013)

- İnsan BM-MKH'lar 48 saat 1 ng/ml İL-1β ile uyarıldıktan sonra süpernatant toplanmış toplanıp insan PBMC'den elde edilen monositlerin GM-CSF ile muamelesi ile oluşturulan makrofajların üzerine eklendikten sonra 48 saat inkübe edilip süpernatant

toplanmış TNF-α salgılanmasının uyarımsız gruba göre belirgin derecede azaldığı (Gray ve diğerleri, 2015),

- İnsan BM-MKH'lar 48 saat 1000 ng/ml LPS ve 1 ng/ml İL-1β ile uyarıldıktan sonra süpernatant toplanmış toplanıp insan PBMC'den elde edilen monositlerin GM-CSF ile muamelesi ile oluşturulan makrofajların üzerine eklendikten sonra 48 saat inkübe edilip süpernatant toplanmış TNF-α salgılanmasının uyarımsız ve tekli uyarımlı gruba göre belirgin derecede azaldığı (Gray ve diğerleri, 2015),

- DSS ile oluşturulan kolit modelinde de, İL-1β prime edilmiş insan UC-MKH'ların yangı alanına göçünü arttığı PGE2, İL-6 ve İL-8 ekspresyonlarını artırarak ve peritoneal fare makrofajların M2 plastisitesine neden oldukları immün baskılayıcı etki gösterdiği ve tedaviye katkıda bulunduğu (Fan ve diğerleri, 2012),

- ARDS'de Gr (-) bakterilerin membranında ki LPS majör bileşen olarak tanımlanmakta ve belirgin makrofaj infiltrasyonu gözlenmektedir. Buna model olarak oluşturulan kültür ortamında NR8383'ların LPS ile muamele edildiğinde İL-1α seviyesi artarken, NR8383'ların keme BM-MKH'lar ile LPS varlığında transvel ile ko-kültüre edildiğinde İL-1α seviyesinin azaldığı (H. J. Zhang ve diğerleri, 2016),

- Farede sistemik sepsis modeli olarak kullanılan CLP modelinde farede çekumun bağlanıp ve delindikten sonra fareye IV olarak fare BM-MKH verildiği zaman plazmasında İL-1β düzeyinin düştüğü (Mei ve diğerleri, 2010),

- Fare Kİ'den elde edilen ve M-CSF ile farklılaştırılan makrofajlar ile fare BM-MKH'ların transvel ortamında LPS ve İFN- ile uyarılması ile İL-1β salgılanmasının baskılandığı (Cho ve diğerleri, 2014),

- Bu bulguya zıt olarak N9'un normal koşullarda İL-1β salgılamadığı, LPS ile aktive edildiğinde bu düzeyin biraz arttığı ve fare BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiğinde ise İL-1β seviyesinde belirgin yükselme olduğu (Giunti ve diğerleri, 2012) gösterilmiştir.

- İL-1ra monosit, makrofaj (M2a ve M2c), nötrofil ve diğer birçok hücreden salgılandığı artrit, kolit ve granülomatöz pulmoner hastalık gibi birçok hastalıkta yangı söndürücü rol oynadığı (Arend, Malyak, Guthridge ve Gabay, 1998), makrofajlardan İL-1ra salgılanmasında İL-4 ve İL-13 sinyal yolaklarının etkili olduğu (Sica ve diğerleri, 2012), MKH'ların İL-1ra salgıladıkları ve immün hücrelerde inhibe etkisi (Luz-Crawford ve diğerleri, 2016) hem insan hem de fare BM-MKH'lerin yüksek seviyede İL-1ra salgıladıkları, MKH'lardan salgılanan İL-1ra'yı içeren süpernatanlarının (conditioned media) silika veya LPS ile aktive aktive RAW-264.7'ları etkileyerek onlardan TNF salgılanmasını inhibe ettiği (Ortiz ve diğerleri, 2007),

- LPS ile uyarılmış J774.A.1'ların asılı damlalar halinde küre şeklinde üretilen insan BM-MKH'lerin PGE-2 içeren kültür medyumları ile kültürlerinde makrofajlarda İL-1ra gen düzeyinin arttığı gösterilmiştir (Ylostalo ve diğerleri, 2012).

2.26.12. İL-2

İL-2'nin T lenfositler, monositler, makrofajlar ve endotel hücreleri tarafından sentezlenmektedir (Capobianco ve diğerleri, 2016).

Farklılaşma, immün yanıt ve homeostaz sırasında lenfosit alt gruplarını etkilediği, Treg'lerin timik oluşumu, daha sonrada hemostazı ve fonksiyonlarının devamında, CD4+T lenfositlerin ve CD8+T lenfositlerin üretimi, efektör hücrelere ve hafıza hücrelerine farklılaşmasında (Bachmann ve Oxenius, 2007; Boyman ve Sprent, 2012) belirtilmektedir.

Ayrıca üzerlerinde İL-2R bulunduğu gösterilen monosit ve makrofajların aktivasyonunda (Scheibenbogen, Keilholz, Richter, Andreesen ve Hunstein, 1992) rol oynadığı bildirilmiştir.

L. Chen ve diğerleri (2008) tarafından yapılan çalışmada insan BM-MKH'ların İL-2 salgıladıkları bulunmuştur.

Yapılan ko-kültür çalışmalarında;

- İnsan AT-MKH'lar ve insan PBMC'den elde edilen monositlerden yapışma özelliği ile elde edilen makrofajlar normal koşullarda tek başlarına iken çok düşük düzeyde İL-2

salgılarken, direkt, transvel ve MKH kültür medyumu olan ortamda İL-2 seviyesinin düştüğü (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013),

- NR8383'ların LPS ile muamele edildiğinde İL-2 seviyesi artarken kem BM-MKH'ları ile LPS varlığında transvelde ko-kültüre edildiğinde bu seviyenin azaldığı (H. J. Zhang ve diğerleri, 2016) gösterilmiştir.

2.26.13. İL-5

İL-5 hematopoietik ve hematopoietik olmayan başta T lenfositler ve granülositlerden salgılanmaktadır. İL-5 eozinofil, bazofil ve B lenfositleri üzerine etki ettiği bulunmuştu. B hücreleri sırasıyla doğuştan ve kazanılmış bağışıklığı düzenleyen B-1 ve B-2 hücrelerinden oluşan iki B hücresi alt popülasyonundan oluştuğu, B-1 hücrelerinin doğal ligandlara veya vücudun kendi antijenlerine yanıt olarak doğal Ig üreten plazma hücreleri haline geldiği, B-2 hücrelerinin ise yardımcı T lenfositleri (Th) etkisi altında Ig üreten plazma hücrelerine farklılaştıkları, İL-5'in B-1 hücrelerinin homeostatik çoğalmasını, sağ kalımını ve farklılaşmasını uyarılmasında ve IgM'in artmış üretimine yol açtığı gösterilmiştir (Takatsu, 2011; Takatsu ve diğerleri, 2005).

Makrofajların İL-10 (Stumpo, Kauer, Martin ve Kolb, 2003) ve epitel kaynaklı hücrelerden salgılanan İL-23/İL-33 uyarımına yanıt olarak Th2 sitokini olan İL-5 ve İL-13 salgıladıkları ve otokrin salgılanan İL-13'ün İL-4Rα-STAT6 yolağı makrofajların alternatif farklılaşmasını uyardığı (Z. Yang ve diğerleri, 2013) bulunmuştur.

İnsan ve fare kaynaklı MKH'ların normal koşullarda çok az düzeyde İL-5 salgıladıkları (L. Chen ve diğerleri, 2008; Turner ve diğerleri, 2014), L-MKH'larda İL-5 salgısının arttığı belirtilmiştir (Ren ve diğerleri, 2012).

MKH ve makrofajların arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan PBMC'den izole edilip yapışma özelliği ile elde edilen makrofajların İL-5 salgıladıkları, insan AT-MKH'lar ile direkt ve transvel ko-kültür ortamında salgıladıkları

İL-5 düzeyinde belirgin azalma, MKH kültür medyumu ile kültür yapıldığında ise İL-5 düzeyinde değişiklik olmadığı (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013),

- Aynı şekilde, keme NR8383'ların İL-5 salgıladıkları, LPS ile muamelede İL-5 seviyesinin arttığı keme BM-MKH'lar LPS varlığında transvel ile ko-kültüre edildiğinde ise İL-5 seviyesinin azaldığı (H. J. Zhang ve diğerleri, 2016) gösterilmiştir.

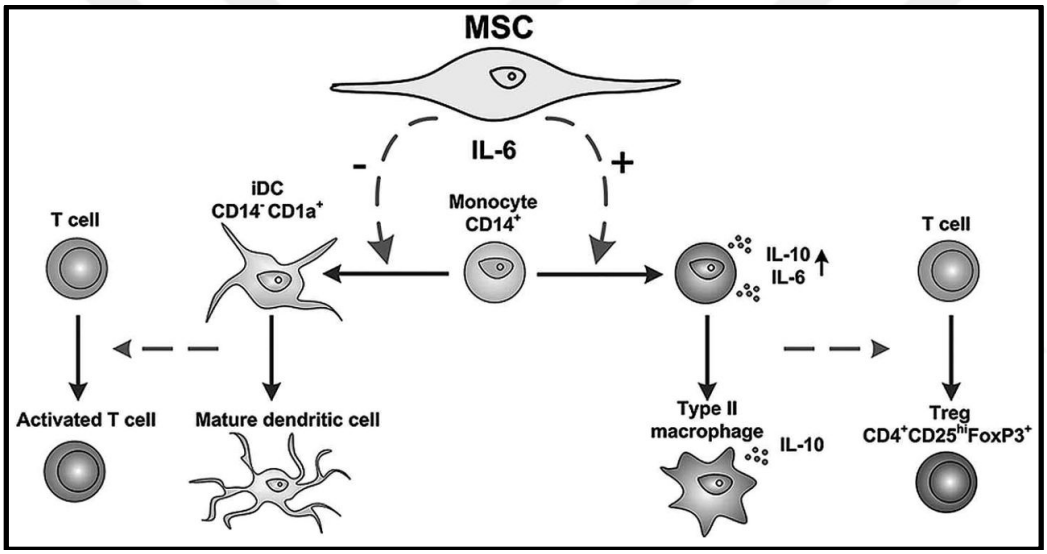
2.26.14. İL-6

İL-6'nın hem yangı başlatıcı bir sitokin hem de yangı söndürücü bir miyokin gibi davranan bir interlökin olduğu, yangı başlatıcı olarak aktive M1 makrofajlardan ve T lenfositlerden doku zedelenmesini takiben akut faz cevabının/yangı oluşması için salgılandığı ve T lenfositlerin yaşam süresini uzatıp onların çoğalmasını sağladığı, Th17 ve T foliküler yardımcı hücrelerin oluşmasını sağladığı, Treg'lerin oluşumunu baskıladığı, B hücrelerin aktive olmasına neden olarak onların IgG1 tipinde antikorlar üretmesine, monositlerin makrofajlara dönüşümünde neden olduğu, yangı söndürücü olarak da kaslardan salgılanarak immün hücrelerde TNF-α ve İL-1 salgılanmasını inhibe edip İL-1ra ve İL-10 salgılanmasını uyardığı (Hunter ve Jones, 2015) ayrıca aktive M1 makrofajlardan salgılanan İL-6'nın yangı kontrol altına almak adına makrofajların M2 yönünde plastisitesinde rolü olduğu gösterilmiştir (Akira ve Kishimoto, 1996; Fernando, Reyes, Iannuzzi, Leung ve McKay, 2014; Luckett-Chastain, Calhoun, Schartz ve Gallucci, 2016; Mauer ve diğerleri, 2014).

İnsan BM-MKH'lar 48 saat 1 ng/ml İL-6 ile uyarıldıktan sonra PGE'nin kontrol grubu ile prime grupta aynı düzeyde salgılandığı (Gray ve diğerleri, 2015), insan ve fare BM-MKH'ların normal koşullarda yüksek düzeyde İL-6 salgıladıkları (L. Chen ve diğerleri, 2008; Valles ve diğerleri, 2015), aynı zamanda MKH'ların İFN-□/TNF-α (Hemeda ve diğerleri, 2010; H. J. Zhang ve diğerleri, 2016) ve LPS (keme BM-MKH) uyarımı ile İL-6 salgısının (LPS uyarımda daha fazla olmak üzere) daha da arttığı (H. J. Zhang ve diğerleri, 2016) Kota ve diğerleri (2014) yaptığı çalışmada inaktive insan BM-MKH'ların az düzeyde İL-6 salgıladıkları, LPS ile TLR4 üzerinden yapılan uyarımda insan BM-MKH'lardan İL-6 salınımını belirgin düzeyde artırdığı, TLR3 agonisti olan poli(I:C) ile uyarımda da LPS kadar olmasa da bir artış olduğu bulunmuştur. Yapılan ko-kültür çalışmalarında;

- İnsan BM-MKH'lerle insan PBMC'den elde edilen makrofajlar ile LPS eklenen transvel ko-kültür ortamında hücre içi sitokin boyamasında makrofajların İL-6'yı yüksek düzeyde ürettikleri (J. Kim ve diğerleri, 2009),

- Melief ve diğerleri (2013a) tarafından Resim 2.44'de şematize edildiği gibi insan BM-MKH'lar ile insan PBMC'den elde edilen monositlerin İL-4 ve GM-CSF (iDC (olgunlaşmamış dendritik hücre/immature dendritic cells) plastisite medyumu) içeren direkt kültürlerinde medyumda İL-6 düzeyinin arttığı, monositlerden iDC oluşumunun dolayısıyla T hücre aktivasyonun bloke olup İL-10 ve İL-6 salgılayan MEM'lerin oluştuğu ve T hücrelerinin Treg'lere dönüştüğü,



Resim 2.43. İL-4 ve GM-CSF ile kültüre edilen MKH'ların monositlerden iDC oluşumunu engelleyip MEM'leri oluşturması mekanizması (Melief ve diğerleri, 2013a)

- UC-MKH'nın insan PBMC'ler ile transvel ortamında ko-kültüre edildiğinde makrofajlardan İL-6, TNF-α ve VEGF-α mRNA üretiminin azaldığı (Ding ve diğerleri, 2016; Rizzo ve diğerleri, 2008),

- İnsan AT-MKH'lar çok yüksek düzeyde İL-6 salgılandığı, insan PBMC'den elde edilen monositlerden yapışma özelliği ile elde edilen makrofajlarda da İL-6 salgılandığı, insan AT-MKH'lar ve insan PBMC'den elde edilen monositlerden yapışma özelliği ile elde edilen makrofajlar transvel ko-kültür ortamında İL-6 seviyesinin daha da arttığı ve insan AT-MKH'lar ve insan PBMC'den elde edilen monositlerden yapışma özelliği ile elde

edilen makrofajlar ko-kültürüne İL-6 eklendiğinde İL-10 seviyesi belirgin düzeyde arttığı (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013),

- İnsan G-MKH'ların insan PMNC'den elde edilen monositlerle yapılan transvel kültüründe hücre içi olarak İL-10 ve İL-6 boyanmasının arttığı ayrıca ortamda LPS bulunduğunda da İL-6 salgısının arttığı (Q. Z. Zhang ve diğerleri, 2010),

- İnsan BM-MKH'lar 48 saat 1 ng/ml İL-6 ile uyarıldıktan sonra süpernatant toplanmış insan PBMC'den elde edilen monositlerin GM-CSF ile muamelesi ile oluşturulan makrofajların üzerine eklendikten sonra 48 saat inkübe edilip süpernatant toplanmış TNF-α salgılanmasının uyarımsız gruba göre hafif arttığı (Gray ve diğerleri, 2015),

- Farenin peritonun içine zimozan enjekte edilerek oluşturulan periton içi yangı modelinin kullanıldığı çalışmada kültür ortamında insan BM-MKH'ların RAW264.7 ile zimozan varlığında direkt ko-kültüre edildiklerinde İL-6 düzeyinin çok arttığı ve ortama rhTSG-6 (MKH'lardan salgılandığı gösterilen) konduğunda bu düzeyin azaldığı (H. Choi ve diğerleri, 2011),

- Naif THP-1 hücrelerinin düşük düzeyde İL-6 salgıladığı, bunların insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiğinde İL-6 mRNA seviyesinin değişmediği, (Valles ve diğerleri, 2015; Vasandan ve diğerleri, 2016), PMA/THP-1 hücrelerinin İL-6 salgıladığı, bunların insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiğinde İL-6 mRNA seviyesinin arttığı, LPS varlığında tek başına kültüre edildiğinde PMA/THP-1 hücrelerinin İL-6 mRNA ve salgı düzeyinin daha da arttığı, LPS varlığında PMA/THP-1 hücrelerinin ve insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiğinde İL-6 mRNA ve İL-6 salgılanma düzeyin azaldığı (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- İnsan BM-MKH'lar ile TPA/THP-1 hücre dizisinin transvel ortamında yapılan kültürlerine PGE2'yi nötralize eden antikorlar eklendiğinde İL-6 seviyesinde azalma olduğu (Bu bulgu MKH'lardan salınan PGE'nin makrofajları MEM dönüştürerek onlardan İL-6 salgılanmasına neden olan olduğunu düşüncesini güçlendirmektedir) (Valles ve diğerleri, 2015),

- İnsan BM-MKH'larla TPA/THP-1 hücrelerinin transvel ortamında yapılan ko-kültürlerinde kültür medyumunda TSG-6 nötralize eden antikorlar eklendiğinde İL-6 seviyesinin arttığı MCP-1'i nötralize eden antikorlar eklendiğinde İL-6 seviyesinin azaldığı ve aynı zamanda İL-6'yı nötralize eden antikorlar eklendiğinde de MCP-1 seviyesinin azaldığı (Valles ve diğerleri, 2015),

- Farede deneysel artrit modelinde fare BM-MKH'lardan salınan PGE2 yardımıyla artan İL-6 düzeyinin lokal yangıyı baskıladığı (Bouffi, Bony, Courties, Jorgensen ve Noel, 2010),

- Fare Kİ'den elde edilen ve M-CSF ile farklılaştırılan makrofajlar ile fare BM-MKH'ların transvel ortamında LPS ve İFN- ile uyarılması ile İL-6 salgılanmasının baskılandığı (Cho ve diğerleri, 2014),

- H. J. Zhang ve diğerleri (2016) tarafından TNF-α konusunda da şematize edildiği gibi ARDS'ye model olarak oluşturulan NR8383'lerin kemelerin BM-MKH'ları ile LPS varlığında transvelde ko-kültür yapıldığı çalışmada primer MKH kaynaklı İL-6 seviyesinin arttığı, salgılanan İL-6'nın sinyal yolakları bölümünde daha detaylı anlatıldığı gibi NR8383'lerde STAT3 fosforilasyonuna ve SOCS3'ün transkripsiyonuna neden olduğu ve SOCS3'ün LPS ile aktive makrofajlarda NF-κB aktivasyonu engelleyerek M1 sitokini kabul edilen TNF-α, seviyesinin azaldığı, makrofajları M2 plastisitesine neden olduğu (H. J. Zhang ve diğerleri, 2016),

- Farede DSS'nın içme suyuna katılarak oluşturulduğu DSS ile oluşturulan kolit modelinde kuyruk veninden fare BM-MKH'lar verildikten sonra kolon dokusunda İL-6 mRNA seviyesinin düştüğünü (bu muhtemelen akut faz sitokini olarak İL-6 salgılayan M1 hücrelerinin azalmasına bağlı olabilir) (W. Liu ve diğerleri, 2015),

- Farede bir sepsis modeli olan CLP'de fareye IV olarak fare BM-MKH verildiği zaman plazmasında İL-6 düzeyinin düştüğü (Mei ve diğerleri, 2010), bu çalışmada ayrıca akciğer dokusu ve BAL incelenmiş, BAL'da İL-6 seviyesinde artış ile akciğer dokusundaki yangı ve apopitotik hücre sayısında azalma (Mei ve diğerleri, 2010),

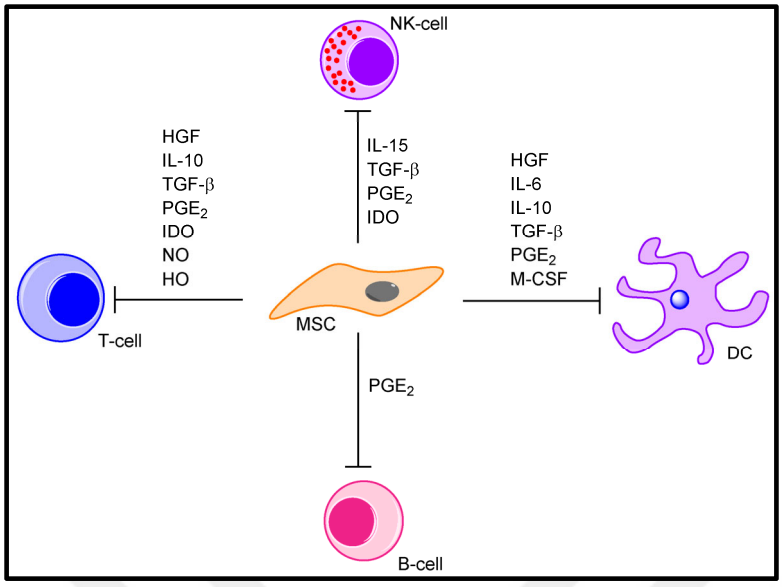
- Fareye thioglikolate periton içine enjeksiyonu sonrasında elde edilen yangısal peritoneal makrofajlar LPS ile uyarıldıklarında İL-6 yüksek düzeyde salgılarken fare BM-MKH'larla direkt ko-kültüre edilmesi ve daha sonradan ortama LPS eklenmesi neticesinde İL-6 düzeyinde azalma (Maggini ve diğerleri, 2010),

- Kendiliğinden oluşan lenfoma geliştiren fare modelinde periferik kanlarında tümöre bağlı olarak TNF-α düzeyinin arttığı, MKH'ların Kİ'den ayrılarak tümör dokusuna yerleşip TNF-α etkisiyle İL-6 salgılayan farklı bir karakter kazandığı, bunların EL4 ile birlikte immün baskılanmış farelere verildiğinde farelerin hem periferik kanında hem de tümör dokusunda CD11b+Gr1+ MDSC'in bir alt grubu olan CD11b+ Ly6C+ monositlerin ve F4/80 makrofajların arttığı, bu makrofajların tümör büyümesine katkıda bulunduğu, İL-12 düşük İL-10 yüksek TNF-α düşük MHC sınıf-II düşük, Arg-1 eksprese etmeyen iNOS eksprese eden CD206+ karakterde oldukları (Tümör dokusuna göç eden makrofajların burada MEM plastisitesine MKH'lardan salgılanan İL-6'nın rolü olduğu düşünülmektedir) (Ren ve diğerleri, 2012),

- Pankreatik kanserin genetik mühendislikle hazırlanan fare modelinde CA-MKH'ların İL-6 salgıladıkları ve fare makrofajları ile kültüre edildiğinde de İL-6 düzeyinin çok daha fazla arttığı (Martinez ve diğerleri, 2014),

- Yangısal meme kanseri (Inflammatory Breast Cancer (IBC)) nedeni bilinmeyen kendine özgü ve ölümcül bir hastalıktır. Bu hastalık için oluşturulan fare modelinin kullanıldığı çalışmada İL-4 ile M2 plastisitesi olan RAW264.7 ile fare BM-MKH transvel ortamında ko-kültüre edildiğinde MKH'larda İL-6 seviyesinin arttığı, MKH süpernatantı ile RAW264.7 kültüre edildiğinde onları CD206+ Arg-1 salgılayan MEM plastisitesine neden olduğu, makrofajların inhibisyonu ile MKH'nın tümör büyüme etkisinin ortadan kalktığı gösterilmiştir (Tümör dokusunda MKH'nın tümör artıcı etkisini tümör dokusunda MKH'lardan salgılanan İL-6'nın makrofajların M2 plastisitesine neden olarak yaptığını düşündürmektedir) (Wolfe ve diğerleri, 2016).

- MKH'ların ayrıca İL-6 üzerinden diğer APC'lerin fonksiyonlarınıda engellediği de gösterilmiştir (Brenner, Andersson Tvedt ve Bruserud, 2016).



Resim 2.44. MKH İL-6 üzerinden diğer antijen sunan hücreleri etkilemesi (Brenner ve diğerleri, 2016)

2.26.15. LIF

LIF, İL-6 sitokin ailesinin en pleiotropik üyesi olduğu hücre çoğalmasının, farklılaşmasının ve hayatta kalışının uyarılması veya farklılaşmayı inhibe ederek hücre büyümesini etkilenmesi de dahil olmak üzere, farklı hücre türlerinde paradoksal olarak ters etkilere sahip olabileceği bildirilmiştir (Nicola ve Babon, 2015).

LIF'in MKH'ların (Y. Jiang ve diğerleri, 2002) hem de diğer kök hücrelerin (Metcalf, 2003) kök hücre olarak kalmalarını sağladığı, normal koşullarda fare BM-MKH'ların LIF salgılamadığı ancak insan BM-MKH'ların LIF salgıladıkları (L. Chen ve diğerleri, 2008), MKH'ların HKH'lerin farklılaşmasını engellemesine katkıda bulunduğu (Chapman ve diğerleri, 2006), transplantasyon toleransı ile ilgili olduğu, Treg oluşumunda rol oynadığı, ekspresyonun HLA-G (human leukocyte antigen–G) gen ekspresyonu arasında pozitif bir ilişkinin olduğu bulunmuştur (Nasef ve diğerleri, 2008).

LIF'in yangı ile ilgili yanıtlar sırasında, monosit-makrofaj toplanmasına ve aktivasyonuna doğrudan katkıda bulunabileceği (P Conti ve diğerleri, 1993; Dallagi ve diğerleri, 2015) ve ayrıca LIF'in İL-6 birlikte TAM oluşumunu sağlayabileceği gösterilmiştir (Duluc ve diğerleri, 2007).

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan P-MKH'ların, insan PBMC'den elde edilen monositlerle GM-CSF içeren M1 plastisiste medyumu ile transvel ortamında yapılan ko-kültürlerinde P-MKH'ların LIF salgısının daha da arttığı bulunmuştur (Abumaree ve diğerleri, 2013).

2.26.16. İL-7

İL-7, Ortak γ Zincirine Sahip Sitokin Ailesinin (Common γ Chain Family of Cytokines) (İL-2, İL-4, İL-9, İL-15 ve İL-21) bir üyesi olduğu, İL-7'nin başlıca kaynağını BM-MKH'ların oluşturduğu (Nemoto ve diğerleri, 2012), İL-12 uyarımı ile makrofajlardan salgılandığı (Jana, Mondal, Jana ve Pahan, 2014), hematopoietik büyüme faktörü (hematopoietic growth factor) olarak da tanımlandığı, B hücrelerinin Kİ'de gelişiminde ve T lenfositlerin timusta farklılaşması ile periferde çoğalmasına etkisiyle vücutta hemostazın sağlanmasında ve artan düzeyiyle yangı oluşmasında rol oynadığı gösterilmiştir (R. Li ve diğerleri, 2011; Nguyen, Mendelsohn ve Larrick, 2017). MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- NR838'lerin LPS ile muamele edildiğinde İL-7 seviyesi artarken kemelerin BM-MKH'lar ile LPS varlığında transvel ile ko-kültüre edildiğinde İL-7 seviyesinin azaldığı bulunmuştur (H. J. Zhang ve diğerleri, 2016).

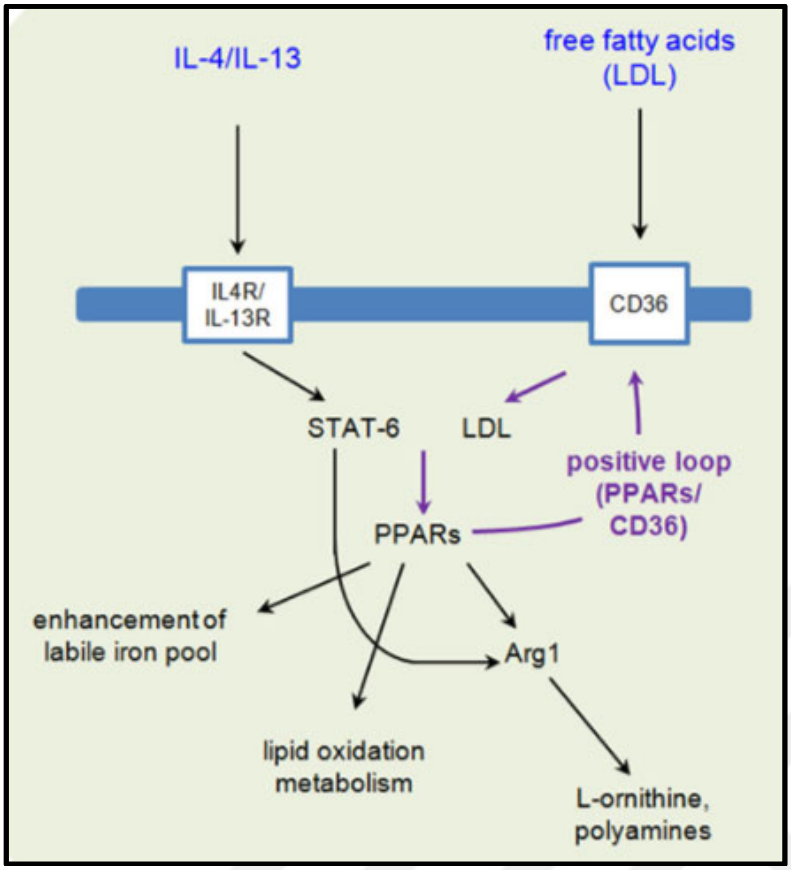
2.26.17. İL-9

İL-9'nun başta Th9 salgılandığı, alerjik yanıtta, tümör immünolojisinde ve otoimmünitede rol oynadığı (Licona-Limon, Arias-Rojas ve Olguin-Martinez, 2017), İL-9 varlığının LPS ile uyarılan makrofajlarda solunum patlamasını TNF−α ve İFN-γ salgılanmasını engelleyerek Th1 cevabını oluşturamadığını ve TGF-β salgısına neden olduğu (Noelle ve Nowak, 2010; Pilette ve diğerleri, 2002a, 2002b; B. Wu ve diğerleri, 2008), MKH'ların T lenfositlerden İL-9 salgılanmasına neden olduğu bulunmuştur (Z. X. Yang ve diğerleri, 2017).

2.26.18. İL-4 ve İL-13

Th2, mast hücreleri, eozinofil ve bazofillerden salgılanan İL-4'ün; naif T lenfositlerinin (Th0) Th2'ye dönüşmesi, çoğalması ve onlardan İL-4, İL-5, İL-6 ve İL-13 salgılanmasını sağladığı, naif T lenfositlerin (Th0) Th1 farklılaşmasını ve onlardan İL-2, İFN-γ ve TNF-α salgılanmasının baskıladığı, B lenfositlerin plazma hücrelerine dönüşmesini, plazma hücrelerinin IgM tipi antikorlar yerine IgG1 ve IgE tipinde antikor salgılamasını sağladığı (class switching), DC'lerden İL-12 salgılanmasını baskıladığı gösterilmiştir. Bu etkilerinden dolayı İL-4 yangı söndürücü bir sitokin olarak kabul edilmektedir (P. Choi ve Reiser, 1998; Siamon Gordon, 2003; Siamon Gordon ve Martinez, 2010; Luzina ve diğerleri, 2012; Muraille ve diğerleri, 2014). L. Chen ve diğerleri (2008) tarafından yapılan çalışmada hem fare hem de insan BM-MKH'ların İL-4 salgıladıkları gösterilmiştir.

İL-13'ünde benzer şekilde alerjen spesifik Th2 hücrelerinden salgılanan bir sitokin olduğu (Till ve diğerleri, 1997) ama daha sonra Th1 ve Th17'lerden de salgılandığı (De, Kodys ve Miller-Graziano, 1998; Gallo, Katzman ve Villarino, 2012), İL-13'nun B lenfositlerine etki ederek IgE sınıfı değişimini (IgE class switching) sağladığı, bununla birlikte, İL-13 hücresel immünitede rol alarak hücre içi organizmalara direnci sağladığı, akciğerde eozinofilik yangıyı, mukus salgısını ve hava yolu aşırı duyarlılığını düzenleyen alerjik astımın merkezi bir molekülü olduğu, tümörün hücresi büyümesini sağladığı, doku fibrozisisine yol açtığı (Wynn, 2003), epitel hücrelerinden salgılanan İL-23/İL-33'e yanıt olarak makrofajlarında İL-5 ve İL-13 salgıladığı (Z. Yang ve diğerleri, 2013), makrofajlardan otokrin salgılanan İL-13'ün sinyal yolakları bölümünde detaylı anlatıldığı gibi İL-4 ile birlikte STAT6 üzerinden makrofajların M2a yönünde plastisiteye neden olduğu, CCL18 salgılanmasına ve bu yolla T lenfosit infiltrasyona ve fibroblast üzerine etki ederek fibrozis oluşmasına, bakterilerin fagositozunun azalmasına, Muraille ve diğerleri (2014) tarafından Resim 2.46'da şematize edildiği gibi Arg-1 sentezlenmesine, lipitlerin oksidasyonuna, demirin serbest kalmasına neden olduğu bulunmuştur (Siamon Gordon, 2003; Siamon Gordon ve diğerleri, 2010; Luzina ve diğerleri, 2012; Muraille ve diğerleri, 2014).



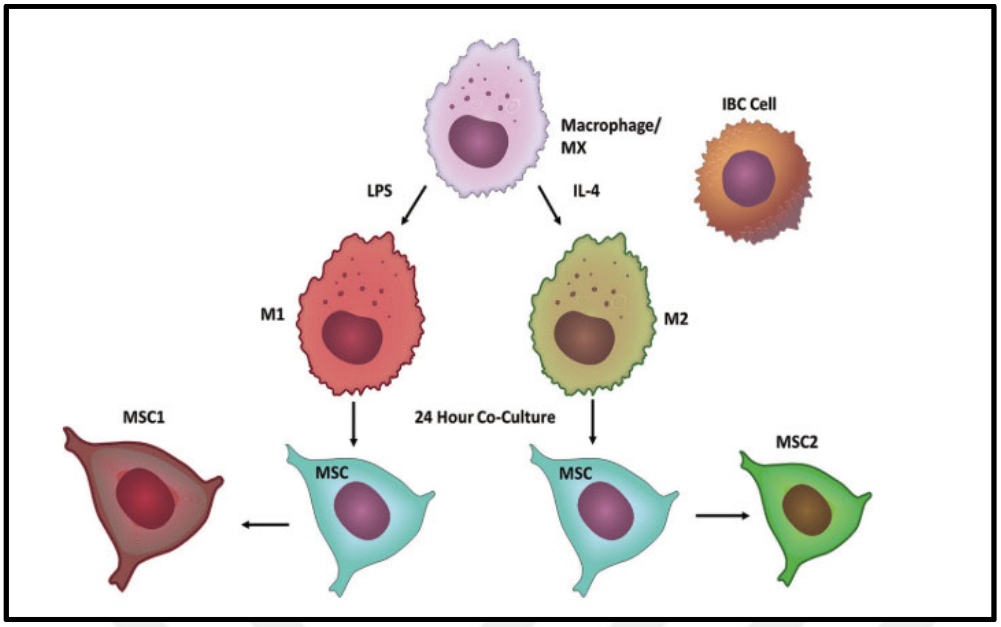
Resim 2.45. İL-4/İL-13 aksının ve serbest yağ asitlerinin makrofajları M2a yönünde plastisiteye neden oluş mekanizması (Muraille ve diğerleri, 2014)

İL-4/İL-13 uyarımı CD206 ekspresyonuna (Stein ve diğerleri, 1992), Tarique ve diğerleri (2015) tarafından Çizelge 2.5'de listelendiği gibi makrofajların İL-4 tek başına, İL-13 tek başına ve İL-4 ve İL-13 birlikte uyarımında, CD64, CD80 eksprese etmedikleri, CD11b+/CD209+, CD209+/CD200R+, CD1a+/CD1b+ popülasyonlarının ise oluştuğu gösterilmiştir.

MKH'ların İL-13 salgılaması ile ilgili veriye rastlanmamıştır.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

• A. R. Wolfe ve diğerleri (2016) tarafından Resim 2. 47'de şematize edildiği gibi LPS aracılığı ile M1 plastisitesi sağlanmış makrofajların MKH'ları MKH1 yönünde plastisitesine ve İL-4 ile M2 plastisitesi sağlanmış makrofajların MKH'ları MKH2 yönünde plastisitesine neden olduğu öne sürülmektedir.



Resim 2.46. LPS ve İL-4 aracılığı ile M1 ve M2 plastisitesi sağlanmış makrofajların MKH plastisitesine etkisi (A. R. Wolfe ve diğerleri, 2016)

- İnsan AT-MKH'lar ve insan PBMC'den elde edilen monositlerden yapışma özelliği ile elde edilen makrofajlar tek başlarına İL-4 ve İL-13 salgılamadığı, İL-4 seviyesinde direkt, transvel ve MKH kültür medyumu olan ortamda değişiklik olmadığı, İL-13 seviyesinin ise hafif yükseldiği, transvel ko-kültürüne İL-6 eklendiğinde İL-13 salgısının belirgin derecede arttığı, transvel ko-kültürüne İL-6 nötralizan antikor eklendiğinde İL-13 salınımının engellendiği (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013),

- Fare BM-DM'ler M-CSF ile farklılaştırıldıktan sonra İL-4 varlığında kültüre edildiğinde İL-4R seviyesinin arttığı, fare BM-DM M-CSF ile farklılaştırıldıktan sonra fare BM-MKH'lar ile İL-4 varlığında transvel ortamında kültüre edildiğinde ise BM-DM'lardaki İL-4R ekspresyonun çok daha fazla arttığı (Cho ve diğerleri, 2014),

- NR8383'ler LPS ile muamele edildiklerinde ve NR8383 ile keme BM-MKH'lar LPS varlığında transvel ile ko-kültürü edildikleri zaman İL-4 ve İL-13 seviyesinde belirgin bir artış olmadığı (H. J. Zhang ve diğerleri, 2016),

- MKH'ların İL-13R ait genleri eksprese ettikleri (Silva ve diğerleri, 2003), genetik mühendislikle elde edilen İL-13 sürekli salgılayan MKH'ların allojenik spesifik T lenfosit

aktivasyonunu azalttığı, alternatif makrofaj oluşumunu artırdığı ve bunlarında nakledilen allojenik MKH'ların immünolojik yaşamını uzattıkları (Hoornaert ve diğerleri, 2016),

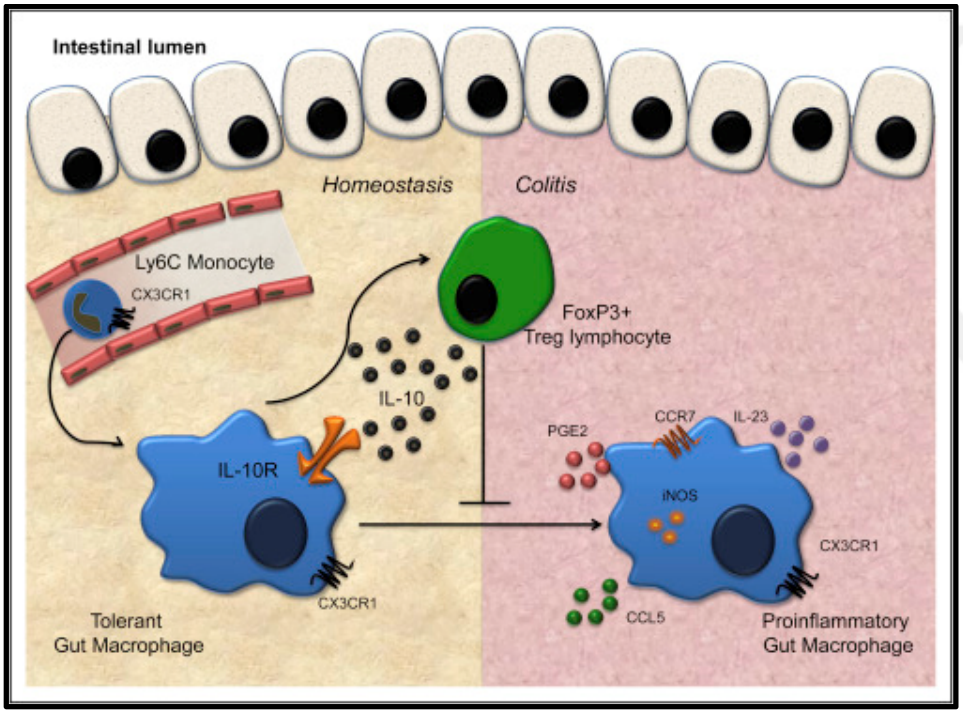
- Yine genetik mühendislikle elde edilen İL-13 sürekli salgılayan MKH'ların omurilik yaralanmaları (Spinal Cord Injury (SCI)) için oluşturulan fare modeline verildiği zaman, demiyelinizasyon alanın küçüldüğü, dokuda bulunan mikroglia sayısının azaldığı, alternatif olarak aktive olan makrofaj sayısının arttığı, makrofaj/akson kontağının azaldığı sonuç olarak da SCI modelinde MKH/İL13'ün histopatolojik ve fonksiyonel iyileşme sağladığı gösterilmiştir (Dooley ve diğerleri, 2016; Nakajima ve diğerleri, 2012).

2.26.19. İL-10/CSIF

Başlıca Th2 (Fiorentino, Bond ve Mosmann, 1989), DC (H.-R. Jiang ve diğerleri, 2002) M2 makrofajlar (J. P. Edwards, Zhang, Frauwirth ve Mosser, 2006), mast hücreleri (Grimbaldeston, Nakae, Kalesnikoff, Tsai ve Galli, 2007), Treg'ler (Mosser ve diğerleri, 2008; O'Garra, Vieira, Vieira ve Goldfeld, 2004), eozinofil, nötrofil, B lenfositleri, CTL, Th1 ve Th17 (X. Ma ve diğerleri, 2015) tarafından salgılanan, CSIF olarak da bilinen İL-10, T hücrelerini (O'Garra ve diğerleri, 2004), M1 makrofajları inhibe ettiğini, aynı zamanda B hücresinin hayatta kalmasını sağladığı, çoğalma ve antikor üretimini de arttırdığı (Itoh ve Hirohata, 1995) gösterilmiştir.

Makrofajların PGE2 ile uyarılması, apoptotik hücrelerin fagositozu ve ayrıca TLR3 ve TLR4 aktivasyonuyla üretilen İFN-β negatif bir geri tetikleme mekanizması (X. Ma ve diğerleri, 2015), İL-4, İL-13, mantar ve parazit bulaşları ile oluşan M2a tipi makrofajların ve GC, TGF-β ve İL-10 ile oluşan M2c tipi makrofajların yüksek düzeyde İL-10 salgıladığı (Iqbal ve Kumar, 2015), ayrıca monositlerin M-CSF ile uyarılması ile yüksek düzeyde İL-10 salgıladığı, bu makrofajların apoptotik hücreleri güçlü bir şekilde fagosite ettiği, herhangi bir uyaran olmadan apoptotik hücreleri bağlamak için CD14'ü kullandığı, PS'in (fosfatidilserin) erken apoptotik hücrelerin fagositozuna katkıda bulunduğu, bu makrofajların DC'ler ve Ml makrofajlara kıyasla daha güçlü makropinositoz gösterdiği bulunmuştur (W. Xu ve diğerleri, 2006).

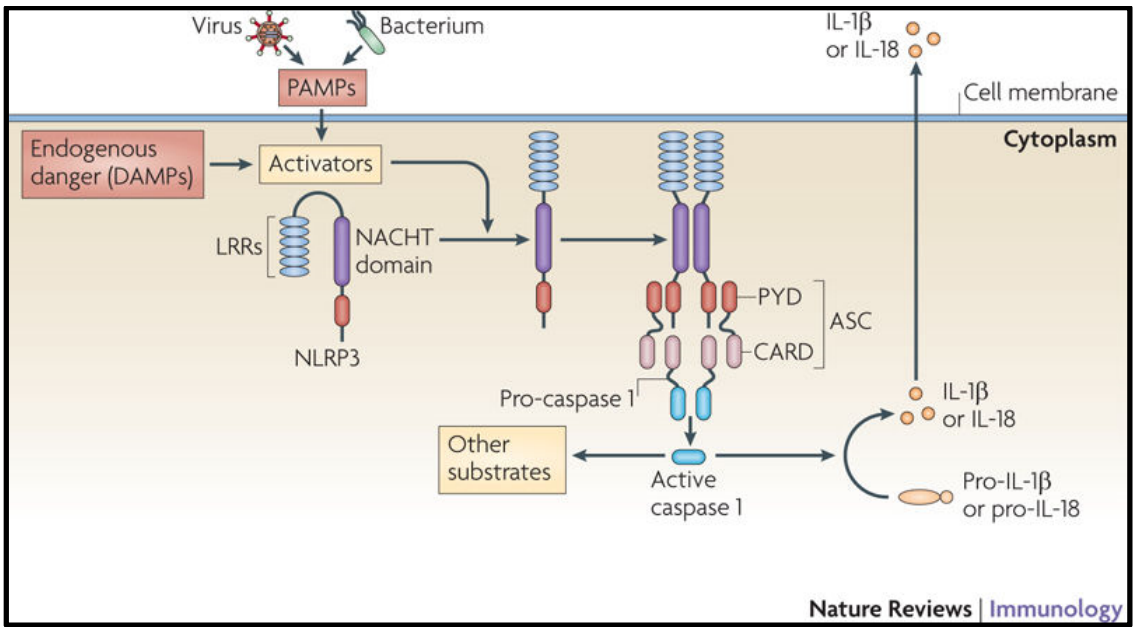
Makrofajların İL-10 ile uyarılması ile sinyal yolakları üzerinde de detaylı değinildiği gibi STAT3 sinyal yolağı üzerinden etki gösterdiği NF-κB baskılayarak İL-12 üretimini (Lang, Patel, Morris, Rutschman ve Murray, 2002) ve ayrıca İL-10'nun İL-4 den çok daha fazla bir şekilde LPS ve İFN-γ ile uyarılan makrofajlardan İL-1, İL-6 ve TNF-α gibi yangısal sitokin üretimini inhibe ettiği (Fiorentino ve diğerleri, 1989), Mantovani ve Marchesi (2014) tarafından Resim 2.48'de şematize edildiği gibi gastrointestinal sistemde Treg'lerden salgılanan İL-10'un makrofajları tolerant gastrointestinal sistem makrofajlarına dönüştürdüğü bunların pozitif geri dönüşüm mekanizmasıyla Treg oluşumunu arttırdığı bulunmuştur.



Resim 2.47. Gastrointestinal sistem makrofajların kaynağı ve homeostaz ve yangıdaki plastisitesinin mekanizması (Mantovani ve diğerleri, 2014)

İL-10'un makrofajlardaki yangısal uyaranlar tarafından oluşturulan metabolik programı zıt yönde değişimine neden olduğu, spesifik olarak, İL-10'un LPS'in indüklediği glikoz alımını ve glikolizisini inhibe ettiğini ve oksidatif fosforilasyonu desteklediğini, Ayrıca İL-10, bir mTOR (Memelilerin Rapamisin Hedefi/Mammalian Target Of Rapamycin) inhibitörü olan DDIT4'ün indüksiyonu yoluyla mTOR inhibe ettiği, Sonuç olarak, İL-10 düşük membran potansiyeli ve yüksek düzeyde ROS ile karakterize olan fonksiyonel olmayan mitokondriyayı ortadan kaldıran mitofaji (mitophagy) desteklediği gösterilmiştir.

Tschopp ve Schroder (2010) tarafından Resim 2.49'da şematize edildiği hücrelerde bakteri ve virüs gibi PAMP'larla NLRP3 aktive olması, kaspaz-1'in aktive olmasına ve pro-İL-1β ve pro-İL-18 aktifleşmesine neden olur. Farelerde kolit ve yangısal bağırsak hastalığı modelinde İL-10-/- farelerde, makrofajlar bir hasar görmüş mitokondriyi ortadan kaldırmadığı ve NLRP3 inflamazomunun düzensiz aktivasyonuna ve İL-1β üretiminin bozulmasına neden olduğu bulunmuştur (Ip, Hoshi, Shouval, Snapper ve Medzhitov, 2017; Tschopp ve diğerleri, 2010).



Resim 2.48. NLRP3'ün inflamazome kompleksi oluşturma mekanizması (Tschopp ve diğerleri, 2010)

MKH'ların normal koşullarda İL-10 salgılanması yönünde farklı bulgular vardır. Bazı araştırmacılar naif MKH'larin anlamlı biçimde İL-10 mRNA transkripsiyonu yapmadıkları (François ve diğerleri, 2012), bazı araştırmacılarda normal koşullarda fare ve insan kaynaklı MKH'larda salgılandığını belirtmişlerdir (Turner ve diğerleri, 2014).

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan P-MKH'lar ile insan PBMC'den elde edilen monositler kültür medyumuyla GM-CSF ve Mifepristone varlığında transvelde ko-kültüre edildikten sonra, mifepristone'nun P-MKH'lardan salgılan suda eriyen faktörlerin PBMC kaynaklı monositlerden elde edilen makrofajları M2 çevirme kapasitesini bloke ettiği M1, M2 ve yapışmayan

hücrelerden oluşan karışık bir popülasyon ortaya çıktığı, İL-10 seviyesi azaldığı (MKH'dan salgılanan GC ve PG'nun (Progesterone) MEM oluşumunda etkili olduğu düşündürmektedir) (Abumaree ve diğerleri, 2013),

- İnsan BM-MKH'lari ile insan PBMC'den plastiğe yapışma özelliği ile elde edilen makrofajlar LPS varlığında ko-kültüre edildiklerinde makrofajların yüksek düzeyde IL-10 salgıladığı (J. Kim ve diğerleri, 2009).

- İnsan AT-MKH'ların salgıladığı İL-6'nın etkisiyle insan PBMC'lerden elde edilen monositlerden yapışma özelliği ile elde edilen makrofajlar direkt ve transvel ko-kültür ortamında İL-10 salgısını artırdığı (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013),

- İFN- ve TNF-α muamele edilen insan BM-MKH'ların salgıladıkları IDO nedeniyle insan PBMC'den elde edilen monositlerin direkt kültürde İL-10 salgısını artırdığı (François ve diğerleri, 2012),

- LPS ile uyarılan insan UC-MKH'lardan elde edilen eksozomları içeren medyumla PMA/THP-1 hücrelerini yüksek glikozlu bir ortamda kültüre edildiğinde, İL-10 mRNA seviyesinin arttığı (Ti ve diğerleri, 2015),

- TPA/THP-1 hücre dizinde normalde İL-10 salgılanmadığı, ancak insan BM-MKH'ların TPA/THP-1 hücre dizinin transvel ko-kültürü sonrası İL-10 seviyesinde artış olduğu (Valles ve diğerleri, 2015),

- PMA ile farklılaşmamış THP-1'lerin düşük düzeyde İL-10 salgıladığı, insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında yapılan kültürlerinde İL-10 seviyesinin arttığı, PMA/THP-1 hücrelerinin düşük düzeyde İL-10 salgıladığı, insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında yapılan kültürlerinde İL-10 seviyesinde hafif bir düşme olduğu, İL-4 varlığında PMA/ THP-1'lerin İL-10 salgıladığı, PMA/THP-1'lerin insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında yapılan ko-kültürlerde, İL-10 seviyesinin belirgin düzeyde arttığı (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- Asılı damlalar halinde küre şeklinde üretilen insan BM-MKH'lerinden salgılanan PGE nin etkisiyle LPS ile uyarılmış J774.A.1'lerin transvel ko-kültüründe, makrofajların gen düzeyinde incelenmesinde İL-10 mRNA seviye artışı olduğu (Ylostalo ve diğerleri, 2012),

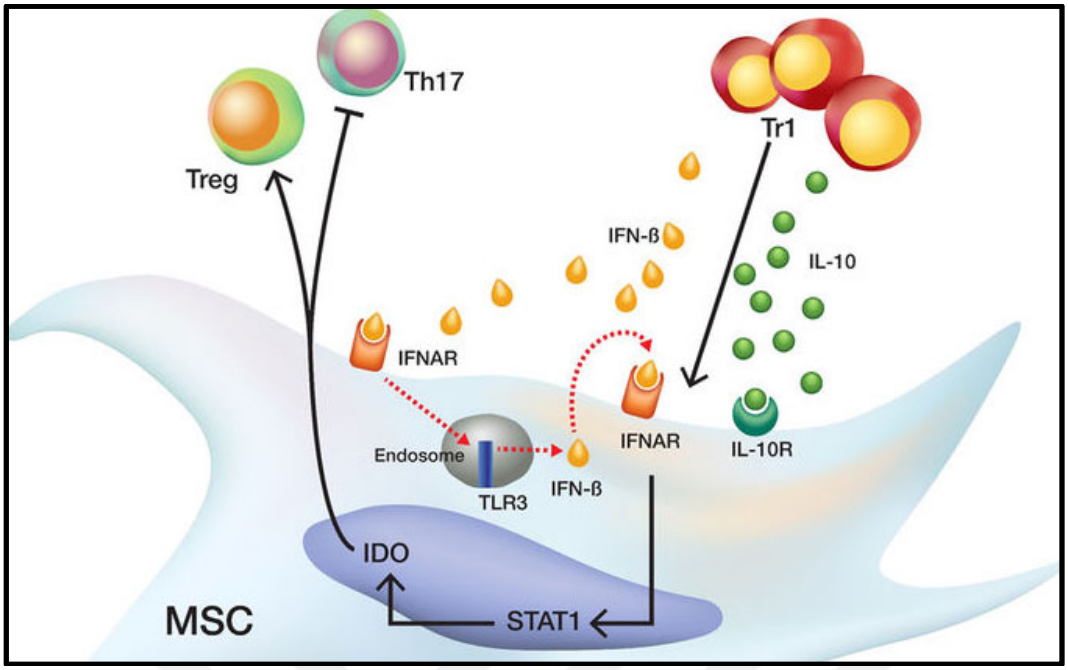
- Akut yangı yanıtları sırasında M1 makrofajlar yüksek seviyelerde İFN-γ ve TNF-α salgıladıkları ve MKH'lerin mikroçevrede bulunan İFN-γ'dan etkilendiği (Marigo ve diğerleri, 2011), İL-10 salgıladığı (English ve diğerleri, 2007; Mauro Krampera ve diğerleri, 2006; X.-D. Liu ve diğerleri, 2014; Sheng ve diğerleri, 2008),

- Pankreatik kanserin genetik mühendislikle hazırlanan fare modelinde CA-MKH'ların tümör hücreleri ile birlikte normal farelere verilmesi sonrasında pankreasta oluşan tümör dokusu ve bu dokudan elde edilen CA-MKH'lar incelendiğinde İL-10 artışı olduğu (Mathew ve diğerleri, 2016),

- Pankreatik kanserin genetik mühendislikle hazırlanan fare modelinde CA-MKH'nın makrofajların tümör dokusuna infiltrasyonunu artırdığı, İL-10 salgılayan tümör oluşumunu destekleyen bir fenotipe dönüşümünü sağladığı (Mathew ve diğerleri, 2016),

- L-MKH'ların EL4 ile birlikte immün baskılanmış farelere verildiğinde makrofajların İL-10 eksprese ettikleri (Ren ve diğerleri, 2012),

- MKH'ların İL-10R ait genleri eksprese ettikleri (Silva ve diğerleri, 2003), J. Lim ve diğerleri (2016) tarafından Resim 2.50'de şematize edildiği gibi fare BM-MKH'ların İFN-β ve Tr1'den salgılanan İL-10'nun etkisiyle STAT-1 üzerinden IDO salgıladığı, IDO'nun Treg oluşumunun sağladığı ve Th17 oluşumunu baskıladığı (Di Ianni ve diğerleri, 2008; Maccario ve diğerleri, 2005; Mathew ve diğerleri, 2016),



Resim 2.49. İFN-β ve İL-10'nun MKH'larda IDO üretimi ve salgılanan IDO'nun T lenfositleri üzerine etki mekanizması (J. Lim ve diğerleri, 2016)

- Fare BM-MKH'ların fareye thioglikolate periton içine enjeksiyonu sonrasında elde edilen yangısal peritoneal makrofajlar ile direkt ko-kültüre edilmesi ve daha sonradan ortama LPS eklenmesi neticesinde İL-10 salgıladıkları (Maggini ve diğerleri, 2010),

- Fare BM-MKH'ların tedavi olarak uygulandığı, farelerin vücuduna cam silindirler yerleştirilerek oluşturulan güçlü yangı modelinde yangı alanına göç eden makrofajların sayısının arttığı bunların yüksek düzeyde İL-10 salgıladıkları (Maggini ve diğerleri, 2010)

- Farede sistemik sepsis modeli olan CLP'de fare BM-MKH'lar ile tedavi edilen farede MKH'ların PGE salgıladıkları ve farenin akciğerlerinden elde edilen makrofajları LPS ile uyarıldığında İL-10 salgıladığı (Nemeth ve diğerleri, 2009),

- Farede bir sistemik sepsis modeli olan CLP'de fareye IV olarak fare BM-MKH verildiği zaman plazmasında İL-10 düzeyinin düştüğü (Mei ve diğerleri, 2010),

- Farede bir sistemik sepsis modeli olan CLP'de çekal bağlama ve delinme yapıldıktan sonra fare BM-MKH'lar verildiğinde kandaki nötrofil sayısının arttığı (Bunun muhtemel

nedenin MEM'lerden salınan İL-10 un nötrofillerin damar endoteli üzerinde ki yuvarlanma yapışma ve damar endotelinden dokuya geçme fonksiyonlarının inhibisyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir. Nötrofillerin damar içinde kalması kandaki bakterilerin temizlenmesine yardımcı olduğu gibi dokuya geçmemeleri nötrofil aracılı doku zedelenmesinin olmamasına neden olur. Buda MKH'lara bağlı organ zedelenmesinden korunma mekanizmasının muhtemelen MEM'lerden salınan İL-10'nun nötrofillerin dokuya geçip zarar vermesini önlenmesi şeklinde olduğunu düşündürmektedir) (Nemeth ve diğerleri, 2009),

- ARDS her iki akciğerde oluşan yangı sonucu meydana gelen akut solunum yetmezliğidir. Gr (-) bakterilerin membranındaki LPS majör bileşen olarak tanımlanmakta ve belirgin makrofaj infiltrasyonu gözlenmektedir. Buna model olarak oluşturulan kültürde NR8383'ların tek başına LPS ile muamelesinde İL-10 salgılamadığı, keme BM-MKH'lar ile transvel ile ko-kültüre edildikleri zaman İL-10 seviye artışı olduğu, artışının kaynağının NR8383'ler olduğu (H. J. Zhang ve diğerleri, 2016),

- Farede Mİ modelinde MKH tedavisinden sonra kanda ve kalp dokusunda M2 ye benzeyen makrofajların arttığı İL-10 seviye artışı ile birlikte olduğu (Dayan ve diğerleri, 2011),

- İL-4 varlığında fare Kİ'den elde edilen ve M-CSF ile farklılaştırılan makrofajların az düzeyde İL-10 salgıladıkları ancak İL-4 varlığında fare BM-MKH'ların fare Kİ'den elde edilen ve M-CSF ile farklılaştırılan makrofajlar ile transvel ortamında kültüre edilmesiyle çok daha fazla miktarda İL-10 salgıladığı (Cho ve diğerleri, 2014) bulunmuştur.

2.26.20. İL-11

İL-11 ilk defa Paul ve diğerleri (1990) tarafından Kİ bağ dokusu hücreleri tarafından salgılanan ve hematopoezi destekleyen bir sitokin olarak tarif edilmiş (Majumdar, Thiede, Haynesworth, Bruder ve Gerson, 2000; Park ve diğerleri, 2009b), daha sonra İL-6 ailesinden bir sitokin olarak kabul görmüştür. İnsan ve fare BM-MKH'ların İL-11 salgıladıkları gösterilmiştir.(K. X. Hu, Sun, Guo ve Ai, 2010; Park ve diğerleri, 2009a).

Hematopoezin yanında trombopoez teşvik ederek ve bağırsakta mukozal koruma sağlarken bir yandan da gastrointestinal sistem tümörlerinde rol oynayarak pleiotropik faaliyetler gösterdiği belirtilmektedir (Putoczki ve Ernst, 2010) Ayrıca İL-11'in M1 makrofajların efektör fonksiyonlarını NF-κB'yi inhibe ederek kontrol ettiği bulunmuştur (Trepicchio, Wang, Bozza ve Dorner, 1997).

2.26.21. İL-12 (İL-p70)

İL-12 ailesi sitokinlerden (İL-12 (İL-p70) (İL-12p35/İL-12p40), İL-23 (İL-23p19/İL-12p40), İL-27 (İL-27p28/Ebi3) ve İL-35 (İL-12p35/Ebi3) bir tanesi olan İL-12 (İL-p70)'nin p35 ve p40 alt birimlerinden oluştuğu, aktive makrofaj ve dendritik hücrelerden salgılandığı (X. Ma ve diğerleri, 2015), doğal ve adaptif immün sistemi uyaran bir sitokin olduğu, NK hücrelerini, CD4+ ve CD8+T lenfositlerini aktive ettiği, T lenfositlerden bağımsız İFN-γ salgılanmasında rol aldığı, tümörün gelişimini baskıladığı gösterilmiştir (Wolf, Sieburth ve Sypek, 1994).

İL-12p40 zinciri, İL-12 ve İL-23'ün ortak alt birimidir. İL-12 iki formda salgılanır. İL-12p80 iki adet p40'dan oluşan bir homodimer olarak (p40/p40) ve İL-12p70 ise p40 ve p35'den oluşan bir şekilde salgılanır. İL-12p70 aynı zamanda CLMF (sitotoksik lenfosit maturasyon faktörü/cytotoxic lymphocyte maturation factor) ve NKSF (NK hücre Sitimülasyon faktörü /natural killer cell stimulatory factor) olarak da adlandırılır (Gillessen ve diğerleri, 1995). Monositler için güçlü bir kemoatraktan (Cooper ve Khader, 2007) olduğu öne sürülmektedir.

Yapılan ko-kültür çalışmalarında;

- İnsan PBMC'dan yapışma özelliklerine dayanılarak elde edilen makrofajların ve insan AT-MKH tek başlarına olduklarında İL-12 salgıladıkları, direkt, ve transvel kültür ortamında 1. günde İL-12 seviyesinin azaldığı, MKH kültür medyumu ile yapılan kültürde ise değişmediği (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013),

- İnsan BM-MKH'lar ile LPS ve İFN-γ ile M1 yönünde farklılaştırılmış PBMC'den elde edilen makrofajlar transvel ortamında ko-kültüre edildiği zaman makrofajlarda İL-12 mRNA seviyesinin düştüğü (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- Naif THP-1'lerin düşük düzeyde İL-12 salgıladığı, PMA/THP-1'lerin İL-12 salgıladığı ve insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiğinde İL-12 mRNA ve İL-12 salgılanma bu düzeyin arttığı, ortama LPS eklendiğinde PMA/THP-1'lerde İL-12 mRNA ve İL-12 salgısının daha da arttığı, PMA/THP-1 hücreleri insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında LPS varlığında ko-kültüre edildiğinde İL-12 mRNA ve İL-12 salgılanma düzeyin azaldığı (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- Farelerin vücuduna cam silindirler yerleştirilerek oluşturulan güçlü deri yangı modelinde fare BM-MKH'ların verildiği grupta yangı alanına göç eden makrofajların sayısının arttığı, bunların MHC sınıf-II düşük, Iab düşük, CD86düşük, TNF-α düşük, İL-6 düşük, İL-12 p70 düşük ve İL-12p40 yüksek, İL-10 yüksek olduğu (Maggini ve diğerleri, 2010),

- Farenin peritonunun içine thioglikolate enjekte edildikten sonrasında elde edilen yangısal peritoneal makrofajların tek başlarına İL-p40 salgılamadıkları LPS ile uyarımda İL-12p40 seviyesinin biraz arttığı, fare BM-DM'ların ne tek başlarına nede LPS ile uyarımla İL-12p40 salgılamadıkları, yangısal peritoneal makrofajların fare BM-MKH'larla direkt ko-kültüre edilmesinden sonradan ortama LPS eklenmesi neticesinde İL-12p40 düzeyinde çok fazla miktarda artış olduğu (Maggini ve diğerleri, 2010),

- Farenin peritonunun içine thioglikolate enjekte edildikten sonrasında elde edilen yangısal peritoneal makrofajların tek başlarına İL-12p70 salgılamadıkları ama LPS ile uyarıldıklarında yüksek düzeyde İL-12p70 salgıladıkları, fare BM-MKH'ların ne tek başlarına ne de LPS uyarımından sonra İL-12p70 salgılamadıkları, fare yangısal peritoneal makrofajların fare BM-MKH'larla direkt ko-kültüre edilmesi ve daha sonradan ortama LPS eklenmesi neticesinde İL-12p70 düzeyinde azalma olduğu (Maggini ve diğerleri, 2010),

- Kendiliğinden oluşan lenfoma geliştiren farelerde periferik kanlarında tümöre bağlı olarak TNF-α düzeyinin arttığı, fare BM-MKH'ların Kİ'den ayrılarak tümör dokusuna yerleşip TNF-α etkisiyle İL-6 salgılayan farklı bir karakter kazandığı (L-MKH), bunların EL4 ile birlikte immün baskılanmış farelere verildiğinde F4/80 makrofajların sayısının farenin hem tümör dokusunda hem de periferik kanında arttığı ve bu makrofajların İL-12 düşük tümörün büyümesine yardım eden karakterde oldukları (Ren ve diğerleri, 2012),

- Fare BM-DM'ların M-CSF ile makrofaja dönüştürüldükten sonra İFN-□ ve LPS varlığında İL12p40/p70 salgıladıkları, fare BM-DM'ların M-CSF ile makrofaja dönüştürüldükten sonra fare BM-MKH'lar ile İFN-□ ve LPS varlığında transvel ortamında ko-kültüre edilmesi ile İL12p40/p70 seviyesinin azaldığı (Cho ve diğerleri, 2014),

- NR8383'lerin LPS ile muamelesi ile İL-12p/70 salgıladıkları ancak keme BM-MKH'lar ile LPS varlığında transvel ortamında ko-kültür yapıldığında İL-12p70 seviyesinde belirgin bir fark olmadığı (H. J. Zhang ve diğerleri, 2016) bulunmuştur.

2.26.22. İL-15

Pleiotropik bir sitokin olan ve birçok hücre tipine etki eden İL-15'in İFN-γ ve mikrobiyal antijenlerle uyarılan monositlerden membrana bağlı bir şekilde üretildiği (Doherty, Seder ve Sher, 1996; Musso ve diğerleri, 1999; Perera, Lichy, Waldmann ve Perera, 2012), İL-8 ve MCP-1 salgılanmasını artırarak nötrofil ve monositlerin yangı alanına göç etmesini sağladığı, makrofajlarda yüksek konsantrasyonda otokrin bir yangı başlatıcı olarak rol oynayarak TNF-α, İL-1 ve İL-6 salgılanmasını sağladığı, düşük konsantrasyonda ise İL-10 salgılanmasına neden olduğu (Alleva, Kaser, Monroy, Fenton ve Beller, 1997), aynı zamanda NT hücreleri, eozinofil, mast hücreleri, T lenfositler ve B lenfositlerin fonksiyonları üzerine de etkili olup viral, bakteriyel ve parazitik bulaşlarla savunmada görev aldığı (Castillo ve Schluns, 2012; Ohteki, 2002; Perera ve diğerleri, 2012) bulunmuştur.

İnsan kaynaklı MKH'ların da gen düzeyinde İL-15 eksprese ettikleri ve salgıladıkları gösterilmiştir (Hass, Kasper, Bohm ve Jacobs, 2011; Silva ve diğerleri, 2003).

Yapılan ko-kültür çalışmalarında;

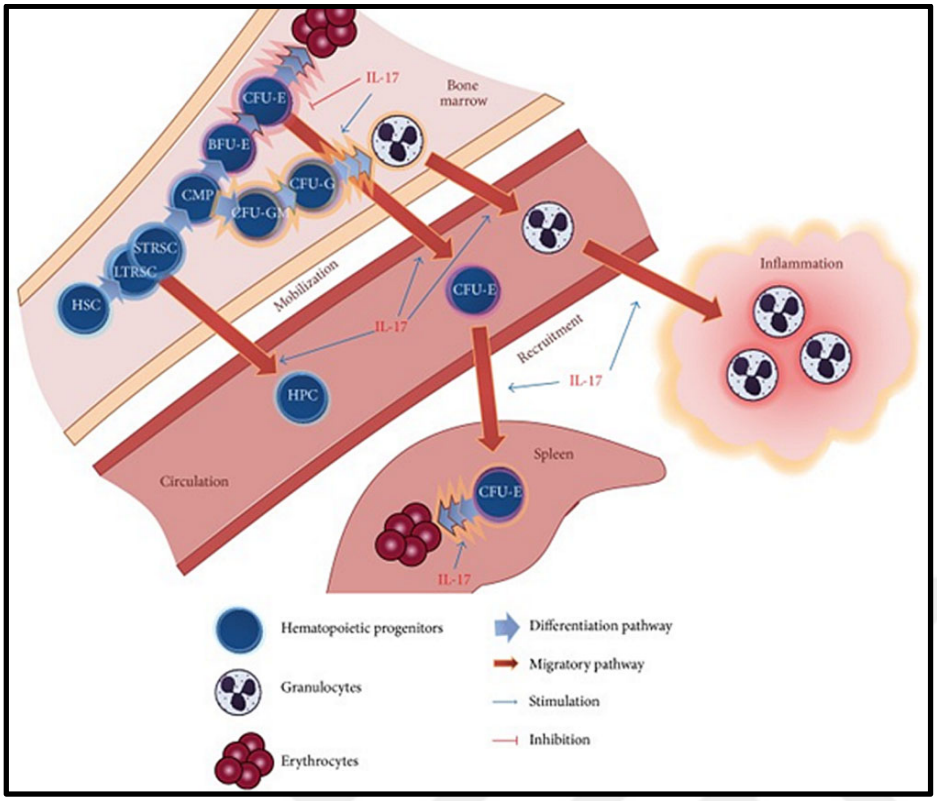
- İnsan PBMC'den elde edilen monositlerden yapışma özelliği ile elde edilen makrofajlar ve insan AT-MKH çok düşük düzeyde İL-15 salgıladıkları, İnsan AT-MKH ve insan PBMC'den elde edilen monositlerden yapışma özelliği ile elde edilen makrofajlar direkt ko-kültüre edildiğinde İL-15 seviyenin değişmediği, transvel ko-kültüründe 1. günde

sıfırlandığı ve MKH medyumu ile muamelede 1. günde değişiklik olmazken 3. günde artış olduğu bulunmuştur (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013).

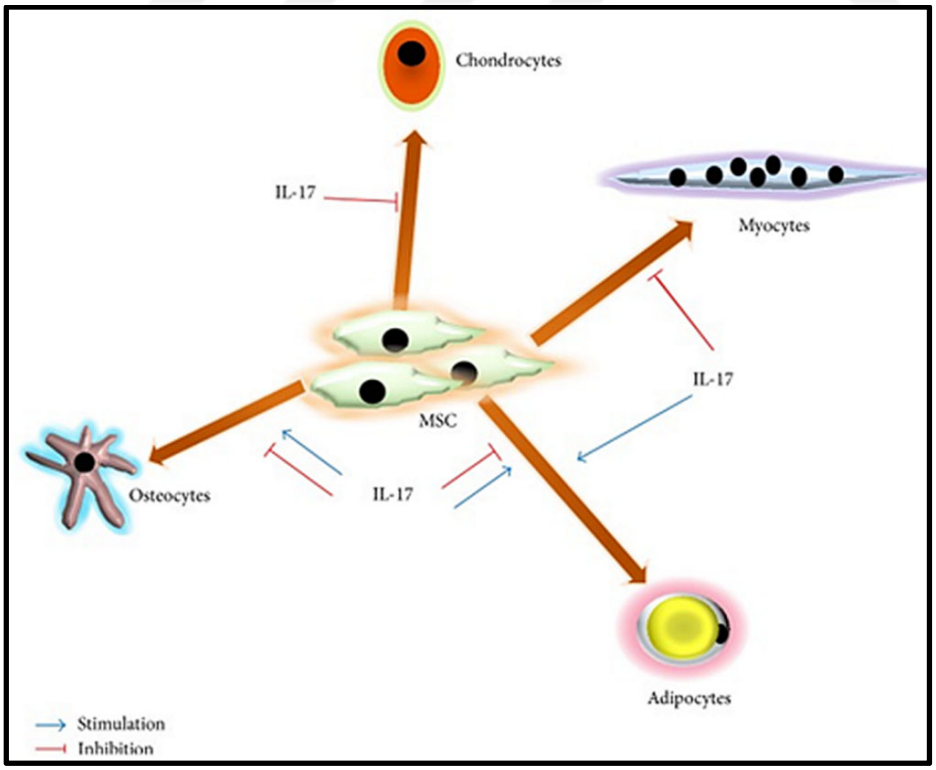
2.26.23. İL-17

İL-17 ailesinin altı sitokinden oluştuğu (İL-17A (İL-17 denildiğinde genelde bu kastedilmektedir), İL-17B, İL-17C, İL-17D, İL-17E (İL-25) ve İL-17F), Th17'lerin İL-17A ve İL-17F'nın ana kaynağını oluşturdukları (Dong, 2011) ama aynı zamanda, γδT lenfositlerinin (B. Martin, Hirota, Cua, Stockinger ve Veldhoen, 2009), NK hücrelerin, NK T hücrelerin, Paneth hücrelerinin İL-17 salgıladıkları (Jin ve Dong, 2013), ayrıca astımda İL-17 kaynağının makrofajlar olduğu (C. Song ve diğerleri, 2008), İL-17A ve İL-17F yangı yeri ve tipine göre yangı başlatıcı cevaba aracılık ettiği (X. O. Yang ve diğerleri, 2008) GM-CSF, İL-3, İL-9, İL-12p70, CCL4/MIP-1β ve CCL5/RANTES gibi moleküllerin salgılanmasına neden olduğu (Barin ve diğerleri, 2012), İL-17'nin bone metabolizması ve hematopoez regüle ederek homeostazda rol oynadığı bulunmuştur (Krstic, Mojsilovic, Jovcic ve Bugarski, 2012).

Mojsilović ve diğerleri (2015) tarafından Resim 2.51'de şematize edildiği gibi Kİ'de HKH'lerden nötrofil oluşumunu ve bunların kana geçmesini sağladığı MKH'ların İL-17Ra yüksek seviyede salgıladıkları (Fossiez ve diğerleri, 1998; Silva ve diğerleri, 2003), MKH'ların İL-17R ait genleri eksprese ettikleri (Silva ve diğerleri, 2003), Mojsilović ve diğerleri (2015) tarafından Resim 2.52'de şematize edildiği gibi İL-17'nin MKH'ların kondrosit ve kas farklılaşmasını inhibe ettiği diğer yönlere farklılaşmasında çift taraflı davrandığı, MKH'ların bir alt grubunun İL-17 salgılayarak otokontrolle MKH'larda NF-κB yolağını aktive ederek TGF-β üretimi baskıladığı ve MKH aracılı immün modülasyonu azalttığı (R. Yang ve diğerleri, 2013) gösterilmiştir.



Resim 2.50. İL-17'nin nötrofil oluşumu üzerine etkisinin mekanizması (Mojsilović ve diğerleri, 2015)



Resim 2.51. İL-17'nin MKH üzerine etkisinin mekanizması (Mojsilović ve diğerleri, 2015)

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan AT-MKH ve insan PBMC'den elde edilen monositlerden yapışma özelliği ile elde edilen makrofajların tek başlarına İL-17 salgıladıkları, direkt ve transvel ko-kültür ortamında İL-17 seviyesinde azalma olduğu, MKH kültür medyumu olan ortamda ise İL-17 seviyesinde değişme olmadığı (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013),

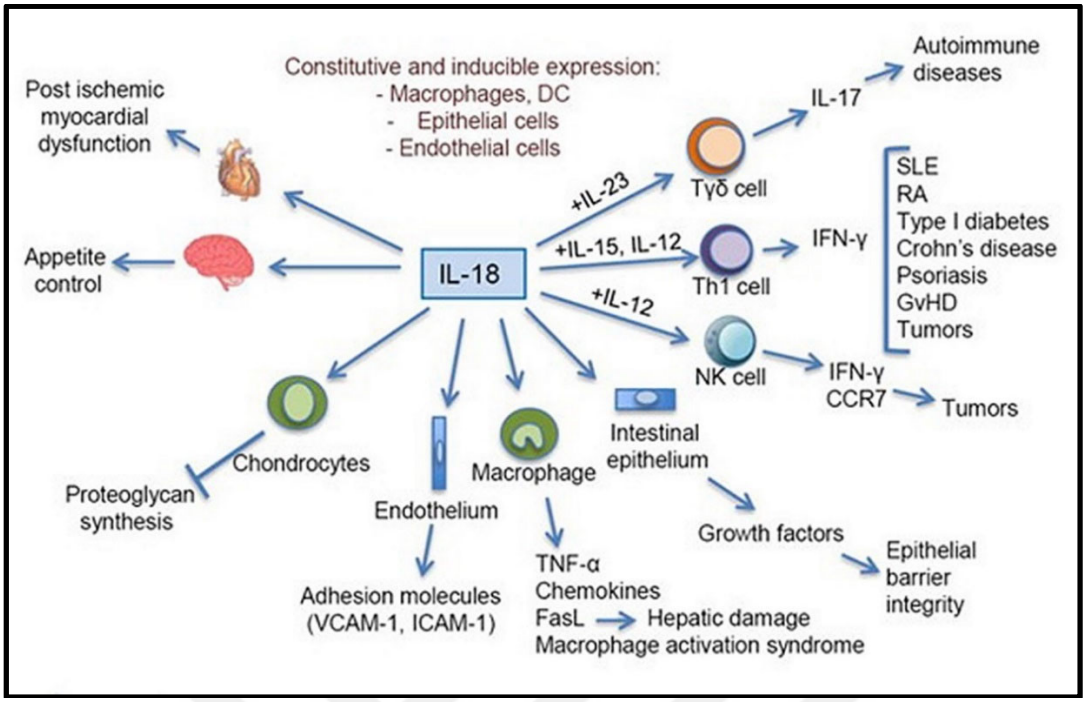
- NR8383'lerin LPS ile muamelesinde İL-17A seviyesinin arttığı, NR8383 ile keme BM-MKH'lar LPS varlığında transvel ile ko-kültüre edildiğinde İL-17A seviyesinin düştüğü (H. J. Zhang ve diğerleri, 2016),

- Farede DSS ile oluşturulan kolit modelinde, DSS içme suyuna katılmasının ve kuyruk veninden fare BM-MKH'lar verilmesinden sonra kolon dokusunda İL-17 mRNA seviyesinin düştüğü (W. Liu ve diğerleri, 2015) bulunmuştur.

2.26.24. İL-18 (İFN-gama uyaran faktör/IFN-gama inducing factor) ve İL-18R

İFN-□ oluşumunu sağlayan faktör olarak da adlandırılan İL-18 (Akira, 2000) inaktif prekürsör olarak DC, epiteliyal ve endoteliyal hücrelerde salgılandığı (Puren, Fantuzzi ve Dinarello, 1999) Garlanda ve diğerleri (2013) tarafından Resim 2.53'de şematize ettiği gibi doğuştan gelen ve kazanılmış İL-18R eksprese eden T hücreleri, NK hücreleri ve makrofajlar gibi immün sistem ve immün siteme ait olmayan diğer hücrelere etki ederek birçok hastalığın patogenezinde oynadığı gösterilmiştir.

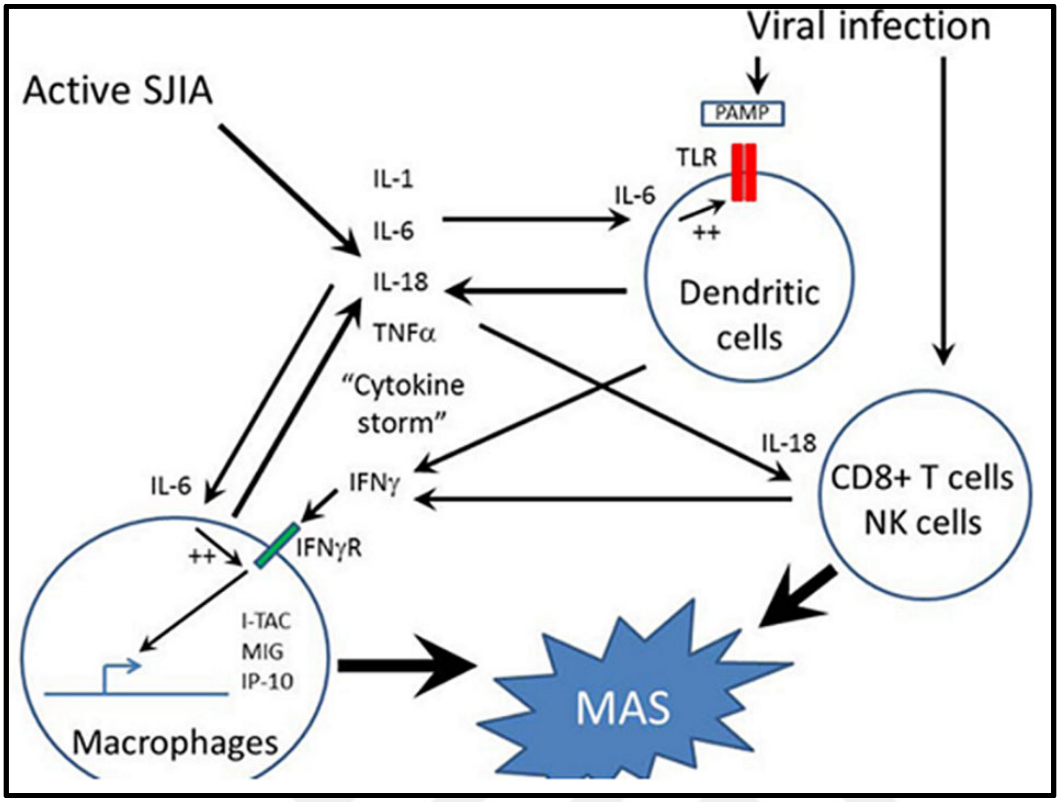
Membrana bağlı olarak monositlerde sentezlendiği (Bellora ve diğerleri, 2012), makrofajlardan hem mikrobiyal uyarım ve endojen İFN-□ yanıt olarak İL-18 salgılandığı hem de İL-18R eksprese edildiği (Bastos ve diğerleri, 2007; Norbert Gerdes ve diğerleri, 2002; Puren ve diğerleri, 1999), İL-18 yanıt olarak makrofajlardan İFN-□ (Schindler, Lutz, Röllinghoff ve Bogdan, 2001) TNF-α, İL-6 ve çeşitli kemokin salgısının, iNOS sentezinin, fagositozun, FASL ekspresyonun ve hücre sitotoksitesinin arttığı, MAS (Makrofajların Aktive Olduğu Sendrom/Macrophage Activation Syndrome) neden olduğu belirtilmektedir (Henan ve diğerleri, 2014).



Resim 2.52. İL-18'in doğal ve kazanılmış immünitedeki rolü (Garlanda ve diğerleri, 2013)

Çocuklarda romatizmal hastalıkların ciddi, potansiyel olarak ölümcül bir komplikasyonu olan MAS, T lenfositlerin ve hemofagositik aktivite gösteren makrofajların (diğer kan hücrelerini tüketen makrofajlar) aşırı aktivasyonu ve genişlemesi sonucu, sitokin fırtınası, sitopeni, karaciğer fonksiyon bozukluğu ve koagülopati ile karakterize ferritin yüksekliği ve fazla miktarda yangının meydana geldiği yangısal sendrom olarak tanımlanmaktadır (Sawhney, Woo ve Murray, 2001). Erişkinlerde virüs bulaşları veya kanserinde patogenezinde rol oynayabileceği öne sürülmektedir (Parikh, Kapoor, Letendre, Kumar ve Wolanskyj, 2014). MAS doku hemofagositik aktiviteye sahip makrofajların veya histiyositlerin bir neden tetiklenmesi ile de oluştuğundan HLH (Reactive Hemophagocytic Lympho Histiocytosis) olarak da adlandırılmaktadır (Athreya, 2002).

SJIA (Sistemik Çocukluk Çağı Nedeni Bilinmeyen Artrit/Systemic Juvenile Idiopathic Arthritis) ve viral bulaşlar sonucu makrofajlar, T hücreleri ve DC'lerden yangı ile ilgili sitokinlerin salgılanmasına neden olduğu birçok araştırmacı tarafından gösterilmiş ve İL-1, İL-6, İL-18, TNF-α ve İFN-□ gibi yangı ile ilgili sitokinlerin aşırı arttığı "sitokin fırtınası" adı verilen bu durum Resim 2.54'de Schulert ve Grom (2014) tarafından şematize edilmiştir.



Resim 2.53. Sitokin fırtınası ve MAS'ın gelişmesinin mekanizması (Schulert ve diğerleri, 2014)

Kontrolsüz aktive olan makrofajlardan salgılanan İL-18'nun MAS patogenezinde rol oynayan diğer sitokinlere göre çok daha fazla miktarda yükseldiği ve bu yüzden İL-18 yüksekliğinin bir belirteç olarak kullanılabileceği öne sürülmektedir (Arango Duque ve diğerleri, 2014; Canna ve diğerleri, 2015; Dinarello, 2007; Maeno ve diğerleri, 2004; Shimizu ve diğerleri, 2015).

Makrofajlardan salgılanan sitokinlerin neden olduğu diğer bir hastalıkta lizozomal depolama hastalığı olan Gaucher Hastalığıdır (GD). GD'de aktivite monosit/makrofaj'ların lizozomlarında glikozerebrosid (glukosilceramid) birikmesine, Gaucher Hücreleri olarak adlandırılan bu hücrelerin makrofaj aktivasyonunu gösteren İL-1α, İL-1β, İL-6, TNF-α, sİL-2R İL-8, İL-10, İL-18, TGF-β, M-CSF, MIP-1 ve CCL18 salgılamasıyla hastaların serumu da bu sitokinlerin arttığı ve hastalığın patogenezinde rol oynadığı öne sürülmektedir (Barak ve diğerleri, 1999; Mucci ve Rozenfeld, 2015). MKH'ların İL-12/İL-18 ile İL-18R üzerinden aktive olan NK hücrelerinden İFN-□ salınımını arttırdığı bulunmuştur (H. Thomas ve diğerleri, 2014). Literatürde MKH'ların İL-18R ekspresyonuna dair veri bulunmamaktadır.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- NR8383'lerin LPS ile muamele edildiğinde İL-18 seviyesi artarken, NR8383 ile keme BM-MKH'lar LPS varlığında transvel ortamında ko-kültüre edildiğinde İL-18 seviyesinin azaldığı gösterilmiştir (H. J. Zhang ve diğerleri, 2016).

2.26.25. İL-23

İL-12 ailesinin bir üyesi olan İL-23'ün aktif M1 makrofajlar ve dendritik hücreler tarafından üretildiği, Naif T lenfositlerin Th17 dönüşmesinde (Itoh ve diğerleri, 1995) makrofajların aktive olmasına (Verreck ve diğerleri, 2004), kronik yangı ve granüloma oluşumunda rol oynadığı öne sürülmektedir (Langrish ve diğerleri, 2004).

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan PBMC'dan elde edilen monositlerden yapışma özelliği ile elde edilen makrofajlar tek başlarına yüksek düzeyde İL-23 salgıladıkları, insan AT-MKH ve insan PBMC'dan elde edilen monositlerden yapışma özelliği ile elde edilen makrofajlar direkt, transvel ve MKH kültür medyumu ile kültür yapıldığında İL-23 seviyesinde düşüme olurken MKH medyumu ile yapılan kültürlerde değişiklik olmadığı (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013),

- İnsan BM-MKH'larının küre şeklinde üretilmesinden sonra elde edilen kültür medyumunun PGE2 bağımlı bir şekilde direkt ko-kültürde LPS ile J774A.1'dan TNF-α, CXCL2, İL-6, İL-12p40, ile birlikte İL-23 salınımını da baskıladığı (Ylostalo ve diğerleri, 2012),

- THP-1 süpernatantı ile insan BM-MKH'ların yapılan kültürlerinde, THP-1'lerin İL-23/İL-23R/β-catenin yolağı üzerinden MKH'ların osteojenik farklılaşmasını artırdığı (Tu ve diğerleri, 2015) gösterilmiştir.

2.26.26. İL-27

İL-12 ailesinin bir üyesi olan İL-27'ın aktive DC ve makrofajlardan salgılandığı, yangıya neden olan sitokinlerin salgılanmasını inhibe ettiği, yangı söndürücü sitokinlerin

salgılanmasına neden olduğu, fagozomlardaki asidifikasyonu engellediği, otofaji formasyonunu baskıladığı (Abdalla, Li, Xie ve Xie, 2015; J. Liu, Guan ve Ma, 2007; Yoshida ve Hunter, 2015), MKH'ların İL-27'yi gen düzeyinde ürettikleri gösterilmiştir (Silva ve diğerleri, 2003).

2.26.27. RANKL

RANKL, tip II membran proteini olarak bilinir ve TNF süper ailesinin bir üyesi olarak tanımlanmaktadır. RANKL ve RANKR'nün T lenfositler ve DC'ler de bulunduğu ve DC'lerin naif T lenfositlerin çoğalmasını uyarmasında ve DC'lerin hayatta kalmayı arttırma kabiliyetinin artmasında rolü olduğu (Leibbrandt ve Penninger, 2009) aynı zamanda monositlerin RANKR eksprese ettikleri ve RANKL/RANKR sinyali üzerinden aktive olduklarında osteoklastlara dönüştükleri gösterilmiştir (Lampiasi, Russo ve Zito, 2016)

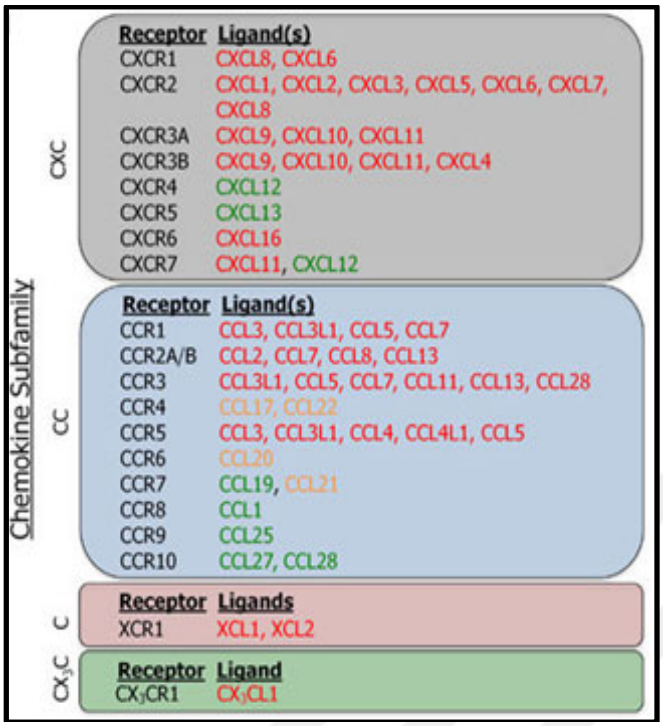
Yapılan ko-kültür çalışmalarında;

- İnsan BM-MKH'ların RANKL salgıladıkları, TPA/THP-1 ile transvel ortamında yapılan ko-kültürlerde RANKL düzeyinin belirgin şekilde değişme olmadığı gösterilmiştir (Valles ve diğerleri, 2015).

2.26.28. Kemokinler ve kemokin reseptörleri

Kemokinler, hücreler tarafından salgılanan ve duyarlı hücrelerde kemotaksi/göçü, hücrelerin yaşamda kalmasını, integrin aktivasyonunu ve adezyonunu uyarma yeteneği olan kemotaktik sitokinlerdir. Kemokine göç etme özelliği olan hücreler kemokinin salgılandığı kaynağa doğru hareket ederler. Özellikle yangı sırasında salgılanan yangı başlatıcı TNF-α, İL-6 ve İL-1β gibi sitokinlere yanıt olarak doğal ve edinsel immün hücrelerden salgılanırlar (Arango Duque ve diğerleri, 2014; Turner ve diğerleri, 2014). Çizelge 2.6'da Comerford ve McColl (2011) şematize ettiği gibi CC, CXC, C ve CX3C kemokinleri olmak üzere dört alt guruba ayrılırlar.

Çizelge 2.5. Kemokin ve kemokin reseptörlerinin gruplandırılması Tarique ve diğerleri (2015)



Yapılan çalışmalarda;

- Virüslerle enfekte edilen THP-1 hücrelerinin nötrofil göçünü sağlayan kemokinler salgıladıkları (Hayashi, Hooper, Okuno, Takada ve Hooks, 2012),

- Bir sistemik sepsis modeli olan CLP'de farelere çekal bağlama ve delinme yapıldıktan sonra fare BM-MKH'lar verildiğinde kandaki monosit sayısının düştüğü ve akciğer dokusundaki makrofaj sayısının arttığı (Bu MKH'ların sepsiste monositlerin dokuya göç ederek doku makrofajlarına (doku MEM) dönüşmesine neden olduğunu düşündürmektedir) aynı zamanda MKH'larında akciğerinde toplandığı ve etrafının makrofajlarla sarılı olduğu (Nemeth ve diğerleri, 2009),

- Pankreatik Kanserin Genetik Mühendislikle Hazırlanan Fare Modelinde CA-MKH'ların tümör hücreleri ile birlikte normal farelere verilmesi sonrasında farenin pankreas doku incelendiğinde CD11b+ CD64+ F4/80+ makrofaj infiltrasyonun arttığı (Mathew ve diğerleri, 2016),

- MKH'lardan salgılanan PGE2 nin farede M2 makrofaj göçünü tetikleyerek yarar iyileşmesine katkıda bulunduğu (Hosono, Isonaka, Kawakami, Narumiya ve Majima, 2016) gösterilmiştir.

MKH, monosit ve makrofajlardan salgılanan kemokin ve eksprese edilen kemokin reseptörlerinin listesi Ek-9 verilmiş olup ve takip eden bölümde detaylı açıklanmıştır (Vanden Berg-Foels, 2014)

2.26.29. CCL1 ve CCR8(CDw198)

CCL1'in monositler, aktive T lenfositler ve mast hücreleri tarafından salgılandığı, monositler, Th2'ler, Treg'ler, CD4 hafıza T lenfositler, olgunlaşmamış B lenfositler ve DC'ler üzerinde bulunan CCR8 olarak adlandırılan bir hücre yüzeyi kemokin reseptörü ile etkileşime girerek kemotaksisine neden olduğu (Bukulmez, Bilgin, Bebek, Caplan ve Jones, 2014; Fleming ve Mosser, 2011; Hoshino ve diğerleri, 2007) ayrıca M2b tipi makrofajlardan da salgılandığı gösterilmiştir (Asai, Nakamura, Kobayashi, Herndon ve Suzuki, 2012).

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- Normal kültür koşullarında fare BM-MKH'ların CCL-1 salgılamadığı ama insan BM-MKH'ların CCL-1 salgıladığı (L. Chen ve diğerleri, 2008),

- İL-1β ile uyarılan insan BM-MKH'ların CCL-1 salgıladıkları (Bukulmez ve diğerleri, 2014),

- DSS ile oluşturulan yangı modelini taklit eden LPS içeren transvel kültür ortamında UC-MKH'lar RAW264.7 ile ko-kültüre edildiğinde MEM plastisitesine ve CCL1 salgılanmasına neden olduğu bulunmuştur (J. Y. Song ve diğerleri, 2017).

2.26.30. CCL2/MCP-1/JE (farede CCL12/MCP-5) ve CCR2 (CD192)

Daha öncede kısaca bahsedildiği gibi LPS uyarımında Kİ'de damar nişinde bulunan MKH ve CAR hücrelerinden salınan CCL2'nin monositler üzerindeki CCR2 bağlanması ile monositlerin Kİ'den ayrıldığı (Papatriantafyllou, 2011) gösterilmiştir. CCR2-/-, ve MYD88-

/- (Myeloid Farklılaşma Birincil Cevap Proteini 88/Myeloid Differentation Primary Response Protein 88) farelerde LPS'e yanıt olarak kan monosit yüzdesinin artmadığı bulunmuştur. Bu bulgu bize monositlerin CCR2(CD192) ve MYD88 bağımlı bir mekanizma ile kana mobilize olduğunu düşündürmektedir (C. Shi ve diğerleri, 2011a).

THP-1'lerin CD192/CCR2 eksprese ettikleri PMA ile 48 saat ile uyarıldıklarında doza bağlı olarak (50 nM (en az eksprese ediliyor) > 10 nM > 1 nM) CD192/CCR2 ekspresyonunu azalttıkları (Phillips, Lutz ve Premack, 2005), sağlıklı vericiden alınan periferik kan monositlerinin CD14+/CCR2+ oldukları (Vestergaard, Just, Baumgartner Nielsen, Thestrup-Pedersen ve Deleuran, 2004) belirtilmektedir.

Kanda dolaşan CCR2 eksprese eden monositlerin yangı alanında bulunan MKH ve makrofajlardan salgılanan CCL2/MCP-1 aracılığı ile de yangı alanına doğru göçü ettiği gösterilmiştir (Daly ve Rollins, 2003; Deshmane ve diğerleri, 2009; Jimenez ve diğerleri, 2010; Tsou ve diğerleri, 2007). C. Shi ve Pamer (2011b) tarafından Çizelge 2.6'de listelendiği gibi CCR2 makrofaj alt kümelerinde farklı düzeyde eksprese edilmektedir.

Çizelge 2.6. Fare ve insan makrofajların yüzey belirteçlerine ve kemokin reseptörlerine göre sınıflandırması C. Shi ve diğerleri (2011b)

	ALT KÜME	BELİRTEÇ	KEMOKİN RESEPTÖRÜ
insanda	Klasik	CD14++CD16-	CCR2yüksek CX3CR1düşük
	Arada olan	CD14++CD16+	CCR2düşük CX3CR1yüksek
	Klasik olmayan	CD14+CD16++	CCR2düşük CX3CR1yüksek
farede	LY6Cyüksek	CD11b+CD115+LY6Cyüksek	CCR2yüksek CX3CR1düşük
	LY6Cdüşük	CD11b+CD115+LY6Cdüşük	CCR2düşük CX3CR1yüksek

LPS uyarımının PMA/THP-1'da da NF-κB transkripsiyon faktörünün aktivasyonuna, birçok yangı sitokinlerinin ve CCL2/MCP-1 salgılanmasına neden olduğu (Wasaporn Chanput,

Mes, Vreeburg, Savelkoul ve Wichers, 2010; Sharif, Bolshakov, Raines, Newham ve Perkins, 2007; Szczepanik, Funes, Petko ve Ringheim, 2001) bulunmuştur.

L. Chen ve diğerleri (2008) tarafından yapılan bir çalışmada normal kültür koşullarında insan ve fare BM-MKH'lardan yüksek seviyede CCL2/MCP-1 salgılandığı, Diğer araştırmacılar tarafından yapılan çalışmada ise insan BM-MKH'ların normal koşullarda CCL2/MCP-1 salgılanmadığı (Kota ve diğerleri, 2014; Valles ve diğerleri, 2015) belirtilmektedir.

MKH'larında CCR2/CD192 eksprese ettiği, buna bağlanan kemoatraktanlara yanıt olarak göç ettiği (Ringe ve diğerleri, 2007; Vanden Berg-Foels, 2014) ve TNF–α uyarımıyla CCR2 ekspresyonunu artırdığı (Ponte ve diğerleri, 2007) bulunmuştur.

Makrofaj ve MKH ilişkisini inceleyen çalışmalarda;

- Diğer araştırmacılar tarafından yapılan çalışmada ise insan BM-MKH'ların normal koşullarda CCL2/MCP-1 salgılanmadığı ve TLR3 ligandı olan poli(I:C) ile CCL2/MCP-1 salınımının artmadığı (Kota ve diğerleri, 2014; Valles ve diğerleri, 2015), yangının immün mekanizmasının anlatıldığı bölümde de değinildiği gibi doku hasarı ve yangı durumunda Kİ damar nişine sistemik dolaşıma karışarak gelen LPS'in burada bulunan CAR ve MKH'lerin TLR4'lerine bağlanarak aktive etmesiyle CCL2/MCP-1 salınarak monositlerin aktive olmasına ve dolaşıma karışmasına neden olduğu (Le Blanc ve diğerleri, 2012),

- İnsan PBMC'den elde edilen monositler insan P-MKH'ler ile GM-CSF içeren M1 farklılaşma medyumunda transvel ortamında ko-kültüre edildiklerinde CCL2/MCP-1 hafif düzeyde arttığı (Abumaree ve diğerleri, 2013),

- TNF-α ve İL1-β gibi makrofajlardan salgılanan yangı ile ilgili sitokinlerle önceden muamele edilen MKH'ların birçok kemotaktik faktöre yanıt verdiği TNF-α'nın insan BM-MKH'larda CCR2(CD192) ekspresyonunu artırdığı (Ponte ve diğerleri, 2007) ve bunun sonucu MKH göçünü etkilediği (J. A. Ankrum ve diğerleri, 2014; Tomchuck ve diğerleri, 2008)

- Normal koşullarda insan BM-MKH'ların az miktarda CCL2/MCP-1 mRNA eksprese ettiği, TPA/THP-1 hücrelerinin yüksek miktarda CCL2/MCP-1 mRNA eksprese ettiği, insan BM-MKH'larla TPA/THP-1 hücrelerinin transvel ortamında yapılan ko-kültürlerinde TPA/THP-1 hücrelerinde CCL2/MCP-1 mRNA seviyesinin düştüğü, insan BM-MKH'larda ise CCL2/MCP-1 mRNA seviyesinin arttığı dolayısıyla kültür medyumundaki artışın BM-MKH kaynaklı olduğu (Valles ve diğerleri, 2015),

- Fare BM-MKH'ların fare Kİ'den elde edilen ve M-CSF ile farklılaştırılan makrofajlar ile transvel ortamında LPS ve İFN- ile uyarılması ile makrofajlardan CCL2/MCP-1 salgılanmasının baskılandığı (Cho ve diğerleri, 2014),

- Fare hava yolu yangı modelinde İFN-γ ile prime MKH'ların CCL2 salgıladıkları ve farenin yangı gelişen akciğerlerine MKH'lar enjekte edildiğinde çevresinde toplanan makrofajların CCR2 ekspresyonun arttığı ve bunların İL-10 salgıladıkları (Takeda ve diğerleri, 2018)

- Fare BM-MKH'ların kültür medyumlarında CCL2 içeren eksozomların bulunduğunu, bu medyumun ve RAW264.7 kullanılarak transvelde yapılan kemotaksis deneyinde kemotaksisine neden olduğu (Shen ve diğerleri, 2016),

- Fare yara iyileşmesi modelinde hasarlı dokulara göç eden fare BM-MKH'ların CCL2/MCP-1 salgılayarak monositleri hasar alanına çektiği (L. Chen ve diğerleri, 2008; Hass ve diğerleri, 2012; Le Blanc ve diğerleri, 2012),

- Doğal tip (wild type) farelere düşük doz LPS verildikten sonra kandaki Ly6Cyüksek monosit yüzdesinin çok arttığı, Kİ'deki monosit oranının azaldığı ve dalaktakinin değişmediği, TLR-/- farelerde ise LPS verildikten sonra kandaki Ly6Cyüksek monosit yüzdesinin değişmediği (Rahmat, Jose, Ramasamy ve Vidyadaran, 2013),

- Fareye periton içine zimozan enjekte edildiği periton içi yangı modelinde insan BM-MKH'ların periton içine enjekte edilmesinden sonra periton sıvısındaki monosit/makrofaj sayısının azaldığı (monosit infiltrasyonundaki azalama peritoneal kavite tek sıra halinde CCL2/MCP-1 salgılayan mezoteliyal hücrelerin MKH'ların

yaptığı immün baskılayıcı etkiden dolayı CCL2/MCP-1 seviyesinin azalmış olabileceğini düşündürmektedir) (H. Choi ve diğerleri, 2011),

- Farede sepsis modeli olan CLP da çekumun bağlanıp delindikten sonra fare BM-MKH'lar IV olarak verilmesini takiben akciğer dokusu ve BAL incelendiğinde, BAL'da CCL2 /MCP-1/JE ve albümin seviyeleri ile akciğer dokusundaki yangı ve apoptotik hücre sayısında azalma olduğu (Bu bize sepsis sonrası meydana gelen akciğer yetmezliğinde MKH'ların fayda sağlayabileceğini düşündürmektedir) (Mei ve diğerleri, 2010),

- Ren ve diğerleri (2012) tarafından yapılan çalışmada farede kendiliğinden oluşan lenfoma modelinde, farenin periferik kanlarında tümöre bağlı olarak TNF-α düzeyinin arttığı, MKH'ların Kİ'den ayrılarak tümör dokusuna yerleşip burada salgılanan TNF-α etkisiyle çok yüksek düzeyde CCL2/MCP-1 ve aynı zamanda diğer CCR2(CD192) ligandı olan CCL7 ve CCL12'yi salgılayan farklı bir karakter kazandığı, bunların tümör dokusundan izole edildikten sonra EL4 ile birlikte immün baskılanmış farelere verildiğinde CD11b+Gr1+ MDSC'nin bir alt grubu olan CD11b+ Ly6C+ monositlerin ve F4/80 makrofajların farenin hem tümör dokusunda hem de periferik kanında arttığı, bu makrofajların tümör büyümesine katkıda bulunan MEM karakterde oldukları, aynı çalışmada CCL2-/- farelerden elde edilen L-MKH'ların EL4 ile birlikte immün baskılanmış farelere verildiğinde tümörde makrofaj infiltrasyonun ve tümör dokusunun büyümesinin azaldığı, dolayısıyla L-MKH'ların CCL2 salgıladığı ve monositlerin CCR2 üzerinden yanıt vererek tümör dokusuna göç ettikleri ve burada MEM dönüşerek tümör büyümesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir.

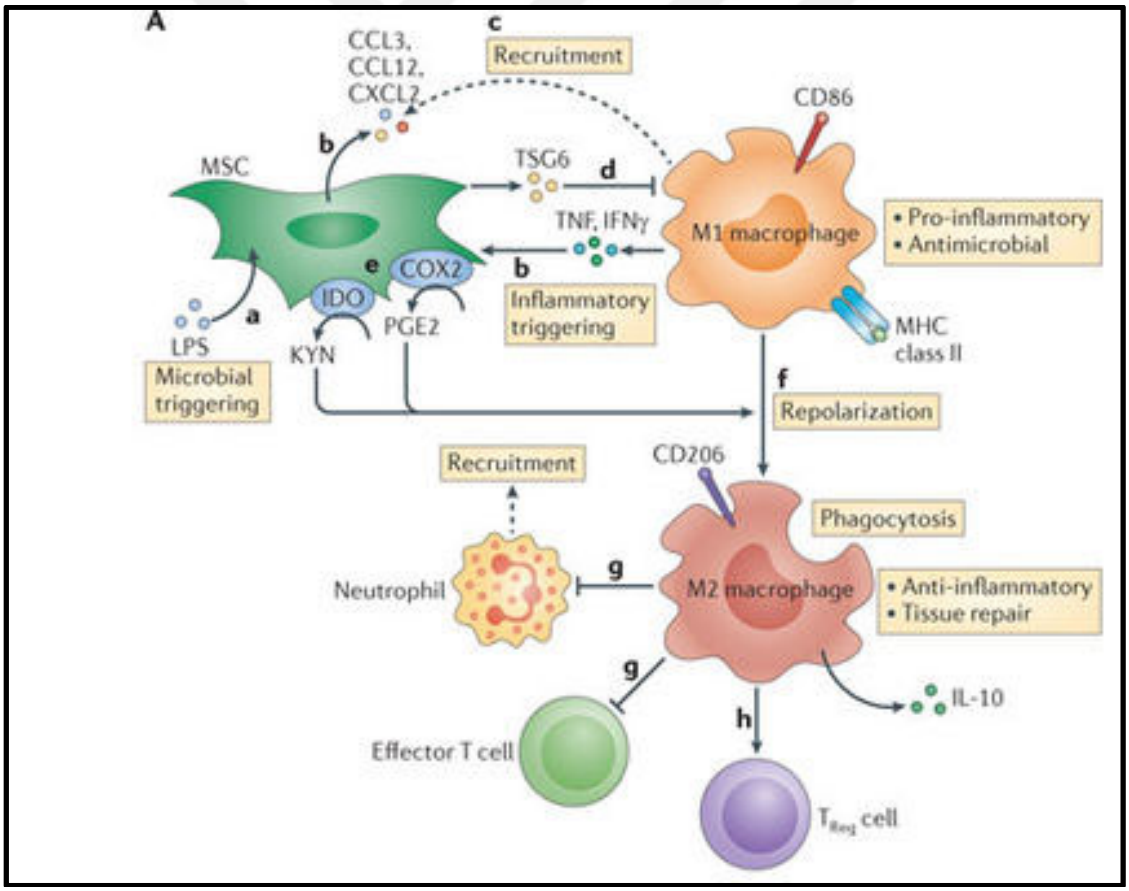
2.26.31. CCL3/MIP-1alfa, CCR1(CD191) ve CCR5(CD195)

CCL3/MIP-1α'nın CCL4/MIP-1β, CCL9/10 MIP-1δ ve CCL15/MIP-1γ den oluşan MIP ailesinin bir üyesi olduğu, bakteriyel endotoksinlerle uyarıldıktan sonra M1 makrofajlar tarafından üretildiği, monositlerin yangı bölgesine gelmesini sağladığı (Dapunt, Maurer, Giese, Gaida ve Hänsch, 2014; H. Takahashi ve diğerleri, 2002), PMA/THP-1'lerin kültürdeki yoğunluğuna bağlı olarak yüksek yoğunluktaki kültürlerde daha fazla salgılandığı (P. B. Aldo, V. Craveiro, S. Guller ve G. Mor, 2013) aynı zamanda HKH'lerin çoğalmasını engelleyerek bir kök hücre inhibitörü olarak da görev yaptığı (Baba ve Mukaida, 2014;

Cook, 1996), CCL3/MIP-1α'ya CCR1(CD191) ve CCR5(CD195) eksprese eden hücrelerin kemotaktik yanıt verdiği bulunmuştur.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- Ortamdaki LPS ve M1 makrofajlardan salınan TNF-α ve İFN-□ ile aktive olan MKH'ların CCL3/MIP-1α salgıladıkları CCL3/MIP-1α, CCL12/MCP-5 ve CXCL2/MIP-2α/GROβ yardımıyla MKH'lara doğru göç eden M1 makrofajların MKH'lardan salgılanan PGE2 ve IDO metabolizma ürünü KYN ile CD206+ İL-10 salgılayan, apopitoz yapan, Treg'lerin olumunu teşvik eden, efektör T lenfositlerini ve nötrofil fonksiyonlarını baskılayan MEM tipine dönüştürdüğü Resim 2.55'de Le Blanc ve diğerleri (2012) tarafından şematize edilmiştir (da Silva Meirelles, Fontes, Covas ve Caplan, 2009; Hass ve diğerleri, 2012).



Resim 2.54. Aktive olan MKH'ların makrofaj plastisitesine etkisinin mekanizması Le Blanc ve diğerleri (2012)

- İnsan PBMC'den elde edilen monositler CCL3/MIP-1α salgılarken, insan P-MKH'ler ile GM-CSF içeren farklılaşma medyumunda transvel ortamında ko-kültüre edildiklerinde CCL3/MIP-1α düzeyinin azaldığı, insan P-MKH'lar ile insan PBMC'den elde edilen monositlerin kültür medyumuyla GM-CSF ve mifepristone eklenmiş halde kültüre edildikten sonra, mifepristone'nun P-MKH'lardan salgılan sıvıda çözünebilen faktörlerin PBMC kaynaklı monositlerden elde edilen makrofajları M2 çevirme kapasitesini bloke ettiği, CCL3/MIP-1α düzeyinin arttığı (bu bulgu bize MKH'ların GC ve PG salgılayarak makrofajlardan CCL3/MIP-1α salgılanmasını baskıladıklarını düşündürmektedir) (Abumaree ve diğerleri, 2013),

- Fare BM-MKH'lar ile fare Kİ elde edilen hücrelerin M-CSF ile makrofaja dönüştürülmesi ile elde edilen makrofajların İFN- ve LPS varlığında transvel ortamında ko-kültüre edilmesi ile makrofajlardan CCL3/MIP-1α seviyesinin azaldığı (Cho ve diğerleri, 2014),

- Kronik GVHD için model olarak oluşturulan fare "Cutaneous Sclerodermatous GVHD"de MKH'ların CD11b+monosit/makrofajlardaki CCR1(CD191) ekspresyonunu ve deri dokusundaki CCL3/MIP-1 α salınımını azalttığı (J.-Y. Lim, Ryu, Lee, Park ve Min, 2017) gösterilmiştir.

2.26.32. CCL4/MIP-1beta ve CCR5 (CD195)

İFN- ile M1 dönüşen makrofajlardan CCL4/MIP-1β'nın salgılandığı, CCR5(CD195) reseptörü eksprese eden monositler, T lenfositleri, DC ve eozinofillerin kemotaktik yanıt verdiği, makrofajlarda bunun yanında İL-1, İL-6 ve TNF-α gibi sitokinlerin salgılanmasına neden olduğu (Chandrasekar, Deobagkar-Lele, Victor ve Nandi, 2013; Menten ve diğerleri, 2002) gösterilmiştir. PMA/THP-1'lerinde kültürde hücre yoğunluğunun artması ile doğru orantılı olarak yüksek yoğunlukta CCL4/MIP-1β'nın salgılanmasının daha fazla olduğu bildirilmektedir (P. B. Aldo ve diğerleri, 2013).

Normal kültür koşullarında fare BM-MKH'ların CCL4/MIP-1β salgılamadıkları ama insan BM-MKH'ların CCL4/MIP-1β salgıladıkları bulunmuştur (L. Chen ve diğerleri, 2008).

2.26.33. CCL5/RANTES, CCR1(CD191), CCR3(CD193) ve CCR5(CD195)

Ana kaynağının CD8+ T lenfositleri olduğu belirtilen CCL5/RANTES'in M1 makrofajlardan da salgılanarak, CCR1(CD191), CCR3(CD193) ve CCR5(CD195) eksprese eden monositler, T lenfositleri, B lenfositleri, NK hücreleri, bazofiller, eozinofiller dendritik hücreler için kemoatraktan olarak görev yaptığı, monositlerin çoğalmasını, M1 plastisitesini, sitokin salgılamasını ve yaşamasını sağladıkları ayrıca M2 makrofajlarında CCL5/RANTES salgıladıkları ve aynı zamanda buna yanıt olarak tümör dokusuna göç ettikleri gösterilmiştir (Arango Duque ve diğerleri, 2014; Pio Conti, Barbacane, Feliciani ve Reale, 2001; Ganju, Brubaker, Chernock, Avraham ve Groopman, 2000; Keophiphath, Rouault, Divoux, Clément ve Lacasa, 2010; Shahrara ve diğerleri, 2006).

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- L. Chen ve diğerleri (2008)'nin yaptığı çalışmada normal kültür koşullarında insan ve fare BM-MKH'ların CCL5/RANTES salgıladıkları,

- Diğer çalışmalarda ise insan BM-MKH'ların normal koşullarda CCL5/RANTES salgılamadığı ama az miktarda CCL5/RANTES mRNA'sı bulundurdukları (Valles ve diğerleri, 2015), MKH'nın İL-1β ve (Carrero ve diğerleri, 2012) TNF-α ile uyarıldıklarında ekspresyonunu belirgin derecede artırdıkları (Ponte ve diğerleri, 2007; Tomchuck ve diğerleri, 2008), CCL5/RANTES'e doğru göç ettikleri,

- TPA/THP-1'lerin yüksek düzeyde CCL5/RANTES salgıladığı, insan BM-MKH'larla TPA/THP-1'lerin transvel ortamında yapılan ko-kültürlerinde TPA/THP-1'lerin CCL5/RANTES mRNA seviyesi azalırken BM-MKH'ların CCL5/RANTES mRNA seviyesini artırdıkları (Valles ve diğerleri, 2015),

- Fare Alzaymır (Alzheimer) modelinde fare BM-MKH'ların CCL5/RANTES salgılayarak fare mikroglialarını aktive ettiği (J. K. Lee, Schuchman, Jin ve Bae, 2012),

- Fare sepsis modeli olan CLP'de çekum bağlanıp delindikten sonra fare BM-MKH'lar IV olarak verildiği çalışmada da ayrıca akciğer dokusu ve BAL incelenmiş, CCL5/RANTES

seviyeleri ile akciğer dokusundaki yangı ve apopitoza giden hücre sayısında azalma olduğu (Mei ve diğerleri, 2010) gösterilmiştir.

2.26.34. CCL7/MCP3, CCR1(CD191), CCR2 (CD192) ve CCR3(CD193),

CCR1(CD191), CCR2(CD192) ve CCR3(CD193) bağlanan CCL7/MCP3'ün makrofajlar tarafından salgılanarak monositlerin kemotaksini sağladığı gösterilmiştir (W. Xuan, Q. Qu, B. Zheng, S. Xiong ve G.-H. Fan, 2015).

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- Normal kültür koşullarında fare BM-MKH'lar CCL7/MCP3 salgılamazken insan BM-MKH'ların salgıladıkları bulunmuştur (L. Chen ve diğerleri, 2008).

2.26.35. CCL8/MCP2 ve CCR2(CD192)

Yangı ortamında makrofajlar tarafından salgılanan CCL8/MCP2 üzerinde CCR2(CD192) bulunan monositler için kemoatraktan olduğu (Asano ve diğerleri, 2015) ve MKH'ların normal kültür koşullarında CCL8/MCP2 salgılamadığı İFN- uyarımı ile salgıladığı bulunmuştur (G. Forte ve diğerleri, 2006).

2.26.36. CCL9/CCL10/MIP-1gama, CCR1(CD191), CCR3(CD193) ve CCR5(CD195)

CCL9/CCL10 MIP-1γ'nın CCL3/MIP-1α, CCL4/MIP-1β ve CCL15/MIP-1δ'dan oluşan MIP ailesinin bir üyesi olduğu, makrofaj, DC ve lenfositler tarafından salgılandığı, yüzeylerinde CCR1(CD191), CCR3(CD193) ve CCR5(CD195) bulunduran lenfosit ve monosit/makrofajların kemotaksisin neden olduğu (Maurer ve Von Stebut, 2004), ayrıca MKH'lardan da salgılandığı ve tümör invazyonunda rol oynadığı bulunmuştur (Swamydas, Ricci, Rego ve Dréau, 2013).

2.26.37. CCL11/eotaksin-1 (eosinophil chemotactic protein-1), CCL24/eotaksin-2, CCL26/ eotaksin-3 ve CCR3 (CD193)

CC kemokinlerinin eotaksin alt ailesi CCL11/eotaksin-1, CCL24/eotaksin-2 ve CCL26/ eotaksin-3'den oluştuğu, CCR3'ü (CD193) eksprese eden başta Th2, eozinofil ve bazofiller için kemoatraktan olduğu, İL-4 ve İL-13 ile M2a makrofajlardan CCL11/eotaksin-1, CCL24/eotaksin-2 ve CCL26/ eotaksin-3 salgılandığı (Mantovani ve diğerleri, 2004; Stubbs, Power ve Patel, 2010). yangı ortamında M1 makrofajların TNF-α ve İL-1 uyarımı ile CCL11/eotaxin-1 ve CCL24/eotaksin-2 salgıladıkları (Diny ve diğerleri, 2016; Matsukura ve diğerleri, 1999), başka bir çalışmada ise aynı zamanda M1 makrofajlar içinde kemoatraktan olduğu bulunmuştur (Wenjuan Xuan ve diğerleri, 2015).

Normal kültür koşullarında fare ve insandan elde edilen BM-MKH'ların CCL11/eotaksin-1 salgıladıkları, CCL24/eotaksin-2, ve CCL26/eotaksin-3 ise sadece insan BM-MKH'larda eksprese edildiği (L. Chen ve diğerleri, 2008), alerjik rinitin fare modelinde tonsil dokusundan elde edilen MKH'ların CCL11/eotaksin-1 ve CCL24/eotaksin-2 salgısını baskılayarak eozinofil göçünü ve alerjik semptomları azalttığı (Samivel, Kim, Chung ve Mo, 2015) ayrıca MKH'nın CCR3 (CD193) eksprese ederek CCL11/eotaksin-1, CCL26/eotaxin-3'e doğru göç ettiği gösterilmiştir.

2.26.38. CCL13/MCP-4, CCR1(CD191), CCR2(CD192) ve CCR3(CD193)

CCL13/MCP-4'ün yangıya bir yanıt olarak epitel ve kas hücreleri tarafından salgılandığı, üzerilerinde CCR1(CD191), CCR2 (CD192) ve CCR3(CD193) taşıyan monosit, DC, T lenfositleri, eozinofil ve bazofiller için kemotaktik bir sitokin olduğu (Mendez-Enriquez ve Garcia-Zepeda, 2013), ayrıca İL-4 aracılığı ile M2a yönünde polarize olan makrofajlardan salgılandığı bulunmuştur (Dawson, Chen ve Urban, 2017).

2.26.39. CCL14 /HCC-1 (hemofiltrate CC chemokine-1) ve CCR5 (CD195)

Normal koşullarda Kİ, dalak ve karaciğerde salgılanan CCL14 /HCC-1'in multiple miyelomalı hastalarda Kİ'den salgılandığı ve kandan monositlerin Kİ'ne göçüne neden olduğu (Y. Li ve diğerleri, 2014), M2a yönünde polarize makrofajlardan da salgılanabileceği (David ve diğerleri, 2011) bulunmuştur.

2.26.40. CCL15/MIP-5/MIP-1delta/leukotactin-1, CCR1 (CD191) ve CCR3 (CD193),

Makrofajlar tarafından salgılanan CCL15/MIP-5/MIP-1δ/leukotactin-1, üzerinde CCR1(CD191) ve CCR3(CD193) monositler, lenfositler ve nötrofiller için bir kemoatraktan olduğu, MKH'larında bu kemokine doğru göç ettiği (Y. Gao ve diğerleri, 2016) aynı zamanda normal kültür ortamında insan BM-MKH tarafından salgılandığı bulunmuştur (L. Chen ve diğerleri, 2008).

2.26.41. CCL16/LEC(karaciğerde salgılanan kemokin/liver expressed chemokine)/MTN-1(monotaktin-1), CCR1(CD191), CCR2(CD192), CCR5 (CD195) ve CCR8

Timus, karaciğer ve dalaktan salgılanan CCL16/LEC/MTN-1 üzerinde CCR1(CD191), CCR2(CD192), CCR5(CD195) ve CCR8 bulunduran monositler, eozinofiller ve lenfositler için kemoatraktan olduğu, yangı durumunda salgısının daha da arttığı, monositleri aktive ederek M1 plastisitesine neden olduğu (Cappello ve diğerleri, 2004) ayrıca İL-10'la farklılaşan M2c tipi makrofajlardan salgılandığı (Labonte, Tosello-Trampont ve Hahn, 2014; Mantovani ve diğerleri, 2004), CCL16'nın MKH üzerinde kemotaktik etkisi olmadığı bulunmuştur (Kalwitz ve diğerleri, 2010).

2.26.42. CCL17/TARC (timus ve aktivasyon düzenlenmiş kemokine/thymus and activation regulated chemokine) ve CCR4 (CD194)

Sürekli olarak timusta üretilen ve CCR4(CD194) eksprese eden T lenfositler için kemotaktik bir sitokin olan CCL17/TARC, ayrıca İL-4 ve İL-13 ile M2a tipine dönüşen makrofajlardan da salgılandığı ve monositlerin, Th2 ve Treg'lerin alerjik yangı bölgesine kemotaksisine neden olduğu (Kobayashi ve diğerleri, 2010; Liddiard ve diğerleri, 2006; Mantovani ve diğerleri, 2004), MKH'ların DC'lerden CCL17 salınımını azaltarak astım modelinde Th2'lerin hava yoluna göçünü baskıladığı (Zeng, Wang, Li, Wang ve Yang, 2015), normal kültür koşullarında insan ve fare BM-MKH'lardan az miktarda salgılandığı (L. Chen ve diğerleri, 2008) ve aynı zamanda CCR4 (CD194) eksprese ederek yangı ortamına göç etikleri bulunmuştur (Lüttichau ve diğerleri, 2005).

2.26.43. CCL18/PARC (akciğer aktivasyon düzenlenmiş kemokine/pulmonary and activation-regulated chemokine)/DC-CK1(DC kemokini-1)/AMAC-1(alternatif makrofaj aktivasyonu ile ilgili CC kemokini-1/alternative macrophage activation-associated CC chemokine-1)/MIP-4

İL-10'la farklılaşan M2c tipi makrofajlardan ve İL-4/İL-13 ile farklılaşan M2a makrofajlardan CCL18/ PARC/DC-CK1/AMAC-1 /MIP-4'in salgılanarak T hücrelerin kemotaksisine neden olduğu (Labonte ve diğerleri, 2014; Mantovani ve diğerleri, 2004), MKH'nın poli(I:C) ile uyarılması sonucu CCL18 (4.6 kat) salgılandığı (Bukulmez ve diğerleri, 2014) bulunmuştur.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan BM-MKH'ların TGF-β salgıladıkları ve insan PBMC'den elde edilen monositleri CD206+ CD163+ İL-10 ve CCL-18 salgılayan MEM plastisitesine neden olduğu, MEM'lerden salınan CCL18'in Treg oluşumunda rol oynadığı gösterilmiştir (Melief ve diğerleri, 2013b).

2.26.44. CCL19/MIP-3beta, CCL21/6Ckine/SLC (ikincil lenfoid doku kemokini/ secondary lymphoid tissue chemokine) ve CCR7(CD197)

CCR7/CD192'nin plastisite göstermemiş ve İL-4 ile M2 yönünde plastisite gösteren PMA/THP-1'lerde düşük düzeyde eksprese edilirken, İFN-γ ve LPS ile M1 yönünde plastisitesi sağlanan PMA/THP-1'lerde yüksek düzeyde eksprese edildiği (Littlefield, Teboul, Voloshyna ve Reiss, 2015), insan PBMN'lerden elde edilen monositlerin CCR7 düşük düzeyde eksprese ettiği (Phillips ve diğerleri, 2005), İFN–γ ve LPS ile M1 yönünde plastisitesi sağlanan makrofajların CCR7 yüzeyde ekspresyonunu artırdığı (W. Xuan, Q. Qu, B. Zheng, S. Xiong ve G. H. Fan, 2015) bulunmuştur.

Hemostatik kemokinler olarak adlandırılan CCL19/MIP-3β ve CCL21/6Ckine/SLC ikincil lenfoid organlarda sürekli salgılandığı, lenfosit trafiğinde önemli bir rol oynadığı (Sallusto, Mackay ve Lanzavecchia, 2000), yangı durumda M1 makrofajlardan salgılanarak CCR7(CD197) eksprese eden monositlerin, T lenfositleri ve B lenfositlerin kemotaksisine neden olduğu (Wenjuan Xuan ve diğerleri, 2015), lenfoid olmayan organlarda patolojik lenfoid dokuların oluşmasına neden olduğu bulunmuştur.

MKH'ların DC'lerde CCR7(CD197) ekspresyonu baskıladığı (English, Barry ve Mahon, 2008), CD34+MKH öncü hücrelerinin (CD34+ mesenchymal progenitor cells) CCR7(CD197) eksprese ettiği ve MKH'ların CCR7(CD197)/CCL19 ve

CCR7(CD197)/CCL21(SLC) aksıyla hasarlanmış dokuya göç ettikleri gösterilmiştir (Hocking, 2015; Lüttichau ve diğerleri, 2005; Vanden Berg-Foels, 2014).

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda; MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda; naif monositlerin CCR7(CD197) eksprese etikleri ve insan BM-MKH'larla transvel ortamında ko-kültür yapıldığında CCR7(CD197) seviyesini artırdıkları, LPS ve İFN- ile M1 yönünde farklılaştırılmış makrofajların CCR7(CD197) mRNA seviyesinin çok fazla arttığı ancak insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiği zaman CCR7 (CD197) mRNA seviyesinin düştüğü, İL-4 ile M2 yönünde farklılaştırılmış makrofajların CCR7(CD197) mRNA seviyesinin M1 yönündekiler kadar olmasa da arttığı, insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiği zaman CCR7(CD197) mRNA seviyesinin biraz daha da arttığı tespit edilmiştir (Vasandan ve diğerleri, 2016).

2.26.45. CCL20/MIP-3alfa ve CCR6

Homeostatik durumda ve yangı ortamında da M1 makrofajlar tarafından salgılandığı ve CCR6 eksprese eden T lenfositleri ve DC için kemoatraktan olarak rol oynadığı (Schutyser, Struyf ve Van Damme, 2003), MKH'ların İL-1β ile uyarılması ile CCL20/MIP-3α salgıladıkları bulunmuştur (Carrero ve diğerleri, 2012).

2.26.46. CCL22/MDC (makrofaj kaynaklı kemokin /macrophage derived chemokine) ve CCR4(CD194)

Makrofajlardan salgılanan CCL22/MDC'nin üzerinde CCR4(CD194) eksprese eden monositler, DC, NK ve T lenfositler için bir kemoatraktan olduğu (Godiska ve diğerleri, 1997; Mantovani, Gray, Van Damme ve Sozzani, 2000) aynı zamanda İL-4 ve İL-13 uyarımı ile M2a yönünde polarize olan makrofajlardan da salgılandığı ve Th2 ve Tregler için kemoatraktan görevi gördüğü (Mantovani ve diğerleri, 2004; Yamashita ve Kuroda, 2002) MKH'ların Kİ'de endotelden geçişini artırdığı (H. Smith, Whittall, Weksler ve Middleton, 2011) gösterilmiştir.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda; MKH'ların SCRG1 (scrapie responsive gene 1) salgıladıkları, rekombinant fare SCRG1 ve LPS ile kültür yapılan

RAW264.7'lerde CCL22/MDC salgılanmasını baskıladığı bulunmuştur (Inoue ve diğerleri, 2017).

2.26.47. CCL25/TECK (timusta salgılanan kemokin/thymus expressed chemokine)/ CCR9(CDw199)

Timusta salgılanan CCL25/TECK'in CCL25/TECK CCR9(CDw199), aksı ile makrofajların, T lenfositlerin ve DC'lerin kemotaksisine neden olduğu, ayrıca yangı ortamında salgısı artan CCL25'in monositlerin M1 plastisitesine neden olduğu (Schmutz ve diğerleri, 2010), bunun dışında MKH'larında CCR9(CDw199) eksprese ettikleri ve timüs ve intestinal organlarda salgılanan CCL25 doğru göç etikleri bulunmuştur (Binger ve diğerleri, 2009).

2.26.48. CCL27/ CTACK (Deriden salgılanan T hücrelerini çeken kemokin/cutaneous T cell attracting chemokine) ve CCR10

CCL27/CTACK başlıca keratinositlerden salgılanarak T lenfositlerin deriye göç etmesini ve T hücre aracılı yangı oluşmasında (Kakinuma ve diğerleri, 2003), buna ek olarak CCL27/CCR10 aksının MKH'ların yangı durumunda deri dokusuna göçünde rol oynadığı bulunmuştur (Alexeev, Donahue, Uitto ve Igoucheva, 2013; Hocking, 2015).

2.26.49. CXCL1/GRO-alfa (büyüme ile alakalı onkogen-alfa/growth related oncogene alfa)/KC (keratinosit kaynaklı kemoatraktan/keratinocyte derived chemoattractant)/NAP-3 (nötrofil aktive eden protein-3/neurophil activating protein-3)/MSGA-alfa (melanoma büyümesini uyaran-alfa/melanoma growth stimulating activity-alfa), CXCL2/MIP-2/GRO-beta ve CXCL3/MIP-2/GRO3/GRO-gamma

GRO ailesi kemokinleri olarak da adlandırılan GRO-α (CXCL1), GRO-β (CXCL2) ve GRO-γ (CXCL3) yangı durumunda M1 makrofajlardan salgılandığı, monositleri yangı alanına çektiği, onların orda damar endoteline bağlanarak kalmasını sağladığı (D. F. Smith, Galkina, Ley ve Huo, 2005), nötrofil göçünü sağladığı (Dapunt ve diğerleri, 2014; De Filippo ve diğerleri, 2013), M2a yönünde polarize makrofajların CXCR2 reseptörü eksprese etikleri (De Plaen ve diğerleri, 2006) bulunmuştur.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- Normal kültür koşullarında insan BM-MKH'ların az fare BM-MKH'ların ise yüksek miktarda CXCL1/GRO-α salgıladıkları (L. Chen ve diğerleri, 2008),

- MKH'nın İL-1β ile uyarımın hem CXCL1/GRO-α hem de CXCL3/MIP-2β/GRO-γ salgılanmasına neden olduğu (Carrero ve diğerleri, 2012),

- MKH'nın LPS ile uyarımın CXCL1/GRO-α salgılamasına neden olduğu (Bukulmez ve diğerleri, 2014),

- Kota ve diğerleri (2014)'nin yaptığı çalışmada inaktive insan BM-MKH'ların CXCL1/GRO-α salgılamadıkları, LPS ile TLR4 üzerinden yapılan uyarımda CXCL1/GRO-α salınımını belirgin düzeyde artırdığı, TLR3 agonisti olan poli(I:C) ile uyarımda ise CXCL1/GRO-α salınımının olmadığı, Kendiliğinden lenfoma geliştiren farelerde periferik kanlarında tümöre bağlı olarak TNF-α düzeyinin arttığı, MKH'ların Kİ'den ayrılarak tümör dokusuna yerleşip burada salgılanan TNF-α etkisiyle CXCL-1/ GROα /KC salgılayan L-MKH'lara dönüştüğü (Ren ve diğerleri, 2012),

- Hasarlı dokulara göç eden MKH'ların, CXCL2/MIP2α/GROβ gibi faktörleri salarak M1 makrofajlar ile CXCR2 vasıtasıyla etkileştikleri (L. Chen ve diğerleri, 2008; Hass ve diğerleri, 2012; Le Blanc ve diğerleri, 2012).

- İnsan UC-MKH'larında CXCL2/MIP-2α/GRO-β salgıladıkları (Hsieh ve diğerleri, 2013),

- Farede sepsis modeli olan CLP'de çekumun bağlanması ve delinmesinden sonra fare BM-MKH'lar IV olarak verildikten sonra akciğer dokusu ve BAL incelenmiş, BAL'da CXCL1/ GROα/KC seviyeleri ile akciğer dokusundaki yangı ve apopitoza giden hücre sayısında azalma olduğu aynı çalışmada fareye IV olarak fare BM-MKH verildiği zaman plazmasında CXCL1/GROα/ KC düzeyinin düştüğü (Mei ve diğerleri, 2010) gösterilmiştir.

2.26.50. CXCL5/ENA-78/LIX

Epitel hücrelerinden yangı ortamında salgılanan CXCL5/ENA-78/LIX'in lökositlerin yangı alanına gelmesini sağlayan bir kemokine olduğu (Jeyaseelan ve diğerleri, 2005; C. H. Kim, 2004) LPS ve İFN-γ, aktivasyonu vasıtasıyla makrofajların CXCL5/ENA-78/LIX salgılayarak T lenfositleri ve NK hücrelerinin yangı alanına göçünü sağladıkları (Mantovani ve diğerleri, 2004) buna zıt olarak M2 makrofajları, CXCL5 salınımını inhibe etikleri (Q. Li ve Verma, 2002), İL-1β (Carrero ve diğerleri, 2012) ve LPS ile uyarılan MKH'lardan CXCL5 salgılandığı gösterilmiştir (Bukulmez ve diğerleri, 2014). MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- Keme arter stenoz modelinde keme BM-MKH'ların IV olarak verilmesi sonucu serumda CXCL5/ENA-78/LIX seviyesinin düştüğü (A. Forte ve diğerleri, 2012),

- Fare Kİ'den elde edilen hücrelerin M-CSF ile makrofaja dönüştürülmesi ile elde edilen fare BM-DM'ların fare BM-MKH'lar ile İFN-□ ve LPS varlığında transvel ortamında ko-kültüre edilmesi ile CXCL5/ENA-78/LIX seviyesinin arttığı (Cho ve diğerleri, 2014). (CCL5 seviyesinin MKH'larda artıp makrofajlarda azaldığı belirtilmişti bu nedenle CCL5 benzeri bir kemokin olduğu için transvel ko-kültüründeki bu artış muhtemelen MKH kaynaklı olabilir) bulunmuştur.

2.26.51. CXCL6/GCP-2 (granülosit kemotaktik protein/granulocyte chemotactic protein-2), CXCR1(CD181) ve CXCR2(CD182)

Yangı durumunda epitel hücrelerinin, makrofajların ve MKH'ların CXCL6/GCP-2 salgıladıkları, reseptörünün CXCR1 (CD181) ve CXCR2 (CD182) olduğu, nötrofiller için kemoatraktan olduğu, damar oluşumunu desteklediği ve Gr (+)ve Gr (-) bakterilere karşı anti bakteriyel etki gösterdiği bulunmuştur (Carrero ve diğerleri, 2012; Linge ve diğerleri, 2008).

2.26.52. CXCL7/ NAP-2 ve CXCR7(GPR159)

CXCL7/NAP-2'nin damar yaralanmasının meydana geldiği doku zedelenmesi ve yangı durumunda trombositlerden ilk salgılanan kemokin olduğu ve CXCR7(GPR159) eksprese eden nötrofil kemotaksisine neden olduğu (B. I. Schenk, Petersen, Flad ve Brandt, 2002) yangı durumunda M1 makrofajlardan da salgılandığı (Yeo ve diğerleri, 2016),

CCXCL7/NAP2'nin MKH'ların kemotaksisine neden olduğu bulunmuştur (Almeida ve diğerleri, 2016; Kalwitz ve diğerleri, 2009).

2.26.53. CXCL8/İL-8 ve CXCR7 (GPR159)

- Bulaş alanında aktive olan M1 makrofajlardan ilk salınan ve CXCR7(GPR159) eksprese eden nötrofiller başta olmak üzere granülositlerin (eozinofil ve bazofil) yangı alanına göçünü sağlayan yangı oluşturan bir kemokin olduğu (Arango Duque ve diğerleri, 2014; Marriott ve diğerleri, 2012), aynı zamanda M1 makrofajlarında buna kemotaktik yanıt verdikleri (Wenjuan Xuan ve diğerleri, 2015), izole edilmiş insan periferal kan monositlerinin düşük bazal seviyelerde İL-8 salgıladıkları ve monositlerin M-CSF veya MCP-1 ile inkübasyonu ile İL-8 mRNA'sının ve protein ekspresyonunun arttığı (Varney ve diğerleri, 2002) LPS uyarımının PMA/THP-1'de NF-κB transkripsiyon faktörünün aktivasyonuna ve birçok yangı sitokinlerinin (İL-1α, İL-1β, TNF-α, İL-8, İL-6 ve CCL2/MCP-1) salgılanmasına neden olduğu (Wasaporn Chanput ve diğerleri, 2010; Sharif ve diğerleri, 2007; Szczepanik ve diğerleri, 2001) bulunmuştur.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan BM-MKH'ların yangı alanında salgılanan İL-8/CXCL8 cevap olarak yangı alanına göç ettikleri (J. A. Ankrum ve diğerleri, 2014) ve VGEF salgılayarak yeni damar oluşumunu sağladıkları (Hou ve diğerleri, 2014), MKH'ların, LPS, İFN-□ ve TNF-α uyarımı ile İL-8/CXCL8 salgıladıkları (Bukulmez ve diğerleri, 2014; Hemeda ve diğerleri, 2010),

- Kota ve diğerleri (2014)'nin yaptığı çalışmada inaktive insan BM-MKH'ların İL-8 /CXCL8 salgılamadıkları, LPS ile TLR4 üzerinden yapılan uyarımda İL-8/CXCL8 salınımını belirgin düzeyde artırdığı, TLR3 agonisti olan poli(I:C) ile uyarımda ise İL-8 /CXCL8 salınımının olmadığı,

- MKH'ların tümör dokusunda İL-8/CXCL8 salgılayarak anjiyogenezi ve tümör büyümesini sağladıkları (J. Wang ve diğerleri, 2015), ve aynı zamanda AML'de MIF seviyesinin çok yükseldiği ve MIF ile uyarılan MKH'ların İL-8/CXCL8 salgılayarak AML blastlarını kendiliğinden oluşan ve kemoterapi ile oluşan apopitozdan koruyarak yaşamasını sağladıkları (Abdul-Aziz ve diğerleri, 2017),

- İnsan PBMC'den elde edilen monositlerden elde edilen makrofajlar tek başlarına çok yüksek düzeyde İL-8/CXCL8 salgıladıkları, insan AT-MKH'lar ve insan PBMC'dan elde edilen makrofajlar direkt ko-kültür ortamında, transvel ko-kültür ortamında ve MKH kültür medyumu olan ortamda İL-8/CXCL8 salgısında belirgin azalma olduğu (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013),

- İnsan PBMC'den üretilen makrofajlardan üretilen İL-8/CXCL8, CCL2 ve CCL5 gibi çözünür moleküller ile etkilenen MKH'lar makrofajla uyarılan insan BM-MKH olarak adlandırılmış ve bunların İL-6, CCL5 ve CXCL10 salgıladıkları ve makrofajlar tarafından üretilen kemotaktik faktörlere doğru hareketlerinin arttığı (Bu çalışma, makrofajların MKH biyolojisi üzerindeki etkisini tanımlamaya çalışmış ve iltihaplanma ve doku hasarında MKH'lerin göç potansiyeli hakkında fikir vermektedir) (J. A. Ankrum ve diğerleri, 2014).

- Fareye periton içine zimozan enjekte edildiği periton içi yangı modelinde kültür ortamında insan mezoteliyal hücreleri ile RAW 264.7 ile zimozan varlığında kültüre edildiklerinde İL-8/CXCL8 düzeyinin çok arttığı ve ortama rhTSG-6 (MKH'lardan salgılandığı gösterilen) konduğunda bu düzeyin azaldığı bulunmuştur (H. Choi ve diğerleri, 2011).

2.26.54. CXCL9/MIG (İFN-gama tarafından uyarılan monokin/monokine induced by IFN-gama), CXCL10/IP10 (İFN-gama tarafından oluşturulan protein/IFN-gama inducible protein-10) ve CXCR3 (CD183)

LPS ve İFN-γ aktivasyonu sonrasında M1 plastisite gösteren makrofaj ve T lenfositlerden salgılanan CXCL9/MIG ve CXCL10/IP10'nın T lenfositlerin kemotaksisine neden olduğu (Corbera-Bellalta ve diğerleri, 2016; Dufour ve diğerleri, 2002; Kastenmüller ve diğerleri,

2013; Mantovani ve diğerleri, 2004; Rosenblum ve diğerleri, 2010), monositler içinde kemoatraktan olduğu (Wenjuan Xuan ve diğerleri, 2015) bulunmuştur.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- Normal kültür koşullarında fare BM-MKH'ların CXCL9/CXCL10 salgılamadıkları ama insan BM-MKH'ların düşük düzeyde salgıladığı (L. Chen ve diğerleri, 2008),

- Doku hasarını takiben, sitokinler (İL-1β) ve TLR agonistleri gibi yangı düzenleyiciler MKH'leri CXCL9 ve CXCL10 gibi çeşitli kemokin ligandlarını ortama salmaya teşvik ettikleri bunun sonucunda da lenfositlerin yangı bölgesine göç ettikleri (Carrero ve diğerleri, 2012; Kyurkchiev ve diğerleri, 2014),

- L-MKH'ların yüksek düzeyde CXCL-10/IP10 salgıladıkları (Ren ve diğerleri, 2012),

- İnsan PMNC'den elde edilen makrofajların kültür medyumu ile kültüre edilen insan BM-MKH'ların yangı ile alakalı "Makrofajlar Alakalı MKH" tipe dönüşerek İL-6 ve CXCL10 salgıladıkları (Anton, Banerjee ve Glod, 2012) bulunmuştur.

2.26.55. CXCL11/i-TAC (İFN-gama tarafından oluşturulan T lenfosit-alfa kemoatraktan/INF inducible T-cell-alfa chemoattractant)/IP-9 (interferon tarafından oluşturulan protein-9/interferon-inducible protein 9) ve CXCR3 (CD183)

CXCL11/i-TAC/IP-9 makrofajlardan salınarak CXCR3 (CD183) eksprese eden T lenfositler için bir kemoatraktan olduğu (Cole ve diğerleri, 1998), MKH'ların İL-1β ile uyarılması ile CXCL11/i-TAC/IP-9 salgıladıkları (Carrero ve diğerleri, 2012) aynı zamanda ona doğru göç etikleri bulunmuştur (Kalwitz ve diğerleri, 2010).

2.26.56. CXCL12 / SDF-1, CXCR4(CD184) ve CXCR7(GPR159)

Yangı durumunda trombositlerden ve monosit/makrofajlardan salgılanan CXCL12/SDF-1'in CXCR4(CD184) ve CXCR7(GPR159) üzerinden monositlerin yangı alanına göç etmesini, yaşamlarını sürdürmesini, CD163(+) ve T hücrelerini uyarmayan makrofaj fenotipine ve foam hücrelerine farklılaşmasını sağladığı (Chatterjee ve diğerleri, 2015;

Sánchez-Martín ve diğerleri, 2011), ayrıca T lenfositler ve MKH'lar için kemoatraktan olduğu (Hocking, 2015) gösterilmiştir.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- Normal kültür koşullarında fare BM-MKH'larının CXCL12/SDF-1 salgılamamakla birlikte insan BM-MKH'larının CXCL12/SDF-1 salgıladıkları (L. Chen ve diğerleri, 2008)

- MKH'ların tümör dokusunda CXCL12/SDF-1 salgılayarak tümör dokusunu büyüme ve yaşamasını desteklediği (Balkwill, Capasso ve Hagemann, 2012; Melzer, Yang ve Hass, 2016),

- Kİ'de makrofajlar MKH'lardan CXCL12/SDF-1 salgılanmasını sağlayarak HKH hareket kazanmasını ve kana geçmesini sağladıkları bulunmuştur (Ehninger ve diğerleri, 2011).

2.26.57. CXCL13/BLC (B lenfosit kemoatraktanı/B lymphocyte chemoattractant) ve CXCR5 (CD185)

CXCL13/BLC ve CXCR5(CD185) aksı B lenfositlerin germinal merkezlere gitmesini sağladığı, yangı ortamında ise makrofajların salgıladığı ve lenfoid neogenezinde rol oynadığı (Carlsen, Baekkevold, Morton, Haraldsen ve Brandtzaeg, 2004) ayrıca M2c makrofajlardan da salgılandığı (Kobayashi ve diğerleri, 2010), normal kültür koşullarında fare BM-MKH'ların CXCL13/BLC salgılamadıkları ama insan BM-MKH'ların çok az miktarda salgıladıkları (L. Chen ve diğerleri, 2008), MKH'ların CXCR5(CD185) eksprese etikleri (Lüttichau ve diğerleri, 2005; Weeks ve diğerleri, 2012), (Weeks ve diğerleri, 2012) bulunmuştur.

2.26.58. CXCL16 ve CXCR6(CD186)

CXCL16'nın reseptörü olan CXCR6(CD186)'nın germinal merkezden salgılanarak T hücrelerinin gelmesini sağladığı, yangı anında monositlerinde bu kemokine cevap verdiği (Liping Zhang ve diğerleri, 2009) ve aynı zamanda makrofajlardan da salgıladığı (Van Der Voort ve diğerleri, 2005), M2d/TAM yönünde plastisite gösteren makrofajlar tarafından da

salgılandığı (Duluc ve diğerleri, 2007; Rőszer, 2015), CXCL16'nın MHK'ların endotelden geçişini artırdığı (H. Smith ve diğerleri, 2011), tümör dokusundan da salgılandığı ve MKH'ların tümör dokusuna göçünü sağladığı bulunmuştur (Chaturvedi, Gilkes, Takano ve Semenza, 2014).

2.26.59. CX3CL1 /fraktalkin ve CX3CR1

Primer olarak endotel hücrelerinin TNF-α, İFN-γ ve İL-1 gibi yangı ile ilgili sitokinler tarafından uyarıldığı zaman salınan CX3CL1/fraktalkin'in iki formunun olduğu çözünen formunun monosit, NK hücreler ve T lenfositleri için kemotaktik aktiviteye sahipken membrana bağlı formu integrinden bağımsız lökosit yapışmasını desteklediği (Jones, Beamer ve Ahmed, 2010), apoptotik lenfositlerden serbest bırakıldığı ve monositlerin kemotaksisine neden olduğu (Truman ve diğerleri, 2008), MKH'ların İL-1β ile uyarılması ile CX3CL1 salgıladıkları bulunmuştur (Carrero ve diğerleri, 2012).

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- N9 tek başına çok az düzeyde CX3CR1 mRNA eksprese ettiği, İFN- ve TLR9 ligandı CpG ile ayrı ayrı aktive edilen N9'un fare BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiğinde CX3CR1 mRNA seviyesinin düştüğü, LPS ile aktive edilen N9'un tek başına çok az düzeyde CX3CR1 mRNA eksprese ettiği, bu makrofajların fare BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiğinde MKH'ların CX3CL1 salgıladıkları ve N9'dan yüksek düzeyde CX3CR1 mRNA eksprese ettiği gösterilmiştir (Giunti ve diğerleri, 2012).

2.27. Farklılaşma Faktörleri

2.27.1. M-CSF, G-CSF ve GM-CSF

Kİ'de başlıca osteoblastlardan salgılanan M-CSF HKH'lerden normal vücut dengesi sırasında monosit oluşumunu sağlayan bir sitokin olduğu, aynı zamanda endotel hücreleri, fibroblast ve makrofajlardan da salgılandığı, monositlerin çoğalması, farklılaşması ve aktivasyonunda rol oynadığı, GM-CSF ise immün uyarım karşısında T lenfositler, makrofajlar, endotel hücreleri ve fibroblastlardan salgılanan ve granulositlerin, makrofaj ve

dendritik hücrelerin oluşumunu sağlayan makrofajların aktivasyonuna katkıda bulunan bir sitokin olduğu gösterilmiştir (Fixe ve Praloran, 1998; Rapoport, Abboud ve DiPersio, 1992; Yufang Shi ve diğerleri, 2006; Ushach ve Zlotnik, 2016). GM-CSF ayrıca klinikte HKH'lerin Kİ'den mobilizasyonu içinde kullanılmaktadır (Arellano ve Lonial, 2008).

Normal kültür koşullarında fare BM-MKH'lar M-CSF salgılamazken insan BM-MKH'ların salgıladıkları, aynı zamanda hem insan hem fare BM-MKH'ların G-CSF ve GM-CSF salgıladıkları (L. Chen ve diğerleri, 2008), İL-1α ile uyarılan insan BM-MKH'ların G-CSF ve GM-CSF mRNA düzeylerini artırdıkları ama M-CSF mRNA düzeylerinin değişmediği (Majumdar ve diğerleri, 2000) belirtilmektedir.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan P-MKH'ların M-CSF salgıladıkları, insan PBMC'den elde edilen monositlerle GM-CSF içeren M1 polarizasyon medyumu ile transvel ortamında yapılan kültürlerde P-MKH'ların M-CSF salgılarının daha da arttığı (Abumaree ve diğerleri, 2013),

- Normal kültür koşullarında insan BM-MKH'ların az ve TPA/THP-1'lerin yüksek düzeyde M-CSF salgıladıkları ve her ikisinin de GM-CSF salgılamadıkları, TPA /THP-1 ile insan BM-MKH'larla transvel ortamında yapılan ko-kültürlerde M-CSF düzeyinin azaldığı ve az miktarda GM-CSF salgılanmaya başladığı (Valles ve diğerleri, 2015),

- NR8383'lerin LPS ile muamelesi ile az miktarda M-CSF salgıladığı, keme BM-MKH'lar LPS varlığında transvel ile ko-kültür yapıldığı zaman M-CSF seviyesinde artış (H. J. Zhang ve diğerleri, 2016),

- Pankreatik kanserin genetik mühendislikle hazırlanan fare modelinde CA-MKH'larda M-CSF ve GM-CSF seviyesinin arttığı (Mathew ve diğerleri, 2016) bulunmuştur.

2.28. Büyüme Faktörleri

2.28.1. IGF-1

İnsüline yapı olarak benzeyen bir hormon olan IGF-1'in apoptotik hücrelerin varlığında makrofajlardan salgıladığı ve bunların fagositozla temizlenmesini sağladığı (C. Z. Han ve diğerleri, 2016) ve İL-4 ve İL-13'ün IGF-1 salgılanmasını artırdığı (Wynes ve Riches, 2003) bulunmuştur.

Normal kültür koşullarında fare BM-MKH'lar IGF-1 salgılamazken insan BM-MKH'ların salgıladıkları (L. Chen ve diğerleri, 2008), TNF-α ile prime edilen MKH'ların IGF-1 gibi büyüme faktörleri salgılayarak doku iyileşmesine katkıda bulunabileceği (Crisostomo ve diğerleri, 2008), MKH'lardan salgılanan IGF-1 kemik yapılanmasına pozitif katkı sağladığı (Granero□Moltó ve diğerleri, 2011) ve kök hücrelerin çoğalmasını, kendilerini yenilemesini ve farklılaşmasını desteklediği (Youssef, Aboalola ve Han, 2017) gösterilmiştir.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- N9'un IGF-1 salgıladığı, LPS ile aktive edildiğinde bu seviyenin düştüğü ama LPS ile aktive edilen N9'un fare BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiğinde IGF-1 seviyesinin arttığı (Giunti ve diğerleri, 2012),

- TLR9 ligandı CpG ile aktive edilen N9 fare BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiğinde IGF-1 mRNA seviyesinin düştüğü gösterilmiştir (Giunti ve diğerleri, 2012).

2.28.2. HGF

HGF'un hücre çoğalması, yaşamının devamı ve hareketiyle ilgili bir hormon olduğu (G. Forte ve diğerleri, 2006; S. Ma ve diğerleri, 2014), epitel hücreleri, endotel hücreleri, kök hücreler ve B lenfositler üzerine etki ettiği (Ishikawa ve diğerleri, 2012; Skibinski, 2003; Skibinski, Skibinska ve James, 2001; Yi Yang ve diğerleri, 2015), yara iyileşmesi sırasında makrofajlardan HGF salgılandığı ve epitel dokusunun iyileşmesine katkıda bulunduğu (D'angelo ve diğerleri, 2013), makrofajların endotoxin ve İL-1β ile aktive edildiklerinde ise HGF reseptör ekspresyonunu artırdıkları ve cevap olarak hareket edip ve aktive oldukları (Galimi ve diğerleri, 2001), normal kültür koşullarında fare BM-MKH'lar HGF salgılamazken insan BM-MKH'ların yüksek düzeyde salgıladıkları (L. Chen ve diğerleri,

2008), TNF-α ile prime edilen insan BM-MKH'ların HGF salgılayarak doku iyileşmesine katkıda bulunabileceği (Crisostomo ve diğerleri, 2008) bulunmuştur.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan BM-MKH'lerden HGF'ün salgılandığı ve rhHGF içeren medyumla insan PBMC'den elde edilen monositler ko-kültüre edildiğinde İL-10 salgılayan immün düzenleyici tipe dönüştürdüğü (P. M. Chen ve diğerleri, 2014; Rutella ve diğerleri, 2006),

- İnsan PBMC'den elde edilen makrofajların HGF-1 salgıladıkları, insan AT-MKH'lar ve insan PBMC'den elde edilen makrofajlar direkt, transvel ve MKH kültür medyumu ile kültüre edildiklerinde HGF'de azalma gösterilmiştir (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013).

2.28.3. FGF

FGF'in makrofajlar tarafından salgılandığı fibroblast ve endotel hücresi büyümesini uyardığı (Henke ve diğerleri, 1993), T lenfositleri uyardığı (Byrd ve diğerleri, 2003) lökositlerin yangı alanına göçüne katkıda bulunduğu (Zittermann ve Issekutz, 2006), normal kültür koşullarında fare BM-MKH'lar FGF salgılamazken insan BM-MKH'ların salgıladıkları (L. Chen ve diğerleri, 2008; S. Ma ve diğerleri, 2014), FGF'ün MKH'ların üç germ line'nına farklılaşmasında rolü olduğu (Ng ve diğerleri, 2008), TNF-α ile prime edilen MKH'ların FGF salgılayarak doku iyileşmesine katkıda bulunabileceği (Crisostomo ve diğerleri, 2008) gösterilmiştir.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan PBMC'den elde edilen makrofajların tek başlarına FGF salgıladıkları, insan AT-MKH'lar ve insan PBMC'den elde edilen makrofajlar direkt, transvel ve MKH kültür medyumuyla kültür edildiği zaman FGF seviyesinde azalma gösterilmiştir (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013).

2.28.4. PDGF

PDGF'in trombositlerden salgılanan bir faktör olduğu, gastrulasyonda kraniyal ve kardiyak sinir hücresi, gonadlar, akciğer, bağırsak, cilt, CNS ve iskelet gelişiminde PDGF-Rα sinyalinin, kan damarı oluşumu ve erken hematopoez sırasında da PDGF-Rβ sinyallinin rollü olduğu (Kohler ve Lipton, 1974), PDGF-Rδ'nin monosit hareketini artırdığı (Uutela ve diğerleri, 2004), İFN-□'nın monositlerde PDGF-R ekspresyonunu artırdığı (Morelli ve diğerleri, 2006) bulunmuştur.

MKH'nın VGEF uyarımı ile PDGF-R'ü eksprese ettiği bununda MKH'nın göçünde, çoğalmasında (Ball, Shuttleworth ve Kielty, 2007) ve farklılaşmasında (Tokunaga ve diğerleri, 2008) rol oynadığı, normal kültür koşullarında fare BM-MKH'lar PDGF salgılamazken insan BM-MKH'ların salgıladıkları (L. Chen ve diğerleri, 2008) gösterilmiştir.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan PBMC'den elde edilen makrofajlar tek başlarına PDGF salgılarken, insan AT-MKH'lar ve insan PBMC'den elde edilen makrofajlar direkt, transvel ve MKH medyumu ile kültür yapıldığında PDGF seviyesinde azalma gösterilmiştir (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013).

2.28.5. VEGF

VEGF normal yeni damar oluşumunda ve patolojik anjiogenezde etkili olan bir molekül olduğu (Sene, Chin-Yee ve Apte, 2015), M1 ve TAM'lardan salgılandığı (Arango Duque ve diğerleri, 2014; Benoit ve diğerleri, 2008; David ve diğerleri, 2011; Mantovani ve diğerleri, 2013; Martinez ve diğerleri, 2014; Rőszer, 2015), İL-10'un, LPS/CGS21680 (adenosin A2A reseptör agonisti) tarafından M1 yönünde plastisitesi sağlanan Kİ kaynaklı makrofajlardan salgılanan VEGF'yi inhibe ettiğini, ancak PGE2 ile M2 yönünde plastisitesi sağlanan Kİ kaynaklı makrofajlardan VEGF üretimini engellemediği bulunmuştur (W.-K. Wu, Llewellyn, Bates, Nicholson ve Dick, 2010).

Kendiliğinden lenfoma geliştiren fare tümör modelinde (Ren ve diğerleri, 2012) ve akut akciğer zedelenmesi fare modelinde (Yi Yang ve diğerleri, 2016), tümör dokusundan ve

zedelenmiş dokulardan elde edilen MKH'lardan VGEF salgısının arttığı bunun tümör oluşumu ve doku iyileşmesi/hastalığın tedavisinde rol oynadığı gösterilmiştir (Ren ve diğerleri, 2012; Yi Yang ve diğerleri, 2016).

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- Normal kültür koşullarında hem fare hem de insan BM-MKH'lardan yüksek düzeyde VGEF salgılandığı (L. Chen ve diğerleri, 2008; S. Ma ve diğerleri, 2014),

- TNF-α ile prime edilen MKH'ların VEGF salgıladığı (Crisostomo ve diğerleri, 2008),

- İnsan PBMC'den elde edilen makrofajlar normal koşullarda VGEF salgılamadıkları ama insan AT-MKH'ların VGEF salgıladıkları, insan AT-MKH'lar ve insan PBMC'den elde edilen makrofajların ise direkt ko-kültür ortamında 1. günde VGEF salgısının arttığı ve transvel ko-kültür ortamında 1. günde VGEF salgısının azaldığı (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013),

- LPS ve İFN- ile M1 yönünde plastisitesi sağlanmış PMA/THP-1'ler insan Kİ-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiği zaman VEGF salınımı belirgin düzeyde artmakta olduğu (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- TPA/THP-1'lerin iki ve üç boyutlu transvel ortamında insan BM-MKH ile ko-kültüre edildiklerinde VEGF salınımı belirgin düzeyde artmakta olduğu (Valles ve diğerleri, 2015) bulunmuştur.

2.28.6. Ang (Angiopoetin)

Ang'nin yara iyileşmesinde, tümör dokusunda ve tümörle ilişkili olmayan birçok hastalıkta damar endotel hücrelerine etki ederek normal ve patolojik durumda angiogenesin oluşumunu sağlayan ve damar endotelinin geçirgenliğini azaltan (Zacharek ve diğerleri, 2007), bir büyüme faktörü olmasının yanında, ondan daha önce VEGF ile birlikte endotel hücrelerinden yangı sitokinlerinin salgılanmasında rol oynadığı (Aplin, Gelati, Fogel, Carnevale ve Nicosia, 2006) monosit ve makrofajlardan Ang salgıladıkları hem otokrin hem

de diğer hücrelerden salınan Ang'nin etkisiyle yangı tipte M1 plastisitesini ve yangı sitokini olan TNF-α salgılamasını sağladığı (N. E. Hubbard, Lim, Mukutmoni, Cai ve Erickson, 2005; Seok ve diğerleri, 2013) ve aynı zamanda alveolar epitel hücrelerinin protein geçirgenliğini azalttığı bulunmuştur (Fang, Neyrinck, Matthay ve Lee, 2010).

Ang'nin MKH'ları hipoksi ile uyarılan apopitozdan koruduğu (X. B. Liu ve diğerleri, 2008), yaşam süresini uzattığı, normal kültür koşullarında fare BM-MKH'ların Ang salgılamadıkları ama insan BM-MKH'ların yüksek düzeyde Ang salgıladıkları gösterilmiştir (L. Chen ve diğerleri, 2008; S. Ma ve diğerleri, 2014). MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda, İnsan AT-MKH'lar ve insan PBMC'den elde edilen monositlerden yapışma özelliği ile elde edilen makrofajlar tek başlarına yüksek düzeyde Ang salgıladıkları, direkt, transvel ve MKH kültür medyumu olan ortamda Ang düzeyinde azalma bulunmuştur (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013).

2.28.7. MFG-E8 (süt yağı globülini/milk fat globule)-E8)/laktadherin

İmmün hücrelerden salgılanan, dokunun yenilenmesinde, apoptotik hücreler yapışarak onların fagositozunda ve anjiogenezde rol oynadığı gösterilen membranla alakalı salgılanan bir glikoprotein olan MFG-E8/lactadherinin (Sugano ve diğerleri, 2011), makrofajlardan da salgılandığı (Matsuda ve diğerleri, 2011), fare tümör dokusunda MKH'lardan salgılanan MFG-E8'in damar oluşumunda ve makrofajların M2 yönünde plastisitesinde katkıda bulunabileceği belirtilmektedir (Yamada ve diğerleri, 2016).

2.29. HLA/MHC

İnsanda HLA molekülü 6. kromozomun kısa kolu üzerinde HLA gene kompleksi tarafından kodlanmaktadır. HLA gen kompleksinin üç bölümden oluştuğu HLA gen kompleksinin sınıf-I bölümünün genlerinin MIC-A, HLA-A,B,C,E,F ve G molekülünü kodladığı, HLA gen kompleksinin sınıf-II bölümünün genlerinin DP, DQ, DR, DM ve DO molekülünü kodladığı, HLA gen kompleksinin sınıf-III bölümün genlerinin ise HLA gen kompleksi sınıf-I ve sınıf-II arasında yer alıp MIC-B TNF-α, TNF-β (LT-β ve LT-β), HSPA, C2, BF, C4A ve C4b kodladığı bulunmuştur. Bazı araştırmacılar HLA gen kompleksi sınıf-III bölümünü sınıf-III ve sınıf –IV olarak ikiye ayırmaktadır (da Costa Lima-Junior ve Pratt-Riccio, 2016; Gruen ve Weissman, 2001).

MHC molekülü bütün vertebralılarda bulunur ve insanda bunun karşılığı HLA olarak adlandırılır.

MHC gen kompleksinin sınıf-I ve Sınıf-II genlerinin kodladığı, MHC sınıf-I ve sınıf-II hücre yüzeyi proteinlerinin, antijen bağlanma bölgesinde (Antigen Binding Groove) peptit parçacıklarına bağlanarak bunları hücre yüzeyinde uygun T lenfositlerine sunmakla görevli olduğu, MHC sınıf-I hücre yüzeyi proteinlerinin tüm çekirdekli somatik hücrelerde bulunduğu hücre içinde (kanser hücresi, virüsle enfekte hücre ve diğer yollarla hücrenin zedelendiği durumlar) üretilen endojen peptidleri CD8 T lenfositlerine ve NK hücrelerine sunduğu ve bunun sunan hücreyi öldürdüğü, MHC sınıf-II hücre yüzeyi proteinlerinin APC'lerde (Antijen Sunan Hücreler/Antigen Presenting Cell) bulunduğu, hücre dışındaki antijenlerin hücre içine alındıktan sonra onlardan oluşan peptid fragmanlarına bağlandığı ve bunu hücre yüzeyine taşıyarak CD4 T lenfositlerine sunduğu ve edinilmiş immün cevabın oluşmasına yardımcı olduğu, MHC gen kompleksi sınıf-III genlerini tarafından kodlanan sitokin ve komplemanlarında immün sistem üzerinde önemli rol oynadığı bulunmuştur (da Costa Lima-Junior ve diğerleri, 2016; Goldberg ve Rizzo, 2015; X. C. Li ve Raghavan, 2010).

MKH'ların normal koşullarda MHC sınıf-I moleküllerini eksprese ettikleri halde MHC sınıf-II molekülleri eksprese etmedikleri (S. A. Jacobs ve diğerleri, 2013; Ryan ve diğerleri, 2005) ancak MKH'ların İFN-γ ile uyarıldıklarında MHC sınıf-I ekspresyonunu artırdığı MHC sınıf-II ekspresyonunu da indüklediği T lenfositlerine antijen sunabilmesine neden olduğu gösterilmiştir (Chan ve diğerleri, 2006; Khatibi ve diğerleri, 2015; Mauro Krampera ve diğerleri, 2006; Le Blanc ve diğerleri, 2003; Romieu-Mourez ve diğerleri, 2007; Stagg ve diğerleri, 2006; William, Pendleton, Beyer, Egalka ve Guinan, 2003) gösterilmiştir.

2.29.1. MHC sınıf-I (HLA- A, B, C)

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- Monositik THP-1'lerin HLA-ABC eksprese ettikleri ve bunların insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde HLA-ABC eksprese etmeye devam ettikleri, PMA/THP-1'lerin HLA-ABC eksprese ettikleri ve insan BM-MKH'lar ile transvel

ortamında kültüre edildiklerinde HLA-ABC eksprese etmeye devam ettikleri, PMA /THP-1'lerin LPS ve İFN-γ ile M1 plastisitesi sağlandıktan sonra HLA-ABC eksprese ettikleri ve bunların insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde HLA-ABC ekspresyon seviyesinde düşme olduğu bulunmuştur (Vasandan ve diğerleri, 2016).

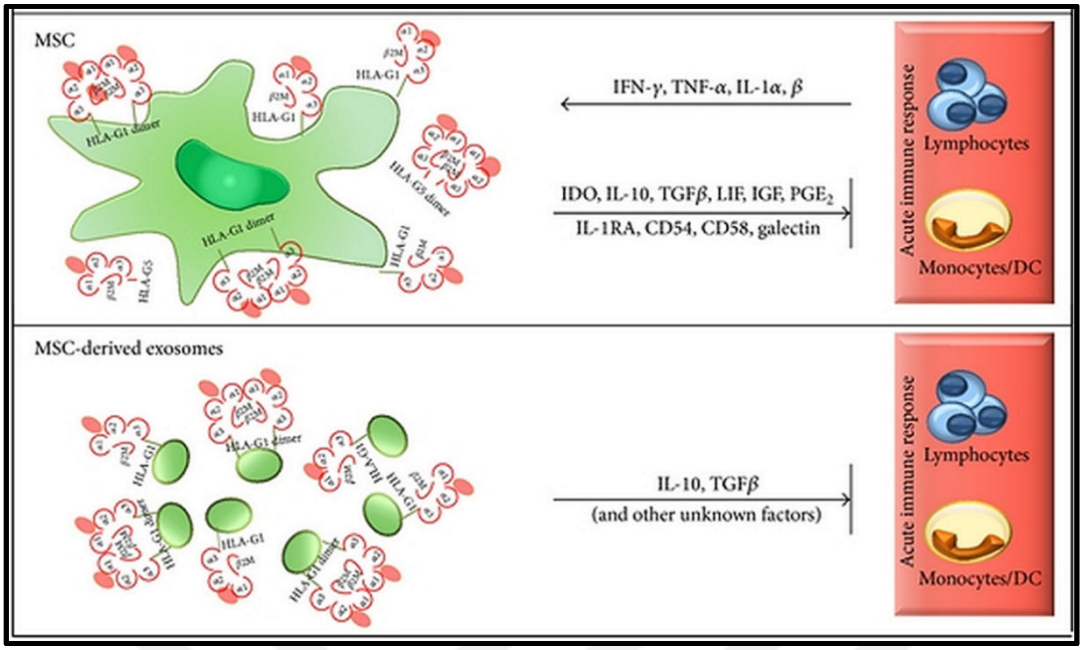
2.29.2. Serbest HLA-G ve membrana bağlı HLAG (klasik olmayan HLA sınıf-I molekülü)

HLA-G gebelikte plasentada villüsun dışındaki (ekstravillöz) trofoblast hücrelerinin yüzeyinde eksprese edildiği, gebelikte anne-fetüs arasında immünotoleransta rol oynadığı (Hunt, Langat, McIntire ve Morales, 2006; Rebmann ve diğerleri, 2014), makrofajların plasentadaki ekstravillöz trofoblastlar üzerindeki HLA-G molekülüyle etkileşime geçmesinin makrofajların efektör fonksiyonlarını baskıladığı (Ayesha Shakhawat ve diğerleri, 2010), tümör mikro ortamında hücresel bileşenlere özellikle MDSC ve TAM'lara etki ederek tümörün gelişmesini ve ilerlemesini, anjiyogenezisin artmasını ve anti-tümör bağışıklığının bastırılmasında rol aldığını, TAM'lar çevreleyen bağışıklık hücrelerini modüle etmek için HLA-G ve inhibitör reseptörlerini kullandıkları belirtilmektedir (Marchesi ve diğerleri, 2013).

HLA-G'nin sadece hücrelerin yüzeyinde membrana bağlı bir molekül olarak değil aynı zamanda vücut sıvılarında çözünen bir molekül olarak da bulunduğu (Pistoia, Morandi, Wang ve Ferrone, 2007) MKH'ların HLA-G ile NK fonksiyonunu inhibe edebildiği ve allojenik T hücre yanıtını baskıladığı (Chapel ve diğerleri, 2006; Nasef ve diğerleri, 2007; Selmani ve diğerleri, 2008) gösterilmiştir.

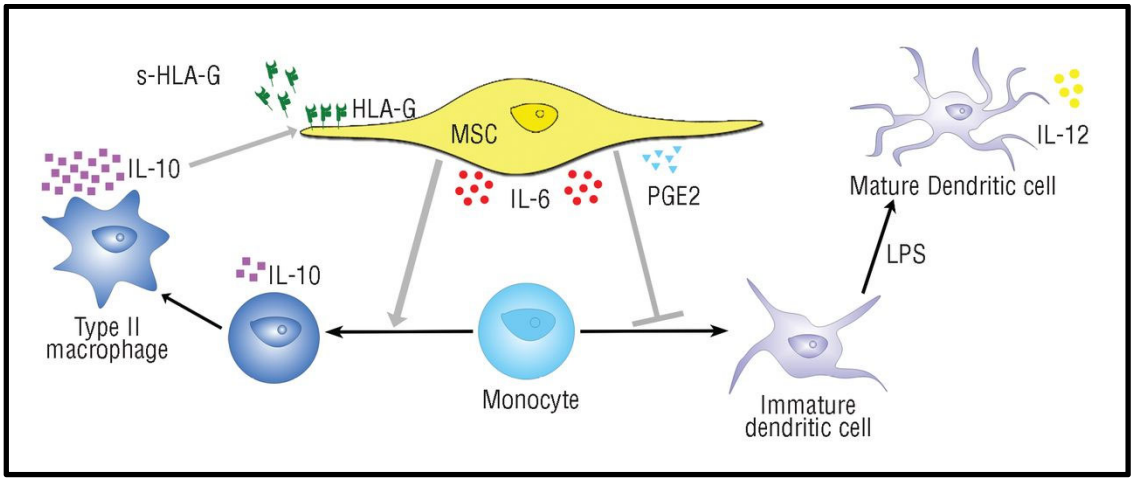
MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- Rebmann ve diğerleri (2014) tarafından Resim 2.56'da şematize edildiği gibi İFN-□, TNF-α, İL-1α ve İL-1β'nın (English ve diğerleri, 2007; X.-D. Liu ve diğerleri, 2014; Sheng ve diğerleri, 2008) etkisiyle MKH'lardan membrana bağlı ve suda çözünebilen HLAG üretildiği ve MKH'lardan salgılanan IDO ve TGF-β gibi birçok immün baskılayıcı molekül aracılığı ile monositleri/DC'leri baskıladığı,



Resim 2.55. MKH'lardan HLA-G'nin salgılanmasına etkili olan faktörler ve eksozomlar içinde salınan HLA-G'nin diğer immün moleküllerle birlikte immün hücrelere etkisinin mekanizması (Rebmann ve diğerleri, 2014)

- Melief ve diğerleri (2013a) tarafından Resim 2.57'de şematize edildiği gibi insan PBMC'den elde edilen monositler ve insan BM-MKH'larının kullanıldığı çalışmada, M2 tip makrofajlardan salgılanan İL-10'un MKH'larda membrana bağlı ve suda eriyebilen HLAG molekülünün ve İL-6 ile PGE salgısını artırdığı, PGE'nin monositlerden immatür DC oluşumunu ve İL-6'nında monositlerden İL-10 salınımını arttırdığı,



Resim 2.56. İL-10 salgılayan makrofajların MKH'lar da HLAG ekspresyonunu arttırışı (Melief ve diğerleri, 2013a)

- İnsan UC-MKH'ların HLAG eksprese ettikleri bunun ekspresyonun İFN-γ ile daha da arttığı, UC-MKH'nın insan PBMC'ler ile transvel ortamında ko-kültüre edildiğinde makrofajlardan İL-6, TNF-α, ve VEGF-α üretimini azalttığı (Ding ve diğerleri, 2016; Rizzo ve diğerleri, 2008) bulunmuştur.

2.29.3. MHC sınıf-II (HLA-DP, DR, DQ)

MKH'ların normal koşullarda MHC sınıf-I moleküllerini eksprese ettikleri halde MHC sınıf-II molekülleri eksprese etmedikleri (S. A. Jacobs ve diğerleri, 2013; Ryan ve diğerleri, 2005), ancak MKH'ların İFN- ile uyarıldıklarında MHC sınıf-I ekspresyonunu artırdığı MHC sınıf-II ekspresyonunu da indüklediğine ve bu MKH'ların makrofajların MEM tipine plastisitesinde rol oynadığından (Bartholomew ve diğerleri, 2002; Chan ve diğerleri, 2006; Mauro Krampera ve diğerleri, 2006; William ve diğerleri, 2003) yukarda değinilmişti. İnsan UC-MKH'ların damar endotel hücrelerinde MHC sınıf-II molekülünün ekspresyonunu baskıladıkları da bulunmuştur (Qiu ve diğerleri, 2014).

MHC sınıf-II hücre yüzeyi proteinlerinin APC'de bulunduğu, hücre dışındaki antijenlerin hücre içine alındıktan sonra onlardan oluşan peptid fragmanlarına bağlandığı ve bunu hücre yüzeyine taşıyarak CD4 T lenfositlerine sunduğu ve edinilmiş immün cevabın oluşmasına yardımcı olduğuna yukarıda (da Costa Lima-Junior ve diğerleri, 2016; Goldberg ve diğerleri, 2015; X. C. Li ve diğerleri, 2010), İL-13'nun makrofajlar üzerine etki ederek MHC sınıf-II ekspresyonunu arttırdığına İL-13 konusunda (Wynn, 2003) ve İFN- makrofajları uyararak onlarda MHC sınıf-II ekspresyonu arttırarak onlarda M1 yönünde plastisiteye neden olarak İFN- konusunda bahsedilmişti (Darwich ve diğerleri, 2009; Herbst ve diğerleri, 2011; John ve diğerleri, 2016; Schoenborn ve diğerleri, 2007). İnsan PBMC'dan elde edilen makrofajların HLA-DR eksprese ettikleri gösterilmiştir.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan PBMC'dan elde edilen makrofajların P-MKH'larla transvelde (hücreler arası direkt kontak (ICpMSC (Intracellular Direct Contact)), transvelde sıvıda çözünebilen faktörler (SFpMSC (Soluble Factor)) GMCSF içeren medyumla ve P-MKH'ların GM-CSF içeren kültür medyumu ile (kültür medyum (CMpMSC (Conditioned Medium)) kültüre

edildiklerinde, makrofajlarda HLA-DR ekspresyonun arttığı (Abumaree ve diğerleri, 2013),

- Monositik THP-1'lerin ve bunlar insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde HLA-DR eksprese etmedikleri, PMA/THP-1'lerin ve bunlar insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde HLA-DR eksprese etmedikleri, PMA/THP-1'lerin LPS ve İFN-γ ile M1 polarizasyonundan sonra HLA-DR yüksek düzeyde eksprese ettikleri ve bunlar insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde HLA-DR eksprese etmeye devam etmekle birlikte ekspresyon seviyesinde düşme olduğu (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- Farelerdeki deri yangı modelinde farelerin vücuduna cam silindirler yerleştirildikten sonra fare BM-MKH'ları verildiğinde yangı alanına göç eden makrofajların sayısının arttığı bunların MHC sınıf-II düşük düzeyde eksprese ettikleri (Maggini ve diğerleri, 2010),

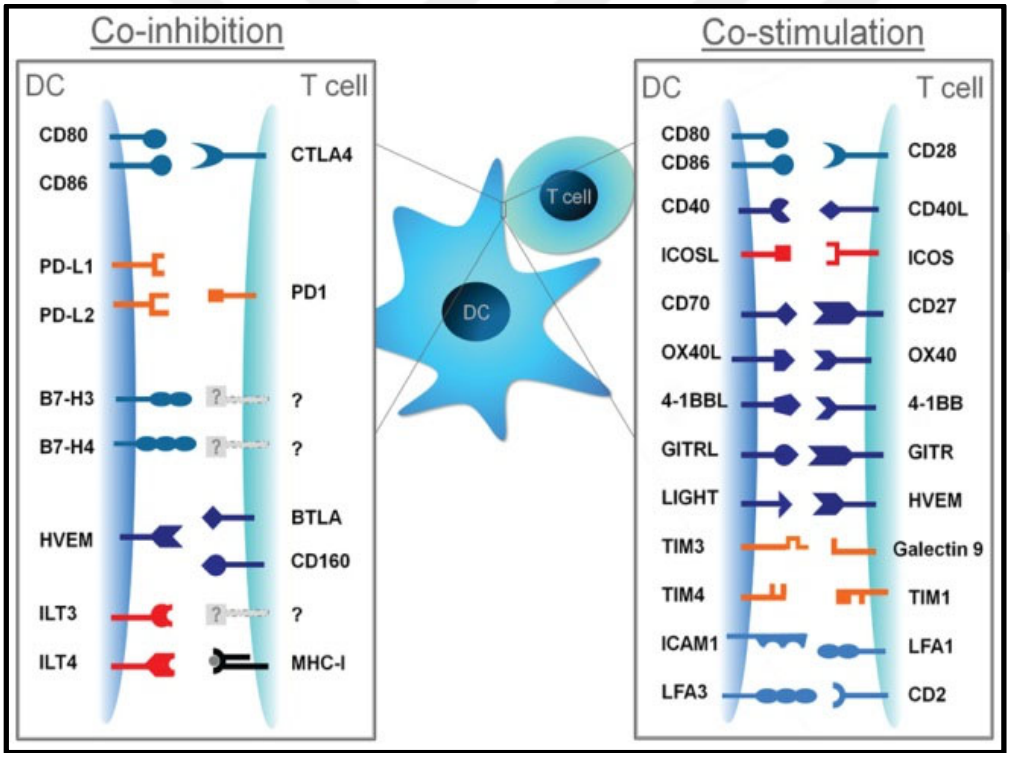
- Kornea transplantasyonu ve deneysel otoimmün üveit fare modelinde (Mouse Model Of Experimental Autoimmune Uveitis (EAU)) IV olarak enjekte edilen insan BM-MKH'ların farelerin akciğerlerinde monosit/makrofajların TSG-6 bağımlı bir mekanizma ile yüksek düzeyde MHC sınıf-II, B220, CD11b eksprese eden ve İL-10 salgılayan ve Treg'lerden bağımsız olarak T hücrelerini baskılayan MEM tipine dönüştükleri ve kornea transplantasyonun reddedilmesini ve deneysel otoimmün üveiti azalttığı (Experimental Autoimmune Uveitis (EAU)) baskıladıkları (Ko ve diğerleri, 2016),

- MDSC (Myeloid kaynaklı baskılayıcı hücrelerin/Myeloid Derived Suppressor Cell) immün sistem üzerinde etkili olduğu (Vladimirovna, Sosunova, Nikolaev ve Nenasheva, 2016), fare deneysel otoimmün üveit modelinde IV uygulanan insan BM-MKH'ların salgıladıkları CCL2'na bağımlı bir mekanizma ile MHC sınıf-II(lo) Ly6G(-) Ly6C(hi) CD11b(+) myeloid kaynaklı baskılayıcı hücrelerin o bölgenin lenf nodundan dolaşıma geçtikleri, CD4(+) hücrelerin çoğalmasını ve Th1/Th17 farklılaşmasını baskıladıkları ayrıca CD4(+) hücrelerin apopitozunu artırdıkları, EAU oluşumunu baskıladıkları bulunmuştur (J. K. Lee ve diğerleri, 2012).

2.30. Ko-stimülatör ve Ko-inhibitör Moleküller

Antijen sunan hücre ile T lenfositler arasında, T lenfosit yanıtının uyarılma ve inhibe edilmesini sağlayan Resim 2.58'de şematize edilen ko-stimülatör ve ko-inhibitör moleküller yer almaktadır (Bakdash, Sittig, van Dijk, Figdor ve de Vries, 2013).

MKH'ların normal koşullarda MHC sınıf-I moleküllerini eksprese ettikleri halde MHC sınıf-II, ko-stimülatör molekülleri (CD40, CD80/B7-1 ve CD86/B7-2) eksprese etmedikleri için konakçı bağışıklığının bastırılması gerekmeksizin allojenik tedavide kullanılabildiği bildirilmiştir (S. A. Jacobs ve diğerleri, 2013; Ryan ve diğerleri, 2005). MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalara ilerleyen bölümlerde CD40, CD80/B7-1 ve CD86/B7-2 başlığı altında detaylı değinilmiştir.



Resim 2.57. Ko-stimülatör ve ko-inhibitör moleküller ve reseptörleri (Bakdash ve diğerleri, 2013)

2.30.1. CTLA-4/CD152

APC'lerin yüzeyindeki CD80/B7-1 ve CD86/B7-2'e bağlanan ko-inhibitör molekül olan CTLA-4 (CD152)'ün CD4(+) T lenfositleri ve Treg'lerde eksprese edildiği (Tai ve diğerleri,

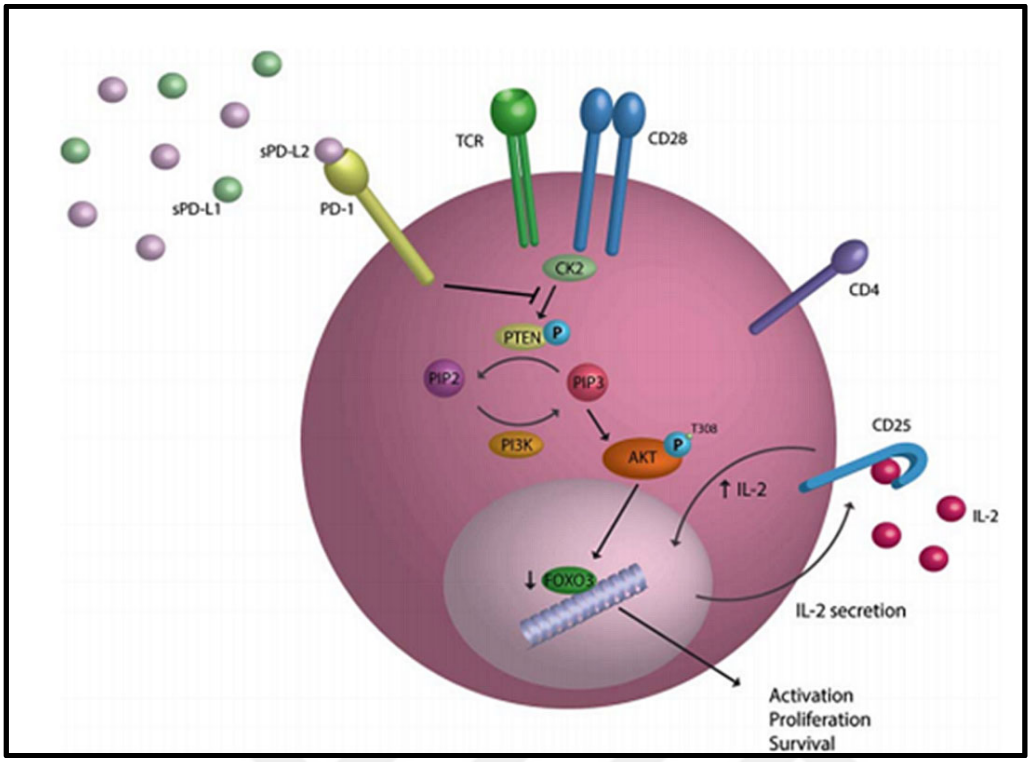
2012), CTLA-4'ün suda çözünen formunu bulunduran makrofaj hücre dizileri bulunmakla birlikte (Y. H. Gao ve diğerleri, 1999) ayrıca PMA/THP-1 ve İFN- ile aktive monositlerde de CTLA-4 eksprese edildiği (X. B. Wang ve diğerleri, 2002) belirtilmektedir.

MKH'larında CTLA-4 eksprese ettikleri ve bu yolla uyarıldıklarında osteojenik farklılaşmalarının arttığı (F. Dai ve diğerleri, 2015) ayrıca CTL4 fazla eksprese eden MKH'ların köpeklerdeki deri lezyonlarında faydalı olduğu gösterilmiştir (S.-M. Han ve diğerleri, 2015).

2.30.2. PD-L1/B7-H1/CD274 ve PD-L2/B7-DC/CD273

APC'lerde eksprese edilen PD-L1/B7-H1/CD274 ve PD-L2/B7-DC/CD273, periferde aktive T lenfositler üzerindeki PD-1'e bağlanarak onların inhibisyonunda rol oynadığı, PD-L1'in Th1 desteği ve mikrobiyal uyarımla yangı ile ilgili makrofajlarda yüksek düzeyde eksprese edildiği, doku makrofajlarında ise LPS ve İFN- uyarımı ile eksprese edilebileceği, Th2 lenfositlerinden salgılanan İL-4/İL-13 ile M2a tipindeki makrofajların PD-L2'i eksprese ettiği ve Th2 yanıtını baskıladığı (Huber, Hoffmann, Muskens ve Voehringer, 2010; Loke ve Allison, 2003), HIV ile enfekte makrofajların PD-L1 ve PD-L2 eksprese ettikleri (Rodríguez-García ve diğerleri, 2011), hipoksinin TAM'larda PD-L1 ekspresyonuna neden olduğu belirtilmektedir (Noman ve diğerleri, 2014).

İnsan P-MKH'ların dışında (Y. Gu ve diğerleri, 2013) yangı olmayan bir ortamda, MKH'ların PD-L1 veya PD-L2'yi eksprese etmedikleri, Davies, Heldring, Kadri ve Le Blanc (2017) tarafından Resim 2.59'da şematize edildiği gibi yangı İFN- uyarımı ile MKH'ların PD-L1 ve TNF-α uyarımı ile PD-L2 eksprese ettikleri ve T lenfosit cevabını baskıladıkları (Davies ve diğerleri, 2017; English ve diğerleri, 2007) ayrıca MKH'ların Th17'leri PD-L1 aracılığıyla baskıladığı (Luz-Crawford ve diğerleri, 2012) gösterilmiştir.



Resim 2.58. MKH'lardan salgılanan PD-L1 ve PD-L2 nin T lenfositler üzerine etkisinin mekanizması (Davies ve diğerleri, 2017)

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan PBMC'dan elde edilen GM-CSF ile farklılaştırılan makrofajların düşük düzeyde CD274/PD-L1/B7-H1 eksprese ettikleri, bu makrofajların P-MKH'larla transvelde (hücreler arası direkt kontak (ICpMSC (Intracellular Direct Contact)), sıvıda çözünebilen faktörler (SFpMSC (Soluble Factor)) GMCSF içeren medyumla ve P-MKH'ların GM-CSF içeren kültür medyumu ile (kültür medyum (CMpMSC (Conditioned Medium)) kültüre edildiklerinde, makrofajlarda PD-L1/B7-H1/CD274 ekspresyonun arttığı (Abumaree ve diğerleri, 2013),

- İnsan BM filtrelerinden elde edilen MKH'lar ile insan PBMC'lerin transvel ortamında ko-kültüre edilmesi ile elde edilen CD206+/CD163+/Arg-1+/ CD73+ eksprese eden ve İL-6 ve TGF-β salgılayan MEM'lerin, PD-L1 ve PD-L2 ekspresyonu arttırdığı bulunmuştur (Bouchlaka ve diğerleri, 2017).

2.30.3. B7-H4 (B7 homologu-4/B7 homolog-4)

Tümör mikro çevresinde yüksek konsantrasyonda bulunan İL-6 ve İL-10'nun ko-inhibitör moleküllerin B7 ailesinin bir üyesi olan B7-H4'ün makrofajların yüzeyinde eksprese edilmesine neden olduğu, T lenfositlerin yüzeyinde daha tanımlanmamış bir reseptöre bağlanarak onların çoğalmasını sitokin üretmesini ve farklılaşmasını baskıladığı (Kryczek ve diğerleri, 2006; W.-K. Suh ve diğerleri, 2006) belirtilmektedir.

MKH'lerin B7-H4 eksprese ettikleri ve bu yolla T lenfositlerini aktivasyonun ve çoğalmasının baskıladıkları (Xue ve diğerleri, 2010) gösterilmiştir.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan PBMC'den elde edilen GM-CSF ile farklılaştırılan makrofajların B7-H4 eksprese etmedikleri, insan PBMC'den elde edilen makrofajların P-MKH'larla transvelde (hücreler arası direkt kontak (ICpMSC (Intracellular Direct Contact))/sıvıda çözünebilen faktörler (SFpMSC (Soluble Factor)) GMCSF içeren medyumla ve P-MKH'ların GM-CSF içeren kültür medyumu ile (kültür medyum (CMpMSC (Conditioned Medium)) kültüre edildiklerinde, makrofajlarda B7-H4 eksprese edildiği P-MKH kültür ortamından uzaklaştırılıp 3 gün GM-CSF ile makrofajlar kültüre edildiklerinde B7-H4 ekspresyon düzeyinin muamele olmayan makrofajlar gibi sıfır düzeyine düştüğü gösterilmiştir (Abumaree ve diğerleri, 2013).

2.30.4. Galektin-1, Galektin-3 ve Galektin-9

Galektinlerin beta-galaktozidlere afiniteye sahip bir hayvan lektin ailesi olduğu, hücre içi içinde protein-protein etkileşimleri vasıtasıyla sitoplazmik ve nükleer proteinler ile etkileşerek, hücre içi sinyal yollarını etkileyerek hücre çoğalmasını ve hücre hayatta kalmalarını engellediği, hücre dışında ise çeşitli immün hücreler tarafından eksprese edilerek lektin-karbonhidrat etkileşimleri yoluyla hücre-hücre etkileşiminde rol aldığı, apopitozu uyardığı, T lenfosit sinyalini baskıladığı, hücre dışı matris glikokonjugatları (glikoproteinler ve glikolipidler) ile bağlanması nedeniyle hücre matriks ilişkisinde de rol oynadığı, hücre yapışıklıklarını ve hücre göçünü etkileyebildiği (F.-T. Liu, 2005) bulunmuştur.

Ayrıca bakterilerin yüzeyine yapışarak onları PRR gibi fonksiyon görerek doğal immün sitemi tetikleyebildikleri belirtilmektedir (Vasta, 2009).

Galektin benzeri moleküllerin makrofajlarda bulunduğu ve T lenfositlerin apopitozuna neden olduğu (Rabinovich ve diğerleri, 1998) bulunmuştur.

Bunların dışında galektinlerin monositlere bağlandığı ve onların göçünü inhibe ederek apopitoza götürdükleri (Paclik, Werner, Guckelberger, Wiedenmann ve Sturm, 2011), makrofajların M2 yönünde plastisitesini sağladıkları bildirilmiştir (Correa, Sotomayor, Aoki, Maldonado ve Rabinovich, 2003).

Galektin-1 (Fajka-Boja ve diğerleri, 2016), Galektin-3 (Sioud, Mobergslien, Boudabous ve Fløisand, 2010) ve Galektin-9'un (S. Kim, Lee, Jeon, Yi ve Song, 2015) MKH aracılı immün baskılanmada etkili olduğunu T lenfositleri (Sioud, 2011), B lenfositleri (Ungerer ve diğerleri, 2014) baskıladıkları gösterilmiştir.

2.30.5. LILRB (lökosit immünglobülin benzeri alt ailesi üyesi-B/leukocyte immunoglobulin like receptor subfamily member-B) ve KIR (öldürücü hücre immünglobülin benzeri reseptör/killer cell ımmunoglobulin-like receptors)

TAM'ların tümörün gelişmesini ve ilerlemesini, anjiyogenezis artmasını ve anti-tümör bağışıklığının bastırılmasında rol aldığını, TAM'lar çevreleyen bağışıklık hücrelerini modüle etmek için HLA-G/LILRB reseptör bağlantısını, MHC sınıf-I/KIR reseptör bağlantısını kullandıklarını bulunmuştur (Marchesi ve diğerleri, 2013).

2.31. Diğer Reseptörler

2.31.1. DECTIN-1 1 (doğal öldürücü hücre reseptör benzeri c-tipi lektin-1/natural killer (NK)-cell-receptor-like c-type lectin-1)

C tipi lektin ailesinin bir üyesi olan DECTIN-monosit ve makrofajlarda eksprese edilerek hem mantarlara tanıyan bir PRR hem de ko-stimülatör molekül olarak görev yaptığı (Huang ve diğerleri, 2015) M2a makrofajların eksprese ettiği (Novak ve diğerleri, 2013), TAM'larda da eksprese edildiği (Y. Liu ve Cao, 2015; Rőszer, 2015) gösterilmiştir.

2.31.2. NURR1

NURR1 başta santral sinir sisteminde eksprese edildiği ve dopamin nöronlarının gelişiminde kritik bir rol oynadığı (Saucedo-Cardenas ve diğerleri, 1998), Nur77 (NR4A1, TR3), NURR1 (NR4A2) ve NOR-1'dan (NR4A3) oluşan NR4A nükleer reseptör süper ailesinin bir üyesi olduğu ve ateroskleroz ortamında makrofajlarda da eksprese edildiği (Bonta ve diğerleri, 2006) yangıyı baskılamakta rol oynadığı belirtilmektedir (Saijo ve diğerleri, 2009). Hareket eden MKH'larda yüksek düzeyde eksprese edildiği (Maijenburg ve diğerleri, 2011) gösterilmiştir.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- N9'un NURR1 eksprese etiği, LPS ile tek başına muamele edildiğinde NURR1 seviyesinin düştüğü, LPS ile aktive edilen N9 fare BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiğinde NURR1 seviyesinin arttığı (Giunti ve diğerleri, 2012),

- İFN-□ ve TLR9 ligandı CpG ile ayrı ayrı aktive edilen N9 fare BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiğinde NURR1 mRNA seviyesinin düştüğü gösterilmiştir (Giunti ve diğerleri, 2012).

2.31.3. CD200/CD200R

İnhibitör bir reseptör olan CD200R'ın çoğunlukla miyeloid ve lenfoid kökenli hücrelerde eksprese edildiği, CD200/CD200R1 aksı kanser büyümesi, otoimmün ve alerjik bozukluklar, bulaş, transplantasyon, kemik gelişim ve homeostaz ve üreme biyolojisi üzerine etkileri olduğu (Gorczynski, 2012), klasik makrofaj aktivasyonun CD200R üzerinden inhibe edildiği, İL-4 ve İL-13 ile M2a plastisitesi sağlanan makrofajlarda CD200R ekspresyonun arttığı bu yüzden M2 makrofajlar için bir belirteç olarak kullanılabileceği belirtilmektedir (Koning ve diğerleri, 2010). MKH'lerinde CD200 eksprese ettikleri ve İFN-γ uyarımı ile ekspresyonunu artırdıkları (Najar ve diğerleri, 2012) gösterilmiştir.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda; N9'ın CD200R eksprese ettiği, LPS ile tek başına uyarıldığında bu seviyenin düştüğü, LPS ile aktive edilen N9 fare

BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiğinde CD200R ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (Giunti ve diğerleri, 2012).

2.31.4. TREM2

TREM2 yangı olmadığı durumlarda santral sinir sisteminin hemostasında yangıda mikrogialarda fagositozda rol oynayan bir reseptör olduğu (Kazuya Takahashi, Rochford ve Neumann, 2005), İL-4 uyarımı ile alternatif yönde plastisiste gerçekleşen makrofajlarda eksprese edildiği, TLR, LPS, zimozan ve CpG uyarımı ile oluşturulan sitokin salgılanmasını bastırdığı (Turnbull ve diğerleri, 2006) belirtilmektedir.

TREM2'nin MKH'larda eksprese edildiği ve TLR sinyali ve farklılaşmasında rol oynadığı bulunmuştur (W.-Q. Zhang ve diğerleri, 2016).

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- N9 düşük düzeyde eksprese ettiği, tek başına LPS ile muamele edildiğinde bu düzeyin daha da düştüğü, LPS ile aktive edilen N9 fare BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiğinde TREM2 ekspresyonun arttığı gösterilmiştir (Giunti ve diğerleri, 2012).

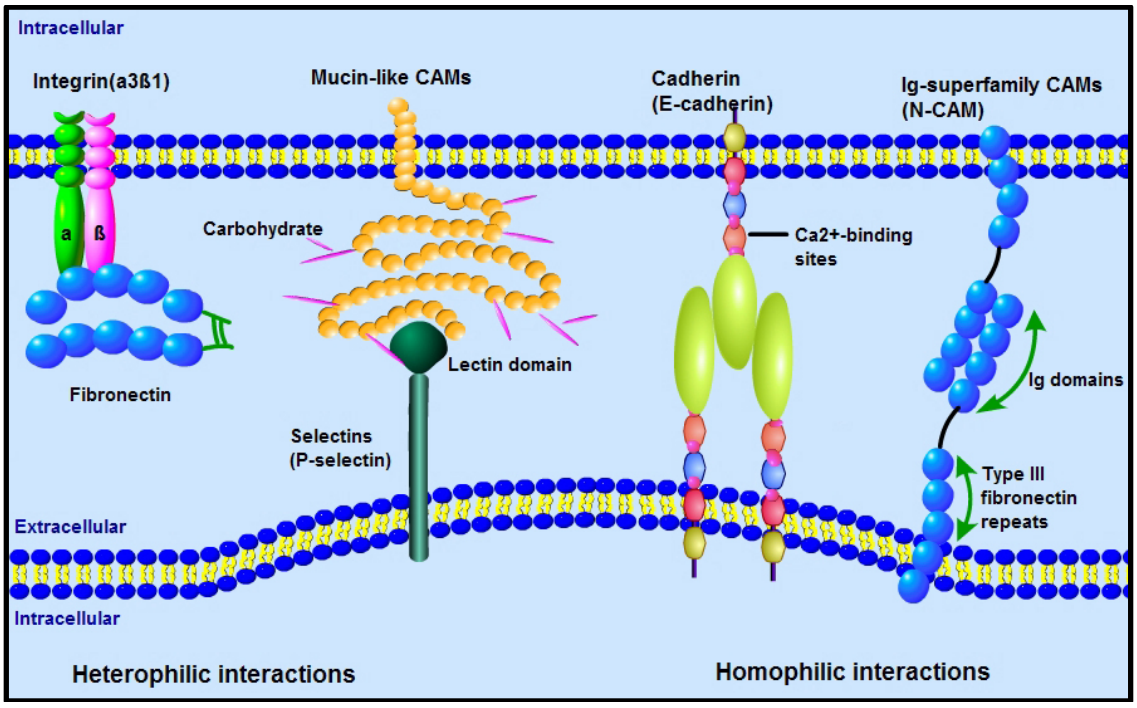
2.31.5. NOTCH-R

''Notch sinyali''nin hücrelerin farklılaşmasında rol oynadığı (Radtke, Fasnacht ve MacDonald, 2010), MKH'ların NOTCH-R üzerinden aktive edilmesinin osteojenik potansiyellerini arttırdığı (Tian ve diğerleri, 2017) ve makrofajlarda ise M1 yönünde plastisiteye neden olduğu gösterilmiştir (J. Xu, Chi ve Tsukamoto, 2015).

2.32. Hücre Yapışmasına Aracılık Eden Moleküller

Hücre yapışma molekülleri Resim 2.60'da şematize edildiği gibi (SABbiotechnology, 2017) Ca (kalsiyum) bağımlı (Cadherins, Selectins) ve Ca bağımsız (Integrins, Immunoglobulin Superfamily, Lymphocyte Homing Receptors) olarak iki grupta incelenmektedir. ICAM-1/CD54 (Hücreler Arası Yapışma Molekülü-1/Intercellular Adhesion Molecule-1)

"Immunoglobulin superfamily" ailesinden bir hücre adezyon molekülü olduğu, LFA-1 bağlandığı (Lenfosit fonksiyonu ile İlgili Antijen-1/Lymphocyte Function Associated Antigen-1), endotel hücreleri, monositler ve T lenfositlerinde düşük düzeyde eksprese edildiği ama TNF-α, İL-1, İFN-γ ile ekspresyonun arttığı ve hücrelerin çoğalmasını ve aktive olmasını sağlayarak sitokin sentezlerinin artmasına neden olduğu belirtilmektedir (A. K. Hubbard ve Rothlein, 2000).



Resim 2.59. Hücre yapışma molekülleri (SABbiotechnology, 2017)

"Immunoglobulin Superfamily" ailesinin diğer bir üyesi olan VCAM-1'inde damar endotelinde eksprese edilerek yangıda lenfositlerin yüzeyindeki VLA-4'e bağlanarak lenfositlerin endotele yapışmasında rol oynadığı (D. Wong ve Dorovini-Zis, 1995), VCAM-1 monositlerde de eksprese edildiği bulunmuştur (Schmitz ve diğerleri, 2013; Walpola, Gotlieb, Cybulsky ve Langille, 1995).

Bir başka hücre yapışma molekülü olan P-Selektinin monositlerde, endotel hücrelerinde, damar duvarlarında ve aktive trombositlerde eksprese edildiği (E. E. Edwards ve Thomas, 2017; Geng, Chen ve Chou, 2004; Koedam ve diğerleri, 1992) belirtilmektedir.

Monositlerin bu hücre yapışma molekülleri aracılığı ile lökositlere, damar endotel hücrelerine ve hücre dışı matrikse bağlandıkları (Prieto, Eklund ve Patarroyo, 1994; Roebuck ve Finnegan, 1999) gösterilmiştir.

CD54/ICAM-1'in APC'lerde ekspresyonun ko-stimülatör molekül olarak arttığı (Ocklind, Friedrichs ve Peters, 1992), hücre yapışmasında rol oynayan bir diğer molekül olan CD50/ICAM-3'ün makrofajlar tarafından apoptotik nötrofillerin ve lökositlerin temizlenmesinde rol oynadığı belirtilmektedir (Kristóf ve diğerleri, 2013; Torr ve diğerleri, 2012).

İFN-□, TNF-α ve İL1-β yangı sitokinlerine ve LPS'e maruz bırakıldığında, MKH'ların VCAM-1 ve ICAM-1 gibi bilinen yapışma moleküllerini ayrıca P Selektini eksprese ettikleri bildirilmiştir (Bartholomew ve diğerleri, 2002; Kota ve diğerleri, 2014; Kyurkchiev ve diğerleri, 2014; Lo ve diğerleri, 2013; Ren ve diğerleri, 2008; William ve diğerleri, 2003; Xiao ve diğerleri, 2012).

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan BM-MKH ile İFN-γ ve LPS ile M1 yönde plastisitesi sağlanmış insan PBMC'ler direkt ko-kültür yapıldığında MKH'larda ICAM-1/CD54'ün ekspresyonun arttığı ve MKH'lar ile M1 tipindeki makrofajların birbirine yapışmasında rol oynadığı (Espagnolle, Balguerie, Arnaud, Sensebe ve Varin, 2017),

- Monositik THP-1'lerin yüksek düzeyde CD54 eksprese ettikleri, monositik THP-1'lerin insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD54 eksprese etmeye devam etmekle birlikte ekspresyon seviyesinde düşme (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- PMA/THP-1'lerin CD54 eksprese ettikleri, PMA/THP-1'lerin insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD54 eksprese etmeye devam etmekle beraber ekspresyon seviyesinde hafif bir düşme (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- PMA/THP-1 hücrelerinin LPS ve İFN-γ ile M1 plastisitesinden sonra CD54 yüksek düzeyde eksprese ettikleri, PMA/THP-1'lerin LPS ve İFN-γ ile M1 plastisitesinden sonra

insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD54 eksprese etmeye devam etmekle birlikte seviyesinde düşme (Vasandan ve diğerleri, 2016),

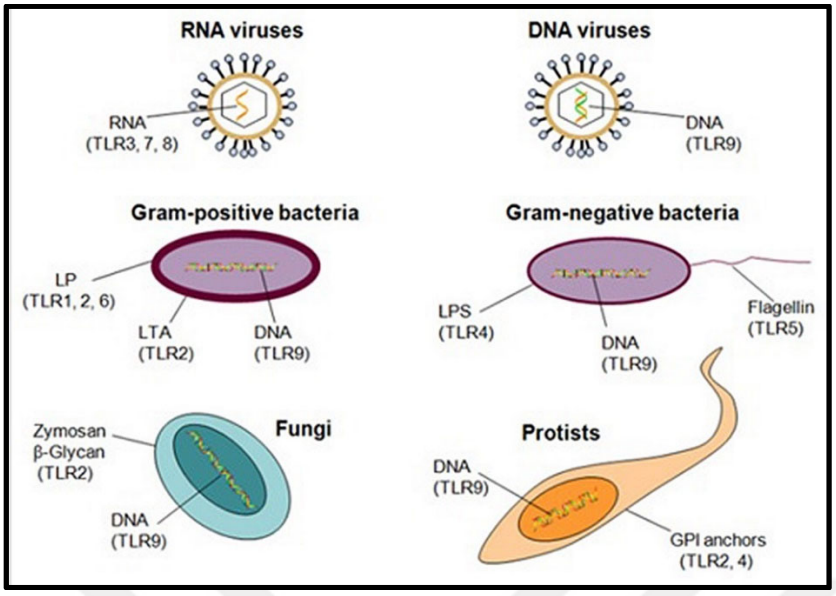
- PMA/THP-1 hücrelerinin CD50/ICAM-3 eksprese etmedikleri, bunlar insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD50/ICAM-3 ekspresyon seviyesinin çok arttığı (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- PMA/THP-1 hücrelerinin LPS ve İFN-γ ile M1 plastisitesi sağlandıktan sonra CD50/ICAM-3 yüksek düzeyde eksprese ettikleri, bunlar insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD50/ICAM-3 eksprese etmeye devam etmekle birlikte seviyesinin azaldığı (Vasandan ve diğerleri, 2016),

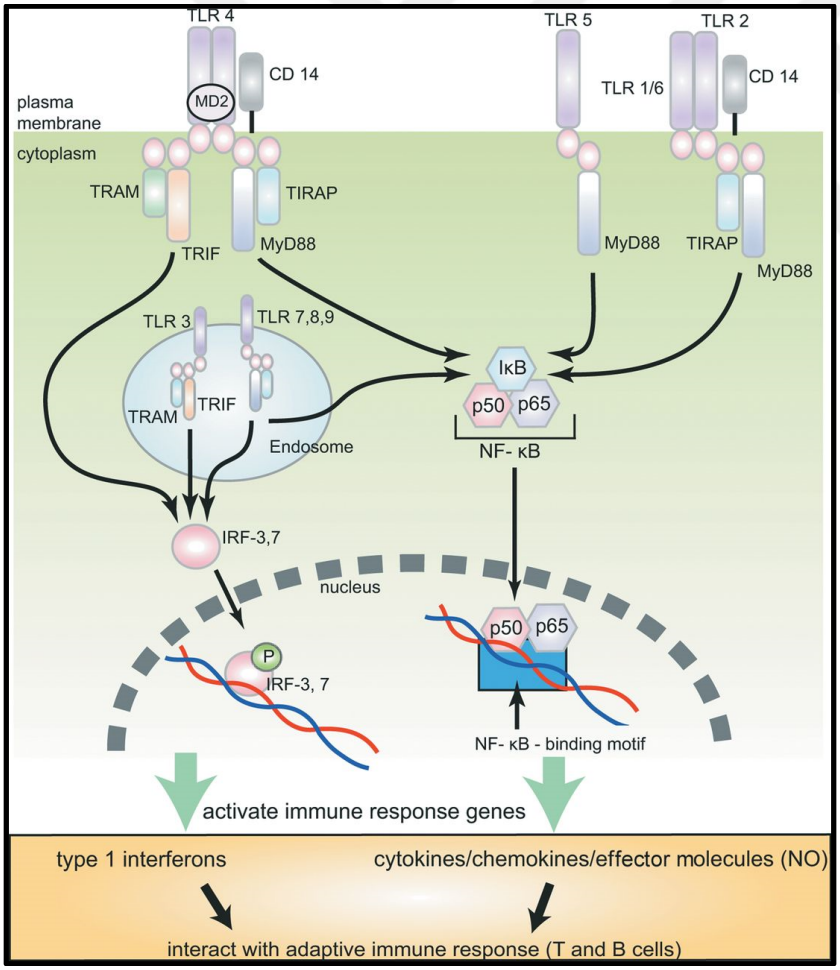
- Diğer bir yapışma sağlayan molekülünde de HA (Hyaluronik Asid) olduğu, poli(I:C) ile TLR3 üzerinden uyarılan BM-MKH'larda HA depolanmasının arttığı ve insan PBMC, THP-1 ve U937 hücre dizilerinin TLR3 yolu ile aktive poli(I:C) insan BM-MKH'lara LPS ile TLR4 yolu ile aktive olan insan BM-MKH'larin göre bağlantısının arttığı bulunmuştur. Bu bulgu makrofajların MKH'lara bağlanmasında HA'nın TLR3 ile tetiklenen bir mekanizma ile rolü oynadığını düşündürmektedir (Kota ve diğerleri, 2014).

2.33. TLR

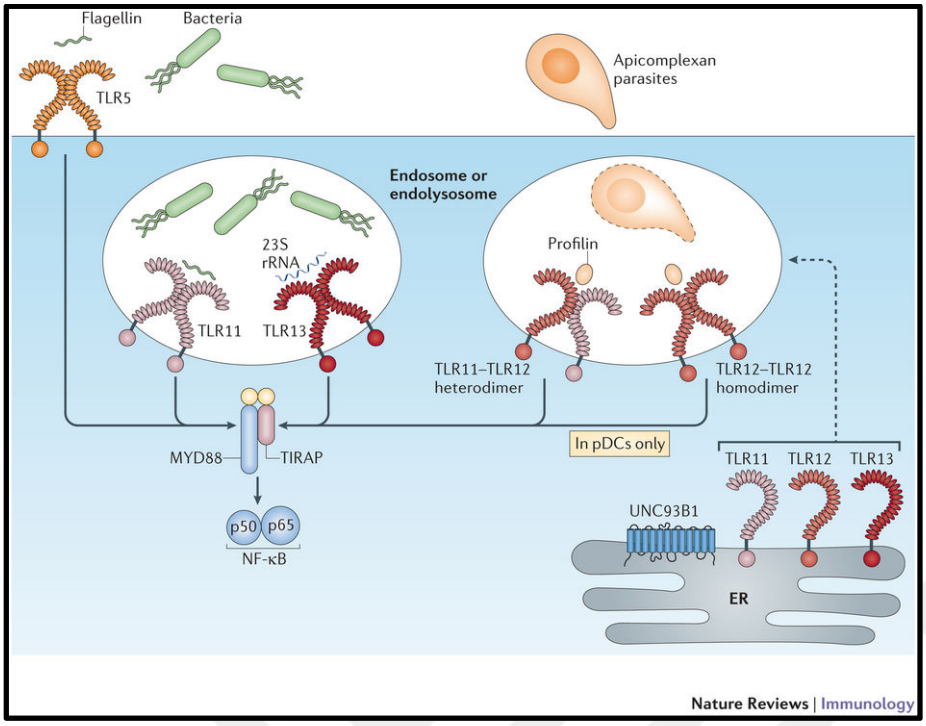
Christmas (2010) tarafından Resim 2.61'de şematize edildiği gibi virüslerin (DNA ve RNA), bakterilerin (Gr(-)/Gr(+)), mantarların ve parazitlerde PAMP olarak adlandırılan yapılar bulduğu ve PAMP'ların PRR'lar (örneğin; TLR, RIG-I-like receptors, NOD-like receptors, ve C-type lectin receptors) aracılığı ile tanındığı bulunmuştur. PPR'ların bir grubu olan Misch ve Hawn (2008) tarafından Resim 2.62 ve Broz ve Monack (2013) tarafından Resim 2.63'de şematize edilen, 11 adet insanda 13 adet farede gösterilen TLR'lerinin plazma membranın da veya endozomda bulunduğu belirtilmektedir (Broz ve diğerleri, 2013; Misch ve diğerleri, 2008; O'Neill, Golenbock ve Bowie, 2013).



Resim 2.60. PAMP'larla TLR'lerin ilişkisi (Christmas, 2010)

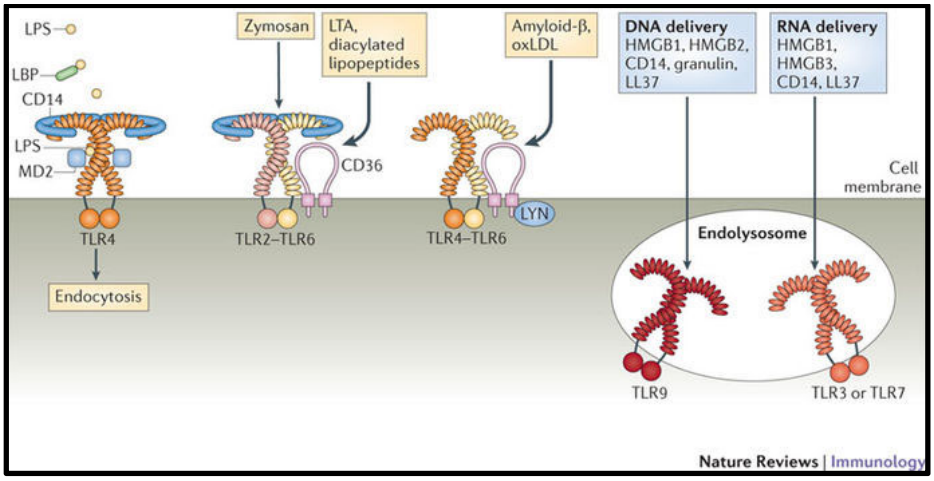


Resim 2.61. TLR1-9'un lokalizasyonu ve sinyal yolakları (Misch ve diğerleri, 2008)



Resim 2.62. TLR5 ve TLR11-13'ün lokalizasyonu ve sinyal yolakları (Broz ve diğerleri, 2013)

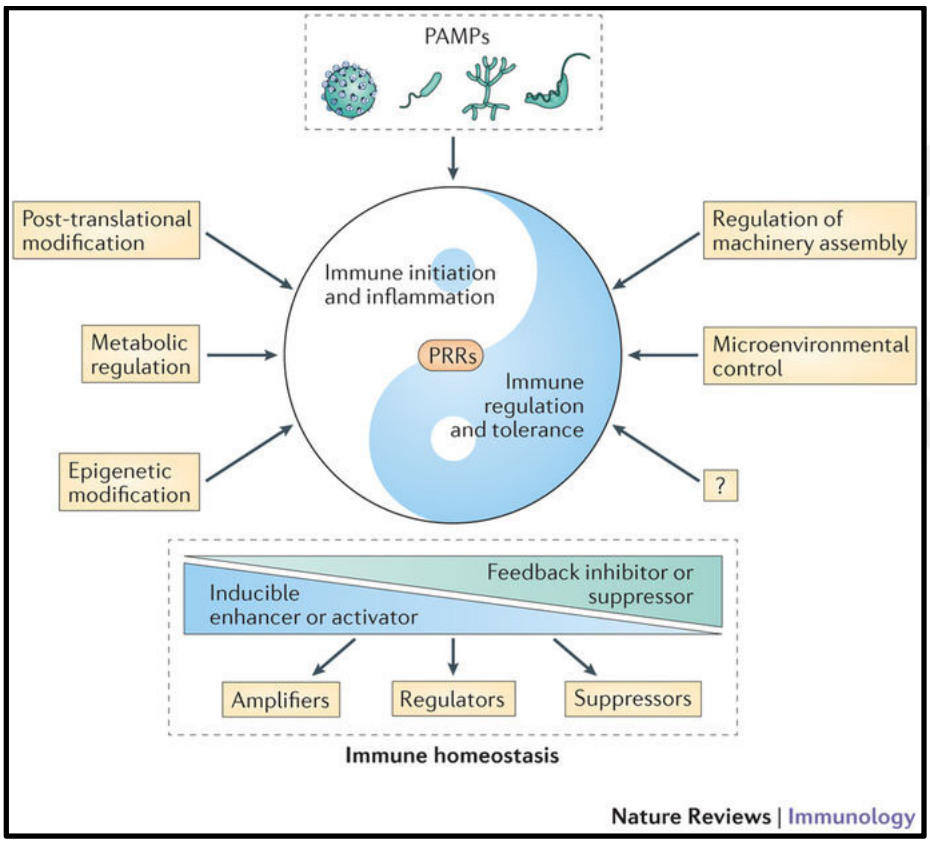
TLR sinyalinde C. C. Lee, Avalos ve Ploegh (2012) tarafından Resim 2.64'de şematize edilen CD14, MD-2, CD36, LYN gibi birçok yardımcı molekülde yer aldığı bulunmuştur.



Resim 2.63. TLR sinyali ile ilgili yardımcı moleküller (C. C. Lee ve diğerleri, 2012)

Mikroorganizmaların spesifik bileşenlerinin (PAMPs) PRR'ler aracılığı ile tanınması patojenlere karşı doğuştan gelen bağışıklıkla yangının tetiklenmesi, X. Cao (2016) tarafından Resim 2.65'de şematize edildiği gibi posttranslasyonel modifikasyonlar,

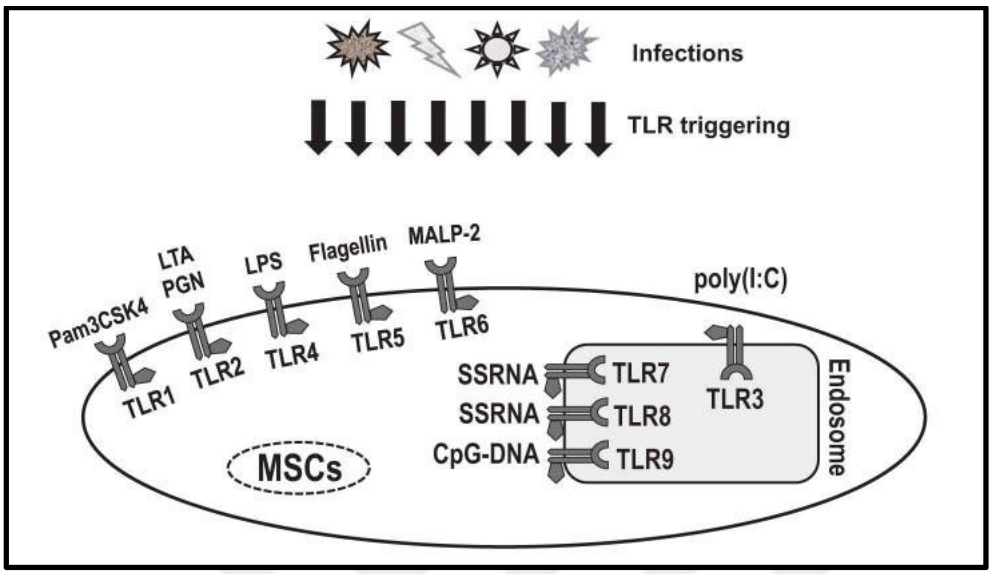
metabolik düzenlemeler, epigenetik modifikasyonlar, vücuttaki sistemlerin düzenlenmesi ve mikroçevrenin kontrolünün etkisinde eğer aktivatör mekanizmalar harekete geçerse işgalci mikroorganizmaları ortadan kaldırılmasında rol oynadığı, bununla birlikte, PRR'lerin uygunsuz şekilde harekete geçirilmesi, uzun süren iltihaplanmaya ve hatta otoimmün ve yangısal hastalıklara yol açabileceği, PRR'ların sinyal yolakları üzerine olan inhibitör veya baskılayıcı etkenlerin ise immün cevabın düzenlenmesine, baskılanmasına ve toleransın gelişimine yol açtığı ifade edilmektedir.



Resim 2.64. PRR'ların immune hemostaz üzerine etkisi (X. Cao, 2016)

Najar, Krayem, Meuleman, Bron ve Lagneaux (2017) tarafından Resim 2.66'da şematize edildiği gibi MKH'ların yüksek düzeyde TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, TLR9 ve düşük düzeyde TLR1, TLR5, TLR6, TLR8, TLR10 eksprese ettikleri gösterilmiş, MKH'ların TLR ligandları ile prime edilmesi onların fenotipini, farklı dokulara dönüşme potansiyelini (multilineage potential), hematopoetik desteğini ve immünomodülatör kapasitesinde kritik değişikliklere neden olacağı ve dolayısıyla terapötik potansiyelini etkileyeceği

düşünülmektedir (He, Bai, Yang, Xue ve Su, 2009; Pevsner-Fischer ve diğerleri, 2007; Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009; Rosa, Dalemans ve Lombardo, 2012).



Resim 2.65. MKH'larda eksprese edilen TLR ve ligandlarının şeması (Najar ve diğerleri, 2017)

MKH'lar gastrointestinal sistem florasıyla indüklendiklerinde TLR ve NLR gibi reseptörler aracılığıyla aktive olarak COX2, İL-6 ve İL-8 salgısını ve CD54 ekspresyonu artırarak immün düzenleyici fonksiyonlarının arttığı gösterilmiştir (Kol ve diğerleri, 2014).

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- MKH'ların oksidatif stres durumunda mikro-RNA içeren mikroveziküller oluşturduğu, bunları içeren medyumun insan PBMC'den elde edilen ve silika parçalarıyla M1 yönünde plastisitesi sağlanan M1 makrofajlar tarafından fagosite edildiği ve M1 makrofajlarda TLR ekspresyonunu inhibe ettiği bulunmuştur (Phinney ve diğerleri, 2015).

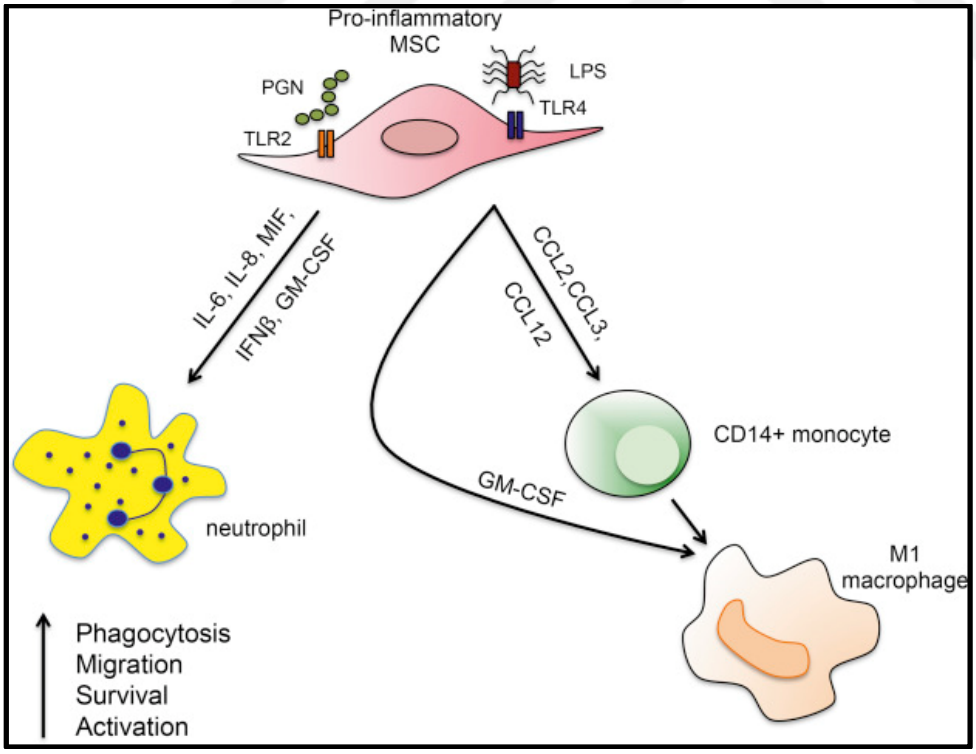
2.33.1. TLR2 ve ligandları

TLR1, TLR3, TLR4 ve TLR5 ile birlikte Rock, Hardiman, Timans, Kastelein ve Bazan (1998) tarafından bulunan TLR2'nin immün hücreler, epitel ve endotel hücreleri üzerinde eksprese edildiği (Flo ve diğerleri, 2001) TLR1/TLR6 ve non-TLR ile birlikte fonksiyon

gösterdiği, bakteri, mantar ve parazitler üzerindeki yapıları tanıdığı gösterilmiştir (Christmas, 2010; Oliveira-Nascimento, Massari ve Wetzler, 2012).

Makrofajlarda hücre yüzeyinde eksprese edilen ve sinyal yolağı Misch ve diğerleri (2008) tarafından TLR2, TLR1/TLR6, CD14 ve CD36 ile birlikte hücre içinde yangıya yol açana sitokinlere ait genlerin (TNF-α gibi) aktive edilmesi sonucu doğuştan gelen immün yanıtta, patojenlere karşı kazanılmış bağışıklığın geliştirilmesinde rol oynadığı bulunmuştur (Misch ve diğerleri, 2008; Oliveira-Nascimento ve diğerleri, 2012).

TLR1/TLR2 agonist olan Pam3Cys ile MKH'ların TLR2 üzerinden uyarımı MKH'larda İL-6 salgılanmasının artırdığı (Pevsner-Fischer ve diğerleri, 2007), Le Blanc ve Davies (2015) tarafından Resim 2.67'de şematize edildiği gibi TLR2 agonist olan PGN ile MKH'ların TLR-2 üzerinden uyarımı ise MKH'lardan İL-6, İL-8, MIF, İFN-β GM-CSF salgısını artırarak nötrofillerin fagositoz, göç, yaşamlarının uzaması ve aktivasyonlarına neden olduğu bulunmuştur.



Resim 2.66. MKH'ların TLR2 ve TLR4 üzerinden uyarımının nötrofiller ve M1 makrofajlar üzerine etkisinin mekanizması (Le Blanc ve diğerleri, 2015)

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- Daha önceden de kısaca bahsedildiği gibi CD44 TLR2'nin sinyal yolağını engelleyen bir yüzey molekülüdür. RAW264.7'nın TLR2 agonisti olan zimozan ile prime edildiğinde NF-κB nin sitoplazmadan nükleusa geçerek TNF-α'nın transkribe olmasını sağladığı, TNF-α'nın insan BM-MKH'lardan TSG-6 salgılanmasına neden olduğu, TSG-6'nın hücre yüzeyinde CD44 ekspresyonunu arttırdığı, CD44'ün TLR2 sinyalini negatif etkilediği ve makrofajlardan TNF-α salgılamasını baskıladığı (H. Choi ve diğerleri, 2011; Kawana ve diğerleri, 2008; R. H. Lee ve diğerleri, 2009; Liang ve diğerleri, 2007). Makrofajlardan TNF-α azalmasının mesoteliyal ve diğer hücrelerden İL-6, İL-8 ve CCL2 gibi faktörlerin salgılanmasının azalmasına dolayısıyla nötrofil ve makrofaj infiltrasyonun azalmasına neden olduğu,

- Makrofajlar Tripanosoma Cruzi'yi TLR2 aracılığı ile tanımakta ve ona karşı yanıt oluşturmaktadır. Fareye periton içi thioglikolat enjekte edilerek oluşturulan fare peritoneal yangı modelinde, fare peritonundan elde edilen yangı ile ilgili makrofajlar (Thioglycolate Elicited Peritoneal Macrophages) fare BM-MKH'lar direkt olarak ko-kültüre edildiğinde hücrelerin TLR2 ekspresyonun azaldığı, Tripanosoma Cruzi ile enfekte olduğu ve konakçıyı Tripanosoma Cruzi bulaşmasına karşı koruyamadığı bulunmuştur (Maggini ve diğerleri, 2010).

2.33.2. TLR3 (CD283) ve poli(I:C)

dsRNA (Çift Sarmallı RNA/Double Stranded RNA) viral replikasyon sırasında, replikasyon döngüsünün bir ara maddesi olarak ya da viral RNA genomunun bir parçası olarak üretilir (B. L. Jacobs ve Langland, 1996).

Poli(I:C) viral bulaş ile ilişkili bir PAMP olan dsRNA sentetik analoğudur ve genellikle kültür ortamında viral bulaşları taklit etmek amacıyla kullanılır (Matsumoto ve Seya, 2008).

TLR3'ün makrofajlarda hücre yüzeyinde ve hücre içinde endozomlarda yer aldığı yer aldığı belirtilmektedir (Weber ve diğerleri, 2012). TLR'leri ile ilgili dört adet sitozolik adaptör protein tanımlanmıştır. MyD88, TIRAP (TIR Domain Containing Adapter Protein), TRIF

(TIR Domain Containing Adapter Inducing INF-β) ve TRAM (TRIF Related Adaptor Molecule). Bu adaptör proteinler NF-κB, IRF-3/7 ve MAP kinases gibi transkripsiyon faktörlerinin aktive olmasına neden olur. Bu nedenle TLR sinyal yolağı MyD88 bağımlı ve MyD88 bağımsız olarak iki ana gruba ayrılır. Misch ve diğerleri (2008) tarafından makrofajlardaki sinyal yolağı şematize edilen TLR3'ün nekrotize olan hücrelerin mRNA'sine, viral dsRNA'ya veya poli(I:C)'ye bağlanması ile p65, p50, IRF-3 ve IRF-7 (Myd88-bağımsız/MyD88-independent) aktive olup nükleusa geçmesiyle tip I İFN'ların (İFN-β) sentezlenerek viral replikasyonu önlenmesinde (anti-viral immünite) rol oynadığı gösterilmiştir (Karikó, Ni, Capodici, Lamphier ve Weissman, 2004; Lester ve Li, 2014; Vercammen, Staal ve Beyaert, 2008).

Poli(I:C) ve dsRNA hücre içinde aynı zamanda RIG-I (RNA Helicases Retinoic Acid-Inducible Protein-I) ve MDA-5 (Melanoma Differentiation-Associate Gene 5) tarafından da tanındığı CXCL-10 (IP10) salgılanmasına neden olduğu ve ayrıca FAS'ın poli(I:C) aracılığı ile uyarılan CXCL-10(IP10) salgılanmasını çok daha fazla arttırdığı da bulunmuştur (Kato ve diğerleri, 2006; Lyons, Fernandes, Fanning, Houston ve Brint, 2015).

Makrofajlarla ilgili yapılan diğer çalışmalarda ayrıca;

- PMA/THP-1 hücrelerinin TLR3 pozitif olduğu (Zarember ve Godowski, 2002),

- THP-1, RAW264.7 ve fare BM-DM ile yapılan çalışmalarda CD14'ün TLR3 için ko-reseptör görevi görmediği (Baumann ve diğerleri, 2010; Weber ve diğerleri, 2012),

- THP-1 hücre dizisinden TLR3 mRNA üretmediği CD14 mRNA az miktarda üretildiği (Weber ve diğerleri, 2012),

- TLR4 sinyal yolağında rol oynayan TRIL'in (TLR4 interactor with leucine-rich repeats) hücre içinde endozomda TLR3 ile ko-lokalizasyonda olduğu, insan BM-DM lar 2 saat 25 mg/ml poli(I:C) ile prime edildiğinde TRAIL; kontrol grubunda mRNA bazal seviyeye yakın üretilirken prime grupta mRNA üretiminin arttığı (Carpenter, Wochal, Dunne ve O'Neill, 2011).

- Fare BM-DM 8 saat 10 μg/ml poli(I:C) ile prime edildikten sonra İL-12p70 kontrolde salgılanmazken prime grupta yüksek oranda salgılandığı (Tsai ve diğerleri, 2015),

- PMA/THP-1 10 μg/ml poli(I.C) ile prime edildikten sonra İFN-β kontrolde salgılanmazken prime grupta yüksek oranda salgılandığı (Tsai ve diğerleri, 2015),

- PMA/THP-1'lerin 8 saat boyunca 20 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiğinde İFN-β, İL-8, İL-10, TNF−α ve CXCL10'nun kontrol grubunda mRNA üretimi bazal seviyede iken prime grupta arttığı, 48 saat boyunca 20 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiğinde İL-10 salgılanması kontrolde bazal düzeyde iken prime grupta az miktarda arttığı, CXCL10 (IP10) salgılanması kontrol grubunda bazal seviyede iken prime grupta arttığı, İL-8 kontrol gurubunda salgılandığı prime grupta salgılanmasının arttığı (Lyons ve diğerleri, 2015),

- İnsan PBMC'den elde edilen monositlerin 8 saat boyunca 20 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiğinde İL-10, TNF−α kontrol grubunda mRNA üretimi bazal seviyede iken prime grupta arttığı, CXCL10'nun kontrol grubunda mRNA üretimi olmazken prime grupta çok fazla miktarda arttığı, 48 saat boyunca 20 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiğinde kontrol grubunda CXCL10 salınımı olmazken prime grupta salgılandığı (Lyons ve diğerleri, 2015),

- 48 saat boyunca 0,02-20 μg/ml dozunda poli(I:C) ile prime edilen insan PBMC'ler elde edilen monositler incelenmiş olup, İL-6; kontrol grubunda salgılandığı, 2 ve 20 μg/ml dozunda prime edilen grupta salgılanmasının arttığı, CCL5 (RANTES) kontrol grubunda salgılandığı, 2 ve 20 μg/ml dozunda prime edilen grupta salgılanmasının arttığı (Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009),

- 20 saat boyunca 20 μg/ml dozunda poli(I:C) ile prime edilen insan PBMC'ler elde edilen monositler incelenmiş olup, İL-8; kontrol grubunda mRNA üretilirken prime grupta üretimin arttığı (Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009),

- PMA/THP-1 hücre dizisi 8 saat 2 μg/ml poli(I:C) ile prime edildikten sonra sitokin mRNA üretimi incelendiğinde, TNF-α; kontrolde mRNA üretimi bazal seviyede iken prime grupta mRNA üretiminin az miktarda arttığı, İL-6; kontrolde mRNA üretimi bazal seviyede iken prime grupta mRNA üretiminin az miktarda arttığı, İL-1β kontrol ve prime grupta aynı şekilde mRNA üretiminin bazal seviyeye yakın olduğu (M. X. Jiang ve diğerleri, 2017),

- Farede dalak makrofajları (CD11b+CD11c-) 48 saat boyunca 400 pfu CB4 (Edwards strain 2) ile prime edilmiş, prime edilmeyen grupta CD80 ve CD86 negatifken CB4 prime grupta CD80 ve CD86 ekspresyonunda artış olduğu, TLR3 olmayan (knock out) farelerde de aynı şekilde CD80 ve CD86 ekspresyonunda artış olduğu (TLR3 sinyalinin makrofaj olgunlaşmasında gerekli olmadığını düşündürdüğü belirtilmekte) (Richer, Lavallee, Shanina ve Horwitz, 2009),

- RAW264.7 8 saat 10 μg/ml poli(I:C) ile prime edildikten sonra sitokin mRNA yönünden analiz edilmiş İL-1β mRNA üretilmediği, 24 saat 10 μg/ml poli(I:C) ile prime edildikten sonra süpernatant incelendiğinde İL-6 kontrolde bazal seviyede salgılanırken prime grupta az miktarda salgılandığı, İL-10 kontrol ve prime grupta yaklaşık aynı düzeyde bazal seviyeye yakın salgılandığı, İL-13 kontrol grubunda az miktarda salgılandığı prime grubunda salınımının az miktarda arttığı (Zhou, Cao, Fang, Li ve Fan, 2015),

- İnsan kaynaklı astrositler 24 saat 10 μg/ml poli(I:C) ile prime edildikten sonra IDO kontrol grubunda üretilmezken prime grupta üretildiği (H. S. Suh ve diğerleri, 2007),

- THP-1 hücre dizisinde kontrol grubunda İL-15 mRNA üretilmezken 6 saat HSV ile enfekte edilen grubun İL-15 mRNA ürettikleri (TLR2 üzerinden aktivasyonun sorumlu olduğu öne sürülmekte) (Ahmad, El Bassam, Cordeiro ve Menezes, 2008),

- Astrositler (normal human astrocytes (NHA)) 24 saat 1 μg/ml poli(I:C) ile prime edildikten sonra İL-12 kontrol ve prime grubunda salgılanmadığı, TNF-α kontrol grubunda salgılanırken prime grupta salgılanmasının belirgin düzeyde arttığı, İL-1β'nın

kontrol ve prime grubunda aynı düzeyde salgılandığı, İL-17'nın kontrol ve prime grubunda salgılanmadığı, İL-4'ün kontrol ve prime grubunda salgılanmadığı, İL-6'nın kontrol grubunda yüksek düzeyde salgılanırken prime grupta çok fazla miktarda arttığı, İL-8 kontrol gurubunda salgılanırken prime grupta çok fazla miktarda arttığı, İL-10 kontrol ve prime grupta salgılanmadığı, İL-2 kontrol grupta salgılanırken prime grupta baskılandığı, İFN-γ'nın kontrol ve prime grubunda salgılanmadığı (Serramía, Muñoz-Fernández ve Álvarez, 2015),

- Astrositler (normal human astrocytes (NHA)) 2 saat boyunca HIV-1 ile (200 ng HIV-1/10^6 hücre) enfekte edildiğinde MHC sınıf-II bazal düzeyde eksprese edilirken prime grupta pozitif hücre sayısının arttığı, CD14 pozitif hücre sayısının prime grupta hafif miktarda azaldığı (Serramía ve diğerleri, 2015),

- İnsan periferik kanından üretilen makrofajlar 12 saat 5 μg/ml ile prime edildiğinde TLR3; kontrol grubunda mRNA üretilirken prime grubunda mRNA üretiminin arttığı, İFN-α,-β ve λ mRNA miktarının kontrolde bazal seviyede iken prime grupta hafif düzeyde arttığı, IRF-1, -3, -5, -7, -9 mRNA miktarının kontrolde bazal seviyede iken prime grupta arttığı, CCL3/MIP-1α mRNA miktarının kontrolde bazal seviyede iken prime grupta belirgin düzeyde arttığı, CCL4 mRNA miktarı kontrolde bazal seviyede iken prime grupta arttığı, CCL5(RANTES) mRNA miktarı kontrolde bazal seviyede iken prime grupta arttığı (M. Dai ve diğerleri, 2015),

- İnsanda PBMC'den üretilen makrofajlar 24 saat 5 μg/ml ile prime edildiğinde CCL3/MIP-1-α protein miktarının kontrolde bazal seviyede iken prime grupta belirgin düzeyde arttığı, CCL4 protein miktarının miktarı kontrolde bazal seviyede iken prime grupta arttığı, CCL5(RANTES) protein miktarının kontrolde bazal seviyede iken prime grupta arttığı (M. Dai ve diğerleri, 2015),

- İnsan periferik kanından üretilen makrofajlar 48 saat 5 μg/ml ile prime edildiğinde İFN-α,-β ve λ protein miktarının kontrolde bazal seviyede iken prime grupta hafif düzeyde arttığı (M. Dai ve diğerleri, 2015),

- THP-1 hücre dizisi 16 saat Kaposi sarkoma ile ilgili herpes virüsü (Kaposi's sarcoma-associated herpes virus (KSHV)) ile enfekte edildiği zaman TLR3 mRNA seviyesinin hafif miktarda arttığı, CXCL10 mRNA üretiminin çok fazla miktarda arttığı, İFN-β mRNA arttığı, CCL2 mRNA üretiminin arttığı, IRF-1 mRNA seviyesinin hafif miktarda arttığı, İL-6 mRNA seviyesinin hafif miktarda arttığı, MyD88 mRNA seviyesinin hafif miktarda arttığı, CD80 mRNA seviyesinin hafif miktarda arttığı (West ve Damania, 2008),

- İnsan PBMC'den elde edilen monositler 4 saat 20 μg/ml poli(I:C) ile prime edildikten sonra TNF−α; kontrol grubunda mRNA bazal seviyede iken prime grupta az miktarda arttığı, İL-6; kontrol grubunda mRNA bazal seviyede iken prime grupta çok fazla miktarda arttığı (H. Liu ve diğerleri, 2014),

- İnsan PBMC'den elde edilen monositler 24 saat 20 μg/ml poli(I:C) ile prime edildikten sonra TNF−α; kontrol grubunda salgılanırken iken prime grupta salgılanmasının arttığı, İL-6; kontrol grubunda salgılanırken iken prime grupta salgılanmasının çok fazla miktarda arttığı, İFN-β; kontrol grupta salgılanırken prime grupta salgılanmasının arttığı (H. Liu ve diğerleri, 2014),

- Fare BM-DM'lar 18-22 saat 1 μg/ml poli(I:C) ile prime edildikten sonra MHC sınıf-II; kontrolde pozitif hücrelerin yüzdesinin düşük olduğu prime grupta çok az miktarda arttığı, CD80; kontrol ve prime grubunda yaklaşık aynı düzeyde eksprese edildiği, CD86; kontrol grubunda eksprese edilirken prime grupta ekspresyonun arttığı, CD64; kontrolle prime grupta yaklaşık aynı düzeyde eksprese edildiği, CD16/CD32 kontrolle prime grupta yaklaşık aynı düzeyde eksprese edildiği, CD115 kontrolde eksprese edilirken prime grupta ekspresyonun baskılandığı, CD40; kontrolde bazal düzeye yakın eksprese edilirken prime grupta ekspresyonun arttığı (Celhar ve diğerleri, 2016),

- Fare BM-DM'lar 20 saat 1 μg/ml poli(I:C) ile prime edildikten sonra TNF-α kontrolde salgılanmazken prime grupta salgılanmasının çok az miktarda arttığı, İL-6 kontrolde salgılanmazken prime grupta salgılanmasının çok az miktarda arttığı, İL-10 kontrolde

salgılanmazken prime grupta salgılanmasının çok az miktarda arttığı (Celhar ve diğerleri, 2016),

- Fare BM-DM'lar 4 saat 1 μg/ml poli(I:C) ile prime edildikten sonra İL-12p40; kontrol grupta mRNA üretilmezken prime grupta mRNA üretiminin az miktarda arttığı, İL-10 kontrol grupta mRNA bazal düzeye yakın üretilirken prime grupta mRNA üretiminin az miktarda arttığı (Celhar ve diğerleri, 2016),

- Fare BM-DM'lar 24 saat 1 μg/ml poli(I:C) ile prime edildikten sonra İL-12p40 mRNA üretiminin kontrolde de prime grupta da yaklaşık aynı düzeyde bazal seviyeye yakın olduğu, İL-10 kontrol grupta mRNA bazal düzeye yakın üretilirken prime grupta mRNA üretiminin az miktarda arttığı (Celhar ve diğerleri, 2016),

- Fare deri altı tümör modelinde fareye tümör enjekte edildikten 5 gün sonra periton içine 50 mg poli(ICLC) [poli-L-lisinle stabilleştirilmiş poli(I:C)] injekte edildiğinde kontrol grubunda tümör dokusundan elde edilen makrofajlar CD206 eksprese edip iNOS düşük düzeyde üretirken poli (ICLC) injekte edilen farelerin tümör dokusundan elde edilen makrofajlar CD206 ekspresyonunda azalma ve iNOS üretiminde artma olduğu (B. Liu ve diğerleri, 2016),

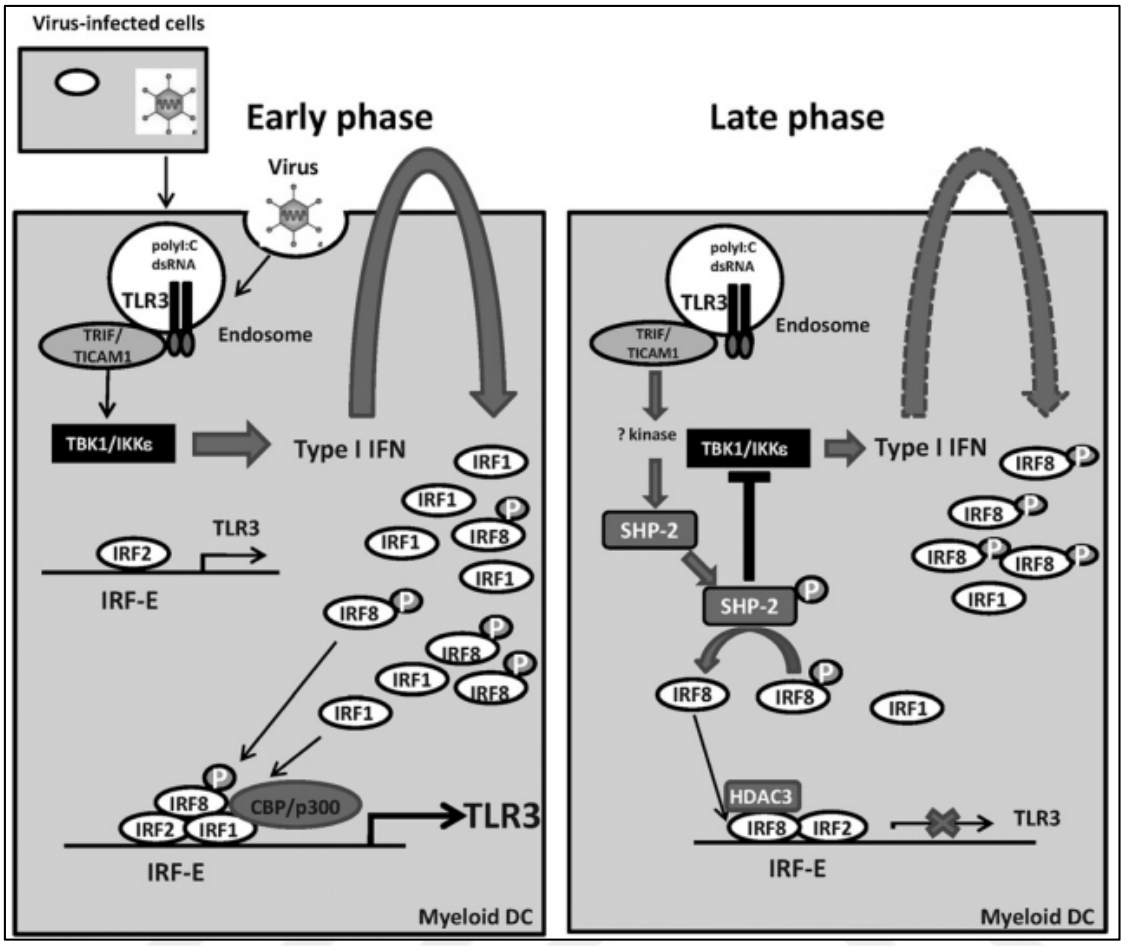
- Fare BM-DM'lar 24 saat 10 ng/ml ve 100 ng/ml poli (ICLC) ile prime edildikten sonra M1 belirteci kabul edilen iNOS, TNF-α ve İL-1β mRNA üretimi incelendiğinde, iNOS; kontrolde bazal seviyede mRNA üretilirken 10 ng/ml prime grubunda mRNA üretiminin arttığı 100 ng/ml grubunda mRNA üretiminin artışın daha fazla olduğu, TNF-α kontrolde bazal seviyede mRNA üretilirken 10 ng/ml prime grubunda mRNA üretiminin çok arttığı 100 ng/ml grubunda mRNA üretiminin artışın çok daha fazla olduğu, İL-1β kontrolde bazal seviyede mRNA üretilirken 10 ng/ml prime grubunda mRNA üretiminin çok arttığı 100 ng/ml grubunda mRNA üretiminin artışın çok daha fazla olduğu, CD206, Arg-1 ve Tim-1 mRNA üretiminin kontrolde, 10 ve 100 ng/ml prime grupta da bazal seviyede olduğu (B. Liu ve diğerleri, 2016),

- Fare BM-DM'lar TLR3 sinyal yolağı açısından incelenmek amacıyla 60 dk 100 ng/ml poli(ICLC) ile prime edildikten sonra analiz edildiğinde p65, TBK1 ve IRF-3; kontrolde fosforilasyon düzeyi bazal seviyede iken prime grupta fosforilasyon düzeyinin arttığı (B. Liu ve diğerleri, 2016),

- Fare peritoneal makrofajlar 1 saat boyunca 1 μg/ml ve 10 μg/ml poli I:C) ile prime edildikten sonra 24 saat kültüre edildiğinde İL-6 kontrolde salgılanırken 1 μg/ml prime grupta salınımının arttığı ve 10 μg/ml prime grupta salınımının daha fazla arttığı, TNF-α kontrolde salgılanırken 1 μg/ml prime grupta salınımının arttığı ve 10 μg/ml prime grupta salınımının daha fazla arttığı, MCP-1 kontrolde salgılanırken 1 μg/ml prime grupta salınımının arttığı ve 10 μg/ml prime grupta salınımının daha fazla arttığı (Lovelace ve diğerleri, 2013)

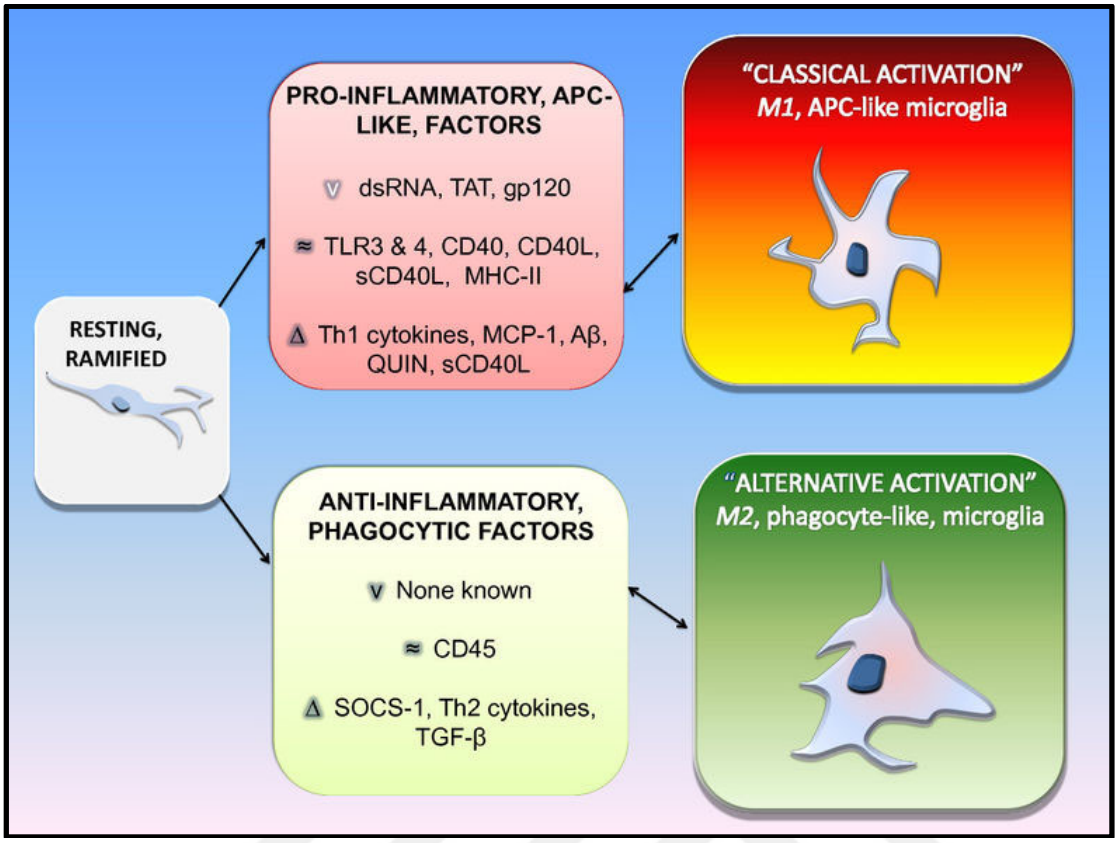
- İnsan BAL 24 saat 50 mg/ml poli(I:C) ile prime edildiğinde kontrol grubunda CXCL10(IP10) salınımı bazal seviyede iken prime grupta çok fazla miktarda arttığı (Todt ve diğerleri, 2013) bulunmuştur.

Tip-1 İFN'ların MD-DC'ler de TLR3 ekspresyonuna etkisinin mekanizması Resim 2.68'de Fragale ve diğerleri (2011) tarafından özetlenmiştir. Virüs yangılarının erken fazında dsRNA'nın ve kültür ortamında poli(I:C)'nin TLR3 tarafından tanınmasının tip-I İFN'ların salgılanmasını artırdığı ve salgılanan tip-I İFN'ların etkisi ile MD-DC'ler de TLR3 ekspresyonun arttığı ancak geç fazda TLR3 üzerinden tip-I İFN'ların salgılanmasını tetiklenmemesi nedeniyle TLR3 ekspresyonunda artış görülmediği ifade edilmektedir.



Resim 2.67. Tip-1 İFN'ların MD-DC'lerde TLR3 ekspresyonuna etkisinin mekanizması (Fragale ve diğerleri, 2011)

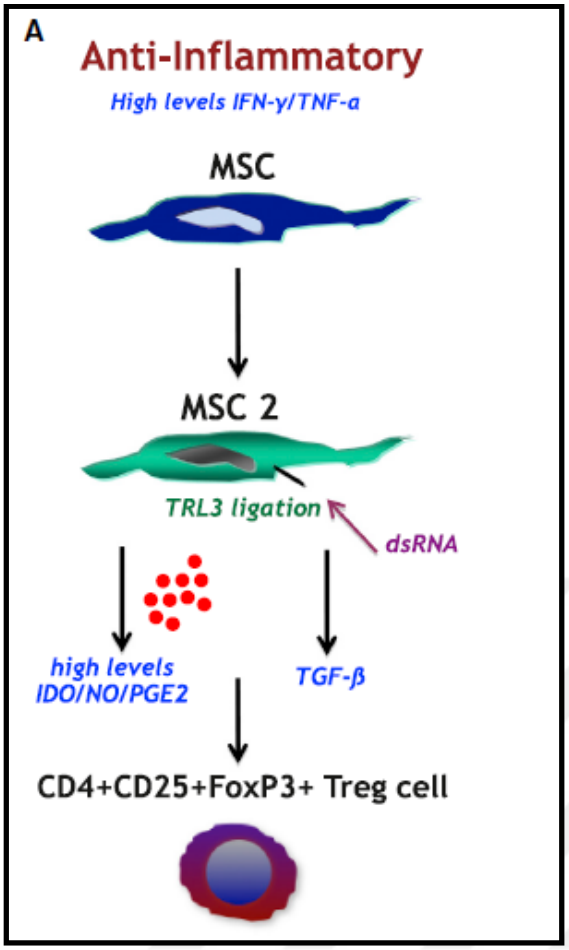
Salemi ve diğerleri (2011) tarafından Resim 2. 69'da şematize edildiği gibi mikroglialar HIV (Human Immunodeficiency Virus/İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü) enfekte oldukları zaman M1 benzeri bir fenotipe dönüştükleri, CD45 bağlanan antikorlarla uyarıldığı zaman M2 benzeri bir fenotipe dönüştükleri ve M2 fenotipindeki mikrogliaların HAD (HIV associated dementia) korunması ve tedavisinde rol oynayabileceği öne sürülmektedir.



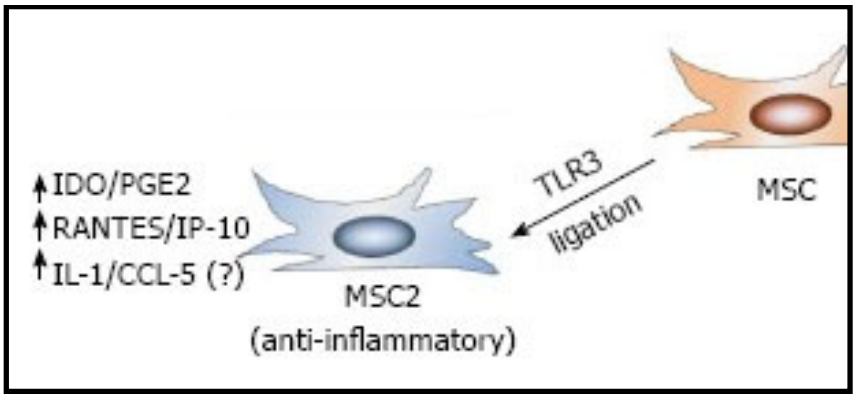
Resim 2.68. Mikrogliaların HIV enfeksiyonu sonrası M1 ve M2 plastisitesinin mekanizması (Salemi ve diğerleri, 2011)

MKH'ların TLR3 eksprese ettikleri (Liotta ve diğerleri, 2008), Aşağıda daha da detaylı değinileceği gibi MKH'ların TLR3 ve TLR4 üzerinden farklı doz ve sürede uyarımlarının "yangı başlatıcı MKH/MKH-1" ve "yangı söndürücü MKH/MKH-2" olmak üzere MKH'ları farklı yönlerde plastisitesine neden olduğu bulunmuştur.

Poli(I:C) ile TLR3 üzerinden MKH'ların "yangı söndürücü MKH/MKH2" dönüşümü Bernardo ve diğerleri (2013) tarafından Resim 2.70 ve Glenn ve diğerleri (2014) tarafından Resim 2.71'de şematize edilmeye çalışılmıştır.



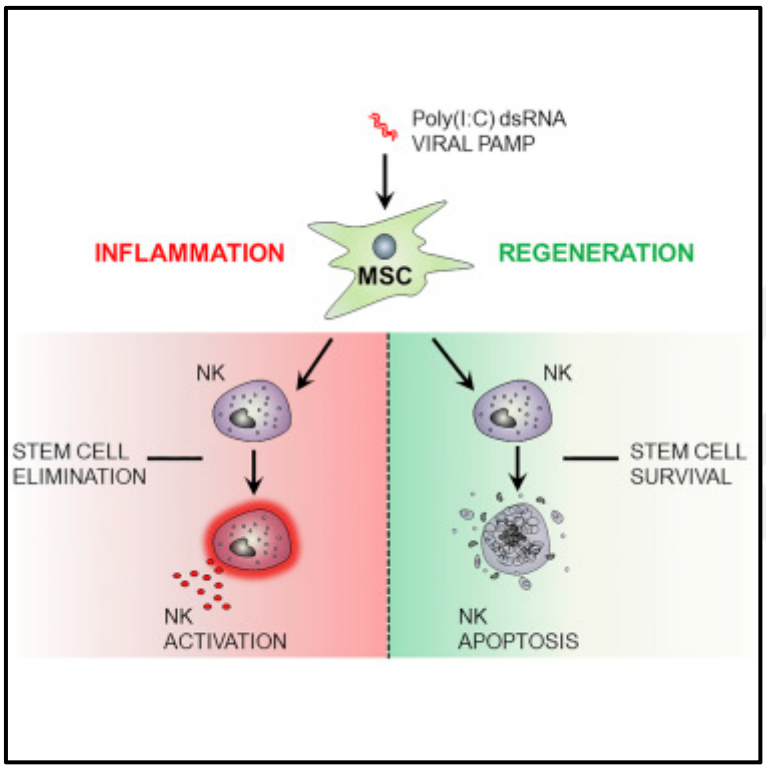
Resim 2.69. Yüksek doz TNF-α+İFN–γ ve poli(I:C) ile TLR3 üzerinden MKH2 plastisitesi ve direkt Treg oluşturma mekanizması (Bernardo ve diğerleri, 2013)



Resim 2.70. TLR3 üzerinden MKH2 plastisitesi (Glenn ve diğerleri, 2014)

DelaRosa ve Lombardo (2010) tarafından listelendiği gibi insan kaynaklı MKH'ların poli(I:C) ile prime edilmesinin adipojenik ve kondrojenik farklılaşmasına etkisi olmazken AT-MKH'larda osteojenik farklılaşmayı artırdığı, immunogenisiteyi etkilemediği, immün

süpresif fonksiyonu üzerinde farklı etkilerde bulunduğu, göçünü artırdığı, proliferasyonunu etkilemediği belirtilmektedir. Erken zaman noktalarında, poli(I:C) aktive MKH'ların NK hücre efektör fonksiyonunu geliştirmek için tip I interferon salgıladıkları, daha sonraki zamanlarda ise TGF-β ve İL-6 salgılayarak NK hücre efektör fonksiyonunu sınırladıkları ve yangısal yanıtları belirtilmektedir (Petri ve diğerleri, 2017)



Resim 2.71. MKH'ların poli(I:C) ile farklı zamanlarda prime edilmesinin NK fonksiyonlarına etkisi (Petri ve diğerleri, 2017)

Çizelge 2.7 ve Çizelge 2.8'de listelenen MKH'ların poli(I:C) ile prime edildiği çalışmalara detaylı olarak bakacak olursak;

- BM, AT, WJ (göbek kordonu whartonun jelli); plasenta kaynaklı MKH'lar karşılaştırıldığında, TLR3 mRNA seviyesinin BM>AT>WJ>plesenta şeklinde olduğu (X. Li ve diğerleri, 2014)

- İnsan BM-MKH'ların 24 saat boyunca poli(I:C) ile prime edilmesi sonucunda CD34(-), CD80(-), CD86(-), CD105(+) ile CD106(+) ekspresyonun da ve yağ, kıkırdak ile kemik dokusuna farklılaşması arasında kontrol grubu ile arasında fark olmadığı dolayısıyla

poli(I:C) ile prime edilmesinin immünofenotip ve farklılaşma potansiyeli etkilemeden hücre aktivasyonunu sağlayarak bazı sitokin ve kemokinlerin salınımını etkilediği (Liotta ve diğerleri, 2008),

- İnsan kaynaklı MKH'ların kısa süreli (1 saat) 1μg/ml TLR3 ligandı poli(I:C) ile prime edilmesi sonucunda (yıkanıp 48 saat sonra kültür medyumu toplanmış) MKH2'ye dönüştüğü, İL-6 kontrolde salgılanmazken prime grupta hafif düzeyde salgılandığı, İL-8'in kontrolde salgılanmazken prime grupta salgılandığı, İL-4'ün prime grupta bazal seviyede salgılanırken prime grupta çok az miktarda arttığı, CXCL10(IP10) ve CCL5 (RANTES) kontrol grupta salgılanmazken prime grupta yüksek miktarda salgılandığı, İL-1ra bazal seviyede salgılanırken prime grupta az miktarda arttığı, PGE bazal düzeyde salgılanırken prime grupta az miktarda arttığı ve TGF-β kontrol grupta salgılanırken prime grupta salınımının baskılandığı, IDO kontrol grupta mRNA üretimi olmazken prime grupta (yıkanıp 6 saat sonra analiz edilmiş) belirgin düzeyde arttığı (Waterman, Tomchuck, Henkle ve Betancourt, 2010),

- İnsan BM-MKH'ların 20 μg/ml poli(I:C) ile 8 saat prime edildiğinde kontrol grubuyla birlikte bazal düzeyde TSG-6 mRNA ürettiği (Kota ve diğerleri, 2014)

- İnsan BM-MKH'lar 20 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiğinde CXCL1 (GR0-α), ve CCL2 (MCP-1)'in kontrol grubu ve prime grupta aynı şekilde salgılamadığı, CXCL8/İL-8 kontrol grubunda salgılanmazken prime grupta bazal seviyede salgılandığı, İL-6 kontrol grubunda bazal düzeyde salgılanırken prime grupta salgılanmasının hafif düzeyde arttığı MIF kontrol grupta az miktarda salınırken prime grupta az miktarda arttığı (Kota ve diğerleri, 2014),

- İnsan BM-MKH'ların poli(I:C) ile 24 saat prime edildiğinde CXCL4 ve İL-1β'nın kontrol ve prime grubunda salgılanmadığı, TGF-β1'in kontrol ve prime grupta yaklaşık aynı düzeyde az miktarda salgılandığı, İL-6 ve İL-8'in kontrol grubunda salınımının bazal seviyede olmasına rağmen prime grupta salgılanmasının belirgin derecede arttığı, CXCL10 (IP10)'nin kontrol grubunda bazal seviyede olmasına rağmen prime grupta çok fazla miktarda arttığı (Liotta ve diğerleri, 2008),

- İnsan AT-MKH'lar da TLR2, TLR3, TLR4 ve TLR9 tespit edildiği, 24 saat boyunca 10 μg/ml PGN, 25 μg/ ml poli(I:C), 10 μg/ml LPS, 5 .g/ml flagellin ve 1 μg/ml CpG-ODN 2006 ile prime edildikten sonra sitokin mRNA seviyesi incelendiğinde, poli(I:C) grubunda İL-6 ve CCL2/MCP-1; kontrol grubunda üretilmekle birlikte prime grupta mRNA üretiminin daha da arttığı, TNF-α, İL-1β ve CCL8/MCP-2; kontrol grubunda hafif üretilmekle birlikte prime grupta mRNA üretiminin belirgin arttığı, VGEF; kontrol ve prime grubunda aynı düzeyde mRNA üretildiği, CCL20/MIP3-α ve CXCL6/GCP-2; kontrol grubunda hafif üretilmekle birlikte prime grupta mRNA üretiminin arttığı, İL-12β; kontrol grubunda bazal seviyeye yakın üretildiği prime grupta mRNA üretiminin hafif düzeyde arttığı (Hwa Cho, Bae ve Jung, 2006),

- İnsan BM-MKH'lar 50 μg/ml poli(I:C) ile 24 saat prime edildiğinde İL-6; kontrol grubunda mRNA üretilirken prime grupta mRNA üretiminin çok fazla miktarda arttığı (Opitz ve diğerleri, 2009),

- Farede DSS ile oluşturulan kolit modelinde (dextran sulfate sodium induced colitis) kolit gelişmesini takiben 1 saat (kısa süreli) 1 μg/ml poli(I:C) ile muamele edilmiş insan UC-MKH'lar fareye periton içine verildiğinde, poli(I:C) ile muamele edilen UC-MKH'ların, muamelesiz UC-MKH'lar kıyasla daha fazla klinik ve histopatolojik iyileşmeye katkıda bulunduğu (Fuenzalida ve diğerleri, 2016),

- İnsan UC-MKH'lar 1 saat (kısa süreli) 1 μg/ml poli(I:C) ile muamele edildikten sonra yıkanıp 24 saatlik kültür sonrası incelendiğinde, IDO; kontrol grubunda bazal seviyede iken, prime grupta mRNA üretiminin belirgin derecede arttığı, İL-6; kontrol ve prime grubunda mRNA üretiminin yaklaşık aynı düzeyde bazal seviyeye yakın olduğu, İL-8; kontrol grubunda bazal seviyeye yakınken prime grupta mRNA üretiminin arttığı (Fuenzalida ve diğerleri, 2016),

- İnsan BM-MKH'lar 48 saat poli(I:C) 1 μg/ml ile uyarıldıktan sonra PGE'nin kontrol grubu ile prime grupta aynı düzeyde salgılandığı (Gray ve diğerleri, 2015),

- Fare BM-MKH'lar 24 saat boyunca 50 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiği zaman TGF-β'nın kontrol grubunda yüksek miktarda salgılanırken prime grupta salgılamasının daha da arttığı, İL-6'nın kontrol grupta bazal seviyeye yakın salgılanırken prime grupta salgılanmasının hafif miktarda arttığı, İFN-β'nın kontrol grupta bazal seviyeye yakın salgılanırken prime grupta salgılanması hafif miktarda arttığı, İL-1β'nın kontrol grupta bazal seviyeye yakın salgılanırken prime grupta salgılanmasının hafif miktarda arttığı, İFN-γ'nın kontrol ve prime grupta yaklaşık aynı düzeyde bazal seviyeye yakın salgılandığı, İL-10'nun kontrol grupta bazal seviyeye yakın salgılanırken prime grupta salgılanmasının az miktarda arttığı (X. Chen, Zhang, Zhou ve Zhou, 2014),

- Fare BM-MKH'lar 24 saat boyunca 50 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiği zaman akım sitometride yüzey belirteçleri açısından incelendiğinde kontrolle prime grup arasında değişiklik görülmediği (negatif olanlar: CD11b, CD34, MHC sınıf-II, CD86 / pozitif olanlar: CD44, Sca-1, MHC sınıf-I, CD80) (X. Chen ve diğerleri, 2014),

- İnsan burun mukozasından elde edilen MKH'lar 1 μmol poli(I:C) ile 2, 4, 8 ve 24 saat prime edildiği zaman, İFN-α ve İFN-β'nın kontrol grubunda salgılanmadığı ama prime grupta 8 saatte yüksek seviyede salgılandığı ve daha sonrada salgılanmaya devam etmekle birlikte 24 saatte salgılanmasının azaldığı, İL-6'nın 4 saatte kontrol grupta bazal seviyeye yakın prime grupta hafif düzeyde salgılandığı, 24 saatte kontrol grubunda salgılandığı prime grupta salgılanmasının çok daha fazla arttığı, İL-8'in 4 saatte kontrol grupta bazal seviyede salgılandığı, prime grupta hafif düzeyde salgılandığı, 24 saatte kontrol grubunda bazal seviyeye yakın salgılandığı prime grupta salgılanmasının daha fazla arttığı, CXCL10 (IP10) 4 saatte kontrol ve prime grupta salgılanmadığı, 24 saatte kontrol grubunda salgılanmadığı prime grupta salgılanmasının belirgin derecede arttığı, MIF 4 saatte kontrol ve prime grupta salınımının yaklaşık aynı düzeyde arttığı 24 saatte kontrol ve prime grupta salınımının yaklaşık aynı düzeyde daha fazla arttığı, TGF-β'nın 4 saatte kontrol ve prime grupta yaklaşık aynı düzeyde az miktarda salgılandığı, 24 saatte kontrol ve prime grubunda salınımının 4. saate oranla daha yüksek olmasına rağmen prime grubunda salınımının baskılandığı (Petri ve diğerleri, 2017),

- İnsan burun mukozasından (nasal/turbinate) elde edilen MKH'lar yangıdan uzakta olduğu andaki cevabını taklit etmek amacıyla 1 saat 1 μg/ml poli(I:C) ile prime edildikten sonra yıkanıp 48 saat sonra analiz edildiğinde TLR3 pozitif hücrelerin yüzdesinin kontrol ve prime grupta aynı düzeyde olduğu, İL-6 kontrol grubunda salgılanmakla birlikte prime grupta hafif düzeyde arttığı, İL-8'in kontrol grubunda salgılanmakla birlikte prime grupta hafif düzeyde arttığı, GM-CSF, İL-10, İL-12p70, İL-1α, İL-1β ve TNF–α İL-4 ve CXCL10 (IP10) kontrol grubunda ve prime grupta aynı düzeyde bazal seviyeye yakın olduğu CCL5 (RANTES)'in kontrol grubunda ve prime grupta aynı düzeyde hafif miktarda salgılandığı (Hwang ve diğerleri, 2014),

- İnsan burun mukozasından elde edilen MKH'lar ve BM-MKH'lar 4 saat boyunca 1 μg/ml poli(I:C) ile prime edilmiş, İL-6 ve İL-8 kontrol gurubunda bazal seviyeye yakın iken prime grubunda üretiminde hafif artış, tip-I İFN'nın kontrol grubunda bazal seviyeye yakın iken prime grupta belirgin artış olduğu, p38-MAPK, NF-κB ve IR-3 üretiminde artış olduğu (Dumitru, Hemeda, Jakob, Lang ve Brandau, 2014),

- İnsan burun mukozasından elde edilen MKH'ların 24 saat boyunca 1 μg/ml poli(I:C) ile prime edilmiş İL-6 ve İL-8 kontrol gurubunda bazal seviyeye yakın iken prime grupta çok belirgin düzeyde arttığı, tip-1 İFN'ların kontrol gurubunda bazal seviyeye yakın iken prime grupta salgılanmasının azalarak az miktarda salgılandığı (Dumitru ve diğerleri, 2014),

- İnsan UC-MKH'lar poli(I:C) ile (doz belirtilmemiş) 4 saat, 12 saat, 24 saat, 72 saat, 120 saat prime edildikten sonra analiz edildiğinde, İFN-α 4. saate kontrol grubunda bazal seviyede iken prime grupta arttığı, İFN-β kontrol grubunda bazal seviyede iken prime süresi artıkça arttığı 4. saate hafif düzeyde 24. saatte daha fazla artış, CXCL10 (IP10) kontrol grubunda bazal seviyede iken 4. saatte hafif düzeyde arttığı, 24. saatte daha fazla arttığı 120. saatte düştüğü, TGF-β'nın kontrol grubunda ve 4. saatte aynı şekilde hafif düzeyde salgılandığı, 24. saatte arttığı ve daha sonra aynı düzeyde devam ettiği, CCL1'in kontrol grubunda bazal seviyede iken 4. saatte hafif düzeyde arttığı 24. saatte daha fazla arttığı daha sonra düştüğü, CCL2 (MCP-1) kontrolde üretilirken 4. saatte baskılandığı 24.-72. saatte de tekrar artarak kontrolle aynı seviyeye geldiği, CCL3 (MIP-1α) kontrolde

bazal seviyede iken 4. saatte arttığı, CCL4 (MIP-3β) kontrol grubunda bazal seviyede iken 4. saatte hafif düzeyde arttığı, 24. saatte hafif düzeyde arttığı, İL-1β kontrol grubunda bazal seviyede iken 4. saatte arttığı 24. saatte arttığı, İL-8 kontrol grubunda bazal seviyede iken 4. saatte hafif arttığı 24. saatte baskılandığı, İL-10 kontrol grubunda bazal seviyede iken 4. saatte hafif arttığı süre artıkça seviyesinin de arttığı 24. daha fazla salgılandığı, İL-12 kontrol grubunda bazal seviyede iken 4. saatte hafif arttığı 12-24 saatlerde daha fazla arttığı daha sonra düştüğü, İFN-γ kontrolde bazal seviyede iken 4. saatte prime grubunda hafif düzeyde arttığı, VGEF kontrol grubunda bazal seviyede iken 4. saatte prime grupta salgılanmadığı, 72 saat sonra CD74 (HLA-II gamma zinciri/HLA-DR antijenle ilgili değişmez zincir), CD80, CD86'nın kontrolle yaklaşık aynı şekilde eksprese edilmediği CD105 kontrolle yaklaşık aynı şekilde eksprese edildiği (L. Zhang ve diğerleri, 2015),

- İnsan AT-MKH'lar 1 μg/ml poli(I:C) prime edildikten sonra 30 dk içinde Iκ-Bα parçalanması gerçekleştiği (NF-κB yolağının aktive olduğunu düşündürmektedir), COX2 proteini kontrol grubunda üretilmezken 72 saat 10 μg/ml poli(I:C) prime edildikten sonra üretildiği, İL-6 kontrol grubunda az miktarda üretilirken 0,1μg/ml, 1μg/ml ve 10 μg/ml prime grubunda doz artıkça arttığı, triptofan konsantrasyonun 10 μg/ml poli(I:C) prime edildikten sonra azaldığı, kynurenin konsantrasyonun kontrolde bazal seviyede iken prime grupta çok fazla arttığı, 72 saat 1 μg/ml poli(I:C) prime edildikten sonra 1 μg/ml LPS prime gruptan çok daha yüksek miktarda İL-6 ve İL-8 ürettiği ancak İL-2, İL-4, İL-5, İL-1β, TNF-α, İL-12, İFN-γ ve İL-10 üretmedikleri (E. Lombardo ve diğerleri, 2009),

- İnsan AT-MKH'lar 72 saat 1 μg/ml poli(I:C) prime edildikten sonra akım sitometri ile analiz edildiğinde HLA-I kontrol grupta hafif düzeyde arttığı prime grupta daha fazla arttığı, HLA-II kontrol ve prime grupta aynı düzeyde arttığı, CD80 ve CD86'nın kontrol ve prime grupta eksprese edilmediği (E. Lombardo ve diğerleri, 2009),

- Domuz BM-MKH 24 saat 0,8–20 μg/ml poli(I:C) prime edilip hücre süpernatantı toplandıktan sonra incelendiğinde İL-6 kontrol grubunda bazal seviyeye yakınken prime grupta doz artıkça daha fazla olmak üzere salgılanmasının arttığı 0,8 ve 4 μg/ml salgılanırken 20 μg/ml salınımının daha da arttığı, İL-11 kontrol grubunda bazal seviyeye

yakınken prime grupta doz artıkça daha fazla olmak üzere üretiminin arttığı 0,8 ve 4 μg/ml salgılanırken 20 μg/ml salınımının daha da arttığı, TNF-α'nın kontrol grubunda bazal seviyede iken prime grupta (sadece 20 μg/ml) yüksek düzeyde üretildiği, HGF mRNA üretiminin kontrolde ve 0,8–20 μg/ml poli(I:C) prime bütün gruplarda aynı şekilde bazal seviyeye yakın olduğu, VGEF mRNA üretiminin kontrolde bazal seviyede iken 4 ve 20 μg/ml prime grupta arttığı, İL-1α mRNA üretimi kontrolde bazal seviyede iken 20 μg/ml poli(I:C) prime grupta hafif düzeyde arttığı, İL-10 mRNA üretimi kontrolde bazal seviyede iken ve 4 μg/ml prime grupta hafif düzeyde arttığı, TLR3 mRNA üretiminin kontrolde olduğu 4 μg/ml prime grupta arttığı (Mastri ve diğerleri, 2012),

- İnsan BM-MKH'lar 24 saat ve 48 saat kültür edildiğinde TLR3 üretiminin arttığı, 48 saat 25 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiğinde İL-6'nın kontrolde fazla miktarda salındığını prime grupta salınımının çok daha fazla arttığı (LPS ile primedan daha az), İL-1β'nın kontrolde salındığını prime grupta arttığı (LPS ile primedan daha fazla), sHLAG'nin kontrolde salındığını prime grupta çok hafif arttığı (LPS ile prime grubuyla yaklaşık aynı), İL-8'in kontrolde salındığını prime grupta çok fazla arttığı (LPS ile primedan daha az), PGE2'nin kontrolde salındığını prime grupta arttığı (LPS ile primedan daha fazla), VEGF'in kontrolde salındığını prime grupta arttığı (LPS ile primedan daha az), TGF-β'nın kontrol grupta salındığı prime grupta baskılanarak salınımının azaldığı (LPS ile prime grubuyla yaklaşık aynı), HLA-I (MHC sınıf-I) kontrolde eksprese edildiği, prime grupta ekspresyonun arttığı (Giuliani ve diğerleri, 2014),

- At BM-MKH'larında 1 saat 10 μg/ml poli(I:C) ile prime edildikten sonra yıkanıp 4 saat sonra analiz edildiğinde CXCL10(IP10), İL-6 ve İL-8 mRNA üretiminin kontrole göre prime grupta hafif düzeyde arttığı, CCL2 (MCP-1) mRNA üretiminin kontrole göre prime grupta daha fazla arttığı bu özellikleri ile bunların MKH2 olarak adlandırıldığı (Cassano ve diğerleri, 2018),

- Fare AT-MKH 1 saat 10 μg/ml of poli(I:C) prime edildikten sonra CCL2 (MCP-1) kontrol grupta salgılarken prime grupta salınımının arttığı (Johnson ve diğerleri, 2017),

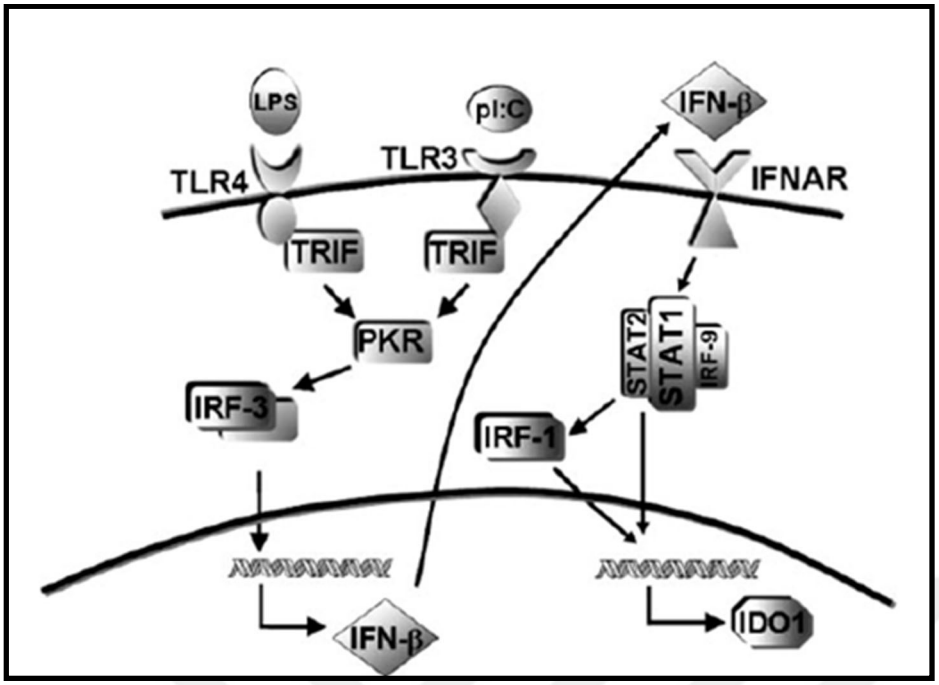
- İnsan BM-MKH 6 saat 20 μg/ml poli(I:C) ile prime edildikten sonra yıkanmış ve 24 saat sonra analiz edilmiş, NF-κB'nin olduğu, İL-6 ve İL-8 kontrolde az miktarda üretilirken prime grupta az miktarda arttığı, CCL5 (RANTES) kontrol grupta bazal seviyede iken prime grupta arttığı ve CXCL10 (IP10) kontrolde üretilmezken prime grupta salınımının arttığı (Rashedi, Gomez-Aristizabal, Wang, Viswanathan ve Keating, 2017),

- İnsan BM-MKH'lar 24 saat 25 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiğinde İL-6 mRNA kontrol grubunda bazal seviyeye yakın düzeyde üretildiği prime grubunda hafif yüksek düzeyde üretildiği, İL-8 mRNA kontrol grubunda ve prime grupta bazal seviyeye yakın düzeyde üretildiği, CCL5 (RANTES) mRNA kontrol grubunda bazal seviyeye yakın düzeyde üretildiği prime grubunda hafif derecede daha fazla düzeyde üretildiği, TNF–α ve İFN-β mRNA kontrol grubunda ve prime grupta bazal seviyeye yakın üretildiği (Raicevic ve diğerleri, 2017),

- İnsan BM-MKH'larda triptofan parçalanma ürünü kinurenin (kynurenine) serbest bırakılması incelendiğinde kontrol grubunda bırakılmadığı, 50 μg/ml poli(I:C) ile 24 saat prime edildiğinde prime grupta serbest bırakılmasının arttığı, 72 saat sonra kontrol grubunda bazal seviyede serbest bırakılırken prime grupta serbest bırakılmasının zaman geçtikçe daha da arttığı (Opitz ve diğerleri, 2009),

- İnsan BM-MKH'larda IDO mRNA üretimi kontrol grubunda bazal seviyede iken 50 μg/ml poli(I:C) ile 24 saat prime edildiğinde mRNA üretiminin arttığı (Opitz ve diğerleri, 2009),

- Dolayısıyla Opitz ve diğerleri (2009) tarafından ise Resim 2.73'de insan BM-MKH'ların 24 saat boyunca 50 μg/ml poli (I;C) ile TLR3 üzerinden ve 5 μg/ml (yüksek doz) LPS ile TLR4 üzerinden prime edilmesinin, PKR ve IRF-3 transkripsiyon faktörünün aktive olmasına, İFN-β sentezine, bununda reseptörüne bağlanması ile IRF-1 transkripsiyon faktörünün aktive olmasına ve IDO sentezine neden olduğu gösterilmiştir.



Resim 2.72. MKH'ların TLR3 ve TLR4 üzerinden uyarımı ile IDO üretim mekanizması (Opitz ve diğerleri, 2009)

Başka bir çalışmada ise;

- 48 saat boyunca poli(I:C) ile 0,02-20 μg/ml dozunda prime edilen insan BM-MKH'lar incelenmiş olup, BM-MKH'lar da İL-6; kontrol grubunda salgılanırken 2 μg/ml yaklaşık aynı miktarda salgılanmakta 20 μg/ml da ise hafif miktarda arttığı, CCL5 kontrol grubunda bazal seviyede olmakla birlikte 2 μg/ml ve 20 μg/ml salgılanmasında hafif artış olduğu (Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009),

- 48 saat boyunca 20 μg/ml poli(I:C) ile a prime edilen insan BM-MKH'lar İL-12p75 kontrol ve prime grupta salgılanmadığı, TNF-α'nın kontrol ve prime grupta salgılanmadığı, İL-6'nın kontrolde salgılandığı prime grupta arttığı (Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009),

- 24 saat boyunca poli(I:C) ile 20 μg/ml dozunda prime edilen insan BM-MKH'lar da İL-8; kontrol grubunda salgılanmazken prime grupta salgılanmasının arttığı, İL-1β; kontrol grubunda bazal düzeyde salgılanırken prime grupta çok hafif düzeyde arttığı ve İL-6;

kontrol grubunda salgılandığı prime grupta salınımının artırdığı (Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009),

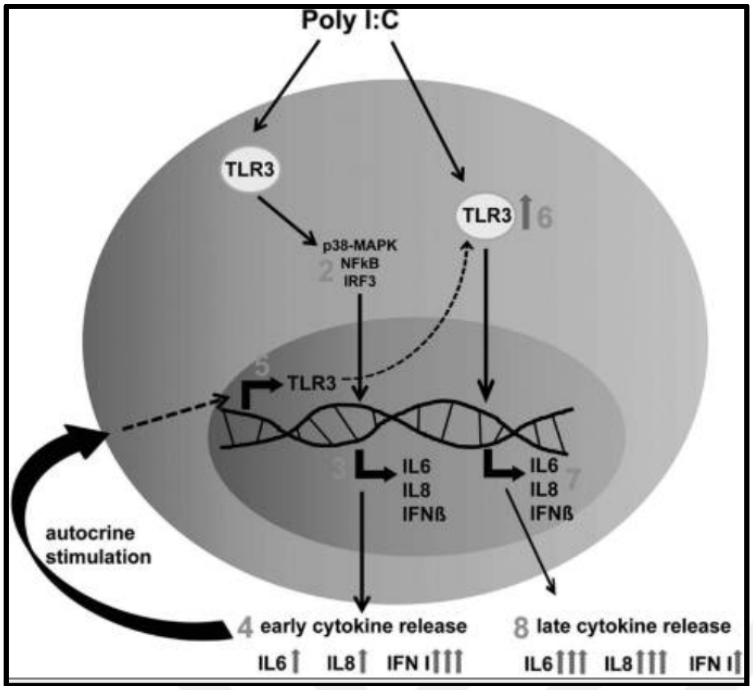
- 20 saat boyunca 20 μg/ml poli(I:C) ile prime edilen insan BM-MKH mRNA incelenmiş olup, BM-MKH'lar da İL-8; kontrol grubunda mRNA üretilmezken prime grupta üretiminin arttığı (Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009),

- 6 saat boyunca 20 μg/ml poli(I:C) ile prime edilen insan BM-MKH'lar incelenmiş olup, İL-12A kontrol grubunda mRNA üretimi bazal seviyede iken prime grupta mRNA üretimi hafif düzeyde arttığı, TNF-α kontrol grubunda mRNA üretilmezken prime grupta mRNA üretildiği, CCL5 kontrol grubunda mRNA üretilmezken prime grupta mRNA üretildiği, İFN-β kontrol grubunda mRNA üretilmezken prime grupta az miktarda mRNA üretildiği, ve iNOS kontrol ve prime grupta da üretilmediği (Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009),

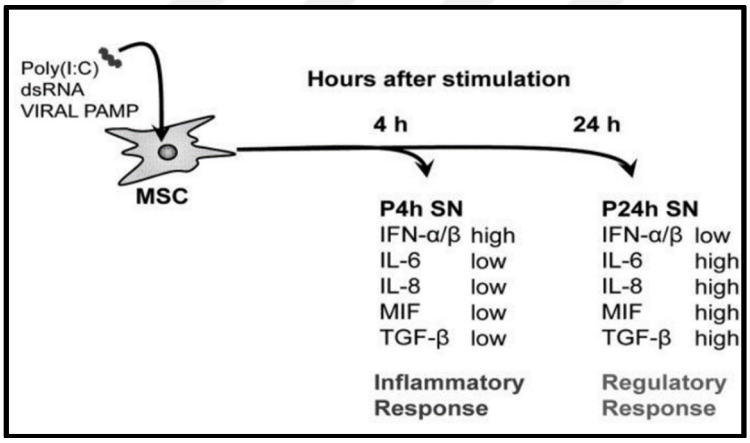
Ek-3'de yukarda bahsedilen çalışmalardaki 30 dk-8 saat arasında (kısa süreli) 1-20 μg/ml arasındaki dozlarda (düşük doz) poli(I:C) ile prime edilen farklı doku kaynaklı MKH'lar tarafından üretilen immün moleküller listelenmiştir.

EK-6 ve Ek-7'de yukarda bahsedilen çalışmalardaki 18-72 saat arasında (uzun süreli) 0,1-50 μg/ml arasındaki dozlarda (düşük ve yüksek doz) poli(I:C) ile prime edilen farklı doku kaynaklı MKH'lar tarafından üretilen immün moleküller listelenmiştir.

Yukarda detaylarına değinilen ve Çizelge 2.7 ve Çizelge 2.8'de listelenen çalışmalarda belirtildiği ve Dumitru ve diğerleri (2014) tarafından Resim 2.74'de ve Petri ve diğerleri (2017) tarafından Resim 2.75'de şematize edildiği gibi MKH'ların poli(I:C) ile kısa süreli prime edilmesi tip-1 İFN'ların yüksek düzeyde, İL-8, İL-6, MIF ve TGF-β'nın düşük düzeyde salgılanmasına ve anti viral immün cevabın oluşmasına, MKH'ların poli(I:C) ile uzun süreli prime edilmesi tip-1 İFN'ların düşük düzeyde, İL-8, İL-6, MIF ve TGF-β'nın yüksek düzeyde salgılanmasına ve regülatör cevabın oluşmasına neden olduğu öne sürülmektedir.



Resim 2.73. MKH'ların poli(I:C) ile farklı sürelerde prime edilmesinin MKH'lardan İL-6, İL-8 ve tip-1 İFN salgılaması üzerine etkisinin mekanizması (Dumitru ve diğerleri, 2014)



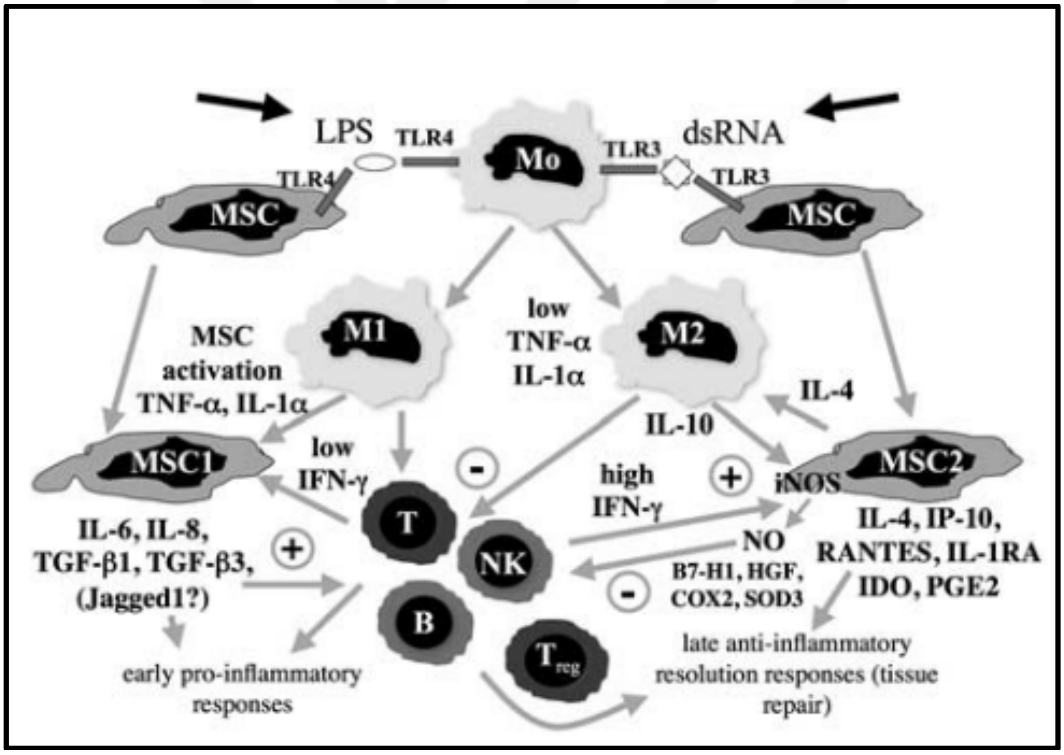
Resim 2.74. MKH'ların poli(I:C) ile farklı sürelerde prime edilmesinin MKH'ların plastisitesi üzerine etkisi (Petri ve diğerleri, 2017)

Özetle EK-6 ve EK-7'de listelendiği gibi 18-48 saat arasında uzun süreli poli(I:C) ile TLR3 üzerinden MKH'nın uyarılması, MKH'lardan İL-1β, İL-6, CCL5 (RANTES), CCL8 (MCP2), CCL20 (MIP-3α), CXCL6 (GCP-2), CXCL8 (İL-8), CXCL10 (IP10), MIF, TNF-

α, VGEF ve TLR3 üretiminde artmaya, TGF-β, İL-12 hafif miktarda artışa, IDO, PGE2, CXCL1 (GR0), CXCL4 salgılanmamasına neden olduğu gösterilmiştir.

EK-4 ve EK-5'de özetlendiği gibi 1-8 saat arasında kısa süreli poli(I:C) ile TLR3 üzerinden insan BM ve AT-MKH'nın uyarılması, MKH'lardan IDO, PGE-2, İL-1ra, İL-4, CCL5 (RANTES) ve CXCL10 (IP10) üretimini artırdığı, TRAIL, TNF-α, İFN-β, iNOS, TSG-6, İL-12, CCL5, CXCL8(İL-8) hafif düzeyde üretildiği, TGF-β salınımının azaldığı bulunmuştur.

M. Krampera (2011) tarafından ise Resim 2.76'da şematize edildiği ve hem direkt hem de makrofajlar üzerinden dolaylı yoldan etkiyle T lenfositlerin baskılanmasına onları Treg'lere dönüştürülmesine, B ve NK hücrelerin baskılanmasına neden olduğu teorilenmiştir.



Resim 2.75 TLR3 ve TLR4 üzerinden prime edilen MKH'ların plastisitesi ve makrofaj plastisitesi üzerine etki mekanizması M. Krampera (2011)

MKH'ların TLR3 üzerinden prime edilmesinin makrofajların plastisitesi üzerindeki etkisi ko-kültür çalışmalarında gösterilmemiştir. Yapılan ko-kültür çalışmaları;

- İnsan BM-MKH'lar 24 saat 20 mg/ml poli(I:C) ile prime edildikten sonra 1 saat 4º insan PBMC, THP-1 ve U937 hücre dizisi ile inkübe edildiğinde yapışan hücre sayısının kontrole göre çok yüksek olduğu, poli(I:C) ile uyarımın insan BM-MKH'larda bir adezyon sağlayan molekülü olan HA ekspresyonun artmasına ve direkt ko-kültürde insan PBMC, THP-1 ve U937 hücre dizilerine ait hücrelerin MKH'ların yüzeyindeki HA'ya yapışmasına neden olduğu (Kota ve diğerleri, 2014),

- İnsan BM-MKH'lar 18 saat 20 mg/ml poli(I:C) ile prime edildikten sonra, 18 saat LPS ile muamele edilen fare splenositleri ile 1 saat direkt ko-kültür yapılmış TNF-α salınımı kontrol ve prime MKH'larla ko-kültür edilen grupta da aynı düzeyde baskılanmış (Kota ve diğerleri, 2014),

- İnsan BM-MKH'lar 48 saat poli(I:C) 1000 ng/ml ile uyarıldıktan sonra süpernatant toplanıp insan PBMC'den elde edilen monositlerin GM-CSF ile muamelesi ile oluşturulan makrofajların üzerine eklendikten sonra 48 saat inkübe edilip süpernatant toplanmış TNF-α salgılanmasının uyarımsız grupla aynı düzeyde olduğu (Gray ve diğerleri, 2015),

- Fare AT-MKH 1 saat 10 μg/ml of poli(I:C) prime edildikten sonra kültür medyumu toplanmış bunun periton içinde thioglikolate enjekte edilen farelerden periton içinden elde edilen makrofajların kemotaksisini arttırdığı (Johnson ve diğerleri, 2017),

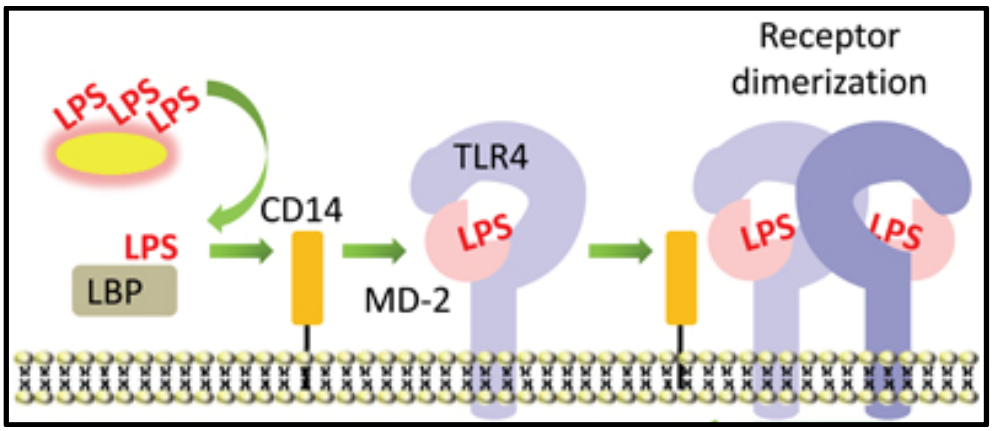
- Fare yara modelinde 1 saat 10 μg/ml of poli(I:C) prime edilen fare AT-MKH'larla tedavi edilen farelerde yara bölgesinde CD192/CCR2+ makrofajların migrasyonun arttığı, bunların arginaz eksprese ettikleri ve M2 tipinde olduğu (Johnson ve diğerleri, 2017),

- TO2 (kardiyomyopatik sıçan) sıçanlara 24 saat 4 μg/ml poli(I:C) prime edilen domuz BM-MKH ile tedavi edildikten 1 ay sonra kalp dokusu incelendiğinde, İL-1β mRNA üretiminin prime MKH ile tedavi olan grupta uyarımsız MKH ile tedavi edilen kontrol grubuna göre daha fazla baskılandığı, TNF-α mRNA üretiminin uyarımsız MKH ile tedavi edilen kontrol grubunda ve prime MKH ile tedavi olan grupta aynı düzeyde

baskılandığı, İL-10 mRNA üretiminin prime MKH ile tedavi olan grupta uyarımsız MKH ile tedavi edilen kontrol grubuna göre daha fazla arttığı (Mastri ve diğerleri, 2012).

2.33.3. TLR4 ve LPS

Sinyal yolakları ve makrofajlardan salgılanan moleküller/İFN-□ konusunda kısaca değinilen birçok hücre tipinde bulunan TLR4 bir hücre yüzeyi reseptörü olduğu, LPS'in birçok Gr (-) bakterinin hücre duvarının dış kısmında bulunduğu ve lipid A molekülü (endotoxin), 3-deoxy-D-manno-oct-2-ulosonik asid'den (Kdo) oluşan çekirdek şeker kısmı ve tekrarlayan oligosakkaridlerden oluşan "O ünitesi" olmak üzere üç kısımdan oluştuğu, TLR4'ün LPS'in lipid A molekülüne karşı yüksek afiniteye sahip olduğu, Maeshima ve Fernandez (2013) tarafından Resim 2.77'de şematize edildiği gibi LPS'in LBP'ye (LPS Bağlayan Proteine/The LPS Binding Protein) bağlandığı, hücre yüzeyinde CD14 aracılığı ile tutunduğu ve TLR4 doğru taşındığı TLR4'nun LPS ile oluşturulan aktivasyon için LPS'in tek başına TLR4 bağlanması yeterli olmadığı, hücre yüzeyinde TLR4 ile fiziksel bağlantıda olan MD2 (Miyeloid Farklılaşma- 2) aracılığı ile LPS tanıdığı ve TLR4 dimerize olarak sinyal yolaklarını tetiklediği gösterilmiştir.



Resim 2.76. LPS'in TLR4 tarafından tanınmasının mekanizması (Maeshima ve diğerleri, 2013)

TLR4 LPS'e ek olarak, aynı zamanda doku yaralanması sonucu üretilen endojen molekülleri de (DAMPs) bağladığı dolayısıyla hem bulaşıcı hem de yangısal olmayan uyaranlara karşı yangısal bir yanıt oluşturduğu bulunmuştur (Medzhitov, Preston-Hurlburt ve Janeway, 1997; Molteni, Gemma ve Rossetti, 2016; Pålsson□McDermott ve O'neill, 2004; Sica ve diğerleri, 2012; L. Yu, Wang ve Chen, 2010).

Sica ve diğerleri (2012) tarafından makrofajlardaki sinyal yolağı şematize edilen LPS/TLR4 üzerinden gelen sinyaller hem MyD88 bağımlı ve MyD88 bağımsız olarak tanımlanan iki ana TLR sinyal yolağı üzerinden de etki gösterir. MyD88 bağımlı yolak NF-κB transkripsiyon faktörünün aktive olmasına neden olarak makrofajları M1 yönünde plastisitesine neden olup CD80/B7.1 gibi ko-stimülatör moleküllerin ekspresyonunu, NO ve ROS üretimini ve sepsiste yangı akut fazında sitokin fırtınası olarak adlandırılan TNF-α, İL-1 ve İL-18 gibi yangıya neden olan sitokinlerin üretimi ve birçok kemokin reseptör ligandının salgılanmasını, IRF3 üzerinden İFN-β üretimi ile IRF-5 aktivasyonu ile İL-12 ve İL-23, ayrıca İFN- ile birlikte STAT-1 aktivasyonu sağladığı gösterilmiştir (Amura ve diğerleri, 1998; Qian Li ve Cherayil, 2003; Molteni ve diğerleri, 2016; Sica ve diğerleri, 2012). İmmün kompleksler ve TLR agonistleri (LPS) ile birlikte aktive edilmiş makrofajların bir alt grubuna da M2b olarak adlandırıldığından bahsedilmişti (Yue ve diğerleri, 2017).

Priming ve tolerans paradigmasının, hem akut hem de kronik yangısal hastalıkların patogenezinde önemli etkilere sahip olduğu ve hastalığın evresine göre mikro çevrede bulunan LPS miktarının değişiklik gösterdiği bilinmektedir. Yaygın endotoksik şok ve akut sepsis sırasında 1-300 ng/ml arasında değişen LPS dozunun PGE2, TNF-α, İL-1β, İL-6, İFN-γ gibi sitokinlerin salınımı ile güçlü bir sitokin fırtınasına ve akut yangısal yanıta neden olduğu ayrıca LPS'in inhibitör bir geri besleme etkisi ile İL-1ra, İL-4, İL-10 ve İL-13 gibi yangıyı önleyici sitokinleri uyardığı bilinmektedir (Dofferhoff ve diğerleri, 1991; Kawai ve Akira, 2007; Offenbacher ve Salvi, 1999; Scheifele, Olsen ve Pendray, 1985). Mikro çevrede bulunan LPS dozunun makrofajların aktivasyonunda önemli rol oynadığı, çok düşük doz LPS (5 pg/ml), makrofajlarda yangıya yol açan mediyatörlerin ekspresyonunu tetiklemediği, yüksek doz LPS'in (100 ng/ml) makrofaj aktivasyonunu ve makrofajlardan yangı ile ilgili mediyatörlerin salınımını tetiklediği gösterilmiştir (Deng, Maitra, Morris ve Li, 2013). Ayrıca ilk 72 saatte şoktan kurtulan hayvanların tersine, birçok hastada monositik etkisizleştirme (monocyte deactivation) olarak adlandırılan monositik HLA-DR ekspresyonunda azalma, makrofajlardan LPS ile indüklenen TNF-α salınımının azalması ve fırsatçı enfeksiyon belirtilerin artması ile karakterize olduğu, bu durumda İFN-γ'nın makrofajlardan LPS ile indüklenen TNF-α salınımını artırdığı gösterilmiştir (Docke ve diğerleri, 1997).

MKH'ların yüzeyinde de TLR4 eksprese edildiği ayrıca fare Kİ kaynaklı MKH'larında makrofajlar gibi TLR'ün yanında TLR4/CD14/MD2 LPS reseptör kompleksini de eksprese ettikleri (Gupta ve diğerleri, 2007),

Çizelge 2. 7.MKH'ların LPS/TLR4 üzerinden prime edilmesinin etkisi (DelaRosa ve diğerleri, 2010)

Ligand	Adipogenic	Condrogenic	Osteogenic	Immuno-genicity	Immuno-suppression	Migration	Proliferation	Survival	Source	Species
LPS	≈		↑	≈	≈		≈		AD	Human
				≈	↑				BM	Human
	≈		↑				≈		AD	Human
			↑				≈		BM	Human
							↑	↑	BM	Mouse
								↑	BM	Mouse
						↑			BM	Human
	≈	≈	≈	≈	↓				BM	Human

≈ (no significant effect), ↑ (increase), ↓ (inhibition), AD (adipose derived MSCs), BM (Bone marrow MSCs). LPS: Lipopolysaccharide; PolyIC: Polyinosinic:polycytidylic acid; PGN: Peptidoglycan; CpG-ODNs: CpG oligodeoxynucleotides; Fn III1C: Fibronectin fragment III 1C; LTA: Lipoteichoic acid.

Saparov ve diğerleri (2016) tarafından Çizelge 2.8'de doğal immün sistemin düzenlenmesi listelenmiştir.

Çizelge 2.8. Prime MKH'lar tarafından doğal immün sistemin düzenlenmesi (Saparov ve diğerleri, 2016)

Table 1: Regulation of the innate immune response by preconditioned human mesenchymal stem cells.

Preconditioning approach	The source of cells	Secreted factors or expressed genes	Immunomodulatory effects
Hypoxia	BM-MSCs	↑ IL-6 and IL-8	↑ monocyte migration *in vitro* and macrophages *in vivo*
IFN-γ	UC-MSCs	↑ IDO and PGE-2	↓ NK activation and protection from NK cytotoxicity
IFN-γ and TNF-α	MSCs	↑ Factor H	↓ complement activation
IFN-γ and TNF-α	BM-MSCs	↑ IDO	↑ generation of M2 macrophages
IL-1β	UC-MSCs	↑ COX-2, IL-6, and IL-8	↓ number of M1 macrophages
IL-1β	BM-MSCs	↑ TNF-α, IL-6, IL-8, and IL-23A, CCL5, CCL20, CXCL1, CXCL3, CXCL5, CXCL6, CXCL10, and CXCL11, and VCAM-1, ICAM-1, and ICAM-4	↑ recruitment of neutrophils, monocytes, lymphocytes, and eosinophils
LPS	UC-MSCs	↑ IL-10, TGF-β, and ↓ IL-1, IL-6, and TNF-α	↑ generation of M2 macrophages
LPS and IL-1β	BM-MSCs	↑ PGE-2	↑ generation of M2 macrophages
TGF-β	Decidual MSCs	↓ PGE-2	↓ number of CD14+ CD206+ macrophages
3D culture	BM-MSCs	↑ COX-2 and PGE-2	↑ generation of M2 macrophages and ↓ TNF-α production by LPS stimulated macrophages
IFN-γ and TNF-α in 3D culture	BM-MSCs	↑ IDO and IL-6	↑ suppression of TNF-α production by LPS stimulated macrophages

Yapılan çalışmalarda;

- Le Blanc ve diğerleri (2012) tarafından LPS ile TLR4 üzerinden insan BM-MKH'lar uyarıldığında MIF salınımını artırdığı şematize edilmiş, Kota ve diğerleri (2014)'nin yaptığı çalışmada ise inaktive insan BM-MKH'ların MIF salgıladıkları, LPS ile TLR4 üzerinden yapılan uyarımda MIF salınımının düzeyinin değişmeden devam ettiği, aktive olmamış insan BM-MKH'ların CXCL1/GRO (Büyüme Düzenleyen Onkogen/Growth Regulated Oncogene) ve İL-8 /CXCL8 salgılamadıkları, LPS ile TLR4 üzerinden yapılan uyarımda CXCL1/GRO ve İL8/CXCL8 salınımını belirgin düzeyde arttırdığı (Kota ve diğerleri, 2014),

- BM, AT, WJ (umbilikal kordon Whartonun jelli); plasenta kaynaklı MKH'lar karşılaştırıldığında, TLR4 ekspresyonun plasenta >BM>AT>WJ şeklinde olduğu bulunmuştur (X. Li ve diğerleri, 2014),

- MKH'lerin TNF-α (2 ng/ml) + İFN-γ (2 ng/ml) veya İFN-γ +İL-1 üzerinden düşük dozda prime edilmesi CCL2, CCL5, CXCL9, CXCL10 (Glenn ve diğerleri, 2014; W. Li ve diğerleri, 2012), MKH'lerin TNF–α (20 ng/ml)+İFN-γ (20 ng/ml) üzerinden düşük dozda prime edilmesi İFN-γ salınımına neden olduğu (Ren ve diğerleri, 2008),

- İnsan BM-MKH'ların 24 saat boyunca LPS ile prime edilmesi sonucunda CD34 (-), CD80(-), CD86(-), CD105(+) ile CD106(+) ekspresyonunda ve yağ, kıkırdak ile kemik dokusuna farklılaşması arasında kontrol grubu ile arasında fark olmadığı dolayısıyla poli(I:C) ile prime edilmesinin immünofenotip ve farklılaşma potansiyeli etkilemeden hücre aktivasyonunu sağlayarak bazı sitokin ve kemokinlerin salınımını etkilediği (Liotta ve diğerleri, 2008),

- İnsan BM-MKH'ların LPS ile 24 saat prime edildiğinde IDO, PGE2, CXCL4 ve İL-1β'nın kontrol ve prime grubunda salgılanmadığı, TGF-β1'in kontrol ve prime grupta yaklaşık aynı düzeyde az miktarda salgılandığı, İL-6 ve İL-8'in kontrol grubunda bazal seviyede olmasına rağmen prime grupta belirgin derecede arttığı, CXCL10 (IP10)'nin kontrol grubunda bazal seviyede olmasına rağmen prime grupta belirgin derecede arttığı (Liotta ve diğerleri, 2008),

- İnsan AT-MKH'larda TLR2, TLR3, TLR4 ve TLR9 tespit edildiği, 24 saat boyunca PGN 10 μg/ml; poly(I:C) 25 μg/ml; LPS 10 μg/ml; flagellin 5 μg/ml ve CpG-ODN 2006 1 μg/ml ile prime edildiğinde, LPS ile prime edilen grupta CCL2/MCP-1'in kontrol grubunda üretilmekle birlikte prime grupta attığı, CCL8/MCP-2 kontrol grubunda hafif üretilmekle birlikte prime grupta belirgin arttığı, VGEF'in kontrol ve prime grubunda aynı düzeyde üretildiği, İL-12β'nın kontrol grubunda bazal seviyeye yakın salgılandığı prime grupta hafif düzeyde arttığı, İL-6'nın kontrol grubunda yüksek düzeyde üretildiği prime grupta kontrole göre hafif arttığı, TNF-α ve İL-1β'nın kontrol grubunda üretilmekle

birlikte prime grupta çok fazla arttığı CCL20/MIP3-α ve CXCL6/GCP-2'nın kontrol grubunda üretilmekle birlikte prime grupta arttığı (Hwa Cho ve diğerleri, 2006),

- İnsan BM-MKH'larda İL-6'nın kontrol grubunda bazal seviyede salgılanırken 5 μg/ml LPS ile 24 saat prime edildiğinde salınımının hafif derecede arttığı (Opitz ve diğerleri, 2009),

- İnsan BM-MKH'larda triptofan parçalanma ürünü kinurenin (kynurenine) serbest bırakılması incelendiğinde kontrol grubunda bırakılmadığı, 5 μg/ml LPS ile 24 saat prime edildiğinde hafif düzeyde bırakıldığı, 5 μg/ml LPS+1 000 IU/ml İFN-γ ile prime edildiğinde daha fazla bırakıldığı,

- İnsan BM-MKH'larda IDO mRNA üretimi kontrol grubunda bazal seviyede iken 5 μg/ml LPS ile 24 saat prime edildiğinde üretiminin hafif artmasıyla birlikte 1 000 IU/ml İFN-γ ile prime edildiğinde arttığı (Opitz ve diğerleri, 2009), dolayısıyla TLR3 konusunda da değinildiği gibi Opitz ve diğerleri (2009) tarafından ise insan BM-MKH'ların 24 saat boyunca 50 μg/ml poli (I;C) ile TLR3 üzerinden ve 5 μg/ml (yüksek doz) LPS ile TLR4 üzerinden prime edilmesinin, PKR ve IRF-3 transkripsiyon faktörünün aktive olmasına, İFN-β sentezine, bununda reseptörüne bağlanması ile IRF-1 transkripsiyon faktörünün aktive olmasına ve IDO sentezine neden olduğu gösterilmiştir.

- İnsan BM-MKH'lar 48 saat LPS 1000 ng/ml ile uyarıldıktan sonra PGE2 salgılanmasının arttığı (Gray ve diğerleri, 2015),

- İnsan BM-MKH'lar 48 saat LPS 1000 ng/ml ve İL-1β 1 ng/ml ile uyarıldıktan sonra PGE2 salgılanmasının tek başına uyarıma göre çok fazla arttığı (Gray ve diğerleri, 2015),

- Fare BM-MKH'lar 24 saat boyunca 1μg/ml LPS ile prime edildiği zaman TGF-β kontrol grubunda bir miktar salgılanırken prime grupta TGF-β salgılamasının baskılandığı, İL-6'nın kontrol grupta bir miktar salgılanırken prime grupta belirgin düzeyde arttığı, İFN-β'nın kontrol grupta bir miktar salgılanırken prime grupta çok hafif düzeyde arttığı İL-1β'nın kontrol grupta salgılanırken prime belirgin düzeyde grupta arttığı İFN-γ'nın

kontrol grubunda az miktarda salgılanırken prime grupta salgılanmasının arttığı, İL-10'nun kontrol ve prime grupta aynı düzeyde salgılandığı (X. Chen ve diğerleri, 2014),

- Fare BM-MKH'lar 24 saat boyunca 1μg/ml LPS ile prime edildiği zaman akım sitometride yüzey belirteçleri açısından incelendiğinde kontrolle prime grup arasında değişiklik görülmediği (negatif olanlar: CD11b, CD34, MHC sınıf-II, CD86 / pozitif olanlar: CD44, Sca-1, MHC sınıf-I, CD80) (X. Chen ve diğerleri, 2014),

- İnsan burun mukozasından (nasal/turbinate) elde edilen MKH'lar yangıdan uzakta olduğu andaki cevabını taklit etmek amacıyla 1 saat 10 ng/ml LPS ile prime edildiğinde TLR4'ün kontrol grubunda eksprese edilmekle birlikte prime grubunda ekspresyonun arttığı İL-6, İL-8, GM-CSF, CXCL10(IP10) ve CCL5(RANTES)'in kontrol grupta az miktarda salgılanmakla birlikte prime grupta belirgin derecede arttığı, TNF-α'nın hafif düzeyde arttığı, İL-10, İL-12p70, İL-1α ve İL-1β'nın kontrol grubunda ve prime grupta aynı düzeyde bazal seviyeye yakın olduğu (Hwang ve diğerleri, 2014),

- İnsan nasal mukozasından elde edilen MKH'ların 1 saat süreyle 1 μg/ml poli(I:C) ve 10 ng/ml LPS ile prime edildikten sonra 7 gün boyunca çoğalmaları izlenmiş 2-4 gün arasında bütün gruplarda çoğalmaları hızla arttığı, LPS ile uyarılanda biraz daha fazla olduğu (Hwang ve diğerleri, 2014),

- 24 saat boyunca 1 ng/ml LPS ile prime edilmiş İL-6 ve İL-8 hafif düzeyde arttığı, tip-1 İFN'ların ise seviyesinin değişmediği (Dumitru ve diğerleri, 2014),

- 24 saat boyunca 10 ng/ml LPS ile prime edilmiş İL-6 ve İL-8 hafif düzeyde arttığı, tip-1 İFN'ların ise seviyesinin değişmediği (Dumitru ve diğerleri, 2014),

- İnsan UC-MKH'lar LPS ile (doz belirtilmemiş) 4 saat, 12 saat, 24 saat, 72 saat, 120 saat prime edildikten sonra analiz edildiğinde, İFN-β kontrol grubunda bazal seviyede iken prime grupta daha da baskılandığı, CXCL10(IP10) kontrol grubunda bazal seviyede iken 72 saatte hafif arttığı, TGF-β'nın kontrol grubunda bazal seviyede iken 12 saatte arttığı ve daha sonra azaldığı, CCL4(MIP-3β) kontrol grubunda bazal seviyede iken 4 saatte

baskılandığı, daha sonra kontrolle aynı düzeyde devam ettiği, İL-1β 12 saatte arttığı daha sonra baskılandığı, İL-8 kontrol grubunda bazal seviyede iken 72 saat kadar zamanla arttığı daha sonra baskılandığı, İL-10 kontrol grubunda bazal seviyede iken zamanla hafif düzeyde arttığı, İL-12 kontrol grubunda bazal seviyede iken 12 saatte hafif düzeyde arttığı sonra azaldığı, 72 saat sonra CD74, CD105 ve CD80'nın kontrolle yaklaşık aynı düzeyde olduğu, CD86 ekspresyonun arttığı (L. Zhang ve diğerleri, 2015),

- İnsan AT-MKH'lar 1 μg/ml LPS ile prime edildikten sonra 30 dk içinde Iκ-Bα parçalanması olduğu (NF-κB yolağının aktive olduğunu düşündürmektedir), 72 saat 0,1, 1 ve 10 μg/ml LPS prime edildikten sonra İL-6 artmakla birlikte doz artıkça salınımının azaldığı, triptofan konsantrasyonun değişmediği, 72 saat 1 μg/ml LPS prime edildikten sonra İL-6 ve İL-8 ürettiği ancak İL-2, İL-4, İL-5, İL-1β, TNF-α, İL-12, İFN-γ ve İL-10 üretmedikleri (E. Lombardo ve diğerleri, 2009),

- İnsan AT-MKH'lar 72 saat 1 μg/ml LPS prime edildikten sonra akım sitometri ile analiz edildiğinde HLA-I ekspresyonun arttığı, HLA-II, CD80 ve CD86'nın değişmediği (E. Lombardo ve diğerleri, 2009),

- İnsan BM-MKH 1 saat 10 ng/ml LPS ile CCL5(RANTES) ve CXCL10(IP10) salgıladıkları (Rashedi ve diğerleri, 2017),

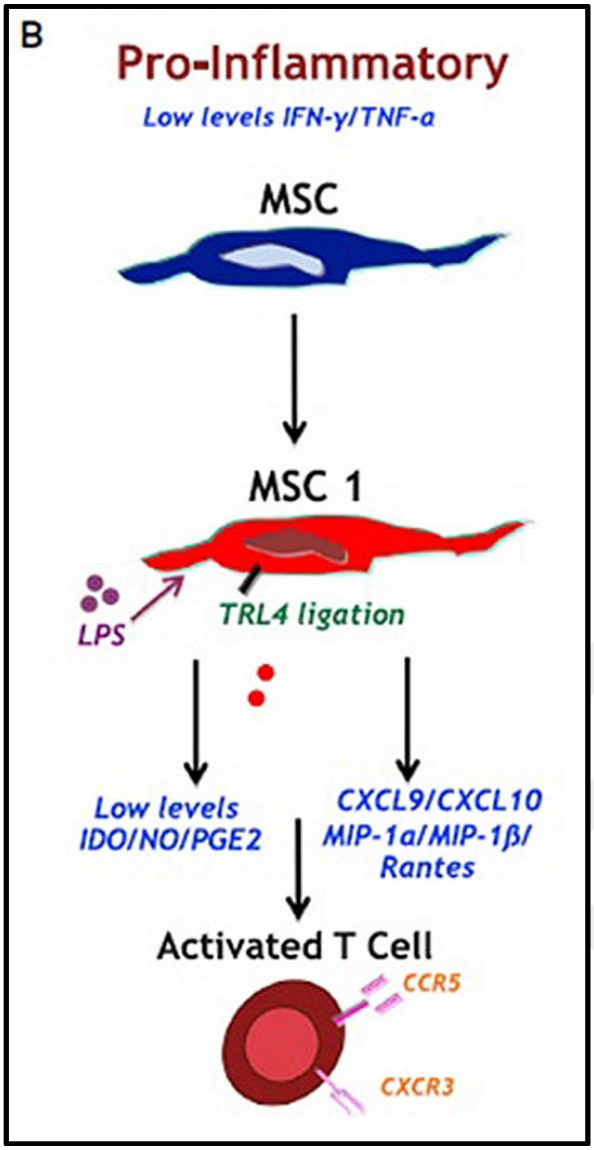
- 48 saat1 μg/ml LPS ile prime edildiğinde İL-6'nın kontrolde salındığını prime grupta çok fazla arttığı (poli(I:C) ile primedan daha fazla), İL-1β'nın kontrolde salındığını prime grupta arttığı (poli(I:C) ile primedan daha az), HLAG'nın kontrolde salındığını prime grupta çok hafif arttığı, İL-8'in kontrolde salındığını prime grupta çok fazla arttığı (poli(I:C) ile primedan daha fazla), PGE2'nin kontrolde salındığı prime grupta hafif düzeyde arttığı ((poli(I:C) ile primedan daha az), VEGF kontrol grubunda salındığı prime grupta arttığı (poli(I:C) ile primedan daha fazla), TGF-β'nın kontrol grupta salındığı prime grupta baskılanarak salınımının azaldığı (poli(I:C) ile prime ile yaklaşık aynı), HLA-I (MHC sınıf-I) kontrolde eksprese edildiği, prime grupta ekspresyonun arttığı (Giuliani ve diğerleri, 2014),

- 1 saat 100 ng/ml LPS prime at BM-MKH'larda 10 μg/ml poli(I:C) prime oranla İL-6 ve İL-8'in arttığı ve CXCL10(IP10) çok fazla arttığı, MCP-1/CCL2 artmadığı, bu özellikleri ile bu MKH'lara MKH1 olarak adlandırıldığı (Cassano ve diğerleri, 2018),

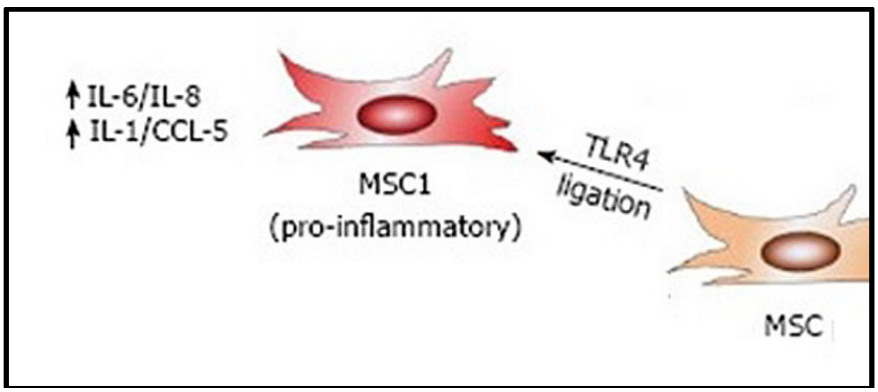
- Farede DSS ile oluşturulan kolit modelinde (dextran sulfate sodium induced colitis) kolit gelişmesini takiben 1 saat (kısa süreli) 10 ng/ml LPS ile muamele edilmiş insan UC-MKH'lar fareye periton içine verilmesinin hastalığın klinik belirtilerinde, belirtileri, kolon kısalmasını ve hastalığın histolojik indeksini önemli ölçüde arttırdığı (Fuenzalida ve diğerleri, 2016),

- 1 saat (kısa süreli) 10 ng/ml LPS ile muamele edilmiş insan UC-MKH'lar incelendiğinde, IDO mRNA üretiminin kontrol ve prime grupta bazal seviyeye yakın olduğu, İL-6'nın kontrol grubunda hafif düzeyde üretilmekle birlikte prime grupta arttığı, İL-8 mRNA kontrol grupta bazal seviyeye yakın iken prime grupta belirgin derecede arttığı (Fuenzalida ve diğerleri, 2016) bulunmuştur.

LPS (10 ng/mL) ile TLR4 üzerinden kısa süreli düşük dozda prime edilmesi, CCL1, CCL5/RANTES, İL-6, İL-8 (Glenn ve diğerleri, 2014), İL-1, TRAIL, salınımının artmış olduğu MIP-α, MIP-1α eksprese eden, kültürde T-hücresi aktivasyonunu baskılamayan, makrofajların M1 yönünde plastisitesine neden olan, yangısal tipte MKH plastisitesine neden olduğu bulunmuş ve bu tür MKH1 olarak adlandırılmıştır. Bu durum MKH'nın yangının erken dönemindeki veya bulaştan uzak olduğu durumunu taklit ettiği düşünülmektedir (Bernardo ve diğerleri, 2013; Glenn ve diğerleri, 2014; M. Krampera, 2011; W. Li ve diğerleri, 2012; Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009; Y. Wang ve diğerleri, 2014; Waterman ve diğerleri, 2010).



Resim 2.77. MKH-1 oluşumu ve T lenfositleri direkt aktivasyon mekanizması (Bernardo ve diğerleri, 2013)



Resim 2.78. TLR4 aktivasyonu ile MKH'ların MKH1 yönünde plastisitesi (Glenn ve diğerleri, 2014)

Başka bir çalışmada ise;

- 48 saat boyunca LPS ile 1-1000 ng/ml dozunda prime edilen insan BM-MKH ve insan PBMC'den elde edilen monositler incelenmiş olup, BM-MKH'larda doz artıkça daha fazla İL-6 ve CCL5 salgıladıkları, makrofajlarda dozla birlikte İL-6 artış varken CCL-5'in 10-1000 ng/ml doz aralığında aynı düzeyde kaldığı,

- 24 saat boyunca LPS ile 1 μg/ml dozunda prime edilen insan BM-MKH'ların İL-8, İL-1β ve İL-6 salgıladıkları,

- 20 saat boyunca 1 μg/ml LPS ile prime edilen insan BM-MKH ve insan PBMC'den elde edilen monositler incelenmiş olup, BM-MKH'larda kontrol grubunda İL-8 mRNA üretilmezken prime grupta üretiminin arttığı, makrofajlarda İL-8'in kontrol grubunda mRNA üretiminin olduğu prime grupta mRNA üretiminin arttığı,

- 6 saat boyunca 1 μg/ml dozunda LPS ile prime edilen insan BM-MKH'ların hafif düzeyde İL-12, TNF-α, CCL5, TRAIL ve iNOS mRNA ürettikleri, insan PBMC'den elde edilen monositlerin ise İL-12B, TNF-α, İFN–β, CCL5, iNOS ve TRAIL mRNA ürettikleri,

- 18 saat boyunca 30 U/ml dozunda İFN-γ ile prime edilen insan BM-MKH'ların hafif düzeyde İL-12 ürettikleri TNF-α, CCL5, TRAIL ve iNOS mRNA'sının bazal seviyede kaldığı, insan PBMC'den elde edilen monositlerin ise İL-12, TNF-α, CCL5, TRAIL ve iNOS mRNA'sının bazal seviyede kaldığı,

- 18 saat boyunca 30 U/ml dozunda İFN-γ ve ardından 6 saat 1 μg/ml dozunda LPS ile prime edilen insan BM-MKH'ların İL-12A, İL-12B ve CCL5 mRNA seviyesinin düştüğü, TNF-α, TRAIL, iNOS mRNA seviyesinin ise arttığı,

- 18 saat boyunca 30 U/ml dozunda İFN-γ ve ardından 6 saat 1 μg/ml dozunda LPS ile prime edilen insan PBMC'den elde edilen monositlerin ise İL-12, TNF-α, CCL5, TRAİL ve iNOS mRNA seviyesini arttırdığı,

- 18 saat boyunca 30 U/ml dozunda İFN-γ ve ardından 48 saat boyunca 1 μg/ml dozunda LPS ile prime edilen insan BM-MKH'ların düşük düzeyde İL12-p75 ve yüksek düzeyde İL-6, İL-8 ve CCL5 mRNA ürettikleri,

- 18 saat boyunca 30 U/ml dozunda İFN-γ ve ardından 48 saat boyunca 1 μg/ml dozunda LPS ve ile prime edilen insan PBMC'den elde edilen monositlerin ise İL-12-p75, İL-6, İL-8, CCL5 mRNA seviyesini arttırdıkları,

- 6 saat boyunca TNF-α (3 ng/ml), İFN-α (1 000 U/ml) veya İFN-γ 100 U/ml ile prime edilen insan BM-MKH'ların kontrol grubunda TLR4 mRNA düzeyi düşükken TNF-α prime ile değişmediği, İFN-α ve İFN-γ da ise hafif düzeyde arttığı gösterilmiştir (Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009).

Daha önceden kısaca değinildiği gibi BM-MKH'ların normal koşullar altında CCL2/MCP-1 salgılamadıkları, doku hasarı ve yangı durumunda damar nişine sistemik dolaşıma karışarak gelen LPS'in Kİ'deki MKH'ların ve CAR hücrelerinin LPS ile TLR4 üzerinden uyarılması CCL2/MCP1 salgılamasına ve monositlerin Kİ'den kana geçmesine neden olduğu (Kota ve diğerleri, 2014; Le Blanc ve diğerleri, 2012; C. Shi ve diğerleri, 2011a) bulunmuştur.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- Hayvanlarda sepsis mikroçevresinin taklit edildiği çeşitli sepsis modellerinde, yüksek dozda LPS ile insan veya fare BM-MKH'nın TLR4 üzerinden aktive edildiği durumda, insan veya fare makrofajların daha yangı söndürücü bir fenotipe dönüştürdüğü (E. Lombardo ve diğerleri, 2015),

- LPS ile uyarılan insan UC-MKH'lardan elde edilen eksozomları içeren medyumla PMA/THP-1 hücrelerinin yüksek glikoz konsantrasyonu ortamda kültüre edildiğinde PMA/THP-1 hücrelerinde TLR4 ve P65 düzeyinin azalırken pSTAT3 ve pAKT düzeyinin arttığı gösterilmiştir. AKT yolağı TLR4 ve Nf-κB yolağını baskılarken STAT3 aktivasyonu yangı söndürücü tipte MEM yönünde plastisiteye neden olan birçok yolağı aktive ettikleri (Ti ve diğerleri, 2015),

- İnsan BM-MKH'lar 48 saat 1000 ng/ml LPS ile uyarıldıktan sonra süpernatant toplanıp insan PBMC'den elde edilen monositlerin GM-CSF ile muamelesi ile oluşturulan makrofajların üzerine eklendikten sonra 48 saat inkübe edilip süpernatant toplanmış TNF-α salgılanmasının uyarımsız gruba göre azaldığı (Gray ve diğerleri, 2015),

- İnsan BM-MKH'lar 48 saat 1000 ng/ml LPS ve 1 ng/ml İL-1β ile uyarıldıktan sonra süpernatant toplanmış toplanıp insan PBMC'den elde edilen monositlerin GM-CSF ile muamelesi ile oluşturulan makrofajların üzerine eklendikten sonra 48 saat inkübe edilip süpernatant toplanmış TNF-α salgılanmasının uyarımsız ve tekli uyarımlı gruba göre belirgin derecede azaldığı (Gray ve diğerleri, 2015),

- Keme BM-MKH'nın NR8383 ile transvel ortamında LPS varlığında ko-kültür yapıldığında MKH'ların İL-6 salgıladığı ve makrofajlarda STAT3 üzerinden SOCS3 aktivasyonu ile NF-κB'nin aktivasyonunu baskıladığını, CD80 ve CD86 ekspresyonun TNF-α, İFN-□, İL-2, İL-18, İL-7, İL-5, İL-1α ve İL-β seviyesinin azaldığı ve makrofajları MEM yönünde plastisitesine neden olduğu (H. J. Zhang ve diğerleri, 2016),

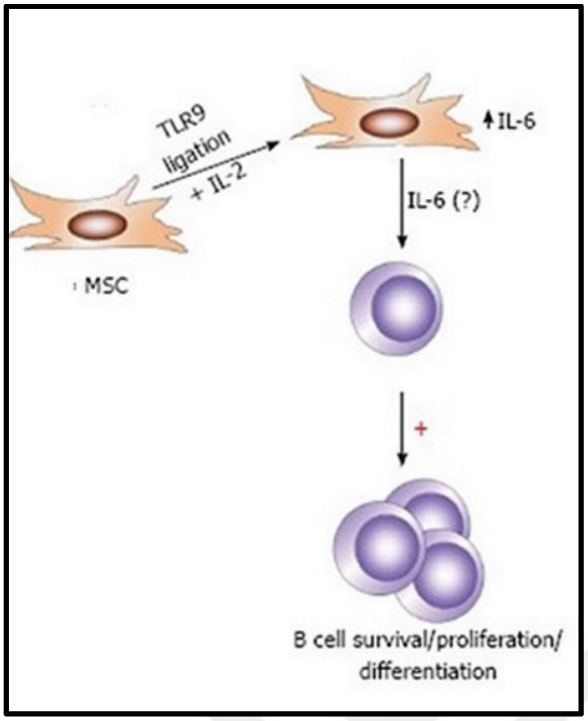
- Fare periton yangı modelinde, thioglikolatın periton içine enjeksiyonu sonrasında elde edilen yangısal peritoneal makrofajlar LPS ile uyarıldıklarında İFN-□ yüksek düzeyde salgıladıkları halde, fare BM-MKH'larla LPS varlığında direkt ko-kültüre edildiğinde İFN-□ seviyesinin belirgin derecede azaldığı (Maggini ve diğerleri, 2010),

- Farede sepsis modeli olan CLP'da fare BM-MKH'ları verildiği zaman serumdaki TNF-α ve İL-6 seviyesinin azaldığı ve İL-10 seviyesinin arttığı, periferik kandaki monosit sayısının azaldığı, septik akciğerden izole edilen makrofajlarda İL-10 sekresyonun arttığı, transvel kültür ortamında da fare BM-MKH ve fare BM-DM'lar LPS varlığında ko-kültüre edildiğinde İL-10 ve PGE salgısının arttığı gösterilmiştir. MKH'ların LPS ile TLR4 üzerinden ve makrofajlardan salgılanan TNF-α ile TNF-R1 üzerinden aktive olması ve ek olarak hem kendilerinin hem makrofajların ürettiği NO'in etkisiyle, MKH'larda NF-κB aktivasyonun gerçekleştiği ve yüksek miktarda PGE2 salgıladıkları ve salgılanan PGE2'nin makrofajları etkileyerek onların İL-10 salgılayan MEM plastisitesin neden olduğu teorilenmiştir (Nemeth ve diğerleri, 2009),

- İnsan BM-MKH'lar 18 saat 500 ng/ml LPS ile prime edildikten sonra, 18 saat LPS ile muamele edilen fare splenositleri ile 1 saat direkt ko-kültür yapılmış, TNF-α salınımı kontrol ve prime MKH'larla ko-kültür edilen grupta da aynı düzeyde baskılanmış (Kota ve diğerleri, 2014), bulunmuştur.

2.33.4. TLR9 ve CpG

CpG veya CG, bir sitozin nükleotidinin guanin nükleotidi tarafından izlendiği DNA bölgeleridir. CpG, 5'-C-fosfat-G-3 için, yani yalnızca bir fosfat ile ayrılmış sitozin ve guanin kısaltılmış halidir. Memeli DNA'sı CpG dinükleotidi metilasyona girmişken bakteriyel DNA ve diğer omurgasızların DNA'sının girmedikleri, TLR9 endozomun içinde bulunduğu, CD14 yardımcı molekül olarak kullandığı, metilasyona uğramamış CpG DNA'nın endositozlandıktan sonra endozomal asidifikasyona uğradığı ve daha önceden bahsedilen Misch ve diğerleri (2008) tarafından şematize edildiği gibi TLR9 tarafından tanındığı, sinyal yolağından gelen sinyallerin NF-κB aktivasyonuna ve makrofajların TNF-α, İL-1 ve İL-6 gibi yangı başlatıcı sitokinleri, kemokinleri ve NO ve ayrıca IRF3 ve IRF-7 üzerinden TipI-İFN salgılayan yangısal yönde plastisitesine neden olduğu, doğal immünitede rol oynadığı ayrıca edinsel immünitenin oluşumuna da yol açtığı gösterilmiştir (Ashkar ve Rosenthal, 2002; Krieg, 2000, 2002; Misch ve diğerleri, 2008). Glenn ve diğerleri (2014) tarafından Resim 2.80'de şematize edildiği gibi MKH'nın TLR9 üzerinden İL-2 ile birlikte uyarılması İL-6 artmasına ve B lenfositlerin yaşamının uzaması, çoğalmasına ve farklılaşmasına neden olduğu bulunmuştur.



Resim 2.79. TLR9 ile aktive MKH'ların B lenfositler üzerine etkisinin mekanizması Glenn ve diğerleri (2014)

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- TLR9 ligandı CpG ile aktive edilen N9 fare BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiğinde CX3CR, NURR1, HOX1, PARP ve TNF-α mRNA seviyesinin düştüğü bulunmuştur (Giunti ve diğerleri, 2012).

2.34. CD (Farklılaşma Kümesi/Cluster of Differentiation) İşaretleri

Lökositler ve bağışıklık sistemi ile ilgili diğer hücrelerin yüzeyinde sentezlenen immün fenotipini belirlemeye yarayan bir hücre yüzey molekülü olan CD'lerin 400 fazla çeşidi tanımlanmıştır (Engel ve diğerleri, 2015).

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan BM-MKH'lar ile PBMC'den elde edilen monositler direkt kültürden önce ve sonra yüzey belirteçleri analiz edildiğinde MKH'ların kültürden önce, MHC sınıfı-I, CD73, CD105 ve CD90'yı eksprese ettiği ve HLA-sınıf II, CD31, CD45, CD80 veya CD34

eksprese etmedikleri ve bu ekspresyon panelinde monositlerle birlikte kültürden sonra herhangi bir değişiklik gözlenmediği gösterilmiştir (Melief ve diğerleri, 2013a).

Ek-9'da listelenen akım sitometrisi ile belirlenen makrofaj (Abumaree ve diğerleri, 2013; Benoit ve diğerleri, 2008; David ve diğerleri, 2011; Mantovani ve diğerleri, 2013; Martinez ve diğerleri, 2014; Vasandan ve diğerleri, 2016) ve Ek-15'de listelenen akım sitometrisi ile belirlenen PMA/THP-1'nın farklılaşma belirteçleri (Mittar, Paramban ve McIntyre, 2011) ile ilgili yapılan çalışmalar takip eden bölümde detaylı olarak verilmiştir.

2.34.1. Ly71/F4/80

Fare makrofajlarında yüksek düzeyde eksprese edilen F4/80 antijenin geni klonlanarak Ly-71 adı verilmiştir (Lai, Alaverdi, Maltais ve Morse, 1998).

2.34.2. CD11b

CD11b monosit, makrofajlar, nötrofiller, NK hücreleri ve granülositler olmak üzere birçok hücre yüzeyinde eksprese edilir. Fonksiyonel olarak, CD11b, yangısal cevaba aracılık etmek için lökosit yapışmasını ve göçünü düzenler. CD11b (integrin-α) ve CD18 (integrin-β2) den oluşan Mac-1 (CD11b/CD18) CR3 (kompleman reseptörü) olarak adlandırılmakta olup, sitotoksisite, kemotaksis ve fagositozda rol oynadığı bulunmuştur. İnsan PBMC'den elde edilen monositlerin İL-4 ile tek başına, İL-13 ile tek başına ve İL-4 ve İL-13 ile birlikte uyarıldığında CD11b+CD209+ oldukları gösterilmiştir (Tarique ve diğerleri, 2015). MKH'ların CD11b eksprese etmedikleri belirtilmektedir (Rojewski, Weber ve Schrezenmeier, 2008).

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan PBMC'den elde edilen GM-CSF ile farklılaştırılan makrofajların yüksek düzeyde CD11b eksprese ettikleri, insan PBMC'den elde edilen makrofajların P-MKH'larla transvel ile (hücreler arası direkt kontak (ICpMSC (Intracellular Direct Contact))/sıvıda çözünebilen faktörler (SFpMSC (Soluble Factor)) GMCSF içeren medyumla ve P-MKH'ların GM-CSF içeren kültür medyumu ile (kültür medyum (CMpMSC (Conditioned Medium)) kültüre edildiklerinde, makrofajlarda CD11b ekspresyonun

azaldığı, P-MKH kültür ortamından uzaklaştırılıp ile makrofajlar 3 gün GM-CSF kültüre edildiklerinde CD11b ekspresyon düzeyinin muamele olmayan makrofaj seviyesine yükseldiği bulunmuştur (Abumaree ve diğerleri, 2013; Arango Duque ve diğerleri, 2014).

2.34.3. CD14

Monositler ve makrofajlar için tanımlayıcı bir molekül olarak kullanılan CD14'ün daha öncede değinildiği gibi LPS-LBP komplekslerini bağlama ve sinyal iletiminde de role oynadığı (Maggini ve diğerleri, 2010; HWL Ziegler-Heitbrock ve Ulevitch, 1993), PMA ile farklılaştırılan THP-1'ler kültür ortamında çok yoğun olduklarında CD14 eksprese eden hücrelerin yüzdesinin arttığı (%37,9) ancak PMA ile farklılaştırılan THP-1'ler kültür ortamında yoğunluğu düşük olduğunda CD14 eksprese edilmediği (%1,3) (P. B. Aldo ve diğerleri, 2013) gösterilmiştir.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan PBMC'den elde edilen ve GM-CSF ile farklılaştırılan makrofajların CD14 eksprese ettikleri, insan PBMC'den elde edilen makrofajların P-MKH'larla transvelde (hücreler arası direkt kontak (ICpMSC (Intracellular Direct Contact))/sıvıda çözünebilen faktörler (SFpMSC (Soluble Factor)) GMCSF içeren medyumla ve P-MKH'ların GM-CSF içeren kültür medyumu ile (kültür medyum (CMpMSC (Conditioned Medium)) kültüre edildiklerinde, makrofajlarda CD14 ekspresyonun arttığı, P-MKH kültür ortamından uzaklaştırılıp makrofajlar 3 gün GM-CSF ile kültüre edildiklerinde CD14 ekspresyon düzeyinin muamele olmayan makrofaj seviyesine düştüğü (Abumaree ve diğerleri, 2013),

- Fare peritonundan elde edilen yangısal peritoneal makrofajların CD14 eksprese ettikleri, yangısal makrofajların fare BM-MKH'ların kültür süpernatantı ile kültüre edildikten sonra yüzeylerine CD14'ün ekspresyonun azaldığı gösterilmiştir (Maggini ve diğerleri, 2010).

2.34.4. CD31/PECAM-1

CD31 endotel hücreleri, trombositler ve lökositlerin birçok alt grubunda eksprese edilen bir transmembran proteini olduğu ve lökositlerin adezyon ve transendotelial göçünde rol

oynadığı (Woodfin, Voisin ve Nourshargh, 2007), dolaşan monositlerin ve PMA/THP-1'lerin CD31 eksprese ettikleri, dolaşan monositlerden CD31+ ve F4/80+ olanlarının zedelenme alanına göç edebilecekleri ve damar oluşumunda direkt rol oynayabileceği belirtilmektedir (S. J. Kim ve diğerleri, 2009; Woodfin ve diğerleri, 2007).

2.34.5. CD33

Myeloid diziye ait bir işaret olan CD33'ün sağlıklı vericilerin periferik kandaki monositler arasında ekspresyon düzeyinin değişiklik gösterdiği bulunmuştur (Hudig, Hunter, Diamond ve Redelman, 2013).

2.34.6. CD36

Fagositler tarafından apoptotik hücrelerin tanınması apoptotik hücrelerin yüzeyinde bulunan "ye beni (eat me) sinyallerini" veren bir dizi reseptör aracılığı ile olmaktadır (Alessio ve diğerleri, 1996).

Makrofajlarda eksprese edilen bu reseptörler arasında süpürücü reseptör (scavenger receptor) olarak adlandırılan CD36'nun glikosilfosfatidilinositol bağlı LPS reseptörü (glycosylphosphatidylinositol-anchored LPS receptor) CD14 ile birlikte önemli bir rolü bulunmaktadır (Maggini ve diğerleri, 2010).

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan PBMC'den elde edilen GM-CSF ile farklılaştırılan makrofajların CD36 eksprese ettikleri, insan PBMC'den elde edilen makrofajların GMCSF içeren medyumla P-MKH'larla transvel (hücreler arası direkt kontak (ICpMSC (Intracellular Direct Contact))/sıvıda çözünebilen faktörler (SFpMSC (Soluble Factor)) ve P-MKH GM-CSF içeren kültür medyumu ile (kültür medyum (CMpMSC (Conditioned Medium)) kültüre edildiklerinde, transvel ortamında (ICpMSC ve SFpMSC) ve P-MKH kültür medyumuyla (CMpMSC) kültüre edilen makrofajlarda CD36 ekspresyonun arttığı, P-MKH kültür ortamından uzaklaştırılıp 3 gün GM-CSF ile makrofajlar kültüre edildiklerinde CD36 ekspresyon düzeyinin muamele olmayan makrofaj seviyesine düştüğü (Abumaree ve diğerleri, 2013),

- İnsan PBMC'den elde edilip M-CSF ile makrofajlara dönüştürülen makrofajların düşük oranda CD36 eksprese ettikleri ve bu makrofajlar insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD36 ekspresyon yüzdesinin sıfırlandığı (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- İnsan periferik kanından elde edilip M-CSF ile makrofajlara dönüştürülen makrofajların İFN-γ ve LPS ile M1 plastisitesi sağlandıktan sonra ve bu makrofajların insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD36 eksprese etmedikleri (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- İnsan periferik kanından elde edilip M-CSF ile makrofajlara dönüştürülen makrofajların İL-4 ile M2 yönüne plastisitesinden sonra ve bu makrofajların insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD36 ekspre etmedikleri (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- Monositik THP-1'lerin CD36 eksprese ettikleri ve bunların insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD36 ekspresyon seviyesinin belirgin derecede arttığı (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- PMA/THP-1 hücrelerinin İL-4 ile M2 plastisitesinden sonra CD36 eksprese ettikleri, bu makrofajların insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD36 ekspresyon seviyesinde belirgin artış olduğu (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- Fare peritonundan elde edilen yangısal peritoneal makrofajlar tek başlarına CD36 eksprese ederken, yangısal makrofajlar fare BM-MKH'lar kültür süpernatantı ile kültüre edildikten sonra yüzeylerine CD36 ekspresyonun azaldığı (Maggini ve diğerleri, 2010).

2.34.7. CD40

Antijen sunan hücre ile T lenfositler arasında T lenfosit yanıtının başlamasında MHC molekülü ile TCR (T hücre reseptörü/T Cell Receptor) arasındaki bağlantı birinci sinyali, B7 ailesinin bir üyesi olan CD80/B7-1 ve CD86/B7-2 ile CD28 arasındaki ve CD40 ile CD40L arasındaki ayrıca diğer moleküller arasındaki bağlantılardan gelen sinyaller immün

cevabın gerçekleşmesi için birinci sinyali güçlendirecek ikinci sinyali oluşturdukları gösterilmiş ve bu moleküller ko-stimülatör moleküller olarak adlandırılmışlardır (Bakdash ve diğerleri, 2013).

Ko-stimülatör sinyallerin gerçekleştiği CD40/CD40L'dı, genelde yangı durumda eksprese edildiği ve hücresel ve humoral edinsel immünitenin gelişiminde rol oynadığı bulunmuştur (Elgueta ve diğerleri, 2009; Howland, Ausubel, London ve Abbas, 2000; Wykes, 2003).

Daha önce belirtildiği gibi MKH'ların normal koşullarda MHC sınıf-I moleküllerini eksprese ettikleri halde MHC sınıf-II, ko-stimülatör molekülleri (CD40, CD80 ve CD86) eksprese etmedikleri (Jacob-Ferreira ve diğerleri, 2013) için konakçı bağışıklığının bastırılması gerekmeksizin allojenik tedavide kullanılabildiği bildirilmiştir (Ryan ve diğerleri, 2005).

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan PBMC'den elde edilen makrofajların CD40 eksprese ettikleri, insan PBMC'den elde edilen makrofajların P-MKH'larla transvelde (hücreler arası direkt kontak (ICpMSC (Intracellular Direct Contact))/sıvıda çözünebilen faktörler (SFpMSC (Soluble Factor)) GMCSF içeren medyumla ve P-MKH'ların GM-CSF içeren kültür medyumu ile (kültür medyum (CMpMSC (Conditioned Medium)) kültüre edildiklerinde, makrofajlarda CD40 ekspresyonun azaldığı (Abumaree ve diğerleri, 2013),

- Fare BM-MKH'ların LPS ile uyarılan BV2 hücrelerinde (Mouse microglial cell lines /fare mikroglia hücre dizisi) CD40 ekspresyonu baskıladığı bulunmuştur (Ooi, Ramasamy, Rahmat, Subramaiam, Tan, Abdullah, Israf ve Vidyadaran, 2010).

2.34.8. CD45

CD45'in tüm lenfositlerde (Altin ve Sloan, 1997) ve PMA/THP-1'lerde (Mittar ve diğerleri, 2011) eksprese edildiği gösterilmiştir. Bu yüzden MKH ve PMA/THP-1'leri direkt ko-kültürlerde ayırabilecek bir yüzey belirteci olabileceği düşünülerek kullanılması planlandı. Salemi ve diğerleri (2011) tarafında yapılan bir çalışmada HIV ile enfekte mikroglialarda CD45 bağlanan antikorlar M2 plastisitesine neden olduğu bulunmuştur.

2.34.9. CD64

CD64'ün IgG'nin Fc kısmına yüksek afinite ile bağlanan bir Fc reseptörü olduğu, Monositler LPS tek başına, İFN- tek başına ve LPS ve İFN- ile prime edildiğinde CD64+CD80+makrofaj popülasyonun arttığı (Tarique ve diğerleri, 2015), aktive monosit ve M1 makrofajlar için bir yüzey belirleyici olduğu gösterilmiştir.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan BM-MKH'ların insan PBMC ile miks lenfosit reaksiyonu yapıldığında CD14(++) CD16(+) CD64(++) aktive monositlerin CD14(++) CD16(-) CD64(+) M1 makrofajlara dönüşümünü engellediği bulunmuştur (Du Rocher, Mencalha, Gomes ve Abdelhay, 2012; Hristodorov ve diğerleri, 2015).

2.34.10. CD80/B7.1

M1 makrofajlarda eksprese edilen ve immün yanıtın oluşmasında rol oynayan ko-stimülatör molekül olarak tanımlanan CD80/B7.1'in (Subauste, de Waal Malefyt ve Fuh, 1998) Tarique ve diğerleri (2015) tarafından belirtildiği gibi monositlerin İL-4 ile tek başına, İL-13 ile tek başına ve İL-4 ve İL-13 ile birlikte prime edildiğinde CD64+CD80+ makrofaj popülasyonun arttığı gösterilmiştir.

MKH'ların normal koşullarda CD80 gibi ko-stimülatör molekülleri eksprese etmediklerinden daha önce bahsedilmişti (Jacob-Ferreira ve diğerleri, 2013; Ryan ve diğerleri, 2005).

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan PBMC'den elde edilen makrofajların CD80 eksprese ettikleri, insan PBMC'den elde edilen makrofajların P-MKH'larla transvelde (hücreler arası direkt kontak (ICpMSC (Intracellular Direct Contact))/sıvıda çözünebilen faktörler (SFpMSC (Soluble Factor)) GMCSF içeren medyumla ve P-MKH'ların GM-CSF içeren kültür medyumu ile (kültür medyum (CMpMSC (Conditioned Medium)) kültüre edildiklerinde, makrofajlarda CD80 ekspresyonun azaldığı (Abumaree ve diğerleri, 2013),

- İnsan PBMC'den elde edilip M-CSF ile makrofajlara dönüştürülen makrofajlar tek başlarına ve bu makrofajlar insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD80 eksprese etmedikleri (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- Monositik THP-1 hücrelerinin tek başlarına ve insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD80 eksprese etmedikleri (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- PMA/THP-1 hücrelerinin CD80 eksprese etmedikleri, PMA/THP-1'lerin insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD80 ekspresyon seviyesinde çok az bir artma (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- İnsan PBMC'den elde edilip M-CSF ile makrofajlara dönüştürülen makrofajların İFN- ve LPS ile M1 yönüne plastisitesinden sonra CD80 eksprese ettikleri, bu makrofajların insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD80 ekspresyon seviyesinin %3'lere düştüğü (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- PMA/THP-1'lerin LPS ve İFN-γ ile M1'e plastisitesinden sonra tek başlarına ve bunların insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde yüksek düzeyde CD80 eksprese ettikleri (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- İnsan PBMC'den monositler elde edildikten sonra M-CSF ile makrofajlara dönüştürülmesini takiben İL-4 ile M2 yönüne polarizasyonundan sonra ve bu makrofajların insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD80 eksprese etmedikleri (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- ARDS'nin patogenezinde Gr(-) bakterilerin membranında ki LPS majör bileşen olarak tanımlanmakta ve belirgin makrofaj infiltrasyonu gözlenmektedir. Buna model olarak oluşturulan kültür ortamında NR8383'lerin kemelerin BM-MKH'lar LPS varlığında transvel ile ko-kültür yapıldığı çalışmada primer MKH kaynaklı İL-6 seviyesinin arttığı ve SOCS3 üzerinden LPS ile aktive makrofajlarda NF-κB aktivasyonu engelleyerek M1 hücre yüzey belirteci olarak kabul edilen CD80 ekspresyonuna engel olduğu gösterilmiştir (H. J. Zhang ve diğerleri, 2016).

2.34.11. CD86

CD86 M1 makrofajlarda eksprese edilen ve immün yanıtın oluşmasında rol oynayan bir diğer ko- stimülatör molekül olarak tanımlanmıştır (Subauste ve diğerleri, 1998).

MKH'ların normal koşullarda CD86 gibi ko-stimülatör molekülleri eksprese etmediklerinden daha önce bahsedilmişti (Jacob-Ferreira ve diğerleri, 2013; Ryan ve diğerleri, 2005).

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan PBMC'den elde edilen makrofajların CD86 eksprese ettikleri, insan PBMC'den elde edilen makrofajların P-MKH'larla transvelde (hücreler arası direkt kontak (ICpMSC (Intracellular Direct Contact))/sıvıda çözünebilen faktörler (SFpMSC (Soluble Factor)) GMCSF içeren medyumla ve P-MKH'ların GM-CSF içeren kültür medyumu ile (kültür medyum (CMpMSC (Conditioned Medium)) kültüre edildiklerinde, makrofajlarda CD86 ekspresyonun azaldığı (Abumaree ve diğerleri, 2013),

- İnsan PBMC'den elde edilip M-CSF ile makrofajlara dönüştürülen makrofajların CD86 eksprese ettikleri ve bu makrofajlar insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD86 ekspresyon seviyesinin daha da arttığı (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- Monositik THP-1'lerin tek başlarına ve bunlar insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD86 eksprese etmedikleri (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- PMA/THP-1'lerin CD86 eksprese ettikleri, bunlar insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD86 ekspresyon seviyesinde azalarak sıfır düzeyine düştüğü (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- İnsan PBMC'den elde edilip M-CSF ile makrofajlara dönüştürülen monositlerin İFN-□ ve LPS ile M1 yönüne plastisitesinden sonra CD86 ekspresyonunu belirgin derecede

artırdığı, bu makrofajların insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD86 ekspresyon seviyesinin düştüğü (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- PMA/THP-1'lerin LPS ve İFN-γ ile M1 yönünde plastisitesinden sonra yüksek düzeyde CD86 eksprese ettikleri, bu hücrelerin insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD86 eksprese etmeye devam etmekle birlikte ekspresyon seviyesinin belirgin düzeyde azaldığı (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- İnsan PBMC'den elde edilip M-CSF ile makrofajlara dönüştürülen monositlerin İL-4 ile M2 yönüne plastisitesi sağlandıktan sonra insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD86 ekspresyon seviyesin kültüre edilmemiş olanla aynı oranlarda ve M1 göre daha düşük seviyede olduğu gösterilmiştir (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- PMA/THP-1'ler tek başına İL-4 ile prime edildiğinde ve PMA/THP-1'leri insan G-MKH'ları ile transvel ortamında ko-kültür yapıldığı zaman CD86 ekspresyonun arttığı (Q. Z. Zhang ve diğerleri, 2010),

- Fare peritonundan elde edilen yangısal peritoneal makrofajların CD86 eksprese ettikleri, ortama LPS eklendiğinde yangısal makrofajlardaki CD86 seviyesinin çok arttığı, bunların fare BM-MKH'lar ile direkt kültüre edildikten sonra ortama LPS eklenerek kültüre devam edilmesi ile yüzeylerinde CD86 ekspresyonun azaldığı (Maggini ve diğerleri, 2010),

- Fare deri yangı modelinde farelerin vücuduna cam silindirler yerleştirildikten sonra fare BM-MKH'lar verildiğinde yangı alanına göç eden makrofajların sayısının arttığı bunların CD86 düşük düzeyde eksprese ettikleri gösterilmiştir (Maggini ve diğerleri, 2010),

- ARDS patogenezinde Gr (-) bakterilerin membranında ki LPS majör bileşen olarak tanımlanmakta ve belirgin makrofaj infiltrasyonu gözlenmektedir. Buna model olarak oluşturulan kültür ortamında NR8383'lerin kemelerin BM-MKH'lar LPS varlığında transvel ile ko-kültür yapıldığı çalışmada primer MKH kaynaklı İL-6 seviyesinin arttığı ve SOCS3 üzerinden LPS ile aktive makrofajlarda NF-κB aktivasyonu engelleyerek M1

hücre yüzey belirteçi olarak kabul edilen CD86 ekspresyonuna engel olduğu gösterilmiştir (Q. Z. Zhang ve diğerleri, 2010).

2.34.12. CD127/İL-7R

Makrofajlar, olgunlaşmamış B lenfositleri, aktive edilmiş T lenfositleri ve damar endotel hücreleri üzerinde eksprese edilen, Th1 hücre aktivasyonu, prematüre B hücreleri olgun B hücrelerine dönüşmesi, Treg ve makrofajların hayatta kalma sinyalinde rol oynadığı bulunan CD127/İL-7R M1 plastisite belirteci olarak kullanılmaktadır (Chong ve diğerleri, 2015; J. Gao, Zhao, Wan ve Zhu, 2015).

MKH'ların Treglerle ko-kültür yapıldığında Treg özellikleri devam ettirirken CD127 ekspresyonunu azalttığı (downregüle) ettiği bulunmuştur (Di Ianni ve diğerleri, 2008).

2.34.13. CD1

MHC sınıf-I molekülündeki β-2-mikroglobülin ile heterodimerler oluşturan transmembran glikoproteinlerin CD1 ailesinden CD1a, CD1b ve CD1c lipid ve glikolipid antijenlerinin T hücrelerine sunumuna aracılık ettiği (Barral ve Brenner, 2007) Tarique ve diğerleri (2015) tarafından belirtildiği gibi monositlerin İL-4 ile tek başına, İL-13 ile tek başına ve İL-4 ve İL-13 ile kombine halde uyarıldıklarında CD1a+CD1b+ hücre popülasyonun arttığı gösterilmiştir ve araştırmacılar tarafından M2 makrofajlar için yüzey belirleyicisi olarak kullanılmaktadır (Marc Beyer ve diğerleri, 2012).

2.34.14. CD16/Fc gamma RIII

IgG tipi antikorların Fc bölümüne karşı düşük afinitesi olan ve FcγRIIIa (CD16a) ve FcγRIIIb (CD16b) olarak iki alt grubu olan bir Fc reseptörü olan CD16/FcγRIII göre Italiani ve Boraschi (2014) tarafından Çizelge 2.9'de listelendiği gibi insan monositleri, klasik (CD14++CD16-), intermediate (CD14++CD16+) ve klasik olamayan (CD14+CD16++) olarak 3 alt gruba ayrılabildiği bildirilmiştir.

Çizelge 2.9. İnsan ve fare monositlerinin alt grupları Italiani ve diğerleri (2014)

Tür	Alt küme	Beyaz Küre içindeki %	Kan monositleri içindeki %	Yarılanma ömrü	Belirteç	Kemokin reseptörü	Diğer yüzey belirteçleri	Ana fonksiyonu
İnsan	Klasik	10%	85%	1-2 gün	CD14++ CD16-	CCR2+ CX3CR1-	CD62L+ CD64- MHC-II+ CD163+	Fagositoz Yangı etkisi
	Ara		5%	(-)	CD14++ CD16+	CCR2- CX3CR1+	CD62L+ CD64- MHC-II++ CD163+	Yangı etkisi
	Klasik olmayan		10%	(-)	CD14+ CD16++	CCR2- CX3CR1+	CD62L- CD64+ MHC-II++ CD163-	Devriye gezmek antiviral rol
Fare	Ly6C düşük	4%	60%	18-20 saat	CD11b+ CD115+ Ly6C+	CCR2+ CX3CR1-	F4/80+ CD62L- MHC-IIb CD43+	Fagositoz Yangı etkisi
	Ly6C yüksek		40%	5-7 gün	CD11b+ CD115+ Ly6C-	CCR2- CX3CR1+	F4/80+ CD62L+ MHC-IIb CD43-	Devriye gezmek Doku tamiri

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan BM-MKH'ların insan PBMC ile miks lenfosit reaksiyonu yapıldığında CD14(++) CD16(-) CD64(+) olarak tanımlanan klasik monosit oluşumunu azaltarak CD14(++) CD16(+) CD64(++) olarak tanımlanan aktive monosit oluşumunu artırdığı (Du Rocher ve diğerleri, 2012),

- İnsan AT-MKH ve insan PBMC'den elde edilen monositlerden yapışma özelliği ile elde edilen makrofajlarla transvel ortamında ko-kültüre edildikleri zaman makrofajlarda CD16 ekspresyonun arttığı gösterilmiştir (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013).

2.34.15. CD23/Fc epsilon RII

IgE'nin Fc bölümüne düşük affinitesi olan makrofajların üzerinde bulunan bir Fc reseptörü olan CD23/Fc epsilon RII /FcεRII (Acharya ve diğerleri, 2010) M2 yüzey işareti olarak kabul edilmektedir (Rőszer, 2015).

2.34.16. CD68

CD68 monositlerde ve doku makrofajlarında eksprese edilen bir yüzey molekülü olduğu, transkripsiyon faktörleri ile birlikte makrofajların M2 plastisitesini tanımlanmasında kullanılabileceği (Barros, Hauck, Dreyer, Kempkes ve Niedobitek, 2013) bulunmuştur. İnsan UC-MKH'larınında CD68 eksprese edebileceği gösterilmiştir.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- Kronik tıkayıcı akciğer hastalığının keme modelinde (chronic obstructive pulmonary disease (COPD)) kemelere sigara uygulandıktan sonra keme BM-MKH'lar verildiğinde akciğer dokusunda CD68+ makrofajların varlığının, yangı ve amfizem oluşumunun azaldığı (W. Gu ve diğerleri, 2015),

- Aktive olmayan THP-1'ler düşük oranda CD68 eksprese ederken insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edilmesi sonucu CD68 ekspresyonun arttığı gösterilmiştir (Vasandan ve diğerleri, 2016).

2.34.17. CD93/C1qRp

Opsonin reseptörü olan CD93/C1qRp C-tipi bir lektindir ve aynı zamanda hücre adezyonunda rol oynar ve M2 makrofaj belirteci olarak araştırmacılar tarafından kullanılmaktadır (M. Beyer ve diğerleri, 2012).

2.34.18. CD150/SLAM

Orijinalinde lenfosit aktivasyon molekülü olarak keşfedilen CD150/SLAM (Sinyal Lenfosit Aktivasyon Molekülü/Signalling Lymphocytic Activation Molecule), T lenfositlerinde Th2 sitokinlerin (İL-4) salgılanmasını sağladığı, ve aktive makrofajlarda eksprese edildiği ve bakteri tanınmasında ko-stimülatör gibi rol oynadığı (Berger ve diğerleri, 2010; Sintes ve Engel, 2011; Theil, Farina ve Meinl, 2005), makrofajların LPS'e yanıtında, İL-12, TNF-α ve NO üretiminde, LPS ve TLR4 tarafından iletilen sinyalleri düzenleyen ko-reseptör gibi görevi gördüğü (N. Wang ve diğerleri, 2004), M2c makrofajlarda da eksprese edildiği

bulunmuştur (Arango Duque ve diğerleri, 2014; Benoit ve diğerleri, 2008; Mantovani ve diğerleri, 2013; Martinez ve diğerleri, 2014; Rőszer, 2015).

2.34.19. CD163 (hemoglobin çöpçü reseptörü/hemoglobin scavenger receptor)

Hemoglobin-haptoglobin kompleksi için yüksek afiniteli bir çöpçü reseptör olan (scavenger receptor) CD163 araştırmacılar tarafından aynı zamanda M2 makrofajların bir yüzey işareti gibi kullanılmaktadır (J. M. Hu ve diğerleri, 2017; Kaku ve diğerleri, 2014). Makrofajlarda endotele yapışmakta, doku tamirinde toleransın gelişmesinde (Onofre, Kolackova, Jankovicova ve Krejsek, 2009), dokuda yerleşik makrofajlarda eksprese edilerek Gr(+) ve Gr(-) bakterileri tanımada doğal immün reseptör gibi rol alarak lokal yangı gelişmesinde rol oynadığı bulunmuştur (Fabriek ve diğerleri, 2009).

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan PBMC'den elde edilen GM-CSF ile farklılaştırılan makrofajların çok düşük düzeyde CD163 eksprese etikleri, insan PBMC'den elde edilen makrofajların P-MKH'larla transvelde (hücreler arası direkt kontak (ICpMSC (Intracellular Direct Contact))/sıvıda çözünebilen faktörler (SFpMSC (Soluble Factor)) GMCSF içeren medyumla ve P-MKH'ların GM-CSF içeren kültür medyumu ile (kültür medyum (CMpMSC (Conditioned Medium)) kültüre edildiklerinde, makrofajlarda yüksek düzeyde CD163 eksprese edildiği ve bu artışta insan P-MKH'ların insan BM-MKH'lara göre daha etkili olduğu gösterilmiştir (Abumaree ve diğerleri, 2013),

- İnsan AT-MKH ve insan PBMC'den elde edilen monositlerden yapışma özelliği ile elde edilen makrofajlarla transvel ortamında ko-kültüre edildikleri zaman makrofajlarda CD163 ekspresyonun arttığı (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013),

- LPS ile uyarılan insan UC-MKH'lardan elde edilen eksozomları içeren medyumla PMA/THP-1 hücrelerini yüksek glikozlu bir ortamda kültüre edildiğinde CD163 ekspresyonun arttığı gösterilmiştir (Ti ve diğerleri, 2015),

- Monositik THP-1 hücreleri tek başlarına ve bunların insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD163 eksprese etmedikleri (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- İnsan PBMC'den elde edilip M-CSF ile makrofajlara dönüştürülen monositler insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD163 eksprese etmedikleri (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- PMA/THP-1'lerin düşük düzeyde CD163 eksprese ettikleri, ve bu hücrelerin insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD163 ekspresyon seviyesinin arttığı (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- İnsan PBMC'den elde edilip M-CSF ile makrofajlara dönüştürülen monositlerin İFN-γ ve LPS ile M1 yönüne plastisitesi sağlandıktan sonra ve bu makrofajların insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD163 eksprese etmedikleri (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- İnsan PBMC'den elde edilip M-CSF ile makrofajlara dönüştürülen monositlerin İL-4 ile M2 yönüne plastisitesi sağlandıktan sonra CD163 eksprese etmedikleri ve bu makrofajların insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD163 seviyesinde artış (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- PMA/THP-1'lerin İL-4 ile M2 plastisitesi sağlandıktan sonra yüksek düzeyde CD163 eksprese ettikleri, bu makrofajların insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD163 ekspresyon seviyesinde daha da artış olduğu bulunmuştur (Vasandan ve diğerleri, 2016).

2.34.20. CD192/CCR2

CCL2 konusunda açıklandı.

2.34.21. CD197/CCR7

CCL19 konusunda açıklandı

2.34.22. CD204/SR-A (çöpçü reseptör/scavenger receptor A)/Msr1

CD204+ makrofajların, ateroskleroz, miyokardiyal iskemi ve reperfüzyon hasarı, serebral iskemik zedelenme, Alzaymır (Alzheimer) hastalığı, kemik metabolizmasında iskemik zedelenme patofizyolojisine katkıda bulunduğu, makrofajların lipid metabolizması (Goldstein, Ho, Basu ve Brown, 1979), yapışması, virüsleri tanıması, bakteri duvarındaki yapıları tanıması (PRR), fagositoz, ROS üretimi ile patojenik bakterilere karşı savunma, endotoksemi, polimikrobiyal sepsis ve septik şoktan korunmaya yardımcı olduğu gösterilmiştir (Kelley, Ozment, Li, Schweitzer ve Williams, 2014).

CD163+CD204+ TAM'ların İL-10 ve PD-L1 aracılığı ile T lenfositlerini baskılayarak tümörün invazyonuna ve metastazına neden olduğu (Kubota ve diğerleri, 2017) bulunmuştur, Bütün bu rollerinin yanında M2a ve M2c makrofajlar için yüzey belirleyicisi olarak kullanılmaktadır (Arango Duque ve diğerleri, 2014; Benoit ve diğerleri, 2008; David ve diğerleri, 2011; Mantovani ve diğerleri, 2013; Martinez ve diğerleri, 2014; Rőszer, 2015; Soldano ve diğerleri, 2016). MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan PBMC'den elde edilen GM-CSF ile farklılaştırılan makrofajların CD204 eksprese ettikleri, insan PBMC'den elde edilen makrofajların P-MKH'larla transvelde (hücreler arası direkt kontak (ICpMSC (Intracellular Direct Contact))/sıvıda çözünebilen faktörler (SFpMSC (Soluble Factor)) GMCSF içeren medyumla ve P-MKH'ların GM-CSF içeren kültür medyumu ile (kültür medyum (CMpMSC (Conditioned Medium)) kültüre edildiklerinde, makrofajlarda CD204 ekspresyonun arttığı, P-MKH kültür ortamından uzaklaştırılıp 3 gün GM-CSF ile makrofajlar kültüre edildiklerinde CD204 ekspresyon düzeyinin muamele olmayan makrofaj seviyesine düştüğü gösterilmiştir (Abumaree ve diğerleri, 2013).

2.34.23. CD205/DEC-205/lenfosit antijen-75 (lymphocyte antigen-75)

CD205/DEC-205/Lenfosit Antijen-75 (Lymphocyte Antigen-75) DC'lere apoptotik hücre kaynaklı antijenlerin çapraz sunumundan sorumlu endositik reseptör olarak adlandırılan mannoz reseptör ailesinin bir üyesi olduğu, antijen endositoz edildiğinde CD205 MHC sınıf I ve MHC sınıf II antijen sunum yollarına girdiği ve daha sonra hem CD4+ hem de CD8+ T lenfositlere sunulduğu ve böylelikle timik ve periferik toleransta rol oynadığı (Shrimpton ve

diğerleri, 2009) gösterilmiştir. MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- PMA/THP-1'lerin İL-4 ile M2 plastisitesi sağlandıktan sonra CD205 eksprese etmedikleri, bu hücrelerin insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde belirgin derecede CD205 eksprese ettikleri bulunmuştur (Vasandan ve diğerleri, 2016).

2.34.24. CD206/mannoz reseptörü

CD206'nın bir endositik reseptör olarak adlandırılan mannoz reseptör ailesinin bir üyesi olduğu belirtilmekte (East ve Isacke, 2002) ve araştırmacılar tarafından M2a ve M2c makrofajlar için bir yüzey belirteci olarak kullanılmaktadır (Arango Duque ve diğerleri, 2014; Benoit ve diğerleri, 2008; David ve diğerleri, 2011; Mantovani ve diğerleri, 2013; Martinez ve diğerleri, 2014; Rőszer, 2015). Literatürde MKH'ların CD206 ekspresyonu ile ilgili bir veriye rastlanmamıştır. MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan PBMC'den elde edilen GM-CSF ile farklılaştırılan makrofajların CD206 eksprese ettikleri, insan PBMC'den elde edilen makrofajların P-MKH'larla transvelde (hücreler arası direkt kontak (ICpMSC (Intracellular Direct Contact))/sıvıda çözünebilen faktörler (SFpMSC (Soluble Factor)) GMCSF içeren medyumla ve P-MKH'ların GM-CSF içeren kültür medyumu ile (kültür medyum (CMpMSC (Conditioned Medium)) kültüre edildiklerinde, makrofajlarda CD206 ekspresyonun arttığı ve bu artışta insan P-MKH'ların insan BM-MKH'lara göre daha etkili olduğu, P-MKH kültür ortamından uzaklaştırılıp 3 gün GM-CSF ile makrofajlar kültüre edildiklerinde CD206 ekspresyon düzeyinin muamele olmayan makrofaj seviyesine düştüğü (Abumaree ve diğerleri, 2013),

- İnsan G-MKH'ların insan PBMC'den elde edilen monositlerle yapılan direkt kültüründe monositlerden CD206 ekspresyonun arttığı (Q. Z. Zhang ve diğerleri, 2010),

- İnsan AT-MKH ve insan PBMC'den elde edilen monositlerden yapışma özelliği ile elde edilen makrofajlarla transvel ortamında ko-kültüre edildikleri zaman makrofajlarda CD206 ekspresyonun arttığı (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013),

- İnsan PBMC'den elde edilip M-CSF ile makrofajlara dönüştürülen makrofajların yüksek oranda CD206 eksprese ettikleri ve bu makrofajlar insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD206 seviyesinin düştüğü (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- Monositik THP-1'lerde CD206 mRNA tespit edilmediği ama insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiklerinde CD206 mRNA seviyenin hafif bir şekilde arttığı, PMA/THP-1'lerin hafif düzeyde CD206 mRNA tespit edildiği ancak insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiklerinde CD206 mRNA seviyenin arttığı (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- İnsan PBMC'den elde edilip M-CSF ile makrofajlara dönüştürülen makrofajların İFN-γ ve LPS ile M1 yönüne plastisitesinden sonra CD206 eksprese ettikleri, bu makrofajların insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD206 ekspresyon seviyesinin belirgin derecede arttığı (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- İnsan PBMC'den elde edilip M-CSF ile makrofajlara dönüştürülen makrofajların İL-4 ile M2 yönüne plastisitesinden sonra insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD206 ekspresyonun eşit düzeyde arttığı (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- PMA/THP-1'lerin tek başlarına İL-4 uyarıldığında CD206 düzeyinin daha da arttığı ve bu hücrelerin İL-4 içeren M2 plastisiste medyumunda insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiğinde CD206 mRNA düzeyini artırdıkları (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- ARDS patogenezinde Gr(-) bakterilerin membranındaki LPS en büyük bileşen olarak tanımlanmakta ve belirgin makrofaj infiltrasyonu gözlenmektedir. Buna model olarak oluşturulan kültür ortamında NR8383'lerin çok düşük düzeyde CD206 mRNA eksprese ettikleri, LPS eklendiğinde CD206 mRNA seviyesinin değişmediği, ama bunların

kemelerin BM-MKH'lar LPS varlığında transvel ile ko-kültür yapıldığı çalışmada primer MKH kaynaklı İL-6 seviyesinin arttığı, salgılanan SOCS3'ün LPS ile aktive makrofajlarda NF-κB aktivasyonu CD206 mRNA transkripsiyonuna ve CD206 yüzeyde ekspresyonuna neden olduğu (H. J. Zhang ve diğerleri, 2016),

- Fare Kİ'den elde edilen ve M-CSF ile farklılaştırılan makrofajların düşük düzeyde CD206 eksprese ettikleri bu makrofajların fare BM-MKH'ların transvel ortamında İL-4 ile uyarılması ile CD206 ekspresyonun arttığı (Cho ve diğerleri, 2014),

- Pankreatik kanserin genetik mühendislikle hazırlanan fare modelinde CA-MKH'ların tümör hücreleri ile birlikte normal farelere verilmesi sonrasında farede oluşan tümör dokusu incelendiğinde CD206 ekspresyonun arttığı (Mathew ve diğerleri, 2016),

- L-MKH EL4 ile birlikte immün baskılanmış farelere verildiğinde makrofajların CD206 eksprese ettikleri bulunmuştur (Ren ve diğerleri, 2012).

2.34.25. CD209/DC-SIGN

CD209/DC-SIGN makrofajlarda PRR gibi davranarak fagositozu tetiklediği (P. T. Liu ve diğerleri, 2008), makrofajların İL-1β (M. Schenk ve diğerleri, 2014), Tarique ve diğerleri (2015) tarafından İL-4 ile tek başına, İL-13 ile tek başına ve İL-4 ve İL-13 ile birlikte uyarımlarıyla CD209+CD200R+ ve CD11b+CD209+ hücre popülasyonlarının arttığı (Tarique ve diğerleri, 2015; Teles ve diğerleri, 2010) ve ayrıca yine Tarique ve diğerleri (2015) tarafından monosit ve M1 makrofajlar CD209(-) iken M2 makrofajların CD209(+) olduğu gösterilmiştir.

MKH ve makrofajlar arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda;

- İnsan PBMC'den elde edilip M-CSF ile makrofajlara dönüştürülen makrofajların CD209/DC-SIGN mRNA transkribe ettikleri, bu makrofajların insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD209/DC-SIGN mRNA transkripsiyon seviyesinin arttığı (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- insan PBMC'den elde edilip M-CSF ile makrofajlara dönüştürülen makrofajların İFN- ve LPS ile M1 yönünde plastisitesinden sonra CD209/DC-SIGN mRNA transkripsiyon seviyesinin farklılaşmamış göre hafif derecede arttığı, bu makrofajların insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD209/DC-SIGN mRNA transkripsiyon seviyesinin arttığı (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- insan PBMC'den elde edilip M-CSF ile makrofajlara dönüştürülen makrofajların İL-4 ile M2 yönüne plastisitesinden sonra M1 plastisitesine göre CD209/DC-SIGN mRNA transcripsiyon seviyesinin belirgin derecede yükseldiği, bu makrofajların insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında kültüre edildiklerinde CD209/DC-SIGN mRNA transcripsiyon seviyesinin M1 plastisitesine göre çok yükseldiği ama M2 koşullarında transvel öncesi ve sonrası hemen hemen aynı olduğu (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- PMA/THP-1'lerle insan G-MKH'ları ile LPS ve İFN-γ varlığında direkt ve transvel ortamında ko-kültür yapıldığı zaman CD209/DC-SIGN ekspresyonunu artırdıkları (Q. Z. Zhang ve diğerleri, 2010),

- Monositik THP-1'lerde CD209/DC-SIGN mRNA tespit edilmediği ama insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiklerinde CD209/DC-SIGN mRNA seviyenin arttığı (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- PMA/THP-1'lerde CD209/DC-SIGN mRNA tespit edildiği ancak insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiklerinde CD209/DC-SIGN mRNA seviyenin düştüğü (Vasandan ve diğerleri, 2016),

- PMA/THP-1'lerin İL-4 içeren M2 plastisite medyumu ile kültüre edildiğinde CD209/DC-SIGN mRNA düzeyini artırdıkları, PMA/THP-1 hücrelerinin İL-4 ile M2 yönünde plastisitesi sağlandıktan sonra insan BM-MKH'lar ile transvel ortamında ko-kültüre edildiklerinde CD209/DC-SIGN mRNA seviyenin çok belirgin bir şekilde arttığı bulunmuştur (Vasandan ve diğerleri, 2016).

2.34.26. CD226/DNAM-1 (DNAX yardımcı molekülü/DNAX accessory molecule-1) PTA1 (trombosit ve T hücre aktivasyon antijeni/platelet and T cell activation antigen)

CD226 araştırmacılar tarafından M2 makrofajlar için yüzey belirteci olarak kullanılmaktadır (Tarique ve diğerleri, 2015).

3. ARAÇ, GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araç ve Gereçler

3.1.1. Cihazlar

Çalışma sırasında Pedi-Stem ve Gazi Üniversitesi İmmünoloji Laboratuvarında kullanılan cihazların listesi Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Kullanılan cihazların listesi

Sıra no	Cihazın Adı	Cihazın Markası ve Üretim yeri
1	Buzdolabı (+4) (kültür laboratuvarı)	ARÇELİK
2	Buzdolabı (+4) (genel laboratuvar)	ARÇELİK
3	Buzdolabı (+4) (karantina laboratuvar)	VESTEL
4	Buzdolabı (-20) (genel laboratuvar)	ARÇELİK
5	Derin dondurucu (-80)	SANYO, MDF-US186S
6	Sıvı azot tankı (-196)	MVE Chart 810
7	Pompa (Pump)	MILLIPORE, WP6122050
8	İnkübatör (auto flow water-jacketed humidity ıncubator) (karbondioksitli) (kültür laboratuvarı)	NUAİRE, NU-4850 US
9	İnkübatör (karbondioksitli) (kültür laboratuvarı)	PANASONIC, MCO-18AC
10	İnkübatör (karbondioksitli) (karantina laboratuvarı)	NUVE, EC160
11	Dikey hava akımı kabini (laminar air flow cabinet) (steril) (classII safety cabinet) (kültür laboratuvarı)	METİ SAFE
12	Dikey hava akımı kabini (laminar air flow cabinet) (steril)(karantina laboratuvarı)	FASTER, BH-EN2004
13	Dikey hava akımı kabini (laminar air flow cabinet) (steril değil)	Markası belirtilmemiş
14	Santrifüj (kültür laboratuvarı)	BECKMAN COULTER, 5810R
15	Santrifüj (karantina laboratuvarı)	NUVE, NF800R
16	Santrifüj (genel laboratuvar)	BECKMAN COULTER, 5810R
17	Mikroskop (kültür laboratuvarı)	OLYMPUS, ABD, CXX41
18	Mikroskop ve kamera (görüntüleme laboratuvarı) Çekimde kullanılan software: DP controller Analizde kullanılan software: DP manager	Mikroskop:OLYMPUS CKX41 Kamera:Olympus,DP71
19	Vorteks	BIOSAN, LB-BISN-VIP
20	100-1000 µl pipet	BOECO/KD557206
21	10-100 µl pipet	BOECO/JF511501
22	0,5-10 µl pipet	BOECO/RF5366518
23	Çok kanallı pipet	Eppendorf ES-8-100
24	Mikroplate okuyucu Analiz:Gen 5 analiz programı	Synergy HT, BIOTEK INSTRUMENTS, Part Number 7091000
25	Mikroplate okuyucu	TECAN, Avustralya
	Mikroplate okuyucu Analiz :Magellan™ software	Sunrise, TECAN
26	Akım sitometri (fluorescence-activated cell sorting /FACS) (2 lazer/8 renk) (Kaluza analiz programı)	NAVIOS, BECKMAN COULTER
27	Akım sitometri (fluorescence-activated cell sorting /FACS) (2 lazer/4 renk) (Accuri C6 Software)	Accuri C6, BD BIOSCIENCES
28	Otoklav	SANYO, MLS-3780
29	Su banyosu (shaking water bath)	GFL, 1086
30	Sonikasyon yapan su banyosu (probetec ET sonic bath)	BECTON DİCKİNSON, 440689
31	Tartı (dual-range semi-micro balances)	SHIMADZU, AUW220D
32	Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-Plex Immunoassay Kiti için plate Okuyucu (Synergy HT) (Gen 5 analiz programı)	BIOTEK Instruments, Part Number 7091000

3.1.2. Sarf Malzeme

Çalışma sırasında Pedi-Stem ve Gazi Üniversitesi İmmünoloji Laboratuvarında kullanılan sarf malzemenin listesi Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Kullanılan sarf malzemenin listesi

Sıra no	Malzemenin Adı	Markası ve Katalog numarası
1	Şırınga filtreleri (steril, 0.22 µm)	MILLEX, SLGPO33RS
2	500 ml şişe üstü filtre (steril, 0.22 µm)	MILLIPORE, SCGPU05RE
3	500 ml şişe üstü filtre (steril, 0.22 µm)	MILLIPORE, SCGPU10RE
4	T75 hücre kültür flaskı	SPL LIFE SCIENCE, 70075
5	T25 hücre kültür flaskı	VWR, 734-2311
6	6 kuyucuklu hücre kültür tabağı (multiwell cell culture plates)	VWR, 7342323
7	Kryovial (cryo tube) 2ml	GREINER,BIO ONE, GmbH, 122278
8	Hücre dondurmak için muhafaza kabı (Mr. frosty freezing container)	THERMO FISHER SCIENTIFIC, 5100-0001
9	Hemositometre (burker) (Hemacytometer) (hausse bright-line counting chamber)	FISHER SCIENTIFIC, 40 02-672-5
10	15 ml santrifüj tüpü	VWR, 21008-214
11	50 ml santrifüj tüpü	VWR, 525-0610
12	1,5 ml ependorf	AXGEN, MCT, 150-C
13	Eldiven, pudrasız, steril değil	HELMED, 20160831
14	25 ml serolojik pipet	SPL, 91025
15	10 ml serolojik pipet	KIRGEN, K61441
16	5 ml serolojik pipet	COSTAR, 4487
17	200-1000 µl pipet ucu (filtreli)	VWR, 89174-530
18	1-200 µl pipet ucu (filtreli)	VWR, 53510-106
19	1-10 µl pipet ucu (filtreli)	VWR, 613-0985
20	Sterile pastör pipet	LP, Italiana SPA, 135138
21	Hücre kazıyıcı (cell scraper/25cm handle, 1,8 cm blade)	CORNING, 3010 ve VWR, 734-2602
22	Hücre süzücü (cell strainer/70 µm)	FALCON, 352350
23	FACS test tüpü, (12x75mm Polystyrene non sterile)	ELKAY, 2052-004
24	İnsert (0,4 um delik ölçüsünde olan polyester membran yapısına sahip/6 kuyucuklu kültür tabakları için)	Costar, 3450

3.1.3. Kimyasallar

Çalışma sırasında Pedi-Stem ve Gazi Üniversitesi İmmünoloji Laboratuvarında kullanılan kimyasalların listesi Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Kullanılan kimyasalların listesi

Sıra No	Kimyasalın Adı	Markası ve Katalog Numarası
1	MCDB 201	SİGMA, M6770-1L
2	DMEM-LG	BIOCHROM, F0415
3	FBS	BIOWEST, S181G-500
4	Penisilin/streptomisin (10.000U/ML)	BIOCHROM, A-2213
5	L-Glutamin (200Mm)	BIOCHROM, K-0283
6	Tripsin/EDTA (Ethylene diamine tetra acetic acid /etilen diamin tetra asetik asit)) solüsyonu (0.05 %)	CAPRİCORN, TRY-1B
7	PBS tablet (Phosphate buffered saline/fosfat tamponlu salin)	VWR, E404-100TB
8	PBS 10x hücre kültürü için	AMBION, AM9625
9	Deksametazon (dexamethazone)	SIGMA, D2915
10	Indometazin (indomethacin)	SIGMA, 1341001
11	Izobutilmetilksantin (IBMX) 3-(ısobutyl-1-methylxanthine)	APPLİCHEM, A0695,0001
12	Insülin	SIGMA, I3536
13	Formalin	SIGMA, HT501320
14	OilredO (ORO)	SIGMA, 0-0625
15	IGEPAL- CA-630	SIGMA, I8896
16	Isopropanol (isopropyl alcohol)	SIGMA, W292912
17	Betagliserofosfat (ß-glycerophosphate)	APPLİCHEM, A2253,0500
18	L-askorbik asit (L-ascorbic acid)	SIGMA, A4403
19	Hücre ayrıştırma medyumu (Lympho paque cell separation medium (density of 1.077))	GENAXXON, C4754
20	Perkol (Density:1.130 g/ ml/ Osmolality: < 25 mOsm/kg)	GE HEALTHCARE LİFE SCİENCES, 17-0891-01
21	Turk's solüsyonu	MERCK, 109277
22	Tripan mavisi solüsyonu (%0,4)	SIGMA, 93595
23	rM-CSF	SIGMA, M6518
24	Poli(I:C)	SIGMA, p1530
25	rhİFN-γ	IMMUNOTOOLS, 11343536
26	LPS	SANTACRUZ BİOTECHNOLOGY, SC3535
27	rhİL-4	IMMUNOTOOLS, 11340043
28	rhİL-10	IMMUNOTOOLS, 11340105
29	rhİL-13	IMMUNOTOOLS, 11340135
30	rhTNF-α	IMMUNOTOOLS, 11343015
31	PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate)	SERVA, 32496
32	RPMI-1640	BİOWES, L0501-500
33	DMSO (Dimethyl sulfoxide)	CHEMCRUZ SC-202581
34	Akım sitometri için boyama solüsyonu (Staning buffer)	BD Pharmingen, 554656
35	Hücre sabitleme solüsyonu (Cytofix)	BD BİOSCİENCES, 554655
36	Hücre yıkama solüsyonu (Cell wash)	BD BİOSCİENCES, 349524
37	Akım sitometri cihazını temizleme solüsyonu (FACS clean)	BD BİOSCİENCES, 340345
38	Akım sitometri solüsyonu (FACS flow)	BD BİOSCİENCES, 342003
39	Alexa 488 ile bağlanmış E. Koli (Escherichia coli (K-12 strain) BioParticles®, Alexa Fluor® 488 conjugate)	THERMOFİSHER, E13231

3.1.4. Kitler

Çalışma sırasında Pedi-Stem ve Gazi Üniversitesi İmmünoloji Laboratuvarında kullanılan kitlerin listesi Çizelge 3.4'de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Kullanılan kitlerin listesi

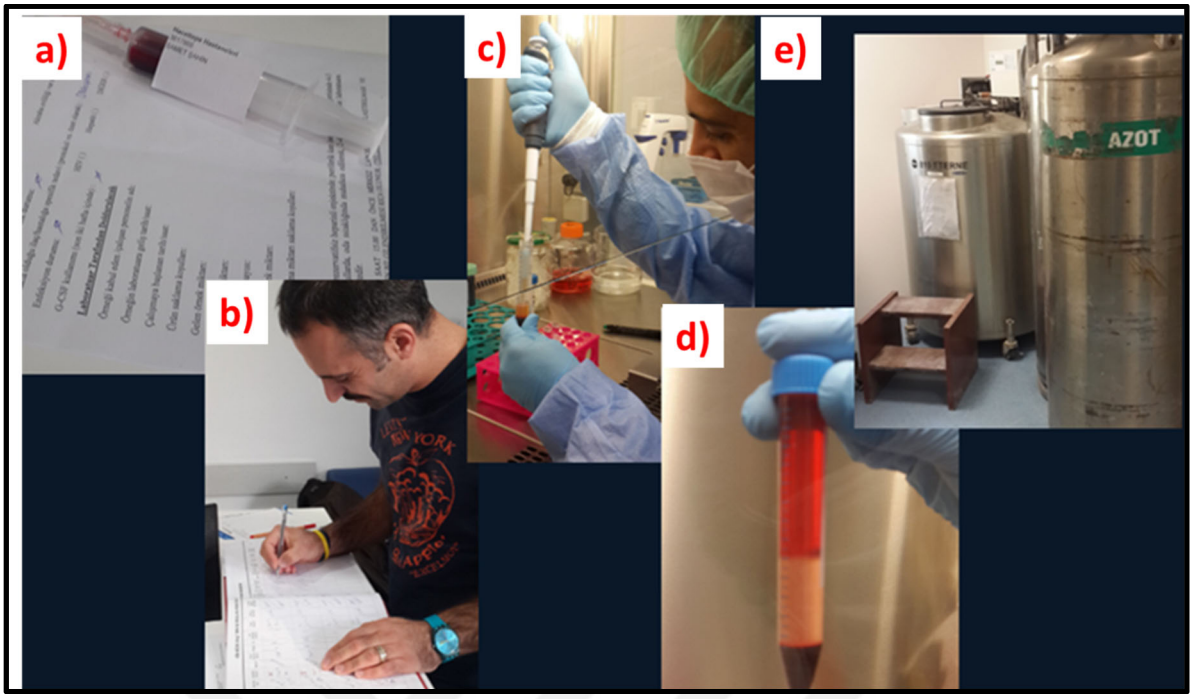
Sıra No	Kitin Adı	Kitin Markası ve Katalog numarası
1	Quantichrom calcium assay kit	Bioassay Systems, DICA-500
2	Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-Plex Immunoassay kiti (FGF basic, Eotaxin, G-CSF, GM-CSF, IFN-γ, İL-1β, İL-1rRA, İL-2, İL-4, İL-5, İL-6, İL-7, İL-8, İL-9, İL-10, İL-12 (p70), İL-13, İL-15, İL-17, IP-10, MCP-1 (MCAF), MIP-1α, MIP-1β, PDGF-BB, RANTES, TNF-α ve VEGF)	BIO-RAD, M500KCAF0Y
3	hTGF-β ELISA kit	Shanghai YL Biotech Co Ltd. YLA 0492HU
4	hCCL-22 ELISA kit	Shanghai YL Biotech Co Ltd. YLA 3721HU
5	hIDO ELISA kiti	Shanghai YL Biotech Co Ltd. YLA 1644HU
6	FITC-BrdU Flow kit	BD Pharmingen, (557891/559619) 512354AK
7	Flow check	Beckman coulter, 6605359
8	Cytometer Setup & Tracking Beads Kit	BD Biosciences, 641319

3.2. Yöntem

Deneylerin tümü Pedi-Stem'de ve Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışma prospektif bir çalışma olarak planlanmıştır.

Çalışmamız tek disiplinli bir çalışma olup, deney modelleri proje teklifinde yer alan kurumların alt yapısına ve iş akışına uygun bir şekilde hazırlanmıştır.

İlerleyen bölümlerde detaylı olarak bahsedilecek olan Pedistem'de MKH eldesi ve depolanmasının fotoğrafları Resim 3.1'de yer almaktadır (Fotoğraf: Dr. Zeynep Zehra COŞKUN, 2017). Fotoğrafta a-b) Pedistem'e şırınga içinde gelen Kİ örneğini, ilgili formu ve bunun kaydının tutulmasını, c-d) fikol yoğunluk gradienti (Ficoll density gradient) ile BM-MNC'lerin ayrıştırılmasını, e) MKH'ların depolandığı azot tanklarını göstermektedir.



Resim 3.1. Pedistemde MKH eldesi ve depolanması (Fotoğraf: Dr. Zeynep Zehra COŞKUN)

3.2.1. Kemik iliği vericilerinin seçimi

Etik kurul başvurusu Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 18.02.2015 tarihinde yapılan toplantısında GO 5/139-25 numaralı kararı ile kabul edilen (EK-18) ve 03.01.2017 tarih ve GO15/139-22 karar numarası ile revize edilen (EK-19) bu çalışmada, Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 27.01.2016 tarih ve 01 karar numarası ile (EK-20) onaylanan Pedi-Stem Biyobankası tarafından örnekleri araştırma amaçlı depolanmak üzere onamları alınan (EK-21) 22 yaşında bayan, 23 yaşında erkek, 26 yaşında erkek, 48 yaşında bayan ve 48 yaşında bayan olmak üzere yaşları 20-50 aralığında olan gönüllü sağlıklı vericiler (n=5) Kİ vericisi olarak çalışmaya kabul edildi. Herhangi bir hastalık için heterozigot olanlar veya tedavi amaçlı ilaç kullananlar (antibiyotik vb) araştırmaya dâhil edilmedi.

3.2.2. Kİ örneklerinin alınması

Hacettepe Üniversitesi Pediatrik Kemik İliği Nakil Ünitesinde sağlıklı Kİ nakli vericilerinden hastalara transplantasyon amacıyla yaklaşık 300-1000 ml kemik iliği toplanmaktadır. Bu işlem ameliyathane koşullarında, ailelerin/hastaların yazılı bilgilendirmiş onamı alındıktan sonra yapılmakta olan standart bir tedavi yöntemidir.

Vericiler Hacettepe Üniversitesi Pediatrik Kemik İliği Nakil Ünitesinde ameliyathane koşullarında, sağlıklı gönüllü Kİ vericilerinin çift taraflı kalça kemiklerinden (bilateral posterior iliak krest area) kemik korteksine yakın yüzeyel bölgeden (osteoblastik kemik iliği nişinden), Kİ aspirasyon/biyopsi iğnesi ile girer girmez 1 defa aspirasyon yapılarak yaklaşık 2-3 cc Kİ örneği alındı. Daha sonra çoklu aspirasyonlar yapılarak hastalara nakil amaçlı Kİ toplanmasına devam edildi (10-16 cc/kg). Kİ alımında bu ünitede rutin olarak yapılan işlemler dışında herhangi bir işlem yapılmadı.

3.2.3. İnsan Kİ örneklerinden MNC (tek çekirdekli hücreler/mononuclear cell) eldesi

Bu çalışmada insan Kİ örneklerinden MNC dansiteye göre ayrıştırma yöntemi ile izole edildi. Her bir toplanan örnekten (yaklaşık 3 ml), oda ısısında 1800 rpm (Çarkın Dakikadaki Dönüş Hızı/Revolutions Per Minute of Rotor)/(360xG)(Göreceli Santrifüj Kuvveti veya G-kuvveti (göreceli santrifüj kuvveti veya G-kuvveti/Relative Centrifugal Force (RCF) or G-Force) 10 dk santrifüj işleminden sonra, plazması ayrıldı. Kalan örneğe yaklaşık 1 ml PBS eklenerek, örnek 6 ml'ye tamamlandı ve pastör pipetle yavaşça karıştırılarak homojenize edildi. Karışım 1/3 ayrıştırma medyumu 2/3 örnek olacak şekilde, oda ısındaki 3 ml dansiteye göre ayrıştırma medyumu (Lympho-Paque-Cell Separation Medium (density of 1.077) (GENAXXON, C4754)) üzerine yayıldı. Frensiz olarak 2000 rpm'de (400xG) 15 dk oda sıcaklığında santrifüj edildi. Santrifüjün sonunda üst tabaka dikkatlice pastör pipetle toplandı ve atıldı. Yaklaşık 0,5 cm kalınlığındaki MNC'leri içeren opak ara alan pastör pipetle toplanarak yeni falkon tüpe aktarıldı. Üzerine PBS eklenerek 15 ml ye tamamlandı. Yavaşça karıştırıldıktan sonra 1500 rpm'de (p:250xG) 5 dakika oda sıcaklığında frenli santrifüj edildi. Peletin üzerine 1 ml PBS konarak yavaşça homojenize edildi. 3 ml Kİ örneğinden yaklaşık 10-50x10^6 MNC elde edildi. Bir kriovialde yaklaşık 20x10^6 MNC olacak şekilde hücre dondurma işlemi yapıldı veya yaklaşık 10x10^6 MNC kültür kabına ekilerek MKH elde edilmesi planlandı.

3.2.4. MKH gelişim ve dondurma mediumlarının hazırlanması

<u>MCDB 201 medyumu</u>

MCDB 201 (SİGMA, M6770-1L) belirli hücre tiplerinin büyümesi için tasarlanmış hormonlar, büyüme faktörleri, eser elementler veya düşük seviyeler diyalize tabi tutulmuş

FBS içermektedir. Toz halindeki medyum 200 ml oda ısındaki otoklavlanmış ddH2O (Ultra pure and sterile water / steril ve ultra saf su) içinde çözülene kadar dikey hava akımı kabini içinde eritildi. Final volüm 1L tamamlanıp karıştırıldıktan sonra 0,22 µm delik büyüklüğü olan filtreden geçirildi. Üzerine gerekli bilgiler (hazırlanma tarihi, sterilitesi, medyum adı) yazılan stok solüsyon folyo ile sarılarak 4°C'de en fazla 2 hafta süreyle saklandı.

DM

%40 MCDB 201 (SİGMA, M6770-1L) medyumu ve %60 DMEM-LG (BIOCHROM, F0415) karışımı olarak hazırlanan medyum şırınga filtrelerinden (steril, 0,22 µm delik büyüklüğü olan) geçirildikten sonra DMF-10 hazırlamak için kullanıldı artanı üzerine gerekli bilgiler (hazırlanma tarihi, sterilitesi, medyum adı) yazılıp 4°C'de en fazla 2 hafta süreyle saklandı.

FBS'nin sıcakla inaktivasyonu

37 derecede su banyosunda çözülen FBS (BIOWEST, S181G-500) 56°C su banyosunda 45 dk bekletilerek sıcaklıkla in aktivasyonu yapıldıktan sonra tüplere bölünerek -20°C'de saklandı.

DMF-10

%88 DM (MCDB:%40 DMEM-LG:%60), %10 HI-FBS (BIOWEST, S181G-500), %1 penisilin/streptomisin (BIOCHROM, 10.000U/ML, A-2213) ve %1 L-glutamin (BIOCHROM, 200Mm, K-0283) karışımı olarak hazırlanan medyum şırınga filtrelerinden (steril, 0.22 µm delik büyüklüğü olan) geçirildikten sonra üzerine gerekli bilgiler (hazırlanma tarihi, sterilitesi, medyum adı) yazılıp 4°C'de en fazla 2 hafta süreyle saklandı.

Dondurma medyumu

%20 DMSO (CHEMCRUZ SC-202581) %40 FBS (BIOWEST, S181G-500), %40 DMEM-LG (BIOCHROM, F0415) karışımı olarak 2x olarak hazırlanan medyum şırınga filtrelerinden (steril, 0.22 µm delik büyüklüğü olan) geçirildikten sonra üzerine gerekli bilgiler (hazırlanma tarihi, sterilitesi, medyum adı) yazılıp +4°C'de en fazla 2 hafta süreyle

saklandı. Kullanışı: 10^6 MKH/ 500 ul DM eklenerek hücreler homojenize edilir kriovial tüplere aktarıldı. 2x olarak hazırlanan dondurma medyumdan 500 ul damla damla eklendi.

3.2.5. Havuz MKH oluşturma protokolü

22 yaşında bayan, 23 yaşında erkek, 26 yaşında erkek, 48 yaşında bayan ve 48 yaşında bayan olmak üzere 5 adet vericinin pasaj 0 olarak dondurulmuş örnekleri çözüldü ve pasaj 1 olarak ekildi. İçlerinden üremesi en iyi olan 23 yaşındaki erkek ve 22 yaşındaki bayan verici seçilerek tripsinizasyon protokolüne uygun olarak toplanan hücreleri tripan mavisi ile canlılıkları kontrol edildi ve hücre sayımı yapıldı. Aynı oranda karıştırılarak MKH havuzu oluşturuldu. Bundan sonra hücreler pasajlamaya devam edilerek pasaj 3'de karakterizasyon amacıyla pasaj 4 ile 6 arasında da deneyler için kullanıldı.

3.2.6. MKH'ların in vitro kültüre ekilmesi ve çoğaltılması

Kİ örneklerinden MNC'ler dansiteye göre ayrıştırma medyumu ile ayrıştırıldıktan sonra 3 ml Kİ örneğinden genelde 10-50x10^6 MNC edildi. Bunlar donduruldu veya MKH üretimine geçildi. MNC'lerden direkt taze olarak veya dondurulmuş MNC çözülerek 10x10^6 MNC 10 ml DMF-10 içinde T75 flasklara ekildi ve pasaj 0 olarak adlandırıldı. 37°C ve % 5 CO2 (nemli inkübatörde kültüre konuldu. Haftada 2 defa inkübatörden çıkarılan flask/kuyucuk ilk önce göz ile daha sonra invert-mikroskop altında hücreler incelendi. Hücre oranı (%) kaydedildi. Dikey hava akımı kabini içerisine alınan flask/kuyucuk içerisindeki medyum bir kısmı pipet yardımı ile alıp atık kabına dökülüp taze medyum eklendi. 37°C'de ve %5 CO2 içeren inkübatörde kültüre bırakıldı. Hücreler yaklaşık 15-20 gün içerisinde flaskın %70-80'ni doldurdu. %70-80 yoğunluğa ulaştığı zaman genelde 1-2x106 MKH elde edildi. Daha sonraki pasaj 2x10^5 MKH 10 ml DMF-10 içinde ekildi ve pasaj 1 olarak adlandırıldı. Haftada 2 defa yukarda açıklandığı şekilde medyum değişimi yapılan hücreler %80 yoğunluğa kadar üretildi. Daha sonra ya stok amacıyla donduruldu ya da aynı şekilde pasajlanmaya devam edildi. Pasaj 3 farklılaşma ve karakterizasyon için kullanıldı. Bundan sonra pasaj 6 ya kadarki pasajlar deneylerde kullanıldı.

3.2.7. Tripsinizasyon

Flask/kuyucuk içerisinde tabana yapışık halde bulunan hücreler %70 doluluk oranına geldiğinde yapıştıkları yüzeyden tripsin/EDTA solüsyonu (0.05 %) (Capricorn Scientific, TRY-1B) kullanıldı. Tüm solüsyonlar en az 30 dakika oda ısısında bekletilerek ısıtıldı. İnkübatörden çıkarılan flask/kuyucuk ilk önce göz ile daha sonra mikroskop altında incelendi. Hücre oranı kaydedildi. Dikey hava akımı kabini içerisine alınan flask/kuyucuk içerisindeki medyum pipet yardımı ile atık kabına döküldü. Medyum miktarı kadar PBS eklenerek 2 defa yıkandı. Flask/kuyucuk içerisine cm2 ye 40 µl olacak şekilde tripsin/EDTA solüsyonundan ilave edildi ve tabana iyice yayılarak inkübatöre kaldırıldı. Yaklaşık 5 dk süresince 37°C ve % 5 CO2 nemli inkübatörde inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda flask/plate inkübatörden çıkarıldı ve elle vurularak hücrelerin flasktan iyice ayrışması sağlandı. Mikroskop altında ayrışıp ayrışmadıklarına bakıldı. Ayrışma gerçekleştiyse konulan tripsin miktarı 2 katı kadar taze DMF-10 eklendi ve hücre süspansiyonu toplanarak falkon içerisine aktarıldı. Flask/kuyucuk medyumla ile bir kez daha yıkanarak kalması muhtemel hücrelerde toplanarak falkon içerisine aktarıldı. 1500 rpm'de (p:250xG)5 dk oda sıcaklığında frensiz santrifüj edildi. Peletinin üzerine 1 ml DMF-10 eklenerek hücre sayım işlemine geçildi.

3.2.8. MKH ve MNH'ları dondurma ve çözme

Kullanılacak kriovial tüpler üzerine tanımlayıcı bilgiler yazıldıktan sonra buz kabının üzerine 2x dondurma medium ve DMEM-LG ile birlikte yerleştirildi. MKH'lar tripsinizasyon protokolüne göre toplandıktan canlılık ve hücre sayısı değerlendirildikten sonra onlarda buz kabının üzerine transfer edildi. Dondurulabilmesi için 1 kriovial içerisinde; MKH sayısı 0,5-1x10^6/500 ul DMEM-LG, MNC sayısı ise 10-50x10^6 500 ul DMEM-LG arasında olacak şekilde kriovial tüplere aktarıldı. 2x olarak hazırlanan dondurma medyumdan her bir kriovial üstüne 500 ul damla damla eklendi. Bu işlemler soğukta, buz üstünde yapıldı.

Yavaş-kademeli dondurma işlemi dondurma saklama kabı (Mr. Frosty Freezing Container (THERMO FISHER SCIENTIFIC, 5100-0001)) ile gerçekleştirildi. Dondurma saklama kabı içerisindeki isopropenol -80°C'ye kadar 1 dakikada 1°C'de olacak şekilde kademeli ısı

kaybı sağlar. 80°C'de 1 gün dondurma saklama kabı içinde bekleyen hücreler kısa sürede yapılacak deneyler için -80°C'de tutulurken uzun süre saklanmak isteyenler azot tankına kaldırıldı. -80°C'de ve azot tankında saklanan hücreler -20°C'de taşıma kabında dikey hava akımı kabini içine getirildi. 37°C'de su içinde döndürülerek içinde küçük bir buz tanesi kalana kadar çözüldü ve kriovial içeriği içinde DMF-10 bulunan falkonlara aktarıldı ve çöktürüldü. Pelet dağıtıldıktan sonra DMF-10 eklendi ve tripan mavisi solüsyonu ile hücre canlılığı değerlendirilip hücre sayımı yapıldı.

3.2.9. Akım sitometri ile immün fenotipik olarak incelenmesi

Hücre yüzeyi proteinleri akım sitometri (Fluorescence Activated Cell Sorting (FACS)) ile tanımlandı. Tüp başına 2x10^5 hücre olacak şekilde akım sitometri tüplerine bölüştürüldü.1500 rpm'de (p:250xG) 5 dk santrifüj yapıldı ve süpernatan döküldükten sonra tüplerdeki pelet homojenize edildi. Peletin üzerine 100 µl %2 insan ABRh(+) serumu ve PBS/BSA/sodyum azid eklenerek homojenize edildi.

Daha sonra floresanlarına göre gruplara ayrılan antikorlardan her birinden 3-5 µl olacak şekilde her bir tüpe eklendi ve vorteks ile karıştırıldı. Karanlıkta ve oda ısısında 15-20 dakika inkübe edildi. Pelet PBS ile 2 defa yıkandı. Pelete 300 µl PBS eklenerek homojenize edildi. Akım sitometri ile (Navios/Beckman Coulter FACS cihazı (2 lazer/8 renk)) ile her bir örnekte 10 000 event olacak şekilde okutulup Kaluza analiz programı ile analizler gerçekleştirildi veya diğer bir akım sitometri ile (BD Biosciences Accuri C6 (2 laze/4 renk)) her bir örnekte 10 000 event olacak şekilde okutuldu ve BD Biosciences Accuri C6 Software ile analizler gerçekleştirildi.

3.2.10. MKH'ların analizi

ISCT hem laboratuvar hem de pre-klinik çalışmalar için bir MKH tanımına uyabilmesi açısından MKH'lerin 3 temel karakteristik özelliğini gösterecek aşağıdaki analizlerin yapılmasını önermiştir.

Tüm karakterizasyon çalışmaları için morfolojik analiz, farklılaşma analizi (osteoblast ve adipositlere in vitro farklılaşma) ve immünfenotiplendirme ile yüzey molekül analizi pasaj 3'den sonra yapılmaktadır.

MKH’ların morfolojik analizi

MKH’lar DMF-10 içinde MKH’ların gelişim protokolüne uygun olarak çoğaltıldıkları zaman plastik yüzeye yapıştılar ve iğsi-poligonal morfoloji göstermekteydiler. Bu özelliklerinin inverted mikroskop ile görüntülendikten sonra çekilen fotoğrafı bulgular bölümünde yer almaktadır.

İmmünfenotiplendirme ile yüzey molekül analizi

BM-MKH’in hücre yüzeyi proteinleri akım sitometri (Fluorescence Activated Cell Sorting (FACS)/Aria cihazı) ile tanımlandı. Bağ dokusu ve hematopoetik yüzey belirteçlerine bakıldı. İmmün fenotiplendirme için pasaj 3 diğer deneyler için pasaj 4-6 arası kullanıldı. Tabana yapışık hücreler %80 yoğunluğa ulaşınca kazıma ile kaldırılarak ve tek hücre süspansiyonları hazırlanarak tripan mavisi boyası kullanılarak hücre canlılığına bakıldı ve sayımı yapıldı. Akım sitometri bölümünde anlatıldığı gibi hazırlanan hücreler Çizelge 3.5’de yer alan antikorlar ile boyandı. Akım sitometri ile (BD Biosciences Accuri C6 (2 laze/4 renk)) her bir örnekte 10 000 event olacak şekilde okutuldu ve BD Biosciences Accuri C6 Software ile analizler gerçekleştirildi.

Çizelge 3.5. MKH'ların immünfenotiplendirme ile yüzey molekül analizinde kullanılan antikorlar ve konjugeleri

	ANTİKOR	FLORESAN	MARKA
BAĞ DOKUSU (STROMAL) YÜZEY İŞARETLERİ	CD105	APC	BD PHARMINGEN
	CD90	FITC	BD PHARMINGEN
	CD73	PE	BD PHARMINGEN
	CD44	PE-Cy7	BD PHARMINGEN
	CD29	APC	BD PHARMINGEN
HEMATOPOETİK YÜZEY İŞARETLER	CD34	PE	BD PHARMINGEN
	CD45	FITC	BD PHARMINGEN
	CD14	FITC	BD PHARMINGEN

MKH'lerin farklılaşma özelliklerinin saptanması

Adipojenik (yağ dokusu) farklılaşma özelliklerinin saptanması

Uckan ve diğerleri (2009) tarafından yayınlanan protokole uygun olarak adipojenik farklılaşmanın değerlendirilmesi için sağlıklı vericilerden alınan Kİ MNC izolasyon ve MKH gelişim protokolüne göre elde edilen MKH'lar 3 pasaja kadar DMF-10 içerisinde üretildi. Tripsinizasyon protokolüne uygun olarak toplanan hücrelerin canlılığı değerlendirilip sayımı yapıldı. 6 kuyucuklu tabakların adipojenik farklılaşma için ayrılan 2 kuyucuğuna 25 000 MKH 2 ml DMF-10 içerisinde kontrol için ayrılan 1 kuyucuğa ise12 5000 MKH 1 ml DMF içerisinde ekildi. Haftada 2 kez besi yeri DMF-10 ile değiştirilerek adipojenik farklılaşma değerlendirmesi için ekilen kuyulardaki hücre yoğunluğu %90-100 ulaşması sağlandı. Daha sonra bütün kuyucuklar 1 ml PBS ile yıkandı ve adipojenik farklılaşması istenen hücreleri içeren kuyucuklara Çizelge 3.6 de içeriği listelenen 2 ml adipojenik farklılaşma besi yeri eklendi. Kontrol kuyucuklarına ise büyüme besi yeri eklendi. 21. günde farklılaşma sonlandırıldı. Bütün kuyucuklar PBS ile yıkandıktan sonra hücreler %10 formalin solüsyonu (Sigma ABD) ile fikse edildi. Formalin uzaklaştırıldıktan sonra bütün kuyucuklara 1 ml (1,1 mg/ml) oilredO (ORO) boyası (SIGMA, catno:0-0625) eklendikten sonra 10 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonrası bütün kuyucuklar 2 defa ddH2O ile yıkandı. Daha sonra hücrelerdeki lipid birikimini göstermek amacı ile dijital görüntüleme sistemi ((Mikroskop: OlympusCXX41 Kamera: Olympus, DP71 Çekimde kullanılan: DPcontroller Analizde kullanılan: DPmanager software) ile kuyucukların fotoğrafları çekildi. Adipojenik farklılaşmanın semi-quantitif değerlendirilmesi amacıyla kuyucuklara deterjan özelliğinde olan %4 IGEPAL- CA-630 (SIGMA, I8896)/isopropanol (isopropyl alcohol) (Sigma, W292912) eklenerek 1 saat inkübasyona bırakıldı bu süreçte boyanın hücrelerden ekstraksiyonu sağlandı. Kuyucuklar içerisinden toplanan igepal/isopropanol ve boya karışımı, 96 kuyucuklu kültür kaplarına 100 µl olacak şekilde bölüştürüldü. Kontrol olarak ise Oil Red O boyası kullanarak standartlar hazırlandı. Kuyucuklar içerisindeki karışım mikroplate okuyucusunda (Tecan, Avustralya) 492 nm dalga boyunda okutuldu ve veriler grafiğe geçirildi.

Çizelge 3.6. Adipojenik farklılaşma medyumunun içinde bulunan kimyasalların listesi

	50 ml medyum hazırlamak için	Saklama koşulu	Firma ve Katalog numarası
DMEM-LG	30 ml	+4	BIOCHROM, F0415
%10 Hİ-FBS	5 ml	-20	BIOWEST, S181G-500
%1 Penisilin/streptomisin (10.000U/ML)	500ul	-20	BIOCHROM, A-2213
%1 L-glutamin (200Mm)	500ul	-20	BIOCHROM, K-0283
Deksametazon 1 µm	50ul	-20	SIGMA, D2915
Indometazin 60 µm	50ul	+4 veya -20	SIGMA, 1341001
insulin 5 µg	62,5ul	-20	SIGMA, I3536
IBMX 3-Izobutil 1-metilksantin 500 µM	50ul	-20	APPLİCHEM, A0695,0001
DMEM-LG	İle 50 ml tamamlanır	+4	BIOCHROM, F0415

Osteojenik (kemik dokusu) farklılaşma özelliklerinin değerlendirilmesi

Uckan ve diğerleri (2009) tarafından yayınlanan protokole uygun olarak osteojenik farklılaşmanın değerlendirilmesi için sağlıklı vericilerden alınan Kİ'den MNC izolasyon ve MKH gelişim protokolüne göre elde edilen MKH'lar 3 pasaja kadar DMF-10 içerisinde üretildi. Tripsinizasyon protokolüne uygun olarak toplanan hücrelerin canlılığı değerlendirilip sayımı yapıldı. 6 kuyucuklu tabakların osteojenik farklılaşma için ayrılan 2 kuyucuğuna 12 500 MKH 1 ml DMF-10 içerisinde kontrol için ayrılan 1 kuyucuğa ise 12 5000 MKH 1 ml DMF içerisinde ekildi. Haftada 2 kez besiyeri DMF-10 ile değiştirilerek osteojenik farklılaşma değerlendirmesi için ekilen kuyulardaki hücre yoğunluğu %70-80 ulaşması sağlandı. Daha sonra bütün kuyucuklar 1 ml PBS ile yıkandı ve osteojenik farklılaşması istenen hücreleri içeren kuyucuklara Çizelge 3.7'de içeriği listelenen 2 ml osteojenik farklılaşma besi yeri eklendi. Kontrol kuyucuklarına ise büyüme besi yeri eklendi. 21 günde farklılaşma sonlandırıldı. Bütün kuyucuklar PBS ile yıkandıktan sonra osteojenik farklılaşma için ayrılan kuyulardan bir tanesi %10 formalin solüsyonu (Sigma ABD) ile fikse edildi. Formalin uzaklaştırıldıktan sonra 1 ml Alizarin RedS (ARS) boyasının boyası eklendikten sonra 10 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonrası kuyucuk 2 defa ddH20 ile yıkandı. Daha sonra hücrelerdeki kalsiyum fosfat mineral depositleri göstermek amacı ile

dijital görüntüleme sistemi (Mikroskop: OlympusCXX41 Kamera: Olympus, DP71 Çekimde kullanılan DPcontroller software, Analizde kullanılan: DPmanager software) ile kuyucukların fotoğrafları çekildi. Osteojenik farklılaşma kuyucukların Ca (kalsiyum) içeriğinin değerlendirilmesi amacıyla osteojenik farklılaşma için ayrılan bir kuyucuğa ve kontrol kuyucuğuna 0,6 M HCL den 1 ml konularak 4 saat inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda kuyucukların içeriği 96 kuyucuklu kültür kaplarına 100 µl olacak şekilde bölüştürüldü. Quantichrom Calcium Assay Kiti (Bioassay Systems, ABD, DICA-500) prosedürüne göre işlem yapıldı. Kuyucuklar ELISA okuyucusunda 620 nm dalga boyunda okutuldu ve çıkan sonuçlar grafiğe geçirildi.

Çizelge 3.7. Osteojenik farklılaşma medyumunun içinde bulunan kimyasalların listesi

	50 ml medyum hazırlamak için	Saklama koşulu	Firma ve Katalog numarası
DMEM-LG	30 ml	+4	BIOCHROM, F0415
%10 Hİ-FBS	5ml	-20	BIOWEST, S181G-500
%1 Penisilin/streptomisin (10.000U/ML)	500ul	-20	BIOCHROM, A-2213
%1 L-Glutamin (200Mm)	500ul	-20	BIOCHROM, K-0283
Deksametazon 100 nM	5ul	-20	SIGMA, D2915
Beta gliserofosfat 10 mM	500ul	-20	APPLİCHEM, A2253,0500
L-askorbik asit 0,2 mM	500ul	-20	SIGMA, ABD A4403
DMEM-LG	İle 50 ml tamamlanır	+4	BIOCHROM, F0415

3.2.11. Tripan mavisi almama testi (trypan blue exclusion test)

Hücrelere tripan mavisi solüsyonu (Trypan blue solution %0,4) (SIGMA, 93595) ilave edilmekte, daha sonra 3-5 dakika oda ısısında bekletilerek ve mikroskop altında hücreler değerlendirilmektedir. Seçilen alanda ölü ve yaşayan hücreler sayılmaktadır. Total hücre sayısından boyanmış hücre sayısı çıkarıldıktan sonra elde edilen değerin total hücre sayısına bölünmesiyle elde edilen değer yüzde cinsinden hesaplanarak canlı hücre yüzde oranı hesaplanmaktadır. %90 canlılık deneyler için yeterli kabul edildi.

3.2.12. THP-1 kültürleri

Arka plan

THP-1 (Cat. No: ATCC#TIB-202) 1 yaşında erkek monositik lösemi olan erkek hastasından elde edilen bir hücre hattıdır. C3 (Kompleman Bileşeni 3/Complement Component 3) ve FcR (Kristalize Olabilen Bölüm Reseptörü/Fragment Crystallizable Region Receptor) eksprese eder, fagositik özellik gösterir ve farklılaştıktan sonra TLR agonistlerine yanıt verir (S. Tsuchiya ve diğerleri, 1980).

THP-1 üreme medyumunun içeriği

Üreme medyumu olarak %10 FBS-sıcakla inaktive (biowest, S181G-500), %1 penisilin/streptomicin (Biochrom, A-2213) ve %1 L-glutamin (200mM/ Biochrom, K-0283) RPMI-1640 (Thermo Fisher Scientific, 21870-076) kullanıldı ve protokollerde RPMI %10 olarak adlandırıldı.

THP-1 donmuş hücre stokların hazırlanması

THP-1 hücreleri dondurulduktan sonra çözünürken çözünmeden dolayı meydana gelen hasara çok dayanıksızdır. Bu yüzden donmuş stoklar normalden daha yoğun hazırlandı. 20 ml medyumda 10^6/ml hücre yoğunluğuna ulaşıncaya kadar üretilen hücrelere çöktürülüp pelet dağıtıldıktan sonra 3,6 ml FBS eklenip karıştırıldı. Daha sonra üzerine damlalar halinde 400 ul DMSO eklenip 1ml krioviallara transfer edildi. Dondurma saklama kabına (Mr frosti) yerleştirilen kriovialler -80°C 24 saat bekletilen hücreler -80°C veya sıvı nitrojen tankında saklandı.

Donmuş THP-1'lerin çözülmesi

Çözme işlemine başlamadan önce medyum 37˚C kadar ısıtıldı ve 30 ml medyum 50 ml falkonlara transfer edildi. Vial nitrojen tankından veya -80°C çıkartıldı ve -20°C taşıma kabında dikey hava akımı kabini taşındı. Daha sonra içinde küçük bir buz tanesi kalana kadar 37˚C'lik su içinde döndürülerek çözüldü. Vialin içeriği içinde 30 ml medyum bulunan falkonlara aktarılıp 1500 rpm'de (250xG) 5 dk çöktürüldükten sonra 15 ml medyum

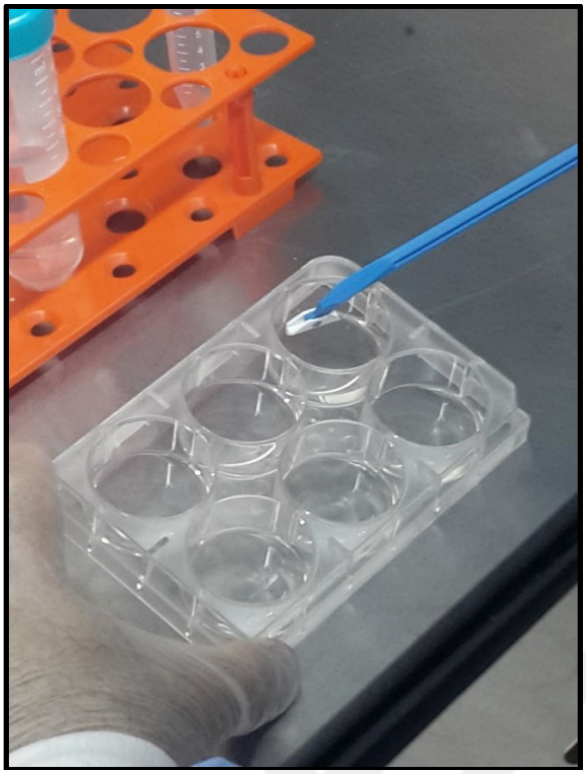
eklenerek bir gece inkübe edildi. Ertesi gün hücre sayımı yapılarak 2x10^5/ml olacak şekilde ekildi.

THP-1 hücre kültürü

Hücreler 2x10^5 hücre/ml olacak şekilde RPMI%10 içinde ekildikten sonra 3-4 gün inkübatörde büyümeye bırakıldı. 4. günün sonunda inkübatörden çıkarıp karıştırılan hücreler 1500 rpm'de (250xG) 5 dk çöktürüldükten sonra pelet dağıtıldı ve RPMI%10 eklendi. Tripan mavisi solüsyonu (SIGMA, T8154) ile tripan mavisi almama testi (Trypan Blue Exclusion Test) yapılarak hemasitometer (burker) ile hücre sayımı yapılıp canlılığına bakıldı.2x10^5 hücre/ml olacak şekilde tekrar ekildi.

THP-1'lerin makrofajlara farklılaştırılması

Farklılaşma için stok solüsyonu DMSO içinde 2mM olarak ve farklılaşma medyumu (çalışma solüsyonu) RPMI%10 içinde 100nM olarak hazırlanan PMA (Phorbol 12-Myristate 12-Acetate) (SERVA, 32496) kullanıldı. Öncelikle üretilmekte olan hücreler 1 500 rpm'de (250xG) 5 dk çöktürüldü. Hücreler farklılaşma medyumu içinde 10^5 hücre/ml konsantrasyonda olacak şekilde hazırlandı. Her bir kuyucuğa sıfırıncı günde 4 ml farklılaşma medyumu içinde toplamda 400 000 THP-1 ekildi ve inkübasyona bırakıldı. 3. günde RPMI%10 ile medyum değişim yapıldı. 4. günde Resim 3.2'de görüldüğü gibi hücreler kazıyarak toplandı veya ko-kültür için direkt kullanıldı.



Resim 3.2. PMA/THP-1'lerin kazınarak toplanması (İşlemi yapan: Dr. Zeynep Zehra COŞKUN/Fotoğrafı çeken: Emine KILINÇ)

3.2.13. Ko-kültür çalışmaları

İlk defa J. Kim ve Hematti (2009) tarafından MKH'lerle direkt (hücre kontağı ve parakrin sinyaller) ve transvel ko-kültür (parakrin sinyaller) ortamında ko-kültür yapılan makrofajlar MEM olarak adlandırılmış, bu hücreler genel anlamada CD206 pozitif olmaları, İL-10 ve İL-6'yı yüksek düzeyde İL-12 ve TNF-α'yı ise düşük düzeyde salgılamaları ve yüksek fagositik aktiviteye sahip olmaları ile karakterize edildiklerinden giriş kısmında bahsedilmişti. Bu hücrelerin detaylı karakterizasyonu ve MKH üzerine etkileri aşağıda detaylı açıklandığı şekilde direkt ve transvel ko-kültürler yapılarak incelendi.

Ko-kültürler için MKH'ların hazırlanması

MNH izolasyon, MKH gelişim, MKH'ların in vitro kültürde ekilmesi ve çoğaltılması ve havuz MKH oluşturma protokolü ne uygun olarak elde edilip pasaj 4'e kadar çoğaltılan MKH'lar dondurulmuş hücrelerin çözülmesi protokolüne uygun olarak çözüldü ve 2x10^5 MKH 10 ml MKH gelişim ve dondurma medyumları hazırlama protokolüne uygun olarak

hazırlanan DMF-10 içerisinde 75 cm^2 lik doku kültür plaklarına ekildi ve 37°C ve % 5 CO2 nemli inkübatörde inkübasyona bırakıldı. %80-90 yoğunluğa ulaşıncaya kadar yaklaşık 10-20 gün 2-3 gün arasında medyum değişimi yapılarak üretildi.

THP-1'lerinin hazırlanması

THP-1'ler dondurulmuş hücrelerin çözülmesi protokolüne uygun olarak çözüldü 2x10^5 / ml olacak şekilde %10'luk RPMI-1640 (%10 FCS-sıcakla inaktive %1 penisilin streptomisin %1 L-glutamin (200mM)) içinde çoğaltılmaya başlandı. 2-3 gün arasında medyum değişimi yapılarak üretildi.

Prime solüsyonlarının hazırlanması ve hücrelerin prime edilmesi

Çizelge 3.8'de listelen 5 adet farklı kombinasyon ve konsantrasyonlarda prime molekülü kültür medyumu içerisinde hazırlanarak "prime solüsyonu" adı verildi. PMA/THP-1 ve MKH hücreleri deneyin koşullarına göre prime solüsyonu içinde inkübasyona bırakıldı. Kontrol olarak hücreler prime moleküllerinin konmadığı kültür medyumu ile inkübe edildi.

Çizelge 3.8. Prime solüsyonunu hazırlamak için kullanılan moleküllerin listesi

Sadece Poli(I:C)	Poli(I:C) (Sigma, p1530) (1 μg/ml)
İFN-γ ve düşük doz LPS	rhİFN-γ (Immunotools, 11343536) (40 U/ml)
	LPS (Santacruz biotechnology, SC3535) (10 ng/ml)
İL-4, İL-10 ve İL-13	rhİL-4 (Immunotools, 11340043) (10 ng/ml)
	rhİL-10 (immunotools, 11340105) (100 ng/ml)
	rhİL-13 (immunotools 11340135) (10 ng/ml)
Sadece TNF-α	rhTNF-α (immunotools, 11343015) (10 ng/ml)
Sadece yüksek doz LPS	LPS (Santacruz biotechnology,SC3535) (1 μg/ml)

Deney grupları

Ko-kültür çalışmalarında kullanılan örnekler Çizelge 3.9'da listelendiği gibi 3 farklı grup olarak düzenlenmiştir. Her grupta uyarımsız (sadece DMF-10 eklenen) ko-kültür grubu olarak, uyarımsız MKH'lar (sadece DMF-10 eklenen) ve uyarımsız PMA/THP-1'ler (sadece DMF-10 eklenen) kontrol grubu olarak kullanılmıştır.

Çizelge 3.9. Deney gruplarında bulunan örneklerin listesi

1. GRUP		2. GRUP		3. GRUP	
prime MKH ve prime PMA/THP-1 ko-kültürü		uyarımsız MKH ve prime PMA/THP-1 ko-kültürü		prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 ko- kültürü	
MKH	PMA/THP1	MKH	PMA/THP-1	MKH	PMA/THP1
Poli(I:C) (1µg/ml)	Poli(I:C) (1µg/ml)	uyarımsız	Poli(I:C) (1 µg/ml)	Poli(I:C) (1 µg/ml)	uyarımsız
İFN-γ (40 U/ml) ve düşük doz LPS (10 ng/ml)	İFN-γ (40 U/ml) ve düşük doz LPS (10 ng/ml)	uyarımsız	İFN-γ (40 U/ml) ve düşük doz LPS (10 ng/ml)	İFN-γ (40 U/ml) ve düşük doz LPS (10 ng/ml)	uyarımsız
İL-4 (10 ng/ml), İL-10 (100 ng/ml) ve İL-13 (10 ng/ml)	İL-4 (10 ng/ml), İL-10 (100 ng/ml) ve İL-13 (10 ng/ml)	uyarımsız	İL-4 (10 ng/ml), İL-10 (100 ng/ml) ve İL-13 (10 ng/ml)	İL-4 (10 ng/ml), İL-10 (100 ng/ml) ve İL-13 (10 ng/ml)	uyarımsız
TNF-α (10 ng/ml)	TNF-α (10 ng/ml)	uyarımsız	TNF-α (10 ng/ml)	TNF-α (10 ng/ml)	uyarımsız
yüksek doz LPS (1µg/ml)	yüksek doz LPS (1µg/ml)	uyarımsız	yüksek doz LPS (1µg/ml)	yüksek doz LPS (1µg/ml)	uyarımsız

Direkt ko-kültürlerin yapılması

Prime MKH ve prime PMA/THP-1'lerin direkt kültürünün yapılması

Çizelge 3.10'da açıklandığı gibi: -14. günde yukarıda açıklandığı şekilde MKH'lar T75 flasklara ekildi ve süspansiyon şeklinde üretilen THP-1'ler kullanılmaya devan edildi. -11. ve -8. günde MKH'lerin DMF-10 ve THP-1'lerin RPMI %10 ile medyum değişimi yapıldı. THP-1 hücreleri PMA aktivasyon protokolüne uygun olarak -5. günde 400 000 hücre/ kuyucuk olacak şekilde 6 kuyucuklu doku kültür plaklarına 3 paralel olarak aktive edildi ve MKH'ların ise DMF-10 ile medyum değişimi yapıldı. -2. günde MKH'ların ise DMF-10 ile

PMA/THP-1'lerin RPMI %10 ile medyum değişimi yapıldı. 0. günde PMA/THP-1'lerin üzerinden medyum uzaklaştırıldı ve üzerine 4 ml 5 farklı kondisyondaki prime solüsyonu eklendi. MKH hücreleri tripsinizasyon protokolüne uygun olarak harvestlendi. Tripan mavisi solüsyonu (SIGMA, T8154) ile tripan mavisi almama testi (Trypan Blue Exclusion Test) yapılarak hemasitometer (burker) ile hücre sayımı yapılıp canlılığına bakıldı ve 160 000 hücre/100ul olacak şekilde her bir kuyucuğa ekildi ve inkübasyona bırakıldı. 2. günde her bir kondisyondaki 3 paralelden ayrı ayrı süpernatanlar süpernatan toplanması protokolüne uygun olarak toplandı ve ELISA için -80 derecede saklandı. Kuyucuklardaki hücreler kazınarak harvestlendi. Her bir kondisyon için 3 paralel kuyucuktaki hücre birleştirilerek akım sitometri ile yüzey belirteçleri analiz edildi.

Çizelge 3.10. Direkt ko-kültürün 1.grubu olan prime MKH ile prime PMA/THP-1 hücrelerinin ko-kültürünün deney süreci

DENEY GÜNLERİ	**PRİME MKH GRUBU**	**PRİME THP-1/PMA GRUBU**
-14	MKH EKİM	KÜLTÜRÜ DEVAM EDEN THP-1'LERİN KULLANILMASI
-11	MEDYUM DEĞİŞİMİ	MEDYUM DEĞİŞİMİ
-8	MEDYUM DEĞİŞİMİ	MEDYUM DEĞİŞİMİ
-5	MEDYUM DEĞİŞİMİ	PMA AKTİVASYONU
-2	MEDYUM DEĞİŞİMİ	MEDYUM DEĞİŞİMİ
0	PRİME VE DİREK KO-KÜLTÜR	
2	SÜPERNATAN TOPLANDI/ELISA	

Uyarımsız MKH ve prime PMA/THP-1 hücrelerinin direkt kültürü

Çizelge 3.11'de açıklandığı gibi: -12. günde yukarıda açıklandığı şekilde MKH'lar T75 flasklara ekildi ve süspansiyon şeklinde üretilen THP-1'ler kullanılmaya devam edildi. -9. günde MKH'lerin DMF-10 ve THP-1'lerin RPMI %10 ile medyum değişimi yapıldı. THP-1'ler PMA aktivasyon protokolüne uygun olarak -6. günde 400 000 hücre/kuyucuk olacak şekilde 6 kuyucuklu doku kültür plaklarına 3 paralel olarak aktive edildi ve MKH'ların DMF-10 ile medyum değişimi yapıldı. -3. günde MKH'lerin DMF-10 ve THP-1'lerin RPMI

%10 ile medyum değişimi yapıldı. -1. Günde PMA/THP-1'lerin üzerinden medyum uzaklaştırıldı ve üzerine 5 farklı kondisyondaki prime solüsyonu eklendi. 0 günde PMA/THP-1 hücreleri bir defa PBS ile yıkandıktan sonra üzerine 4 ml DMF-10 eklendi. MKH hücreleri tripsinizasyon protokolüne uygun olarak harvestlendi. Tripan mavisi solüsyonu (SIGMA, T8154) ile tripan mavisi almama testi (Trypan Blue Exclusion Test) yapılarak hemasitometer (burker) ile hücre sayımı yapılıp canlılığına bakıldı ve 160 000 hücre/100ul olacak şekilde her bir kuyucuğa ekildi ve inkübasyona bırakıldı. 2. günde süpernatanlar süpernatan toplanması protokolüne uygun olarak toplandı ve ELISA için -80°C saklandı. Hücreler hücre süzgecinden geçirilmesine rağmen akım sitometri cihazını tıkadığı için akım sitometri yapılmamasına karar verildi.

Çizelge 3.11. Direkt ko-kültürün 2.grubu olan uyarımsız MKH ile prime PMA/THP-1 hücrelerinin ko-kültürünün deney süreci

DENEY GÜNLERİ	**UYARIMSIZ MKH GRUBU**	**PRİME PMA/THP-1 GRUBU**
-12	MKH EKİM	KÜLTÜRÜ DEVAM EDEN THP-1 LERİN KULLANILMASI
-9	MEDYUM DEĞİŞİMİ	MEDYUM DEĞİŞİMİ
-6	MEDYUM DEĞİŞİMİ	PMA AKTİVASYONU
-3	MEDYUM DEĞİŞİMİ	MEDYUM DEĞİŞİMİ
-1		PRİME
0	DİREK KO-KÜLTÜR	
2	SÜPERNATAN TOPLANDI/ELISA	

Prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 hücrelerinin direkt kültürü

Çizelge 3.12'de açıklandığı gibi: -12. günde MKH'lar T75 flasklara ekildi ve süspansiyon şeklinde üretilen THP-1'ler kullanılmaya devam edildi. -9. günde MKH'lerin DMF-10 ve THP-1'lerin RPMI %10 ile medyum değişimi yapıldı. THP-1 hücreleri PMA aktivasyon protokolüne uygun olarak -6. günde 400 000 hücre/kuyucuk olacak şekilde 6 kuyucuklu doku kültür plaklarına 3 paralel olarak aktive edildi ve MKH'ların DMF-10 ile medyum değişimi yapıldı. -9. ve -3. günde MKH'lerin DMF-10 ve THP-1'lerin RPMI %10 ile medyum değişimi yapıldı. -1. günde MKH hücrelerinin üzerinden medyum uzaklaştırıldı ve

üzerine 5 farklı kondisyondaki prime solüsyonu eklendi. 0. günde PMA/THP-1 hücrelerinin üzerinden medyum uzaklaştırıldı 4 ml DMF-10 eklendi. MKH hücreleri bir defa PBS ile yıkandıktan sonra tripsinizasyon protokolüne uygun olarak harvestlendi. Tripan mavisi solüsyonu (SIGMA, T8154) ile tripan mavisi almama testi (Trypan Blue Exclusion Test) yapılarak hemasitometer (burker) ile hücre sayımı yapılıp canlılığına bakıldı ve 160 000 hücre/100ul olacak şekilde her bir kuyucuğa ekildi ve inkübasyona bırakıldı. 2. günde süpernatanlar süpernatan toplanması protokolüne uygun olarak toplandı ve ELISA için -80°C saklandı.

Çizelge 3.12. Direkt ko-kültürün 3. grubu olan prime MKH ile uyarımsız PMA/THP-1 hücrelerinin ko-kültürünün deney süreci

DENEY GÜNLERİ	**PRİME MKH GRUBU**	**THP-1/PMA GRUBU**
-12	MKH EKİM	KÜLTÜRÜ DEVAM EDEN THP-1 LERİN KULLANILMASI
-9	MEDYUM DEĞİŞİMİ	MEDYUM DEĞİŞİMİ
-6	MEDYUM DEĞİŞİMİ	PMA AKTİVASYONU
-3	MEDYUM DEĞİŞİMİ	MEDYUM DEĞİŞİMİ
-1	PRİME	
0	DİREKT KO KÜLTÜR	
2	SÜPERNATAN TOPLANDI/ELISA	

Transvel ko-kültürlerinin yapılması

Prime MKH ve prime PMA/THP-1 hücrelerinin transvel kültürü

Çizelge 3.13'de açıklandığı gibi: -20. günde MKH'lar T75 flasklara ekildi ve süspansiyon şeklinde üretilen THP-1'ler kullanılmaya devam edildi. -18. -15. ve -12. günde MKH'lerin DMF-10 ve THP-1'lerin RPMI %10 ile medyum değişimi yapıldı. THP-1 hücreleri PMA aktivasyon protokolüne uygun olarak -10. günde 400 000 hücre/kuyucuk olacak şekilde 6 kuyucuklu doku kültür plaklarına 6 paralel olarak aktive edildi. -7., -5. ve -2. günde RPMI %10 ile medyum değişimi yapıldı. MKH'ların üremesi yavaştı. -1. günde 0,4 μm delik ölçüsüne sahip polyester membran yapısına sahip 6 kuyucuk insertlerine (costar, 3450) tabana 2,5 ml insertlerin içine 0,5 ml DMF-10 konularak yarım saat beklendi. Tripsinizasyon

protokolüne uygun olarak MKH'lar tripsinlendi. Tripan mavisi ile canlılıkları kontrol edildi ve hücre sayımı yapıldı. 160 000 / ml olacak şekilde DMF-10 içinde hazırlandı ve 1 ml insertlerin içine dağıtıldı. Her bir uyaran için 6 insert hazırlandı.

0. Günde PMA/THP-1 hücrelerinin üzerinden medyum uzaklaştırıldı ve üzerine 2,5 ml 5 farklı kondisyondaki prime solüsyonu eklendi. İnsertin içindeki MKH hücrelerinin üzerinden medyum uzaklaştırıldı ve PMA/THP-1 ekili her bir kuyucuğa transfer edildi. İnsertin içine 1,5 ml 5 farklı kondisyondaki prime solüsyonu eklendi ve inkübasyona bırakıldı.

2. günde süpernatanlar süpernatan toplanması protokolüne uygun olarak toplandı ve ELISA için -80°C saklandı. İnsertlerin içindeki MKH'lar 2 defa PBS ile yıkandı ve tripsinizasyon protokolüne uygun olarak toplandı. İlk 3 insertteki hücreler havuz oluşturarak yüzey belirteçlerini analiz etmek amacıyla flow için hazırlandı. 4., 5. ve 6. insertteki hücreler 3 paralel olarak RT-PCR için hazırlandı. Kuyucukların tabanındaki PMA/THP-1 hücreler kazınarak harvestlendi. 3 kuyucuktaki hücre birleştirilerek yüzey belirteçlerini analiz etmek amacıyla flow için hazırlandı. 4., 5. ve 6. kuyucuktaki hücreler 3 paralel olarak RT-PCR için hazırlandı.

Çizelge 3.13. Transvel ko-kültürün 1.grubu olan prime MKH ile prime PMA/THP-1 hücrelerinin ko-kültürünün deney süreci

DENEY GÜNLERİ	PRİME MKH GRUBU	PRİME THP-1/PMA GRUBU
-20	MKH EKİM	KÜLTÜRÜ DEVAM EDEN THP-1 LERİN KULLANILMASI
-10	MEDYUM DEĞİŞİMİ	PMA AKTİVASYONU
-7	MEDYUM DEĞİŞİMİ	MEDYUM DEĞİŞİMİ
-5	MEDYUM DEĞİŞİMİ	MEDYUM DEĞİŞİMİ
-2		MEDYUM DEĞİŞİMİ
-1	MKH İNSERTLERE EKİMİ	
0	PRİME VE TRANSVEL KO-KÜLTÜR	
2	SÜPERNATAN TOPLANDI/ELISA HARVEST İLK 3 PARALELE HAVUZ OLUŞTURULDU/FACS 4., 5. ve 6. KUYUCUK AYRI AYRI /RT-PCR	

Uyarımsız MKH ve prime PMA İle aktive THP-1 hücrelerinin transvel kültürü

Çizelge 3.14'de açıklandığı gibi: -15. günde MKH'lar T75 flasklara ekildi ve süspansiyon şeklinde üretilen THP-1'ler kullanılmaya devam edildi. -12. ve -9. günde MKH'lerin DMF-10 ve THP-1'lerin RPMI %10 ile medyum değişimi yapıldı. THP-1 hücreleri PMA aktivasyon protokolüne uygun olarak -6. günde 400 000 hücre /kuyucuk olacak şekilde 6 kuyucuklu doku kültür plaklarına 6 paralel olarak aktive edildi ve MKH'ler DMF-10 ile medyum değişimi yapıldı. PMA/THP-1'lerin -3. günde RPMI %10 ile medyum değişimi yapıldı. -2. günde MKH'larda 10 ml DMF-10 ile medyum değişimi yapıldı. -1. günde 24 saatlik süpernatan toplandı. -1. günde 0,4 μm delik boyutuna sahip polyester membran yapısına sahip 6 kuyucuk insertlerin (costar, 3450) tabana 2,5 ml insertlerin içine 0,5 ml DMF-10 konularak yarım saat beklendi. Tripsinizasyon protokolüne uygun olarak MKH'lar tripsinlendi. Tripan mavisi solüsyonu (SIGMA, T8154) ile tripan mavisi almama testi (trypan blue exclusion test) yapılarak hemasitometer (burker) ile hücre sayımı yapılıp canlılığına bakıldı. 160 000/ml olacak şekilde DMF-10 içinde hazırlandı. 1 ml olarak insertlerin içine dağıtıldı. -1. günde aynı zamanda PMA/THP-1 hücrelerinin üzerindeki medyum uzaklaştırıldı ve 5 farklı kondisyonda prime solüsyonları eklendi.

0. günde PMA/THP-1 hücrelerinin üzerinden medyum uzaklaştırıldı 1 defa PBS ile yıkandı. 2,5 ml DMF-10 eklendi. MKH'ların üzerinden medyum uzaklaştırıldı ve PMA/THP-1 ekili her bir kuyucuğa transfer edildi. Üzerine 1,5 ml DMF-10 eklendi ve inkübasyona bırakıldı. 2. günde süpernatanlar süpernatan toplanması protokolüne uygun olarak toplandı ve ELISA için -80°C saklandı. İnsertlerin içindeki MKH'lar 2 defa PBS ile yıkandı ve tripsinizasyon protokolüne uygun olarak toplandı. İlk 3 insertteki hücreler havuz oluşturarak yüzey belirteçlerini analiz etmek amacıyla akım sitometri için hazırlandı. 4., 5. ve 6. insertteki hücreler 3 paralel olarak RT-PCR için hazırlandı. Kuyucukların tabanındaki PMA/THP-1 hücreler kazınarak harvestlendi. 3 kuyucuktaki hücre birleştirilerek yüzey belirteçlerini analiz etmek amacıyla akım sitometri için hazırlandı. 4., 5. ve 6. kuyucuktaki hücreler 3 paralel olarak RT-PCR için hazırlandı.

Çizelge 3.14. Transvel ko-kültürün 2. grubu olan uyarımsız MKH ile prime PMA/THP-1 hücrelerinin ko-kültürünün deney süreci.

DENEY GÜNLERİ	**MKH GRUBU**	**PRİME PMA/THP-1 GRUBU**
-15	MKH EKİM	KÜLTÜRÜ DEVAM EDEN THP-1 LERİN KULLANILMASI
-12	MEDYUM DEĞİŞİMİ	MEDYUM DEĞİŞİMİ
-9	MEDYUM DEĞİŞİMİ	MEDYUM DEĞİŞİMİ
-6	MEDYUM DEĞİŞİMİ	THP-PMA AKTİVASYONU
-3		MEDYUM DEĞİŞİMİ
-2	MEDYUM DEĞİŞİMİ	
-1	SÜPERNATAN TOPLANDI MKH'LARIN İNSERTLERE EKİMİ	PRİME
0	KO KÜLTÜR	
2	SÜPERNATAN TOPLANDI/ELISA HARVEST İLK 3 PARALELE HAVUZ OLUŞTURULDU/FACS 4., 5. ve 6. KUYUCUK AYRI AYRI /RT-PCR	

Prime MKH ve uyarımsız PMA İle aktive THP-1'lerin transvel kültürü

Çizelge 3.15'de açıklandığı gibi:

-16. günde MKH'lar T75 flasklara ekildi ve süspansiyon şeklinde üretilen THP-1'ler kullanılmaya devam edildi. -13. ve -9. günde MKH'lerin DMF-10 ve THP-1'lerin RPMI %10 ile medyum değişimi yapıldı. THP-1 hücreleri PMA aktivasyon protokolüne uygun olarak -6. günde 400 000 hücre/kuyucuk olacak şekilde 6 kuyucuklu doku kültür plaklarına 6 paralel olarak aktive edildi. -3. günde PMA/THP-1'lerin RPMI %10 ve MKH'ların DMF-10 ile medyum değişimi yapıldı. -2. günde MKH'lardan 24 saatlik süpernatan toplandı. -2. günde 0,4 μm delik boyutuna sahip olan polyester membran yapısına sahip 6 kuyucuk insertlerine (costar, 3450) tabana 2,5 ml insertlerin içine 0,5 ml DMF-10 konularak yarım saat beklendi. Tripsinizasyon protokolüne uygun olarak MKH'lar tripsinlendi. Tripan mavisi solüsyonu (SIGMA, T8154) ile tripan mavisi almama testi (Trypan blue exclusion test) yapılarak hemasitometer (burker) ile hücre sayımı yapılıp canlılığına bakıldı. 160 000/ml olacak şekilde DMF-10 içinde hazırlandı. 1 ml olarak insertlerin içine dağıtıldı. -1. günde aynı insertlerin içindeki ve tabanındaki medyum uzaklaştırıldı ve 5 farklı kondisyonda prime solüsyonları 2,5 ml tabana ve 1,5 ml insert içine eklendi.

0. günde PMA/THP-1 hücrelerinin üzerinden medyum uzaklaştırıldı 1 defa PBS ile yıkandı. 2,5 ml DMF-10 eklendi. MKH hücreleri 1 defa PBS ile yıkandı ve PMA/THP-1 ekili her bir kuyucuğa transfer edildi. Üzerine 1,5 ml DMF-10 eklendi ve inkübasyona bırakıldı. 2. günde süpernatanlar süpernatan toplanması protokolüne uygun olarak toplandı ve ELISA için -80°C saklandı. İnsertlerin içindeki MKH'lar 2 defa PBS ile yıkandı ve tripsinizasyon protokolüne uygun olarak toplandı. İlk 3 insertteki hücreler havuz oluşturarak yüzey belirteçlerini analiz etmek amacıyla akım sitometri için hazırlandı. 4., 5. ve 6. insertteki hücreler 3 paralel olarak RT-PCR için hazırlandı. Kuyucukların tabanındaki PMA/THP-1 hücreler kazınarak harvestlendi. 3 kuyucuktaki hücre birleştirilerek yüzey belirteçlerini analiz etmek amacıyla akım sitometri için hazırlandı. 4., 5. ve 6. kuyucuktaki hücreler 3 paralel olarak RT-PCR için hazırlandı.

Çizelge 3.15. Transvel ko-kültürün 3.grubu olan prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1'lerin ko-kültürünün deney süreci

DENEY GÜNLERİ	PRİME MKH GRUBU	PMA /THP-1 GRUBU
-16	MKH EKİM	KÜLTÜRÜ DEVAM EDEN THP-1'LERİN KULLANILMASI
-13	MEDYUM DEĞİŞİMİ	MEDYUM DEĞİŞİMİ
-9	MEDYUM DEĞİŞİMİ	MEDYUM DEĞİŞİMİ
-6	MEDYUM DEĞİŞİMİ	PMA AKTİVASYONU
-3	MEDYUM DEĞİŞİMİ	MEDYUM DEĞİŞİMİ
-2	SÜPERNATAN TOPLANDI MKH'LARIN İNSERTLERE EKİMİ	
-1	PRİME	
0	TRANSVEL KO KÜLTÜR	
2	SÜPERNATAN TOPLANDI/ELISA HARVEST İLK 3 PARALELE HAVUZ OLUŞTURULDU/FACS 4.,5. ve 6. KUYUCUK AYRI AYRI /RT-PCR	

Uyarımsız MKH süpernatan ile uyarımsız PMA/THP-1'lerin kültürü

Çizelge 3.16'de açıklandığı gibi;

-9. günde daha önceden kültürü devam eden THP-1 hücreleri kullanılarak deneye başlandı. THP-1 hücreleri PMA aktivasyon protokolüne uygun olarak -6. günde 400 000 hücre/

kuyucuk olacak şekilde 6 kuyucuklu doku kültür plaklarına 3 paralel olarak aktive edildi. -3. günde RPMI%10 ile medyum değişimi yapıldı.

0. günde medyum uzaklaştırıldı ilk 3 kuyucuğa sadece 4 ml DMF-10 konuldu. Diğer 3 kuyucuğa 4 ml daha önceden 24 saat de uyarımsız MKH'lardan toplanılan MKH süpernatanı konuldu. 2. günde kuyucukların tabanındaki PMA/THP-1 hücreler kazınarak harvestlendi. 1 denemede 3 kuyucuktaki hücre birleştirilerek yüzey belirteçlerini analiz etmek amacıyla akım sitometri için hazırlandı 2. denemede kuyucuktaki hücreler 3 paralel olarak RT-PCR için hazırlandı.

Çizelge 3.16. Uyarımsız MKH süpernatanı ile uyarımsız PMA/THP-1'lerin kültürünün deney süreci.

DENEY GÜNLERİ	**THP-1/PMA GRUBU**
-9	KÜLTÜRÜ DEVAM EDEN THP-1 LERİN KULLANILMASI
-6	PMA AKTİVASYONU
-3	MEDYUM DEĞİŞİMİ
0	MKH SÜPERNATANI İLE KÜLTÜR
2	SÜPERNATAN TOPLANDI/ELISA HARVEST 1. DENEMEDE HAVUZ OLUŞTURULDU/AKIM SİTOMETRİ 2. DENEMEDE AYRI AYRI /RT-PCR

3.2.14. Ko-kültür sonrası hücrelerin akım sitometri ile immün fenotipik olarak incelenmesi

Hücre yüzeyi proteinleri akım sitometri (Fluorescence Activated Cell Sorting (FACS)) ile tanımlandı. Transvel ko-kültürü sonrası insert içindeki MKH'lar tripsinizasyon protokolüne uygun olarak tripsinlenerek 6 kuyucuklu plate tabanındaki PMA/THP-1'ler kazınarak toplandı. Akım sitometri protokolüne uygun olarak hazırlanan hücreler, 1. tüpte CD197FITC, CD192PE, CD206PE/CY7 ve İL-18APC ile 2. tüpte HLAGFITC, TLR4PE ve CD14PE/CY7 ile 3. tüpte ise CD45FITC, CD80APC/H7 ve CD31PE ile boyandıktan sonra Navios/Beckman Coulter FACS cihazı (2 lazer/8 renk) ile her bir örnekte 10 000 event olacak şekilde okutulup Kaluza analiz programı ile analizler gerçekleştirildi.

3.2.15. Hücrelerin immünolojik salgılarının araştırılması

Kültür süpernatanlarının toplanması

MKH ve THP-1 üretim ile ko-kültür protokolünde açıklandığı gibi hücreler kültüre edildi. 6 kuyucuklu kültür plağının her bir kuyucuğundan veya kültür flasklarından kültür süpernatanları toplandı. Deney grubunda üç paralel çalışıldı. Toplanan süpernatanlar 15 ml falkonlara transfer edildikten sonra 1500 rpm (p:250xG) de 10 dk çöktürüldü. Süpernatanlar 1,5 ml ependorflara transfer edilerek -80°C saklandı.

ELISA

PEDİSTEM'de ko-kültür bölümünde bahsedildiği gibi Çizelge 3.8'de listelenen prime solüsyonları kullanılarak hazırlanan Çizelge 3.17'daki gruplarını içeren immün fenotiplendirmesi için yapılan transvel ko-kültüründe ve ayrıca direkt ko-kültürde her bir grup üç paralel olarak hazırlandı, ko-kültürlerinin sonunda toplanan kültür süpernatanları 1 500 rpm'de (250xG) 10 dk 4°C'de çöktürüldükten sonra süpernatan yeni bir falkona aktarıldı. Daha sonra 1,5 ml ependorflara bölünerek -80°C de saklandı.

Çizelge 3.17. Deney gruplarının listesi

NASIL YAPILDIĞI	HÜCRE ÇEŞİDİ	UYARAN	HÜCRE ÇEŞİDİ	UYARAN
PRİME SOLUSYONU		POLY(I:C)		
PRİME SOLUSYONU		İFN-γ+DDLPS		
PRİME SOLUSYONU		İL-4+İL-10+İL-13		
PRİME SOLUSYONU		TNF−α		
PRİME SOLUSYONU		YD LPS		
TEK BAŞINA	MKH	UYARIMSIZ		
TEK BAŞINA	THP	UYARIMSIZ		
TEK BAŞINA	MKH	POLY(I:C)		
TEK BAŞINA	MKH	İFN-γ+DDLPS		
TEK BAŞINA	MKH	İL-4+İL-10+İL-13		
TEK BAŞINA	MKH	TNF−α		
TEK BAŞINA	MKH	YD LPS		
TEK BAŞINA	THP	POLY(I:C)		
TEK BAŞINA	THP	İFN-γ+DDLPS		
TEK BAŞINA	THP	İL-4+İL-10+İL-13		

Çizelge 3.17. (devam) Deney gruplarının listesi

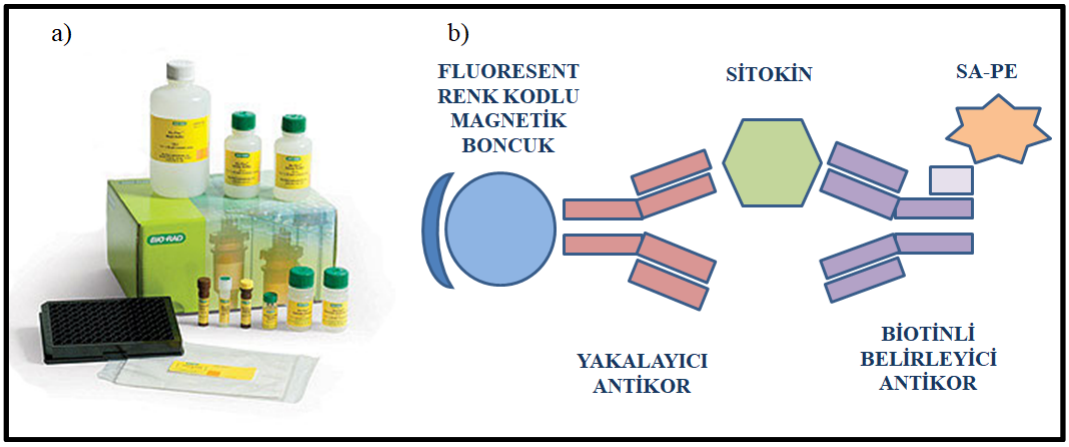
NASIL YAPILDIĞI	HÜCRE ÇEŞİDİ	UYARAN	HÜCRE ÇEŞİDİ	UYARAN
TEK BAŞINA	THP	TNF–α		
TEK BAŞINA	THP	YD LPS		
TRANSVEL	MKH	UYARIMSIZ	THP	UYARIMSIZ
DİREKT KÜLTÜR	MKH	UYARIMSIZ	THP	UYARIMSIZ
TRANSVEL	MKH	POLY(I:C)	THP	POLY(I:C)
TRANSVEL	MKH	İFN-γ+DDLPS	THP	İFN-γ+DDLPS
TRANSVEL	MKH	İL-4+İL-10+İL-13	THP	İL-4+İL-10+İL-13
TRANSVEL	MKH	TNF–α	THP	TNF–α
TRANSVEL	MKH	YD LPS	THP	YD LPS
TRANSVEL	MKH	UYARIMSIZ	THP	UYARIMSIZ
DİREKT KÜLTÜR	MKH	POLY(I:C)	THP	POLY(I:C)
DİREKT KÜLTÜR	MKH	İFN-γ+DDLPS	THP	İFN-γ+DDLPS
DİREKT KÜLTÜR	MKH	İL-4+İL-10+İL-13	THP	İL-4+İL-10+İL-13
DİREKT KÜLTÜR	MKH	TNF–α	THP	TNF–α
DİREKT KÜLTÜR	MKH	YD LPS	THP	YD LPS
TRANSVEL	MKH	UYARIMSIZ	THP	POLY(I:C)
TRANSVEL	MKH	UYARIMSIZ	THP	İFN-γ+DDLPS
TRANSVEL	MKH	UYARIMSIZ	THP	İL-4+İL-10+İL-13
TRANSVEL	MKH	UYARIMSIZ	THP	TNF–α
TRANSVEL	MKH	UYARIMSIZ	THP	YD LPS
DİREKT KÜLTÜR	MKH	UYARIMSIZ	THP	POLY(I:C)
DİREKT KÜLTÜR	MKH	UYARIMSIZ	THP	İFN-γ+DDLPS
DİREKT KÜLTÜR	MKH	UYARIMSIZ	THP	İL-4+İL-10+İL-13
DİREKT KÜLTÜR	MKH	UYARIMSIZ	THP	TNF-α
DİREKT KÜLTÜR	MKH	UYARIMSIZ	THP	YD LPS
TRANSVEL	MKH	POLY(I:C)	THP	UYARIMSIZ
TRANSVEL	MKH	İFN–γ+DDLPS	THP	UYARIMSIZ
TRANSVEL	MKH	İL-4+İL-10+İL-13	THP	UYARIMSIZ
TRANSVEL	MKH	TNF–α	THP	UYARIMSIZ
TRANSVEL	MKH	YD LPS	THP	UYARIMSIZ
DİREKT KÜLTÜR	MKH	POLY(I:C)	THP	UYARIMSIZ
DİREKT KÜLTÜR	MKH	İFN-γ+DDLPS	THP	UYARIMSIZ
DİREKT KÜLTÜR	MKH	İL-4+İL-10+İL-13	THP	UYARIMSIZ
DİREKT KÜLTÜR	MKH	TNF–α	THP	UYARIMSIZ
DİREKT KÜLTÜR	MKH	YD LPS	THP	UYARIMSIZ

Toplanan kültür süpernatanlarında salgılanan sitokin ve faktörlerden FGF bazik, Eotaksin, G-CSF, GM-CSF, IFN-γ, İL-1β, İL-1ra, İL-2, İL-4, İL-5, İL-6, İL-7, İL-8, İL-9, İL-10, İL-12 (p70), İL-13, İL-15, İL-17, IP-10, MCP-1 (MCAF), MIP-1α, MIP-1β, PDGF-BB, RANTES, TNF-α ve VEGF için Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-Plex Immunoassay kiti (BIO-RAD, M500KCAF0Y) kullanıldı, PEDİSTEM'de Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-Plex Immunoassay Kiti için plate Okuyucu (Synergy HT) (BIOTEK Instruments) da ölçümlendi ve Gen 5 analiz programı ile analiz edildi.

TGF-β için hTGF-β ELISA kiti (Shanghai YL Biotech Co Ltd. YLA0492HU), CCL-22 için hCCL-22 ELISA kiti (Shanghai YL Biotech Co Ltd. YLA 3721HU) ve IDO için hIDO ELISA kiti (Shanghai YL Biotech Co Ltd. YLA 1644HU) Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında kullanıldı, Sunrise, TECAN plate okuyucuda ölçümlendi ve Magellan™ programı ile analiz edildi.

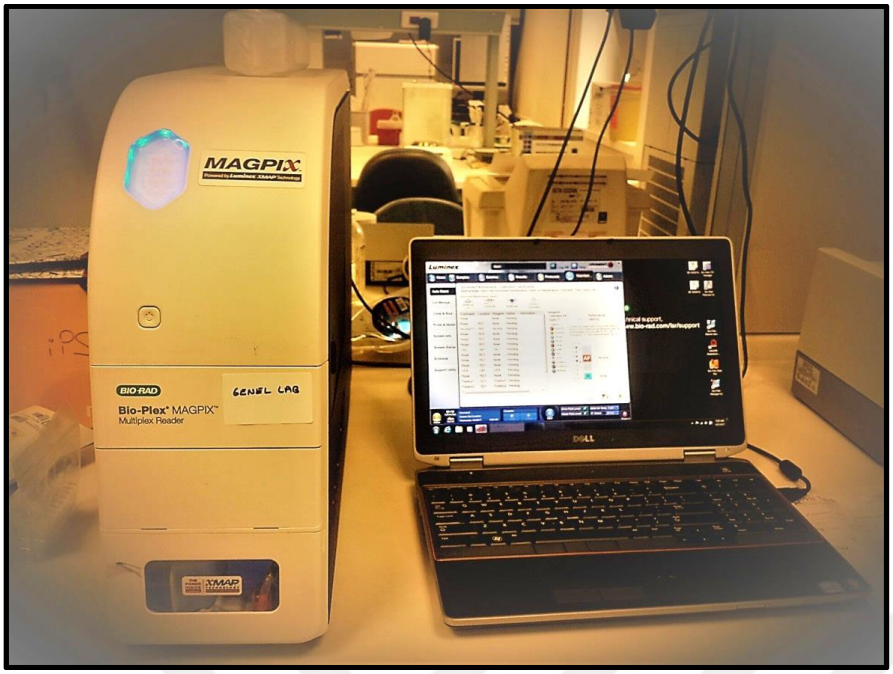
Resim 3.3 a) da içeriğinin fotoğrafı b) de çalışma prensibi şematize edilen Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-Plex Immunoassay kiti 96 kuyucuklu mikroplakanın tek bir kuyucuğunda her biri birbirinden farklı fluoresan renk kodlu magnetik boncuklar (fluorescently dyed magnetic beads/xMAP technology) kullanarak, 50 µl kadar kültür süpernatanından 27 immün molekülü (sitokin, kemokin ve büyüme faktörü), eş zamanlı olarak yaklaşık 3-4 saat süren bir işlem sonucunda, iki lazer ve optikler içeren özel bir akım sitometri ile ölçülmesine, floresan verilerin verimli bir şekilde yöneten yüksek hızlı bir dijital sinyal işlemci ile tespit edilmesine izin veren bir teknolojidir.

Manyetik boncuklar, yıkama aşamaları sırasında vakumlu filtrasyon yerine manyetik ayırma seçeneği sağlamaktadır.



Resim 3.3. ‘’Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-Plex Immunoassay’’ kitinin a) içeriğinin fotoğrafı ve b) çalışma prensibinin şeması (Hazırlayan: Dr. Zeynep Zehra COŞKUN)

Resim 3.3’de şematize edilen kitin çalışma prensibi yakalama sandviç immunoassaye (capture sandwich immunoassay) benzemektedir. İlk olarak kuyucuğun içine sitokine özgü geliştirilen yakalayıcı antikorlara bağlı fluoresent renk kodlu magnetik boncuklar (fluorescently dyed magnetic beads) eklendi. Daha sonra standart, kontrol grupları, örnekler ve ayrıca içinde prime molekülleri bulunmayan kültür medyumu ve tekli prime molekülü bulunan kültür medyumu eklendi. Örnekteki hedef molekülle ile yakalayıcı antikorla bağlı boncuklar reaksiyona girer. Yakalama antikorununkinden farklı bir epitopa özgü olan bir biyotin ile bağlanmış belirleyici antikor antikor eklenir. En son olarak da streptavidin-PE (streptavidin-phycoerythrin) reporter kompleksi (complex raportör) eklenir. Reaksiyondan elde edilen veriler, Resim 3.4’deki çift lazerli, akış tabanlı bir mikroplaka okuyucu sistemi olan Bio-Plex sistemi (MAG-PIX multiplex reader) kullanılarak toplanır. Kuyucuğun içeriği okuyucunun içine çekilir. Lazer ve optikler hem boncuktan hem de SA-PE’den gelen sinyalleri tespit eder. Bu bulgu örnekteki hedef protein düzeyini bildirir. Boncuklarda tespit edilen floresan yoğunluğu, test edilen örneklerde hedef moleküllerin nispi miktarını gösterir. Bio-Plex Manager ™ yazılımı programı aracılığı ile data analiz edilir, veri çıktısı floresan yoğunluğu (FI) ve hedef konsantrasyon şeklinde sunulur.

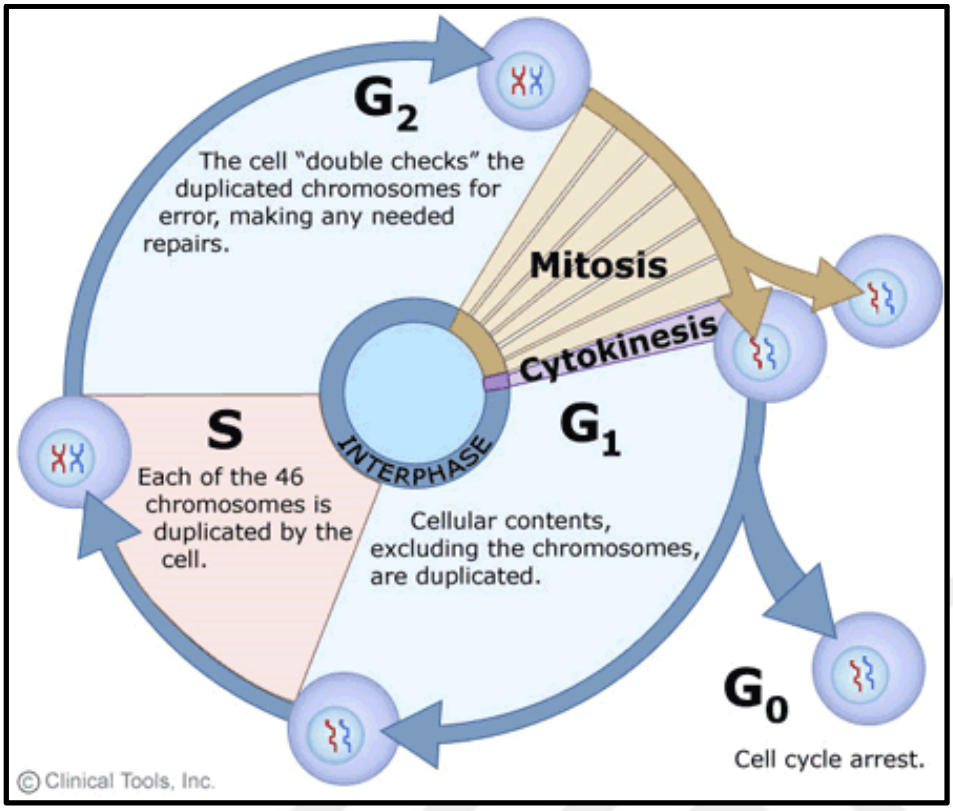


Resim 3.4. Bio-Plex sistemi (MAG-PIX multiplex reader) (Fotoğrafı çeken: Dr. Zeynep Zehra COŞKUN)

3.2.16. BrdU ve akım sitometri ile çoğalmanın test edilmesi

Arka plan

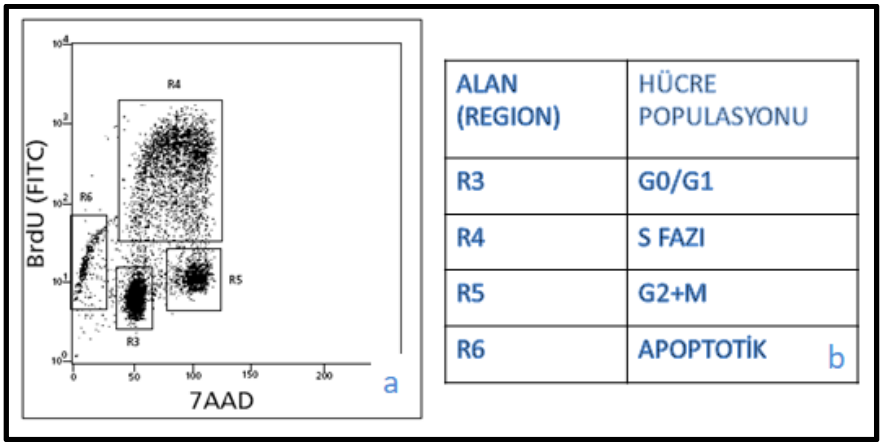
Birleştirilmiş (inkorpore) BrdU ile immünofloresan boyama ve akım sitometrik analiz, sentezlenmiş DNA'ların bulunduğu özgün hücrelerin frekansını ve niteliğini belirlemek için yüksek çözünürlüklü bir teknik sağlamaktadır. BrdU DNA'nın öncüsü olan timidin benzeri bir moleküldür. TheUniversityofLeicester (2017) Virtual Genetics Education Centre web sayfasında yayınlanan Resim 3.5'de görüldüğü gibi hücreler G1, S, G2 mitoz ve G0 evrelerinden geçerler. S fazında DNA sentezi gerçekleşir ve genetik materyali çoğaltılarak her kromozomun iki kardeş kromatidden oluşması sağlanır. Bu yöntemde, BrdU hücre döngüsünün S fazına (DNA sentezi) giren ve ilerleyen hücreler tarafından yeni sentezlenen DNA'ya dahil edilir.



Resim 3.5. Hücre döngüsünün safhaları (TheUniversityofLeicester (2017))

Yeni sentezlenen DNA'ya timidin yerine dahil olan BrdU anti-BrdU floresan antikorları ile boyanır. Daha sonra hücre ile bağlantılı BrdU seviyeleri akım sitometri yöntemi ile ölçülür. Çoğu zaman, 7-AAD (7-aminoaktinomisin D) gibi toplam DNA'ya bağlanan bir boya ile boyama, immünofloresan BrdU boyama ile birlikte yapılır. Bu kombinasyon ile iki renkli akım sitometrik analizi, aktif olarak DNA sentezleyen hücrelerin numaralandırılmasını ve karakterizasyonunu (BrdU birleşmesi), hücre döngüsü konumu açısından hangi fazda olduğu (G0/1, S veya G2/M fazı) BrdU ve 7-AAD boyama yoğunlukları ile akım sitometride saptanabilir.

BDPharmingen (2017) kit el kitabında Şekil 3.1'de şematize edildiği gibi BrdU ve 7-AAD boyamasının dot plot görüntüsünde orta aşağıda R3 gatede olan hücreler G0/G1 fazında olanları, orta üst ve sol kısımda R4 gatede olan hücreler S fazında olanları, sağ alt kısımda R5 gatede olan hücreler G2+M fazında olanları ve sol kısımda R6 gatede olanlar apoptotik hücreleri göstermektedir.



ALAN (REGION)	HÜCRE POPULASYONU
R3	G0/G1
R4	S FAZI
R5	G2+M
R6	APOPTOTİK b

Şekil 3.1. Hücre döngüsünün BrdU ve 7AAD ile akım sitometride değerlendirilmesi. BDPharmingen (2017)

Prime solüsyonlarının hazırlanması

Prime solüsyonları hazırlandı ve aşağıda detaylı bir şekilde anlatılacağı gibi PMA/THP-1 hücreleri bu solüsyonlarla bir gün boyunca prime edildi.

Örnek grupları

Aşağıdaki MKH hücre gruplardan iki paralel hazırlandı bir gruba BrDU eklendi diğer gruba kontrol olarak kabul edilip BrdU eklenmedi.

Örnek1: Poli(I:C) ile prime edilen PMA/THP-1 süpernatanı eklendi

Örnek 2: İFN-γ ve düşük doz LPD ile prime edilen PMA/THP-1 süpernatanı eklendi

Örnek 3: İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edilen PMA/THP-1 süpernatanı eklendi

Örnek 4: TNF-α ile prime edilen PMA/THP-1 süpernatanı eklendi

Örnek 5: Yüksek doz LPS ile prime edilen PMA/THP-1 süpernatanı eklendi

Örnek 6: Uyarımsız PMA/THP-1 süpernatanı eklendi

Örnek 7: Sadece DMF-10 eklendi

Deneyin yapılışı

BrdU ve akım sitometri ile çoğalmasının test edilmesi deneyinin deney planı Çizelge 3.18'de verilmiştir. T75 flasklarda RPMI%10 içinde süspansiyon şeklinde üretilen THP-1'ler kullanıldı. -11. günde donmuş Pasaj 3 havuz insan BM-MKH hücreleri çözüldü. 10^5 hücre/10 ml DMF10 içinde 4 adet T75 flaska ekildi. -8. günde T75 flasklarda üretilen THP-1'ler PMA aktivasyon protokolüne uygun olarak çöktürülüp 10^6 hücre/10 ml olacak şekilde RPMI %10 içinde hazırlandı ve 100 nM PMA ile (SERVA/CATNO:32496) ile aktivasyon yapıldı ve inkübasyona bırakıldı. Havuz insan BM-MKH'ların DMF-10 ile medyum değişimi yapıldı. -5. günde PMA/THP-1'lerin RPMI%10 ve MKH'ların DMF-10 ile medyum değişimleri yapıldı. -2. günde PMA/THP-1 hücreleri 5 farklı kondisyonda prime edildi, kontrol grubuna ise sadece RPMI%10 kondu. -1 günde Prime PMA/THP-1 hücreleri bir defa PBS ile yıkandı. Üzerine 10 ml yeni medyum eklendi. İnsan havuz BM-MKH'ların harvestlenerek 480 000 / 10 ml DMF-10 içinde 14 adet T75 kültür flaskına ekim yapıldı. 0. günde Prime PMA/THP-1 hücreleri medyum toplandı ve 1 500 rpm'de (250xG) 10 dk çöktürüldükten sonra havuz insan BM-MKH'ların üzerine konuldu ve inkübasyona bırakıldı. 2. günde flaskların bir grubuna 10U/ml BrdU eklendi 3 saat 37 derecede inkübe edildi. Diğer grup kontrol olarak kabul edildi ve BrdU eklenmedi. Her iki gruba ait hücreler inkübasyonun sonunda tripsinizasyon protokolüne göre toplandı Oikonomopoulos ve diğerleri (2015) tarafından kullanılan ve BDPharmingen (2017) tarafından hazırlanan BrdU Flow kit (BD pharmingen, 559619) kit manuelindeki protokole göre anti-BrdU ve 7/ADD boyaması yapıldı ve akım sitometride okutulduktan sonra sonuçlar analiz edildi.

Çizelge 3.18. BrdU ve akım sitometri ile çoğalmasının test edilmesi deneyinin deney planı

PROLİFERASYON DENEYİ (BrdU)		
DENEY GÜNÜ	**MKH**	**THP-1**
-11	MKH EKİM	KÜLTÜRÜ DEVAM EDEN THP-1 LERİ KULLANILDI
-8	MEDYUM DEĞİŞİMİ	PMA AKTİVASYONU
-5	MEDYUM DEĞİŞİMİ	MEDYUM DEĞİŞİMİ
-2		PRİME EDİLDİ
-1	MKH EKİM	MEDYUM DEĞİŞİMİ
0	SÜPERNATAN EKLENDİ	SÜPERNATAN TOPLANDI
2	BRDU EKLENDİ 3 SAAT İNKÜBASYON SONRASINDA HARVEST	

3.2.17. Fagositoz deneyi

E. Koli (Escherichia coli (K-12 strain)) biyopartiküllerinin hazırlanışı

Alexa Fluor® 488 ile konjuge E. Coli biyopartiküler (Thermofisher, E13231) 10^8/ml olacak şekilde 2 mM sodium azide içeren PBS ile sulandırıldı. En yüksek ayarda 3 defa 15 sn kuvvetlice vortekslendi. 37 derecede karanlıkta 1 saat inkübe edildi. 4°C'de 2988 rpm (1000×G) çöktürerek 3 defa yıkandı. Pelet dağıtıldıktan sonra sodium azide içermeyen PBS eklenerek en yüksek ayarda 3 defa 15 sn kuvvetlice vortekslendi. Sonikasyonlu su banyosunda (Becton Dickinson Probetec ET Sonic Bath) 5dk 3 defa sonike edildi. Hemositometre aynı yapıda (uniform) olarak dağılıp dağılmadıklarına bakıldı. Sulandırılan süspansiyon 4°C saklandı.

Deney grupları

1. Kuyucuktaki uyarımsız PMA/THP-1'lerin İFN-γ düşük doz LPS ile prime MKH süpernatantı ile aktive edilmesi, fagositoz deneyinin 37°C gerçekleştirilmesi ve akım sitometride tripan mavisi solüsyonu eklendikten sonra okutulması planlandı.

2. Kuyucuktaki uyarımsız PMA/THP-1 hücrelerinin yüksek doz LPS ile prime MKH süpernatantı ile aktive edilmesi, fagositoz deneyinin 37°C gerçekleştirilmesi ve akım sitometride tripan mavisi solüsyonu eklendikten sonra okutulması planlandı.

3. Kuyucuktaki uyarımsız PMA/THP-1'lerinin uyarımsız MKH süpernatantı ile aktive edilmesi fagositoz deneyinin 37°C gerçekleştirilmesi ve akım sitometride tripan mavisi solüsyonu eklendikten sonra okutulması planlandı.

4. Kuyucuk pozitif kontrol olarak planlandı. Bu kuyucuktaki uyarımsız PMA/THP-1 hücrelerinin fagositoz deneyinin 37°C gerçekleştirilmesi ve akım sitometride tripan mavisi solüsyonu eklendikten sonra okutulması planlandı.

5. Kuyucuk pozitif kontrol olarak planlandı. Bu kuyucuktaki uyarımsız PMA/THP-1 hücrelerinin fagositoz deneyinin 37°C gerçekleştirilmesi ve akım sitometride tripan mavisi solüsyonu eklenmeden okutulması planlandı.

6. Kuyucuk negatif kontrol olarak planlandı. Bu kuyucuktaki uyarımsız PMA/THP-1 hücrelerinin fagositoz deneyinin buz üstünde gerçekleştirilmesi ve akım sitometride tripan mavisi solüsyonu eklenerek okutulması planlandı.

7. Kuyucuk negatif kontrol olarak planlandı. Bu kuyucuktaki uyarımsız PMA/THP-1 hücrelerinin fagositoz deneyinin buz üstünde gerçekleştirilmesi ve akım sitometride tripan mavisi solüsyonu eklenmeden okutulması planlandı.

8. ve 9. Kuyucuktaki uyarımsız PMA/THP-1 hücreleri sadece akım sitometri de kompansasyon ayarı için üretildi. Bütün deney grupları 3 tekrar olarak planlandı.

Fagositoz deneyinin süreci

Çizelge 3.19'de de ifade edildiği gibi: -11. günde MKH'ler MKH'ların in vitro kültürde ekilmesi ve çoğaltılması protokolüne uygun olarak ekilip çoğaltılmaya başlandı. Üretimi devam eden THP-1'leri kullanılmaya başlandı. -8. günde MKH'ların DMF-10 ve THP-1'lerin RPMI%10 ile medyum değişimi yapıldı.-5. günde MKH'ların DMF-10 medyum değişimi yapıldı THP-1'lerin makrofajlara farklılaştırılması protokolüne uygun olarak THP-1'leri 6 kuyucuklu tabakların tabanına 400 000 hücre/kuyucuk olacak şekilde 4 ml 100 nM PMA içeren RPMI%10 içinde ekilerek aktivasyon yapıldı.-2. günde MKH hücreleri, İFN-γ düşük doz LPS ve yüksek doz LPS ile prime edildi kontrol grubuna da sadece DMF-10 eklendi. THP-1'lerin RPMI%10 ile medyum değişimi yapıldı. -1. günde MKH 1 defa PBS ile yıkandı. 16 ml DMF-10 eklendi. 0. günde MKH süpernatanları toplandı. 1500 rpm'de (250xG)10 dk çöktürüldü ve süpernatan yeni falkon tüplere aktarıldı.

Çizelge 3.19. Fagositoz deneyinin deney süreci

DENEY GÜNLERİ	**MKH**	**THP-1**
-11	MKH EKİM	KÜLTÜRÜ DEVAM EDEN THP-1 LERİN KULLANILMASI
-8	MEDYUM DEĞİŞİMİ	MEDYUM DEĞİŞİMİ
-5	MEDYUM DEĞİŞİMİ	PMA AKTİVASYONU
-2	PRİME	MEDYUM DEĞİŞİMİ
-1	YENİ MEDYUM EKLENDİ	
0	SUPERNATAN TOPLANDI	MKH SÜPERNATANTI İLE KO-KÜLTÜR
3		FAGOSİTOZ DENEYİ

0 günde uyarımsız PMA/THP-1 hücrelerinin üzerine 1. kuyucuğa; İFN-γ düşük doz LPS ile prime MKH süpernatantı eklendi, 2. kuyucuğa; yüksek doz LPS ile prime MKH süpernatantı eklendi, 3. kuyucuğa; uyarımsız MKH süpernatan eklendi, 4. kuyucuk pozitif kontrol olarak planlandı ve sadece DMF-10 eklendi, (37°C /tripan mavisi solüsyonu ile), 5. kuyucuk 2. pozitif kontrol olarak planlandı ve sadece DMF-10 eklendi (37°C /tripan mavisi solüsyonsuz), 6. kuyucuk negatif kontrol olarak planlandı ve sadece DMF-10 eklendi (buz üstünde/tripan mavisi solüsyonu ile), 7. kuyucuk negatif kontrol olarak planlandı ve sadece DMF-10 eklendi (buz üstünde/tripan mavisi solüsyonsuz), 8. ve 9. kuyucuktaki akım sitometride kompansasyon ayarı için üretilmişti. DMF-10 eklendi ve inkübasyona bırakıldı.

3. gün de makrofaj/bioparticule oranı 1/30 olarak planlandı. ABRh(+) gönüllü vericinin sıcak inaktive serumu opsonize ajan olarak kullanıldı. Serum/partikül solüsyon oranı 1/10 olarak ayarlandı. Her bir kuyucuğa DMF-10 ve opsonize olmuş partikül solüsyonundan eklendi. 6. ve 7. kuyucukların olduğu örnekler karanlıkta buz üzerinde ve diğer kuyucuklar ise 37° C inkübatör içinde 1 saat inkübe edildi. 15 dk bir sallanarak karışımı sağlandı. İnkübasyon sonunda 6 kuyucuklu kültür plaklarının hepsi buz üstüne alınarak fagositoz deneyi durduruldu. Hücreler buz üzerinde kuyucuklardan hücre kazıyıcı kazınarak toplandı. Buz üzerindeki 50 ml falkonlara aktarıldı. 1500 rpm (250xG) 5 dk 4°C çöktürülerek. 3 defa 10 ml soğuk PBS ile yıkandı. Buz üzerinde hücre süzgecinden (cell strainer) geçirildi. 5 ve 7. kuyucuktaki örnekler dışındakilere hücre yüzeyine yapışan biyopartiküllerdeki floresanı soldurmak amacıyla 1 (tripan mavisi solüsyonu)/10 (örnek) oranında soğuk tripan mavisi eklenerek karıştırıldı ve akım sitometri tüplerine aktarıldı. Beckman Coulter marka Navios modelindeki cihazda her bir örnekte 10 000 event olacak şekilde okutulup Kaluza analiz programı ile analizler gerçekleştirildi.

4. BULGULAR

4.1. Kemik İliği Vericileri

Gereç ve Yöntem başlığı altında belirtildiği şekilde sağlıklı gönüllü Kİ vericileri çalışmaya kabul edildi.

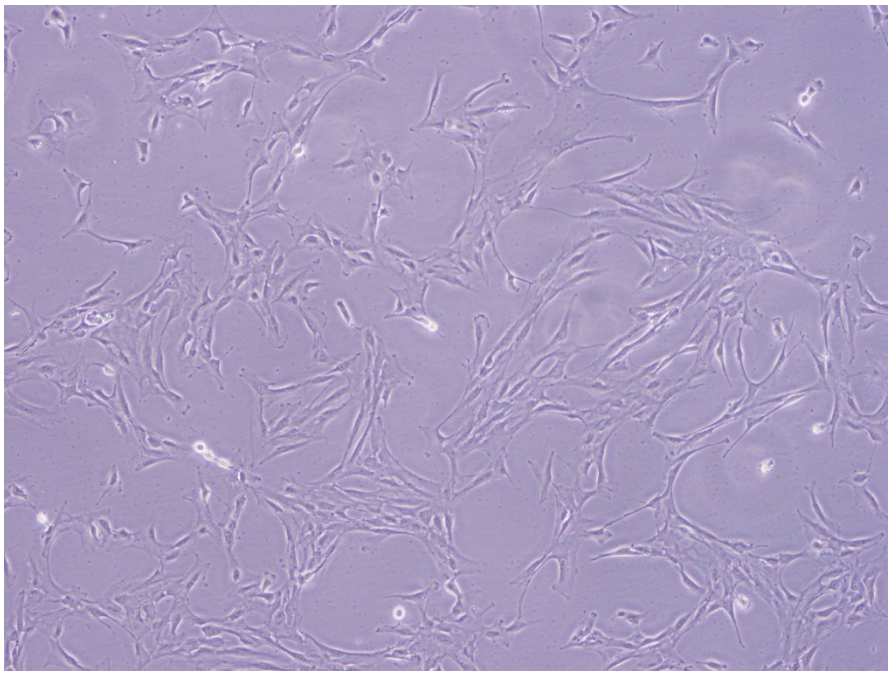
4.2. Kemik İliği Örneklerinin Alınması

Gereç ve yöntem başlığı altında belirtildiği gibi Kİ elde edildi.

4.3. MKH'ların Analiz Edilmesi

4.3.1. MKH'ların morfolojik olarak analiz edilmesi ve histokimyasal mikroskobik sonuçlar

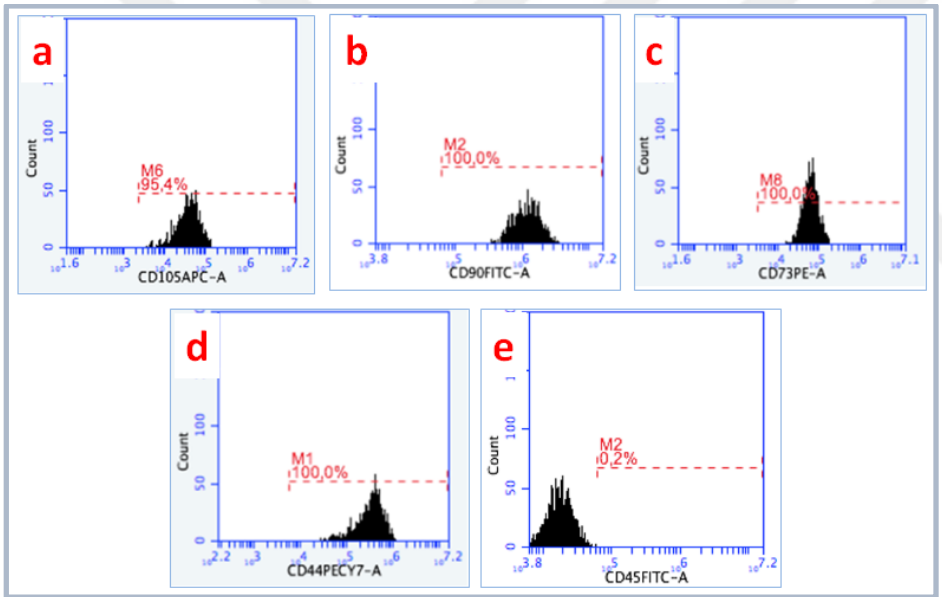
MKH'lar DMF-10 içinde yöntem bölümünde belirtilen MKH'ların gelişim protokolüne uygun olarak çoğaltıldıkları zaman plastik yüzeye yapıştılar ve iğsi-poligonal morfoloji göstermektedirler. Resim 4.1'de vericiden elde edilen MKH'ların pasaj 4'de uyarımsız hallerinin inverted mikroskop ile 4x'de çekilen görüntüleri yer almaktadır.



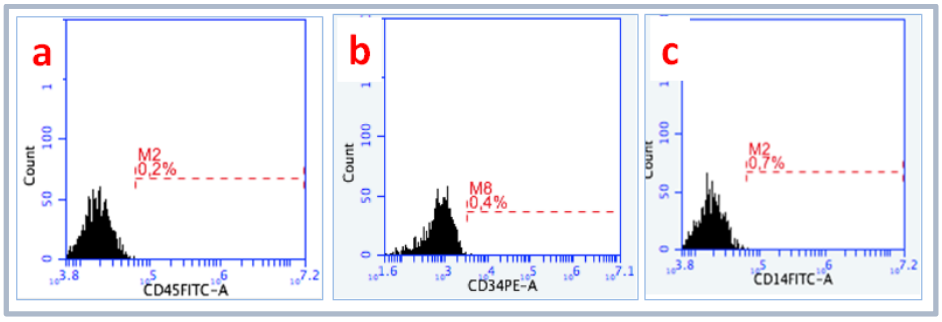
Resim 4.1. Uyarımsız MKH'ların mikroskobik (inverted) görüntüsü, pasaj 4, 4x

4.3.2. İmmün fenotiplendirme ile yüzey moleküllerinin analiz sonuçları

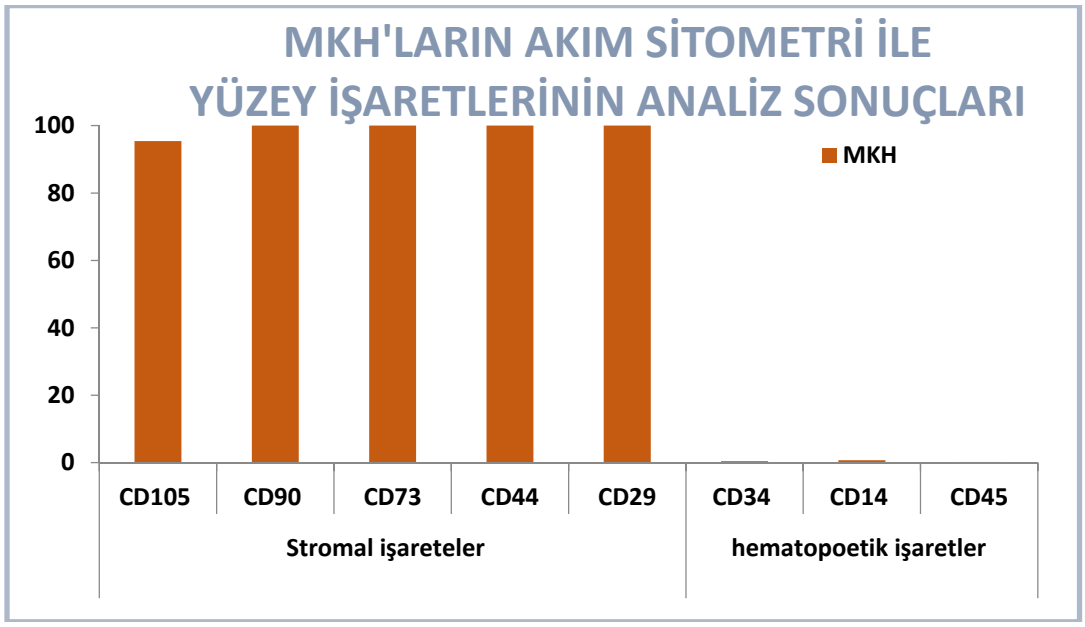
DMF-10 içinde pasaj 3'e kadar üretilen MKH'ların immün fenotiplendirme ile yüzey molekül analizinde yöntem bölümünde Tablo 3.5'de listelenen antikorlar ve konjugeleri kullanıldı. MKH'lar akım sitometride okutuldu ve sonuçlar analiz edildiğinde ISCT'nın 2006 yılında belirlediği MKH tanımlama kriterlerine uygun olarak bağ dokusu belirteçlerinin Şekil 4.1'de, Şekil 4.3'de gösterildiği gibi a) CD105APC %95,4, b) CD90FITC %100, c) CD73PE %100, d) CD44PE/CY-7 %100 ve CD29APC %100 olarak pozitif olduğu ve hematopoietik belirteçler ise Şekil 4.2 ve 4.3'de gösterildiği gibi a) CD45FITC %2, b) CD34PE %0,4 ve c) CD14 FITC %0,7 olarak negatif olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.1. MKH'larda immünfenotiplendirme ile bağ dokusu belirteçlerinin floresan intensity görüntüleri



Şekil 4.2. MKH'larda immünfenotiplendirme ile hematopoietik belirteçlerin floresan intensity görüntüleri



Şekil 4.3. MKH'larda immünfenotiplendirme ile bağ dokusu ve hematopoietik yüzey molekül analizi sonuçları

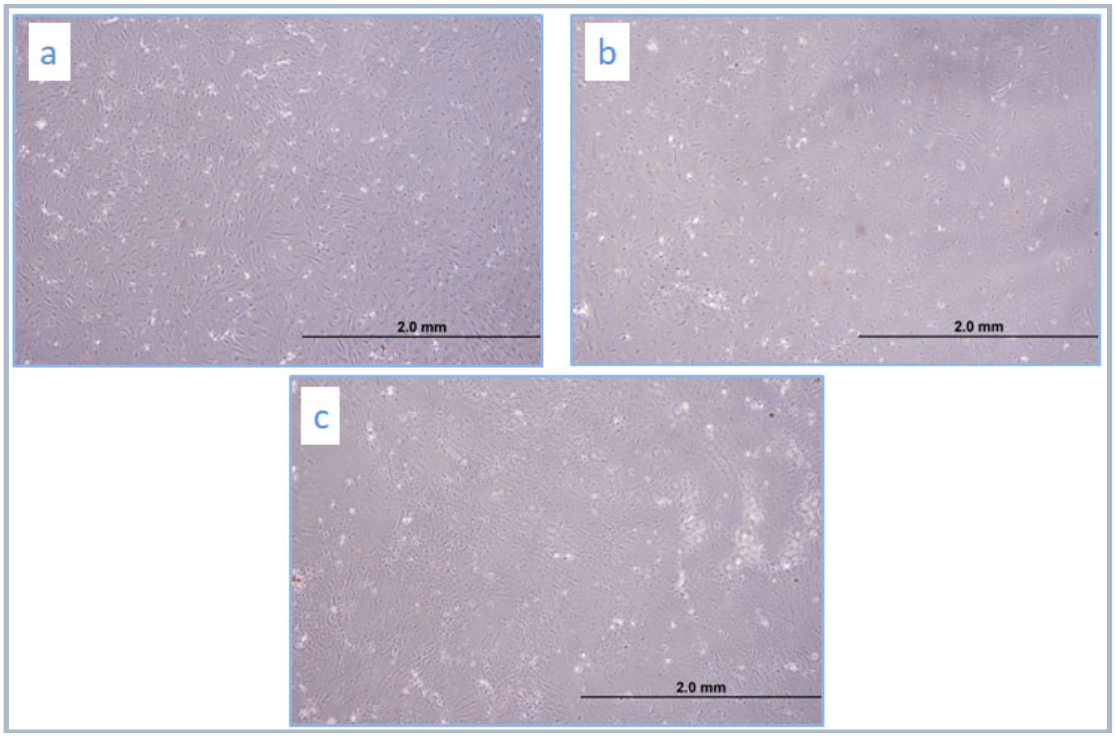
4.3.3. MKH'lerin farklılaşma özelliklerinin gösterilmesi

Histokimyasal mikroskobik sonuçlar

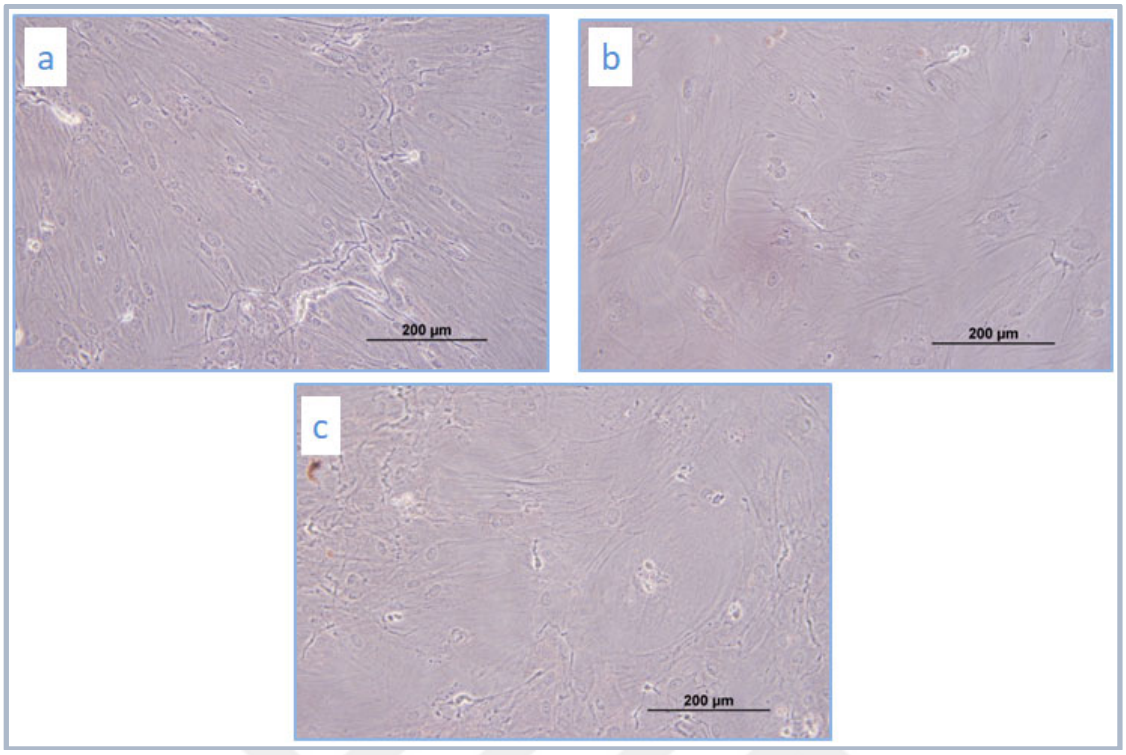
Adipojenik (yağ dokusuna) farklılaşma sonuçları

Yöntem bölümünde belirtilen adipojenik farklılaşma protokolüne uygun olarak 3 pasajdaki her bir vericiye ait MKH'larda adipojenik farklılaşma olduğu, MKH'ların farklılaşmanın 21. gününde formalin solüsyonu ile fikse edildikten sonra 1,1 mg/ml ORO (Yağ dokusu kırmızı O boyası/oil red O) boyası ile boyanan hücrelerdeki lipid birikimi kırmızı renkte yağ damlacıkların dijital görüntüleme sistemi (Mikroskop: Olympus CXX41 Kamera: Olympus,

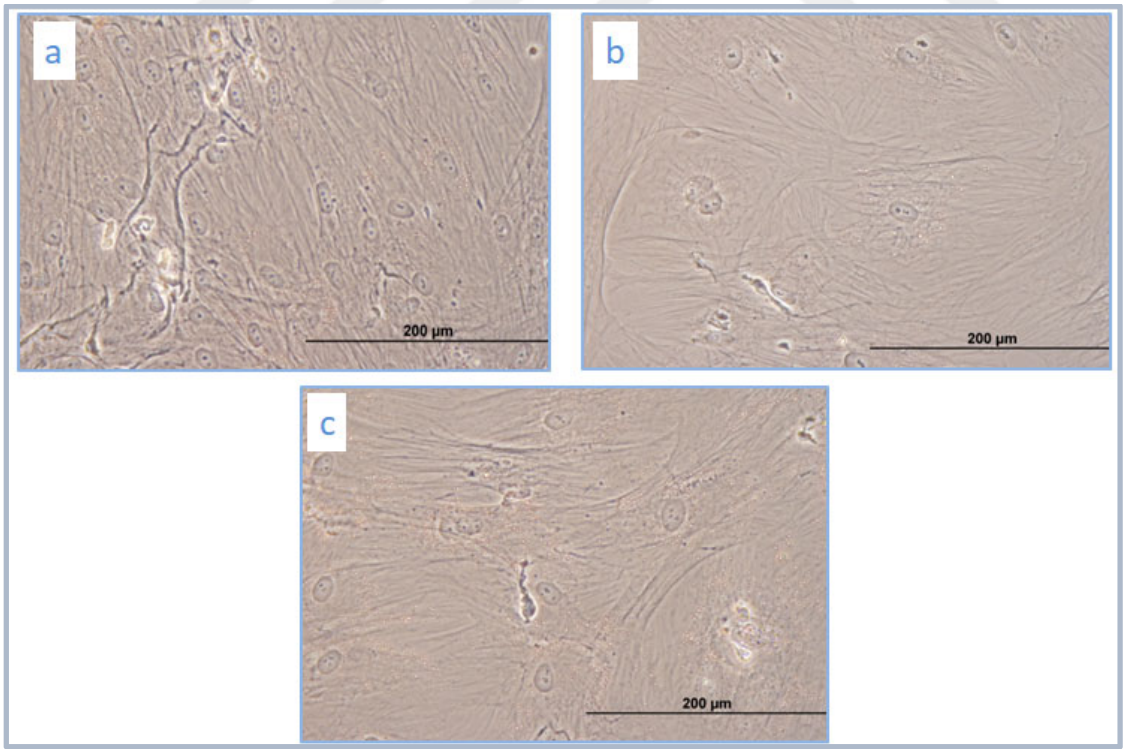
DP71 Çekimde kullanılan: DP kontroller software, Analizde kullanılan: DP manager software) ile fotoğrafı çekilmesi ile gösterildi. Üç vericiden elde edilen a) birinci verici b) ikinci verici ve c) üçüncü vericiye ait MKH'leri içeren kontrol kuyucuğunun ORO boyanması sonucunda çekilen 4x görüntüsü Resim 4.2'de, 20x görüntüsü Resim 4.3'de ve 40x görüntüsü Resim 4.4'de, yağ dokusuna farklılaştırılan deney gruplarının ORO boyama sonuçlarını göstermek amacıyla çekilen 4x görüntüsü Resim 4.5'de, 20x görüntüsü Resim 4.6'da ve 40x görüntüsü Resim 4.7'de görülmektedir.



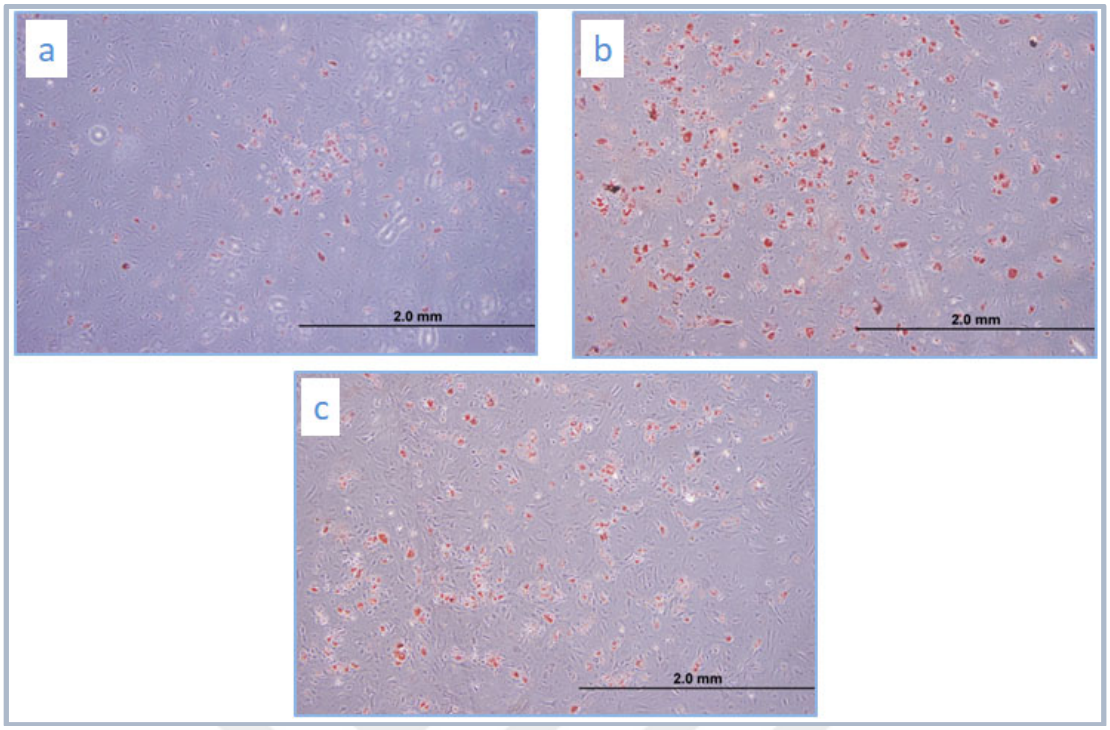
Resim 4.2. Üç vericiye ait MKH'ları içeren kontrol kuyucuğunun ORO boyanması sonrası çekilen 4x görüntüsü



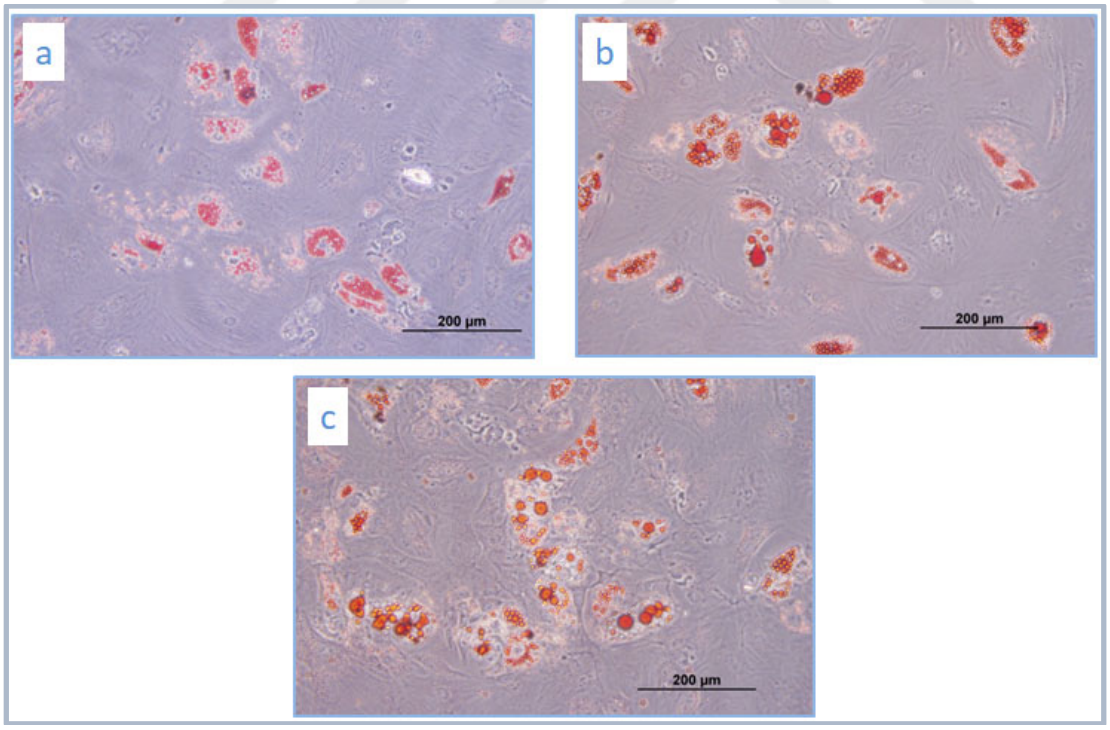
Resim 4.3. Üç vericiye ait MKH'ları içeren kontrol kuyucuğunun ORO boyanması sonrası çekilen 20x görüntüsü



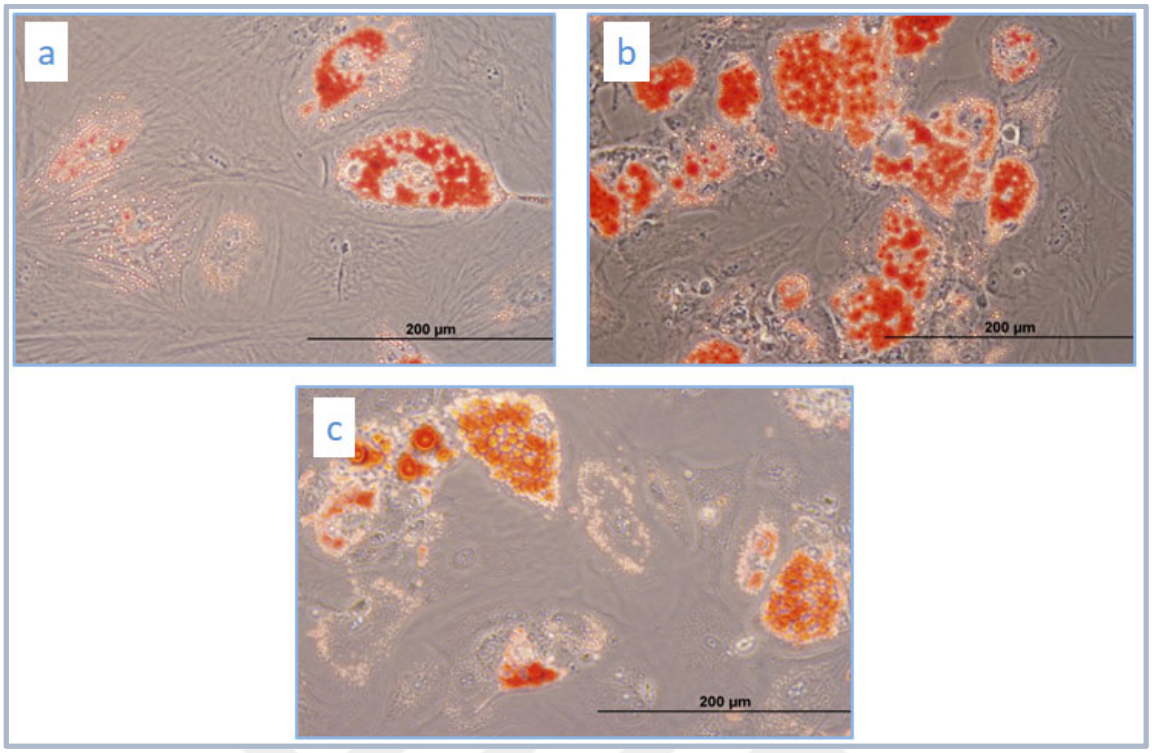
Resim 4.4. Üç vericiye ait MKH'ları içeren kontrol kuyucuğunun ORO boyanması sonrası çekilen 40x görüntüsü



Resim 4.5. Üç vericiye ait adipojenik dokuya (yağ dokusuna) farklılaştırılan MKH'ları içeren deney kuyucuğunun ORO boyanması sonrası çekilen 4x görüntüsü



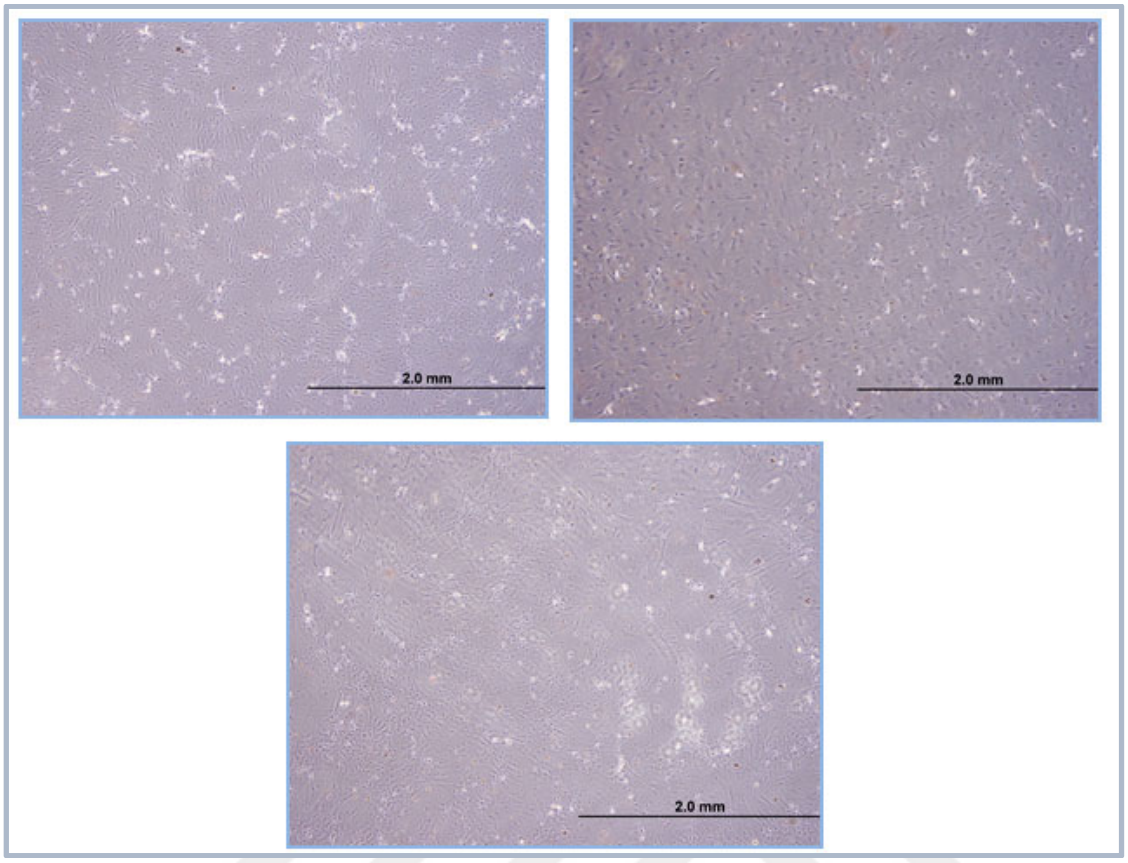
Resim 4.6. Üç vericiye ait adipojenik dokuya (yağ dokusuna) farklılaştırılan MKH'ları içeren deney kuyucuğunun ORO boyanması sonrası çekilen 20x görüntüsü



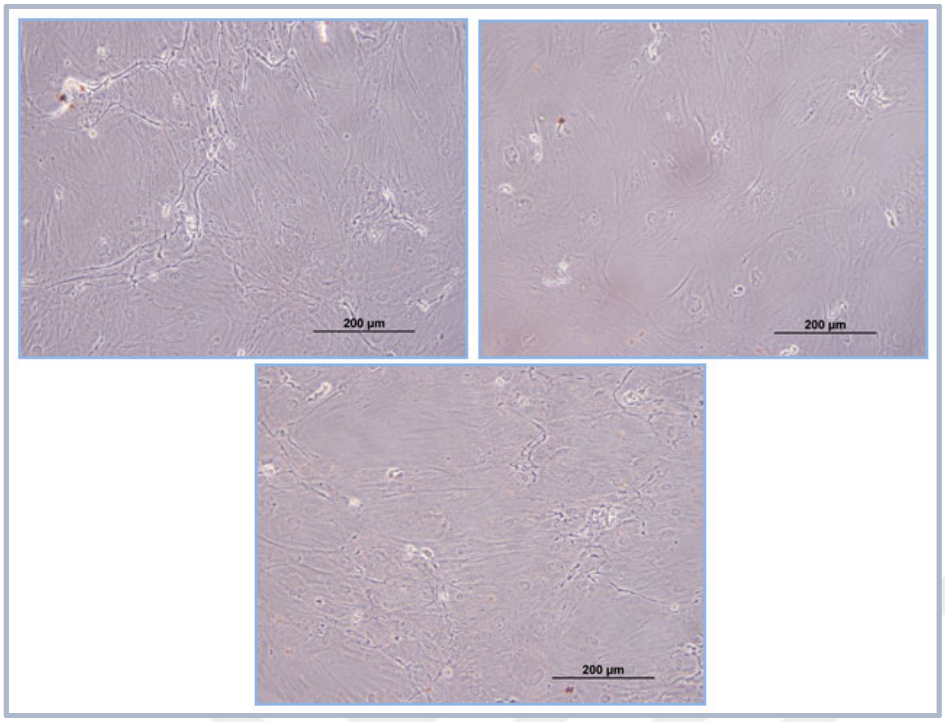
Resim 4.7. Üç vericiye ait f adipojenik dokuya (yağ dokusuna) farklılaştırılan MKH'ları içeren deney kuyucuğunun ORO boyanması sonrası çekilen 40x görüntüsü

Osteojenik (kemik dokusuna) farklılaşma sonuçları

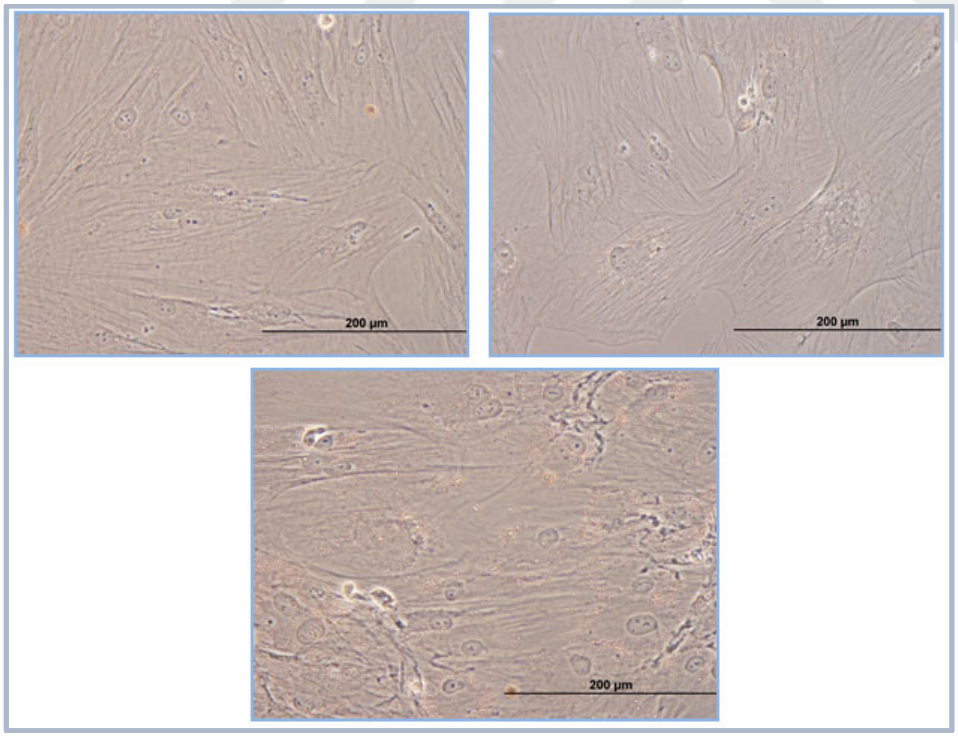
Yöntem bölümünde belirtilen osteojenik farklılaşma protokolüne uygun olarak 3 pasajdaki her bir vericiye ait MKH'ların osteojenik dokuya farklılaştırılabildiği, MKH'ların farklılaşmanın 21. gününde formalin solüsyonu ile fikse edildikten sonra ARS (Alizarin Red S boyası ile boyanması) ve ARS ile boyanan hücrelerdeki kalsiyum fosfat mineral depositleri (primer kemik nodüllerinin) göstermek amacı ile dijital görüntüleme sistemi (Mikroskop: Olympus CXX41 Kamera: Olympus, DP71 Çekimde kullanılan: DPcontroller software, Analizde kullanılan: DP manager software) ile kuyucukların fotoğrafları çekildi. Üç vericiden elde edilen a) birinci verici b) ikinci verici ve c) üçüncü verici ait MKH'ları içeren kontrol kuyucuğunun ARS boyanması sonucunda çekilen 4x görüntüsü Resim 4.8'de, 20x görüntüsü Resim 4.9'de ve 40x görüntüsü Resim 4.10'da, osteojenik dokuya farklılaşan MKH'ları içeren kuyucukların ARS boyanması sonuçlarını göstermek amacıyla çekilen 4x görüntüsü Resim 4.11'de, 20x görüntüsü Resim 4.12'de ve 40x görüntüsü Resim 4.13'de gösterilmektedir.



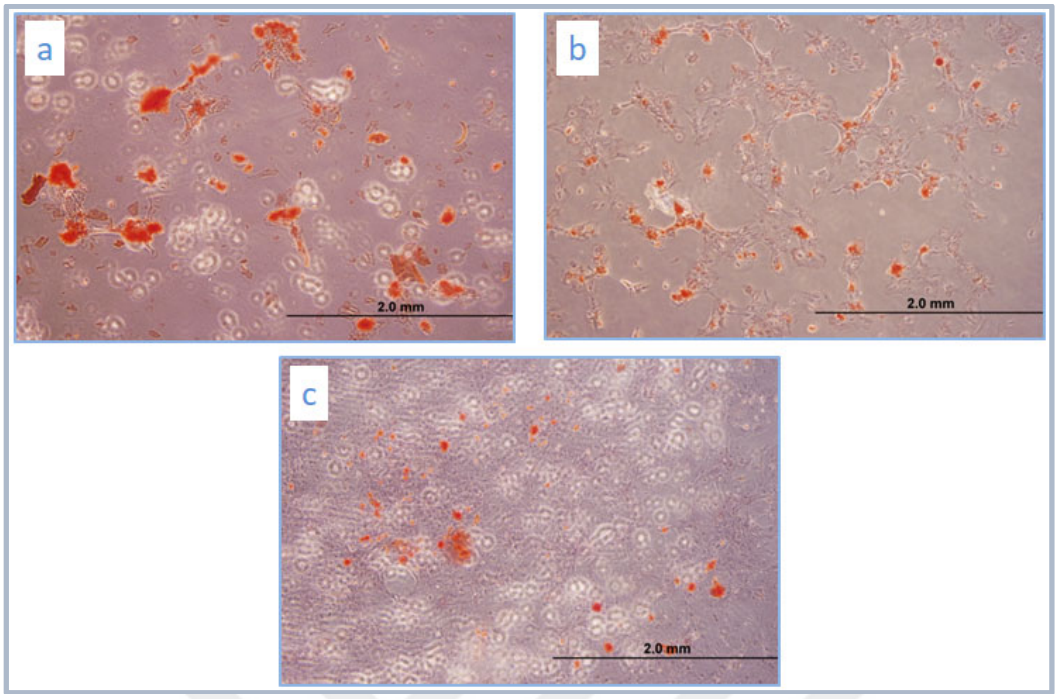
Resim 4.8. Üç vericiye ait MKH'ları içeren kontrol kuyucuğunun ARS boyanması için sonrası çekilen 4x görüntüsü



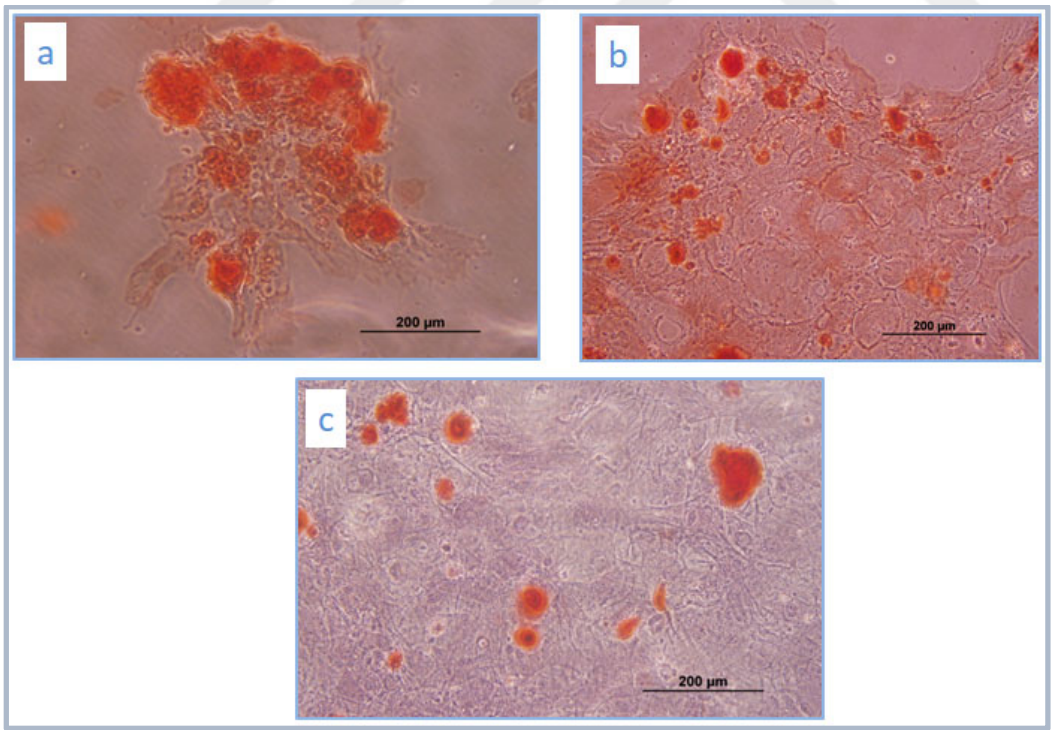
Resim 4.9. Üç vericiye ait MKH'ları içeren kontrol kuyucuğunun ARS boyanması sonrası çekilen 20x görüntüsü



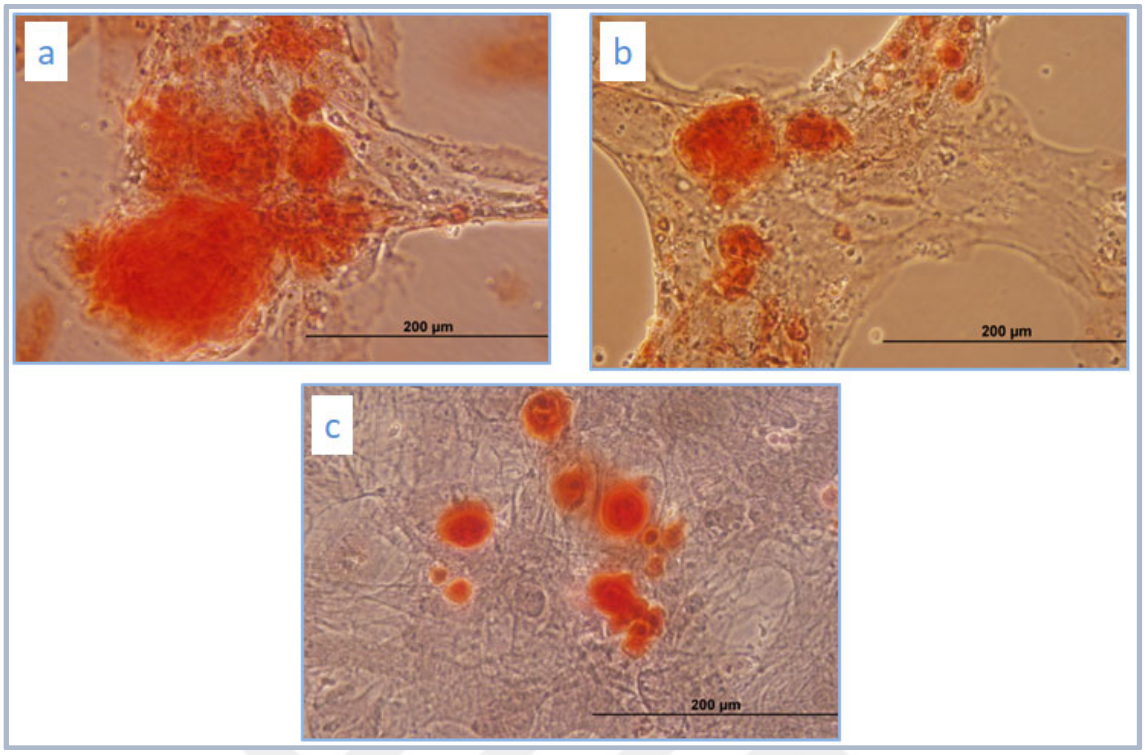
Resim 4.10. Üç vericiye ait MKH'ları içeren kontrol kuyucuğunun ARS boyanması sonrası çekilen 40x görüntüsü



Resim 4.11. Üç vericiye ait osteojenik dokuya (kemik dokusuna) farklılaştırılması gerçekleşen MKH'ları içeren deney kuyucuğunun ARS boyanması sonrasında çekilen 4x görüntüsü



Resim 4.12. Üç vericiye ait osteojenik dokuya (kemik dokusuna) farklılaştırılması gerçekleşen MKH'ları içeren deney kuyucuğunun ARS boyanması sonrasında çekilen 20x görüntüsü



Resim 4.13. Üç vericiye ait osteojenik dokuya (kemik dokusuna) farklılaştırılması gerçekleşen MKH'ları içeren deney kuyucuğunun ARS boyanması sonrasında çekilen 40x görüntüsü

Kolorimetrik sonuçlar

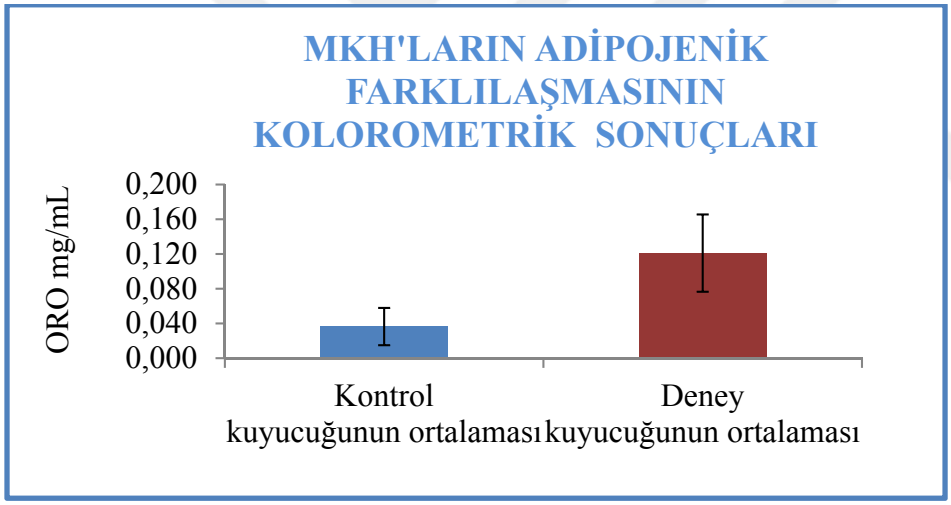
Adipojenik farklılaşmanın kolorimetrik sonuçları

Üç adet vericiden elde edilen MKH'ların yöntem bölümünde belirtilen adipojenik dokuya farklılaşma protokolüne uygun alarak farklılaşma deneyinin 21. gününde adipojenik farklılaşmanın semi-quantitif değerlendirilmesi amacıyla yöntem bölümünde belirtildiği gibi fotoğrafları çekilen kuyucuklara deterjan özelliğinde olan %4 IGEPAL-CA-630 (SIGMA I8896)/isopropanol (isopropyl alcohol) (SIGMA, W292912) eklenerek boyanın hücrelerden ekstraksiyonu sağlandıktan sonra kuyucuklar içerisinden toplanan igepal/isopropanol ve boya karışımı, 96 kuyucuklu kültür kaplarına bölüştürülüp kuyucuklar içerisindeki karışım mikroplate okuyucusunda (Tecan, Avustralya) 492 nm dalga boyunda okutuldu ve veriler grafiğe geçirildi. Kontrol olarak ise Oil Red O boyası kullanarak hazırlanan standartlara göre analizler yapıldı. Analiz sonuçları Çizelge 4.1 listelenmiş olup ve bar grafiği Şekil 4.4'de gösterilmiştir. Kontrol kuyucuğunun ortalaması 0,036, STDEV 0,021 adipojenik farklılaşma

kuyucuğunun ortalaması 0,12 STDEV 0.044 olarak bulundu. Kontrol grubu ile deney grubunun ortalamaları istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,019).

Çizelge 4. 1. Üç vericiye ait osteojenik dokuya farklılaştırılması gerçekleşen MKH'ları içeren kuyucuğun içerisinden toplanan IGEPAL/isopropanol-boya karışımının mikroplate de okutulan değerlerin analiz sonuçlarının tablosu

	ORO	Ortalama	STDEV
1. verici adipo kontrol	0,033	0,036	0,0215
2. verici adipo kontrol	0,017		
3. verici adipo kontrol	0,060		
1. verici adipo deney / 1.	0,113	0,121	0,0444
1.verici adipo deney / 2.	0,128		
2. verici adipo deney / 1.	0,189		
2. verici adipo deney / 2.	0,147		
3. verici adipo deney / 1.	0,083		
3. verici adipo deney / 2.	0,066		



Şekil 4.4. Üç vericiye ait adipojenik dokuya farklılaştırılması gerçekleşen MKH'ları içeren kuyucuğun içerisinden toplanan IGEPAL/isopropanol-boya karışımının mikroplatede okutulan değerlerin bar grafiği

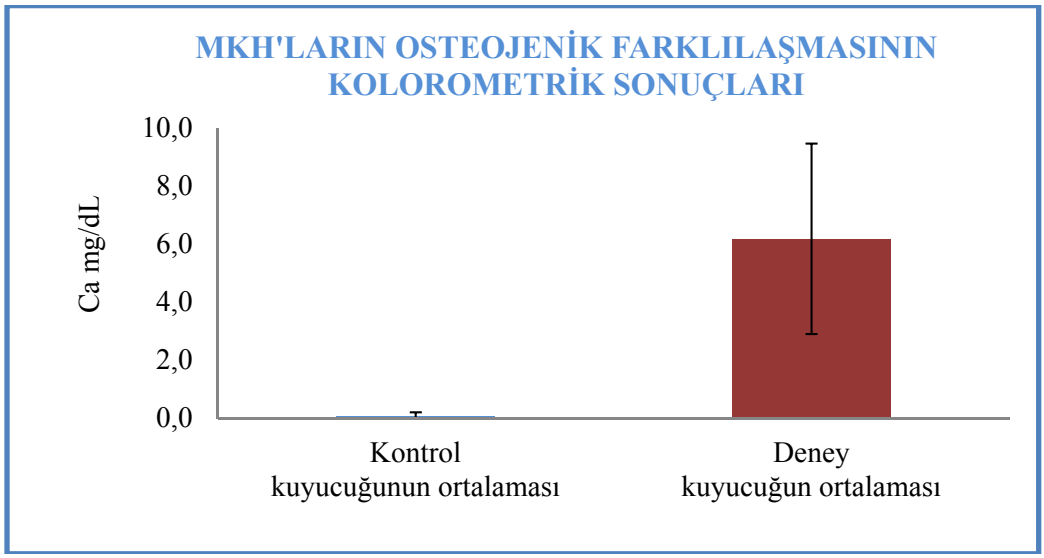
Osteojenik farklılaşmanın kolorimetrik analiz sonuçları

Üç adet donörden elde edilen MKH'ların yöntem bölümünde belirtilen osteojenik farklılaşma protokolüne uygun olarak yapılan farklılaşma deneyinin 21. gününde osteojenik farklılaşma wellerindeki kalsiyum içeriğinin değerlendirilmesi amacıyla osteojenik farklılaşma için ayrılan bir kuyucuğa ve kontrol kuyucuğuna 0,6 M HCL konuldu, inkübasyonun sonunda kuyucukların içeriği Quantichrom Calcium Assay Kiti (Bioassay

Systems, ABD, DICA-500) prosedürüne göre işlem yapıldı ve kuyucuklar ELISA okuyucusunda 620 nm dalga boyunda okutuldu ve çıkan sonuçlar analiz edildi. Analiz sonuçları Çizelge 4.2'de listelenmiş olup bar grafiği Şekil 4.5'de gösterilmiştir. Kontrol kuyucuğunun ortalaması 0,1 STDEV 6,2 deney kuyucuğunun ortalaması 6,2 STDEV 3,278 olarak bulundu. Kontrol grubu ile deney grubunun ortalamaları istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,081).

Çizelge 4.2. Üç donöre ait osteojenik farklılaştırılması gerçekleşen MKH'ları içeren kuyucuğun içeriğinin Quantichrom Calcium Assay Kiti (Bioassay Systems, ABD, DICA-500) prosedürüne göre işlem yapıldıktan sonra mikroplate okuyucuda okutulan değerlerin analiz sonu

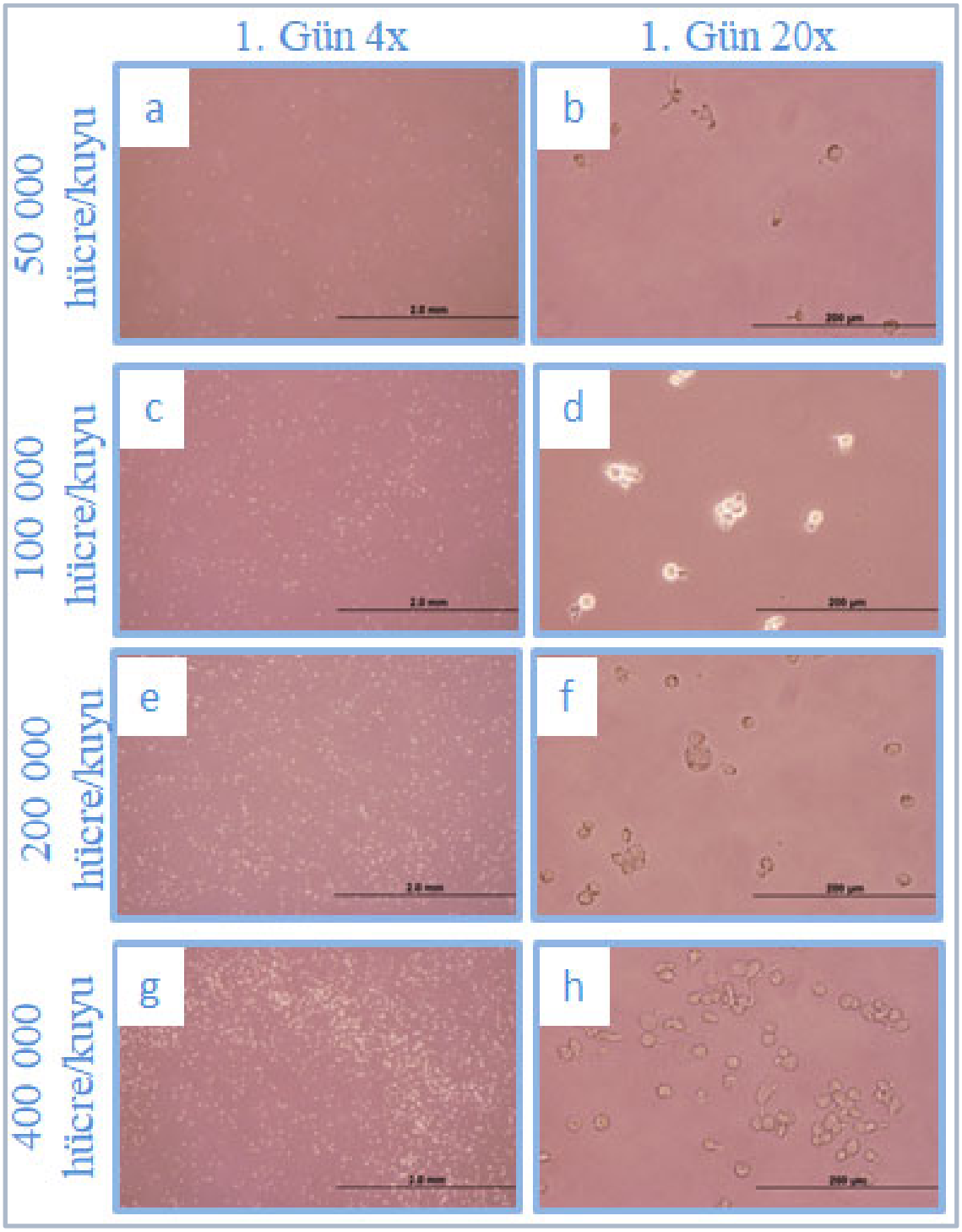
Örnekler	Ca (mg/dL)	Ortalama	STDEV
1.verici osteo kontrol kuyucuğu	0,0	0,1	0,126
2.verici osteo kontrol kuyucuğu	0,2		
3. verici osteo kontrol kuyucuğu	0,0		
1. verici osteo deney kuyucuğu	8,8	6,2	3,278
2. verici osteo deney kuyucuğu	7,2		
3. verici osteo deney kuyucuğu	2,5		



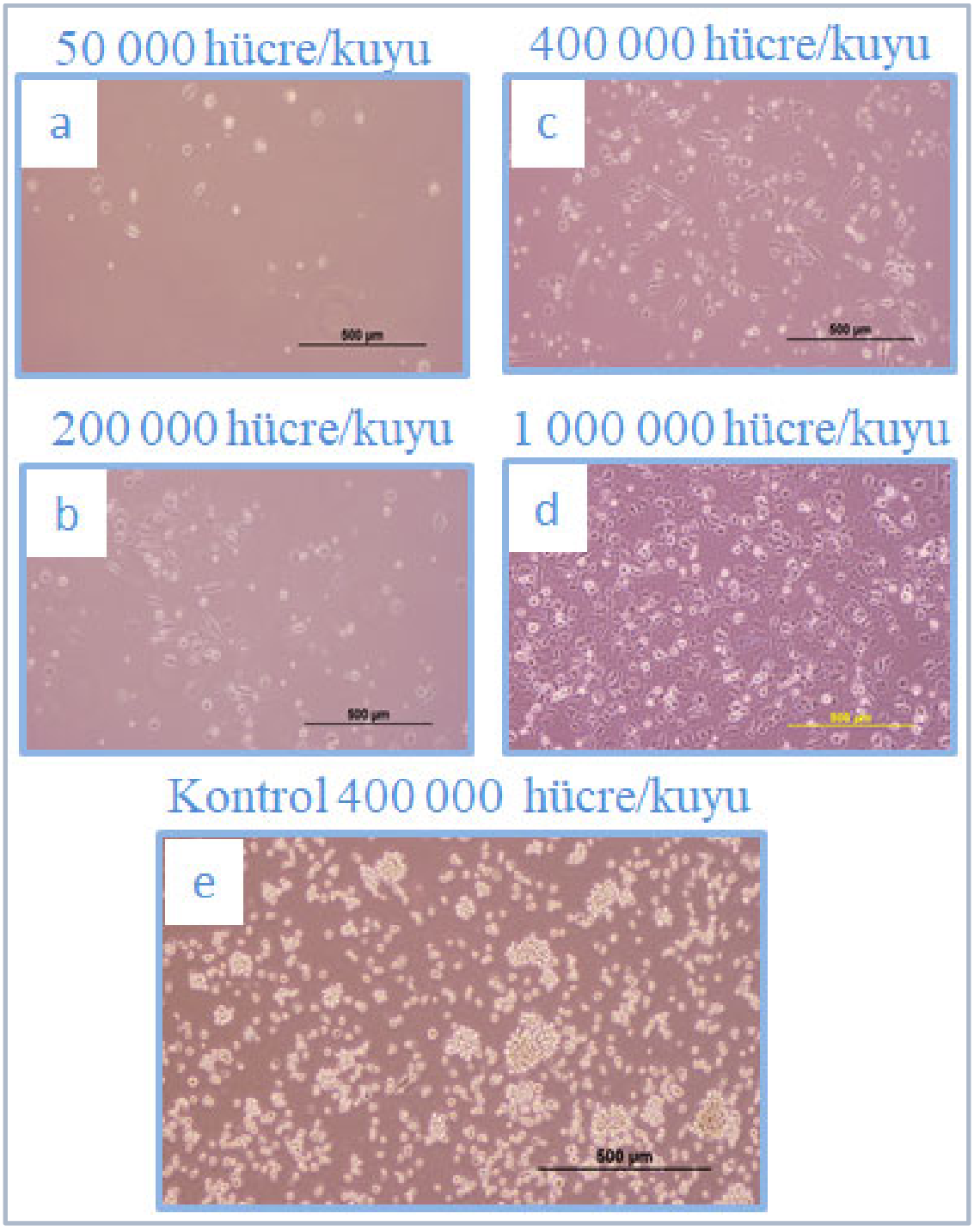
Şekil 4.5. Üç verici ait osteojenik farklılaştırılması gerçekleşen MKH'ları içeren kuyucuğun içeriğinin ''Quantichrom Calcium Assay Kiti'' (Bioassay Systems, ABD, DICA-500) prosedürüne göre işlem yapıldıktan sonra mikroplate okuyucuda okutulan değerlerin analiz sonu

4.4. THP-1 Hücre Hattına Ait Hücrelerin PMA İle Farklılaştırma Sonuçları

6 kuyucuklu doku kültür plaklarına 50 000 hücre/kuyu, 100 000 hücre/kuyu, 200 000 hücre/kuyu ve 400 000 hücre/kuyu olarak ekilen THP-1'ler 100 nM PMA içeren RPMI%10 içinde aktive edildi. Kontrol grubu olarak THP-1'ler 400 000 hücre/kuyu olarak RPMI%10 içinde inkübasyona bırakıldı. 1. günde ve 4. günde ayrıca 100 nM PMA ile aktive 1 000 000 hücre/kuyunun 5. günde inverted mikroskopta (Olympus CKX41/Kamera Olympus/DP71) görüntüleri çekildi. Resim 4.14'de 50 000 hücre/kuyu, 100 000 hücre/kuyu, 200 000 hücre/kuyu ve 400 000 hücre/kuyu olarak ekilen PMA/THP-1 hücrelerinin 1. gündeki 4x ve 20x görüntüleri Resim 4.15'de ise 50 000 hücre/kuyu, 200 000 hücre/kuyu ve 400 000 hücre/kuyu olarak ekilen PMA/THP-1 hücrelerinin ve 400 000 hücre/kuyu olarak ekilen kontrol/THP-1'lerin 4. gündeki ve 1 000 000 hücre/kuyu olarak ekilen PMA/THP-1'lerin 5. günde çekilen 10x görüntülerini yer almaktadır. Bütün konsantrasyonlarda bir günün sonunda makrofaj farklılaşmasını gösteren hücrelerin plastik yüzeye yapışması ve vakuoller oluşturarak pseudopotların oluşmaya başlaması gerçekleşti. Hücre konsatrasyonu artıkça farklılaşma daha da belirgindi. Direkt kültürlerde aralarda MKH'larında yapışabilmesi için boşluk kalabildiği ve makrofaj/MKH oranının 2/5 olarak koruna bildiği oran olarak 400 000 hücre/kuyucuk olarak PMA aktivasyonu yapılmasına karar verildi. Kontrol grubu olarak PMA aktivasyonsuz THP-1 hücreleri alındı ve kontrol grubunda hücreler yapışmadılar ve birleşerek kümecikler oluşturdular.



Resim 4.14. 100 nM PMA ile aktive edilen çeşitli yoğunluktaki THP-1'lerin aktivasyonun birinci gündeki 4x ve 20x görüntüleri



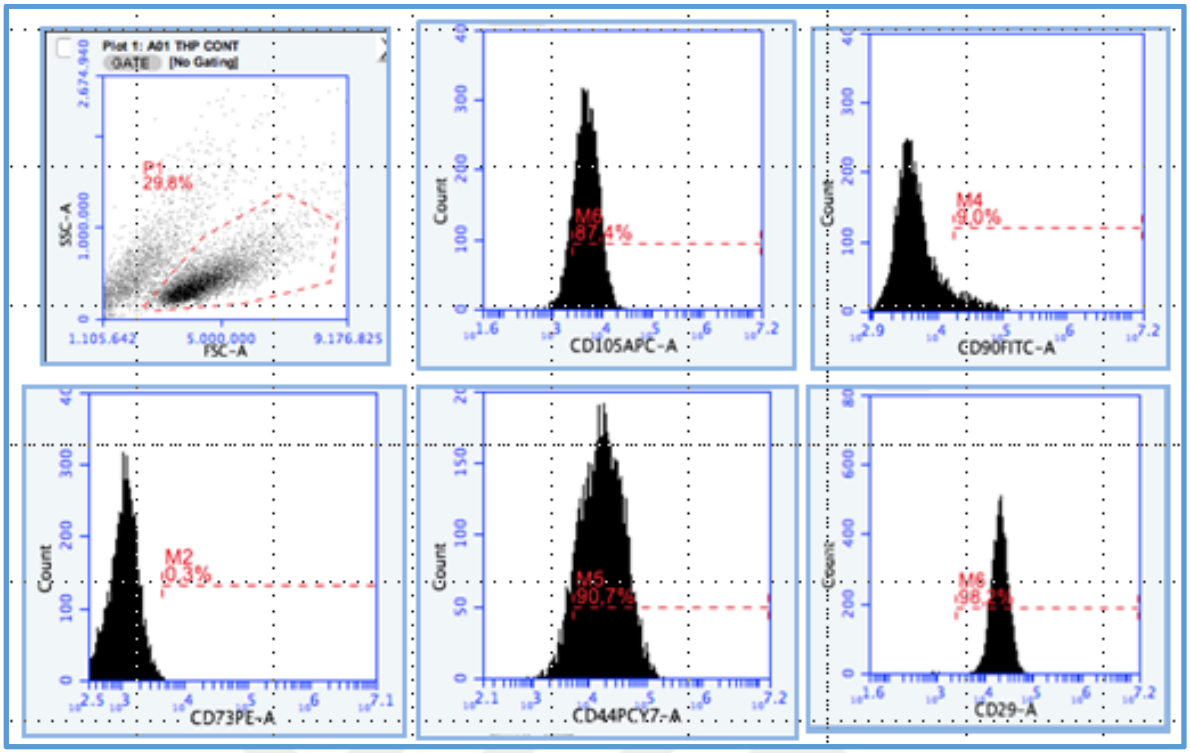
Resim 4.15. 100 nM PMA ile aktive edilen çeşitli yoğunluktaki THP-1'lerin ve kontrol kuyucuğunun kültürün 4./5. gündeki 10x görüntüleri

4.5. PMA/THP-1 ve MKH'ların Hematopoietik ve Bağ dokusu Belirteçleri Açısından karşılaştırılması

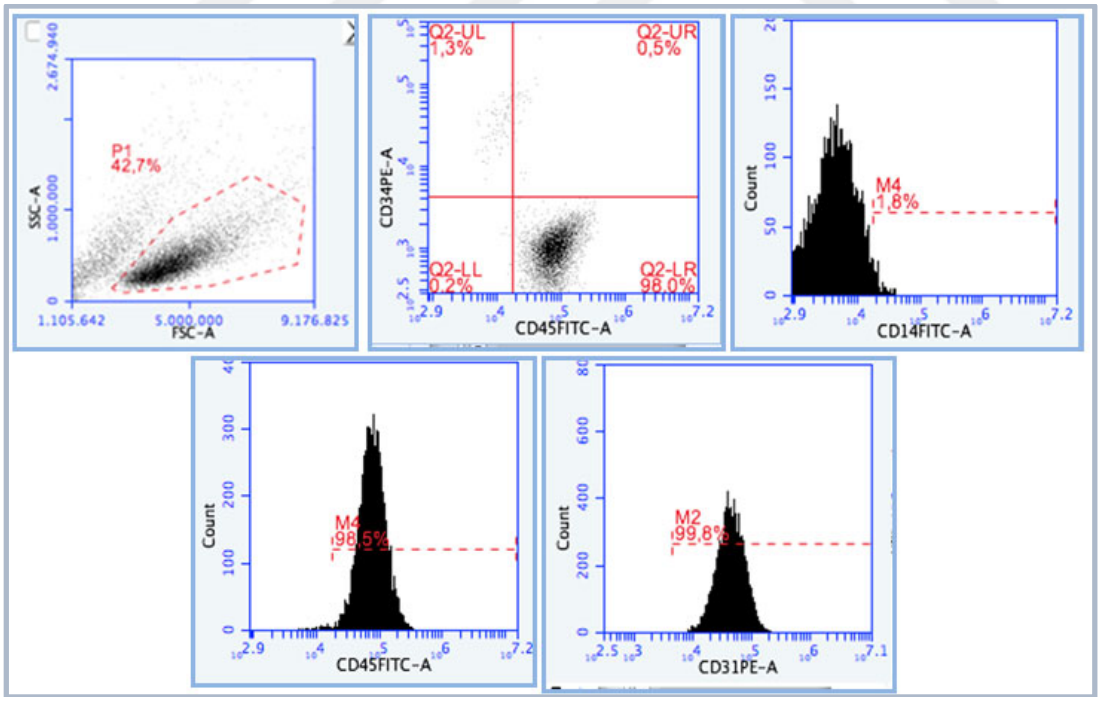
Ko-kültürlere hazırlık amacıyla ko-kültürlerde THP-1 ve MKH'ları immün fenotipik belirteçlerle ayrımının yapılması planlandı. Yöntem bölümünde belirtildiği gibi dondurulmuş THP-1 hücreleri çözülerek üretilmeye başlandı daha sonra 100nM PMA ile makrofajlara farklılaştırıldı. Kazınarak harvestlenen hücreler yüzey belirteçleri için boyanmak için hazırlandı. Kontrol olarak PMA ile farklılaştırılmamış THP-1'ler kullanıldı. Pasaj 5'teki havuz MKH'lar T75 flasklarda üretilip tripsinizasyon protokolüne göre harvestlenen hücreler yüzey belirteçleri için boyanmak için hazırlandı.

THP-1'ler Şekil 4.6'da bağ dokusu belirteçleri açısından Şekil 4.7'de ise hematopoietik belirteçler açısından akım sitometri ile analiz sonuçları, PMA/THP-1'lerin Şekil 4.8'de bağ dokusu belirteçleri açısından Şekil 4.9'da ise hematopoietik belirteçler açısından akım sitometri ile analiz sonuçları, MKH'ların Şekil 4.10'da bağ dokusu belirteçleri açısından Şekil 4.11'de ise hematopoietik belirteçler açısından akım sitometri ile analiz sonuçları verilmiştir. Bu sonuçlar Çizelge 4.3'de tablo halinde ve Şekil 4.12'de ise bar grafiği olarak özetlenmiştir.

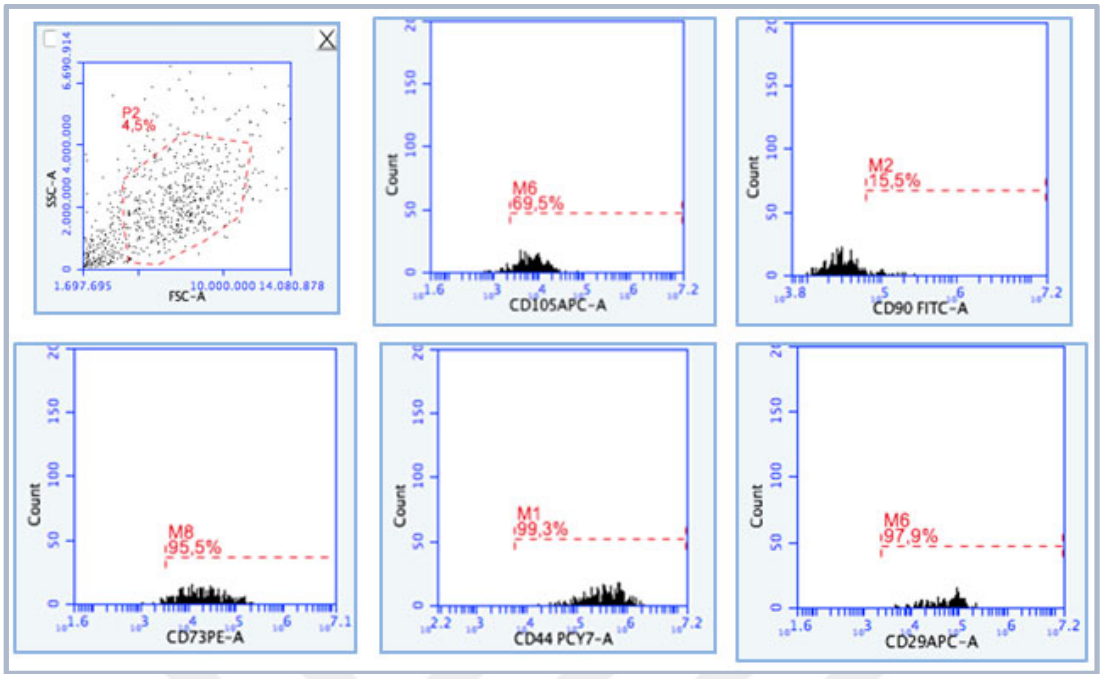
Çizelge 4.3'de bağ dokusu belirteci olarak CD105, CD90, CD73, CD44 ve CD29 ile hematopoietik belirteç olarak CD34, CD14, CD45 ve CD31 kullanılarak yapılan akım sitometri analiz sonuçları pozitif olanlar sarıya boyalı kutucuklar olarak verilmiştir. Bağ dokusu belirteçleri PMA/THP-1 ve MKH hücrelerinin her ikisinde de pozitif ve hematopoietik belirteçlerden CD34 her iki grupta da negatif bulunmuştur. Hematopoietik belirteçlerden CD14, CD45 ve CD31 sadece PMA/THP-1 grubunda pozitif olarak bulunduğu için bunların ko-kültür deneylerinde iki hücre grubunun ayrımında kullanılabileceğine karar verildi.



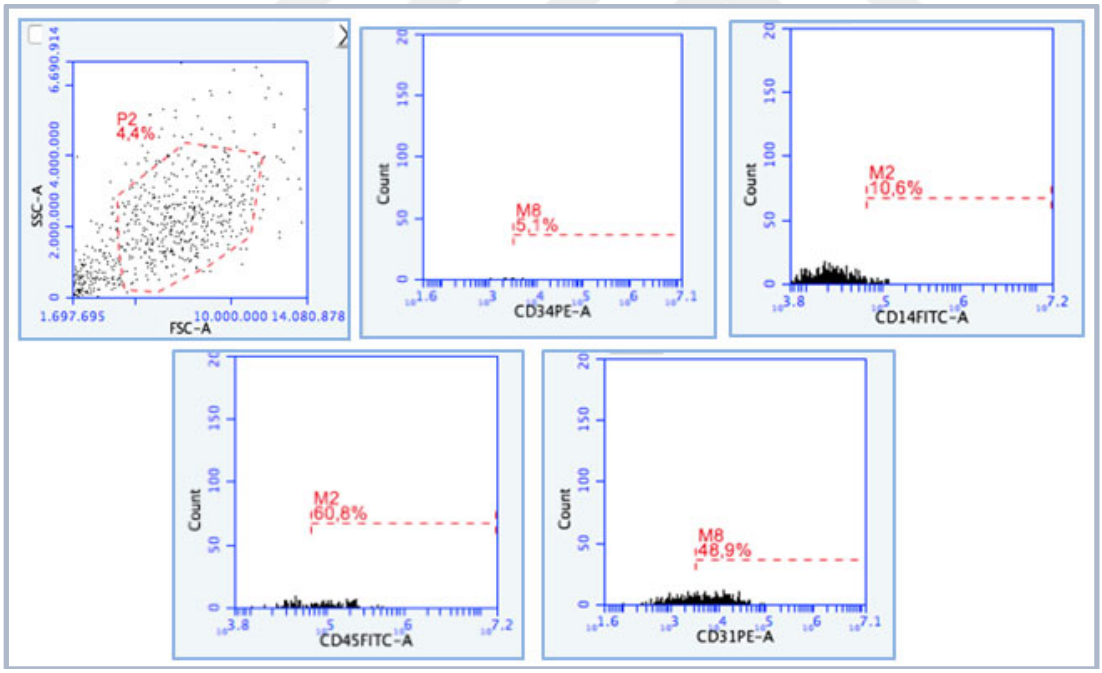
Şekil 4.6. THP-1'lerin bağ dokusu belirteçleri açısından akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü



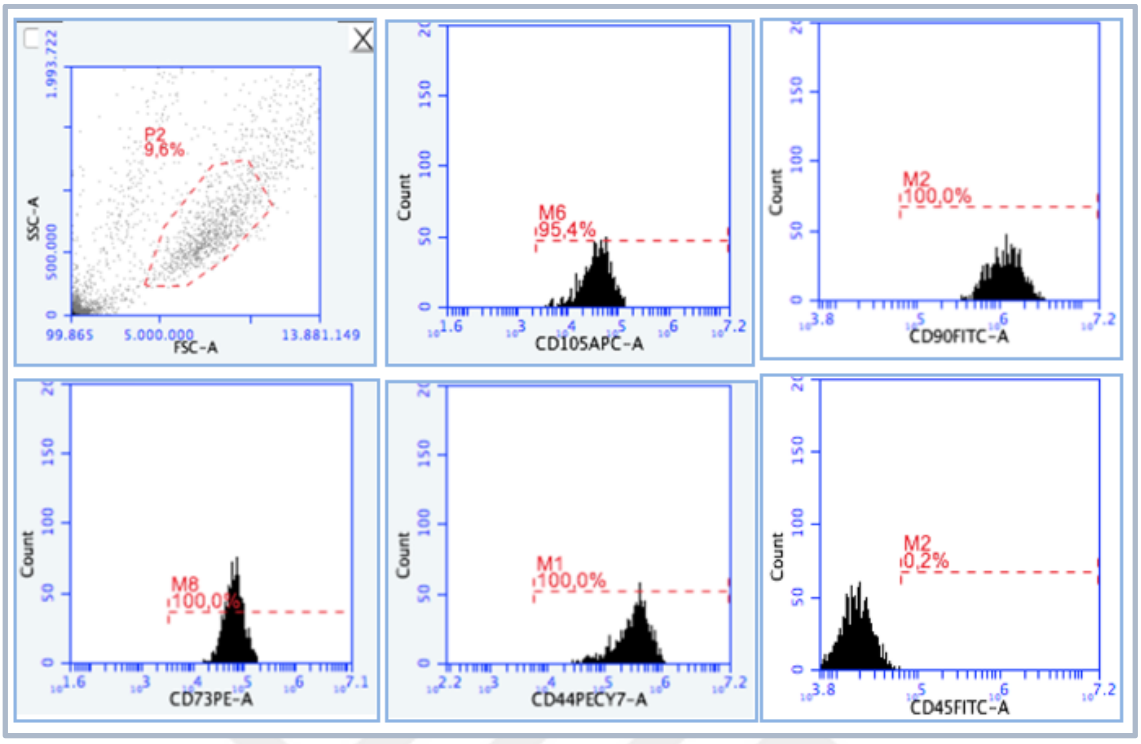
Şekil 4.7. THP-1'lerin hematopoietik belirteçler açısından akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü



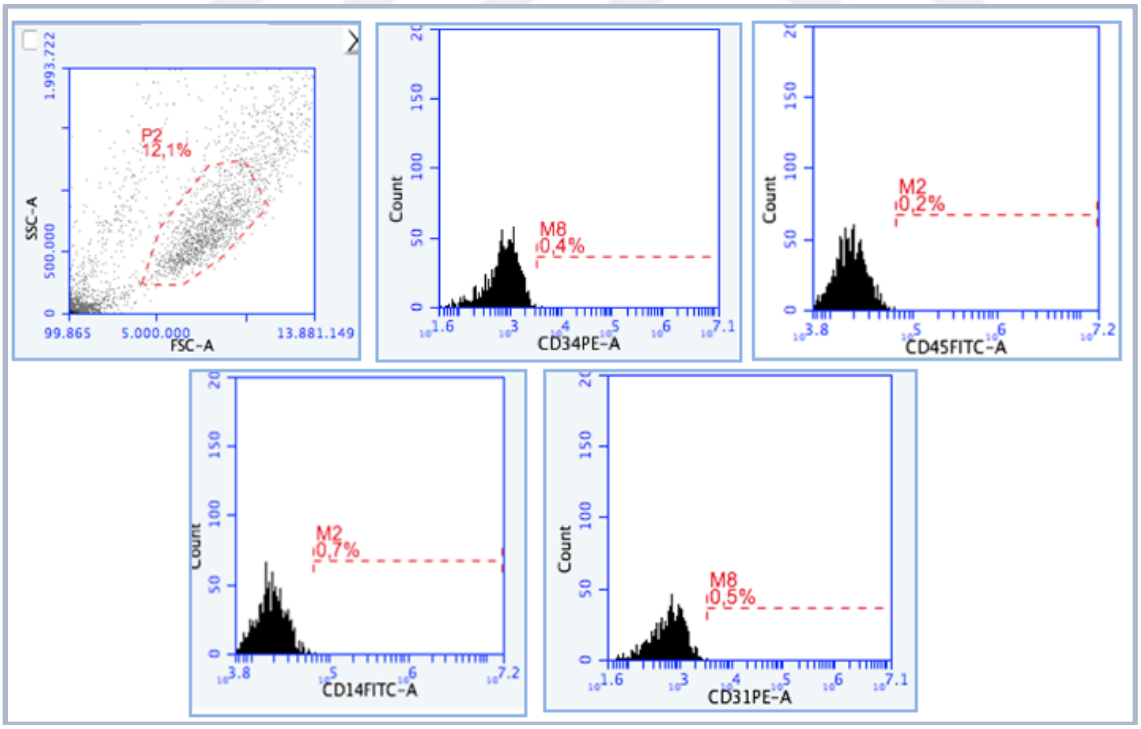
Şekil 4.8. PMA/THP-1'lerin bağ dokusu belirteçleri açısından akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü



Şekil 4.9. PMA/THP-1'lerin hematopoietik belirteçler açısından akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü



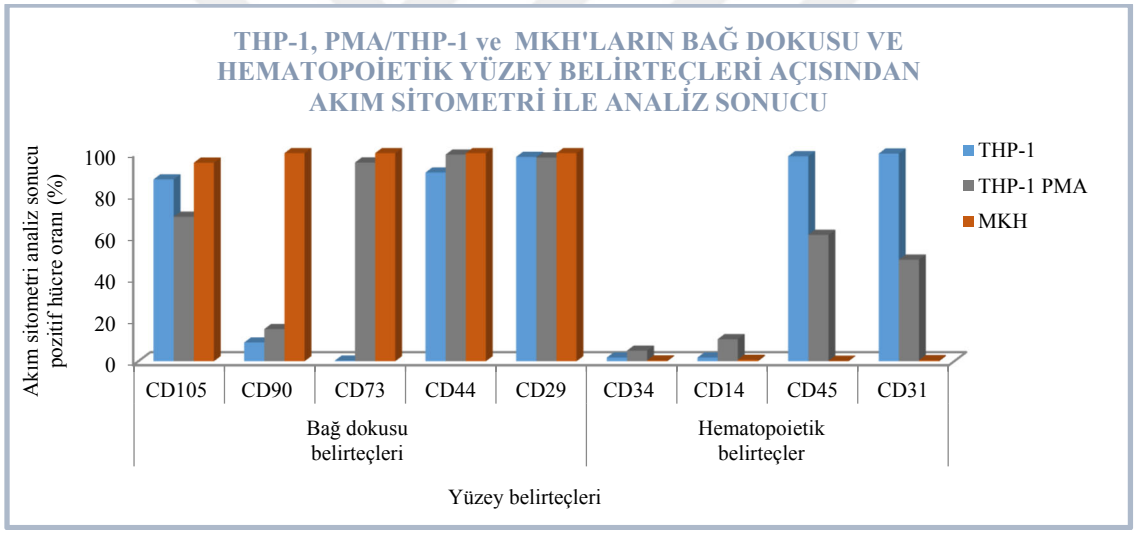
Şekil 4.10. MKH'lerin bağ dokusu belirteçleri açısından akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü



Şekil 4.11. MKH'lerin hematopoietik belirteçler açısından akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

Çizelge 4.3. THP-1, PMA/THP-1 ve MKH hücrelerin bağ dokusu ve hematopoietik belirteçler açısından akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

		THP-1	PMA/THP-1	MKH
Bağ dokusu belirteçleri	CD105	87,4	69,5	95,4
	CD90	9	15,5	100
	CD73	0,3	95,5	100
	CD44	90,7	99,3	100
	CD29	98,2	97,9	100
hemato poietik belirteçler	CD34	1,8	5,1	0,4
	CD14	1,8	10,6	0,7
	CD45	98,5	60,8	0,2
	CD31	99,8	48,9	0,5



Şekil 4.12. THP-1, PMA/THP-1 ve MKH hücrelerin bağ dokusu ve hematopoietik belirteçler açısından akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

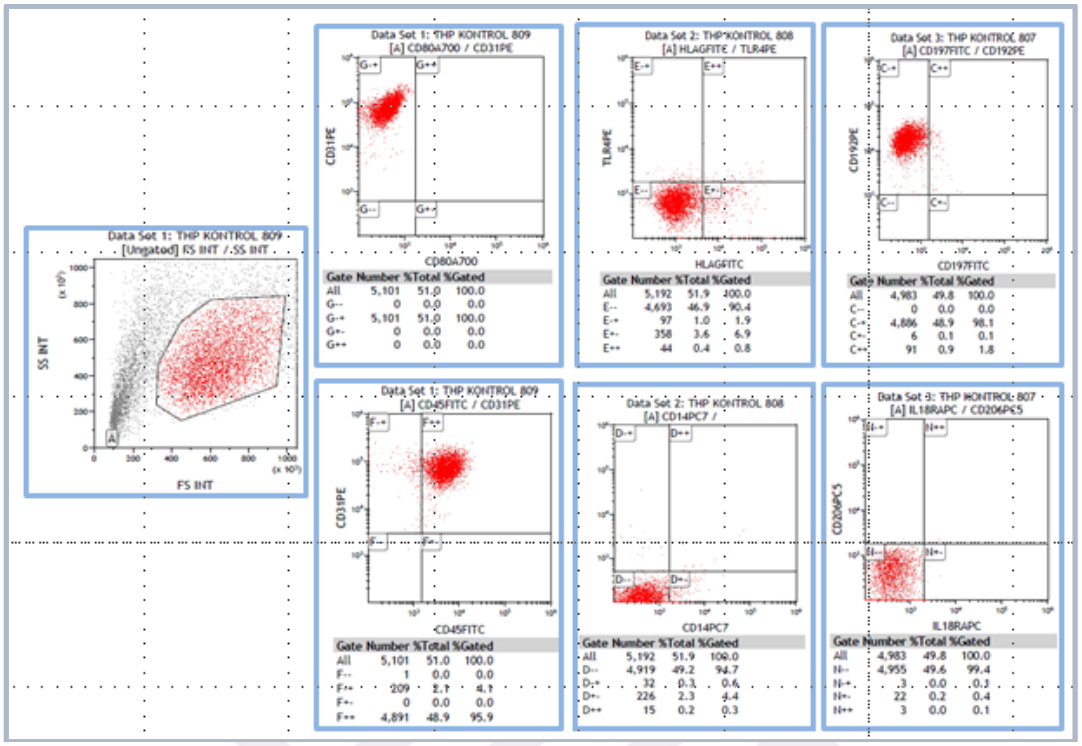
4.6. THP-1, PMA/THP-1 ve MKH'ların Prime Öncesi ve Sonrası İmmün Fenotipik Olarak Değerlendirilme Sonuçları

Ko-kültür çalışmalarından önceki yüzey belirteçlerinin ekspresyon seviyesini tespit etmek amacıyla THP-1, PMA/THP-1 ve MKH hücreleri prime edilmeden önce ve PMA/THP-1 ve MKH'lar daha önce listesi verilen prime solüsyonları ile prime edildikten sonra akım sitometri ile Çizelge 4.4'deki antikorlar kullanılarak analiz edildi.

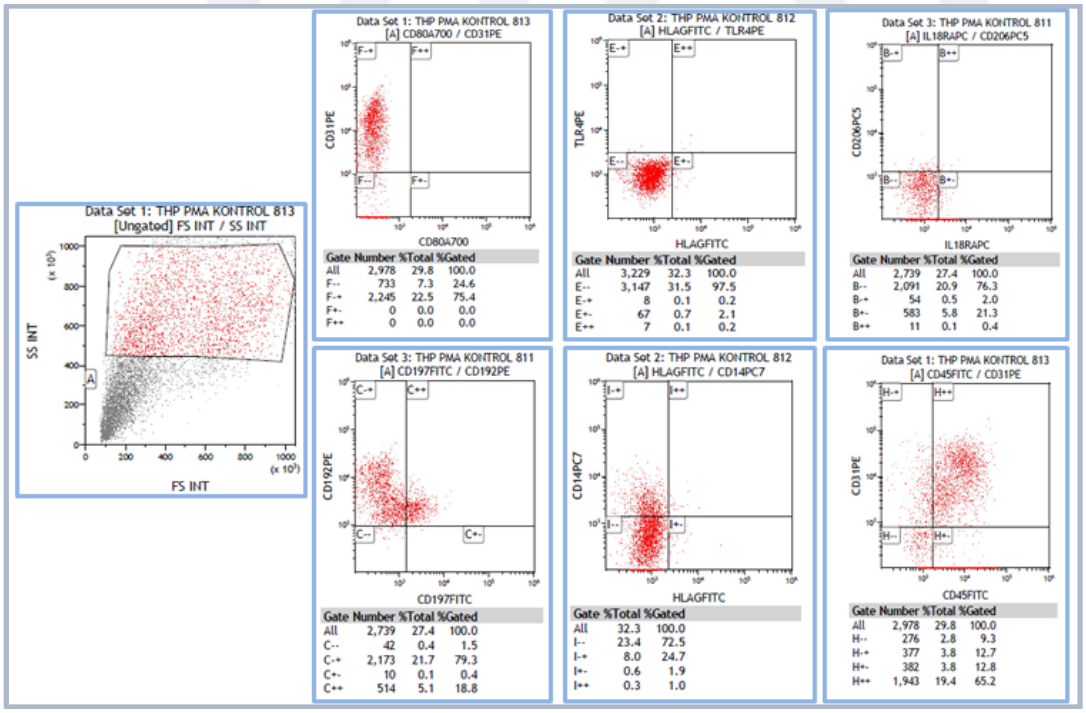
Çizelge 4.4. THP-1, PMA/THP-1 ve MKH'ların prime öncesi ve PMA/THP-1 ve MKH'ların prime sonrasında immün fenotiplendirmesinde kullanılan antikor paneli ve konjugeleri

1. tüp	2. tüp	3. tüp	4. tüp
CD197FITC	HLAGFITC	CD45APC	CD14PECY7
CD192PE	TLR4PE	CD86PE	CD45FITC
CD206PE/CY5	CD14PE/CY7	CD86APCH7	
İL-18RAPC			
CD31PECY7			

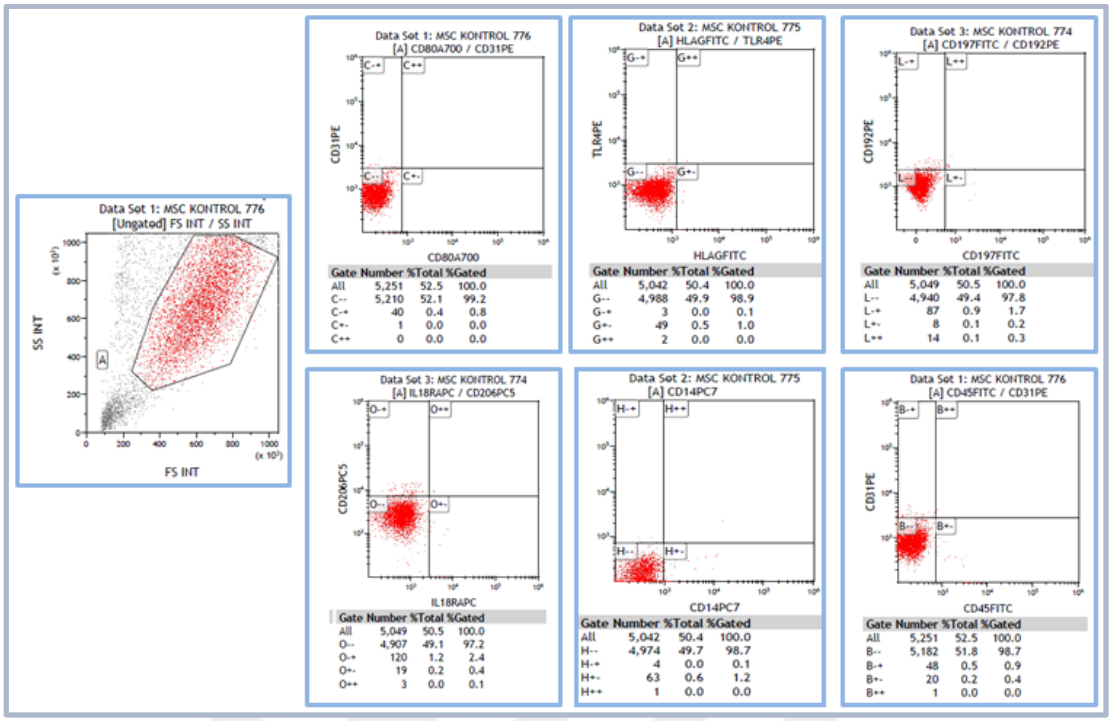
Şekil 4.13'de THP-1'lerin, Şekil 4. 14'de PMA/THP-1 hücrelerinin ve Şekil 4.15'de MKH'ların prime öncesi akım sitometri analiz sonuçlarının dot plot görüntüsü ile Çizelge 4.5 da her üç grubun prime öncesi akım sitometri analiz sonuçlarının özet tablosu ve Şekil 4.16'da bar grafiği yer almaktadır. MKH'lar prime öncesi bütün yüzey belirteçleri açısından negatiftir. İL-18R, CD197 ve CD14 açısından THP-1'ler negatifken PMA/THP-1'ler çeşitli oranlarda pozitiflik göstermiş ve CD192, CD31 ve CD45 açısından hem THP-1 hem de PMA/THP-1'ler pozitif bulunmuştur.



Şekil 4.13. THP-1'lerin prime öncesi akım sitometri ile analiz sonuçlarının dot plot görüntüsü



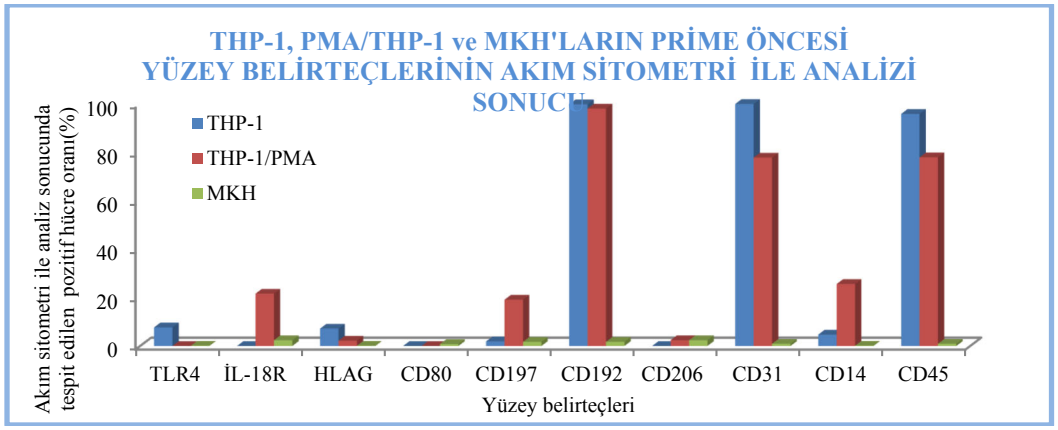
Şekil 4.114. PMA/THP-1'lerin prime öncesi akım sitometri ile analiz sonuçlarının dot plot görüntüsü



Şekil 4.15. MKH'ların prime öncesi akım sitometri ile analiz sonuçlarının dot plot görüntüsü

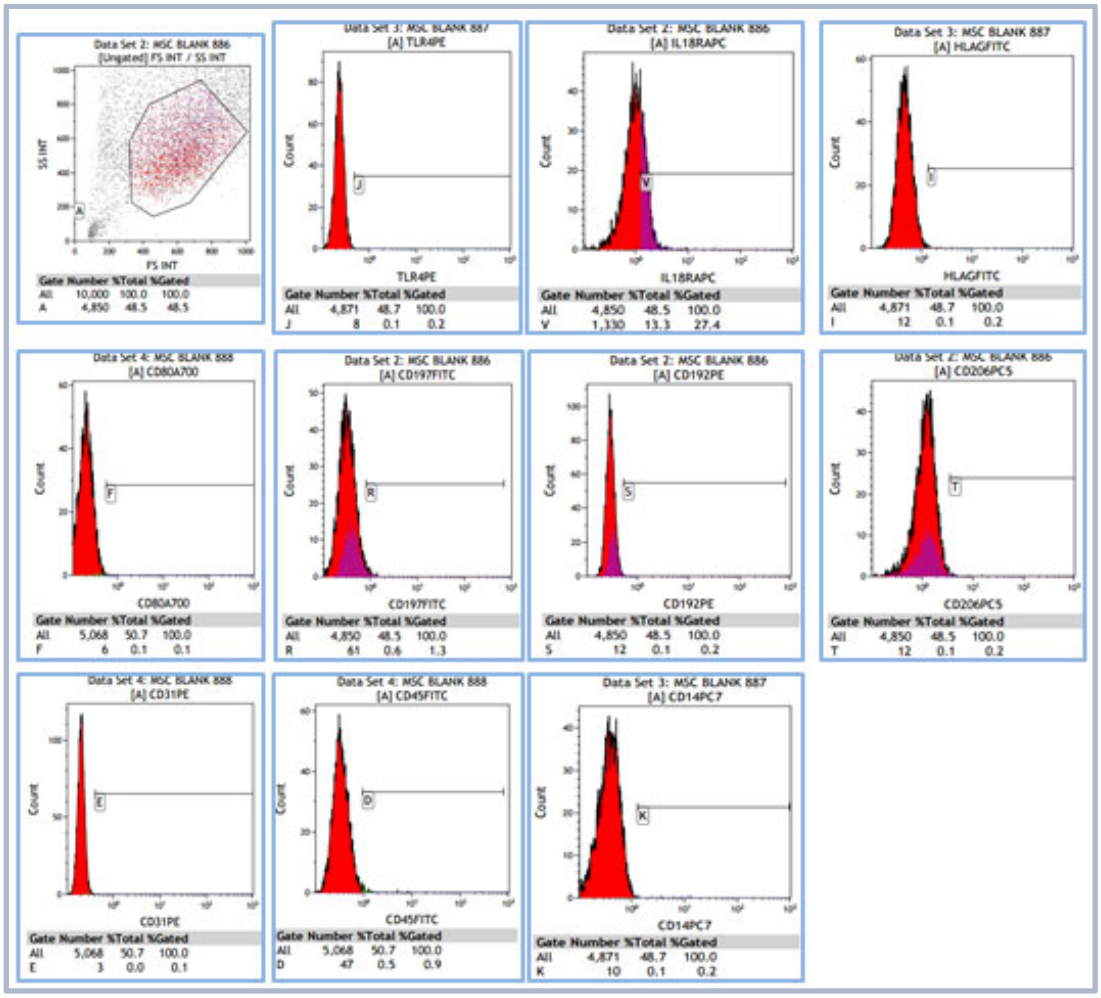
Çizelge 4.5. THP-1, PMA/THP-1 ve MKH'ların prime öncesi akım sitometri ile analiz sonuçlarının özet tablosu

	PRİME ÖNCESİ		
	THP-1	THP-1/PMA	MKH
TLR4	7,7	0	0,1
İL-18R	0	21,7	2,4
HLA-G	7,2	2,2	0,1
CD80	0	0	0,8
CD197	1,9	19,2	1,7
CD192	99,9	98,1	1,7
CD206	0	2,4	2,4
CD31	100	77,9	0,9
CD14	4,7	25,7	0,1
CD45	95,9	78	0,9

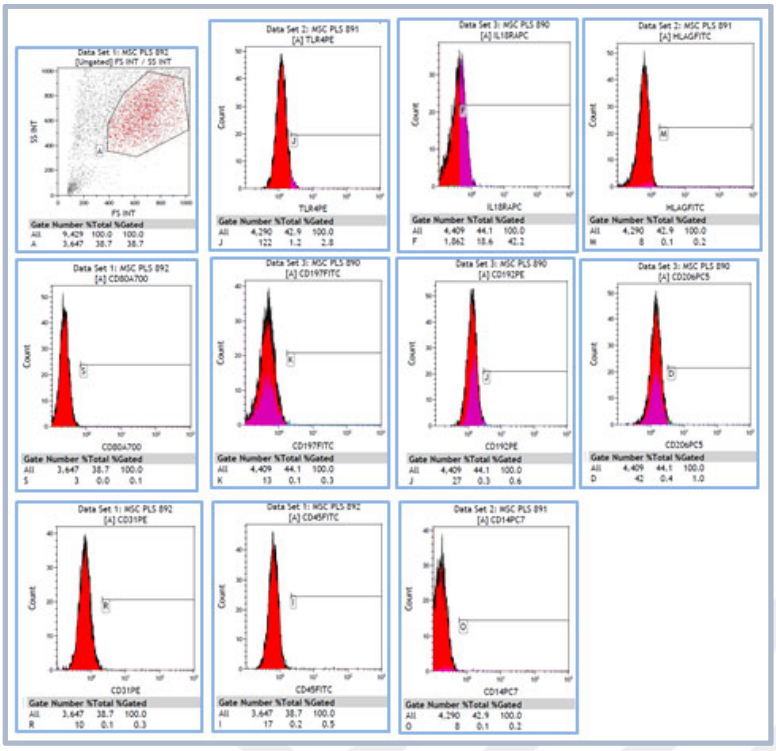


Şekil 4.16. THP-1, PMA/THP-1 ve MKH'ların prime öncesi akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

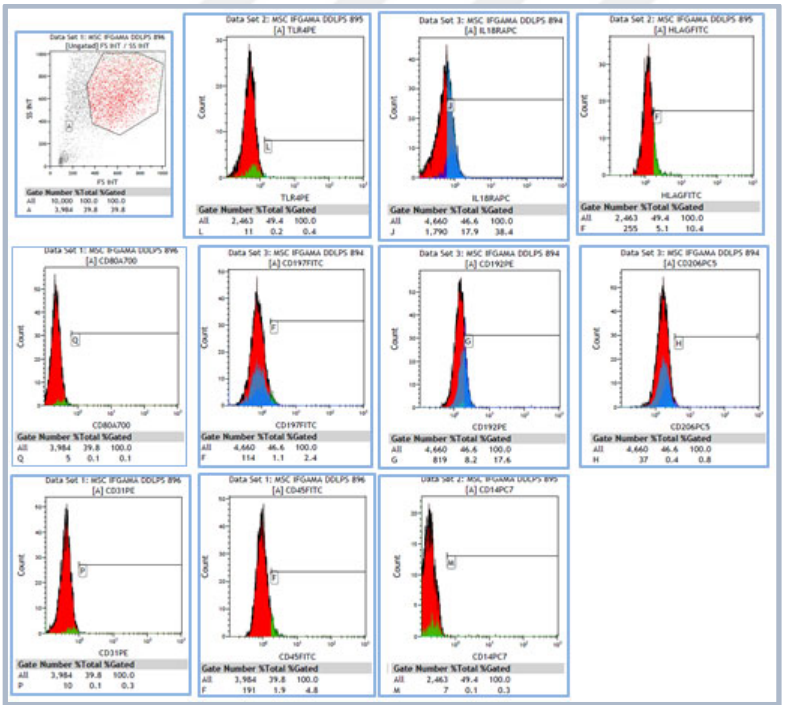
5 pasaj olarak ekilen havuz MKH'lar 24 saat beş farklı kombinasyonda prime edildikten sonra MKH'lar tripsinizasyon protokolüne uygun olarak harvestleneip Çizelge 4.8'deki antikorlar ile boyandıktan sonra akım sitometri ile analizi edildi. Sadece DMF-10 ile inkübe edilen MKH kontrol grubu olarak kabul edildi. Şekil 4.17'de sadece DMF-10 eklenen, Şekil 4.18'de poli(I:C) Şekil 4.19'de İFN-γ ve düşük doz LPS, Şekil 4.20'de İL-4, İL-10 ve İL-13, Şekil 4.21'de TNF-α ve Şekil 4.22'de yüksek doz LPS ile 24 saat prime edilen pasaj altıdaki havuz MKH'ların Çizelge 4.8'deki yüzey belirteçlerinin akım sitometri ile analiz sonuçları ve Çizelge 4.6'de bunların özet tablosu ile Şekil 4.23'de bar figürü yer almaktadır. Şekiller ve Çizelge 4.6 incelendiğinde İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edilen grupta TLR4 ekspresyonunda %24,4 oranında bir yükselme, Şekil 4.24'de de bar figürüyle ayrıca gösterildiği gibi İL-18R ekspresyonunda DMF-10 eklenen kontrol grubunda %27,4 iken poli(I:C) ile prime edilenlerde %42,2 (kontrole göre %14,8 artış), İFN-γ ve düşük doz LPS ile uyarılan grupta %38,4 (kontrole göre %11artış) ve yüksek doz LPS ile uyarılan grupta ise %31(kontrole göre %3,6 artış ve TNF-α ve İL-4/İL-10/İL-13 prime solüsyonlarına yanıt olarak İL-18R ekspresyonu azaldığı, Şekil 4.25'de ayrıca gösterildiği gibi CD192 ekspresyonunda ise İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime edilen grupta %17,6 (kontrole göre % 17,4 artış), İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edilen grupta %49,5(kontrole göre %49,3 artış) ve TNF-α ile prime edilen grupta ise %31,2 (kontrole göre %31 artış) tespit edilmiştir. Tüm analizlerde %10'nun altındaki pozitiflikler negatif olarak kabul edilmiştir.



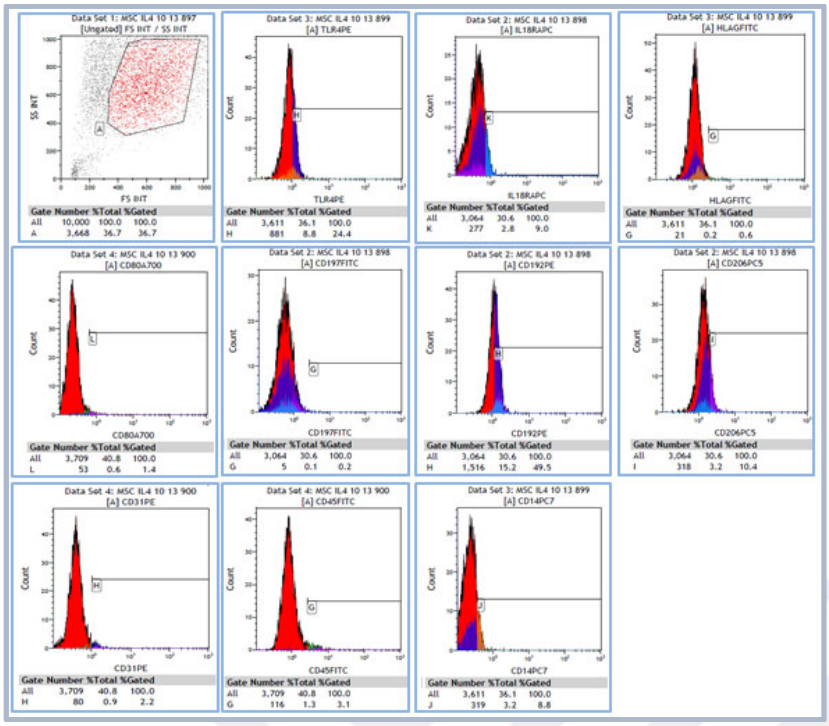
Şekil 4.17. Sadece DMF-10 eklenen MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü



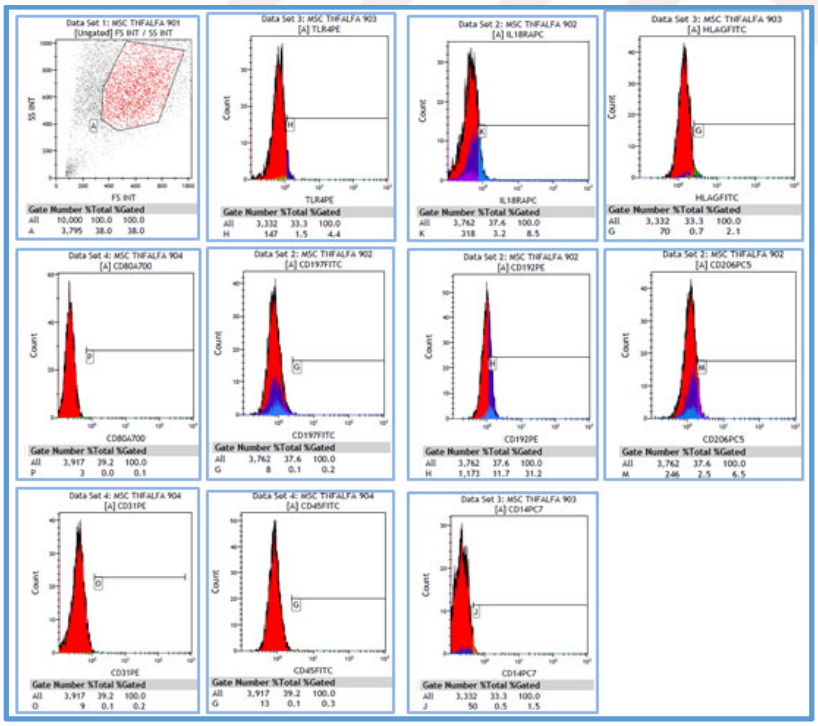
Şekil 4.18. Poli(I:C) ile prime edilen MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü



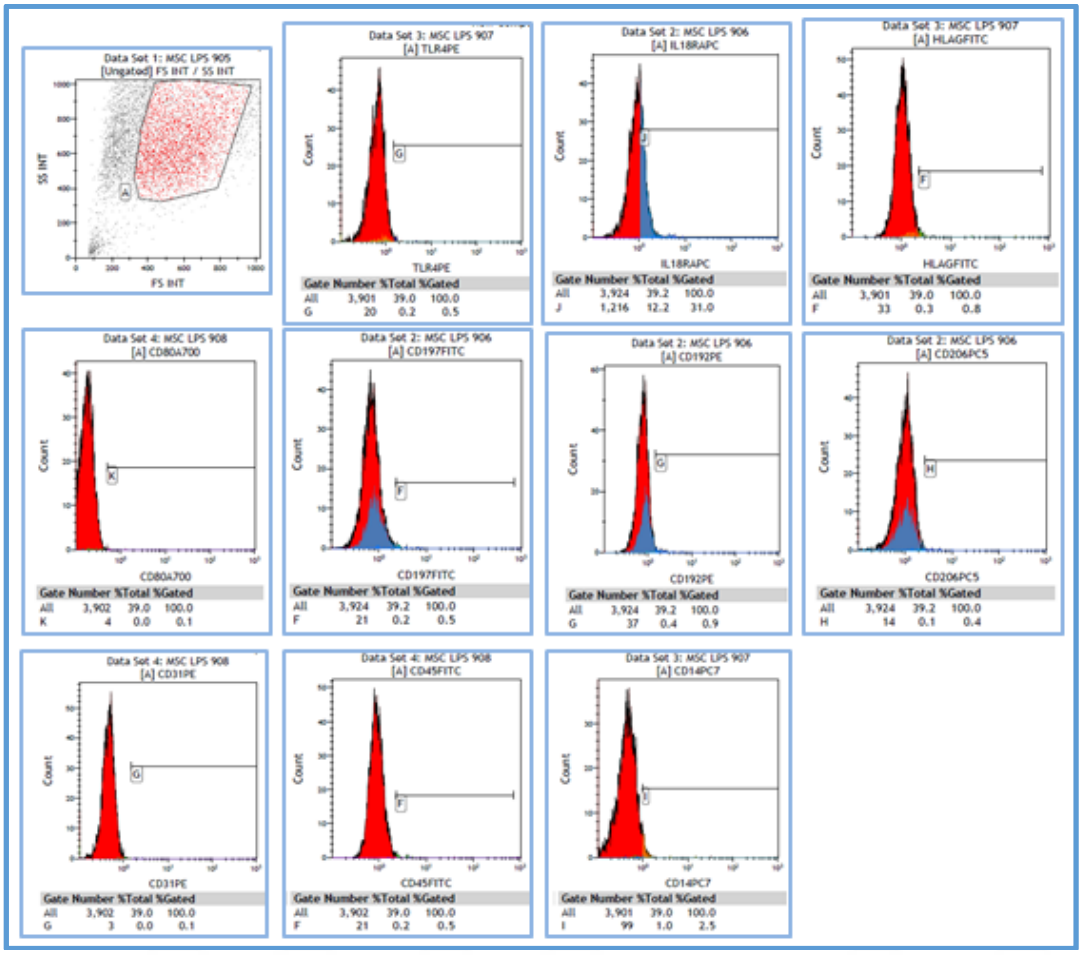
Şekil 4.19. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime edilen MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü



Şekil 4.20. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edilen MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü



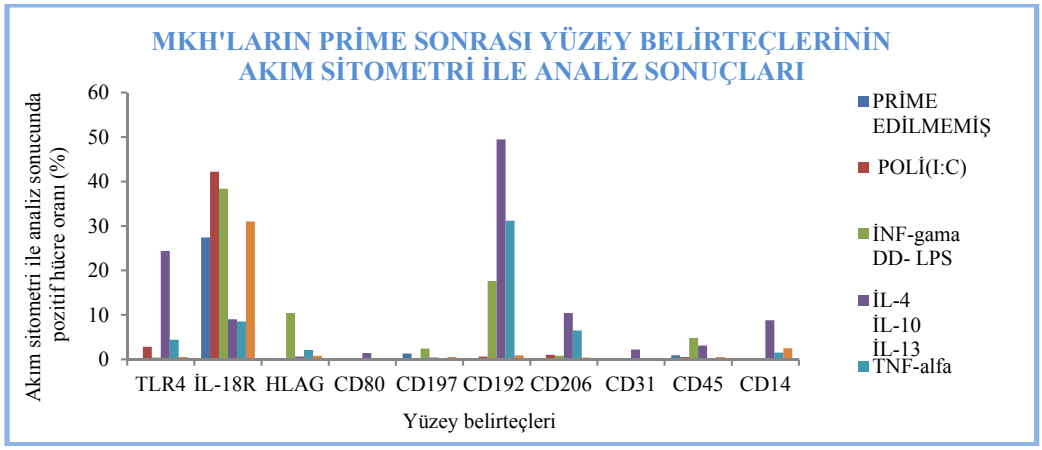
Şekil 4.21. TNF-α ile prime edilen MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü



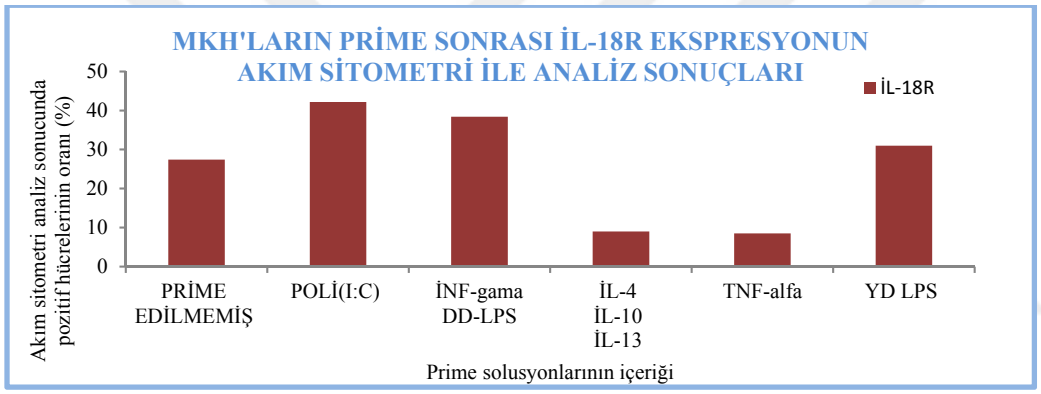
Şekil 4.22. Yüksek doz LPS ile prime edilen MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

Çizelge 4.6. DMF-10 eklenen, poli(I:C), İFN-γ ve düşük doz LPS, İL-4, İL-10 ve İL-13, TNF-α ve yüksek doz LPS ile 24 saat prime edilen MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının özet tablosu

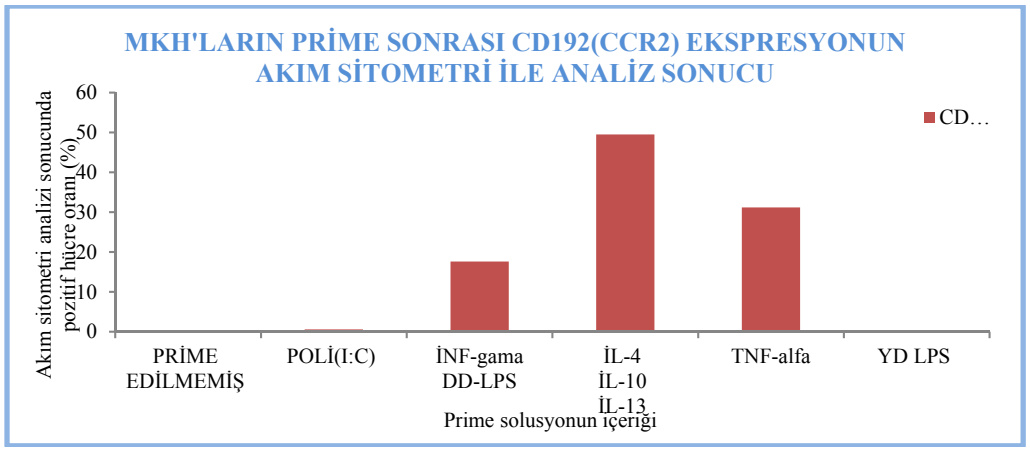
		PRİME EDİLMEMİŞ	**POLİ(I:C)**	**İFN-γ DD- LPS**	**İL-4 İL-10 İL-13**	**TNF-α**	**YD LPS**
MKH PRİME SONRASI	TLR4	0,2	2,8	0,4	24,4	4,4	0,5
	İL-18R	27,4	42,2	38,4	9,0	8,5	31
	HLAG	0,2	0,2	10,4	0,6	2,1	0,8
	CD80	0,1	0,1	0,1	1,4	0,1	0,1
	CD197	1,3	0.3	2,4	0,4	0,2	0,5
	CD192	0,2	0,6	17,6	49,5	31,2	0,9
	CD206	0,2	1	0,8	10,4	6,5	0,4
	CD31	0,1	0,3	0,3	2,2	0,2	0,1
	CD45	0,9	0,5	4,8	3,1	0,3	0,5
	CD14	0,2	0,2	0,3	8,8	1,5	2,5



Şekil 4.23. DMF-10 eklenen, poli(I:C), İFN-γ ve düşük doz LPS, İL-4, İL-10 ve İL-13, TNF-α ve yüksek doz LPS ile 24 saat prime edilen MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği



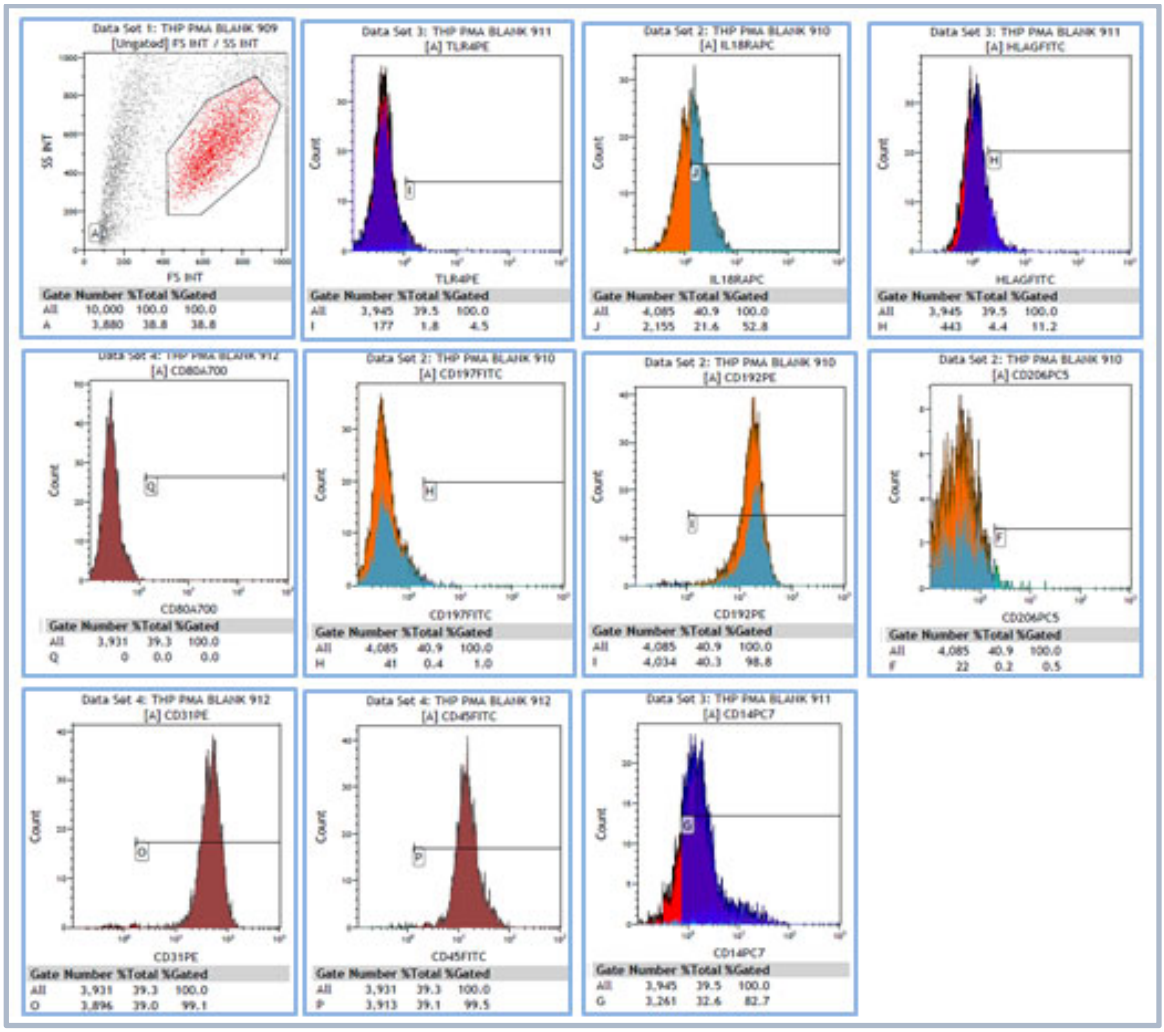
Şekil 4.24. MKH'ların beş farklı kondisyonda 24 saatlik prime edilmesi sonucunda İL-18R ekspresyonun akım sitometri ile analiz sonucunun bar grafiği



Şekil 4.25. MKH'ların beş farklı kondisyonda 24 saatlik prime edilmesi sonucunda CD192(CCR2) ekspresyonun akım sitometri ile analiz sonucunun bar grafiği

PMA/THP-1'ler 24 saat beş farklı kombinasyonda prime edildikten sonra kazınarak harvestlenip Çizelge 4.8'deki antikorlar ile boyandıktan sonra akım sitometri ile analizi edildi. Sadece DMF-10 ile inkübe edilen PMA/THP-1 kontrol grubu olarak kabul edildi.

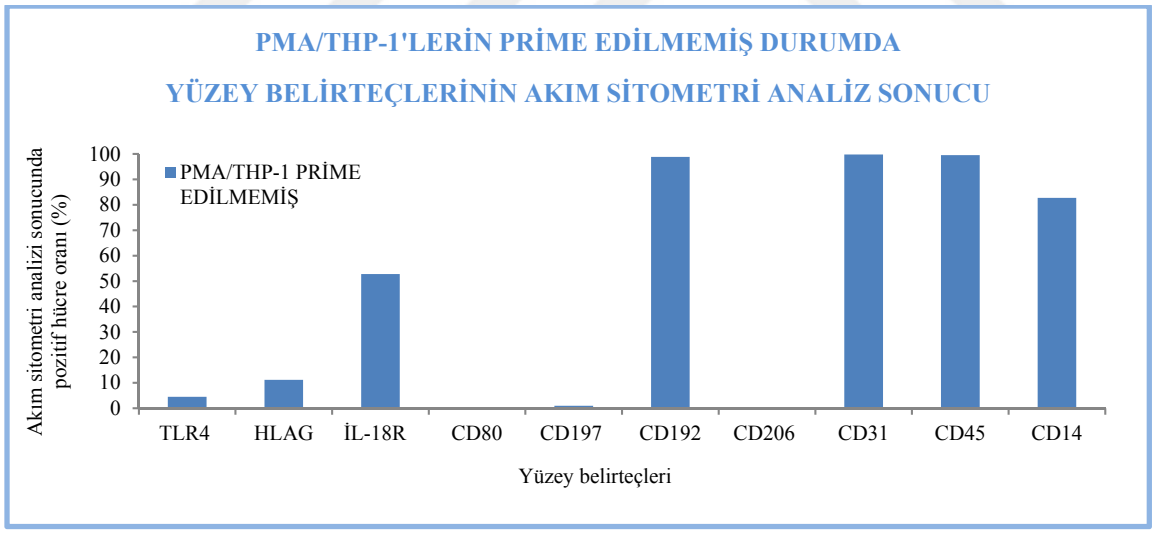
Sadece DMF-10 eklenen grupta yüzey belirteçlerinin akım sitometri ile analiz sonuçlarının yer aldığı Şekil 4.26'de, Çizelge 4.7'de ve Şekil 4.27'da görüldüğü gibi İL-18R %52,8, CD192 %98,8, CD31 %99,8, CD45 99,5 ve CD 14 %82,7 oranında pozitif bulunurken diğer yüzey belirteçlerinin negatif olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.26. DMF-10 eklenen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

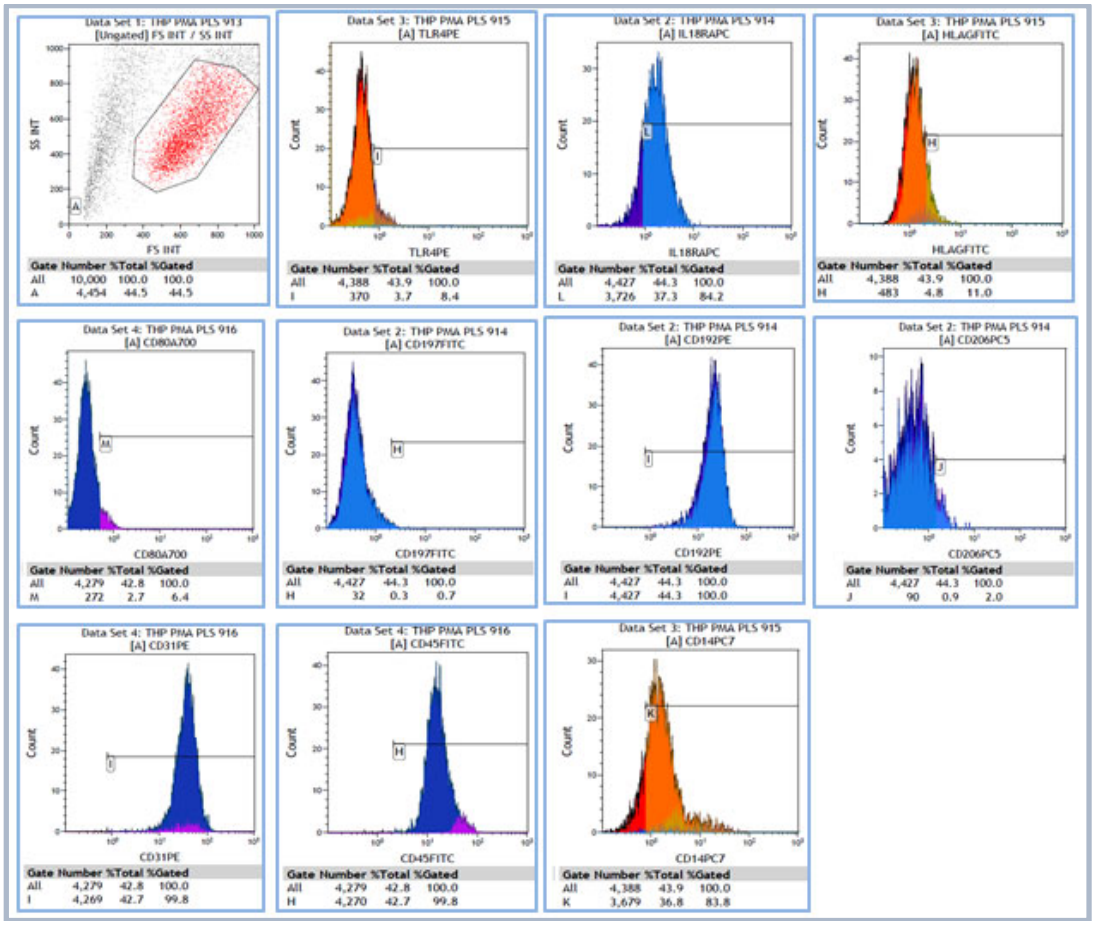
Çizelge 4.7. DMF-10 eklenen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	PMA/THP-1
	PRİME EDİLMEMİŞ
TLR4	4,5
İL-18R	52,8
HLAG	11,2
CD80	0
CD197	1
CD192	98,8
CD206	0,5
CD31	99,8
CD14	82,7
CD45	99,5



Şekil 4. 27. DMF-10 eklenen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

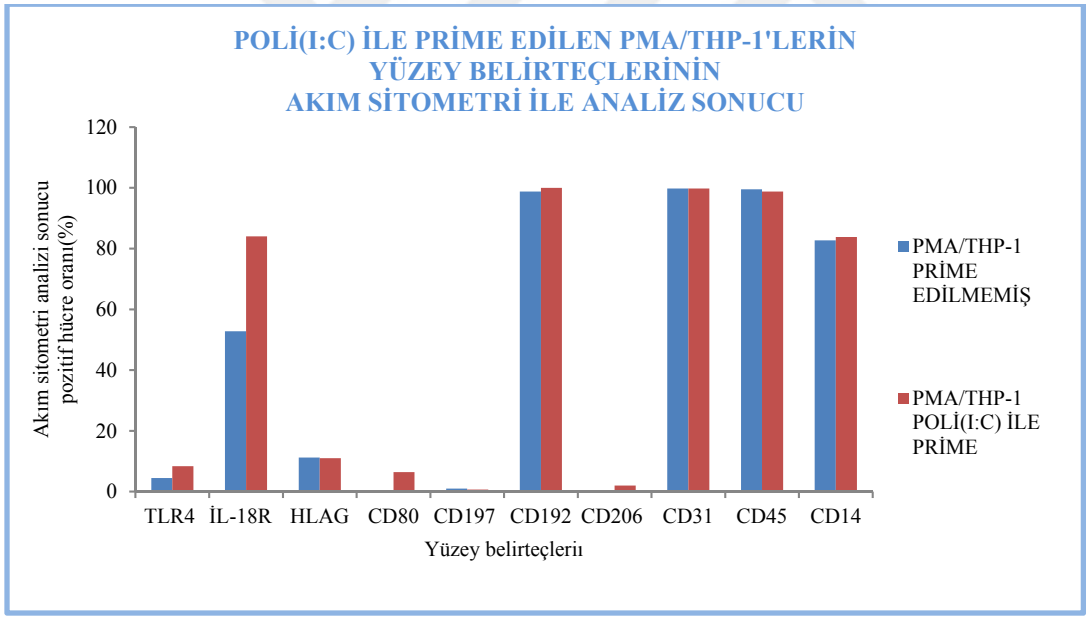
Poli(I:C) 24 saat prime edilen PMA/THP-1'lerin yüzey belirteçlerinin akım sitometri ile analiz sonuçlarının dot plot görüntüsünün yer aldığı Şekil 4.28'de, tablosunun yer aldığı Çizelge 4.8'de ve bar grafiğinin yer aldığı Şekil 4.28'de görüldüğü gibi İL-18R %84 (kontrole göre % 31,2'lik bir artış), CD192 %%100 (kontrole yaklaşık aynı değerde), CD31 %99,8 (kontrolle aynı derecede artış), CD45% 98,8 (kontrole yaklaşık aynı değerde) ve CD14 %83,8 (kontrole yaklaşık aynı değerde) oranında pozitif diğer yüzey belirteçlerinin ise negatif olduğu bulunmuştur.



Şekil 4. 28. Poli(I:C) ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

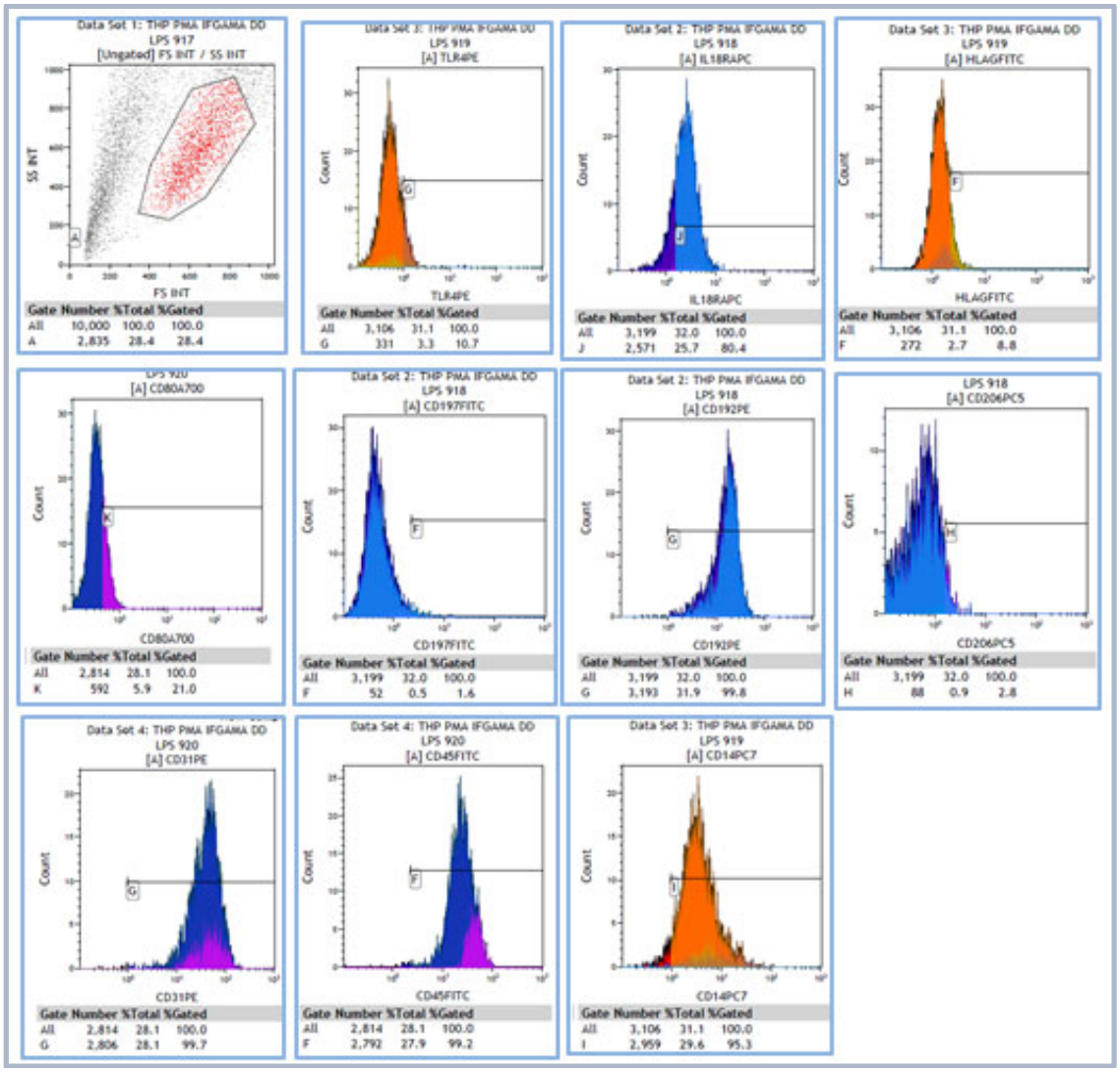
Çizelge 4.8. Poli(I:C) ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	PMA/THP-1/	
	PRİME EDİLMEMİŞ	POLİ(I:C)
TLR4	4,5	8,4
İL-18R	52,8	84
HLAG	11,2	11
CD80	0	6,4
CD197	1	0,7
CD192	98,8	100
CD206	0,5	2
CD31	99,8	99,8
CD14	82,7	83,8
CD45	99,5	98,8



Şekil 4. 29. Poli(I:C) ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

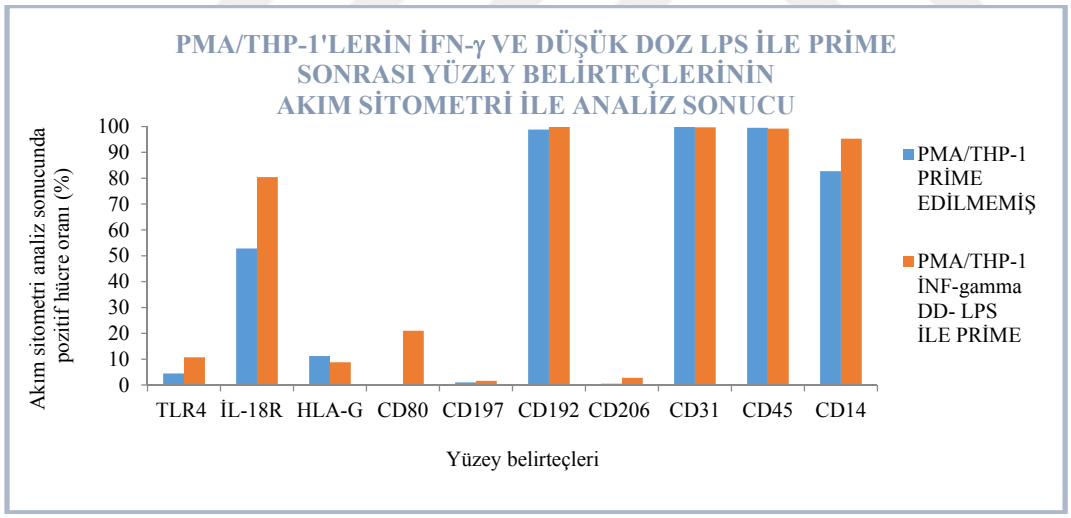
İFN–γ ve düşük doz LPS ile 24 saat prime edilen PMA/THP-1'lerin yüzey belirteçlerinin akım sitometri ile analiz sonuçlarının dot plot görüntüsünün yer aldığı Şekil 4.30'da, özet tablosunun yer aldığı Çizelge 4.9'da ve bar grafiğinin yer aldığı Şekil 4.31'de görüldüğü gibi İL-18R %80,4 (kontrole göre %27,6'lık bir artış), CD80%21 (kontrole göre %21'lik bir artış) CD192%99,8 (kontrole yaklaşık aynı değerde), CD31 (kontrole yaklaşık aynı değerde), CD45 (kontrole yaklaşık aynı değerde) ve CD14%95,3 (kontrolden %12,6 daha fazla) olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.30. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

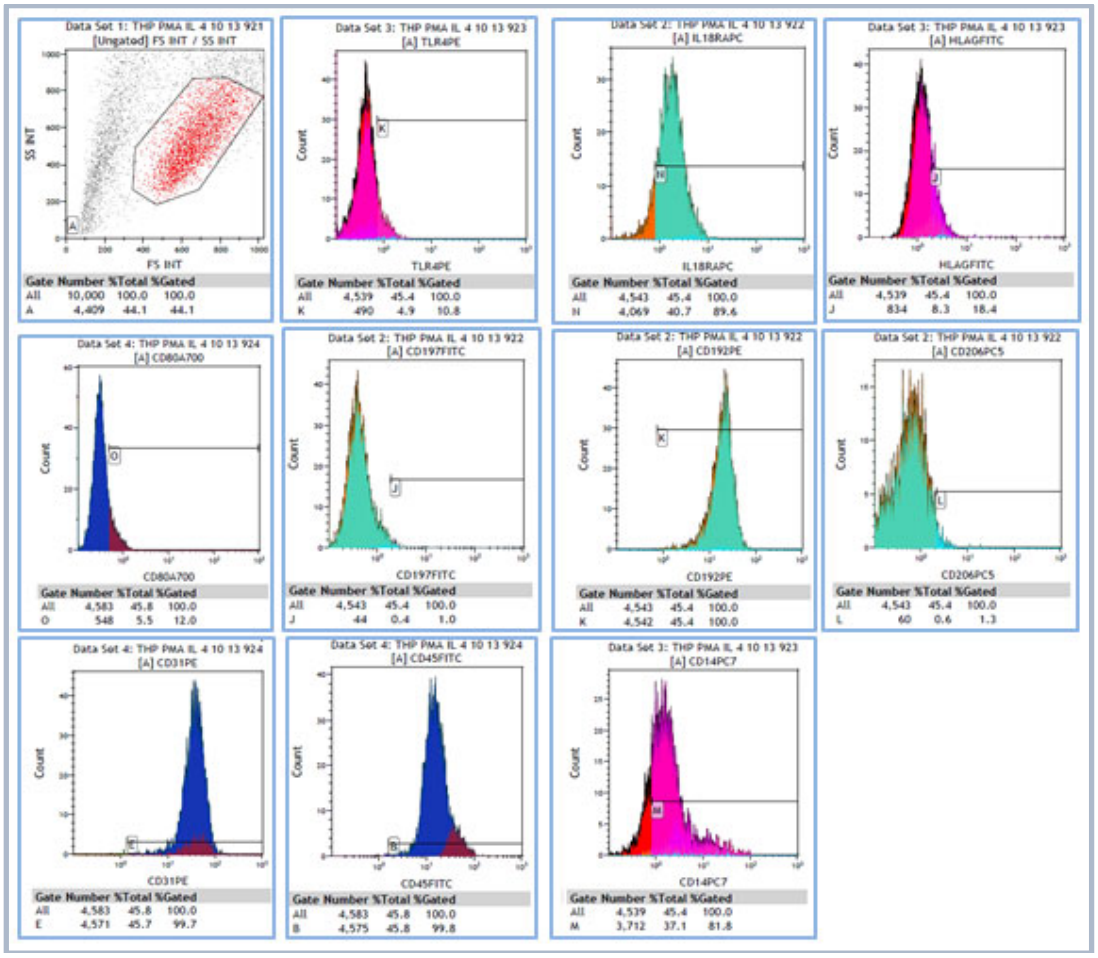
Çizelge 4.9. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime edilen PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	PMA/THP-1	
	PRİME EDİLMEMİŞ	İFN-□ ve DD-LPS İLE PRİME
TLR4	4,5	10,7
İL-18R	52,8	80,4
HLA-G	11,2	8,8
CD80	0	21
CD197	1	1,6
CD192	98,8	99,8
CD206	0,5	2,8
CD31	99,8	99,7
CD14	82,7	95,3
CD45	99,5	99,2



Şekil 4.31. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

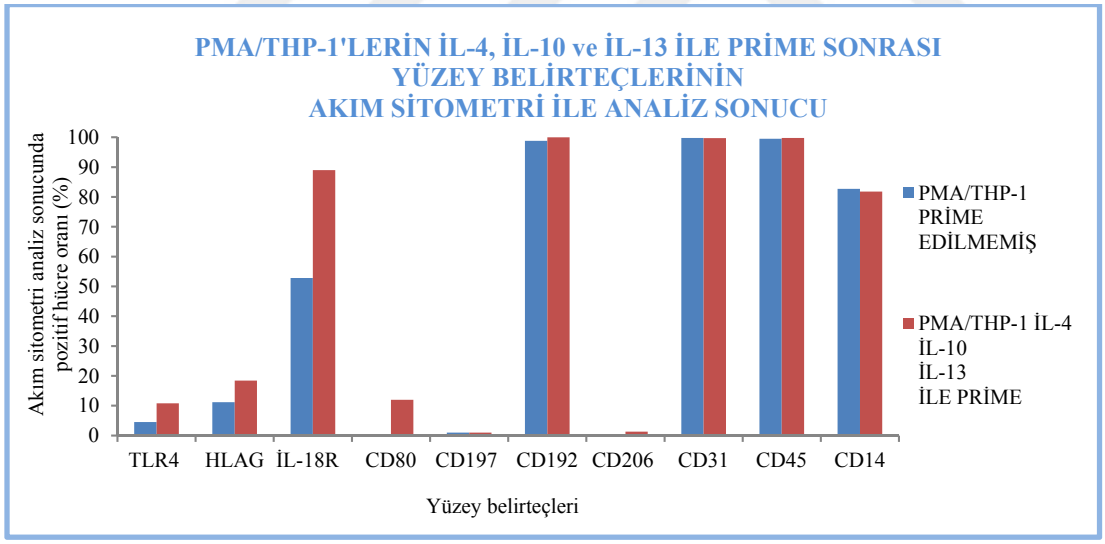
İL-4, İL-10 ve İL-13 ile 24 saat prime edilen PMA/THP-1'lerin yüzey belirteçlerinin akım sitometri ile analiz sonuçlarının dot plot görüntüsünün yer aldığı Şekil 4.32'de, özet tablosunun yer aldığı Çizelge 4.10'da ve bar grafiğinin yer aldığı Şekil 4.33'de görüldüğü gibi HLAG %18,4 (kontrole göre 7,2'lik azalış), İL-18R %89 (kontrole göre 36,2'lik bir artış), CD192 %100 (kontrolle yaklaşık aynı değerde), CD31 %99,7 (kontrolle yaklaşık aynı değerde), CD45 %99,8 (kontrolle yaklaşık aynı değerde) ve CD14 %81,8 (kontrolle yaklaşık aynı değerde) olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.32. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

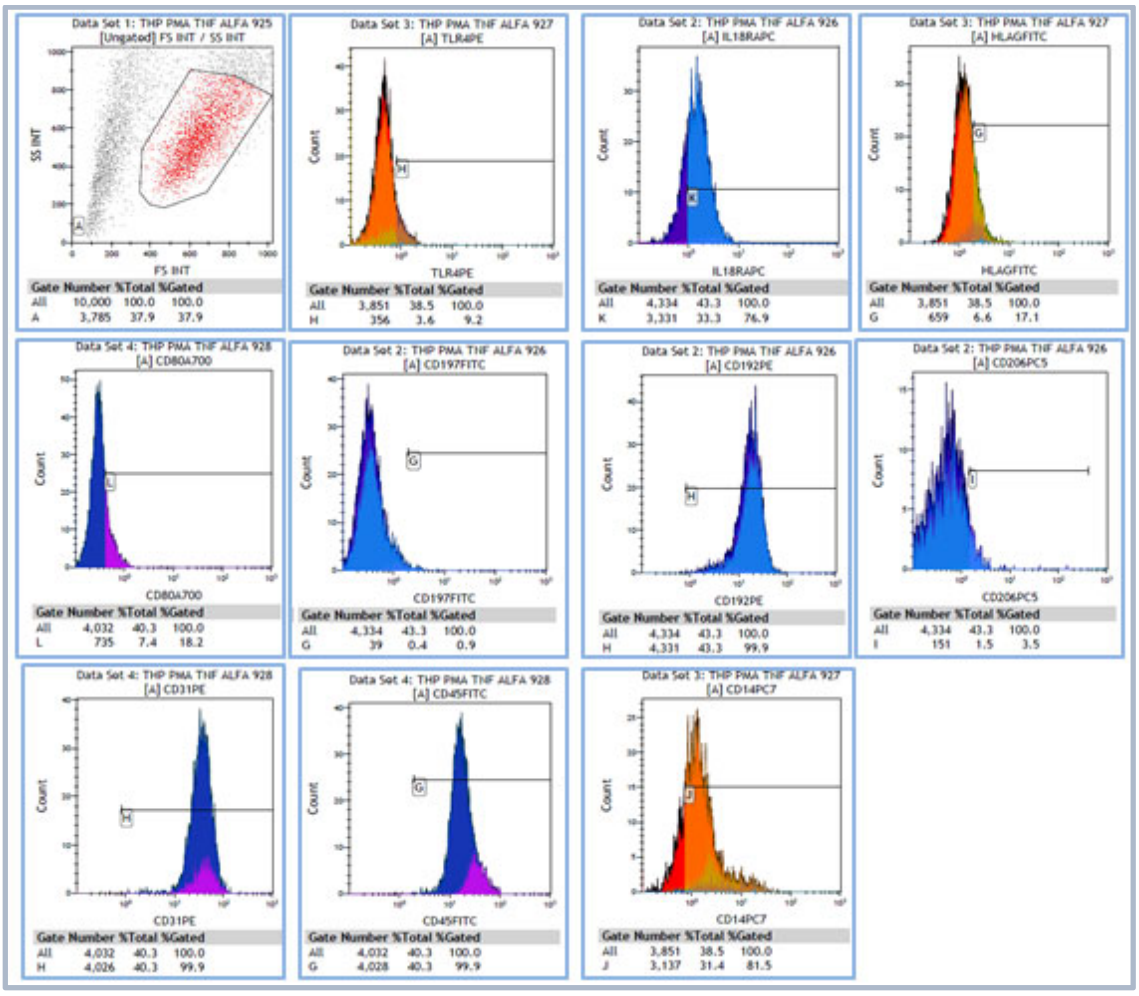
Çizelge 4.10. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının özet tablosu

	PMA/THP-1	
	PRİME EDİLMEMİŞ	İL-4, İL-10 ve İL-13 İLE PRİME
TLR4	4,5	10,8
İL-18R	52,8	89
HLAG	11,2	18,4
CD80	0	12
CD197	1	1
CD192	98,8	100
CD206	0,5	1,3
CD31	99,8	99,7
CD14	82,7	81,8
CD45	99,5	99,8



Şekil 4.33. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

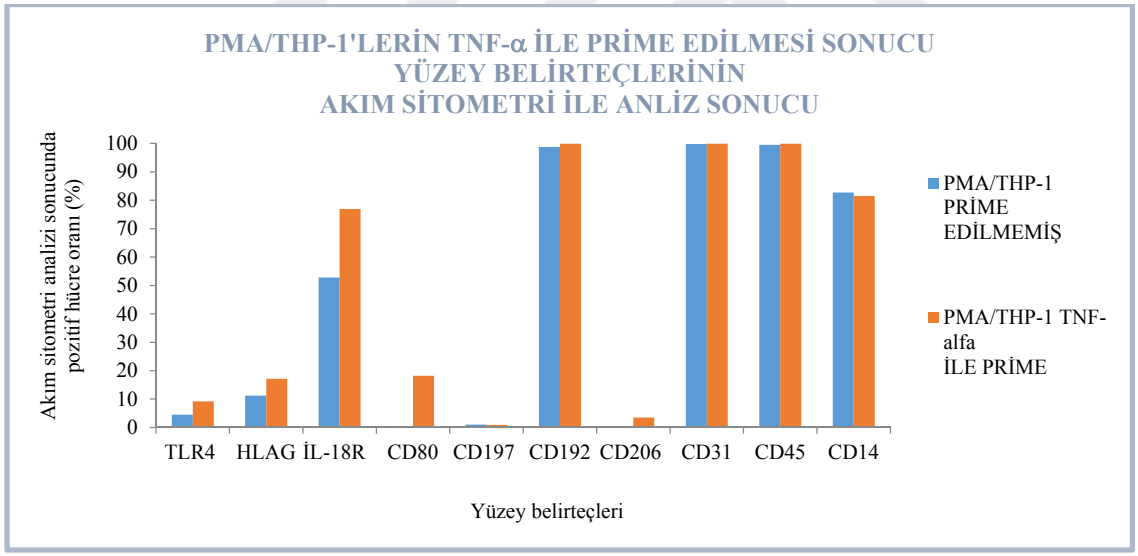
TNF-α ile 24 saat prime edilen PMA/THP-1'lerin yüzey belirteçlerinin akım sitometri ile analiz sonuçlarının dot plot görüntüsünün yer aldığı Şekil 4.34'de, özet tablosunun yer aldığı Çizelge 4.11'de ve bar grafiğinin yer aldığı Şekil 4.35'de görüldüğü gibi HLAG %17,1 (kontrole göre 5,9), İL-18R %76,9 (kontrole göre 24,1'lik bir artış), CD80 %18,2 (kontrole göre 18,2'lik bir artış), CD192 %99,9 (kontrolle yaklaşık aynı değerde), CD31 %99,9 (kontrolle yaklaşık aynı değerde), CD45 %99,9 (kontrolle yaklaşık aynı değerde) ve CD14 %81,5 (kontrolle yaklaşık aynı değerde) olduğu bulunmuştur. Diğer yüzey belirteçleri kontroldede TNF-α ile prime grupta da negatiftir.



Şekil 4.34. TNF-α ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

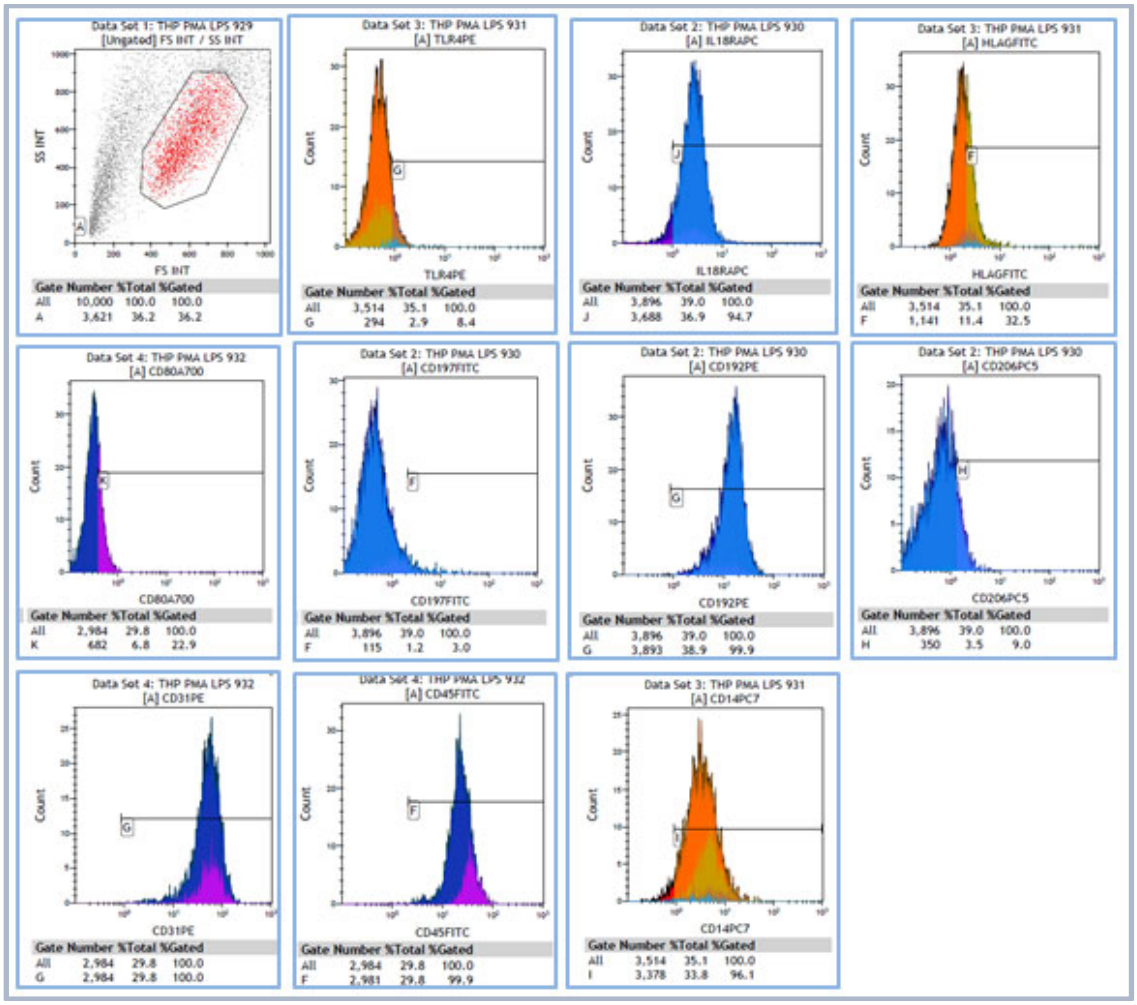
Çizelge 4.11. TNF-α ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	THP-1/PMA	
	PRİME EDİLMEMİŞ	TNF-α İLE PRİME
TLR4	4,5	9,2
HLAG	11,2	76,9
İL-18R	52,8	17,1
CD80	0	18,2
CD197	1	0,9
CD192	98,8	99,9
CD206	0,5	3,5
CD31	99,8	99,9
CD45	99,5	81,5
CD14	82,7	99,9



Şekil 4.35. TNF-α ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

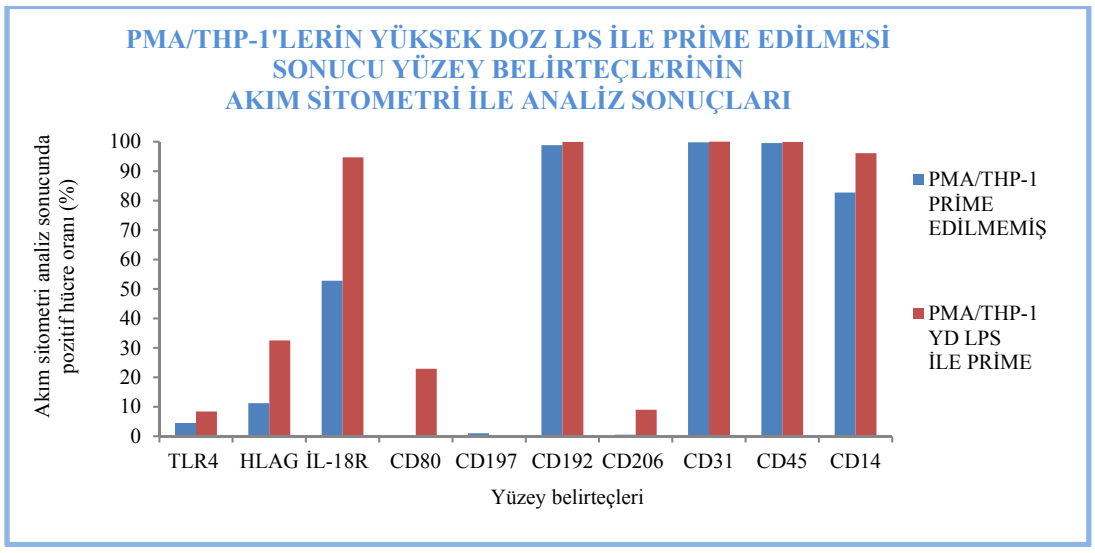
Yüksek doz LPS ile 24 saat prime edilen PMA/THP-1'lerin yüzey belirteçlerinin akım sitometri ile analiz sonuçlarının dot plot görüntüsünün yer aldığı Şekil 4.36'da, özet tablosunun yer aldığı Çizelge 4.12'de ve bar grafiğinin yer aldığı Şekil 4.37'de görüldüğü gibi HLAG %32,5 (kontrole göre 21,3), İL-18R %94,7 (kontrole göre 41,9'lik bir artış), CD80 %22,9 (kontrolle yaklaşık 22,9 artış), CD192 %99,9 (kontrolle yaklaşık aynı değerde), CD31 %100 (kontrolle yaklaşık aynı değerde), CD45 %99,9 (kontrolle yaklaşık aynı değerde) ve CD14 % 96,1 (kontrolle göre 13,4'lük artış) olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.36. Yüksek doz LPS ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

Çizelge 4.12. Yüksek doz LPS ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	PMA/THP-1/	
	PRİME EDİLMEMİŞ	YD LPS İLE PRİME
TLR4	4,5	8,4
İL-18R	52,8	94,7
HLAG	11,2	32,5
CD80	0	22,9
CD197	1	0,3
CD192	98,8	99,9
CD206	0,5	9
CD31	99,8	100
CD14	82,7	96,1
CD45	99,5	99,9

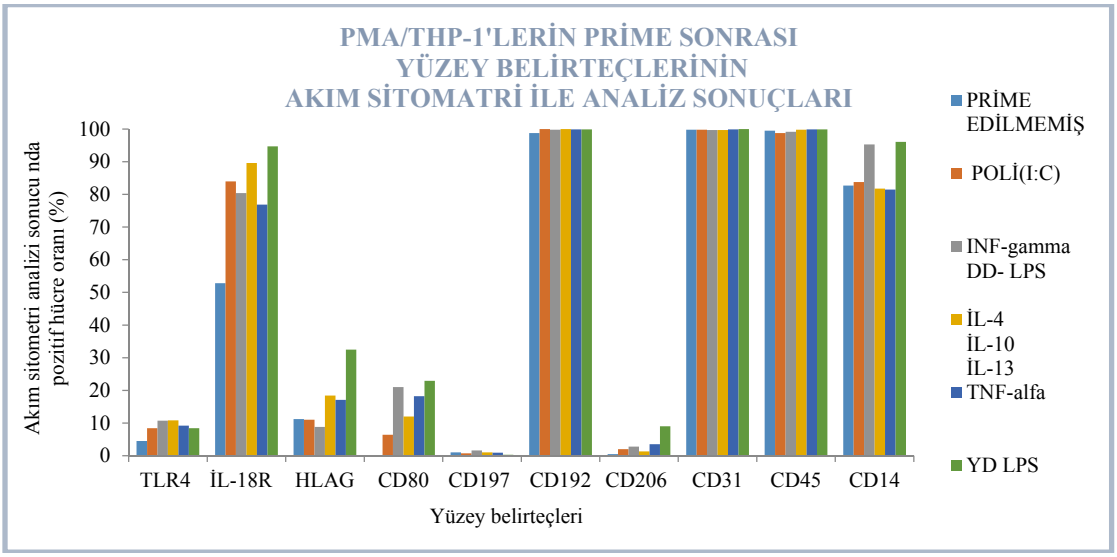


Şekil 4.37. Yüksek doz LPS ile prime edilen PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

Poli(I:C), İFN-γ/düşük doz LPS, İL-4/İL-10/İL-13, TNF-α ve yüksek doz LPS ile 24 saat prime edilen PMA/THP-1'lerin yüzey belirteçlerinin akım sitometri ile analiz sonuçlarının özet tablosunun yer aldığı Çizelge 4.13'de ve bar grafiğinin yer aldığı Şekil 4.38'de görüldüğü gibi kontrole göre ortalama %32,3'lük bir artışla en fazla yüksek doz LPS (%94,7) ve en az TNF-α (%76,9) olmak üzere hem M1 hem de M2 plastisite koşullarında İL-18R ekspresyonu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.13. PMA/THP-1'lerin beş farklı kondisyonda 24 saatlik prime edilmesi sonucunda yüzey molekül ekspresyonun akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

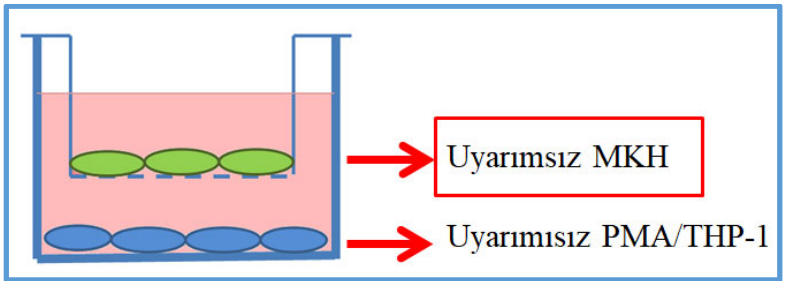
	PMA/THP-1 PRİME EDİLMEMİŞ	PMA/THP-1 PRİME SONRASI				
		POLİ(I:C)	İFN-□ DD-LPS	İL-4 İL-10 İL-13	TNF-α	YD-LPS
TLR4	4,5	8,4	10,7	10,8	9,2	8,4
İL-18R	52,8	84	80,4	89,6	76,9	94,7
HLAG	11,2	11	8,8	18,4	17,1	32,5
CD80	0	6,4	21	12	18,2	22,9
CD197	1	0,7	1,6	1	0,9	0,3
CD192	98,8	100	99,8	100	99,9	99,9
CD206	0,5	2	2,8	1,3	3,5	9
CD31	99,8	99,8	99,7	99,7	99,9	100
CD14	82,7	83,8	95,3	81,8	81,5	96,1
CD45	99,5	98,8	99,2	99,8	99,9	99,9



Şekil 4.38. PMA/THP-1'lerin beş farklı kondisyonda prime edilmesi sonucunda yüzey molekül ekspresyonun akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

4.7. Prime PMA/THP-1 ve Prime MKH'ların Transvel Ko-kültürü Sonrası İmmün Fenotipik Olarak Değerlendirilme Sonuçları

4.7.1. Prime PMA/THP-1 ve prime MKH'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubu olan her iki hücre grubunun da uyarımsız olduğu örnekte insertteki MKH'ların analiz sonuçları



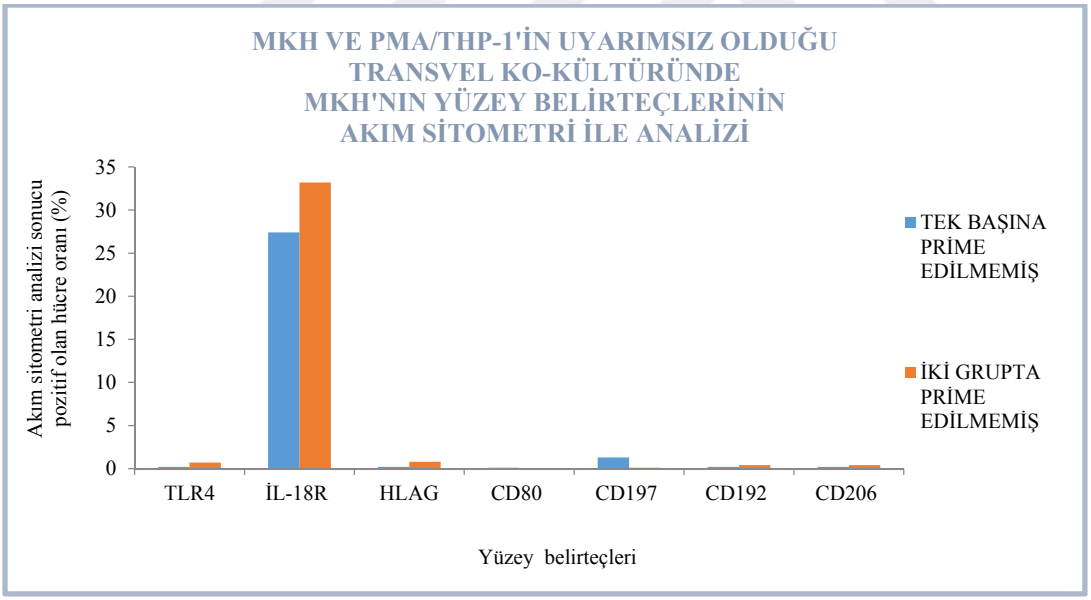
Resim 4.16. Her iki hücre grubunun da uyarımsız olduğu transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin gösterimi

Resim 4.16'da şematize edildiği gibi iki hücre grubunun da prime edildiği transvel ko-kültür grubunun kontrol grubu olarak tasarlanan uyarımsız PMA/THP-1 ve uyarımsız MKH'ların transvel kültürü sonrası problem yaşandığı için diğer deneyin kontrol değerleri esas alınarak karşılaştırma yapıldı. Daha önceki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi uyarımsız MKH'ların ve ko-kültür grubunun kontrol olan uyarımsız PMA/THP-1 ve uyarımsız MKH'lerin transvel kültürü sonrası insertteki uyarımsız MKH'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.14'de ve bar grafiği Şekil 4.39'da verilmiştir.

Yüzey belirteçlerinin ekspresyonu incelendiğinde İL-18R'nın transvel ko-kültüründe (%33,2) tek başına olduğu gruba göre (%27,4) daha fazla eksprese edildiği, diğer yüzey belirteçlerinin her iki grupta da negatif olduğu bulunmuştur.

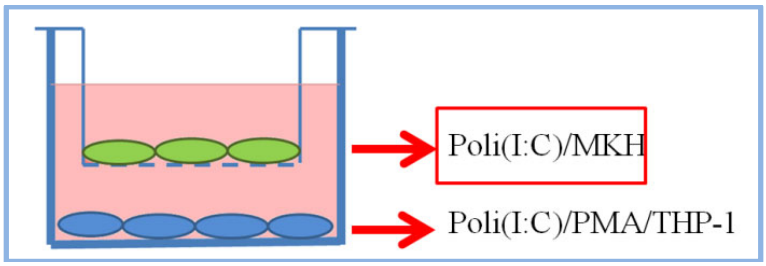
Çizelge 4.14. Her iki grubunda uyarımsız olduğu transvel ko-kültürü grubunda MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu

	MKH	
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ
TLR4	0,2	0,7
IL-18R	27,4	33,2
HLAG	0,2	0,8
CD80	0,1	0
CD86	(-)	0,2
CD197	1,3	0,1
CD192	0,2	0,4
CD206	0,2	0,4



Şekil 4.39. Her iki grubunda uyarımsız olduğu transvel ko-kültürü grubunda MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun bar grafiği

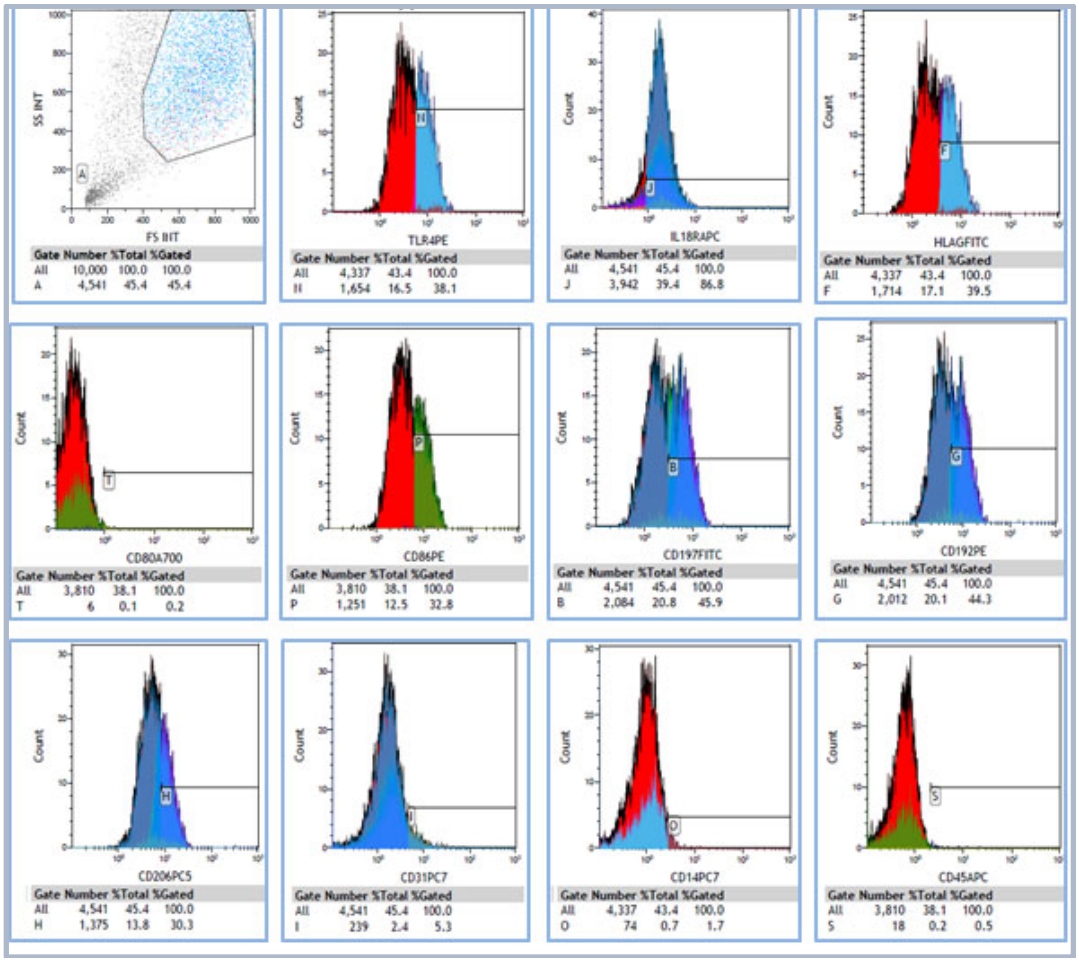
4.7.2. Poli(I:C) ile prime MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların analiz sonuçları



Resim 4.17. Poli(I:C) ile her iki grubun prime olduğu transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.17'de şematize edildiği gibi iki hücre grubunun da prime edildiği transvel ko-kültür grubunun poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 ve poli(I:C) ile prime MKH'ların transvel ko-kültürü sonrası, insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.40'da, daha önceki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi poli(I:C) prime MKH'ların ve transvel kültürü sonrası insertteki MKH'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.15'de ve bar grafiğinde Şekil 4.41'de verilmiştir.

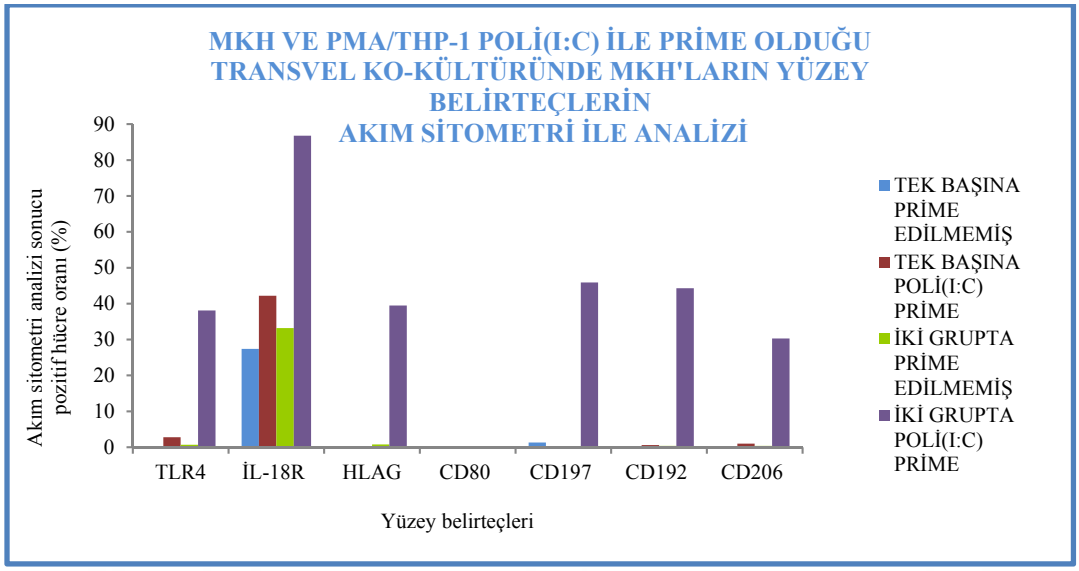
Yüzey belirteçlerinin ekspresyonu incelendiğinde, TLR4'ün prime transvel ko-kültüründe pozitif olduğu (%38,1) diğer gruplarda negatif olduğu, İL-18R'in bütün gruplarda eksprese edilmekle birlikte prime transvel ko-kültürü grubunda belirgin şekilde arttığı (%86,8), HLAG'nin prime transvel ko-kültüründe ekspresyonun arttığı (%39,5) diğer gruplarda negatif olduğu, CD80'nin tüm gruplarda negatif olduğu, CD86 sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi ve prime transvel ko-kültürü grubunda pozitif olduğu (32,8), CD197'nin prime transvel ko-kültüründe pozitif olduğu (%45,9) diğer gruplarda negatif olduğu, CD192'nin prime transvel ko-kültüründe ekspresyonun arttığı (%44,3) diğer gruplarda negatif olduğu, CD206'nın prime transvel ko-kültüründe ekspresyonun arttığı (%30,3) diğer gruplarda negatif olduğu bulunmuştur.



Şekil 4. 40. Poli(I:C) ile her iki grubun prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonuçlarının histogram görüntüsü

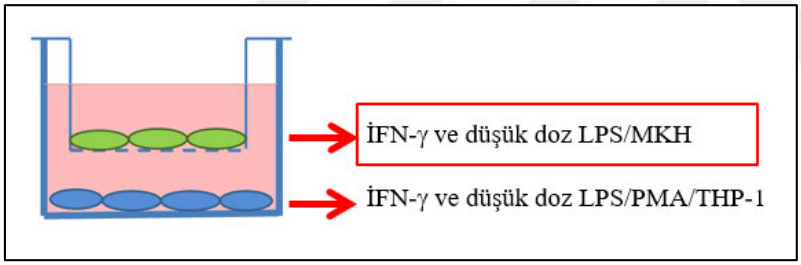
Çizelge 4.15. Poli(I:C) ile her iki grubun prime edildiği transvel ko-kültürü sonrasında MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu

	MKH			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA POLİ(I:C) PRİME	İKİ GRUPTA UYARIMSIZ	İKİ GRUPTA POLİ(I:C) PRİME
TLR4	0,2	2,8	0,7	38,1
İL-18R	27,4	42,2	33,2	86,8
HLAG	0,2	0,2	0,8	39,5
CD80	0,1	0,1	0	0,2
CD86	(-)	(-)	0,2	32,8
CD197	1,3	0,3	0,1	45,9
CD192	0,2	0,6	0,4	44,3
CD206	0,2	1	0,4	30,3



Şekil 4.41. Poli(I:C) ile her iki grubun prime edildiği transvel ko-kültürü grubunda MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun bar grafiği

4.7.3. İFN-gamma ve düşük doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların analiz sonuçları

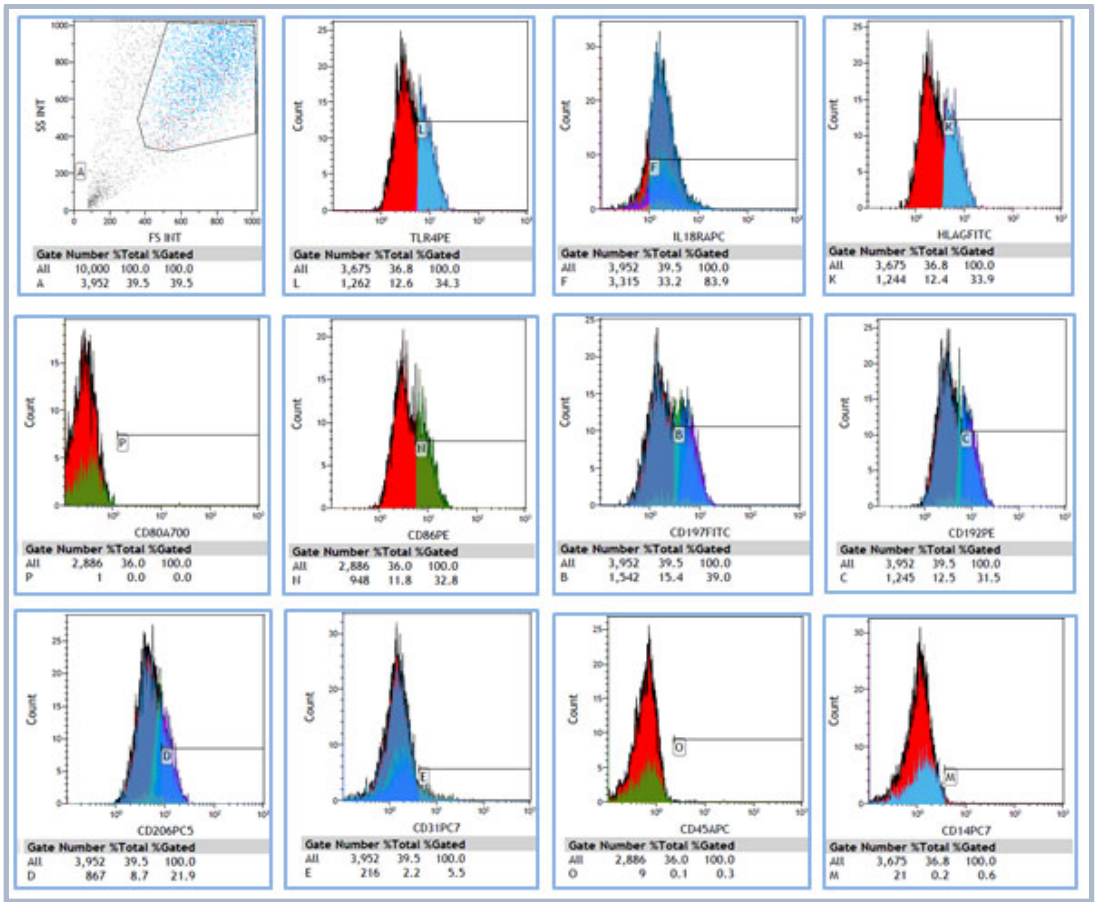


Resim 4.18. MKH ve PMA/THP-1'in İFN-γ ve düşük doz LPS prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.18'de şematize edildiği gibi iki hücre grubunun da prime edildiği transvel ko-kültür grubunun İFN–γ ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 ve İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH'ların transvel ko-kültürü sonrası, insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.42'de, daha önceki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH'ların ve transvel kültürü sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.16'da ve bar grafiğinde Şekil 4.43'de verilmiştir.

Yüzey belirteçlerinin ekspresyon seviyesi incelendiğinde TLR4'ün sadece prime transvel ko-kültürü sonrasında pozitif olduğu (%34,3),İL-18R'nün bütün gruplarda eksprese

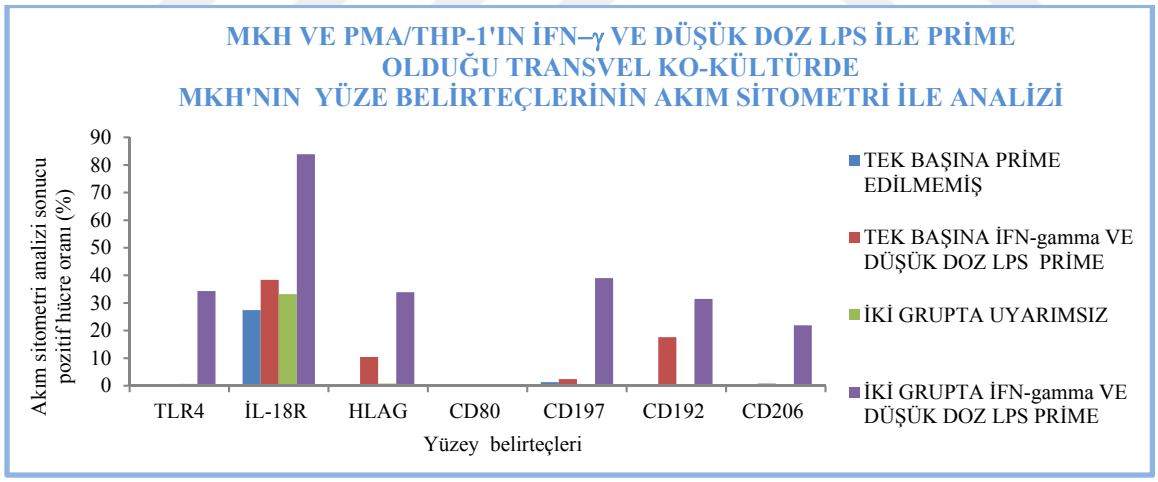
edilmekle birlikte en yüksek ekspresyonun prime transvel ko-kültür grubunda olduğu (%83,9), İFN-γ ile prime edildiğinde HLAG'nin transvel ko-kültüründe daha fazla olmak üzere (%33,9) pozitifleştiği, prime edilmeyen gruplarda negatif olduğu, CD80'nin bütün gruplarda negatif olduğu, CD86 sadece transvel ko-kültür grubunda analiz edilebildi ve uyarımsız grupta negatif iken ve prime grupta %32,8 olduğu, CD197'nin prime transvel ko-kültürü sonrasında pozitif olduğu (%39), İFN-γ ile prime edildiğinde CD192'in eksprese edildiği, prime transvel grupta (%31,5) tek başına prime gruba (%17,6) göre daha yüksek olduğu, CD206'nın sadece prime transvel ko-kültürü sonrasında pozitif olduğu (%21,9) bulunmuştur.



Şekil 4.42. MKH ve PMA/THP-1'in İFN-γ ve düşük doz LPS prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonuçlarının histogram görüntüsü

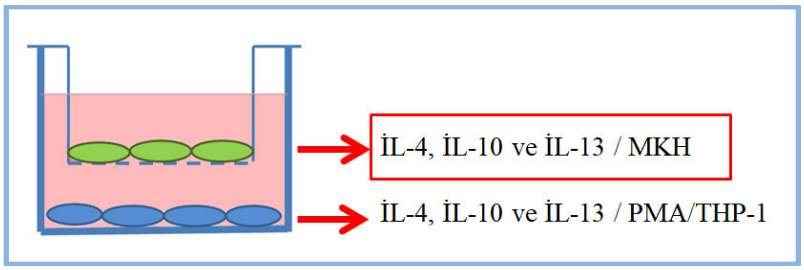
Çizelge 4.16. MKH ve PMA/THP-1'in İFN-γ ve düşük doz LPS prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu

	MKH			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA İFN-γ VE DÜŞÜK DOZ LPS PRİME	İKİ GRUPTA UYARIMSIZ	İKİ GRUPTA İFN-γ VE DÜŞÜK DOZ LPS
TLR4	0,2	0,4	0,7	34,3
İL-18R	27,4	38,4	33,2	83,9
HLAG	0,2	10,4	0,8	33,9
CD80	0,1	0,1	0	0
CD86	(-)	(-)	0,2	32,8
CD197	1,3	2,4	0,1	39
CD192	0,2	17,6	0,4	31,5
CD206	0,2	0,8	0,4	21,9



Şekil 4.43. MKH ve PMA/THP-1'in İFN–γ ve düşük doz LPS prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun bar grafiği

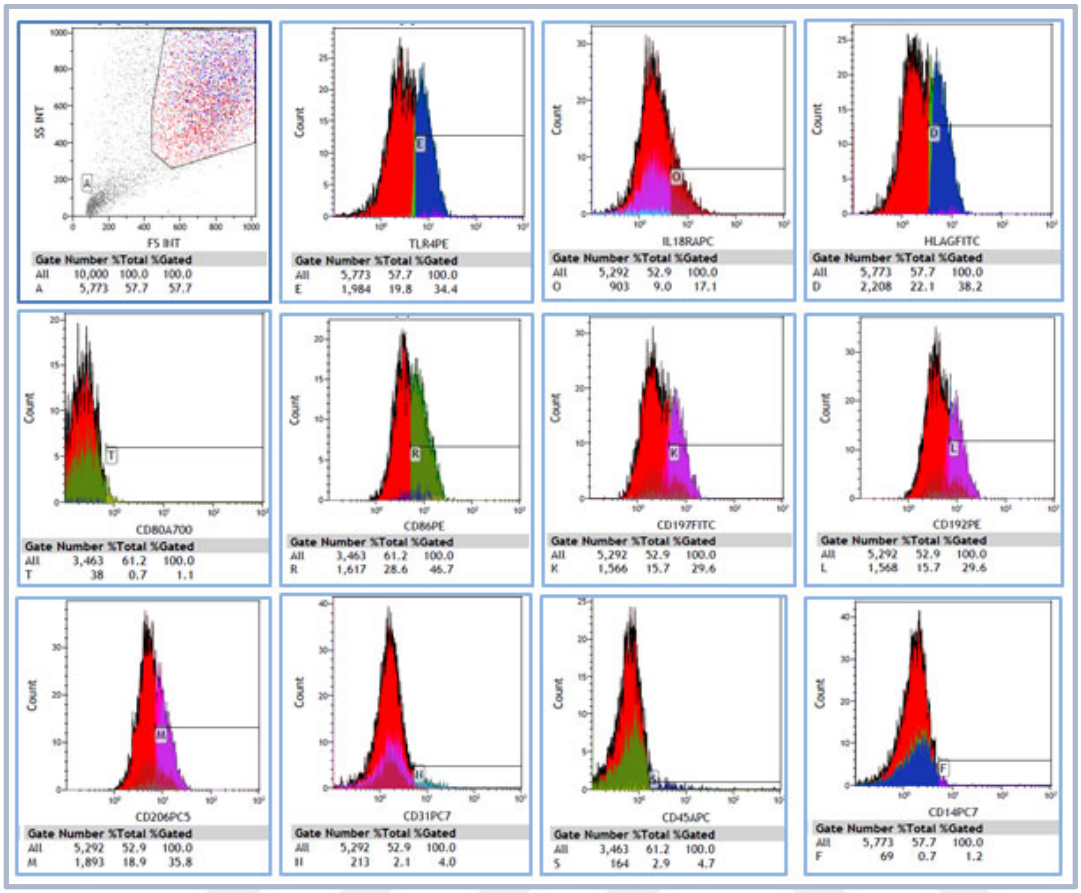
4.7.4. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların analiz sonuçları



Resim 4.19. MKH ve PMA/THP-1'lerin İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.19'da şematize edildiği gibi iki hücre grubunun da prime edildiği transvel ko-kültür grubunun İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 ve İL-4, İL-10 ve İL-13 prime MKH'ların transvel ko-kültürü sonrası, insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.44'de, daha önceki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi İL-4, İL-10 ve İL-13 MKH'ların ve transvel kültürü sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.17'de ve bar grafiğinde Şekil 4.45'da verilmiştir.

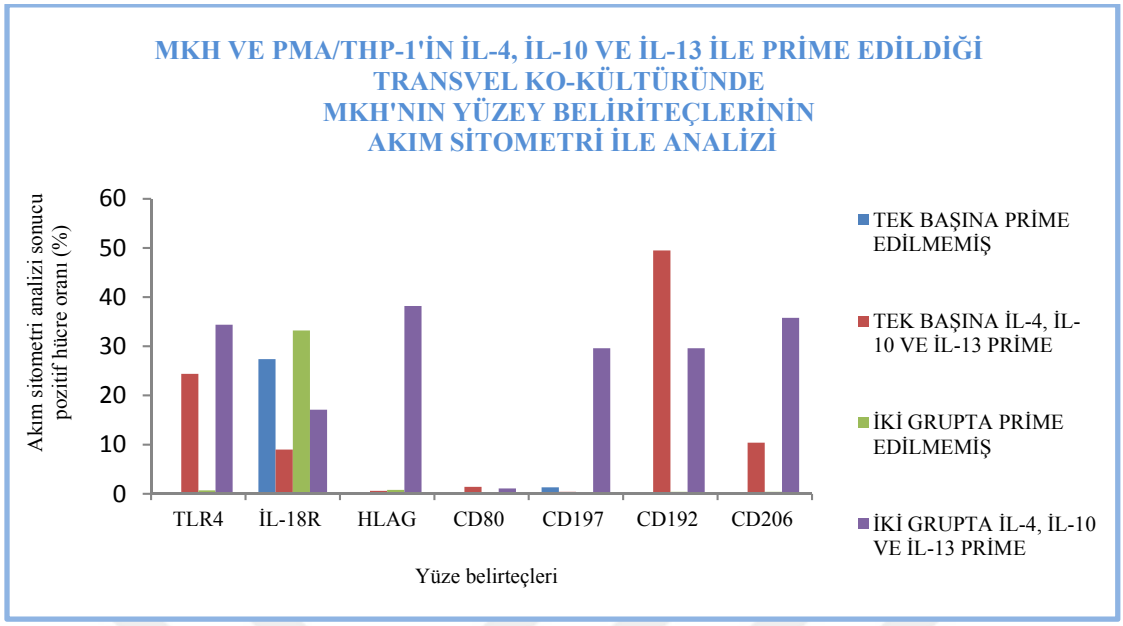
Yüzey belirteçlerinin akım sitometri ile analiz sonuçları incelendiğinde İL-4+İL-10+İL-13 ile prime edilmenin TLR4'ün ekspresyonuna neden olduğu, prime transvel ko-kültür grubunda (%34,4) tek başına prime gruba göre (%24,4) daha fazla eksprese edildiği, İL-4+İL-10+İL-13 ile prime edilmenin İL-18R eksprese eden hücrelerin oranında azalmaya neden olduğu, Tek başına prime edilmemiş grupta %27.4 iken tek başına prime grupta %9 düştüğü, uyarımsız transvel ko-kültür grubunda %32,2 iken prime transvel ko-kültür grubunda %17,1 düştüğü, HLAG'nin yanlızca prime transvel ko-kültür grubunda pozitif olduğu (%38,2), CD80'nin bütün gruplarda negatif olduğu, CD86'nın sadece transvel ko-kültür grubunda analiz edildiği, ve prime grupta pozitif olduğu (%46,7), CD197'nin sadece prime transvel ko-kültür grubunda pozitif olduğu, İL-4+İL-10+İL-13 ile prime edilmenin CD192 ekspresyonuna neden olduğu, tek başına prime grupta (%49,5) prime transvel ko-kültür grubuna göre (%29,6) göre daha yüksek oranda pozitif bulunduğu, İL-4+İL-10+İL-13 ile prime edilmenin CD206 ekspresyonuna neden olduğu, prime transvel grubunda (%35,8) tek başına prime gruba göre (%10,4) daha oranda yüksek olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.44. MKH ve PMA/THP-1'lerin İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun sonuçlarının histogram görüntüsü

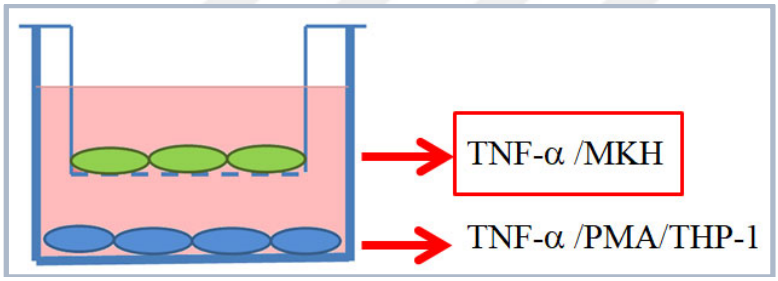
Çizelge 4.17. MKH ve PMA/THP-1'lerin İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu

	MKH			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA İL-4, İL-10 VE İL-13 PRİME	İKİ GRUPTA UYARIMSIZ	İKİ GRUPTA İL-4, İL-10 VE İL-13 PRİME
TLR4	0,2	24,4	0,7	34,4
İL-18R	27,4	9	33,2	17,1
HLAG	0,2	0,6	0,8	38,2
CD80	0,1	1,4	0	1,1
CD86	(-)	(-)	0,2	46,7
CD197	1,3	0,4	0,1	29,6
CD192	0,2	49,5	0,4	29,6
CD206	0,2	10,4	0,4	35,8



Şekil 4.45. MKH ve PMA/THP-1'lerin İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun bar grafiği

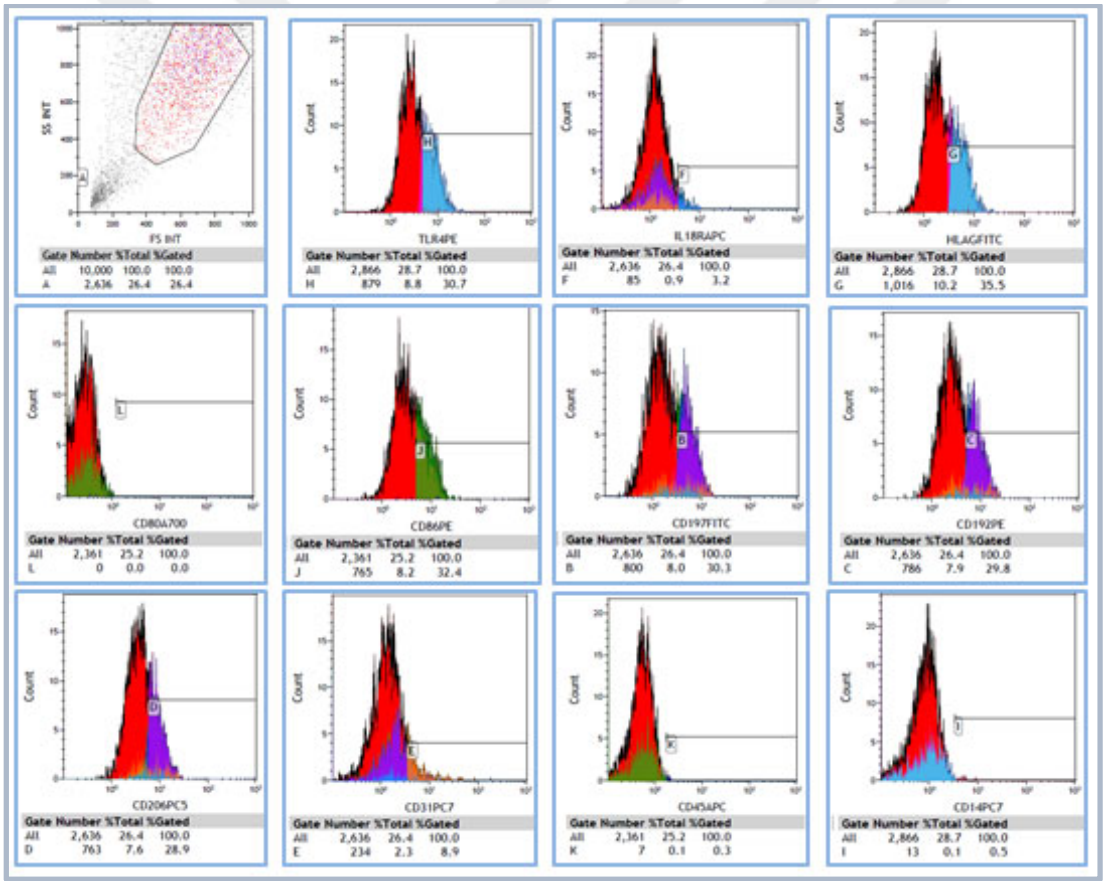
4.7.5. TNF-alfa ile prime MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların analiz sonuçları



Resim 4.20. MKH ve PMA/THP-1'lerin TNF-α ile prime edildiği olduğu transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.20'de şematize edildiği gibi iki hücre grubunun da prime edildiği transvel ko-kültür grubunun TNF-α ile prime PMA/THP-1 ve TNF-α ile prime MKH'ların transvel ko-kültürü sonrası, insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.46'da, daha önce ki bölümde dot plot görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi TNF-α ile prime MKH'ların ve transvel ko-kültürü sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.18'de ve bar grafiği Şekil 4.47'de gösterilmiştir.

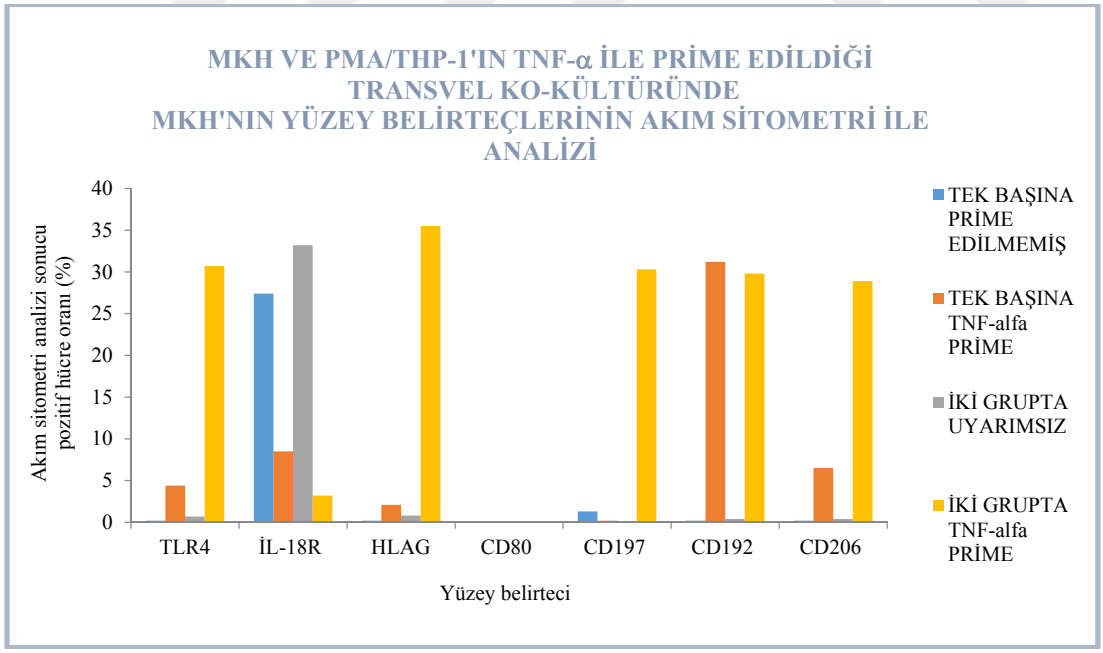
Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde TLR4'ün sadece prime transvel ko-kültür grubunda pozitif olduğu (%30,7), TNF-α ile prime gruplarda İL-18R negatifleştiği, uyarımsız transvel ko-kültür grubunda (%33,2) tek başına uyarımsız gruba göre (%27,4) daha fazla pozitif hücre bulunduğu, HLAG'nin sadece prime transvel ko-kültür grubunda pozitif olduğu (%35,5), CD80'nin bütün gruplarda negatif olduğu, CD86 sadece transvel ko-kültür grubunda analiz edildi ve prime transvel ko-kültür grubunda (%32,4) pozitif olduğu, CD197'nin sadece prime transvel ko-kültür grubunda pozitif olduğu (%30,3), TNF-α ile prime gruplarda CD192 pozitifleştiği, tek başına prime grupta (%31,2) ve prime transvel grubunda (%29,8) yaklaşık aynı oranda eksprese edildiği, CD206'nın sadece prime transvel ko-kültür grubunda pozitif olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.46. MKH ve PMA/THP-1'lerin TNF-□ ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonuçlarının histogram görüntüsü

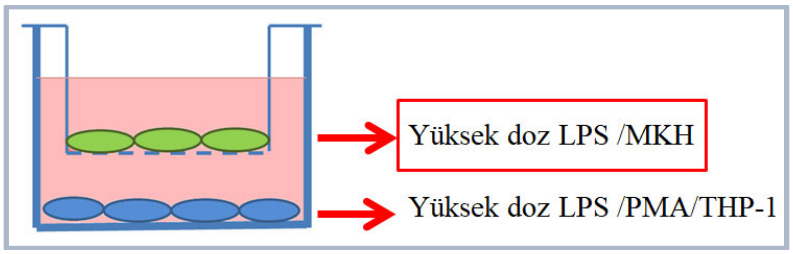
Çizelge 4.18. MKH ve PMA/THP-1'lerin TNF-α ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonuçlarının tablosu

	MKH			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA TNF-α PRİME	İKİ GRUPTA UYARIMSIZ	İKİ GRUPTA TNF-α PRİME
TLR4	0,2	4,4	0,7	30,7
IL-18R	27,4	8,5	33,2	3,2
HLAG	0,2	2,1	0,8	35,5
CD80	0,1	0,1	0	0
CD86	(-)	(-)	0,2	32,4
CD197	1,3	0,2	0,1	30,3
CD192	0,2	31,2	0,4	29,8
CD206	0,2	6,5	0,4	28,9



Şekil 4.47. MKH ve PMA/THP-1'lerin TNF-α ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun bar grafiği

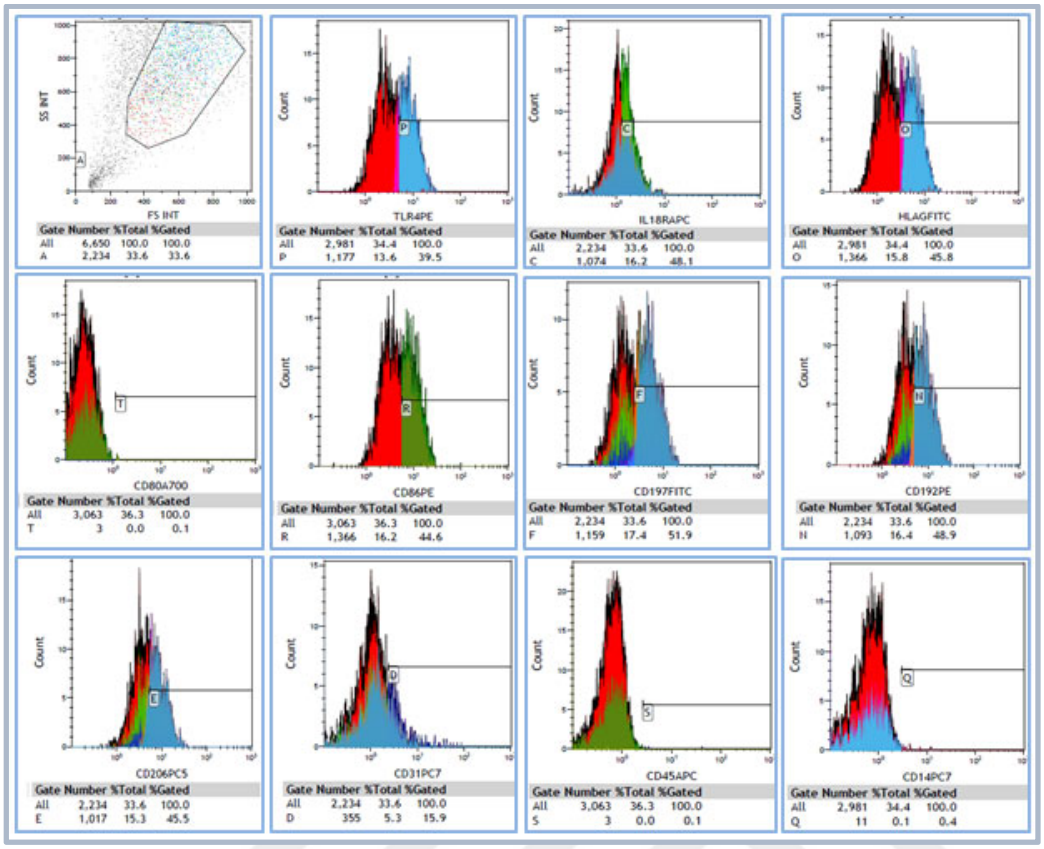
4.7.6. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların analiz sonuçları



Resim 4.21. MKH ve PMA/THP-1'lerin yüksek doz LPS ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.21'de şematize edildiği gibi iki hücre grubunun da prime edildiği transvel ko-kültür grubunun yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 ve yüksek doz LPS ile prime MKH'ların transvel ko-kültürü sonrası, insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.48'de, daha önceki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi yüksek doz LPS ile prime MKH'ların ve transvel ko-kültürü sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.19'da ve bar grafiğinde Şekil 4.49'da verilmiştir.

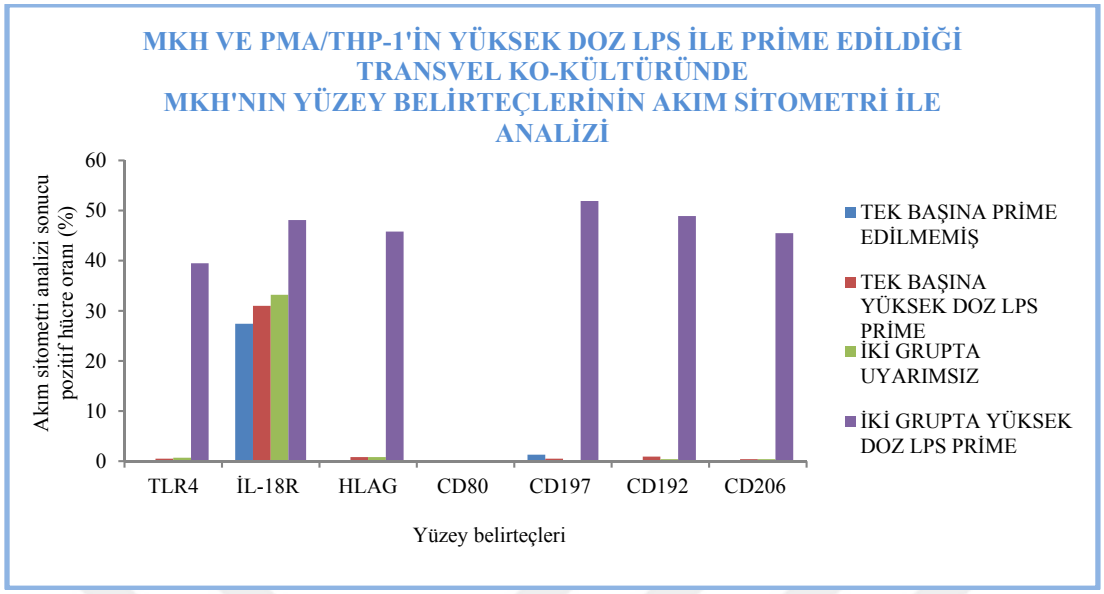
Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde, TLR4'ün sadece prime grubunda pozitif olduğu, İL-18R'ün bütün gruplarda pozitif olmakla birlikte prime transvel ko-kültür grubunda pozitif hücre oranının en fazla olduğu, CD80'nin bütün gruplarda negatif olduğu, HLAG'nin (%45,8), CD197(%1,9), CD192 (%48,9), CD206 (%45,5) oranında sadece prime transvel ko-kültür grubunda pozitif olduğu, CD86'nın sadece transvel ko-kültür grubunda analiz edildiği ve prime transvel grubunda pozitif olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.48. MKH ve PMA/THP-1'lerin yüksek doz LPS ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonuçlarının histogram görüntüsü

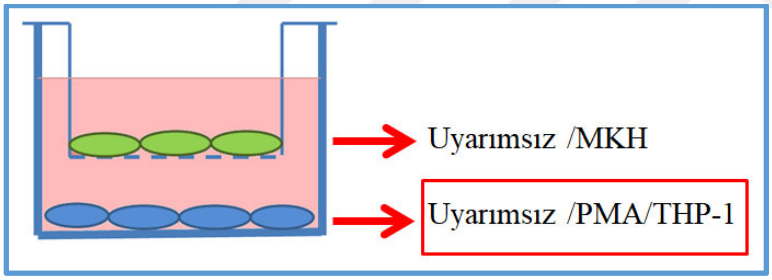
Çizelge 4.19. MKH ve PMA/THP-1'lerin yüksek doz LPS ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu

	MKH			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA YÜKSEK DOZ LPS PRİME	İKİ GRUPTA UYARIMSIZ	İKİ GRUPTA YÜKSEK DOZ LPS PRİME
TLR4	0,2	0,5	0,7	39,5
İL-18R	27,4	31	33,2	48,1
HLAG	0,2	0,8	0,8	45,8
CD80	0,1	0,1	0	0,1
CD86	(-)	(-)	0,2	44,6
CD197	1,3	0,5	0,1	51,9
CD192	0,2	0,9	0,4	48,9
CD206	0,2	0,4	0,4	45,5



Şekil 4.49. MKH ve PMA/THP-1'lerin yüksek doz LPS ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun bar grafiği

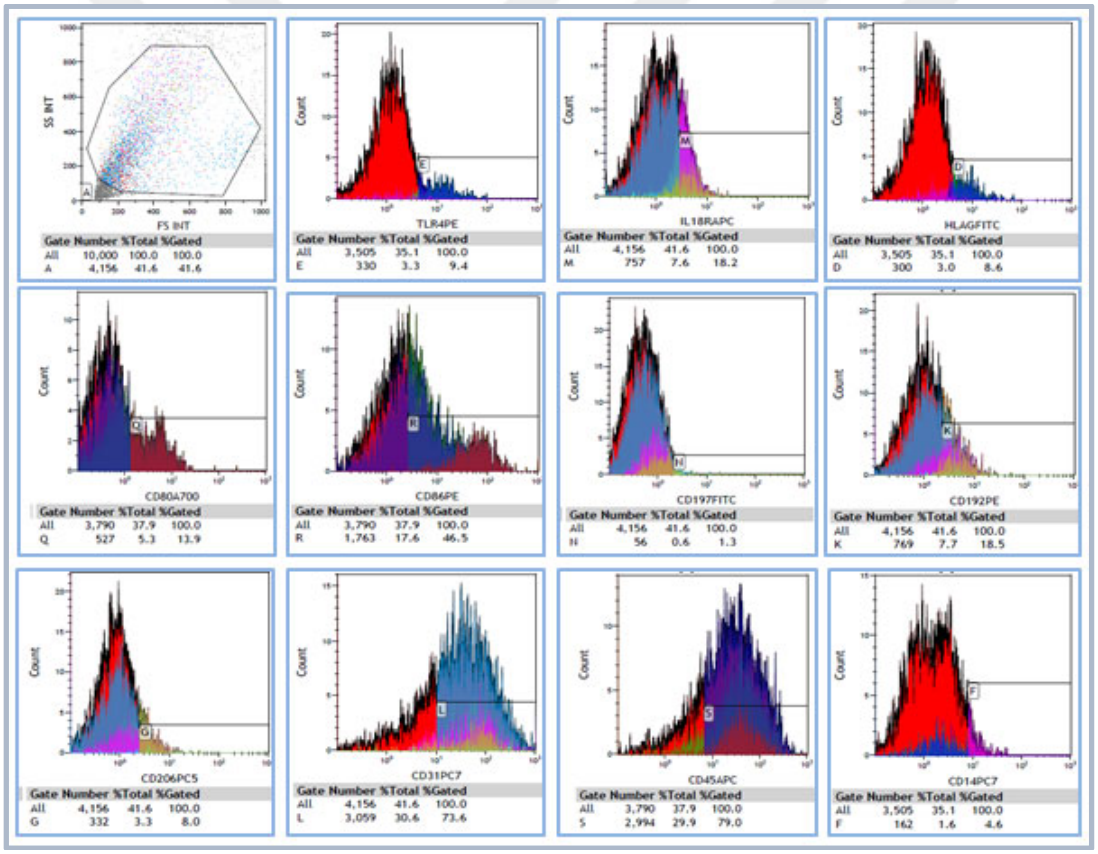
4.7.7. Prime PMA/THP-1 ve prime MKH'ların transvel ko-kültürünün kontrol grubundaki PMA/THP-1'lerin analiz sonuçları



Resim 4.22. PMA/THP-1 ve MKH'nın uyarımsız olduğu transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.22'de şematize edildiği gibi iki hücre grubunun da prime edildiği transvel ko-kültür grubunun kontrolü olarak yapılan uyarımsız PMA/THP-1 ve uyarımsız MKH'ların ko-transvel kültürü sonrası, tabanındaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.50'de, daha önce ki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi uyarımsız PMA/THP-1'lerin ve ko-kültür grubunun kontrol olan uyarımsız PMA/THP-1 ve uyarımsız MKH'lerin transvel kültürü sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.20'de ve bar grafiği Şekil 4.51'de verilmiştir.Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde TLR4'ün transvel ko-kültürü öncesi ve sonrası eksprese edilmediği, İL-

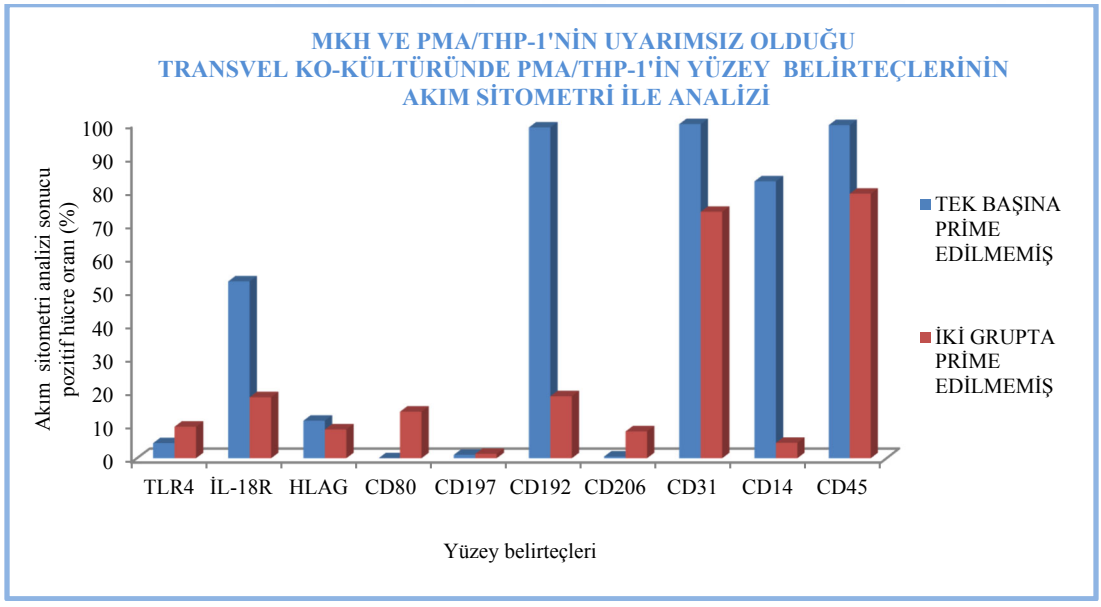
18R'nün tek başına %52 düzeyindeyken transvel ko-kültürü sonrası %18,2 seviyesine düştüğü, HLAG'nin yalnızca tek başınayken çok düşük düzeyde eksprese edildiği (%11,2), CD80'nin sadece transvel ko-kültürü sonrası düşük düzeyde eksprese edildiği, CD197'nin tek başına ve transvel ko-kültürü sonrası eksprese edilmediği, CD192'nin tek başına yüksek düzeyde eksprese edilirken (%98,8) transvel ko-kültürü sonrası belirgin düzeyde azaldığı (%18,5), CD206'nın tek başına ve transvel ko-kültürü sonrasında eksprese edilmediği, CD31'in tek başına iken yüksek oranda eksprese edildiği (%99,8) transvel ko-kültürü sonrası %73,6 oranında olduğu, CD14'ün tek başına olduğunda yüksek düzeyde eksprese edildiği (%82,7) transvel sonrası grupta ise negatifleştiği ve CD45'in tek başına %99,5ve transvel ko-kültürü sonrası %79 oranında olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.50. Kontrol grubu olan PMA/THP-1 ve MKH'nın uyarımsız olduğu transvel ko-kültürü sonrası, PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonuçlarının histogram görüntüsü

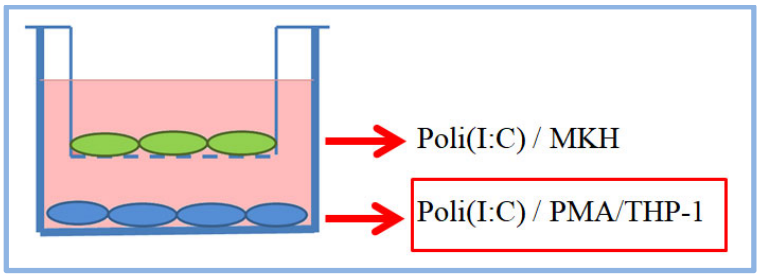
Çizelge 4.20. Kontrol grubu olan PMA/THP-1 ve MKH'nın uyarımsız olduğu transvel ko-kültürü sonrası, PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu

	PMA/THP-1	
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ
TLR4	4,5	9,4
İL-18R	52,8	18,2
HLAG	11,2	8,6
CD80	0	13,9
CD197	1	1,3
CD192	98,8	18,5
CD206	0,5	8
CD31	99,8	73,6
CD14	82,7	4,6
CD45	99,5	79



Şekil 4.51. Kontrol grubu olan PMA/THP-1 ve MKH'nın uyarımsız olduğu transvel ko-kültürü sonrası, PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun bar grafiği

4.7.8. Poli(I:C) ile prime MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin analiz sonuçları

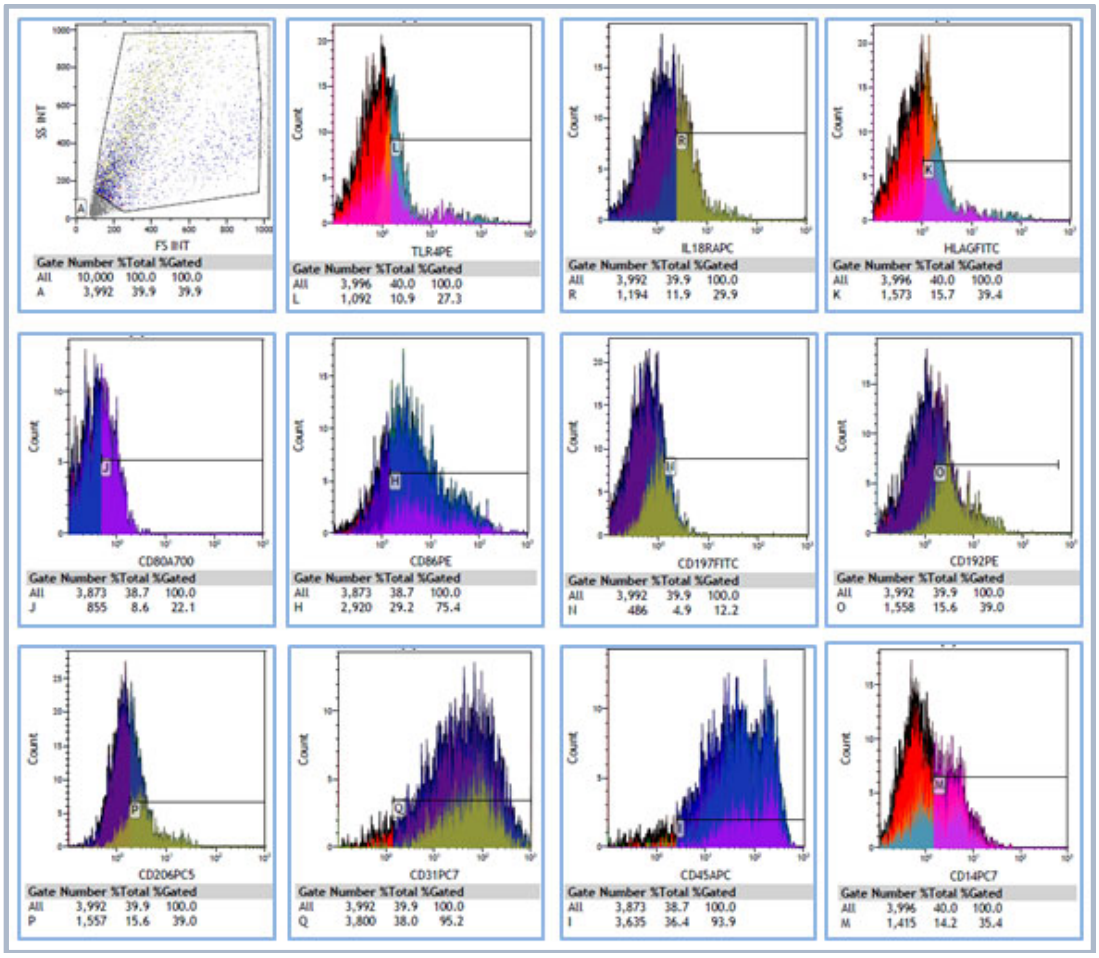


Resim 4.23. MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.23'de şematize edildiği gibi iki hücre grubunun da prime edildiği transvel ko-kültür grubunun poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 ve poli(I:C) ile prime MKH'ların transvel ko-kültürü sonrası, tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.52'de, daha önceki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi ile poli(I:C) ile prime PMA/THP-1'lerin ve transvel kültürü sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.21'de ve bar grafiği Şekil 4.53'de verilmiştir.

Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde TLR4'ün sadece transvel ko-kültürü sonrası %27,3 oranında arttığı, İL-18R'nün tek başına uyarımsızken (%52,8) ve tek başına prime edildiğinde yüksek oranda (%84) eksprese ederken transvel ko-kültüründe uyarımsız grupta (%18,2) prime gruba göre daha fazla (%29,9) olmakla birlikte iki grupta da baskılandığı, HLAG'nin sadece transvel ko-kültür sonrası prime grupta (%39,4) eksprese edildiği, CD80'nin sadece transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta hafif derecede eksprese (%13,9) edilmekle birlikte prime grupta %22,1 oranında eksprese edildiği, CD86 sadece transvel ko-kültürü sonrası grupta analiz edildi ve uyarımsız grupta (%46,5) ve daha yüksek oranda prime grubunda (%75,4) eksprese edildiği, CD197'nin sadece çok hafif derecede transvel ko-kültürü sonrasında prime grupta eksprese edildiği (%12,2), CD192'nin tek başına uyarımsız (%98,8) ve tek başına prime grupta (%100) çok yüksek düzeyde pozitif olmasına rağmen transvel ko-kültüründen sonra uyarımsız grupta (%18,5) prime gruba göre (%39) daha fazla bir azalma olduğu, CD206'nın sadece transvel ko-kültürü sonrası prime grupta (%39) pozitif olduğu, CD31'in transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta %73 oranında diğer gruplarda ise %95 üzerinde eksprese edildiği, CD14'ün tek başına uyarımsız

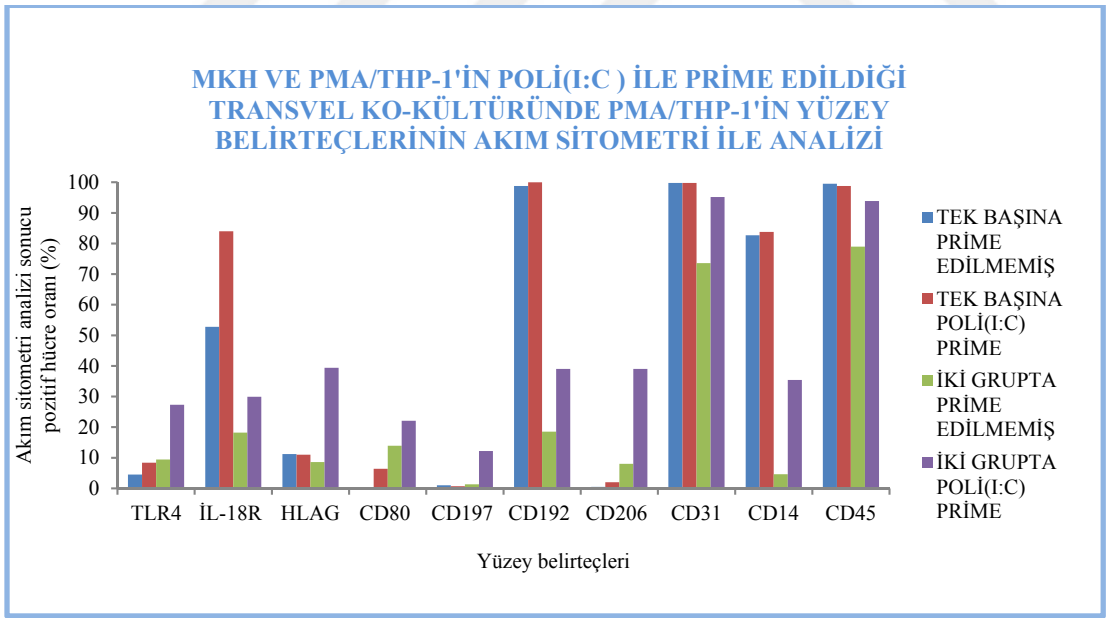
(%82,7) ve prime grubunda (%83,8) yüksek derecede eksprese edildiği transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta negatif olduğu ve prime grubunda %35,4 oranında olduğu, CD45'in tek başına uyarımsız grupta (%99,5), prime grupta (%98,8) ve transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız (%79) ve prime grupta (%93,9) yüksek oranda pozitif olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.52. MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

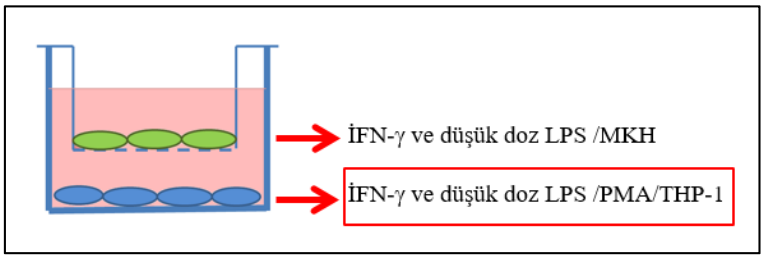
Çizelge 4.21. MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri analiz sonucunun tablosu

	PMA/THP-1			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA POLİ(I:C) PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	İKİ GRUPTA POLİ(I:C) PRİME
TLR4	4,5	8,4	9,4	27,3
İL-18R	52,8	84	18,2	29,9
HLAG	11,2	11	8,6	39,4
CD80	0	6,4	13,9	22,1
CD86	(-)	(-)	46,5	75,4
CD197	1	0,7	1,3	12,2
CD192	98,8	100	18,5	39
CD206	0,5	2	8	39
CD31	99,8	99,8	73,6	95,2
CD14	82,7	83,8	4,6	35,4
CD45	99,5	98,8	79	93,9



Şekil 4.53. MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri analiz sonucunun bar grafiği

4.7.9. İFN-gama ve düşük doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin analiz sonuçları

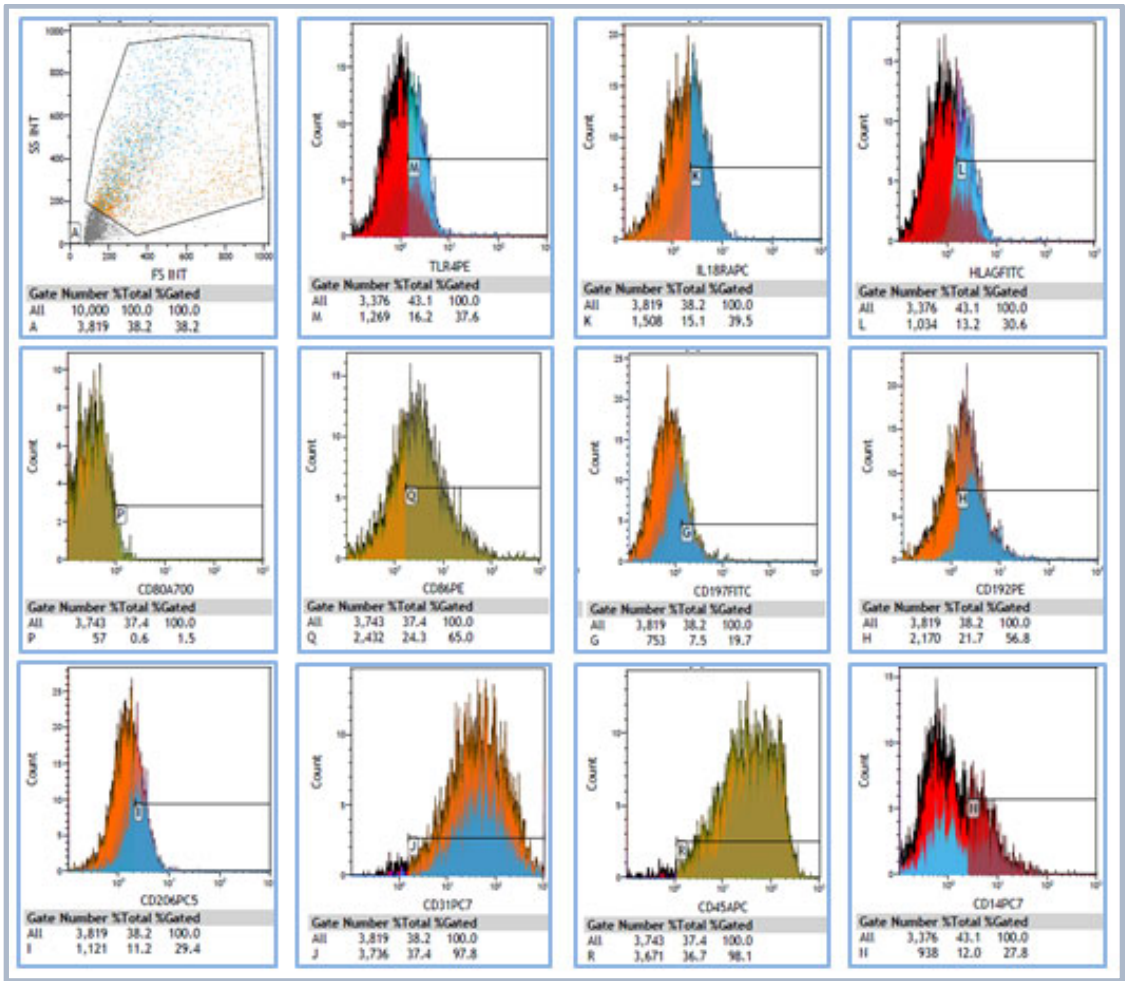


Resim 4.24. MKH ve PMA/THP-1'lerin İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.24'de şematize edildiği gibi iki hücre grubunun da prime edildiği transvel ko-kültür grubunun İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 ve İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH'lerin transvel ko-kültürü sonrası, tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.54'de, daha önce ki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi ve İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1'lerin ve transvel kültürü sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.22'de ve bar grafiği Şekil 4.55'de verilmiştir.

Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde TLR4'ün sadece transvel ko-kültürü sonrası prime grupta eksprese edildiği (%37,6), İL-18R'ün tek başına uyarımsız (%52,8) ve prime grupta (%80,4) oranında yüksek derecede pozitif iken transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta (%18,2) prime gruba göre (%39,5) daha belirgin düzeyde olmak üzere baskılandığı, HLAG'nin sadece transvel ko-kültürü sonrası prime grupta (%30,6) eksprese edildiği, CD80'nin tek başına prime grupta (%21) ve transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız gruba (%13,9) hafif düzeyde eksprese edildiği,CD86 sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi, prime grupta (%65) uyarımsız gruba göre (%46.5) daha fazla eksprese edildiği, CD197'nin sadece transvel ko-kültürü sonrası çok hafif derecede eksprese edildiği (%19,7), CD192'nin tek başına uyarımsız (%98,8) ve prime grupta (%99,7) derecede pozitif olmasına rağmen transvel ko-kültürü sonrası transvel ko-kültüründen sonra uyarımsız grupta (%18,5) prime gruba göre (%56,8) daha fazla bir azalma olduğu, CD206'nın sadece transvel ko-kültürü sonrası prime grupta (%29,4) pozitif olduğu, CD31'in transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta %73 oranında diğer gruplarda ise %98 üzerinde eksprese edildiği, CD14'ün tek başına uyarımsız (%82,7) ve prime grubunda (%95,3) yüksek derecede

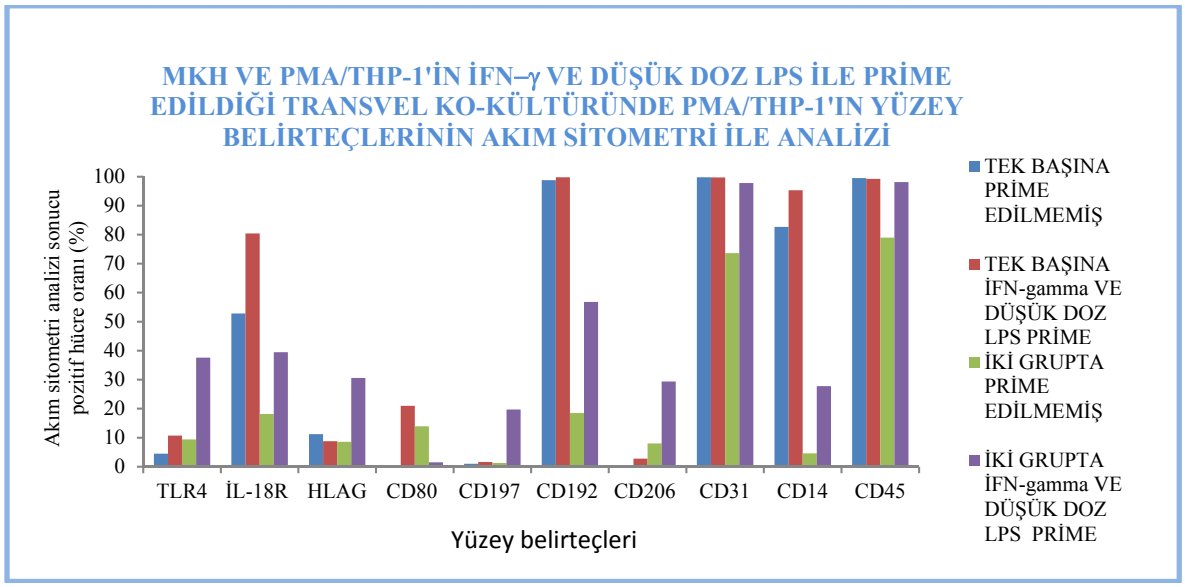
eksprese edildiği transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta negatif olduğu ve prime grubunda %27,8 oranında olduğu, CD45'in tek başına uyarımsız grupta (%99,5), prime grupta (%99,2) ve transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız (%79) ve prime grupta (%98,1) yüksek oranda pozitif olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.54. MKH ve PMA/THP-1'lerin İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonuçlarının histogram görüntüsü

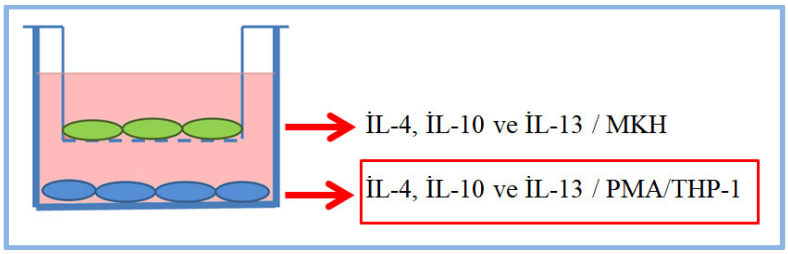
Çizelge 4.22. MKH ve PMA/THP-1'lerin İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu

	PMA/THP-1			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜSONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA İFN-γ VE DÜŞÜK DOZ LPS PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	İKİ GRUPTA İFN-γ VE DÜŞÜK DOZ LPS PRİME
TLR4	4,5	10,7	9,4	37,6
İL-18R	52,8	80,4	18,2	39,5
HLAG	11,2	8,8	8,6	30,6
CD80	0	21	13,9	1,5
CD86	(-)	(-)	46,5	65
CD197	1	1,6	1,3	19,7
CD192	98,8	99,8	18,5	56,8
CD206	0,5	2,8	8	29,4
CD31	99,8	99,7	73,6	97,8
CD14	82,7	95,3	4,6	27,8
CD45	99,5	99,2	79	98,1



Şekil 4.55. MKH ve PMA/THP-1'lerin İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun bar grafiği

4.7.10. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin analiz sonuçları

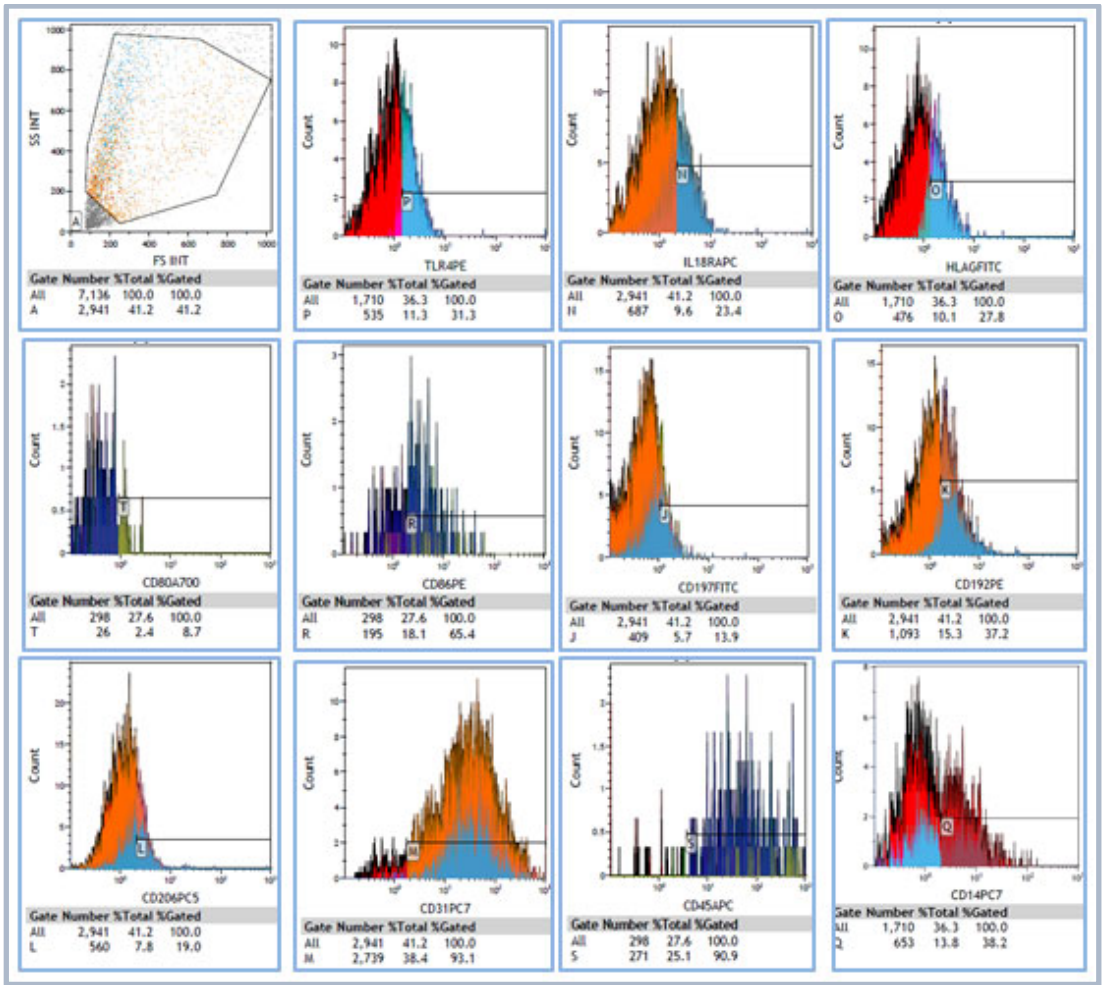


Resim 4.25. MKH ve PMA/THP-1'lerin İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.25'de şematize edildiği gibi iki hücre grubunun da prime edildiği transvel ko-kültür grubunun İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 ve İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH'lerin transvel ko-kültürü sonrası, tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.56'da, daha önceki bölümde dot plot görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi ile İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1'lerin ve transvel kültürü sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.23'de ve bar grafiği Şekil 4.57'de verilmiştir.

Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde TLR4'ün sadece transvel ko-kültürü sonrası eksprese edildiği (%31,3), İL-18R'nün tek başına uyarımsız (%52.8) ve prime grupta (%89,6) oranında yüksek derecede pozitif iken transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta (%18,2) prime gruba göre (%23,4) daha belirgin düzeyde olmak üzere baskılandığı, HLAG'nin sadece tek başına prime grupta(%18,4) ve transvel ko-kültürü sonrası prime grupta (%27,8) eksprese edildiği, CD80'nin tek başına prime grupta (%12) ve transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız gruba (%13,9) hafif düzeyde eksprese edildiği,CD86 sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi. Prime grupta (%65,4) uyarımsız gruba göre (%46.5) daha fazla eksprese edildiği, CD197'nin sadece transvel ko-kültürü sonrası çok hafif derecede eksprese edildiği (%13,9), CD192'nin tek başına uyarımsız (%98,8) ve prime grupta (%100) derecede pozitif olmasına rağmen transvel ko-kültürü sonrası transvel ko-kültüründen sonra uyarımsız grupta (%18,5) prime gruba göre (%37,2) daha fazla bir azalma olduğu, CD206'nın sadece transvel ko-kültürü sonrası prime grupta (%19) pozitif olduğu, CD31'in transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta %73 oranında diğer gruplarda ise %93 üzerinde eksprese edildiği, CD14'ün tek başına uyarımsız (%82,7) ve prime grubunda

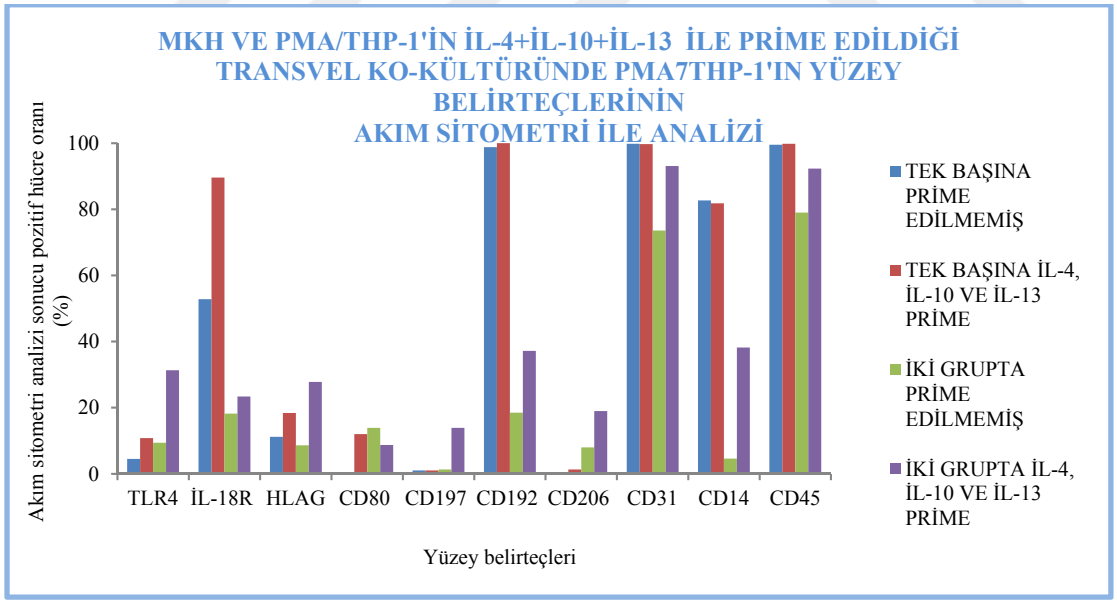
(%81,8) yüksek derecede eksprese edildiği transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta negatif olduğu ve prime grubunda %38,2 oranında olduğu, CD45'in tek başına uyarımsız grupta (%99,5), prime grupta (%99,8) ve transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız (%79) ve prime grupta (%92,3) yüksek oranda pozitif olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.56. MKH ve PMA/THP-1'lerin İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonuçlarının histogram görüntüsü

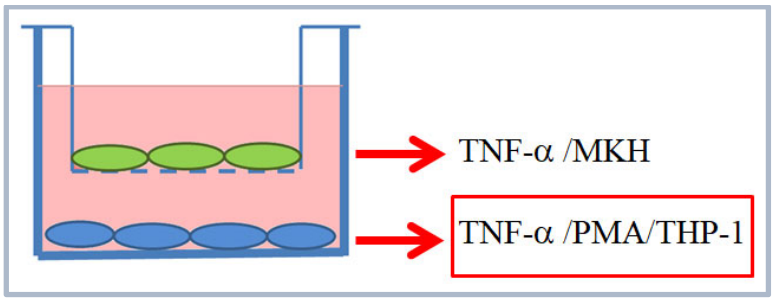
Çizelge 4.23. MKH ve PMA/THP-1'lerin İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu

	PMA/THP-1			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA İL-4, İL-10 VE İL-13 PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	İKİ GRUPTA İL-4, İL-10 VE İL-13 PRİME
TLR4	4,5	10,8	9,4	31,3
İL-18R	52,8	89,6	18,2	23,4
HLAG	11,2	18,4	8,6	27,8
CD80	0	12	13,9	8,7
CD86	(-)	(-)	46,5	65,4
CD197	1	1	1,3	13,9
CD192	98,8	100	18,5	37,2
CD206	0,5	1,3	8	19
CD31	99,8	99,7	73,6	93,1
CD14	82,7	81,8	4,6	38,2
CD45	99,5	99,8	79	92,3



Şekil 4.57. MKH ve PMA/THP-1'lerin İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun bar grafiği

4.7.11. TNF-alfa ile prime MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin analiz sonuçları

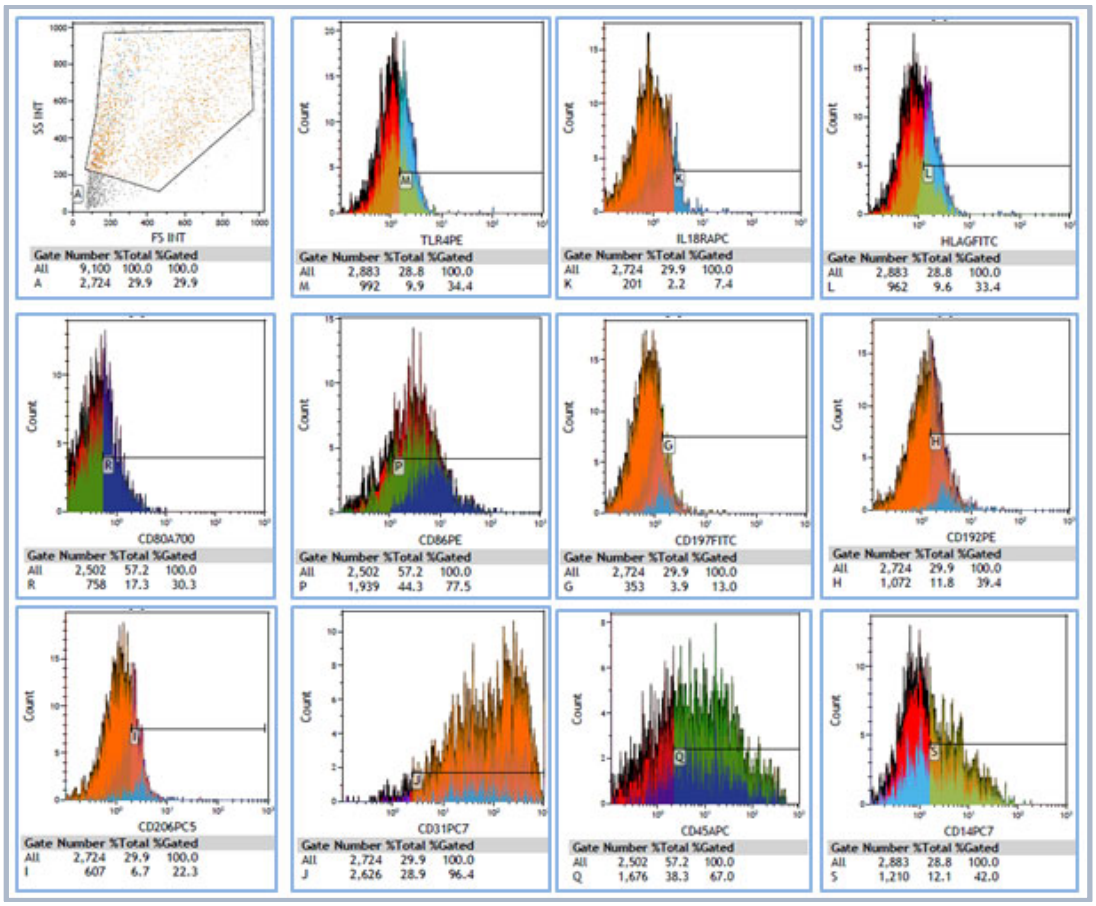


Resim 4.26. MKH ve PMA/THP-1'lerin TNF-α ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.26'da şematize edildiği gibi iki hücre grubunun da prime edildiği transvel ko-kültür grubunun TNF-α ile prime PMA/THP-1 ve TNF-α ile prime MKH'lerin transvel ko-kültürü sonrası, tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.58'de, daha önceki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi ile TNF-α ile prime PMA/THP-1'lerin ve transvel kültürü sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.24'de ve bar grafiği Şekil 4.59'da verilmiştir.

Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde TLR4'ün sadece transvel ko-kültürü sonrası eksprese edildiği (%34,4), İL-18R'nün tek başına uyarımsız (%52.8) ve prime grupta (%76,9) oranında yüksek derecede pozitif iken transvel ko-kültürü sonrası prime grupta negatifleştiği uyarımsız grupta (%18,2) belirgin düzeyde baskılandığı, HLAG'nin sadece tek başına prime grupta (%17,1) ve transvel ko-kültürü sonrası prime grupta (%33,4) eksprese edildiği, CD80'nin tek başına prime grupta (%18,2) ve transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız gruba (%13,9) hafif düzeyde eksprese edilirken prime grupta %30.3 oranında olduğu, CD86 sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi, prime grupta (%77,5) uyarımsız gruba göre (%46.5) daha fazla eksprese edildiği, CD197'nin sadece transvel ko-kültürü sonrası çok hafif derecede eksprese edildiği (%13), CD192'nin tek başına uyarımsız (%98,8) ve prime grupta (%99,9) derecede pozitif olmasına rağmen transvel ko-kültürü sonrası transvel ko-kültüründen sonra uyarımsız grupta (%18,5) prime gruba göre (%39,4) daha fazla bir azalma olduğu, CD206'nın sadece transvel ko-kültürü sonrası prime grupta (%22,3) pozitif olduğu, CD31'in transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız

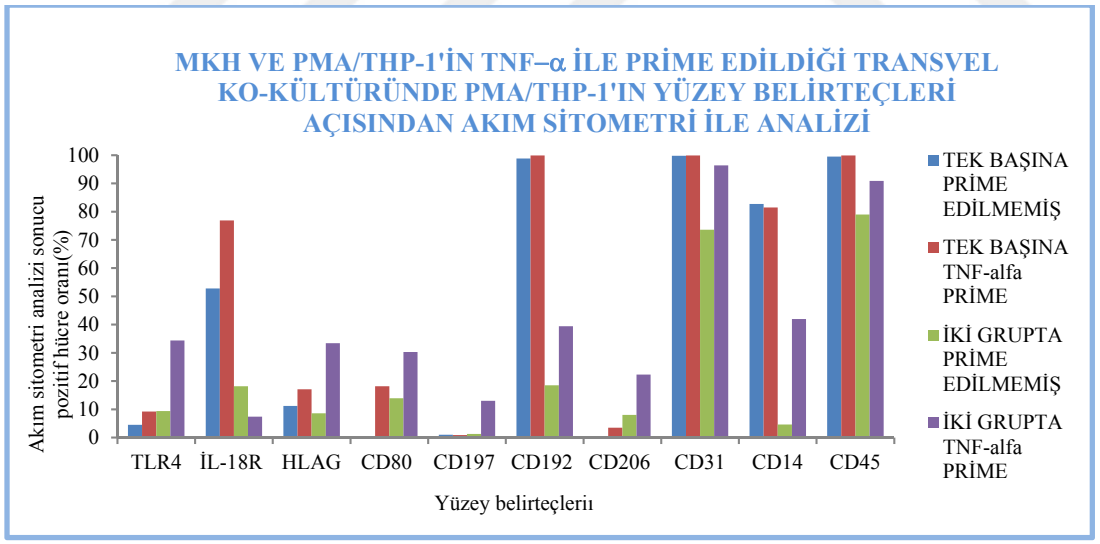
grupta %73 oranında diğer gruplarda ise %96 üzerinde eksprese edildiği, CD14'ün tek başına uyarımsız (%82,7) ve prime grubunda (%81,5) yüksek derecede eksprese edildiği transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta negatif olduğu ve prime grubunda %42 oranında olduğu, CD45'in tek başına uyarımsız grupta (%99,5), prime grupta (%99,9) ve transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız (%79) ve prime grupta (%90,9) yüksek oranda pozitif olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.58. MKH ve PMA/THP-1'lerin TNF-α ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun sonuçlarının histogram görüntüsü

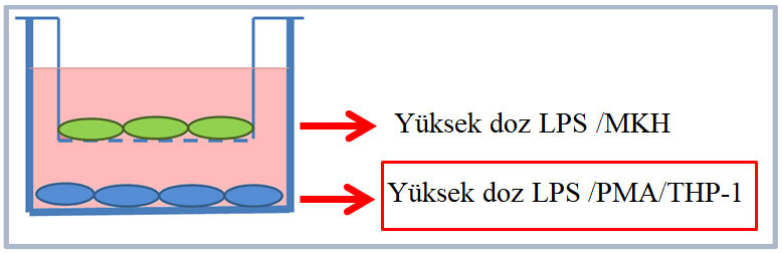
Çizelge 4.24. MKH ve PMA/THP-1'lerin TNF-α ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu

	PMA/THP-1			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA TNF-α PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	İKİ GRUPTA TNF-α PRİME
TLR4	4,5	9,2	9,4	34,4
İL-18R	52,8	76,9	18,2	7,4
HLAG	11,2	17,1	8,6	33,4
CD80	0	18,2	13,9	30,3
CD86	(-)	(-)	46,5	77,5
CD197	1	0,9	1,3	13
CD192	98,8	99,9	18,5	39,4
CD206	0,5	3,5	8	22,3
CD31	99,8	99,9	73,6	96,4
CD14	82,7	81,5	4,6	42
CD45	99,5	99,9	79	90,9



Şekil 4.59. MKH ve PMA/THP-1'lerin TNF-α ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun bar grafiği

4.7.12. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin analiz sonuçları

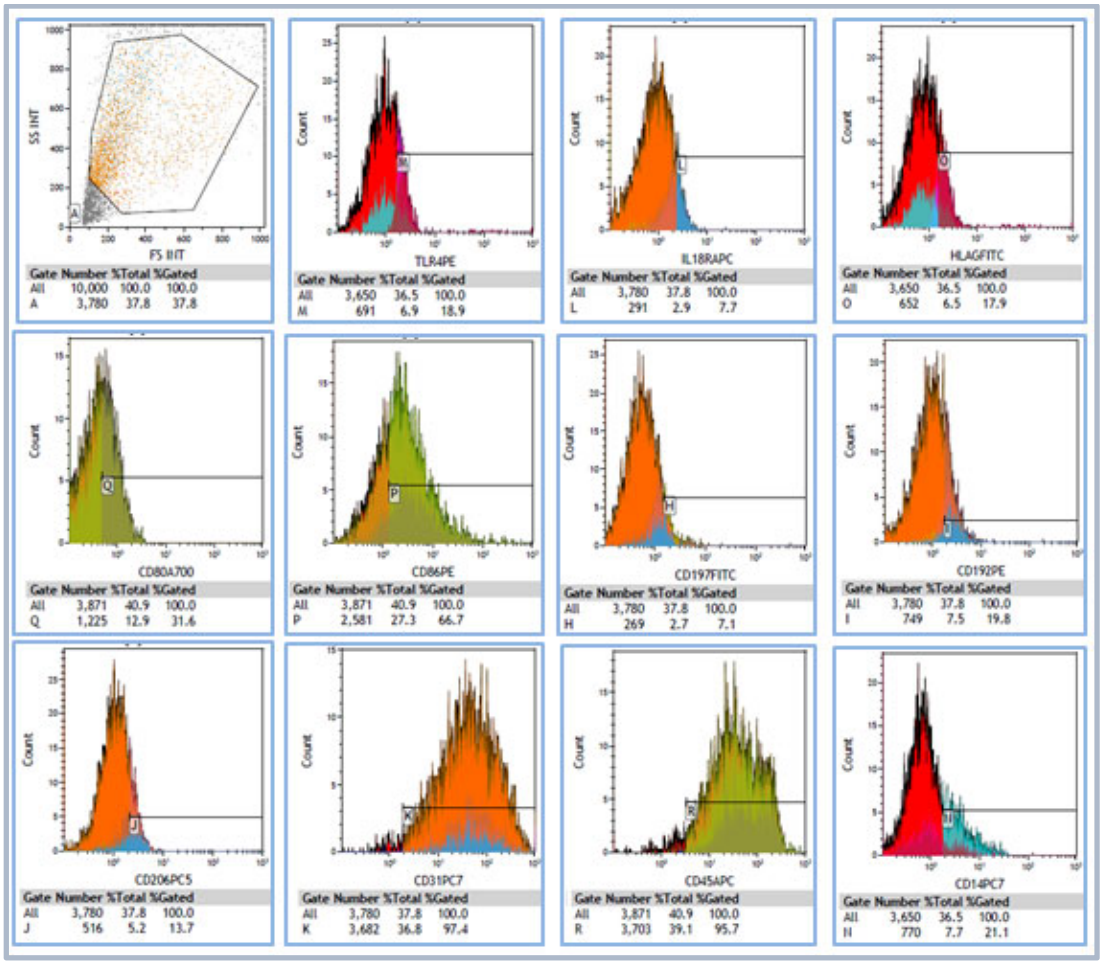


Resim 4.27. MKH ve PMA/THP-1'lerin yüksek doz LPS ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.27'de şematize edildiği gibi iki hücre grubunun da prime edildiği transvel ko-kültür grubunun yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 ve yüksek doz LPS ile prime MKH'lerin transvel ko-kültürü sonrası, tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.60'da, daha önceki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi ile yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1'lerin ve transvel kültürü sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.25'de ve bar grafiği Şekil 4.61'de verilmiştir.

Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde TLR4'ün sadece transvel ko-kültürü sonrası eksprese ediliği (%18,9), İL-18R'nün tek başına uyarımsız (%52.8) ve prime grupta (%94,7) oranında yüksek derecede pozitif iken transvel ko-kültürü sonrası prime grupta negatifleştiği uyarımsız grupta (%18,2) belirgin düzeyde baskılandığı, HLAG'nin sadece tek başına prime grupta (%32,5) ve transvel ko-kültürü sonrası prime grupta (%17,9) eksprese edildiği, CD80'nin tek başına prime grupta (%22,9) ve transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız gruba (%13,9) hafif düzeyde eksprese edilirken prime grupta %31,6 oranında olduğu,CD86 sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi, prime grupta (%66,7) uyarımsız gruba göre (%46.5) daha fazla eksprese edildiği, CD197'nin bütün gruplarda negatif olduğu, CD192'nin tek başına uyarımsız (%98,8) ve prime grupta (%99,9) derecede pozitif olmasına rağmen transvel ko-kültürü sonrası transvel ko-kültüründen sonra uyarımsız grupta (%18,5) ve prime grupta (%19,8) belirgin derecede baskılandığı, CD206'nın sadece transvel ko-kültürü sonrası prime grupta hafif derecede pozitif olduğu (%13,7), CD31'in transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta %73 oranında diğer gruplarda ise %97 üzerinde eksprese edildiği, CD14'ün tek başına uyarımsız (%99,5) ve

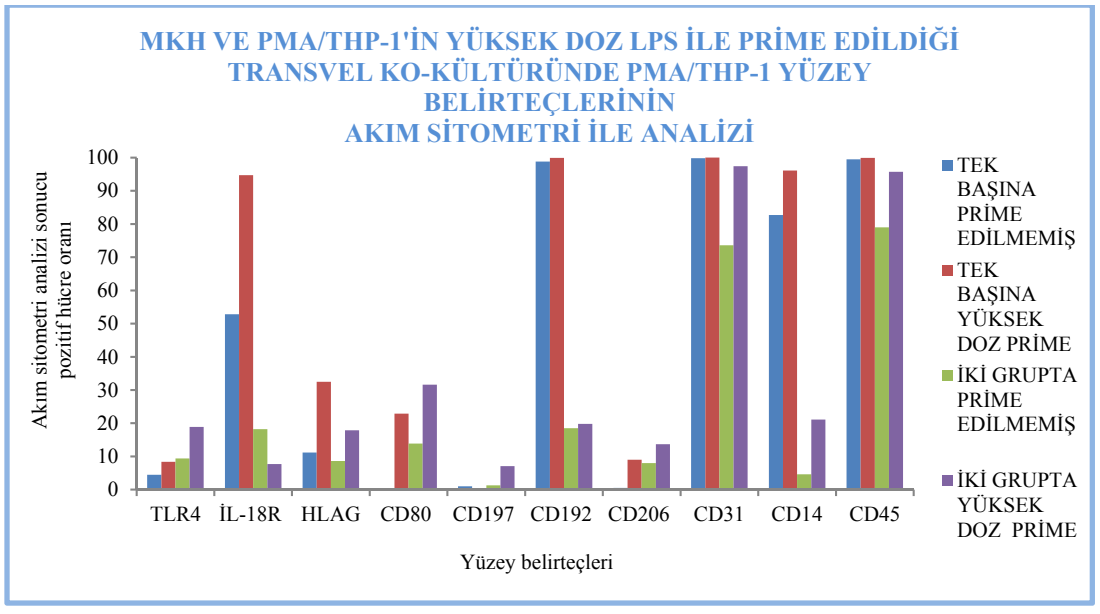
prime grubunda (%96,1) yüksek derecede eksprese edildiği transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta negatif olduğu ve prime grubunda %21,1 oranında olduğu, CD45'in tek başına uyarımsız grupta (%82,7), prime grupta (%99,9) ve transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız (%79) ve prime grupta (%95,7) yüksek oranda pozitif olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.60. MKH ve PMA/THP-1'lerin yüksek doz LPS ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonuçlarının histogram görüntüsü

Çizelge 4.25. MKH ve PMA/THP-1'lerin yüksek doz LPS ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu

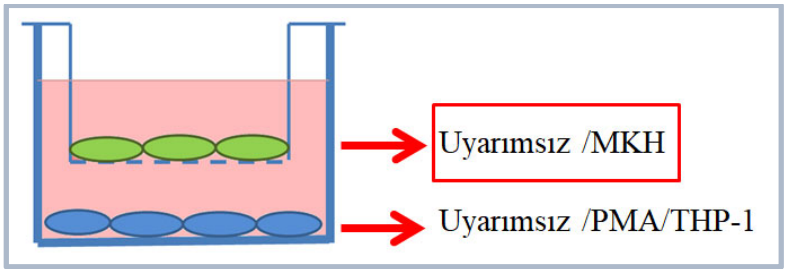
	PMA/THP-1			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA YÜKSEK DOZ LPS PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	İKİ GRUPTA YÜKSEK DOZ LPS PRİME
TLR4	4,5	8,4	9,4	18,9
İL-18R	52,8	94,7	18,2	7,7
HLAG	11,2	32,5	8,6	17,9
CD80	0	22,9	13,9	31,6
CD86	(-)	(-)	46,5	66,7
CD197	1	0,3	1,3	7,1
CD192	98,8	99,9	18,5	19,8
CD206	0,5	9	8	13,7
CD31	99,8	100	73,6	97,4
CD14	82,7	96,1	4,6	21,1
CD45	99,5	99,9	79	95,7



Şekil 4.61. MKH ve PMA/THP-1'lerin yüksek doz LPS ile prime edildiği transvel ko-kültürü sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun bar grafiği

4.8. Uyarımsız MKH'lerin ve Prime PMA/THP-1'lerin Transvel Kültürü Sonrası İmmün Fenotipik Olarak Değerlendirilme Sonuçları

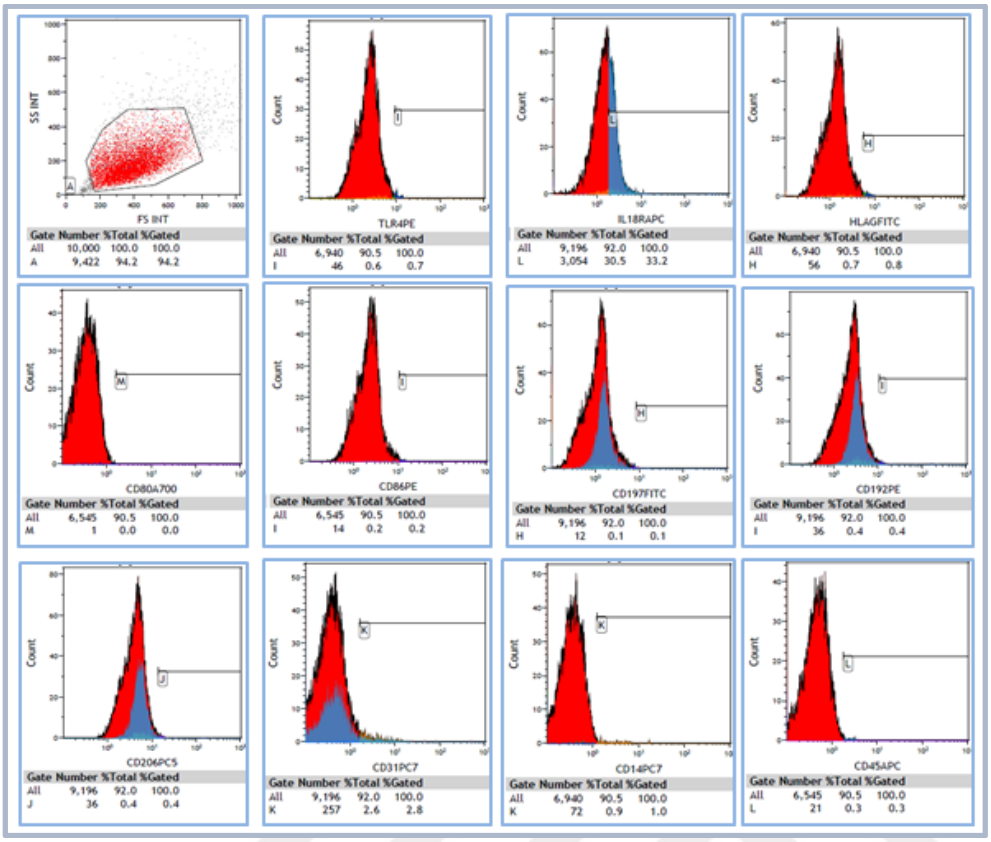
4.8.1. Uyarımsız MKH'lerin ve prime PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubundaki insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçları



Resim 4.28. İki hücre grubunun da uyarımsız olduğu örnekte transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.28'de şematize edildiği gibi uyarımsız MKH'lerin ve prime PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültür grubunun kontrolü olarak yapılan uyarımsız PMA/THP-1 ve uyarımsız MKH'ların transvel kültürü sonrası, insertteki uyarımsız MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.62'de, daha önceki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi uyarımsız MKH'ların ve ko-kültür grubunun kontrol olan uyarımsız PMA/THP-1 ve uyarımsız MKH'ların transvel kültürü sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.26'da ve bar grafiğinde Şekil 4.63'de verilmiştir.

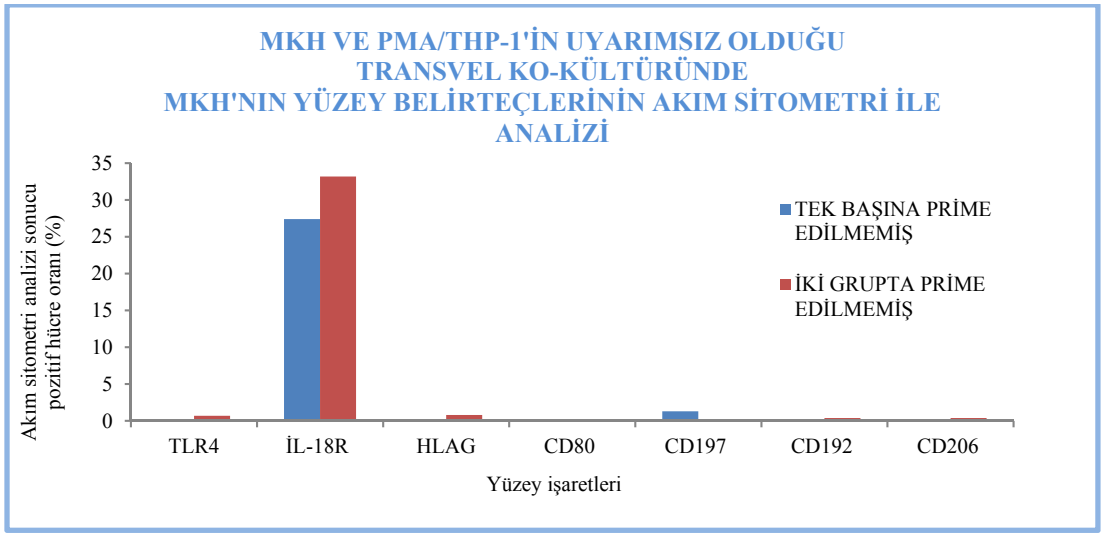
Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde TLR4, HLAG, CD80, CD197,CD192 ve CD206'nın iki grupta da negatif olduğu, İL-18R'ün prime grupta (%33,2) tek başına uyarımsız (%27,4) göre daha yüksek oranda pozitif olduğu, CD86 sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi ve negatif olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.62. Uyarımsız MKH'ların ve prime PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubu olan iki hücre grubunun da uyarımsız olduğu örnekte MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

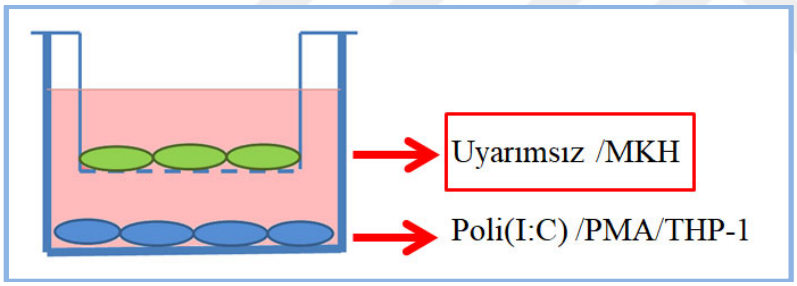
Çizelge 4.26. Uyarımsız MKH'lerin ve prime PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubu olan iki hücre grubunun da uyarımsız olduğu örnekte MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	MKH	
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ
TLR4	0,2	0,7
İL-18R	27,4	33,2
HLAG	0,2	0,8
CD80	0,1	0
CD86	(-)	0,2
CD197	1,3	0,1
CD192	0,2	0,4
CD206	0,2	0,4



Şekil 4.63. Uyarımsız MKH'lerin ve prime PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubu olan iki hücre grubunun da uyarımsız olduğu örnekte MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

4.8.2. Uyarımsız MKH ve poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçları

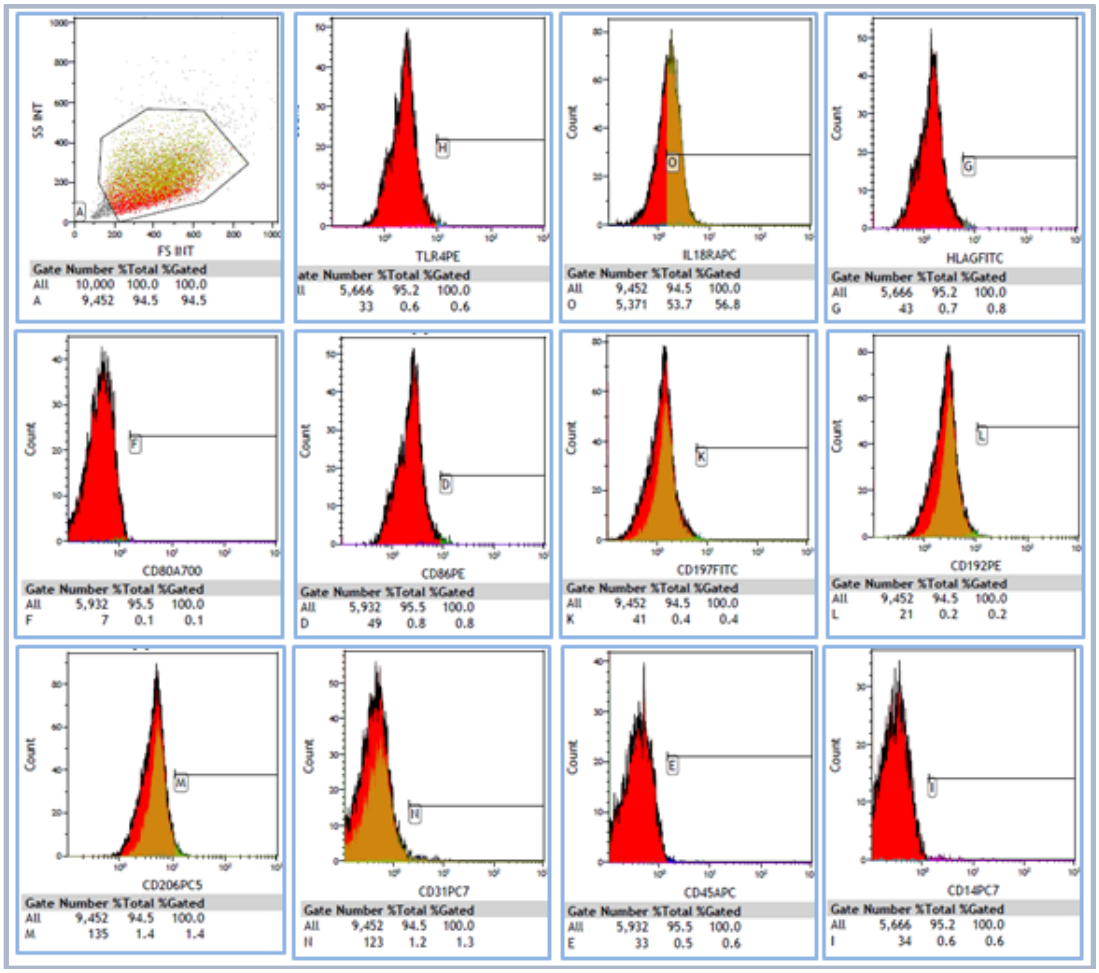


Resim 4.29. Uyarımsız MKH ve poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.29'da şematize edildiği gibi uyarımsız MKH ile prime PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültür grubunun uyarımsız MKH ve poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası, insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.64'de, daha önceki bölümde dot plot görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi uyarımsız MKH'ların ve transvel kültürü sonrası inserteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.27'de ve bar grafiği Şekil 4.65'de verilmiştir.

Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde TLR4, HLAG, CD80, CD197, CD192 ve CD206'nın bütün gruplarda negatif olduğu, İL-18R'ün tek başına prime

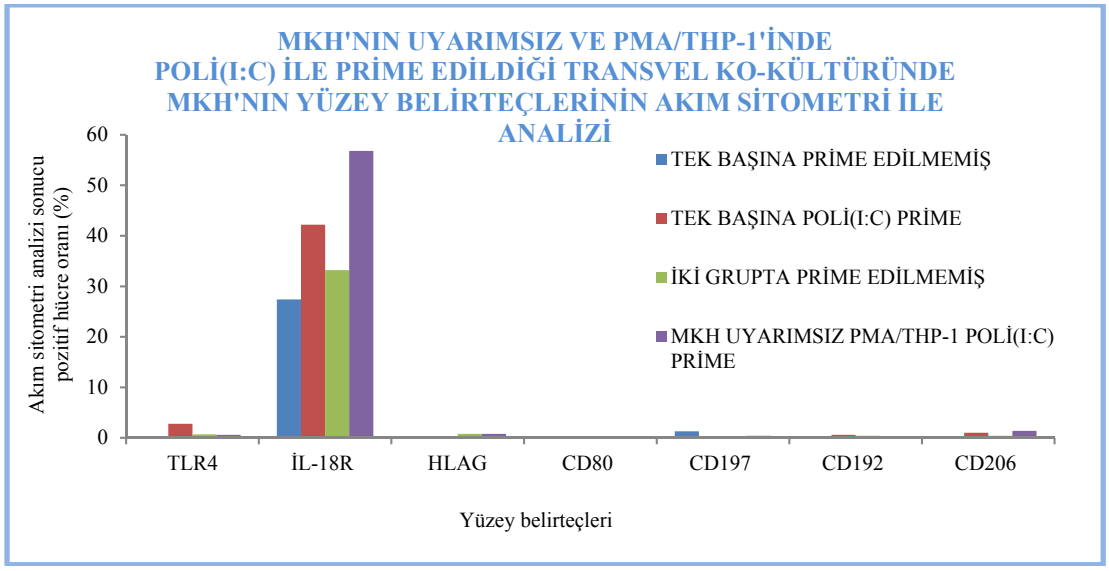
grupta (%42,2) tek başına uyarımsız (%27,4) göre daha yüksek oranda pozitif olduğu, aynı şekilde transvel ko-kültüründe de prime grupta (%56,8) uyarımsız gruba göre (%33,2) daha yüksek olduğu, CD86 sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi ve negatif olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.64. Uyarımsız MKH ve poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

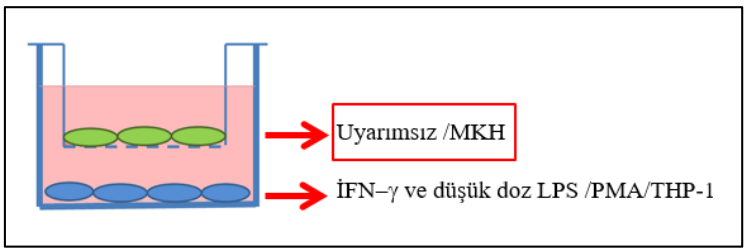
Çizelge 4.27. Uyarımsız MKH ve poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	MKH			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA POLİ(I:C) PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	MKH UYARIMSIZ PMA/THP-1 POLİ(I:C) PRİME
TLR4	0,2	2,8	0,7	0,6
İL-18R	27,4	42,2	33,2	56,8
HLAG	0,2	0,2	0,8	0,8
CD80	0,1	0,1	0	0,1
CD86	(-)	(-)	0,2	0,8
CD197	1,3	0,3	0,1	0,4
CD192	0,2	0,6	0,4	0,2
CD206	0,2	1	0,4	1,4



Şekil 4.65. Uyarımsız MKH ve poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

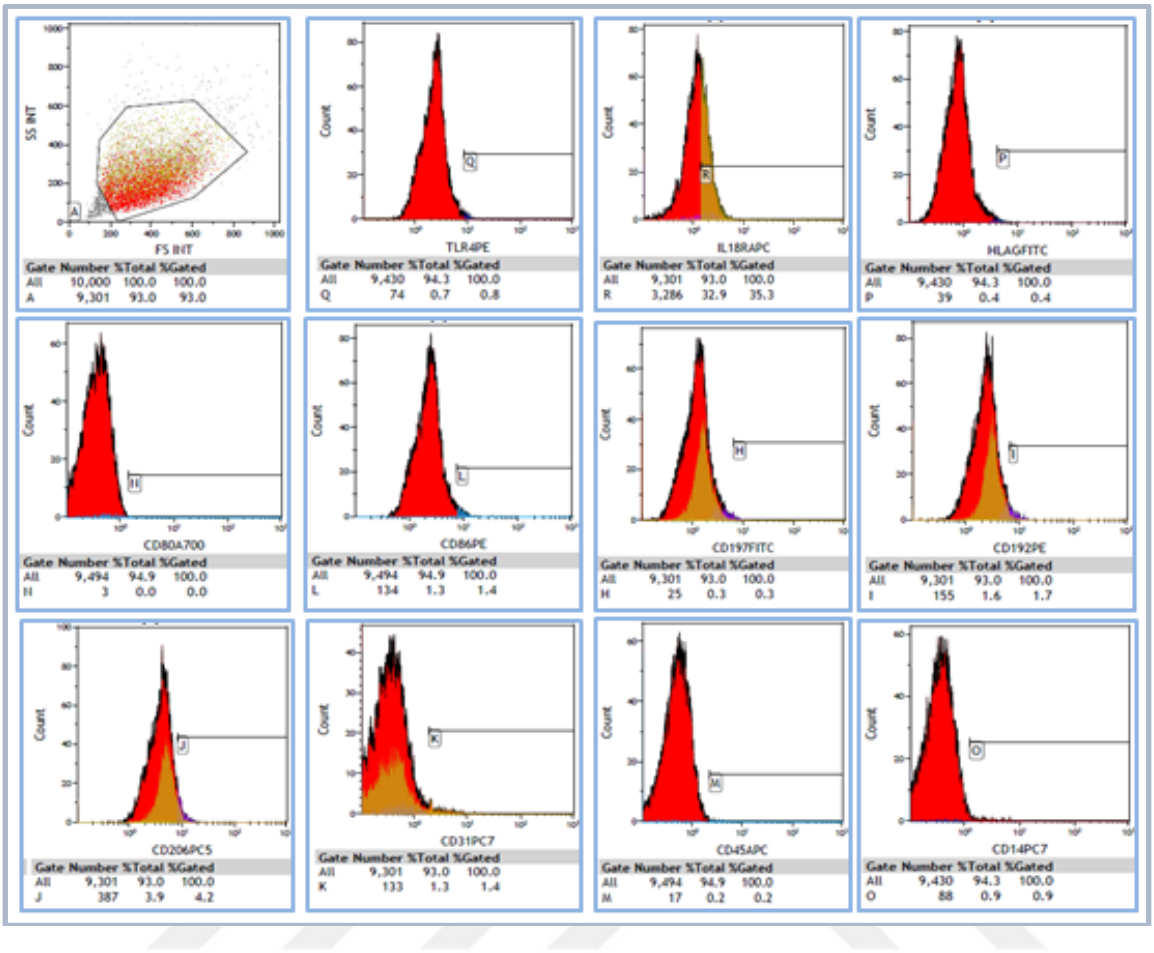
4.8.3. Uyarımsız MKH ve İFN-gamma ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçları



Resim 4.30. Uyarımsız MKH ve İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.30'da şematize edildiği gibi uyarımsız MKH ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültür grubunun uyarımsız MKH ve poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası, insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.66'da, daha önceki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi uyarımısız MKH'ların ve transvel kültürü sonrası inserteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.28'de ve bar grafiğinde Şekil 4.67'de verilmiştir.

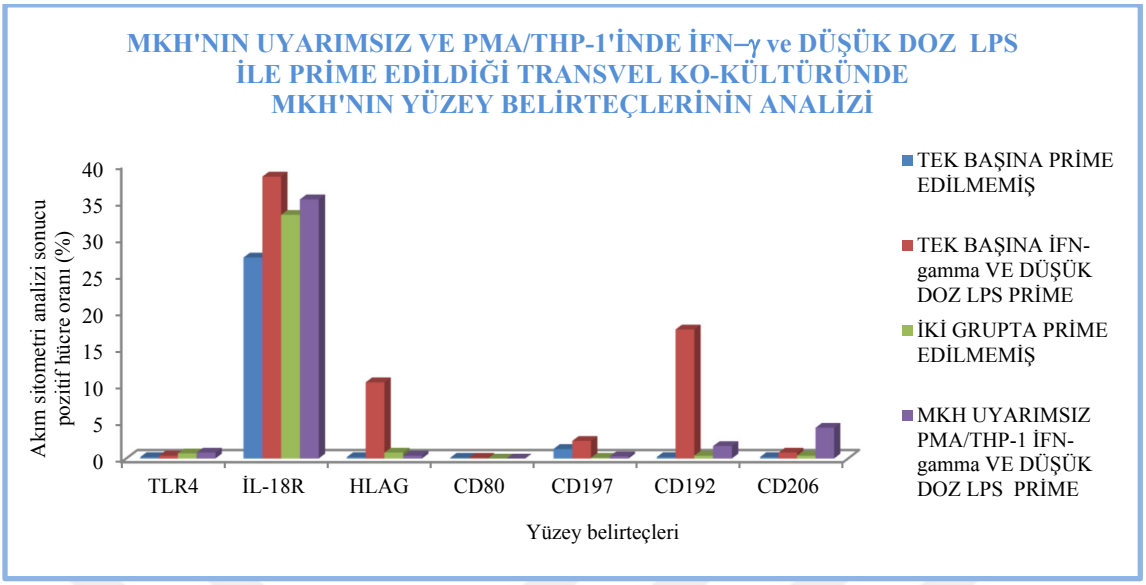
Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde TLR4, HLAG, CD80, CD197, CD192 ve CD206'nın bütün gruplarda negatif olduğu, İL-18R'nün tek başına prime grupta (%38,4) tek başına uyarımsız (%27,4) göre daha yüksek oranda pozitif olduğu, transvel ko-kültüründe de prime grup (%35,3) ve uyarımsız grupta (%33,2) aynı derecede yüksek eksprese edildiği, CD86'nın sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi ve negatif olduğu, CD192'nin tek başına prime grupta pozitif olduğu (%17,6) tek başına uyarımsız ve transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız ve prime grupta negatif olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.66. Uyarımsız MKH ve İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

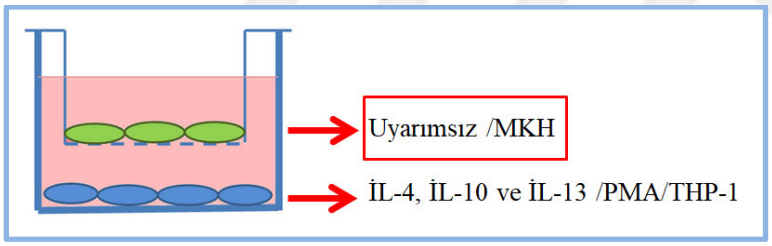
Çizelge 4.28. Uyarımsız MKH ve İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	MKH			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA İFN-γ VE DÜŞÜK DOZ LPS PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	MKH UYARIMSIZ PMA/THP-1 İFN-γ VE DÜŞÜK DOZ LPS PRİME
TLR4	0,2	0,4	0,7	0,8
İL-18R	27,4	38,4	33,2	35,3
HLAG	0,2	10,4	0,8	0,4
CD80	0,1	0,1	0	0
CD86	(-)	(-)	0,2	1,4
CD197	1,3	2,4	0,1	0,3
CD192	0,2	17,6	0,4	1,7
CD206	0,2	0,8	0,4	4,2



Şekil 4.67. Uyarımsız MKH ve İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

4.8.4. Uyarımsız MKH ve İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçları

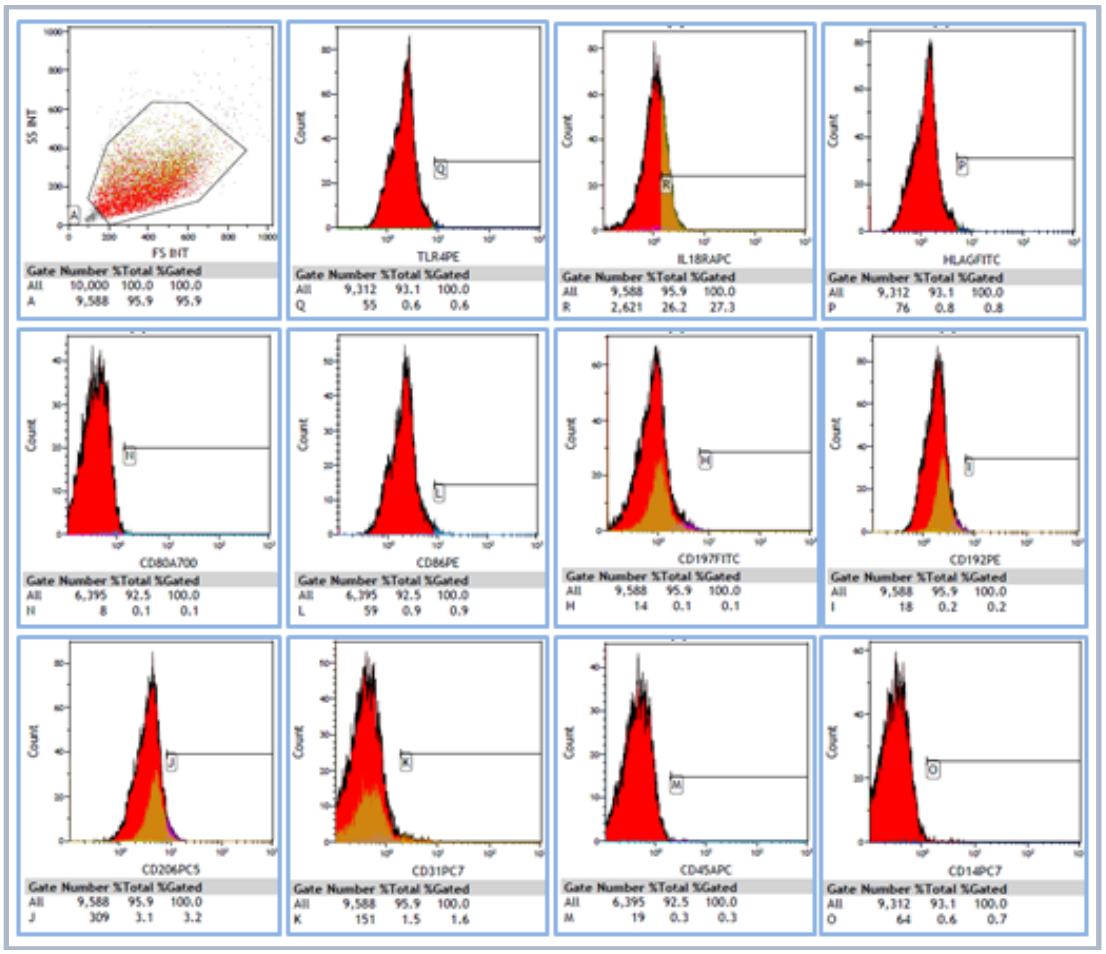


Resim 4.31. Uyarımsız MKH ve İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.31'de şematize edildiği gibi uyarımsız MKH ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültür grubunun uyarımsız MKH ve ile İL-4, İL-10 ve İL-13 prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası, insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.68'de, daha önceki bölümde dot plot görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi uyarımsız MKH'ların ve transvel kültürü sonrası inserteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.29'da ve bar grafiği Şekil 4.68'de verilmiştir.

Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde HLAG, CD80, CD197 ve bütün gruplarda negatif olduğu, TLR4 (%24,4) orta, CD192 (%49,5) yüksek ve CD206 (%10,4) hafif düzeyde tek başına prime grupta eksprese edildiği, İL-18R'ün tek başına prime

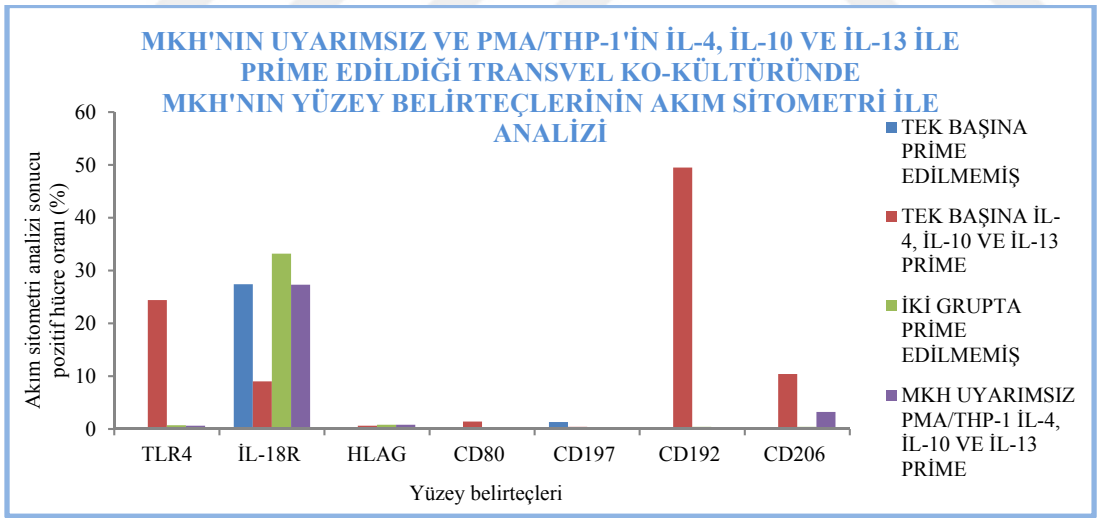
grupta negatifleşirken tek başına uyarımsız (%27,4) grupta pozitif olduğu, transvel ko-kültüründe de prime grupta (%27,3) uyarımsız gruba göre (%33,2) daha düşük olduğu, CD86 sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi ve negatif olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.68. Uyarımsız MKH ve İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

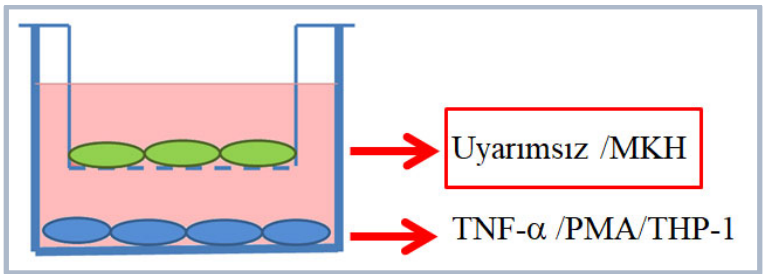
Çizelge 4.29. Uyarımsız MKH ve İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	MKH			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA İL-4, İL-10 VE İL-13 PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	MKH UYARIMSIZ PMA/THP-1 İL-4, İL-10 VE İL-13 PRİME
TLR4	0,2	24,4	0,7	0,6
İL-18R	27,4	9.0	33,2	27,3
HLAG	0,2	0,6	0,8	0,8
CD80	0,1	1,4	0	0,1
CD86	(-)	(-)	0,2	0,9
CD197	1,3	0,4	0,1	0,1
CD192	0,2	49,5	0,4	0,2
CD206	0,2	10,4	0,4	3,2



Şekil 4.69. Uyarımsız MKH ve İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

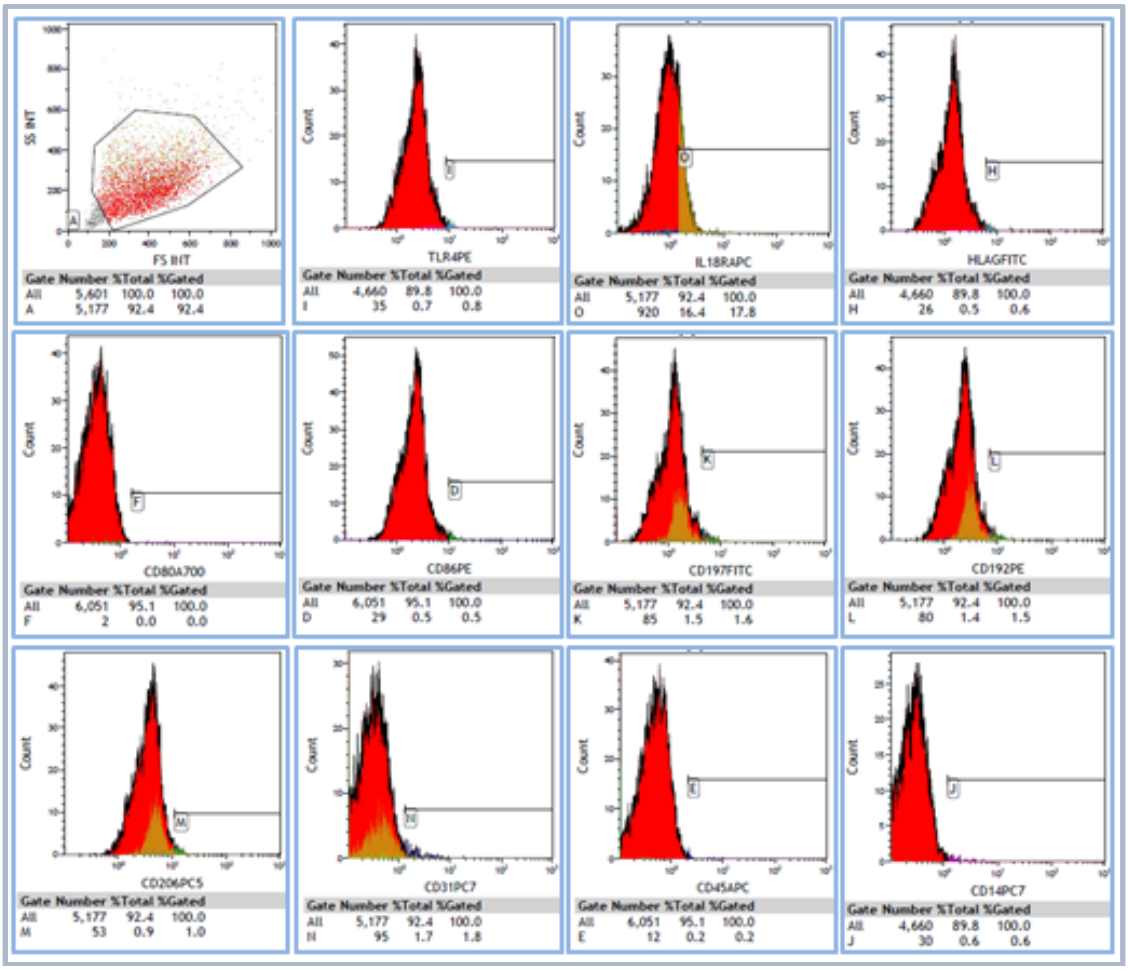
4.8.5. Uyarımsız MKH ve TNF-alfa ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçları



Resim 4.32. Uyarımsız MKH ve TNF-α ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.32'de şematize edildiği gibi uyarımsız MKH ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültür grubunun uyarımsız MKH ve ile TNF-α prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası, insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.70'de, daha önceki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi uyarımsız MKH'ların ve transvel kültürü sonrası inserteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.30'da ve bar grafiği Şekil 4.71'de verilmiştir.

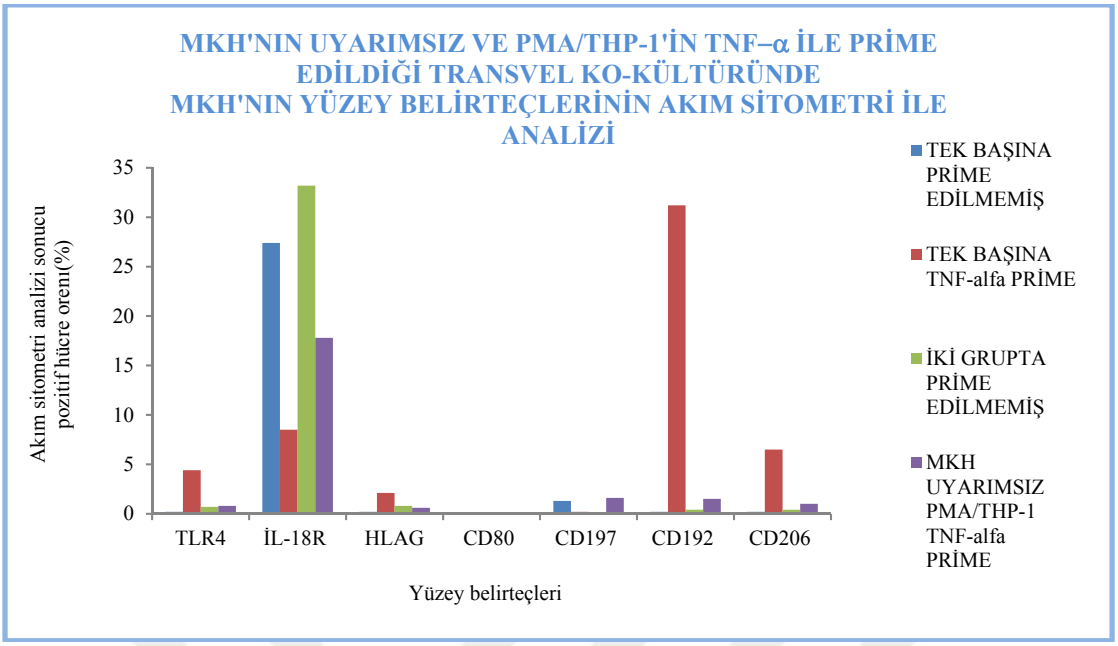
Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde TLR4, HLAG, CD80, CD197 ve CD206'nın bütün gruplarda negatif olduğu, CD192'nin sadece tek başına prime grupta (%31,2) eksprese edilirken transvel ko-kültürü sonrası negatifleştiği, IL18R'nün tek başına prime grupta negatifken tek başına uyarımsız (%27,4) grupta pozitif olduğu, transvel ko-kültüründe de prime grupta (%33,2) uyarımsız gruba göre (%17,8) daha yüksek olduğu, CD86 sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi ve negatif olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.70. Uyarımsız MKH ve TNF-α ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

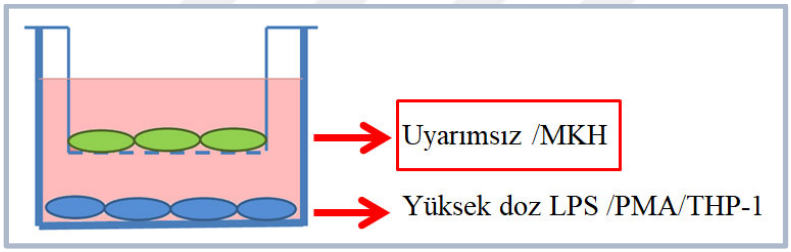
Çizelge 4.30. Uyarımsız MKH ve TNF-α ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	MKH			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA TNF-α PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	MKH UYARIMSIZ PMA/THP-1 TNF-α PRİME
TLR4	0,2	4,4	0,7	0,8
İL-18R	27,4	8,5	33,2	17,8
HLAG	0,2	2,1	0,8	0,6
CD80	0,1	0,1	0	0
CD86	(-)	(-)	0,2	0,5
CD197	1,3	0,2	0,1	1,6
CD192	0,2	31,2	0,4	1,5
CD206	0,2	6,5	0,4	1



Şekil 4.71. Uyarımsız MKH ve TNF-α ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

4.8.6. Uyarımsız MKH ve yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçları

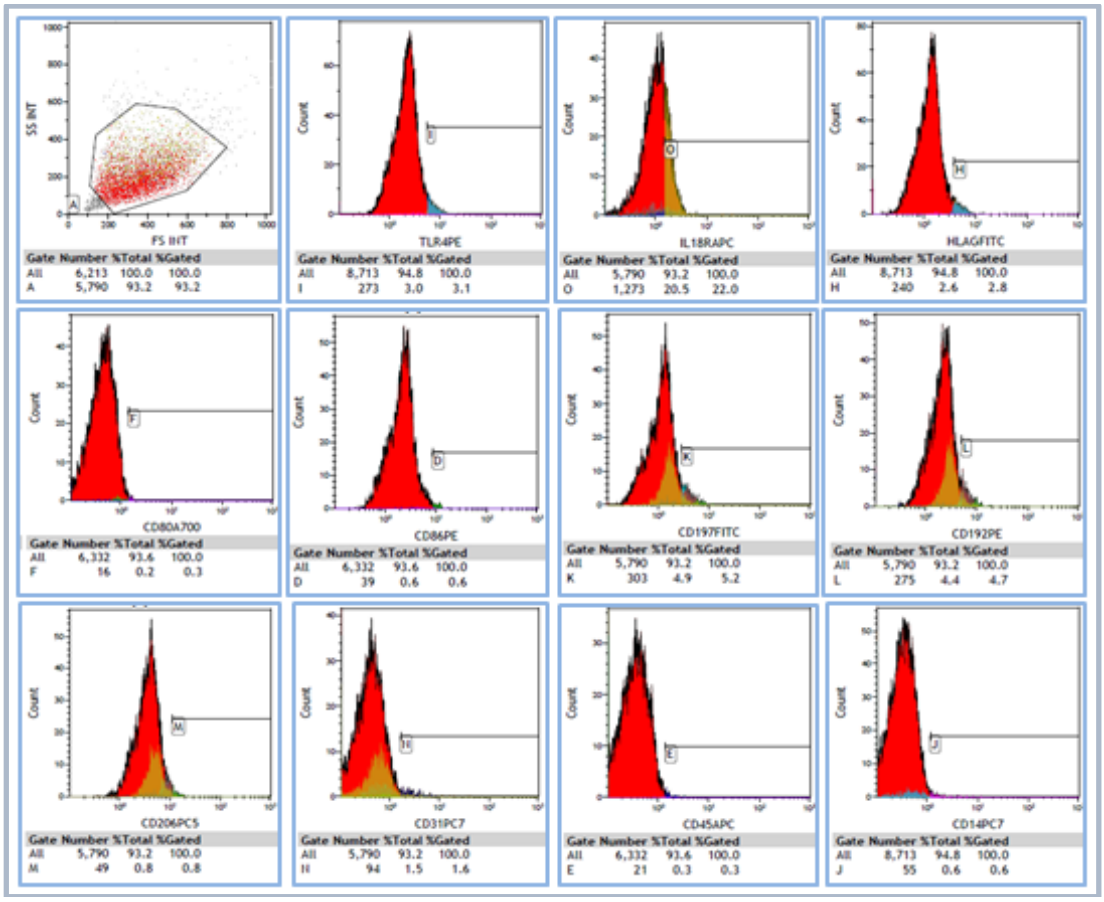


Resim 4.33. Uyarımsız MKH ve yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.33'de şematize edildiği gibi uyarımsız MKH ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültür grubunun uyarımsız MKH ve yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası, insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun histogram grafiği Şekil 4.72'de, daha önceki bölümde dot plot görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi uyarımsız MKH'ların ve transvel kültürü sonrası inserteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.31'de ve bar grafiği Şekil 4.73'de verilmiştir.

Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde TLR4, HLAG, CD80, CD197, CD192 ve CD206'nın bütün gruplarda negatif olduğu, İL-18R'nün tek başına prime

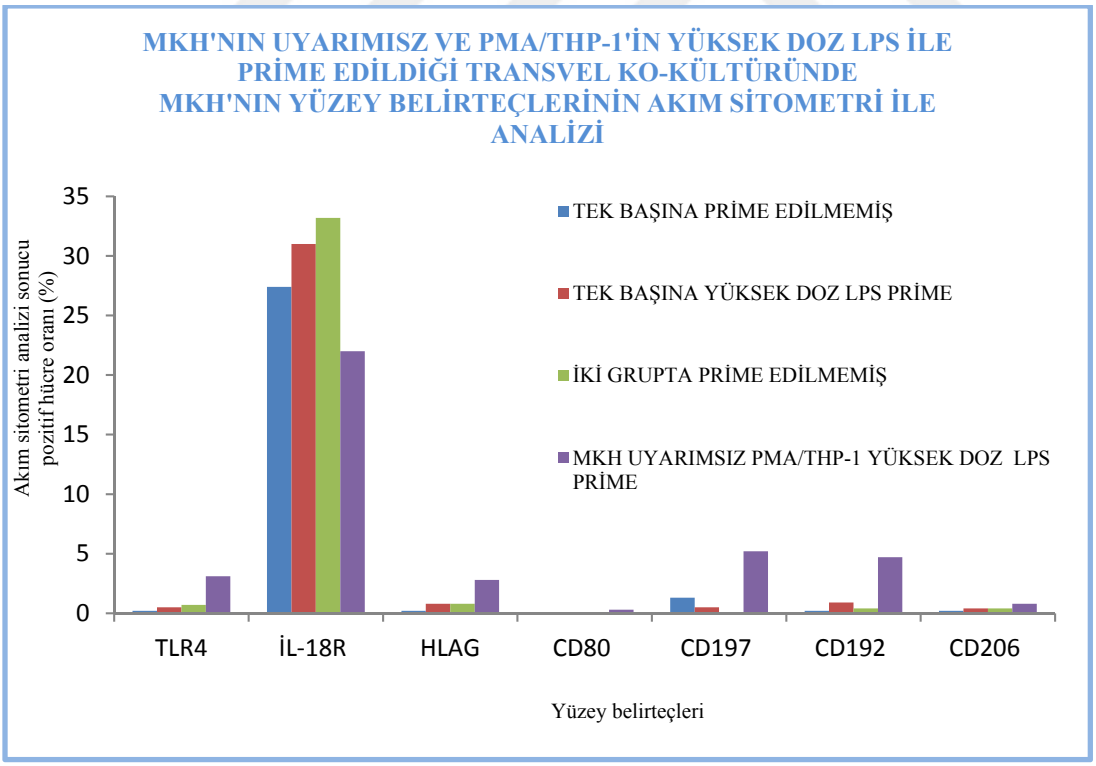
grupta (%31), tek başına uyarımsız (%27,4) transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta (%33,2) pozitif olduğu ve transvel ko-kültürü sonrası prime grupta (%22) ise ekspresyonun hafif derecede azaldığı, CD86 sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi ve negatif olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.72. Uyarımsız MKH ve yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

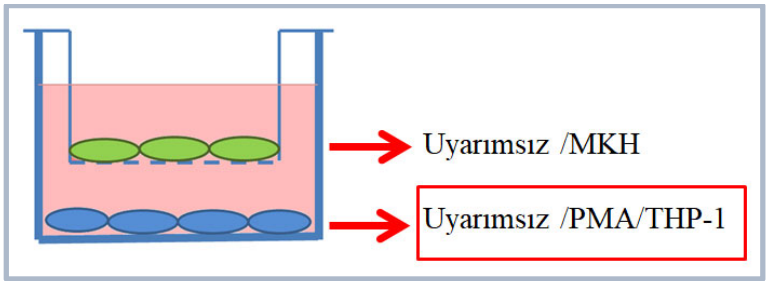
Çizelge 4.31. Uyarımsız MKH ve yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	MKH			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜSONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA YÜKSEK DOZ LPS PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	MKH UYARIMSIZ PMA/THP-1 YÜKSEK DOZ LPS PRİME
TLR4	0,2	0,5	0,7	3,1
İL-18R	27,4	31	33,2	22
HLAG	0,2	0,8	0,8	2,8
CD80	0,1	0,1	0	0,3
CD86	(-)	(-)	0,2	0,6
CD197	1,3	0,5	0,1	5,2
CD192	0,2	0,9	0,4	4,7
CD206	0,2	0,4	0,4	0,8



Şekil 4.73. Uyarımsız MKH ve yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

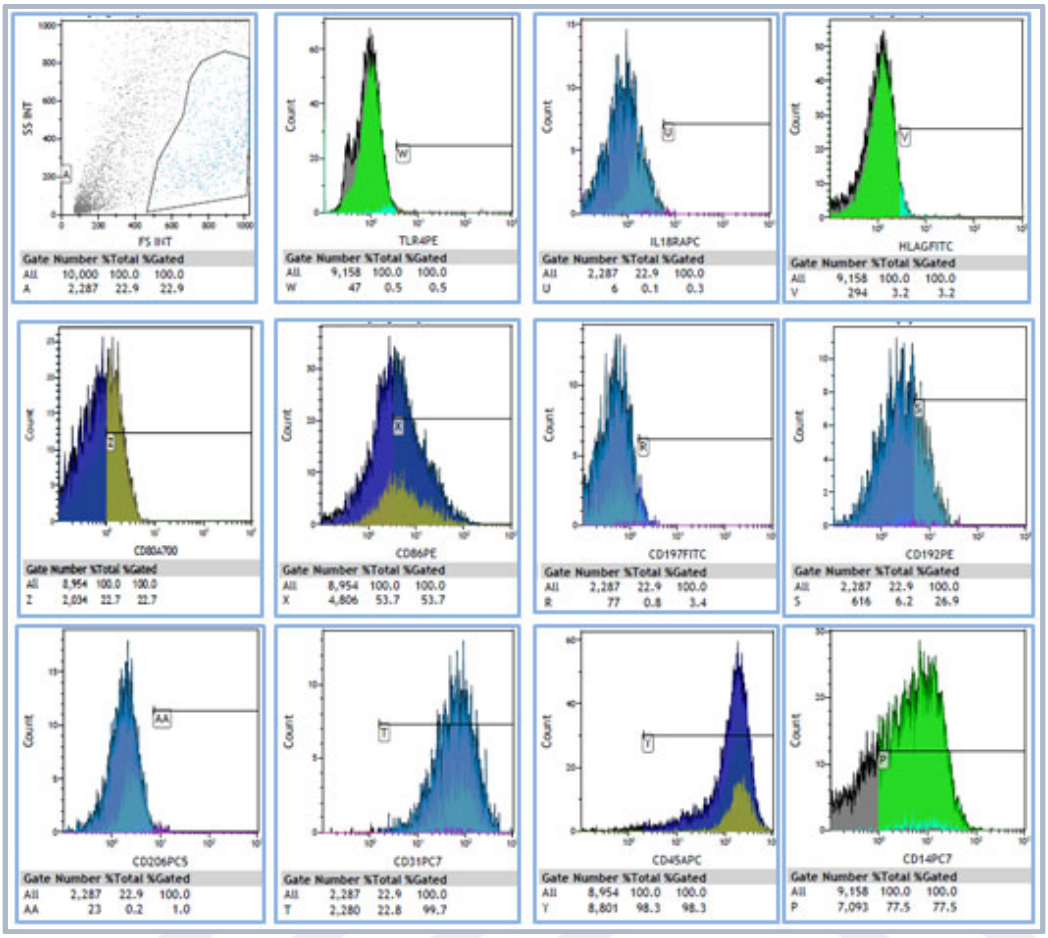
4.8.7. Uyarımsız MKH'lerin ve prime PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubundaki tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçları



4.34. İki grubunda uyarımsız olduğu transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.34'de şematize edildiği gibi uyarımsız MKH'ların ve prime PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültür grubunun kontrolü olarak yapılan uyarımsız PMA/THP-1 ve uyarımsız MKH'lerin transvel kültürü sonrası, tabandaki uyarımsız PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.74'de, daha önceki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi uyarımsız PMA/THP-1'ların ve ko-kültür grubunun kontrol olan uyarımsız PMA/THP-1 ve uyarımsız MKH'lerin transvel kültürü sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerın akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.32'de ve bar grafiği Şekil 4.75'de verilmiştir.

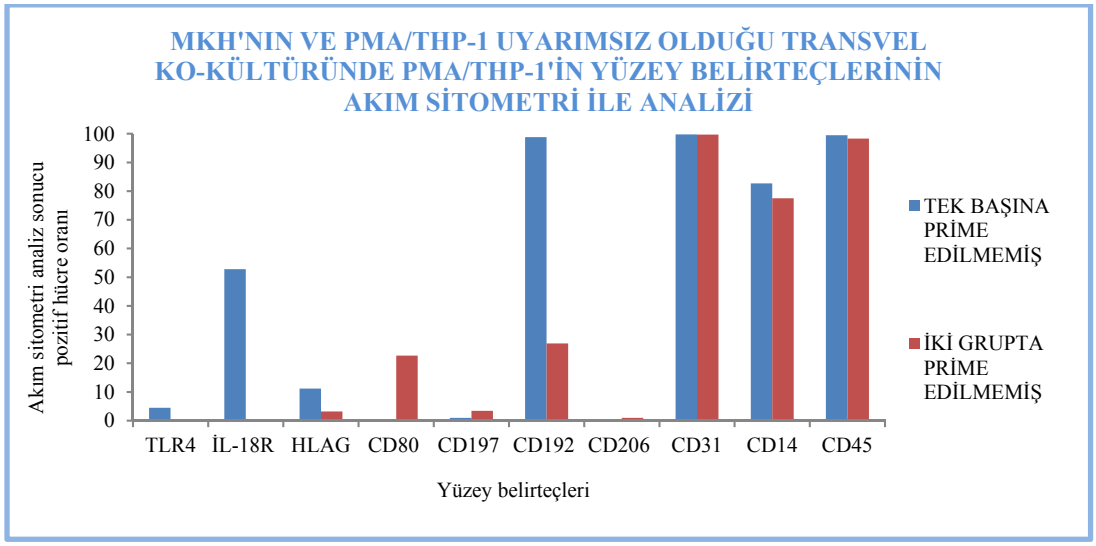
Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde TLR4, CD197 ve CD206'nın tek başına ve transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta negatif olduğu, İL-18R tek başına uyarımsız grupta eksprese edilirken (%52,8) transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta negatifleştiği, HLAG'nin sadece tek başına prime edilmemiş grupta çok hafif düzeyde eksprese edildiği, CD80'nin tek başına uyarımsız grupta negatifken transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta eksprese edildiği (%22,7), CD192'nin tek başına uyarımsız grupta yüksek düzeyde eksprese edilirken (%98,8) transvel ko-kültürü sonrası belirgin düzeyde ekspresyonun azaldığı (%26,9), CD31'nin her iki grupta da %100 oranında eksprese edildiği, CD14 tek başına uyarımsız grupta (%82,7) transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız gruba göre (%77,5) daha yüksek oranda eksprese edildiği, CD45'in tek başına uyarımsız grupta (%99,5) ve transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta (%98,3) yüksek düzeyde eksprese edildiği bulunmuştur.



Şekil 4.74. Uyarımsız MKH'lerin ve prime PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubu olan iki grubunda uyarımsız olduğu örnekteki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

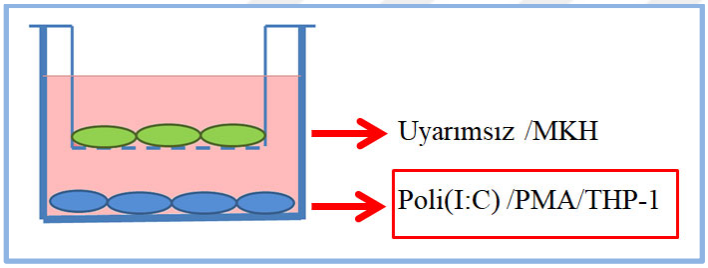
Çizelge 4.32. Uyarımsız MKH'lerin ve prime PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubu olan iki grubunda uyarımsız olduğu örnekteki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	PMA/THP-1	
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ
TLR4	4,5	0,5
İL-18R	52,8	0,3
HLAG	11,2	3,2
CD80	0	22,7
CD197	1	3,4
CD192	98,8	26,9
CD206	0,5	1
CD31	99,8	99,7
CD14	82,7	77,5
CD45	99,5	98,3



Şekil 4.75. Uyarımsız MKH'lerin ve prime PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubu olan iki grubunda uyarımsız olduğu örnekteki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

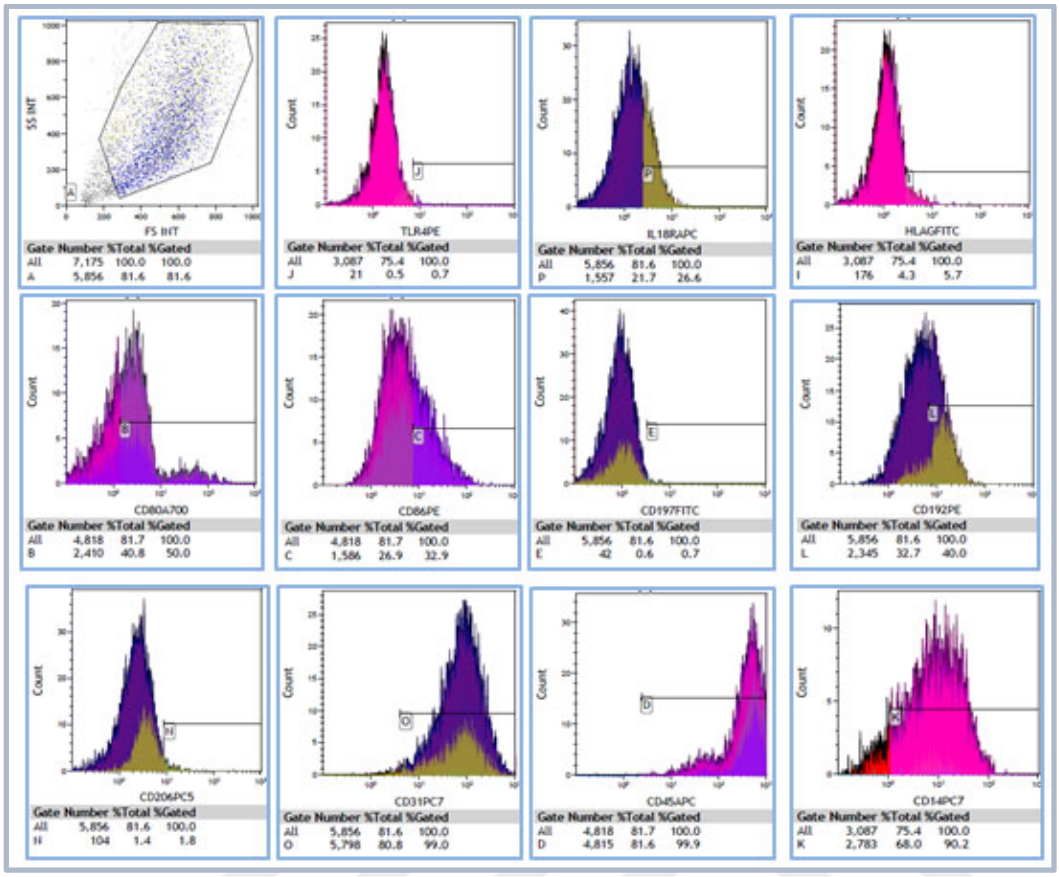
4.8.8. Uyarımsız MKH ve poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçları



Resim 4.35. Uyarımsız MKH ve poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.35'de şematize edildiği gibi uyarımsız MKH ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültür grubunun uyarımsız MKH ile poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası, tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.76'da daha önce ki bölümde dot plot görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi poli(I:C) uyarımlı PMA/THP-1 ve transvel kültürü sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.33'de ve bar grafiği Şekil 4.77'de verilmiştir. Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde TLR4, CD197 ve CD206'nın bütün gruplarda negatif olduğu, İL-18R'nün tek başına prime edilmemiş grupta pozitifken (%52,8) transvel ko-kültürü sonrası prime edilmemiş grupta

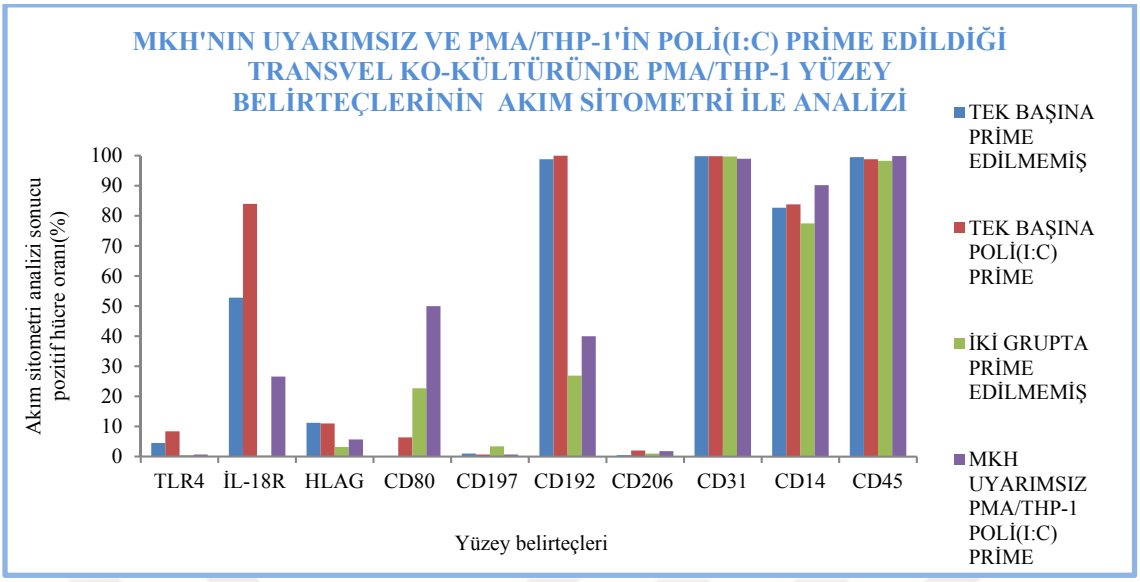
negatifleştiği, tek başına prime grupta yüksek düzeyde eksprese edilirken (%84) transvel ko-kültürü sonrası prime grupta belirgin derecede ekspresyonun azaldığı (%26,6), HLAG'nin tek başınayken uyarımsız ve prime grubunda hafif düzeyde eksprese edilirken (%11) transvel ko-kültürü sonrası negatifleştiği, CD80'nin tek başınayken hem uyarımsız hem de prime grupta negatifken, transvel ko-kültürü sonrasında prime grupta (%50) uyarımsız gruba (%22,7) göre daha fazla eksprese edildiği, CD86 sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi, prime gruba da (%32) uyarımsız gruba göre (%53,7) daha düşük düzeyde eksprese edildiği, CD192'nin tek başınayken hem uyarımsız (%98,8) hem de prime (%100) yüksek düzeyde eksprese edilirken transvel ko-kültürü sonrası ekspresyonun uyarımsız grupta (%26,9) prime gruba göre (%40) daha belirgin olmak üzere ekspresyonun azaldığı, CD31'in tüm gruplarda %98 in üzerinde olduğu, CD14'ün tek başına iken uyarımsız (%82,7) ve prime grubunda (%83,8) yüksek düzeyde eksprese edildiği, transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta %77,5 oranında prime grubunda ise %90,2 oranında olduğu, CD45'in tek başına iken her iki grupta da %98 üzerinde transvel ko-kültüründen sonra ise benzer şekilde %98 üzerinde eksprese edildiği bulunmuştur.



Şekil 4.76. Uyarımsız MKH ve poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

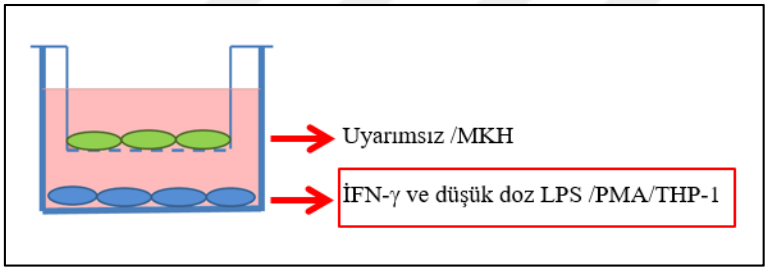
Çizelge 4.33. Uyarımsız MKH ve poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	PMA/THP-1			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA POLİ(I:C) PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	MKH UYARIMSIZ PMA/THP-1 POLİ(I:C) PRİME
TLR4	4,5	8,4	0,5	0,7
İL-18R	52,8	84	0,3	26,6
HLAG	11,2	11	3,2	5,7
CD80	0	6,4	22,7	50
CD86	(-)	(-)	53,7	32,9
CD197	1	0,7	3,4	0,7
CD192	98,8	100	26,9	40
CD206	0,5	2	1	1,8
CD31	99,8	99,8	99,7	99
CD14	82,7	83,8	77,5	90,2
CD45	99,5	98,8	98,3	99,9



Şekil 4.77. Uyarımsız MKH ve poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

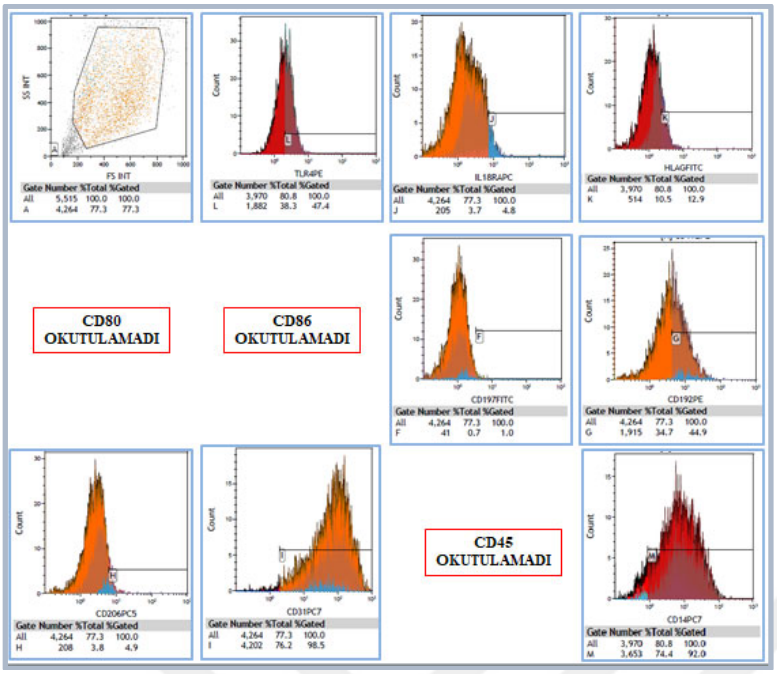
4.8.9. Uyarımsız MKH ve İFN-gama ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçları



Resim 4.36. Uyarımsız MKH ve İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.36'da şematize edildiği gibi uyarımsız MKH ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültür grubunun uyarımsız MKH ile İFN-γ ve düşük doz LPS prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası, tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.78'de, daha önceki bölümde dot plot görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 ve transvel kültürü sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.34'de ve bar grafiği Şekil 4.79'da verilmiştir.

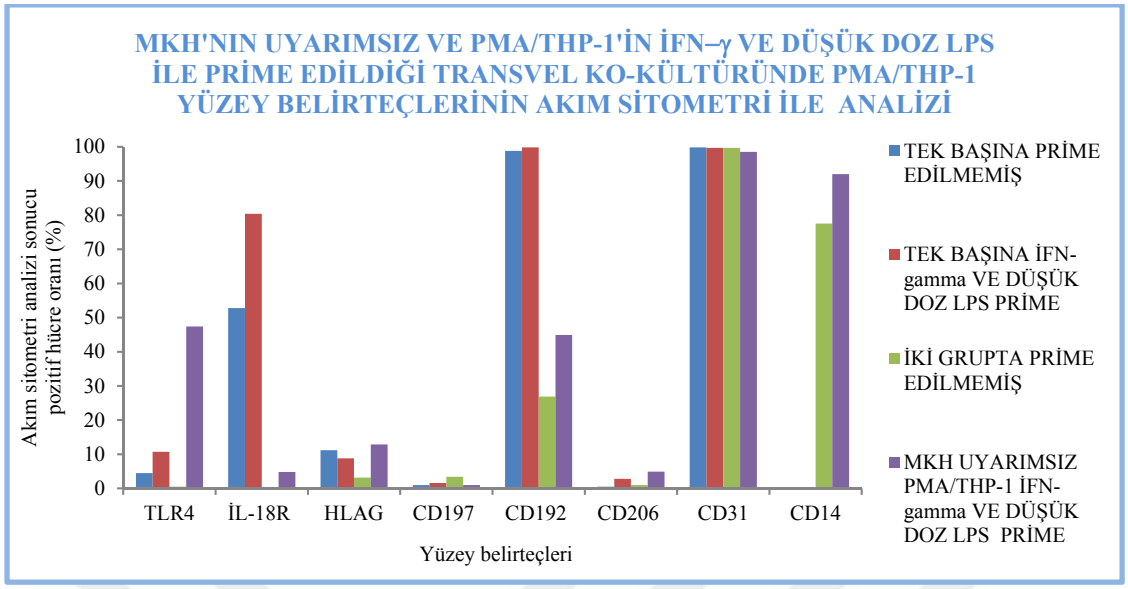
Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde CD197 ve CD206'nın bütün gruplarda negatif olduğu,TLR4'ün tek başına prime grupta çok hafif düzeyde eksprese edilirken (%10,7) transvel ko-kültürü sonrası prime grupta çok belirgin derecede ekspresyonun arttırdığı (%47,4), İL-18R'nün tek başına prime edilmiş grupta (%80,4) ve prime edilmemiş grupta pozitifken (%52,8) transvel ko-kültürü sonrası negatifleştiği, HLAG'nin tek başınayken uyarımsız grubunda (%11,2) transvel ko-kültürü sonrası prime grupta (%12,9) hafif düzeyde eksprese edilirken diğer gruplarda negatif olduğu, CD80'nin tek başınayken uyarımsız grupta negatifken, prime edildiğinde %21 oranında eksprese edildiği, transvel ko-kültürü sonrasında prime grupta okutulamadı. Ancak uyarımsız grupta (%22,7) oranında pozitifti, CD86 sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi, prime grupta örnek okutulamadı uyarımsız grupta %53,7 oranında ekprese edildiği, CD192'nin tek başınayken hem uyarımsız (%98,8) hem de prime (%99,8) yüksek düzeyde eksprese edilirken transvel ko-kültürü sonrası ekspresyonun uyarımsız grupta (%26,9) prime gruba göre (%44,9) daha belirgin olmak üzere ekspresyonun azaldığı, CD31'in tüm gruplarda %99 in üzerinde olduğu, CD14'ün tek başına iken uyarımsız (%82,7) ve prime grubunda (%95,3) yüksek düzeyde eksprese edildiği, transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta %77,5 oranında prime grubunda ise %92 oranında olduğu, CD45'in tek başına uyarımsız grupta %99,5 transvel ko-kültüründen sonra ise prime grubu okutulamadı. Uyarımsız grupta ise %98,3 oranında eksprese edildiği bulunmuştur.



Şekil 4.78. Uyarımsız MKH ve İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

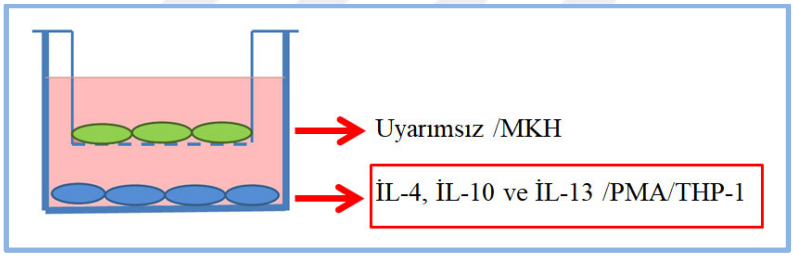
Çizelge 4.34. Uyarımsız MKH ve İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	PMA/THP-1			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜSONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA İFN-γ VE DÜŞÜK DOZ LPS PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	MKH UYARIMSIZ PMA/THP-1 İFN-γ VE DÜŞÜK DOZ LPS PRİME
TLR4	4,5	10,7	0,5	47,4
İL-18R	52,8	80,4	0,3	4,8
HLAG	11,2	8,8	3,2	12,9
CD80	0	21	22,7	okutulamadı
CD86	(-)	(-)	53,7	okutulamadı
CD197	1	1,6	3,4	1
CD192	98,8	99,8	26,9	44,9
CD206	0,5	2,8	1	4,9
CD31	99,8	99,7	99,7	98,5
CD14	82,7	95,3	77,5	92
CD45	99,5	99,2	98,3	okutulamadı



Şekil 4.79. Uyarımsız MKH ve İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

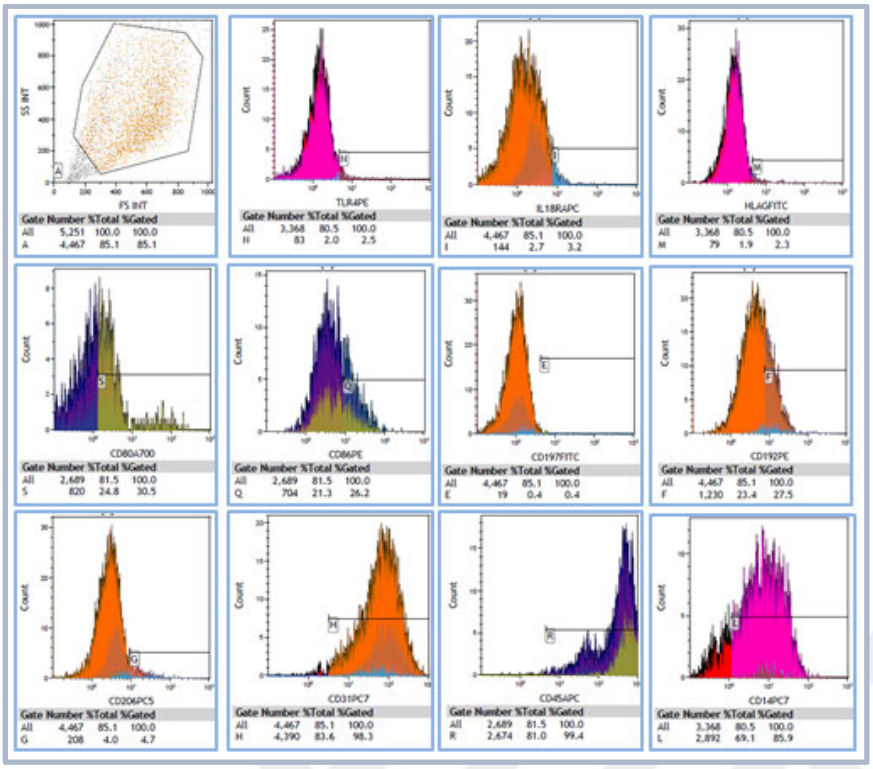
4.8.10. Uyarımsız MKH ve İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçları



Resim 4.37.Uyarımsız MKH ve İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.37'da şematize edildiği gibi uyarımsız MKH ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültür grubunun uyarımsız MKH ile İL-4, İL-10 ve İL-13 prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası, tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.80'de, daha önceki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi İL-4, İL-10 ve İL-13 prime PMA/THP-1 ve transvel kültürü sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.35 ve bar grafiği Şekil 4.81'de verilmiştir.Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde CD197 ve CD206'nın bütün gruplarda negatif olduğu, TLR4'ün sadece tek başına prime

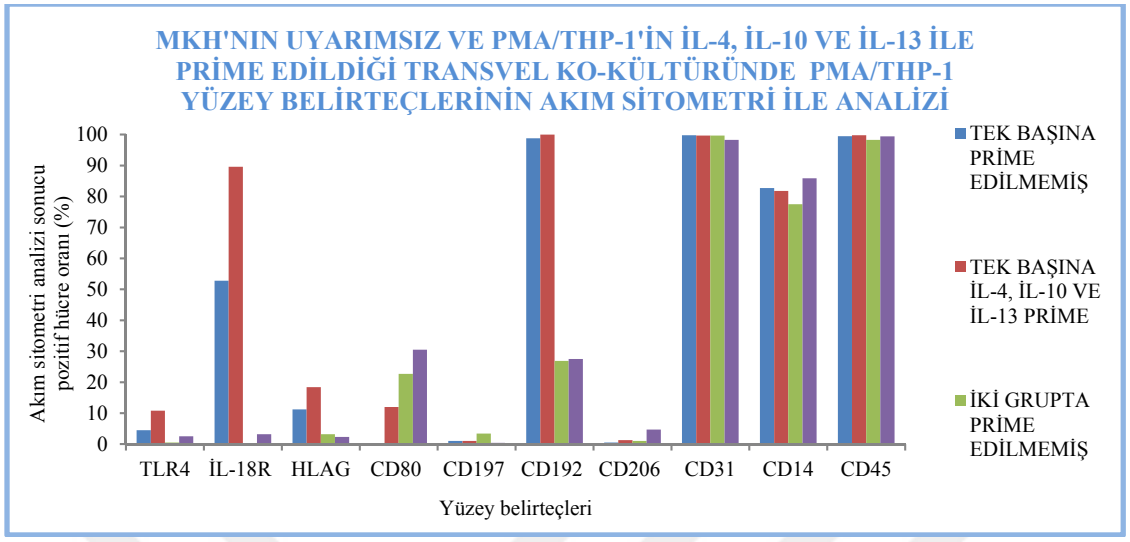
grupta çok düşük düzeyde eksprese edildiği (%10,8), İL-18R'nün tek başına prime edilmiş grupta (%89,6) ve prime edilmemiş grupta pozitifken (%52,8) transvel ko-kültürü sonrası negatifleştiği, HLAG'nin tek başınayken uyarımsız grubunda (%11,2) ve prime grupta (%18,4) eksprese edilirken transvel ko-kültürü sonrası negatifleştiği, CD80'nin tek başınayken uyarımsız grupta negatifken, prime edildiğinde %12 oranında eksprese edildiği, transvel ko-kültürü sonrasında prime grupta (%30,5) uyarımsız gruba (%22,7) göre daha fazla miktarda olmak üzere eksprese edildiği, CD86 sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi. Uyarımsız grupta (%53,7) prime gruba göre (%26,2) daha fazla eksprese edildiği, CD192'nin tek başınayken hem uyarımsız (%98,8) hem de prime (%100) yüksek düzeyde eksprese edilirken transvel ko-kültürü sonrası ekspresyonun uyarımsız grupta (%26,9) prime grupta (%27,5) belirgin düzeyde ekspresyonun azaldığı, CD31'in tüm gruplarda %98'in üzerinde olduğu, CD14'ün tek başına iken uyarımsız (%82,7) ve prime grubunda (%81,8) yüksek düzeyde eksprese edildiği, transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta %77,5 oranında prime grubunda ise %85,9 oranında olduğu, CD45'in tek başına uyarımsız grupta (%99,5) ve prime grupta (%99,8) transvel ko-kültüründen sonra uyarımsız grupta (%98,3) ve prime grupta (%99,4) yüksek düzeyde eksprese edildiği bulunmuştur.



Şekil 4.80. Uyarımsız MKH ve İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

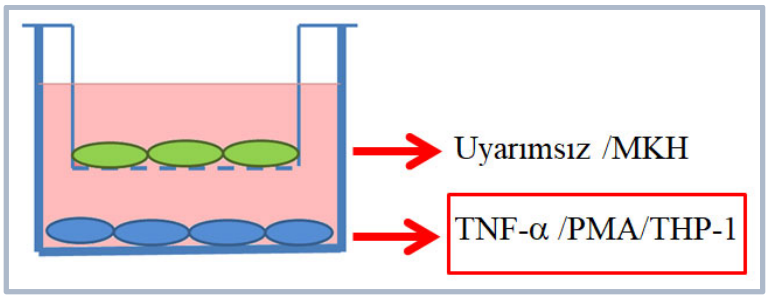
Çizelge 4.35. Uyarımsız MKH ve İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	PMA/THP-1			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA İL-4, İL-10 VE İL-13 PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	MKH UYARIMSIZ PMA/THP-1 İL-4, İL-10 VE İL-13 PRİME
TLR4	4,5	10,8	0,5	2,5
İL-18R	52,8	89,6	0,3	3,2
HLAG	11,2	18,4	3,2	2,3
CD80	0	12	22,7	30,5
CD86	(-)	(-)	53,7	26,2
CD197	1	1	3,4	0,4
CD192	98,8	100	26,9	27,5
CD206	0,5	1,3	1	4,7
CD31	99,8	99,7	99,7	98,3
CD14	82,7	81,8	77,5	85,9
CD45	99,5	99,8	98,3	99,4



Şekil 4.81. Uyarımsız MKH ve İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

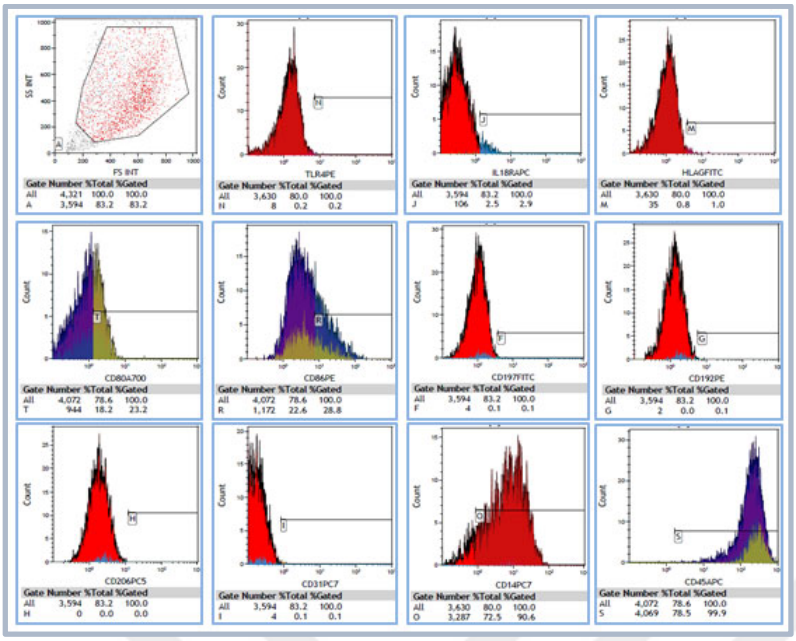
4.8.11. Uyarımsız MKH ve TNF-alfa ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçları



Resim 4.38. Uyarımsız MKH ve TNF-α ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.38'de şematize edildiği gibi uyarımsız MKH ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültür grubunun uyarımsız MKH ile TNF-α ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü

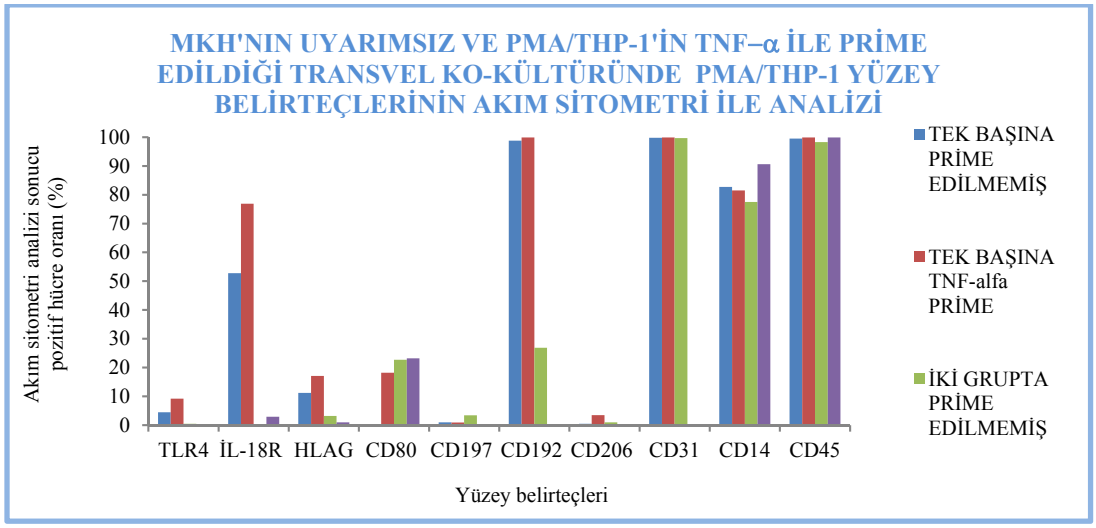
sonrası, tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.82'de, daha önce ki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi TNF-α ile prime PMA/THP-1 ve transvel kültürü sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.36'da ve bar grafiği Şekil 4.83'de verilmiştir. Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde TLR4, CD197 ve CD206'nın bütün gruplarda negatif olduğu, İL-18R'nün tek başına prime edilmiş grupta (%76,9) ve prime edilmemiş grupta pozitifken (%52,8) transvel ko-kültürü sonrası negatifleştiği, HLAG'nin tek başına uyarımsız grubunda (%11,2) ve prime grupta (%17,1) eksprese edilirken transvel ko-kültürü sonrası negatifleştiği, CD80'nin tek başınayken uyarımsız grupta negatifken, prime edildiğinde %18,2 oranında eksprese edildiği, transvel ko-kültürü sonrasında prime grupta (%23,2) ve uyarımsız gruba (%22,7) eksprese edildiği, CD86 sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi. Uyarımsız grupta (%53,7) prime gruba göre (%28,8) daha fazla eksprese edildiği, CD192'nin tek başınayken hem uyarımsız (%98,8) hem de prime (%100) yüksek düzeyde eksprese edilirken transvel ko-kültürü sonrası ekspresyonun uyarımsız grupta (%26,9) ekspresyonu belirgin düzeyde düşerken prime grupta negatifleştiği, CD31'in transvel ko-kültürü sonrası prime grupta negatifken, diğer gruplarda %99'in üzerinde olduğu, CD14'ün tek başına iken uyarımsız (%82,7) ve prime grubunda (%81,5) yüksek düzeyde eksprese edildiği, transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta %77,5 oranında prime grubunda ise %90,6 oranında olduğu, CD45'in tek başına uyarımsız grupta (%99,5) ve prime grupta (%99,9) transvel ko-kültüründen sonra uyarımsız grupta (%98,3) ve prime grupta (%99,9) yüksek düzeyde eksprese edildiği bulunmuştur.



Şekil 4.82. Uyarımsız MKH ve TNF-α ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

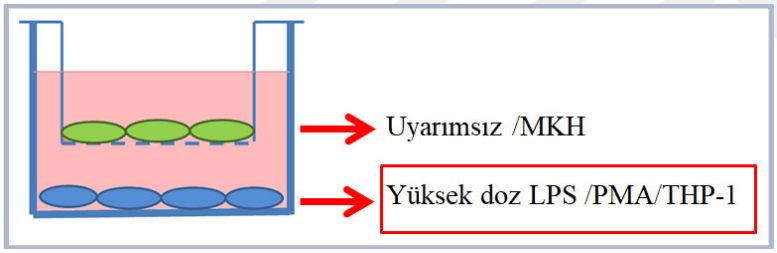
Çizelge 4.36. Uyarımsız MKH ve TNF-α ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	PMA/THP-1			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜSONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA TNF-α PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	MKH UYARIMSIZ PMA/THP-1 TNF-α PRİME
TLR4	4,5	9,2	0,5	0,2
İL-18R	52,8	76,9	0,3	2,9
HLAG	11,2	17,1	3,2	1
CD80	0	18,2	22,7	23,2
CD86	(-)	(-)	53,7	28,8
CD197	1	0,9	3,4	0,1
CD192	98,8	99,9	26,9	0,1
CD206	0,5	3,5	1	0
CD31	99,8	99,9	99,7	0
CD14	82,7	81,5	77,5	90,6
CD45	99,5	99,9	98,3	99,9



Şekil 4.83. Uyarımsız MKH ve TNF-α ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

4.8.12. Uyarımsız MKH ve yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçları

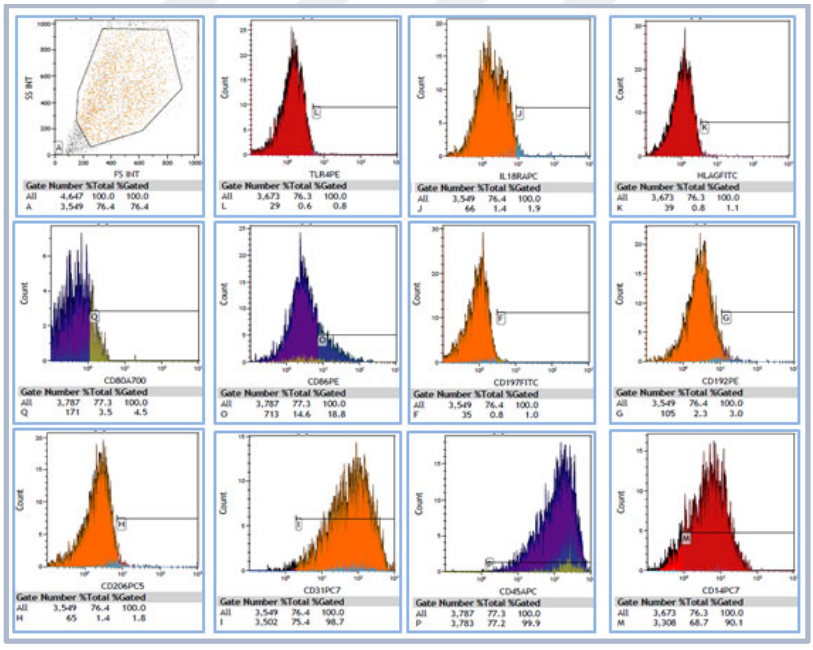


Resim 4.39. Uyarımsız MKH ve yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.39'da şematize edildiği gibi uyarımsız MKH ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültür grubunun uyarımsız MKH ve yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası, tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.84'de, daha önce ki bölümde dot plot görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 ve transvel kültürü sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.37'de ve bar grafiği Şekil 4.85'de verilmiştir.

Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde TLR4, CD197 ve CD206'nın bütün gruplarda negatif olduğu, İL-18R'nün tek başına prime edilmiş grupta

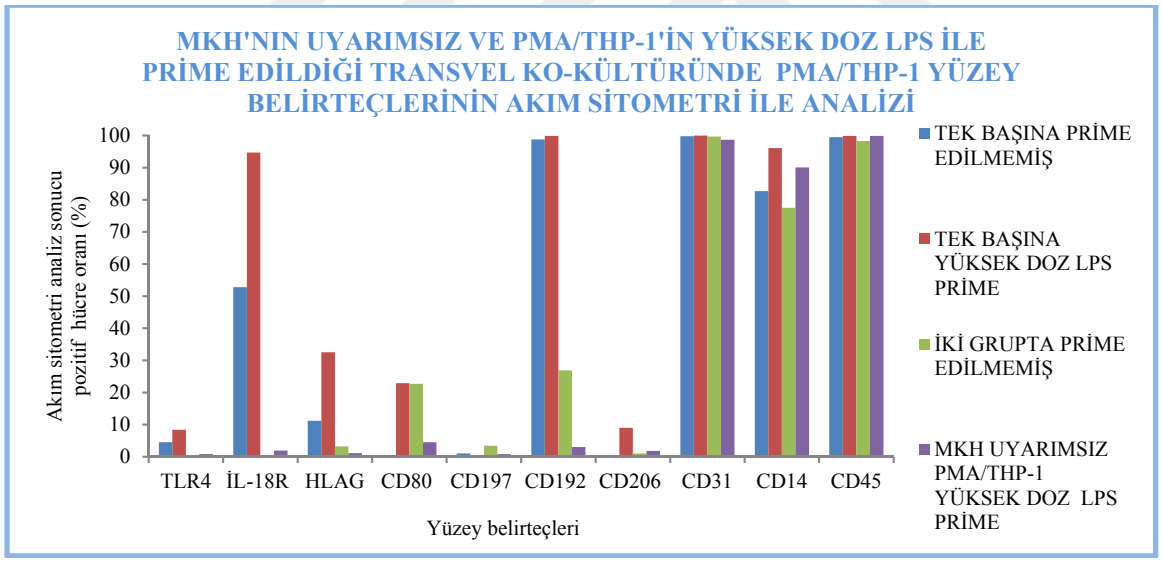
(%94,7) ve prime edilmemiş grupta pozitifken (%52,8) transvel ko-kültürü sonrası negatifleştiği, HLAG'nin tek başına uyarımsız grubunda (%11,2) ve prime grupta (%32,5) eksprese edilirken transvel ko-kültürü sonrası negatifleştiği, CD80'nin tek başınayken uyarımsız grupta negatifken, prime edildiğinde %22,9 oranında eksprese edildiği, transvel ko-kültürü sonrasında uyarımsız gruba (%22,7) eksprese edilmeye devam ederken prime grupta negatifleştiği, CD86 sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi. Uyarımsız grupta (%53,7) eksprese edilirken prime grupta negatifleştiği, CD192'nin tek başınayken hem uyarımsız (%98,8) hem de prime (%99,9) yüksek düzeyde eksprese edilirken transvel ko-kültürü sonrası ekspresyonun uyarımsız grupta ekspresyonu belirgin düzeyde düşerken prime grupta negatifleştiği, CD31'in transvel ko-kültürü sonrası prime grupta negatifken, diğer gruplarda %99'un üzerinde olduğu, CD14'ün tek başına iken uyarımsız (%82,7) ve prime grubunda (%96,1) yüksek düzeyde eksprese edildiği, transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta %77,5 oranında prime grubunda ise %90,1 oranında olduğu, CD45'in tek başına uyarımsız grupta (%99,5) ve prime grupta (%99,9) transvel ko-kültüründen sonra uyarımsız grupta (%98,3) ve prime grupta (%99,9) yüksek düzeyde eksprese edildiği bulunmuştur.



Şekil 4.84. Uyarımsız MKH ve yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

Çizelge 4.37. Uyarımsız MKH ve yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

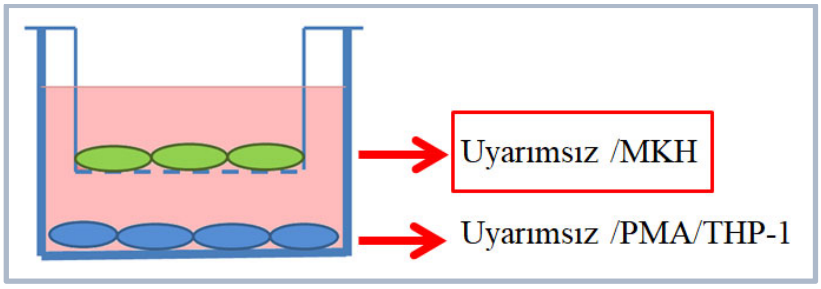
	PMA/THP-1			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA YÜKSEK DOZ LPS PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	MKH UYARIMSIZ PMA/THP-1 YÜKSEK DOZ LPS PRİME
TLR4	4,5	8,4	0,5	0,8
İL-18R	52,8	94,7	0,3	1,9
HLAG	11,2	32,5	3,2	1,1
CD80	0	22,9	22,7	4,5
CD86	(-)	(-)	53,7	1,8
CD197	1	0,3	3,4	0,8
CD192	98,8	99,9	26,9	3
CD206	0,5	9	1	1,8
CD31	99,8	100	99,7	98,7
CD14	82,7	96,1	77,5	90,1
CD45	99,5	99,9	98,3	99,9



Şekil 4.85. Uyarımsız MKH ve yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

4.9. Prime MKH'lerin ve Uyarımsız PMA/THP-1'lerin Transvel Kültürü Sonrası İmmün Fenotipik Olarak Değerlendirilme Sonuçları

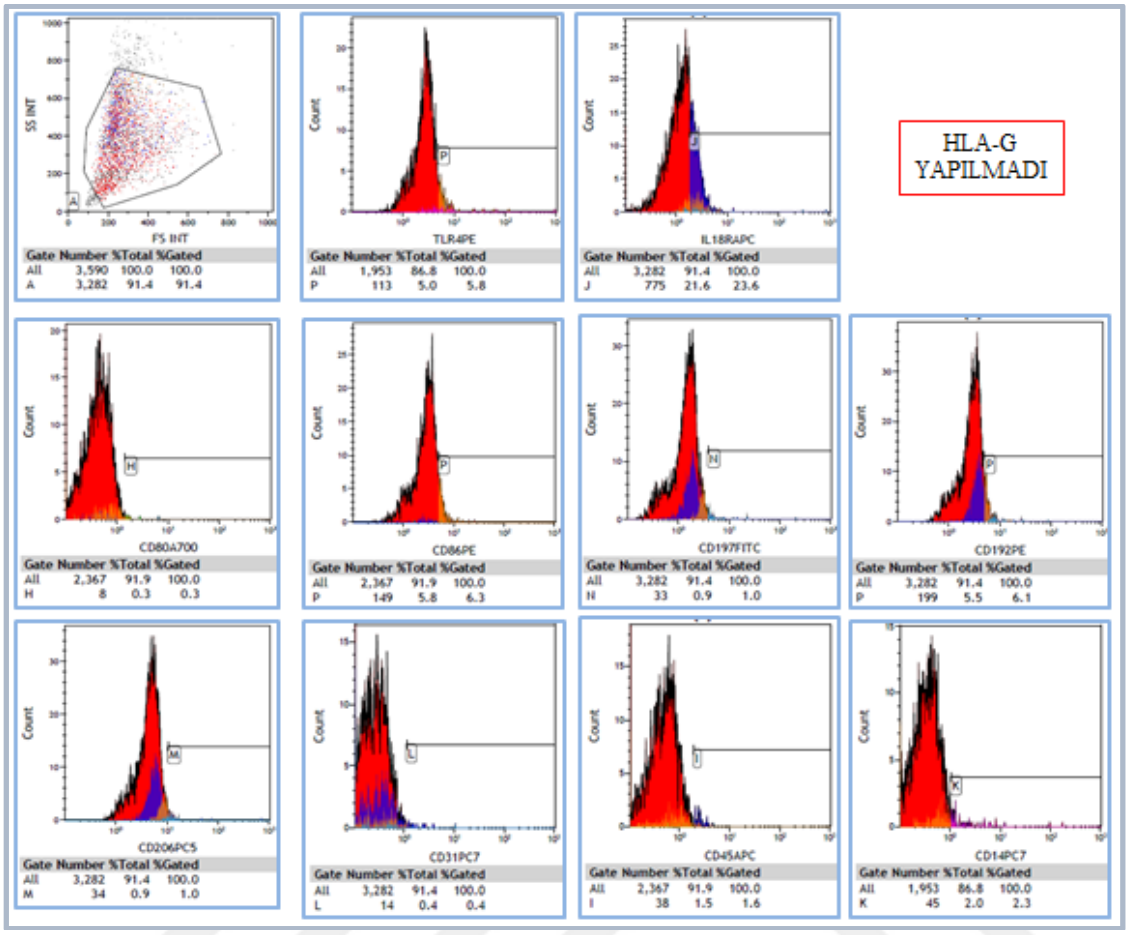
4.9.1. Prime MKH'lerin ve uyarımsız PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubundaki insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçları



Resim 4.40. Her iki hücre grubunun da uyarımsız olduğu transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.40'da şematize edildiği gibi prime MKH'lerin ve uyarımsız PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültür grubunun kontrolü olarak yapılan uyarımsız PMA/THP-1 ve uyarımsız MKH'ların transvel ko-kültürü sonrası, insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.86'da daha önceki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi uyarımsız MKH'ların ve ko-kültür grubunun kontrol olan uyarımsız PMA/THP-1 ve uyarımsız MKH'ların transvel kültürü sonrası inserteki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.38'de ve bar grafiği Şekil 4.87'de verilmiştir.

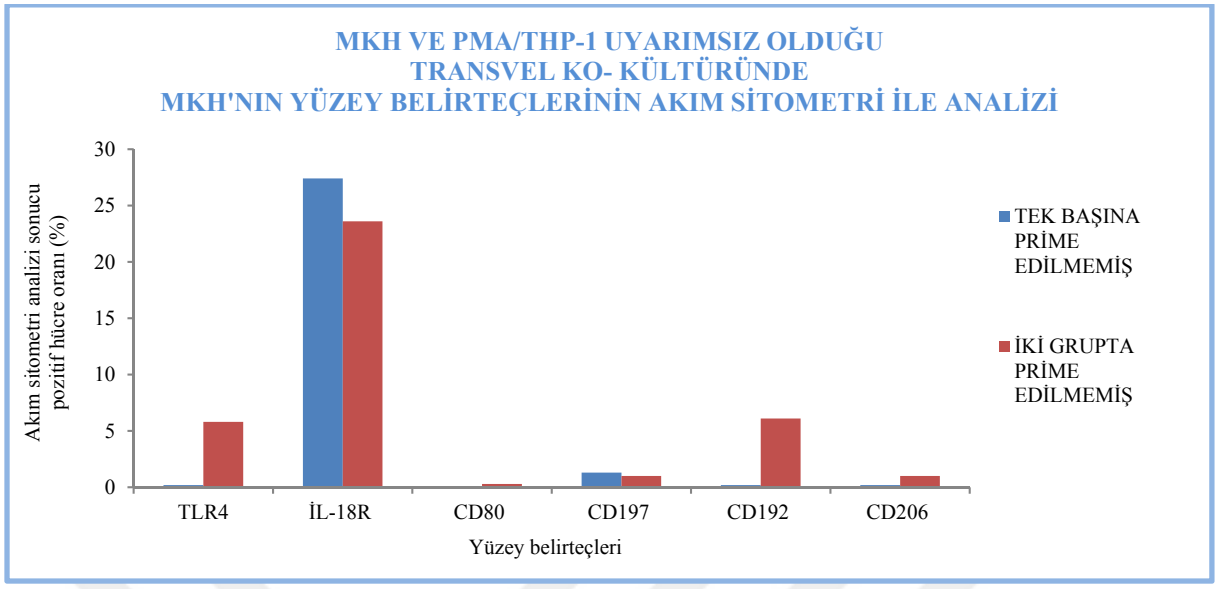
Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde TLR4, CD80, CD197, CD192 ve CD206 tüm gruplarda negatif olduğu, HLAG'nin sadece tek başına uyarımsız grupta yapıldı ve negatif olduğu, CD86'nın sadece transvel sonrası yapıldı ve negatif olduğu, İL-18R transvel öncesi (%27,4) ve sonrasında (%23,6) aynı şekilde düşük oranda eksprese edildiği bulunmuştur.



Şekil 4.86. Prime MKH'lerin ve uyarımsız PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubunu oluşturan her iki hücre grubunun da uyarımsız olduğu örnekte MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

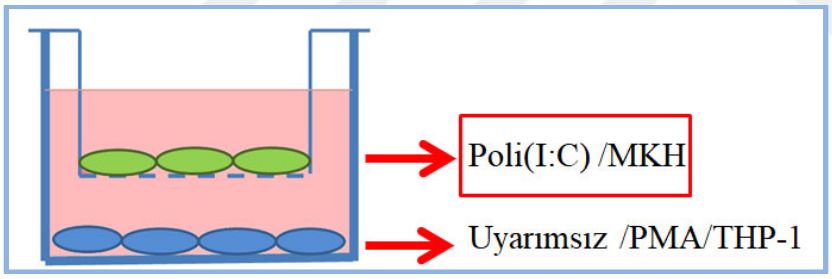
Çizelge 4.38. Prime MKH'lerin ve uyarımsız PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubunu oluşturan her iki hücre grubunun da uyarımsız olduğu örnekte MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	MKH	
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ
TLR4	0,2	5,8
İL-18R	27,4	23,6
HLAG	0,2	(-)
CD80	0,1	0,3
CD86	(-)	6,3
CD197	1,3	1
CD192	0,2	6,1
CD206	0,2	1



Şekil 4.87. Prime MKH'lerin ve uyarımsız PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubunu oluşturan her iki hücre grubunun da uyarımsız olduğu örnekte MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

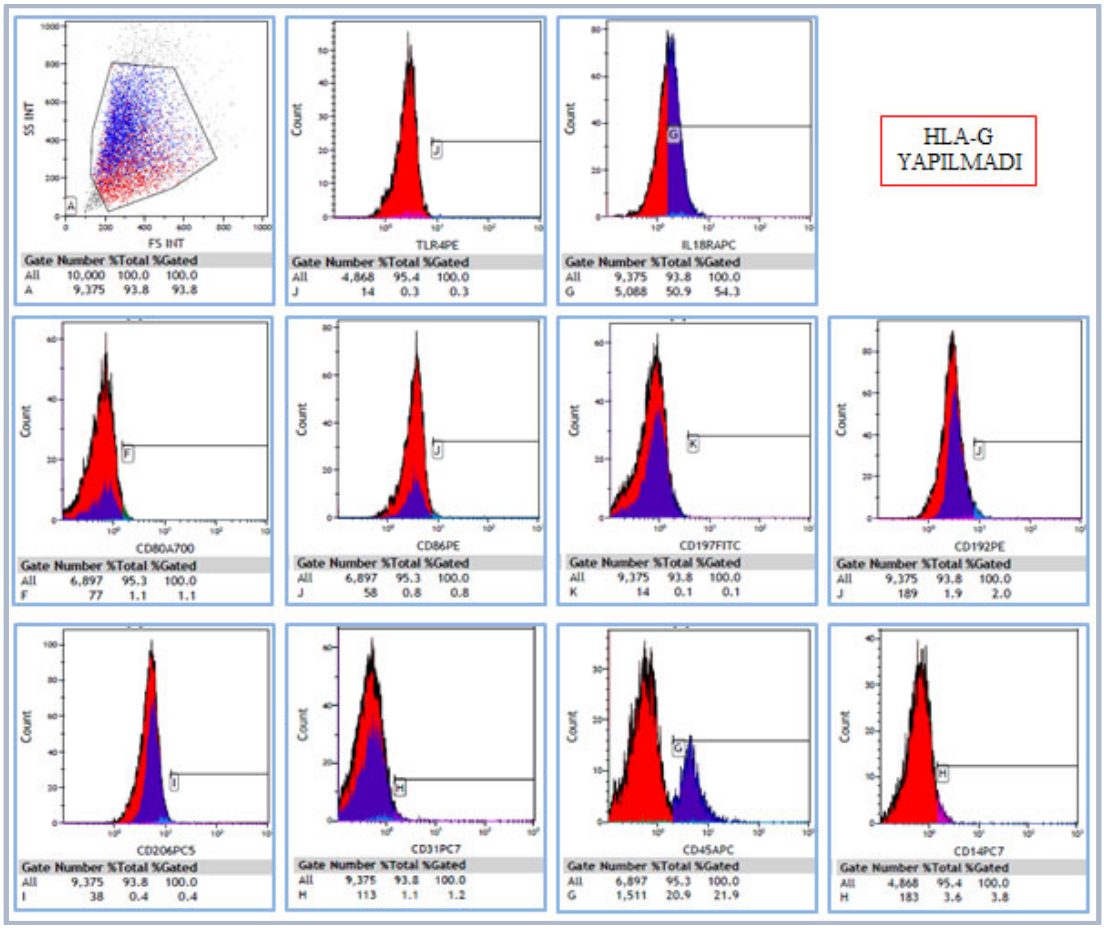
4.9.2. Poli(I:C) ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçları



Resim 4.41. Poli(I:C) ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.41'de şematize edildiği gibi prime MKH ile uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültür grubunun poli(I:C) ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası, insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.88'de daha önceki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi poli(I:C) ile prime MKH'ların ve transvel kültürü sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.39'de ve bar grafiği Şekil 4.59'da verilmiştir.

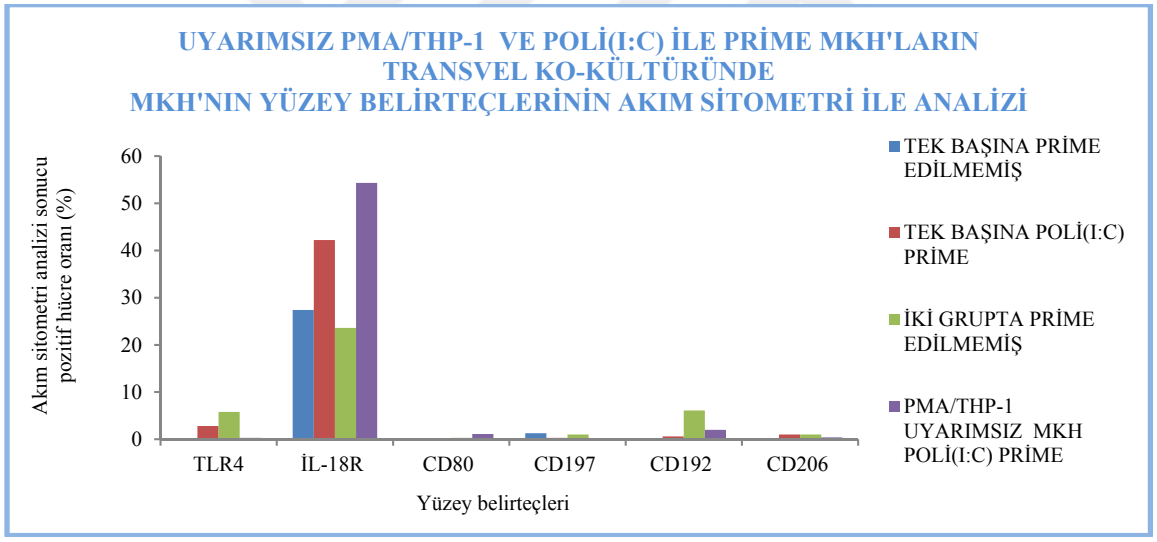
Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde TLR4, CD80, CD197, CD192 ve CD206'nın bütün gruplarda negatif olduğu, HLAG'nin sadece tek başına uyarımsız ve prime grupta analiz edildi ve negatif olduğu, CD86'nın sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi ve negatif olduğu, İL-18R'nün tek başına uyarımsız (%27,4) ve transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta (%23,6) düşük düzeyde eksprese edildiği ancak transvel ko-kültürü sonrası prime grupta (%54,3) tek başına prime gruba göre daha fazla (%42,2) olmak üzere prime edildiğinde ekspresyonun arttığı bulunmuştur.



Şekil 4.88. Poli(I:C) ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

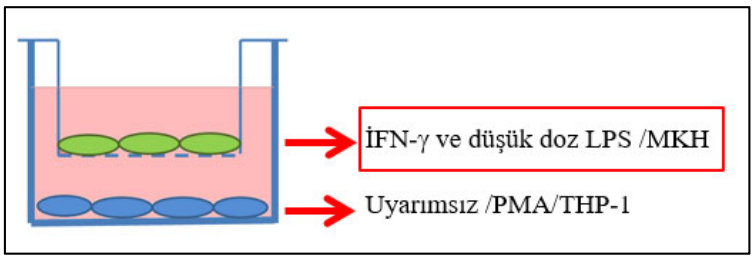
Çizelge 4.39. Poli(I:C) ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	MKH			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA POLİ(I:C)PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	PMA/THP-1 UYARIMSIZ MKH POLİ(I:C) PRİME
TLR4	0,2	2,8	5,8	0,3
İL-18R	27,4	42,2	23,6	54,3
HLAG	0,2	0,2	(-)	(-)
CD80	0,1	0,1	0,3	1,1
CD86	(-)	(-)	6,3	0,8
CD197	1,3	0,3	1	0,1
CD192	0,2	0,6	6,1	2
CD206	0,2	1	1	0,4



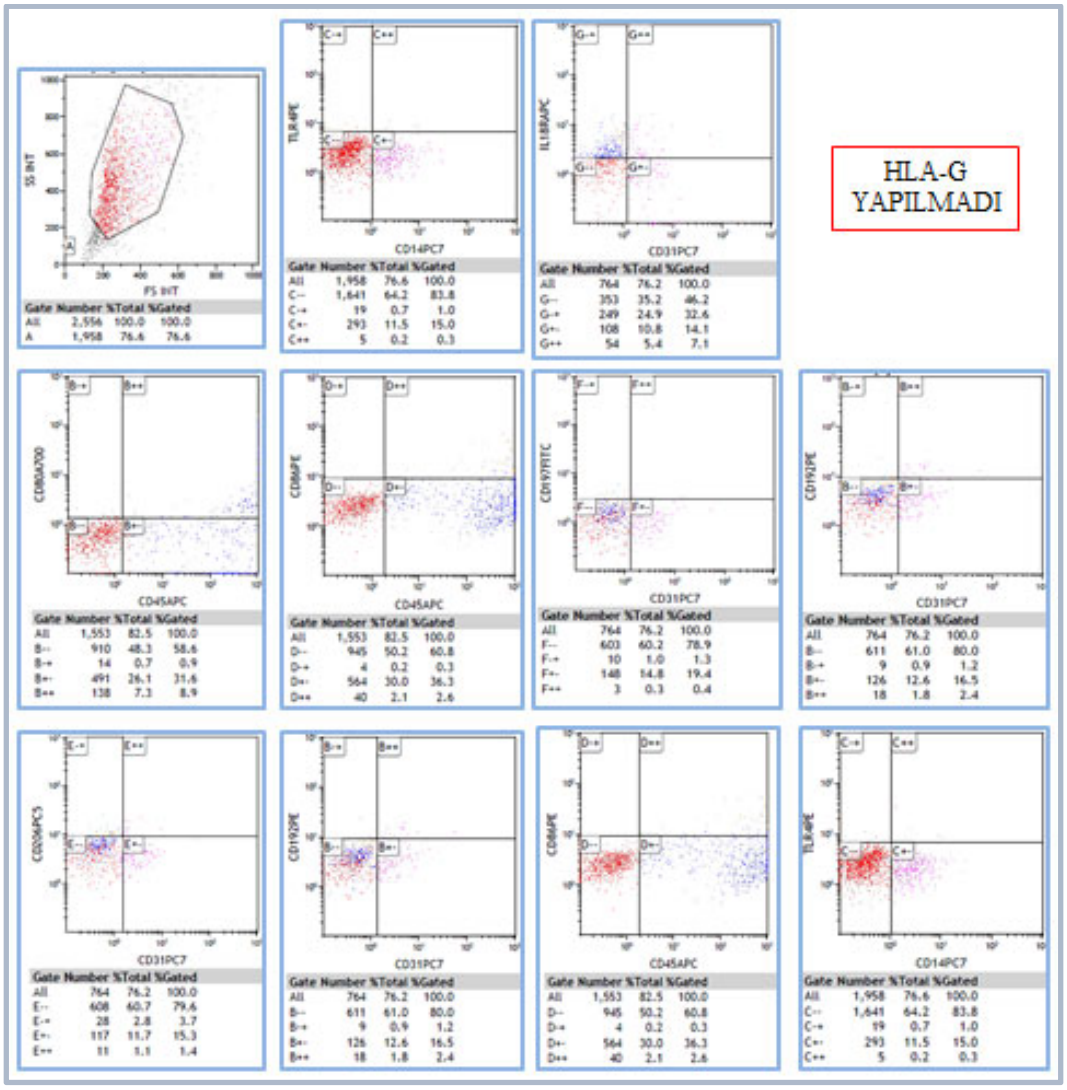
Şekil 4.89. Poli(I:C) ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

4.9.3. İFN-gamma ve düşük doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçları



Resim 4.42. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

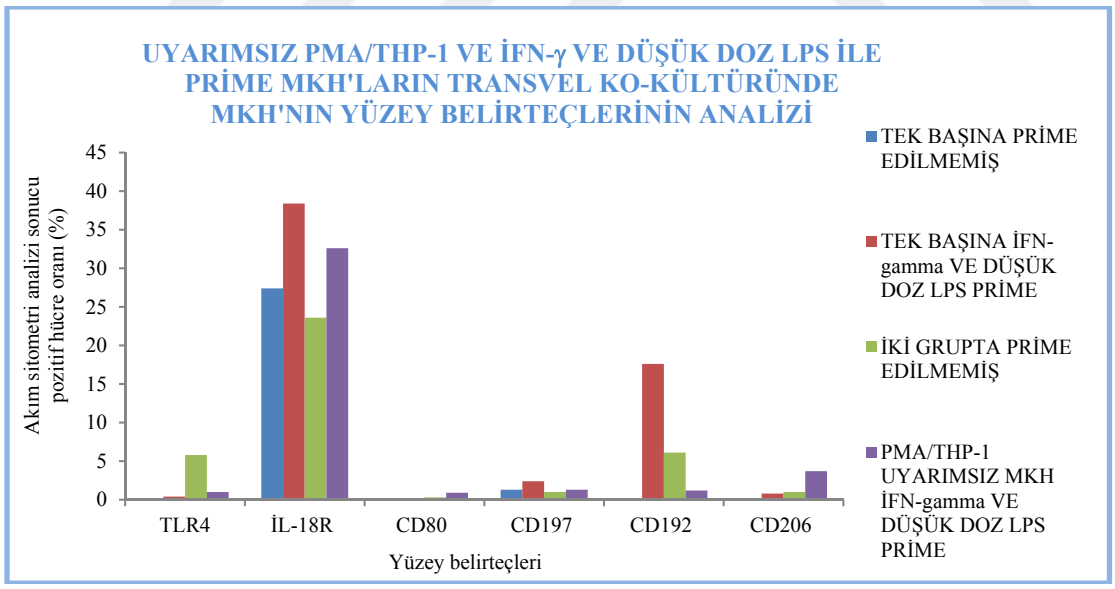
Resim 4.42'de şematize edildiği gibi bu bölümde prime MKH ile uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültür grubunun İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası, insertteki MKH'ların incelenmesi planlandı. Ko-kültürler transvel ortamında yapılmakla birlikte akım sitometri analizi için örnekler hazırlanırken yanlışlıkla MKH'ların PMA/THP-1'ler ile yanlışlıkla aynı tüpe konuldu ve birlikte boyandı ve akım sitometride okutuldu. Ayrı ayrı yapılan analizi sonucunun dot plot görüntüsü Şekil 4.90'da daha önceki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH ve transvel kültürü sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.40'da ve bar grafiği Şekil 4.91'de verilmiştir.Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde TLR4, CD80, CD197, ve CD206'nın bütün gruplarda negatif olduğu, CD192'nin tek başına prime grupta pozitif olduğu (%17,6) diğer tüm gruplarda negatif olduğu, HLAG'nin sadece tek başına uyarımsız ve prime grupta analiz edildi. Uyarımsız grupta negatif olduğu prime grupta çok düşük düzeyde pozitif olduğu, CD86'nın sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi ve negatif olduğu, İL-18R'nün tek başına uyarımsız (%27,4) ve transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta (%23,6) düşük düzeyde eksprese edildiği ancak transvel ko-kültürü sonrası prime grupta (%32,6) ve tek başına prime grupta (%38,4) ekspresyonun arttığı hafif düzeyde bulunmuştur.



Şekil 4.90. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının dot plot görüntüsü

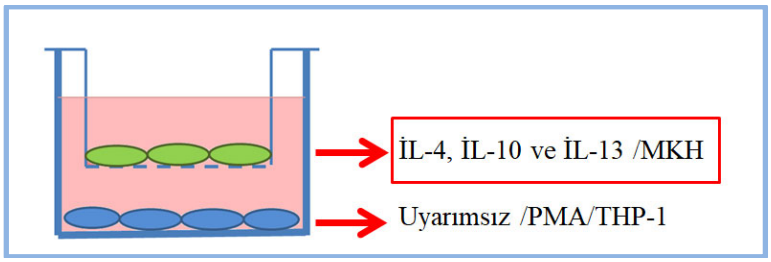
Çizelge 4.40. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	MKH			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA İFN-γ VE DÜŞÜK DOZ LPS PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	PMA/THP-1 UYARIMSIZ MKH İFN-γ VE DÜŞÜK DOZ LPS PRİME
TLR4	0,2	0,4	5,8	1
İL-18R	27,4	38,4	23,6	32,6
HLAG	0,2	10,4	(-)	(-)
CD80	0,1	0,1	0,3	0,9
CD86	(-)	(-)	6,3	0,3
CD197	1,3	2,4	1	1,3
CD192	0,2	17,6	6,1	1,2
CD206	0,2	0,8	1	3,7



Şekil 4.91. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

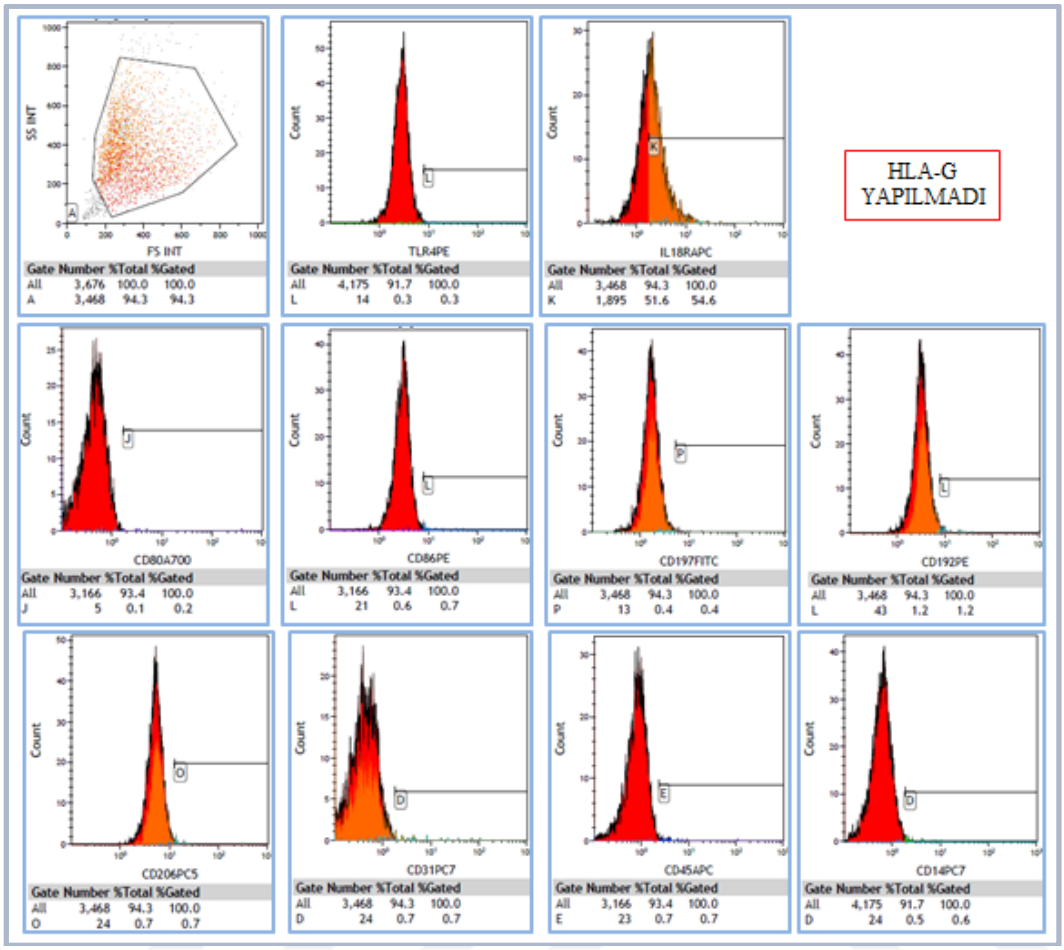
4.9.4. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçları



Resim 4.43. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.43'de şematize edildiği gibi prime MKH ile uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültür grubunun İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası, insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsünü Şekil 4.92'de daha önceki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve transvel kültürü sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.41'da ve bar grafiği Şekil 4.93'de verilmiştir.

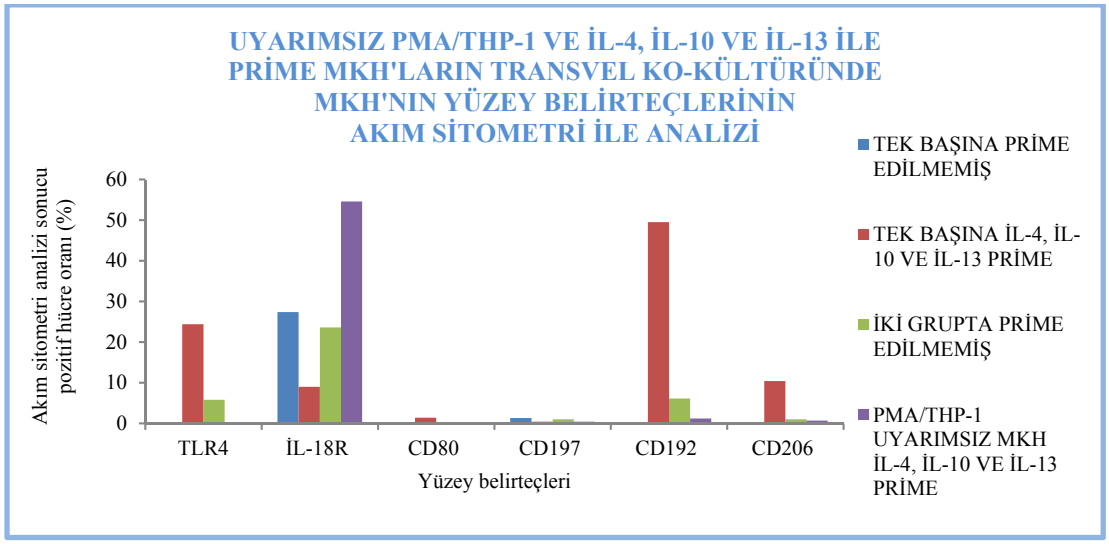
Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde CD80 ve CD197 bütün gruplarda negatif olduğu, HLAG'nin sadece tek başına uyarımsız ve prime grupta analiz edildi negatif olduğu, CD86'nın sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi ve negatif olduğu, İL-18R'nün tek başına uyarımsız (%27,4) ve transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta (%23,6) düşük düzeyde eksprese edildiği ancak tek başına prime grupta negatifken transvel ko-kültürü sonrası prime grupta (%54,6) ekspresyonun arttığı, TLR4 tek başına ve transvel ko-kültürü sonrası her iki uyarımsız grupta da negatif olduğu, tek başına prime grupta (%24,4) eksprese edilirken transvel ko-kültürü sonrası negatifleştiği, CD192 tek başına ve transvel ko-kültürü sonrası her iki uyarımsız grupta da negatif olduğu, tek başına prime grupta (%49,5) eksprese edilirken transvel ko-kültürü sonrası negatifleştiği, CD206 tek başına ve transvel ko-kültürü sonrası her iki uyarımsız grupta da negatif olduğu, tek başına prime grupta düşük düzeyde eksprese edilirken (%10,4) transvel ko-kültürü sonrası negatifleştiği bulunmuştur.



Şekil 4.92. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının sonuçlarının histogram görüntüsü

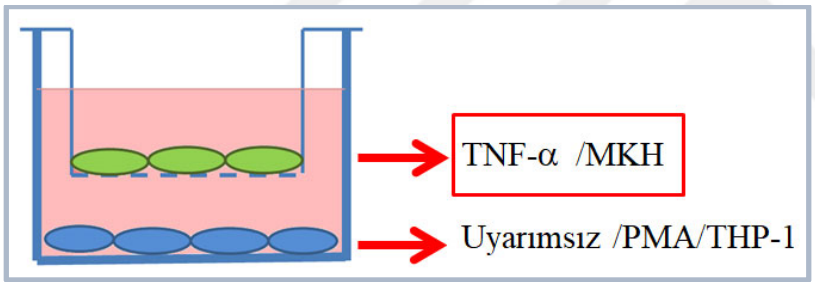
Çizelge 4.41. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	MKH			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA İL-4, İL-10 VE İL-13 PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	PMA/THP-1 UYARIMSIZ MKH İL-4, İL-10 VE İL-13 PRİME
TLR4	0,2	24,4	5,8	0,3
İL-18R	27,4	9.0	23,6	54.6
HLAG	0,2	0,6	(-)	(-)
CD80	0,1	1,4	0,3	0,2
CD86	(-)	(-)	6,3	0,7
CD197	1,3	0,4	1	0,4
CD192	0,2	49,5	6,1	1,2
CD206	0,2	10,4	1	0,7



Şekil 4.93. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

4.9.5. TNF-alfa ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçları

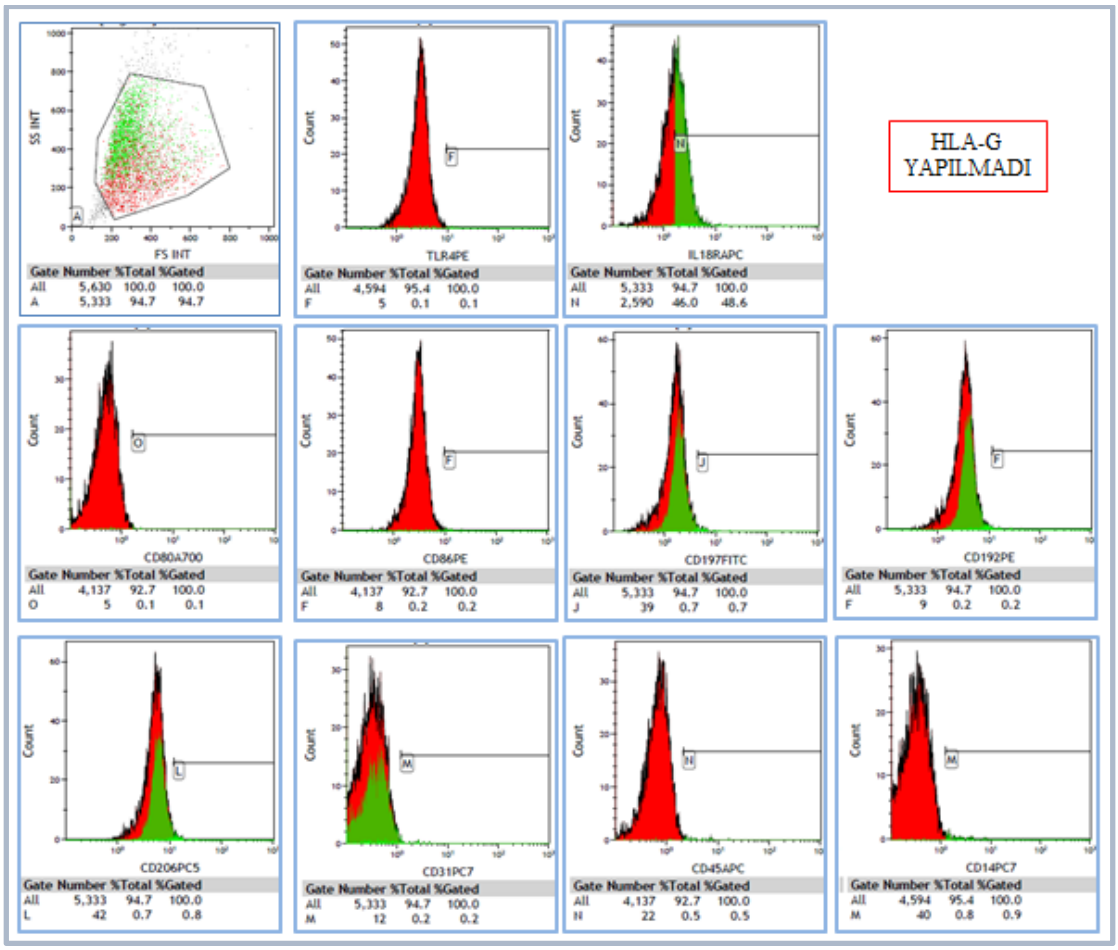


Resim 4.44. TNF-α ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.44'de şematize edildiği gibi prime MKH ile uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültür grubunun TNF-α ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası, insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.94'de daha önceki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi TNF-α ile prime MKH ve transvel ko-kültürü sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.42'de ve bar grafiği Şekil 4.95'da verilmiştir.

Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde TLR4, CD80, CD197 ve CD206'nın bütün gruplarda negatif olduğu, HLAG'nin sadece tek başına uyarımsız ve prime grupta analiz edildi her iki grupta da negatif olduğu, CD86 sadece transvel ko-kültürü sonrası

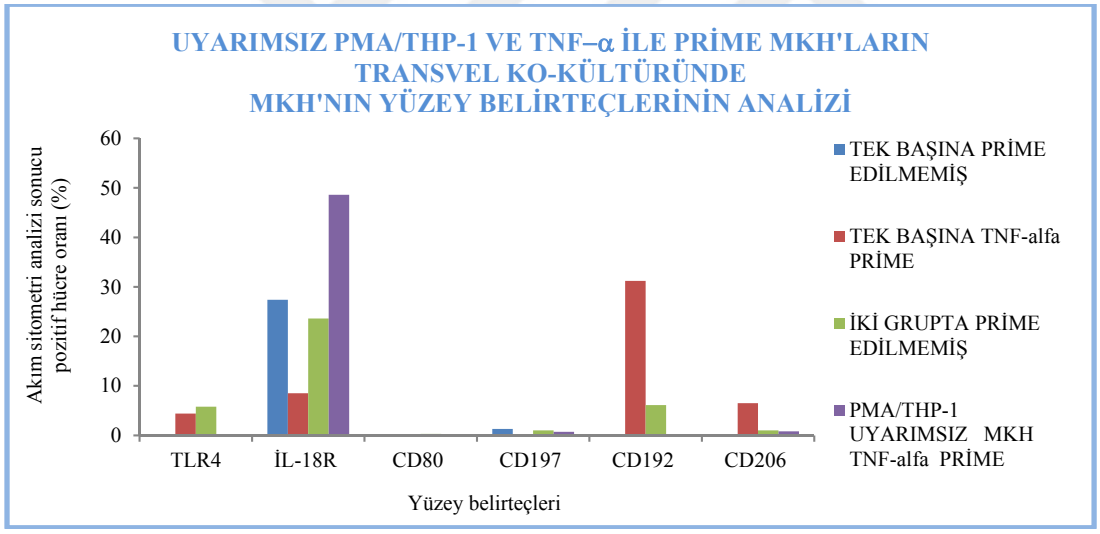
analiz edildi ve negatif olduğu, İL-18R tek başına uyarımsız (%27,4) ve transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta (%23,6) düşük düzeyde eksprese edildiği tek başına prime grupta negatifken transvel ko-kültürü sonrası prime grupta (%48,6) ekspresyonun arttığı, CD192 tek başına ve transvel ko-kültür sonrası uyraımsız grupta negatif olduğu, tek başına prime grupta eksprese edildiği (%31,2) ancak transvel ko-kültürü sonrası prime grupta negatifleştiği bulunmuştur.



Şekil 4.94. TNF-α ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

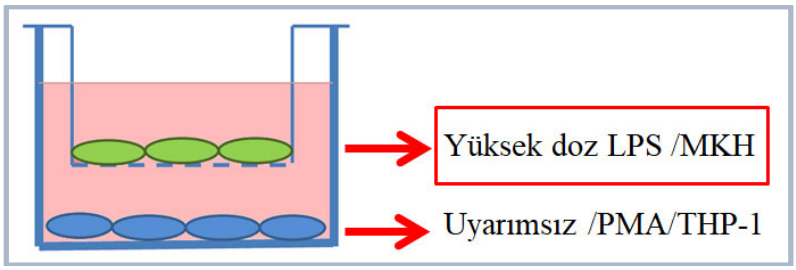
Çizelge 4.42. TNF-α ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	MKH			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA TNF-α PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	PMA/THP-1 UYARIMSIZ MKH TNF-α PRİME
TLR4	0,2	4,4	5,8	0,1
İL-18R	27,4	8,5	23,6	48,6
HLAG	0,2	2,1	(-)	(-)
CD80	0,1	0,1	0,3	0,1
CD86	(-)	(-)	6,3	0,2
CD197	1,3	0,2	1	0,7
CD192	0,2	31,2	6,1	0,2
CD206	0,2	6,5	1	0,8



Şekil 4.95. TNF-α ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

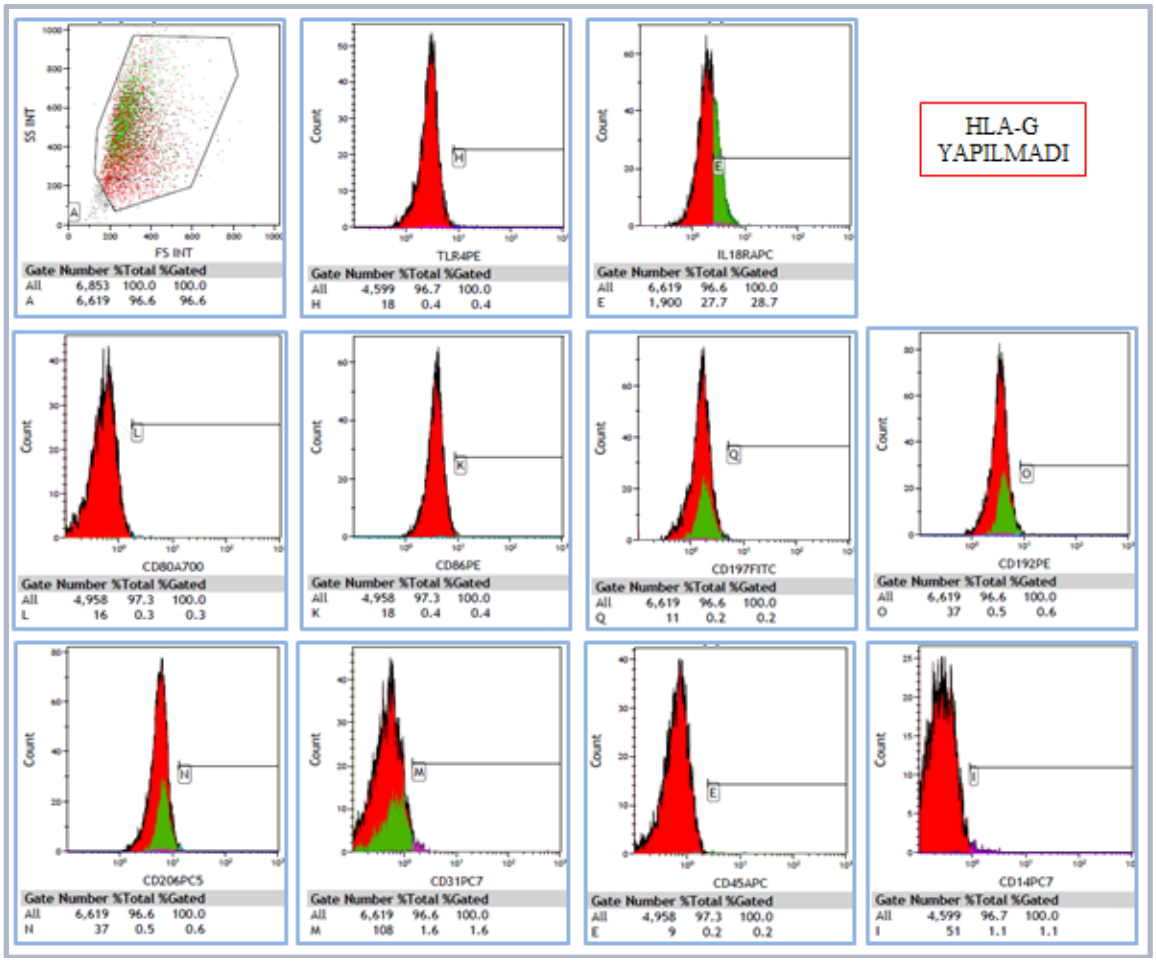
4.9.6. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçları



Resim 4.45. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.45'de şematize edildiği gibi prime MKH ile uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültür grubunun yüksek doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası, insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.96'da daha önce ki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi yüksek doz LPS ile prime MKH ve transvel kültürü sonrası insertteki MKH'ların akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.43'de ve bar grafiği Şekil 4.97'de verilmiştir.

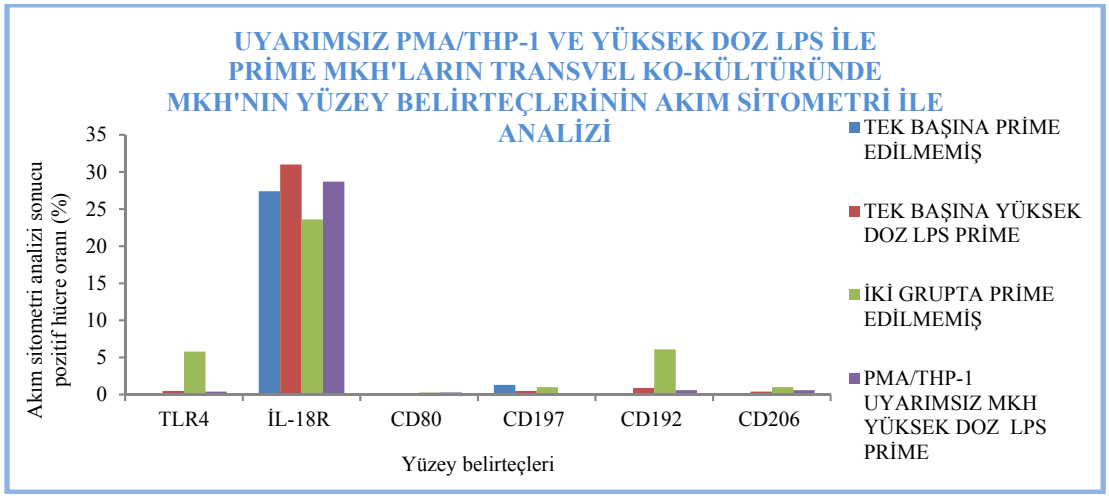
Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde TLR4, CD80, CD197 ve CD206'nın bütün gruplarda negatif olduğu, HLAG'nın sadece tek başına uyarımsız ve prime grupta analiz edildi. Her iki grupta da da negatif olduğu, CD86'nın sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi. Her iki grupta da negatif olduğu, İL-18R'nün tek başına uyarımsız (%27,4) ve prime grupta (%31) eksprese edildiği, transvel ko-kültürü sonrası hem uyarımsız (%23,6) hem de prime grupta (%28,7) ekspresyonun yaklaşık aynı düzeyde devam ettiği bulunmuştur.



Şekil 4.96. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

Çizelge 4.43. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

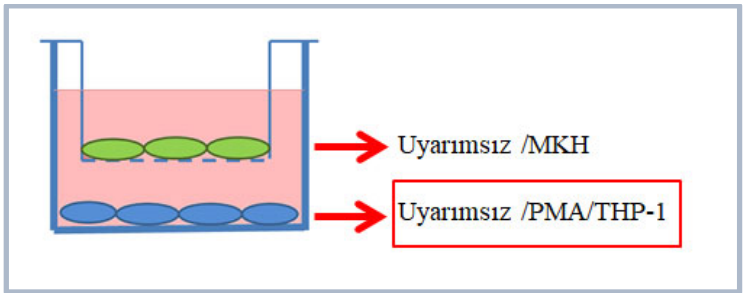
	MKH			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA YÜKSEK DOZ LPS PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	PMA/THP-1 UYARIMSIZ MKH YÜKSEK DOZ LPS PRİME
TLR4	0,2	0,5	5,8	0,4
İL-18R	27,4	31	23,6	28,7
HLAG	0,2	0,8	(-)	(-)
CD80	0,1	0,1	0,3	0,3
CD86	(-)	(-)	6,3	0,4
CD197	1,3	0,5	1	0,2
CD192	0,2	0,9	6,1	0,6
CD206	0,2	0,4	1	0,6



Şekil 4.97. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası MKH'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

4.9.7. Prime MKH'lerin ve uyarımsız PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubundaki tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçları

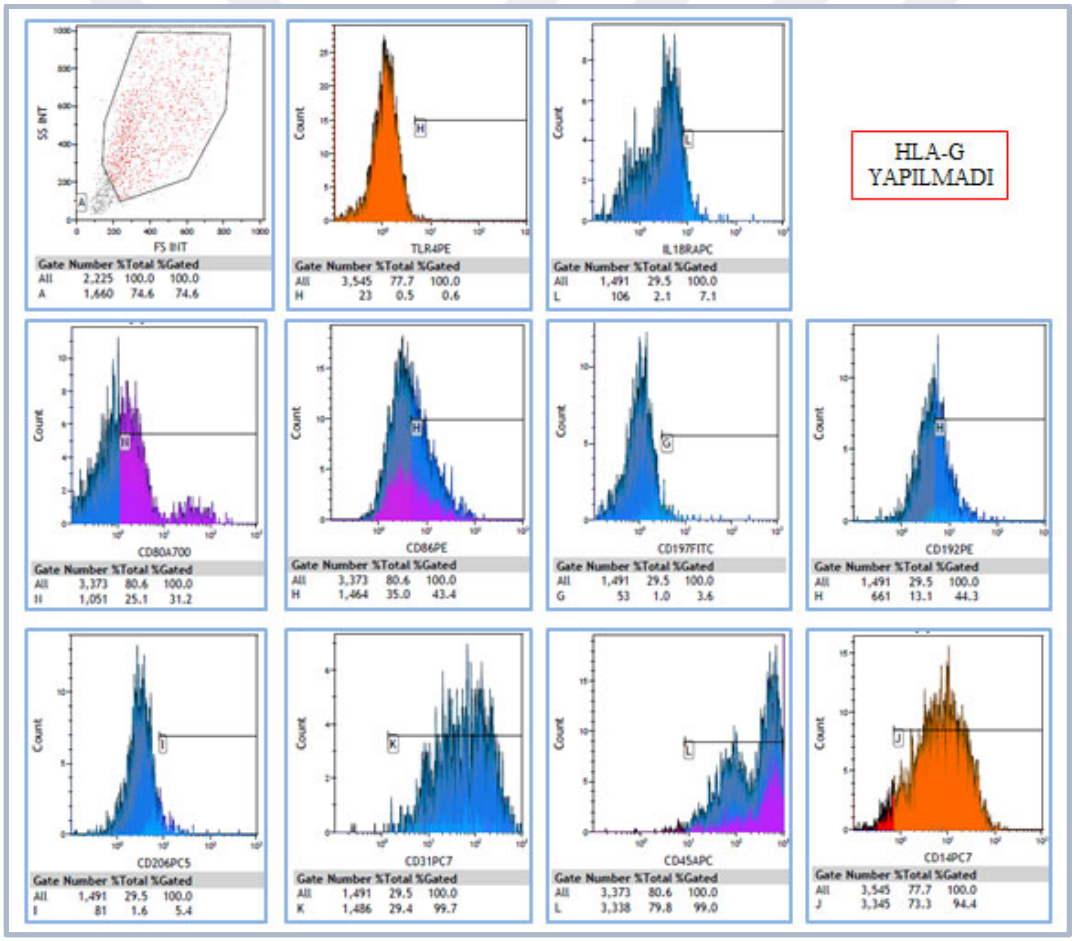
4.9.8. Prime MKH'lerin ve uyarımsız PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubundaki tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçları



Resim 4.46. İki grubunda uyarımsız olduğu transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.46'de şematize edildiği gibi prime MKH'ların ve uyarımsız PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültür grubunun kontrolü olarak yapılan uyarımsız PMA/THP-1 ve uyarımsız MKH'lerin transvel kültürü sonrası, tabandaki uyarımsız PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.98'de, daha önceki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi uyarımsız PMA/THP-1'ların ve ko-kültür grubunun kontrol olan uyarımsız PMA/THP-1 ve uyarımsız MKH'lerin transvel kültürü sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerın akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge

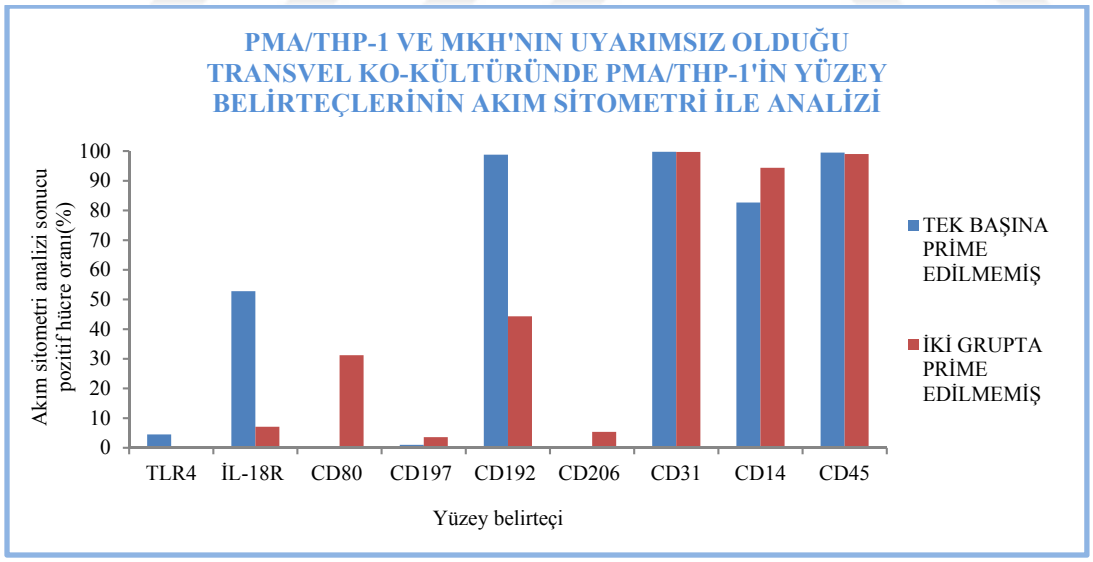
4.44'de ve bar grafiği Şekil 4.99'da verilmiştir.Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde TLR4, CD197 ve CD206'nın tek başına prime edilmemiş grupta ve prime edilmemiş ko-kültür grubunda negatif olduğu, İL-18R (%52,8) ve HLAG (%11,2) tek başına prime edilmemiş grupta pozitifken prime edilmemiş ko-kültür grubunda negatif olduğu, CD192 (%98,8) tek başına prime edilmemiş grupta pozitif hücre oranı çok yüksekken prime edilmemiş ko-kültür grubunda pozitif hücrelerin azaldığı (%44.3), CD80 tek başına prime edilmemiş grupta negatifken, prime edilmemiş ko-kültür grubunda pozitifleştiği (%31,2), CD86 sadece prime edilmemiş ko-kültür grubunda analiz edildi ve pozitif olduğu (%43,4), CD31, CD14 ve CD45'in tek başına prime edilmemiş grupta ve prime edilmemiş ko-kültür grubunda yüksek oranda pozitif olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.98. Prime MKH'lerin ve uyarımsız PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubu olan iki grubunda uyarımsız olduğu örnekteki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

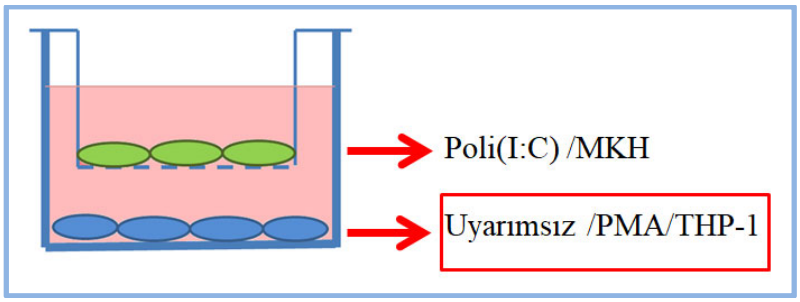
Çizelge 4.44. Prime MKH'lerin ve uyarımsız PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubu olan iki grubunda uyarımsız olduğu örnekteki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	PMA/THP-1	
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ
TLR4	4.5	0.6
İL-18R	52.8	7.1
CD80	0	31.2
CD197	1	3.6
CD192	98.8	44.3
CD206	0.5	5.4
CD31	99.8	99.7
CD14	82.7	94.4
CD45	99.5	99



Şekil 4.99. Prime MKH'lerin ve uyarımsız PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürünün kontrol grubu olan iki grubunda uyarımsız olduğu örnekteki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

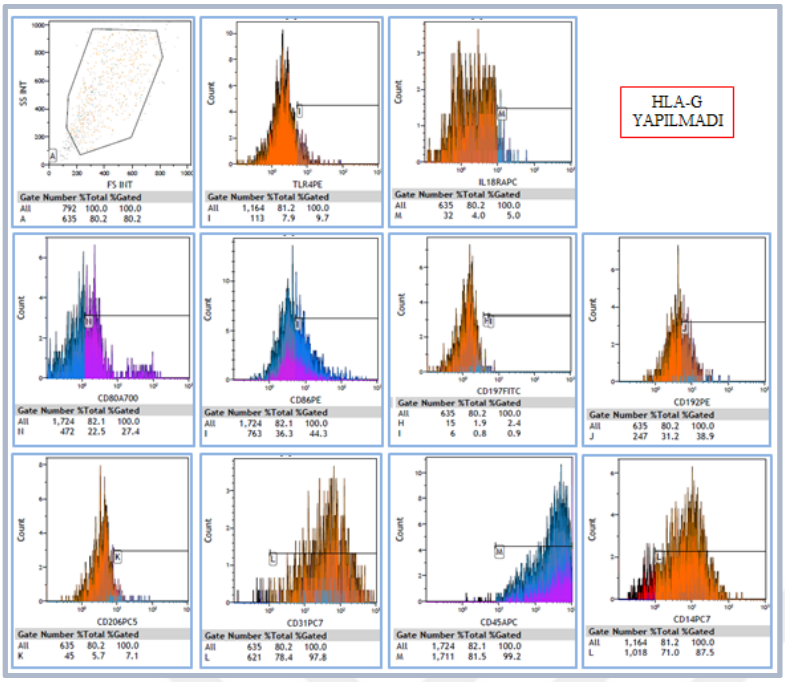
4.9.9. Poli(I:C) ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçları



Resim 4.47. Poli(I:C) ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.47'de prime MKH ile uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültür grubunun poli(I:C) ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası, tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.100'de, daha önceki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi poli(I:C) ile prime PMA/THP-1'lerin ve transvel kültürü sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.45'de ve bar grafiği Şekil 4.101'de verilmiştir.

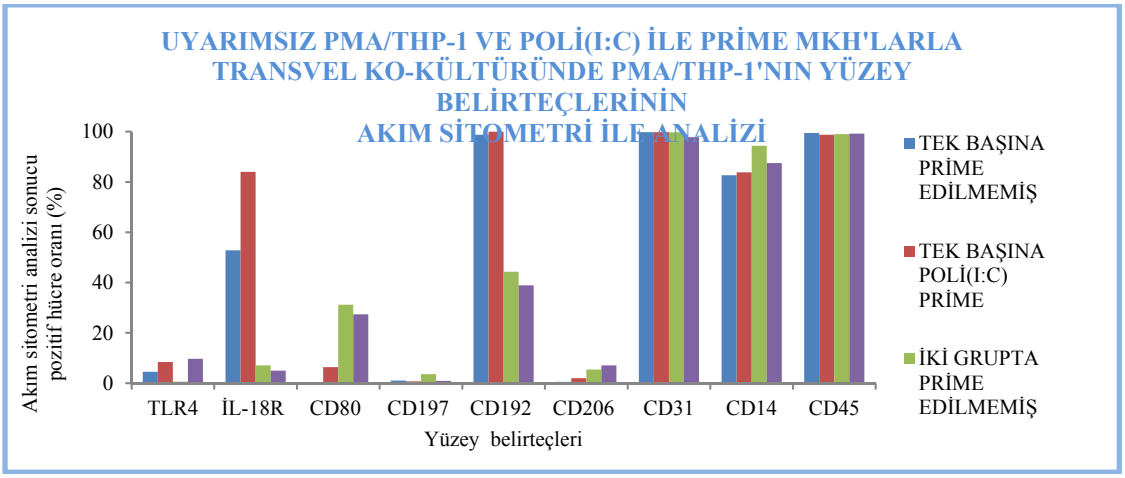
Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde TLR4, CD197 ve CD206'nın bütün gruplarda negatif olduğu, İL-18R'nün tek başına uyarımsız grupta (%52,8) ve prime grupta yüksek oranda (%84) eksprese edilirken, transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta ve prime grupta negatifleştiği, HLAG'nin sadece tek başına olan grupta analiz edildi ve uyarımsız ve prime grupta düşük oranda eksprese edildiği (%11), CD80'nin tek başına uyarımsız ve prime grupta negatifken transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta (%31,2) ve prime grupta (27,4) eksprese edildiği, CD86 sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi ve hem uyarımsız hem prime grupta %44 oranında eksprese edildiği, CD192'nin tek başına uyarımsız grupta (%98,8) ve prime grupta (%100) çok yüksek oranda eksprese edilirken transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta (%44,3) ve prime grupta (%38,9) belirgin oranda azaldığı, CD31'un bütün gruplarda %99 üzerinde eksprese edildiği, CD14'ün bütün gruplarda %82,7 üzerinde eksprese edildiği, CD45'in bütün gruplarda %99 üzerinde eksprese edildiği bulunmuştur.



Şekil 4. 100. Poli(I:C) ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

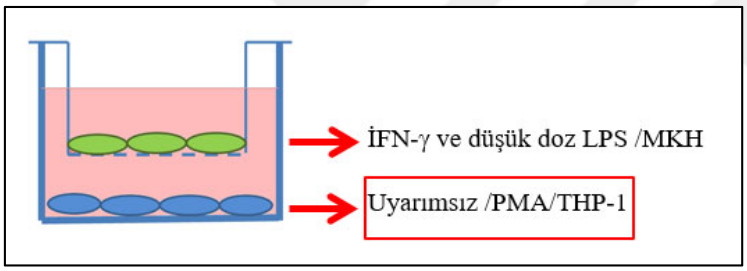
Çizelge 4.45. Poli(I:C) ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	PMA/THP-1			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA POLİ(I:C) PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	PMA/THP-1 UYARIMSIZ MKH POLİ(I:C) PRİME
TLR4	4,5	8,4	0,6	9,7
İL-18R	52,8	84	7,1	5
HLAG	11,2	11	(-)	(-)
CD80	0	6,4	31,2	27,4
CD86	(-)	(-)	43,4	44,3
CD197	1	0,7	3,6	0,9
CD192	98,8	100	44,3	38,9
CD206	0,5	2	5,4	7,1
CD31	99,8	99,8	99,7	97,8
CD14	82,7	83,8	94,4	87,5
CD45	99,5	98,8	99	99,2



Şekil 4.101. Poli(I:C) ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

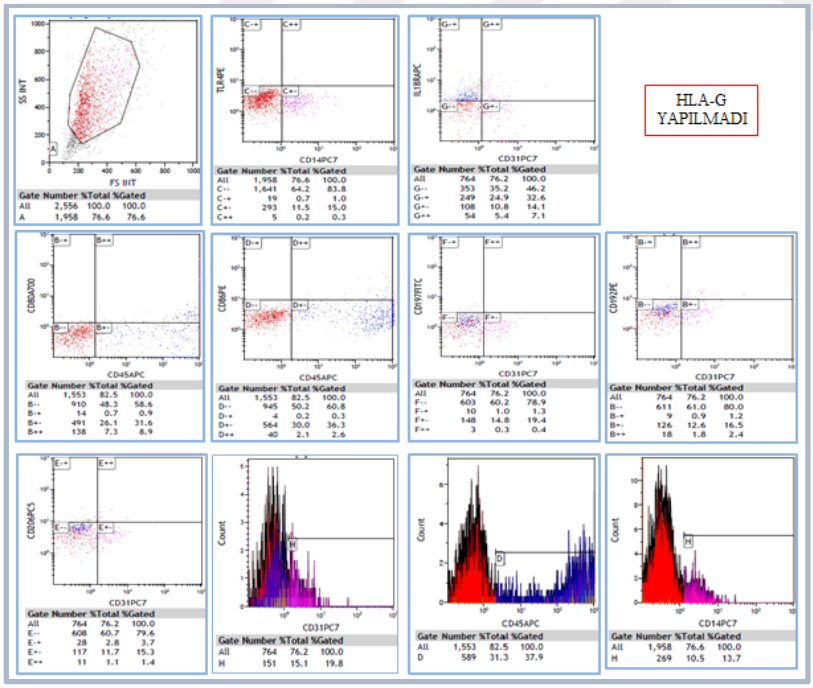
4.9.10. İFN-gamma ve düşük doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçları



Resim 4.48. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.48'de şematize edildiği gibi bu bölümde prime MKH ile uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültür grubunun İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası, tabandaki PMA/THP-1'in incelenmesi planlandı. Ko-kültürler transvel ortamında yapılmakla birlikte akım sitometri analizi için örnekler hazırlanırken yanlışlıkla MKH hücreleri PMA/THP-1 hücreleriyle aynı tüpe konuldu ve birlikte boyandı ve okutuldu. Ayrı ayrı yapılan analizi sonucunun dot plot görüntüsü Şekil 4.102'de, daha önceki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi ile İFN-γ ve düşük doz LPS prime PMA/THP-1'lerin ve transvel kültürü sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.46'de ve bar grafiği Şekil 4.103'de verilmiştir.

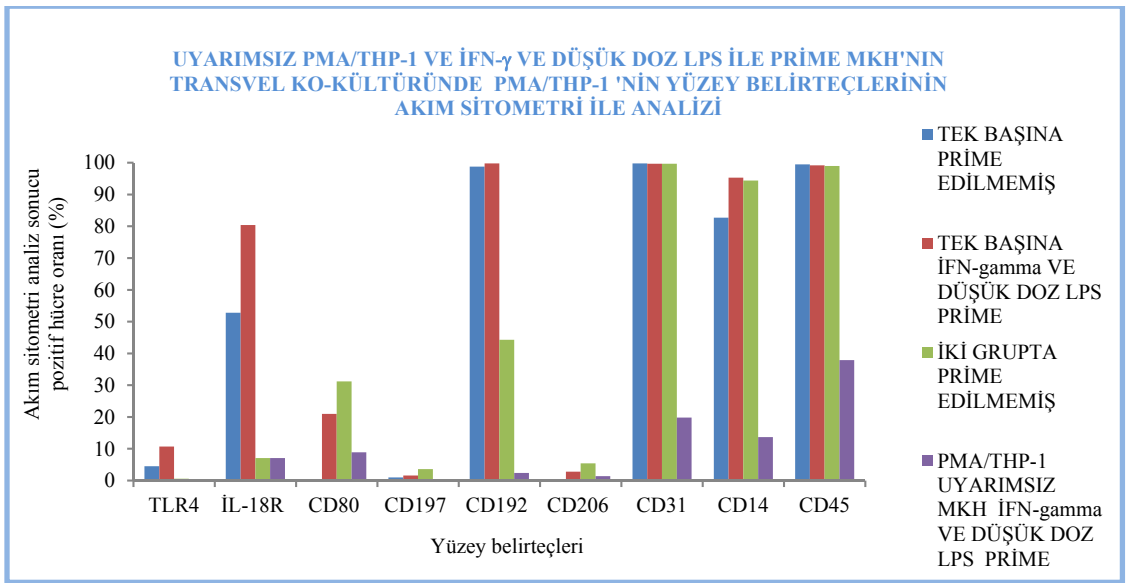
Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde CD206'nın bütün gruplarda negatif olduğu, TLR4'ün tek başına prime grupta düşük oranda (%10) eksprese edildiği, İL-18R'nün tek başına uyarımsız grupta (%52,8) ve prime grupta yüksek oranda (%80,4) eksprese edilirken, transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta ve prime grupta negatifleştiği, HLAG'nin sadece tek başına olan grupta analiz edildi ve uyarımsız düşük oranda eksprese edildiği (%11) prime grupta ise negatif olduğu, CD80'nin tek başına uyarımsız grupta negatifken ve transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta eksprese edildiği (%31,2) ve tek başına prime grupta eksprese edilirken (%21) transvel ko-kültürü sonrası prime grupta negatifleştiği, CD86'nın sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi. Uyarımsız grupta %31,2 oranında eksprese edilirken prime grupta negatifleştiği, CD192'nin tek başına uyarımsız grupta (%98,8) ve prime grupta (%99,8) çok yüksek oranda eksprese edilirken transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta belirgin oranda azaldığı (%44,3) ve prime grupta negatifleştiği, MKH ve PMA/THP-1 hücreleri birlikte analiz edildiği için CD31 (%19,8), CD14(%13,7) ve CD45 (%37,9) transvel ko-kültürü sonrası prime grupta ekspres düzeyi düşük olarak bulunmuştur.



Şekil 4.102. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının dot plot görüntüsü

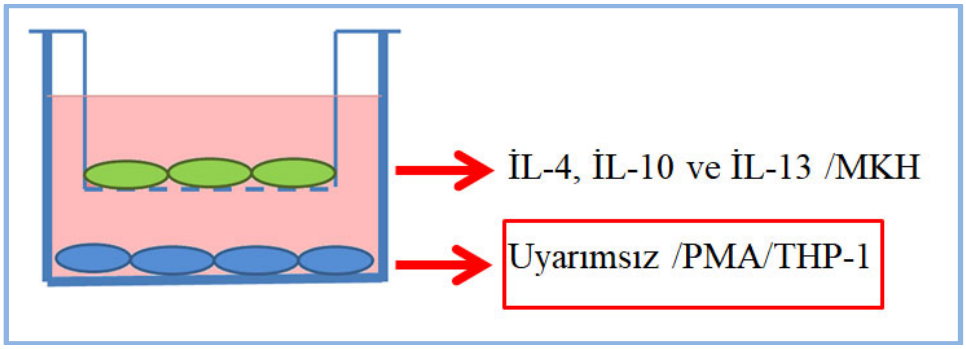
Çizelge 4.46. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	PMA/THP-1			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA İFN-γ VE DÜŞÜK DOZ LPS PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	PMA/THP-1 UYARIMSIZ MKH İFN-γ VE DÜŞÜK DOZ LPS PRİME
TLR4	4,5	10,7	0,6	0,3
İL-18R	52,8	80,4	7,1	7,1
HLAG	11,2	8,8	(-)	(-)
CD80	0	21	31,2	8,9
CD86	(-)	(-)	43,4	2,6
CD197	1	1,6	3,6	0,4
CD192	98,8	99,8	44,3	2,4
CD206	0,5	2,8	5,4	1,4
CD31	99,8	99,7	99,7	19,8
CD14	82,7	95,3	94,4	13,7
CD45	99,5	99,2	99	37,9



Şekil 4.103. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

4.9.11. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçları

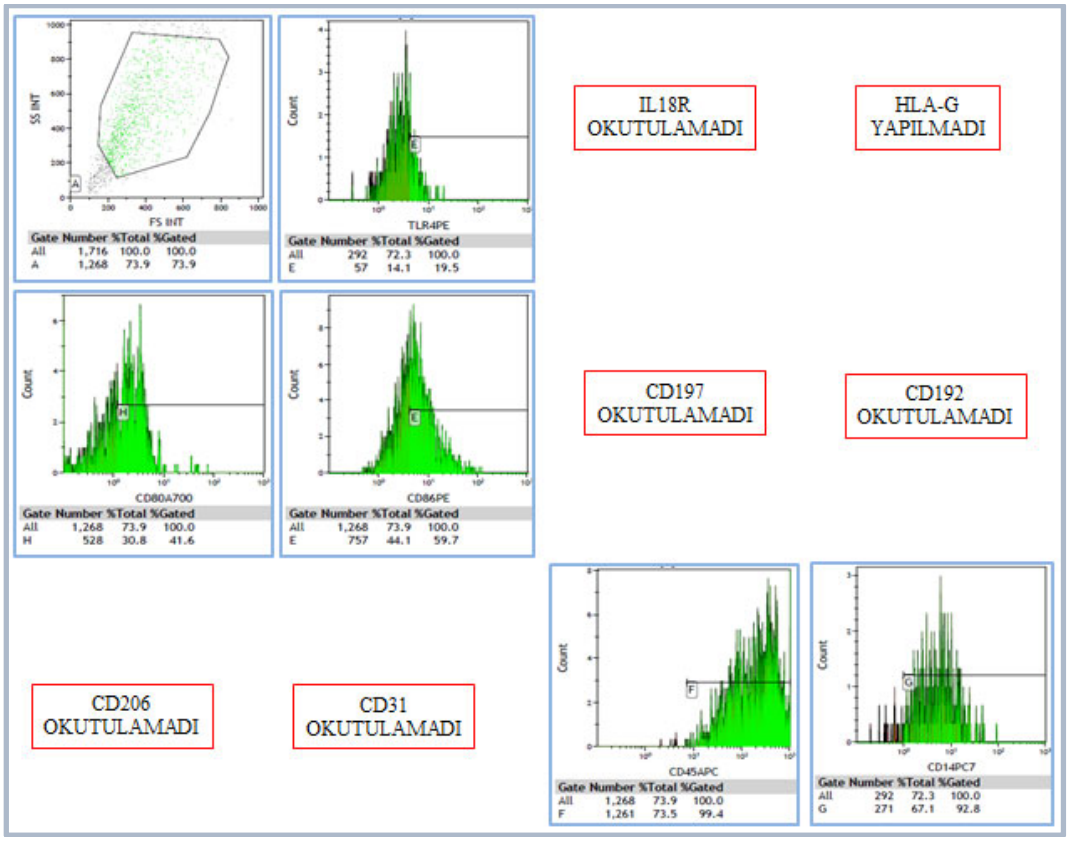


Resim 4.49. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.49'da şematize edildiği gibi prime MKH ile uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültür grubunun İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası, tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.104'de daha önce ki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1'lerin ve transvel kültürü sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.47'de ve bar grafiğinde Şekil 4.105 ve Şekil 4.106'de verilmiştir.

Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde CD197 ve CD206 transvel ko-kültürü sonrası prime grupta okutulamadı. Diğer gruplarda ise eksprese edilmediği, TLR4'ün tek başına uyarımsız grupta ve transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta negatif olduğu, prime grupta düşük oranda eksprese edildiği (%10,8) ve transvel ko-kültürü sonrası prime grupta ekspresyon oranın atığı (%19,5), İL-18R'nün transvel ko-kültürü sonrası prime grupta okutulamadı, tek başına uyarımsız grupta (%52,8) ve prime grupta yüksek oranda (%89,6) eksprese edilirken, transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta negatifleştiği, HLAG'nin sadece tek başına olan grupta analiz edildi. Uyarımsız düşük oranda eksprese edildiği (%11) prime grupta ise ekspresyonun arttığı (%18,4), CD80'nin tek başına uyarımsız grupta negatifken ve transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta eksprese edildiği (%31,2) ve tek başına prime grupta düşük oranda eksprese edilirken (%12) transvel ko-kültürü sonrası prime grupta ekspresyonun arttığı (59,7), CD86'nın sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi. Uyarımsız grupta %43,4 oranında eksprese

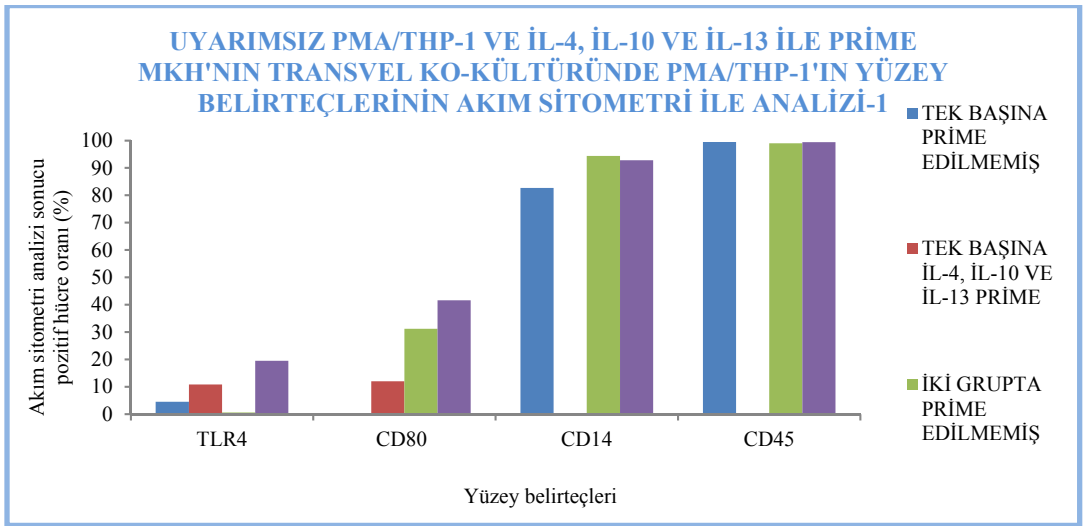
edilirken prime grupta ekspresyonun arttığı (%59,7), CD192 transvel ko-kültürü sonrası prime grupta okutulamadı. Tek başına uyarımsız grupta (%98,8) ve prime grupta (%100) çok yüksek oranda eksprese edilirken transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta belirgin oranda azaldığı (%44,3), MKH ve PMA/THP-1'ler birlikte analiz edildiği için CD31 transvel ko-kültürü sonrası prime grupta okutulamadı. Diğer gruplarda %99'nun üzerinde olduğu, CD14 tek başına grupta %82 üzerinde ve transvel ko-kültürü sonrası grupta %99 üzerinde eksprese edildiği CD45 bütün gruplarda %99'un üzerinde olduğu bulunmuştur.



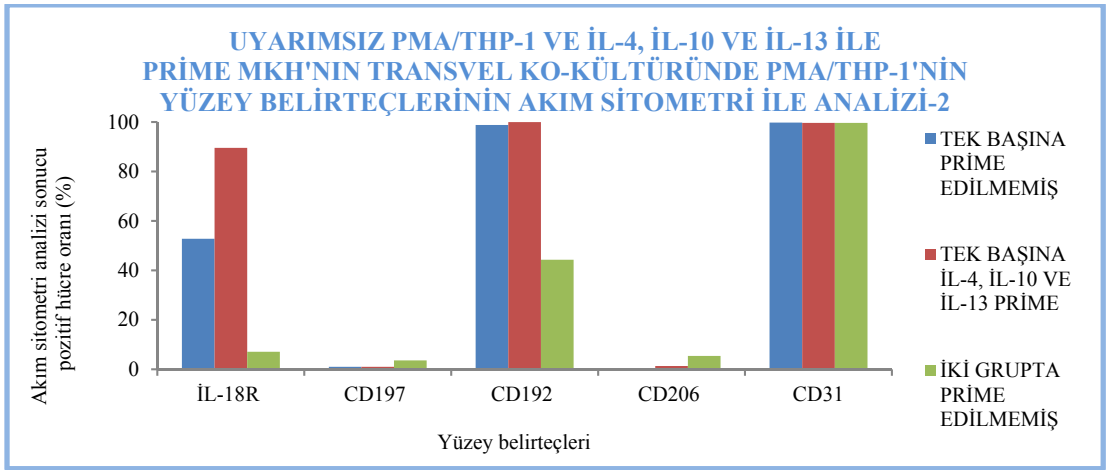
Şekil 4. 104. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

Çizelge 4.47. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	PMA/THP-1			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA İL-4, İL-10 VE İL-13 PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	PMA/THP-1 UYARIMSIZ MKH İL-4, İL-10 VE İL-13 PRİME
TLR4	4,5	10,8	0,6	19,5
İL-18R	52,8	89,6	7,1	okutulamadı
HLAG	11,2	18,4	(-)	(-)
CD80	0	12	31,2	41,6
CD86	(-)	(-)	43,4	59,7
CD197	1	1	3,6	okutulamadı
CD192	98,8	100	44,3	okutulamadı
CD206	0,5	1,3	5,4	okutulamadı
CD31	99,8	99,7	99,7	okutulamadı
CD14	82,7	81,8	94,4	92,8
CD45	99,5	99,8	99	99,4

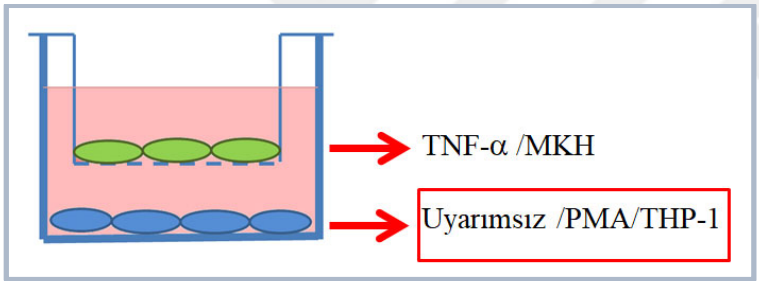


Şekil 4. 105. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği-1



Şekil 4.106. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği-2

4.9.12. TNF-alfa ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçları

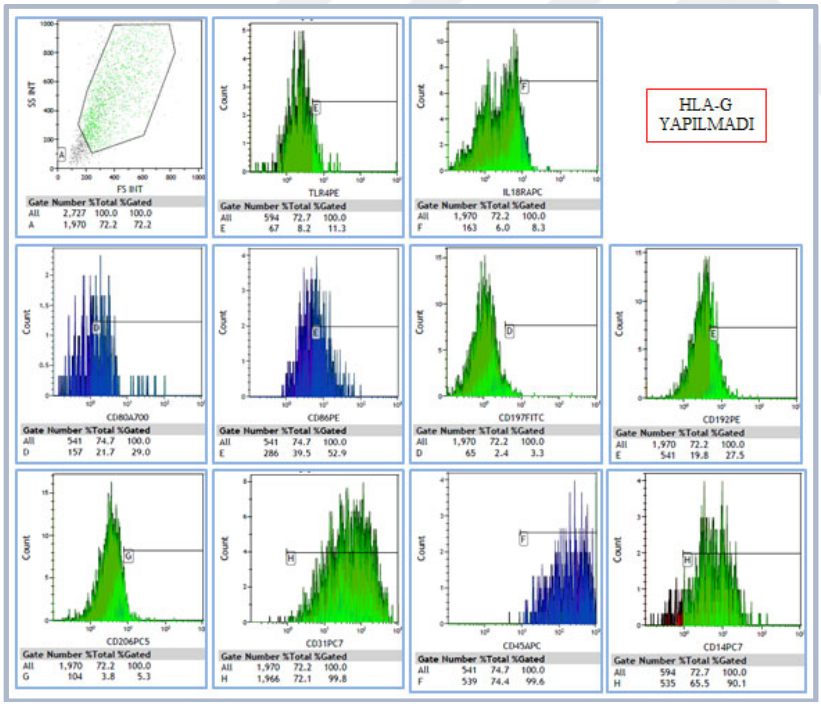


Resim 4.50. TNF-α ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.50'de şematize edildiği gibi prime MKH ile uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültür grubunun TNF-α ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası, tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.107'de daha önce ki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi TNF-α ile prime PMA/THP-1'lerin ve transvel kültürü sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.48'de ve bar grafiği Şekil 4.108'de verilmiştir.

Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde CD197 ve CD206'nın bütün gruplarda negatif olduğu, TLR4'ün sadece transvel ko-kültürü sonrasında hafif oranda

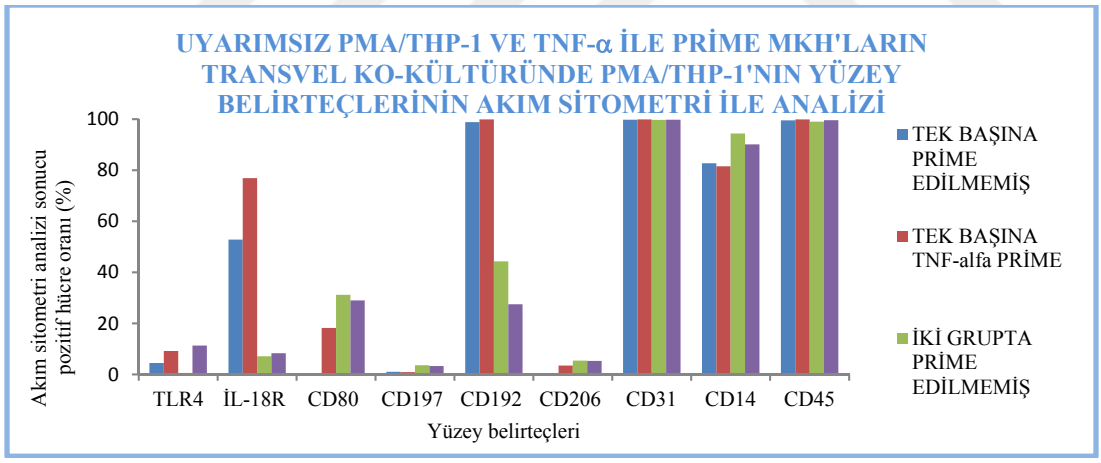
eksprese edildiği (%11,3), İL-18R'nün tek başına uyarımsız grupta (%52,8) ve prime grupta yüksek oranda eksprese edilirken (%76,9), transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta ve prime grupta negatifleştiği, HLAG'nin sadece tek başına olan grupta analiz edildi ve uyarımsız (%11,2) ve prime grupta (%17.1) düşük oranda eksprese edildiği, CD80'nin tek başına uyarımsız grupta negatifken ve transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta eksprese edildiği (%31,2) ve tek başına prime grupta eksprese edilirken (%18,2) transvel ko-kültürü sonrası prime grupta ekspresyonun hafif oranda arttığı (%29), CD86 sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi. Uyarımsız grupta %31,2 oranında eksprese edilirken prime grupta ekspresyonun arttığı (%52,9), CD192'nin tek başına uyarımsız grupta (%98,8) ve prime grupta (%99,9) çok yüksek oranda eksprese edilirken transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta (%44,3) ve prime grupta (%27,5) belirgin oranda azaldığı, CD31 bütün gruplarda %99'un üzerinde olduğu, CD14'ün tek başına grupta %82 üzerinde ve transvel ko-kültürü sonrası grupta %90 üzerinde pozitif olduğu ve CD45'in bütün gruplarda %99'un üzerinde pozitif olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.107. TNF-α ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

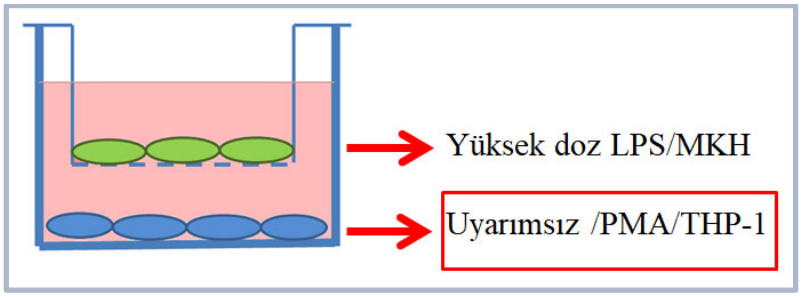
Çizelge 4.48. TNF-α ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	PMA/THP-1			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA TNF-α PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	PMA/THP-1 UYARIMSIZ MKH TNF-α PRİME
TLR4	4,5	9,2	0,6	11,3
İL-18R	52,8	76,9	7,1	8,3
HLAG	11,2	17,1	(-)	(-)
CD80	0	18,2	31,2	29
CD86	(-)	(-)	43,4	52,9
CD197	1	0,9	3,6	3,3
CD192	98,8	99,9	44,3	27,5
CD206	0,5	3,5	5,4	5,3
CD31	99,8	99,9	99,7	99,8
CD14	82,7	81,5	94,4	90,1
CD45	99,5	99,9	99	99,6



Şekil 4.108. TNF-α ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

4.9.13. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası tabandaki PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçları

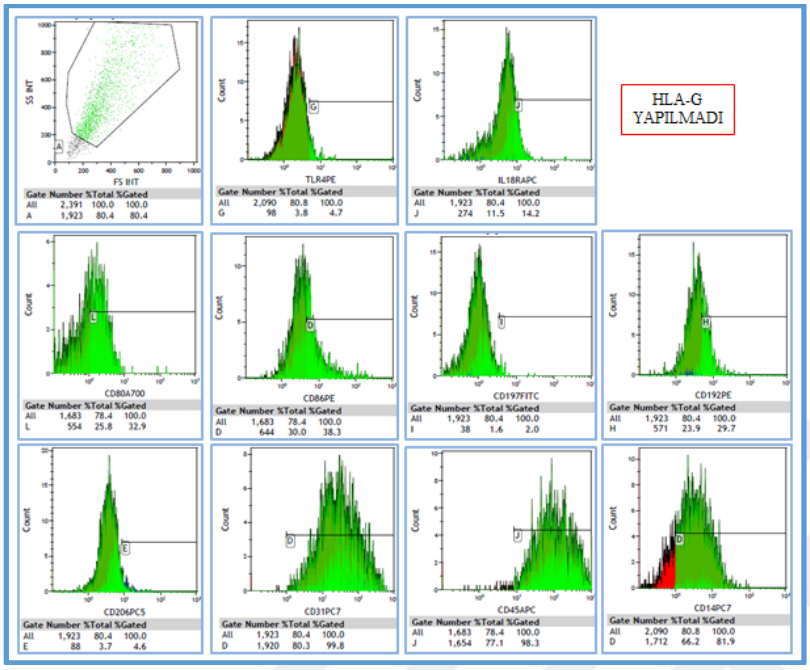


Resim 4.51. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası hangi hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

Resim 4.51'de şematize edildiği gibi prime MKH ile uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültür grubunun yüksek doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürü sonrası, tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.109'de daha önceki bölümde histogram görüntüsü verilen transvel ko-kültürü öncesi yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1'lerin ve transvel kültürü sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.49'de ve ve bar grafiği Şekil 4.110'de verilmiştir.

Yüzey belirteçlerin akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde TLR4, CD197 ve CD206'nın bütün gruplarda negatif olduğu, İL-18R'nün tek başına uyarımsız grupta (%52,8) ve prime grupta yüksek oranda eksprese edilirken (%94,7), transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta negatifleştiği ve prime grupta ise düşük oranda eksprese edildiği (%14,2), HLAG sadece tek başına olan grupta analiz edildi ve uyarımsız grupta düşük oranda eksprese edilirken (%11,2) ve prime grupta ekspresyonun arttığı (%32,5), CD80'nin tek başına uyarımsız grupta negatifken ve transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta eksprese edildiği (%31,2) ve tek başına prime grupta eksprese edilirken (%22,9) transvel ko-kültürü sonrası prime grupta ekspresyonun hafif oranda arttığı (%32,9), CD86 sadece transvel ko-kültürü sonrası analiz edildi. Uyarımsız grupta %43,4 oranında eksprese edilirken prime grupta ekspresyonun hafif düzeyde azaldığı (%38,3), CD192'nin tek başına uyarımsız grupta (%98,8) ve prime grupta (%99,9) çok yüksek oranda eksprese edilirken transvel ko-kültürü sonrası uyarımsız grupta (%44,3) ve prime grupta (%29,7) belirgin oranda azaldığı, CD31 bütün gruplarda %99'un üzerinde olduğu, CD14 transvel ko-kültürü uyarımsız grupta %94,4

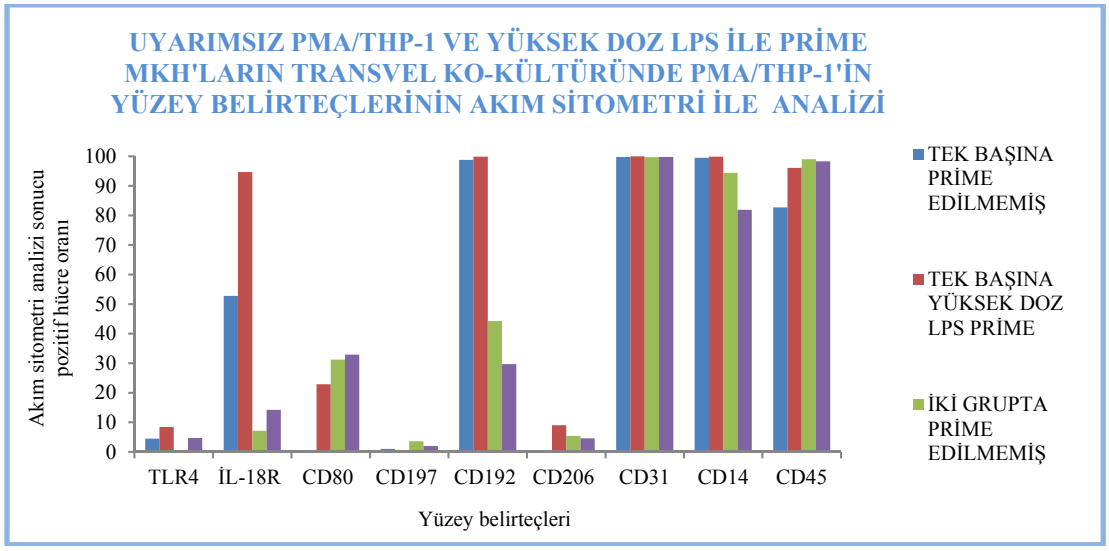
oranında pozitifken prime grupta %82 oranında ekspresyonun azaldığı, CD45'in tüm gruplarda %98'in üzerinde olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.109. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

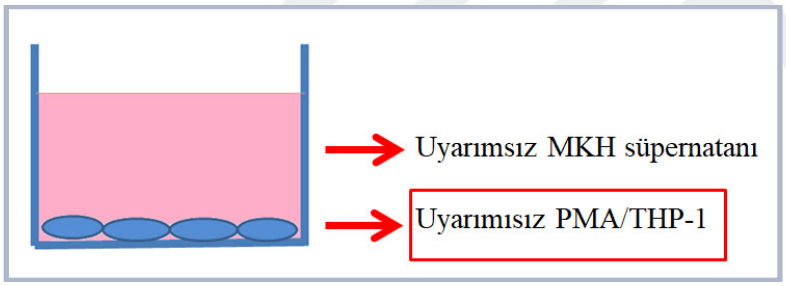
Çizelge 4.49. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

	PMA/THP-1			
	TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ ÖNCESİ		TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI	
	TEK BAŞINA PRİME EDİLMEMİŞ	TEK BAŞINA YÜKSEK DOZ LPS PRİME	İKİ GRUPTA PRİME EDİLMEMİŞ	PMA/THP-1 UYARIMSIZ MKH YÜKSEK DOZ LPS PRİME
TLR4	4,5	8,4	0,6	4,7
İL-18R	52,8	94,7	7,1	14,2
HLAG	11,2	32,5	(-)	(-)
CD80	0	22,9	31,2	32,9
CD86	(-)	(-)	43,4	38,3
CD197	1	0,3	3,6	2
CD192	98,8	99,9	44,3	29,7
CD206	0,5	9	5,4	4,6
CD31	99,8	100	99,7	99,8
CD14	99,5	99,9	94,4	81,9
CD45	82,7	96,1	99	98,3



Şekil 4.110. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve uyarımsız PMA/THP-1 transvel ko-kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

4.9.14. Uyarımsız MKH süpernatan ile uyarımsız PMA/THP-1'lerin kültürü

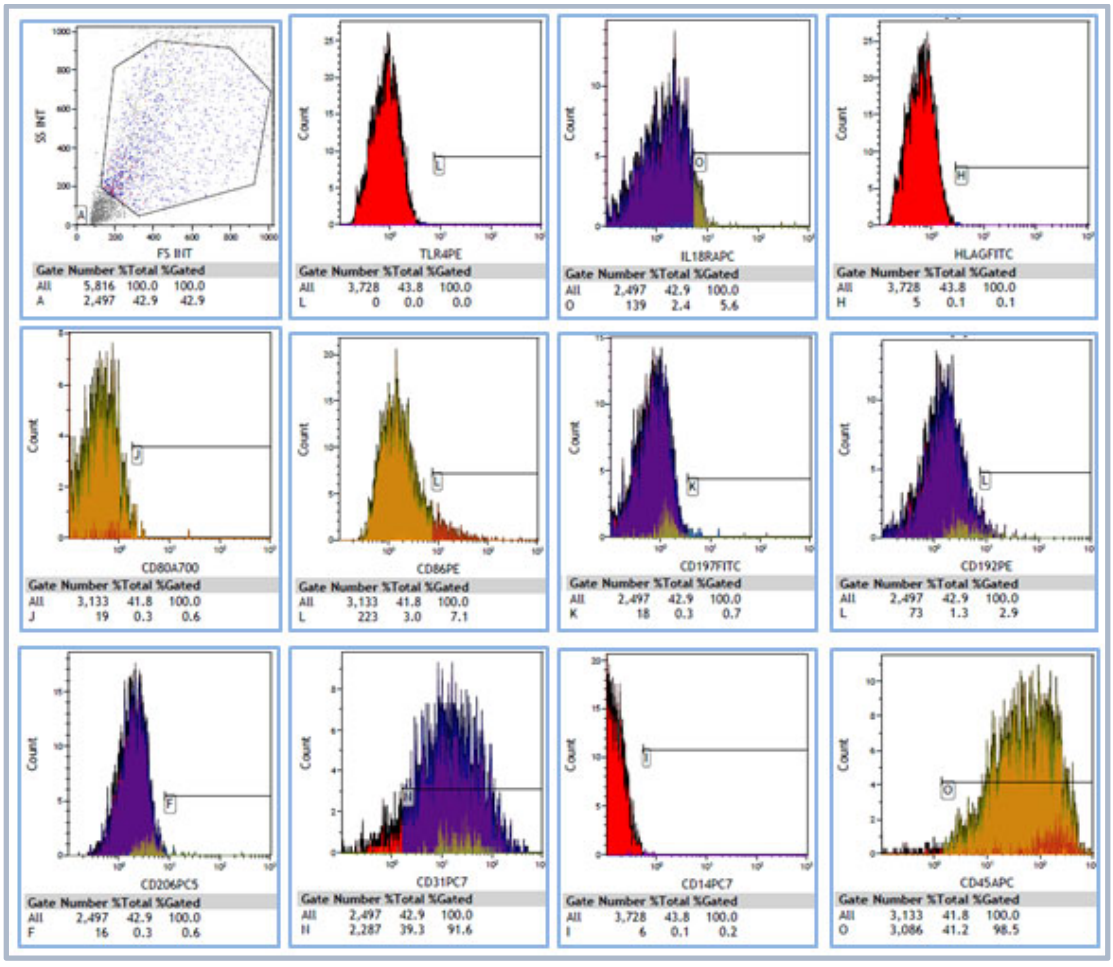


Resim 4.52. Uyarımsız MKH süpernatantı ile uyarımsız PMA/THP-1'in kültürü sonrası hücre grubunun analiz edildiğinin şematik gösterimi

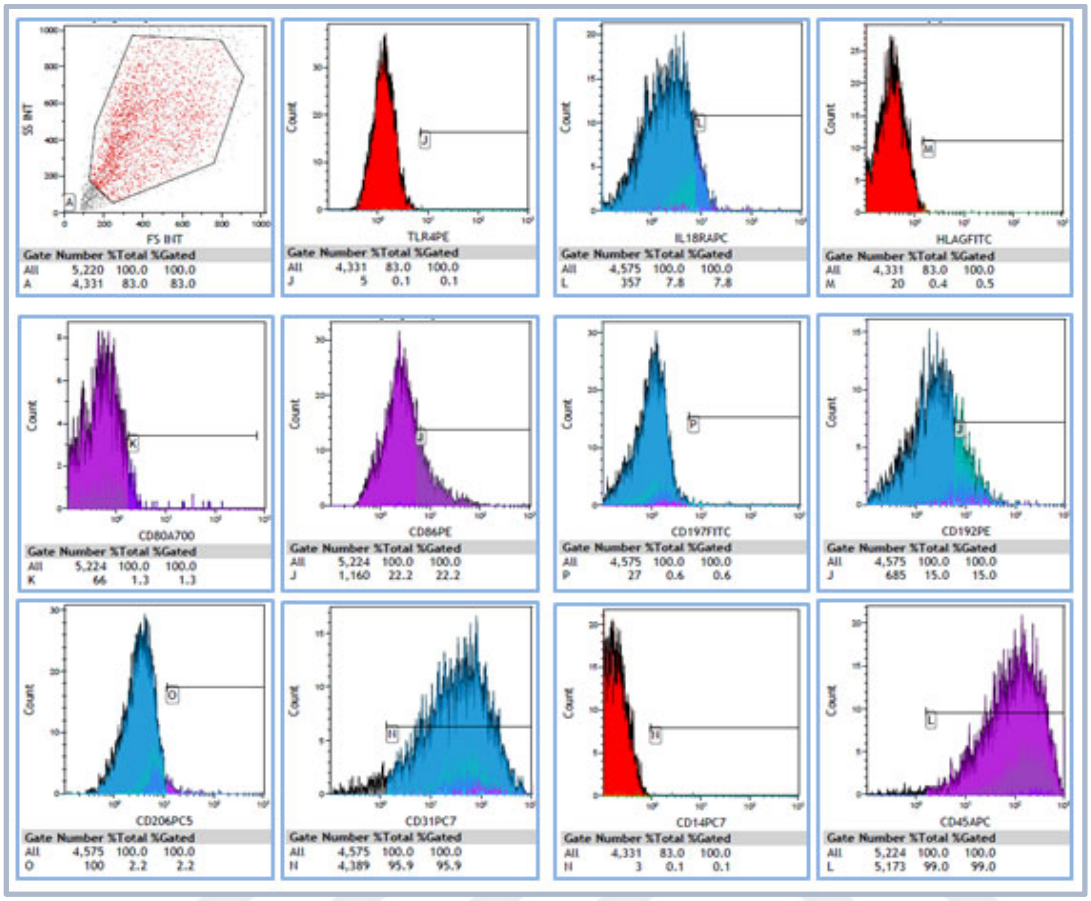
Resim 4.52'de şematize edildiği gibi uyarımsız MKH süpernatanti ile uyarımsız PMA/THP-1 kültürü sonrası, tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun histogram görüntüsü Şekil 4.111'de kontrol grubu olan tek başına uyarımsız DMF-10 ile kültüre edilen PMA/THP-1'in akım sitometri analiz sonucu Şekil 4.112'de, tek başına uyarımsız PMA/THP-1'lerin ve kültürü sonrası tabandaki PMA/THP-1'lerin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu Çizelge 4.50'de ve bar grafiği Şekil 4.113'de verilmiştir.

Yüzey moleküllerinin akım sitometri ile analiz sonuçları incelendiğinde TLR4, İL-18R, HLAG, CD197 ve CD206'nın negatif olduğu, CD86'nın uyarımsız PMA/THP-1'de negatifken uyarımsız MKH süpernatanı ile kültür sonrası %22,2 oranında eksprese edildiği,

CD192'nin uyarımsız PMA/THP-1'de negatifken uyarımsız MKH süpernatanı ile kültür sonrası %22,2 oranında eksprese edildiği, CD31'in iki grupta da %91'in üzerinde eksprese edildiği, CD14'ün her iki grupta da negatif olduğu, CD45'in iki grupta da %98'in üzerinde eksprese edildiği bulundu.



Şekil 4.111. Tek başına uyarımsız PMA/THP-1'in DMF-10 ile kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü



Şekil 4.112. Uyarımsız MKH ile uyarımsız PMA/THP-1'in kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının histogram görüntüsü

Çizelge 4.50. Uyarımsız MKH ile uyarımsız PMA/THP-1'in kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının tablosu

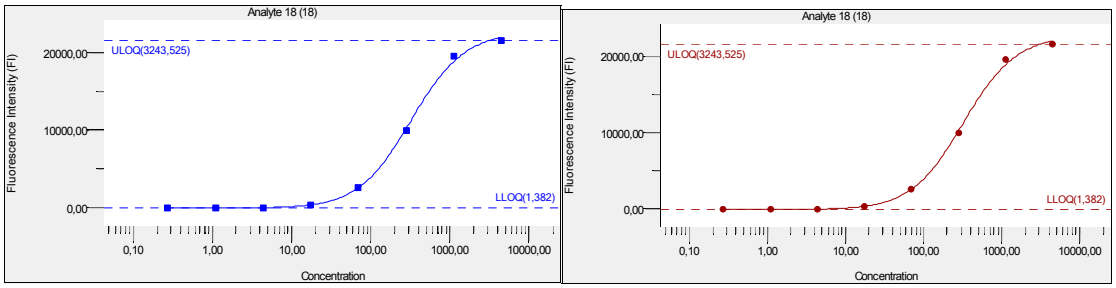
	PMA/THP-1	
	UYARIMSIZ MKH SUPERNATAN İLE PMA/THP-1'LERİN KÜLTÜRÜ	
	SADECE DMF10	UYARIMSIZ MKH SUPERNATANI
TLR4	0	0,1
İL-18R	5,6	7,8
HLA G	0,1	0,5
CD80	0,6	1,3
CD86	7,1	22,2
CD197	0,7	0,6
CD192	2,9	15
CD206	0,6	2,2
CD31	91,6	95,9
CD14	0,2	0,1
CD45	98,5	99



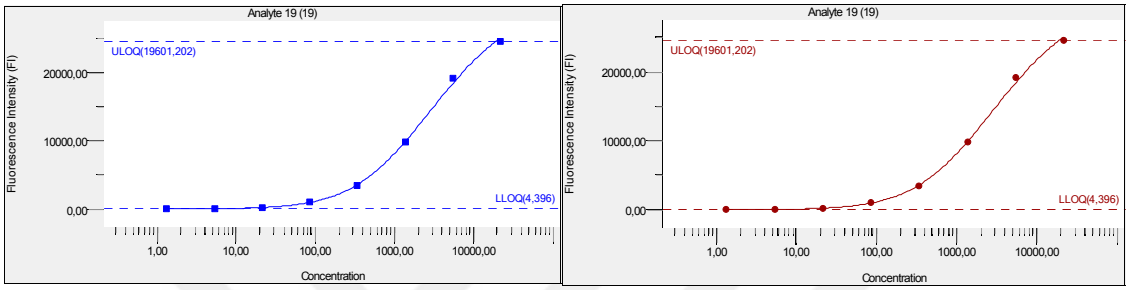
Şekil 4.113. Uyarımsız MKH ile uyarımsız PMA/THP-1'in kültürün sonrası PMA/THP-1'ların akım sitometri ile analiz sonuçlarının bar grafiği

4.10. MKH'lerin ve PMA/THP-1'lerin ELİSA ile Sitokin ve Kemokin Ölçümleri

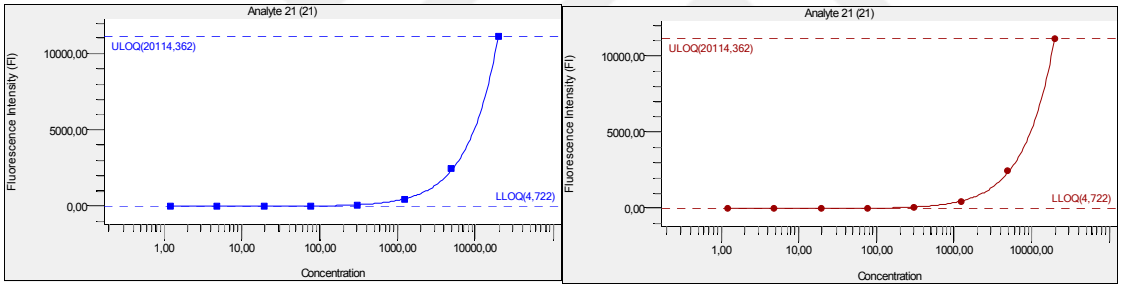
İmmün fenotiplendirme için yapılan transvel ko-kültüründe ve ayrıca direkt ko-kültürde her bir grup üç paralel olarak hazırlandı, uyarımsız tek başına ve uyarımsız direkt ve transvel ko-kültürleri kontrol olarak kullanıldı. Arka planı belirlemek için prime solüsyonu konmamış kültür medyumu ve prime solüsyonu tek başına konmuş kültür medyumu kullanıldı. Ko-kültürlerinin sonunda toplanan kültür süpernatantlarında salgılanan sitokin ve faktörlerden FGF basik, Eotaksin, G-CSF, GM-CSF, IFN-γ, İL-1β, İL-1ra, İL-2, İL-4, İL-5, İL-6, İL-7, İL-8, İL-9, İL-10, İL-12 (p70), İL-13, İL-15, İL-17, IP-10, MCP-1 (MCAF), MIP-1α, MIP-1β, PDGF-BB, RANTES, TNF-α ve VEGF için Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-Plex Immunoassay kiti (BIO-RAD, M500KCAF0Y) kullanıldı. PEDİSTEM'de Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-Plex Immunoassay Kiti için plate Okuyucu (Synergy HT) (BIOTEK Instruments) da ölçümlendi ve Gen 5 analiz programı ile analiz edildi. TGF-β için hTGF-β ELISA kiti, CCL-22 için hCCL-22 ELISA kiti ve IDO için hIDO ELISA kiti kullanıldı. Gazi Üniversitesi İmmünoloji Laboratuvarında Sunrise, TECAN plate okuyucuda ölçümlendi ve Magellan™ programı ile analiz edildi. Gruplar 2'ye ayrılarak işlem iki gün yapıldı. Her iki günde de ayrı standartlar kullanıldı. Her bir sitokine ait her iki günde de elde edilen standart eğriler aşağıdaki şekillerde verilmiştir. Standart eğriler her iki günde de birbiri ile uyumluydu. Analizler bu standart eğriler üzerinden yapıldı.



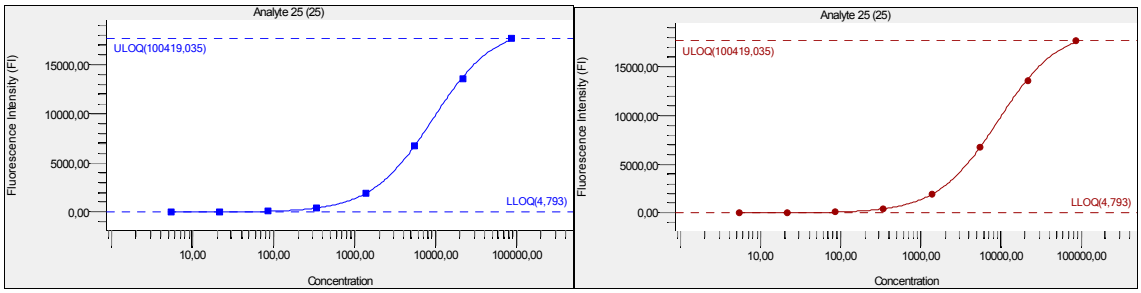
Şekil 4.114. Birinci ve ikinci plaktaki MIP-1β'nın standart eğrisi



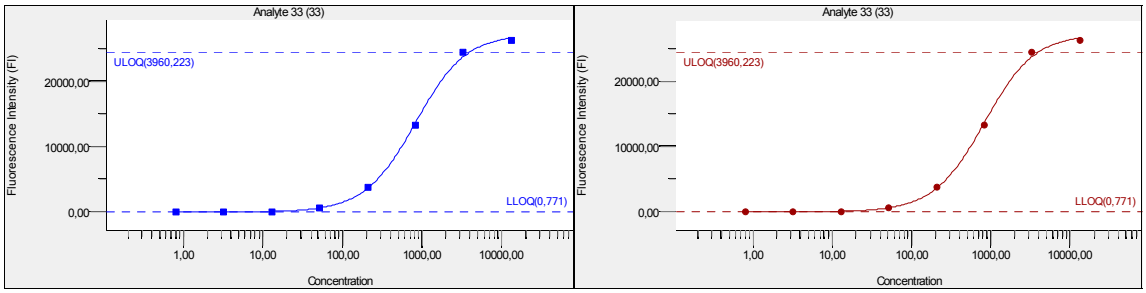
Şekil 4.115. Birinci ve ikinci plaktaki İL-6'nın standart eğrisi



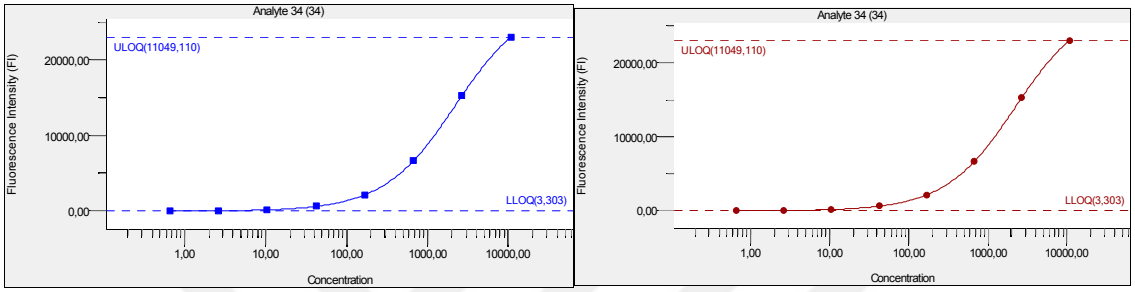
Şekil 4.116. Birinci ve ikinci plaktaki İFN-γ'nın standart eğrisi



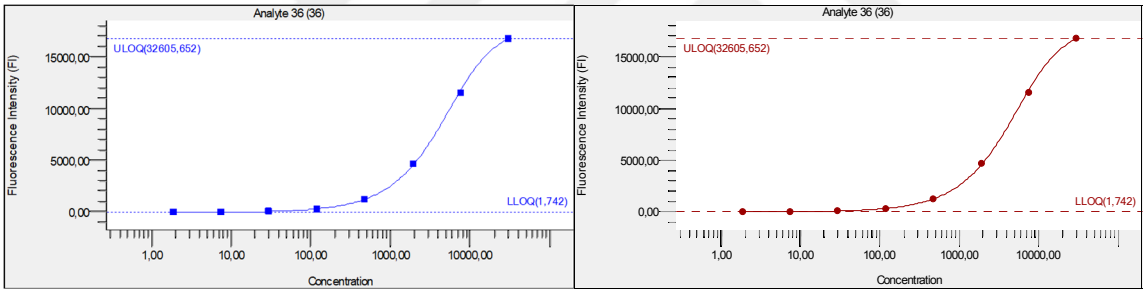
Şekil 4.117. Birinci ve ikinci plaktaki İL-1ra'nın standart eğrisi



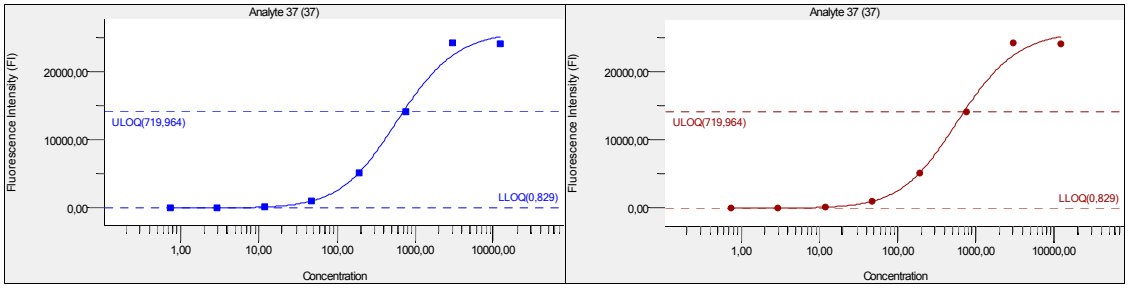
Şekil 4.118. Birinci ve ikinci plaktaki İL-5'in standart eğrisi



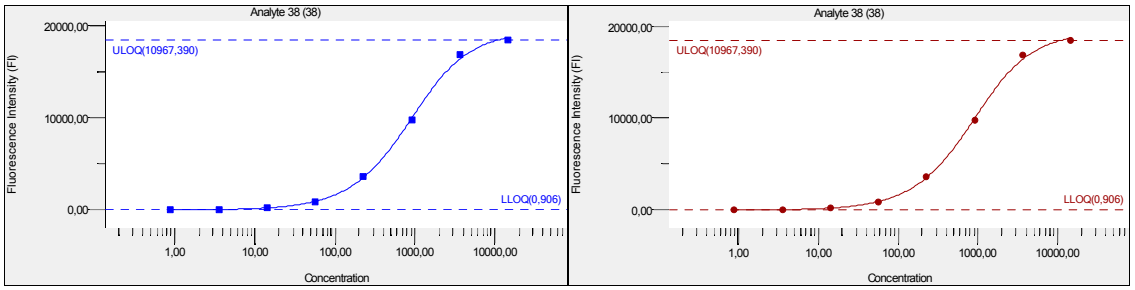
Şekil 4.119. Birinci ve ikinci plaktaki GM-CSF'in standart eğrisi



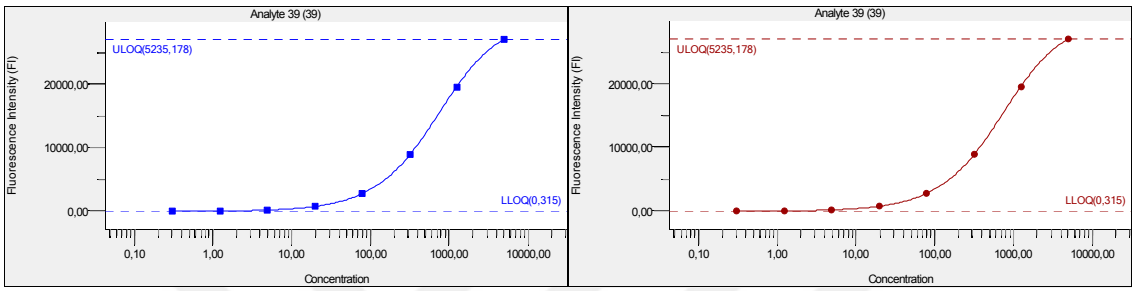
Şekil 4.120. Birinci ve ikinci plaktaki TNF-α'nın standart eğrisi



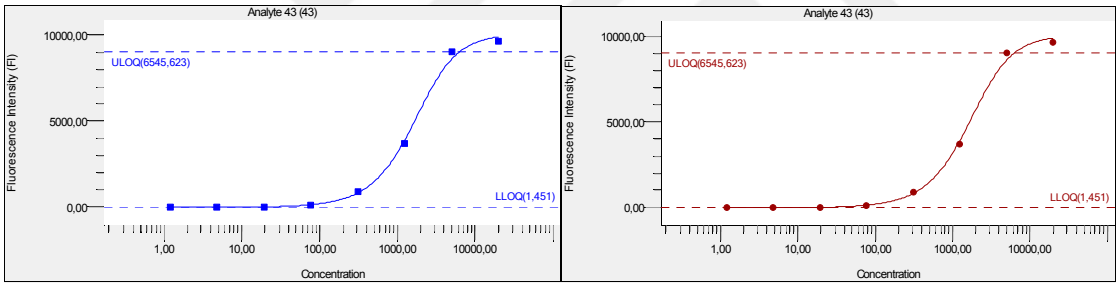
Şekil 4.121. Birinci ve ikinci plaktaki RANTES'in standart eğrisi



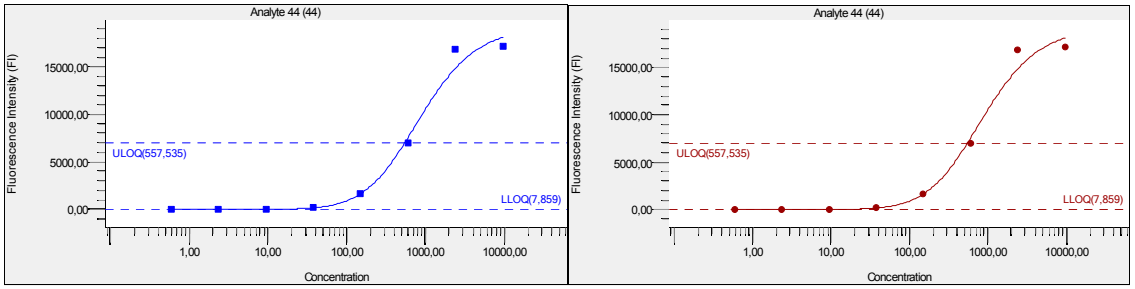
Şekil 4.122. Birinci ve ikinci plaktaki İL-2'nin standart eğrisi



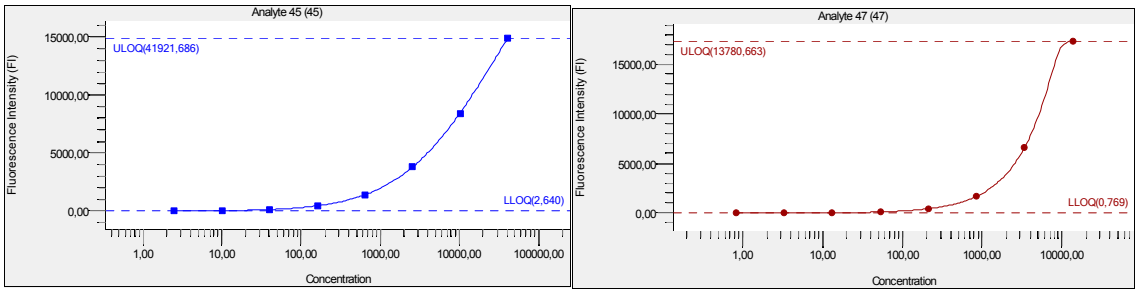
Şekil 4.123. Birinci ve ikinci plaktaki İL-1β'nın standart eğrisi



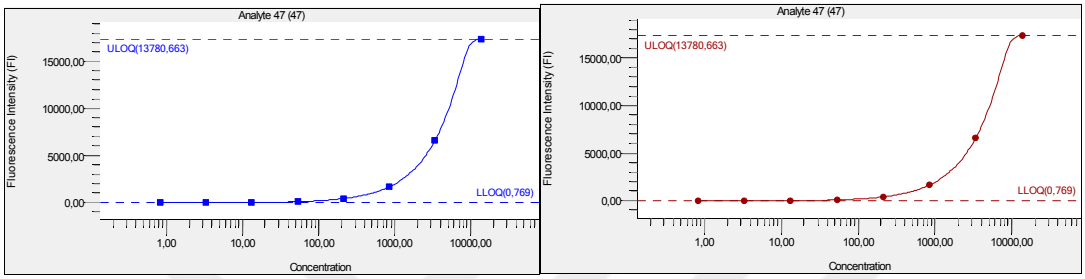
Şekil 4.124. Birinci ve ikinci plaktaki eotaksin'in standart eğrisi



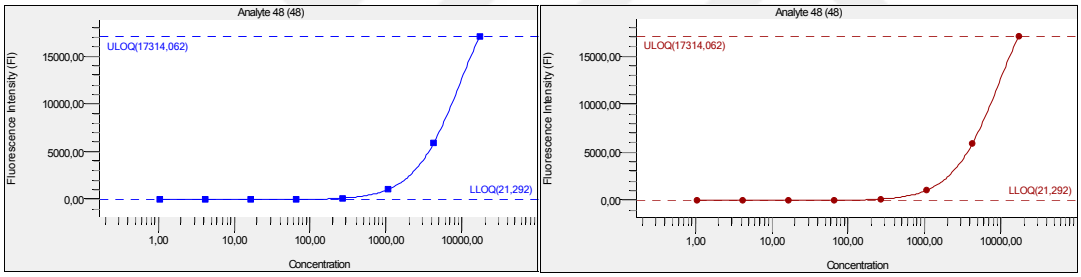
Şekil 4.125. Birinci ve ikinci plaktaki FGF'ün standart eğrisi



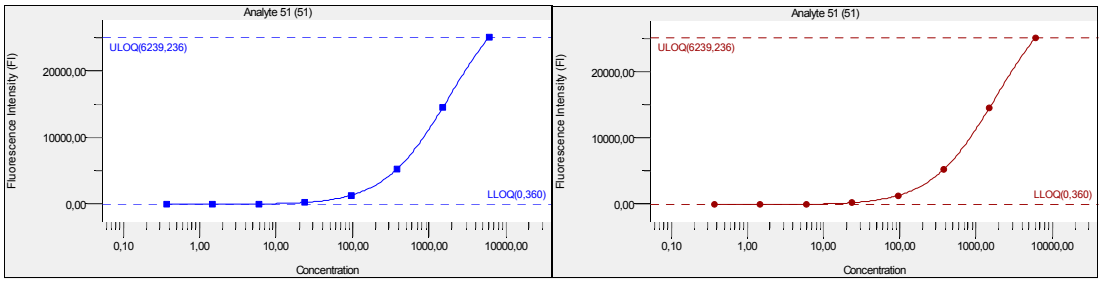
Şekil 4.126. Birinci ve ikinci plaktaki VEGF'ün standart eğrisi



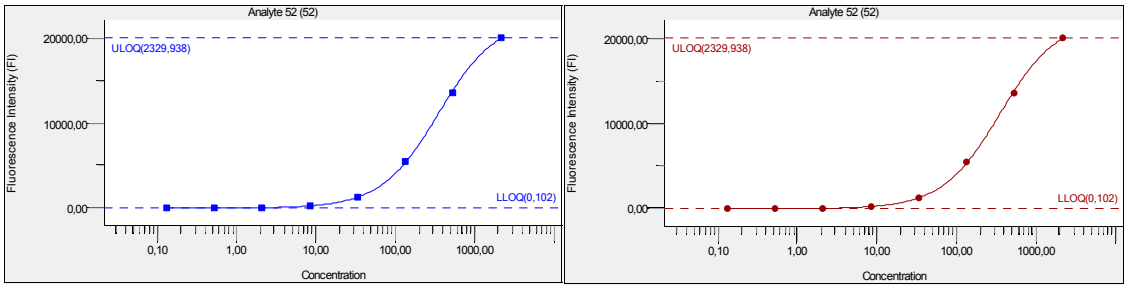
Şekil 4.127. Birinci ve ikinci plaktaki PDGF'in standart eğrisi



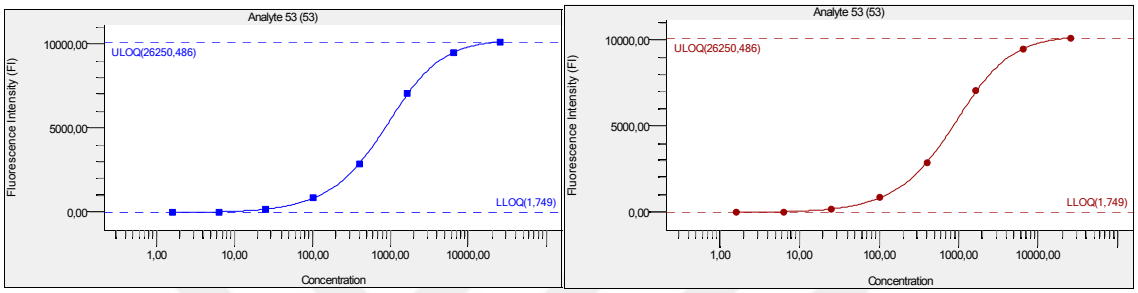
Şekil 4.128. Birinci ve ikinci plaktaki IP-10'nun standart eğrisi



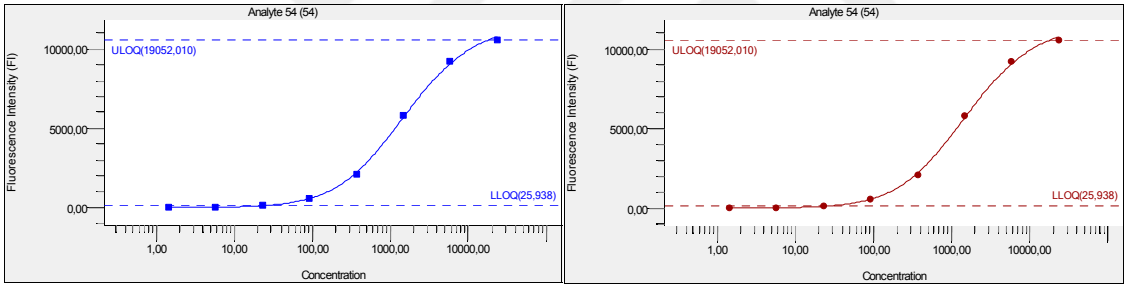
Şekil 4.129. Birinci ve ikinci plaktaki İL-13'ün standart eğrisi



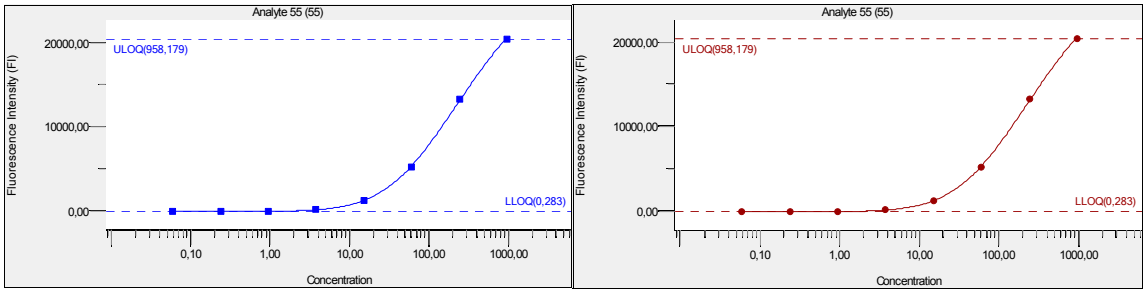
Şekil 4.130. Birinci ve ikinci plaktaki İL-4'ün standart eğrisi



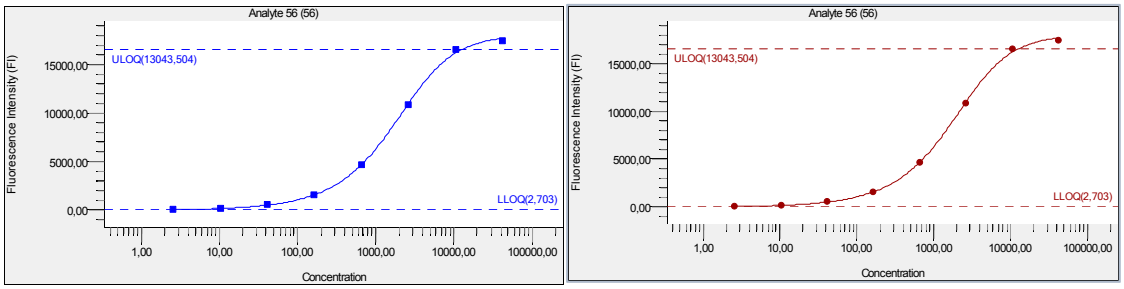
Şekil 4.131. Birinci ve ikinci plaktaki MCP-1'in standart eğrisi



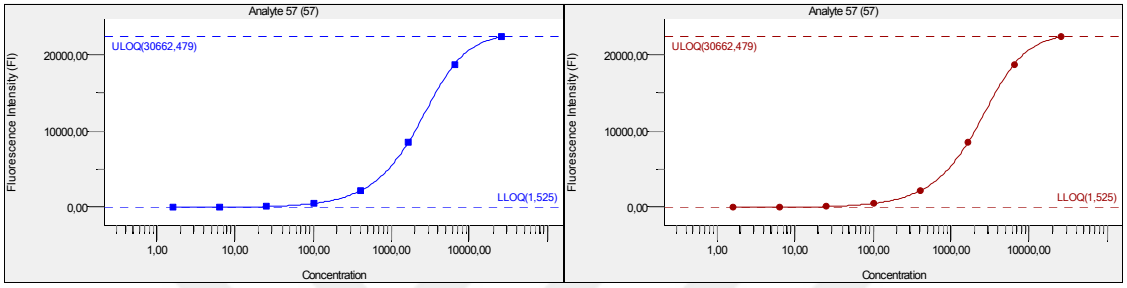
Şekil 4.132. Birinci ve ikinci plaktaki İL-8'in standart eğrisi



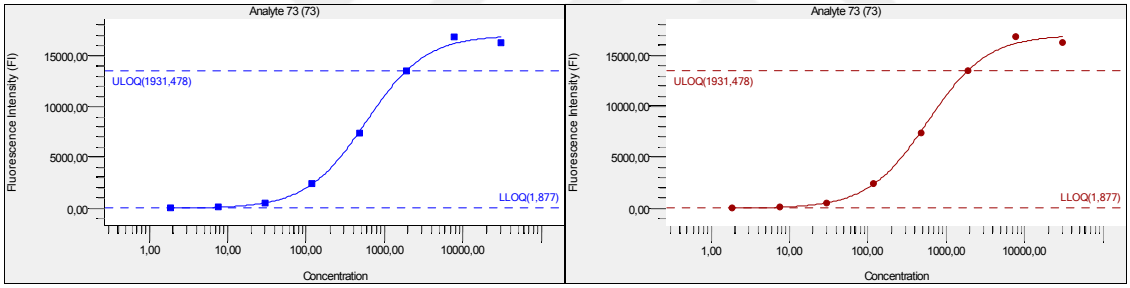
Şekil 4.133. Birinci ve ikinci plaktaki MIP-1α'nın standart eğrisi



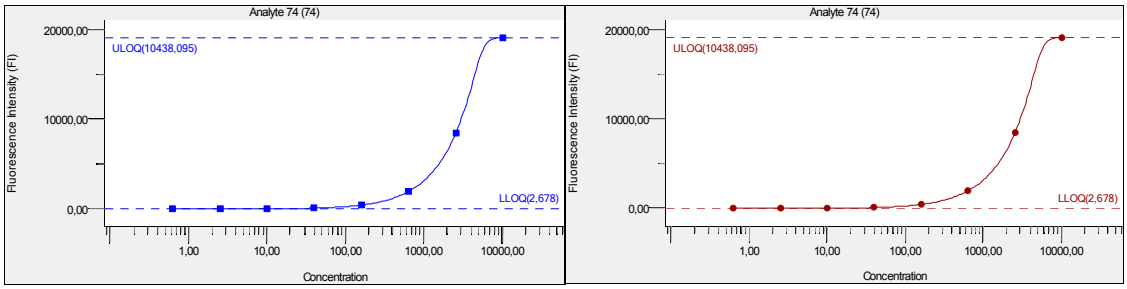
Şekil 4.134. Birinci ve ikinci plaktaki İL-10'nun standart eğrisi



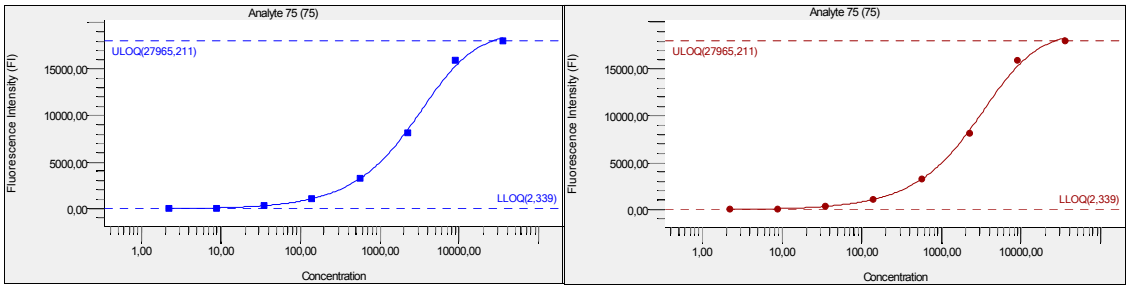
Şekil 4.135. Birinci ve ikinci plaktaki G-CSF'in standart eğrisi



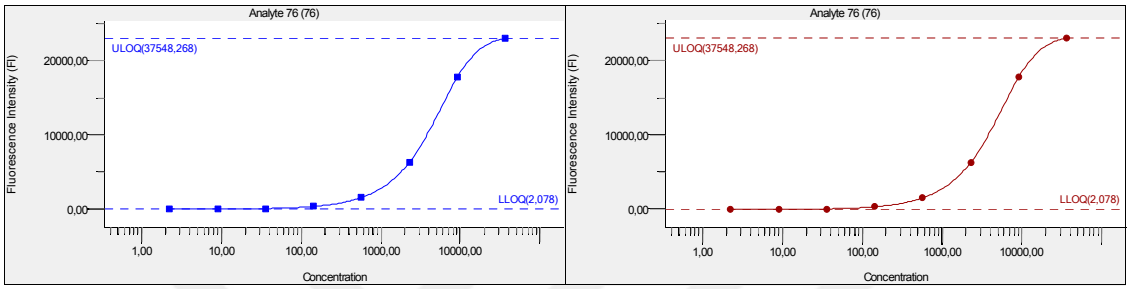
Şekil 4.136. Birinci ve ikinci plaktaki İL-15'in standart eğrisi



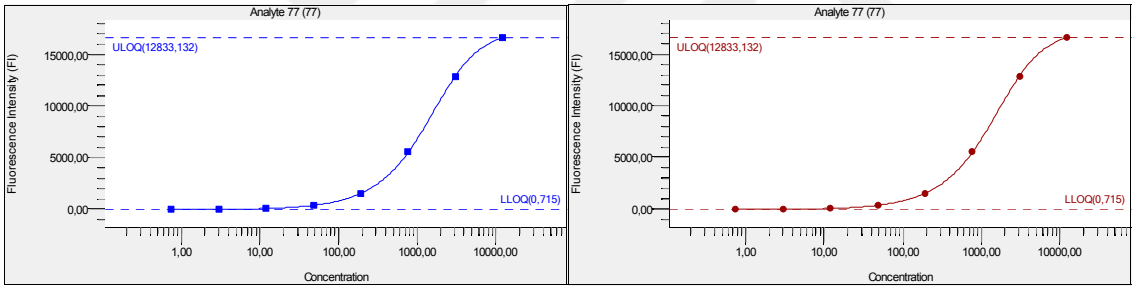
Şekil 4.137. Birinci ve ikinci plaktaki İL-7'nin standart eğrisi



Şekil 4.138. Birinci ve ikinci plaktaki İL-12p70'in standart eğrisi



Şekil 4.139. Birinci ve ikinci plaktaki İL-17A'nın standart eğrisi



Şekil 4.140. Birinci ve ikinci plaktaki İL-9'un standart eğrisi

Çizelge 3.8'da listelenen prime moleküllerinin eklendiği kültür medyumunun analiz sonuçları Çizelge 4.51'de verilmiştir.

Çizelge 4.51. Prime moleküllerinin eklendiği kültür medyumunun analiz sonuçları

	pg/ml
İFN-γ	475,73
İL-4	375,16
İL-10	OOR >
İL-13	1950,24
TNF-α	626,61

Çizelge 3.8'da listelenen moleküllerle MKH ve PMA/THP-1'lerin prime edildiği transvel ko-kültür sonrası toplanan kültür süpernatanlarının analizi sonucu Çizelge 4.52'de verilmiştir. Kontrol grubu olarak her iki hücre grubu da uyarımsız olarak transvel ko-kültür yapıldı ve sonrasında kültür süpernatanları toplandı.

Çizelge 4.52. Hem MKH'ların ve hem PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürlerde çeşitli uyaranlarla prime edilmesi sonrası ELISA sonuçları (pg/mL, Ort.+SE)

	Poli(I:C)	İFN-γ Düşük doz LPS	İL-4 İL-10 İL-13	TNF-α	Yüksek doz LPS	Uyarımsız baseline
CXCL10 (IP10)	17554,49±790,61	16061,92±552,37	17550,63±768,91	376,89±5,15	17145±1136,19	18127,69±496,0
CCL22	1251,224±9,59	1184,19±18,01	1281,91±84,45	1201,87±57,04	1325,93±37,79	1299,91±45,87
İL-12	76,32±1,75	68,68±1,83	69,03±0,60	46,80±23,40	82,28±4,54	71,02±2,12
İL-1β	38,22±1,64	56,28±4,87	20,05±1,46	25,80±13,02	111,40±12,13	33,94±2,97
İL-6	>19601,20	>19601,20	>19601,20	>19601,20	>19601,20	>19601,20
İL-10	32,35±0,72	35,54±1,41	5771,65±319,34	21,11±10,71	65,42±1,65	31,45±1,40
TGF-β	42,09±3,85	43,89±4,78	48,6±1,28	43,16±1,33	44,61±2,727	51,26±44,35
İFN-γ	385,35±17,66	434,39±4,61	336,12±12,38	223,38±111,7	421,57±7,14	352,36±1,60
İL–13	2,83±0,17	2,95±0,10	1524,82±6,96	1,64±0,82	3,03±0,12	2,33±0,10
İL–4	5,25±0,12	5,40±0,06	71,96±7,02	3,22±1,61	6,06±0,20	5,03±0,05
İL–5	2,29±0,04	2,21±0,04	3,05±0,12	1,61±0,87	3,17±0,47	2,11±0,14
	Poli(I:C)	İFN-γ	İL-4	TNF-α	Yüksek doz LPS	Uyarımsız
TNF-α	89,30±2,29	247,96±7,30	82,96±2,04	271,89±135,95	182,19±2,62	84,89±3,18
MCP–1	623,61±43,17	678,97±10,80	732,61±21,47	406,41±203,46	693,70±18,08	623,63±10,29
MIP–1α	>958,18	>958,18	>958,18	639,16±319,01	>958,18	>958,18
MIP–1β	>3533,53	>3533,53	2903,15±250,85	2827,52±33,14	>3533,53	2727,20±191,20
İL–17A	98,95±2,38	103,39±1,94	99,26±1,02	64,32±32,30	105,91±3,70	89,75±2,79
İL–15	17,50±0,17	20,84±0,02	14,55±0,41	10,09±5,06	21,62±0,45	15,37±0,53
IDO	42,489±3,90	45,81±2,78	37,68±1,907	43,079±3,51	47,49±3,16	49,77±3,35

Hem MKH'ların ve hem PMA/THP-1'lerin direkt ko-kültürlerde çeşitli uyaranlarla prime edilmesi sonrası toplanan kültür süpernatanlarının analizi sonucu Çizelge 4.53'de verilmiştir. Kontrol grubu olarak her iki hücre grubu da uyarımsız olarak direkt ko-kültür yapıldı ve sonrasında kültür süpernatanları toplandı.

Çizelge 4. 53. Hem MKH'ların ve hem PMA/THP-1'lerin direkt ko-kültürlerde çeşitli uyaranlarla prime edilmesi sonrası ELISA sonuçları (pg/mL, Ort.+SE)

	Poli(I:C)	İFN-γ Düşük doz LPS	İL-4 İL-10 İL-13	TNF-α	Yüksek doz LPS	Uyarımsız baseline
CXCL10 (IP10)	572,66±150,95	>17314,06	141,93±14,77	236,11±25,01	14123,68±654,74	168,77±7,61
CCL22	1154,84±68,59	1076,47±43,13	1174,52±42,21	1237,55±86,46	1321,26±77,36	1309,92±34,20
İL-12	49,80±1,79	53,10±1,42	39,82±1,78	52,88±2,59	56,51±2,77	47,34±2,52
İL-1β	28,89±2,45	204,56±20,72	23,52±1,18	36,02±1,70	216,83±13,18	26,70±3,32
İL-6	>22668,66	>22668,66	19488,64±87,3	>22668,66	>22668,66	18746,58±854,61
İL-10	22,85±1,33	25,83±1,67	4989,88±71,92	22,30±0,61	59,43±1,53	24,00±1,35
TGF-β	49,81±2,81	41,29±0,74	48,07±2,10	45,52±1,04	44,20±2,72	50,37±3,33
İFN-γ	274,75±6,63	509,92±9,65	272,50±6,99	276,11±4,70	491,91±8,97	257,51±11,80
İL–13	1,90±0,24	6,08±0,317	1007,24±42,237	2,03±0,05	2,65±0,18	2,00±0,279
İL–4	3,76±0,12	5,85±0,13	120,79±7,28	3,81±0,03	6,81±0,13	3,65±0,18
İL–5	1,64±0,34	2,77±0,06	2,79±0,14	1,77±0,14	2,26±0,13	1,63±0,17
TNF-α	40,79±0,88	47,18±1,09	42,72±0,86	782,35±82,71	2264,55±107,45	39,16±1,89
MCP–1	442,82±7,72	706,27±14,44	621,79±10,75	483,13±10,91	711,18±9,34	413,55±16,24
MIP–1α	>958,18	>958,18	>958,18	>958,18	>958,18	920,05±38,12
MIP–1β	1848,54±124,95	2273,65±130,53	1602,38±102,97	2178,59±201,46	3533,53±116,70	1265,20±215,61
İL–17A	72,46±0,50	96,85±1,879	75,25±1,36	74,88±1,01	99,13±0,537	65,18±3,56
İL–15	7,49±0,37	15,46±0,40	9,79±0,26	8,15±0,10	15,13±0,32	6,40±0,51
IDO	35,77±5,179	42,15±3,38	41,00±1,95	40,53±1,91	45,89±5,14	47,02±1,93

Çeşitli moleküllerle MKH'ların prime edilmesi sonrası toplanan kültür süpernatanlarının analizi sonucu Çizelge 4.54'de verilmiştir.

Çizelge 4.54. MKH'ların tek başına farklı uyaranlarla prime edilmesi sonrası ELISA sonuçları (pg/mL, Ort.+SE)

MKH	Poli(I:C)	İFN-γ Düşük doz LPS İL-10 İL-13	İL-4	TNF-α	Yüksek doz LPS	Uyarımsız baseline
CXCL10 (IP10)	31,53±1,00	15000,00±763,76	86,73±20,67	179,08±65,05	650,67±17,217	23,03
CCL22	1101,8±69,11	1058,13±16,00	1098,15±68,52	1245,89±33,63	1230,88±24,73	1113,15±102,1
İL-12	27,62±1,01	31,066±1,36	35,626±2,66	30,97±1,40	31,98±0,986	22,71
İL-1β	0,50±0,07	1,646±0,02	1,30±0,05	1,38±0,12	1,45±0,03	0,57
İL-6	978,47±43,15	12990,49±310,87	4780,77±652,50	6582,41±1604,93	15373,05±735,02	805,38
İL-10	9,19±0,37	10,38±0,67	4276,06±273,179	1325,63±1306,79	10,39±0,11	7,49
TGF-β	52,826±0,48	39,32±3,20	48,09±1,22	47,85±1,095	48,07±3,58	46,09±1,40
İFN-γ	73,37±2,11	290,49±3,38	151,87±5,4	155,65±12,10	188,20±3,40	55,10
İL–13	0,73±0,028	1,80±0,08	3677,07±474,02	1404,916±1398,91	1,37±0,054	0,47
İL–4	0,84±0,03	3,00±0,08	71,76±9,55	29,71±27,48	2,42±0,04	0,62
İL–5	0,00	1,44±0,056	2,066±0,04	1,306±0,359	0,97±0,00	ND
TNF-α	8,63±0,33	30,9±0,23	41,94±16,36	222,94±103,026	25,10±0,659	5,70
MCP–1	28,31±1,22	650,49±33,13	334,17±98,98	458,77±148,85	495,29±6,31	17,58
MIP–1α	3,68±3,28	1,08±0,07	0,72±0,02	0,73±0,05	0,81±0,02	0
MIP–1β	5,39±0,53	3,06±0,41	1,14±0,577	0,58±0,058	1,65±0,03	0
İL–17A	5,45±0,00	23,54±0,92	17,02±2,33	16,19±2,48	20,67±0,33	0
İL–15	0,00	7,52±0,33	2,30±1,20	3,77±1,908	4,15±0,25	0
IDO	42,069±2,05	44,74±1,337	46,85±3,46	48,21±4,29	44,488±2,276	37,37±2,94

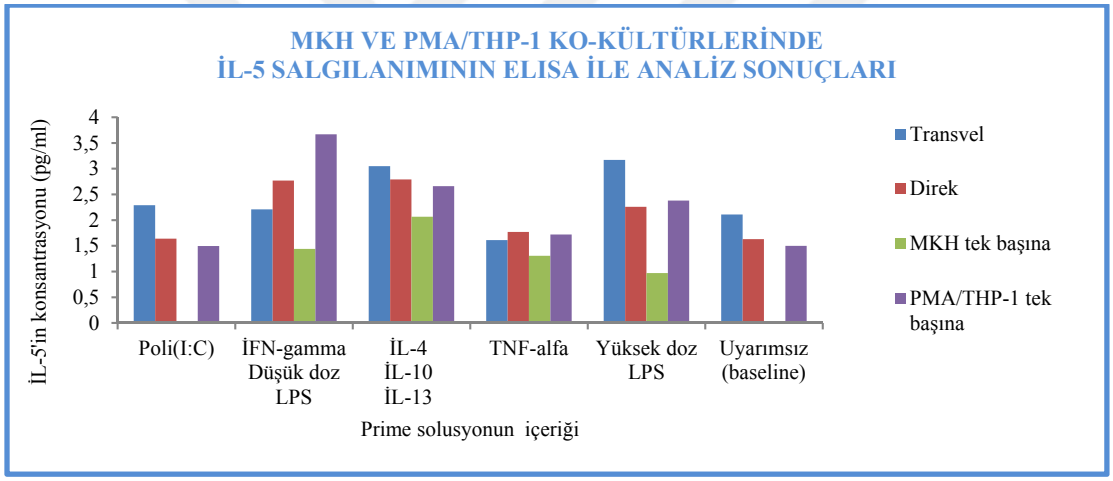
Çeşitli moleküllerle PMA/THP-1'lerin prime edilmesi sonrası toplanan kültür süpernatanlarının analizi sonucu Çizelge 4.55'da verilmiştir.

Çizelge 4.55. Yalnızca PMA/THP-1'lerin farklı uyaranlarla prime edilmesi sonrası ELİSA sonuçları (pg/mL, Ort.+SE)

THP1	Poli(I:C)	İFN-gamma Düşük doz LPS	İL-4 İL-10 İL-13	TNF-α	Yüksek doz LPS	Uyarımsız baseline
CXCL10 (IP10)	15282,45±680,69	17314,06±0,00	341,27±35,03	1802,44±73,74	17314,06±0,00	999,16
CCL22	1167,52±16,43	1282,24±30,10	1173,52±64,22	1148,51±37,11	1190,53±33,00	1245,22±48,52
İL-12	55,66±1,70	43,58±4,87	67,07±2,79	57,45±1,01	57,94±3,47	49,96
İL-1β	98,22±18,82	3147,12±517,93	59,53±1,14	151,98±13,97	1350,75±146,59	338,80
İL-6	0	773,79±74,52	0	0	3487,33±540,01	12,63
İL-10	18,28±0,20	23,25±3,179	4921,17±327,727	16,19±1,14	72,90±1,699	18,57
TGF-β	40,967±4,21	41,19±5,74	28,269±10,29	49,467±2,4	38,037±5,67	39,27±4,788
İFN-γ	205,06±9,217	4714,85±383,47	231,52±3,68	211,60±7,27	851,76±22,15	226,46
İL–13	1,87±0,08	3,28±0,41	2901,88±155,096	1,96±0,08	3,04±0,11	2,03
İL–4	3,1133±0,14	11,28±0,65	184,47±4,24	3,23±0,08	11,93±0,20	3,50
İL–5	1,496±0,166	3,67±0,546	2,66±0,04	1,72±0,119	2,38±0,279	1,5
TNF-α	139,03±9,33	626,68±22,22	99,31±3,479	15955,7±2160,95	>32605,65	246,96
MCP–1	574,52±18,44	688,216±34,91	573,43±41,67	402,056±7,62	603,556±20,44	370,21
MIP–1α	>958,18	>958,18	>958,18	>958,18	>958,18	>958,18
MIP–1β	>3533,53	>3533,53	>3533,53	>3533,53	>3533,53	3350,2
İL–17A	79,16±2,02	132,41±7,39	87,64±4,75	77,36±2,42	132,91±1,34	75,88
İL–15	8,316±0,44	22,01±01,35	9,346±0,40	6,70±0,05	22,09±0,59	6,56
IDO	46,853±,46	48,21±4,29	44,488±2,276	45,20±0,80	54,12±1,90	44,47±3,336

4.10.1. Ko-kültürde İL-5 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C), İFN-γ+düşük doz LPS, İL-4+İL-10+İL-13, TNF–α ve yüksek doz LPS prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde ve tek başına kültürlerde İL-5 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği Şekil 4.141'de verilmiştir. Uyarımsız kültürlerde ve poli(I:C) ile prime kültürlerde MKH tek başına İL-5 salgılamazken diğer gruplarda düşük düzeyde salgıladığı, PMA/THP-1'lerin bütün gruplarda tek başına iken düşük düzeyde salgıladıkları ve ko-kültürlerde uyarımsız ve poli(I:C) ile prime transvel grubunda İL-5 salınımında ise hafif düzeyde arma olduğu, İFN-γ+düşük doz LPS, İL-4+İL-10+İL-13, TNF–α ve yüksek doz LPS prime kültürlerde MKH ve PMA/THP-1'lerin tek başına düşük düzeyde İL-5 salgıladıkları, ko-kültürlerde ise salgılanmaya devam etmekle birlikte seviyesinin düştüğü bulunmuştur.

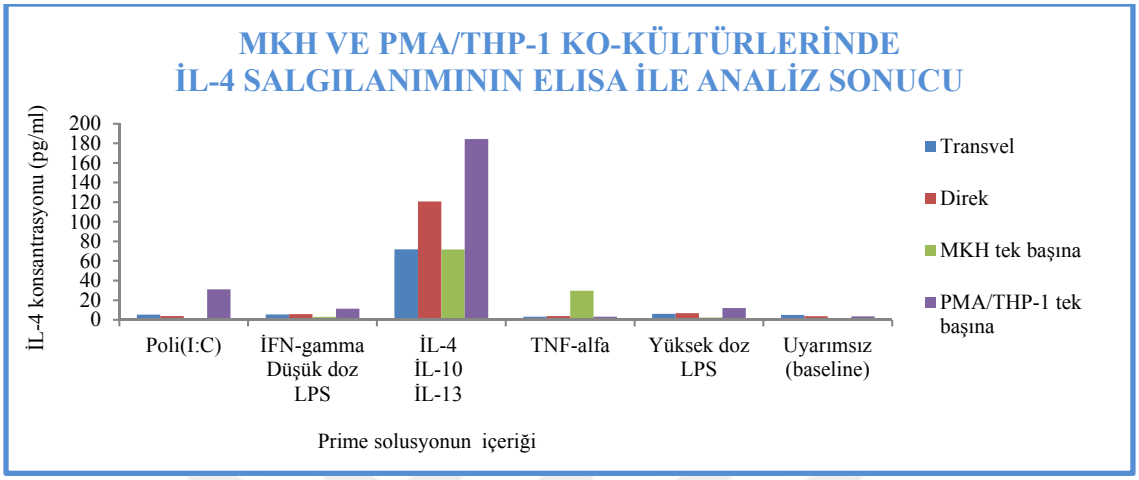


Şekil 4.141. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde İL-5 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği

4.10.2. Ko-kültürde İL-4 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C), İFN-γ+düşük doz LPS, İL-4+İL-10+İL-13, TNF–α ve yüksek doz LPS prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürlerde ve tek başına kültürlerde İL-4 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği Şekil 4.142'de verilmiştir. PMA/THP-1'ler tek başına İL-4+İL-10+İL-13 grupta belirgin, poli(I:C), İFN-γ+düşük doz LPS, İL-4+İL-10+İL-13 ve yüksek doz LPS prime grupta ise düşük düzeyde İL-4 salgıladıkları, MKH'ların tek başına İL-4+İL-10+İL-13 prime grupta

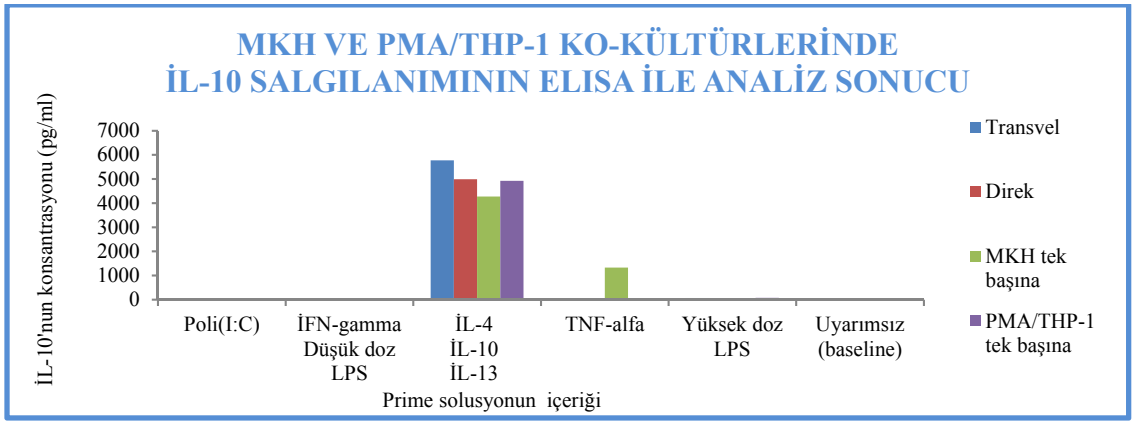
daha fazla olmakla birlikte İL-4+İL-10+İL-13 ve TNF-α ile prime grupta İL-4 salgıladığı, uyarımsız grupta belirgin bir salgılamanın olmadığı, ko-kültürlerde İL-4+İL-10+İL-13 ile prime grupta en yüksek düzeyde olmak üzere İL-4 salgılanımının azaldığı bulunmuştur.



Şekil 4.142. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde İL-4 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği

4.10.3. Ko-kültürde İL-10 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

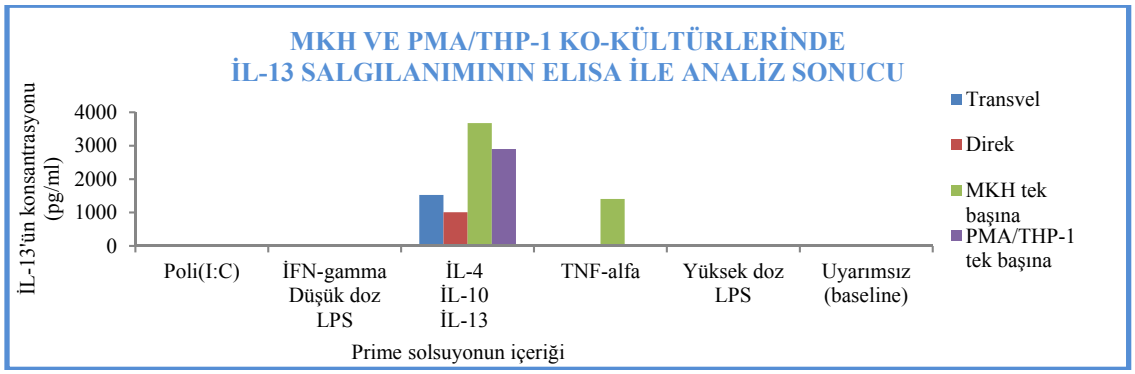
MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C), İFN-γ+düşük doz LPS, İL-4+İL-10+İL-13, TNF–α ve yüksek doz LPS prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürlerde ve tek başına kültürlerde İL-10 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği Şekil 4.143'de verilmiştir. Sadece İL-4+İL-10+İL-13 ile prime grupta belirgin düzeyde olmak üzere, hem PMA/THP-1'de hem MKH'larda tek başına prime grupta İL-10 salgılanımı, ko-kültürlerden sonrada direkt ko-kültüründe daha belirgin olmak üzere İL-10 salgılanımının azaldığı, TNF-α ile prime grupta sadece MKH tek başına iken İL-10 salgılandığı ko-kültürde ise baskılandığı bulunmuştur.



Şekil 4. 143. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde İL-10 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği

4.10.4. Ko-kültürde İL-13 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

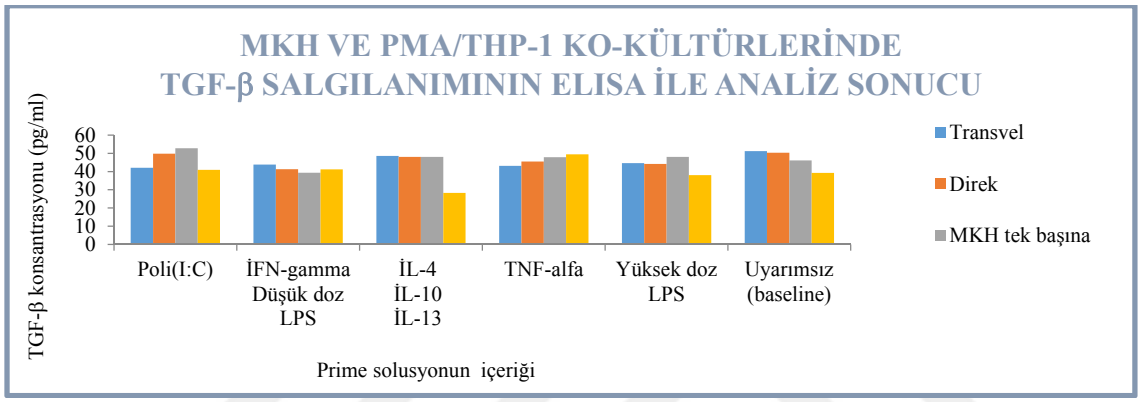
MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C), İFN-γ+düşük doz LPS, İL-4+İL-10+İL-13, TNF–α ve yüksek doz LPS prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürlerde ve tek başına kültürlerde İL-13 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği Şekil 4.144'de verilmiştir. Sadece İL-4+İL-10+İL-13 ile prime grupta belirgin düzeyde olmak üzere, hem PMA/THP-1'de hem MKH'larda tek başına prime grupta İL-13 salgılanımı artmış olduğu, ko-kültürlerden sonrada direkt ko-kültüründe daha belirgin olmak üzere İL-13 salgılanımının azaldığı, TNF-α ile prime grupta sadece MKH tek başına iken İL-13 salgılandığı ko-kültürde ise İL-13 salınımının baskılandığı bulunmuştur.



Şekil 4.144. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde İL-13 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği

4.10.5. Ko-kültürde TGF-beta salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

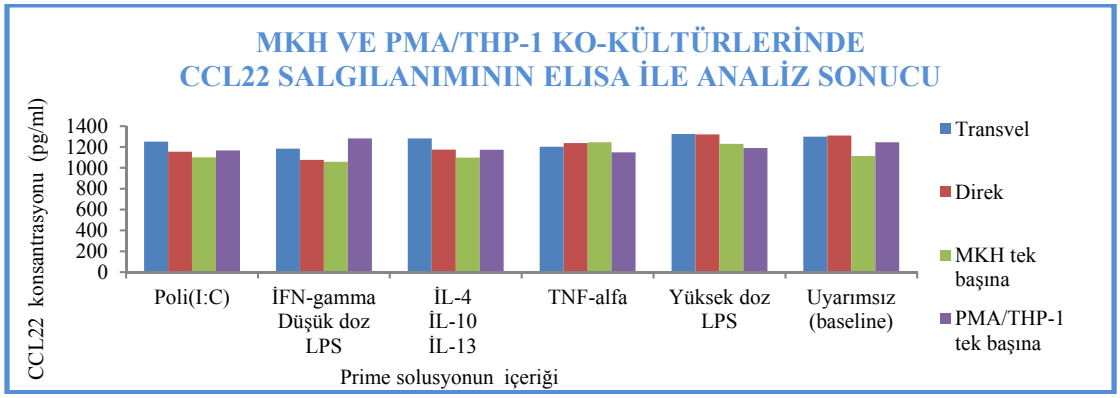
MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C), İFN-γ+düşük doz LPS, İL-4+İL-10+İL-13, TNF–α ve yüksek doz LPS prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürlerde ve tek başına kültürlerde TGF-β salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği Şekil 4.145'de verilmiştir. Uyarımsız grupla karşılaştırıldığında gruplar arasında belirgin bir fark görülmemekle birlikte bütün gruplarda MKH ve PMA/THP-1'lerin tek başına düşük düzeylerde TGF-β salgılarken ko-kültürlerde TGF-β seviyesinin düştüğü bulunmuştur.



Şekil 4.145. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde TGF-β salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği

4.10.6. Ko-kültürde CCL-22 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

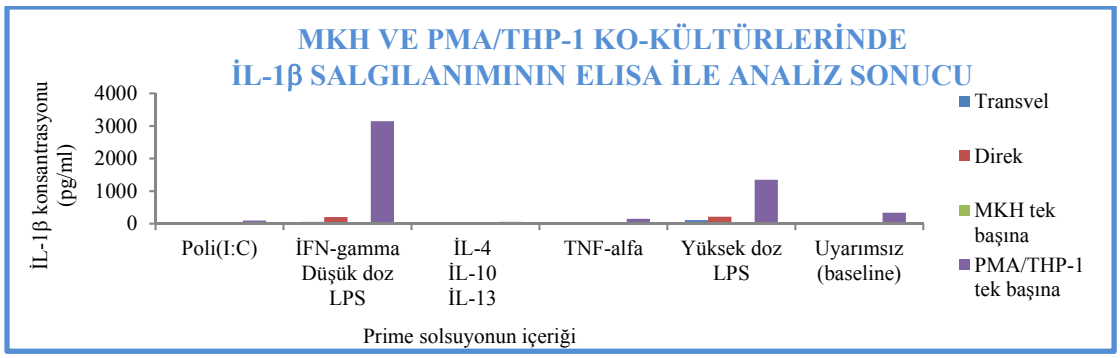
MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C), İFN-γ+düşük doz LPS, İL-4+İL-10+İL-13, TNF–α ve yüksek doz LPS prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürlerde ve tek başına kültürlerde CCL22 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği Şekil 4.146'da verilmiştir. Uyarımsız grupla karşılaştırıldığında gruplar arasında belirgin bir fark görülmemekle birlikte bütün gruplarda MKH ve PMA/THP-1'lerin tek başına düşük düzeylerde CCL22 salgılarken ko-kültürlerde CCL22 seviyesinin düştüğü bulunmuştur.



Şekil 4.146. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde CCL22 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği

4.10.7. Ko-kültürde İL-1beta salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C), İFN-γ+düşük doz LPS, İL-4+İL-10+İL-13, TNF–α ve yüksek doz LPS prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürlerde ve tek başına kültürlerde İL-1β salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği Şekil 4.147'de verilmiştir. En belirgin İFN-γ+düşük doz LPS ve TNF–α ile tek başına prime PMA/THP-1'lerde olmak üzere İL-1β salgılanımının olduğu ko-kültürlerde belirgin düzeyde baskılandığı bulunmuştur.

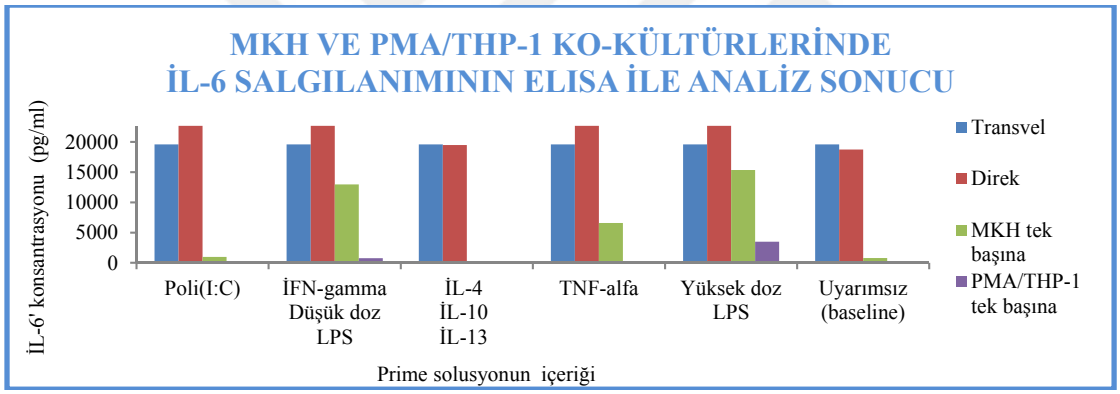


Şekil 4.147. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde İL-1β salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği

4.10.8. Ko-kültürde İL-6 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C), İFN-γ+düşük doz LPS, İL-4+İL-10+İL-13, TNF–α ve yüksek doz LPS prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürlerde

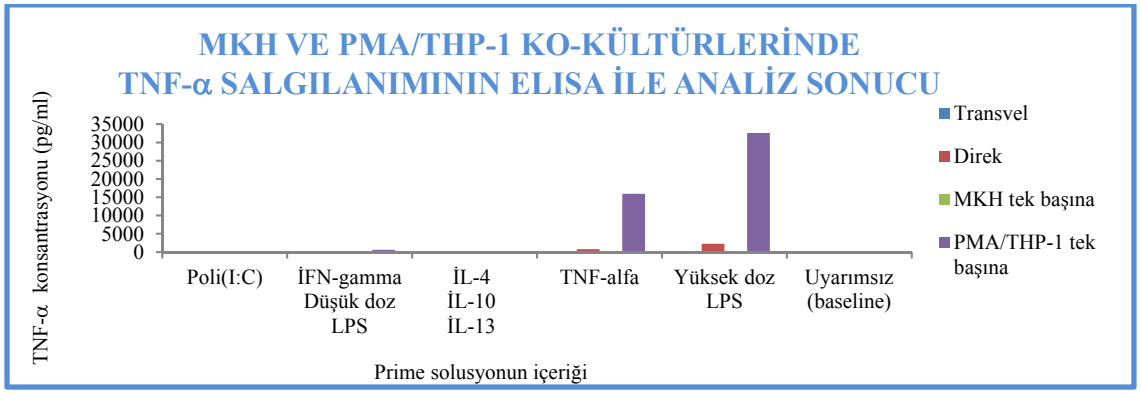
ve tek başına kültürlerde İL-6 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği Şekil 4.148'de verilmiştir. PMA/THP-1'ler tek başına iken uyarımsız grupta çok düşük düzeyde İL-6 salgıladığı, poli(I:C), İL-4+İL-10+İL-13 ve TNF–α ile prime grupta İL-6 salgılamadığı, yüksek doz LPS ve İFN-γ+düşük doz LPS ile prime grupta İL-6 salgıladığı, MKH'lar tek başına iken uyarımsız grupta İL-6 salgılamakla birlikte, İFN-γ+düşük doz LPS ve yüksek doz LPS prime grupta çok yüksek düzeyde olmak üzere, poli(I:C), TNF–α ve İL-4+İL-10+İL-13 prime gruplarda İL-6 salgılanımının belirgin artış gösterdiği, direkt ko- kültürlerde poli(I:C), İFN-γ+düşük doz LPS, TNF–α ve yüksek doz LPS prime grupta tespit sınırlarının üzerinde olduğu, İL-4+İL-10+İL-13 ile prime grupta daha fazla olmak üzere uyarımsız grupta da tek başına kültürlere oranla belirgin derecede arttığı, transvel ko-kültür grubunda hem uyarımsız hem de prime gruplarda tespit sınırlarının üstünde olduğu tek başına kültüre göre belirgin derecede arttığı bulunmuştur.



Şekil 4.148. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde İL-6 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği

4.10.9. Ko-kültürde TNF-alfa salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

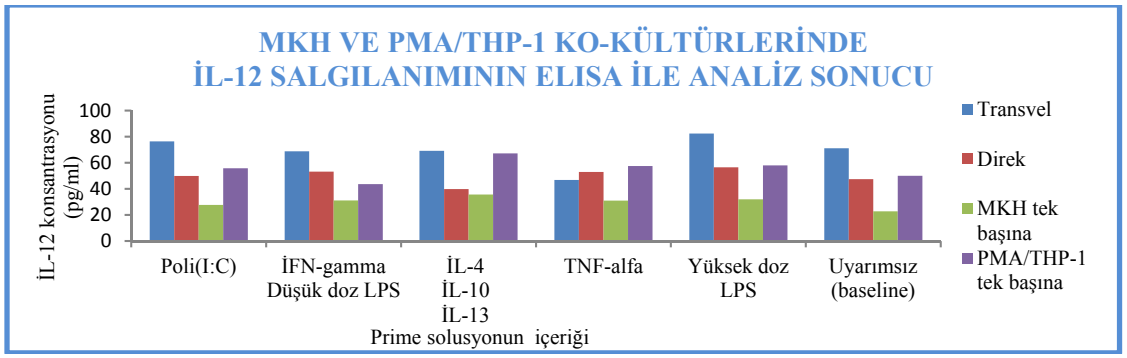
MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C), İFN-γ+düşük doz LPS, İL-4+İL-10+İL-13, TNF–α ve yüksek doz LPS prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürlerde ve tek başına kültürlerde TNF-α salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği Şekil 4.149'da verilmiştir. Uyarımsız grupta hiçbir koşulda TNF-α salınımı olmadığı, yüksek doz LPS prime grupta daha belirgin olmak üzere yüksek doz LPS ve TNF-α prime grupta TNF-α salınımı olduğu ko-kültürde belirgin düzeyde baskılandığı bulunmuştur.



Şekil 4.149. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde İL-6 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği

4.10.10. Ko-kültürde İL-12 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

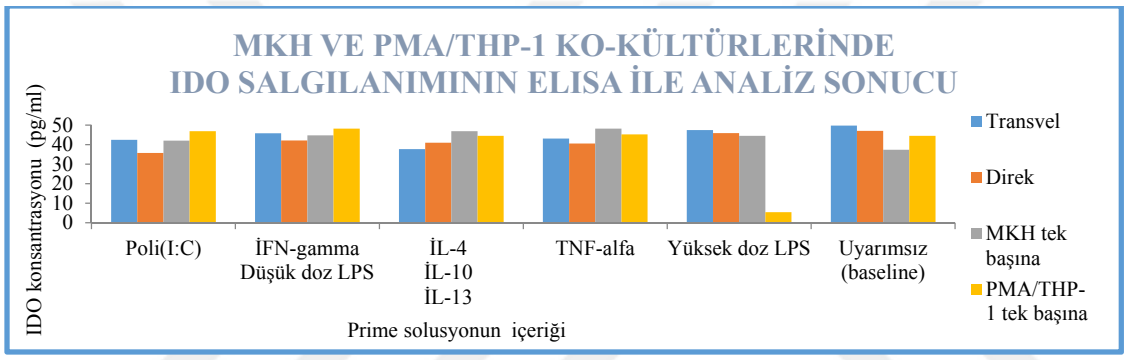
MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C), İFN-γ+düşük doz LPS, İL-4+İL-10+İL-13, TNF–α ve yüksek doz LPS prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürlerde ve tek başına kültürlerde İL-12 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği Şekil 4.150'de verilmiştir. Uyarımsız grupla prime gruplar arasında belirgin farklılık olmamakla birlikte PMA/THP-1'lerde daha fazla olarak PMA/THP-1 ve MKH'larda tek başına uyarımsız olduğunda ve prime edildiğinde İL-12 salgılanımının olduğu, TNF–α ve İL-4+İL-10+İL-13 ile prime grupta her iki ko-kültür grubunda da İL-12 salınımı baskılanırken diğer gruplarda direkt ko-kültür grubunda daha belirgin olmak üzere İL-12 salınımında baskılanma olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.150. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde İL-12 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği

4.10.11. Ko-kültürde IDO salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C), İFN-γ+düşük doz LPS, İL-4+İL-10+İL-13, TNF–α ve yüksek doz LPS prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürlerde ve tek başına kültürlerde IDO salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği Şekil 4.151'de verilmiştir. Yüksek doz LPS ile PMA/THP-1'ler tek başına uyarıldıklarında IDO seviyesi artarken uyarımsız ve diğer prime gruplarında arada fark olamamakla birlikte MKH ve PMA/THP-1'lerde tek başına iken IDO salgılandığı ve ko-kültürlerde yüksek doz LPS ile prime grupta salgılanma düzeyi değişmezken uyarımsız ve diğer prime gruplarında arada fark olamamakla birlikte IDO salınımında baskılanma olduğu bulunmuştur.

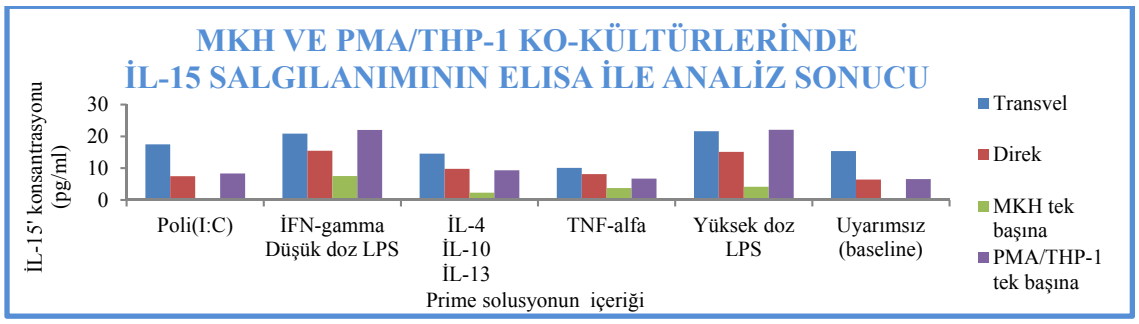


Şekil 4.151. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde IDO salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği

4.10.12. Ko-kültürde İL-15 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C), İFN-γ+düşük doz LPS, İL-4+İL-10+İL-13, TNF–α ve yüksek doz LPS prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürlerde ve tek başına kültürlerde İL-15 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği Şekil 4.152'de verilmiştir. MKH'lar tek başına uyarımsız grupta ve poli(I:C) ile prime grupta İL-15 salgılamazken diğer prime gruplarında hafif düzeyde salgıladığı, PMA/THP-1'ler ise en çok İFN-γ+düşük doz LPS ve yüksek doz LPS prime grupta olmak üzere tek başına İL-15 salgıladıkları, aralarında belirgin fark olmamakla birlikte uyarımsız, poli(I:C) ve İL-4+İL-10+İL-13 direkt ko-kültürde seviyesi yaklaşık aynı kalırken transvelde arttığı, TNF–α ile prime grupta her iki ko-kültür grubunda da seviyesinin aynı kaldığı, İFN-γ+düşük doz LPS

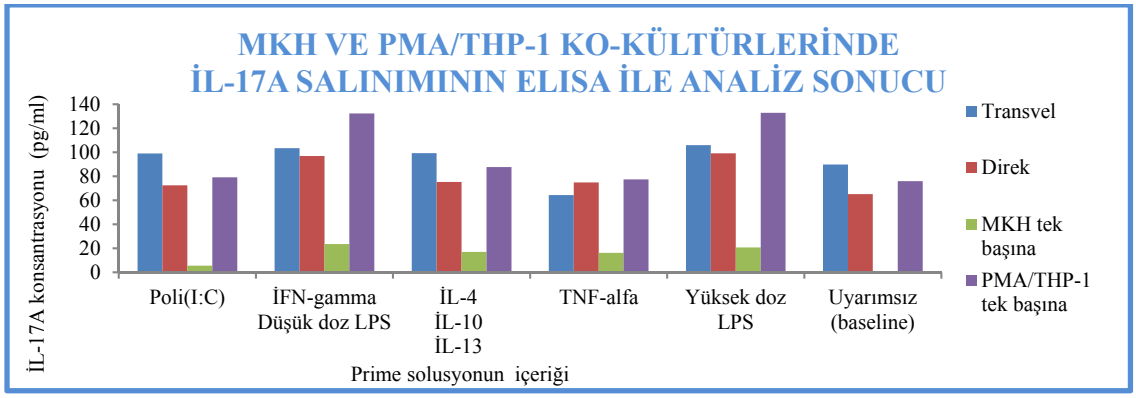
ve yüksek doz LPS prime grupta direkt ko-kültürde daha belirgin olmak üzere hem direkt hem de transvel ko-kültürde İL-15 salgılanımının azaldığı bulunmuştur.



Şekil 4.152. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde İL-15 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği

4.10.13. Ko-kültürde İL-17A salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

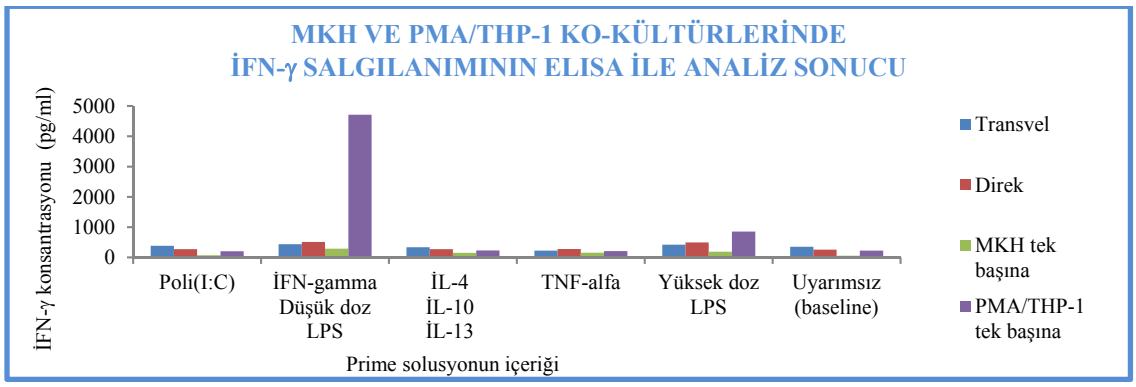
MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C), İFN-γ+düşük doz LPS, İL-4+İL-10+İL-13, TNF–α ve yüksek doz LPS prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürlerde ve tek başına kültürlerde İL-17A salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği Şekil 4.153'de verilmiştir. MKH tek başına uyarımsız grupta İL-17A salgılamazken diğer gruplarda düşük düzeyde salgıladığı, PMA/THP-1 tek başına en fazla İFN-γ+düşük doz LPS ve yüksek doz LPS prime grupta olmak üzere diğer gruplarda uyarımsız grupla yaklaşık aynı düzeyde İL-17A salgılandığı, Ko-kültürlere İL-17A salınımına bakıldığında uyarımsız ve poli(I:C) ile prime grupta salgılanımının transvelde artarken direkt ko-kültürde azaldığı, diğer prime gruplarda transvelde daha belirgin olmak üzere hem transvelde hem de direkt ko-kültürde azaldığı bulunmuştur.



Şekil 4.153.MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde İL-17A salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği

4.10.14. Ko-kültürde İFN-gama salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

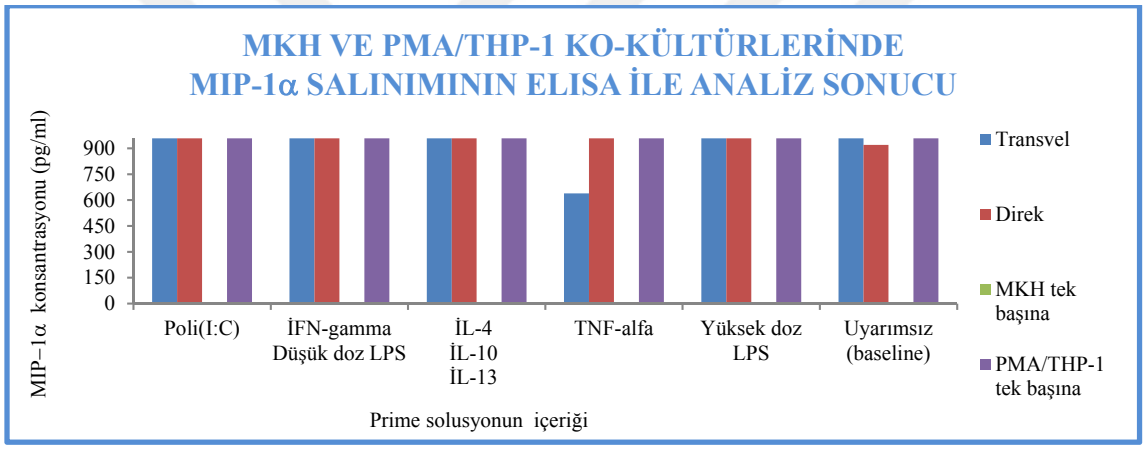
MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C), İFN-γ+düşük doz LPS, İL-4+İL-10+İL-13, TNF–α ve yüksek doz LPS prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürlerde ve tek başına kültürlerde İFN-γ salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği Şekil 4.154'de verilmiştir. PMA/THP-1'ler tek başına İFN-γ+düşük doz LPS ile prime edildiğinde çok yüksek miktarda İFN-γ salgıladıkları, MKH'ların tek başlarına İFN-γ+düşük doz LPS, İL-4+İL-10+İL-13, TNF–α ve yüksek doz LPS prime edildiklerinde düşük oranda İFN-γ salgıladıkları, ko-kültürlerde İFN-γ+düşük doz LPS, İL-4+İL-10+İL-13, TNF–α ve yüksek doz LPS prime gruplarda İFN-γ salgılanımının baskılandığı bulunmuştur.



Şekil 4.154. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde İFN-γ salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği

4.10.15. Ko-kültürde MIP-1alfa salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C), İFN-γ+düşük doz LPS, İL-4+İL-10+İL-13, TNF–α ve yüksek doz LPS prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürlerde ve tek başına kültürlerde MIP-1α salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği Şekil 4.155'de verilmiştir. PMA/THP-1'lerin tek başına bütün gruplarda tespit sınırının üzerinde MIP-1α salgıladığı, MKH'ların tek başına uyarımsız ve prime gruplarda MIP-1α salgılamadığı, ko-kültürlerde sadece TNF-α ile prime grupta transvel ko-kültüründe ve uyarımsız direkt ko-kültürde MIP-1α salınımında baskılanma olduğu bulunmuştur. Diğer ko-kültür grupları prime ve uyarımsız gruplar tespit seviyesinin üst sınırında olduğu için yorum yapılamamıştır.

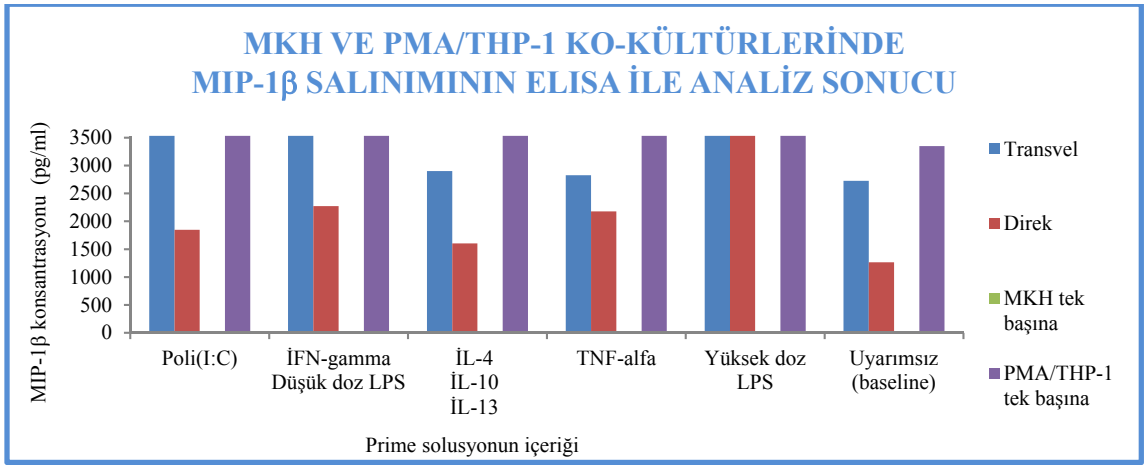


Şekil 4.155. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde MIP-1α salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği

4.10.16. Ko-kültürde MIP-1beta salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C), İFN-γ+düşük doz LPS, İL-4+İL-10+İL-13, TNF–α ve yüksek doz LPS prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürlerde ve tek başına kültürlerde MIP-1β salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği Şekil 4.156'da verilmiştir. PMA/THP-1'ler tek başına iken uyarımsız grupta tespit sınırları içinde olmak üzere yüksek düzeyde prime gruplarında tespit sınırının üzerinde MIP-1β salgıladıkları, MKH'ların tek başına uyarımsız ve prime gruplarda MIP-1β salgılamadığı, direkt ko-kültürlerde MIP-1β salgılanımının yüksek doz LPS ile prime grupta tespit

sınırlarının üstünde olduğu, uyarımsız grupta tekli gruba göre MIP-1β salgılanımının daha azaldığı, en fazla İFN-γ+düşük doz LPS grubu olmak üzere prime gruplarda MIP-1β salgılanımının uyarımsız gruba göre daha fazla olduğu ancak tekli gruplara göre MIP-1β salgılanımının baskılandığı, transvel ko-kültür grubunda ise poli(I:C), İFN-γ+düşük doz LPS ve yüksek doz LPS ile prime edilen gruplarda tespit sınırının üzerinde olduğu, İL-4+İL-10+İL-13 ve TNF–α ile prime grubunda uyarımsız gruba göre daha yüksek düzeyde MIP-1β salgılanmasına rağmen tekli gruplara göre MIP-1β salgılanmasının baskılandığı bulunmuştur.

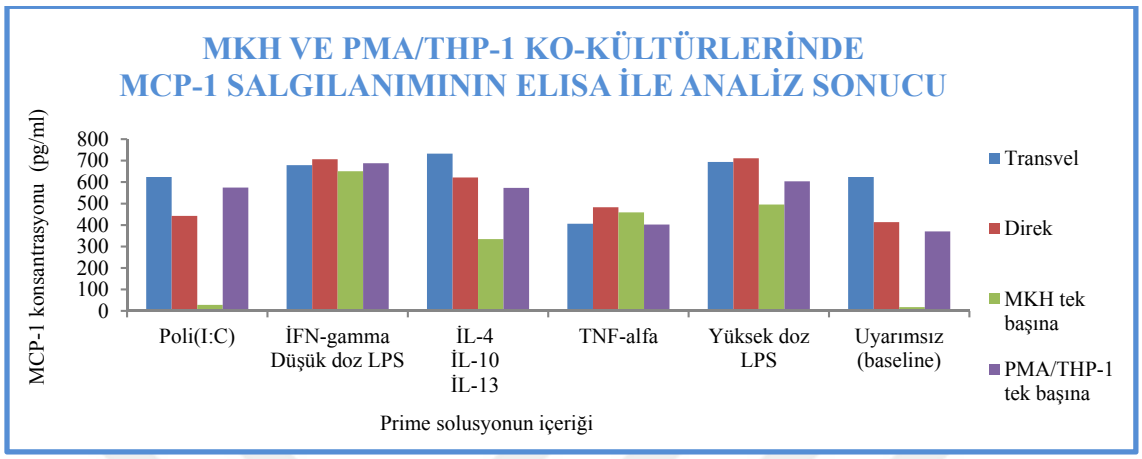


Şekil 4.156. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde MIP-1β salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği

4.10.17. Ko-kültürde MCP-1 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

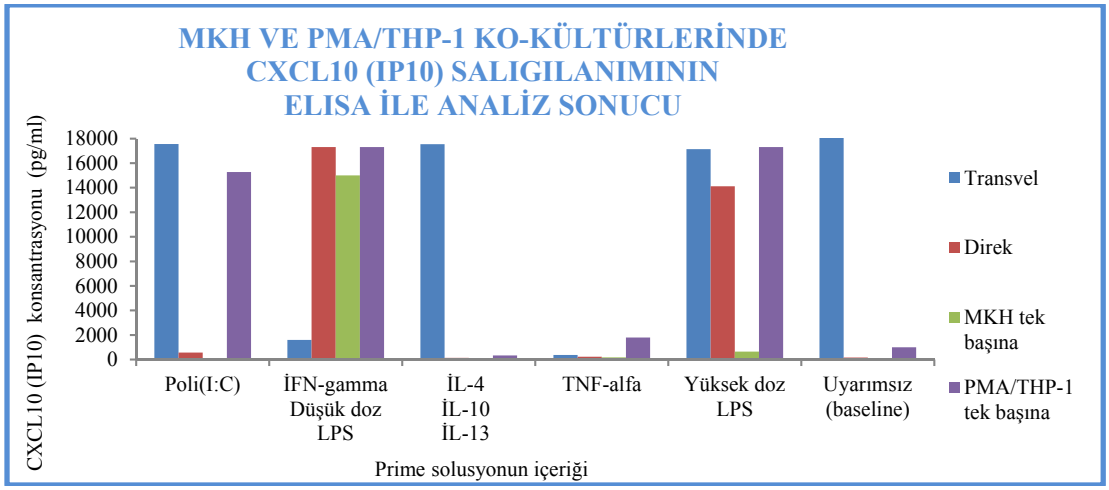
MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C), İFN-γ+düşük doz LPS, İL-4+İL-10+İL-13, TNF–α ve yüksek doz LPS prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürlerde ve tek başına kültürlerde MCP-1 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği Şekil 4.157'de verilmiştir. PMA/THP-1'lerin tek başına tüm prime gruplarında uyarımsız koşuldakinden daha fazla MCP-1 salgıladığı, MKH'ler tek başına poli(I:C) ile prime grubu dışındaki tüm prime gruplarda uyarımsız koşuldakinden çok daha fazla MCP-1 salgıladığı, ko-kültürlerde uyarımsız grupta her iki ko-kültür grubunda MCP-1 salgılanımında artış, İFN-γ+düşük doz LPS, İL-4+İL-10+İL-13, TNF–α ve yüksek doz LPS prime ko-kültürlerde her iki ko-kültür grubunda da MCP-1 salgılanımında baskılanma, poli(I:C) prime ko-

kültürde ise transvelde MCP-1 salgılanımı yaklaşık aynı düzeyde kalırken direkt ko-kültürlerde baskılandığı bulunmuştur.



Şekil 4.157. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde MCP-1 salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği

MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C), İFN-γ+düşük doz LPS, İL-4+İL-10+İL-13, TNF–α ve yüksek doz LPS prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürlerde ve tek başına kültürlerde CXCL10(IP10) salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği Şekil 4.158'de verilmiştir. PMA/THP-1'ler tek başına uyarımsız grupta CXCL10(IP10) salgıladığı, İL-4+İL-10+İL-13 ile prime grupta salgılanma baskılanırken poli(I:C), İFN-γ+düşük doz LPS ve yüksek doz LPS prime grupta çok yüksek düzeyde ve TNF–α prime grupta düşük düzeyde arttığı, MKH'ların tek başına İFN-γ+düşük doz LPS grupta çok yüzsek miktarda TNF–α ve yüksek doz LPS prime grupta düşük miktarda CXCL10(IP10) salgıladığı, ko-kültürlerde poli(I:C) ile prime grupta CXCL10(IP10) salgılanmasında transvelde artış olurken direkt kültürde tamam yakın baskılandığı, İFN-γ+düşük doz LPS prime grupta CXCL10(IP10) salgılanmasının transvelde tamam yakın direkt kültürde yaklaşık yarı oranda baskılandığı, İL-4+İL-10+İL-13 prime grupta transvelde uyarımsız kültür koşullarındaki ile aynı seviyede belirgin derecede arttığı, TNF–α ile prime grupta her iki ko-kültür grubunda da baskılandığı, yüksek doz LPS prime grupta direkt ko-kültür grubunda daha belirgin olmak üzere her iki ko-kültür grubunda da baskılandığı bulunmuştur.



Şekil 4.158. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde CXCL10 (IP10) salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun bar grafiği

MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde sitokin salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun değerlendirmesi Çizelge 4. 56'da verilmiştir. Ko-kültür sonrası salgılanma miktarında değişim olmayan gruplar sarı renkle, az miktarda azalma açık mavi belirgin azalma koyu mavi renkle, az miktarda artış açık pembe belirgin artış koyu pembe renkle ve tespit sınırını aştığı için yorum yapılamayan gruplar açık yeşil renkte gösterilmiştir. Ko-kültür gruplarında belirgin değişiklik;

- İL-6 salgılanımının transvel ko-kültürlerinde uyarımsız grupla prime gruplarının hepsinde tespit sınırlarının çok üzerinde olduğu için gruplar arasında karşılaştırma yapılamamakla birlikte tek başına kültür ortamına göre transvel ko-kültür ortamında çok daha yüksek miktarda İL-6 çok daha fazla salgılanma

- İL-6 salgılanımının direkt ko-kültür ortamında poli(I:C), İFN-γ+düşük doz LPS, TNF–α ve yüksek doz LPS ile prime grupta tespit sınırlarının üstünde olmakla birlikte tek başına kültür koşullarında salgılanan miktardan daha fazla salgılandığı İL-4, İL-10, İL-13 ile prime grupta daha fazla olmak üzere uyarımsız ve İL-4, İL-10, İL-13 ile prime grupta direkt ko-kültürde tek başına kültür ortamına göre daha fazla salgılanma,

- İL-4+İL-10+İL-13 ve TNF-α ile prime grupta İL-4, İL-10, İL-13 salgılanımında azalma

- İFN-γ+düşük doz LPS ve yüksek doz LPS ile prime grupta İL-1β salgılanımında azalma,

- TNF-α ve yüksek doz LPS ile prime grupta TNF-α salgılanımında azalma,
- İFN-γ+düşük doz LPS prime grupta İFN-γ salgılanımında azalma,
- TNF-α (transvel) ile prime grupta MIP-1α salgılanımında azalma,
- Poli(I:C) (direkt), İFN-γ+düşük doz LPS (transvel) prime grupta CXCL10 seviyesinde azalma,
- İL-4+İL-10+İL-13 (transvel) prime grupta CXCL10 seviyesinde artma ile kendini göstermektedir.

Çizelge 4.56. MKH ve PMA/THP-1'lerin çeşitli prime molekülleri ile uyarılarak yapılan direkt ve transvel ko-kültürde sitokin salgılanımının ELISA ile analiz sonucunun değerlendirmesi

	poli(I:C)		İFN-γ +düşük doz LPS		İL-4+İL-10 +İL-13		TNF–α		yüksek doz LPS		uyarımsız	
	transvel	direkt	transvel	direkt	transvel	direkt	transvel	direkt	transvel	direkt	transvel	direkt
İL-5												
İL-4												
İL-10												
İL-13												
TGF–β												
CCL22												
İL-1β												
İL-6												
TNF–α												
İL-12												
IDO												
İL-15												
İL-17A												
İFN-γ												
MIP–1α												
MIP–1β												
CXCL10												

4.10.18. Poli(I:C) ile prime ko-kültürlerinin ELISA ile analiz sonucu

Şekil 4.159'da verilen poli(I:C) ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde salgılanan İL-5, İL-4, İL-10, İL-13 ve TGF–β ELISA ile analiz sonuçlarını inceleyecek olursak;

- PMA/THP-1 hücreleri tek başına iken uyarımsız grup ile poli(I:C) ile prime grupta İL-5, İL-10, İL-13 ve TGF-β salgılama düzeyleri arasında fark olmadığı, İL-5 ve İL-13'ün bazal seviyeye yakın salgılandığı, sadece İL-4 seviyesinin arttığı,

- MKH'lar tek başına iken hem uyarımsız hem de poli(I:C) ile prime grupta İL-5 salgılamadığı, poli(I:C) prime edildikten sonra hem uyarımlı hem uyarımsız grupta bazal seviyeye yakın İL-10, İL-13 ve İL-4 ve bir miktar TGF-β salgıladıkları,

- Direkt ko-kültürlerde prime grupla uyarımsız grup arasında belirgin fark olmamakla birlikte direkt ko-kültürler ile hücreler tek başlarına iken salgılanan toplam miktar karşılaştırıldığında, İL-4 ve TGF-β salgılanmasında belirgin İL-5 ve İL-13 bazal seviyeye yakın salgılandığı İL-10 ve salgılanmasında değişiklik olmadığı,

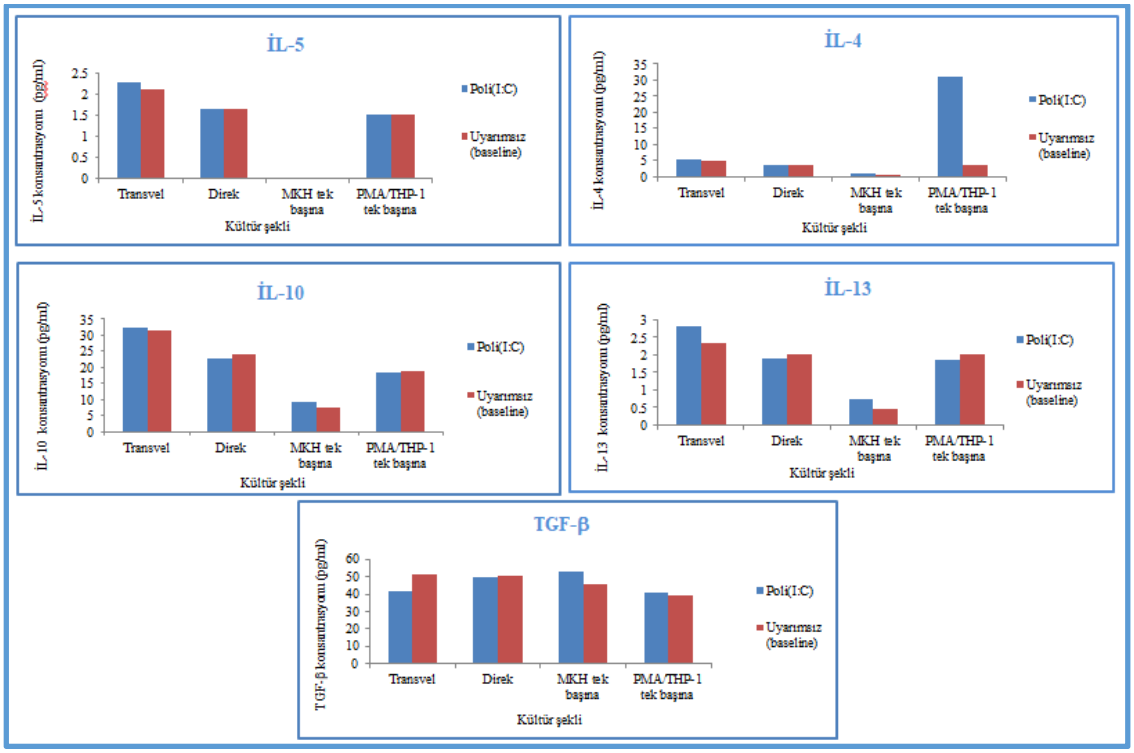
- Transvel ko-kültürlerde prime grupla uyarımsız grup arasında hafif fark olmakla birlikte transvel ko-kültürler ile hücreler tek başlarına iken salgılanan toplam miktar karşılaştırıldığında, İL-5 bazal seviyeye yakın salgılandığı, İL-4 ve TGF-β salgılanmasında belirgin bir azalma, İL-10 ve İL-13 salgılanmasında değişiklik olmadığı, Transvel ve direkt kültürlerde prime grupla uyarımsız grup arasında belirgin fark olmadığı,

- Transvel ve direkt ko-kültürlerde TGF–β > İL-10 > İL-4 > İL-5 > İL-13 düşük düzeyde salgıladığı,

- Transvel ve direkt ko-kültürlerde tek başına olan kültürlere oranla İL-4 ve TGF–β salınımının baskılandığı, İL-10 ve İL-13 salınımının aynı kaldığı bulunmuştur.

- PMA/THP-1 hücreleri tek başına iken hem uyarımsız hem de poli(I:C) ile prime grupta İL-6 salgılamazken, İL-1β ve TNF-α'yı uyarımsız koşulda salgıladıkları prime

durumunda ise salgılanmaya devam etmekle birlikte baskılandığı, CCL22 ve İL-12'yi hem uyarımsız hem de prime grubunda aynı oranlarda salgıladığı, salgılanma miktarının CCL22 > İL-1β > TNF-α > İL-12 olduğu,



Şekil 4.159. Poli(I:C) ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde İL-5, İL-4, İL-10, İL-13 ve TGF−β salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

Şekil 4.160'de verilen poli(I:C) ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde salgılanan CCL22, İL-1β, İL-6, TNF-α ve İL-12'nin ELISA ile analiz sonuçlarını inceleyecek olursak;

- MKH'lar tek başına iken İL-1β, TNF−α ve İL-6'yı uyarımsız ve prime koşullarında yok denecek düzeyde salgıladığı, CCL22 ve İL-12'yi uyarımsız ve prime grubunda yaklaşık aynı düzeyde salgıladığı, salgılama miktarının CCL22 > İL-12 olduğu,

- Direkt kültürlerde CCL22 salgılanımı prime grubunda uyarımsız gruba göre daha az olduğu ve tek başına uyarım gruplarına göre belirgin şekilde baskılandığı, İL-1β salgılanımının uyarımsız ve prime grubunda aynı oranda olmakla birlikte tek başına uyarımsız ve prime grubuna göre baskılandığı, İL-6 salınımının prime ve uyarımsız grupta grubunda tespit sınırlarının üstünde olduğu tek başına olan uyarımsız ve prime

gruplara göre çok yüksek düzeyde salgılandığı, TNF-α'nın uyarımsız ve prime gruplarda aynı oranda tek başına olan uyarımsız ve prime gruplara göre baskılandığı, İL-12'nin uyarımsız ve prime gruplarda aynı oranda tek başına olan uyarımsız ve prime gruplara göre baskılandığı,

- Transvel ko-kültürlerde; CCL22 salgılanımı prime grubunda uyarımsız gruba göre daha az olduğu ve tek başına uyarım gruplarına göre belirgin şekilde baskılandığı, İL-1β salgılanımının uyarımsız ve prime grubunda aynı oranda olmakla birlikte tek başına uyarımsız ve prime grubuna göre baskılandığı, İL-6 salınımının uyarımsız grupta tespit sınırlarının üstünde olduğu, uyarımsız ve prime grupta ve tek başına olan uyarımsız ve prime gruplara göre çok yüksek düzeyde salgılandığı, TNF-α'nın uyarımsız ve prime gruplarda aynı oranda tek başına olan uyarımsız ve prime gruplara göre baskılandığı, İL-12'nin uyarımsız ve prime gruplarda tek başına olan uyarımlı ve prime gruplara yaklaşık olarak aynı miktarda salgılandığı

- Transvel ve direkt kültürlerde prime grupla uyarımsız grup arasında belirgin fark olmadığı,

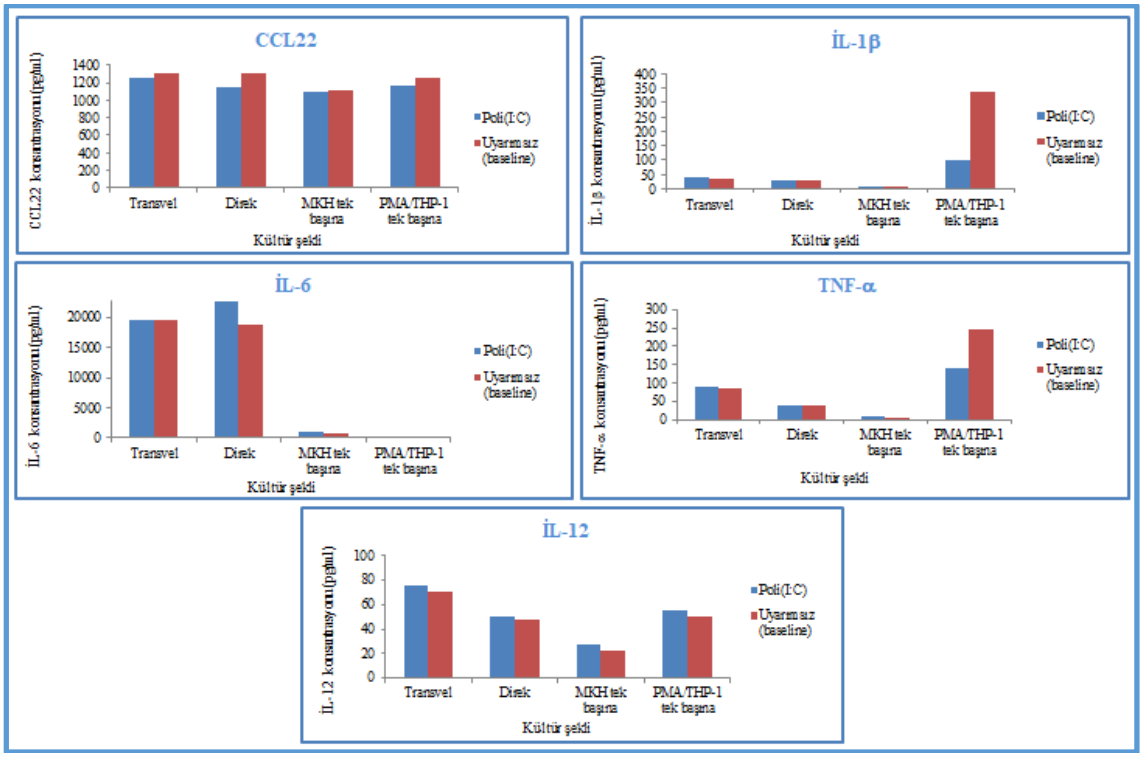
- Transvel ve direkt ko-kültürlerde İL-6 ve CCL22 yüksek düzeyde, İL-12 > TNF-α > İL-1β ise düşük düzeyde salgıladığı,

- Transvel ve direkt ko-kültürlerde CCL22, İL-1β ve TNF-α salınımının baskılandığı, İL-6 salınımının ise belirgin derecede arttığı,

- İL-12 salınımının direkt ko-kültürde azalırken transvel ko-kültüründe yaklaşık aynı düzeyde kaldığı bulunmuştur.

- PMA/THP-1 hücreleri tek başına iken hem uyarımsız hem de poli(I:C) ile prime arasında sitokin salgılama açısından fark olmadığı, sitokin salgılama miktarına göre İFN-γ > İL-17A > IDO > İL-15 salgıladığı,

- MKH'lar tek başına iken hem uyarımsız hem de poli(I:C) ile prime sitokin salgılama miktarı açısından fark olmadığı, İL-15 ve İL-17A salgılamamakla birlikte az miktarda İFN-γ ve IDO salgıladığı,



Şekil 4.160. Poli(I:C) ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde CCL22, İL-1β, İL-6, TNF-α ve İL-12 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

Şekil 4.161'de verilen poli(I:C) ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde salgılanan IDO, İL-15, İL-17A ve İFN-γ'nın ELISA ile analiz sonuçlarını inceleyecek olursak,

- Direkt kültürlerde IDO salgılanımı prime grubunda uyarımsız gruba göre daha az olduğu ve tek başına uyarım gruplarına göre baskılandığı, İL-17A salınımının prime grubunda uyarımsız gruba göre hafif derecede arttığı ama tek başına olan grupla karşılaştırıldığında hafif düzeyde baskılandığı, İL-15 ve İFN-γ'nın prime grupta uyarımsız gruba göre hafif derecede salınımının arttığı tek başına olan grupla karşılaştırıldığında salınımının yaklaşık aynı düzeyde kaldığı,

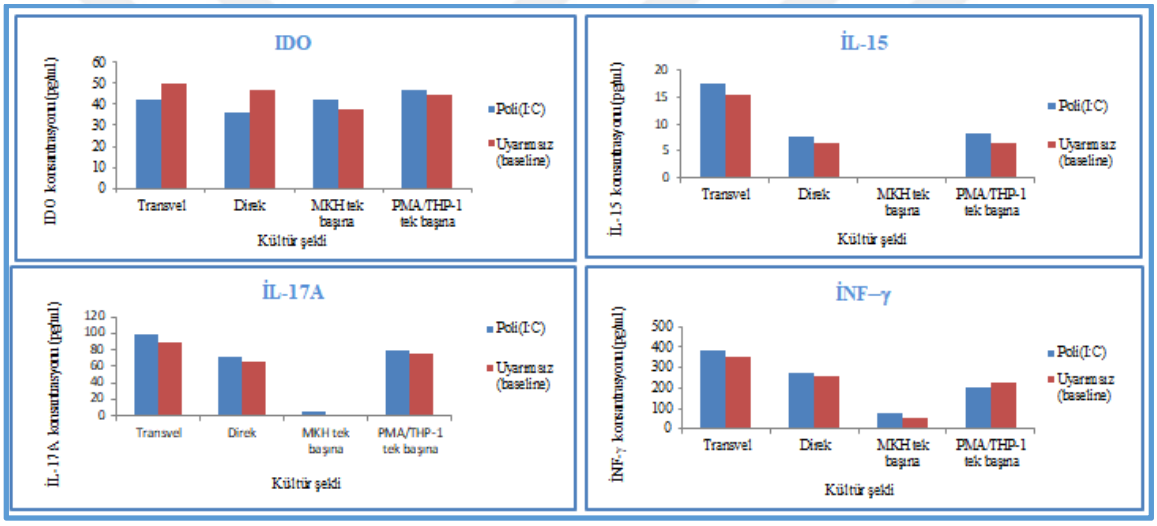
- Transvel ko-kültürlerde; IDO salgılanımı prime grubunda uyarımsız gruba göre daha az olduğu ve tek başına uyarım gruplarına göre baskılandığı, İL-15, İL-17A ve İFN-γ'nın

prime grupta uyarımsız gruba göre hafif derecede salınımının arttığı tek başına olan grupla karşılaştırıldığında salgılanımının hafif düzeyde arttığı,

- Transvel ve direkt kültürlerde prime grupla uyarımsız grup arasında belirgin fark olmadığı,

- Transvel ve direkt ko-kültürlerde İFN-γ > İL-17A > IDO > İL-15 salgılandığı,

- Transvel ve direkt ko-kültürlerde tek başına olan kültürlere oranla IDO'da azalma ve İL-15, İL-17A ve İFN-γ'da artma olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.161. Poli(I:C) ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde IDO, İL-15, İL-17A ve İFN-γ salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

Şekil 4.162'de verilen poli(I:C) ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde salgılanan MIP-1α, MIP-1β, CXCL10 ve MCP-1 ELISA ile analiz sonuçlarını inceleyecek olursak,

- PMA/THP-1 hücreleri tek başına iken MIP-1α salgılanımının hem uyarımsız hem de poli(I:C) ile prime grupta tespit sınırlarının üzerinde olduğu, MIP-1β salınımının poli(I:C) ile prime grupta tespit sınırlarının üzerinde olduğu uyarımsız grupta ise yüksek olmakla birlikte prime gruptan daha az olduğu, CXCL10(IP10) salınımının uyarımsız grupta çok düşükken prime grupta belirgin derecede arttığı, MCP-1'nin uyarımsız grupta salgılanması ile birlikte prime grupta salınımın arttığı,

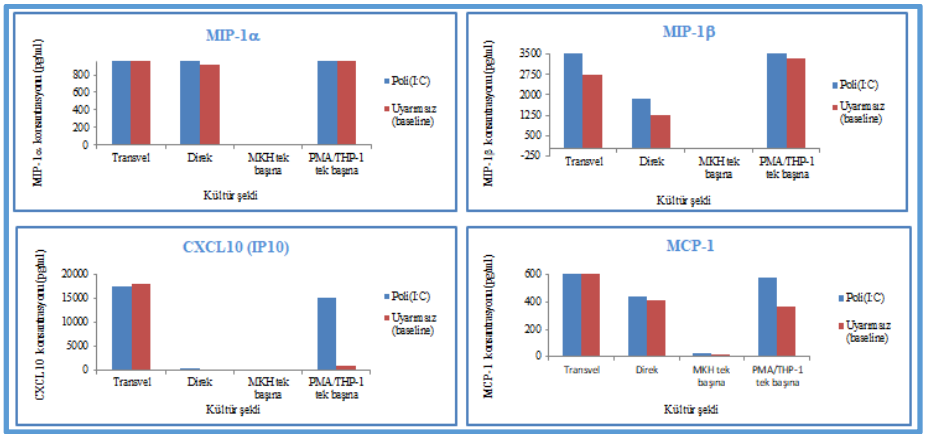
- MKH'lar tek başına iken hem uyarımsız hem de prime grupta yaklaşık aynı miktarda çok düşük seviyede MCP-1 salgılamakla birlikte MIP-1α, MIP-1β ve CXCL10 salgılamadıkları,

- Transvel ko-kültürlerde; MIP-1α seviyesi hem transvel de hem de tekli grupta uyarımsız ve prime grupta tespit sınırlarının üzerinde olduğu için karşılaştırma yapılamamıştır. MIP-1β salınımı ise prime grupta tespit sınırlarının üzerinde olduğu, uyarımsız grupta yüksek seviyede salgılanmakla birlikte prime gruba göre daha az salgılandığı, CXCL10 (IP10) seviyesinin uyarımsız ve prime grupta yüksek düzeyde salgılandığı, prime grupta uyarımsız gruba göre hafif düzeyde baskılanmış olsa da tekli prime gruba göre daha yüksek olduğu, MCP-1 salgılanımının uyarımsız ve prime grupta aynı düzeyde olduğu tekli prime gruba göre arasında fark olmadığı,

- Direkt kültürlerde MIP-1α seviyesinin her ne kadar tespit sınırlarının üzerinde olsa da uyarımsız gruba göre yüksek olduğu, MIP-1β salgılanımı uyarımsız gruba göre yüksek olsa da tek başına prime ve uyarımsız gruba göre baskılandığı, CXCL10 (IP10) salınımının direkt kültürde prime ve uyarımsız grupta tekli gruba göre tamama yakın baskılandığı, MCP-1 salınımının prime grupta uyarımsız gruba göre hafif yüksek olmakla birlikte tekli prime gruba göre baskılandığı,

- Direkt prime kültürlerde MIP-1β ve MCP-1 salgılanmaya devam etmekle birlikte tekli prime kültüre göre baskılandığı, CXCL10'un tamamen baskılandığı,

- Transvel ko-kültürlerde CXCL10 ve MCP-1'in tekli prime kültüre göre hafif arttığı bulunmuştur.



Şekil 4.162. Poli(I:C) ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde MIP-1α, MIP-1β, CXCL10 ve MCP-1 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

Poli(I:C) ile prime direkt ve transvel ko-kültürlerde sitokin düzeyinin tekli prime kültürlere göre değişimi Çizelge 4.57'de verilmiştir. Bu grupta kırmızı boyalı olarak gösterilen İL-6'daki artış ve MIP-1β ve CXCL10'daki azalış en belirgin şekilde gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.57. Poli(I:C) ile prime sonrası ko-kültürlerde sitokin düzeyi değişimi

POLİ (I:C)					
ARTMA		AZALMA		AYNI	
TRANSVEL	DİREKT	TRANSVEL	DİREKT	TRANSVEL	DİREKT
İL-6	**İL-6**	İL-4	İL-4	İL-5	İL-5
İL-15		TGF–β	TGF–β	İL-10	İL-10
İL-17A		CCL22	CCL22	İL-13	İL-13
İFN-γ		İL-1β	İL-1β	İL-12	İL-15
CXCL10		TNF–α	TNF–α	MCP-1	İFN-γ
		IDO	İL-12		
			IDO		
			İL-17A		
			MIP–1β		
			CXCL10		
			MCP-1		

4.10.19. İFN-gamma+düşük doz LPS ile prime ko-kültürlerinin ELISA ile analiz sonucu

Şekil 4.163'de verilen İFN-γ+düşük doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde salgılanan İL-5, İL-4, İL-10, İL-13 ve TGF−β ELISA ile analiz sonuçlarını inceleyecek olursak,

- PMA/THP-1 hücreleri tek başına iken hem uyarımsız gruplarda bazal seviyeye yakın İL-5, İL-4, İL-13 ve az miktarda İL-10, ve TGF−β salgılandığı, prime grupta uyarımsız gruba göre hafif bir artış olduğu,

- MKH'lar tek başına iken uyarımsız grupta bazal seviyeye yakın İL-4, İL-10 ve İL-13 ve bir miktar TGF-β salgılandığı, İL-5'in ise salgılanmadığı, prime gruplarda çok düşük düzeyde İL-5 salgılanmakla birlikte, prime grupta uyarımsız gruba göre İL-4, İL-10, İL-13 salınımında hafif bir artış olduğu TGF-β da ise prime grupta uyarımsız gruba göre hafif bir düşüş olduğu,

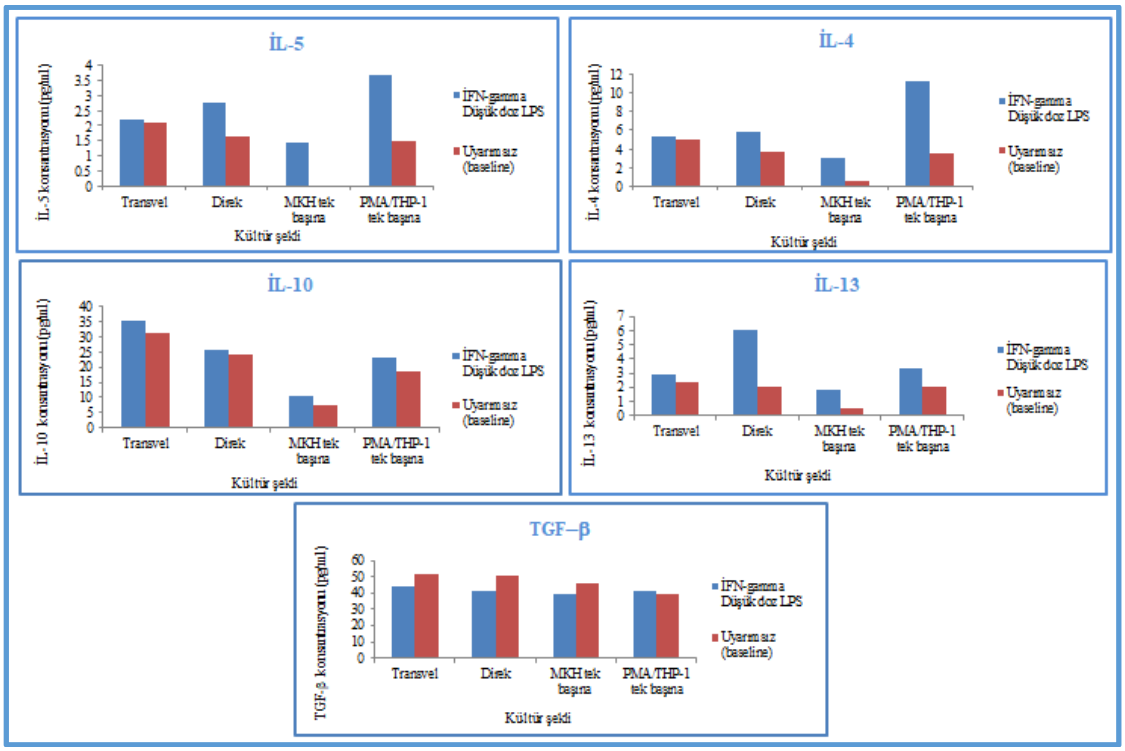
- Transvel ko-kültürlerde; uyarımsız grupla prime grup arasında belirgin fark olmamakla birlikte, İL-5 ve İL-4 çok düşük düzeyde salgıladığı, tekli prime gruba göre seviyesinde belirgin farklılık olmadığı, İL-13'unda çok düşük düzeyde salgılandığı, salınımında uyarımsız grupla prime grup arasında belirgin fark olmamakla birlikte tekli prime gruba göre seviyesinin aynı kaldığı, İL-10'nun nispeten daha yüksek seviyede salgılandığı, uyarımsız grupla prime grup arasında belirgin fark olmamakla birlikte tekli prime gruba göre seviyesinin aynı kaldığı, TGF-β'nın da nispeten daha yüksek seviyede salgılandığı, prime grupta uyarımsız grupla göre hafif yüksek salgılanmakla birlikte tekli prime gruba göre seviyesinin azaldığı,

- Direkt kültürlerde İL-4, İL-5 ve İL-13'ün salgılanma seviyesi çok düşük olmakla birlikte prime grupta uyarımsız gruba göre aralarında belirgin fark olmadığı, İL-10 salınımının nispeten yüksek seviyede salgılandığı, uyarımsız grupla prime grup arasında belirgin fark olmamakla birlikte tekli prime gruba göre seviyesinin aynı kaldığı, TGF-β'nın da nispeten daha yüksek seviyede salgılandığı, prime grupta uyarımsız grupla göre hafif düşük salgılanmakla birlikte tekli prime gruba göre seviyesinin azaldığı,

- Transvel ve direkt kültürlerde prime grupla uyarımsız grup arasında belirgin fark olmadığı,

- Transvel ve direkt ko-kültürlerde TGF-β ve İL-10 düşük seviyede salgılandığı, İL-4, İL-5 ve İL-6 bazal seviyeye çok yakın olduğu,

- Transvel ve direkt uyarımsız ve prime ko-kültürlerde TGF-β ve direkt uyarımsız ve prime ko-kültürlerde İL-10 salgılanımının tekli uyarımsız ve prime gruba göre baskılandığı bulunmuştur.



Şekil 4.163. İFN-γ+düşük doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde İL-5, İL-4, İL-10, İL-13 ve TGF–β salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

Şekil 4.164'de verilen İFN-γ+düşük doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde salgılanan CCL22, İL-1β, İL-6, TNF-α ve İL-12'nın ELISA ile analiz sonuçlarını inceleyecek olursak,

- PMA/THP-1 hücreleri tek başına iken İL-6 ve CCL22'nin uyarımsız ve prime grupta yaklaşık aynı düzeylerde salgılandığı, İL-1β'nın uyarımsız grupta salgılanmakla birlikte

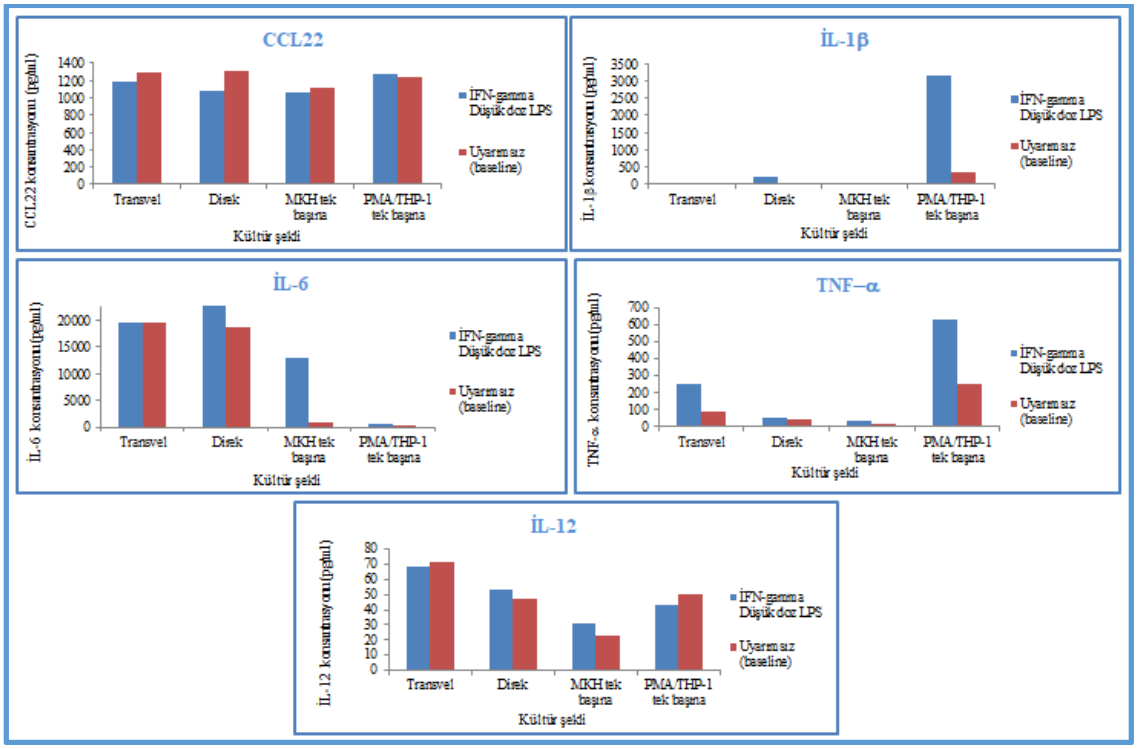
prime grupta salgılanmasının çok arttığı, İL-12'nin uyarımsız ve prime grupta yaklaşık aynı düzeyde düşük miktarda salgılandığı, TNF-α'nın uyarımsız grupta düşük miktarda salgılandığı prime grupta salgılamasının arttığı, prime grupta sadece İL-1β > TNF-α salınımında artış olduğu, uyarımsız grupla prime grup karşılaştırıldığında salınımı arasında fark olmadığı salgılanma miktarının CCL22 > İL-6 > İL-12 olduğu,

- MKH'lar tek başına iken hem uyarımsız hem de prime grupta aralarında fark olmakla birlikte CCl22 salgıladığı, İL-6 uyarımsız grupta düşük düzeyde salgılanırken prime grupta çok yüksek düzeyde derecede arttığı, uyarımsız grupla prime grup arasında fark olmamakla birlikte TNF–α ve İL-12'yi çok düşük düzeyde salgıladığı, İL-1β 'nın ise salgılanmadığı,

- Transvel ko-kültürlerde, CCL22'nin prime kültürlerde uyarımsız ko-kültürlere oranla hafif derecede tekli kültürlere göre belirgin seviyede salgılanımının baskılandığı, İL-1β'nın uyarımsız ve prime ko-kültürlerde yaklaşık aynı düzeyde tekli prime kültüre göre belirgin derecede bazal seviyeye yakın baskılandığı, İL-6'nın uyarımsız ve prime kültürlerde sınırlarının üzerinde olmakla birlikte tekli prime kültüre göre arttığı, TNF-α'nın prime ko-kültürlerde uyarımsız ko-kültürlere göre salgılanmasının artmasına rağmen tekli prime kültürlere oranla baskılandığı, İL-12'nin uyarımsız ve prime kültürlerde aynı düzeyde tekli kültürlere yaklaşık olarak aynı miktarda salgılandığı,

- Direkt ko-kültürlerde CCL22'nin prime kültürlerde uyarımsız ko-kültürlere oranla hafif derecede tekli kültürlere göre belirgin seviyede salgılanımının baskılandığı, İL-1β'nın uyarımsız ko-kültürlerde tekli prime kültüre göre tamamen baskılandığı, prime ko-kültürlerde hafif düzeyde salgılansa da tekli prime kültüre göre belirgin derecede baskılandığı, TNF-α'nın uyarımsız ve prime ko-kültürlerde aynı düzeyde hafif miktarda salgılanmakla birlikte tekli prime gruba göre baskılandığı, İL-12'nin prime ko-kültür grubunda uyarımsız ko-kültür grubuna göre hafif derecede daha fazla salgılanmasına rağmen tekli prime gruplara göre baskılandığı,

- Transvel ve direkt ko-kültür prime gruplarda İL-6'nın çok yüksek düzeyde arttığı, CCL22 > İL-12 > TNF-α'nın salgılanmaya devam etmekle birlikte salgılanmasının tekli kültüre göre baskılandığı, İL-β'nın ise tamamen baskılandığı bulunmuştur.



Şekil 4.164. İFN-γ+düşük doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde CCL22, İL-1β, İL-6, TNF-α ve İL-12 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

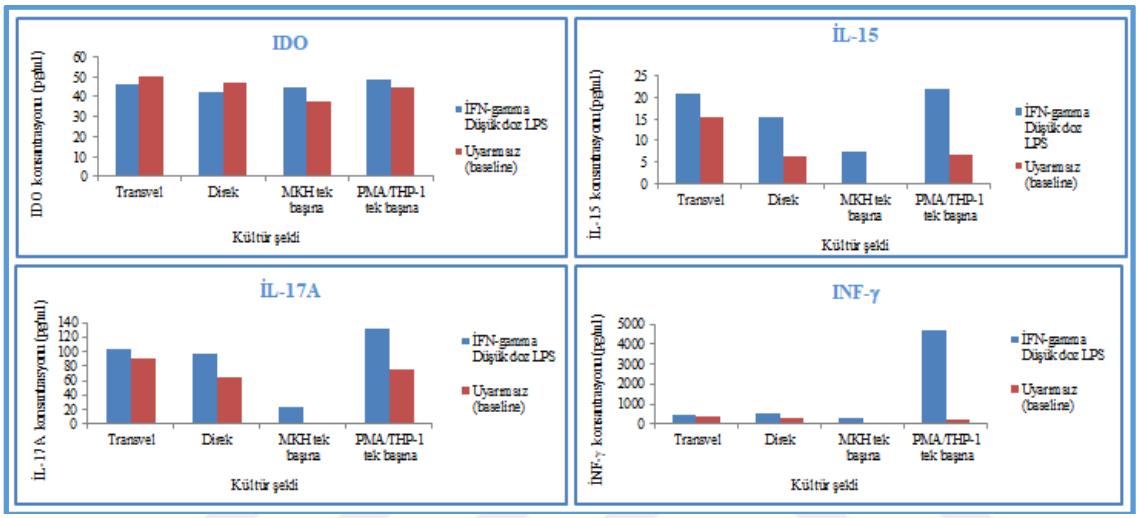
Şekil 4.165'de verilen İFN-γ+düşük doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde salgılanan IDO, İL-15, İL-17A ve İFN-γ ELISA ile analiz sonuçlarını inceleyecek olursak,

- PMA/THP-1 hücreleri tek başına iken İFN-γ uyarımsız grupta düşük düzeyde salgılarken prime grupta salgılanımının çok fazla miktarda arttığı, IDO salgılanımının uyarımsız ve prime grupta yaklaşık aynı şekilde düşük düzeyde olduğu, İL-17A ve İL-15'in prime grupta uyarımsız gruba göre artmış düzeyde salgılandığı,

- MKH'lar tek başına iken İFN-γ salınımının prime grupta uyarımsız gruba göre arttığı, İL-17A ve İL-15'nın uyarımsız grupta salgılanmadığı halde prime grupta hafif düzeyde

salgılandığı, IDO salınımının prime grupta daha fazla olmak üzere hem uyarımsız hem de prime grupta arttığı,

- Transvel ve direkt ko-kültürlerde; uyarımsız ve prime kültürlerde belirgin fark olmamakla birlikte en fazla INF-γ salınımında olmak üzere IDO, İL-17A ve İL-15 salgılanımın baskılandığı bulunmuştur.



Şekil 4.165. İFN-γ+düşük doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde IDO, İL-15, İL-17A ve İFN-γ salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

Şekil 4.166'da verilen İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde salgılanan MIP-1α, MIP-1β, CXCL10 ve MCP-1 ELISA ile analiz sonuçlarını inceleyecek olursak,

- PMA/THP-1 hücreleri tek başına iken MIP-1α salgılanımının hem uyarımsız hem de prime grupta tespit sınırlarının üzerinde olduğu, MIP-1β salınımının prime grupta tespit sınırlarının üzerinde olduğu uyarımsız grupta ise yüksek olmakla birlikte prime gruptan daha az olduğu, CXCL10(IP10) salınımının uyarımsız grupta çok düşükken prime grupta belirgin derecede arttığı, MCP-1'nin uyarımsız grupta salgılanmakla birlikte prime grupta salınımın arttığı,

- MKH'lar tek başına iken uyarımsız ve prime grupta MIP-1α ve MIP-1β salgılamadıkları, CXCL10 uyarımsız grupta çok düşük düzeyde salgılanırken prime grupta çok fazla

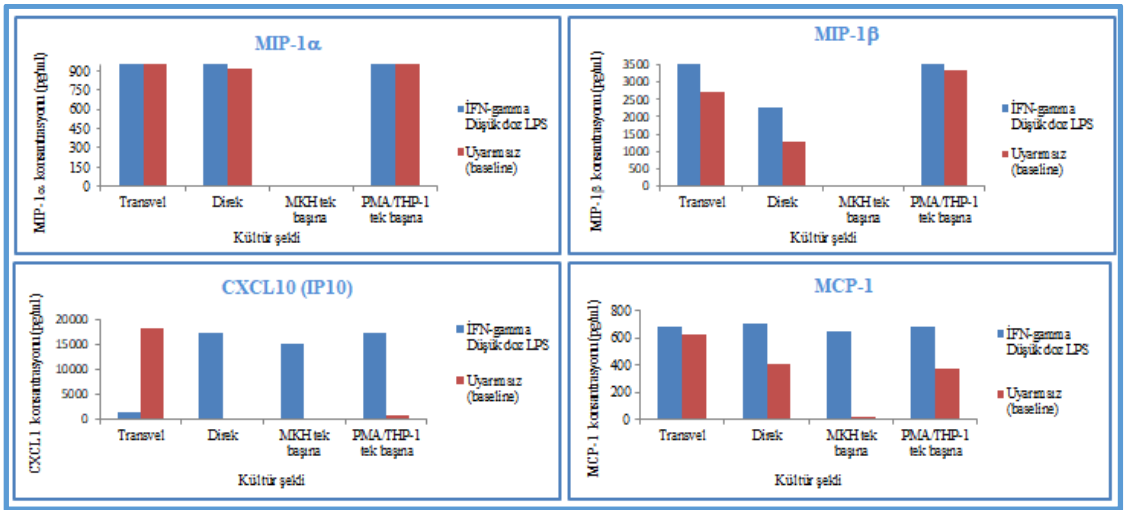
miktarda arttığı, MCP-1 uyarımsız grupta çok düşük düzeyde salgılanırken prime grupta arttığı,

- Transvel ko-kültürlerde; MIP-1α seviyesi hem transvel de hem de tekli grupta uyarımsız ve prime grupta tespit sınırlarının üzerinde olduğu için karşılaştırma yapılamamıştır. MIP-1β salınımı ise prime grupta tespit sınırlarının üzerinde olduğu, uyarımsız grupta yüksek seviyede salgılanmakla birlikte prime gruba göre daha az salgılandığı, tekli grup tespit sınırlarının üzerinde olduğu için karşılaştırma yapılamadığı, CXCL10 (IP10) seviyesinin uyarımsız grupta çok yüksek düzeyde salgılanırken prime grupta bazal seviyeye yakın baskılandığı, uyarımsız grupta tekli uyarımsız gruba göre çok yüksek olduğu tekli prime gruba göre ise baskılandığı, MCP-1 salgılanımının uyarımsız ve prime grupta yaklaşık aynı düzeyde olarak salgılanmakla birlikte tekli prime gruba göre baskılandığı,

- Direkt kültürlerde MIP-1α seviyesinin her ne kadar tespit sınırlarının üzerinde olsa da uyarımsız gruba göre yüksek olduğu, MIP-1β salgılanımı prime grupta uyarımsız gruba göre yüksek olsa da tek başına prime ve uyarımsız gruba göre baskılandığı, CXCL10 (IP10) salınımının direkt kültürde uyarımsız grupta tekli prime gruba göre tamama yakın baskılandığı prime grupta çok fazla artış olsa da tekli prime gruba göre baskılandığı, MCP-1 salınımının prime grupta uyarımsız gruba göre yüksek olmakla birlikte tekli prime gruba göre baskılandığı,

- Direkt prime kültürlerde MIP-1α, MIP-1β, CXCL10 ve MCP-1 salgılanmaya devam etmekle birlikte tekli prime kültüre göre baskılandığı,

- Transvel ko-kültürlerde MIP-1β ve MCP-1'in salgılanmaya devam etmekle birlikte tekli prime kültüre göre baskılandığı, CXCL10 prime grupta tama yakın baskılandığı bulunmuştur.



Şekil 4.166. İFN-γ+düşük doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde MIP-1α, MIP-1β, CXCL10 ve MCP-1 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

İFN-γ+düşük doz LPS ile prime direkt ve transvel ko-kültürlerde sitokin düzeyinin tekli prime kültürlere göre değişimi Çizelge 4.58'de verilmiştir. Bu grupta kırmızı boyalı olarak gösterilen İL-6'daki artış ve İL-1β, İFN-γ, MIP-1β ve CXCL10'daki azalış en belirgin şekilde gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.58. İFN-γ+düşük doz LPS ile prime sonrası ko-kültürlerde sitokin düzeyi değişimi

İFN-γ+DÜŞÜK DOZ LPS					
ARTMA		AZALMA		AYNI	
TRANSVEL	DİREKT	TRANSVEL	DİREKT	TRANSVEL	DİREKT
İL-6	**İL-6**		İL-10	İL-5	İL-5
			İL-12	İL-4	İL-4
		TGF–β	TGF–β	İL-10	
		CCL22	CCL22	İL-13	İL-13
		İL-1β	**İL-1β**	İL-12	
		TNF–α	TNF–α		
		IDO	IDO		
		İL-15	İL-15		
		İL-17A	İL-17A		
		İFN-γ	**İFN-γ**		
		CXCL10	CXCL10		
		MCP-1	MCP-1		
			MIP–1β		

4.10.20. İL-4+İL-10+İL-13 ile prime ko-kültürlerinin ELISA ile analiz sonucu

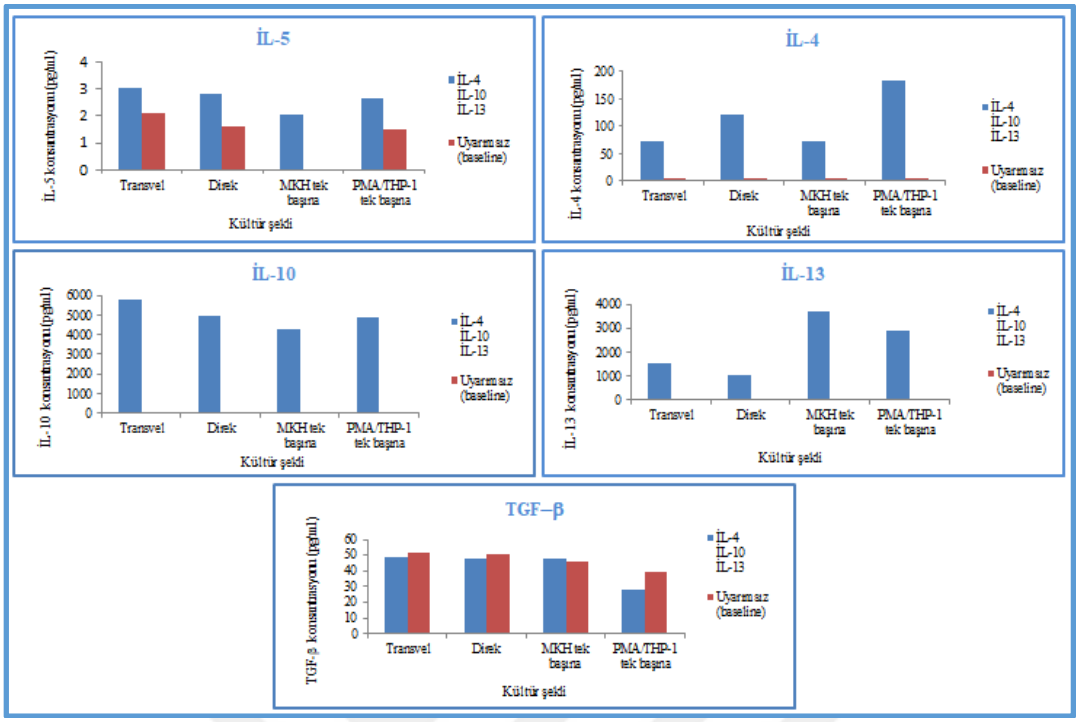
Şekil 4.167'de verilen İL-4+İL-10+İL-13 ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde salgılanan İL-5, İL-4, İL-10, İL-13 ve TGF−β ELISA ile analiz sonuçlarını inceleyecek olursak,

- PMA/THP-1 hücreleri tek başına iken uyarımsız gruplarda bazal seviyeye yakın İL-5, İL-4, İL-13 ve bir miktar İL-10, ve TGF−β salgılanmakla birlikte prime gruplarda uyarımsız gruba göre İL-5'de çok hafif İL-4'de orta düzeyde, İL-10 ve İL-13 ise fazla miktarda artış, TGF-β da ise hafif bir baskılanma olduğu,

- MKH'lar tek başına iken uyarımsız grupta bazal seviyeye yakın İL-4, İL-10 ve İL-13 ve bir miktar TGF-β salgılandığı, İL-5'in ise salgılanmadığı, prime gruplarda çok düşük düzeyde İL-5 salgılanmakla birlikte, prime grupta uyarımsız gruba göre İL-4 salgılamasında bir miktar artış, TGF-β'da hafif bir artış, İL-10 ve İL-13 salınımında ise çok fazla bir artış olduğu,

- Transvel ve direkt ko-kültürlerde; uyarımsız grupla prime grup arasında belirgin fark olmamakla birlikte İL-5'in bazal seviyeye yakın salgıladığı, tekli prime gruba göre seviyesinin belirgin fark olmadığı, İL-4 uyarımsız grupta bazal seviyeye yakın salgılanırken prime grupta salgılanmasının artmasına rağmen tekli prime grupla karşılaştırıldığında seviyesinin baskılandığı, İL-10'un uyarımsız grupta bazal seviyeye yakın salgılanırken prime grupta çok yüksek seviyede salgılanmasına rağmen tekli prime gruplara göre salgılanmasının daha az olduğu, İL-13'ün uyarımsız grupta bazal seviyeye yakın salgılanırken prime grupta yüksek seviyede salgılanmasına rağmen tekli prime gruplara göre salgılanmasının daha az olduğu, TGF-β'nın uyarımsız ve prime grupta aynı oranda salgılanmakla birlikte tekli prime gruba göre seviyesinin azaldığı,

- Transvel ve direkt kültürlerde prime grupla uyarımsız grup arasında belirgin fark olduğu, İL-10, İL-13 ve İL-4'ün uyarımsız grupta bazal seviyeye yakınken prime grupta belirgin derecede arttığı ancak tekli prime gruba göre seviyesinin daha az olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.167. İL-4+İL-10+İL-13 ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde İL-5, İL-4, İL-10, İL-13 ve TGF–β salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

Şekil 4.168'de verilen İL-4+İL-10+İL-13 ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde salgılanan CCL22, İL-1β, İL-6, TNF-α ve İL-12'nın ELISA ile analiz sonuçlarını inceleyecek olursak,

- PMA/THP-1 hücreleri tek başına iken CCL22'nin yüksek ancak prime grupta uyarımsız gruptan daha az düzeylerde salgılandığı, İL-1β ve TNF-α'nın uyarımsız grupta salgılanırken prime grupta baskılandığı, İL-6'nın uyarımsız grupta bazal seviyeye yakın salgılanırken prime grupta salgılanmadığı, İL-12'nin prime grupta uyarımsız gruba göre hafif yüksek düzeyde salgılandığı,

- MKH'lar tek başına iken hem uyarımsız hem de prime grupta aralarında fark olmakla birlikte CCL22 salgıladığı, İL-6 uyarımsız grupta düşük düzeyde salgılanırken prime grupta salgılanmasının arttığı, TNF–α ve İL-12'yi düşük düzeyde salgıladığı prime grupta uyarımsız gruba göre salgılanmasının biraz arttığı, İL-1β'nın uyarımsız ve prime grupta bazal seviyeye yakın salgılandığı,

- Transvel ko-kültürlerde, CCL22'nin prime ve uyarımsız ko-kültürlere aynı oranda tekli kültürlere göre daha az seviyede salgılandığı, İL-1β'nın uyarımsız ve prime ko-kültürlerde yaklaşık aynı düzeyde tekli prime kültüre göre belirgin derecede bazal seviyeye yakın baskılandığı, İL-6'nın prime ve uyarımsız ko-kültürlerde tespit sınırlarının üzerinde olmakla birlikte tekli prime kültüre göre çok fazla arttığı, TNF-α'nın uyarımsız ve prime ko-kültürlerde yaklaşık aynı düzeyde düşük miktarda salgılandığı tekli prime kültürlere oranla baskılandığı, İL-12'nin uyarımsız ve prime kültürlerde aynı düzeyde tekli kültürlere yaklaşık olarak aynı miktarda salgılandığı,

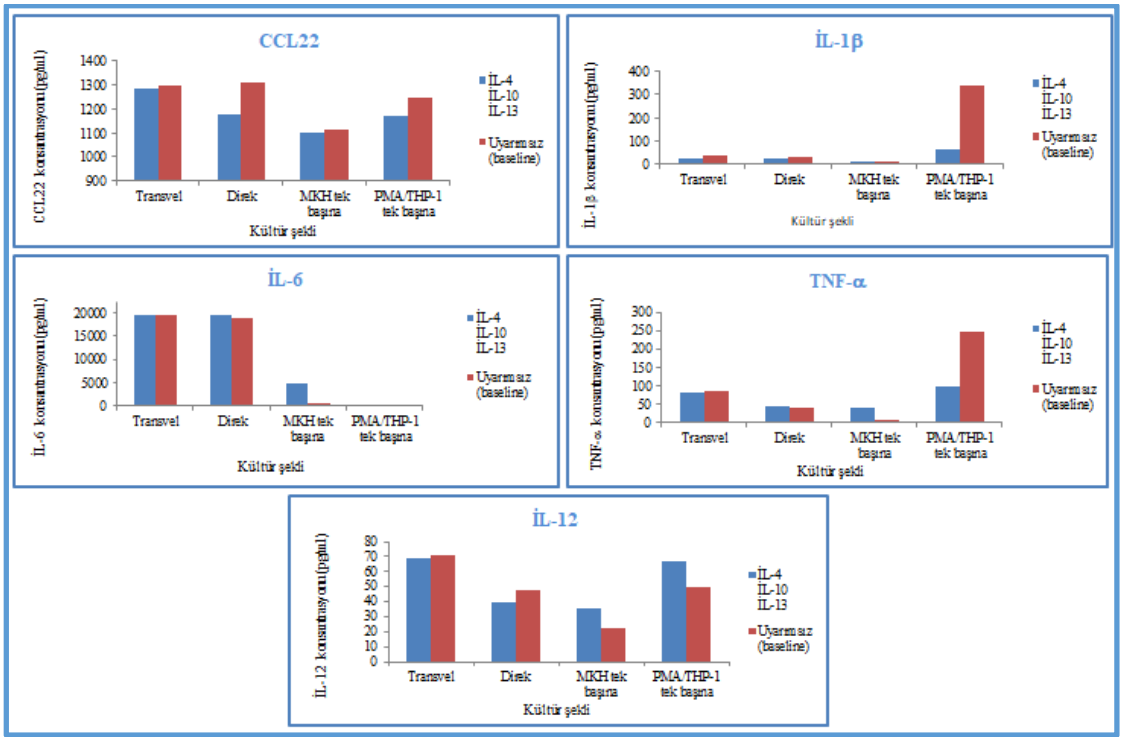
- Direkt ko-kültürlerde CCL22'nin prime kültürlerde uyarımsız ko-kültürlere göre daha az salgılandığı, tekli kültürlere göre belirgin seviyede salgılanımının baskılandığı, İL-1β'nın uyarımsız ve prime ko-kültürlerde yaklaşık aynı düzeyde tekli prime kültüre göre belirgin derecede bazal seviyeye yakın baskılandığı, İL-6'nın prime kültürlerde sınırlarının üzerinde olmakla birlikte uyarımsız ko-kültürlerde de yüksek düzeyde salgılandığı, tekli prime kültüre göre çok fazla arttığı, TNF-α'nın uyarımsız ve prime ko-kültürlerde yaklaşık aynı düzeyde düşük miktarda salgılandığı, İL-12'nin prime ko-kültür grubunda uyarımsız ko-kültür grubuna göre hafif derecede daha az salgılandığı tekli prime gruplara göre baskılandığı,

- CCL22, TNF-α ve İL-12'nin direkt ko-kültürlerde transvel ko-kültürlere oranla daha az salgılandığı,

- Transvel ve direkt ko-kültür prime gruplarda İL-6'nın çok yüksek düzeyde arttığı, CCL22 > İL-12 > TNF-α'nın salgılanmaya devam etmekle birlikte salgılanmasının tekli kültüre göre baskılandığı, İL-β'nın ise tamamen baskılandığı,

- PMA/THP-1 hücreleri tek başına iken İL-15'in uyarımsız grupla prime grup arasında fark olmamakla birlikte bazal seviyeye yakın salgıladığı, IDO, İL-17A, İFN-γ'yı uyarımsız grupla prime grup arasında fark olmamakla birlikte daha fazla salgıladığı,

- MKH'lar tek başına iken İL-15 ve İL-17A salgılamazken prime grupta bazal seviyeye yakın salgıladığı, İFN-γ ve IDO salınımının prime grupta daha fazla olmak üzere hem uyarımsız hem de prime grupta arttığı,



Şekil 4.168. İL-4+İL-10+İL-13 ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde CCL22, İL-1β, İL-6, TNF-α ve İL-12 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

Şekil 4.169'da verilen İL-4+İL-10+İL-13 ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde salgılanan IDO, İL-15, İL-17A ve İFN-γ ELISA ile analiz sonuçlarını inceleyecek olursak,

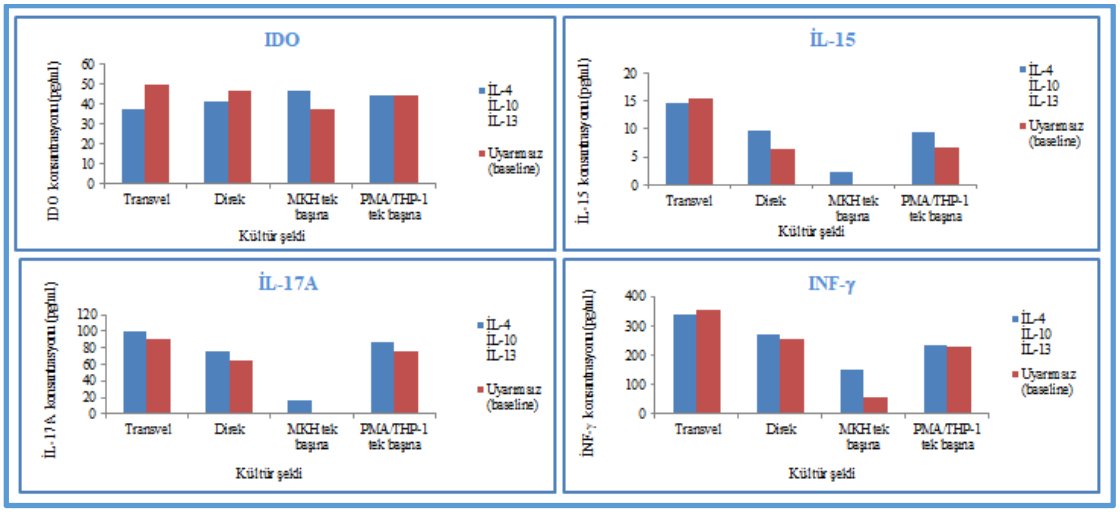
- Transvel ko-kültürlerde İL-15'in uyarımsız ve prime kültürlerde belirgin fark olmamakla birlikte düşük seviyede salgılandığı, tekli gruplara göre seviyesinde hafif artış olduğu, İL-17A ve İFN-γ salınımında uyarımsız ve prime gruplar arasında belirgin fark olmamakla birlikte, tekli gruplara göre baskılandığı, IDO'nun uyarımsız grupta salgılandığı prime grupta seviyesinin azaldığı, tekli gruplara göre salgılanmasının baskılandığı,

- Direkt ko-kültürlerde İL-15'in uyarımsız ve prime kültürlerde belirgin fark olmamakla birlikte düşük seviyede salgılandığı, tekli gruplara göre seviyesinde azalma olduğu, İL-17A ve İFN-γ salınımında uyarımsız ve prime gruplar arasında belirgin fark olmamakla

birlikte, tekli gruplara göre baskılandığı, IDO'nun uyarımsız grupta salgılandığı prime grupta seviyesinin azaldığı, tekli gruplara göre salgılanmasının baskılandığı,

- Transvel ko-kültüründe İFN-γ ve İL-17A'nın direkt ko-kültüre oranla daha fazla salgılandığı,

- Transvel ve direkt ko-kültürde İFN-γ , İL-17A ve IDO salgılanmasına rağmen tekli grupla karşılaştırıldığında baskılandığı bulunmuştur.



Şekil 4.169. İL-4+İL-10+İL-13 ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde IDO, İL-15, İL-17A ve İFN-γ salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

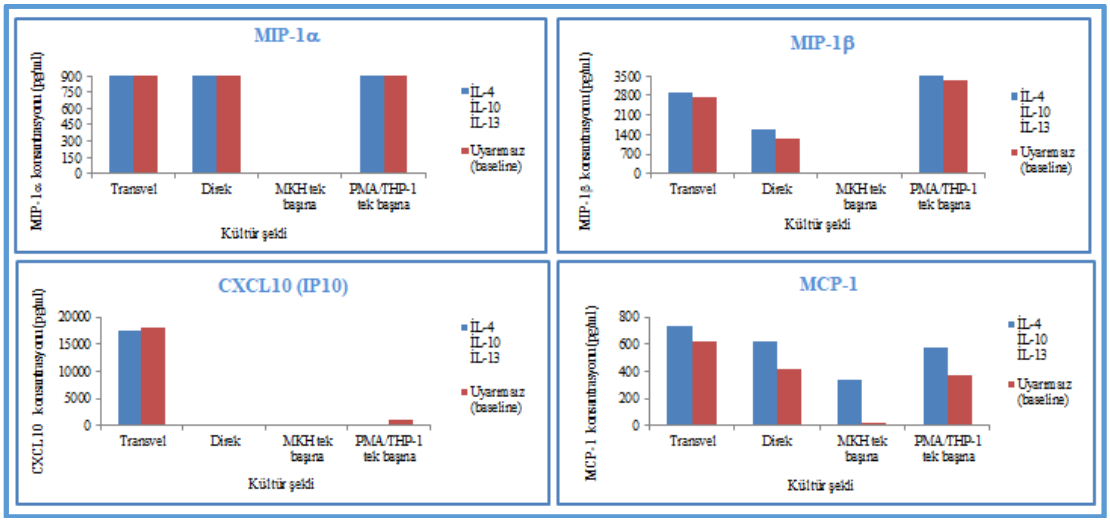
- Şekil 4.170'de verilen İL-4+İL-10+İL-13 ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde salgılanan MIP-1α, MIP-1β, CXCL10 ve MCP-1 ELISA ile analiz sonuçlarını inceleyecek olursak,

- PMA/THP-1 hücreleri tek başına iken MIP-1α salgılanımının hem uyarımsız hem de prime grupta tespit sınırlarının üzerinde olduğu, MIP-1β salınımının prime grupta tespit sınırlarının üzerinde olduğu uyarımsız grupta ise yüksek olmakla birlikte prime gruptan daha az olduğu, CXCL10(IP10) salınımının uyarımsız grupta bazal seviyeye yakın salgılanırken prime grupta salgılanmadığı, MCP-1'nin uyarımsız grupta salgılanmakla birlikte prime grupta salınımın arttığı,

- MKH'lar tek başına iken uyarımsız ve prime grupta MIP-1α ve MIP-1β salgılamadıkları, CXCL10 uyarımsız grupta çok düşük düzeyde salgılanırken prime grupta hafif miktarda arttığı, MCP-1 uyarımsız grupta çok düşük düzeyde salgılanırken prime grupta arttığı,

- Transvel ko-kültürlerde; MIP-1α seviyesi hem transvel hem de tekli grupta tespit sınırlarının üzerinde olduğu için karşılaştırma yapılamamıştır. MIP-1β salınımı ise uyarımsız grupla prime grup arasında fark olmamakla birlikte yüksek seviyede salgılandığı, tespit sınırlarının üzerinde olan tekli gruba göre baskılandığı, CXCL10 (IP10) seviyesinin uyarımsız ve prime grupta aynı seviyede çok yüksek düzeylerde salgılandığı tekli prime gruba göre çok yüksek miktarda olduğu, MCP-1 salgılanımının prime grupta uyarımsız gruba göre fazla olmakla birlikte tekli prime gruba göre baskılandığı, Direkt ko-kültürlerde hem direkt ko-kültürde hem de tekli grupta tespit sınırlarının üzerinde olduğu için karşılaştırma yapılamamıştır. MIP-1β salınımı ise prime grupta uyarımsız gruba oranla hafif yüksek seviyede salgılandığı, tespit sınırlarının üzerinde olan tekli gruba göre belirgin düzeyde baskılandığı, CXCL10 (IP10) salınımının uyarımsız ve prime grupta yaklaşık aynı şekilde düşük seviyede olduğu, tekli grupla karşılaştırıldığında baskılandığı,

- MIP-1β salgılanımı prime grupta uyarımsız gruba göre yüksek olsa da tek başına prime ve uyarımsız gruba göre baskılandığı, direkt kültürde uyarımsız grupta tekli prime gruba göre tamama yakın baskılandığı prime grupta çok fazla artış olsa da tekli prime gruba göre baskılandığı, MCP-1 salınımının prime grupta uyarımsız gruba göre yüksek olmakla birlikte tekli prime gruba göre baskılandığı, Transvel ko-kültürlerde direkt ko-kültüre göre daha fazla MIP-1β ve MCP-1'in salgılanmaya devam etmekle birlikte tekli prime kültüre göre baskılandığı, CXCL10 sadece transvel grubunda çok yüksek düzeyde salgılandığı bulunmuştur.



Şekil 4.170. İL-4+İL-10+İL-13 ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde MIP-1α, MIP-1β, CXCL10 ve MCP-1 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

İL-4+İL-10+İL-13 ile prime direkt ve transvel ko-kültürlerde sitokin düzeyinin tekli prime kültürlere göre değişimi Çizelge 4.59'de verilmiştir. Bu grupta kırmızı boyalı olarak gösterilen CXCL10 ve İL-6'daki artış ve İL-10, İL-13, MIP-1β azalış en belirgin şekilde gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.59. İL-4+İL-10+İL-13 ile prime sonrası ko-kültürlerde sitokin düzeyi değişimi

İL-4+İL-10+İL-13					
ARTMA		AZALMA		AYNI	
TRANSVEL	DİREKT	TRANSVEL	DİREKT	TRANSVEL	DİREKT
İL-6	**İL-6**	İL-4	İL-4	İL-5	İL-5
İL-15		**İL-10**	**İL-10**		İL-15
		İL-13	**İL-13**		
		TGF–β	TGF–β		
		CCL22	CCL22		
		İL-1β	İL-1β		
		TNF–α	TNF–α		
			İL-12	İL-12	
		IDO	IDO		
		İL-17A	İL-17A		
		İFN-γ	İFN-γ		
		MIP–1β	**MIP–1β**		
CXCL10			CXCL10		
		MCP-1	MCP-1		

4.10.21. TNF-alfa ile prime ko-kültürlerin ELISA ile analiz sonucu

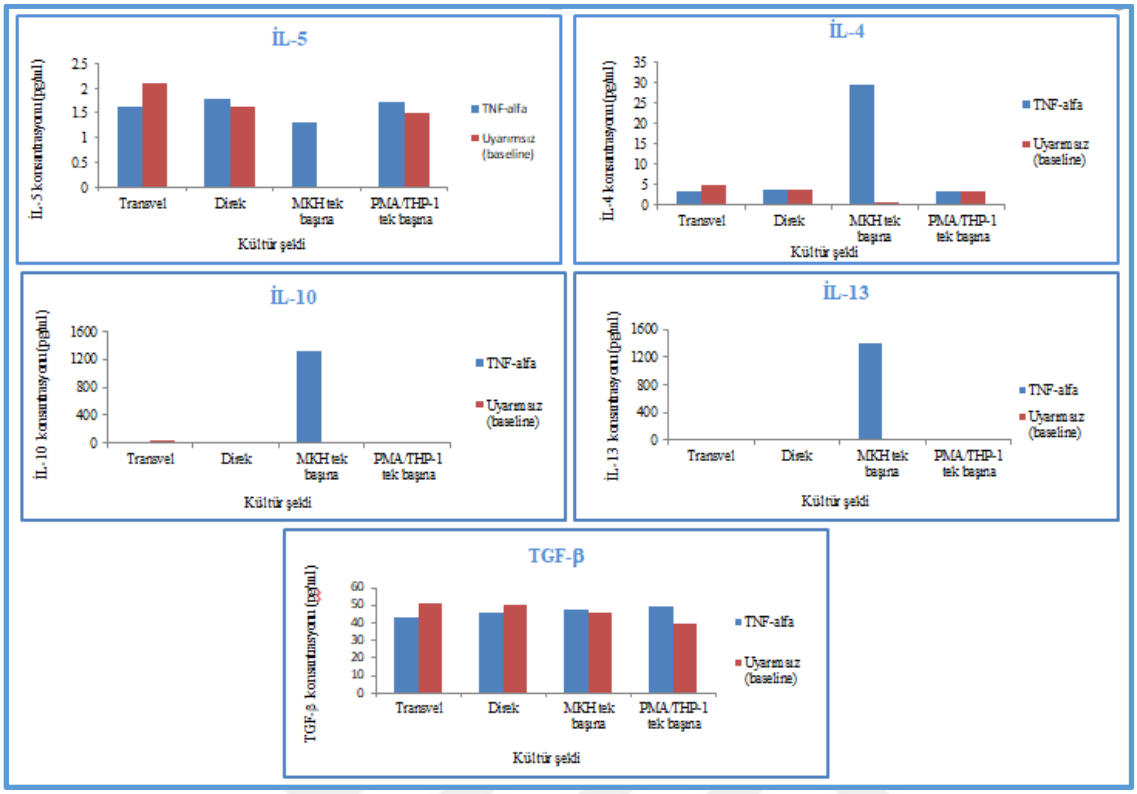
Şekil 4.171'de verilen TNF-α ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde salgılanan İL-5, İL-4, İL-10, İL-13 ve TGF−β ELISA ile analiz sonuçlarını inceleyecek olursak,

- PMA/THP-1 hücreleri tek başına iken İL-5, İL-4, İL-10, İL-13 salgılanımının uyarımsız ve prime gruplarda bazal seviyeye yakın olduğu, bir miktar TGF−β salgılanmakla birlikte prime gruplarda uyarımsız gruba göre hafif düzeyde yüksek olduğu,

- MKH'lar tek başına iken İL-5'in uyarımsız grupta salgılamadığı, prime grupta ise bazal seviyeye yakın salgılandığı, İL-4'ün uyarımsız grupta salgılamadığı, prime grupta ise salgılandığı, İL-10'un uyarımsız grupta bazal seviyeye yakın prime grupta ise yüksek düzeyde salgılandığı, İL-13'ün uyarımsız grupta salgılamadığı, prime grupta ise yüksek düzeyde salgılandığı, TGF-β'nın hem uyarımsız grupta hem prime grupta aynı düzeyde olmak üzere salgılandığı,

- Transvel ve direkt ko-kültürlerde; uyarımsız grupla prime grup arasında belirgin fark olmamakla birlikte İL-5'in bazal seviyeye yakın salgıladığı, tekli prime gruba göre seviyesinin belirgin fark olmadığı, İL-4 uyarımsız ve prime grupta bazal seviyeye yakın salgılandığı, tekli prime grupla karşılaştırıldığında seviyesinin baskılandığı, İL-10 ve İL-13'ün uyarımsız ve prime grupta, çok yüksek düzeyde salgılanan tekli prime gruba göre aynı oranda bazal seviyeye yakın baskılandığı, TGF-β'nın salgılanmakla beraber prime grupta uyarımsız gruba kıyasla seviyesinin azaldığı, tekli prime gruba göre baskılandığı,

- Transvel ve direkt kültürlerde prime grupla uyarımsız grup arasında belirgin fark olmamakla birlikte tekli prime gruba göre İL-10 ve İL-13'un yüksek oranda, İL-4 ve TGF-β'nın orta düzeyde baskılandığı bulunmuştur.



Şekil 4.171. TNF-α ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde İL-5, İL-4, İL-10, İL-13 ve TGF−β salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

Şekil 4.172'de verilen TNF-α ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde salgılanan CCL22, İL-1β, İL-6, TNF-α ve İL-12'nın ELISA ile analiz sonuçlarını inceleyecek olursak,

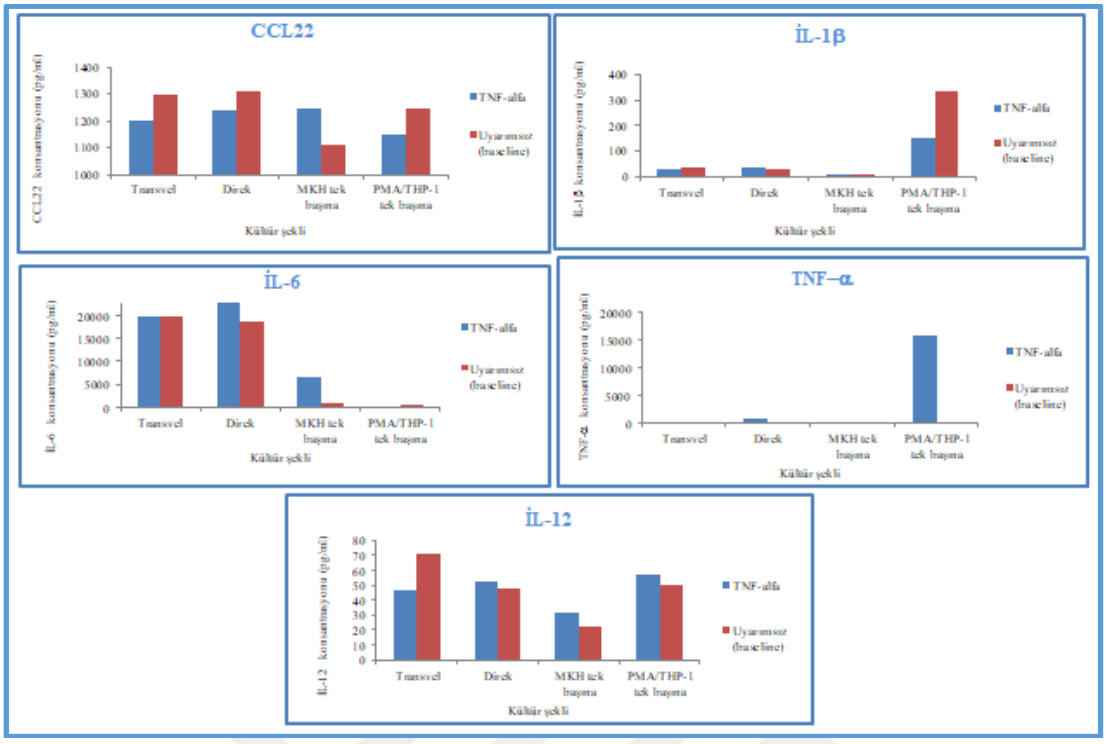
- PMA/THP-1 hücreleri tek başına iken CCL22'nin yüksek ancak prime grupta uyarımsız gruptan daha az düzeylerde salgılandığı, İL-1β'nın salgılandığı, prime grupta uyarımsız gruba göre baskılandığı, İL-6'nın uyarımsız grupta bazal seviyeye yakın salgılanırken prime grupta salgılanmadığı, TNF-α'nın uyarımsız grupta salgılanırken prime grupta düzeyinin çok fazla arttığı, İL-12'nin prime grupta uyarımsız gruba göre hafif yüksek düzeyde salgılandığı,

- MKH'lar tek başına iken CCL22 salgılanmasının prime grupta uyarımsız gruba göre baskılandığı, İL-1β'nın bazal seviyede salgılandığı, İL-6'nın uyarımsız grupta salgılanmakla birlikte prime grupta çok arttığı, TNF-α'nın uyarımsız grupta bazal seviyede salgılanırken prime grupta salgılamasının arttığı, İL-12'nin hafif düzeyde salgılandığı prime grupta uyarımsız gruba göre bir miktar fazla olduğu,

- Transvel ko-kültürlerde, CCL22'nin prime grupta uyarımsız gruba göre daha az salgılandığı tekli gruba göre baskılandığı, İL-1β'nın uyarımsız ve prime ko-kültürlerde yaklaşık aynı düzeyde tekli prime kültüre göre belirgin derecede bazal seviyeye yakın baskılandığı, İL-6'nın prime ve uyarımsız gruplarda tespit sınırlarının üzerinde olmakla birlikte tekli prime kültüre göre çok fazla arttığı, TNF-α'nın uyarımsız ve prime gruplarda düşük miktarda salgılandığı tekli prime kültürlere çok belirgin oranda baskılandığı, İL-12'nin prime grupta uyarımsız gruba göre daha az miktarda salgılandığı, tekli gruba göre baskılandığı,

- Direkt ko-kültürlerde CCL22'nin prime grupta uyarımsız gruba göre daha az salgılandığı tekli gruba göre baskılandığı, İL-1β'nın uyarımsız ve prime ko-kültürlerde yaklaşık aynı düzeyde tekli prime kültüre göre belirgin derecede bazal seviyeye yakın baskılandığı, İL-6'nın prime grupta tespit sınırlarının üzerinde olmakla birlikte uyarımsız grupta yüksek düzeyde salgılandığı, tekli prime kültüre göre çok fazla arttığı, TNF-α'nın prime grupta uyarımsız gruba göre daha fazla salgılanmasına rağmen tekli prime gruba göre belirgin derecede baskılandığı, İL-12'nin uyarımsız ve prime grupta yaklaşık aynı düzeyde salgılandığı tekli prime gruplara göre baskılandığı,

- Transvel ve direkt ko-kültür gruplarda İL-6'nın çok yüksek düzeyde arttığı, CCL22 > İL-12'nın salgılanmaya devam etmekle birlikte salgılanmasının tekli kültüre göre baskılandığı, TNF–α ve İL-β'nın ise bazal seviye düzeyinde baskılandığı bulunmuştur.



Şekil 4.172. TNF-α ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde CCL22, İL-1β, İL-6, TNF-α ve İL-12 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

Şekil 4.173'de verilen TNF-α ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde salgılanan IDO, İL-15, İL-17A ve İFN-γ ELISA ile analiz sonuçlarını inceleyecek olursak,

- PMA/THP-1 hücreleri tek başına iken İL-15 uyarımsız grupla prime grup arasında fark olmamakla birlikte bazal seviyeye yakın salgıladığı, IDO, İL-17A, İFN-γ'yı uyarımsız grupla prime grup arasında fark olmamakla birlikte salgıladığı,

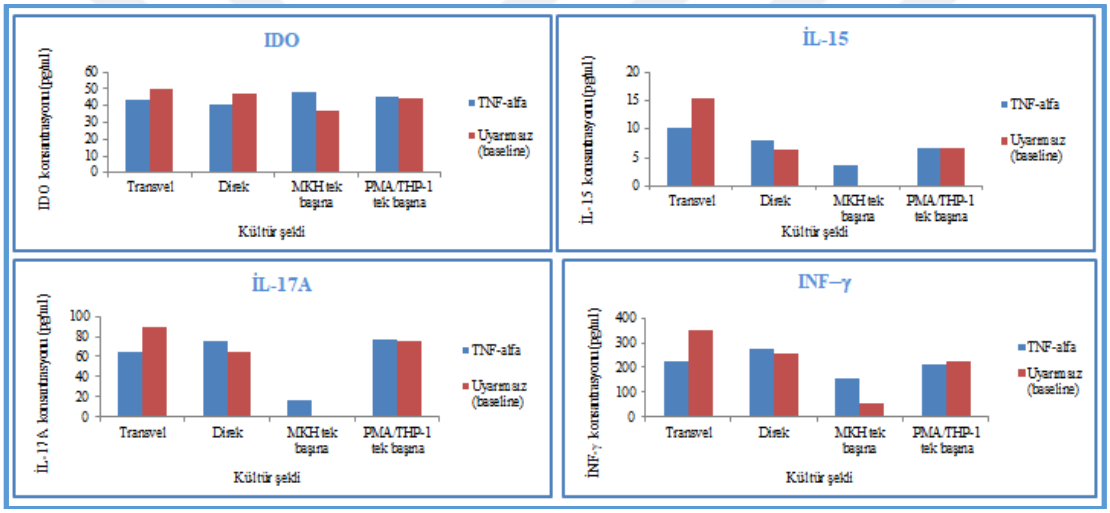
- MKH'lar tek başına iken İL-15 ve İL-17A salgılamazken prime grupta bazal seviyeye yakın salgıladığı, İFN-γ ve IDO salınımının prime grupta daha fazla olmak üzere hem uyarımsız hem de prime grupta arttığı,

- Transvel ko-kültürlerde İL-15'in uyarımsız ve prime kültürlerde belirgin fark olmamakla birlikte düşük seviyede salgılandığı, tekli gruplara göre seviyesinde çok hafif artış olduğu, IDO, İL-17A ve İFN-γ'nın prime gruplarda uyarımsız gruplara göre daha az salgılandığı, tekli gruplara göre seviyesinin baskılandığı,

- Direkt ko-kültürlerde İL-15'in uyarımsız ve prime kültürlerde belirgin fark olmamakla birlikte bazal seviyeye yakın salgılandığı, tekli gruplara göre seviyesinde çok hafif bir azalma olduğu, IDO'nun uyarımsız grupta salgılandığı prime grupta seviyesinin azaldığı, İL-17A ve İFN-γ uyarımsız grupta salgılandığı prime grupta seviyesinin arttığı,

- Transvel ko-kültürü ile direkt ko-kültür karşılaştırıldığında IDO'nun aynı düzeyde salgılandığı, İFN-γ ve İL-17A'nın direkt ko-kültüre oranla daha az salgılandığı,

- Transvel ve direkt ko-kültürde İFN-γ , İL-17A ve IDO salgılanmasına rağmen tekli grupla karşılaştırıldığında baskılandığı bulunmuştur.



Şekil 4.173. TNF-α ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde IDO, İL-15, İL-17A ve İFN-γ salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

Şekil 4.174'de verilen TNF-α ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde salgılanan MIP-1α, MIP-1β, CXCL10 ve MCP-1 ELISA ile analiz sonuçlarını inceleyecek olursak,

- PMA/THP-1 hücreleri tek başına iken MIP-1α salgılanımının hem uyarımsız hem de prime grupta tespit sınırlarının üzerinde olduğu, MIP-1β salınımının prime grupta tespit sınırlarının üzerinde olduğu uyarımsız grupta ise yüksek olmakla birlikte prime gruptan daha az salgılandığı, CXCL10(IP10) salınımının uyarımsız ve prime grupta bazal seviyeye yakın salgılandığı, MCP-1'nin uyarımsız ve prime grupta yaklaşık aynı oranda salgılandığı,

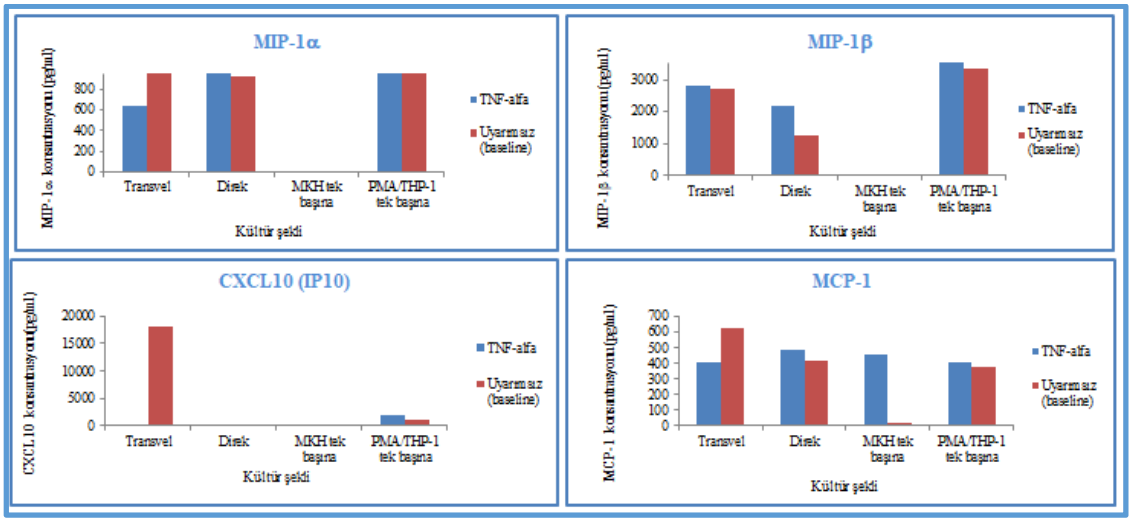
- MKH'lar tek başına iken uyarımsız ve prime grupta MIP-1α ve MIP-1β salgılamadıkları, CXCL10 uyarımsız grupta çok düşük düzeyde salgılanırken prime grupta arttığı, MCP-1 uyarımsız grupta çok düşük düzeyde salgılanırken prime grupta arttığı,

- Transvel ko-kültürlerde; MIP-1α seviyesi uyarımsız grupta tespit sınırlarının üzerinde olduğu, prime grupta ise hem uyarımsız hem de tekli gruplara göre belirgin düzeyde baskılandığı, MIP-1β yüksek düzeyde salgılandığı, prime grupta uyarımsız gruba göre salınımının arttığı ancak tekli gruba göre baskılandığı, CXCL10'un uyarımsız grupta çok fazla miktarda arttığı prime grupta salgılanmakla birlikte aralarında belirgin fak olduğu, tekli gruba göre prime grubun salınımının daha az olduğu, MCP-1'in prime grupta uyarımsız gruba göre salınımının azaldığı, tekli prime gruba göre salınımının baskılandığı,

- Direkt ko-kültürlerde MIP-1β salınımının prime grupta tespit sınırlarının üzerinde olduğu, uyarımsız grupta yüksek düzeyde salgılanmakla birlikte prime gruba göre daha az olduğu, MIP-1β salgılanımı prime grupta uyarımsız gruba göre yüksek olsa da tek başına prime ve uyarımsız gruba göre baskılandığı, CXCL10 (IP10)'in prime grupta uyarımsız gruba göre daha fazla salgılanmakla birlikte tekli gruba göre baskılandığı, MCP-1 salınımının prime grupta uyarımsız gruba göre hafif yüksek olmakla birlikte tekli prime gruba göre baskılandığı,

- Transvel ko-kültürlerde MIP-1α'nın direkt ko-kültürde MIP-1β'nın belirgin şekilde baskılandığı,

- CXCL10 sadece transvelde uyarımsız grubunda çok yüksek düzeyde salgılandığı bulunmuştur.



Şekil 4.174. TNF-α ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde MIP-1α, MIP-1β, CXCL10 ve MCP-1 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

TNF-α ile prime direkt ve transvel ko-kültürlerde sitokin düzeyinin tekli prime kültürlere göre değişimi Çizelge 4.60'de verilmiştir. Bu grupta kırmızı boyalı olarak gösterilen İL-6'da artış ve İL-10, İL-13, TNF-α, MIP-1α ve MIP-1β azalış en belirgin şekilde gözlemlenmiştir.

Çizelge 4. 60. TNF-α ile prime sonrası ko-kültürlerde sitokin düzeyi değişimi

TNF–α					
ARTMA		AZALMA		AYNI	
TRANSVEL	DİREKT	TRANSVEL	DİREKT	TRANSVEL	DİREKT
İL-6	**İL-6**	İL-4	İL-4	İL-5	İL-5
		İL-10	**İL-10**	İL-15	İL-15
		İL-13	**İL-13**		
		TGF–β	TGF–β		
		CCL22	CCL22		
		İL-1β	İL-1β		
		TNF–α	**TNF–α**		
		İL-12	İL-12		
		IDO	IDO		
		İL-17A	İL-17A		
		İFN-γ	İFN-γ		
		MIP–1α			
		MIP–1β	**MIP–1β**		
		CXCL10	CXCL10		
		MCP-1	MCP-1		

4.10.22. Yüksek doz LPS ile prime ko-kültürlerin ELISA ile analiz sonucu

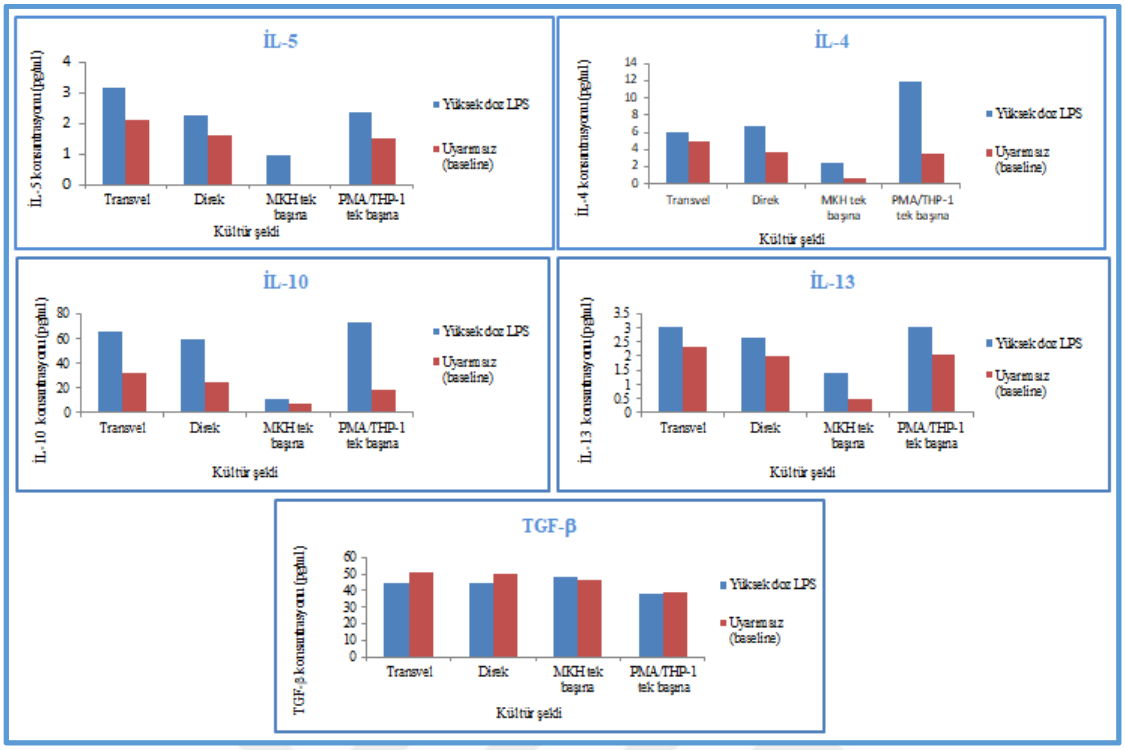
Şekil 4.175'de verilen yüksek doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde salgılanan İL-5, İL-4, İL-10, İL-13 ve TGF–β ELISA ile analiz sonuçlarını inceleyecek olursak,

- PMA/THP-1 tek başına iken İL-5 ve İL-13 salgılanımının uyarımsız ve prime gruplarda bazal seviyeye yakın olduğu, İL-4'ün uyarımsız grupta bazal seviyeye yakın salgılanırken prime grupta ise az miktarda salgılandığı, İL-10'nun uyarımsız grupta az miktarda salgılanırken prime grupta salgılanımının arttığı, TGF–β'nın uyarımsız ve prime grupta aynı düzeyde salgılandığı,

- MKH'lar tek başına iken İL-5'in uyarımsız grupta salgılamadığı, prime grupta ise bazal seviyeye yakın salgılandığı, İL-4, İL-10 ve İL-13'ü uyarımsız ve prime grupta bazal seviyeye yakın salgılandığı, TGF-β'nın hem uyarımsız grupta hem prime grupta aynı düzeyde olmak üzere salgılandığı,

- Transvel ve direkt ko-kültürlerde; uyarımsız grupla prime grup arasında belirgin fark olmamakla birlikte İL-5, İL-4 ve İL-13'ün bazal seviyeye yakın salgıladığı, tekli prime gruba göre seviyesinde belirgin fark olmadığı, İL-10'un uyarımsız grupta salgılanırken prime grupta salgılanımının arttığı tekli gruplara göre salgılanımının azaldığı, TGF-β'nın salgılanmakla beraber prime grupta uyarımsız gruba kıyasla seviyesinin azaldığı, tekli prime gruba göre baskılandığı,

- Transvel ve direkt kültürlerde aralarında belirgin fark olmamakla birlikte, İL-5, İL-4 ve İL-13'ün bazal seviyede olduğu, İL-10 ve TGF-β salgılanmasına rağmen tekli kültürlerle karşılaştırıldığında salınımının baskılandığı bulunmuştur.



Şekil 4.175. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde İL-5, İL-4, İL-10, İL-13 ve TGF−β salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

Şekil 4.176'da verilen yüksek doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde salgılanan CCL22, İL-1β, İL-6, TNF-α ve İL-12'nın ELISA ile analiz sonuçlarını inceleyecek olursak,

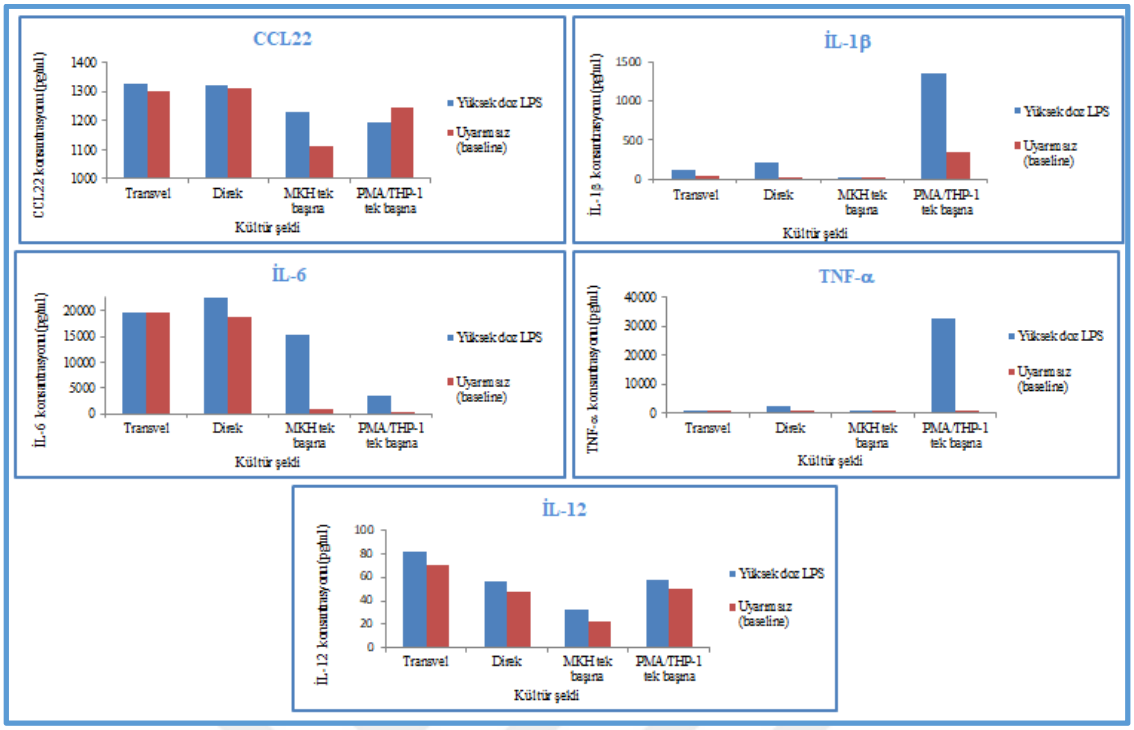
- PMA/THP-1 hücreleri tek başına iken CCL22'nin yüksek ancak prime grupta uyarımsız gruptan daha az düzeylerde salgılandığı, İL-1β'nın salgılandığı, prime grupta uyarımsız gruba göre salınımının belirgin derecede arttığı, İL-6'nın uyarımsız grupta bazal seviyeye yakın salgılanırken prime grupta salgılanımının arttığı, TNF-α'nın uyarımsız grupta salgılanırken prime grupta düzeyinin çok fazla arttığı, İL-12'nin prime grupta uyarımsız gruba göre hafif yüksek düzeyde salgılandığı,

- MKH'lar tek başına iken CCL22 salgılanmasının prime grupta uyarımsız gruba göre daha fazla olduğu, İL-1β'nın uyarımsız ve prime grupta bazal seviyede salgılandığı, İL-6'nın uyarımsız grupta salgılanmakla birlikte prime grupta çok arttığı, TNF-α'nın uyarımsız ve prime grupta bazal seviyede salgılandığı, İL-12'nin az miktarda salgılandığı prime grupta uyarımsız gruba göre bir miktar fazla olduğu,

- Transvel ko-kültürlerde, CCL22'nin prime grupta uyarımsız gruba göre daha fazla salgılandığı tekli gruba göre baskılandığı, İL-1β'nın uyarımsız ve prime ko-kültürlerde yaklaşık aynı düzeyde tekli prime kültüre göre belirgin derecede baskılandığı, İL-6'nın prime ve uyarımsız gruplarda tespit sınırlarının üzerinde olmakla birlikte tekli prime kültüre göre çok fazla arttığı, TNF-α'nın uyarımsız ve prime gruplarda düşük miktarda salgılandığı tekli prime kültürlere çok belirgin oranda baskılandığı, İL-12'nin prime grupta uyarımsız gruba göre daha az miktarda salgılandığı, tekli grupla yaklaşık aynı düzeyde olduğu,

- Direkt ko-kültürlerde CCL22'nin uyarımsız ve prime grupta yaklaşık aynı düzeyde salgılandığı tekli gruba göre baskılandığı, İL-1β'nın uyarımsız grupta bazal seviyeye yakın salgılandığı, prime grupta salınımının artmasına rağmen tekli prime kültüre göre belirgin derecede baskılandığı, İL-6'nın prime grupta tespit sınırlarının üzerinde olmakla birlikte uyarımsız grupta da yüksek düzeyde salgılandığı, tekli prime kültüre göre çok fazla arttığı, TNF-α'nın prime grupta uyarımsız gruba göre daha fazla salgılanmasına rağmen tekli prime gruba göre belirgin derecede baskılandığı, İL-12'nin prime grupta uyarımsız gruba göre hafif miktarda daha fazla salgılandığı tekli prime gruplara göre baskılandığı,

- Transvel ve direkt ko-kültür gruplarda İL-6'nın çok yüksek düzeyde arttığı, TNF-α ve İL-β'nın belirgin biçimde baskılandığı, CCL22 > İL-12'nın salgılanmaya devam etmekle birlikte salgılanmasının tekli kültüre göre baskılandığı bulunmuştur.



Şekil 4.176. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde CCL22, İL-1β, İL-6, TNF-α ve İL-12 salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

Şekil 4.177'de verilen yüksek doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde salgılanan IDO, İL-15, İL-17A ve İFN-γ ELISA ile analiz sonuçlarını inceleyecek olursak,

- PMA/THP-1 hücreleri tek başına iken IDO'yu uyarımsız grupta salgılarken prime grupta bazal seviyeye kadar baskılandığı, İFN-γ, İL-17A ve İL-15'in prime gruptan daha fazla salgılandığı,

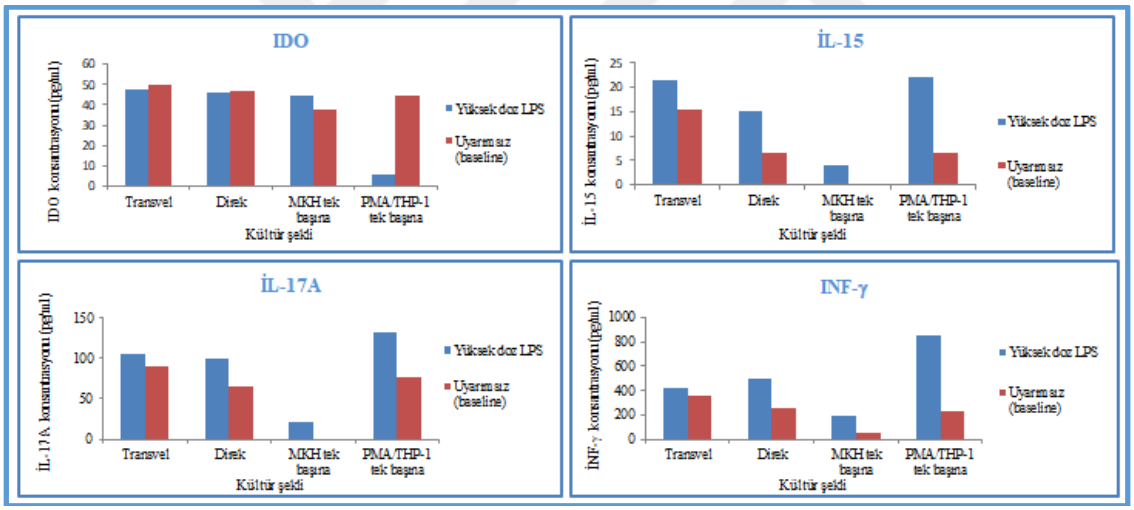
- MKH'lar tek başına iken İL-15 ve İL-17A salgılamazken prime grupta bazal seviyeye yakın salgıladığı, İFN-γ ve IDO salınımının prime grupta daha fazla olmak üzere hem uyarımsız hem de prime grupta arttığı,

- Transvel ko-kültürlerde uyarımsız ve prime kültürlerde belirgin fark olmamakla birlikte İL-15'in düşük seviyede salgılandığı, tekli gruplarla yaklaşık aynı düzeyde olduğu, IDO'nun salgılandığı, tekli gruplara göre seviyesinde çok hafif azalma olduğu, İFN-γ ve İL-17A'nın prime grupta daha fazla olmak üzere uyarımsız ve prime grupta salgılandığı, tekli prime gruba göre salgılanımının baskılandığı,

- Direkt ko-kültürde İL-15'in prime grupta hafif düzeyde daha fazla olmak üzere uyarımsız ve prime grupta az miktarda salgılandığı, IDO'nun uyarımsız ve prime grupta yaklaşık aynı düzeyde olmak üzere tekli gruplarla da yaklaşık aynı değerde salgılandığı, İL-15'in uyarımsız grupta bazal değerlere yakın prime grupta hafif miktarda daha fazla salgılandığı tekli gruplara göre azaldığı, İFN-γ ve İL-17A'nın prime grupta daha fazla olmak üzere hem uyarımsız hem de prime grupta salgılandığı,

- Transvel ko-kültürü ile direkt ko-kültür karşılaştırıldığında İL-17A ve IDO'nun aynı düzeyde salgılandığı, İFN-γ'nın direkt ko-kültüre oranla daha az salgılandığı, İL-15'in direkt grupta daha az salgılandığı,

- Transvel ve direkt ko-kültürde IDO, İL-15, İL-17A ve İFN-γ salgılanmasına rağmen tekli grupla karşılaştırıldığında salgılanımının baskılandığı bulunmuştur.



Şekil 4.177. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde IDO, İL-15, İL-17A ve İFN-γ salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

Şekil 4.178'de verilen yüksek doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde salgılanan MIP-1α, MIP-1β, CXCL10 ve MCP-1 ELISA ile analiz sonuçlarını inceleyecek olursak,

- PMA/THP-1 hücreleri tek başına iken MIP-1α salgılanımının hem uyarımsız hem de prime grupta tespit sınırlarının üzerinde olduğu, MIP-1β salınımının prime grupta tespit

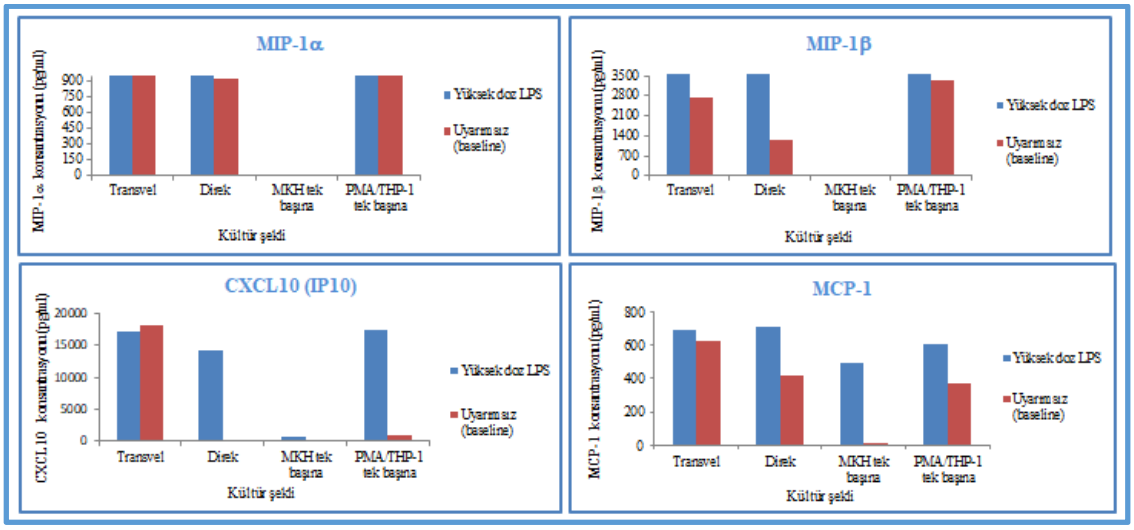
sınırlarının üzerinde olduğu uyarımsız grupta ise yüksek olmakla birlikte prime gruptan daha az salındığı, CXCL10(IP10) salınımının uyarımsız grupta bazal seviyeye yakın salgılandığı, prime grupta ise salınımının çok fazla arttığı, MCP-1'nin prime grupta uyarımsız gruba göre daha fazla salgılandığı,

- MKH'lar tek başına iken uyarımsız ve prime grupta MIP-1α salgılamadıkları, MIP-1β uyarımsız grupta salgılanmazken prime grupta bazal seviyede salgılandığı, CXCL10 uyarımsız grupta çok düşük düzeyde salgılanırken prime grupta salınımının arttığı, MCP-1 uyarımsız grupta bazal seviyeye yakın salgılanırken prime grupta arttığı,

- MIP-1β'nın prime grupta tespit sınırlarının üzerinde olduğu, uyarımsız grupta yüksek düzeyde olmasına rağmen prime gruba göre daha azaldığı,

- CXCL10'un uyarımsız ve prime grupta çok fazla miktarda salgılandığı prime grupta uyarımsız gruba göre hafif bir baskılanma olduğu, tekli gruba göre prime grubun salınımının hafif derecede daha az olduğu, MCP-1'in prime grupta uyarımsız gruba göre salınımının hafif derecede daha arttığı, tekli prime gruba göre salınımının baskılandığı,

- Direkt ko-kültürlerde MIP-1β salınımının prime grupta tespit sınırlarının üzerinde olduğu, uyarımsız grupta yüksek düzeyde salgılanmakla birlikte prime gruba göre daha az olduğu, MIP-1β salgılanımı prime grupta tespit sınırlarının üzerinde olduğu, uyarımsız grupta salgılansa da prime grupta uyarımsız gruba göre çok daha fazla salgılandığı, tekli prime grup tespit sınırlarının üzerinde olduğu için karşılaştırma yapılamadığı, CXCL10 (IP10)'in uyarımsız grupta çok az miktarda salgılandığı, prime grupta ise çok fazla miktarda salgılandığı, tekli prime gruba göre salgılanımının baskılandığı, transvel ve direkt ko-kültürde MIP-1α ve MIP-1β'nın tespit sınırlarının üzerinde salındığı, CXCL10 her iki grupta da çok yüksek düzeyde salınmakla birlikte tekli gruba göre salınımının azaldığı, MCP-1'de her iki grupta da salınmakla birlikte tekli gruba göre salınımının azaldığı bulunmuştur. Transvel ko-kültürlerde; MIP-1α seviyesinin uyarımsız ve prime grupta ayrıca tekli prime grupta tespit sınırlarının üzerinde olduğu için yorum yapılamamıştır.



Şekil 4.178. Yüksek doz LPS ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde MIP-1α, MIP-1β, CXCL10 ve MCP-1salgılanımının ELISA ile analiz sonucu

Yüksek doz LPS ile prime direkt ve transvel ko-kültürlerde sitokin düzeyinin tekli prime kültürlere göre değişimi Çizelge 4.61'de verilmiştir. Bu grupta kırmızı boyalı olarak gösterilen İL-6'daki artış ve İL-1β ve TNF-α deki azalış en belirgin şekilde gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.61. Yüksek doz LPS ile prime sonrası ko-kültürlerde sitokin düzeyi değişimi

YÜKSEK DOZ LPS					
ARTMA		AZALMA		AYNI	
TRANSVEL	DİREKT	TRANSVEL	DİREKT	TRANSVEL	DİREKT
İL-6	**İL-6**	İL-10	İL-10	İL-5	İL-5
		TGF–β	TGF–β	İL-4	İL-4
		CCL22	CCL22	İL-13	İL-13
		İL-1β	**İL-1β**		
		TNF–α	**TNF–α**		
			İL-12	İL-12	
				IDO	IDO
			İL-15	İL-15	
		İL-17A	İL-17A		
		İFN-γ	İFN-γ		
			CXCL10	CXCL10	
		MCP-1	MCP-1		

4.11. BrdU ve 7AAD Kullanılarak Yapılan Hücre Çoğalması Testinin Akım Sitometri ile Analiz Sonuçları

Yöntem bölümünde detaylı açıklanan BrdU ve akım sitometri ile çoğalmasının test edilmesi metoduna uygun olarak pasaj 5'deki MKH'lar Çizelge 3.8'da listelenen uyaranlarla prime edilmiş PMA/THP-1'lerin prime solüsyonu uzaklaştırıldıktan sonra 24 saat süresince toplanan süpernatanı ile uyarıldı. Kültürün 2. gününde birinci gruba BrdU eklenerek diğer grup kontrol olarak kabul edilip, BrdU eklenmeden inkübasyona bırakıldı. Her iki grupta anti-BrdU ve 7/ADD ile boyandı. Ardından hücreler akım sitometride okutulduktan sonra analiz edildi.

Şekil 4. 179'de üzerine sadece DMF-10 eklenen MKH'ların, Şekil 4. 180'de uyarımsız PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan, Şekil 4. 181'de Poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan, Şekil 4. 182'de İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan, Şekil 4. 183'de İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan, Şekil 4. 184'de TNF-α ile prime PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan, Şekil 4. 1185'de yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan MKH'ların akım sitometri ile analiz edilen çoğalma testi sonuçların dot plot görüntüsü verilmektedir.

Tüm şekillerde ilk üç şekil BrdU eklenen MKH'lara ait örneğe ait görüntüleri içermektedir. Bu örneklerde a) SS/FS (Forward scatter/ileri dağılım) gate alınan hücreleri, b)SS/anti-BrdU-FITC'de F gate'nin içindeki BrdU (+) hücreleri ve c) 7/AAD-PE/BrdU-FITC'de sağ alt kadranda S fazındaki hücrelere aittir.

Tüm şekillerde 4., 5. ve 6. şekil kontrol grubu olarak kabul edilen BrdU eklenmeyen MKH'lara ait örneğe ait görüntüleri içermektedir. Bu örneklerde c) SS/FS gate alınan hücreleri, d) SS/anti-BrdU-FITC'de F gate'nin içindeki BrdU(+) hücreleri ve e) 7/AAD-PE/BrdU-FITC'de sağ alt kadranda S fazındaki hücrelere aittir.

Şekil 4.179'da üzerine sadece DMF-10 eklenen MKH'ların kontrol grubunda anti-BrdU ile boyanan S fazındaki hücre oranı %0,5 iken BrdU eklenen deney grubunda anti-BrdU ile boyanan S fazındaki hücre oranı %1 olduğu,

Şekil 4.180’de üzerine sadece DMF-10 eklenen PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan MKH’ların kontrol grubunda anti-BrdU ile boyanan S fazındaki hücre oranı %0 iken BrdU eklenen deney grubunda anti-BrdU ile boyanan S fazındaki hücre oranı %4,4 olduğu,

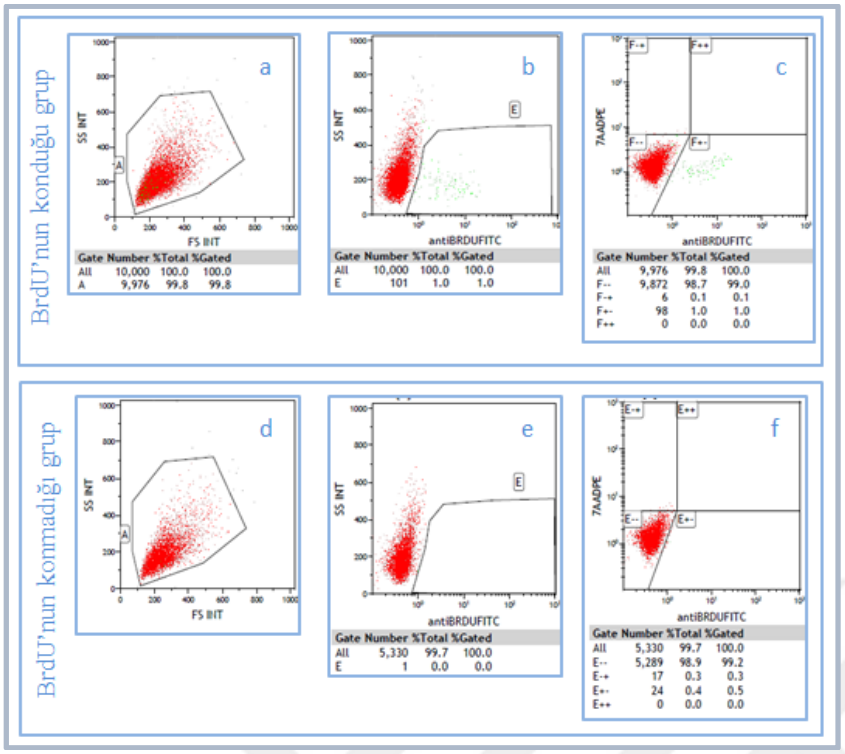
Şekil 4.181’de Poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan MKH'ların kontrol grubunda anti-BrdU ile boyanan S fazındaki hücre oranı %0 iken BrdU eklenen deney grubunda anti-BrdU ile boyanan S fazındaki hücre oranı %3,1 olduğu,

Şekil 4.182’de İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan MKH'ların kontrol grubunda anti-BrdU ile boyanan S fazındaki hücre oranı %0 iken BrdU eklenen deney grubunda anti-BrdU ile boyanan S fazındaki hücre oranı %3 olduğu,

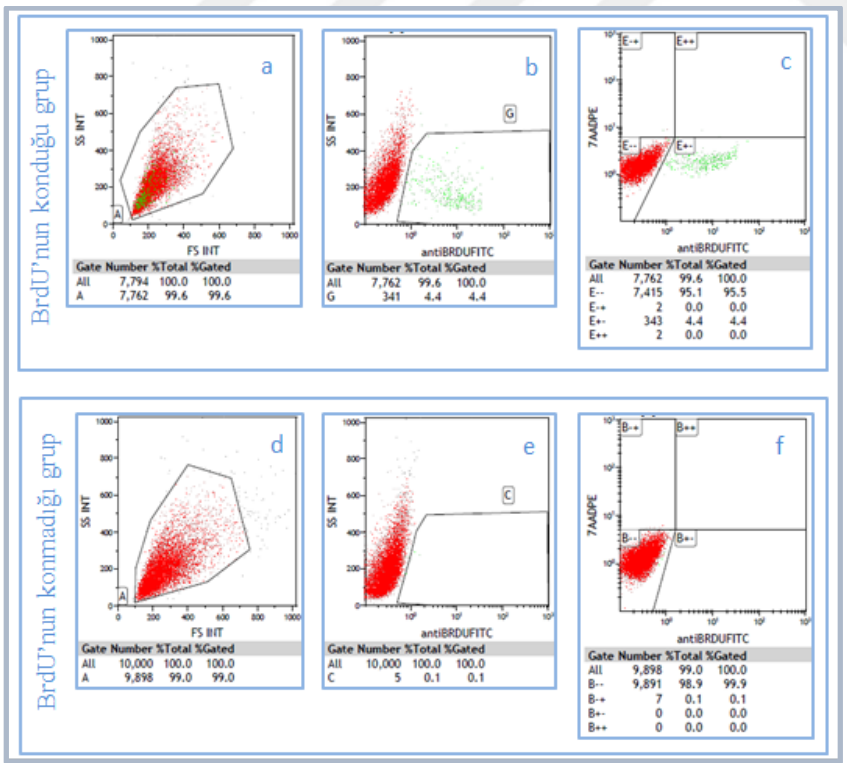
Şekil 4.183’de İL-4, İL-10 ve İL-13 prime PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan MKH'ların kontrol grubunda anti-BrdU ile boyanan S fazındaki hücre oranı %0 iken BrdU eklenen deney grubunda anti-BrdU ile boyanan S fazındaki hücre oranı %3,9 olduğu,

Şekil 4.184‘de TNF-α prime PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan MKH'ların kontrol grubunda anti-BrdU ile boyanan S fazındaki hücre oranı %0 iken BrdU eklenen deney grubunda anti-BrdU ile boyanan S fazındaki hücre oranı %2 olduğu,

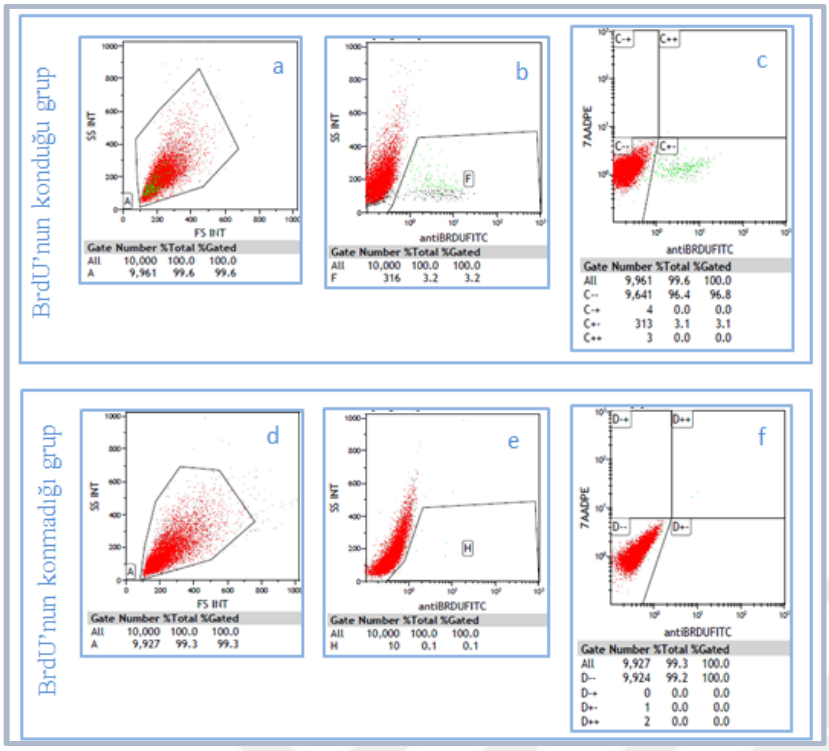
Şekil 4.185’de yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan MKH'ların kontrol grubunda anti-BrdU ile boyanan S fazındaki hücre oranı %0,1 iken BrdU eklenen deney grubunda anti-BrdU ile boyanan S fazındaki hücre oranı %2,7 olduğu bulunmuştur.



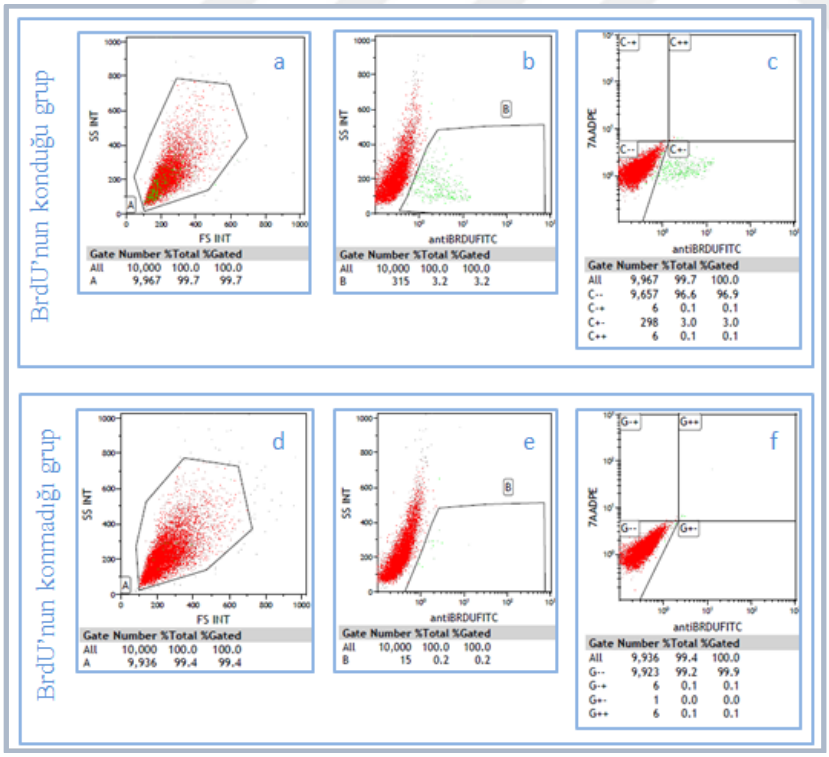
Şekil 4.179. Üzerine sadece DMF-10 eklenen MKH'ların çoğalma testi akım sitometri sonuçları



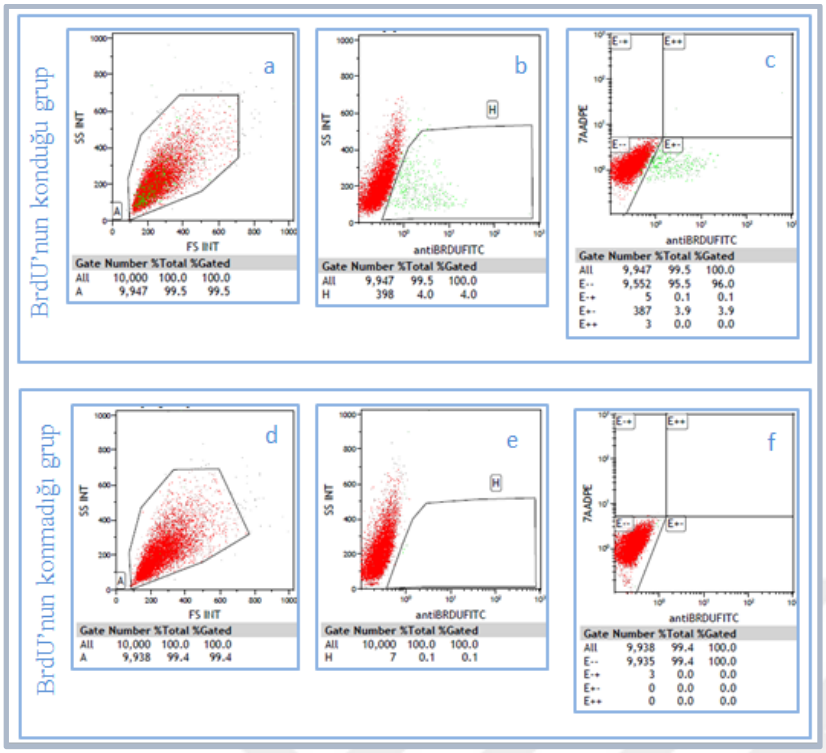
Şekil 4.180. Uyarımsız PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan MKH'ların çoğalma testi akım sitometri sonuçları



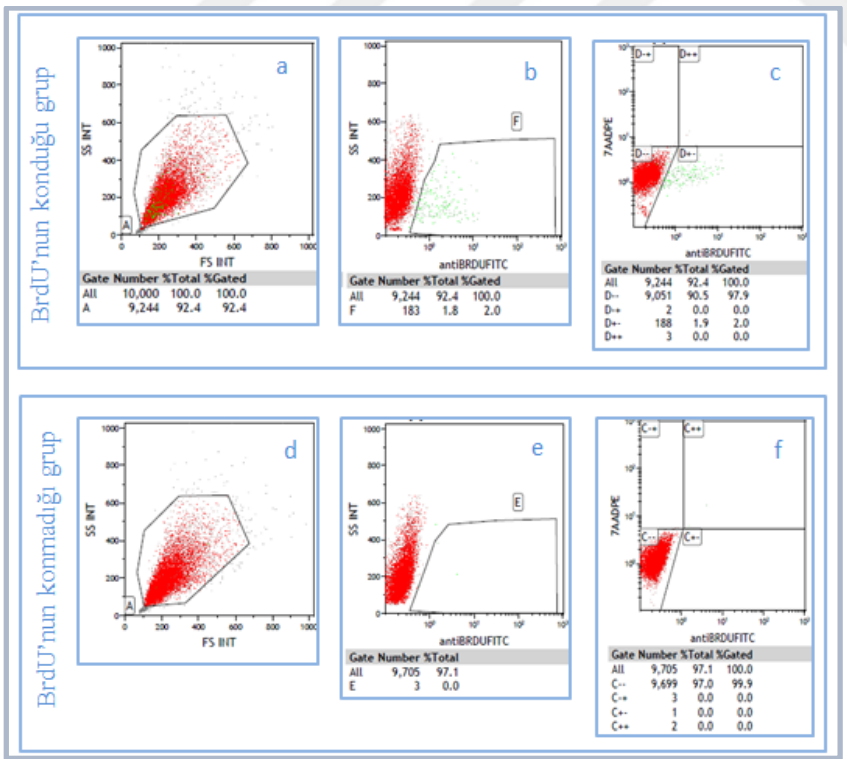
Şekil 4.181. Poli(I:C) ile prime PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan MKH'ların çoğalma testi akım sitometri sonuçları



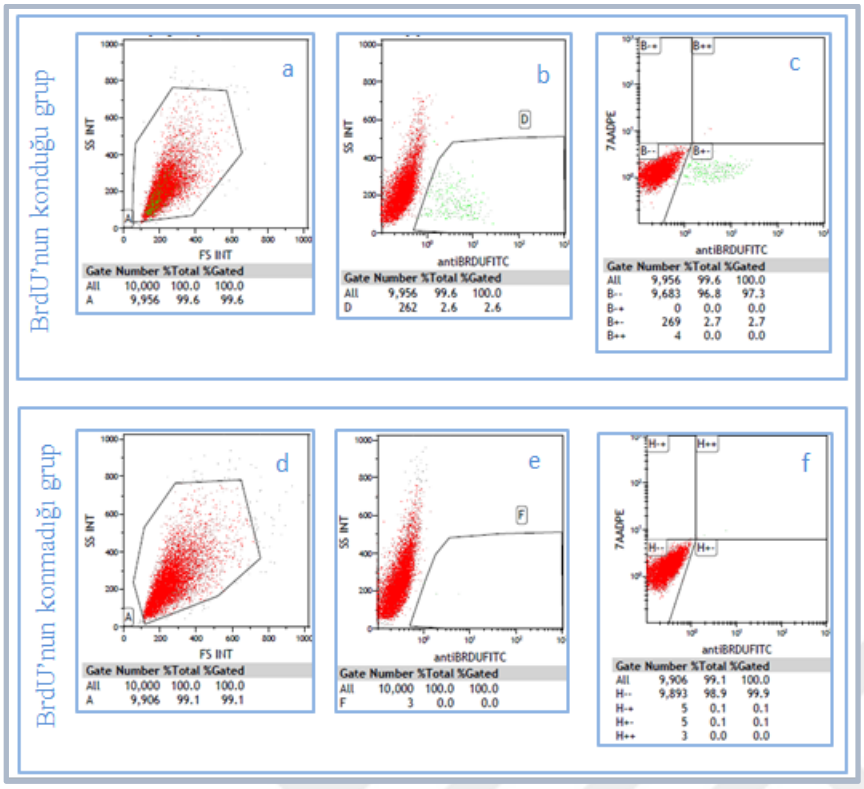
Şekil 4.182. İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan MKH'ların çoğalma testi akım sitometri sonuçları



Şekil 4.183. İL-4, İL-10 ve İL-13 ile prime PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan MKH'ların çoğalma testi akım sitometri sonuçları



Şekil 4.184. TNF-α ile prime PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan MKH'ların çoğalma testi akım sitometri sonuçları

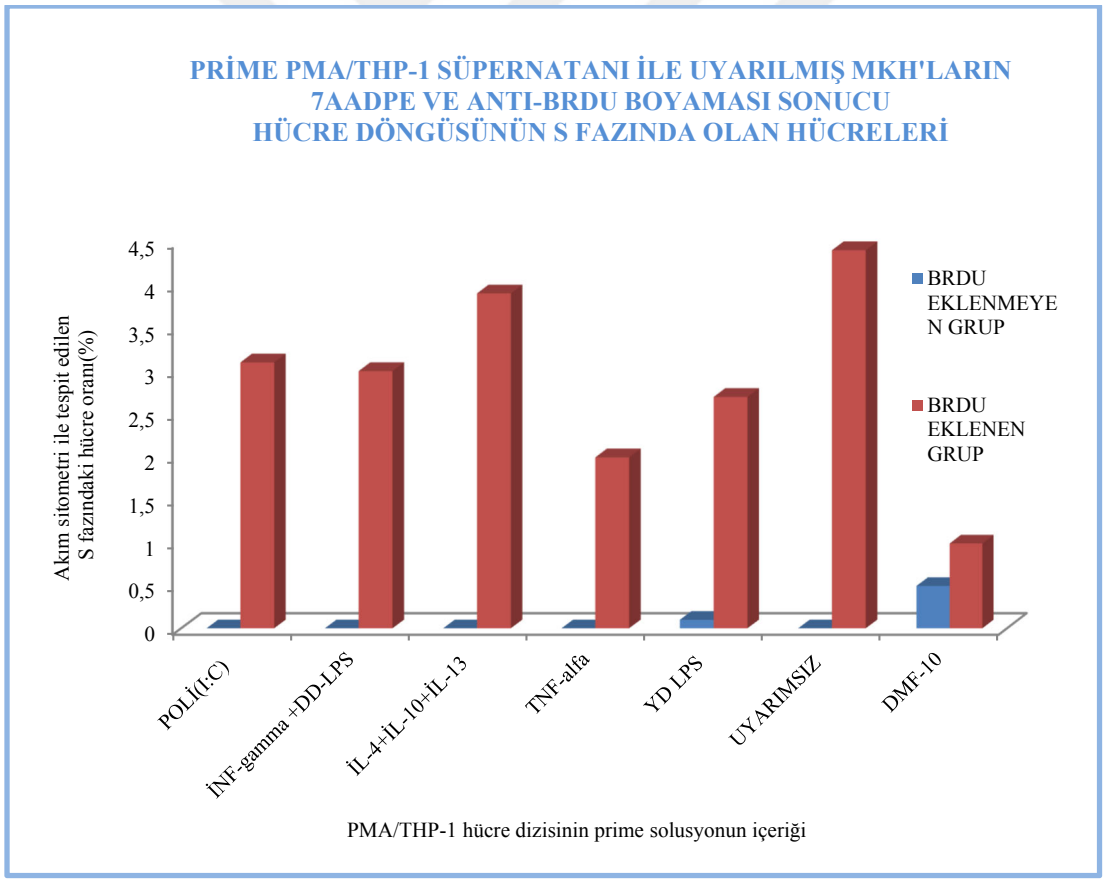


Şekil 4.185. Yüksek doz LPS ile prime PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan MKH'ların çoğalma testi akım sitometri sonuçları

BrdU ve akım sitometri ile çoğalmasının test edilmesi metoduna uygun olarak pasaj 5'deki MKH'lar Çizelge 3.8'de listelenen uyaranlarla prime edilmiş PMA/THP-1'lerin prime solüsyonu uzaklaştırıldıktan sonra 24 saat süresince toplanan süpernatanı ile uyarıldı ve son grup MKH kültürüne ise sadece DMF-10 eklendikten sonra kültürün 2. gününde birinci gruba BrdU eklenerek diğer grup kontrol olarak kabul edilip BrdU eklenmeden inkübasyona bırakılıp her iki grupta anti-BrdU ve 7/ADD ile boyanıp ardından hücreler akım sitometride okutulduktan sonra analiz edildiğinde Çizelge 4.62 ve Şekil 4.186'de özetlendiği gibi sadece DMF-10 eklenen MKH'lar BrdU eklenen deney grubunda anti-BrdU ile boyanan S fazındaki hücre oranı %1 iken, prime solüsyonları ile uyarılan PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan MKH'larda çoğalma değişik oranlarda görülmekle birlikte, en çok çoğalma DMF-10 eklenen PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılan MKH'ların BrdU eklenen deney grubunda görülmüş olup, anti-BrdU ile boyanan S fazındaki hücre oranı %4,4 olduğu bulunmuştur.

Çizelge 4.62. Prime PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılmış MKH'ların 7AAD ve anti-BrdU boyaması sonucu hücre döngüsünün S fazında olan hücrelerin akım sitometri ile tespit edilen oranı tablo halinde verilmiştir

	7AAD VE ANTİ-BRDU BOYAMASINDA HÜCRE DÖNGÜSÜNÜN S FAZINDA OLANLAR	
MKH'LARI PRİME ETMEK İÇİN PMA/THP-1 SÜPERNATANIN ALINDIĞI GRUP	BRDU EKLENMEYEN GRUP	BRDU EKLENEN GRUP
POLİ(I:C)	0	3,1
İFN-γ +DD-LPS	0	3
İL-4+İL-10+İL-13	0	3,9
TNF-α	0	2
YD LPS	0,1	2,7
UYARIMSIZ	0	4,4
DMF-10	0,5	1



Şekil 4.186. Prime PMA/THP-1 süpernatanı ile uyarılmış MKH'ların 7AAD ve anti-BrdU boyaması sonucu hücre döngüsünün S fazında olan hücrelerin akım sitometri ile tespit edilen oranı bar figürü şeklinde verilmiştir.

4.12. MKH'ların PMA/THP-1'lerin Fagositoz Kapasitesi Üzerine Etkileri

MKH'ların PMA/THP-1'lerin fagositoz kapasitesi üzerine etkilerinin incelenmesi amacı ile prime MKH'ların süpernatanları ile PMA/THP-1'ler inkübe edildi ve inkübasyonun sonunda süpernatan uzaklaştırılarak ABRh(+) sağlıklı gönüllü vericinin ısı ile inaktive serumu ile opsonize edilen Alexa Fluor® 488 ile konjuge E. Koli (Escherichia Coli (K-12 strain)) BioPartikülleri (Thermofisher, E13231) makrofaj/bioparticule oranı 1/30 olarak ayarlanarak DMF-10 içerisinde hücrelerin üzerine eklendi. 1 saatlik inkübasyon sonucunda PMA/THP-1'lerin fagositoz kapasitesi akım sitometri ile analiz edildi. Şekil 187'de akım sitometri analiz sonuçlarının histogram görüntüsü verilmiştir. Akım sitometri analizi sonucu histogram görüntülerinde;

a) FSS ve SS'da gate alınan hücrelere,

b) Birinci kuyucuktaki İFN-γ düşük doz LPS ile prime MKH süpernatanı ile aktive edilen, fagositoz deneyi 37°C gerçekleştirilen ve tripan mavisi solüsyonu eklenilen uyarımsız PMA/THP-1 hücrelerine,

c) İkinci kuyucuktaki yüksek doz LPS ile prime MKH süpernatanı ile aktive edilen, fagositoz deneyi 37°C gerçekleştirilen ve tripan mavisi solüsyonu eklenen uyarımsız PMA/THP-1 hücrelerine,

d) Üçüncü kuyucuktaki uyarımsız MKH süpernatanı ile aktive edilen, fagositoz deneyi 37°C gerçekleştirilen ve tripan mavisi solüsyonu eklenen uyarımsız PMA/THP-1 hücrelerine,

e) Dördüncü kuyucukta pozitif kontrol olarak planlanan fagositoz deneyi 37°C gerçekleştirilen ve tripan mavisi solüsyonu eklenen uyarımsız PMA/THP-1 hücrelerine,

f) Beşinci kuyucukta pozitif kontrol olarak planlanan fagositoz deneyi 37°C gerçekleştirilen ve tripan mavisi solüsyonu eklenmeyen uyarımsız PMA/THP-1 hücrelerine,

g) Altıncı kuyucukta negatif kontrol olarak planlanan fagositoz deneyi buz üstünde gerçekleştirilen ve tripan mavisi solüsyonu eklen uyarımsız PMA/THP-1 hücrelerine,

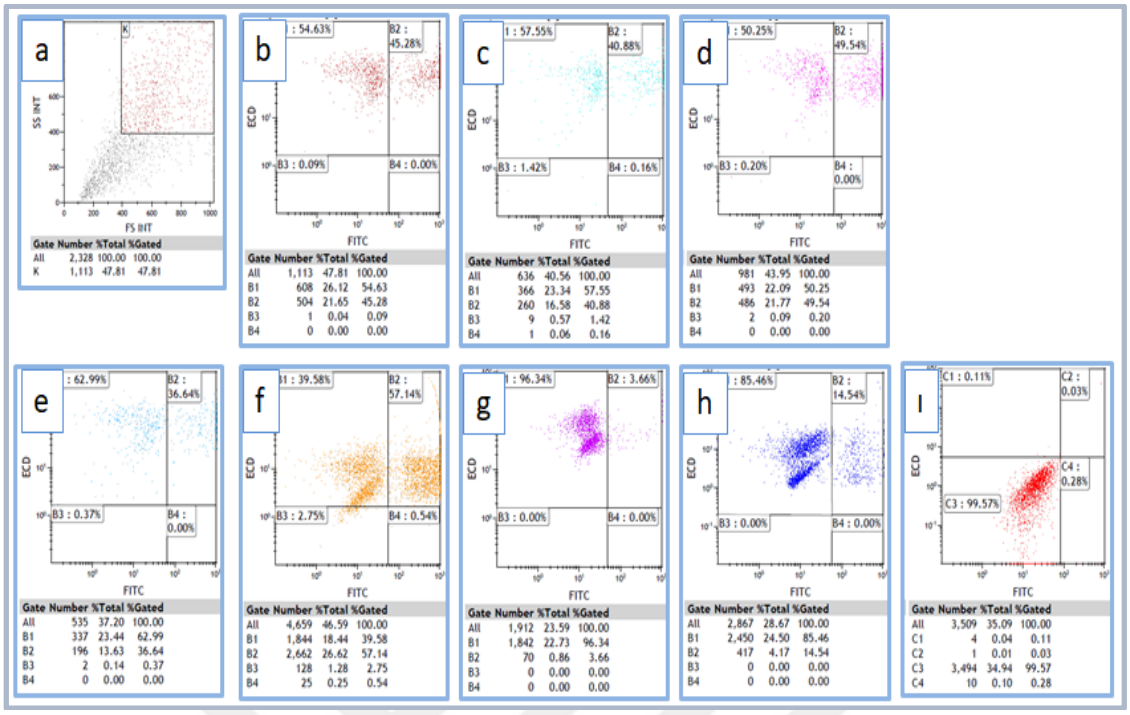
h) Yedinci kuyucukta negatif kontrol olarak planlanan fagositoz deneyi buz üstünde gerçekleştirilen ve tripan mavisi solüsyonu eklenmeyen uyarımsız PMA/THP-1 hücrelerine,

ı) Sekizinci kuyucukta E. Koli biopartikülleri ve tripan mavisi solüsyonu eklenmeyen uyarımsız PMA/THP-1 hücrelerine aittir.

Çizelge 4.63'de akım sitometri analiz sonucunun tablosu ve Şekil 4. 188'de de bar grafiği verilmiştir.

Akım sitometri analiz sonuçları incelendiğinde negatif kontrolün birincisi olan hücre yüzeyine yapışan AF-488 konjuge E Koli biopartiküllerinin tripan mavisi solüsyonu ile soldurduğu örnekte AF-488 pozitif hücre oranı %3,66 olarak bulunmuş ve bu oran arka plan olarak kabul edilmiştir. Negatif kontrolün ikincisi olan 7. örnekte tripan mavisi solüsyonu eklenmemiş olup, hücre yüzeyine yapışan AF-488 konjuge E Koli biopartiküllerinin oranı %10,88 olarak bulunmuştur. Pozitif kontrolün birinci olarak planlanan 4. Örnekte hücre yüzeyine yapışan AF-488 konjuge E Koli biopartiküllerinin tripan mavisi solüsyonu ile soldurulmuş olup fagositoz gerçekleşen AF-488 pozitif hücre oranı %36,64 oranında bulunmuştur. Pozitif kontrolün ikincisi olarak planlanan ikinci örnekte tripan mavisi solüsyonu eklenmemiş olup hücre yüzeyine yapışan AF-488 konjuge E Koli biopartiküllerinin oranı %21,04 olarak bulunmuştur.

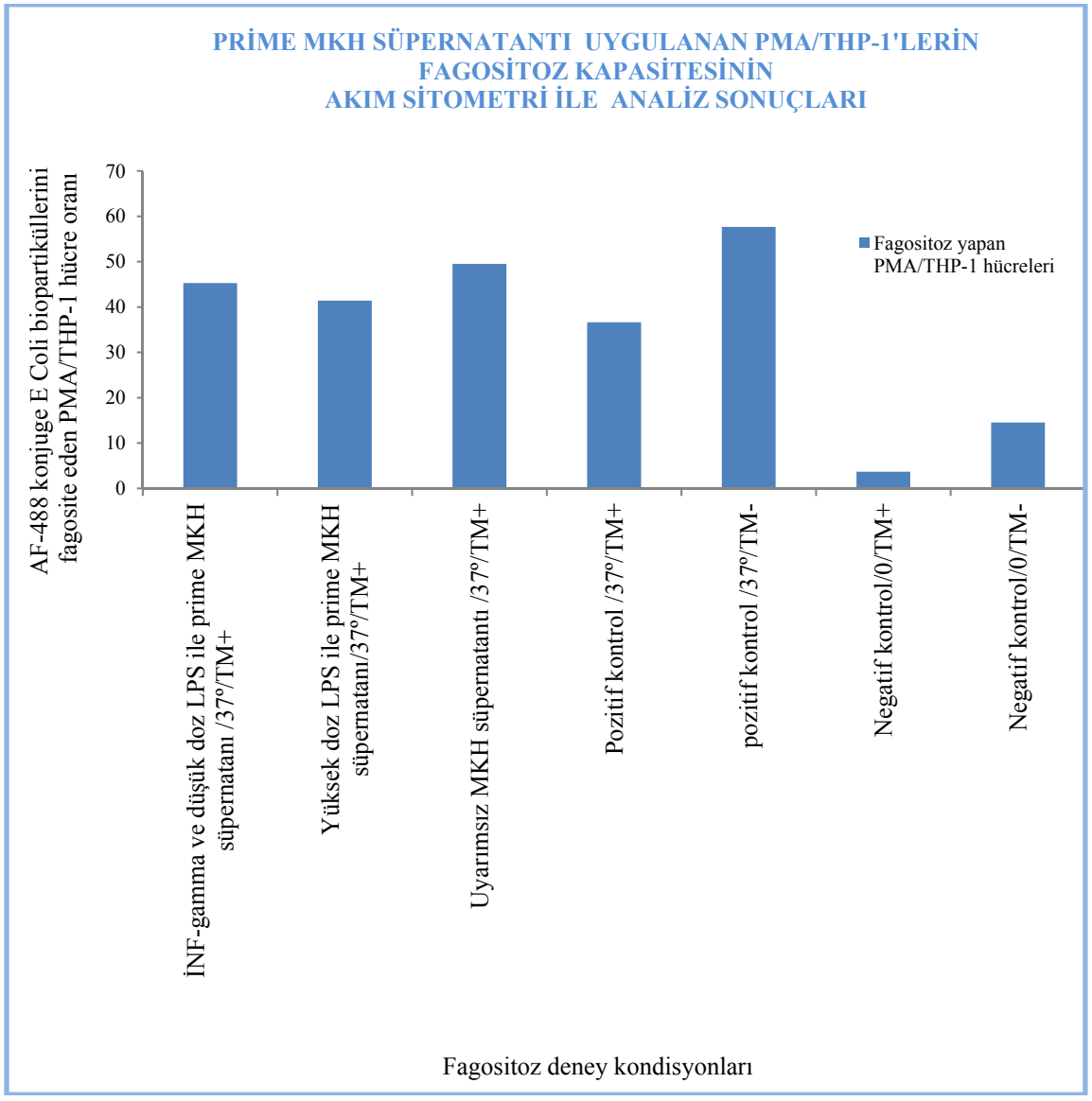
PMA/THP-1'lere uyarımsız MKH süpernatanı uygulandığı 3. Örnekte AF-488 konjuge E. Koli biopartiküllerini fagositoz yapan hücre oranı %49,54 ile deney grupları içinde en yüksek oranda bulunmuş olup, İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH süpernatanı uygulanan grupta %45,28 ve en düşük olarak %41,4 ile yüksek doz LPS ile prime MKH süpernatanı uygulanan grupta bulunmuştur.



Şekil 4.187. Prime MKH'ların süpernatanı ile aktive edilen PMA/THP-1'lerin AF-488 konjuge E Koli biopartiküllerini fagositoz kapasitesinin akım sitometri ile analizinin histogram görüntüsü

Çizelge 4.63. Prime MKH'ların süpernatanı ile aktive edilen PMA/THP-1'lerin AF-488 konjuge E Koli biopartiküllerini fagositoz kapasitesinin akım sitometri ile analizi sonucunun tablosu

	UYARILAN HÜCRE	UYARAN	İNKÜBASYON SICAKLIĞI	TRİPAN MAVİSİ	AF 488 içeren hücrelerin oranı
1.ÖRNEK	PMA/THP-1	İFN-γ ve düşük doz LPS ile prime MKH süpernatanı	37°C	eklendi	45,28
2.ÖRNEK	PMA/THP-1	yüksek doz LPS ile prime MKH süpernatanı	37°C	eklendi	41,4
3. ÖRNEK	PMA/THP-1	uyarımsız MKH süpernatanı	37°C	eklendi	49,54
4. ÖRNEK	PMA/THP-1	yok (pozitif kontrol)	37°C	eklendi	36,64
5. ÖRNEK	PMA/THP-1	Yok (pozitif kontrol)	37°C	yok	57,68
6. ÖRNEK	PMA/THP-1	Yok (negatif kontrol)	buz üstünde	eklendi	3,66
7. ÖRNEK	PMA/THP-1	Yok (negatif kontrol)	buz üstünde	yok	14,54



Şekil 4.188. Prime MKH'ların süpernatanı ile aktive edilen PMA/THP-1'lerin E Koli biopartiküllerini fagositoz kapasitesinin akım sitometri ile analizi sonucunun bar grafiği

5. TARTIŞMA

Bu çalışmanın hastalık mikro çevresini taklit eden kültür ortamında insan BM-MKH'lar ve PMA kullanarak makrofajlara dönüştürülen akut monositik lösemi olan bir çocuğun periferik kanından elde edilen monosit benzeri hücre dizi olan THP-1'lerin incelenmesiyle elde edilen çıktıların, MKH'ların çeşitli mikro çevrelerde karakterizasyonu, makrofajlar üzerine olan immün düzenleyici etkileri ile M1/M2 plastisitesi üzerine etkisinin, makrofajların çeşitli mikro çevrelerde karakterizasyonu ve mikro çevre ile makrofajların MKH üzerine etkisinin detaylı olarak karakterize edilmesi, MKH ve makrofaj yüzey işaretleri, immün molekül salgısı, hücre çoğalması ve fonksiyonu açısından fenotip değişimlerini detaylı olarak ilk defa inceleyecek bu kapsamlı çalışma, bu alanda bilgi birikimine, dolayısıyla da tedavisinde BM-MKH'ların kullanıldığı hastalıklarda BM-MKH'ların immün modülatör özelliklerini artırarak en uygun tedavi koşulların sağlanabilmesine ve kişiye özel tedavi geliştirilmesine katkıda bulunacağından dolayı translasyonel tıp alanında özel bir önem taşımaktadır.

MKH'lar yangı ortamında zedelenen doku ve organın hücrelerine dönüşerek, büyüme faktörler salgılayarak zedelenen doku ve organın kendisine ait hücreleri aktive ederek çoğalmasını sağlayarak, fibroblastları aktive ederek destek dokunun oluşumunu sağlayarak ve aktive olan immün hücreleri baskılayarak doku ve organ zedelenmesinin tedavisine katkı sağlamaktadır. Yangıda aktif olarak rol oynayan immün sistem hücrelerinin başında monosit/makrofajlar gelmektedir. Çeşitli yangısal hastalıklarda, Hemofagositik Sendromda, özellikle KİT/HSCT sonrasında gelişen komplikasyonların (GVHD) patogenezinde makrofajların aşırı aktivasyonun rol oynadığı gösterilmiştir. İnsan BM-MKH'ların immünmodülatör etkilerinin ve plastisite değişimlerine uğramış makrofajlarla etkileşimlerinin incelenmesi, bu alanda bilgi birikimine, dolayısıyla da çeşitli yangısal hastalıklarda, hemofagositik sendromda, KİT/HSCT sonrasında gelişen komplikasyonların (GVHD) tedavisinde MKH'lar ile optimal tedavi koşulların sağlanabilmesine ve kişiye özel tedavi geliştirilmesine katkıda bulunacaktır.

MKH alanındaki in-vivo ve in-vitro araştırmalar akademik ve sınaî alanındaki araştırmacıların odaklandıkları, immün sistemle ilgili hastalıkların tedavisinde ve rejeneratif

tıp alanında hastalıklar için tedavi amaçlı kullanımları geliştirdikleri alanların başında gelmektedir.

Bu alanda bilimsel yayınlar ve klinik denemeler artmakla birlikte MKH'ların çeşitli hastalık mikro çevrelerinde karakterizasyonu, immünomodülatör etkileri ve makrofajlarla etkileşimlerine yönelik insan çalışmaları çok kısıtlıdır.

TÜBİTAK tarafından desteklenen 115S563 numaralı projemizde yapılan çalışmalarda, 5 sağlıklı vericiden alınan BM-MKH'ların ISCT kriterlerine uygunluğu morfolojik olarak inverted mikroskop ile incelendi. İmmün fenotiplendirme ile bağ dokusu (stromal) yüzey işaretleri (pozitif: CD105, CD90, CD73, CD44 VE CD29) ve hematopoietik işaretler (negatif: CD45, CD34 ve CD14) açısından analiz edildi. Osteojenik (kemik dokusu) farklılaşmaları ARS boyası ile boyanarak, adipojenik (yağ dokusuna) farklılaşmaları ORO boyasıyla ile boyanarak ve farklılaşmanın 492 nm dalga boyunda okutulan kolorimetrik sonuçları analiz edilerek, bulgular bölümünde sunulmuştur.

Resim 4.1'de gösterildiği gibi inverted mikroskopta plastik yüzeye yapıştıkları ve iğsi-poligonal morfoloji gösterdikleri gözlemlenen MKH'ların, Şekil 4.1'de, Şekil 4.3'de gösterildiği gibi CD105APC %95,4, CD90FITC %100, CD73PE %100, CD44PE/CY-7 %100 ve CD29APC %100 olarak bağ dokusu belirteçlerinin pozitif olduğu ve Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'de gösterildiği gibi CD45FITC %2, CD34PE %0,4 ve CD14 FITC %0,7 olarak hematopoietik belirteçler negatif olduğu, ISCT'nın 2006 yılında belirlediği MKH tanımlama kriterlerine uygun olduğu gösterilmiştir. Bu saflıktaki MKH deneylerimiz için yeterli görüldüğüne karar verildi.

100 nM PMA içeren RPMI %10 ile makrofajlara dönüştürülen akut monositik lösemi olan bir çocuğun periferik kanından elde edilen monosit benzeri hücre dizi olan THP-1'leri makrofaj kaynağı olarak çalışmamızda kullanıldı. Resim 4.14 ve 4.15'de görüldüğü gibi PMA/THP-1'lerin 1. günün sonunda başlayan ve 4. günde daha da belirginleşen makrofajlara farklılaşmasını gösteren hücrelerin plastik yüzeye yapışması ve vakuoller oluşturarak pseudopotların/yalancı ayakların oluşmaya başlaması gerçekleşti. Tek başına prime edilmemiş PMA/THP-1'lerin monosit yüzey belirteci olan CD14 %99 oranında eksprese ettiği gösterildi. Tripan mavisi almama testi ile canlılıkları %90 ve üzeri olan

PMA/THP-1 hücreler direkt ve transvel ko-kültürleri için uygun bulunarak çalışmalara devam edildi.

PMA/THP-1 ve MKH'ların hematopoietik ve bağ dokusu belirteçleri açısından karşılaştırılması ve ko-kültürlerde immün fenotipik belirteçlerle hücrelerin ayrımının yapılması amacıyla bağ dokusu belirteci olarak CD105, CD90, CD73, CD44 ve CD29 ve hematopoietik belirteç olarak CD34, CD14, CD45, CD31 kullanıldı. Bağ dokusu belirteçleri PMA/THP-1 ve MKH hücrelerinin her ikisinde de pozitif ve hematopoietik belirteçlerden CD34 her iki grupta da negatif bulunmuştur. Hematopoietik belirteçlerden CD14, CD45 ve CD31'in sadece PMA/THP-1 grubunda pozitif olarak bulunduğu için bunların ko-kültür deneylerinde iki hücre grubunun ayrımında kullanılabileceğine karar verildi.

Genel bilgiler kısmında da detaylı değinildiği gibi MKH'lar in-vitro yangı başlatıcı yanıtları düzenler. In- vitro ve invivo deney ortamlarında MKH'ların ya direkt temas yoluyla ya da parakrin immüno-modülatör çözünür faktörlerin salgılanması bağışıklık efektör hücreleri ile etkileştiği gösterilmiştir (Auletta, Deans ve Bartholomew, 2012). Bizim çalışmamızda da yukarda belirtilen amaçlar doğrultusunda Çizelge 3.8'de listelendiği gibi poli(I:C), rhİFN-γ (40 U/mL)+düşük doz LPS (10 ng/mL), rhİL-4 (10ng/mL)+rhİL-10 (100 ng/mL)+rhİL-13 (10 ng/mL), rhTNF-α (10 ng/mL) ve yüksek doz LPS (1μg/mL) ile 5 adet farklı kombinasyon ve konsantrasyonlarda prime molekülü kültür medyumu içerisinde hazırlanarak çeşitli hastalıkların sitokin mikro çevresi modellenmeye çalışıldı.

5.1. Poli (I:C)

Literatürde viral yangı ortamında viral yangı ortamında MKH ve makrofajların arasındaki etkileşimin MKH ve makrofaj plastisitesine etkisi üzerine yapılan çalışmaların yetersiz olması ve yaptığımız çalışmalarda bu gruptaki verilerin anlamlı olması nedeniyle tartışmada poli(I:C) prime grupların tartışılmasına yer verilmiştir. Poli(I:C)'nin viral bulaş ile ilişkili bir PAMP olan dsRNA sentetik analoğu olduğudan ve genellikle kültür ortamında viral bulaşları taklit etmek amacıyla kullanıldığından bahsedilmişti. Genel bilgiler kısımda detaylı bahsedilen literatürdeki MKH'ların tek başına 1-72 saat boyunca 1-50 μg/ml arasında dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin yüzey molekül üretimi üzerine etkisi Ek-3'de, genel bilgiler kısımda detaylı bahsedilen literatürdeki makrofajların tek

başına 12-24 saat boyunca 100 ng/ml-5 μg/ml arasında dozlarda poli(I:C) ve çeşitli dozlarda virüslerle ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin yüzey molekül üretimi üzerine etkisi Ek-10'da özetlenmiştir.

Poli(I:C) ile prime edilen MKH'ların fare yara modelinde ve kültür ortamında makrofajlarla karşılıklı etkileşmesinin MKH ve makrofaj yüzey molekül üretimi üzerine etkisi Çizelge 5.1' de özetlenmiştir. Ko-kültür sonrası ve fare yara modelinde yapılan çalışmalar doğrultusunda poli(I:C) ile prime edilen MKH'ların yangı bölgesine göç ettikleri, CCR2+ makrofajların yangı alanına göçünü sağladıkları, göç eden makrofajların MKH'ların yüzeyindeki HA bağlandığı ve Arg+ M2 fenotipinde makrofajlara dönüştüğü belirtilmektedir. CD yüzey belirteçleri açısından ko-kültür sonrası literatürde bir veri bulunmadığı için yapılan çalışmamızın bu konuda literatüre ışık tutacağını düşünmekteyiz.

Çizelge 5. 1. Poli(I:C) ile prime edilen MKH'ların fare yara modelinde ve kültür ortamında makrofajlarla karşılıklı etkileşmesinin MKH ve makrofaj yüzey molekül ile makrofajlardaki arginaz üretimi üzerine etkisi

Molekül	Kültür Tipi Ve Süresi	Mkh Kaynağı Ve Uyarımı	Makrofaj Kaynağı Ve Uyarımı	Ko-Kültüre Eklenen Uyaran	Makrofajlar Tarafından Eğitilmiş Mkh	Mkh'lar Tarafından Eğitilmiş Makrofajlar (Mem)	Kaynak
Arginaz	fare yara modeli	fare AT 1 saat 10 μg/ml poli(I:C)	Fare yara bölgesindeki makrofajlar	deride yara bakteri/yangı		farelerde yara bölgesindeki makrofajların Arg+olduğu	(Johnson ve diğerleri, 2017)
Kemotaksis	Süpernatant 4saat	fare AT 1 saat 10 μg/ml poli(I:C)	ip thioglikollate enjeksiyonunda 72 saat sonra toplanan intreperitoneal makrofajlar	Fare AT-MKH 1 saat 10 μg/ml poli(I:C) prime edildikten sonra toplanan kültür medyumu	kemoatraktan salınımının arttığı	kemotaksisini artırdığı	(Johnson ve diğerleri, 2017)
CCR2 CD192	fare yara modeli	fare AT 1 saat 10 μg/ml poli(I:C)	Fare yara bölgesindeki	deride yara bakteri/yangı	kemoatraktan salınımının arttığı	farelerde yara bölgesindeki makrofajların CCR2+ olduğu	(Johnson ve diğerleri, 2017)
HA	direkt 1 saat	İnsan BM 24 saat 20 μg/ml poli(I:C)	insan PBMC THP-1 U937		MKH'ların yüzeyindeki HA ekspresyonun artması	MKH'ya yapışmanın artması	(Kota ve diğerleri, 2014)

Metod kısmında belirtildiği gibi yüzey belirteçlerinin akım sitometri ile analizi için 4 türlü deney kurgusu yapıldı.

Birinci grupta, MKH ve PMA/THP-1 hücreleri aynı anda tek başına 5 ayrı kombinasyonda prime edildi. Kontrol grubu olarak prime edilmemiş hücreler kullanıldı. Ancak kontrol grubunda problem olduğu için analizler diğer grupların uyarımsız ko-kültür grubu dataları kullanılarak yapıldı.

İkinci grupta, farklı bir günde transvel ko-kültürü PMA/THP-1 ve MKH'ların aynı anda 5 farklı kondisyonda prime edilerek yapıldı. Kontrol grubu olarak uyarımsız ko-kültür grubu kullanıldı.

Üçüncü grupta, farklı bir günde transvel ko-kültürü 5 farklı kondisyonda prime PMA/THP-1 ve uyarımsız MKH'lar ile yapıldı. Kontrol grubu olarak uyarımsız ko-kültür grubu kullanıldı.

Dördüncü grupta, farklı bir günde transvel ko-kültürü uyarımsız PMA/THP-1 ve 5 farklı kondisyonda prime MKH'lar ile yapıldı. Kontrol grubu olarak uyarımsız ko-kültür grubu kullanıldı.

MKH ve PMA/THP-1 için tüm analizler tek başına uyarımsız grup ve tek başına prime grubu uyarımsız ko-kültür grubu ve prime ko-kültür grubu aralarında karşılaştırarak yapıldı.

Çizelge 5.2'de çalışmamızdaki uyarımsız ve poli(I:C) ile prime tek başına ve ko-kültür kontrol gruplarında MKH yüzey belirteçlerinin akım sitometri ile analiz sonuçlarının literatürdeki analiz bulgusuyla karşılaştırılması verilmektedir. Pozitif olanlar sarı boyalı olarak işaretlenmiştir. Veriler bulgular kısmında detaylı paylaşılmıştır.

Çizelge 5.2'deki verileri karşılaştırmalı inceleyecek olursak;

TLR4; Literatürde MKH'ların tek başına uyarımsız kültürlerde TLR4 pozitif olduğu belirtilirken, bizim çalışmamızda negatif olduğu bulundu. Literatürde MKH'lar poli(I:C) ile prime edildiğinde TLR4 ekspresyonuna ait veriye rastlanmadı. Bizim çalışmamızda

MKH'ların tek başına poli(I:C) ile prime edildiğinde TLR4 ekspresyonu gözlemlenmedi. Bu MKH'larda TLR3 üzerinden gelen sinyallerin TLR4 ekspresyonunu etkilemediğini düşündürmektedir. Literatürde MKH'ların makrofajlarla uyarımsız ko-kültür sonucunda TLR4 ekspresyonu ile ilgili veriye rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda uyarımsız ko-kültür kontrol grubunun her ikisinde MKH'larda TLR4 ekspresyonu negatif olarak bulunurken MKH ve PMA/THP-1'in poli(I:C) ile prime edildiği ko-kütür grubunda TLR4 eksprese eden hücre yüzdesi %38,1 olarak bulundu. Ancak sadece MKH'nın veya sadece PMA/THP-1'in poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültür grubunda MKH'larda TLR4 ekspresyonu gözlemlenmedi. Bu ilk defa MKH'larda TLR3 üzerinden gelen sinyallerin TLR4 ekspresyonu için yeterli olmadığını TLR3 üzerinden prime edilen makrofajlardan salgılanan faktörlere ihtiyaç duyduğunu yani viral ve bakteriyel karışık yangılarda MKH'ların bakteriyel yangılara verdiği cevabın artması için makrofajlara ihtiyaç duyduğunu göstermektedir.

İL-18R; Literatürde MKH'ların tek başına uyarımsız kültürlerde İL-18R ekspresyonu ile ilgili veriye rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda ise %27,4 oranında pozitif bulundu. Literatürde MKH'ların tek başına poli(I:C) ile prime edildiği kültürlerde İL-18R ekspresyonu ile ilgili veriye rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda MKH'ların tek başına poli(I:C) ile prime edilmesinin İL-18R ekspresyonunu artırdığı (%42,2) bulundu.

Literatürde MKH'ların makrofajlarla uyarımsız ko-kültürlerinde İL-18R ekspresyonu ile ilgili veriye rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda ise %33,2 ve %23,6 oranında tek başına uyarımsız kültürlerle yaklaşık aynı oranda pozitif bulundu. Literatürde MKH'ların makrofajlarla poli(I:C) ile prime ko-kültürlerinde İL-18R ekspresyonu ile ilgili veriye rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda en fazla hem MKH'nın hem de PMA/THP-1'in poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültür grubunda olmak üzere (%86,8) hem sadece PMA/THP-1'in poli(I:C) ile prime edildiği (% 56,8) hem de MKH'nın poli(I:C) ile prime edildiği (%54,3) ko-kültürlerde İL-18R ekspresyonun arttığı bulunmuştur.

Makrofajlardan salgılanan İL-18'in özellikle MAS'ın patogenezinde rol oynadığı ifade edilmektedir. Bu veri ilk defa MKH'ların İL-18R eksprese ettiği, TLR3 üzerinden gelen sinyallerin İL-18R ekspresyonunu artırdığı ve ortamda TLR3 üzerinden prime edilmiş makrofajlardan salgılanan faktörlerin bulunmasıyla İL-18R eksprese eden hücrelerin

yüzdesinin daha da arttığı özetle viral yangılarda MKH'ların hem viral hem de makrofajlar tarafından uyarılarak, İL-18 aracılı tehlike sinyaline daha duyarlı hale geldiği göstermektedir.

HLA-G; Literatürde MKH'ların tek başına uyarımsız kültürlerde HLA-G ekspresyonun pozitif olduğu ve MKH'ların tek başına poli(I:C) ile prime edildiğinde HLA-G eksprese eden hücrelerin yüzdesinin arttığı belirtilirken. (Giuliani ve diğerleri, 2014) bizim çalışmamızda ise hem tek başına prime öncesi hem de tek başına prime sonrası negatif bulunmuştur. Giuliani ve diğerleri (2014)'nin yaptığı çalışmada hem prime dozunun (25 μg/ml) hem de prime süresinin (48 saat) daha fazla olması bunun bir nedenin olabilir.

Literatürde MKH'ların makrofajlarla uyarımsız ko-kültürlerinde ve poli(I:C) prime ko-kültürlerinde HLA-G ekspresyonuna ait veriye rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda ise MKH'ların makrofajlarla uyarımsız ko-kültürlerinde MKH'larda HLA-G ekspresyonu negatif olarak bulunurken hem MHK ve hamda PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültürlerde HLA-G (%39,5) eksprese eden hücreler gösterildi.

Bu veri ilk defa MKH'ların viral yangıyı algıladıktan sonra makrofajlardan da salgılanan faktörlerin etkisiyle daha immün baskılayıcı bir fenotipe dönüştüğünü göstermektedir.

CD80; hem literatürdeki insan çalışmalarında (Liotta ve diğerleri, 2008; E. Lombardo ve diğerleri, 2009; L. Zhang ve diğerleri, 2015) hem de bizim yaptığımız çalışmalarda MKH'ların tek başına uyarımsız ve poli(I:C) prime kültürlerinde CD80 eksprese etmedikleri bulundu.

Literatürde hem uyarımsız hem de poli(I:C) ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde CD80 ekspresyonuna ait veriye rastlanmadı. Bizim yaptığımız çalışmada hem uyarımsız hem de poli(I:C) ile prime ko-kültürlerde MKH'lar CD80 eksprese etmiyordu.

Bu veri ilk defa viral yangılarda ne virüslerin ne de makrofajlardan salgılanan faktörlerin MKH'lar da ko-stimulatör bir molekül olan CD80 ekspresyonuna neden olmadığını ve MKH'ları immün sitemi uyarıcı bir fenotipte dönüştürmediğini göstermektedir.

CD86; literatürdeki insan ve hayvan çalışmalarında (X. Chen ve diğerleri, 2014; Liotta ve diğerleri, 2008; E. Lombardo ve diğerleri, 2009; L. Zhang ve diğerleri, 2015) MKH'ların tek başına uyarımsız ve poli(I:C) prime kültürlerinde CD86 eksprese etmedikleri belirtilmektedir. Biz bu yönden analizini yapamadık.

Literatürde hem uyarımsız hem de poli(I:C) ile prime MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde CD86 ekspresyonuna ait veriye rastlanmadı. Bizim yaptığımız çalışmada uyarımsız MKH ve PMA/THP-1 ko-kültürlerinde MKH'lar CD86 negatifken hem MKH hem de PMA/THP-1'in poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültürlerde CD86 (%32,8) eksprese eden MKH'lar bulundu. Sadece MKH'nın poli(I:C) ile prime edildiği veya sadece PMA/THP-1'in poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültürlerde MKH'larda CD86'nın negatif olduğu bulundu. Bu veri ilk defa viral yangıda MKH'nın TLR3 üzerinden tek başına uyarılmasının bir ko-stimulatör molekül olan CD86 ekspresyonu için yeterli olmadığını MKH'nın TLR3 üzerinden uyarılması ile birlikte TLR3 üzerinden uyarılan makrofajlardan salgılanan faktörlere ihtiyaç duyduğunu göstermektedir.

CD192/CCR2'nin bir kemokin reseptörü olduğundan ve MKH'ların da CD192/CCR2 eksprese ettiği, buna bağlanan kemoatraktanlara yanıt olarak göç ettiği (Ringe ve diğerleri, 2007; Vanden Berg-Foels, 2014) TNF-α uyarımının CCR2 ekspresyonunu arttırdığından (Ponte ve diğerleri, 2007) bahsedilmişti. Ancak literatürde MKH'ların tek başına poli(I:C) ile prime edildiğinde CD192/CCR2 ekspresyonu ile ilgili bir veriye rastlanmadı. Bizim yaptığımız çalışmalarda MKH'ların tek başına uyarımsız ve poli(I:C) prime kültürlerinde CD192/CCR2 eksprese etmedikleri bulundu.

Literatürde MKH ve makrofajların uyarımsız ve poli(I:C) ile prime ko-kültürlerinde MKH'larda CD192/CCR2 ekspresyonu ile ilgili bir veriye rastlanmadı. Bizim yaptığımız çalışmada MKH ve PMA/THP-1'lerin uyarımsız ko-kültürlerinde MKH'larda CD192/CCR2 ekspresyonu negatifken hem MKH ve hem de PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime ko-kültürlerinde MKH'ların %44,3'nün CD192/CCR2 eksprese ettikleri bulundu. Sadece MKH'ların poli(I:C) ile prime edildiği ve sadece PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültürlerde MKH'ların CD192/CCR2 eksprese etmedikleri görüldü. Bu veri ilk defa viral yangılarda MKH'lara sadece TLR3 üzerinden gelen sinyallerin CD192/CCR2 üzerinden yangı bölgesine göçünde yeterli olmadığı, ancak viral yangılarda

MKH'lara TLR3 üzerinden gelen sinyaller TLR3 üzerinden uyarılan makrofajlardan salgılanan faktörlerin etkisinin kombinasyonu ile MKH'ların CD192/CCR2 aracılığı ile viral yangı bölgesine göç edebileceğini göstermektedir.

CD197(CCR7); CD197(CCR7)'nin bir kemokin reseptörü olduğu, CD34+MKH öncü hücrelerinin (CD34+ mesenchymal progenitor cells) CD197(CCR7) eksprese ettiği ve MKH'ların CCR7(CD197)/CCL19 ve CCR7(CD197)/CCL21(SLC) aksıyla hasarlanmış dokuya göç ettiklerinden (Hocking, 2015; Lüttichau ve diğerleri, 2005; Vanden Berg-Foels, 2014) bahsedilmişti. Ancak literatürde viral yangıda MKH'larda CD197(CCR7) ekspresyonuna bağlı göç ettiklerine dair veriye rastlanmamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada MKH'lar tek başına hem uyarımsız hem de poli(I:C) ile prime grupta CD197(CCR7) negatif bulundu.

Literatürde MKH ve PMA/THP-1'lerin uyarımsız ve poli(I:C) ile prime ko-kültürlerinde MKH'larda CD197(CCR7) ekspresyonu ile ilgili bir veriye rastlanmadı. Bizim yaptığımız çalışmada MKH ve PMA/THP-1'lerin uyarımsız ko-kültürlerinde MKH'larda CD197(CCR7) ekspresyonu negatifken hem MKH ve hem de PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime ko-kültürlerinde MKH'ların %45,9'nun CD197(CCR7) eksprese ettiği bulundu. Sadece MKH'ların poli(I:C) ile prime edildiği ve sadece PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültürlerde MKH'larda CD197(CCR7) ekspresyonu negatif olarak bulundu.

Bu veri ilk defa viral yangılarda TLR3 üzerinden uyarılan MKH'ların TLR3 üzerinden uyarılan makrofajlardan salgılanan faktörlerin kombine etkisiyle CD197(CCR7) aksı üzerinden yangı bölgesine göç edebileceğini göstermektedir.

CD206'nın mannoz reseptör ailesinin bir üyesi olduğundan (East ve diğerleri, 2002) ve araştırmacılar tarafından M2a ve M2c makrofajlar için bir yüzey belirteci olarak kullanıldığından (Arango Duque ve diğerleri, 2014; Benoit ve diğerleri, 2008; David ve diğerleri, 2011; Mantovani ve diğerleri, 2013; Martinez ve diğerleri, 2014; Rőszer, 2015) bahsedilmişti. Ancak literatürde MKH'ların CD206 eksprese ettiklerine dair bir veriye rastlanmamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada MKH'lar tek başına uyarımsız ve poli(I:C) ile prime ko-kültürlerinde CD206 negatif olarak bulundu.

Literatürde MKH ve PMA/THP-1'lerin uyarımsız ve poli(I:C) ile prime ko-kültürlerinde MKH'lar da CD206 ekspresyonu ile ilgili bir veriye rastlanmadı. Bizim yaptığımız çalışmada MKH ve PMA/THP-1'lerin uyarımsız ko-kültürlerinde MKH'lar CD206 eksprese etmezken hem MKH ve hem de PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime ko-kültürlerinde MKH'ların %30,3'nün CD206 eksprese ettikleri bulundu. Sadece MKH'ların poli(I:C) ile prime edildiği ve sadece PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültürlerde MKH'lar CD206 eksprese etmedikleri gösterildi.

Bu veri ilk defa viral yangıda TLR3 ile uyarılan MKH'ların TLR3 ile uyarılan makrofajlardan da salgılanan faktörlerin etkisi ile CD206 eksprese ettikleri ve CD206'nın MEM belirteci olarak kullanıldığı gibi viral yangıda makrofajlardan etkilenen ve immün baskılayıcı özellik kazandığı düşünülen MKH'lar içinde bir yüzey belirteci olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Bunların dışında literatürde MKH'larda bir yapışıklık molekülü olan HA'in az miktarda eksprese edildiği ve MKH'ların makrofajlarla yapılan poli(I:C) prime ko-kültürlerinde bunun miktarının ve makrofajların MKH'lara yapışmasının arttığından bahsedilmişti (Kota ve diğerleri, 2014).

Özetle bu çalışmada 1 μg/ml poli(I:C) ile hem MKH ve hem de PMA/THP-1'ler prime edilerek 48 saat transvel ortamında ko-kültüre edilerek viral yangının kronik dönemdeki (uzun süreli /düşük dozda) mikro çevre taklit edilip, MKH ve makrofajların yüzey molekül ekspresyonundaki dolayısıyla hücrelerin immün fenotipindeki değişikliklerin incelenmeyesi sonucunda ilk defa viral yangıda TLR3 üzerinden uyarılan MKH'ların TLR3 ile uyarılan makrofajlardan salgılanan faktörlerin etkisi ile;

- TLR4 + (%38) hale gelerek bakteriyel yangılara duyarlılığını artırabileceğini,
- İL-18R + (%87) hücrelerin yüzdesinin artarak ortamdaki İL-18 daha duyarlı hale gelebileceği,
- CD80 -, CD86 + (%33), HLA-G + (%40) ve CD206+ (%30) hale gelerek immün baskılayıcı bir fenotipe dönüşebileceği,

- CD192/CCR2 + (%44) ve CD197/CCR7 + (%46) hale gelerek viral yangı bölgesine göç edebileceği,

- HA ekspresyonunu artırarak oradaki makrafajlara daha kuvvetli bağlanabileceği ve onları yangı baskılayıcı MEM tipine dönüştürebileceği söylenebilir.

Çizelge 5 2. Çalışmamızdaki uyarımsız ve poli(I:C) ile prime tek başına ve ko-kültür kontrol gruplarında MKH yüzey belirteçlerinin akım sitometri ile analiz sonuçlarının literatürdeki analiz bulgusuyla karşılaştırılması (ND: not detected)

MKH											
	TRANSVEL KO-KÜLTÜR ÖNCESİ				TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI						
ANALİZ EDİLEN YÜZEY BELİRTECİ	LİTERATÜRDE TEK BAŞINA KÜLTÜR KONTROL GRUBU (UYARIMSIZ)	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA TEK BAŞINA KÜLTÜR KONTROL GRUBU (UYARIMSIZ)	LİTERATÜRDE TEK BAŞINA POLİ(I:C) PRİME	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA TEK BAŞINA POLİ(I:C) PRİME	LİTERATÜRDE İKİ GRUPTA UYARIMSIZ KO-KÜLTÜR KONTROL GRUBU	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA İKİ GRUPTA UYARIMSIZ KO-KÜLTÜR KONTROL GRUBU-1	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA İKİ GRUPTA UYARIMSIZ KO-KÜLTÜR KONTROL GRUBU-2	LİTERATÜRDE İKİ GRUPTA POLİ(I:C) PRİME	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA İKİ GRUPTA POLİ(I:C) PRİME	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA SADECE PMA/THP-1 POLİ(I:C) PRİME	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA SADECE MKH POLİ(I:C) PRİME
TLR4	pozitif	negatif	**Düşük ND**	negatif	**Düşük ND**	negatif	negatif	**Düşük ND**	38,1	negatif	negatif
İL-18R (CDw 218a)	**Düşük ND**	27,4	**Düşük ND**	42,2		33,2	23,6	**Düşük ND**	86,8	56,8	54,3
HLA G	pozitif	negatif	pozitif/artış	negatif	**Düşük ND**	negatif	**analiz edilmedi**	**Düşük ND**	39,5	negatif	(-)
CD80	negatif	negatif	negatif	negatif	**Düşük ND**	negatif	negatif	**Düşük ND**	negatif	negatif	negatif
CD86	negatif	(-)	negatif	(-)	**Düşük ND**	negatif	negatif	**Düşük ND**	32,8	negatif	negatif
CD197	pozitif	negatif	**Düşük ND**	negatif	**Düşük ND**	negatif	negatif	**Düşük ND**	45,9	negatif	negatif
CD192	negatif çok hafif pozitif	negatif	**Düşük ND**	negatif	**Düşük ND**	negatif	negatif	**Düşük ND**	44,3	negatif	negatif
CD206	**Düşük ND**	negatif	**Düşük ND**	negatif	**Düşük ND**	negatif	negatif	**Düşük ND**	30,3	negatif	negatif
TLR3	**pozitif**	analiz edilmedi	**pozitif/artış**	analiz edilmedi	**Düşük ND**	analiz edilmedi	analiz edilmedi	**Düşük ND**	analiz edilmedi	analiz edilmedi	analiz edilmedi
MHC-I	**pozitif**	analiz edilmedi	**pozitif/artış**	analiz edilmedi	**Düşük ND**	analiz edilmedi	analiz edilmedi	**Düşük ND**	analiz edilmedi	analiz edilmedi	analiz edilmedi
MHC-II	**pozitif**	analiz edilmedi	**pozitif/artış**	analiz edilmedi	**Düşük ND**	analiz edilmedi	analiz edilmedi	**Düşük ND**	analiz edilmedi	analiz edilmedi	analiz edilmedi
HA	**pozitif**	analiz edilmedi	**pozitif/artış**	analiz edilmedi	**pozitif**	analiz edilmedi	analiz edilmedi	**pozitif/artış**	analiz edilmedi	analiz edilmedi	analiz edilmedi

Çizelge 5.3'de çalışmamızdaki uyarımsız ve poli(I:C) ile prime tek başına ve ko-kültür kontrol gruplarında PMA/THP-1 yüzey belirteçlerinin akım sitometri ile analiz sonuçlarının literatürdeki analiz bulgusuyla karşılaştırılması listelenmiştir. Literatürde makrofajların MKH'larla ko-kültür edildiği uyarımsız ve poli(I:C) prime gruplara da yüzey belirteçlerinin analizine dair veriye rastlanmamıştır. Bu nedenle çizelgede belirtilmemiştir. Çizelge 5.3'deki verileri inceleyecek olursak;

TLR4; Literatürde makrofajların TLR4 eksprese edildiği belirtilirken (van der Mark ve diğerleri, 2017), makrofajların tek başına poli(I:C) ile prime edildiğinde TLR4 ekspresyonundaki değişikliklere dair veri bulunmamaktadır. Bizim yaptığımız çalışmada makrofajların tek başına hem uyarımsız hem de poli(I:C) ile prime kültürlerinde TLR4 eksprese etmedikleri bulundu.

Literatürde makrofajların MKH'larla ko-kültür edildiği uyarımsız ve poli(I:C) prime gruplara da TLR4 analizine dair veriye rastlanmamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada MKH ve PMA/THP-1'lerin uyarımsız ko-kültürlerinde makrofajların TLR4 eksprese etmedikleri her iki hücrenin de poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültürlerde makrofajların %27,3'nin TLR4 pozitif olduğu, sadece PMA/THP-1'in ve sadece MKH'nın poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültürlerde ise makrofajların TLR4 eksprese etmediği bulundu.

Bu veri ile ilk defa makrofajların viral yangılarda TLR3 üzerinden uyarılmasının ve TLR3 üzerinden uyarılan MKH'lardan salgılanan faktörlerin kombine etkisi ile LPS/TLR4 aksı üzerinden bakteriyel yangıya karşı daha duyarlı hale getirebileceği gösterilmektedir.

İL-18R; Literatürde insan PBMC'den elde edilen makrofajlardan uyarımsız halde İL-18 salgılamadığı (N. Gerdes ve diğerleri, 2002), THP-1'lerin uyarımsız halde İL-18 salgıladığı, HIV (Lorey, Huang ve Sharma, 2004) ve EBV (Pugliese, Vidotto, Beltramo ve Torre, 2005) ile infekte edildiğinde İL-18 salgılanmasının azaldığı, THP-1 hücrelerinin (Shida ve diğerleri, 2001), vitamin D3/THP-1'lerin (1,25 dihydroxyvitamin D3) (Barksby, Nile, Jaedicke, Taylor ve Preshaw, 2009) ve insan PBMC'den elde edilen makrofajların bazal seviyede İL-18R eksprese ettiğine (N. Gerdes ve diğerleri, 2002) dair veri bulunmakla birlikte poli(I:C) prime edildikten sonra İL-18R ekspresyonun değişikliği ile ilgili veri bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda PMA/THP-1'ler tek başına uyarımsız halde iken

%52,8'nin İL-18R pozitif olduğu, tek başına poli(I:C) ile prime edildiğinde İL-18R eksprese eden hücrelerin yüzdesinin arttığı (%84) bulundu.

Literatürde MKH ve PMA/THP-1'lerin her ikisinin de poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültürlerde İL-18R ekspresyonun analizi ile ilgili veriye rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda PMA/THP-1'lerde İL-18R ekspresyonu MKH ve PMA/THP-1'in uyarımsız ko-kültürlerinin bir tanesinde makrofajların %18,2 İL-18R pozitif olduğu, diğer iki uyarımsız ko-kültürlerde ise İL-18 eksprese etmedikleri bulundu. MKH ve PMA/THP-1 her ikisinin de poli(I:C) prime edildiği ko-kültürde (%30) ve sadece PMA/THP-1'in poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültürlerde (%27) PMA/THP-1'lerin İL-18R eksprese ettiği bulundu. Sadece MKH'nın poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültürlerde PMA/THP-1'lerde İL-18R ekspresyonu negatifti.

Bu veri ile ilk defa makrofajların viral yangıda azalan İL-18 (daha önce gösterilmiş) yanıt olarak hem uyarımsız MKH'lardan hem de TLR3 üzerinden uyarılan MKH'lardan salgılanan faktörlerin kombine etkisi ile İL-18R eksprese eden makrofajların yüzdesinin artırabileceğini ancak bu artışın makrofajların yangı ortamında tek başına bulundukları kadar (%84) yüksek olmayabileceğini göstermektedir. Sonuç olarak viral yangıda makrofajlar ortamda azalan İL-18 ile aktive olmaları MKH'lar tarafından baskılanabileceği düşünülebilir.

HLA-G; Literatürde THP-1 hücrelerinin uyarımsız tek başına iken bazal seviyede HLA-G mRNA ürettiği (Y. Yang, Chu, Geraghty ve Hunt, 1996) ve hamilelikte anne ile bebek arasındaki bölümde bulunan makrofajlarda üretildiği (A. Shakhawat ve diğerleri, 2010) belirtilmektedir ancak makrofajların tek başına poli(I:C) ile prime edildiği veya virüsle enfekte edildiği zaman HLA-G ekspresyonundaki değişikliğin analiz edildiği bir veriye rastlanmamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada PMA/THP-1'ler tek başına uyarımsız ve poli(I:C) prime kültürlerde aynı oranda bazal seviyede HLA-G eksprese ettiği bulunmuştur.

Literatürde MKH ve PMA/THP-1'lerin her ikisinin de poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültürlerde HLA-G ekspresyonun analizi ile ilgili veriye rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda MKH ve PMA/THP-1'lerin uyarımsız olduğu ko-kültürlerde HLA-G ekspresyonun negatif olduğu, MKH ve PMA/THP-1'in her ikisinde poli(I:C) ile prime

edildiği ko-kültürlerde PMA/THP-1'lerin %39,4'nun HLA-G eksprese ettiği, sadece PMA/THP-1'in poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültürlerde eksprese edilmediği bulundu. Sadece MKH'nın poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültür grubunda HLA-G analiz edilemedi.

Bu veri ilk defa makrofajların viral yangıda TLR3 üzerinden uyarılmış MKH'lardan salgılanan faktörler aracılığı ile HLA-G aracılı yangı baskılayıcı bir fenotipe dönüşebileceğini göstermektedir.

CD80; Literatürde THP-1 hücrelerinde bazal seviyeye CD80 mRNA yakın üretildiği, KSHV ile enfekte THP-1'lerde CD80 mRNA üretiminin çok az miktarda arttığı (West ve diğerleri, 2008), hayvanlarda yapılan çalışmalarda BM-DM'ların tek başına ve poli(I:C) ile prime grubunda kontrolle aynı yüzdede CD80 eksprese eden makrofaj oluştuğu, prime edilmesinin CD80 eksprese eden makrofaj yüzdesinde değişikliğe neden olmadığı (Celhar ve diğerleri, 2016) belirtilmektedir. Bizim yaptığımız çalışmada PMA/THP-1'ler tek başına uyarımsız ve poli(I:C) prime kültürlerde PMA/THP-1'ler CD80 negatif olarak bulundu.

Literatürde MKH ve PMA/THP-1'lerin her ikisinin de poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültürlerde CD80 ekspresyonun analizi ile ilgili veriye rastlanmamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada MKH ve PMA/THP-1'lerin her ikisinin de uyarımsız olduğu ko-kültürlerde PMA/THP-1'lerin CD80 eksprese ettiği (1. kontrol grubu:%13,9, 2. kontrol grubu: %22,7, 3. kontrol grubu:%31,2), sadece PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültür grubunda daha fazla olmak üzere (%50), MKH ve PMA/THP-1'lerin her ikisinin de poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültür gurubunda (%22,1) CD80 eksprese eden hücrelerin yüzdesinin arttığı bulundu. Sadece MKH'nın poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültürlerde CD80 eksprese eden hücrelerin yüzdesinin kontrol grubuna göre (uyarımsız ko-kültür) azaldığı (%27,44) bulundu.

Bu veriler ilk defa makrofajlardan etkilenen MKH'ların salgıladıkları faktörler aracılığı ile makrofajların aktifleşerek bir ko-stimülatör molekül olan CD80 ekspresyonuna neden olabileceği, viral yangıda MKH'lardan salgılanan faktörlerin etkisiyle CD80 eksprese eden makrofajların yüzdesinin dahada artabileceği, sadece makrofajların aktive olduğu durumda CD80 eksprese eden aktive olmuş makrofajların yüzdesinin dahada artabileceğini göstermektedir. Bu nedenle viral yangı ortamında MKH'ların TLR3 üzerinden uyarılması

sonucu salgılanan faktörlerin CD80 eksprese eden makrofaj yüzdesini dolayısı ile diğer immün hücreleri aktive eden makrofaj yüzdesinin azalabileceği söylenebilir.

CD86; Literatürde PMA/THP-1'lerin uyarımsız tek başına iken bazal seviyeye yakın yüzdede hücrelerin CD86 eksprese ettiği, fare BM-DM'ların tek başına uyarımsız kültürde makrofajların CD86 eksprese ettiği ve poli(I:C) ile prime edildiğinde CD86 eksprese eden hücrelerin yüzdesinin arttığı bildirilmektedir (Celhar ve diğerleri, 2016). Biz PMA/THP-1'leri tek başına uyarımsız ve poli(I:C) prime kültürde analiz edemedik.

Literatürde MKH ve PMA/THP-1'lerin her ikisinin de poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültürlerde CD86 ekspresyonun analizi ile ilgili veriye rastlanmamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada MKH ve PMA/THP-1'lerin her ikisinin de uyarımsız olduğu ko-kültürlerde PMA/THP-1'lerin CD86 eksprese ettiği (1. kontrol grubu: %46,5, 2. kontrol grubu: %53,7, 3. kontrol grubu: %43,4), MKH ve PMA/THP-1'lerin her ikisinin de poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültürlerde CD86 eksprese eden hücrelerin yüzdesinin daha da arttığı (%75,4), sadece PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültür grubunda CD86 eksprese eden hücrelerin yüzdesinin daha da azaldığı (%32,9) ve sadece MKH'nın poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültür grubunda CD86 eksprese eden hücrelerin yüzdesinin kontrol ko-kültür grubuyla yaklaşık aynı düzeyde olduğu bulundu.

Bu veriler ilk defa makrofajlardan etkilenen MKH'ların salgıladıkları faktörler aracılığı ile bir ko-stimülatör molekül olan CD86 eksprese eden makrofajların yüzdesinin artırabileceğini, viral yangıda karşılıklı etkileşimin etkisinin daha belirgin ortaya çıkabileceğini ve CD86 eksprese eden aktive olmuş makrofajların yüzdesinin daha da artabileceğini, viral yangıda makrofajların aktivasyon için her iki hücre grubunun da aktive olması gerektiğini uyarılmayan MKH'ların CD86 eksprese eden makrofaj oluşumuna yeterince neden olamıyacağını göstermektedir.

CD192/CCR2/MCP-1 reseptörü; Literatürde THP-1'lerin CD192/CCR2 eksprese ettikleri PMA ile 48 saat ile uyarıldıklarında doza bağlı olarak 50 nM (en az eksprese ediliyor) > 10 nM > 1 nM) CD192/CCR2 ekspresyonunu azalttıkları (Phillips ve diğerleri, 2005), sağlıklı donörden alınan periferik kan monositlerinin de CD14+/CCR2+ oldukları (Vestergaard ve diğerleri, 2004) ve C. Shi ve diğerleri (2011b) tarafından insanda CCR2 yüksek

makrofajların klasik makrofajlar olarak adlandırıldığından bahsedilmişti. Literatürde viral yangıda CCR2/CD192 eksprese eden makrofajlara etkisi ile ilgili veriye rastlanmamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada hem tek başına uyarımsız koşulda hem de poli(I:C) ile prime koşulda PMA/THP-1'lerin %99'unun CCR2/CD192 eksprese ettiği bulundu.

Literatürde MKH ve PMA/THP-1'lerin her ikisinin de poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültürlerde CCR2/CD192 eksprese eden makrofajlarla ile ilgili veriye rastlanmamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada CCR2/CD192 ekspresyonun MKH ve PMA/THP-1'lerin her ikisinin de uyarımsız olduğu ko-kültürlerde (%18,5, %26,9,%44,3) tekli uyarımsız kültürlere (%98,8) göre daha az yüzdede PMA/THP-1'in CCR2/CD192 eksprese ettiği bulundu. Hem MKH hem de PMA/THP-1'in poli(I:C) ile prime edildiği (%39), sadece PMA/THP-1'in poli(I:C) ile prime edildiği (%40) grupta ko-kültürün kontrolüne göre CCR2/CD192 eksprese eden hücre yüzdesi artmakla birlikte tekli kültüre göre belirgin oranda azaldığı gösterildi. Sadece MKH'nın poli(I:C) ile prime edildiği (%38,9) ko-kültürlerde CCR2/CD192 eksprese eden hücre yüzdesi kontrolle aynı düzeyde iken tekli kültüre göre belirğin düzeyde azaldığı bulundu.

Bu veri ilk defa viral yangıda MKH'lardan salgılanan faktörlerin etkisi ile makrofajların CCR2(CD192)/CCL2 aksına bağlı yangı alanına göçünü azaltabileceğini göstermektedir.

CD197/CCR7; Literatürde THP-1 hücreleri PMA ile aktive edildiğinde CD197/CCR7 eksprese ettiği (Maess, Wittig, Cignarella ve Lorkowski, 2014), bir başka çalışmada ise CCR7/CD192'nin plastisite göstermemiş ve İL-4 ile M2 yönünde plastisite gösteren PMA/THP-1'lerde düşük düzeyde eksprese edilirken, İFN-γ ve LPS ile M1 yönünde plastisitesi sağlanan PMA/THP-1'lerde yüksek düzeyde eksprese edildiği (Littlefield ve diğerleri, 2015), insan PBMN'lerden elde edilen monositlerin CCR7 düşük düzeyde eksprese ettiği (Phillips ve diğerleri, 2005), İFN–γ ve LPS ile M1 yönünde plastisitesi sağlanan makrofajların CCR7/CD197 ekspresyonunun yüzeyde artırdığından bahsedilmişti (W. Xuan ve diğerleri, 2015). Literatürde laboratuvar ortamında poli(I:C) uyarımında ve viral yangıda makrofajlardaki CCR7/CD197 ekspresyonu değişimi ile ilgili veriye rastlanmamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada PMA/THP-1'ler tek başına uyarımsız ve poli(I:C) ile prime edildiği kültür ortamında CCR7/CD197 ekspres etmedikleri bulundu.

Literatürde MKH ve PMA/THP-1'lerin her ikisinin de poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültürlerde CCR7/CD197 ekspresyonun analizi ile ilgili veriye rastlanmamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada MKH ve PMA/THP-1'lerin uyarımsız olduğu ko-kültür grubunda PMA/THP-1'lerin CCR7/CD197 eksprese etmediği, hem MKH hem de PMA/THP-1'in poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültür grubunda makrofajların %12,2'de CCR7/CD197'nin eksprese edildiği, sadece PMA/THP-1'in ve sadece MKH'nin poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültür grubunda makrofajların CCR7/CD197 eksprese etmediği bulundu.

Bu veri ilk defa viral yangıda ise MKH'ların makrofajların CCR7/CD197 aksı üzerinden kemotaksisini çok hafif seviyede artırabileceğini göstermektedir.

CD206; Araştırmacılar tarafından M2a ve M2c makrofajlar için bir yüzey belirteci olarak kullanıldığından ve MKH'ların monositlerle yapılan direkt kültüründe MEM'lerde CD206 ekspresyonun arttığından bahsedilmişti (Arango Duque ve diğerleri, 2014; Benoit ve diğerleri, 2008; David ve diğerleri, 2011; Mantovani ve diğerleri, 2013; Martinez ve diğerleri, 2014; Rőszer, 2015; Q. Z. Zhang ve diğerleri, 2010). B. Liu ve diğerleri (2016) tarafından yapılan çalışmada poli(I:C) ile prime edilen fare BM-DM'lar da kontrol grubuyla aynı düzeyde bazal seviyede CD206 mRNA üretildiği belirtilmektedir. Bizim yaptığımız çalışmada PMA/THP-1'lerin tek başına ve poli(I:C) ile prime kültür koşullarında CD206 eksprese etmedikleri bulundu.

Literatürde MKH ve PMA/THP-1'lerin her ikisinin de poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültürlerde CD206 ekspresyonun analizi ile ilgili veriye rastlanmamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada hem MKH hem de PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültür grubunda CD206 eksprese eden hücrelerin yüzdesinin arttığı, ancak sadece PMA/THP-1 ve sadece MKH'nın poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültür gruplarında CD206'nın eksprese edilmediği bulundu. MEM'lerde literatürde CD206 pozitif bulunurken bizim çalışmamızda negatif bulunmasının nedeninin CD206 ekspresyonda etkili olan kültür koşullarındaki farklılıktan dolayı olabileceği düşünülmektedir.

Bu veriler ilk defa viral yangıda MEM'lerin CD206 pozitif olabileceğini ve bir yüzey belirteci olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

CD31/PECAM-1; Dolaşan monositlerin ve PMA/THP-1 hücre dizisinin CD31 eksprese ettiğinden bahsedilmişti (S. J. Kim ve diğerleri, 2009; Tedesco ve diğerleri, 2018; Woodfin ve diğerleri, 2007). Literatürde kültür ortamında poli(I:C) ile prime makrofajlarda veya virüsle enfekte makrofajlarda CD31 ekspresyonun değişimi ile ilgili veriye rastlanmamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada tek başına uyarımsız ve poli(I:C) prime PMA/THP-1'lerde CD31 ekspresyonun %99 üzerinde olduğu bulundu.

Literatürde MKH ve PMA/THP-1'lerin her ikisinin de poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültürlerde CD31 ekspresyonun analizi ile ilgili veriye rastlanmamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada sadece bir ko-kültür kontrol grubunda PMA/THP-1'lerin %73,6 CD31 eksprese ettiği diğer ko-kültür kontrol gruplarında ve poli(I:C) prime ko-kültür gruplarda PMA/THP-1'lerin %100 oranında CD31 eksprese ettiği gösterilmiştir.

Bu ilk defa viral yangıda virüslerin uyarımının veya TLR3 üzerinden uyarılan MKH'lardan salgılanan faktörlerin makrofajlarda eksprese edilen CD31 aracılığı ile hücre yapışmasını etkilemediğini göstermektedir.

CD14; Monositler ve makrofajlar için tanımlayıcı bir molekül olarak kullanılan CD14'ün LPS-LBP komplekslerini bağlama ve sinyal iletiminde de role oynadığından (Maggini ve diğerleri, 2010; HWL Ziegler-Heitbrock ve diğerleri, 1993), PMA/THP-1'lerin kültür ortamında çok yoğun olduklarında CD14 eksprese eden hücrelerin yüzdesinin arttığı (%37,9) ancak PMA/THP-1'lerin kültür ortamında yoğunluğu düşük olduğunda CD14 eksprese eden hücrelerin yüzdesinin azaldığı (%1,3) (P. B. Aldo ve diğerleri, 2013), insan MKH'lardan salgılanan faktörlerin GM-CSF içeren ortamda CD14 eksprese eden makrofajların yüzdesinin artırdığından (Abumaree ve diğerleri, 2013), fare peritonundan elde edilen yangısal peritoneal makrofajların fare BM-MKH'ların kültür süpernatanı ile kültüre edildikten sonra yüzeylerine CD14'ün eksprese eden makrofajların yüzdesinin azaldığından bahsedilmişti (Maggini ve diğerleri, 2010). Literatürde kültür ortamında poli(I:C) ile prime makrofajlarda veya virüsle enfekte makrofajlarda CD14 ekspresyonun değişimi ile ilgili veriye rastlanmamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada tek başına uyarımsız (%82,7) ve poli(I:C) prime PMA/THP-1'lerde (%83,8) CD14 eksprese eden hücrelerin yüzdesi yaklaşık aynı düzeyde olduğu bulundu.

Literatürde hem MKH hem de PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültür grubunda CD14 ekspresyon değişikliği ile ilgili bulguya rastlanmamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada hem MKH hem de PMA/THP-1'lerin uyarımsız olduğu üç farklı ko-kültür kontrol grubunda CD14 eksprese eden hücrelerin yüzdesi farklı bulundu (1. ko-kültür kontrol grubunda; %4,6, ikinci ko-kültür kontrol grubunda; %77,5 ve üçüncü ko-kültür kontrol grubunda %94,4). Bunun nedeni P. B. Aldo ve diğerleri (2013) de belirttiği gibi hücre yoğunluğundaki farklılıklar olabilir. CD14 eksprese eden hücrelerin yüzdesi hem MKH hem de PMA/THP-1 hücrelerinin poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültür grubunda %35,4, sadece PMA/THP-1'in poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültür grubunda %90,2 ve sadece MKH'nın poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültür grubunda %87,5 olarak bulundu. Yukarda değinildiği gibi bu hücre yoğunluğu arasındaki farklardan kaynaklanabileceği düşünüldü.

Viral yangının CD14 ekspresyonu üzerine etkisinin değerlendirilmesi için daha detaylı bir çalışma yapılması gerekmektedir.

CD45; CD45'in tüm lenfositlerde (Altin ve diğerleri, 1997) ve PMA/THP-1'lerde (Mittar ve diğerleri, 2011) eksprese edildiği ve Salemi ve diğerleri (2011) tarafından yapılan bir çalışmada HIV ile enfekte mikroglialarda CD45 bağlanan antikorların M2 plastisitesine neden olduğunun gösterildiğinden bahsedilmişti. Bizim yaptığımız çalışmada CD45 eksprese eden PMA/THP-1'lerin yüzdesi tek başlarına olduklarında hem uyarımsız hem de poli(I:C) prime kültür koşullarında %99'un üzerinde olduğu bulundu.

Literatürde hem MKH hem de PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültür grubunda CD45 ekspresyon değişikliği ile ilgili bulguya rastlanmamıştır. MKH ve PMA/THP-1'lerin uyarımsız olduğu ko-kültür kontrol gruplarında CD45 eksprese eden hücrelerin yüzdesi %79-%99 arasında değiştiği bulundu. Hem MKH hem de PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime edildiği, yalnız PMA/THP-1'in poli(I:C) ile prime edildiği ve MKH'nın poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültür gruplarında PMA/THP-1'lerin %94 üzerinde CD45 eksprese ettikleri bulundu.

Bu bulgu ilk defa viral yangı ortamında MKH'larla makrofajların karşılıklı etkileşiminin CD45 eksprese eden makrofaj yüzdesini etkilemeyebileceğini göstermektedir.

Yukarıda listelenen yüzey belirteçleri dışında CD64/ FcγRII (CD32) ve FcγRIII (CD16)'in makrofajlarda kontrol ve poli(I:C) prime grubunda yaklaşık aynı düzeyde eksprese edildiğinden, CD115'in ekspresyonunun poli(I:C) prime grubunda baskılandığından ve CD40'nin ekspresyonunun poli(I:C) prime grubunda arttığından ve MHC sınıf-II'nin ekspresyonunun poli(I:C) prime grubunda az miktarda arttığından (Celhar ve diğerleri, 2016), MHC sınıf-I poli(I:C) prime grubunda ekspresyonundaki değişliklere ait veriye rastlanmadığından Arg-1 mRNA üretiminin poli(I:C) prime grupta da bazal seviyede olduğundan (B. Liu ve diğerleri, 2016) bahsedilmişti. Biz çalışmamızda bu kriterler yönünden inceleme yapılmadı.

Özetle bu çalışmada 1 μg/ml poli(I:C) ile hem MKH ve hem de PMA/THP-1'ler prime edilerek 48 saat transvel ortamında ko-kültüre edilerek viral yangıdaki kronik dönemdeki (uzun süreli /düşük dozda) mikro çevre taklit edilip MKH ve makrofajların viral yangıda karşılıklı salgıladığı moleküllerle yüzey molekül ekspresyonundaki dolayısıyla hücrelerin immün fenotipindeki değişiklikler incelenmeye çalışılmış olup, viral yangıda MKH'lardan salgılanan faktörlerin etkisi ile makrofajların;

- viral yangıda tek başına bulunduğu durumla karşılaştırıldığında; İL-18R eksprese eden makrofajların yüzdesinin belirgin düzeyde azalacağı (% 30) dolayısı ile ortamdaki İL-18'e ile aktivasyonunda azalacağı,

- TLR4 (%27) eksprese ederek bakteriyel yangılar duyarlılığını artırabileceği,

- kontrole göre CD80 + olanların yüzdesinde hafifi bir artış olmakla birlikte sadece makrofakların prime olduğu ko-kültüre göre daha baskılanması nedeni ile diğer immün hücreleri aktive edecek sinyal üreten makrofajların yüzdesinin azalabileceği,

- CD86 + makrofajların yüzdesinin artabileceği (%75),

- HLA-G + (%39,4), CD206 + (%39) ve literatürde belirtildiği gibi arginaz + hale gelip, viral yangının kronik fazında immübaskılayıcı bir karakter kazanabileceği,

- CD192 (CCR2) + hücrelerin yüzdesi belirgin azalarak (%39) yangı alanına göçün azalabileceği söylenebilir.

Çizelge 5.3. Viral yangı ortamında tek başına TLR3 üzerinden uyarılan makrofajların ve viral yangı ortamında MKH'ların salgıladıkları faktörlerden etkilenen makrofajların yüzey molekül ekspresyonundaki değişikliklerin özeti (ND: not detected)

MAKROFAJ										
	TRANSVEL KO-KÜLTÜR ÖNCESİ				**TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI**					
ANALİZ EDİLEN YÜZEY BELİRTECİ	LİTERATÜRDE TEK BAŞINA KÜLTÜR KONTROL GRUBU (UYARIMSIZ)	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA TEK BAŞINA KÜLTÜR KONTROL GRUBU (UYARIMSIZ)	LİTERATÜRDE TEK BAŞINA POLİ(I:C) PRİME	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA TEK BAŞINA POLİ(I:C) PRİME	**BİZİM ÇALIŞMAMIZDA İKİ GRUPTA UYARIMSIZ KO-KÜLTÜR KONTROL GRUBU-1**	**BİZİM ÇALIŞMAMIZDA İKİ GRUPTA UYARIMSIZ KO-KÜLTÜR KONTROL GRUBU-2**	**BİZİM ÇALIŞMAMIZDA İKİ GRUPTA UYARIMSIZ KO-KÜLTÜR KONTROL GRUBU-3**	**BİZİM ÇALIŞMAMIZDA İKİ GRUPTA POLİ(I:C) PRİME**	**BİZİM ÇALIŞMAMIZDA SADECE PMA/THP-1 POLİ(I:C) PRİME**	**BİZİM ÇALIŞMAMIZDA SADECE MKH POLİ(I:C) PRİME**
TLR4	pozitif	4,5	**Düşük ND**	8,4	**9,4**	**0,5**	**0,6**	**27,3**	**0,7**	**9,7**
İL-18R (CDw218a)	pozitif bazal seviyede	52,8	**Düşük ND**	84	**18,2**	**0,3**	**7,1**	**29,9**	**26,6**	**5**
HLA G	pozitif bazal seviyede	11,2	**Düşük ND**	11	**8,6**	**3,2**	**(-)**	**39,4**	**5,7**	**(-)**
CD80	pozitif	0	pozitif kontrolle aynı	6,4	**13,9**	**22,7**	**31,2**	**22,1**	**50**	**27,4**
CD86	pozitif bazal seviyeye yakın	(-)	pozitif artış	(-)	**46,5**	**53,7**	**43,4**	**75,4**	**32,9**	**44,3**
CD197 CCR7	negatif/az	1	**Düşük ND**	0,7	1,3	3,4	3,6	**12,2**	**0,7**	**0,9**
CD192 CCR2		98,8	**Düşük ND**	100	**18,5**	**26,9**	**44,3**	**39**	**40**	**38,9**
CD206	negatif/ mRNA üretimi bazal seviyede	0,5	mRNA üretimi bazal seviyede	2	**8**	**1**	**5,4**	**39**	**1,8**	**7,1**
CD31 PECAM-1	pozitif	99,8	**Düşük ND**	99,8	**73,6**	**99,7**	**99,7**	**95,2**	**99**	**97,8**
CD14	pozitif	82,7	**Düşük ND**	83,8	**4,6**	**77,5**	**94,4**	**35,4**	**90,2**	**87,5**
CD45	pozitif	99,5	CD45 bağlanan antikorlar M2 polarizasyonuna neden oluyor	98,8	**79**	**98,3**	**99**	**93,9**	**99,9**	**99,2**

Çizelge 5. 4. (devam) Viral yangı ortamında tek başına TLR3 üzerinden uyarılan makrofajların ve viral yangı ortamında MKH'ların salgıladıkları faktörlerden etkilenen makrofajların yüzey molekül ekspresyonundaki değişikliklerin özeti (ND: not detected)

MAKROFAJ										
	TRANSVEL KO-KÜLTÜR ÖNCESİ				**TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI**					
ANALİZ EDİLEN YÜZEY BELİRTECİ	LİTERATÜRDE TEK BAŞINA KÜLTÜR KONTROL GRUBU (UYARISIZ)	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA TEK BAŞINA KÜLTÜR KONTROL GRUBU (UYARISIZ)	LİTERATÜRDE TEK BAŞINA POLİ(I:C) PRİME	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA TEK BAŞINA POLİ(I:C) PRİME	**BİZİM ÇALIŞMAMIZDA İKİ GRUPTA UYARIMSIZ KO-KÜLTÜR KONTROL GRUBU-1**	**BİZİM ÇALIŞMAMIZDA İKİ GRUPTA UYARIMSIZ KO-KÜLTÜR KONTROL GRUBU-2**	**BİZİM ÇALIŞMAMIZDA İKİ GRUPTA UYARIMSIZ KO-KÜLTÜR KONTROL GRUBU-3**	**BİZİM ÇALIŞMAMIZDA İKİ GRUPTA POLİ(I:C) PRİME**	**BİZİM ÇALIŞMAMIZDA SADECE PMA/THP-1 POLİ(I:C) PRİME**	**BİZİM ÇALIŞMAMIZDA SADECE MKH POLİ(I:C) PRİME**
CD64	pozitif	**analiz edilmedi**	pozitif kontrolle aynı	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**
CD16/CD32	pozitif	**analiz edilmedi**	pozitif kontrolle aynı	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**
CD115	pozitif	**analiz edilmedi**	pozitif baskılanma	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**
CD40	pozitif bazal seviyeye yakın	**analiz edilmedi**	pozitif artış	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**
TLR3	pozitif (mRNA üretiliyor)	**analiz edilmedi**	pozitif/artış (mRNA üretimi artıyor)	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**
MHC-I	pozitif	**analiz edilmedi**	**Düşük ND**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**
MHC-II	pozitif bazal seviyeye yakın	**analiz edilmedi**	pozitif/ az miktarda artış	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**
HA	az miktarda yapışma	**analiz edilmedi**	yapışmasında artış	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**
Arginaz	negatif	**analiz edilmedi**	bazal seviyede / pozitif	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**	**analiz edilmedi**

Ek-4 ve Ek-5'de çeşitli kaynaklardan elde edilen MKH'ların 1-6 saat arasında (kısa süreli) 1 μg/ml-20 μg/ml arasında çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin MKH'larda immün molekül üretimi üzerine etkisi ve Ek-6 ve Ek-7'de de çeşitli kaynaklardan elde edilen MKH'ların 18-72 saat (uzun süreli) 0,1-50 μg/ml arasında çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin MKH'larda immün molekül üretimi üzerine etkisi listelenmiştir.

Çizelge 5.5'de çeşitli kaynaklardan elde edilen MKH'ların poli(I:C) ile uzun ve kısa süreli çeşitli dozlarda prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisinin karşılaştırması verilmiştir. Tablo incelendiğinde MKH'ların 1-6 saat arasında kısa süreli poli(I:C) ile uyarımın da dozaja bağlı olarak yangısal bir cevaba neden olabileceği, 18-72 saat arasındaki uzun süreli prime edilmesinin ise yine dozaja bağlı olarak yangı söndürücü bir etkiye neden olabileceği düşündürmektedir.

Çizelge 5. 5. MKH'ların poli(I:C) ile uzun ve kısa süreli çeşitli dozlarda prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisinin karşılaştırması

MKH'ların poli(I:C) ile uzun ve kısa süreli çeşitli dozlarda prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisinin karşılaştırması														
1-6 SAAT (YANGISAL CEVAP ???)							18-72 SAAT (YANGI SÖNDÜRÜCÜ CEVAP ???)							
veri yok	değişiklik yok	üretiliyor	azalan	bazal seviye yakın hafif artış	artış	belirgin artış	veri yok	değişiklik yok	üretiliyor	azalan	artan ve azalan	bazal seviye veya hafif artış	artış	belirgin artış
İL-13	**TSG-6 (bazal seviye)**	**iNOS**	**TGF-β**	**İL-4**	p38-MAPK	DSS ile oluşan kolitin kliniğinde ve histopatolojisinde düzelme	klinik	İFN-γ (bazal seviyeye yakın)	İL-5	**İFN–α ve İFN–β**	**TGF-β**	**TNF-α (mRNA)**	İL-10	**İL-6**
İL-15	**MIF (salgılanıyor)**		VGEF	İL-10	**NF-κB**	**IDO (mRNA)**	p38-MAPK	HGF (bazal seviyeye yakın)	İL-4			CCL4 MIP-1β	**İL-1β**	**CXCL8 İL-8**
İL-17A	İL-1α (bazal seviye)			**İL-6**	IRF3	İFN-α ve İFN–β (insan burun)	NF-κB		İL-12			**CCL5 RANTES**	CCL1	**IDO**
	GM-CSF (bazal seviye)			İL-12 (mRNA)	İL-1β	**CXCL10 IP10**	IRF3		**CCL2 MCP-1**			**MIF**	CCL20 MIP3-α	CCL2 MCP-1 (insan AT)
				İFN-γ	**CXCL8 İL-8**	**CCL5 RANTES**	İL-13		İL-2			İL-1α	VGEF	CCL8 MCP2 (mRNA)
				İFN-β (insan BM)	**TNF-α**		İL-15		CXCL1 GRO-a				**PGE**	**CXCL10 IP10**
				CCL4 MIP-1β	CCL3 MIP-1α		İL-17A		CXCL4				İL-11	
				PGE2	CCL2 MCP-1		CCL3 MIP-1α						CCL8	
				CCL1	**İL-1ra**		İL-1ra						CCL20 (mRNA)	
							TSG-6							
							iNOS							

Ek-11 ve Ek-12'de çeşitli kaynaklardan elde edilen makrofajların poli(I:C) ile 1-8 saat arasında kısa süreli 1-20 μg/ml arasında çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisi ve Ek-13 ve Ek-14'de makrofajların poli(I:C) ile 12-48 saat arasında uzun süreli 0,1-50 μg/ml aralığında çeşitli dozlarda poli(I:C) ve KSHV ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisi listelenmiştir.

Çizelge 5.6'da makrofajların uzun ve kısa süreli TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisinin karşılaştırılması verilmektedir.

Çizelge 5. 6. Makrofajların uzun ve kısa süreli TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisinin karşılaştırılması

Makrofajların uzun ve kısa süreli TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisinin karşılaştırılması													
1-8 SAAT							12-48 SAAT						
veri yok	değişiklik yok	üretilmi yor	azalan	bazal seviye yakın hafif artış	artış	belirgin artış	veri yok	değişiklik yok	üretilmi yor	azalan	bazal seviye yakın hafif artış	artış	belirgin artış
MyD88	**İL-1β mRNA bazal seviyede**			**İL-6 mRNA**	p65	İL-12	TGF-β	İL-12p40 mRNA bazal seviyede	İL-4 (astrosit)		İL-10	IRF-1, -3, -5, -7, -9 mRNA	CCL3 MIP-1α mRNA ve salgılanma
İL-5				**TNF-α mRNA**	TBK1	**İFN–β**	CCL22 MDC	Arg-1 mRNA bazal seviyede	İL-12 (astrosit)		**MyD88 (KSHV prime)**	İL-1β	
İL-4				İL-12p40	IRF3		İL-15		İL-17A (astrosit)		**IRF1 (KSHV prime)**	İL-6	
İL-13					**İL-10 mRNA**				İFN-γ (astrosit)		İL-13	**CXCL8 İL-8**	
TGF-β					İL-6						**İL-6 mRNA (KSHV prime)**	TNF-α	
CCL22 MDC					**CXCL8 İL-8 mRNA**							IDO (astrosit)	
IDO					TNF-α							**İFN–β mRNA**	
İL-17A					**İL-15 (HSV prime)**							CCL4 MIP-1β mRNA ve salgılanma	
İFN-γ					**İFN-β mRNA**							**CXCL10 IP10**	
CCL3 MIP-1α					**CXCL10 IP10 mRNA**							**CCL2 MCP-1 mRNA**	
CCL4 MIP-1β					CCL2 MCP-1							iNOS mRNA	
Not: Poli(I:C) dışındaki uyaranlar ayrıca belirtilmiştir.													

Çizelge 5.7'de poli(I:C) ile prime edilen MKH'ların kültür ortamında fare kardiyomiyopati modelinde makrofajlarla karşılıklı etkileşmesinin MKH ve makrofaj immün molekül üretimi üzerine etkisi listelenmektedir.

Çizelge 5. 7. Poli(I:C) ile prime edilen MKH'ların kültür ortamında fare kardiyomiyopati modelinde makrofajlarla karşılıklı etkileşmesinin MKH ve makrofaj immün molekül üretimi üzerine etkisi.

Poli(I:C) ile prime edilen MKH'ların kültür ortamında fare kardiyomiyopati modelinde makrofajlarla karşılıklı etkileşmesinin MKH ve makrofaj immün molekül üretimi üzerine etkisi							
MOLEKÜL	KÜLTÜR TİPİ VE SÜRESİ	MKH KAYNAĞI VE UYARIMI	MAKROFAJ KAYNAĞI VE UYARIMI	KO-KÜLTÜRE EKLENEN UYARAN	MAKROFAJLAR TARAFINDAN EĞİTİLMİŞ MKH	MKH'LAR TARAFINDAN EĞİTİLMİŞ MAKROFAJLAR (MEM)	KAYNAK
TNF-α	Süpernatant 48 saat	İnsan BM 48 saat 1 mg/ml poli(I:C)	insan PBMC GM-CSF	İnsan BM-MKH'lar 48 saat 1µg/ml poli(I:C) ile uyarıldıktan sonra toplanan süpernatant	TNF-α salgılanmasının uyarımsız grupla aynı düzeyde olduğu		(Gray ve diğerleri, 2015)
TNF-α	direkt 1 saat	İnsan BM 18 saat 20 µg/ml poli(I:C)	fare splenositler 18 saat LPS		TNF-α salınımı kontrol ve prime MKH'larla ko-kültür edilen grupta da aynı düzeyde baskılanma		(Kota ve diğerleri, 2014)
TNF-α	fare kardiyomyopati modeli	domuz BM 24 saat 4 µg/ml poli(I:C)	TO2 (kardiyomyopatik sıçan) sıçan			kalp dokusunda TNF-α mRNA üretiminin uyarımsız MKH ile tedavi edilen kontrol grubunda ve prime MKH ile tedavi olan grupta aynı düzeyde baskılandığı	(Mastri ve diğerleri, 2012)
İL-1β	fare kardiyomyopati modeli	domuz BM 24 saat 4 µg/ml poli(I:C)	TO2 (kardiyomyopatik sıçan) sıçan			kalp dokusunda İL-1β mRNA üretiminin prime MKH ile tedavi olan grupta uyarımsız MKH ile tedavi edilen kontrol grubuna göre daha fazla baskılandığı	(Mastri ve diğerleri, 2012)
İL-10	fare kardiyomyopati modeli	domuz BM 24 saat 4 µg/ml poli(I:C)	TO2 (kardiyomyopatik sıçan) sıçan			kalp dokusunda İL-10 mRNA üretiminin prime MKH ile tedavi olan grupta uyarımsız MKH ile tedavi edilen kontrol grubuna göre daha fazla arttığı	(Mastri ve diğerleri, 2012)

Çizelge 5.8'de Literatürde ve bizim yaptığımız uyarımsız ve poli(I:C) ile prime MKH ve PMA/THP-1'lerin tek başına ve ko-kültürlerinin immün molekül üretim sonuçlarının karşılaştırılması yapılmaktadır. Literatürde hem MKH hem de PMA/THP-1 veya diğer makrofaj kaynaklarının her ikisinin de poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültür çalışmasına rastlanmamıştır. Bu nedenle bunla ilgili sütun çizelgede yer almamaktadır.

İL-4'ün; yangı söndürücü bir sitokin olarak kabul edildiğinden (P. Choi ve diğerleri, 1998; Siamon Gordon, 2003; Siamon Gordon ve diğerleri, 2010; Luzina ve diğerleri, 2012; Muraille ve diğerleri, 2014). L. Chen ve diğerleri (2008) tarafından yapılan çalışmada hem fare hem de insan BM-MKH'ların bazal seviyede İL-4 salgıladıklarından, insan AT-MKH'lar ve insan PBMC'den elde edilen monositlerden yapışma özelliği ile elde edilen makrofajlar tek başlarına İL-4 salgılamadığından (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013) bahsedilmişti.

MKH'nın uzun ve kısa süreli poli(I:C) ile prime edilmesinin İL-4 salgılamasına üzerine çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda özetle; insan BM-MKH'lar bazal seviyeye yakın İL-4 salgılarken 1 saat boyunca 1 μg/mL poli(I:C) ile prime edildiğinde İL-4 salgısının bazal seviyeye yakın çok az miktarda arttığı (Waterman ve diğerleri, 2010), insan burun mukozasından elde edilen MKH'ların 1 saat boyunca 1 μg/mL poli(I:C) ile prime edildiğinde İL-4 salgısının kontrolle aynı düzeyde bazal seviyede olduğu (Hwang ve diğerleri, 2014), 72 saat boyunca insan AT-MKH'lar 1 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiğinde İL-4 salgılamadıkları (E. Lombardo ve diğerleri, 2009), makrofajların kısa sürede poli(I:C) ile prime edilmesinin İL-4 salgısı üzerine etkisi ile ilgili veriye rastlanmamıştır.

Makrofajların kısa sürede poli(I:C) ile prime edilmesinin İL-4 salgısı üzerine etkisi ile ilgili yapılan bir çalışmada insan astrositleri kullanılmış ve 24 saat boyunca 1 μg/ml prime edildiğinde İL-4 kontrol grubuyla aynı şekilde İL-4 salgılamadığı gösterilmiştir (Serramía ve diğerleri, 2015). Dolayısı ile MKH ve makrofajların poli(I:C) ile prime edilmesinin İL-4 salgılamasını belirgin düzeyde etkilemediği bazal seviyede kaldığı bulunmuştur. Bizim yaptığımız çalışmada da MKH'larda kontrol ve poli(I:C) ile prime grubunda yaklaşık aynı düzeyde bazal seviyeye yakın (kontrol grubu: 0,62 pg/ml/prime grubu: 0,84 pg/ml) olduğu,

makrofajlarda benzer şekilde kontrol ve poli(I:C) ile prime grubunda yaklaşık aynı düzeyde bazal seviyeye yakın (kontrol grubu: 3,5 pg/ml/prime grubu: 3,1 pg/ml) olduğu bulunmuştur.

Ortamda bulunan İL-4'ün makrofajlarda M2a yönünde plastisiteye bakterilerin fagositozunun azalmasına, Arg-1 sentezlenmesine, lipitlerin oksidasyonuna, demirin serbest kalmasına neden olduğundan (Siamon Gordon, 2003; Siamon Gordon ve diğerleri, 2010; Luzina ve diğerleri, 2012; Muraille ve diğerleri, 2014), İL-4 seviyesinde AT-MKH ve PBMC kaynaklı makrofajların direkt, transvel ve MKH kültür medyumu olan ortamda değişiklik olmadığından (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013), A. R. Wolfe ve diğerleri (2016) tarafından İL-4 ile M2 plastisitesi sağlanmış makrofajların MKH'ları MKH2 yönünde plastisitesine neden olduğundan bahsedilmişti.

Literatürde MKH ve makrofajların her ikisinin de poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültür durumun da İL-4 salgısına ait veriye rastlanmamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada transvel ko-kültürü kontrol grubunda ve poli(I:C) prime grupta yaklaşık aynı düzeyde bazal seviyeye yakın (kontrol grubu: 5 pg/ml / prime grubu: 5,2) ve yine benzer şekilde direkt ko-kültürün kontrol grubunda ve poli(I:C) prime grupta yaklaşık aynı düzeyde bazal seviyeye yakın (kontrol grubu: 3,6 pg/ml ve prime grup; 3,7 pg/ml) olduğu bulunmuştur.

Bu veri ilk defa MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminde İL-4 çok düşük seviyede salgılana bileceği, viral yangıda MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşimlerinin etkisi sonucu İL-5 seviyesinde belirgin bir değişiklik olmayabileceğini göstermektedir.

İL-5 Th2 sitokini olarak tanımlandığından, başlıca eozinofil, bazofil ve B lenfositleri üzerine etki ettiğinden, makrofajların epitel kaynaklı hücrelerden salgılanan İL-23/İL-33 uyarımına yanıt olarak Th2 sitokini olan İL-5 salgıladıklarından (Z. Yang ve diğerleri, 2013), insan ve fare kaynaklı MKH'ların normal koşullarda çok az düzeyde İL-5 salgıladıklarından (L. Chen ve diğerleri, 2008; Turner ve diğerleri, 2014), L-MKH'larda İL-5 salgısının arttığından bahsedilmişti (Ren ve diğerleri, 2012).

Literatürde MKH'ların kısa süreli poli(I:C) ile prime edilmesinin İL-5 salgısı üzerine etkisi ile ilgili veriye rastlanmamıştır. İnsan AT-MKH'ların 72 saat boyunca 1 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiğinde kontrol grubuyla aynı şekilde İL-5 salgılamadığı (E. Lombardo ve

diğerleri, 2009), literatürde yine aynı şekilde makrofajların kısa süreli ve uzun süreli poli(I:C) ile prime edilmesinin İL-5 salgısı üzerine etkisi ile ilgili veriye rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda MKH'ların poli(I:C) ile prime edildiğinde kontrol grubuyla aynı şekilde İL-5 salgılamadığı (kontrol grubu: ND, prime grubu: 0), makrofajların kontrol ve poli(I:C) prime grupta bazal seviyeye yakın İL-5 salgıladıkları (kontrol grubu: 1,5 pg/ml/prime grubu: 1,4 pg/ml) bulunmuştur.

İnsan PBMC'den izole edilip yapışma özelliği ile elde edilen makrofajların İL-5 salgıladıkları, insan AT-MKH'lar ile direkt ve transvel ko-kültür ortamında salgıladıkları İL-5 düzeyinde belirgin azalma, MKH kültür medyumu ile kültür yapıldığında ise İL-5 düzeyinde değişiklik olmadığı (Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013) bulunmuştur.

Literatür de MKH ve makrofajların her ikisinin de poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültür durumun da İL-5 salgısına ait veriye rastlanmamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültür grubunda ve poli(I:C) prime grupta İL-5 seviyesinin bazal seviyeye yakın olduğu (kontrol grubu: 2,11±0,14 pg/ml / prime grubu: 2,29±0,04 pg/ml) yine aynı şekilde direkt ko-kültür grubunda da bazal seviyeye yakın olduğu (kontrol grubu: 1,63±0,17 pg/ml/prime grubu: 1,64±0,34 pg/ml) olduğu bulunmuştur.

Bu veri ilk defa MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminde İL-5 çok düşük seviyede salgılana bileceği, viral yangıda MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşimlerinin etkisi sonucu İL-5 seviyesinde belirgin bir değişiklik olmayabileceğini göstermektedir.

İL−10'in CSIF insan sitokin sentezi inhibitör faktörü (human cytokine synthesis inhibitory factor) olarak adlandırıldığından, M2 yönünde plastisite gösteren makrofajlardan salgılandığından (J. P. Edwards ve diğerleri, 2006), makrofajların PGE2 ile uyarılması, apopitotik hücrelerin fagositozu, TLR3 ve TLR4 aktivasyonuyla üretilen İFN-β negatif bir geri tetikleme mekanizması ile (X. Ma ve diğerleri, 2015), İL-4, İL-13, mantar ve parazit bulaşları ile oluşan M2a tipi makrofajların ve GC, TGF-β ve İL-10 ile oluşan M2c tipi makrofajların (Iqbal ve diğerleri, 2015), monositlerin M-CSF ile uyarılması ile yüksek düzeyde İL-10 salgıladığı, bu makrofajların apopitotik hücreleri güçlü bir şekilde fagosite ettiğinden (W. Xu ve diğerleri, 2006), MKH'ların normal koşullarda İL-10 salgılanması yönünde farklı bulgular olduğundan, bazı araştırmacılar naif MKH'ların anlamlı biçimde İL-

10 mRNA transkripsiyonu yapmadıkları (François ve diğerleri, 2012), bazı araştırmacılarda normal koşullarda fare ve insan kaynaklı MKH'larda salgılandığını bulduklarını (Turner ve diğerleri, 2014) belirtmiştik.

MKH'ların poli(I:C) ile kısa süreli poli(I:C) ile prime edilmesinin İL-10 salgısı üzerine etkisi incelenmiş insan burun mukozasından elde edilen MKH'lar 1 saat boyunca 1 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiğinde kontrol ve prime grupta İL-10 seviyesinin bazal seviyeye yakın olduğu, insan UC-MKH'ların 4 saat boyunca poli(I:C) ile prime edildiğinde İL-10 seviyesinin kontrol grupta bazal seviyeye yakın olduğu, prime grupta ise salınımında hafif artış olduğu (L. Zhang ve diğerleri, 2015) ve MKH'ların 24 saat uzun süreli 4-50 μg/ml arası dozlarda poli(I:C) ile prime edilmesinin İL-10 salgısı üzerine etkisi incelenmiş, kontrol grubu bazal seviyede iken prime grupta hafif düzeyde arttığı bulunmuştur (X. Chen ve diğerleri, 2014; E. Lombardo ve diğerleri, 2009; Mastri ve diğerleri, 2012; L. Zhang ve diğerleri, 2015).

Makrofajların 4-8 saat arasında kısa süreli 1-20 μg/ml doz aralığında poli(I:C) ile prime edildiğinde kontrol grubunda bazal seviyede olan mRNA üretiminin prime grupta arttığı (Celhar ve diğerleri, 2016; Lyons ve diğerleri, 2015) ve makrofajların 20-48 saat arasında uzun süreli 1-20 μg/ml doz aralığında poli(I:C) ile prime edildiğinde kontrol grubunda bazal seviyede olan mRNA üretiminin prime grupta az miktarda arttığı (Celhar ve diğerleri, 2016; Serramía ve diğerleri, 2015; Zhou ve diğerleri, 2015) gösterilmiştir.

Bizim yaptığımız çalışmada MKH'lar da kontrol grubunda ve poli(I:C) ile prime grupta yaklaşık aynı düzeyde bazal seviyeye yakın olduğu (kontrol grubu: 7,49 pg/ml/prime grubu; 9,19±0,37 pg/ml) PMA/THP-1'lerde ise kontrol ve prime grubunda bazal seviyenin biraz üstünde olduğu (kontrol grubu: 18,57 pg/ml / prime grubu: 18,28±0,20 pg/ml) bulunmuştur.

Literatürde MKH ve makrofaj etkileşiminin İL-10 salgılanması üzerine etkisi fare kardiyomyopati modelinde incelenmiş, domuz BM-MKH'lar 24 saat boyunca 4 μg/ml poli(I:C) ile prime edilmiş ve TO2 (kardiyomyopatik sıçan) sıçanlara uygulandığında kalp dokusunda İL-10 mRNA üretiminin prime MKH ile tedavi olan grupta uyarımsız MKH ile tedavi edilen kontrol grubuna göre daha fazla arttığı bulunmuştur (Mastri ve diğerleri, 2012).

Bizim yaptığımız MKH ve PMA/THP-1 aynı anda poli(I:C) ile prime edildiği transvel ko-kültürü çalışmasında kontrol ve prime grupta yaklaşık aynı düzeyde İL-10 salgısının hafif miktarda arttığı (kontrol grubu: 31,45±1,40 pg/ml / prime grubu; 32,35±0,72 pg/ml) ve direkt ko-kültür grubunda İL-10 salgısındaki artışın transvel ko-kültürüne oranla daha az olmakla birlikte kontrol ve prime grupta arttığı (kontrol grubu; 24,00±1,35/prime grubu: 22,85±1,33) bulunmuştur.

İL-13'un öncelikle TH2 hücrelerden salgılanan bir sitokin olduğundan, epitel hücrelerinden salgılanan İL-23/İL-33'e yanıt olarak makrofajların da İL-13 salgıladığından (Z. Yang ve diğerleri, 2013), makrofajlardan otokrin salgılanan İL-13'ün sinyal yolakları bölümünde detaylı anlatıldığı gibi İL-4 ile birlikte STAT6 üzerinden makrofajlarda M2a yönünde plastisiteye neden olduğundan, makrofajlarda Arg-1 sentezlenmesine, lipitlerin oksidasyonuna, demirin serbest kalmasına neden olduğundan (Siamon Gordon, 2003; Siamon Gordon ve diğerleri, 2010; Luzina ve diğerleri, 2012; Muraille ve diğerleri, 2014), CD206+, CD11b+/CD209+, CD209+/CD200R+, CD1a+/CD1b+ popülasyonlarının oluştuğundan bahsedilmişti (Stein ve diğerleri, 1992; Tarique ve diğerleri, 2015).

Literatürde MKH'ların İL-13 salgıladığına dair bir veriye rastlanmamıştır. Aynı şekilde viral yangı durumunda MKH'ların İL-13 salgılanmasındaki değişikliklerle ilgili veri bulunmamaktadır. Makrofajların kısa süreli viral uyaranlarla İL-13 salgılanmasına etkisine ait veri bulunmamakla birlikte RAW264.7'lerin uzun süreli 24 saat 10 μg/ml uyarımında az miktarda salgılanan İL-13 salgılanmasının az miktarda arttığı ifade edilmektedir (Zhou ve diğerleri, 2015).

Bizim yaptığımız çalışmada MKH'ların kontrol (0,47 pg/ml) ve poli(I:C) prime grupta (0,73±0,028 pg/ml) ve aynı şekilde PMA/THP-1'de kontrol (2,03 pg/ml) ve poli(I:C) prime grupta (1,87±0,08) İL-13'un bazal seviyede salgılandığı bulunmuştur.

Literatürde MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminin viral yangı durumunda İL-13 salınımı nasıl etkilediğine dair veri bulunmamaktadır. Bizim yaptığımız MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime edildiği transvel ko-kültür çalışmasında (kontrol grubu: 2,33±0,10 pg/ml, prime ko-kültür grubu: 2,83±0,17) ve direkt ko-kültür çalışmasında

(kontrol grubu: 2,00±0,279, prime grubu; 1,90±0,24) İL-13 salgılanmasının bazal seviyede olduğu bulunmuştur.

Bu veri ilk defa MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminde İL-13 düşük seviyede salgılana bileceği, viral yangıda MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşimlerinin etkisi sonucu İL-13 seviyesinde belirgin bir değişiklik olmayabileceğini göstermektedir.

TGF-β'nin M2 makrofajlar tarafından salgılandığından, M1 makrofajların efektör fonksiyonu ve antijen sunumunu baskıladığı ve onların M2 plastisitesini sağladığından (Akhurst ve diğerleri, 2012) ve insan BM-MKH'larında az miktarda salgılandığından ancak fare BM-MKH'ların da ise salgılanmadığından (L. Chen ve diğerleri, 2008) bahsedilmişti.

MKH'ların kısa süreli 1-4 saat arasında 1μg/ml poli(I:C) ile prime edildiğinde (Waterman ve diğerleri, 2010) ve MKH'ların uzun süreli 48 saat boyunca 25 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiğinde TGF-β'nın salınımının baskılandığı (Giuliani ve diğerleri, 2014) ifade edilmekle birlikte, makrofajların viral yangı esnasında TGF-β salgılanışındaki değişiklikle ilgili veriye rastlanmamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada MKH'larda kontrol (46,09±1,40 pg/ml) ve prime grupta (52,826±0,48 pg/ml) yaklaşık aynı oranda TGF-β'nın salgılandığı, PMA/THP-1'lerde MKH'lara oranla daha düşük olmakla birlikte hem kontrol (39,27±4,788 pg/ml) hem de prime grupta (40,967±4,21 pg/ml) aynı oranda TGF-β'nın salgılandığı bulunmuştur.

Literatürde viral yangıda MKH ve makrofajlarda TGF-β'nın salgılanımının nasıl etkilendiğine dair veriye rastlanmamıştır. Bizim yaptığımız MKH ve PMA/THP-1 poli(I:C) prime transvel ko-kültürlerinde prime grupta (42,09±3,85 pg/ml) kontrol grubuna göre (51,26±44,35 pg/ml) az oranda TGF-β'nın salınımının baskılandığı tekli kültürlerle karşılaştırıldığında kontrol ve prime grupta TGF-β'nın salınımının %50 oranında baskılandığı, MKH ve PMA/THP-1 poli(I:C) prime direkt ko-kültürlerinde ise kontrol grubunda (50,37±3,33 pg/ml) ve prime grupta (49,81±2,81pg/ml) yaklaşık aynı oranda salındığı, tekli kültürlerle karşılaştırıldığında kontrol ve prime grupta TGF-β'nın salınımının %50 oranında baskılandığı bulunmuştur.

Bu veri ilk defa MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminde TGF-β'nın düşük seviyede salgılana bileceği, viral yangıda MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşimlerinin etkisi sonucu sadece birbirlerinden uzakta oldukları durumda İL-13 seviyesinde hafif bir azalma olabileceğini göstermektedir.

CCL22/MDC'nin M1 (Godiska ve diğerleri, 1997; Mantovani ve diğerleri, 2000) ve İL-4 ve İL-13 uyarımı ile M2a yönünde plastisite gösteren makrofajlardan da salgılandığı (Mantovani ve diğerleri, 2004; Yamashita ve diğerleri, 2002) MKH'ların Kİ'de endotelden geçişini artırdığından (H. Smith ve diğerleri, 2011) bahsedilmişti. Literatürde MKH'ların ve makrofajların viral yangı ortamında CCL22/MDC salgıladığına dair bir veriye rastlanmamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada MKH'ların uyarımsız ortamda (1113,15±102,1 pg/ml) ve poli(I:C) ile prime edildikten sonra (1101,8±69,11 pg/ml) yaklaşık aynı düzeyde yüksek miktarda CCL22/MDC salgıladıkları, aynı şekilde PMA/THP-1'lerinde uyarımsız ortamda (1245,22±48,52pg/ml) ve poli(I:C) ile prime edildikten sonra (1167,52±16,43 pg/ml) yaklaşık aynı düzeyde yüksek miktarda CCL22/MDC salgıladıkları bulunmuştur.

Literatürde viral yangı ortamında MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminin CCL22/MDC salgılanması üzerine etkisi hakkında bir veriye rastlanmamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime edildiği transvel ko-kültür ortamında CCL22/MDC salgılanmasının kontrol grubu (1299,91±45,87 pg/ml) ile prime grubunda (1251,224±9,59 pg/ml) yaklaşık aynı seviyede yüksek düzeyde salgılandığı ancak tekli kültür ortamı ile karşılaştırıldığında CCL22/MDC salınımının %50 oranında baskılandığı bulunmuştur. Yine bizim yaptığımız çalışmada MKH ve PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime edildiği direkt ko-kültür ortamında CCL22/MDC salgılanmasının prime grubunda (1154,84±68,59 pg/ml) kontrol grubuna (1309,92±34,20 pg/ml) oranla baskılandığı, tekli kültür ortamı ile karşılaştırıldığında da CCL22/MDC salınımının %50 oranında baskılandığı bulunmuştur.

Bu veri ilk defa MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminde CCL22/MDC'nin yüksek seviyede salgılana bileceği ancak CCL22'nin hücreler yalnız başına oldukları seviye ile karşılaştırıldığında seviyesinin düştüğü bu nedenle karşılıklı etkileşimin CCL22'nin baskılanmasına neden olabileceği düşünülebilir. Ayrıca viral yangıda MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşimlerinin etkisi sonucu CCL22/MDC'nin yüksek seviyede

salgılana bileceği, hücreler yalnız başına viral yangı ortamında oldukları seviye ile karşılaştırıldığında seviyesinin düşebileceği, bu baskılanmanın birbirlerine yakın olduklarında daha fazla olabileceği, bu nedenle viral yangıda MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminde hernekadar CCL22 seviyesi çok yüksekte olsa aslında baskılanmış olabileceğini gösterebilir.

İL-1β'nın ise kan monositleri ve doku makrofajlarında TLR aktivasyonu ve yangı sitokinlerine yanıt olarak üretildiği daha sonra aktive olduğundan (Beuscher ve diğerleri, 1990; Dinarello, 1996; Murakami ve diğerleri, 1990; Nakae ve diğerleri, 2001; Rider ve diğerleri, 2011; Ulich ve diğerleri, 1987) daha önce bahsedilmişti.

İnsan burun mukozasından elde edilen MKH'ların kontrol grubunda ve poli(I:C) ile kısa süreli prime grupta İL-1β'yı bazal seviyeye yakın salgıladığı (Hwang ve diğerleri, 2014), insan UC-MKH'larının ise İL-1β'yı bazal seviyeye yakın salgılarken poli(I:C) ile kısa süreli prime edildiğinde İL-1β salınımının arttığı (L. Zhang ve diğerleri, 2015), insan BM-MKH'lar kontrol grubunda ve poli(I:C) ile uzun süreli prime edildiği ortamlarda aynı şekilde İL-1β üretiminin bazal seviyede olduğu (Liotta ve diğerleri, 2008; Raicevic ve diğerleri, 2017) belirtilmektedir.

PMA/THP-1 kısa süreli poli(I:C) ile prime edildiğinde İL-1β seviyesinin kontrol ve prime grupta aynı şekilde bazal seviyeye yakın olduğu (M. X. Jiang ve diğerleri, 2017), fare BM-DM'ların uzun süreli poli(I:C) ile prime edildiğinde ise kontrol grubunda bazal seviyede iken prime grupta mRNA üretiminin arttığı bulunmuştur (B. Liu ve diğerleri, 2016).

Bizim yaptığımız çalışmada ise MKH'larda kontrol ve poli(I:C) prime grupta İL-1β salgılanmadığı, PMA/THP-1'lerde kontrol grubunda salgılanırken (338,80 pg/ml) poli(I:C) grupta salgılanmasının baskılandığı (98,22±18,82 pg/ml) bulundu.

Fare kardiyomyopati modelinde domuz BM-MKH'lar 24 saat 4 μg/ml poli(I:C) ile prime edildikten sonra TO2 (kardiyomyopatik sıçan) sıçanlara verildiğinde kalp dokusunda İL-1β mRNA üretiminin prime MKH ile tedavi olan grupta uyarımsız MKH ile tedavi edilen kontrol grubuna göre daha fazla baskılandığı bulunmuştur (Mastri ve diğerleri, 2012).

Bizim yaptığımız MKH ve PMA/THP-1 poli(I:C) ile prime edildiği transvel (kontrol grubu: 33,94±2,97 pg/ml/prime grubu:38,22±1,64) ve direkt (kontrol grubu: 26,70±3,32 pg/ml/ prime grubu: 28,89±2,45 pg/ml) ko-kültür grubunda kontrol ve prime grupta yaklaşık aynı düzeyde İL-1β salınımının baskılandığı gözlemlenmiştir.

Yangı olmayan ortamda ve viral yangı ortamında MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşimi sonucu İL-1β'nın çok düşük seviyede salgılanabileceği, her ne kadar fare kardiyomiyopati modelinde viral yangı durumunda MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminde İL-1β salınımının daha çok baskılandığı belirtilse de yangı olmadığı durumla viral yangı ortamı karşılaştırıldığında MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminin İL-1β salınımının baskılanması açısından bir değişikliğe neden olmaya bileceğini dolayısıyla viral yangının İL-1b seviyesinin baskılanmasında etki etmiyebileceği düşünülebilir.

İL-6'nın yangı başlatıcı olarak aktive M1 makrofajlardan salgılandığından ama ayrıca aktive M1 makrofajlardan salgılanan İL-6'nın yangı kontrol altına almak adına makrofajların M2 yönünde plastisitesinde rolü olduğundan (Akira ve diğerleri, 1996; Fernando ve diğerleri, 2014; Luckett-Chastain ve diğerleri, 2016; Mauer ve diğerleri, 2014) bahsedilmişti. Ayrıca PMA/THP-1'lerin 8 saat boyunca 2 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiğinde İL-6 mRNA üretiminin az miktarda arttığı (M. X. Jiang ve diğerleri, 2017), 16-48 saat arasında çeşitli makrofaj kaynakları 1-20 μg/ml dozda poli(I:C) veya KSHV ile uyarıldığında İL-6 salgılanma ve mRNA üretiminin farklı şekillerde etkilendiği, THP-1 ve RAW264.7'de az miktarda artarken, insan PBMC'den elde edilenlerde salınımın daha fazla arttığı bulunmuştur (Celhar ve diğerleri, 2016; H. Liu ve diğerleri, 2014; Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009; Serramía ve diğerleri, 2015; West ve diğerleri, 2008; Zhou ve diğerleri, 2015).

Kota ve diğerleri (2014) yaptığı çalışmada inaktive insan BM-MKH'ların az düzeyde İL-6 salgıladıklarından, LPS ile TLR4 üzerinden yapılan uyarımda insan BM-MKH'lardan İL-6 salınımını belirgin düzeyde artırdığından, TLR3 agonisti olan poli(I:C) ile uyarımda da LPS kadar olmasa da bir artış olduğunu bulduklarından ve Melief ve diğerleri (2013a) tarafından yapılan çalışmada MKH'lardan salgılanan İL-6'nın makrofajların M2 plastisitesine neden olduğundan bahsedilmişti. Aynı zamanda insan BM-MKH'ların 20 μg/mL poli(I:C) ile kısa

süreli (6 saat) prime edilmesi az miktarda salgılanan kontrol grubuna göre az miktarda artış olduğu (Rashedi ve diğerleri, 2017), insan BM-MKH'ların 24-48 saat arasında uzun süreli 1-50 μg/ml arasındaki dozlarda prime edilmesi sonucunda İL-6 salınımının çok daha fazla arttığı bulunmuştur (Dumitru ve diğerleri, 2014; Giuliani ve diğerleri, 2014; Liotta ve diğerleri, 2008; Opitz ve diğerleri, 2009; Raicevic ve diğerleri, 2017; Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009).

Bizim yaptığımız çalışmada MKH'larda kontrol grubunda İL-6 (805,38 pg/ml) yüksek düzeyde salgılandığı, poli(I:C) ile prime grubunda ise salgılanmasının kontrol grubuna göre arttığı (978,47±43,15 pg/ml), PMA/THP-1'lerde kontrol grubunda İL-6'nın bazal seviyeye yakın salgılandığı (12,63 pg/ml) poli(I:C) ile prime grupta ise salgılanmadığı bulundu.

Literatürde viral yangıda MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminin İL-6 salgılanmasını nasıl etkilendiği hakkında veriye rastlanmamıştır.

Bizim yaptığımız MKH ve PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürü çalışması sonrası kontrol grubunda (>19601,20 pg/ml) ve poli(I:C) ile prime grupta (>19601,20 pg/ml) tespit sınırlarının üzerinde olduğu, MKH ve PMA/THP-1'lerin direkt ko-kültürü çalışması sonrası kontrol grubunda (18746,58±854,61 pg/ml) ve poli(I:C) ile prime grupta (>22668,66 pg/ml) ise tespit sınırlarının üzerinde olduğu bulundu.

Bu bulgu literatürde ilk defa MKH ve makrofajların ko-kültür ortamında İL-6 salınımını çok fazla artırdıkları viral yangı ortamında ise karşılıklı bu etkileşimin İL-6 salgısını çok daha fazla arttırabileceğini göstermektedir.

TNF-α, makrofajların yangı ortamında DAMP'ların ve LPS uyarımına yanıt olarak TNF-α'nın başlıca üreticileri olup aynı zamanda TNF-α'ya karşı da oldukça duyarlı olduklarından ve makrofajlarda M1 yönünde plastisiteye neden olduğundan bahsedilmişti (Eleuterio Lombardo ve diğerleri, 2007; Martinez ve diğerleri, 2014; Mosser ve diğerleri, 2008; Neurath, 2014; Parameswaran ve diğerleri, 2010).

İnsan BM-MKH'ların kontrol grubunda TNF-α mRNA üretilmediği, kısa süreli (6 saat) boyunca 20 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiğinde TNF-α mRNA üretildiği (Romieu-

Mourez ve diğerleri, 2009), insan BM-MKH'ların uzun süre 24 saat 25 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiğinde kontrol ile aynı şekilde TNF-α mRNA bazal seviyeye yakın üretildiği (Raicevic ve diğerleri, 2017), PMA/THP-1'lerde kontrol grubunda TNF-α mRNA üretimi bazal seviyede iken kısa süreli (8 saat) 20 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiğinde TNF-α mRNA üretiminin arttığı (Lyons ve diğerleri, 2015), insan PBMC kaynaklı makrofajların uzun süreli (24 saat) 20 μg/ml prime edilmesinde TNF-α'nın salgılanmasının arttığı (H. Liu ve diğerleri, 2014) bulunmuştur. Bizim yaptığımız çalışmada MKH'ların kontrol grubunda (5,70 pg/ml) ve poli(I:C) ile prime grupta (8,63±0,33 pg/ml) yaklaşık aynı düzeyde bazal seviyede salgılandığı, PMA/THP-1 kontrol grubunda salgılanırken (246,96 pg/ml) poli(I:C) ile prime grupta (139,03±9,33 pg/ml) hala salgılanmakla birlikte kontrol grubuna göre baskılandığı bulundu.

Literatürde insan PBMC'den elde edilen monositlerden GM-CSF uygulaması ile oluşturulan makrofajlar, insan BM-MKH'lar 48 saat boyunca 1 μg/ml poli(I:C) ile prime edildikten sonra toplanan süpernatant ile muamele edildiğinde TNF-α düzeyinin kontrol grubu ile aynı olduğu (Gray ve diğerleri, 2015), insan BM-MKH'lar 18 saat 20 μg/ml poli(I:C) ile prime edildikten sonra 18 saat LPS ile muamele edilen fare splenositleri ile direkt kültüre edildiğinde TNF-α salınımının kontrol ve prime MKH'larla ko-kültür edilen grupta da aynı düzeyde baskılandığı (Kota ve diğerleri, 2014), fare kardiyomyopati modelinde domuz BM-MKH'lar 24 saat 4 μg/ml poli(I:C) ile prime edildikten sonra TO2 (kardiyomyopatik sıçan) sıçanlara enjekte edildiğinde kalp dokusunda TNF-α mRNA üretiminin uyarımsız MKH ile tedavi edilen kontrol grubunda ve prime MKH ile tedavi olan grupta aynı düzeyde baskılandığı (Mastri ve diğerleri, 2012) bulunmuştur.

Bizim yaptığımız MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültür çalışmasında da TNF-α'nın kontrol grubunda (84,89±3,18 pg/ml) ve prime grubunda (89,30+2,29 pg/ml) aynı oranda baskılanma ve yine aynı şekilde MKH ve PMA/THP-1 direkt ko-kültür çalışmasında da kontrol grubunda (39,16±1,89 pg/ml) ve prime grubunda (40,79±0,88 pg/ml) transfer ko-kültür grubuna göre daha fazla olmak üzere kontrol ve prime grupta yaklaşık aynı oranda baskılandığı bulundu.

Bu veri ilk defa viral yangının etkisinden bağımsız olarak MKH ve makrofajların direkt kontak halinde daha fazla olmak üzere direk kontrak ve salgılanan faktörler etkisiyle TNF-α salınımının belirgin ölçüde baskılanabileceğini göstermektedir.

İL-12'nin doğal ve adaptif immün sistemi uyaran ve aktive makrofaj salgılanan bir sitokin olduğundan (X. Ma ve diğerleri, 2015; Wolf ve diğerleri, 1994) bahsedilmişti.

İnsan BM-MKH'larda kontrol grubunda İL-12 mRNA'sı bazal seviyede üretilirken, kısa süreli (6 saat) 20 μg/ml dozunda poli(I:C) ile prime edildiğinde mRNA üretimi hafif düzeyde arttığı (Romieu-Mourez ve diğerleri, 2007), insan AT-MKH ve insan UC-MKH'ların bazal seviyeye yakın İL-12 ürettiğinden 24 saat boyunca poli(I:C) ile prime edildiğinde İL-12 üretiminin arttığı bulunmuştur (Hwa Cho ve diğerleri, 2006; L. Zhang ve diğerleri, 2015).

Fare BM-DM kontrol grubunda İL-12 salgılamadığı kısa süreli (8 saat) boyunca 10 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiğinde yüksek oranda İL-12 salgılandığı (Tsai ve diğerleri, 2015), fare BM-DM'lerde kontrol grubunda İL-12p40 mRNA üretiminin bazal seviyeye yakın olduğu, uzun süreli (24 saat) 1 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiğinde İL-12p40 mRNA üretiminin kontrolde de prime grupta da yaklaşık aynı düzeyde bazal seviyeye yakın olduğu bulunmuştur (Celhar ve diğerleri, 2016). Bizim yaptığımız çalışmada MKH'larda kontrol grubunda (22,71 pg/ml) ve poli(I:C) ile prime grupta (27,62±1,01 pg/ml) bazal seviyeye yakın üretildiği yine aynı şekilde PMA/THP-1'lerde biraz daha fazla olmak üzere kontrol grubunda (49,96 pg/ml) ve prime grubunda (55,66±1,70 pg/ml) bazal seviyeye yakın üretildiği bulundu.

Literatürde viral yangıda MKH ve makrofajlar arasındaki etkileşimin İL-12 salgılanması üzerine etkisine dair bulguya rastlanmamıştır.

Bizim yaptığımız MKH ve PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültürü çalışmasında İL-12 salgılanmasında kontrol (71,02±2,12 pg/ml) ve poli(I:C) prime grubunda (76,32±1,75 pg/ml) bir farklılık görülmemiş olup, yaptığımız MKH ve PMA/THP-1'lerin direkt ko-kültürü çalışmasında İL-12 salgılanmasında kontrol (47,34±2,52 pg/ml) ve poli(I:C) prime grubunda (49,80±1,79 pg/ml) fark görülmemekle birlikte transvel ko-kültürü ve tekli kültürlere göre hafif bir baskılanma gözlemlenmiştir.

Bu ilk defa MKH ve makrofajların birbirinden uzakta olduklarında İL-12 salınımının etkilenmediği çok düşük düzeyde salınmaya devam edildiği, direk karşılıklı etkileşimde çok düşük düzeyde salgılandığı, direk karşılıklı etkileşiminde viral yangıdan bağımsız olarak İL-12 salgılanmasının baskılanabileceğini göstermektedir.

İDO'nun makrofajlarda İFN-γ, TNF-α, İFN-β, LPS ile uyarılabilir hücre içi bir enzim olduğundan (Mbongue ve diğerleri, 2015; Opitz ve diğerleri, 2009), insan MKH'larının uyaranlara karşı aşırı yüksek seviyelerde IDO salgıladığından ve insan MKH'larının immün baskılanmasının IDO aracılı olduğundan bahsedilmişti (Renner ve diğerleri, 2009).

İnsan BM-MKH'ların kontrol grubunda IDO mRNA üretiminin olmadığı, kısa süreli (1 saat) 1 μg/mL poli(I:C) ile prime edildiğinde IDO mRNA üretimi belirgin düzeyde arttığı (Waterman ve diğerleri, 2010), insan BM-MKH'ların kontrol grubunda triptofan konsantrasyonu yüksek kinürenin konsantrasyonun düşük olduğu uzun süreli (24-72 saat) 50 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiğinde triptofan konsantrasyonun azaldığı kinürenin konsantrasyonun çok fazla arttığı (Opitz ve diğerleri, 2009) bulunmuştur. Makrofajların viral yangı ortamında kısa süreli bulunduğunda IDO salgısının nasıl değiştiğine dair veriye rastlanmamıştır. İnsan astrositleri üzerinde yapılan bir çalışmada kontrol grubunda IDO'nun salgılanmadığı, ancak 24 saat 20 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiğinde IDO'nun salgılandığı bulunmuştur (H. S. Suh ve diğerleri, 2007). Bizim yaptığımız çalışmada MKH'larda kontrol grubunda (37,37±2,94 pg/ml) ve poli(I:C) prime grubunda (42,069±2,05 pg/ml) yaklaşık aynı düzeyde IDO'nun bazal seviyeye yakın salgılandığı, yine aynı şekilde PMA/THP-1'lerde kontrol grubunda (44,47±3,336 pg/ml) ve prime grupta (46,853±,46 pg/ml) yaklaşık aynı düzeyde bazal seviyeye yakın salgılandığı bulundu.

Literatürde viral yangı ortamında MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminin IDO salgısını nasıl etkilediğine dair bir veriye rastlanmamıştır.

Bizim yaptığımız MKH ve PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültür çalışmasında kontrol grubunda (49,77±3,35 pg/ml) ve prime grubunda (42,489±3,90 pg/ml) ve MKH ve PMA/THP-1'lerin direkt ko-kültür çalışmasında kontrol grubunda (47,02±1,93 pg/ml) ve prime grubunda (35,77±5,179 pg/ml) yaklaşık aynı düzeyde tekli kültürlere oranla IDO salınımının baskılandığı bulundu.

Bu veri makrofaj ve MKH'ların çok düşük düzeyde IDO salgıladığı, karşılıklı etkileşimi sonucu düşük seviyede salgılanmaya devam edebileceği, viral yangıda direk kontak halinde daha fazla olmak üzere IDO salınımının hafif düzeyde baskılanarak çok düşük seviyede salgılanabileceğini göstermektedir.

İL-15'nin pleiotropik bir sitokin olduğundan ve İFN-γ ve mikrobiyal antijenlerle uyarılan monositlerde üretildiğinden (Doherty ve diğerleri, 1996; Musso ve diğerleri, 1999; Perera ve diğerleri, 2012), İL-5'in yüksek konsantrasyonda makrofajlarda otokrin bir yangı başlatıcı olarak rol oynayarak TNF-α, İL-1 ve İL-6 salgılanmasını sağladığından, İL-15'in düşük konsantrasyonda ise İL-10 salgılanmasına neden olduğundan (Alleva ve diğerleri, 1997), insan kaynaklı MKH'ların da gen düzeyinde İL-15 eksprese ettikleri ve salgıladıklarından bahsedilmişti (Hass ve diğerleri, 2011; Silva ve diğerleri, 2003).

Literatürde MKH'ların viral yangı ortamında kısa süreli ve uzun süreli bulunduklarında İL-15 salgısının nasıl değiştiği ile ilgili bir veriye rastlanmamıştır. THP-1 hücrelerinin İL-15 mRNA üretmedikleri ancak kısa süreli (6 saat) boyunca HSV muamele edildiğinde İL-15 mRNA ürettikleri bulunmuştur (Ahmad ve diğerleri, 2008). Makrofajların viral yangı ortamında uzun süreli bulunduklarında İL-15 salgısının nasıl değiştiği ile ilgili bir veriye rastlanmamıştır. Bizim yaptığımız çalışmada MKH'lar kontrol grubunda da poli(I:C) ile prime grupta da İL-15 salgılanmadığı, PMA/THP-1'lerde kontrol grubunda (6,56 pg/ml) ve prime grubunda (8,316±0,44 pg/ml) yaklaşık aynı düzeyde bazal seviyede salgılandığı bulundu.

Literatürde viral yangıda MKH ve makrofajlar arasındaki etkileşimin İL-15 salgısını nasıl etkilediğine dair veriye rastlanmamıştır.

Bizim yaptığımız MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültürlerinde İL-15 seviyesinin kontrol grubunda (15,37±0,53 pg/ml) ve prime grupta (17,50±0,17 pg/ml) yaklaşık aynı düzeyde bazal seviyeye yakın olmakla birlikte tekli kültüre göre hafif düzeyde artmış olduğu, MKH ve PMA/THP-1 direkt ko-kültürlerinde İL-15 seviyesinin kontrol grubunda (6,40±0,51 pg/ml) ve prime grupta (7,49±0,37 pg/ml) yaklaşık aynı düzeyde bazal seviyeye yakın olduğu bulundu.

Bu bulgu literatürde ilk defa MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminde İL-15'in çok düşük düzeyde salgılanabileceğini, birbirinden uzakta olduğu zaman İL-15 düzeyinde çok hafif bir artma olabileceğini, viral yangı ortamında MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşimi sonrası makrofajların İL-15 salgılamasının değişmeden çok düşük düzeyde salgılanmaya devam edebileceğini göstermektedir.

İL-17A'nın kaynağının astımda makrofajlar olduğundan (C. Song ve diğerleri, 2008), MKH'ların bir alt grubunun İL-17 salgılayarak otokontrolle MKH'larda NF-κB yolağını aktive ederek TGF-β üretimi baskıladığından ve MKH aracılı immün modülasyonu azalttığından (R. Yang ve diğerleri, 2013) bahsedilmişti.

Literatürde viral yangı ortamında MKH'larda İL-17 salgılanmasına dair veriye rastlanmamıştır. Yine aynı şekilde makrofajlarında viral yangı ortamında kısa süreli bulunmasının İL-17 salgılanmasını nasıl etkilediği hakkında veriye rastlanmamakla birlikte insan astrositlerinin kontrol grubunda ve uzun süreli (24 saat) 1 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiği koşullarda İL-17A'nın salgılanmadığı bulunmuştur (Serramía ve diğerleri, 2015).

Bizim yaptığımız çalışmada MKH'lar kontrol grubunda İL-17A salgılamazken poli(I:C) ile prime grubunda bazal seviyede (5,45±0,00 pg/ml) İL-17A salgıladıkları ve PMA/THP-1'lerin hem kontrol grubunda (75,88 pg/ml) hem de poli(I:C) prime grubunda (79,16±2,02 pg/ml) yaklaşık aynı düzeyde İL-17A salgıladıkları bulundu.

Literatürde viral yangıda MKH ve makrofajlar arasındaki etkileşimin İL-17 salgısını nasıl etkilediğine dair veriye rastlanmamıştır.

Bizim yaptığımız MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültüründe kontrol grubunda (89,75±2,79 pg/ml) ve poli(I:C) ile prime grupta (98,95±2,38 pg/ml) tekli kültürlere göre İL-17A salınımının hafif düzeyde arttığı bu artışın poli(I:C) prime grubunda daha fazla olduğu, MKH ve PMA/THP-1 direkt ko-kültüründe kontrol grubunda (65,18±3,56 pg/ml) tekli kültüre göre baskılandığı ama poli(I:C) ile prime grupta (72,46±0,50 pg/ml) tekli kültüre göre yaklaşık aynı düzeyde kaldığı bulundu.

Bu veri literatürde ilk defa İL-17A'nın MKH ve makrofajın birbirinden uzakta olduğu zaman salınımında artış olabileceğini ancak viral yangı ortamında birbirlerinden uzakta oldukları zaman salınımının aynı düzeyde devam edebileceğini, MKH ve makrofajların birbirlerine yakın oldukları ortamda ise salgılanmasında hafif bir baskılanma olabileceğini, viral yangı ortamında birbirlerine yakın olduklarında İL-17A salınımının hafif düzeyde artabileceğini göstermektedir.

İFN-γ'nın akut yangı yanıtları sırasında M1 makrofajlardan yüksek seviyelerde salgılandığından bahsedilmişti (Marigo ve diğerleri, 2011). İnsan UC-MKH'ların kontrol grubunda İFN-γ'nın bazal seviyede salgılandığı, kısa süreli (4 saat) poli(I:C) ile prime edildiğinde salınımının hafif düzeyde arttığı (L. Zhang ve diğerleri, 2015), insan AT-MKH'ların kontrol grubunda da uzun süreli (72 saat) 1 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiği grupta da salgılanmadığı bulunmuştur (E. Lombardo ve diğerleri, 2009).

Literatürde makrofajların kısa süreli viral yangı ortamında İFN-γ salgısındaki değişiklikle ilgili bir bulguya rastlanmamıştır. İnsan astrositleri üzerinde yapılan bir çalışmada kontrol grubunda ve uzun süreli (24 saat) 1 μg/ml poli(I:C) ile prime edilen grupta İFN-γ salgılanmadığı gösterilmiştir (Serramía ve diğerleri, 2015).

Bizim yaptığımız çalışmada MKH'lerde poli(I:C) ile prime grupta (73,37±2,11 pg/ml) kontrol grubuna göre (55,10 pg/ml) hafif düzeyde daha fazla salgılandığı, PMA/THP-1'lerde poli(I:C) ile prime grupta (205,06±9,217 pg/ml) salgılanmakla birlikte kontrol grubuna göre (226,46 pg/ml) hafif düzeyde baskılandığı bulundu.

Literatürde viral yangıda MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminin İFN-γ salgılanması üzerine etkisine ait veriye rastlanmamıştır.

Bizim yaptığımız MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültüründe poli(I:C) ile prime grupta (385,35±17,66 pg/ml) kontrol grubundan (352,36±1,60 pg/ml) daha fazla olmak üzere hem prime hem kontrol grubunda İFN-γ'nın seviyesinin tekli kültürlere göre artmış olduğu, MKH ve PMA/THP-1 direkt ko-kültüründe ise kontrol grubunda (257,51±11,80 pg/ml) İFN-γ'nın seviyesinin hem tekli hem de transvel ko-kültürüne göre baskılanmış olduğu, prime

direkt ko-kültürde ise (274,75±6,63 pg/ml) tekli kültürlerle aynı seviyede salgılanmaya devam etmekle birlikte transvel ko-kültürüne oranla İFN-γ'nın seviyesinin baskılandığı bulundu.

Bu veri ilk defa MKH ve makrofajların birbirinden uzakta olduklarında karşılıklı etkileşiminde İFN-γ'nın salgılanabileceğini, seviyesinin tek başına olduklarından daha fazla olabileceğini, viral yangıda seviyesinin dahada artabileceğini, MKH ve makrofajların birbirlerine yakın oldukları durumda ise salgılanmasının baskılanabileceğini, viral yangı ortamında birbirine yakın olduklarında ise hafif düzede artarak tek başına salgıladıkları düzeye yakın salgılanabileceğini göstermektedir.

CCL2/MCP-1 LPS uyarımında Kİ'de damar nişinde bulunan MKH ve CAR hücrelerinden (Papatriantafyllou, 2011) ve aynı zamanda yangı alanında bulunan MKH ve makrofajlardan da salgılandığından bahsedilmişti (Daly ve diğerleri, 2003; Deshmane ve diğerleri, 2009; Jimenez ve diğerleri, 2010; Tsou ve diğerleri, 2007).

At BM-MKH ve fare AT-MKH'lar üzerinde yapılan çalışmalarda kontrol gruplarında CCL2/MCP-1'in üretildiği ve kısa süreli (1 saat) poli(I:C) ile prime edildikten sonra üretiminin daha da arttığı bulunmuştur (Cassano ve diğerleri, 2018; Johnson ve diğerleri, 2017).

İnsan BM-MKH'larda kontrol grubunda ve uzun süreli (18 saat) 20 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiği koşullarda CCL2/MCP-1'in salgılanmadığı gösterilmiştir (Kota ve diğerleri, 2014).

Fare peritoneal makrofajlarda kontrol grubunda CCL2/MCP-1'in salgılandığı ve kısa süreli (1 saat) 1-10 μg/ml dozunda poli(I:C) ile prime edildiğinde doza bağımlı olarak yüksek dozda daha fazla olmak üzere CCL2/MCP-1'in salgılandığı (Lovelace ve diğerleri, 2013), yine benzer şekilde THP-1 hücre dizisinin CCL2/MCP-1 mRNA'sinin üretildiği uzun süreli (16 saat) boyunca KSHV ile prime edildiğinde CCL2/MCP-1 mRNA üretiminin arttığı bulunmuştur (West ve diğerleri, 2008).

Bizim yaptığımız çalışmada CCL2/MCP-1 MKH'larda kontrol grubunda (17,58 pg/ml) bazal seviyeye yakın salgılanırken poli(I:C) prime grupta (28,31±1,22 pg/ml) çok hafif

düzeyde salgılanmasının arttığı, PMA/THP-1'de kontrol grubunda (370,21 pg/ml) salgılanırken poli(I:C) prime grupta (574,52±18,44 pg/ml) salgılanmasının daha da arttığı bulundu.

Literatürde viral yangıda MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminin CCL2/MCP-1 salgılanması üzerine etkisine ait veriye rastlanmamıştır.

Bizim yaptığımız çalışmada CCL2/MCP-1 seviyesi MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültürlerinde kontrol grubunda (623,63±10,29 pg/ml) tekli kültürlere göre daha da fazla arttığı, poli(I:C) prime transvel ko-kültüründe de aynı şekilde (623,61±43,17 pg/ml) tekli kültüre göre daha da arttığı gözlenmekle birlikte kontrol ve poli(I:C) prime grup arasında fark gözlemlenmedi. MKH ve PMA/THP-1 direkt ko-kültürlerinde ise kontrol grubunda (413,55±16,24 pg/ml) tekli kültüre göre artış gözlemlenirken poli(I:C) prime ko-kültürlerde (442,82±7,72 pg/ml) tekli kültüre göre baskılanma gözlemlendi. Direkt ko-kültürlerde kontrol grubu (413,55±16,24 pg/ml) ve poli(I:C) prime grubu karşılaştırıldığında (413,55±16,24 pg/ml) arada fark gözlemlenmedi.

Bu veri ilk defa MKH ve makrofajların birbirinden uzakta olduğu zaman salgılanan faktörler aracılığı ile karşılıklı etkileştiklerinde CCL2/MCP-1 salınımını olduğu, dolayısıyla monosit göçünü tetikleye bileceğini, ancak birbirlerinden uzakta olduklarında viral yangının CCL2 salgılanmasında artışa neden olmayacağından, MKH ve makrofajlar yakın temas halinde bulunduklarında ise CCL2/MCP-1 salınımının dolayısıyla monosit göçünün baskılanabileceğini , birbirlerine yakın temasta olduklarında viral yangı durumunda her nekadar hafif bir miktarda artma olsada, tek başlarına viral yangı ortamında bulunmaları ile ve birbirlerinden uzakta viral yangı ortamında bulunmaları ile karşılaştırıldığında salınımının daha az olabileceği söylenebilir.

CCL3/MIP-1α'nın PMA/THP-1'lerin kültürdeki yoğunluğuna bağlı olarak yüksek yoğunluktaki kültürlerde daha fazla salgılandığından bahsedilmişti (P. B. Aldo ve diğerleri, 2013). İnsan UC-MKH'lar ile yapılan bir çalışmada kontrol grubunda CCL3/MIP-1α'nın bazal seviyede salgılandığı, kısa süreli (4 saat) poli(I:C) ile prime edildiğinde salınımında artış olduğu bulunmuştur (L. Zhang ve diğerleri, 2015). MKH'ların viral yangı ortamında

uzun süreli bulunmasının CCL3/MIP-1α salgılamasını nasıl etkilediğine dair veriye rastlanmamıştır.

Literatürde makrofajların viral yangı ortamında kısa süreli bulunmasının CCL3/MIP-1α salgılanmasını nasıl etkilediğine dair veriye rastlanmamakla birlikte insan PBMC ile yapılan bir çalışmada kontrol grubunda CCL3/MIP-1α salgılanması bazal seviyede iken 24 saat süreyle 5 μg/ml poli(I:C) ile prime edilen grupta CCL3/MIP-1α salgılanmasının belirgin düzeyde arttığı bulunmuştur (M. Dai ve diğerleri, 2015).

Bizim yaptığımız çalışmada CCL3/MIP-1α'nın MKH'ların kontrol grubunda salgılanmadığı, poli(I:C) ile prime grupta bazal seviyede salgılandığı, PMA/THP-1'lerin kontrol grubunda da (>958,18 pg/ml) poli(I:C) prime grubunda da (>958,18 pg/ml) CCL3/MIP-1α seviyesinin tespit sınırlarının üstünde olduğu bulundu.

Literatürde viral yangıda MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminin CCL3/MIP-1α salgılanması üzerine etkisine ait veriye rastlanmamıştır.

Bizim yaptığımız CCL3/MIP-1α salgılanmasının MKH ve PMA/THP-1'lerin transvel ko-kültüründe kontrol gurubunda (>958,18 pg/ml) ve poli(I:C) ile prime gurubunda (>958,18 pg/ml) tespit sınırlarının üzerinde olduğu, MKH ve PMA/THP-1'lerin direkt ko-kültür kontrol gurubunda yüksek oranda salgılanmakla birlikte (920,05±38,12 pg/ml) tekli kültürlere göre baskılandığı, direkt ko-kültür poli(I:C) prime grubunda ise tespit sınırlarının üzerinde olduğu (>958,18 pg/ml) bulundu.

CCL3/MIP-1α seviyesinin poli(I:C) ile prime gurupta tespit seviyesinin üzerinde olduğu için viral yangı ortamında MKH ve makrofajlarının karşılıklı etkileşiminin CCL3/MIP-1α salgılanmasını nasıl etkileyeceği konusunda yorum yapılamamakla birlikte bu veri ilk defa MKH ve PMA/THP-1'lerin direkt etkileşiminin CCL3/MIP-1α salgılanmasını baskılayabileceğini göstermektedir.

CCL4/MIP-1β'nın İFN-γ ile M1 dönüşen makrofajlardan salgılandığı (Chandrasekar ve diğerleri, 2013; Menten ve diğerleri, 2002) PMA/THP-1'lerinde kültürde hücre

yoğunluğunun artması ile doğru orantılı olarak yüksek yoğunlukta CCL4/MIP-1β'nın salgılanmasının daha fazla olduğu (P. B. Aldo ve diğerleri, 2013) ve normal kültür koşullarında sadece insan BM-MKH'ların CCL4/MIP-1β salgıladıklarından bahsedilmişti (L. Chen ve diğerleri, 2008).

İnsan UC-MKH ile yapılan çalışmada CCL4/MIP-1β'nın kontrol grubunda bazal seviyede salgılandığı, kısa süreli (4 saat) ve uzun süreli (24 saat) poli(I:C) ile prime edildiğinde salgılanmasında hafif düzeyde artış olduğu (Zhou ve diğerleri, 2015) bulunmuştur.

Literatürde makrofajların viral yangı ortamında kısa süreli bulunduğunda CCL4/MIP-1β salgısında nasıl bir değişiklik olduğuna dair veriye rastlanmamıştır. İnsan PBMC ile yapılan bir çalışmada kontrol grubunda CCL4/MIP-1β'nın bazal seviyede üretildiği uzun süreli (24 saat) poli(I:C) ile prime edildiği grupta CCL4/MIP-1β üretiminin arttığı gösterilmiştir (M. Dai ve diğerleri, 2015).

Bizim yaptığımız çalışmada CCL4/MIP-1β'nın MKH'ların kontrol grubunda salgılanmadığı, poli(I:C) prime grubunda (5,39±0,53 pg/ml) bazal seviyede üretildiği, PMA/THP-1'lerde kontrol grubunda (3350,2 pg/ml) çok yüksek düzeyde üretildiği, poli(I:C) prime grubunda (>3533,53 pg/ml) salgılanma miktarının tespit sınırlarının üzerinde olduğu bulundu

Literatürde viral yangıda MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminin CCL4/MIP-1β'nın salgılanması üzerine etkisine ait veriye rastlanmamıştır.

Bizim yaptığımız çalışmada CCL4/MIP-1β salgılanma düzeyi MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültüründe kontrol grubunda (2727,20±191,20 pg/ml) yüksek düzeyde salgılanmakla birlikte tekli kültürlere göre baskılandığı, poli(I:C) prime ko-kültür grubunda (>3533,53 pg/ml) tespit sınırlarının üzerinde olduğu, MKH ve PMA/THP-1 direkt ko-kültüründe kontrol grubunda daha belirgin olmak üzere hem kontrol (1265,20±215,61 pg/ml) hem de poli(I:C) prime gurupta (1848,54±124,95 pg/ml) CCL4/MIP-1β'nın baskılandığı bulundu.

Bu veri MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminde CCL4'ün çok yüksek oranda salgılanmasına rağmen tek başlarına oldukları ortamla karşılaştırıldığında salgılanmasının baskılanabileceğini, bu baskılanmanın direk kontak halinde olduklarında daha fazla olabileceğini, MKH ve makrofajlar direk viral yangı ortamında etkilendiklerinde salgılanmanın artmasına rağmen bu artışın tek başlarına ve birbirlerinden uzak viral yangı ortamında salgıladıkları kadar olmayabileceğini göstermektedir.

CXCL10 (IP10) LPS ve İFN-γ aktivasyonu sonrasında M1 plastisite gösteren makrofajlardan salgılandığından (Corbera-Bellalta ve diğerleri, 2016; Dufour ve diğerleri, 2002; Kastenmüller ve diğerleri, 2013; Mantovani ve diğerleri, 2004; Rosenblum ve diğerleri, 2010) ve monositler için kemoatraktan olduğundan bahsedilmişti (Wenjuan Xuan ve diğerleri, 2015).

İnsan BM üzerinde yapılan çalışmalarda kontrol grubunda CXCL10 (IP10)'nun üretilmediği, kısa süreli (1 saat ve 6 saat) 1-20 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiğinde salınımının çok fazla miktarda arttığı bulunmuştur (Rashedi ve diğerleri, 2017; Waterman ve diğerleri, 2010) ve yine aynı şekilde insan BM-MKH'larla yapılan bir diğer çalışmada uzun süreli (24 saat) kültüre edildiğinde kontrol gurubunda CXCL10 (IP10)'nun bazal seviyede salgılandığı poli(I:C) ile prime grubunda ise salınımının çok fazla miktarda arttığı belirtilmektedir (Liotta ve diğerleri, 2008).

PMA/THP-1'lerle yapılan bir çalışmada kontrol grubunda CXCL10 (IP10) mRNA'sının bazal seviyede üretildiği, kısa süreli (8 saat) 20 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiğinde CXCL10 (IP10) mRNA üretiminin arttığı (Lyons ve diğerleri, 2015), PMA/THP-1'lerin uzun süreli (48 saat) 20 μg/ml poli(I:C) ile prime edildiği durumda CXCL10 (IP10) salgılanmasının arttığı bulunmuştur (Lyons ve diğerleri, 2015).

Bizim yaptığımız çalışmada MKH'larda kontrol grubunda (23,03 pg/ml) ve poli(I:C) prime grupta (31,53±1,00 pg/ml) bazal seviyeye yakın salgılandığı, PMA/THP-1'lerde kontrol grubunda yüksek miktarda salgılandığı (999,16 pg/ml) poli(I:C) ile prime grupta ise salgılanmasının çok daha fazla arttığı (15282,45±680,69) bulundu.

Literatürde viral yangıda MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminin CXCL10(IP10) salgılanması üzerine etkisine ait veriye rastlanmamıştır.

Bizim yaptığımız çalışmada CXCL10(IP10) salgılanmasının MKH ve PMA/THP-1 transvel ko-kültüründe kontrol grubunda (18127,69±496,0 pg/ml) tekli kültürlere göre daha fazla olduğu, poli(I:C) ile prime transvel ko-kültüründe (17554,49±790,61 pg/ml) kontrol grubundan daha az ancak hala yüksek düzeyde salgılanmaya devam etmekle birlikte tekli kültürlerle karşılaştırıldığında yaklaşık aynı seviyede salgılandığı, görülmüştür.

CXCL10 (IP10) salgısı MKH ve PMA/THP-1 direkt ko-kültürde kontrol grubunda (168,77±7,61 pg/ml) çok belirgin derecede baskılandığı, poli(I:C) prime grubunda ise (572,66±150,95 pg/ml) kontrolden daha yüksek salgılanmakla birlikte tekli kültüre ve transvel ko-kültüre oranla çok belirgin şekilde baskılandığı bulundu.

Bu veri CXCL10'nun makrofajlar tarafından salgılandığını, viral yangı ortamında salgılanmasının çok fazla miktarda artabileceğini, MKH ve makrofaj birbirine uzakken salgılanan faktörler aracılığı ile birbirini etkilediğinde bu salgılanmanın daha da artarak yüksek seviyede devam edebileceğini, viral yangı ortamında salgılanan faktörlerin CXCL10 salınımını baskılayabilsede hala tek başlarına viral yangı ortamında bulunduklarından daha fazla olabileceğini, ve tam tersine MKH ve makrofajlar birbiri ile direk kontak halinde iken CXCL10'nun salgılanmasının baskılanabileceğini, viral yangı ortamında direk kontak halindeyken salınımında artış olsada tek başlarına viral yangı ortamında bulundukları durumla karşılaştırıldıklarında belirgin düzeyde az salgılanıyor olabileceğini göstermektedir.

Özetle MKH ve makrofajların birbirinden uzakta oldukları ortamda İL-6, CXCL10, CCL22, CCL4 çok yüksek seviyede, CCL2'nin yüksek seviyede, TNF-α, İNF-γ, İL-17A'nın salgılanabileceği, İDO, İL-4, İL-5, İL-13, TGF-β, İL-12, İL-10, İL-15'in seviyesinin çok düşük olabileceği, salgılanan faktörlerin etkisi ile İL-6 (çok fazla) , CXCL10, CCL2, İNF-γ (az) ve İL-17A(az) artabileceği, CCL22, CCL4, TNF-α, IDO, İL-1β'nın azalabileceği, 1 μg/ml poli(I:C) ile hem MKH ve hem de PMA/THP-1'ler prime edilerek 48 saat transvel ortamında ko-kültüre edilerek viral yangıda kronik dönemdeki (uzun süreli/düşük dozda)

mikro çevre taklit edilip, MKH ve makrofajların salgıladığı moleküllerle incelenmeyesi sonucunda ise İL-6, İNF-γ (hafif) ve İL-17A'da (hafif) artış, CCL22, CXCL10, IDO (hafif) azalma olabileceğini göstermektedir.

Çizelge 5.8. Literatürde ve bizim yaptığımız uyarımsız ve poli(I:C) ile prime MKH ve PMA/THP-1 lerin tek başına ve ko-kültürlerinin immün molekül üretim sonuçlarının karşılaştırılması (ND: not detected)

Literatürde ve bizim yaptığımız uyarımsız ve poli(I:C) ile prime MKH ve PMA/THP-1 lerin tek başına ve ko-kültürlerinin immün molekül üretim sonuçlarının karşılaştırılması												
	MKH TEK BAŞINA (pg/mL, Ort.+SE)				MAKROFAJLAR TEK BAŞINA (pg/mL, Ort.+SE)				TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI (pg/mL, Ort.+SE)		DİREKT KO-KÜLTÜRÜ SONRASI (pg/mL, Ort.+SE)	
ANALİZ EDİLEN İMMÜN MOLEKÜL	LİTERATÜRDE TEK BAŞINA KÜLTÜR KONTROL GRUBU (UYARIMSIZ)	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA TEK BAŞINA KÜLTÜR KONTROL GRUBU (UYARIMSIZ)	LİTERATÜRDE TEK BAŞINA POLİ(I:C) PRİME	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA TEK BAŞINA POLİ(I:C) PRİME	LİTERATÜRDE TEK BAŞINA KÜLTÜR KONTROL GRUBU (UYARIMSIZ)	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA TEK BAŞINA KÜLTÜR KONTROL GRUBU (UYARIMSIZ)	LİTERATÜRDE TEK BAŞINA POLİ(I:C) PRİME	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA TEK BAŞINA POLİ(I:C) PRİME	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA İKİ GRUPTA UYARIMSIZ KO-KÜLTÜR KONTROL GRUBU	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA İKİ GRUPTA POLİ(I:C) PRİME	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA İKİ GRUPTA UYARIMSIZ KO-KÜLTÜR KONTROL GRUBU	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA İKİ GRUPTA POLİ(I:C) PRİME
İL–4	salgılamıyor	0,62	salgılamıyor	0,84±0,03	salgılanmıyor	3,50	salgılanmıyor	3,1133±0,14	5,03±0,05	5,25±0,12	3,65±0,18	3,76±0,12
İL–5	**Düşük ND**	ND	salgılamıyor	0,00	**Düşük ND**	1,5	**Düşük ND**	1,496±0,166	2,11±0,14	2,29±0,04	1,63±0,17	1,64±0,34
İL-10	bazal seviyeye yakın salgılanıyor	7,49	salgılanmasının az miktarda arttığı	9,19±0,37	salgılanması bazal düzeyde	18,57	salgılanmasının arttığı	18,28±0,20	31,45±1,40	32,35±0,72	24,00±1,35	22,85±1,33
İL–13	**Düşük ND**	0,47	**Düşük ND**	0,73±0,028	az miktarda salgılanıyor	2,03	salgılanmasının az miktarda arttığı	1,87±0,08	2,33±0,10	2,83±0,17	2,00±0,279	1,90±0,24
TGF-β	az miktarda salgılanıyor	46,09±1,40	baskılanarak salgılanmasının azaldığı	52,826±0,48	M2 makrofajlarda salgılanıyor	39,27±4,788	**Düşük ND**	40,967±4,21	51,26±44,35	42,09±3,85	50,37±3,33	49,81±2,81
CCL22	**Düşük ND**	1113,15±102,1	**Düşük ND**	1101,8±69,11	**Düşük ND**	1245,22±48,52	**Düşük ND**	1167,52±16,43	1299,91±45,87	1251,224±9,59	1309,92±34,20	1154,84±68,59
İL-1β	bazal düzeyde salgılanıyor	0,57	bazal düzeyde salgılanıyor	0,50±0,07	bazal düzeyde salgılanıyor	338,80	salınımı artıyor	98,22±18,82	33,94±2,97	38,22±1,64	26,70±3,32	28,89±2,45
İL-6	salgılanıyor	805,38	çok daha fazla arttığı	978,47±43,15	salgılanıyor	12,63	salgılanmasının arttığı	0	>19601,20	>19601,20	18746,58±854,61	>22668,66
İL-12	bazal seviyeye yakın üretiliyor	22,71	bazal seviyeye yakın az miktarda artıyor	27,62±1,01	salgılanmıyor	49,96	salgılanmıyor	55,66±1,70	71,02±2,12	76,32±1,75	47,34±2,52	49,80±1,79

Çizelge 5.8. (devam) Literatürde ve bizim yaptığımız uyarımsız ve poli(I:C) ile prime MKH ve PMA/THP-1 lerin tek başına ve ko-kültürlerinin immün molekül üretim sonuçlarının karşılaştırılması (ND: not detected)

Literatürde ve bizim yaptığımız uyarımsız ve poli(I:C) ile prime MKH ve PMA/THP-1 lerin tek başına ve ko-kültürlerinin immün molekül üretim sonuçlarının karşılaştırılması												
	MKH TEK BAŞINA (pg/mL, Ort.+SE)				MAKROFAJLAR TEK BAŞINA (pg/mL, Ort.+SE)				TRANSVEL KO-KÜLTÜRÜ SONRASI (pg/mL, Ort.+SE)		DİREKT KO-KÜLTÜRÜ SONRASI (pg/mL, Ort.+SE)	
ANALİZ EDİLEN İMMÜN MOLEKÜL	LİTERATÜRDE TEK BAŞINA KÜLTÜR KONTROL GRUBU (UYARIMSIZ)	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA TEK BAŞINA KÜLTÜR KONTROL GRUBU (UYARIMSIZ)	LİTERATÜRDE TEK BAŞINA POLİ(I:C) PRİME	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA TEK BAŞINA POLİ(I:C) PRİME	LİTERATÜRDE TEK BAŞINA KÜLTÜR KONTROL GRUBU (UYARIMSIZ)	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA TEK BAŞINA KÜLTÜR KONTROL GRUBU (UYARIMSIZ)	LİTERATÜRDE TEK BAŞINA POLİ(I:C) PRİME	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA TEK BAŞINA POLİ(I:C) PRİME	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA İKİ GRUPTA UYARIMSIZ KO-KÜLTÜR KONTROL GRUBU	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA İKİ GRUPTA POLİ(I:C) PRİME	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA İKİ GRUPTA UYARIMSIZ KO-KÜLTÜR KONTROL GRUBU	BİZİM ÇALIŞMAMIZDA İKİ GRUPTA POLİ(I:C) PRİME
TNF-α	mRNA bazal seviyeye yakın üretildiği	5,70	mRNA bazal seviyeye yakın üretildiği	8,63±0,33	salgılanıyor	246,96	salgılanması artıyor	139,03±9,33	84,89±3,18	89,30±2,29	39,16±1,89	40,79±0,88
IDO	mRNA üretimi bazal seviyede	37,37±2,94	mRNA üretiminin arttığı	42,069±2,05	salgılanmıyor	44,47±3,336	salgılanıyor	46,853±,46	49,77±3,35	42,489±3,90	47,02±1,93	35,77±5,179
İL–15	**Düşük ND**	0	**Düşük ND**	0,00	**Düşük ND**	6,56	**Düşük ND**	8,316±0,44	15,37±0,53	17,50±0,17	6,40±0,51	7,49±0,37
İL–17A	**Düşük ND**	0	**Düşük ND**	5,45±0,00	salgılanmıyor	75,88	salgılanmıyor	79,16±2,02	89,75±2,79	98,95±2,38	65,18±3,56	72,46±0,50
İFN-γ	salgılanmıyor	55,10	salgılanmıyor	73,37±2,11	salgılanmıyor	226,46	salgılanmıyor	205,06±9,217	352,36±1,60	385,35±17,66	257,51±11,80	274,75±6,63
CCL2 MCP–1	salgılanmıyor	17,58	salgılanmıyor	28,31±1,22	mRNA üretiliyor	370,21	mRNA üretiminin arttığı	574,52±18,44	623,63±10,29	623,61±43,17	413,55±16,24	442,82±7,72
CCL3 MIP–1α	UC-MKH' bazal seviyede	0	UC-MKH' artış	3,68±3,28	bazal seviyede	>958,18	belirgin düzeyde artış	>958,18	>958,18	>958,18	920,05±38,12	>958,18
CCL4 MIP–1β	bazal seviyede salgılanıyor	0	salgılanmasının hafif düzeyde artış	5,39±0,53	protein miktarı bazal seviyede	3350,2	protein miktarının arttığı	>3533,53	2727,20±191,20	>3533,53	1265,20±215,61	1848,54±124,95
CXCL10 (IP10)	bazal seviyede salgılanıyor	23,03	salınımı çok fazla miktarda artıyor	31,53±1,00	salgılanması bazal seviyede	999,16	salgılanmasının arttığı	15282,45±680,69	18127,69±496,0	17554,49±790,61	168,77±7,61	572,66±150,95

6. SONUÇ

İL18R: Makrofajlardan salgılanan İL-18'in özellikle MAS'ın patogenezinde rol oynadığı ifade edilmektedir. ilk defa MKH'ların İL-18R eksprese ettiği, TLR3 üzerinden gelen sinyallerin İL-18R ekspresyonunu artırdığı ve ortamda TLR3 üzerinden prime edilmiş makrofajlardan salgılanan faktörlerin bulunmasıyla İL-18R eksprese eden hücrelerin yüzdesinin daha da arttığı özetle viral yangılarda MKH'ların hem viral hem de makrofajlar tarafından uyarılarak, İL-18 aracılı tehlike sinyaline daha duyarlı hale geldiği göstermektedir.

HLA-G: MKH'ların makrofajlarla uyarımsız ko-kültürlerinde MKH'larda HLA-G ekspresyonu negatif olarak bulunurken hem MHK ve hamda PMA/THP-1'lerin poli(I:C) ile prime edildiği ko-kültürlerde HLA-G (%39,5) eksprese eden hücreler gösterildi. Bu veri ilk defa MKH'ların viral yangıyı algıladıktan sonra makrofajlardan da salgılanan faktörlerin etkisiyle daha immün baskılayıcı bir fenotipe dönüştüğünü göstermektedir.

CD80: ilk defa viral yangılarda ne virüslerin ne de makrofajlardan salgılanan faktörlerin MKH'lar da ko-stimulatör bir molekül olan CD80 ekspresyonuna neden olmadığını ve MKH'ları immün sitemi uyarıcı bir fenotipte dönüştürmediğini göstermektedir.

CD86: ilk defa viral yangıda MKH'nın TLR3 üzerinden tek başına uyarılmasının bir ko-stimulatör molekül olan CD86 ekspresyonu için yeterli olmadığını MKH'nın TLR3 üzerinden uyarılması ile birlikte TLR3 üzerinden uyarılan makrofajlardan salgılanan faktörlere ihtiyaç duyduğunu göstermektedir.

CD192/CCR2; ilk defa viral yangılarda MKH'lara sadece TLR3 üzerinden gelen sinyallerin CD192/CCR2 üzerinden yangı bölgesine göçünde yeterli olmadığı, ancak viral yangılarda MKH'lara TLR3 üzerinden gelen sinyaller TLR3 üzerinden uyarılan makrofajlardan salgılanan faktörlerin etkisinin kombinasyonu ile MKH'ların CD192/CCR2 aracılığı ile viral yangı bölgesine göç edebileceğini göstermektedir.

CD197(CCR7); ilk defa viral yangılarda TLR3 üzerinden uyarılan MKH'ların TLR3 üzerinden uyarılan makrofajlardan salgılanan faktörlerin kombine etkisiyle CD197(CCR7) aksı üzerinden yangı bölgesine göç edebileceğini göstermektedir.

CD206; ilk defa viral yangıda TLR3 ile uyarılan MKH'ların TLR3 ile uyarılan makrofajlardan da salgılanan faktörlerin etkisi ile CD206 eksprese ettikleri ve CD206'nın MEM belirteci olarak kullanıldığı gibi viral yangıda makrofajlardan etkilenen ve immün baskılayıcı özellik kazandığı düşünülen MKH'lar içinde bir yüzey belirteci olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Özetle bu çalışmada 1 μg/ml poli(I:C) ile hem MKH ve hem de PMA/THP-1'ler prime edilerek 48 saat transvel ortamında ko-kültüre edilerek viral yangının kronik dönemdeki (uzun süreli /düşük dozda) mikro çevre taklit edilip, MKH ve makrofajların yüzey molekül ekspresyonundaki dolayısıyla hücrelerin immün fenotipindeki değişikliklerin incelenmeyesi sonucunda ilk defa viral yangıda TLR3 üzerinden uyarılan MKH'ların TLR3 ile uyarılan makrofajlardan salgılanan faktörlerin etkisi ile;

- TLR4 + (%38) hale gelerek bakteriyel yangılara duyarlılığını artırabileceğini,
- İL-18R + (%87) hücrelerin yüzdesinin artarak ortamdaki İL-18 daha duyarlı hale gelebileceği,
- CD80 -, CD86 + (%33), HLA-G + (%40) ve CD206+ (%30) hale gelerek immün baskılayıcı bir fenotipe dönüşebileceği,
- CD192/CCR2 + (%44) ve CD197/CCR7 + (%46) hale gelerek viral yangı bölgesine göç edebileceği,
- HA ekspresyonunu artırarak oradaki makrafajlara daha kuvvetli bağlanabileceği ve onları yangı baskılayıcı MEM tipine dönüştürebileceği söylenebilir.

TLR4: ilk defa makrofajların viral yangılarda TLR3 üzerinden uyarılmasının ve TLR3 üzerinden uyarılan MKH'lardan salgılanan faktörlerin kombine etkisi ile LPS/TLR4 aksı üzerinden bakteriyel yangıya karşı daha duyarlı hale getirebileceği gösterilmektedir.

İL-18R: ilk defa makrofajların viral yangıda azalan İL-18 (daha önce gösterilmiş) yanıt olarak hem uyarımsız MKH'lardan hem de TLR3 üzerinden uyarılan MKH'lardan salgılanan faktörlerin kombine etkisi ile İL-18R eksprese eden makrofajların yüzdesinin artırabileceğini ancak bu artışın makrofajların yangı ortamında tek başına bulundukları kadar (%84) yüksek olmayabileceğini göstermektedir. Sonuç olarak viral yangıda makrofajlar ortamda azalan İL-18 ile aktive olmaları MKH'lar tarafından baskılanabileceği düşünülebilir.

HLA-G; ilk defa makrofajların viral yangıda TLR3 üzerinden uyarılmış MKH'lardan salgılanan faktörler aracılığı ile HLA-G aracılı yangı baskılayıcı bir fenotipe dönüşebileceğini göstermektedir.

CD80; ilk defa makrofajlardan etkilenen MKH'ların salgıladıkları faktörler aracılığı ile makrofajların aktifleşerek bir ko-stimülatör molekül olan CD80 ekspresyonuna neden olabileceği, viral yangıda MKH'lardan salgılanan faktörlerin etkisiyle CD80 eksprese eden makrofajların yüzdesinin dahada artabileceği, sadece makrofajların aktive olduğu durumda CD80 eksprese eden aktive olmuş makrofajların yüzdesinin dahada artabileceğini göstermektedir. Bu nedenle viral yangı ortamında MKH'ların TLR3 üzerinden uyarılması sonucu salgılanan faktörlerin CD80 eksprese eden makrofaj yüzdesini dolayısı ile diğer immün hücreleri aktive eden makrofaj yüzdesinin azalabileceği söylenebilir.

CD86; ilk defa makrofajlardan etkilenen MKH'ların salgıladıkları faktörler aracılığı ile bir ko-stimülatör molekül olan CD86 eksprese eden makrofajların yüzdesinin artırabileceğini, viral yangıda karşılıklı etkileşimin etkisinin daha belirgin ortaya çıkabileceğini ve CD86 eksprese eden aktive olmuş makrofajların yüzdesinin daha da artabileceğini, viral yangıda makrofajların aktivasyon için her iki hücre grubunun da aktive olması gerektiğini uyarılmayan MKH'ların CD86 eksprese eden makrofaj oluşumuna yeterince neden olamayacağını göstermektedir.

CD192/CCR2; ilk defa viral yangıda MKH'lardan salgılanan faktörlerin etkisi ile makrofajların CCR2(CD192)/CCL2 aksına bağlı yangı alanına göçünü azaltabileceğini göstermektedir.

CD197/CCR2; Bu veri ilk defa viral yangıda ise MKH'ların makrofajların CCR7/CD197 aksı üzerinden kemotaksisini çok hafif seviyede artırabileceğini göstermektedir.

CD206; ilk defa viral yangıda MEM'lerin CD206 pozitif olabileceğini ve bir yüzey belirteci olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

ilk defa viral yangıda virüslerin uyarımının veya TLR3 üzerinden uyarılan MKH'lardan salgılanan faktörlerin makrofajlarda eksprese edilen CD31 aracılığı ile hücre yapışmasını etkilemediğini göstermektedir.

CD14; Viral yangının CD14 ekspresyonu üzerine etkisinin değerlendirilmesi için daha detaylı bir çalışma yapılması gerekmektedir

CD45; ilk defa viral yangı ortamında MKH'larla makrofajların karşılıklı etkileşiminin CD45 eksprese eden makrofajlarların yüzdesini etkilemeyebileceğini göstermektedir.

Özetle bu çalışmada 1 μg/ml poli(I:C) ile hem MKH ve hem de PMA/THP-1'ler prime edilerek 48 saat transvel ortamında ko-kültüre edilerek viral yangıdaki kronik dönemdeki (uzun süreli /düşük dozda) mikro çevre taklit edilip MKH ve makrofajların viral yangıda karşılıklı salgıladığı moleküllerle yüzey molekül ekspresyonundaki dolayısıyla hücrelerin immün fenotipindeki değişiklikler incelenmeye çalışılmış olup, viral yangıda MKH'lardan salgılanan faktörlerin etkisi ile makrofajların;

- viral yangıda tek başına bulunduğu durumla karşılaştırıldığında; İL-18R eksprese eden makrofajların yüzdesinin belirgin düzeyde azalacağı (% 30) dolayısı ile ortamdaki İL-18'e ile aktivasyonunda azalacağı,

- TLR4 (%27) eksprese ederek bakteriyel yangılar duyarlılığını artırabileceği,

- kontrole göre CD80 + olanların yüzdesinde hafifi bir artış olmakla birlikte sadece makrofakların prime olduğu ko-kültüre göre daha baskılanması nedeni ile diğer immün hücreleri aktive edecek sinyal üreten makrofajların yüzdesinin azalabileceği,

- CD86 + makrofajların yüzdesinin artabileceği (%75),

- HLA-G + (%39,4), CD206 + (%39) ve literatürde belirtildiği gibi arginaz + hale gelip, viral yangının kronik fazında immübaskılayıcı bir karakter kazanabileceği,

    - CD192 (CCR2) + hücrelerin yüzdesi belirgin azalarak (%39) yangı alanına göçün azalabileceği söylenebilir.

İL-4, İL-5,İL-13, TGF-β, İL-12; ilk defa MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminde İL-4, İL-5,İL-13, TGF-β, İL-12 ve İL-10'nun çok düşük seviyede salgılana bileceği, viral yangıda MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşimlerinin etkisi sonucu İL-4, İL-5,İL-13, TGF-β, İL-12 ve İL-10 seviyesinde belirgin bir değişiklik olmayabileceğini göstermektedir.

İL-10; ilk defa MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminde İL-10 düşük seviyede salgılana bileceği tekli ortamlara göre çok hafif bir artış olabileceği, viral yangıda MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşimlerinin etkisi sonucu İL-10 seviyesinde belirgin bir değişiklik olmayabileceğini göstermektedir.

TGF-β; Bu veri ilk defa MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminde TGF-β'nın düşük seviyede salgılana bileceği, viral yangıda MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşimlerinin etkisi sonucu sadece birbirlerinden uzakta oldukları durumda İL-13 seviyesinde hafif bir azalma olabileceğini göstermektedir.

CCL22; Bu veri ilk defa MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminde CCL22/MDC'nin yüksek seviyede salgılana bileceği ancak CCL22'nin hücreler yalnız başına oldukları seviye ile karşılaştırıldığında seviyesinin düştüğü bu nedenle karşılıklı etkileşimin CCL22'nin baskılanmasına neden olabileceği düşünülebilir. Ayrıca viral yangıda MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşimlerinin etkisi sonucu CCL22/MDC'nin yüksek seviyede salgılana bileceği, hücreler yalnız başına viral yangı ortamında oldukları seviye ile karşılaştırıldığında

seviyesinin düşebileceği, bu baskılanmanın birbirlerine yakın olduklarında daha fazla olabileceği, bu nedenle viral yangıda MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminde her ne kadar CCL22 seviyesi çok yüksekte olsa aslında baskılanmış olabileceğini gösterebilir.

İL-1β; Yangı olmayan ortamda ve viral yangı ortamında MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşimi sonucu İL-1β'nın çok düşük seviyede salgılanabileceği, her ne kadar fare kardiyomiyopati modelinde viral yangı durumunda MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminde İL-1β salınımının daha çok baskılandığı belirtilse de yangı olmadığı durumla viral yangı ortamı karşılaştırıldığında MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminin İL-1β salınımının baskılanması açısından bir değişikliğe neden olmaya bileceğini dolayısıyla viral yangının İL-1β seviyesinin baskılanmasında etki etmiyebileceği düşünülebilir.

İL-6; ilk defa MKH ve makrofajların ko-kültür ortamında İL-6 salınımını çok fazla artırdıkları viral yangı ortamında ise karşılıklı bu etkileşimin İL-6 salgısını çok daha fazla arttırabileceğini göstermektedir.

TNF-α; ilk defa viral yangının etkisinden bağımsız olarak MKH ve makrofajların direkt kontak halinde daha fazla olmak üzere direk kontak ve salgılanan faktörler etkisiyle TNF–α salınımının belirgin ölçüde baskılanabileceğini göstermektedir.

İL-12; ilk defa MKH ve makrofajların birbirinden uzakta olduklarında İL-12 salınımının etkilenmediği çok düşük düzeyde salınmaya devam edildiği, direk karşılıklı etkileşimde çok düşük düzeyde salgılandığı, direk karşılıklı etkileşiminde viral yangıdan bağımsız olarak İL-12 salgılanmasının baskılanabileceğini göstermektedir.

IDO; bu veri makrofaj ve MKH'ların çok düşük düzeyde IDO salgıladığı, karşılıklı etkileşimi sonucu düşük seviyede salgılanmaya devam edebileceği, viral yangıda direk kontak halinde daha fazla olmak üzere IDO salınımının hafif düzeyde baskılanarak çok düşük seviyede salgılanabileceğini göstermektedir.

İL-15; bu veri literatürde ilk defa MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminde İL-15'in çok düşük düzeyde salgılanabileceğini, birbirinden uzakta olduğu zaman İL-15 düzeyinde çok hafif bir artma olabileceğini, viral yangı ortamında MKH ve makrofajların karşılıklı

etkileşimi sonrası makrofajların İL-15 salgılamasının değişmeden çok düşük düzeyde salgılanmaya devam edebileceğini göstermektedir.

İL-17A; Bu veri literatürde ilk defa İL-17A'nın MKH ve makrofajın birbirinden uzakta olduğu zaman salınımında artış olabileceğini ancak viral yangı ortamında birbirlerinden uzakta oldukları zaman salınımının aynı düzeyde devam edebileceğini, MKH ve makrofajların birbirlerine yakın oldukları ortamda ise salgılanmasında hafif bir baskılanma olabileceğini, viral yangı ortamında birbirlerine yakın olduklarında İL-17A salınımının hafif düzeyde artabileceğini göstermektedir.

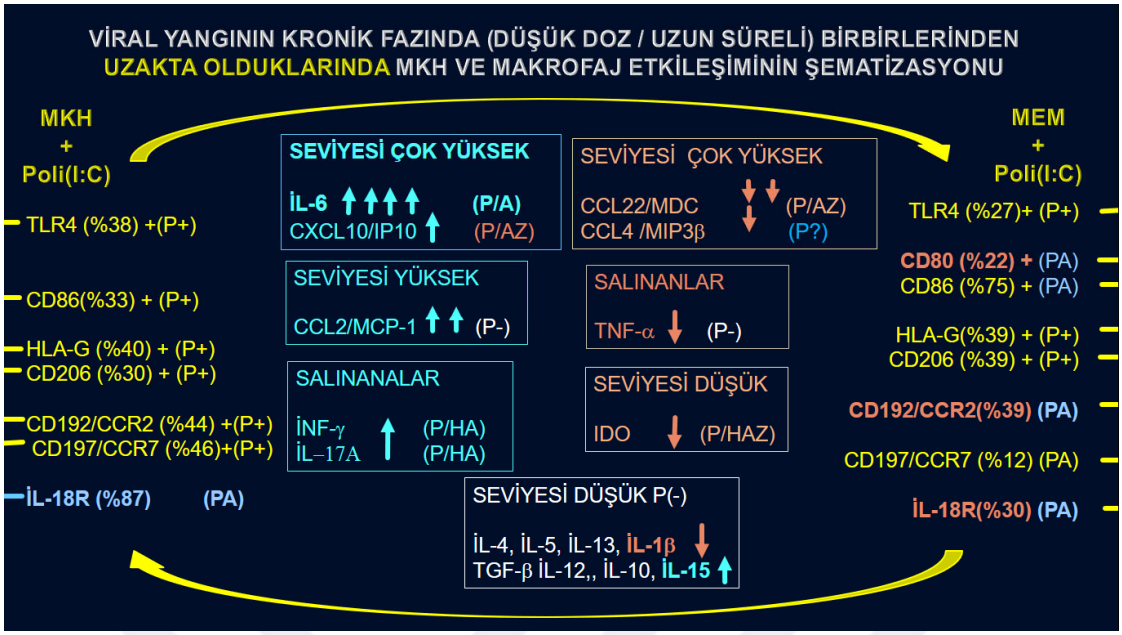
İFN-γ; Bu veri ilk defa MKH ve makrofajların birbirinden uzakta olduklarında karşılıklı etkileşiminde İFN-γ'nın salgılanabileceğini, seviyesinin tek başına olduklarından daha fazla olabileceğini, viral yangıda seviyesinin daha da artabileceğini, MKH ve makrofajların birbirlerine yakın oldukları durumda ise salgılanmasının baskılanabileceğini, viral yangı ortamında birbirine yakın olduklarında ise hafif düzede artarak tek başına salgıladıkları düzeye yakın salgılanabileceğini göstermektedir.

CCL2/MCP-1; Bu veri ilk defa MKH ve makrofajların birbirinden uzakta olduğu zaman salgılanan faktörler aracılığı ile karşılıklı etkileştiklerinde CCL2/MCP-1 salınımını olduğu, dolayısıyla monosit göçünü tetikleye bileceğini, ancak birbirlerinden uzakta olduklarında viral yangının CCL2 salgılanmasında artışa neden olmayacağından, MKH ve makrofajlar yakın temas halinde bulunduklarında ise CCL2/MCP-1 salınımının dolayısıyla monosit göçünün baskılanabileceğini, birbirlerine yakın temasta olduklarında viral yangı durumunda her nekadar hafif bir miktarda artma olsa da, tek başlarına viral yangı ortamında bulunmaları ile ve birbirlerinden uzakta viral yangı ortamında bulunmaları ile karşılaştırıldığında salınımının daha az olabileceği söylenebilir.

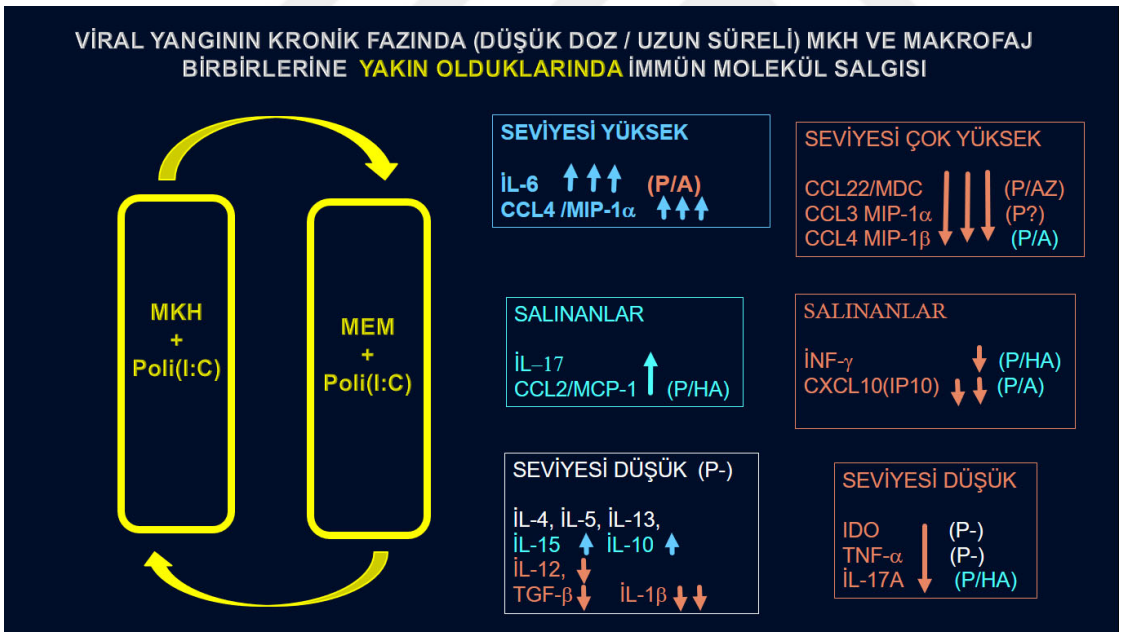
CCL3/MIP-1α seviyesinin poli(I:C) ile prime gurupta tespit seviyesinin üzerinde olduğu için viral yangı ortamında MKH ve makrofajlarının karşılıklı etkileşiminin CCL3/MIP-1α salgılanmasını nasıl etkileyeceği konusunda yorum yapılamamakla birlikte bu veri ilk defa MKH ve PMA/THP-1'lerin direkt etkileşiminin CCL3/MIP-1α salgılanmasını baskılayabileceğini göstermektedir.

Bu veri MKH ve makrofajların karşılıklı etkileşiminde CCL4'ün çok yüksek oranda salgılanmasına rağmen tek başlarına oldukları ortamla karşılaştırıldığında salgılanmasının baskılanabileceğini, bu baskılanmanın direk kontak halinde olduklarında daha fazla olabileceğini, MKH ve makrofajlar direk viral yangı ortamında etkilendiklerinde salgılanmanın artmasına rağmen bu artışın tek başlarına ve birbirlerinden uzak viral yangı ortamında salgıladıkları kadar olmayabileceğini göstermektedir.

CXCL10 (IP10); Bu veri CXCL10'nun makrofajlar tarafından salgılandığını, viral yangı ortamında salgılanmasının çok fazla miktarda artabileceğini, MKH ve makrofaj birbirine uzakken salgılanan faktörler aracılığı ile birbirini etkilediğinde bu salgılanmanın daha da artarak yüksek seviyede devam edebileceğini, viral yangı ortamında salgılanan faktörlerin CXCL10 salınımını baskılayabilsede hala tek başlarına viral yangı ortamında bulunduklarından daha fazla olabileceğini, ve tam tersine MKH ve makrofajlar birbiri ile direk kontak halinde iken CXCL10'nun salgılanmasının baskılanabileceğini, viral yangı ortamında direk kontak halindeyken salınımında artış olsada tek başlarına viral yangı ortamında bulundukları durumla karşılaştırıldıklarında belirgin düzeyde az salgılanıyor olabileceğini göstermektedir. Çizelge 7.1'de özetlendiği gibi MKH ve makrofajların birbirinden uzakta oldukları ortamda İL-6, CXCL10, CCL22, CCL4 çok yüksek seviyede, CCL2'nin yüksek seviyede, TNF-α, İNF-γ, İL-17A'nın salgılanabileceği, İDO, İL-4, İL-5, İL-13, TGF-β, İL-12, İL-10, İL-15'in seviyesinin çok düşük olabileceği, salgılanan faktörlerin etkisi ile İL-6 (çok fazla) , CXCL10, CCL2, İNF-γ (az) ve İL-17A (az) artabileceği, CCL22, CCL4, TNF-α, IDO, İL-1β'nın azalabileceği, 1 μg/ml poli(I:C) ile hem MKH ve hem de PMA/THP-1'ler prime edilerek 48 saat transvel ortamında ko-kültüre edilerek viral yangıda kronik dönemdeki (uzun süreli/düşük dozda) mikro çevre taklit edilip, MKH ve makrofajların salgıladığı moleküllerle incelenmeyesi sonucunda ise İL-6, İNF-γ (hafif) ve İL-17A'da (hafif) artış, CCL22, CXCL10, IDO (hafif) azalma olabileceğini göstermektedir. Çizelge 7.2'de özetlendiği gibi MKH ve Makrofajlar birbirine direk temas halinde olmaları birbirlerine uzakta olmaları ile kıyaslandığında en belirgin değişiklik CXCL10 salgılanmasında olmakatadır. Direk temas halindeyken CXCL10 seviyesinin çok düşük olabileceğiviral yangıda biraz artış olsada uzakta olmaları ile kıyaslandığında seviyesenin çok düşük olabileceği düşünülmektedir.



Resim 7.1. Viral yangının kronik fazında MKH ve makrofajların birbirlerinden uzakta olduklarında etkileşimlerinin sonuçunun şematizasyonu (Hazırlayan: Dr. Zeynep Zehra COŞKUN)



Resim 7.2. Viral yangının kronik fazında MKH ve makrofajların birbirlerine yakın olduklarında etkileşimlerinin sonuçunun şematizasyonu (Hazırlayan: Dr. Zeynep Zehra COŞKUN)

KAYNAKLAR

Abdalla, A. E., Li, Q., Xie, L., and Xie, J. (2015). Biology of il-27 and its role in the host immunity against mycobacterium tuberculosis. *International Journal of Biological Sciences,* 11(2), 168-175.

Abdul-Aziz, A. M., Shafat, M. S., Mehta, T. K., Di Palma, F., Lawes, M. J., Rushworth, S. A., and Bowles, K. M. (2017). Mif-induced stromal pkcβ/il8 is essential in human acute myeloid leukemia. *Cancer Research,* 77(2), 303-311.

Abumaree, M. H., Al Jumah, M. A., Kalionis, B., Jawdat, D., Al Khaldi, A., Abomaray, F. M., Fatani, A. S., Chamley, L. W., and Knawy, B. A. (2013). Human placental mesenchymal stem cells (pmscs) play a role as immune suppressive cells by shifting macrophage differentiation from inflammatory m1 to anti-inflammatory m2 macrophages. *Stem Cell Rev,* 9(5), 620-641.

Acharya, M., Borland, G., Edkins, A., Maclellan, L., Matheson, J., Ozanne, B., and Cushley, W. (2010). Cd23/fcεrii: Molecular multi□tasking. *Clinical and Experimental Immunology,* 162(1), 12-23.

Aderem, A. (2003). Phagocytosis and the inflammatory response. *The Journal of infectious diseases,* 187(Supplement_2), S340-345.

Aderem, A., and Underhill, D. M. (1999). Mechanisms of phagocytosis in macrophages. *Annual Review of Immunology,* 17(1), 593-623.

Adutler-Lieber, S., Ben-Mordechai, T., Naftali-Shani, N., Asher, E., Loberman, D., Raanani, E., and Leor, J. (2013). Human macrophage regulation via interaction with cardiac adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics,* 18(1), 78-86.

Aggarwal, S., and Pittenger, M. F. (2005). Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood,* 105(4), 1815-1822.

Aggeli, I.-K., Theofilatos, D., Beis, I., and Gaitanaki, C. (2011). Insulin-induced oxidative stress up-regulates heme oxygenase-1 via diverse signaling cascades in the c2 skeletal myoblast cell line. *Endocrinology,* 152(4), 1274-1283.

Ahmad, R., El Bassam, S., Cordeiro, P., and Menezes, J. (2008). Requirement of tlr2-mediated signaling for the induction of il-15 gene expression in human monocytic cells by hsv-1. *Blood,* 112(6), 2360-2368.

Akhurst, R. J., and Hata, A. (2012). Targeting the tgfβ signalling pathway in disease. *Nature reviews Drug discovery,* 11(10), 790-811.

Akira, S. (2000). The role of il-18 in innate immunity. *Current Opinion in Immunology,* 12(1), 59-63.

Akira, S., and Kishimoto, T. (1996). Role of interleukin-6 in macrophage function. *Current Opinion in Hematology,* 3(1), 87-93.

Akiyama, K., Chen, C., Wang, D., Xu, X., Qu, C., Yamaza, T., Cai, T., Chen, W., Sun, L., and Shi, S. (2012). Mesenchymal-stem-cell-induced immunoregulation involves fas-ligand-/fas-mediated t cell apoptosis. *Cell Stem Cell,* 10(5), 544-555.

Aldo, P. B., Craveiro, V., Guller, S., and Mor, G. (2013). Effect of culture conditions on the phenotype of thp-1 monocyte cell line. *American Journal of Reproductive Immunology,* 70(1), 80-86.

Aldo, P. B., Craveiro, V., Guller, S., and Mor, G. (2013). Effect of culture conditions on the phenotype of thp□1 monocyte cell line. *American Journal of Reproductive Immunology,* 70(1), 80-86.

Alessio, M., De Monte, L., Scirea, A., Gruarin, P., Tandon, N. N., and Sitia, R. (1996). Synthesis, processing, and intracellular transport of cd36 during monocytic differentiation. *Journal of Biological Chemistry,* 271(3), 1770-1775.

Alexeev, V., Donahue, A., Uitto, J., and Igoucheva, O. (2013). Analysis of chemotactic molecules in bone marrow-derived mesenchymal stem cells and the skin: Ccl27-ccr10 axis as a basis for targeting to cutaneous tissues. *Cytotherapy,* 15(2), 171-184. e171.

Alfaro, M. P., Deskins, D. L., Wallus, M., DasGupta, J., Davidson, J. M., Nanney, L. B., Guney, M. A., Gannon, M., and Young, P. P. (2013). A physiological role for connective tissue growth factor in early wound healing. *Laboratory Investigation,* 93(1), 81-95.

Alhadlaq, A., and Mao, J. J. (2004). Mesenchymal stem cells: Isolation and therapeutics. *Stem Cells and Development,* 13(4), 436-448.

Alleva, D. G., Kaser, S. B., Monroy, M. A., Fenton, M. J., and Beller, D. I. (1997). Il-15 functions as a potent autocrine regulator of macrophage proinflammatory cytokine production: Evidence for differential receptor subunit utilization associated with stimulation or inhibition. *The Journal of Immunology,* 159(6), 2941-2951.

Almeida, C. R., Caires, H. R., Vasconcelos, D. P., and Barbosa, M. A. (2016). Nap-2 secreted by human nk cells can stimulate mesenchymal stem/stromal cell recruitment. *Stem Cell Reports,* 6(4), 466-473.

Altin, J. G., and Sloan, E. K. (1997). The role of cd45 and cd45-associated molecules in t cell activation. *Immunology and Cell Biology,* 75(5), 430-445.

Amura, C. R., Kamei, T., Ito, N., Soares, M. J., and Morrison, D. C. (1998). Differential regulation of lipopolysaccharide (lps) activation pathways in mouse macrophages by lps-binding proteins. *The Journal of Immunology,* 161(5), 2552-2560.

Ankrum, J. A., Dastidar, R. G., Ong, J. F., Levy, O., and Karp, J. M. (2014). Performance-enhanced mesenchymal stem cells via intracellular delivery of steroids. *Scientific Reports,* 4, 4645.

Ankrum, J. A., Ong, J. F., and Karp, J. M. (2014). Mesenchymal stem cells: Immune evasive, not immune privileged. *Nature Biotechnology,* 32(3), 252-260.

Anton, K., Banerjee, D., and Glod, J. (2012). Macrophage-associated mesenchymal stem cells assume an activated, migratory, pro-inflammatory phenotype with increased il-6 and cxcl10 secretion. *Public Library of Science One,* 7(4), e35036.

Aplin, A. C., Gelati, M., Fogel, E., Carnevale, E., and Nicosia, R. F. (2006). Angiopoietin-1 and vascular endothelial growth factor induce expression of inflammatory cytokines before angiogenesis. *Physiological Genomics,* 27(1), 20-28.

Arango Duque, G., and Descoteaux, A. (2014). Macrophage cytokines: Involvement in immunity and infectious diseases. *Frontiers in Immunology,* 5, 491.

Arellano, M., and Lonial, S. (2008). Clinical uses of gm-csf, a critical appraisal and update. *Biologics: targets & therapy,* 2(1), 13.

Arend, W. P., Malyak, M., Guthridge, C. J., and Gabay, C. (1998). Interleukin-1 receptor antagonist: Role in biology. *Annual Review of Immunology,* 16(1), 27-55.

Areschoug, T., and Gordon, S. (2008). Pattern recognition receptors and their role in innate immunity: Focus on microbial protein ligands. *Trends in Innate Immunity,* 15, 45-60.

Arrick, S. M. (1947). Stem cell lymphoma of the newborn. *Plastic and Reconstructive Surgery,* 2(5), 510-511.

Asai, A., Nakamura, K., Kobayashi, M., Herndon, D. N., and Suzuki, F. (2012). Ccl1 released from m2b macrophages is essentially required for the maintenance of their properties. *Journal of Leukocyte Biology,* 92(4), 859-867.

Ashcroft, G. S. (1999). Bidirectional regulation of macrophage function by tgf-β. *Microbes and Infection,* 1(15), 1275-1282.

Ashkar, A. A., and Rosenthal, K. L. (2002). Toll-like receptor 9, cpg DNA and innate immunity. *Current Molecular Medicine,* 2(6), 545-556.

Aslam, R., Kim, M., Speck, E. R., Seetanah, A. C., Molinski, S., Freedman, J., and Semple, J. W. (2007). Platelet and red blood cell phagocytosis kinetics are differentially controlled by phosphatase activity within mononuclear cells. *Transfusion,* 47(11), 2161-2168.

Athreya, B. (2002). Is macrophage activation syndrome a new entity? *Clinical and Experimental Rheumatology,* 20(2), 121-124.

Auletta, J. J., Deans, R. J., and Bartholomew, A. M. (2012). Emerging roles for multipotent, bone marrow–derived stromal cells in host defense. *Blood,* 119(8), 1801-1809.

Auwerx, J. (1991). The human leukemia cell line, thp-1: A multifacetted model for the study of monocyte-macrophage differentiation. *Experientia,* 47(1), 22-31.

Awad, F., Assrawi, E., Jumeau, C., Georgin-Lavialle, S., Cobret, L., Duquesnoy, P., Piterboth, W., Thomas, L., Stankovic-Stojanovic, K., and Louvrier, C. (2017). Impact of human monocyte and macrophage polarization on nlr expression and nlrp3 inflammasome activation. *Public Library of Science One,* 12(4), e0175336.

Baba, T., and Mukaida, N. (2014). Role of macrophage inflammatory protein (mip)-1α/ccl3 in leukemogenesis. *Molecular and Cellular Oncology,* 1(1), e29899.

Bachmann, M. F., and Oxenius, A. (2007). Interleukin 2: From immunostimulation to immunoregulation and back again. *European Molecular Biology Organization Reports,* 8(12), 1142-1148.

Bakdash, G., Sittig, S. P., van Dijk, T., Figdor, C. G., and de Vries, I. J. M. (2013). The nature of activatory and tolerogenic dendritic cell-derived signal ii. *Frontiers in Immunology,* 4, 53.

Balkwill, F. R., Capasso, M., and Hagemann, T. (2012). The tumor microenvironment at a glance. *Journal of Cell Science,* 125(Pt 23), 5591-5596.

Ball, S. G., Shuttleworth, C. A., and Kielty, C. M. (2007). Mesenchymal stem cells and neovascularization: Role of platelet□derived growth factor receptors. *Journal of Cellular and Molecular Medicine,* 11(5), 1012-1030.

Ballen, K. K., Gluckman, E., and Broxmeyer, H. E. (2013). Umbilical cord blood transplantation: The first 25 years and beyond. *Blood,* 122(4), 491-498.

Barak, V., Acker, M., Nisman, B., Kalickman, I., Abrahamov, A., Zimran, A., and Yatziv, S. (1999). Cytokines in gaucher's disease. *European Cytokine Network,* 10(2), 205-210.

Barin, J. G., Baldeviano, G. C., Talor, M. V., Wu, L., Ong, S., Quader, F., Chen, P., Zheng, D., Caturegli, P., and Rose, N. R. (2012). Macrophages participate in il□17□mediated inflammation. *European Journal of Immunology,* 42(3), 726-736.

Barker, N. (2014). Adult intestinal stem cells: Critical drivers of epithelial homeostasis and regeneration. *Nature Reviews Molecular Cell Biology,* 15(1), 19-33.

Barksby, H. E., Nile, C. J., Jaedicke, K. M., Taylor, J. J., and Preshaw, P. M. (2009). Differential expression of immunoregulatory genes in monocytes in response to porphyromonas gingivalis and escherichia coli lipopolysaccharide. *Clinical and Experimental Immunology,* 156(3), 479-487.

Barral, D. C., and Brenner, M. B. (2007). Cd1 antigen presentation: How it works. *Nature Reviews Immunology,* 7(12), 929-941.

Barros, M. H. M., Hauck, F., Dreyer, J. H., Kempkes, B., and Niedobitek, G. (2013). Macrophage polarisation: An immunohistochemical approach for identifying m1 and m2 macrophages. *Public Library of Science One,* 8(11), e80908.

Bartholomew, A., Sturgeon, C., Siatskas, M., Ferrer, K., McIntosh, K., Patil, S., Hardy, W., Devine, S., Ucker, D., and Deans, R. (2002). Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo. *Experimental Hematology,* 30(1), 42-48.

Bartosh, T. J., Ylöstalo, J. H., Mohammadipoor, A., Bazhanov, N., Coble, K., Claypool, K., Lee, R. H., Choi, H., and Prockop, D. J. (2010). Aggregation of human mesenchymal stromal cells (mscs) into 3d spheroids enhances their antiinflammatory properties. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 107(31), 13724-13729.

Bastos, K. R., Barboza, R., Sardinha, L., Russo, M., Alvarez, J. M., and Lima, M. R. D. (2007). Role of endogenous ifn-γ in macrophage programming induced by il-12 and il-18. *Journal of Interferon & Cytokine Research,* 27(5), 399-410.

Baumann, C. L., Aspalter, I. M., Sharif, O., Pichlmair, A., Bluml, S., Grebien, F., Bruckner, M., Pasierbek, P., Aumayr, K., Planyavsky, M., Bennett, K. L., Colinge, J., Knapp, S., and Superti-Furga, G. (2010). Cd14 is a coreceptor of toll-like receptors 7 and 9. *Journal of Experimental Medicine,* 207(12), 2689-2701.

Becker, A. J., McCulloch, E. A., and Till, J. E. (1963). Cytological demonstration of the clonal nature of spleen colonies derived from transplanted mouse marrow cells. *Nature,* 197(4866), 452-454.

Bellora, F., Castriconi, R., Doni, A., Cantoni, C., Moretta, L., Mantovani, A., Moretta, A., and Bottino, C. (2012). M-csf induces the expression of a membrane-bound form of il-18 in a subset of human monocytes differentiating in vitro toward macrophages. *European Journal of Immunology,* 42(6), 1618-1626.

Bender, A. T., Ostenson, C. L., Giordano, D., and Beavo, J. A. (2004). Differentiation of human monocytes in vitro with granulocyte–macrophage colony-stimulating factor and macrophage colony-stimulating factor produces distinct changes in cgmp phosphodiesterase expression. *Cellular Signalling,* 16(3), 365-374.

Benoit, M., Desnues, B., and Mege, J. L. (2008). Macrophage polarization in bacterial infections. *The Journal of Immunology,* 181(6), 3733-3739.

Benseler, V., Obermajer, N., Johnson, C., Soeder, Y., Dahlke, M., and Popp, F. (2014). Msc-based therapies in solid organ transplantation. *Hepatology International,* 8(2), 179-184.

Berger, S. B., Romero, X., Ma, C., Wang, G., Faubion, W. A., Liao, G., Compeer, E., Keszei, M., Rameh, L., and Wang, N. (2010). Slam is a microbial sensor that regulates bacterial phagosome functions in macrophages. *Nature Immunology,* 11(10), 920-927.

Bernardo, M. E., and Fibbe, W. E. (2013). Mesenchymal stromal cells: Sensors and switchers of inflammation. *Cell Stem Cell,* 13(4), 392-402.

Beuscher, H., Günther, C., and Röllinghoff, M. (1990). Il-1 beta is secreted by activated murine macrophages as biologically inactive precursor. *The Journal of Immunology,* 144(6), 2179-2183.

Beyer, M., Mallmann, M. R., Xue, J., Staratschek-Jox, A., Vorholt, D., Krebs, W., Sommer, D., Sander, J., Mertens, C., and Nino-Castro, A. (2012). High-resolution transcriptome of human macrophages. *PloS one,* 7(9), e45466.

Beyer, M., Mallmann, M. R., Xue, J., Staratschek-Jox, A., Vorholt, D., Krebs, W., Sommer, D., Sander, J., Mertens, C., Nino-Castro, A., Schmidt, S. V., and Schultze, J. L. (2012). High-resolution transcriptome of human macrophages. *Public Library of Science One,* 7(9), e45466.

Bilir, C., and Sarısozen, C. (2017). Indoleamine 2, 3-dioxygenase (ido): Only an enzyme or a checkpoint controller? *Journal of Oncological Sciences,* 3(2), 52-56.

Binger, T., Stich, S., Andreas, K., Kaps, C., Sezer, O., Notter, M., Sittinger, M., and Ringe, J. (2009). Migration potential and gene expression profile of human mesenchymal stem cells induced by ccl25. *Experimental Cell Research,* 315(8), 1468-1479.

Birnie, G. (1988). The hl60 cell line: A model system for studying human myeloid cell differentiation. *The British Journal of Cancer,* 9, 41-45.

Biswas, S. K., and Mantovani, A. (2010). Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: Cancer as a paradigm. *Nature Immunology,* 11(10), 889-896.

Biteau, B., Hochmuth, C. E., and Jasper, H. (2011). Maintaining tissue homeostasis: Dynamic control of somatic stem cell activity. *Cell Stem Cell,* 9(5), 402-411.

Blanpain, C., and Fuchs, E. (2009). Epidermal homeostasis: A balancing act of stem cells in the skin. *Nature Reviews Molecular Cell Biology,* 10(3), 207-217.

Bonnet, D., and Dick, J. E. (1997). Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nature Medicine,* 3(7), 730-737.

Bonta, P. I., van Tiel, C. M., Vos, M., Pols, T. W., van Thienen, J. V., Ferreira, V., Arkenbout, E. K., Seppen, J., Spek, C. A., and van der Poll, T. (2006). Nuclear receptors nur77, nurr1, and nor-1 expressed in atherosclerotic lesion macrophages reduce lipid loading and inflammatory responses. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology,* 26(10), 2288-2288.

Bosshart, H., and Heinzelmann, M. (2016). Thp-1 cells as a model for human monocytes. *The Annals of Translational Medicine,* 4(21), 438.

Bouchlaka, M. N., Kim, J., Bloom, D., Hematti, P., and Capitini, C. (2015). Human mesenchymal stem cell-educated macrophages: A potential therapy for gvhd and radiation injury (tran1p. 944). *Journal of Immunology,* 194(1 Supplement), 140.

Bouchlaka, M. N., Moffitt, A. B., Kim, J., Kink, J. A., Bloom, D. D., Love, C., Dave, S., Hematti, P., and Capitini, C. M. (2017). Human mesenchymal stem cell-educated macrophages are a distinct high il-6-producing subset that confer protection in graft-versus-host-disease and radiation injury models. *Biology of Blood and Marrow Transplantation,* 23(6), 897-905.

Bouffi, C., Bony, C., Courties, G., Jorgensen, C., and Noel, D. (2010). Il-6-dependent pge2 secretion by mesenchymal stem cells inhibits local inflammation in experimental arthritis. *Public Library of Science One,* 5(12), e14247.

Boyman, O., and Sprent, J. (2012). The role of interleukin-2 during homeostasis and activation of the immune system. *Nature Reviews Immunology,* 12(3), 180-190.

Brandau, S., Jakob, M., Bruderek, K., Bootz, F., Giebel, B., Radtke, S., Mauel, K., Jäger, M., Flohé, S. B., and Lang, S. (2014). Mesenchymal stem cells augment the anti-bacterial activity of neutrophil granulocytes. *Public Library of Science One,* 9(9), e106903.

Brenner, A. K., Andersson Tvedt, T. H., and Bruserud, O. (2016). The complexity of targeting pi3k-akt-mtor signalling in human acute myeloid leukaemia: The importance of leukemic cell heterogeneity, neighbouring mesenchymal stem cells and immunocompetent cells. *Molecules,* 21(11).

Broz, P., and Monack, D. M. (2013). Newly described pattern recognition receptors team up against intracellular pathogens. *Nature Reviews Immunology,* 13(8), 551-565.

Bukulmez, H., Bilgin, A., Bebek, G., Caplan, A. I., and Jones, O. (2014). A125: Immunomodulatory factors produced by mesenchymal stem cells after in vitro priming with danger signals. *Arthritis & Rheumatology,* 66(S3), S163.

Bulut, V. (2017). Macrophage plasticity in microenvironment of tumour. *Turkiye Klinikleri Journal Medical Oncology,* 10(2), 124-129.

Byrd, V. M., Kilkenny, D. M., Dikov, M. M., Reich, M. B., Rocheleau, J. V., Armistead, W. J., Thomas, J. W., and Miller, G. G. (2003). Fibroblast growth factor receptor-1 interacts with the t-cell receptor signalling pathway. *Immunology and Cell Biology,* 81(6), 440-450.

Cain, D. W., and Cidlowski, J. A. (2017). Immune regulation by glucocorticoids. *Nature Reviews Immunology,* 17(4), 233-247.

Calvi, L. M., and Link, D. C. (2015). The hematopoietic stem cell niche in homeostasis and disease. *Blood,* 126(22), 2443-2451.

Campbell, K. H., McWhir, J., Ritchie, W. A., and Wilmut, I. (1996). Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature,* 380(6569), 64-66.

Campeau, P. M., Rafei, M., François, M., Birman, E., Forner, K.-A., and Galipeau, J. (2009). Mesenchymal stromal cells engineered to express erythropoietin induce anti-erythropoietin antibodies and anemia in allorecipients. *Molecular Therapy,* 17(2), 369-372.

Cananzi, M., Atala, A., and De Coppi, P. (2009). Stem cells derived from amniotic fluid: New potentials in regenerative medicine. *Reproductive Biomedicine Online,* 18, 17-27.

Canna, S., de Jesus, A., Shi, G., Huang, Y., Sanchez, G. M., Gery, I., and Goldbach-Mansky, R. (2015). Serum il-18 is a specific biomarker for macrophage activation syndrome across several autoinflammatory diseases. *Pediatric Rheumatology,* 13(1), P10.

Cao, Q., Wang, Y., Zheng, D., Sun, Y., Wang, Y., Lee, V. W., Zheng, G., Tan, T. K., Ince, J., and Alexander, S. I. (2010). Il-10/tgf-β–modified macrophages induce regulatory t cells and protect against adriamycin nephrosis. *Journal of the American Society of Nephrology,* 21(6), 933-942.

Cao, X. (2016). Self-regulation and cross-regulation of pattern-recognition receptor signalling in health and disease. *Nature Reviews Immunology,* 16(1), 35-50.

Caplan, A. I. (2007). Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. *Journal of Cellular Physiology,* 213(2), 341-347.

Capobianco, M. P., Cassiano, G. C., Furini, C. A. A., S., M. L. M., Domingos, C. R. B., and Machado, R. L. D. (2016). Human interleukin 2 (il-2) promotion of immune regulation and clinical outcomes: A review. *Journal of Cytokine Biology*.

Cappello, P., Caorsi, C., Bosticardo, M., De Angelis, S., Novelli, F., Forni, G., and Giovarelli, M. (2004). Ccl16/lec powerfully triggers effector and antigen-presenting functions of macrophages and enhances t cell cytotoxicity. *Journal of Leukocyte Biology,* 75(1), 135-142.

Carlsen, H. S., Baekkevold, E. S., Morton, H. C., Haraldsen, G., and Brandtzaeg, P. (2004). Monocyte-like and mature macrophages produce cxcl13 (b cell–attracting chemokine 1) in inflammatory lesions with lymphoid neogenesis. *Blood,* 104(10), 3021-3027.

Carpenter, S., Wochal, P., Dunne, A., and O'Neill, L. A. (2011). Toll-like receptor 3 (tlr3) signaling requires tlr4 interactor with leucine-rich repeats (tril). *Journal of Biological Chemistry,* 286(44), 38795-38804.

Carrero, R., Cerrada, I., Lledó, E., Dopazo, J., García-García, F., Rubio, M.-P., Trigueros, C., Dorronsoro, A., Ruiz-Sauri, A., and Montero, J. A. (2012). Il1β induces mesenchymal stem cells migration and leucocyte chemotaxis through nf-κb. *Stem Cell Reviews and Reports,* 8(3), 905-916.

Cassano, J. M., Schnabel, L. V., Goodale, M. B., and Fortier, L. A. (2018). The immunomodulatory function of equine mscs is enhanced by priming through an inflammatory microenvironment or tlr3 ligand. *Veterinary Immunology and Immunopathology,* 195, 33-39.

Cassol, E., Cassetta, L., Rizzi, C., Alfano, M., and Poli, G. (2009). M1 and m2a polarization of human monocyte-derived macrophages inhibits hiv-1 replication by distinct mechanisms. *The Journal of Immunology,* 182(10), 6237-6246.

Castillo, E. F., and Schluns, K. S. (2012). Regulating the immune system via il-15 transpresentation. *Cytokine,* 59(3), 479-490.

Castoldi, A., Naffah de Souza, C., Câmara, N. O. S., and Moraes-Vieira, P. M. (2016). The macrophage switch in obesity development. *Frontiers in Immunology,* 6, 637.

Castro-Manrreza, M. E., and Montesinos, J. J. (2015). Immunoregulation by mesenchymal stem cells: Biological aspects and clinical applications. *Journal of Immunology Research,* 2015, 1-20.

Catacchio, I., Berardi, S., Reale, A., De Luisi, A., Racanelli, V., Vacca, A., and Ria, R. (2013). Evidence for bone marrow adult stem cell plasticity: Properties, molecular mechanisms, negative aspects, and clinical applications of hematopoietic and mesenchymal stem cells transdifferentiation. *Stem Cells International,* 2013, 1-11.

Celhar, T., Pereira-Lopes, S., Thornhill, S. I., Lee, H. Y., Dhillon, M. K., Poidinger, M., Connolly, J. E., Lim, L. H., Biswas, S. K., and Fairhurst, A. M. (2016). Tlr7 and tlr9 ligands regulate antigen presentation by macrophages. *International Immunology,* 28(5), 223-232.

Chabannes, D., Hill, M., Merieau, E., Rossignol, J., Brion, R., Soulillou, J. P., Anegon, I., and Cuturi, M. C. (2007). A role for heme oxygenase-1 in the immunosuppressive effect of adult rat and human mesenchymal stem cells. *Blood,* 110(10), 3691-3694.

Chan, J. L., Tang, K. C., Patel, A. P., Bonilla, L. M., Pierobon, N., Ponzio, N. M., and Rameshwar, P. (2006). Antigen-presenting property of mesenchymal stem cells occurs during a narrow window at low levels of interferon-γ. *Blood,* 107(12), 4817-4824.

Chandrasekar, B., Deobagkar-Lele, M., Victor, E. S., and Nandi, D. (2013). Regulation of chemokines, ccl3 and ccl4, by interferon γ and nitric oxide synthase 2 in mouse macrophages and during salmonella enterica serovar typhimurium infection. *The Journal of infectious diseases,* 207(10), 1556-1568.

Chanmee, T., Ontong, P., Konno, K., and Itano, N. (2014). Tumor-associated macrophages as major players in the tumor microenvironment. *Cancers,* 6(3), 1670-1690.

Chanput, W., Mes, J. J., and Wichers, H. J. (2014). Thp-1 cell line: An in vitro cell model for immune modulation approach. *International Immunopharmacology,* 23(1), 37-45.

Chanput, W., Mes, J., Vreeburg, R. A., Savelkoul, H. F., and Wichers, H. J. (2010). Transcription profiles of lps-stimulated thp-1 monocytes and macrophages: A tool to study inflammation modulating effects of food-derived compounds. *Food & Function,* 1(3), 254-261.

Chapel, A., Nasef, A., Mathieu, N., Frick, J., Bouchet, S., Gorin, N. C., Thierry, D., and Fouillard, L. (2006). Human mesenchymal stem cells express hla-g: Role in msc mediated immunosuppressive effect. *Blood,* 108(11), 4257.

Chapman, G., Banks, J., Fanning, L., Kozik, M., Finney, M., Weitzel, R., Greco, N., Sakthivel, R., and Laughlin, M. J. (2006). Leukemia inhibitory factor (lif) marrow derived human mesenchymal stem cell (humsc) secretion and potential impact on umbilical cord blood (ucb) cd133+ hematopoietic stem cells (hsc) differentiation. *Blood,* 108(11), 4262.

Chatterjee, M., von Ungern-Sternberg, S., Seizer, P., Schlegel, F., Büttcher, M., Sindhu, N., Müller, S., Mack, A., and Gawaz, M. (2015). Platelet-derived cxcl12 regulates monocyte function, survival, differentiation into macrophages and foam cells through differential involvement of cxcr4–cxcr7. *Cell Death & Disease,* 6(11), e1989.

Chaturvedi, P., Gilkes, D. M., Takano, N., and Semenza, G. L. (2014). Hypoxia-inducible factor-dependent signaling between triple-negative breast cancer cells and mesenchymal stem cells promotes macrophage recruitment. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 111(20), E2120-E2129.

Chávez-Galán, L., Olleros, M. L., Vesin, D., and Garcia, I. (2015). Much more than m1 and m2 macrophages, there are also cd169+ and tcr+ macrophages. *Frontiers in Immunology,* 6, 263.

Chen, L., Tredget, E. E., Wu, P. Y., and Wu, Y. (2008). Paracrine factors of mesenchymal stem cells recruit macrophages and endothelial lineage cells and enhance wound healing. *Public Library of Science One,* 3(4), e1886.

Chen, P. M., Liu, K.-J., Hsu, P.-J., Wei, C.-F., Bai, C.-H., Ho, L.-J., Sytwu, H.-K., and Yen, B. L. (2014). Induction of immunomodulatory monocytes by human mesenchymal stem cell-derived hepatocyte growth factor through erk1/2. *Journal of Leukocyte Biology,* 96(2), 295-303.

Chen, X., Zhang, Z. Y., Zhou, H., and Zhou, G. W. (2014). Characterization of mesenchymal stem cells under the stimulation of toll-like receptor agonists. *Development Growth and Differentiation,* 56(3), 233-244.

Chinenov, Y., Coppo, M., Gupte, R., Sacta, M. A., and Rogatsky, I. (2014). Glucocorticoid receptor coordinates transcription factor-dominated regulatory network in macrophages. *Bio Medical Central Genomics,* 15(1), 656.

Cho, D. I., Kim, M. R., Jeong, H. Y., Jeong, H. C., Jeong, M. H., Yoon, S. H., Kim, Y. S., and Ahn, Y. (2014). Mesenchymal stem cells reciprocally regulate the m1/m2 balance in mouse bone marrow-derived macrophages. *Experimental and Molecular Medicine,* 46, e70.

Choi, A., and Alam, J. (1996). Heme oxygenase-1: Function, regulation, and implication of a novel stress-inducible protein in oxidant-induced lung injury. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology,* 15(1), 9-19.

Choi, H., Lee, R. H., Bazhanov, N., Oh, J. Y., and Prockop, D. J. (2011). Anti-inflammatory protein tsg-6 secreted by activated mscs attenuates zymosan-induced mouse peritonitis by decreasing tlr2/nf-kappab signaling in resident macrophages. *Blood,* 118(2), 330-338.

Choi, P., and Reiser, H. (1998). Il-4: Role in disease and regulation of production. *Clinical and Experimental Immunology,* 113(3), 317.

Chong, B. F., Tseng, L.-c., Hosler, G. A., Teske, N. M., Zhang, S., Karp, D. R., Olsen, N. J., and Mohan, C. (2015). A subset of cd163+ macrophages displays mixed polarizations in discoid lupus skin. *Arthritis Research & Therapy,* 17(1), 324.

Chow, A., Lucas, D., Hidalgo, A., Méndez-Ferrer, S., Hashimoto, D., Scheiermann, C., Battista, M., Leboeuf, M., Prophete, C., and van Rooijen, N. (2011). Bone marrow cd169+ macrophages promote the retention of hematopoietic stem and progenitor cells in the mesenchymal stem cell niche. *Journal of Experimental Medicine,* 208(2), 261-271.

Christmas, P. (2010). Toll-like receptors: Sensors that detect infection. *Nature Education,* 3(9), 85.

Clark, J., Vagenas, P., Panesar, M., and Cope, A. (2005). What does tumour necrosis factor excess do to the immune system long term? *Annals of the Rheumatic Diseases,* 64(suppl 4), iv70-iv76.

Clarke, B. (2008). Normal bone anatomy and physiology. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology,* 3(Supplement 3), S131-S139.

Cole, K. E., Strick, C. A., Paradis, T. J., Ogborne, K. T., Loetscher, M., Gladue, R. P., Lin, W., Boyd, J. G., Moser, B., and Wood, D. E. (1998). Interferon–inducible t cell alpha chemoattractant (i-tac): A novel non-elr cxc chemokine with potent activity on activated t cells through selective high affinity binding to cxcr3. *Journal of Experimental Medicine,* 187(12), 2009-2021.

Collins, S. J. (1987). The hl-60 promyelocytic leukemia cell line: Proliferation, differentiation, and cellular oncogene expression. *Blood,* 70(5), 1233-1244.

Colmenero, J., and Sancho-Bru, P. (2017). Mesenchymal stromal cells for immunomodulatory cell therapy in liver transplantation: One step at a time. *Journal of Hepatology,* 67(1), 7-9.

Comerford, I., and McColl, S. R. (2011). Mini-review series: Focus on chemokines. *Immunology and Cell Biology,* 89(2), 183.

Conti, P., Barbacane, R. C., Feliciani, C., and Reale, M. (2001). Expression and secretion of rantes by human peripheral blood cd4+ cells are dependent on the presence of monocytes. *Annals of Clinical and Laboratory Science,* 31(1), 75-84.

Conti, P., Barbacane, R., Reale, M., Panara, M., Placido, F., Mier, J., Castracane, J., and Dempsey, R. (1993). Leukocyte inhibitory factor (lif) potentiates human macrophage aggregation and activation responses to calcium ionophore a23187 and directly induces leukotriene b4 and thromboxane a2 release. *Biotechnology Therapeutics,* 4(3-4), 239-252.

Cook, D. N. (1996). The role of mip-1 alpha in inflammation and hematopoiesis. *Journal of Leukocyte Biology,* 59(1), 61-66.

Cooper, A. M., and Khader, S. A. (2007). Il-12p40: An inherently agonistic cytokine. *Trends in Immunology,* 28(1), 33-38.

Corbera-Bellalta, M., Planas-Rigol, E., Lozano, E., Terrades-García, N., Alba, M. A., Prieto-González, S., García-Martínez, A., Albero, R., Enjuanes, A., and Espígol-Frigolé, G. (2016). Blocking interferon γ reduces expression of chemokines cxcl9, cxcl10 and cxcl11 and decreases macrophage infiltration in ex vivo cultured arteries from patients with giant cell arteritis. *Annals of the Rheumatic Diseases,* 75(6), 1177-1186.

Corcione, A., Benvenuto, F., Ferretti, E., Giunti, D., Cappiello, V., Cazzanti, F., Risso, M., Gualandi, F., Mancardi, G. L., Pistoia, V., and Uccelli, A. (2006). Human mesenchymal stem cells modulate b-cell functions. *Blood,* 107(1), 367-372.

Cornélio, D. A., and Medeiros, S. R. B. d. (2014). Genetic evaluation of mesenchymal stem cells. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia,* 36(4), 238-240.

Correa, S. G., Sotomayor, C. E., Aoki, M. P., Maldonado, C. A., and Rabinovich, G. A. (2003). Opposite effects of galectin-1 on alternative metabolic pathways of l-arginine in resident, inflammatory, and activated macrophages. *Glycobiology,* 13(2), 119-128.

Coutinho, A. E., and Chapman, K. E. (2011). The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. *Molecular and Cellular Endocrinology,* 335(1), 2-13.

Crisostomo, P. R., Wang, Y., Markel, T. A., Wang, M., Lahm, T., and Meldrum, D. R. (2008). Human mesenchymal stem cells stimulated by tnf-α, lps, or hypoxia produce growth factors by an nfκb-but not jnk-dependent mechanism. *American Journal of Physiology-Cell Physiology,* 294(3), C675-C682.

Csóka, B., Selmeczy, Z., Koscsó, B., Németh, Z. H., Pacher, P., Murray, P. J., Kepka-Lenhart, D., Morris, S. M., Gause, W. C., and Leibovich, S. J. (2012). Adenosine promotes alternative macrophage activation via a2a and a2b receptors. *The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal,* 26(1), 376-386.

da Costa Lima-Junior, J., and Pratt-Riccio, L. R. (2016). Major histocompatibility complex and malaria: Focus on plasmodium vivax infection. *Frontiers in Immunology,* 7(13), 1-1.

da Silva Meirelles, L., Fontes, A. M., Covas, D. T., and Caplan, A. I. (2009). Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells. *Cytokine & Growth Factor Reviews,* 20(5), 419-427.

Dai, F., Zhang, F., Sun, D., Zhang, Z., Dong, S., and Xu, J. (2015). Ctla4 enhances the osteogenic differentiation of allogeneic human mesenchymal stem cells in a model of immune activation. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research,* 48(7), 629-636.

Dai, M., Wang, X., Li, J. L., Zhou, Y., Sang, M., Liu, J. B., Wu, J. G., and Ho, W. Z. (2015). Activation of tlr3/interferon signaling pathway by bluetongue virus results in hiv inhibition in macrophages. *FASEB Journal,* 29(12), 4978-4988.

Daigneault, M., Preston, J. A., Marriott, H. M., Whyte, M. K., and Dockrell, D. H. (2010). The identification of markers of macrophage differentiation in pma-stimulated thp-1 cells and monocyte-derived macrophages. *Public Library of Science One,* 5(1), e8668.

Dallagi, A., Girouard, J., Hamelin-Morrissette, J., Dadzie, R., Laurent, L., Vaillancourt, C., Lafond, J., Carrier, C., and Reyes-Moreno, C. (2015). The activating effect of ifn-γ on monocytes/macrophages is regulated by the lif–trophoblast–il-10 axis via stat1 inhibition and stat3 activation. *Cellular & Molecular Immunology,* 12(3), 326-341.

Daly, C., and Rollins, B. J. (2003). Monocyte chemoattractant protein-1 (ccl2) in inflammatory disease and adaptive immunity: Therapeutic opportunities and controversies. *Microcirculation,* 10(3-4), 247-257.

D'angelo, F., Bernasconi, E., Schäfer, M., Moyat, M., Michetti, P., Maillard, M., and Velin, D. (2013). Macrophages promote epithelial repair through hepatocyte growth factor secretion. *Clinical and Experimental Immunology,* 174(1), 60-72.

Dapunt, U., Maurer, S., Giese, T., Gaida, M. M., and Hänsch, G. M. (2014). The macrophage inflammatory proteins mip1 (ccl3) and mip2 (cxcl2) in implant-associated osteomyelitis: Linking inflammation to bone degradation. *Mediators of Inflammation,* 2014, 1-10.

Darrah, P. A., Hondalus, M. K., Chen, Q., Ischiropoulos, H., and Mosser, D. M. (2000). Cooperation between reactive oxygen and nitrogen intermediates in killing of rhodococcus equi by activated macrophages. *Infection and Immunity,* 68(6), 3587-3593.

Darwich, L., Coma, G., Peña, R., Bellido, R., Blanco, E. J., Este, J. A., Borras, F. E., Clotet, B., Ruiz, L., and Rosell, A. (2009). Secretion of interferon□γ by human macrophages demonstrated at the single□cell level after costimulation with interleukin (il)□12 plus il□18. *Immunology,* 126(3), 386-393.

Darwin, C. (1860). Ueber die entstehung der arten im thier-und pflanzenreich durch natürliche züchtung oder erhaltung der vervollkommneten rassen im kampfe um's daseyn: Nach der zweiten ruflage mit einer geschichtl. Vorrede.... Aus d. Engl. Übs. V. Ag brown. 520

Datta, R., Imamura, K., Goldman, S., Dianoux, A., Kufe, D., and Sherman, M. (1992). Functional expression of the macrophage colony-stimulating factor receptor in human thp-1 monocytic leukemia cells. *Blood,* 79(4), 904-912.

David, S., and Kroner, A. (2011). Repertoire of microglial and macrophage responses after spinal cord injury. *Nature Reviews Neuroscience,* 12(7), 388-399.

Davies, L. C., Heldring, N., Kadri, N., and Le Blanc, K. (2017). Mesenchymal stromal cell secretion of programmed death□1 ligands regulates t cell mediated immunosuppression. *Stem Cells,* 35(3), 766-776.

Dawson, H. D., Chen, C., and Urban, J. F. (2017). The regulatory actions of retinoic acid on m2a macrophage polarization of porcine and human myeloid-derived cells. *Journal of Immunology,* 198(1s), 222.

Dayan, V., Yannarelli, G., Billia, F., Filomeno, P., Wang, X.-H., Davies, J. E., and Keating, A. (2011). Mesenchymal stromal cells mediate a switch to alternatively activated monocytes/macrophages after acute myocardial infarction. *Basic Research in Cardiology,* 106(6), 1299-1310.

De Filippo, K., Dudeck, A., Hasenberg, M., Nye, E., van Rooijen, N., Hartmann, K., Gunzer, M., Roers, A., and Hogg, N. (2013). Mast cell and macrophage chemokines cxcl1/cxcl2 control the early stage of neutrophil recruitment during tissue inflammation. *Blood,* 121(24), 4930-4937.

De Plaen, I. G., Han, X. B., Liu, X., Hsueh, W., Ghosh, S., and May, M. J. (2006). Lipopolysaccharide induces cxcl2/macrophage inflammatory protein□2 gene expression in enterocytes via nf□κb activation: Independence from endogenous tnf□α and platelet□activating factor. *Immunology,* 118(2), 153-163.

de Witte, S. F., Merino, A. M., Franquesa, M., Strini, T., van Zoggel, J. A., Korevaar, S. S., Luk, F., Gargesha, M., O'Flynn, L., and Roy, D. (2017). Cytokine treatment optimises the immunotherapeutic effects of umbilical cord-derived msc for treatment of inflammatory liver disease. *Stem Cell Research & Therapy,* 8(1), 140.

De, A. K., Kodys, K., and Miller-Graziano, C. (1998). Maximal t cell il-13 production requires monocyte or monokine participation. *Cytokine,* 10(12), 911-919.

DelaRosa, O., and Lombardo, E. (2010). Modulation of adult mesenchymal stem cells activity by toll-like receptors: Implications on therapeutic potential. *Mediators of Inflammation,* 2010, 865601.

Delarosa, O., Dalemans, W., and Lombardo, E. (2012). Toll-like receptors as modulators of mesenchymal stem cells. *Frontiers in Immunology,* 3, 182.

Deng, H., Maitra, U., Morris, M., and Li, L. (2013). Molecular mechanism responsible for the priming of macrophage activation. *Journal of Biological Chemistry,* 288(6), 3897-3906.

Denu, R. A., and Hematti, P. (2016). Effects of oxidative stress on mesenchymal stem cell biology. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity,* 2016, 1-10.

Denu, R. A., Nemcek, S., Bloom, D. D., Goodrich, A. D., Kim, J., Mosher, D. F., and Hematti, P. (2016). Fibroblasts and mesenchymal stromal/stem cells are phenotypically indistinguishable. *Acta Haematologica,* 136(2), 85-97.

Deshmane, S. L., Kremlev, S., Amini, S., and Sawaya, B. E. (2009). Monocyte chemoattractant protein-1 (mcp-1): An overview. *Journal of Interferon & Cytokine Research,* 29(6), 313-326.

Di Ianni, M., Del Papa, B., De Ioanni, M., Moretti, L., Bonifacio, E., Cecchini, D., Sportoletti, P., Falzetti, F., and Tabilio, A. (2008). Mesenchymal cells recruit and regulate t regulatory cells. *Experimental Hematology,* 36(3), 309-318.

Dinarello, C. A. (1996). Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood,* 87(6), 2095-2147.

Dinarello, C. A. (2007). Interleukin 18 and the pathogenesis of inflammatory diseases. *Seminars in Nephrology,* 27(1), 98-114.

Ding, D. C., Chou, H. L., Chang, Y. H., Hung, W. T., Liu, H. W., and Chu, T. Y. (2016). Characterization of hla-g and related immunosuppressive effects in human umbilical cord stroma-derived stem cells. *Cell Transplantation,* 25(2), 217-228.

Diny, N. L., Hou, X., Barin, J. G., Chen, G., Talor, M. V., Schaub, J., Russell, S. D., Klingel, K., Rose, N. R., and Čiháková, D. (2016). Macrophages and cardiac fibroblasts are the main producers of eotaxins and regulate eosinophil trafficking to the heart. *European Journal of Immunology,* 46(12), 2749-2760.

Docke, W. D., Randow, F., Syrbe, U., Krausch, D., Asadullah, K., Reinke, P., Volk, H. D., and Kox, W. (1997). Monocyte deactivation in septic patients: Restoration by ifn-gamma treatment. *Nature Medicine,* 3(6), 678-681.

Dockrell, D. (2003). The multiple roles of fas ligand in the pathogenesis of infectious diseases. *Clinical Microbiology and Infection,* 9(8), 766-779.

Dockrell, D. H., Badley, A. D., Villacian, J. S., Heppelmann, C. J., Algeciras, A., Ziesmer, S., Yagita, H., Lynch, D. H., Roche, P. C., and Leibson, P. J. (1998). The expression of fas ligand by macrophages and its upregulation by human immunodeficiency virus infection. *Journal of Clinical Investigation,* 101(11), 2394.

Doetschman, T., Williams, P., and Maeda, N. (1988). Establishment of hamster blastocyst-derived embryonic stem (es) cells. *Developmental Biology,* 127(1), 224-227.

Dofferhoff, A. S., Nijland, J. H., de Vries-Hospers, H. G., Mulder, P. O., Weits, J., and Bom, V. J. (1991). Effects of different types and combinations of antimicrobial agents on endotoxin release from gram-negative bacteria: An in-vitro and in-vivo study. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases,* 23(6), 745-754.

Doherty, T. M., Seder, R. A., and Sher, A. (1996). Induction and regulation of il-15 expression in murine macrophages. *The Journal of Immunology,* 156(2), 735-741.

Dominici, M., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F., Krause, D., Deans, R., Keating, A., Prockop, D., and Horwitz, E. (2006). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The international society for cellular therapy position statement. *Cytotherapy,* 8(4), 315-317.

Dong, C. (2011). Genetic controls of th17 cell differentiation and plasticity. *Experimental and Molecular Medicine,* 43(1), 1-6.

Dooley, D., Lemmens, E., Vangansewinkel, T., Le Blon, D., Hoornaert, C., Ponsaerts, P., and Hendrix, S. (2016). Cell based delivery of interleukin 13 directs alternative activation of macrophages resulting in improved functional outcome after spinal cord injury. *Stem Cell Reports,* 7(6), 1099-1115.

Du Rocher, B., Mencalha, A. L., Gomes, B. E., and Abdelhay, E. (2012). Mesenchymal stromal cells impair the differentiation of cd14++ cd16− cd64+ classical monocytes into cd14++ cd16+ cd64++ activate monocytes. *Cytotherapy,* 14(1), 12-25.

Dufour, J. H., Dziejman, M., Liu, M. T., Leung, J. H., Lane, T. E., and Luster, A. D. (2002). Ifn-γ-inducible protein 10 (ip-10; cxcl10)-deficient mice reveal a role for ip-10 in effector t cell generation and trafficking. *The Journal of Immunology,* 168(7), 3195-3204.

Duijvestein, M., Wildenberg, M. E., Welling, M. M., Hennink, S., Molendijk, I., van Zuylen, V. L., Bosse, T., Vos, A. C. W., de Jonge□Muller, E. S., and Roelofs, H. (2011). Pretreatment with interferon□γ enhances the therapeutic activity of mesenchymal stromal cells in animal models of colitis. *Stem Cells,* 29(10), 1549-1558.

Duluc, D., Delneste, Y., Tan, F., Moles, M.-P., Grimaud, L., Lenoir, J., Preisser, L., Anegon, I., Catala, L., and Ifrah, N. (2007). Tumor-associated leukemia inhibitory factor and il-6 skew monocyte differentiation into tumor-associated macrophage-like cells. *Blood,* 110(13), 4319-4330.

Dumitru, C. A., Hemeda, H., Jakob, M., Lang, S., and Brandau, S. (2014). Stimulation of mesenchymal stromal cells (mscs) via tlr3 reveals a novel mechanism of autocrine priming. *FASEB Journal,* 28(9), 3856-3866.

East, L., and Isacke, C. M. (2002). The mannose receptor family. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects,* 1572(2), 364-386.

Edwards, E. E., and Thomas, S. N. (2017). P-selectin and icam-1 synergy in mediating thp-1 monocyte adhesion in hemodynamic flow is length dependent. *Integrative Biology: Quantitative Biosciences from Nano to Macro,* 9(4), 313-327.

Edwards, J. P., Zhang, X., Frauwirth, K. A., and Mosser, D. M. (2006). Biochemical and functional characterization of three activated macrophage populations. *Journal of Leukocyte Biology,* 80(6), 1298-1307.

Ehninger, A., and Trumpp, A. (2011). The bone marrow stem cell niche grows up: Mesenchymal stem cells and macrophages move in. *Journal of Experimental Medicine,* 208(3), 421-428.

Elgueta, R., Benson, M. J., De Vries, V. C., Wasiuk, A., Guo, Y., and Noelle, R. J. (2009). Molecular mechanism and function of cd40/cd40l engagement in the immune system. *Immunological Reviews,* 229(1), 152-172.

Elhelu, M. A. (1983). The role of macrophages in immunology. *Journal of the National Medical Association,* 75(3), 314.

Eliopoulos, N., Stagg, J., Lejeune, L., Pommey, S., and Galipeau, J. (2005). Allogeneic marrow stromal cells are immune rejected by mhc class i–and class ii–mismatched recipient mice. *Blood,* 106(13), 4057-4065.

Engel, P., Boumsell, L., Balderas, R., Bensussan, A., Gattei, V., Horejsi, V., Jin, B.-Q., Malavasi, F., Mortari, F., and Schwartz-Albiez, R. (2015). Cd nomenclature 2015: Human leukocyte differentiation antigen workshops as a driving force in immunology. *The Journal of Immunology,* 195(10), 4555-4563.

English, K., Barry, F. P., and Mahon, B. P. (2008). Murine mesenchymal stem cells suppress dendritic cell migration, maturation and antigen presentation. *Immunology Letters,* 115(1), 50-58.

English, K., Barry, F. P., Field-Corbett, C. P., and Mahon, B. P. (2007). Ifn-γ and tnf-α differentially regulate immunomodulation by murine mesenchymal stem cells. *Immunology Letters,* 110(2), 91-100.

Erwig, L. P., and Gow, N. A. (2016). Interactions of fungal pathogens with phagocytes. *Nature Reviews Microbiology,* 14(3), 163-176.

Espagnolle, N., Balguerie, A., Arnaud, E., Sensebe, L., and Varin, A. (2017). Cd54 mediated interaction with pro-inflammatory macrophages increases the immunosuppressive function of human mesenchymal stromal cells. *Stem Cell Reports,* 8(4), 961-976.

Fabriek, B. O., van Bruggen, R., Deng, D. M., Ligtenberg, A. J., Nazmi, K., Schornagel, K., Vloet, R. P., Dijkstra, C. D., and van den Berg, T. K. (2009). The macrophage scavenger receptor cd163 functions as an innate immune sensor for bacteria. *Blood,* 113(4), 887-892.

Fajka-Boja, R., Urbán, V. S., Szebeni, G. J., Czibula, Á., Blaskó, A., Kriston-Pál, É., Makra, I., Hornung, Á., Szabó, E., and Uher, F. (2016). Galectin-1 is a local but not systemic immunomodulatory factor in mesenchymal stromal cells. *Cytotherapy,* 18(3), 360-370.

Fan, H., Zhao, G., Liu, L., Liu, F., Gong, W., Liu, X., Yang, L., Wang, J., and Hou, Y. (2012). Pre-treatment with il-1beta enhances the efficacy of msc transplantation in dss-induced colitis. *Cellular & Molecular Immunology,* 9(6), 473-481.

Fang, X., Neyrinck, A. P., Matthay, M. A., and Lee, J. W. (2010). Allogeneic human mesenchymal stem cells restore epithelial protein permeability in cultured human alveolar type ii cells by secretion of angiopoietin-1. *Journal of Biological Chemistry,* 285(34), 26211-26222.

Fernando, M. R., Reyes, J. L., Iannuzzi, J., Leung, G., and McKay, D. M. (2014). The pro-inflammatory cytokine, interleukin-6, enhances the polarization of alternatively activated macrophages. *Public Library of Science One,* 9(4), e94188.

Ferrara, J. L., Levine, J. E., Reddy, P., and Holler, E. (2009). Graft-versus-host disease. *The Lancet,* 373(9674), 1550-1561.

Fiorentino, D. F., Bond, M. W., and Mosmann, T. (1989). Two types of mouse t helper cell. Iv. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by th1 clones. *Journal of Experimental Medicine,* 170(6), 2081-2095.

Fixe, P., and Praloran, V. (1998). M-csf: Haematopoietic growth factor or inflammatory cytokine? *Cytokine,* 10(1), 32-37.

Fleming, B. D., and Mosser, D. M. (2011). Regulatory macrophages: Setting the threshold for therapy. *European Journal of Immunology,* 41(9), 2498-2502.

Flo, T. H., Halaas, Ĝ., Torp, S., Ryan, L., Lien, E., Dybdahl, B., Sundan, A., and Espevik, T. (2001). Differential expression of toll-like receptor 2 in human cells. *Journal of Leukocyte Biology,* 69(3), 474-481.

Forstermann, U., and Sessa, W. C. (2012). Nitric oxide synthases: Regulation and function. *European Heart Journal,* 33(7), 829-837.

Forte, A., Rinaldi, B., Sodano, L., Berrino, L., Rossi, F., Finicelli, M., Grossi, M., Cobellis, G., Botti, C., and De Feo, M. (2012). Stem cell therapy for arterial restenosis: Potential parameters contributing to the success of bone marrow-derived mesenchymal stromal cells. *Cardiovascular Drugs and Therapy,* 26(1), 9-21.

Forte, G., Minieri, M., Cossa, P., Antenucci, D., Sala, M., Gnocchi, V., Fiaccavento, R., Carotenuto, F., De Vito, P., and Baldini, P. M. (2006). Hepatocyte growth factor effects on mesenchymal stem cells: Proliferation, migration, and differentiation. *Stem Cells,* 24(1), 23-33.

Fossiez, F., Banchereau, J., Murray, R., Van Kooten, C., Garrone, P., and Lebecque, S. (1998). Interleukin-17. *International Reviews of Immunology,* 16(5-6), 541-551.

Fotopoulou, C., Sehouli, J., Pschowski, R., Von Haehling, S., Domanska, G., Braicu, E.-I., Fusch, G., Reinke, P., and Schefold, J. C. (2011). Systemic changes of tryptophan catabolites via the indoleamine-2, 3-dioxygenase pathway in primary cervical cancer. *Anticancer Research,* 31(8), 2629-2635.

Fournier, B. P., Larjava, H., and Hakkinen, L. (2013). Gingiva as a source of stem cells with therapeutic potential. *Stem Cells and Development,* 22(24), 3157-3177.

Fragale, A., Stellacci, E., Ilari, R., Remoli, A. L., Lanciotti, A., Perrotti, E., Shytaj, I., Orsatti, R., Lawrence, H. R., Lawrence, N. J., Wu, J., Rehli, M., Ozato, K., and Battistini, A. (2011). Critical role of irf-8 in negative regulation of tlr3 expression by src homology 2 domain-containing protein tyrosine phosphatase-2 activity in human myeloid dendritic cells. *Journal of Immunology,* 186(4), 1951-1962.

Franchimont, D. (2004). Overview of the actions of glucocorticoids on the immune response: A good model to characterize new pathways of immunosuppression for new treatment strategies. *Annals of the New York Academy of Sciences,* 1024(1), 124-137.

François, M., Romieu-Mourez, R., Li, M., and Galipeau, J. (2012). Human msc suppression correlates with cytokine induction of indoleamine 2,3-dioxygenase and bystander m2 macrophage differentiation. *Molecular Therapy,* 20(1), 187-195.

Freytes, D. O., Kang, J. W., Marcos-Campos, I., and Vunjak-Novakovic, G. (2013). Macrophages modulate the viability and growth of human mesenchymal stem cells. *Journal of Cellular Biochemistry,* 114(1), 220-229.

Friedenstein, A. J. (1976). Precursor cells of mechanocytes. *International Review of Cytology,* 47, 327-359.

Frucht, D. M., Fukao, T., Bogdan, C., Schindler, H., O'Shea, J. J., and Koyasu, S. (2001). Ifn-γ production by antigen-presenting cells: Mechanisms emerge. *Trends in Immunology,* 22(10), 556-560.

Fuenzalida, P., Kurte, M., Fernandez-O'ryan, C., Ibanez, C., Gauthier-Abeliuk, M., Vega-Letter, A. M., Gonzalez, P., Irarrazabal, C., Quezada, N., Figueroa, F., and Carrion, F. (2016). Toll-like receptor 3 pre-conditioning increases the therapeutic efficacy of umbilical cord mesenchymal stromal cells in a dextran sulfate sodium-induced colitis model. *Cytotherapy,* 18(5), 630-641.

Fujisaki, J., Wu, J., Carlson, A. L., Silberstein, L., Putheti, P., Larocca, R., Gao, W., Saito, T. I., Celso, C. L., and Tsuyuzaki, H. (2011). In vivo imaging of treg cells providing immune privilege to the haematopoietic stem-cell niche. *Nature,* 474(7350), 216-219.

Galimi, F., Cottone, E., Vigna, E., Arena, N., Boccaccio, C., Giordano, S., Naldini, L., and Comoglio, P. M. (2001). Hepatocyte growth factor is a regulator of monocyte-macrophage function. *The Journal of Immunology,* 166(2), 1241-1247.

Gallo, E., Katzman, S., and Villarino, A. V. (2012). Il□13□producing th1 and th17 cells characterize adaptive responses to both self and foreign antigens. *European Journal of Immunology,* 42(9), 2322-2328.

Ganju, R. K., Brubaker, S. A., Chernock, R. D., Avraham, S., and Groopman, J. E. (2000). B-chemokine receptor ccr5 signals through shp1, shp2, and syk. *Journal of Biological Chemistry,* 275(23), 17263-17268.

Gao, F., Chiu, S. M., Motan, D. A., Zhang, Z., Chen, L., Ji, H. L., Tse, H. F., Fu, Q. L., and Lian, Q. (2016). Mesenchymal stem cells and immunomodulation current status and future prospects. *Cell Death & Disease,* 7, e2062.

Gao, J., Zhao, L., Wan, Y. Y., and Zhu, B. (2015). Mechanism of action of il-7 and its potential applications and limitations in cancer immunotherapy. *International Journal of Molecular Sciences,* 16(5), 10267-10280.

Gao, Y. H., Pichao, W., Takagi, K., Shimozato, O., Yagita, H., Okigaki, T., and Matasumura, M. (1999). Expression of a soluble form of ctla4 on macrophage and its biological activity. *Cell Research,* 9(3), 189-199.

Gao, Y., Zhou, Z., Lu, S., Huang, X., Zhang, C., Jiang, R., Yao, A., Sun, B., and Wang, X. (2016). Chemokine ccl15 mediates migration of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells toward hepatocellular carcinoma. *Stem Cells,* 34(4), 1112-1122.

García, A., Serrano, A., Abril, E., Jimenez, P., Real, L. M., Cantón, J., Garrido, F., and Ruiz-Cabello, F. (1999). Differential effect on u937 cell differentiation by targeting transcriptional factors implicated in tissue-or stage-specific induced integrin expression. *Experimental Hematology,* 27(2), 353-364.

Garlanda, C., Dinarello, C. A., and Mantovani, A. (2013). The interleukin-1 family: Back to the future. *Immunity,* 39(6), 1003-1018.

Gatti, R. A., Meuwissen, H. J., Allen, H. D., Hong, R., and Good, R. A. (1968). Immunological reconstitution of sex-linked lymphopenic immunological deficiency. *Lancet,* 2(7583), 1366-1369.

Geng, J. G., Chen, M., and Chou, K. C. (2004). P-selectin cell adhesion molecule in inflammation, thrombosis, cancer growth and metastasis. *Current Medicinal Chemistry,* 11(16), 2153-2160.

Genin, M., Clement, F., Fattaccioli, A., Raes, M., and Michiels, C. (2015). M1 and m2 macrophages derived from thp-1 cells differentially modulate the response of cancer cells to etoposide. *Bio Med Central Cancer,* 15, 577.

Gerdes, N., Sukhova, G. K., Libby, P., Reynolds, R. S., Young, J. L., and Schonbeck, U. (2002). Expression of interleukin (il)-18 and functional il-18 receptor on human vascular endothelial cells, smooth muscle cells, and macrophages: Implications for atherogenesis. *Journal of Experimental Medicine,* 195(2), 245-257.

Gerdes, N., Sukhova, G. K., Libby, P., Reynolds, R. S., Young, J. L., and Schönbeck, U. (2002). Expression of interleukin (il)-18 and functional il-18 receptor on human vascular endothelial cells, smooth muscle cells, and macrophages. *Journal of Experimental Medicine,* 195(2), 245-257.

Giannoni, E., Guignard, L., Reymond, M. K., Perreau, M., Roth-Kleiner, M., Calandra, T., and Roger, T. (2011). Estradiol and progesterone strongly inhibit the innate immune response of mononuclear cells in newborns. *Infection and Immunity,* 79(7), 2690-2698.

Gillessen, S., Carvajal, D., Ling, P., Podlaski, F. J., Stremlo, D. L., Familletti, P. C., Gubler, U., Presky, D. H., Stern, A. S., and Gately, M. K. (1995). Mouse interleukin□12 (il□12) p40 homodimer: A potent il□12 antagonist. *European Journal of Immunology,* 25(1), 200-206.

Ginhoux, F., and Jung, S. (2014). Monocytes and macrophages: Developmental pathways and tissue homeostasis. *Nature Reviews Immunology,* 14(6), 392-404.

Giuliani, M., Bennaceur-Griscelli, A., Nanbakhsh, A., Oudrhiri, N., Chouaib, S., Azzarone, B., Durrbach, A., and Lataillade, J. J. (2014). Tlr ligands stimulation protects msc from nk killing. *Stem Cells,* 32(1), 290-300.

Giunti, D., Parodi, B., Usai, C., Vergani, L., Casazza, S., Bruzzone, S., Mancardi, G., and Uccelli, A. (2012). Mesenchymal stem cells shape microglia effector functions through the release of cx3cl1. *Stem Cells,* 30(9), 2044-2053.

Glenn, J. D., and Whartenby, K. A. (2014). Mesenchymal stem cells: Emerging mechanisms of immunomodulation and therapy. *World Journal of Stem Cells,* 6(5), 526-539.

Goasguen, J. E., Bennett, J. M., Bain, B. J., Vallespi, T., Brunning, R., and Mufti, G. J. (2009). Morphological evaluation of monocytes and their precursors. *Haematologica,* 94(7), 994-997.

Godiska, R., Chantry, D., Raport, C. J., Sozzani, S., Allavena, P., Leviten, D., Mantovani, A., and Gray, P. W. (1997). Human macrophage–derived chemokine (mdc), a novel chemoattractant for monocytes, monocyte-derived dendritic cells, and natural killer cells. *Journal of Experimental Medicine,* 185(9), 1595-1604.

Goldberg, A. C., and Rizzo, L. V. (2015). Mhc structure and function–antigen presentation. Part 1. *Einstein (Sao Paulo),* 13(1), 153-156.

Goldstein, J. L., Ho, Y., Basu, S. K., and Brown, M. S. (1979). Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 76(1), 333-337.

Gombault, A., Baron, L., and Couillin, I. (2013). Atp release and purinergic signaling in nlrp3 inflammasome activation. *Frontiers in Immunology,* 3, 414.

Gong, D., Shi, W., Yi, S.-j., Chen, H., Groffen, J., and Heisterkamp, N. (2012). Tgfβ signaling plays a critical role in promoting alternative macrophage activation. *Bio Med Central Immunology,* 13(1), 31.

Gorczynski, R. M. (2012). Cd200: Cd200r-mediated regulation of immunity. *International Scholarly Research Notices Immunology,* 2012. URL: http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Ffile%3A%2F%2F%2FC%3A%2FUsers%2F%25C3%259CM%25C4%25B0T%2FDesktop%2F682168.pdf&date=2018-12-04, Son Erişim Tarihi: 28/11/2017

Gordon, S. (2003). Alternative activation of macrophages. *Nature Reviews Immunology,* 3(1), 23-35.

Gordon, S. (2016). Phagocytosis: An immunobiologic process. *Immunity,* 44(3), 463-475.

Gordon, S., and Martinez, F. O. (2010). Alternative activation of macrophages: Mechanism and functions. *Immunity,* 32(5), 593-604.

Granero□Moltó, F., Myers, T. J., Weis, J. A., Longobardi, L., Li, T., Yan, Y., Case, N., Rubin, J., and Spagnoli, A. (2011). Mesenchymal stem cells expressing insulin□like growth factor□i (mscigf) promote fracture healing and restore new bone formation in irs1 knockout mice: Analyses of mscigf autocrine and paracrine regenerative effects. *Stem Cells,* 29(10), 1537-1548.

Gray, A., Maguire, T., Schloss, R., and Yarmush, M. L. (2015). Identification of il-1beta and lps as optimal activators of monolayer and alginate-encapsulated mesenchymal stromal cell immunomodulation using design of experiments and statistical methods. *Biotechnology Progress,* 31(4), 1058-1070.

Griffin, M. D., Ryan, A. E., Alagesan, S., Lohan, P., Treacy, O., and Ritter, T. (2013). Anti-donor immune responses elicited by allogeneic mesenchymal stem cells: What have we learned so far? *Immunology and Cell Biology,* 91(1), 40-51.

Grimbaldeston, M. A., Nakae, S., Kalesnikoff, J., Tsai, M., and Galli, S. J. (2007). Mast cell–derived interleukin 10 limits skin pathology in contact dermatitis and chronic irradiation with ultraviolet b. *Nature Immunology,* 8(10), 1095-1104.

Grivennikov, S. I., and Karin, M. (2011). Inflammatory cytokines in cancer: Tumour necrosis factor and interleukin 6 take the stage. *Annals of the Rheumatic Diseases,* 70(Suppl 1), i104-i108.

Grohmann, U., Fallarino, F., and Puccetti, P. (2003). Tolerance, dcs and tryptophan: Much ado about ido. *Trends in Immunology,* 24(5), 242-248.

Gruen, J. R., and Weissman, S. M. (2001). Human mhc class iii and iv genes and disease associations. *Frontiers in Bioscience,* 6, D960-972.

Gu, W., Song, L., Li, X. M., Wang, D., Guo, X. J., and Xu, W. G. (2015). Mesenchymal stem cells alleviate airway inflammation and emphysema in copd through down-regulation of cyclooxygenase-2 via p38 and erk mapk pathways. *Scientific Reports,* 5, 8733.

Gu, Y., Xue, Q., Chen, Y.-j., Yu, G.-H., Shen, Y., Wang, M.-y., Shi, Q., and Zhang, X.-G. (2013). Different roles of pd-l1 and fasl in immunomodulation mediated by human placenta-derived mesenchymal stem cells. *Human Immunology,* 74(3), 267-276.

Gupta, N., Su, X., Popov, B., Lee, J. W., Serikov, V., and Matthay, M. A. (2007). Intrapulmonary delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells improves survival and attenuates endotoxin-induced acute lung injury in mice. *The Journal of Immunology,* 179(3), 1855-1863.

Haberstroh, U., Pocock, J., Gómez-Guerrero, C., Helmchen, U., Hamann, A., Gutierrez-Ramos, J. C., Stahl, R. A., and Thaiss, F. (2002). Expression of the chemokines mcp-1/ccl2 and rantes/ccl5 is differentially regulated by infiltrating inflammatory cells. *Kidney International,* 62(4), 1264-1276.

Haeckel, E. (1873). *Natürliche schöpfungsgeschichte.* German.

Haecker, V. (1892). Die kerntheilungsvorgänge bei der mesodermund entodermbildung von cyclops. *Archiv Für Mikroskopische Anatomie,* 39(1), 556-581.

Han, C. Z., Juncadella, I. J., Kinchen, J. M., Buckley, M. W., Klibanov, A. L., Dryden, K., Onengut-Gumuscu, S., Erdbrügger, U., Turner, S. D., and Shim, Y. M. (2016).

Macrophages redirect phagocytosis by non-professional phagocytes and influence inflammation. *Nature,* 539(7630), 570-574.

Han, S.-M., Kim, H.-T., Kim, K.-W., Jeon, K.-O., Seo, K.-W., Choi, E. W., and Youn, H.-Y. (2015). Ctla4 overexpressing adipose tissue-derived mesenchymal stem cell therapy in a dog with steroid-refractory pemphigus foliaceus. *Bio Med Central Veterinary Research,* 11(1), 49.

Hao, N.-B., Lü, M.-H., Fan, Y.-H., Cao, Y.-L., Zhang, Z.-R., and Yang, S.-M. (2012). Macrophages in tumor microenvironments and the progression of tumors. *Clinical and Developmental Immunology,* 2012, 1-10.

Haskó, G., and Pacher, P. (2012). Regulation of macrophage function by adenosine. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology,* 32(4), 865-869.

Hass, R., and Otte, A. (2012). Mesenchymal stem cells as all-round supporters in a normal and neoplastic microenvironment. *Cell Communication and Signaling,* 10(1), 26.

Hass, R., Kasper, C., Bohm, S., and Jacobs, R. (2011). Different populations and sources of human mesenchymal stem cells (msc): A comparison of adult and neonatal tissue-derived msc. *Cell Commun Signal,* 9, 12.

Hayashi, K., Hooper, L. C., Okuno, T., Takada, Y., and Hooks, J. J. (2012). Inhibition of hsv-1 by chemoattracted neutrophils: Supernatants of corneal epithelial cells (hce) and macrophages (thp-1) treated with virus components chemoattract neutrophils (pmn), and supernatants of pmn treated with these conditioned media inhibit viral growth. *Archives of Virology,* 157(7), 1377-1381.

He, X., Bai, H., Yang, G., Xue, Y., and Su, Y. (2009). Expression of toll-like receptors in human bone marrow mesenchymal stem cells. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi. Journal of Experimental Hematology,* 17(3), 695-699.

Heck, S., Kullmann, M., Gast, A., Ponta, H., Rahmsdorf, H., Herrlich, P., and Cato, A. (1994). A distinct modulating domain in glucocorticoid receptor monomers in the repression of activity of the transcription factor ap-1. *The European Molecular Biology Organization Journal,* 13(17), 4087.

Heinonen, K. M., Nestel, F. P., Newell, E. W., Charette, G., Seemayer, T. A., Tremblay, M. L., and Lapp, W. S. (2004). T-cell protein tyrosine phosphatase deletion results in progressive systemic inflammatory disease. *Blood,* 103(9), 3457-3464.

Hematti, P. (2012). Mesenchymal stromal cells and fibroblasts: A case of mistaken identity? *Cytotherapy,* 14(5), 516-521.

Hemeda, H., Jakob, M., Ludwig, A.-K., Giebel, B., Lang, S., and Brandau, S. (2010). Interferon-γ and tumor necrosis factor-α differentially affect cytokine expression and migration properties of mesenchymal stem cells. *Stem Cells and Development,* 19(5), 693-706.

Henan, X., Toyota, N., Yanjiang, X., Fujita, Y., Zhijun, H., Touma, M., Qiong, W., and Sugimoto, K. (2014). Enhancement of phagocytosis and cytotoxicity in macrophages by tumor-derived il-18 stimulation. *Biochemistry and Molecular Biology Reports,* 47(5), 286.

Henke, C., Marineili, W., Jessurun, J., Fox, J., Harms, D., Peterson, M., Chiang, L., and Doran, P. (1993). Macrophage production of basic fibroblast growth factor in the fibroproliferative disorder of alveolar fibrosis after lung injury. *The American Journal of Pathology,* 143(4), 1189.

Herbst, S., Schaible, U. E., and Schneider, B. E. (2011). Interferon gamma activated macrophages kill mycobacteria by nitric oxide induced apoptosis. *Public Library of Science One,* 6(5), e19105.

Herrmann, J. L., Wang, Y., Abarbanell, A. M., Weil, B. R., Tan, J., and Meldrum, D. R. (2010). Preconditioning mesenchymal stem cells with transforming growth factor-alpha improves mesenchymal stem cell-mediated cardioprotection. *Shock,* 33(1), 24-30.

Hocking, A. M. (2015). The role of chemokines in mesenchymal stem cell homing to wounds. *Advances in Wound Care,* 4(11), 623-630.

Hoornaert, C. J., Luyckx, E., Reekmans, K., Dhainaut, M., Guglielmetti, C., Le Blon, D., Dooley, D., Fransen, E., Daans, J., and Verbeeck, L. (2016). In vivo interleukin□13□ primed macrophages contribute to reduced alloantigen□specific t cell activation and prolong immunological survival of allogeneic mesenchymal stem cell implants. *Stem Cells,* 34(7), 1971-1984.

Hoshino, A., Kawamura, Y. I., Yasuhara, M., Toyama-Sorimachi, N., Yamamoto, K., Matsukawa, A., Lira, S. A., and Dohi, T. (2007). Inhibition of ccl1-ccr8 interaction prevents aggregation of macrophages and development of peritoneal adhesions. *The Journal of Immunology,* 178(8), 5296-5304.

Hosono, K., Isonaka, R., Kawakami, T., Narumiya, S., and Majima, M. (2016). Signaling of prostaglandin e receptors, ep3 and ep4 facilitates wound healing and lymphangiogenesis with enhanced recruitment of m2 macrophages in mice. *Public Library of Science One,* 11(10), e0162532.

Hou, Y., Ryu, C. H., Jun, J., Kim, S. M., Jeong, C. H., and Jeun, S. S. (2014). Il□8 enhances the angiogenic potential of human bone marrow mesenchymal stem cells by increasing vascular endothelial growth factor. *Cell Biology International,* 38(9), 1050-1059.

Howland, K. C., Ausubel, L. J., London, C. A., and Abbas, A. K. (2000). The roles of cd28 and cd40 ligand in t cell activation and tolerance. *The Journal of Immunology,* 164(9), 4465-4470.

Hristodorov, D., Mladenov, R., von Felbert, V., Huhn, M., Fischer, R., Barth, S., and Thepen, T. (2015). Targeting cd64 mediates elimination of m1 but not m2

macrophages in vitro and in cutaneous inflammation in mice and patient biopsies. *Monoclonal Antibodies,* 7(5), 853-862.

Hsieh, J.-Y., Wang, H.-W., Chang, S.-J., Liao, K.-H., Lee, I.-H., Lin, W.-S., Wu, C.-H., Lin, W.-Y., and Cheng, S.-M. (2013). Mesenchymal stem cells from human umbilical cord express preferentially secreted factors related to neuroprotection, neurogenesis, and angiogenesis. *Public Library of Science One,* 8(8), e72604.

Hu, J. M., Liu, K., Liu, J. H., Jiang, X. L., Wang, X. L., Chen, Y. Z., Li, S. G., Zou, H., Pang, L. J., and Liu, C. X. (2017). Cd163 as a marker of m2 macrophage, contribute to predict aggressiveness and prognosis of kazakh esophageal squamous cell carcinoma. *Oncotarget,* 8(13), 21526.

Hu, K. X., Sun, Q. Y., Guo, M., and Ai, H. S. (2010). The radiation protection and therapy effects of mesenchymal stem cells in mice with acute radiation injury. *The British Journal of Radiology,* 83(985), 52-58.

Huang, J.-H., Lin, C.-Y., Wu, S.-Y., Chen, W.-Y., Chu, C.-L., Brown, G. D., Chuu, C.-P., and Wu-Hsieh, B. A. (2015). Cr3 and dectin-1 collaborate in macrophage cytokine response through association on lipid rafts and activation of syk-jnk-ap-1 pathway. *Public Library of Science Pathogens,* 11(7), e1004985.

Hubbard, A. K., and Rothlein, R. (2000). Intercellular adhesion molecule-1 (icam-1) expression and cell signaling cascades. *Free Radical Biology and Medicine,* 28(9), 1379-1386.

Hubbard, N. E., Lim, D., Mukutmoni, M., Cai, A., and Erickson, K. L. (2005). Expression and regulation of murine macrophage angiopoietin-2. *Cellular Immunology,* 234(2), 102-109.

Huber, S., Hoffmann, R., Muskens, F., and Voehringer, D. (2010). Alternatively activated macrophages inhibit t-cell proliferation by stat6-dependent expression of pd-l2. *Blood,* 116(17), 3311-3320.

Hudig, D., Hunter, K. W., Diamond, W. J., and Redelman, D. (2013). Properties of human blood monocytes ii. Monocytes from healthy adults are highly heterogeneous within and among individuals. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry,* 86(2), 121-134.

Hunt, J. S., Langat, D. K., McIntire, R. H., and Morales, P. J. (2006). The role of hla-g in human pregnancy. *Reproductive Biology and Endocrinology,* 4(1), S10.

Hunter, C. A., and Jones, S. A. (2015). Il-6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nature Immunology,* 16(5), 448-457.

Hwa Cho, H., Bae, Y. C., and Jung, J. S. (2006). Role of toll□like receptors on human adipose□derived stromal cells. *Stem Cells,* 24(12), 2744-2752.

Hwang, S. H., Cho, H. K., Park, S. H., Lee, W., Lee, H. J., Lee, D. C., Oh, J. H., Park, S. H., Kim, T.-G., Sohn, H.-J., Kang, J. M., and Kim, S. W. (2014). Toll like receptor 3 & 4

responses of human turbinate derived mesenchymal stem cells: Stimulation by double stranded rna and lipopolysaccharide. *PLoS One,* 9(7), e101558.

Iles, K. E., and Forman, H. J. (2002). Macrophage signaling and respiratory burst. *Immunologic Research,* 26(1-3), 95-105.

Inoue, M., Yamada, J., Aomatsu□Kikuchi, E., Satoh, K., Kondo, H., Ishisaki, A., and Chosa, N. (2017). Scrg1 suppresses lps-induced ccl22 production through erk1/2 activation in mouse macrophage raw264. 7 cells. *Molecular Medicine Reports,* 15(6), 4069-4076.

Internet: URL http://www.bdbiosciences.com/ds/pm/others/23-12721.pdf. url=http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.bdbiosciences.com%2Fds%2Fpm%2Fothers%2F23-12721.pdf&date=2018-10-18 Son Erişim Tarihi: 15.12.2017

Internet: URL http://www.biochemist.org/bio/03904/0030/039040030.pdf. url=http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.biochemist.org%2Fbio%2F03904%2F0030%2F039040030.pdf&date=2018-10-18 Son Erişim Tarihi: 28/11/2017

Internet: URL https://stemcells.nih.gov/info/basics/3.htm. url=http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fstemcells.nih.gov%2Finfo%2Fbasics%2F3.htm&date=2018-10-18 Son Erişim Tarihi: 27/11/2017

Internet: URL https://stemcells.nih.gov/info/Regenerative_Medicine/2006Chapter1.htm URL: http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fstemcells.nih.gov%2Finfo%2FRegenerative_Medicine%2F2006Chapter1.htm+&date=2018-12-04, Son Erişim Tarihi: 27/11/2017

Internet: URL https://www.bdbiosciences.com/documents/BD_Multicolor_MonocyteMacrophageDiff_AppNote.pdf. url=http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.bdbiosciences.com%2Fdocuments%2FBD_Multicolor_MonocyteMacrophageDiff_AppNote.pdf&date=2018-10-18 Son Erişim Tarihi: 28/11/2017

Internet: URL https://www.britannica.com/science/germ-plasm-theory. url=http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.britannica.com%2Fscience%2Fgerm-plasm-theory&date=2018-10-18 Son Erişim Tarihi: 27/11/2017

Internet: URL https://www.drozdogan.com/dogustan-gelen-bagisiklik-sistemi-nedir-nasil-calisir/. url=http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.drozdogan.com%2Fdogustan-gelen-bagisiklik-sistemi-nedir-nasil-calisir%2F&date=2018-10-18 Son Erişim Tarihi: 18.10.2018

Internet: URL https://www.ebmt.org/Contents/Pages/Default.aspx. url=http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.ebmt.org%2FContents%2FPages%2FDefault.aspx&date=2018-10-18

Internet: URL https://www.eurostemcell.org/embryonic-stem-cells-where-do-they-come-and-what-can-they-do. url=http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.eurostemcell.org%2Fembryonic-stem-cells-where-do-they-come-and-what-can-they-do&date=2018-10-18 Son Erişim Tarihi: 27/11/2017

Internet: URL https://www.nature.com/subjects/adult-stem-cells. url=http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.nature.com%2Fsubjects%2Fadult-stem-cells&date=2018-10-18 Son Erişim Tarihi: 27/11/2017

Internet: URL https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=STEM+CELL. url=http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpubmed%2F%3Fterm%3DSTEM%2BCELL&date=2018-10-18 Son Erişim Tarihi: 24/09/2018

Internet: URL https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1908/mechnikov/facts/. url=http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.nobelprize.org%2Fprizes%2Fmedicine%2F1908%2Fmechnikov%2Ffacts%2F&date=2018-10-18 Son Erişim Tarihi: 27/11/2017

Internet: URL https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1990/thomas/facts/. url=http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.nobelprize.org%2Fprizes%2Fmedicine%2F1990%2Fthomas%2Ffacts%2F&date=2018-10-18 Son Erişim Tarihi: 27/11/2017

Internet: URL https://www.sabbiotech.com/a-119-Adhesion-Molecules.html. URL=http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.sabbiotech.com%2Fa-119-Adhesion-Molecules.html&date=2018-10-18 Son Erişim Tarihi: 30.11.2017

Internet: URL https://www2.le.ac.uk/projects/vgec/highereducation/topics/cellcycle-mitosis-meiosis, URL: http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww2.le.ac.uk%2Fprojects%2Fvgec%2Fhighereducation%2Ftopics%2Fcellcycle-mitosis-meiosis+&date=2018-12-04, Son Erişim Tarihi: 15/12/2017

Internet: URL: https://clinicaltrials.gov/ct2/home. url=http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fclinicaltrials.gov%2Fct2%2Fhome&date=2018-10-18 Son Erişim Tarihi: 27/11/2017

Ip, W. E., Hoshi, N., Shouval, D. S., Snapper, S., and Medzhitov, R. (2017). Anti-inflammatory effect of il-10 mediated by metabolic reprogramming of macrophages. *Science,* 356(6337), 513-519.

Iqbal, S., and Kumar, A. (2015). Characterization of in vitro generated human polarized macrophages. *Journal of Clinical & Cellular Immunology,* 6(06), 380.

Ishikawa, T., Factor, V. M., Marquardt, J. U., Raggi, C., Seo, D., Kitade, M., Conner, E. A., and Thorgeirsson, S. S. (2012). Hepatocyte growth factor/c□met signaling is required for stem□cell–mediated liver regeneration in mice. *Hepatology,* 55(4), 1215-1226.

Italiani, P., and Boraschi, D. (2014). From monocytes to m1/m2 macrophages phenotypical vs functional differentiation. *Frontiers in Immunology,* 5, 514.

Itoh, K., and Hirohata, S. (1995). The role of il-10 in human b cell activation, proliferation, and differentiation. *The Journal of Immunology,* 154(9), 4341-4350.

Jacob-Ferreira, A. L., and Schulz, R. (2013). Activation of intracellular matrix metalloproteinase-2 by reactive oxygen–nitrogen species consequences and therapeutic strategies in the heart. *Archives of Biochemistry and Biophysics,* 540(1), 82-93.

Jacobs, B. L., and Langland, J. O. (1996). When two strands are better than one: The mediators and modulators of the cellular responses to double-stranded rna. *Virology,* 219(2), 339-349.

Jacobs, S. A., Roobrouck, V. D., Verfaillie, C. M., and Van Gool, S. W. (2013). Immunological characteristics of human mesenchymal stem cells and multipotent adult progenitor cells. *Immunology and Cell Biology,* 91(1), 32-39.

Jana, M., Mondal, S., Jana, A., and Pahan, K. (2014). Interleukin□12 (il□12), but not il□23, induces the expression of il□7 in microglia and macrophages: Implications for multiple sclerosis. *Immunology,* 141(4), 549-563.

Jeyaseelan, S., Manzer, R., Young, S. K., Yamamoto, M., Akira, S., Mason, R. J., and Worthen, G. S. (2005). Induction of cxcl5 during inflammation in the rodent lung involves activation of alveolar epithelium. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology,* 32(6), 531-539.

Jiang, H.-R., Muckersie, E., Robertson, M., Xu, H., Liversidge, J., and Forrester, J. V. (2002). Secretion of interleukin-10 or interleukin-12 by lps-activated dendritic cells is critically dependent on time of stimulus relative to initiation of purified dc culture. *Journal of Leukocyte Biology,* 72(5), 978-985.

Jiang, M. X., Hong, X., Liao, B. B., Shi, S. Z., Lai, X. F., Zheng, H. Y., Xie, L., Wang, Y., Wang, X. L., Xin, H. B., Fu, M., and Deng, K. Y. (2017). Expression profiling of trim protein family in thp1-derived macrophages following tlr stimulation. *Scientific Reports,* 7, 42781.

Jiang, X.-X., Zhang, Y., Liu, B., Zhang, S.-X., Wu, Y., Yu, X.-D., and Mao, N. (2005). Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells. *Blood,* 105(10), 4120-4126.

Jiang, Y., Vaessen, B., Lenvik, T., Blackstad, M., Reyes, M., and Verfaillie, C. M. (2002). Multipotent progenitor cells can be isolated from postnatal murine bone marrow, muscle, and brain. *Experimental Hematology,* 30(8), 896-904.

Jimenez, F., Quinones, M. P., Martinez, H. G., Estrada, C. A., Clark, K., Garavito, E., Ibarra, J., Melby, P. C., and Ahuja, S. S. (2010). Ccr2 plays a critical role in dendritic cell maturation: Possible role of ccl2 and nf-κb. *The Journal of Immunology,* 184(10), 5571-5581.

Jin, W., and Dong, C. (2013). Il-17 cytokines in immunity and inflammation. *Emerging Microbes & Infections,* 2(9), e60.

John, L. B., and Darcy, P. K. (2016). The double-edged sword of ifn-γ-dependent immune-based therapies. *Immunology and Cell Biology,* 94, 527-528.

Johnson, V., Webb, T., Norman, A., Coy, J., Kurihara, J., Regan, D., and Dow, S. (2017). Activated mesenchymal stem cells interact with antibiotics and host innate immune responses to control chronic bacterial infections. *Scientific Reports,* 7(1), 9575.

Jones, B. A., Beamer, M., and Ahmed, S. (2010). Fractalkine/cx3cl1: A potential new target for inflammatory diseases. *Molecular Interventions,* 10(5), 263.

Kakinuma, T., Saeki, H., Tsunemi, Y., Fujita, H., Asano, N., Mitsui, H., Tada, Y., Wakugawa, M., Watanabe, T., and Torii, H. (2003). Increased serum cutaneous t cell-attracting chemokine (ccl27) levels in patients with atopic dermatitis and psoriasis vulgaris. *Journal of Allergy and Clinical Immunology,* 111(3), 592-597.

Kaku, Y., Imaoka, H., Morimatsu, Y., Komohara, Y., Ohnishi, K., Oda, H., Takenaka, S., Matsuoka, M., Kawayama, T., and Takeya, M. (2014). Overexpression of cd163, cd204 and cd206 on alveolar macrophages in the lungs of patients with severe chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS One,* 9(1), e87400.

Kalinski, P. (2012). Regulation of immune responses by prostaglandin e2. . *Journal of Immunology,* 188(1), 21–28.

Kalwitz, G., Andreas, K., Endres, M., Neumann, K., Notter, M., Ringe, J., Sittinger, M., and Kaps, C. (2010). Chemokine profile of human serum from whole blood: Migratory effects of cxcl-10 and cxcl-11 on human mesenchymal stem cells. *Connective Tissue Research,* 51(2), 113-122.

Kalwitz, G., Endres, M., Neumann, K., Skriner, K., Ringe, J., Sezer, O., Sittinger, M., Häupl, T., and Kaps, C. (2009). Gene expression profile of adult human bone marrow-derived mesenchymal stem cells stimulated by the chemokine cxcl7. *The international journal of biochemistry & cell biology,* 41(3), 649-658.

Karikó, K., Ni, H., Capodici, J., Lamphier, M., and Weissman, D. (2004). Mrna is an endogenous ligand for toll-like receptor 3. *Journal of Biological Chemistry,* 279(13), 12542-12550.

Kastenmüller, W., Brandes, M., Wang, Z., Herz, J., Egen, J. G., and Germain, R. N. (2013). Peripheral prepositioning and local cxcl9 chemokine-mediated guidance orchestrate rapid memory cd8+ t cell responses in the lymph node. *Immunity,* 38(3), 502-513.

Kato, H., Takeuchi, O., Sato, S., Yoneyama, M., Yamamoto, M., Matsui, K., Uematsu, S., Jung, A., Kawai, T., and Ishii, K. J. (2006). Differential roles of mda5 and rig-i helicases in the recognition of rna viruses. *Nature,* 441(7089), 101-105.

Kawai, T., and Akira, S. (2007). Signaling to nf-kappab by toll-like receptors. *Trends in Molecular Medicine,* 13(11), 460-469.

Kawana, H., Karaki, H., Higashi, M., Miyazaki, M., Hilberg, F., Kitagawa, M., and Harigaya, K. (2008). Cd44 suppresses tlr-mediated inflammation. *The Journal of Immunology,* 180(6), 4235-4245.

Kelchtermans, H., Billiau, A., and Matthys, P. (2008). How interferon-γ keeps autoimmune diseases in check. *Trends in Immunology,* 29(10), 479-486.

Kelley, J. L., Ozment, T. R., Li, C., Schweitzer, J. B., and Williams, D. L. (2014). Scavenger receptor-a (cd204): A two-edged sword in health and disease. *Critical Reviews in Immunology,* 34(3), 241-261.

Keophiphath, M., Rouault, C., Divoux, A., Clément, K., and Lacasa, D. (2010). Ccl5 promotes macrophage recruitment and survival in human adipose tissue. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology,* 30(1), 39-45.

Khalil, N., Bereznay, O., Sporn, M., and Greenberg, A. H. (1989). Macrophage production of transforming growth factor beta and fibroblast collagen synthesis in chronic pulmonary inflammation. *Journal of Experimental Medicine,* 170(3), 727-737.

Khatibi, K. G., Szilagyi, E., Patil, R., Choi, K., and Bartholomew, A. M. (2015). The role of mhc class ii in interferon gamma-activated mesenchymal stem cell-macrophage crosstalk. *Journal of the American College of Surgeons,* 221(4), S159-S159.

Kim, C. H. (2004). Chemokine-chemokine receptor network in immune cell trafficking. *Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders,* 4(4), 343-361.

Kim, H. Y., DeKruyff, R. H., and Umetsu, D. T. (2010). The many paths to asthma: Phenotype shaped by innate and adaptive immunity. *Nature Immunology,* 11(7), 577-584.

Kim, J., and Hematti, P. (2009). Mesenchymal stem cell-educated macrophages: A novel type of alternatively activated macrophages. *Experimental Hematology,* 37(12), 1445-1453.

Kim, S. J., Kim, J. S., Papadopoulos, J., Wook Kim, S., Maya, M., Zhang, F., He, J., Fan, D., Langley, R., and Fidler, I. J. (2009). Circulating monocytes expressing cd31: Implications for acute and chronic angiogenesis. *American Journal of Pathology,* 174(5), 1972-1980.

Kim, S., Lee, H.-J., Jeon, M.-S., Yi, T., and Song, S. U. (2015). Galectin-9 is involved in immunosuppression mediated by human bone marrow-derived clonal mesenchymal stem cells. *Immune Network,* 15(5), 241-251.

Kim, Y.-G., Udayanga, K. G. S., Totsuka, N., Weinberg, J. B., Núñez, G., and Shibuya, A. (2014). Gut dysbiosis promotes m2 macrophage polarization and allergic airway inflammation via fungi-induced pge 2. *Cell Host & Microbe,* 15(1), 95-102.

Klebanoff, S. J. (1993). Reactive nitrogen intermediates and antimicrobial activity: Role of nitrite. *Free Radical Biology and Medicine,* 14(4), 351-360.

Ko, J. H., Lee, H. J., Jeong, H. J., Kim, M. K., Wee, W. R., Yoon, S. O., Choi, H., Prockop, D. J., and Oh, J. Y. (2016). Mesenchymal stem/stromal cells precondition lung monocytes/macrophages to produce tolerance against allo- and autoimmunity in the eye. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* 113(1), 158-163.

Kobayashi, M., Jeschke, M. G., Shigematsu, K., Asai, A., Yoshida, S., Herndon, D. N., and Suzuki, F. (2010). M2b monocytes predominated in peripheral blood of severely burned patients. *The Journal of Immunology,* 185(12), 7174-7179.

Koedam, J. A., Cramer, E. M., Briend, E., Furie, B., Furie, B. C., and Wagner, D. D. (1992). P-selectin, a granule membrane protein of platelets and endothelial cells, follows the regulated secretory pathway in att-20 cells. *Journal of Cell Biology,* 116(3), 617-625.

Koh, T. J., and DiPietro, L. A. (2011). Inflammation and wound healing: The role of the macrophage. *Expert Reviews in Molecular Medicine,* 13, e23.

Kohler, N., and Lipton, A. (1974). Platelets as a source of fibroblast growth-promoting activity. *Experimental Cell Research,* 87(2), 297-301.

Kol, A., Foutouhi, S., Walker, N. J., Kong, N. T., Weimer, B. C., and Borjesson, D. L. (2014). Gastrointestinal microbes interact with canine adipose-derived mesenchymal stem cells in vitro and enhance immunomodulatory functions. *Stem Cells and Development,* 23(16), 1831-1843.

Koning, N., van Eijk, M., Pouwels, W., Brouwer, M. S., Voehringer, D., Huitinga, I., Hoek, R. M., Raes, G., and Hamann, J. (2010). Expression of the inhibitory cd200 receptor is associated with alternative macrophage activation. *Journal of Innate Immunity,* 2(2), 195-200.

Kota, D. J., DiCarlo, B., Hetz, R. A., Smith, P., Cox, C. S., Jr., and Olson, S. D. (2014). Differential msc activation leads to distinct mononuclear leukocyte binding mechanisms. *Scientific Reports,* 4, 4565.

Kovach, T. K., Dighe, A. S., Lobo, P. I., and Cui, Q. (2015). Interactions between mscs and immune cells: Implications for bone healing. *Journal of Immunology Research,* 2015, 1-17.

Krampera, M. (2011). Mesenchymal stromal cell 'licensing': A multistep process. *Leukemia,* 25(9), 1408-1414.

Krampera, M., Cosmi, L., Angeli, R., Pasini, A., Liotta, F., Andreini, A., Santarlasci, V., Mazzinghi, B., Pizzolo, G., and Vinante, F. (2006). Role for interferon□γ in the immunomodulatory activity of human bone marrow mesenchymal stem cells. *Stem Cells,* 24(2), 386-398.

Krieg, A. M. (2000). Immune effects and mechanisms of action of cpg motifs. *Vaccine,* 19(6), 618-622.

Krieg, A. M. (2002). Cpg motifs in bacterial DNA and their immune effects. *Annual Review of Immunology,* 20(1), 709-760.

Kristóf, E., Zahuczky, G., Katona, K., Doró, Z., Nagy, É., and Fésüs, L. (2013). Novel role of icam3 and lfa-1 in the clearance of apoptotic neutrophils by human macrophages. *Apoptosis,* 18(10), 1235-1251.

Krstic, A., Mojsilovic, S., Jovcic, G., and Bugarski, D. (2012). The potential of interleukin-17 to mediate hematopoietic response. *Immunologic Research,* 52(1-2), 34-41.

Kryczek, I., Zou, L., Rodriguez, P., Zhu, G., Wei, S., Mottram, P., Brumlik, M., Cheng, P., Curiel, T., and Myers, L. (2006). B7-h4 expression identifies a novel suppressive macrophage population in human ovarian carcinoma. *Journal of Experimental Medicine,* 203(4), 871-881.

Kubota, K., Moriyama, M., Furukawa, S., Rafiul, H. A., Maruse, Y., Jinno, T., Tanaka, A., Ohta, M., Ishiguro, N., and Yamauchi, M. (2017). Cd163+ cd204+ tumor-associated macrophages contribute to t cell regulation via interleukin-10 and pd-l1 production in oral squamous cell carcinoma. *Scientific Reports,* 7(1), 1-17.

Kugelberg, E. (2014). Immunotherapy: Glucocorticoids shift response in macrophages. *Nature Reviews Immunology,* 14(2), 66-66.

Kyurkchiev, D., Bochev, I., Ivanova-Todorova, E., Mourdjeva, M., Oreshkova, T., Belemezova, K., and Kyurkchiev, S. (2014). Secretion of immunoregulatory cytokines by mesenchymal stem cells. *World Journal of Stem Cells,* 6(5), 552.

Labonte, A. C., Tosello-Trampont, A.-C., and Hahn, Y. S. (2014). The role of macrophage polarization in infectious and inflammatory diseases. *Molecules and Cells,* 37(4), 275.

Lagasse, E., Shizuru, J. A., Uchida, N., Tsukamoto, A., and Weissman, I. L. (2001). Toward regenerative medicine. *Immunity,* 14(4), 425-436.

Lai, L., Alaverdi, N., Maltais, L., and Morse, H. C. (1998). Mouse cell surface antigens: Nomenclature and immunophenotyping. *The Journal of Immunology,* 160(8), 3861-3868.

Lam, R. S., O'Brien-Simpson, N. M., Holden, J. A., Lenzo, J. C., Fong, S. B., and Reynolds, E. C. (2016). Unprimed, m1 and m2 macrophages differentially interact with porphyromonas gingivalis. *PLoS One,* 11(7), e0158629.

Lampiasi, N., Russo, R., and Zito, F. (2016). The alternative faces of macrophage generate osteoclasts. *Bio Med Research International,* 2016, 9089610.

Lang, R., Patel, D., Morris, J. J., Rutschman, R. L., and Murray, P. J. (2002). Shaping gene expression in activated and resting primary macrophages by il-10. *The Journal of Immunology,* 169(5), 2253-2263.

Langrish, C. L., McKenzie, B. S., Wilson, N. J., de Waal Malefyt, R., Kastelein, R. A., and Cua, D. J. (2004). Il□12 and il□23: Master regulators of innate and adaptive immunity. *Immunological Reviews,* 202(1), 96-105.

Lavin, Y., Mortha, A., Rahman, A., and Merad, M. (2015). Regulation of macrophage development and function in peripheral tissues. *Nature Reviews Immunology,* 15(12), 731-744.

Law, S., and Chaudhuri, S. (2013). Mesenchymal stem cell and regenerative medicine: Regeneration versus immunomodulatory challenges. *American Journal of Stem Cells,* 2(1), 22.

Le Blanc, K., and Davies, L. C. (2015). Mesenchymal stromal cells and the innate immune response. *Immunology Letters,* 168(2), 140-146.

Le Blanc, K., and Mougiakakos, D. (2012). Multipotent mesenchymal stromal cells and the innate immune system. *Nature Reviews Immunology,* 12(5), 383-396.

Le Blanc, K., Tammik, C., Rosendahl, K., Zetterberg, E., and Ringdén, O. (2003). Hla expression and immunologic propertiesof differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells. *Experimental Hematology,* 31(10), 890-896.

Lee, C. C., Avalos, A. M., and Ploegh, H. L. (2012). Accessory molecules for toll-like receptors and their function. *Nature Reviews Immunology,* 12(3), 168-179.

Lee, D. H., and Ghiasi, H. (2017). Roles of m1 and m2 macrophages in herpes simplex virus-1 infectivity. *Journal of Virology,* 91(15), 578.

Lee, H. J., Ko, J. H., Jeong, H. J., Ko, A. Y., Kim, M. K., Wee, W. R., Yoon, S. O., and Oh, J. Y. (2015). Mesenchymal stem/stromal cells protect against autoimmunity via ccl2-dependent recruitment of myeloid-derived suppressor cells. *Journal of Immunology,* 194(8), 3634-3645.

Lee, J. K., Schuchman, E. H., Jin, H. K., and Bae, J. S. (2012). Soluble ccl5 derived from bone marrow□derived mesenchymal stem cells and activated by amyloid β ameliorates alzheimer's disease in mice by recruiting bone marrow□induced microglia immune responses. *Stem Cells,* 30(7), 1544-1555.

Lee, R. H., Pulin, A. A., Seo, M. J., Kota, D. J., Ylostalo, J., Larson, B. L., Semprun-Prieto, L., Delafontaine, P., and Prockop, D. J. (2009). Intravenous hmscs improve myocardial infarction in mice because cells embolized in lung are activated to secrete the anti-inflammatory protein tsg-6. *Cell Stem Cell,* 5(1), 54-63.

Lee, S. C., Jeong, H. J., Lee, S. K., and Kim, S.-J. (2015). Lipopolysaccharide preconditioning of adipose-derived stem cells improves liver-regenerating activity of the secretome. *Stem Cell Research & Therapy,* 6(1), 75.

Leibbrandt, A., and Penninger, J. M. (2009). Novel functions of rank (l) signaling in the immune system. *Advances in Experimental Medicine and Biology,* 658, 77-94.

Lesley, J., Gál, I., Mahoney, D. J., Cordell, M. R., Rugg, M. S., Hyman, R., Day, A. J., and Mikecz, K. (2004). Tsg-6 modulates the interaction between hyaluronan and cell surface cd44. *Journal of Biological Chemistry,* 279(24), 25745-25754.

Lester, S. N., and Li, K. (2014). Toll-like receptors in antiviral innate immunity. *Journal of Molecular Biology,* 426(6), 1246-1264.

Ley, K. (2014). The second touch hypothesis: T cell activation, homing and polarization. *F1000Research,* 3, 37.

Li, F., Yang, Y., Zhu, X., Huang, L., and Xu, J. (2015). Macrophage polarization modulates development of systemic lupus erythematosus. *Cellular Physiology and Biochemistry,* 37(4), 1279-1288.

Li, Q., and Cherayil, B. J. (2003). Role of toll-like receptor 4 in macrophage activation and tolerance during salmonella enterica serovar typhimurium infection. *Infection and Immunity,* 71(9), 4873-4882.

Li, Q., and Verma, I. M. (2002). Nf-κb regulation in the immune system. *Nature Reviews Immunology,* 2(10), 725-734.

Li, R., Paul, A., Ko, K. W., Sheldon, M., Rich, B. E., Terashima, T., Dieker, C., Cormier, S., Li, L., and Nour, E. A. (2011). Interleukin-7 induces recruitment of monocytes/macrophages to endothelium. *European Heart Journal,* 33(24), 3114-3123.

Li, W., Ren, G., Huang, Y., Su, J., Han, Y., Li, J., Chen, X., Cao, K., Chen, Q., Shou, P., Zhang, L., Yuan, Z. R., Roberts, A. I., Shi, S., Le, A. D., and Shi, Y. (2012). Mesenchymal stem cells: A double-edged sword in regulating immune responses. *Cell Death and Differentiation,* 19(9), 1505-1513.

Li, X. C., and Raghavan, M. (2010). Structure and function of major histocompatibility complex (mhc) class i antigens. *Current Opinion in Organ Transplantation,* 15(4), 499.

Li, X., Bai, J., Ji, X., Li, R., Xuan, Y., and Wang, Y. (2014). Comprehensive characterization of four different populations of human mesenchymal stem cells as regards their

immune properties, proliferation and differentiation. *International Journal of Molecular Medicine,* 34(3), 695-704.

Li, Y., Zheng, Y., Yang, L., Wang, Q., Bi, E., Li, T., Lu, Y., Qian, J., Zhang, M., and Yang, M. (2014). Chemokines ccl14 and ccl3 facilitate monocytes/macrophage infiltration in multiple myeloma bone marrow. *Oncotarget,* 124 (21), 3380.

Li, Y.-P., Paczesny, S., Lauret, E., Poirault, S., Bordigoni, P., Mekhloufi, F., Hequet, O., Bertrand, Y., Ou-Yang, J.-P., and Stoltz, J.-F. (2008). Human mesenchymal stem cells license adult cd34+ hemopoietic progenitor cells to differentiate into regulatory dendritic cells through activation of the notch pathway. *The Journal of Immunology,* 180(3), 1598-1608.

Liang, J., Jiang, D., Griffith, J., Yu, S., Fan, J., Zhao, X., Bucala, R., and Noble, P. W. (2007). Cd44 is a negative regulator of acute pulmonary inflammation and lipopolysaccharide-tlr signaling in mouse macrophages. *The Journal of Immunology,* 178(4), 2469-2475.

Licona-Limon, P., Arias-Rojas, A., and Olguin-Martinez, E. (2017). Il-9 and th9 in parasite immunity. *Seminars in Immunopathology,* 39(1), 29-38.

Liddiard, K., Welch, J. S., Lozach, J., Heinz, S., Glass, C. K., and Greaves, D. R. (2006). Interleukin-4 induction of the cc chemokine tarc (ccl17) in murine macrophages is mediated by multiple stat6 sites in the tarc gene promoter. *Bio Medicine Central Molecular Biology,* 7(1), 45.

Lim, J., Im, K.-I., Lee, E.-S., Kim, N., Nam, Y.-S., Jeon, Y.-W., and Cho, S.-G. (2016). Enhanced immunoregulation of mesenchymal stem cells by il-10-producing type 1 regulatory t cells in collagen-induced arthritis. *Scientific Reports,* 6, 26851.

Lim, J.-Y., Ryu, D.-B., Lee, S.-E., Park, G., and Min, C.-K. (2017). Mesenchymal stem cells (mscs) attenuate cutaneous sclerodermatous graft-versus-host disease (scl-gvhd) through inhibition of immune cell infiltration in a mouse model. *Journal of Investigative Dermatology,* 137(9), 1895-1904.

Linge, H. M., Collin, M., Nordenfelt, P., Mörgelin, M., Malmsten, M., and Egesten, A. (2008). The human cxc chemokine granulocyte chemotactic protein 2 (gcp-2)/cxcl6 possesses membrane-disrupting properties and is antibacterial. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy,* 52(7), 2599-2607.

Liotta, F., Angeli, R., Cosmi, L., Fili, L., Manuelli, C., Frosali, F., Mazzinghi, B., Maggi, L., Pasini, A., Lisi, V., Santarlasci, V., Consoloni, L., Angelotti, M. L., Romagnani, P., Parronchi, P., Krampera, M., Maggi, E., Romagnani, S., and Annunziato, F. (2008). Toll-like receptors 3 and 4 are expressed by human bone marrow-derived mesenchymal stem cells and can inhibit their t-cell modulatory activity by impairing notch signaling. *Stem Cells,* 26(1), 279-289.

Littlefield, M., Teboul, I., Voloshyna, I., and Reiss, A. (2015). Polarization of human thp-1 macrophages: Link between adenosine receptors. *Inflammation and Lipid Accumulation*, 1(1), 4-8.

Liu, B., Wang, X., Chen, T. Z., Li, G. L., Tan, C. C., Chen, Y., and Duan, S. Q. (2016). Polarization of m1 tumor associated macrophage promoted by the activation of tlr3 signal pathway. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine,* 9(5), 484-488.

Liu, F.-T. (2005). Regulatory roles of galectins in the immune response. *International Archives of Allergy and Immunology,* 136(4), 385-400.

Liu, H., Zhou, J., Ma, D., Lu, X., Ming, S., Shan, G., Zhang, X., Hou, J., Chen, Z., and Zuo, D. (2014). Mannan binding lectin attenuates double-stranded rna-mediated tlr3 activation and innate immunity. *Federation of European Biochemical Societies Letters,* 588(6), 866-872.

Liu, H.-Z., Gong, J.-P., Wu, C.-X., Peng, Y., Li, X.-H., and You, H.-B. (2005). The u937 cell line induced to express cd14 protein by 1, 25-dihydroxyvitamin d3 and be sensitive to endotoxin stimulation. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International,* 4(1), 84-89.

Liu, J., Guan, X., and Ma, X. (2007). Regulation of il-27 p28 gene expression in macrophages through myd88-and interferon-γ–mediated pathways. *Journal of Experimental Medicine,* 204(1), 141-152.

Liu, P. T., Phan, J., Tang, D., Kanchanapoomi, M., Hall, B., Krutzik, S. R., and Kim, J. (2008). Cd209+ macrophages mediate host defense against propionibacterium acnes. *The Journal of Immunology,* 180(7), 4919-4923.

Liu, W., Zhang, S., Gu, S., Sang, L., and Dai, C. (2015). Mesenchymal stem cells recruit macrophages to alleviate experimental colitis through tgfbeta1. *Cellular Physiology and Biochemistry,* 35(3), 858-865.

Liu, X. B., Jiang, J., Gui, C., Hu, X. Y., Xiang, M. X., and Wang, J. A. (2008). Angiopoietin□1 protects mesenchymal stem cells against serum deprivation and hypoxia□induced apoptosis through the pi3k/akt pathway. *Acta Pharmacologica Sinica,* 29(7), 815-822.

Liu, X.-D., Liu, D., Zang, C.-B., Zhang, H.-Y., Ming, Y., Chi, L.-L., Shen, B.-J., and Li, D. (2014). Ifn-γ stimulation enhances immunosuppressive capability of human umbilical cord mesenchymal stem cells. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi. Journal of Experimental Hematology,* 22(3), 605-611.

Liu, Y., and Cao, X. (2015). The origin and function of tumor-associated macrophages. *Cellular & Molecular Immunology,* 12(1), 1-4.

Lo, C. Y., Antonopoulos, A., Dell, A., Haslam, S. M., Lee, T., and Neelamegham, S. (2013). The use of surface immobilization of p-selectin glycoprotein ligand-1 on mesenchymal stem cells to facilitate selectin mediated cell tethering and rolling. *Biomaterials,* 34(33), 8213-8222.

Loke, P. n., and Allison, J. P. (2003). Pd-l1 and pd-l2 are differentially regulated by th1 and th2 cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 100(9), 5336-5341.

Lombardo, E., Alvarez-Barrientos, A., Maroto, B., Boscá, L., and Knaus, U. G. (2007). Tlr4-mediated survival of macrophages is myd88 dependent and requires tnf-α autocrine signalling. *The Journal of Immunology,* 178(6), 3731-3739.

Lombardo, E., DelaRosa, O., Mancheno-Corvo, P., Menta, R., Ramirez, C., and Buscher, D. (2009). Toll-like receptor-mediated signaling in human adipose-derived stem cells: Implications for immunogenicity and immunosuppressive potential. *Tissue Eng Part A,* 15(7), 1579-1589.

Lombardo, E., van der Poll, T., DelaRosa, O., and Dalemans, W. (2015). Mesenchymal stem cells as a therapeutic tool to treat sepsis. *World Journal of Stem Cells,* 7(2), 368-379.

Lorey, S. L., Huang, Y. C., and Sharma, V. (2004). Constitutive expression of interleukin-18 and interleukin-18 receptor mrna in tumour derived human b-cell lines. *Clinical and Experimental Immunology,* 136(3), 456-462.

Lourenco, S., Teixeira, V. H., Kalber, T., Jose, R. J., Floto, R. A., and Janes, S. M. (2015). Macrophage migration inhibitory factor–cxcr4 is the dominant chemotactic axis in human mesenchymal stem cell recruitment to tumors. *The Journal of Immunology,* 194(7), 3463-3474.

Lovelace, M. D., Yap, M. L., Yip, J., Muller, W., Wijburg, O., and Jackson, D. E. (2013). Absence of platelet endothelial cell adhesion molecule 1, pecam-1/cd31, in vivo increases resistance to salmonella enterica serovar typhimurium in mice. *Infection and Immunity,* 81(6), 1952-1963.

Luckett-Chastain, L., Calhoun, K., Schartz, T., and Gallucci, R. M. (2016). Il-6 influences the balance between m1 and m2 macrophages in a mouse model of irritant contact dermatitis. *Journal of Immunology,* 196 (1 Supplement), 17.

Lüttichau, I. V., Notohamiprodjo, M., Wechselberger, A., Peters, C., Henger, A., Seliger, C., Djafarzadeh, R., Huss, R., and Nelson, P. J. (2005). Human adult cd34− progenitor cells functionally express the chemokine receptors ccr1, ccr4, ccr7, cxcr5, and ccr10 but not cxcr4. *Stem Cells and Development,* 14(3), 329-336.

Luz-Crawford, P., Djouad, F., Toupet, K., Bony, C., Franquesa, M., Hoogduijn, M. J., Jorgensen, C., and Noel, D. (2016). Mesenchymal stem cell-derived interleukin 1 receptor antagonist promotes macrophage polarization and inhibits b cell differentiation. *Stem Cells,* 34(2), 483-492.

Luz-Crawford, P., Noël, D., Fernandez, X., Khoury, M., Figueroa, F., Carrión, F., Jorgensen, C., and Djouad, F. (2012). Mesenchymal stem cells repress th17 molecular program through the pd-1 pathway. *Public Library of Science One,* 7(9), 1-15.

Luzina, I. G., Keegan, A. D., Heller, N. M., Rook, G. A., Shea-Donohue, T., and Atamas, S. P. (2012). Regulation of inflammation by interleukin-4: A review of "alternatives". *Journal of Leukocyte Biology,* 92(4), 753-764.

Lyons, C., Fernandes, P., Fanning, L. J., Houston, A., and Brint, E. (2015). Engagement of fas on macrophages modulates poly i: C induced cytokine production with specific enhancement of ip-10. *Public Library of Science One,* 10(4), e0123635.

Ma, S., Xie, N., Li, W., Yuan, B., Shi, Y., and Wang, Y. (2014). Immunobiology of mesenchymal stem cells. *Cell Death and Differentiation,* 21(2), 216-225.

Ma, X., Yan, W., Zheng, H., Du, Q., Zhang, L., Ban, Y., Li, N., and Wei, F. (2015). Regulation of il-10 and il-12 production and function in macrophages and dendritic cells. *F1000Res,* 4, 1-15.

Maccario, R., Podestà, M., Moretta, A., Cometa, A., Comoli, P., Montagna, D., Daudt, L., Ibatici, A., Piaggio, G., and Pozzi, S. (2005). Interaction of human mesenchymal stem cells with cells involved in alloantigen-specific immune response favors the differentiation of cd4+ t-cell subsets expressing a regulatory/suppressive phenotype. *Haematologica,* 90(4), 516-525.

MacKenzie, C., Heseler, K., Muller, A., and Daubener, W. (2007). Role of indoleamine 2, 3-dioxygenase in antimicrobial defence and immuno-regulation: Tryptophan depletion versus production of toxic kynurenines. *Current Drug Metabolism,* 8(3), 237-244.

MacMicking, J., Xie, Q.-w., and Nathan, C. (1997). Nitric oxide and macrophage function. *Annual Review of Immunology,* 15(1), 323-350.

Maeno, N., Takei, S., Imanaka, H., Yamamoto, K., Kuriwaki, K., Kawano, Y., and Oda, H. (2004). Increased interleukin□18 expression in bone marrow of a patient with systemic juvenile idiopathic arthritis and unrecognized macrophage□activation syndrome. *Arthritis & Rheumatology,* 50(6), 1935-1938.

Maeshima, N., and Fernandez, R. C. (2013). Recognition of lipid a variants by the tlr4-md-2 receptor complex. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology,* 3, 3.

Maeß, M. B., Sendelbach, S., and Lorkowski, S. (2010). Selection of reliable reference genes during thp-1 monocyte differentiation into macrophages. *Bio Med Central Molecular Biology,* 11(1), 90.

Maess, M. B., Wittig, B., Cignarella, A., and Lorkowski, S. (2014). Reduced pma enhances the responsiveness of transfected thp-1 macrophages to polarizing stimuli. *Journal of Immunological Methods,* 402(1-2), 76-81.

Maggini, J., Mirkin, G., Bognanni, I., Holmberg, J., Piazzon, I. M., Nepomnaschy, I., Costa, H., Canones, C., Raiden, S., Vermeulen, M., and Geffner, J. R. (2010). Mouse bone marrow-derived mesenchymal stromal cells turn activated macrophages into a regulatory-like profile. *Public Library of Science One,* 5(2), e9252.

Maijenburg, M. W., Gilissen, C., Melief, S. M., Kleijer, M., Weijer, K., ten Brinke, A., Roelofs, H., Van Tiel, C. M., Veltman, J. A., and de Vries, C. J. (2011). Nuclear receptors nur77 and nurr1 modulate mesenchymal stromal cell migration. *Stem Cells and Development,* 21(2), 228-238.

Maina, V., Cotena, A., Doni, A., Nebuloni, M., Pasqualini, F., Milner, C. M., Day, A. J., Mantovani, A., and Garlanda, C. (2009). Coregulation in human leukocytes of the long pentraxin ptx3 and tsg-6. *Journal of Leukocyte Biology,* 86(1), 123-132.

Majumdar, M. K., Thiede, M. A., Haynesworth, S. E., Bruder, S. P., and Gerson, S. L. (2000). Human marrow-derived mesenchymal stem cells (mscs) express hematopoietic cytokines and support long-term hematopoiesis when differentiated toward stromal and osteogenic lineages. *Journal of Hematotherapy & Stem Cell Research,* 9(6), 841-848.

Manie, S., Kubar, J., Limouse, M., Ferrua, B., Ticchioni, M., Breittmayer, J., Peyron, J., Schaffar, L., and Rossi, B. (1993). Cd3-stimulated jurkat t cells mediate il-1 beta production in monocytic thp-1 cells. Role of lfa-1 molecule and participation of cd69 t cell antigen. *European Cytokine Network,* 4(1), 7-13.

Mannon, R. B. (2012). Macrophages: Contributors to allograft dysfunction, repair or innocent bystanders? *Current Opinion in Organ Transplantation,* 17(1), 20.

Mantovani, A., and Marchesi, F. (2014). Il-10 and macrophages orchestrate gut homeostasis. *Immunity,* 40(5), 637-639.

Mantovani, A., Biswas, S. K., Galdiero, M. R., Sica, A., and Locati, M. (2013). Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling. *Journal of Pathology,* 229(2), 176-185.

Mantovani, A., Gray, P. A., Van Damme, J., and Sozzani, S. (2000). Macrophage-derived chemokine (mdc). *Journal of Leukocyte Biology,* 68(3), 400-404.

Mantovani, A., Sica, A., Sozzani, S., Allavena, P., Vecchi, A., and Locati, M. (2004). The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends in Immunology,* 25(12), 677-686.

Mao, A. S., and Mooney, D. J. (2015). Regenerative medicine current therapies and future directions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* 112(47), 14452-14459.

Marchesi, M., Andersson, E., Villabona, L., Seliger, B., Lundqvist, A., Kiessling, R., and Masucci, G. V. (2013). Hla-dependent tumour development: A role for tumour associate macrophages? *Journal of Translational Medicine,* 11(1), 247.

Marigo, I., and Dazzi, F. (2011). The immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells. *Seminars in Immunopathology,* 33(6), 593.

Marion, N. W., and Mao, J. J. (2006). Mesenchymal stem cells and tissue engineering. *Methods in Enzymology,* 420, 339-361.

Marquez-Curtis, L. A., Janowska-Wieczorek, A., McGann, L. E., and Elliott, J. A. (2015). Mesenchymal stromal cells derived from various tissues: Biological, clinical and cryopreservation aspects. *Cryobiology,* 71(2), 181-197.

Marriott, H. M., Gascoyne, K. A., Gowda, R., Geary, I., Nicklin, M. J., Iannelli, F., Pozzi, G., Mitchell, T. J., Whyte, M. K., and Sabroe, I. (2012). Interleukin-1β regulates cxcl8 release and influences disease outcome in response to streptococcus pneumoniae, defining intercellular cooperation between pulmonary epithelial cells and macrophages. *Infection and Immunity,* 80(3), 1140-1149.

Martin, B., Hirota, K., Cua, D. J., Stockinger, B., and Veldhoen, M. (2009). Interleukin-17-producing γδ t cells selectively expand in response to pathogen products and environmental signals. *Immunity,* 31(2), 321-330.

Martin, G. R. (1981). Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 78(12), 7634-7638.

Martinez, F. O., and Gordon, S. (2014). The m1 and m2 paradigm of macrophage activation: Time for reassessment. *F1000 Prime Reports,* 6, 13.

Massagué, J. (2008). Tgfβ in cancer. *Cell,* 134(2), 215-230.

Mastri, M., Shah, Z., McLaughlin, T., Greene, C. J., Baum, L., Suzuki, G., and Lee, T. (2012). Activation of toll-like receptor 3 amplifies mesenchymal stem cell trophic factors and enhances therapeutic potency. *American Journal of Physiology - Cell Physiology,* 303(10), C1021-C1033.

Mathew, E., Brannon, A. L., Del Vecchio, A., Garcia, P. E., Penny, M. K., Kane, K. T., Vinta, A., Buckanovich, R. J., and di Magliano, M. P. (2016). Mesenchymal stem cells promote pancreatic tumor growth by inducing alternative polarization of macrophages. *Neoplasia,* 18(3), 142-151.

Matsuda, A., Wu, R., Jacob, A., Komura, H., Zhou, M., Wang, Z., Aziz, M. M., and Wang, P. (2011). Protective effect of milk fat globule-egf factor viii after renal ischemia-reperfusion injury in mice. *Critical Care Medicine,* 39(9), 2039.

Matsukura, S., Stellato, C., Plitt, J. R., Bickel, C., Miura, K., Georas, S. N., Casolaro, V., and Schleimer, R. P. (1999). Activation of eotaxin gene transcription by nf-κb and stat6 in human airway epithelial cells. *The Journal of Immunology,* 163(12), 6876-6883.

Matsumoto, M., and Seya, T. (2008). Tlr3: Interferon induction by double-stranded rna including poly(i:C). *Adv Drug Deliv Rev,* 60(7), 805-812.

Mauer, J., Chaurasia, B., Goldau, J., Vogt, M. C., Ruud, J., Nguyen, K. D., Theurich, S., Hausen, A. C., Schmitz, J., and Brönneke, H. S. (2014). Interleukin-6 signaling promotes alternative macrophage activation to limit obesity-associated insulin resistance and endotoxemia. *Nature Immunology,* 15(5), 423.

Maurer, M., and Von Stebut, E. (2004). Macrophage inflammatory protein-1. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology,* 36(10), 1882-1886.

Mbongue, J. C., Nicholas, D. A., Torrez, T. W., Kim, N.-S., Firek, A. F., and Langridge, W. H. (2015). The role of indoleamine 2, 3-dioxygenase in immune suppression and autoimmunity. *Vaccines,* 3(3), 703-729.

McKay, L. I., and Cidlowski, J. A. (1999). Molecular control of immune/inflammatory responses: Interactions between nuclear factor-κb and steroid receptor-signaling pathways. *Endocrine Reviews,* 20(4), 435-459.

Medzhitov, R., Preston-Hurlburt, P., and Janeway, C. A. (1997). A human homologue of the drosophila toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature,* 388(6640), 394-397.

Mège, J.-L., Mehraj, V., and Capo, C. (2011). Macrophage polarization and bacterial infections. *Current Opinion in Infectious Diseases,* 24(3), 230-234.

Mei, S. H., Haitsma, J. J., Dos Santos, C. C., Deng, Y., Lai, P. F., Slutsky, A. S., Liles, W. C., and Stewart, D. J. (2010). Mesenchymal stem cells reduce inflammation while enhancing bacterial clearance and improving survival in sepsis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine,* 182(8), 1047-1057.

Meisel, R., Brockers, S., Heseler, K., Degistirici, Ö., Bülle, H., Woite, C., Stuhlsatz, S., Schwippert, W., Jäger, M., and Sorg, R. (2011). Human but not murine multipotent mesenchymal stromal cells exhibit broad-spectrum antimicrobial effector function mediated by indoleamine 2, 3-dioxygenase. *Leukemia,* 25(4), 648-654.

Meisel, R., Zibert, A., Laryea, M., Göbel, U., Däubener, W., and Dilloo, D. (2004). Human bone marrow stromal cells inhibit allogeneic t-cell responses by indoleamine 2, 3-dioxygenase–mediated tryptophan degradation. *Blood,* 103(12), 4619-4621.

Melgert, B. N., Nick, H., Rutgers, B., Timens, W., Postma, D. S., and Hylkema, M. N. (2011). More alternative activation of macrophages in lungs of asthmatic patients. *Journal of Allergy and Clinical Immunology,* 127(3), 831-833.

Melief, S. M., Geutskens, S. B., Fibbe, W. E., and Roelofs, H. (2013a). Multipotent stromal cells skew monocytes towards an anti-inflammatory interleukin-10-producing phenotype by production of interleukin-6. *Haematologica,* 98(6), 888-895.

Melief, S. M., Schrama, E., Brugman, M. H., Tiemessen, M. M., Hoogduijn, M. J., Fibbe, W. E., and Roelofs, H. (2013b). Multipotent stromal cells induce human regulatory t cells through a novel pathway involving skewing of monocytes toward antiinflammatory macrophages. *Stem Cells,* 31(9), 1980-1991.

Melzer, C., Yang, Y., and Hass, R. (2016). Interaction of msc with tumor cells. *Cell Commun Signal,* 14(1), 20.

Mendez-Enriquez, E., and Garcia-Zepeda, E. (2013). The multiple faces of ccl13 in immunity and inflammation. *Inflammopharmacology,* 21(6), 397-406.

Menten, P., Wuyts, A., and Van Damme, J. (2002). Macrophage inflammatory protein-1. *Cytokine & Growth Factor Reviews,* 13(6), 455-481.

Metcalf, D. (2003). The unsolved enigmas of leukemia inhibitory factor. *Stem Cells,* 21(1), 5-14.

Miller, C. M., Smith, N. C., Ikin, R. J., Boulter, N. R., Dalton, J. P., and Donnelly, S. (2009). Immunological interactions between 2 common pathogens, th1-inducing protozoan toxoplasma gondii and the th2-inducing helminth fasciola hepatica. *Public Library of Science One,* 4(5), e5692.

Mills, C. D., Kincaid, K., Alt, J. M., Heilman, M. J., and Hill, A. M. (2000). M-1/m-2 macrophages and the th1/th2 paradigm. *The Journal of Immunology,* 164(12), 6166-6173.

Milner, C. M., and Day, A. J. (2003). Tsg-6: A multifunctional protein associated with inflammation. *Journal of Cell Science,* 116(10), 1863-1873.

Milner, C., Higman, V., and Day, A. (2006). Tsg-6: A pluripotent inflammatory mediator? *Biochemical Society Transactions,* 34(3), 446-450.

Misch, E. A., and Hawn, T. R. (2008). Toll-like receptor polymorphisms and susceptibility to human disease. *Clinical Science,* 114(5), 347-360.

Misharin, A. V., Cuda, C. M., Saber, R., Turner, J. D., Gierut, A. K., Haines, G. K., Berdnikovs, S., Filer, A., Clark, A. R., and Buckley, C. D. (2014). Nonclassical ly6c− monocytes drive the development of inflammatory arthritis in mice. *Cell Reports,* 9(2), 591-604.

Mittal, M., Tiruppathi, C., Nepal, S., Zhao, Y.-Y., Grzych, D., Soni, D., Prockop, D. J., and Malik, A. B. (2016). Tnfα-stimulated gene-6 (tsg6) activates macrophage phenotype transition to prevent inflammatory lung injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 113(50), E8151-E8158.

Mojsilović, S., Jauković, A., Santibañez, J. F., and Bugarski, D. (2015). Interleukin-17 and its implication in the regulation of differentiation and function of hematopoietic and mesenchymal stem cells. *Mediators of Inflammation,* 2015.

Moll, N. M., and Ransohoff, R. M. (2010). Cxcl12 and cxcr4 in bone marrow physiology. *Expert Review of Hematology,* 3(3), 315-322.

Molteni, M., Gemma, S., and Rossetti, C. (2016). The role of toll-like receptor 4 in infectious and noninfectious inflammation. *Mediators of Inflammation,* 2016, 1-9.

Morand, E. F., Leech, M., and Bernhagen, J. (2006). Mif a new cytokine link between rheumatoid arthritis and atherosclerosis. *Nature reviews Drug discovery,* 5(5), 399-411.

Morelli, P. I., Martinsson, S., Östergren-Lundén, G., Fridén, V., Moses, J., Bondjers, G., Krettek, A., and Lustig, F. (2006). Ifnγ regulates pdgf-receptor alpha expression in macrophages, thp-1 cells, and arterial smooth muscle cells. *Atherosclerosis,* 184(1), 39-47.

Morrison, S. J., and Scadden, D. T. (2014). The bone marrow niche for haematopoietic stem cells. *Nature,* 505(7483), 327-334.

Morrison, S. J., Uchida, N., and Weissman, I. L. (1995). The biology of hematopoietic stem cells. *Annual Review of Cell and Developmental Biology,* 11(1), 35-71.

Mosser, D. M., and Edwards, J. P. (2008). Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nature Reviews: Immunology,* 8(12), 958-969.

Mucci, J. M., and Rozenfeld, P. (2015). Pathogenesis of bone alterations in gaucher disease: The role of immune system. *Journal of Immunology Research,* 2015, 192761.

Munir, H., and McGettrick, H. M. (2015). Mesenchymal stem cell therapy for autoimmune disease: Risks and rewards. *Stem Cells and Development,* 24(18), 2091-2100.

Munir, H., Ward, L. S. C., Sheriff, L., Kemble, S., Nayar, S., Barone, F., Nash, G. B., and McGettrick, H. M. (2017). Adipogenic differentiation of mesenchymal stem cells alters their immunomodulatory properties in a tissue-specific manner. *Stem Cells,* 35(6), 1636-1646.

Muraille, E., Leo, O., and Moser, M. (2014). Th1/th2 paradigm extended: Macrophage polarization as an unappreciated pathogen-driven escape mechanism? *Frontiers in Immunology,* 5, 603.

Murakami, N., Sakata, Y., and Watanabe, T. (1990). Central action sites of interleukin□1 beta for inducing fever in rabbits. *The Journal of physiology,* 428(1), 299-312.

Musso, T., Calosso, L., Zucca, M., Millesimo, M., Ravarino, D., Giovarelli, M., Malavasi, F., Ponzi, A. N., Paus, R., and Bulfone-Paus, S. (1999). Human monocytes constitutively express membrane-bound, biologically active, and interferon-γ–upregulated interleukin-15. *Blood,* 93(10), 3531-3539.

Nacu, N., Luzina, I. G., Highsmith, K., Lockatell, V., Pochetuhen, K., Cooper, Z. A., Gillmeister, M. P., Todd, N. W., and Atamas, S. P. (2008). Macrophages produce tgf-β-induced (β-ig-h3) following ingestion of apoptotic cells and regulate mmp14 levels and collagen turnover in fibroblasts. *The Journal of Immunology,* 180(7), 5036-5044.

Nairz, M., Schroll, A., Sonnweber, T., and Weiss, G. (2010). The struggle for iron–a metal at the host–pathogen interface. *Cellular Microbiology,* 12(12), 1691-1702.

Naito, Y., Takagi, T., and Higashimura, Y. (2014). Heme oxygenase-1 and anti-inflammatory m2 macrophages. *Archives of Biochemistry and Biophysics,* 564, 83-88.

Najar, M., Krayem, M., Meuleman, N., Bron, D., and Lagneaux, L. (2017). Mesenchymal stromal cells and toll-like receptor priming: A critical review. *Immune Network,* 17(2), 89-102.

Najar, M., Raicevic, G., Jebbawi, F., De Bruyn, C., Meuleman, N., Bron, D., Toungouz, M., and Lagneaux, L. (2012). Characterization and functionality of the cd200–cd200r

system during mesenchymal stromal cell interactions with t-lymphocytes. *Immunology Letters,* 146(1), 50-56.

Nakae, S., Asano, M., Horai, R., and Iwakura, Y. (2001). Interleukin□1β, but not interleukin□1α, is required for t□cell□dependent antibody production. *Immunology,* 104(4), 402-409.

Nakajima, H., Uchida, K., Guerrero, A. R., Watanabe, S., Sugita, D., Takeura, N., Yoshida, A., Long, G., Wright, K. T., Johnson, W. E., and Baba, H. (2012). Transplantation of mesenchymal stem cells promotes an alternative pathway of macrophage activation and functional recovery after spinal cord injury. *Journal of Neurotrauma,* 29(8), 1614-1625.

Nasef, A., Mathieu, N., Chapel, A., Frick, J., François, S., Mazurier, C., Boutarfa, A., Bouchet, S., Gorin, N.-C., and Thierry, D. (2007). Immunosuppressive effects of mesenchymal stem cells: Involvement of hla-g. *Transplantation,* 84(2), 231-237.

Nasef, A., Mazurier, C., Bouchet, S., François, S., Chapel, A., Thierry, D., Gorin, N.-C., and Fouillard, L. (2008). Leukemia inhibitory factor: Role in human mesenchymal stem cells mediated immunosuppression. *Cellular Immunology,* 253(1), 16-22.

Nathan, C. F., Murray, H. W., Wiebe, M., and Rubin, B. Y. (1983). Identification of interferon-gamma as the lymphokine that activates human macrophage oxidative metabolism and antimicrobial activity. *Journal of Experimental Medicine,* 158(3), 670-689.

Nemeth, K., Leelahavanichkul, A., Yuen, P. S., Mayer, B., Parmelee, A., Doi, K., Robey, P. G., Leelahavanichkul, K., Koller, B. H., Brown, J. M., Hu, X., Jelinek, I., Star, R. A., and Mezey, E. (2009). Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin e(2)-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production. *Nature Medicine,* 15(1), 42-49.

Nemoto, Y., Kanai, T., Takahara, M., Oshima, S., Nakamura, T., Okamoto, R., Tsuchiya, K., and Watanabe, M. (2012). Bone marrow-mesenchymal stem cells are a major source of interleukin-7 and sustain colitis by forming the niche for colitogenic cd4 memory t cells. *Gut,* 62(8), 1142-1152.

Neurath, M. F. (2014). Cytokines in inflammatory bowel disease. *Nature Reviews: Immunology,* 14(5), 329-342.

Ng, F., Boucher, S., Koh, S., Sastry, K. S., Chase, L., Lakshmipathy, U., Choong, C., Yang, Z., Vemuri, M. C., and Rao, M. S. (2008). Pdgf, tgf-β, and fgf signaling is important for differentiation and growth of mesenchymal stem cells (mscs): Transcriptional profiling can identify markers and signaling pathways important in differentiation of mscs into adipogenic, chondrogenic, and osteogenic lineages. *Blood,* 112(2), 295-307.

Nguyen, V., Mendelsohn, A., and Larrick, J. W. (2017). Interleukin-7 and immunosenescence. *Journal of Immunology Research,* 2017, 4807853.

Nicola, N. A., and Babon, J. J. (2015). Leukemia inhibitory factor (lif). *Cytokine & Growth Factor Reviews,* 26(5), 533-544.

Nishihira, J. (2000). Macrophage migration inhibitory factor (mif): Its essential role in the immune system and cell growth. *Journal of Interferon & Cytokine Research,* 20(9), 751-762.

Noël, W., Raes, G., Ghassabeh, G. H., De Baetselier, P., and Beschin, A. (2004). Alternatively activated macrophages during parasite infections. *Trends in Parasitology,* 20(3), 126-133.

Noelle, R. J., and Nowak, E. C. (2010). Cellular sources and immune functions of interleukin-9. *Nature reviews. Immunology,* 10(10), 10.1038/nri2848.

Noman, M. Z., Desantis, G., Janji, B., Hasmim, M., Karray, S., Dessen, P., Bronte, V., and Chouaib, S. (2014). Pd-l1 is a novel direct target of hif-1α, and its blockade under hypoxia enhanced mdsc-mediated t cell activation. *Journal of Experimental Medicine,* 211(5), 781–790.

Novak, M. L., and Koh, T. J. (2013). Macrophage phenotypes during tissue repair. *Journal of Leukocyte Biology,* 93(6), 875-881.

Ocklind, G., Friedrichs, D., and Peters, J. H. (1992). Expression of cd54, cd58, cd14, and hla-dr on macrophages and macrophage-derived accessory cells and their accessory capacity. *Immunology Letters,* 31(3), 253-258.

O'Donoghue, K., and Fisk, N. M. (2004). Fetal stem cells. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology,* 18(6), 853-875.

Offenbacher, S., and Salvi, G. E. (1999). Induction of prostaglandin release from macrophages by bacterial endotoxin. *Clinical Infectious Diseases,* 28(3), 505-513.

O'Garra, A., Vieira, P. L., Vieira, P., and Goldfeld, A. E. (2004). Il-10–producing and naturally occurring cd4+ tregs: Limiting collateral damage. *Journal of Clinical Investigation,* 114(10), 1372.

Ogle, M. E., Segar, C. E., Sridhar, S., and Botchwey, E. A. (2016). Monocytes and macrophages in tissue repair: Implications for immunoregenerative biomaterial design. *Experimental Biology and Medicine,* 241(10), 1084-1097.

Oh, J. Y., Ko, J. H., Lee, H. J., Yu, J. M., Choi, H., Kim, M. K., Wee, W. R., and Prockop, D. J. (2014). Mesenchymal stem/stromal cells inhibit the nlrp3 inflammasome by decreasing mitochondrial reactive oxygen species. *Stem Cells,* 32(6), 1553-1563.

Ohteki, T. (2002). Critical role for il-15 in innate immunity. *Current Molecular Medicine,* 2(4), 371-380.

Ohya, S., Tanabe, Y., Makino, M., Nomura, T., Xiong, H., Arakawa, M., and Mitsuyama, M. (1998). The contributions of reactive oxygen intermediates and reactive nitrogen

intermediates to listericidal mechanisms differ in macrophages activated pre-and postinfection. *Infection and Immunity,* 66(9), 4043-4049.

Ohyashiki, K., Ohyashiki, J. H., and Sandberg, A. A. (1986). Cytogenetic characterization of putative human myeloblastic leukemia cell lines (ml-1,-2, and-3): Origin of the cells. *Cancer Research,* 46(7), 3642-3647.

Oikonomopoulos, A., van Deen, W. K., Manansala, A.-R., Lacey, P. N., Tomakili, T. A., Ziman, A., and Hommes, D. W. (2015). Optimization of human mesenchymal stem cell manufacturing: The effects of animal/xeno-free media. *Scientific Reports,* 5, 16570.

Olefsky, J. M., and Glass, C. K. (2010). Macrophages, inflammation, and insulin resistance. *Annual Review of Physiology,* 72, 219-246.

Oliveira-Nascimento, L., Massari, P., and Wetzler, L. M. (2012). The role of tlr2 in infection and immunity. *Frontiers in Immunology,* 3, 79.

O'Neill, L. A., Golenbock, D., and Bowie, A. G. (2013). The history of toll-like receptors [mdash] redefining innate immunity. *Nature Reviews Immunology,* 13(6), 453-460.

Onodera, S., Suzuki, K., Matsuno, T., Kaneda, K., Takagi, M., and Nishihira, J. (1997). Macrophage migration inhibitory factor induces phagocytosis of foreign particles by macrophages in autocrine and paracrine fashion. *Immunology,* 92(1), 131-137.

Onofre, G., Kolackova, M., Jankovicova, K., and Krejsek, J. (2009). Scavenger receptor cd163 and its biological functions. *Acta Medica (Hradec Kralove),* 52(2), 57-61.

Opitz, C. A., Litzenburger, U. M., Lutz, C., Lanz, T. V., Tritschler, I., Koppel, A., Tolosa, E., Hoberg, M., Anderl, J., Aicher, W. K., Weller, M., Wick, W., and Platten, M. (2009). Toll-like receptor engagement enhances the immunosuppressive properties of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells by inducing indoleamine-2,3-dioxygenase-1 via interferon-beta and protein kinase r. *Stem Cells,* 27(4), 909-919.

Ortiz, L. A., DuTreil, M., Fattman, C., Pandey, A. C., Torres, G., Go, K., and Phinney, D. G. (2007). Interleukin 1 receptor antagonist mediates the antiinflammatory and antifibrotic effect of mesenchymal stem cells during lung injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 104(26), 11002-11007.

Owen, M. (1988). Marrow stromal stem cells. *Journal of Cell Science,* 1988(10), 63-76.

Owen, M., and Friedenstein, A. (1988). Stromal stem cells: Marrow-derived osteogenic precursors. *Cell and Molecular Biology of Vertebrate Hard Tissues,* 136, 42-60.

Paclik, D., Werner, L., Guckelberger, O., Wiedenmann, B., and Sturm, A. (2011). Galectins distinctively regulate central monocyte and macrophage function. *Cellular Immunology,* 271(1), 97-103.

Pålsson□McDermott, E. M., and O'neill, L. A. (2004). Signal transduction by the lipopolysaccharide receptor, toll□like receptor□4. *Immunology,* 113(2), 153-162.

Papatriantafyllou, M. (2011). Monocytes: Nudged out of the niche. *Nature Reviews: Immunology,* 11(6), 368-369.

Parameswaran, N., and Patial, S. (2010). Tumor necrosis factor-α signaling in macrophages. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression,* 20(2), 87–103.

Parikh, S. A., Kapoor, P., Letendre, L., Kumar, S., and Wolanskyj, A. P. (2014). Prognostic factors and outcomes of adults with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Mayo Clinic Proceedings,* 89(4), 484-492.

Park, C. W., Kim, K.-S., Bae, S., Son, H. K., Myung, P.-K., Hong, H. J., and Kim, H. (2009a). Cytokine secretion profiling of human mesenchymal stem cells by antibody array. *International Journal of Stem Cells,* 2(1), 59-68.

Park, C. W., Kim, K.-S., Bae, S., Son, H. K., Myung, P.-K., Hong, H. J., and Kim, H. (2009b). Cytokine secretion profiling of human mesenchymal stem cells by antibody array. *International Journal of Stem Cells,* 2(1), 59.

Passier, R., and Mummery, C. (2003). Origin and use of embryonic and adult stem cells in differentiation and tissue repair. *Cardiovascular Research,* 58(2), 324-335.

Patel, D. M., Shah, J., and Srivastava, A. S. (2013). Therapeutic potential of mesenchymal stem cells in regenerative medicine. *Stem Cells International,* 2013, 496218.

Paul, S., Bennett, F., Calvetti, J., Kelleher, K., Wood, C., O'hara, R., Leary, A., Sibley, B., Clark, S., and Williams, D. (1990). Molecular cloning of a cdna encoding interleukin 11, a stromal cell-derived lymphopoietic and hematopoietic cytokine. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 87(19), 7512-7516.

Perera, P.-Y., Lichy, J. H., Waldmann, T. A., and Perera, L. P. (2012). The role of interleukin-15 in inflammation and immune responses to infection: Implications for its therapeutic use. *Microbes and Infection,* 14(3), 247-261.

Petri, R. M., Hackel, A., Hahnel, K., Dumitru, C. A., Bruderek, K., Flohe, S. B., Paschen, A., Lang, S., and Brandau, S. (2017). Activated tissue-resident mesenchymal stromal cells regulate natural killer cell immune and tissue-regenerative function. *Stem Cell Reports,* 9(3), 985-998.

Pevsner-Fischer, M., Morad, V., Cohen-Sfady, M., Rousso-Noori, L., Zanin-Zhorov, A., Cohen, S., Cohen, I. R., and Zipori, D. (2007). Toll-like receptors and their ligands control mesenchymal stem cell functions. *Blood,* 109(4), 1422-1432.

Phillips, R. J., Lutz, M., and Premack, B. (2005). Differential signaling mechanisms regulate expression of cc chemokine receptor-2 during monocyte maturation. *J Inflamm (Lond),* 2, 14.

Phinney, D. G., Di Giuseppe, M., Njah, J., Sala, E., Shiva, S., St Croix, C. M., Stolz, D. B., Watkins, S. C., Di, Y. P., Leikauf, G. D., Kolls, J., Riches, D. W., Deiuliis, G., Kaminski, N., Boregowda, S. V., McKenna, D. H., and Ortiz, L. A. (2015).

Mesenchymal stem cells use extracellular vesicles to outsource mitophagy and shuttle microrna. *Nature Communications,* 6, 8472.

Pilette, C., Ouadrhiri, Y., Van Snick, J., Renauld, J. C., Staquet, P., Vaerman, J. P., and Sibille, Y. (2002a). Il-9 inhibits oxidative burst and tnf-alpha release in lipopolysaccharide-stimulated human monocytes through tgf-beta. *Journal of Immunology,* 168(8), 4103-4111.

Pilette, C., Ouadrhiri, Y., Van Snick, J., Renauld, J. C., Staquet, P., Vaerman, J. P., and Sibille, Y. (2002b). Oxidative burst in lipopolysaccharide-activated human alveolar macrophages is inhibited by interleukin-9. *European Respiratory Journal,* 20(5), 1198-1205.

Piper, S. L., Wang, M., Yamamoto, A., Malek, F., Luu, A., Kuo, A. C., and Kim, H. T. (2012). Inducible immortality in htert□human mesenchymal stem cells. *Journal of Orthopaedic Research,* 30(12), 1879-1885.

Pisetsky, D. S., and Spencer, D. M. (2011). Effects of progesterone and estradiol sex hormones on the release of microparticles by raw 264.7 macrophages stimulated by poly (i: C). *Clinical and Vaccine Immunology,* 18(9), 1420-1426.

Pistoia, V., Morandi, F., Wang, X., and Ferrone, S. (2007). Soluble hla-g: Are they clinically relevant? *Seminars in Cancer Biology,* 17(6), 469-479.

Polchert, D., Sobinsky, J., Douglas, G., Kidd, M., Moadsiri, A., Reina, E., Genrich, K., Mehrotra, S., Setty, S., and Smith, B. (2008). Ifn□γ activation of mesenchymal stem cells for treatment and prevention of graft versus host disease. *European Journal of Immunology,* 38(6), 1745-1755.

Ponte, A. L., Marais, E., Gallay, N., Langonne, A., Delorme, B., Herault, O., Charbord, P., and Domenech, J. (2007). The in vitro migration capacity of human bone marrow mesenchymal stem cells: Comparison of chemokine and growth factor chemotactic activities. *Stem Cells,* 25(7), 1737-1745.

Prieto, J., Eklund, A., and Patarroyo, M. (1994). Regulated expression of integrins and other adhesion molecules during differentiation of monocytes into macrophages. *Cellular Immunology,* 156(1), 191-211.

Prindull, G., and Prindull, B. (1978). Haematopoietic stem cells (cfuc) in human cord blood. *Acta Paediatrica,* 67(4), 413-416.

Prockop, D. J. (2016). Inflammation, fibrosis, and modulation of the process by mesenchymal stem/stromal cells. *Matrix Biology,* 51, 7-13.

Prockop, D. J., and Oh, J. Y. (2012). Mesenchymal stem/stromal cells (mscs): Role as guardians of inflammation. *Molecular Therapy,* 20(1), 14-20.

Przybyt, E., and Harmsen, M. C. (2013). Mesenchymal stem cells: Promising for myocardial regeneration? *Current Stem Cell Research & Therapy,* 8(4), 270-277.

Pugliese, A., Vidotto, V., Beltramo, T., and Torre, D. (2005). Regulation of interleukin-18 by thp-1 monocytoid cells stimulated with hiv-1 and nef viral protein. *European Cytokine Network,* 16(3), 186-190.

Puren, A. J., Fantuzzi, G., and Dinarello, C. A. (1999). Gene expression, synthesis, and secretion of interleukin 18 and interleukin 1β are differentially regulated in human blood mononuclear cells and mouse spleen cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 96(5), 2256-2261.

Putoczki, T., and Ernst, M. (2010). More than a sidekick: The il-6 family cytokine il-11 links inflammation to cancer. *Journal of Leukocyte Biology,* 88(6), 1109-1117.

Qi, Y., Jiang, D., Sindrilaru, A., Stegemann, A., Schatz, S., Treiber, N., Rojewski, M., Schrezenmeier, H., Vander Beken, S., Wlaschek, M., Bohm, M., Seitz, A., Scholz, N., Durselen, L., Brinckmann, J., Ignatius, A., and Scharffetter-Kochanek, K. (2014). Tsg-6 released from intradermally injected mesenchymal stem cells accelerates wound healing and reduces tissue fibrosis in murine full-thickness skin wounds. *Journal of Investigative Dermatology,* 134(2), 526-537.

Qiu, Y., Yun, M. M., Han, X., Zhao, R., Zhou, E., and Yun, S. (2014). Human umbilical cord mesenchymal stromal cells suppress mhc class ii expression on rat vascular endothelium and prolong survival time of cardiac allograft. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine,* 7(7), 1760.

Rabinovich, G. A., Iglesias, M. M., Modesti, N. M., Castagna, L. F., Wolfenstein-Todel, C., Riera, C. M., and Sotomayor, C. E. (1998). Activated rat macrophages produce a galectin-1-like protein that induces apoptosis of t cells: Biochemical and functional characterization. *The Journal of Immunology,* 160(10), 4831-4840.

Radtke, F., Fasnacht, N., and MacDonald, H. R. (2010). Notch signaling in the immune system. *Immunity,* 32(1), 14-27.

Rafei, M., Birman, E., Forner, K., and Galipeau, J. (2009). Allogeneic mesenchymal stem cells for treatment of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Molecular Therapy,* 17(10), 1799-1803.

Rahmat, Z. a., Jose, S., Ramasamy, R., and Vidyadaran, S. (2013). Reciprocal interactions of mouse bone marrow-derived mesenchymal stem cells and bv2 microglia after lipopolysaccharide stimulation. *Stem Cell Research & Therapy,* 4(1), 12.

Raicevic, G., Najar, M., Busser, H., Crompot, E., Bron, D., Toungouz, M., and Lagneaux, L. (2017). Comparison and immunobiological characterization of retinoic acid inducible gene-i-like receptor expression in mesenchymal stromal cells. *Scientific Reports,* 7(1), 2896.

Ramalho-Santos, M., and Willenbring, H. (2007). On the origin of the term "stem cell". *Cell Stem Cell,* 1(1), 35-38.

Ramasamy, R., Fazekasova, H., Lam, E. W.-F., Soeiro, I., Lombardi, G., and Dazzi, F. (2007). Mesenchymal stem cells inhibit dendritic cell differentiation and function by preventing entry into the cell cycle. *Transplantation,* 83(1), 71-76.

Rapoport, A., Abboud, C., and DiPersio, J. (1992). Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (gm-csf) and granulocyte colony-stimulating factor (g-csf): Receptor biology, signal transduction, and neutrophil activation. *Blood Reviews,* 6(1), 43-57.

Rashedi, I., Gomez-Aristizabal, A., Wang, X. H., Viswanathan, S., and Keating, A. (2017). Tlr3 or tlr4 activation enhances mesenchymal stromal cell-mediated treg induction via notch signaling. *Stem Cells,* 35(1), 265-275.

Rebmann, V., da Silva Nardi, F., Wagner, B., and Horn, P. A. (2014). Hla-g as a tolerogenic molecule in transplantation and pregnancy. *Journal of Immunology Research,* 2014, 297073.

Recalcati, S., Locati, M., Marini, A., Santambrogio, P., Zaninotto, F., De Pizzol, M., Zammataro, L., Girelli, D., and Cairo, G. (2010). Differential regulation of iron homeostasis during human macrophage polarized activation. *European Journal of Immunology,* 40(3), 824-835.

RedondoCastro, E., Cunningham, C., Miller, J., Martuscelli, L., Aoulad-Ali, S., Rothwell, N. J., Kielty, C. M., Allan, S. M., and Pinteaux, E. (2017). Interleukin-1 primes human mesenchymal stem cells towards an anti-inflammatory and pro-trophic phenotype in vitro. *Stem Cell Research & Therapy,* 8(1), 79.

Ren, G., Zhang, L., Zhao, X., Xu, G., Zhang, Y., Roberts, A. I., Zhao, R. C., and Shi, Y. (2008). Mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression occurs via concerted action of chemokines and nitric oxide. *Cell Stem Cell,* 2(2), 141-150.

Ren, G., Zhao, X., Wang, Y., Zhang, X., Chen, X., Xu, C., Yuan, Z. R., Roberts, A. I., Zhang, L., Zheng, B., Wen, T., Han, Y., Rabson, A. B., Tischfield, J. A., Shao, C., and Shi, Y. (2012). Ccr2-dependent recruitment of macrophages by tumor-educated mesenchymal stromal cells promotes tumor development and is mimicked by tnfalpha. *Cell Stem Cell,* 11(6), 812-824.

Renner, P., Eggenhofer, E., Rosenauer, A., Popp, F. C., Steinmann, J. F., Slowik, P., Geissler, E. K., Piso, P., Schlitt, H. J., and Dahlke, M. H. (2009). Mesenchymal stem cells require a sufficient, ongoing immune response to exert their immunosuppressive function. *Transplantation Proceedings,* 41(6), 2607-2611.

Rhee, K.-J., Lee, J. I., and Eom, Y. W. (2015). Mesenchymal stem cell-mediated effects of tumor support or suppression. *International Journal of Molecular Sciences,* 16(12), 30015-30033.

Richer, M. J., Lavallee, D. J., Shanina, I., and Horwitz, M. S. (2009). Toll-like receptor 3 signaling on macrophages is required for survival following coxsackievirus b4 infection. *PLoS One,* 4(1), e4127.

Rider, P., Carmi, Y., Guttman, O., Braiman, A., Cohen, I., Voronov, E., White, M. R., Dinarello, C. A., and Apte, R. N. (2011). Il-1α and il-1β recruit different myeloid cells and promote different stages of sterile inflammation. *The Journal of Immunology,* 187(9), 4835-4843.

Ringe, J., Strassburg, S., Neumann, K., Endres, M., Notter, M., Burmester, G. R., Kaps, C., and Sittinger, M. (2007). Towards in situ tissue repair: Human mesenchymal stem cells express chemokine receptors cxcr1, cxcr2 and ccr2, and migrate upon stimulation with cxcl8 but not ccl2. *Journal of Cellular Biochemistry,* 101(1), 135-146.

Rizzo, R., Campioni, D., Stignani, M., Melchiorri, L., Bagnara, G., Bonsi, L., Alviano, F., Lanzoni, G., Moretti, S., and Cuneo, A. (2008). A functional role for soluble hla-g antigens in immune modulation mediated by mesenchymal stromal cells. *Cytotherapy,* 10(4), 364-375.

Rock, F. L., Hardiman, G., Timans, J. C., Kastelein, R. A., and Bazan, J. F. (1998). A family of human receptors structurally related to drosophila toll. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 95(2), 588-593.

Rodríguez-García, M., Porichis, F., de Jong, O. G., Levi, K., Diefenbach, T. J., Lifson, J. D., Freeman, G. J., Walker, B. D., Kaufmann, D. E., and Kavanagh, D. G. (2011). Expression of pd-l1 and pd-l2 on human macrophages is up-regulated by hiv-1 and differentially modulated by il-10. *Journal of Leukocyte Biology,* 89(4), 507-515.

Roebuck, K. A., and Finnegan, A. (1999). Regulation of intercellular adhesion molecule-1 (cd54) gene expression. *Journal of Leukocyte Biology,* 66(6), 876-888.

Rojewski, M. T., Weber, B. M., and Schrezenmeier, H. (2008). Phenotypic characterization of mesenchymal stem cells from various tissues. *Transfusion Medicine and Hemotherapy,* 35(3), 168-184.

Romieu-Mourez, R., François, M., Boivin, M.-N., Bouchentouf, M., Spaner, D. E., and Galipeau, J. (2009). Cytokine modulation of tlr expression and activation in mesenchymal stromal cells leads to a proinflammatory phenotype. *The Journal of Immunology,* 182(12), 7963-7973.

Romieu-Mourez, R., François, M., Boivin, M.-N., Stagg, J., and Galipeau, J. (2007). Regulation of mhc class ii expression and antigen processing in murine and human mesenchymal stromal cells by ifn-γ, tgf-β, and cell density. *The Journal of Immunology,* 179(3), 1549-1558.

Rosa, O. D., Dalemans, W., and Lombardo, E. (2012). Toll-like receptors as modulators of mesenchymal stem cells. *Frontiers in Immunology,* 3, 182.

Rosenblum, J. M., Shimoda, N., Schenk, A. D., Zhang, H., Kish, D. D., Keslar, K., Farber, J. M., and Fairchild, R. L. (2010). Cxc chemokine ligand (cxcl) 9 and cxcl10 are antagonistic costimulation molecules during the priming of alloreactive t cell effectors. *The Journal of Immunology,* 184(7), 3450-3460.

Rőszer, T. (2015). Understanding the mysterious m2 macrophage through activation markers and effector mechanisms. *Mediators of Inflammation,* 2015, 816460.

Rutella, S., Bonanno, G., Procoli, A., Mariotti, A., de Ritis, D. G., Curti, A., Danese, S., Pessina, G., Pandolfi, S., and Natoni, F. (2006). Hepatocyte growth factor favors monocyte differentiation into regulatory interleukin (il)-10++ il-12 low/neg accessory cells with dendritic-cell features. *Blood,* 108(1), 218-227.

Ryan, J. M., Barry, F. P., Murphy, J. M., and Mahon, B. P. (2005). Mesenchymal stem cells avoid allogeneic rejection. *Journal of Inflammation,* 2(1), 8.

Sabin, F. R., Doan, C., and Forkner, C. (1932). The production of osteogenic sarcomata and the effects on lymph nodes and bone marrow of intravenous injections of radium chloride and mesothorium in rabbits. *Journal of Experimental Medicine,* 56(2), 267-289.

Saijo, K., Winner, B., Carson, C. T., Collier, J. G., Boyer, L., Rosenfeld, M. G., Gage, F. H., and Glass, C. K. (2009). A nurr1/corest transrepression pathway attenuates neurotoxic inflammation in activated microglia and astrocytes. *Cell,* 137(1), 47.

Sakthiswary, R., and Raymond, A. A. (2012). Stem cell therapy in neurodegenerative diseases: From principles to practice. *Neural Regeneration Research,* 7(23), 1822.

Salemi, J., Obregon, D. F., Cobb, A., Reed, S., Sadic, E., Jin, J., Fernandez, F., Tan, J., and Giunta, B. (2011). Flipping the switches: Cd40 and cd45 modulation of microglial activation states in hiv associated dementia (had). *Molecular Neurodegeneration,* 6(1), 3.

Sallusto, F., Mackay, C. R., and Lanzavecchia, A. (2000). The role of chemokine receptors in primary, effector, and memory immune responses. *Annual Review of Immunology,* 18(1), 593-620.

Samivel, R., Kim, E. H., Chung, Y.-J., and Mo, J.-H. (2015). Immunomodulatory effect of tonsil-derived mesenchymal stem cells in a mouse model of allergic rhinitis. *American Journal of Rhinology and Allergy,* 29(4), 262-267.

Sánchez-Martín, L., Estecha, A., Samaniego, R., Sánchez-Ramón, S., Vega, M. Á., and Sánchez-Mateos, P. (2011). The chemokine cxcl12 regulates monocyte-macrophage differentiation and runx3 expression. *Blood,* 117(1), 88-97.

Sang, Y., Miller, L. C., and Blecha, F. (2015). Macrophage polarization in virus-host interactions. *Journal of Clinical & Cellular Immunology,* 6(2), 311.

Santibañez, J. F., Quintanilla, M., and Bernabeu, C. (2011). Tgf-β/tgf-β receptor system and its role in physiological and pathological conditions. *Clinical Science,* 121(6), 233-251.

Saparov, A., Ogay, V., Nurgozhin, T., Jumabay, M., and Chen, W. C. W. (2016). Preconditioning of human mesenchymal stem cells to enhance their regulation of the immune response. *Stem Cells International,* 2016, 3924858.

Satyanarayana, U., Kumar, A. N., Naidu, J. N., and Prasad, D. K. V. (2014). Antioxidant supplementation for health-a boon or a bane? *Journal of Dr. NTR University of Health Sciences,* 3(4), 221.

Saucedo-Cardenas, O., Quintana-Hau, J. D., Le, W.-D., Smidt, M. P., Cox, J. J., De Mayo, F., Burbach, J. P. H., and Conneely, O. M. (1998). Nurr1 is essential for the induction of the dopaminergic phenotype and the survival of ventral mesencephalic late dopaminergic precursor neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 95(7), 4013-4018.

Sawhney, S., Woo, P., and Murray, K. (2001). Macrophage activation syndrome: A potentially fatal complication of rheumatic disorders. *Archives of Disease in Childhood,* 85(5), 421-426.

Scheibenbogen, C., Keilholz, U., Richter, M., Andreesen, R., and Hunstein, W. (1992). The interleukin-2 receptor in human monocytes and macrophages: Regulation of expression and release of the α and β chains (p55 and p75). *Research in Immunology,* 143(1), 33-37.

Scheifele, D. W., Olsen, E. M., and Pendray, M. R. (1985). Endotoxinemia and thrombocytopenia during neonatal necrotizing enterocolitis. *American Journal of Clinical Pathology,* 83(2), 227-229.

Schenk, B. I., Petersen, F., Flad, H.-D., and Brandt, E. (2002). Platelet-derived chemokines cxc chemokine ligand (cxcl) 7, connective tissue-activating peptide iii, and cxcl4 differentially affect and cross-regulate neutrophil adhesion and transendothelial migration. *The Journal of Immunology,* 169(5), 2602-2610.

Schenk, M., Fabri, M., Krutzik, S. R., Lee, D. J., Vu, D. M., Sieling, P. A., Montoya, D., Liu, P. T., and Modlin, R. L. (2014). Interleukin□1β triggers the differentiation of macrophages with enhanced capacity to present mycobacterial antigen to t cells. *Immunology,* 141(2), 174-180.

Schindler, H., Lutz, M. B., Röllinghoff, M., and Bogdan, C. (2001). The production of ifn-γ by il-12/il-18-activated macrophages requires stat4 signaling and is inhibited by il-4. *The Journal of Immunology,* 166(5), 3075-3082.

Schmitz, B., Vischer, P., Brand, E., Schmidt-Petersen, K., Korb-Pap, A., Guske, K., Nedele, J., Schelleckes, M., Hillen, J., Rotrige, A., Simmet, T., Paul, M., Cambien, F., and Brand, S. M. (2013). Increased monocyte adhesion by endothelial expression of vcam-1 missense variation in vitro. *Atherosclerosis,* 230(2), 185-190.

Schmutz, C., Cartwright, A., Williams, H., Haworth, O., Williams, J. H., Filer, A., Salmon, M., Buckley, C. D., and Middleton, J. (2010). Monocytes/macrophages express chemokine receptor ccr9 in rheumatoid arthritis and ccl25 stimulates their differentiation. *Arthritis Research & Therapy,* 12(4), R161.

Schoenborn, J. R., and Wilson, C. B. (2007). Regulation of interferon□γ during innate and adaptive immune responses. *Advances in Immunology,* 96, 41-101.

Schofield, R. (1978). The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell. *Blood Cells,* 4(1-2), 7-25.

Schulert, G. S., and Grom, A. A. (2014). Macrophage activation syndrome and cytokine-directed therapies. *Best Practice & Research: Clinical Rheumatology,* 28(2), 277-292.

Schutyser, E., Struyf, S., and Van Damme, J. (2003). The cc chemokine ccl20 and its receptor ccr6. *Cytokine & Growth Factor Reviews,* 14(5), 409-426.

Schwende, H., Fitzke, E., Ambs, P., and Dieter, P. (1996). Differences in the state of differentiation of thp-1 cells induced by phorbol ester and 1, 25-dihydroxyvitamin d3. *Journal of Leukocyte Biology,* 59(4), 555-561.

Selmani, Z., Naji, A., Zidi, I., Favier, B., Gaiffe, E., Obert, L., Borg, C., Saas, P., Tiberghien, P., and Rouas□Freiss, N. (2008). Human leukocyte antigen□g5 secretion by human mesenchymal stem cells is required to suppress t lymphocyte and natural killer function and to induce cd4+ cd25highfoxp3+ regulatory t cells. *Stem Cells,* 26(1), 212-222.

Sene, A., Chin-Yee, D., and Apte, R. S. (2015). Seeing through vegf: Innate and adaptive immunity in pathological angiogenesis in the eye. *Trends in Molecular Medicine,* 21(1), 43-51.

Seok, S. H., Heo, J.-I., Hwang, J.-H., Na, Y.-R., Yun, J.-H., Lee, E. H., Park, J.-W., and Cho, C.-H. (2013). Angiopoietin-1 elicits pro-inflammatory responses in monocytes and differentiating macrophages. *Molecules and Cells,* 35(6), 550-556.

Serbina, N. V., and Pamer, E. G. (2006). Monocyte emigration from bone marrow during bacterial infection requires signals mediated by chemokine receptor ccr2. *Nature Immunology,* 7(3), 311-317.

Serramía, M. J., Muñoz-Fernández, M. Á., and Álvarez, S. (2015). Hiv-1 increases tlr responses in human primary astrocytes. *Scientific Reports,* 5, 17887.

Shahrara, S., Park, C. C., Temkin, V., Jarvis, J. W., Volin, M. V., and Pope, R. M. (2006). Rantes modulates tlr4-induced cytokine secretion in human peripheral blood monocytes. *The Journal of Immunology,* 177(8), 5077-5087.

Shakhawat, A., Shaikly, V., Elzatma, E., Mavrakos, E., Jabeen, A., and Fernandez, N. (2010). Interaction between hla-g and monocyte/macrophages in human pregnancy. *Journal of Reproductive Immunology,* 85(1), 40-46.

Shakhawat, A., Shaikly, V., Elzatma, E., Mavrakos, E., Jabeen, A., and Fernández, N. (2010). Interaction between hla-g and monocyte/macrophages in human pregnancy. *Journal of Reproductive Immunology,* 85(1), 40-46.

Sharif, O., Bolshakov, V. N., Raines, S., Newham, P., and Perkins, N. D. (2007). Transcriptional profiling of the lps induced nf-κb response in macrophages. *Bio Med Central Immunology,* 8(1), 1.

Shen, B., Liu, J., Zhang, F., Wang, Y., Qin, Y., Zhou, Z., Qiu, J., and Fan, Y. (2016). Ccr2 positive exosome released by mesenchymal stem cells suppresses macrophage functions and alleviates ischemia/reperfusion-induced renal injury. *Stem Cells International,* 2016, 1240301.

Sheng, H., Wang, Y., Jin, Y., Zhang, Q., Zhang, Y., Wang, L., Shen, B., Yin, S., Liu, W., and Cui, L. (2008). A critical role of ifnγ in priming msc-mediated suppression of t cell proliferation through up-regulation of b7-h1. *Cell Research,* 18(8), 846-857.

Shi, C., and Pamer, E. (2011b). Monocyte recruitment during infection and inflammation. *Nature reviews. Immunology,* 11(11), 762-774.

Shi, C., Jia, T., Mendez-Ferrer, S., Hohl, T. M., Serbina, N. V., Lipuma, L., Leiner, I., Li, M. O., Frenette, P. S., and Pamer, E. G. (2011a). Bone marrow mesenchymal stem and progenitor cells induce monocyte emigration in response to circulating toll-like receptor ligands. *Immunity,* 34(4), 590-601.

Shi, Y., Inoue, H., Wu, J. C., and Yamanaka, S. (2017). Induced pluripotent stem cell technology: A decade of progress. *Nature reviews Drug discovery,* 16(2), 115-130.

Shi, Y., Liu, C. H., Roberts, A. I., Das, J., Xu, G., Ren, G., Zhang, Y., Zhang, L., Yuan, Z. R., and Tan, H. S. W. (2006). Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (gm-csf) and t-cell responses: What we do and don't know. *Cell Research,* 16(2), 126-133.

Shi, Y., Su, J., Roberts, A. I., Shou, P., Rabson, A. B., and Ren, G. (2012). How mesenchymal stem cells interact with tissue immune responses. *Trends in Immunology,* 33(3), 136-143.

Shida, K., Shiratori, I., Matsumoto, M., Fukumori, Y., Matsuhisa, A., Kikkawa, S., Tsuji, S., Okamura, H., Toyoshima, K., and Seya, T. (2001). An alternative form of il-18 in human blood plasma: Complex formation with igm defined by monoclonal antibodies. *Journal of Immunology,* 166(11), 6671-6679.

Shigemoto-Kuroda, T., Oh, J. Y., Kim, D.-k., Jeong, H. J., Park, S. Y., Lee, H. J., Park, J. W., Kim, T. W., An, S. Y., and Prockop, D. J. (2017). Msc derived extracellular vesicles attenuate immune responses in two autoimmune murine models type 1 diabetes and uveoretinitis. *Stem Cell Reports,* 8(5), 1214-1225.

Shimizu, M., Nakagishi, Y., Inoue, N., Mizuta, M., Ko, G., Saikawa, Y., Kubota, T., Yamasaki, Y., Takei, S., and Yachie, A. (2015). Interleukin-18 for predicting the development of macrophage activation syndrome in systemic juvenile idiopathic arthritis. *Clinical Immunology,* 160(2), 277-281.

Shrimpton, R. E., Butler, M., Morel, A.-S., Eren, E., Hue, S. S., and Ritter, M. A. (2009). Cd205 (dec-205): A recognition receptor for apoptotic and necrotic self. *Molecular Immunology,* 46(6), 1229-1239.

Shuai, K., and Liu, B. (2003). Regulation of jak–stat signalling in the immune system. *Nature Reviews Immunology,* 3(11), 900-911.

Sica, A., and Mantovani, A. (2012). Macrophage plasticity and polarization: In vivo veritas. *Journal of Clinical Investigation,* 122(3), 787-795.

Silva, W. A., Covas, D. T., Panepucci, R. A., Proto□Siqueira, R., Siufi, J. L., Zanette, D. L., Santos, A. R., and Zago, M. A. (2003). The profile of gene expression of human marrow mesenchymal stem cells. *Stem Cells,* 21(6), 661-669.

Sintes, J., and Engel, P. (2011). Slam (cd150) is a multitasking immunoreceptor: From cosignalling to bacterial recognition. *Immunology and Cell Biology,* 89(2), 161.

Sioud, M. (2011). New insights into mesenchymal stromal cell mediated t cell suppression through galectins. *Scandinavian Journal of Immunology,* 73(2), 79-84.

Sioud, M., Mobergslien, A., Boudabous, A., and Fløisand, Y. (2010). Evidence for the involvement of galectin 3 in mesenchymal stem cell suppression of allogeneic t cell proliferation. *Scandinavian Journal of Immunology,* 71(4), 267-274.

Skibinski, G. (2003). The role of hepatocyte growth factor/c-met interactions in the immune system. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis (English Edition),* 51(5), 277-282.

Skibinski, G., Skibinska, A., and James, K. (2001). The role of hepatocyte growth factor and its receptor c□met in interactions between lymphocytes and stromal cells in secondary human lymphoid organs. *Immunology,* 102(4), 506-514.

Slauch, J. M. (2011). How does the oxidative burst of macrophages kill bacteria? Still an open question. *Molecular Microbiology,* 80(3), 580-583.

Smith, D. F., Galkina, E., Ley, K., and Huo, Y. (2005). Gro family chemokines are specialized for monocyte arrest from flow. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology,* 289(5), H1976-H1984.

Smith, H., Whittall, C., Weksler, B., and Middleton, J. (2011). Chemokines stimulate bidirectional migration of human mesenchymal stem cells across bone marrow endothelial cells. *Stem Cells and Development,* 21(3), 476-486.

Socié, G., and Ritz, J. (2014). Current issues in chronic graft-versus-host disease. *Blood,* 124(3), 374-384.

Soldano, S., Pizzorni, C., Paolino, S., Trombetta, A. C., Montagna, P., Brizzolara, R., Ruaro, B., Sulli, A., and Cutolo, M. (2016). Alternatively activated (m2) macrophage phenotype is inducible by endothelin-1 in cultured human macrophages. *Public Library of Science One,* 11(11), e0166433.

Song, C., Luo, L., Lei, Z., Li, B., Liang, Z., Liu, G., Li, D., Zhang, G., Huang, B., and Feng, Z.-H. (2008). Il-17-producing alveolar macrophages mediate allergic lung inflammation related to asthma. *The Journal of Immunology,* 181(9), 6117-6124.

Song, J. Y., Kang, H. J., Hong, J. S., Kim, C. J., Shim, J. Y., Lee, C. W., and Choi, J. (2017). Umbilical cord-derived mesenchymal stem cell extracts reduce colitis in mice by re-polarizing intestinal macrophages. *Scientific Reports,* 7(1), 9412.

Song, X., Xie, S., Lu, K., and Wang, C. (2015). Mesenchymal stem cells alleviate experimental asthma by inducing polarization of alveolar macrophages. *Inflammation,* 38(2), 485-492.

Spaggiari, G. M., Capobianco, A., Abdelrazik, H., Becchetti, F., Mingari, M. C., and Moretta, L. (2008). Mesenchymal stem cells inhibit natural killer-cell proliferation, cytotoxicity, and cytokine production: Role of indoleamine 2,3-dioxygenase and prostaglandin e2. *Blood,* 111(3), 1327-1333.

Spencer, M., Yao-Borengasser, A., Unal, R., Rasouli, N., Gurley, C. M., Zhu, B., Peterson, C. A., and Kern, P. A. (2010). Adipose tissue macrophages in insulin-resistant subjects are associated with collagen vi and fibrosis and demonstrate alternative activation. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism,* 299(6), E1016-E1027.

Stafford, J. L., Neumann, N. F., and Belosevic, M. (2002). Macrophage-mediated innate host defense against protozoan parasites. *Critical Reviews in Microbiology,* 28(3), 187-248.

Stagg, J., Pommey, S., Eliopoulos, N., and Galipeau, J. (2006). Interferon-γ-stimulated marrow stromal cells: A new type of nonhematopoietic antigen-presenting cell. *Blood,* 107(6), 2570-2577.

Stein, M., Keshav, S., Harris, N., and Gordon, S. (1992). Interleukin 4 potently enhances murine macrophage mannose receptor activity: A marker of alternative immunologic macrophage activation. *Journal of Experimental Medicine,* 176(1), 287-292.

Strasser, A., Jost, P. J., and Nagata, S. (2009). The many roles of fas receptor signaling in the immune system. *Immunity,* 30(2), 180-192.

Stubbs, V. E., Power, C., and Patel, K. D. (2010). Regulation of eotaxin□3/ccl26 expression in human monocytic cells. *Immunology,* 130(1), 74-82.

Stumpo, R., Kauer, M., Martin, S., and Kolb, H. (2003). Il-10 induces gene expression in macrophages: Partial overlap with il-5 but not with il-4 induced genes. *Cytokine,* 24(1), 46-56.

Subauste, C. S., de Waal Malefyt, R., and Fuh, F. (1998). Role of cd80 (b7. 1) and cd86 (b7. 2) in the immune response to an intracellular pathogen. *The Journal of Immunology,* 160(4), 1831-1840.

Sugano, G., Bernard-Pierrot, I., Lae, M., Battail, C., Allory, Y., Stransky, N., Krumeich, S., Lepage, M., Maille, P., and Donnadieu, M. (2011). Milk fat globule—epidermal growth factor—factor viii (mfge8)/lactadherin promotes bladder tumor development. *Oncogene,* 30(6), 642-653.

Suh, H. S., Zhao, M. L., Rivieccio, M., Choi, S., Connolly, E., Zhao, Y., Takikawa, O., Brosnan, C. F., and Lee, S. C. (2007). Astrocyte indoleamine 2,3-dioxygenase is induced by the tlr3 ligand poly(i:C): Mechanism of induction and role in antiviral response. *Journal of Virology,* 81(18), 9838-9850.

Suh, W.-K., Wang, S., Duncan, G. S., Miyazaki, Y., Cates, E., Walker, T., Gajewska, B. U., Deenick, E., Dawicki, W., and Okada, H. (2006). Generation and characterization of b7-h4/b7s1/b7x-deficient mice. *Molecular and Cellular Biology,* 26(17), 6403-6411.

Sullivan, C. B., Porter, R. M., Evans, C. H., Ritter, T., Shaw, G., Barry, F., and Murphy, J. M. (2014). Tnfα and il-1β influence the differentiation and migration of murine mscs independently of the nf-κb pathway. *Stem Cell Research & Therapy,* 5(4), 104.

Sundström, C., and Nilsson, K. (1976). Establishment and characterization of a human histiocytic lymphoma cell line (u□937). *International Journal of Cancer,* 17(5), 565-577.

Swamydas, M., Ricci, K., Rego, S. L., and Dréau, D. (2013). Mesenchymal stem cell-derived ccl-9 and ccl-5 promote mammary tumor cell invasion and the activation of matrix metalloproteinases. *Cell Adhesion & Migration,* 7(3), 315-324.

Swisher, J. F., Haddad, D. A., McGrath, A. G., Boekhoudt, G. H., and Feldman, G. M. (2014). Igg4 can induce an m2-like phenotype in human monocyte-derived macrophages through fcγri. *Monoclonal Antibodies,* 6(6), 1377-1384.

Sylvester, K. G., and Longaker, M. T. (2004). Stem cells: Review and update. *Archives of Surgery,* 139(1), 93-99.

Szczepanik, A. M., Funes, S., Petko, W., and Ringheim, G. E. (2001). Il-4, il-10 and il-13 modulate aβ (1–42)-induced cytokine and chemokine production in primary murine microglia and a human monocyte cell line. *Journal of Neuroimmunology,* 113(1), 49-62.

Tai, X., Van Laethem, F., Pobezinsky, L., Guinter, T., Sharrow, S. O., Adams, A., Granger, L., Kruhlak, M., Lindsten, T., and Thompson, C. B. (2012). Basis of ctla-4 function in regulatory and conventional cd4+ t cells. *Blood,* 119(22), 5155-5163.

Tait, A. S., Butts, C. L., and Sternberg, E. M. (2008). The role of glucocorticoids and progestins in inflammatory, autoimmune, and infectious disease. *Journal of Leukocyte Biology,* 84(4), 924-931.

Takahashi, H., Tashiro, T., Miyazaki, M., Kobayashi, M., Pollard, R. B., and Suzuki, F. (2002). An essential role of macrophage inflammatory protein 1alpha/ccl3 on the expression of host's innate immunities against infectious complications. *Journal of Leukocyte Biology,* 72(6), 1190-1197.

Takahashi, K., and Yamanaka, S. (2006). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell,* 126(4), 663-676.

Takahashi, K., Rochford, C. D., and Neumann, H. (2005). Clearance of apoptotic neurons without inflammation by microglial triggering receptor expressed on myeloid cells-2. *Journal of Experimental Medicine,* 201(4), 647-657.

Takashiba, S., Van Dyke, T. E., Amar, S., Murayama, Y., Soskolne, A. W., and Shapira, L. (1999). Differentiation of monocytes to macrophages primes cells for lipopolysaccharide stimulation via accumulation of cytoplasmic nuclear factor κb. *Infection and Immunity,* 67(11), 5573-5578.

Takatsu, K. (2011). Interleukin-5 and il-5 receptor in health and diseases. *Proceedings of The Japan Academy, Series B,* 87(8), 463-485.

Takatsu, K., Moon, B.-g., Itakura, A., Tsukamoto, Y., Horikawa, K., Ikutani, M., Kouro, T., and Takaki, S. (2005). Role of il-5 in the innate immune system and disease control. *International Congress Series,* 1285, 145-154.

Takeda, K., Webb, T. L., Ning, F., Shiraishi, Y., Regan, D. P., Chow, L., Smith, M. J., Ashino, S., Guth, A. M., Hopkins, S., Gelfand, E. W., and Dow, S. (2018). Mesenchymal stem cells recruit ccr2⁺ monocytes to suppress allergic airway inflammation. *The Journal of Immunology,* 200(4), 1261.

Takeuchi, O., and Akira, S. (2010). Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell,* 140(6), 805-820.

Tan, H.-Y., Wang, N., Li, S., Hong, M., Wang, X., and Feng, Y. (2016). The reactive oxygen species in macrophage polarization: Reflecting its dual role in progression and treatment of human diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity,* 2016, 2795090.

Tang, D.-Q., Wang, Q., Burkhardt, B. R., Litherland, S. A., Atkinson, M. A., and Yang, L.-J. (2012). In vitro generation of functional insulin-producing cells from human bone marrow-derived stem cells, but long-term culture running risk of malignant transformation. *American Journal of Stem Cells,* 1(2), 114.

Tarique, A. A., Logan, J., Thomas, E., Holt, P. G., Sly, P. D., and Fantino, E. (2015). Phenotypic, functional, and plasticity features of classical and alternatively activated human macrophages. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology,* 53(5), 676-688.

Tedesco, S., De Majo, F., Kim, J., Trenti, A., Trevisi, L., Fadini, G. P., Bolego, C., Zandstra, P. W., Cignarella, A., and Vitiello, L. (2018). Convenience versus biological significance: Are pma-differentiated thp-1 cells a reliable substitute for blood-derived macrophages when studying in vitro polarization? *Frontiers in Pharmacology,* 9, 71.

Teles, R. M., Krutzik, S. R., Ochoa, M. T., Oliveira, R. B., Sarno, E. N., and Modlin, R. L. (2010). Interleukin-4 regulates the expression of cd209 and subsequent uptake of mycobacterium leprae by schwann cells in human leprosy. *Infection and Immunity,* 78(11), 4634-4643.

Teo, Z., and Hughes, D. (2003). The role of macrophages in apoptosis; initiator, regulator, scavenger. *Reviews in Undergraduate Res,* 2, 7-11.

Theil, D., Farina, C., and Meinl, E. (2005). Differential expression of cd150 (slam) on monocytes and macrophages in chronic inflammatory contexts: Abundant in crohn's disease, but not in multiple sclerosis. *Journal of Clinical Pathology,* 58(1), 110-111.

Thomas, E. D. (1994). Bone marrow transplantation past, present and future. *Scandinavian Journal of Immunology,* 39(4), 340-345.

Thomas, E. D., Lochte Jr, H. L., Lu, W. C., and Ferrebee, J. W. (1957). Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *New England Journal of Medicine,* 257(11), 491-496.

Thomas, H., Jäger, M., Mauel, K., Brandau, S., Lask, S., and Flohé, S. B. (2014). Interaction with mesenchymal stem cells provokes natural killer cells for enhanced il-12/il-18-induced interferon-gamma secretion. *Mediators of Inflammation,* 2014, 143463.

Thompson, M. R., Kaminski, J. J., Kurt-Jones, E. A., and Fitzgerald, K. A. (2011). Pattern recognition receptors and the innate immune response to viral infection. *Viruses,* 3(6), 920-940.

Thomson, J. A., Itskovitz-Eldor, J., Shapiro, S. S., Waknitz, M. A., Swiergiel, J. J., Marshall, V. S., and Jones, J. M. (1998). Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science,* 282(5391), 1145-1147.

Thomson, J. A., Kalishman, J., Golos, T. G., Durning, M., Harris, C. P., Becker, R. A., and Hearn, J. P. (1995). Isolation of a primate embryonic stem cell line. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 92(17), 7844-7848.

Ti, D., Hao, H., Tong, C., Liu, J., Dong, L., Zheng, J., Zhao, Y., Liu, H., Fu, X., and Han, W. (2015). Lps-preconditioned mesenchymal stromal cells modify macrophage polarization for resolution of chronic inflammation via exosome-shuttled let-7b. *Journal of Translational Medicine,* 13, 308.

Tian, Y., Xu, Y., Xue, T., Chen, L., Shi, B., Shu, B., Xie, C., Morandi, M. M., Jaeblon, T., and Marymont, J. V. (2017). Notch activation enhances mesenchymal stem cell sheet osteogenic potential by inhibition of cellular senescence. *Cell Death & Disease,* 8(2), e2595.

Till, S., Durham, S., Dickason, R., Huston, D., Bungre, J., Walker, S., Robinson, D., Kay, A., and Corrigan, C. (1997). Il□13 production by allergen□stimulated t cells is increased in allergic disease and associated with il□5 but not ifn□γ expression. *Immunology,* 91(1), 53-57.

Todt, J. C., Freeman, C. M., Brown, J. P., Sonstein, J., Ames, T. M., McCubbrey, A. L., Martinez, F. J., Chensue, S. W., Beck, J. M., and Curtis, J. L. (2013). Smoking decreases the response of human lung macrophages to double-stranded rna by reducing tlr3 expression. *Respiratory Research,* 14, 33.

Tokoyoda, K., Hauser, A. E., Nakayama, T., and Radbruch, A. (2010). Organization of immunological memory by bone marrow stroma. *Nature Reviews: Immunology,* 10(3), 193-200.

Tokunaga, A., Oya, T., Ishii, Y., Motomura, H., Nakamura, C., Ishizawa, S., Fujimori, T., Nabeshima, Y. i., Umezawa, A., and Kanamori, M. (2008). Pdgf receptor β is a potent regulator of mesenchymal stromal cell function. *Journal of Bone and Mineral Research,* 23(9), 1519-1528.

Tomchuck, S. L., Zwezdaryk, K. J., Coffelt, S. B., Waterman, R. S., Danka, E. S., and Scandurro, A. B. (2008). Toll□like receptors on human mesenchymal stem cells drive their migration and immunomodulating responses. *Stem Cells,* 26(1), 99-107.

Torr, E., Gardner, D., Thomas, L., Goodall, D., Bielemeier, A., Willetts, R., Griffiths, H. R., Marshall, L. J., and Devitt, A. (2012). Apoptotic cell-derived icam-3 promotes both macrophage chemoattraction to and tethering of apoptotic cells. *Cell Death and Differentiation,* 19(4), 671-679.

Traggiai, E., Volpi, S., Schena, F., Gattorno, M., Ferlito, F., Moretta, L., and Martini, A. (2008). Bone marrow□derived mesenchymal stem cells induce both polyclonal expansion and differentiation of b cells isolated from healthy donors and systemic lupus erythematosus patients. *Stem Cells,* 26(2), 562-569.

Travis, M. A., and Sheppard, D. (2014). Tgf-β activation and function in immunity. *Annual Review of Immunology,* 32, 51-82.

Trepicchio, W., Wang, L., Bozza, M., and Dorner, A. (1997). Il-11 regulates macrophage effector function through the inhibition of nuclear factor-kappab. *The Journal of Immunology,* 159(11), 5661-5670.

Truman, L. A., Ford, C. A., Pasikowska, M., Pound, J. D., Wilkinson, S. J., Dumitriu, I. E., Melville, L., Melrose, L. A., Ogden, C. A., and Nibbs, R. (2008). Cx3cl1/fractalkine is released from apoptotic lymphocytes to stimulate macrophage chemotaxis. *Blood,* 112(13), 5026-5036.

Tsai, S. Y., Segovia, J. A., Chang, T. H., Shil, N. K., Pokharel, S. M., Kannan, T. R., Baseman, J. B., Defrene, J., Page, N., Cesaro, A., Tessier, P. A., and Bose, S. (2015). Regulation of tlr3 activation by s100a9. *Journal of Immunology,* 195(9), 4426-4437.

Tschopp, J., and Schroder, K. (2010). Nlrp3 inflammasome activation: The convergence of multiple signalling pathways on ros production? *Nature Reviews Immunology,* 10(3), 210-215.

Tsou, C.-L., Peters, W., Si, Y., Slaymaker, S., Aslanian, A. M., Weisberg, S. P., Mack, M., and Charo, I. F. (2007). Critical roles for ccr2 and mcp-3 in monocyte mobilization from bone marrow and recruitment to inflammatory sites. *The Journal of Clinical Investigation,* 117(4), 902-909.

Tsuchiya, S., Kobayashi, Y., Goto, Y., Okumura, H., Nakae, S., Konno, T., and Tada, K. (1982). Induction of maturation in cultured human monocytic leukemia cells by a phorbol diester. *Cancer Research,* 42(4), 1530-1536.

Tsuchiya, S., Yamabe, M., Yamaguchi, Y., Kobayashi, Y., Konno, T., and Tada, K. (1980). Establishment and characterization of a human acute monocytic leukemia cell line (thp-1). *International Journal of Cancer,* 26(2), 171-176.

Tsuchiya, S., Yamabe, M., Yamaguchi, Y., Kobayashi, Y., Konno, T., and Tada, K. (1980). Establishment and characterization of a human acute monocytic leukemia cell line (thp□1). *International Journal of Cancer,* 26(2), 171-176.

Tu, B., Liu, S., Liu, G., Yan, W., Wang, Y., Li, Z., and Fan, C. (2015). Macrophages derived from thp-1 promote the osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells through the il-23/il-23r/β-catenin pathway. *Experimental Cell Research,* 339(1), 81-89.

Tumbar, T., Guasch, G., Greco, V., Blanpain, C., Lowry, W. E., Rendl, M., and Fuchs, E. (2004). Defining the epithelial stem cell niche in skin. *Science,* 303(5656), 359-363.

Turnbull, I. R., Gilfillan, S., Cella, M., Aoshi, T., Miller, M., Piccio, L., Hernandez, M., and Colonna, M. (2006). Cutting edge: Trem-2 attenuates macrophage activation. *The Journal of Immunology,* 177(6), 3520-3524.

Turner, M. D., Nedjai, B., Hurst, T., and Pennington, D. J. (2014). Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochimica et Biophysica Acta Molecular Cell Research,* 1843(11), 2563-2582.

Uccelli, A., Moretta, L., and Pistoia, V. (2008). Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nature Reviews: Immunology,* 8(9), 726-736.

Uckan, D., Kilic, E., Sharafi, P., Kazik, M., Kaya, F., Erdemli, E., Can, A., Tezcaner, A., and Kocaefe, C. (2009). Adipocyte differentiation defect in mesenchymal stromal cells of patients with malignant infantile osteopetrosis. *Cytotherapy,* 11(4), 392-402.

Ulich, T., Del Castillo, J., Keys, M., Granger, G., and Ni, R.-X. (1987). Kinetics and mechanisms of recombinant human interleukin 1 and tumor necrosis factor-alpha-induced changes in circulating numbers of neutrophils and lymphocytes. *The Journal of Immunology,* 139(10), 3406-3415.

Ungerer, C., Quade-Lyssy, P., Radeke, H. H., Henschler, R., Königs, C., Köhl, U., Seifried, E., and Schüttrumpf, J. (2014). Galectin-9 is a suppressor of t and b cells and predicts the immune modulatory potential of mesenchymal stromal cell preparations. *Stem Cells and Development,* 23(7), 755-766.

Urbich, C., and Dimmeler, S. (2004). Endothelial progenitor cells: Functional characterization. *Trends in Cardiovascular Medicine,* 14(8), 318-322.

Ushach, I., and Zlotnik, A. (2016). Biological role of granulocyte macrophage colony-stimulating factor (gm-csf) and macrophage colony-stimulating factor (m-csf) on cells of the myeloid lineage. *Journal of Leukocyte Biology,* 100(3), 481-489.

Uutela, M., Wirzenius, M., Paavonen, K., Rajantie, I., He, Y., Karpanen, T., Lohela, M., Wiig, H., Salven, P., and Pajusola, K. (2004). Pdgf-d induces macrophage recruitment, increased interstitial pressure, and blood vessel maturation during angiogenesis. *Blood,* 104(10), 3198-3204.

Valles, G., Bensiamar, F., Crespo, L., Arruebo, M., Vilaboa, N., and Saldana, L. (2015). Topographical cues regulate the crosstalk between mscs and macrophages. *Biomaterials,* 37, 124-133.

van der Mark, V. A., Ghiboub, M., Marsman, C., Zhao, J., van Dijk, R., Hiralall, J. K., Ho-Mok, K. S., Castricum, Z., de Jonge, W. J., Oude Elferink, R. P. J., and Paulusma, C. C. (2017). Phospholipid flippases attenuate lps-induced tlr4 signaling by mediating endocytic retrieval of toll-like receptor 4. *Cellular and Molecular Life Sciences,* 74(4), 715-730.

Van Der Voort, R., Van Lieshout, A. W., Toonen, L. W., Slöetjes, A. W., Van Den Berg, W. B., Figdor, C. G., Radstake, T. R., and Adema, G. J. (2005). Elevated cxcl16 expression by synovial macrophages recruits memory t cells into rheumatoid joints. *Arthritis & Rheumatology,* 52(5), 1381-1391.

Vanden Berg-Foels, W. S. (2014). In situ tissue regeneration: Chemoattractants for endogenous stem cell recruitment. *Tissue Eng Part B Rev,* 20(1), 28-39.

Varney, M. L., Olsen, K. J., Mosley, R. L., Bucana, C. D., Talmadge, J. E., and Singh, R. K. (2002). Monocyte/macrophage recruitment, activation and differentiation modulate interleukin-8 production: A paracrine role of tumor-associated macrophages in tumor angiogenesis. *In Vivo,* 16(6), 471-477.

Varol, C., Mildner, A., and Jung, S. (2015). Macrophages development and tissue specialization. *Annual Review of Immunology,* 33, 643-675.

Vasandan, A. B., Jahnavi, S., Shashank, C., Prasad, P., Kumar, A., and Prasanna, S. J. (2016). Human mesenchymal stem cells program macrophage plasticity by altering their metabolic status via a pge2-dependent mechanism. *Scientific Reports,* 6, 1-17.

Vasta, G. R. (2009). Roles of galectins in infection. *Nature Reviews Microbiology,* 7(6), 424-438.

Vercammen, E., Staal, J., and Beyaert, R. (2008). Sensing of viral infection and activation of innate immunity by toll-like receptor 3. *Clinical Microbiology Reviews,* 21(1), 13-25.

Verreck, F. A., de Boer, T., Langenberg, D. M., Hoeve, M. A., Kramer, M., Vaisberg, E., Kastelein, R., Kolk, A., de Waal-Malefyt, R., and Ottenhoff, T. H. (2004). Human il-23-producing type 1 macrophages promote but il-10-producing type 2 macrophages subvert immunity to (myco) bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* 101(13), 4560-4565.

Verreck, F. A., de Boer, T., Langenberg, D. M., van der Zanden, L., and Ottenhoff, T. H. (2006). Phenotypic and functional profiling of human proinflammatory type-1 and

anti-inflammatory type-2 macrophages in response to microbial antigens and ifn-γ-and cd40l-mediated costimulation. *Journal of Leukocyte Biology,* 79(2), 285-293.

Vestergaard, C., Just, H., Baumgartner Nielsen, J., Thestrup-Pedersen, K., and Deleuran, M. (2004). Expression of ccr2 on monocytes and macrophages in chronically inflamed skin in atopic dermatitis and psoriasis. *Acta Dermato-Venereologica,* 84(5), 353-358.

Vladimirovna, I. L., Sosunova, E., Nikolaev, A., and Nenasheva, T. (2016). Mesenchymal stem cells and myeloid derived suppressor cells: Common traits in immune regulation. *Journal of Immunology Research,* 2016, 1-17.

Walpola, P. L., Gotlieb, A. I., Cybulsky, M. I., and Langille, B. L. (1995). Expression of icam-1 and vcam-1 and monocyte adherence in arteries exposed to altered shear stress. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology,* 15(1), 2-10.

Wang, J., Wang, Y., Wang, S., Cai, J., Shi, J., Sui, X., Cao, Y., Huang, W., Chen, X., and Cai, Z. (2015). Bone marrow-derived mesenchymal stem cell-secreted il-8 promotes the angiogenesis and growth of colorectal cancer. *Oncotarget,* 6(40), 42825.

Wang, L. T., Ting, C. H., Yen, M. L., Liu, K. J., Sytwu, H. K., Wu, K. K., and Yen, B. L. (2016). Human mesenchymal stem cells (mscs) for treatment towards immune- and inflammation-mediated diseases: Review of current clinical trials. *Journal of Biomedical Science,* 23(1), 76.

Wang, L., Zhao, Y., Liu, Y., Akiyama, K., Chen, C., Qu, C., Jin, Y., and Shi, S. (2013). Ifn□γ and tnf□α synergistically induce mesenchymal stem cell impairment and tumorigenesis via nfκb signaling. *Stem Cells,* 31(7), 1383-1395.

Wang, N., Satoskar, A., Faubion, W., Howie, D., Okamoto, S., Feske, S., Gullo, C., Clarke, K., Sosa, M. R., and Sharpe, A. H. (2004). The cell surface receptor slam controls t cell and macrophage functions. *Journal of Experimental Medicine,* 199(9), 1255-1264.

Wang, Q., Ni, H., Lan, L., Wei, X., Xiang, R., and Wang, Y. (2010). Fra-1 protooncogene regulates il-6 expression in macrophages and promotes the generation of m2d macrophages. *Cell Research,* 20(6), 701-712.

Wang, X. B., Giscombe, R., Yan, Z., Heiden, T., Xu, D., and Lefvert, A. (2002). Expression of ctla□4 by human monocytes. *Scandinavian Journal of Immunology,* 55(1), 53-60.

Wang, X.-F., Wang, H.-S., Wang, H., Zhang, F., Wang, K.-F., Guo, Q., Zhang, G., Cai, S.-H., and Du, J. (2014). The role of indoleamine 2, 3-dioxygenase (ido) in immune tolerance: Focus on macrophage polarization of thp-1 cells. *Cellular Immunology,* 289(1), 42-48.

Wang, Y., Chen, X., Cao, W., and Shi, Y. (2014). Plasticity of mesenchymal stem cells in immunomodulation: Pathological and therapeutic implications. *Nature Immunology,* 15(11), 1009-1016.

Wang, Y., Huso, D., Harrington, J., Kellner, J., Jeong, D., Turney, J., and McNiece, I. (2005). Outgrowth of a transformed cell population derived from normal human bm mesenchymal stem cell culture. *Cytotherapy,* 7(6), 509-519.

Wang, Z. j., Zhang, F. m., Wang, L. s., Yao, Y. w., Zhao, Q., and Gao, X. (2009). Lipopolysaccharides can protect mesenchymal stem cells (mscs) from oxidative stress□induced apoptosis and enhance proliferation of mscs via toll□like receptor (tlr)□4 and pi3k/akt. *Cell Biology International,* 33(6), 665-674.

Watanabe, F., Satsu, H., Mochizuki, T., Nakano, T., and Shimizu, M. (2004). Development of the method for evaluating protective effect of food factors on thp□1□induced damage to human intestinal caco□2 monolayers. *Biofactors,* 21(1□4), 145-147.

Waterman, R. S., Tomchuck, S. L., Henkle, S. L., and Betancourt, A. M. (2010). A new mesenchymal stem cell (msc) paradigm: Polarization into a pro-inflammatory msc1 or an immunosuppressive msc2 phenotype. *Public Library of Science One,* 5(4), 1-14.

Weber, C., Muller, C., Podszuweit, A., Montino, C., Vollmer, J., and Forsbach, A. (2012). Toll-like receptor (tlr) 3 immune modulation by unformulated small interfering rna or DNA and the role of cd14 (in tlr-mediated effects). *Immunology,* 136(1), 64-77.

Weeks, S., Kulkarni, A., Smith, H., Whittall, C., Yang, Y., and Middleton, J. (2012). The effects of chemokine, adhesion and extracellular matrix molecules on binding of mesenchymal stromal cells to poly (l-lactic acid). *Cytotherapy,* 14(9), 1080-1088.

Wehling, N., Palmer, G., Pilapil, C., Liu, F., Wells, J., Müller, P., Evans, C. H., and Porter, R. (2009). Interleukin□1β and tumor necrosis factor α inhibit chondrogenesis by human mesenchymal stem cells through nf□κb–dependent pathways. *Arthritis & Rheumatology,* 60(3), 801-812.

Weiss, G., and Schaible, U. E. (2015). Macrophage defense mechanisms against intracellular bacteria. *Immunological Reviews,* 264(1), 182-203.

Weiss, M. L., and Troyer, D. L. (2006). Stem cells in the umbilical cord. *Stem Cell Reviews and Reports,* 2(2), 155-162.

West, J., and Damania, B. (2008). Upregulation of the tlr3 pathway by kaposi's sarcoma-associated herpesvirus during primary infection. *Journal of Virology,* 82(11), 5440-5449.

Wexler, S. A., Donaldson, C., Denning□Kendall, P., Rice, C., Bradley, B., and Hows, J. M. (2003). Adult bone marrow is a rich source of human mesenchymal 'stem'cells but umbilical cord and mobilized adult blood are not. *British Journal of Haematology,* 121(2), 368-374.

Wiersinga, W. J., Leopold, S. J., Cranendonk, D. R., and van der Poll, T. (2014). Host innate immune responses to sepsis. *Virulence,* 5(1), 36-44.

William, T. T., Pendleton, J. D., Beyer, W. M., Egalka, M. C., and Guinan, E. C. (2003). Suppression of allogeneic t-cell proliferation by human marrow stromal cells: Implications in transplantation. *Transplantation,* 75(3), 389-397.

Wilson, A., and Trumpp, A. (2006). Bone-marrow haematopoietic-stem-cell niches. *Nature Reviews: Immunology,* 6(2), 93-106.

Wolf, S. F., Sieburth, D., and Sypek, J. (1994). Interleukin 12: A key modulator of immune function. *Stem Cells,* 12(2), 154-168.

Wolfe, A. R., Trenton, N. J., Debeb, B. G., Larson, R., Ruffell, B., Chu, K., Hittelman, W., Diehl, M., Reuben, J. M., and Ueno, N. T. (2016). Mesenchymal stem cells and macrophages interact through il-6 to promote inflammatory breast cancer in pre-clinical models. *Oncotarget,* 7(50), 82482–82492.

Wong, D., and Dorovini-Zis, K. (1995). Expression of vascular cell adhesion molecule-1 (vcam-1) by human brain microvessel endothelial cells in primary culture. *Microvascular Research,* 49(3), 325-339.

Wong, J. M., and Billiar, T. R. (1995). Regulation and function of inducible nitric oxide synthase during sepsis and acute inflammation. *Advances in Pharmacology,* 34, 155-170.

Woodfin, A., Voisin, M. B., and Nourshargh, S. (2007). Pecam-1: A multi-functional molecule in inflammation and vascular biology. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology,* 27(12), 2514-2523.

Wu, B., Huang, C., Kato-Maeda, M., Hopewell, P. C., Daley, C. L., Krensky, A. M., and Clayberger, C. (2008). Il-9 is associated with an impaired th1 immune response in patients with tuberculosis. *Clinical Immunology,* 126(2), 202-210.

Wu, W.-K., Llewellyn, O. P., Bates, D. O., Nicholson, L. B., and Dick, A. D. (2010). Il-10 regulation of macrophage vegf production is dependent on macrophage polarisation and hypoxia. *Immunobiology,* 215(9), 796-803.

Wykes, M. (2003). Why do b cells produce cd40 ligand? *Immunology and Cell Biology,* 81(4), 328-331.

Wynes, M. W., and Riches, D. W. (2003). Induction of macrophage insulin-like growth factor-i expression by the th2 cytokines il-4 and il-13. *The Journal of Immunology,* 171(7), 3550-3559.

Wynn, T. A. (2003). Il-13 effector functions. *Annual Review of Immunology,* 21(1), 425-456.

Xiao, Q., Wang, S.-k., Tian, H., Xin, L., Zou, Z.-g., Hu, Y.-l., Chang, C.-m., Wang, X.-y., Yin, Q.-s., and Zhang, X.-h. (2012). Tnf-α increases bone marrow mesenchymal stem cell migration to ischemic tissues. *Cell Biochemistry and Biophysics,* 62(3), 409-414.

Xu, C., Yu, P., Han, X., Du, L., Gan, J., Wang, Y., and Shi, Y. (2014). Tgf-β promotes immune responses in the presence of mesenchymal stem cells. *The Journal of Immunology,* 192(1), 103-109.

Xu, J., Chi, F., and Tsukamoto, H. (2015). Notch, metabolism and macrophages. 6, 19942–19943.

Xu, W., Roos, A., Schlagwein, N., Woltman, A. M., Daha, M. R., and van Kooten, C. (2006). Il-10–producing macrophages preferentially clear early apoptotic cells. *Blood,* 107(12), 4930-4937.

Xuan, W., Qu, Q., Zheng, B., Xiong, S., and Fan, G. H. (2015). The chemotaxis of m1 and m2 macrophages is regulated by different chemokines. *Journal of Leukocyte Biology,* 97(1), 61-69.

Xuan, W., Qu, Q., Zheng, B., Xiong, S., and Fan, G.-H. (2015). The chemotaxis of m1 and m2 macrophages is regulated by different chemokines. *Journal of Leukocyte Biology,* 97(1), 61-69.

Xue, Q., Luan, X.-Y., Gu, Y.-Z., Wu, H.-Y., Zhang, G.-B., Yu, G.-H., Zhu, H.-T., Wang, M., Dong, W., and Geng, Y.-J. (2010). The negative co-signaling molecule b7-h4 is expressed by human bone marrow–derived mesenchymal stem cells and mediates its t-cell modulatory activity. *Stem Cells and Development,* 19(1), 27-38.

Yamada, K., Uchiyama, A., Uehara, A., Perera, B., Ogino, S., Yokoyama, Y., Takeuchi, Y., Udey, M. C., Ishikawa, O., and Motegi, S.-i. (2016). Mfg-e8 drives melanoma growth by stimulating mesenchymal stromal cell–induced angiogenesis and m2 polarization of tumor-associated macrophages. *Cancer Research,* 76(14), 4283-4292.

Yamashita, U., and Kuroda, E. (2002). Regulation of macrophage-derived chemokine (mdc/ccl22) production. *Critical Reviews in Immunology,* 22(2).

Yang, L., and Zhang, Y. (2017). Tumor-associated macrophages: From basic research to clinical application. *Journal of Hematology & Oncology,* 10(1), 58.

Yang, R., Liu, Y., Kelk, P., Qu, C., Akiyama, K., Chen, C., Atsuta, I., Chen, W., Zhou, Y., and Shi, S. (2013). A subset of il-17+ mesenchymal stem cells possesses anti-candida albicans effect. *Cell Research,* 23(1), 107-121.

Yang, X. O., Chang, S. H., Park, H., Nurieva, R., Shah, B., Acero, L., Wang, Y.-H., Schluns, K. S., Broaddus, R. R., and Zhu, Z. (2008). Regulation of inflammatory responses by il-17f. *Journal of Experimental Medicine,* 205(5), 1063-1075.

Yang, Y., Chen, Q.-h., Liu, A.-r., Xu, X.-p., Han, J.-b., and Qiu, H.-b. (2015). Synergism of msc-secreted hgf and vegf in stabilising endothelial barrier function upon lipopolysaccharide stimulation via the rac1 pathway. *Stem Cell Research & Therapy,* 6(1), 250.

Yang, Y., Chu, W., Geraghty, D. E., and Hunt, J. S. (1996). Expression of hla-g in human mononuclear phagocytes and selective induction by ifn-gamma. *Journal of Immunology,* 156(11), 4224-4231.

Yang, Y., Hu, S., Xu, X., Li, J., Liu, A., Han, J., Liu, S., Liu, L., and Qiu, H. (2016). The vascular endothelial growth factors-expressing character of mesenchymal stem cells plays a positive role in treatment of acute lung injury in vivo. *Mediators of Inflammation,* 2016, 1-12.

Yang, Z. X., Chi, Y., Ji, Y. R., Wang, Y. W., Zhang, J., Luo, W. F., Li, L. N., Hu, C. D., Zhuo, G. S., Wang, L. F., Han, Z. B., and Han, Z. C. (2017). Human umbilical cord mesenchymal stem cells increase interleukin-9 production of cd4(+) t cells. *Experimental and Therapeutic Medicine,* 14(4), 3541-3548.

Yang, Z., Grinchuk, V., Urban Jr, J. F., Bohl, J., Sun, R., Notari, L., Yan, S., Ramalingam, T., Keegan, A. D., and Wynn, T. A. (2013). Macrophages as il-25/il-33-responsive cells play an important role in the induction of type 2 immunity. *Public Library of Science One,* 8(3), e59441.

Yeo, L., Adlard, N., Biehl, M., Juarez, M., Smallie, T., Snow, M., Buckley, C., Raza, K., Filer, A., and Scheel-Toellner, D. (2016). Expression of chemokines cxcl4 and cxcl7 by synovial macrophages defines an early stage of rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases,* 75(4), 763-771.

Ylostalo, J. H., Bartosh, T. J., Coble, K., and Prockop, D. J. (2012). Human mesenchymal stem/stromal cells cultured as spheroids are self-activated to produce prostaglandin e2 that directs stimulated macrophages into an anti-inflammatory phenotype. *Stem Cells,* 30(10), 2283-2296.

Yoshida, H., and Hunter, C. A. (2015). The immunobiology of interleukin-27. *Annual Review of Immunology,* 33, 417-443.

Youssef, A., Aboalola, D., and Han, V. K. (2017). The roles of insulin-like growth factors in mesenchymal stem cell niche. *Stem Cells International,* 2017, 9453108.

Yu, L., Wang, L., and Chen, S. (2010). Endogenous toll□like receptor ligands and their biological significance. *Journal of Cellular and Molecular Medicine,* 14(11), 2592-2603.

Yue, Y., Yang, X., Feng, K., Wang, L., Hou, J., Mei, B., Qin, H., Liang, M., Chen, G., and Wu, Z. (2017). M2b macrophages reduce early reperfusion injury after myocardial ischemia in mice: A predominant role of inhibiting apoptosis via a20. *International Journal of Cardiology,* 245, 228-235.

Zacharek, A., Chen, J., Li, A., Cui, X., Li, Y., Roberts, C., Feng, Y., Gao, Q., and Chopp, M. (2007). Angiopoietin1/tie2 and vegf/flk1 induced by msc treatment amplifies angiogenesis and vascular stabilization after stroke. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism,* 27(10), 1684-1691.

Zang, L., Hao, H., Liu, J., Li, Y., Han, W., and Mu, Y. (2017). Mesenchymal stem cell therapy in type 2 diabetes mellitus. *Diabetology & Metabolic Syndrome,* 9(1), 36.

Zarember, K. A., and Godowski, P. J. (2002). Tissue expression of human toll-like receptors and differential regulation of toll-like receptor mrnas in leukocytes in response to microbes, their products, and cytokines. *Journal of Immunology,* 168(2), 554-561.

Zeng, S. L., Wang, L. H., Li, P., Wang, W., and Yang, J. (2015). Mesenchymal stem cells abrogate experimental asthma by altering dendritic cell function. *Molecular Medicine Reports,* 12(2), 2511-2520.

Zhang, B., Yin, Y., Lai, R. C., Tan, S. S., Choo, A. B., and Lim, S. K. (2014). Mesenchymal stem cells secrete immunologically active exosomes. *Stem Cells and Development,* 23(11), 1233-1244.

Zhang, F., Wang, H., Wang, X., Jiang, G., Liu, H., Zhang, G., Wang, H., Fang, R., Bu, X., and Cai, S. (2016). Tgf-β induces m2-like macrophage polarization via snail-mediated suppression of a pro-inflammatory phenotype. *Oncotarget,* 7(32), 52294.

Zhang, H. J., Ye, F., Zong, C., Jing, Y. Y., Yang, X., Lai, F. B., Dong, Y., Pan, X., Zhu, J., Li, X., Liang, L., Hou, X., Wei, L., and Zhipeng, H. (2016). Mesenchymal stem cells inhibit alveolar macrophages from polarization to inflammatory phenotype through the il6/stat3/socs3 signaling pathway. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine,* 9, 13418-13432.

Zhang, L., Liu, D., Pu, D., Wang, Y., Li, L., He, Y., Li, Y., Li, L., Qiu, Z., Zhao, S., and Li, W. (2015). The role of toll-like receptor 3 and 4 in regulating the function of mesenchymal stem cells isolated from umbilical cord. *International Journal of Molecular Medicine,* 35(4), 1003-1010.

Zhang, L., Ran, L., Garcia, G. E., Wang, X. H., Han, S., Du, J., and Mitch, W. E. (2009). Chemokine cxcl16 regulates neutrophil and macrophage infiltration into injured muscle, promoting muscle regeneration. *The American Journal of Pathology,* 175(6), 2518-2527.

Zhang, Q. Z., Su, W. R., Shi, S. H., Wilder-Smith, P., Xiang, A. P., Wong, A., Nguyen, A. L., Kwon, C. W., and Le, A. D. (2010). Human gingiva-derived mesenchymal stem cells elicit polarization of m2 macrophages and enhance cutaneous wound healing. *Stem Cells,* 28(10), 1856-1868.

Zhang, W.-Q., Huang, S.-H., Huang, X., Li, J.-H., Ye, P., Xu, J., Zheng, P.-Z., Shen, H.-Y., and Huang, J.-R. (2016). Regulation of human mesenchymal stem cell differentiation by trem-2. *Human Immunology,* 77(6), 476-482.

Zhang, X., Qi, R., Xian, X., Yang, F., Blackstein, M., Deng, X., Fan, J., Ross, C., Karasinska, J., and Hayden, M. R. (2008). Spontaneous atherosclerosis in aged lipoprotein lipase–deficient mice with severe hypertriglyceridemia on a normal chow diet. *Circulation Research,* 102(2), 250-256.

Zhou, L., Cao, X., Fang, J., Li, Y., and Fan, M. (2015). Macrophages polarization is mediated by the combination of prr ligands and distinct inflammatory cytokines. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology,* 8(9), 10964-10974.

Zhu, J., Xu, Z., Chen, X., Zhou, S., Zhang, W., Chi, Y., Li, W., Song, X., Liu, F., and Su, C. (2014). Parasitic antigens alter macrophage polarization during schistosoma japonicum infection in mice. *Parasites & Vectors,* 7(1), 122.

Ziegler-Heitbrock, H., and Ulevitch, R. (1993). Cd14: Cell surface receptor and differentiation marker. *Immunology Today,* 14(3), 121-125.

Ziegler-Heitbrock, H., Schraut, W., Wendelgaß, P., Ströbel, M., Sternsdorf, T., Weber, C., Aepfelbacher, M., Ehlers, M., Schütt, C., and Haas, J. G. (1994). Distinct patterns of differentiation induced in the monocytic cell line mono mac 6. *Journal of Leukocyte Biology,* 55(1), 73-80.

Zittermann, S. I., and Issekutz, A. C. (2006). Basic fibroblast growth factor (bfgf, fgf-2) potentiates leukocyte recruitment to inflammation by enhancing endothelial adhesion molecule expression. *The American Journal of Pathology,* 168(3), 835-846.

Zou, L., Barnett, B., Safah, H., LaRussa, V. F., Evdemon-Hogan, M., Mottram, P., Wei, S., David, O., Curiel, T. J., and Zou, W. (2004). Bone marrow is a reservoir for cd4+ cd25+ regulatory t cells that traffic through cxcl12/cxcr4 signals. *Cancer Research,* 64(22), 8451-8455.

EKLER

EK-1. MKH'lardan salgılanan moleküller

L. Chen ve diğerleri (2008) tarafından yayınlanan uyarımsız insan ve fare BM-MKH'ların 24 saatlik kültür medyumlarının antikor tabanlı protein array ile incelenmesi sonucunda bulunan faktörlerin (koyu işaretli olanlar) revize tablosu (not: N/A: bulunmadığını göstermektedir)		
	MKH	
	İNSAN	FARE
• İmmünomodulatör Moleküller:		
NO (Nitrik Oksit)		+
IDO (Indoleamine 2,3-Dioxygenase)	+	
TSG-6 (TNF-α Stimulated Gene/Protein-6)	+	?
HO-1/HOX-1 (Heme oxygenase-1)	?	+
Serbest (soluble) HLAG (Human Leukocyte Antigens)		
PGE-2 (Prostaglandin E-2)	+	+
MIF (Macrophage Migration Inhibitory Factor)	+/-	N/A
GC (Glucocorticoid)		
PG (Progesteron)		
İNF-β (Interferon Beta)		
TGF-β (Transforming Growth Factor Beta)	+/-	N/A
TNF-α (Tumor Necrosis Factor Alfa) (??)	+	+/-
TNF-β (Tumor Necrosis Factor Beta) (??)	+	N/A
sTNF-R1 (Soluble Tumor Necrosis Factor Receptor 1)	++	+++
İL-1α (??)	++	N/A
İL-1β	+	N/A
İL-1ra (Interleukin-1 Receptor Antagonist)		
İL-2 (Interleukin-2)	+	+/-
İL-3 (Interleukin-3)	+	+/-
İL-4 (Interleukin-4)	+	+
İL-5 (Interleukin-5)	+/-	+/-
İL-6 (Interleukin-6)	+++	++
İL-7 (Interleukin-7)	+/-	N/A
LIF (Leukaemia Inhibitory Factor)	++	N/A
İL-10 (Interleukin-10)	+	+
İL-11 (Interleukin-11)	+	+
İL-12p70 (Interleukin-12p70)	N/A	+
İL-15 (Interleukin-15)	+	
İL-16 (Interleukin-16)	+/-	N/A
İL-17 (Interleukin-17)	+	+/-
İL-17Ra	+	
İL-27 (gen düzeyinde)	+	
RANKL(Receptor Activator Of Nuclear Factor Kappa-B Ligand)	+	

EK-1. (devam) MKH'lardan salgılanan moleküller

	MKH	
	İNSAN	FARE
• Kemokin Ligandları:		
CCL-1	+	N/A
CCL2/MCP-1/JE (Monocyte Chemoattractant Protein-1)	++	+++
(Farede; CCL12/MCP-5)		
CCL3/MIP-1α (Macrophage Inflammatory Protein-1α)	N/A	+
CCL4/MIP-1β (Macrophage Inflammatory Proteins-1β)	++	N/A
CCL5/RANTES (Regulated On Activation, Normal T Cell Expressed And Secreted)	+	+
CCL7/MCP3 (Monocyte Chemotactic Protein-3)	+/-	N/A
CCL8/MCP2 (Monocyte Chemoattractant Protein-2) (İNF-□ uyarımı ile)	+/-	N/A
CCL9/CCL10/MIP-1□ (Macrophage Inflammatory Protein-1γ)		
CCL11/eotaxin-1 (Eosinophil Chemotactic Protein-1)	+/-	+/-
CCL13/MCP-4 (Monocyte Chemoattractant Protein-4)	+/-	N/A
CCL17/TARC (Thymus and Activation Related Chemokine)	+/-	+
CCL24/eotaksin-2 (Eosinophil Chemotactic Protein-2)	+/-	N/A
CCL26/eotaksin-3 (Eosinophil Chemotactic Protein-3)	+	N/A
CCL15/MIP-5/MIP-1δ (Macrophage Inflammatory Protein-1δ)/Leukotaktin-1	+	N/A
CCL17/TARC (Thymus and Activation Regulated Chemokine)		
CCL18/PARC (Pulmonary And Activation-Regulated Chemokine)	+	N/A
CCL20/MIP-3α (Macrophage Inflammatory Protein-3α)	+/-	N/A
CCL21 (6Ckine)	N/A	+/-
CCL23	+/-	N/A
CCL27/CTACK (Cutaneous T cell attracting Chemokine)	N/A	+
CXCL1/GROα/ KC/NAP-3/MSGA-α (Growth Related Oncogene–α/Keratinocyte Derived Chemoattractant/Neurophil Activating Protein-3/ Melanoma Growth Stimulating Activity-α)	+/-	+++
CXCL2/GROβ/MIP2α (Growth Related Oncogene-β/Macrophage Inflammatory Protein-2α)	+	N/A
CXCL3/GROγ/GRO3/MIP-2β (Growth Related Oncogene-γ/Macrophage Inflammatory Protein-2β)	+	N/A
CXCL5/ENA-78/LIX (Epithelium-Derived Neutrophil-Activating Peptide–78/LPS Induced CXC Chemokine)	+	N/A
CXCL6/GCP-2 (Granulocyte Chemotactic Protein-2)	+/-	N/A
CXCL8/İL-8		
CXCL9/MIG (Monokine Induced by INF-□)	+/-	N/A
CXCL10/IP10 (INF-□ Inducible Protein-10)	+	N/A
CXCL11/i-TAC (INF Inducible T-cell α Chemoattractant) /IP-9 (Interferon Inducible protein-9)		
CXCL12/SDF-1(Stromal Cell Derived Factor-1)	+	+/-
CXCL13/BLC (B Lymphocyte Chemoattractant)	+/-	N/A
CX3CL1/Fractalkine	++	N/A
MCD (Macrophage-derived chemokine)	+	N/A

EK-1. (devam) MKH'lardan salgılanan moleküller

	MKH	
	İNSAN	FARE
• Farklılaşma Faktörleri:		
M-CSF (Macrophage Colony-Stimulating Factor)	+	N/A
G-CSF (Granulocyte-Colony Stimulating Factor)	+	+/-
GM-CSF (Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor)	+/-	+
• Büyüme Faktörleri:		
IGF-1 (Insulin-Like Growth Factor 1)	++	N/A
HGF (Hepatocyte Growth Factor)	+++	N/A
PDGF (Platelet Derived Growth Factor)	+	N/A
VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)	++++	+++
EGF (Epidermal Growth Factor)	+	N/A
FGF-9 (Fibroblast Growth Factor-9)	+	N/A
Ang (Angiopoetin)	++++	N/A
KGF (Keratinocyte Growth Factor)		
MFG-E8 (Milk Fat Globule-EGF Factor 8 Protein)/Lactadherin		
Leptin	+	+/-
Brain Derives Neurotrophic Factor	++	N/A
Neurotrophin	+	N/A
PIGF (Placenta Growth Factor)	++	N/A
SCF (Stem Cell Factor)	+	+/-
TPO (Thrombopoietin)	++	+
FLT3L (Fms-related tyrosine kinase 3 Ligand)	+	N/A
• Enzimler:		
MMP-2 (Matrix Metalloproteinase-2)		
MMP-9 (Matrix Metalloproteinase-9)		
• Diğerleri:		
TIMP1 (Metallopeptidase Inhibitor 1)	++++	+
GC (Glucocorticoid)	+	?
PG (Progesterone)	+	?

EK-2. MKH'lardan eksprese edilen moleküller

- SRY (Sex Determining Region Y)-box 2 /SOX-2, Stro-1,
- HLA molekülleri:

MHC I (Major Histocompatibility Complex-I)

MHC-II (Major Histocompatibility Complex-II) (İNF-γ ile uyarıldıklarında)

HLAG (Human Leukocyte Antigens-G/klasik olmayan HLA sınıf-I molekülü)

- İnhibitör Moleküller:

CTLA-4 (CD152) (CTL(CTL (Cytotoxic T Lymphocyte) Associated Protein-4)

PD-L1/B7-H1/CD274 (Programmed Death-Ligand-1/B7 Homolog-1)

PD-L2/B7-DC/CD273 (Programmed Cell Death Ligan-2)

B7-H4 (B7 Homolog-4)

Galectin-1, Galectin-3, Galectin-9

- Hücre Yapışması ile İlgili Moleküller

P-Selektin/PADGEM/GMP-140/CD62

ICAM-1/CD54 (Intercellular Adhesion Molecule-1)

VCAM-1/CD106 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1)

HA (Hyaluronic acid)

- Yüzey belirteçleri

Pozitif olanlar:

Karakterizasyonda kullanılanlar:

Pozitif olanlar: CD44, CD73, CD90, CD105, CD106, CD166

Negatif olanlar: CD31, CD45, CD80 ve CD34

Diğerleri:

Pozitif olanlar: CD68

Negatif olanlar: CD11b, CD33, CD36, CD40, CD64, CD80/B7-1,CD86/B7-2, CD127/İL-7R,

- TLR

yüksek düzeyde; TLR2 (Toll-like Receptors2), TLR3, TLR4 (TLR4/CD14/MD2 (LPS reseptör kompleksi)), TLR7, TLR9

düşük düzeyde; TLR1, TLR5, TLR6, TLR8, TLR10

- CCR (CC-kemokin reseptörü/ C-C chemokine receptor):

CCR1(CD191), CCR2(CD192), CCR3(CD193), CCR4(CD194), CCR5(CD195), CCR6(CD196), CCR7(CD197), CCR8(CDw198), CCR9(CDw199), CCR10, CCR11, CXCR1(CD181), CXCR2(CD182), CXCR3(CD183), CXCR4(CD184), CXCR5(CD185), CXCR6(CD186), CX3CR1, CXCR7(GPR159)

- Sitokin Reseptorleri:

İNF-□R, TNF-αR, IL1-αR / IL1-βR, İL-3R, İL-4R, İL-6R, İL-7R, İL-10R, İL-13R, İL-17R

- Diğer moleküller

FasL(CD95) (Fas Ligandı)

GR (Glucocorticoid Receptor)

PDGF-R (Platelet-derived growth factor receptors)

NURR1 (The Nuclear Receptor Related Protein-1)

CD200

TREM2 (Triggering Receptor Expressed On Myeloid Cells-2)

NOTCH-R

EK-3. MKH'ların kısa ve uzun süreli çeşitli dozlarda POLİ(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin yüzey molekül üretimi üzerine etkisi

MKH'ların kısa ve uzun süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin yüzey molekül üretimi üzerine etkisi						
İmmün molekül	Prime Süresi	Poli(I:C) Dozu	MKH kaynağı	Kontrol grubu	Prime grubu	Kaynak
TLR3	prime süresi 1 saat 48 saat sonra analiz ediliyor	1 µg/mL	insan burun mukozası	pozitif	kontrol ve prime grupta pozitif hücre yüzdesi aynı	(Hwang ve diğerleri, 2014)
	24 saat	yok	insan BM	TLR3 üretiminin arttığı		(Giuliani ve diğerleri, 2014)
	24 saat	4 µg/ml	domuz BM	mRNA üretildiği	mRNA üretiminin arttığı	(Mastri ve diğerleri, 2012)
	48 saat	yok	insan BM	TLR3 üretiminin daha da arttığı		(Giuliani ve diğerleri, 2014)
MHC-I	24 saat	50 µg/ml	fare BM	pozitif	Pozitif	(X. Chen ve diğerleri 2014)
	48 saat	25 µg/ml	insan BM	pozitif	Artış	(Giuliani ve diğerleri, 2014)
	72 saat	1 µg/ml	insan AT	pozitif	Artış	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
MHC-II	24 saat	50 µg/ml	fare BM	negatif	Negatif	(X. Chen ve diğerleri 2014)
	72 saat	1 µg/ml	insan AT	negatif	Pozitif	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
İL-18R	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
HLAG	48 saat	25 µg/ml	insan BM	salgılandığı	salgılanmasının çok hafif arttığı	(Giuliani ve diğerleri, 2014)
CD80	24 saat	50 µg/ml	fare BM	pozitif	Pozitif	(X. Chen ve diğerleri 2014)
	24 saat	belirtilmemiş	insan BM	negatif	Negatif	(Liotta ve diğerleri, 2008)
	72 saat	belirtilmemiş	insan UC	negatif	Negatif	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
	72 saat	1 µg/ml	insan AT	negatif	Negatif	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
CD86	24 saat	50 µg/ml	fare BM	negatif	Negatif	(X. Chen ve diğerleri 2014)
	24 saat	belirtilmemiş	insan BM	negatif	Negatif	(Liotta ve diğerleri, 2008)
	72 saat	belirtilmemiş	insan UC	negatif	Negatif	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
	72 saat	1 µg/ml	insan AT	negatif	Negatif	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
Sca-1	24 saat	50 µg/ml	fare BM	pozitif	Pozitif	(X. Chen ve diğerleri 2014)
CD11b	24 saat	50 µg/ml	fare BM	negatif	Negatif	(X. Chen ve diğerleri 2014)
CD34	24 saat	50 µg/ml	fare BM	negatif	Negatif	(X. Chen ve diğerleri 2014)
	24 saat	belirtilmemiş	insan BM	negatif	Negatif	(Liotta ve diğerleri, 2008)
CD44	24 saat	50 µg/ml	fare BM	pozitif	Pozitif	(X. Chen ve diğerleri 2014)
CD74	72 saat	belirtilmemiş	insan UC	negatif	Negatif	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
CD105	24 saat	belirtilmemiş	insan BM	pozitif	Pozitif	(Liotta ve diğerleri, 2008)
	72 saat	belirtilmemiş	insan UC	pozitif	Pozitif	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
CD106	24 saat	belirtilmemiş	insan BM	pozitif	Pozitif	(Liotta ve diğerleri, 2008)

EK-4. MKH'ların kısa süreli çeşitli dozlarda poli(ı:c) ile TLR3 üzerinden prime edildiğinde üretilen immün moleküller

MKH'ların kısa süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edildiğinde üretilen immün moleküller				
Prime Süresi	**Poli(I:C) Dozu**	**MKH kaynağı**	**Üretilen moleküller**	**Kaynak**
30 dk	1 µg/ml	insan AT	NF-kB nukleer geçişinde artış	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
30 dk	belirtilmemiş	insan BM	NF-kB nukleer geçişinde artış	(Liotta ve diğerleri, 2008)
1 saat	1 µg/mL	insan BM	İL-4'ün kontrol grupta bazal seviyede salgılanırken prime grupta bazal seviyeye yakın çok az miktarda arttığı	(Waterman ve diğerleri, 2010) (MKH2)
1 saat	1 µg/mL	insan BM	İL-1ra kontrolde bazal seviyede iken prime grupta salgılanmasının arttığı	(Waterman ve diğerleri, 2010) (MKH2)
1 saat	1 µg/mL	insan BM	İL-6 kontrolde salgılanmazken prime grupta hafif düzeyde salgılandığı	(Waterman ve diğerleri, 2010) (MKH2)
1 saat	1 µg/mL	insan BM	PGE bazal düzeyde salgılanırken prime grupta az miktarda arttığı	(Waterman ve diğerleri, 2010) (MKH2)
1 saat	1 µg/mL	insan BM	CXCL10 (IP10) kontrol grupta salgılanmazken prime grupta yüksek miktarda salgılandığı	(Waterman ve diğerleri, 2010) (MKH2)
1 saat	1 µg/mL	insan BM	CCL5 (RANTES) kontrol grupta salgılanmazken prime grupta yüksek miktarda salgılandığı	(Waterman ve diğerleri, 2010) (MKH2)
1 saat	1 µg/mL	insan BM	IDO kontrol grupta mRNA üretimi olmazken prime grupta belirgin düzeyde arttığı	(Waterman ve diğerleri, 2010) (MKH2)
1 saat	1 µg/mL	insan BM	İL-8'in kontrolde salgılanmazken prime grupta salgılandığı	(Waterman ve diğerleri, 2010) (MKH2)
1 saat	1 µg/mL	insan BM	TGF-β kontrol grupta salgılanırken prime grupta salınımının baskılandığı	(Waterman ve diğerleri, 2010) (MKH2)
prime süresi 1 saat 24 saat sonra analiz ediyor	1 µg/mL	insan UC	IDO kontrol grubunda bazal seviyede iken, prime grupta mRNA üretiminin belirgin derecede arttığı	(Fuenzalida ve diğerleri, 2016)(MKH2)
prime süresi 1 saat 24 saat sonra analiz ediyor	1 µg/mL	insan UC	İL-6 kontrol ve prime grubunda mRNA üretiminin yaklaşık aynı düzeyde bazal seviyeye yakın olduğu	(Fuenzalida ve diğerleri, 2016)(MKH2)
prime süresi 1 saat 24 saat sonra analiz ediyor	1 µg/mL	insan UC	İL-8 kontrol grubunda bazal seviyeye yakınken prime grupta mRNA üretiminin arttığı	(Fuenzalida ve diğerleri, 2016)(MKH2)
1 saat	1 µg/mL	insan UC	DSS ile oluşan kolitin kliniğinde ve histopatolojisinde düzelme	(Fuenzalida ve diğerleri, 2016)(MKH2)
prime süresi 1 saat / 48 saat sonra analiz ediliyor	1 µg/mL	insan burun mukozası	TLR3 kontrol ve prime grupta pozitif hücre yüzdesi aynı	(Hwang ve diğerleri, 2014)

EK-4. (devam) MKH'ların kısa süreli çeşitli dozlarda poli(ı:c) ile TLR3 üzerinden prime edildiğinde üretilen immün moleküller

prime süresi 1 saat / 48 saat sonra analiz ediliyor	1 μg/mL	insan burun mukozası	İL-6 kontrol grubunda salgılanmakla birlikte prime grupta hafif düzeyde arttığı	(Hwang ve diğerleri, 2014)
prime süresi 1 saat / 48 saat sonra analiz ediliyor	1 μg/mL	insan burun mukozası	İL-8 kontrol grubunda salgılanmakla birlikte prime grupta hafif düzeyde arttığı	(Hwang ve diğerleri, 2014)
prime süresi 1 saat / 48 saat sonra analiz ediliyor	1 μg/mL	insan burun mukozası	GM-CSF kontrol grubunda ve prime grupta aynı düzeyde bazal seviyeye yakın salgılandığı	(Hwang ve diğerleri, 2014)
prime süresi 1 saat / 48 saat sonra analiz ediliyor	1 μg/mL	insan burun mukozası	İL-10 kontrol grubunda ve prime grupta aynı düzeyde bazal seviyeye yakın salgılandığı	(Hwang ve diğerleri, 2014)
prime süresi 1 saat / 48 saat sonra analiz ediliyor	1 μg/mL	insan burun mukozası	İL-12-p70 kontrol grubunda ve prime grupta aynı düzeyde bazal seviyeye yakın salgılandığı	(Hwang ve diğerleri, 2014)
prime süresi 1 saat / 48 saat sonra analiz ediliyor	1 μg/mL	insan burun mukozası	İL-1α kontrol grubunda ve prime grupta aynı düzeyde bazal seviyeye yakın salgılandığı	(Hwang ve diğerleri, 2014)
prime süresi 1 saat / 48 saat sonra analiz ediliyor	1 μg/mL	insan burun mukozası	İL-1β kontrol grubunda ve prime grupta aynı düzeyde bazal seviyeye yakın salgılandığı	(Hwang ve diğerleri, 2014)
prime süresi 1 saat / 48 saat sonra analiz ediliyor	1 μg/mL	insan burun mukozası	TNF-α kontrol grubunda ve prime grupta aynı düzeyde bazal seviyeye yakın salgılandığı	(Hwang ve diğerleri, 2014)
prime süresi 1 saat / 48 saat sonra analiz ediliyor	1 μg/mL	insan burun mukozası	İL-4 kontrol grubunda ve prime grupta aynı düzeyde bazal seviyeye yakın salgılandığı	(Hwang ve diğerleri, 2014)

EK-4. (devam) MKH'ların kısa süreli çeşitli dozlarda poli(ı:c) ile TLR3 üzerinden prime edildiğinde üretilen immün moleküller

prime süresi 1 saat / 48 saat sonra analiz ediliyor	1 μg/mL	insan burun mukozası	CXCL10(IP10) kontrol grubunda ve prime grupta aynı düzeyde bazal seviyeye yakın salgılandığı	(Hwang ve diğerleri, 2014)
prime süresi 1 saat / 48 saat sonra analiz ediliyor	1 μg/mL	insan burun mukozası	CCL5(RANTES) kontrol grubunda ve prime grupta aynı düzeyde hafif miktarda salgılandığı	(Hwang ve diğerleri, 2014)
1 saat	10 μg/mL	fare AT	CCL2(MCP-1) kontrol grupta salgılarken prime grupta salınımının arttığı	(Johnson ve diğerleri, 2017)
prime süresi 1 saat 4 saat sonra analiz	10 μg/mL	at BM	İL-6 mRNA üretiminin kontrole göre prime grupta hafif düzeyde arttığı	(Cassano ve diğerleri, 2018)
prime süresi 1 saat 4 saat sonra analiz	10 μg/mL	at BM	İL-8 mRNA üretiminin kontrole göre prime grupta hafif düzeyde arttığı	(Cassano ve diğerleri, 2018)
prime süresi 1 saat 4 saat sonra analiz	10 μg/mL	at BM	CCL2 (MCP-1) mRNA üretiminin kontrole göre prime grupta daha fazla arttığı	(Cassano ve diğerleri, 2018)
prime süresi 1 saat 4 saat sonra analiz	10 μg/mL	at BM	CXCL10(IP10) mRNA üretiminin kontrole göre prime grupta hafif düzeyde arttığı	(Cassano ve diğerleri, 2018)
4 saat	1 μg/mL	insan burun mukozası	İL-6 kontrol gurubunda bazal seviyeye yakın salınırken iken prime grubunda salınımında hafif artış	(Dumitru ve diğerleri 2014)
4 saat	1 μg/mL	insan burun mukozası	İL-8 kontrol gurubunda bazal seviyeye yakın salgılanırken prime grubunda salınımında hafif artış	(Dumitru ve diğerleri 2014)
4 saat	1 μg/mL	insan burun mukozası	tip-I İNF'nın kontrol grunda bazal seviyeye yakın salgılanırken prime grupta salınımında belirgin artış	(Dumitru ve diğerleri 2014)
4 saat	1 μg/mL	insan burun mukozası	p38-MAPK üretiminde artış	(Dumitru ve diğerleri 2014)
4 saat	1 μg/mL	insan burun mukozası	NF-κB üretiminde artış	(Dumitru ve diğerleri 2014)
4 saat	1 μg/mL	insan burun mukozası	IRF3 üretiminde artış	(Dumitru ve diğerleri 2014)
4 saat	1 μmol	insan burun mukozası	İL-6 kontrol grupta bazal seviyeye yakın prime grupta hafif düzeyde salgılandığı	(Petri ve diğerleri, 2017)
4 saat	1 μmol	insan burun mukozası	İL-8 kontrol grupta bazal seviyede salgılandığı, prime grupta hafif düzeyde salgılandığı	(Petri ve diğerleri, 2017)
4 saat	1 μmol	insan burun mukozası	CXCL10(IP10) kontrol ve prime grupta salgılanmadığı	(Petri ve diğerleri, 2017)

EK-4. (devam) MKH'ların kısa süreli çeşitli dozlarda poli(ı:c) ile TLR3 üzerinden prime edildiğinde üretilen immün moleküller

4 saat	1 μmol	insan burun mukozası	TGF-β kontrol ve prime grupta yaklaşık aynı düzeyde az miktarda salgılandığı	(Petri ve diğerleri, 2017)
4 saat	1 μmol	insan burun mukozası	MIF kontrol ve prime grupta salınımının yaklaşık aynı düzeyde salgılandığı	(Petri ve diğerleri, 2017)
4 saat	1 μmol	insan BM	İL-6 kontrol grupta bazal seviyeye yakın prime grupta hafif düzeyde salgılandığı	(Petri ve diğerleri, 2017)
4 saat	1 μmol	insan BM	İL-8 kontrol grupta bazal seviyede salgılandığı, prime grupta hafif düzeyde salgılandığı	(Petri ve diğerleri, 2017)
4 saat	1 μmol	insan BM	CXCL10(IP10) kontrol ve prime grupta salgılanmadığı	(Petri ve diğerleri, 2017)
4 saat	1 μmol	insan BM	TGF-β kontrol ve prime grupta yaklaşık aynı düzeyde az miktarda salgılandığı	(Petri ve diğerleri, 2017)
4 saat	1 μmol	insan BM	MIF kontrol ve prime grupta salınımının yaklaşık aynı düzeyde arttığı	(Petri ve diğerleri, 2017)
4 saat	belirtilmemiş	insan UC	İNF-α kontrol grubunda bazal seviyede iken prime grupta hafif düzeyde arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
4 saat	belirtilmemiş	insan UC	İNF-β kontrol grubunda bazal seviyede iken prime grupta hafif düzeyde arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
4 saat	belirtilmemiş	insan UC	İNF-γ kontrolde bazal seviyede iken prime grubunda hafif düzeyde arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
4 saat	belirtilmemiş	insan UC	CXCL10(IP10) kontrol grubunda bazal seviyede iken hafif düzeyde arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
4 saat	belirtilmemiş	insan UC	TGF–β kontrol grubunda ve prime grupta aynı şekilde hafif düzeyde salgılandığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
4 saat	belirtilmemiş	insan UC	CCL-1 kontrol grubunda bazal seviyede iken prime grupta hafif düzeyde arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
4 saat	belirtilmemiş	insan UC	CCL2 (MCP-1) kontrolde üretilirken 4 saatte baskılandığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
4 saat	belirtilmemiş	insan UC	CCL3(MIP-1α) kontrolde bazal seviyede iken 4 saatte arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
4 saat	belirtilmemiş	insan UC	CCL4(MIP-3β) kontrol grubunda bazal seviyede iken 4 saatte hafif düzeyde arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
4 saat	belirtilmemiş	insan UC	İL-1β kontrol grubunda bazal seviyede iken prime grupta arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
4 saat	belirtilmemiş	insan UC	İL-8 kontrol grubunda bazal seviyede iken prime grupta hafif arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
4 saat	belirtilmemiş	insan UC	İL-10 kontrol grubunda bazal seviyede iken prime grupta hafif arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
4 saat	belirtilmemiş	insan UC	İL-12 kontrol grubunda bazal seviyede iken prime grupta hafif arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
4 saat	belirtilmemiş	insan UC	VGEF kontrol grubunda bazal seviyede iken prime grupta salgılanmadığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)

EK-4. (devam) MKH'ların kısa süreli çeşitli dozlarda poli(ı:c) ile TLR3 üzerinden prime edildiğinde üretilen immün moleküller

prime süresi 6 saat 24 saat sonra analiz	20 μg/ml	insan BM	İL-6 kontrolde az miktarda üretilirken prime grupta az miktarda arttığı	(Rashedi ve diğerleri, 2017)
prime süresi 6 saat 24 saat sonra analiz	20 μg/ml	insan BM	İL-8 kontrolde az miktarda üretilirken prime grupta az miktarda arttığı	(Rashedi ve diğerleri, 2017)
prime süresi 6 saat 24 saat sonra analiz	20 μg/ml	insan BM	CCL5(RANTES) kontrol grupta bazal seviyede iken prime grupta arttığı	(Rashedi ve diğerleri, 2017)
prime süresi 6 saat 24 saat sonra analiz	20 μg/ml	insan BM	CXCL10(IP10) kontrolde üretilmezken prime grupta salınımının arttığı	(Rashedi ve diğerleri, 2017)
6 saat	20 μg/ml	insan BM	İL-12A kontrol grubunda mRNA üretimi bazal seviyede iken prime grupta mRNA üretimi hafif düzeyde artıyor	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
6 saat	20 μg/ml	insan BM	TNF-α kontrol grubunda mRNA üretilmezken prime grupta mRNA üretildiği	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
6 saat	20 μg/ml	insan BM	CCL5 kontrol grubunda mRNA üretilmezken prime grupta mRNA üretildiği	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
6 saat	20 μg/ml	insan BM	İNF-β kontrol grubunda mRNA üretilmezken prime grupta az miktarda mRNA üretildiği	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
6 saat	20 μg/ml	insan BM	iNOS kontrol ve prime grupta da üretilmediği	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
8 saat	1 μmol	insan burun mukozası	İNF–α ve İNF–β kontrol grubunda salgılanmadığı ama prime grupta 8 saatte yüksek seviyede salgılandığı	(Petri ve diğerleri, 2017)
8 saat	20 μg/ml	insan BM	TSG-6 kontrol ve prime grubunda aynı şekilde bazal düzeyde mRNA ürettildiği	(Kota ve diğerleri, 2014)

EK-5. MKH'ların kısa süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisinin özeti

MKH'ların kısa süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisinin Özeti						
1- 8 SAAT						
immün molekül	Prime Süresi	Poli(I:C) Dozu	MKH kaynağı	kontrol grubu	prime grubu	Kaynak
İL-5	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
İL-4	1 saat	1 μg/mL	insan BM	bazal seviyede salgılanıyor	bazal seviyeye yakın çok az miktarda arttığı	(Waterman ve diğerleri, 2010) (MKH2)
	prime süresi 1 saat 48 saat sonra analiz ediliyor	1 μg/mL	insan burun mukozası	bazal seviyeye yakın salgılandığı	kontrol ile prime grupta aynı düzeyde bazal seviyeye yakın salgılandığı	(Hwang ve diğerleri, 2014)
İL-10	prime süresi 1 saat 48 saat sonra analiz ediliyor	1 μg/mL	insan burun mukozası	bazal seviyeye yakın salgılanıyor	kontrol grubunda ile aynı düzeyde bazal seviyeye yakın salgılanıyor	(Hwang ve diğerleri, 2014)
	4 saat	belirtilmemiş	insan UC	bazal seviyeye yakın salgılanıyor	salınımında hafif artış	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
İL-13	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
TGF-β	1 saat	1 μg/mL	insan BM	salgılanmıyor	salınımının baskılandığı	(Waterman ve diğerleri, 2010) (MKH2)
	4 saat	belirtilmemiş	insan UC	hafif düzeyde salgılandığı	kontrol grubu ile aynı şekilde hafif düzeyde salgılandığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
	4 saat	1 μmol	insan burun mukozası	az miktarda salgılanıyor	kontrol ile yaklaşık aynı düzeyde az miktarda salgılandığı	(Petri ve diğerleri, 2017)
CCL22	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
İL-1β	prime süresi 1 saat 48 saat sonra analiz ediliyor	1 μg/mL	insan burun mukozası	bazal seviyeye yakın salgılandığı	kontrol grubu ile prime grupta aynı düzeyde bazal seviyeye yakın salgılandığı	(Hwang ve diğerleri, 2014)
	4 saat	belirtilmemiş	insan UC	bazal seviyede salgılanıyor	salınımının arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
İL-6	1 saat	1 μg/mL	insan BM	salgılanmıyor	hafif düzeyde salgılandığı	
	prime süresi 1 saat 24 saat sonra analiz ediyor	1 μg/mL	insan UC	kontrol mRNA üretiminin bazal seviyeye yakın olduğu	kontrol grubu ile yaklaşık aynı düzeyde mRNA üretimi bazal seviyeye yakın	(Fuenzalida ve diğerleri, 2016)(MKH2)
	prime süresi 1 saat 48 saat sonra analiz ediliyor	1 μg/mL	insan burun mukozası	salgılanıyor	salgılanmasının hafif düzeyde arttığı	(Hwang ve diğerleri, 2014)
	prime süresi 1 saat 4 saat sonra analiz	10 μg/mL	at BM	salgılanıyor	salınımının hafif düzeyde arttığı	(Cassano ve diğerleri, 2018)
	4 saat	1 μg/mL	insan burun mukozası	bazal seviyeye yakın salgılanıyor	salınımında hafif artış	(Dumitru ve diğerleri 2014) (Petri ve diğerleri, 2017)
	prime süresi 6 saat 24 saat sonra analiz	20 μg/ml	insan BM	az miktarda salgılanıyor	salınımında hafif artış	(Rashedi ve diğerleri, 2017)
TNF–α	prime süresi 1 saat 48 saat sonra analiz ediliyor	1 μg/mL	insan burun mukozası	bazal seviyeye yakın salgılandığı	kontrol ile prime grupta aynı düzeyde bazal seviyeye yakın salgılandığı	(Hwang ve diğerleri, 2014)

EK-5. (devam) MKH'ların kısa süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisinin özeti

TNF–α	6 saat	20 µg/ml	insan BM	mRNA üretilmiyor	mRNA üretildiği	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
İL-12	prime süresi 1 saat 48 saat sonra analiz ediliyor	1 µg/mL	insan burun mukozası	(İL-12-p70) bazal seviyeye yakın salgılanıyor	(İL-12-p70) kontrol ile prime grupta aynı düzeyde bazal seviyeye yakın salgılandığı	(Hwang ve diğerleri, 2014)
	4 saat	belirtilmemiş	insan UC	bazal seviyede salgılanıyor	salınımının hafif düzeyde arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
	6 saat	20 µg/ml	insan BM	mRNA üretimi bazal seviyede	mRNA üretimi hafif düzeyde artıyor	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
IDO	1 saat	1 µg/mL	insan BM	mRNA üretimi yok	mRNA üretimi belirgin düzeyde arttığı	(Waterman ve diğerleri, 2010) (MKH2)
	prime süresi 1 saat 24 saat sonra analiz ediyor	1 µg/mL	insan UC	mRNA üretimi bazal seviyede	mRNA üretiminin belirgin derecede arttığı	(Fuenzalida ve diğerleri, 2016)(MKH2)
İL-15	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
İL-17A	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
İNF-γ	4 saat	belirtilmemiş	insan UC	bazal seviyede salgılanıyor	salınımının hafif düzeyde arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
CCL2 MCP-1	prime süresi 1 saat 4 saat sonra analiz	10 µg/mL	at BM	mRNA üretiliyor	mRNA üretiminin daha fazla arttığı	(Cassano ve diğerleri, 2018)
	1 saat	10 µg/mL	fare AT	salgılanıyor	salınımının arttığı	(Johnson ve diğerleri, 2017)
CCL3 MIP-1α	4 saat	belirtilmemiş	insan UC	bazal seviyede salgılanıyor	salınımında artış	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
CCL4 MIP-1β	4 saat	belirtilmemiş	insan UC	bazal seviyede salgılanıyor	salınımında hafif artış	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
CXCL10 IP10	1 saat	1 µg/mL	insan BM	salgılanmıyor	yüksek miktarda salgılanıyor	(Waterman ve diğerleri, 2010) (MKH2)
	prime süresi 1 saat / 48 saat sonra analiz ediliyor	1 µg/mL	insan burun mukozası	bazal seviyeye yakın salgılanıyor	kontrol grubu ile aynı düzeyde bazal seviyeye yakın salgılandığı	(Hwang ve diğerleri, 2014)
	prime süresi 1 saat 4 saat sonra analiz	10 µg/mL	at BM	mRNA üretiliyor	mRNA üretimi hafif düzeyde arttığı	(Cassano ve diğerleri, 2018)
	4 saat	belirtilmemiş	insan UC	bazal seviyede salgılanıyor	salınımının hafif düzeyde arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
	4saat	1 µmol	insan burun mukozası	salgılanmıyor	salgılanmadığı	(Petri ve diğerleri, 2017)
	prime süresi 6 saat 24 saat sonra analiz	20 µg/ml	insan BM	üretilmiyor	salınımının arttığı	(Rashedi ve diğerleri, 2017)

EK-6. MKH'ların uzun süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisi

MKH'ların uzun süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisi				
Prime Süresi	**Poli(I:C) Dozu**	**MKH kaynağı**	**MKH tarafından üretilen moleküller**	**Kaynak**
18 saat	20 μg/ml	insan BM	CXCL1 (GR0-α) kontrol ve prime grupta salgılanmıyor	(Kota ve diğerleri, 2014)
18 saat	20 μg/ml	insan BM	CCL2 (MCP-1) kontrolde ve prime grupta salgılanmıyor	(Kota ve diğerleri, 2014)
18 saat	20 μg/ml	insan BM	CXCL8/İL-8 kontolde salgılanmazken uyarılanda bazal seviyede salgılanıyor	(Kota ve diğerleri, 2014)
18 saat	20 μg/ml	insan BM	MIF kontrolde az miktarda salınıyor prime grupta salgılanmasında az miktarda artış	(Kota ve diğerleri, 2014)
18 saat	20 μg/ml	insan BM	İL-6 kontrolde salgılanmazken prime grupta salgılanımında hafif artış	(Kota ve diğerleri, 2014)
20 saat	20 μg/ml	insan BM	İL-8 kontrol grubunda mRNA üretilmezken prime grupta üretiminin arttığı	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
24 saat	0,8 μg/ml	domuz BM	İL-6 kontrol grubunda bazal seviyeye yakınken prime grupta salgılanmasının arttığı	(Mastri ve diğerleri, 2012)
24 saat	0,8 μg/ml	domuz BM	İL-11 kontrol grubunda bazal seviyeye yakınken prime grupta salgılanmasının arttığı	(Mastri ve diğerleri, 2012)
24 saat	1 μg/ml	insan burun mukozası	İL-6 kontrol gurubunda bazal seviyeye yakın iken prime grupta çok belirgin düzeyde arttığı	(Dumitru ve diğerleri 2014)
24 saat	1 μg/ml	insan burun mukozası	İL-8 kontrol gurubunda bazal seviyeye yakın iken prime grupta çok belirgin düzeyde arttığı	(Dumitru ve diğerleri 2014)
24 saat	1 μg/ml	insan burun mukozası	tip-1 İNF'ların kontrol gurubunda bazal seviyeye yakın iken prime grupta salgılanmasının azalarak az miktarda salgılandığı	(Dumitru ve diğerleri 2014)
24 saat	1 μg/ml	insan BM	İL-6 kontrol gurubunda bazal seviyeye yakın iken prime grupta çok belirgin düzeyde arttığı	(Dumitru ve diğerleri 2014)
24 saat	1 μg/ml	insan BM	İL-8 kontrol gurubunda bazal seviyeye yakın iken prime grupta çok belirgin düzeyde arttığı	(Dumitru ve diğerleri 2014)
24 saat	1 μg/ml	insan BM	tip-1 İNF'ların kontrol gurubunda bazal seviyeye yakın iken prime grupta salgılanmasının azaldığı	(Dumitru ve diğerleri 2014)
24 saat	1 μmol	insan burun mukozası	İNF–α ve İNF–β kontrol grubunda salgılanmadığı prime grubunda 8 saate göre salgılanmasının azaldığı	(Petri ve diğerleri, 2017)
24 saat	1 μmol	insan burun mukozası	İL-6 kontrol grubunda salgılandığı prime grupta salgılanmasının çok daha fazla arttığı	(Petri ve diğerleri, 2017)
24 saat	1 μmol	insan burun mukozası	İL-8 kontrol grubunda bazal seviyeye yakın salgılandığı prime grupta salgılanmasının daha fazla arttığı	(Petri ve diğerleri, 2017)
24 saat	1 μmol	insan burun mukozası	CXCL10(IP10) kontrol grubunda salgılanmadığı prime grupta salgılanmasının belirgin derecede arttığı	(Petri ve diğerleri, 2017)
24 saat	1 μmol	insan burun mukozası	TGF–β kontrol ve prime grubunda salınımının 4. saate oranla daha yüksek olmasına rağmen prime grubunda salınımının baskılandığı	(Petri ve diğerleri, 2017)
24 saat	1 μmol	insan burun mukozası	MIF kontrol ve prime grupta salınımının yaklaşık aynı düzeyde daha fazla arttığı	(Petri ve diğerleri, 2017)

EK-6. (devam) MKH'ların uzun süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisi

24 saat	4 μg/ml	domuz BM	VGEF mRNA üretiminin kontrolde bazal seviyede iken prime grupta arttığı	(Mastri ve diğerleri, 2012)
24 saat	4 μg/ml	domuz BM	İL-10 mRNA üretimi kontrolde bazal seviyede iken prime grupta hafif düzeyde arttığı	(Mastri ve diğerleri, 2012)
24 saat	4 μg/ml	domuz BM	TLR3 mRNA üretiminin kontrolde olduğu prime grupta arttığı	(Mastri ve diğerleri, 2012)
24 saat	0,8–20 μg/ml	domuz BM	HGF mRNA üretiminin kontrolde ve bütün prime gruplarda aynı şekilde bazal seviyeye yakın	(Mastri ve diğerleri, 2012)
24 saat	20 μg/ml	insan BM	İL-8 kontrol grubunda salgılanmazken prime grupta salgılanmasının arttığı	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
24 saat	20 μg/ml	insan BM	İL-1β kontrol grubunda bazal düzeyde salgılanırken prime grupta çok hafif düzeyde arttığı	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
24 saat	20 μg/ml	insan BM	İL-6 kontrol grubunda salgılandığı prime grupta salınımının artırdığı	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
24 saat	20 μg/ml	domuz BM	İL-6 kontrol grubunda bazal seviyeye yakınken prime grupta salgılanmasının daha da arttığı	(Mastri ve diğerleri, 2012)
24 saat	20 μg/ml	domuz BM	İL-11 kontrol grubunda bazal seviyeye yakınken prime grupta salgılanmasının daha da arttığı	(Mastri ve diğerleri, 2012)
24 saat	20 μg/ml	domuz BM	TNF-α kontrol grubunda bazal seviyede iken prime grupta yüksek düzeyde salındığı	(Mastri ve diğerleri, 2012)
24 saat	20 μg/ml	domuz BM	VGEF mRNA üretiminin kontrolde bazal seviyede iken prime grupta arttığı	(Mastri ve diğerleri, 2012)
24 saat	20 μg/ml	domuz BM	İL-1α mRNA üretimi kontrolde bazal seviyede iken prime grupta hafif düzeyde arttığı	(Mastri ve diğerleri, 2012)
24 saat	25 μg/ml	insan BM	İL-6 mRNA kontrol grubunda bazal seviyeye yakın düzeyde üretildiği prime grubunda hafif yüksek düzeyde üretildiği	(Raicevic ve diğerleri, 2017)
24 saat	25 μg/ml	insan BM	İL-8 mRNA kontrol grubunda ve prime grupta bazal seviyeye yakın düzeyde üretildiği	(Raicevic ve diğerleri, 2017)
24 saat	25 μg/ml	insan BM	CCL5 (RANTES) mRNA kontrol grubunda bazal seviyeye yakın düzeyde üretildiği prime grubunda hafif derecede daha fazla düzeyde üretildiği	(Raicevic ve diğerleri, 2017)
24 saat	25 μg/ml	insan BM	TNF–α mRNA kontrol grubunda ve prime grupta bazal seviyeye yakın üretildiği	(Raicevic ve diğerleri, 2017)
24 saat	25 μg/ml	insan BM	İL-1β mRNA kontrol grubunda ve prime grupta bazal seviyeye yakın üretildiği	(Raicevic ve diğerleri, 2017)
24 saat	25 μg/ml	insan AT	İL-6 kontrol grubunda üretilmekle birlikte prime grupta mRNA üretiminin daha da atıyor	(Hwa Cho ve diğerleri, 2006)
24 saat	25 μg/ml	insan AT	CCL2/MCP-1kontrol grubunda üretilmekle birlikte prime grupta mRNA üretim daha da artıyor	(Hwa Cho ve diğerleri, 2006)
24 saat	25 μg/ml	insan AT	TNF–α kontrol grubunda az miktarda üretilmekle birlikte prime grupta mRNA üretiminin belirgin artıyor	(Hwa Cho ve diğerleri, 2006)
24 saat	25 μg/ml	insan AT	İL-1β kontrol grubunda hafif üretilmekle birlikte prime grupta mRNA üretiminin belirgin artıyor	(Hwa Cho ve diğerleri, 2006)
24 saat	25 μg/ml	insan AT	CCL8/MCP-2 kontrol grubunda hafif üretilmekle birlikte prime grupta mRNA üretimi belirgin artıyor	(Hwa Cho ve diğerleri, 2006)

EK-6. (devam) MKH'ların uzun süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisi

24 saat	25 μg/ml	insan AT	VGEF kontrol ve prime grubunda aynı düzeyde mRNA üretiliyor	(Hwa Cho ve diğerleri, 2006)
24 saat	25 μg/ml	insan AT	CCL20/MIP3-α kontrol grubunda az miktarda üretilmekle birlikte prime grupta mRNA üretimi artıyor	(Hwa Cho ve diğerleri, 2006)
24 saat	25 μg/ml	insan AT	CXCL6/GCP-2 kontrol grubunda hafif üretilmekle birlikte prime grupta mRNA üretimi artıyor	(Hwa Cho ve diğerleri, 2006)
24 saat	25 μg/ml	insan AT	İL-12B kontrol grubunda bazal seviyeye yakın üretildiği prime grupta mRNA üretiminin bazal seviyeye yakın az miktarda artıyor	(Hwa Cho ve diğerleri, 2006)
24 saat	50 μg/ml	insan BM	İL-6 kontrol grubunda salınırken prime grupta salınımının çok fazla miktarda arttığı	(Opitz ve diğerleri, 2009)
24 saat	50 μg/ml	insan BM	kinurenin (kynurenine) serbest bırakılması incelendiğinde kontrol grubunda bırakılmadığı, prime grupta serbest bırakılmasının arttığı	(Opitz ve diğerleri, 2009)
24 saat	50 μg/ml	insan BM	IDO kontrol grubunda bazal seviyede iken prime grupta mRNA üretiminin arttığı	(Opitz ve diğerleri, 2010)
24 saat	50 μg/ml	fare BM	TGF–β kontrol grubunda yüksek miktarda salgılanırken prime grupta salgılamasının daha da arttığı	(X. Chen ve diğerleri 2014)
24 saat	50 μg/ml	fare BM	İL-6 kontrol grupta bazal seviyeye yakın salgılanırken prime grupta salgılanması hafif miktarda arttığı	(X. Chen ve diğerleri 2014)
24 saat	50 μg/ml	fare BM	İNF–β kontrol grupta bazal seviyeye yakın salgılanırken prime grupta salgılanması hafif miktarda arttığı	(X. Chen ve diğerleri 2014)
24 saat	50 μg/ml	fare BM	İL-1β kontrol grupta bazal seviyeye yakın salgılanırken prime grupta salgılanmasının hafif miktarda arttığı	(X. Chen ve diğerleri 2014)
24 saat	50 μg/ml	fare BM	İNF-γ kontrol ve prime grupta yaklaşık aynı düzeyde bazal seviyeye yakın salgılandığı	(X. Chen ve diğerleri 2014)
24 saat	50 μg/ml	fare BM	İL-10 kontrol grupta bazal seviyeye yakın salgılanırken prime grupta salgılanmasının az miktarda arttığı	(X. Chen ve diğerleri 2014)
24 saat	belirtilmemiş	insan BM	kontrolle aynı şekilde CD34(-),	(Liotta ve diğerleri, 2008)
24 saat	belirtilmemiş	insan BM	kontrolle aynı şekilde CD80(-),	(Liotta ve diğerleri, 2008)
24 saat	belirtilmemiş	insan BM	kontrolle aynı şekilde CD86(-),	(Liotta ve diğerleri, 2008)
24 saat	belirtilmemiş	insan BM	kontrolle aynı şekilde CD105(+)	(Liotta ve diğerleri, 2008)
24 saat	belirtilmemiş	insan BM	kontrolle aynı şekilde CD106(+)	(Liotta ve diğerleri, 2008)
24 saat	belirtilmemiş	insan BM	yağ dokusuna farklılaşmasında farklılık yok	(Liotta ve diğerleri, 2008)
24 saat	belirtilmemiş	insan BM	kıkırdak dokusuna farklılaşmasında farklılık yok	(Liotta ve diğerleri, 2008)
24 saat	belirtilmemiş	insan BM	kemik dokusuna farklılaşmasında farklılık yok	(Liotta ve diğerleri, 2008)
24 saat	belirtilmemiş	insan BM	CXCL4 kontrol ve prime grubunda salgılanmıyor	(Liotta ve diğerleri, 2008)
24 saat	belirtilmemiş	insan BM	İL-1β kontrol ve prime grubunda salgılanmıyor	(Liotta ve diğerleri, 2008)
24 saat	belirtilmemiş	insan BM	TGF-β1'in kontrol ve prime grupta yaklaşık aynı düzeyde az miktarda salgılanıyor	(Liotta ve diğerleri, 2008)

EK-6. (devam) MKH'ların uzun süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisi

24 saat	belirtilmemiş	insan BM	İL-6 kontrol grubunda salınımının bazal seviyede olmasına rağmen prime grupta salgılanması belirgin derecede artıyor	(Liotta ve diğerleri, 2008)
24 saat	belirtilmemiş	insan BM	İL-8 kontrol grubunda salınımının bazal seviyede olmasına rağmen prime grupta salgılanması belirgin derecede artıyor	(Liotta ve diğerleri, 2008)
24 saat	belirtilmemiş	insan BM	CXCL10 (IP10) kontrol grubunda bazal seviyede olmasına rağmen prime grupta çok fazla miktarda artıyor	(Liotta ve diğerleri, 2008)
24saat	belirtilmemiş	insan UC	İNF-β kontrol grubunda bazal seviyede iken prime grupta daha fazla arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
24saat	belirtilmemiş	insan UC	CXCL10 (IP10) kontrol grubunda bazal seviyede iken prime grupta daha fazla arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
24saat	belirtilmemiş	insan UC	TGF–β kontrol grubunda hafif düzeyde salgılanırken prime grupta arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
24saat	belirtilmemiş	insan UC	CCL1 kontrol grubunda bazal seviyede iken prime grupta daha fazla arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
24saat	belirtilmemiş	insan UC	CCL2 (MCP-1) kontrolle prime grupta aynı seviyede salgılandığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
24saat	belirtilmemiş	insan UC	CCL4(MIP-3β) kontrol grubunda bazal seviyede iken prime grupta hafif düzeyde arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
24saat	belirtilmemiş	insan UC	İL-1β kontrol grubunda bazal seviyede iken 4. saatte arttığı 24. saatte arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
24saat	belirtilmemiş	insan UC	İL-8 kontrol grubunda bazal seviyede iken prime grupta baskılandığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
24saat	belirtilmemiş	insan UC	İL-10 kontrol grubunda bazal seviyede iken prime grupta daha fazla salgılandığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
24saat	belirtilmemiş	insan UC	İL-12 kontrol grubunda bazal seviyede iken prime grupta daha fazla arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
24 saat	yok	insan BM	TLR3 üretiminin arttığı	(Giuliani ve diğerleri, 2014)
24 saat	50 μg/ml	fare BM	CD11b kontrol ve prime grubunda negatif	(X. Chen ve diğerleri 2014)
24 saat	50 μg/ml	fare BM	CD34 kontrol ve prime grubunda negatif	(X. Chen ve diğerleri 2014)
24 saat	50 μg/ml	fare BM	MHC-II kontrol ve prime grubunda negatif	(X. Chen ve diğerleri 2014)
24 saat	50 μg/ml	fare BM	CD86 kontrol ve prime grubunda negatif	(X. Chen ve diğerleri 2014)
24 saat	50 μg/ml	fare BM	CD44 kontrol ve prime grubunda pozitif	(X. Chen ve diğerleri 2014)
24 saat	50 μg/ml	fare BM	Sca-1 kontrol ve prime grubunda pozitif	(X. Chen ve diğerleri 2014)
24 saat	50 μg/ml	fare BM	MHC-I kontrol ve prime grubunda pozitif	(X. Chen ve diğerleri 2014)
24 saat	50 μg/ml	fare BM	CD80 kontrol ve prime grubunda pozitif	(X. Chen ve diğerleri 2014)

EK-6. (devam) MKH'ların uzun süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisi

48saat	1 μg/ml	insan BM	PGE kontrol grubu ile prime grupta aynı düzeyde salgılandığı	(Gray ve diğerleri, 2015)
48 saat	2 μg/ml	insan BM	İL-6 kontrol ve prime grubunda yaklaşık aynı miktarda salgılanmakta	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
48 saat	20 μg/ml	insan BM	İL-6 kontrol grubunda salgılanırken prime grupta hafif miktarda arttığı	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
48 saat	2 μg/ml	insan BM	CCL5 kontrol grubunda bazal seviyede salgılanmakla birlikte prime grupta salgılanmasında hafif artış olduğu	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
48 saat	20 μg/ml	insan BM	CCL5 kontrol grubunda bazal seviyede salgılanmakla birlikte prime grupta salgılanmasında hafif artış olduğu	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
48 saat	yok	insan BM	TLR3 üretiminin daha da arttığı	(Giuliani ve diğerleri, 2014)
48saat	25 μg/ml	insan BM	İL-6 kontrolde fazla miktarda salındığını prime grupta salınımının çok daha fazla arttığı	(Giuliani ve diğerleri, 2014)
48saat	25 μg/ml	insan BM	İL-1β kontrolde salgılandığı prime grupta salgılanmasının arttığı	(Giuliani ve diğerleri, 2014)
48 saat	25 μg/ml	insan BM	sHLAG'nin kontrolde salgılandığı prime grupta salgılanmasının çok hafif arttığı	(Giuliani ve diğerleri, 2014)
48saat	25 μg/ml	insan BM	İL-8 kontrolde salgılanıyor prime grupta salgılanması çok fazla artıyor	(Giuliani ve diğerleri, 2014)
48saat	25 μg/ml	insan BM	PGE2 kontrolde salgılanıyor prime grupta salgılanmasının arttığı	(Giuliani ve diğerleri, 2014)
48 saat	25 μg/ml	insan BM	VEGF kontrolde salgılanıyor prime grupta salgılanmasının arttığı	(Giuliani ve diğerleri, 2014)
48saat	25 μg/ml	insan BM	TGF-β kontrol grupta salgılandığı prime grupta baskılanarak salgılanmasının azaldığı	(Giuliani ve diğerleri, 2014)
48saat	25 μg/ml	insan BM	MHC-I kontrolde eksprese edildiği, prime grupta eskpresyonun arttığı	(Giuliani ve diğerleri, 2014)
72 saat	10 μg/ml	insan AT	COX2 proteini kontrol grubunda üretilmezken prime grubunda üretildiği	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
72 saat	0.1 μg/ml	insan AT	İL-6 kontrol grubunda az miktarda salgılanırken prime grupta salgılanmasında artış	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
72 saat	1 μg/ml	insan AT	İL-6 kontrol grubunda az miktarda salgılanırken prime grupta salgılanmasında artış	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
72 saat	10 μg/ml	insan AT	İL-6 kontrol grubunda az miktarda salgılanırken prime grupta salgılanmasında artış	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
72 saat	10 μg/ml	insan AT	triptofan konsantrasyonun azaldığı kinürenin konsantrasyonun çok fazla arttığı	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
72 saat	1 μg/ml	insan AT	İL-2 kontroldede prime grubunda da salgılamadıkları	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
72 saat	1 μg/ml	insan AT	İL-4 kontrolde de prime grubunda da salgılamadıkları	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
72 saat	1 μg/ml	insan AT	İL-5 kontrolde de prime grubunda da salgılamadıkları	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)

EK-6. (devam) MKH'ların uzun süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisi

72 saat	1 μg/ml	insan AT	İL-1β kontrolde de prime grubunda da salgılamadıkları	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
72 saat	1 μg/ml	insan AT	İL-12 kontrolde de prime grubunda da salgılamadıkları	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
72 saat	1 μg/ml	insan AT	TNF-α kontrolde de prime grubunda da salgılamadıkları	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
72 saat	1 μg/ml	insan AT	İNF-γ kontrolde de prime grubunda da salgılamadıkları	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
72 saat	1 μg/ml	insan AT	İL-10 kontrolde de prime grubunda da salgılamadıkları	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
72 saat	1 μg/ml	insan AT	HLA-I ekspresyonun kontrolde pozitif prime grupta daha fazla arttığı	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
72 saat	1 μg/ml	insan AT	HLA-II ekspresyonun kontrol negatif ve prime grupta pozitif	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
72 saat	1 μg/ml	insan AT	CD80 kontrol ve prime grupta eksprese edilmediği	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
72 saat	1 μg/ml	insan AT	CD86 kontrol ve prime grupta eksprese edilmediği	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
72 saat	belirtilmemiş	insan UC	CD74 kontrol ve prime grupta eksprese edilmediği	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
72 saat	belirtilmemiş	insan UC	CD80 kontrol ve prime grupta eksprese edilmediği	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
72 saat	belirtilmemiş	insan UC	CD86 kontrol ve prime grupta eksprese edilmediği	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
72 saat	belirtilmemiş	insan UC	CD105 kontrolle aynı oranda eksprese edildiği	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
72 saat	50 μg/ml	insan BM	kinürenin serbest bırakılması incelendiğinde kontrol grubunda bırakılmadığı, prime grupta serbest bırakılmasının daha da arttığı	(Opitz ve diğerleri, 2009)

EK-7. MKH'ların uzun süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisinin özeti

MKH'ların uzun süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisinin özeti						
18-72 SAAT						
immün molekül	Prime Süresi	Poli(I:C) Dozu	MKH kaynağı	kontrol grubu	prime grubu	kaynak
İL-5	72 saat	1 µg/ml	insan AT	salgılamıyor	salgılamıyor	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
İL-4	72 saat	1 µg/ml	insan AT	salgılamıyor	salgılamıyor	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
İL-10	24 saat	4 µg/ml	domuz BM	mRNA üretimi bazal seviyede	mRNA üretimi hafif düzeyde arttığı	(Mastri ve diğerleri, 2012)
	24 saat	50 µg/ml	fare BM	bazal seviyeye yakın salgılanıyor	salgılanmasının az miktarda arttığı	(X. Chen ve diğerleri 2014)
	24saat	belirtilmemiş	insan UC	bazal seviyede salgılanıyor	daha fazla salgılandığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
	72 saat	1 µg/ml	insan AT	salgılanmıyor	salgılanmıyor	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
İL-13	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
TGF-β	24 saat	1 µmol	insan burun mukozası	salınımı baskılanıyor	kontrol ve prime grubunda salınımının baskılandığı	(Petri ve diğerleri, 2017)
	24 saat	50 µg/ml	fare BM	yüksek miktarda salgılanıyor	salgılamasının daha da arttığı	(X. Chen ve diğerleri 2014)
	24 saat	belirtilmemiş	insan BM	az miktarda salgılanıyor	kontrol ve prime grupta yaklaşık aynı düzeyde az miktarda salgılanıyor	(Liotta ve diğerleri, 2008)
	24saat	belirtilmemiş	insan UC	hafif düzeyde salgılanıyor	salgılanmasının arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
	48saat	25 µg/ml	insan BM	salgılanıyor	baskılanarak salgılanmasının azaldığı	(Giuliani ve diğerleri, 2014)
CCL22	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
İL-1β	24 saat	20 µg/ml	insan BM	bazal düzeyde salgılanıyor	çok hafif düzeyde arttığı	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
	24 saat	25 µg/ml	insan BM	mRNA bazal seviyeye yakın üretildiği	kontrol grubu ile aynı şekilde mRNA bazal seviyeye yakın üretildiği	(Raicevic ve diğerleri, 2017)
	24 saat	25 µg/ml	insan AT	mRNA az miktarda üretiliyor	mRNA üretiminin belirgin artıyor	(Hwa Cho ve diğerleri, 2006)
	24 saat	50 µg/ml	fare BM	bazal seviyeye yakın salgılanıyor	salgılanması hafif miktarda arttığı	(X. Chen ve diğerleri 2014)
	24 saat	belirtilmemiş	insan BM	salgılanmıyor	salgılanmıyor	(Liotta ve diğerleri, 2008)
	24saat	belirtilmemiş	insan UC	bazal seviyede salgılanıyor	salgılanmasının arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
	48saat	25 µg/ml	insan BM	salgılanıyor	salgılanması artıyor	(Giuliani ve diğerleri, 2014)
	72 saat	1 µg/ml	insan AT	salgılanmıyor	salgılanmıyor	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
İL-6	18 saat	20 µg/ml	insan BM	salgılanmıyor	salgılanışında hafif artış	(Kota ve diğerleri, 2014)
	24 saat	0,8 µg/ml	domuz BM	bazal seviyeye yakın salgılanıyor	salgılanmasının arttığı	(Mastri ve diğerleri, 2012)

EK-7. (devam) MKH'ların uzun süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisinin özeti

İL-6	24 saat	1 μg/ml	insan burun mukozası	bazal seviyeye yakın salgılanıyor	salgılanmasının çok belirgin düzeyde arttığı	(Dumitru ve diğerleri 2014)
	24 saat	1 μg/ml	insan BM	bazal seviyeye yakın salgılanıyor	salgılanmasının çok daha fazla arttığı	(Dumitru ve diğerleri 2014)
	24 saat	1 μmol	insan burun mukozası	salgılanıyor	salgılanmasının çok belirgin düzeyde arttığı	(Petri ve diğerleri, 2017)
	24 saat	20 μg/ml	insan BM	salgılanıyor	salınımının artırdığı	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
	24 saat	20 μg/ml	domuz BM	bazal seviyeye yakın salgılanıyor	salgılanmasının daha da arttığı	(Mastri ve diğerleri, 2012)
	24 saat	25 μg/ml	insan BM	bazal seviyeye yakın düzeyde üretildiği	mRNA hafif yüksek düzeyde üretildiği	(Raicevic ve diğerleri, 2017)
	24 saat	25 μg/ml	insan AT	mRNA üretiliyor	mRNA üretiminin daha da atıyor	(Hwa Cho ve diğerleri, 2006)
	24 saat	50 μg/ml	insan BM	salgılanıyor	çok fazla miktarda arttığı	(Opitz ve diğerleri, 2009)
	24 saat	50 μg/ml	fare BM	bazal seviyeye yakın salgılanıyor	salgılanması hafif miktarda arttığı	(X. Chen ve diğerleri 2014)
	24 saat	belirtilmemiş	insan BM	salınımı bazal seviyede	salgılanması belirgin derecede artıyor	(Liotta ve diğerleri, 2008)
	48 saat	2 μg/ml	insan BM	salgılanıyor	kontrol ve prime grubunda yaklaşık aynı miktarda salgılanmakta	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
	48 saat	20 μg/ml	insan BM	salgılanıyor	salgılanmasının hafif miktarda arttığı	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
	48saat	25 μg/ml	insan BM	fazla miktarda salgılandığı	salınımının çok daha fazla arttığı	(Giuliani ve diğerleri, 2014)
	72 saat	0.1 μg/ml	insan AT	az miktarda salgılanıyor	salgılanmasında artış	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
	72 saat	1 μg/ml	insan AT	az miktarda salgılanıyor	salgılanmasında artış	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
	72 saat	10 μg/ml	insan AT	az miktarda salgılanıyor	salgılanmasında artış	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
TNF–α	24 saat	20 μg/ml	domuz BM	bazal seviyede salgılanıyor	yüksek düzeyde salgılandığı	(Mastri ve diğerleri, 2012)
	24 saat	25 μg/ml	insan BM	mRNA bazal seviyeye yakın üretildiği	kontrol ile aynı şekilde mRNA bazal seviyeye yakın üretildiği	(Raicevic ve diğerleri, 2017)
	24 saat	25 μg/ml	insan AT	mRNA az miktarda üretiliyor	mRNA üretiminin belirgin artıyor	(Hwa Cho ve diğerleri, 2006)
	72 saat	1 μg/ml	insan AT	salgılanmıyor	salgılanmıyor	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
İL-12	24 saat	25 μg/ml	insan AT	İL-12B mRNA bazal seviyeye yakın üretiliyor	İL-12B mRNA üretiminin bazal seviyeye yakın az miktarda artıyor	(Hwa Cho ve diğerleri, 2006)
	24saat	belirtilmemiş	insan UC	bazal seviyede salgılandığı	salgılanmasının daha fazla arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
	72 saat	1 μg/ml	insan AT	salgılanmıyor	salgılanmıyor	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)

EK-7. (devam) MKH'ların uzun süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisinin özeti

IDO	24 saat	50 μg/ml	insan BM	kinurenin (kynurenine) serbest bırakılmadığı	kinurenin (kynurenine) serbest bırakılmasının arttığı	(Opitz ve diğerleri, 2009)
	24 saat	50 μg/ml	insan BM	mRNA üretimi bazal seviyede	mRNA üretiminin arttığı	(Opitz ve diğerleri, 2010)
	72 saat	10 μg/ml	insan AT	triptofan konsantrasyonu yüksek kinürenin konsantrasyonun düşük	triptofan konsantrasyonun azaldığı kinürenin konsantrasyonun çok fazla arttığı	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
	72 saat	50 μg/ml	insan BM	triptofan konsantrasyonu yüksek kinürenin konsantrasyonun düşük	triptofan konsantrasyonun azaldığı kinürenin konsantrasyonun çok fazla arttığı	(Opitz ve diğerleri, 2009)
İL-15	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
İL-17A	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
İNF-γ	24 saat	50 μg/ml	fare BM	bazal seviyeye yakın salgılanıyor	kontrol ile yaklaşık aynı düzeyde bazal seviyeye yakın salgılandığı	(X. Chen ve diğerleri 2014)
	72 saat	1 μg/ml	insan AT	salgılanmadığı	salgılanmadığı	(E. Lombardo ve diğerleri, 2009)
CCL2 MCP-1	18 saat	20 μg/ml	insan BM	salgılanmıyor	salgılanmıyor	(Kota ve diğerleri, 2014)
	24 saat	25 μg/ml	insan AT	mRNA üretiliyor	mRNA üretimi daha da artıyor	(Hwa Cho ve diğerleri, 2006)
	24saat	belirtilmemiş	insan UC	salgılanıyor	kontrolle aynı seviyede salgılandığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
CCL3 MIP-1α	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
CCL4 MIP-1β	24saat	belirtilmemiş	insan UC	bazal seviyede salgılanıyor	salgılanmasının hafif düzeyde arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)
CXCL10 IP10	24 saat	1 μmol	insan burun mukozası	salgılanmıyor	salgılanmasının belirgin derecede arttığı	(Petri ve diğerleri, 2017)
	24 saat	belirtilmemiş	insan BM	bazal seviyede salgılanıyor	salınımı çok fazla miktarda artıyor	(Liotta ve diğerleri, 2008)
	24saat	belirtilmemiş	insan UC	bazal seviyede salgılanıyor	salgılanmasının daha fazla arttığı	(L. Zhang ve diğerleri, 2015)

EK-8. Makrofajlardan salgılanan moleküller

- Monositler:

Kemokin Ligandları: CCL1, CCL2/MCP-1/JE (Monocyte Chemo Attractant Protein-1) (farede; CCL12/MCP-5)

Sitokinler: İL-8/CXCL8

Büyüme faktörleri: Ang (Angiopoetin)

Ko-inhibitör moleküller: CTLA-4 (makrofaj hücre dizisinde)

- Makrofajların M1 plastisitesi sonucu yangı ortamında;

İmmün moleküller:

ROS/ROI (Reactive Oxygen Intermediates)(Hücre içinde)

NO (Nitric Oxide)(Hücre içinde: iNOS (Inducible Nitric Oxide Synthase))

IDO (Indoleamine 2,3-Dioxygenase)

TSG-6 (TNF-α ile Uyarılan Gen/Protein-6/TNF-α Stimulated Gene/Protein-6) (negatif geri dönüş)

MIF (Macrophage Migration Inhibitory Factor)

İNF-γ (Interferon Gamma)

TNF-α (Tumor Necrosis Factor Alfa)

İL-1α (Interleukin-1 alfa), İL-1β (hücre içinde NLRP3-inflammasom kompleksi oluşumuyla birlikte) (Interleukin-1 beta), İL-2, İL-6, İL-7, İL-8, İL-12p70, İL-13 (otokrin/M2a dönüştürüyor), İL-15, İL-17, İL-18, İL-23, İL-27

M-CSF (Macrophage Colony Stimulating Factor)

Büyüme faktörleri: PDGF (Platelet Derived Growth Factor), VGEF (Vascular Endothelial Growth Factor), Ang (Angiopoetin) (negatif geri dönüşüm)

Kemokin ligandları:

CCL2/MCP-1/JE (Monocyte Chemoattractant Protein-1) (farede; CCL12/MCP-5)

CCL3/MIP-1α (Macrophage Inflammatory Protein-1α)

CCL4/MIP-1β (Macrophage Inflammatory Protein -1β)

CCL5/RANTES (Regulated upon Activation, Normal T cell Expressed, and Secreted)

CCL7/MCP3(Monocyte-Chemotactic Protein-3)

CCL8/MCP2 (Monocyte Chemoattractant Protein-2)

CCL9/CCL10/MIP-1 (Macrophage Inflammatory Protein-1γ)

CCL11/eotaxin-1 (Eosinophil Chemotactic Protein-1)

CCL24/eotaksin-2 (Eosinophil Chemotactic Protein-2)

CCL15/MIP-5/MIP-1δ (Macrophage Inflammatory Protein-1δ)/leukotaktin-1

CCL19/MIP-3β (Macrophage Inflammatory Protein-3β)

EK-8. (devam) Makrofajlardan salgılanan moleküller

CCL20/MIP-3α (Macrophage Inflammatory Protein-3α)

CCL21/6Ckine/SLC(Secondary Lymphoid-Tissue Chemokine)

CCL22/MDC (Macrophage Derived Chemokine)

CXCL1/GROα/KC(Keratinocyte Derived Chemoattractant)

CXCL2/MIP2α (Macrophage Inflammatory Protein-2α)/GROβ

CXCL3/MIP2β (Macrophage Inflammatory Protein-2β)/GRO3/GROγ,

CXCL5/ENA-78 (Epithelium-Derived Neutrophil-Activating Peptide–78)/LIX (LPS Induced CXC Chemokine)

CXCL6/GCP-2 (granulocyte chemotactic protein-2)

CXCL7/NAP2 (Neutrophil Activating Peptide)

CXCL8/İL-8

CXCL9/MIG (Monokine Induced By IFN-γ)

CXCL10/IP10 (IFN-γ Inducible Protein-10)

CXCL11/i-TAC (INF Inducible T-cell α Chemoattractant)/IP-9 (Interferon Inducible protein-9)

CXCL12/SDF-1 (Stromal Cell-Derived Factor-1)

CXCL13/BLC (B Lymphocyte Chemoattractant)

CXCL16

- M2 plastisitesi sonucu alt gruplarına göre;

İmmün moleküller: L-ornithine ve metobolitleri (Hücre içinde: Arg-1 (Arginase))

HO-1/HOX-1 (Heme oxygenase-1) (Hücre içinde)

Büyüme faktörleri: IGF-1 (Insulin-Like Growth Factor 1), HGF (Hepatocyte Growth Factor), FGF (Fibroblast Growth Factor), VGEF (Vascular Endothelial Growth Factor), MFG-E8(süt yağı globülini (milk fat globule)-E8)/laktadherin

Ko-inhibitör moleküller: Galektin benzeri moleküller

- M2a makrofajların:

İmmün moleküller: İL-10, TGF-β, arginaz, polyamine, İL-1Ra (Interleukin-1 Receptor Antagonist), İL-4, İL-5 ve İL-13,

Kemokin ligandları;

CCL11/eotaksin-1 (Eosinophil Chemotactic Protein-1)

CCL24/eotaksin-2 (Eosinophil Chemotactic Protein-2)

CCL26/eotaksin-3 (Eosinophil Chemotactic Protein-3)

CCL13/MCP-4 (Monocyte Chemoattractant Protein-4)

CCL14/HCC-1(Hemofiltrate CC Chemokine-1)

CCL17/TARC (Thymus And Activation Regulated Chemokine)

EK-8. (devam) Makrofajlardan salgılanan moleküller

CCL18/ PARC (Pulmonary And Activation-Regulated Chemokine)/DC-CK1 (DC Chemokine-1)/AMAC-1 (Alternative Macrophage Activation-Associated CC Chemokine-1)/MIP-4 (Macrophage Inflammatory Protein-4)

CCL22/MDC (Macrophage Derived Chemokine)

CXCR1 (CD181) ve CXCR2 (CD182)

- M2b makrofajların:

İmmün moleküller: TNF-α, İL-1β, İL-6, İL-10, Arginaz,

Kemokin ligandları:

CCL1

CCL16/LEC (Liver-Expressed Chemokine)/MTN-1(Monotactin-1)

CCL18/ PARC (Pulmonary And Activation-Regulated Chemokine)/DC-CK1 (DC Chemokine-1)/AMAC-1 (Alternative Macrophage Activation-Associated CC Chemokine-1)/MIP-4 (Macrophage Inflammatory Protein-4)

CXCL13/BLC (B Lymphocyte Chemoattractant)

- M2c makrofajların:

İmmün moleküller: İL-1Ra (Interleukin-1 Receptor Antagonist), İL-10, TGF-β, matriks proteinleri (Versican, PTX3, α-Antitripsin) ve arginaz,

- TAM/M2d makrofajların:

İmmün moleküller: İL-10, İL-12, TNF-α ve TGF-β, NOS2 ve MGL-1

Büyüme faktörleri: VEGF

Kemokin ligandları:

CCL5/RANTES (Regulated Upon Activation, Normal T cell Expressed, and Secreted),

CXCL16

EK-9. Makrofajlardan eksprese edilen moleküller

- Monositler;

Sitokinler: İL-5 (otokrin /M2 farklılaşmasını sağlıyor),

Reseptörler: GR (Glucocorticoid Receptor), PR (Progesterone Receptor), RANKR (Receptor Activator of NF-κB), PDGF-R (Platelet-Derived Growth Factor (PDGF) Receptors), NURR1 (The Nuclear Receptor Related Protein-1) (N9 hücre dizinde), CD200R (N9 hücre dizinde), TREM2 (Triggering Receptor Expressed On Myeloid Cells-2) (N9 hücre dizinde), NOTCH-R

Hücre yapışmasına aracılık eden moleküller: ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1), VCAM-1/CD106 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1), P-Selektin/PADGEM/GMP-140/CD62

Yüzey belirteçleri: CD11b, CD14, CD33, CD40, CD64(aktive), CD68, CD204/SR-A

CCR (CC-kemokin reseptörü/ C-C chemokine receptor): CCR1(CD191), CCR2(CD192), CCR3 (CD193), CCR4 (CD194), CCR5(CD195), CCR7(CD197), CCR8(CDw198), CCR9(CDw199), CXCR1(CD181), CXCR2(CD182), CXCR3(CD183), CXCR4(CD184), CXCR5 (CD185), CXCR6(CD186), CX3CR1

- M1 makrofajlar

FasL (CD95) (Fas Ligand)(virüs bulaşlarında)

HLA molekülleri: MHC I (Major Histocompatibility Complex-I), MHC sınıf-II (Major Histocompatibility Complex-II)

Ko-inhibitör moleküller: CTLA-4 (CD152) (CTL(CTL (Cytotoxic T Lymphocyte) Associated Protein-4) (İNF- ile aktive monositlerde), PD-L1/B7-H1/CD274 (Programmed Death-Ligand-1/B7 Homolog-1) (INF-γ ve LPS uyarımında), PD-L2/B7-DC/CD273 (Programmed Cell Death Ligan-2) (HIV enfeksiyonunda)

Reseptörler: NURR1 (The Nuclear Receptor Related Protein-1)(ateroskleroz/ yangı baskılanması), NOTCH-R

TLR2, (Toll-like Receptors 2), TLR3, TLR4, TLR9

Sitokin reseptörleri:İL-18R

Yüzey belirteçleri: Ly71/F4/80, CD11b, (CD14++CD16-CCR2(CD192) yüksek), CD33, CD36, CD40, CD64, CD80/B7-1, CD86/B7-2, CD127/İL-7R, CD 215, CD150/SLAM (Signalling Lymphocytic Activation Molecule), CCR7(CD197),

- M2 makrofajlar:

İnhibitör moleküller: Galektin benzeri moleküller,

Reseptörler: TREM2 (Triggering Receptor Expressed On Myeloid Cells-2),

Yüzey belirteçleri: CD14, (CD11b+/CD209+), (CD209+CD200R+), (CD1a+CD1b+), CD80/B7.1, CD86/B7-2, (CD14+ CD16/FcγRIII++ CCR2(CD192)düşük CX3CR1yüksek), CD23/Fc epsilon RII/FcεRII, CD68, CD93/C1qRp, CD163, CD205/DEC-205, CD226

- M2a makrofajlar:

İnhibitör moleküller: PD-L2/B7-DC/CD273 (Programmed Cell Death Ligan-2)

Reseptörler: DECTIN-1 (Natural Killer (NK)-Cell-Receptor-Like C-Type Lectin-1), NURR1 (The Nuclear Receptor Related Protein-1)(aterosklerozda), CD200R, TREM2 (Triggering Receptor Expressed On Myeloid Cells-2)

Yüzey belirteçleri: CD23/Fc epsilon RII/FcεRII, CD163, CD204, CD206, CD209, CD204

- M2b makrofajlar

TLR4

Yüzey belirteçleri: CD80, CD86

EK-9. (devam) Makrofajlardan eksprese edilen moleküller

- M2c makrofajlar

Yüzey belirteçleri: CD163, CD150/SLAM (Signalling Lymphocytic Activation Molecule), CD204, CD206

- M2d/TAM

HLAG (Human Leukocyte Antigens-G/klasik olmayan HLA sınıf-I molekülü)

Ko-inhibitör moleküller: PD-L1/B7-H1/CD274 (Programmed Cell Death Ligan-1)(hipoksi), B7-H4 (B7 homoloğu-4/B7 homolog-4), KIR (Killer Cell Immunoglobulin Like Receptors)

Reseptörler: DECTIN-1 (Natural Killer (NK)-Cell-Receptor-Like C-Type Lectin-1)

Yüzey belirteçleri: (CD163+ CD204+), CD68,

Alt grupları:

Yangı başlatıcı CD206− (M1 tip) ve yangı söndürücü CD206+ (M2 tip)

CD11b+Gr-1+ MDSCs'ler ve alt grubu CD11b+Ly6C+

EK-10. Makrofajların Poli(I:C) İle TLR3 üzerinden uzun ve kısa süreli çeşitli dozlarda prime edilmesinin yüzey molekül üretimi üzerine etkisi

Makrofajların poli(I:C) ile TLR3 üzerinden uzun ve kısa süreli çeşitli dozlarda prime edilmesinin yüzey molekül üretimi üzerine etkisi						
immün molekül	Prime Süresi	Poli(I:C) Dozu	Makrofaj kaynağı	kontrol grubu	prime grubu	kaynak
TLR3	yok	yok	THP-1	TLR3 negatif		(Weber ve diğerleri, 2012)
	yok	yok	PMA/THP-1	TLR3 pozitif		(Zarember ve Godowski, 2002)
	12 saat	5 µg/ml	insan PBMC	mRNA üretiliyor	mRNA üretiminin arttığı	(M. Dai ve diğerleri, 2015)
	16 saat	KSHV	THP-1	mRNA üretiliyor	mRNA üretiminin hafif miktarda arttığı	(West ve Damania, 2008)
MHC-I	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
MHC-II	18-22 saat	1 µg/ml	fare BM-DM	bazal seviyeye yakın	çok az miktarda arttığı	(Celhar ve diğerleri, 2016)
İL-18R	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
HLAG	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
CD80	16 saat	KSHV	THP-1	eksprese ediliyor	CD80 mRNA seviyesinin hafif miktarda arttığı	(West ve Damania, 2008)
	18-22 saat	1 µg/ml	fare BM-DM	eksprese ediliyor	kontrol ve prime grubunda yaklaşık aynı düzeyde eksprese edildiği	(Celhar ve diğerleri, 2016)
CD86	18-22 saat	1 µg/ml	fare BM-DM	eksprese ediliyor	ekspresyonun arttığı	(Celhar ve diğerleri, 2016)
CD197	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
CD192	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
CD206	24 saat	100 ng/ml poli(ICLC)	fare BM-DM	mRNA üretimi bazal seviyede	mRNA üretimi bazal seviyede	(B. Liu ve diğerleri, 2016)
CD31	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
CD14	yok	yok	THP-1 RAW264.7 fare BM-DM	CD14 pozitif ancak TLR3 için ko-reseptör görevi görmediği		(Baumann ve diğerleri, 2010; Weber ve diğerleri, 2012)
CD45	?	HIV	mikroglia	CD45 pozitif	CD45 bağlanan antikorlar M2 polarizasyonuna neden oluyor	(Salemi ve diğerleri, 2011)
CD64	18-22 saat	1 µg/ml	fare BM-DM	eksprese ediliyor	kontrol ve prime grubunda yaklaşık aynı düzeyde eksprese edildiği	(Celhar ve diğerleri, 2016)
CD16/CD32	18-22 saat	1 µg/ml	fare BM-DM	eksprese ediliyor	kontrolle prime grupta yaklaşık aynı düzeyde eksprese edildiği	(Celhar ve diğerleri, 2016)
CD115	18-22 saat	1 µg/ml	fare BM-DM	eksprese ediliyor	ekspresyonun baskılandığı	(Celhar ve diğerleri, 2016)
CD40	18-22 saat	1 µg/ml	fare BM-DM	bazal düzeye yakın eksprese ediliyor	ekspresyonun arttığı	(Celhar ve diğerleri, 2016)
Not: Poli(I:C) dışındaki uyaranlar ayrıca belirtilmiştir.						

EK-11. Makrofajların kısa süreli çeşitli dozlarda Poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisi

Makrofajların Poli(I:C) ile TLR3 Üzerinden Kısa Süreli Çeşitli Dozlarda Prime Edilmesinin İmmün Molekül Üretimi Üzerine Etkisi				
Prime Süresi	**Poli(I:C) Dozu**	**Makrofaj kaynağı**	**Üretilen moleküller**	**Kaynak**
yok	yok	PMA/THP-1	TLR3 pozitif	(Zarember ve Godowski, 2002)
yok	yok	THP-1	TLR3 negatif	(Weber ve diğerleri, 2012)
yok	yok	THP-1 RAW264.7 fare BM-DM	CD14 pozitif ancak TLR3 için ko-reseptör görevi görmediği	(Baumann ve diğerleri, 2010; Weber ve diğerleri, 2012)
1 saat	100 ng/ml	fare BM-DM	p65, kontrolde fosforilasyon düzeyi bazal seviyede iken prime grupta fosforilasyon düzeyinin arttığı	(B. Liu ve diğerleri, 2016)
1 saat	100 ng/ml	fare BM-DM	TBK1 kontrolde fosforilasyon düzeyi bazal seviyede iken prime grupta fosforilasyon düzeyinin arttığı	(B. Liu ve diğerleri, 2016)
1 saat	100 ng/ml	fare BM-DM	IRF3 kontrolde fosforilasyon düzeyi bazal seviyede iken prime grupta fosforilasyon düzeyinin arttığı	(B. Liu ve diğerleri, 2016)
prime süresi 1 saat 24 saat sonra analiz	1 μg/ml	fare peritoneal	İL-6 kontrolde salgılanırken prime grupta salınımının arttığı	(Lovelace ve diğerleri, 2013)
prime süresi 1 saat 24 saat sonra analiz	1 μg/ml	fare peritoneal	TNF-α kontrolde salgılanırken prime grupta salınımının arttığı	(Lovelace ve diğerleri, 2013)
prime süresi 1 saat 24 saat sonra analiz	1 μg/ml	fare peritoneal	MCP-1 kontrolde salgılanırken prime grupta salınımının arttığı	(Lovelace ve diğerleri, 2013)
prime süresi 1 saat 24 saat sonra analiz	10 μg/ml	fare peritoneal	İL-6 kontrolde salgılanırken prime grupta salınımının daha fazla arttığı,	(Lovelace ve diğerleri, 2013)
prime süresi 1 saat 24 saat sonra analiz	10 μg/ml	fare peritoneal	TNF-α kontrolde salgılanırken prime grupta salınımının daha fazla arttığı,	(Lovelace ve diğerleri, 2013)
prime süresi 1 saat 24 saat sonra analiz	10 μg/ml	fare peritoneal	MCP-1 kontrolde salgılanırken prime grupta salınımının daha fazla arttığı,	(Lovelace ve diğerleri, 2013)
4 saat	20 μg/ml	insan PBMC	TNF-α kontrol grubunda mRNA bazal seviyede iken prime grupta az miktarda arttığı	(H. Liu ve diğerleri, 2014)
4 saat	20 μg/ml	insan PBMC	İL-6; kontrol grubunda mRNA bazal seviyede iken prime grupta çok fazla miktarda arttığı	(H. Liu ve diğerleri, 2014)

EK-11. (devam) Makrofajların kısa süreli çeşitli dozlarda Poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisi

4 saat	1 μg/ml	Fare BM-DM	sonra İL-12p40; kontrol grupta mRNA üretilmezken prime grupta mRNA üretiminin az miktarda arttığı	(Celhar ve diğerleri, 2016)
4 saat	1 μg/ml	Fare BM-DM	İL-10 kontrol grupta mRNA bazal düzeye yakın üretilirken prime grupta mRNA üretiminin az miktarda arttığı	(Celhar ve diğerleri, 2016)
6 saat	HSV	THP-1	kontrol grubunda üretilmezken HSV ile enfekte edilen grubun İL-15 mRNA ürettikleri	(Ahmad ve diğerleri, 2008)
8 saat	2 μg/ml	PMA/THP-1	TNF-α kontrolde mRNA üretimi bazal seviyede iken prime grupta mRNA üretiminin az miktarda arttığı	(M. X. Jiang ve diğerleri, 2017)
8 saat	2 μg/ml	PMA/THP-1	İL-6; kontrolde mRNA üretimi bazal seviyede iken prime grupta mRNA üretiminin az miktarda arttığı	(M. X. Jiang ve diğerleri, 2017)
8 saat	2 μg/ml	PMA/THP-1	İL-1β kontrol ve prime grupta aynı şekilde mRNA üretiminin bazal seviyeye yakın olduğu	(M. X. Jiang ve diğerleri, 2017)
8 saat	10 μg/ml	PMA/THP-1	İNF-β kontrolde salgılanmazken prime grupta yüksek oranda salgılandığı	(Tsai ve diğerleri, 2015)
8 saat	10 μg/ml	RAW264.7	İL-1β kontrol ve prime grubunda mRNA üretilmediği	(Zhou, Cao, Fang, Li ve Fan, 2015)
8 saat	10 μg/ml	fare BM-DM	İL-12p70 kontrolde salgılanmazken prime grupta yüksek oranda salgılandığı	(Tsai ve diğerleri, 2015)
8 saat	20 μg/ml	PMA/THP-1	İNF-β kontrol grubunda mRNA üretimi bazal seviyede iken prime grupta arttığı	(Lyons ve diğerleri, 2015)
8 saat	20 μg/ml	PMA/THP-1	İL-8 kontrol grubunda mRNA üretimi bazal seviyede iken prime grupta arttığı	(Lyons ve diğerleri, 2015)
8 saat	20 μg/ml	PMA/THP-1	İL-10 kontrol grubunda mRNA üretimi bazal seviyede iken prime grupta arttığı	(Lyons ve diğerleri, 2015)
8 saat	20 μg/ml	PMA/THP-1	TNF-α kontrol grubunda mRNA üretimi bazal seviyede iken prime grupta arttığı	(Lyons ve diğerleri, 2015)
8 saat	20 μg/ml	PMA/THP-1	CXCL10 kontrol grubunda mRNA üretimi bazal seviyede iken prime grupta arttığı	(Lyons ve diğerleri, 2015)
8 saat	20 μg/ml	insan PBMC	İL-10 kontrol grubunda mRNA üretimi bazal seviyede iken prime grupta arttığı	(Lyons ve diğerleri, 2015)
8 saat	20 μg/ml	insan PBMC	TNF-α kontrol grubunda mRNA üretimi bazal seviyede iken prime grupta arttığı	(Lyons ve diğerleri, 2015)
8 saat	20 μg/ml	insan PBMC	CXCL10 kontrol grubunda mRNA üretilmezken prime grupta üretiminin arttığı	(Lyons ve diğerleri, 2015)

EK-12. Makrofajların poli(I:C) ile kısa süreli çeşitli dozlarda TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisinin özeti

Makrofajların poli(I:C) ile kısa süreli çeşitli dozlarda TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisinin özeti						
	1-8 SAAT					
immün molekül	Prime Süresi	Poli(I:C) Dozu	Makrofaj kaynağı	kontrol grubu	prime grubu	Kaynak
İL-5	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
İL-4	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
İL-10	4 saat	1 µg/ml	Fare BM-DM	mRNA bazal düzeye yakın üretilirken	mRNA üretiminin az miktarda arttığı	(Celhar ve diğerleri, 2016)
	8 saat	20 µg/ml	PMA/THP-1	mRNA üretimi bazal seviyede	mRNA üretiminin arttığı	(Lyons ve diğerleri, 2015)
	8 saat	20 µg/ml	insan PBMC	mRNA üretimi bazal seviyede	mRNA üretiminin arttığı	(Lyons ve diğerleri, 2015)
İL-13	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
TGF-β	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
CCL22	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
İL-1β	8 saat	2 µg/ml	PMA/THP-1	mRNA üretiminin bazal seviyeye yakın olduğu	kontrol ve prime grupta aynı şekilde mRNA üretiminin bazal seviyeye yakın olduğu	(M. X. Jiang ve diğerleri, 2017)
	8 saat	10 µg/ml	RAW264.7	mRNA üretilmediği	mRNA üretilmediği	(Zhou ve diğerleri, 2015)
İL-6	prime süresi 1 saat 24 saat sonra analiz	1 µg/ml	fare peritoneal	salgılanıyor	salınımının arttığı	(Lovelace ve diğerleri, 2013)
	prime süresi 1 saat 24 saat sonra analiz	10 µg/ml	fare peritoneal	salgılanıyor	salınımının daha fazla arttığı,	(Lovelace ve diğerleri, 2013)
	4 saat	20 µg/ml	insan PBMC	mRNA üretimi bazal seviyede	mRNA bazal seviyesinin çok fazla miktarda arttığı	(H. Liu ve diğerleri, 2014)
	8 saat	2 µg/ml	PMA/THP-1	bazal seviyede	mRNA üretiminin az miktarda arttığı	(M. X. Jiang ve diğerleri, 2017)
TNF–α	prime süresi 1 saat 24 saat sonra analiz	1 µg/ml	fare peritoneal	salgılanıyor	salınımının arttığı	(Lovelace ve diğerleri, 2013)
	prime süresi 1 saat 24 saat sonra analiz	10 µg/ml	fare peritoneal	salgılanıyor	salınımının daha fazla arttığı	(Lovelace ve diğerleri, 2013)
	4 saat	20 µg/ml	insan PBMC	mRNA üretimi bazal seviyede	mRNA üretiminin az miktarda arttığı	(H. Liu ve diğerleri, 2014)
	8 saat	2 µg/ml	PMA/THP-1	mRNA üretimi bazal seviyede	mRNA üretiminin az miktarda arttığı	(M. X. Jiang ve diğerleri, 2017)
	8 saat	20 µg/ml	PMA/THP-1	mRNA üretimi bazal seviyede	mRNA üretiminin arttığı	(Lyons ve diğerleri, 2015)
	8 saat	20 µg/ml	insan PBMC	mRNA üretimi bazal seviyede	mRNA üretiminin arttığı	(Lyons ve diğerleri, 2015)
İL-12p40	4 saat	1 µg/ml	Fare BM-DM	mRNA üretilmiyor	mRNA üretiminin az miktarda arttığı	(Celhar ve diğerleri, 2016)

Ek-12. (devam) Makrofajların poli(I:C) ile kısa süreli çeşitli dozlarda TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisinin özeti

İL-12	8 saat	10 μg/ml	fare BM-DM	salgılanmıyor	yüksek oranda salgılandığı	(Tsai ve diğerleri, 2015)
IDO	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
İL-15	6 saat	HSV	THP-1	mRNA üretilmiyor	mRNA ürettiliyor	(Ahmad ve diğerleri, 2008)
İL-17A	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
İNF-γ	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
CCL2 MCP-1	prime süresi 1 saat 24 saat sonra analiz	1 μg/ml	fare peritoneal	salgılanıyor	salınımının arttığı	(Lovelace ve diğerleri, 2013)
	prime süresi 1 saat 24 saat sonra analiz	10 μg/ml	fare peritoneal	salgılanıyor	salınımının daha fazla arttığı,	(Lovelace ve diğerleri, 2013)
CCL3 MIP-1α	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
CCL4 MIP-1β	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
CXCL10 IP10	8 saat	20 μg/ml	PMA/THP-1	mRNA üretimi bazal seviyede	mRNA üretimi arttığı	(Lyons ve diğerleri, 2015)
	8 saat	20 μg/ml	insan PBMC	mRNA üretilmiyor	mRNA üretiminin arttığı	(Lyons ve diğerleri, 2015)
Not: Poli(I:C) dışındaki uyaranlar ayrıca belirtilmiştir.						

EK-13. Makrofajların uzun süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisi

Makrofajların Uzun Süreli Çeşitli Dozlarda Poli(I:C) ile TLR3 Üzerinden Prime Edilmesinin İmmün Molekül Üretimi Üzerine Etkisi				
Prime Süresi	**Poli(I:C) Dozu**	**Makrofaj kaynağı**	**Üretilen moleküller**	**Kaynak**
12 saat	5 μg/ml	insan PBMC	TLR3; kontrol grubunda mRNA üretilirken prime grubunda mRNA üretiminin arttığı,	(M. Dai ve diğerleri, 2015)
12 saat	5 μg/ml	insan PBMC	İFN-α, İNF-β ve İNF-λ mRNA miktarının kontrolde bazal seviyede iken prime grupta hafif düzeyde arttığı,	(M. Dai ve diğerleri, 2015)
12 saat	5 μg/ml	insan PBMC	IRF-1, -3, -5, -7, -9 mRNA miktarının kontrolde bazal seviyede iken prime grupta arttığı,	(M. Dai ve diğerleri, 2015)
12 saat	5 μg/ml	insan PBMC	CCL3/MIP-1α mRNA miktarının kontrolde bazal seviyede iken prime grupta belirgin düzeyde arttığı,	(M. Dai ve diğerleri, 2015)
12 saat	5 μg/ml	insan PBMC	CCL4 mRNA miktarı kontrolde bazal seviyede iken prime grupta arttığı,	(M. Dai ve diğerleri, 2015)
12 saat	5 μg/ml	insan PBMC	CCL5 (RANTES) mRNA miktarı kontrolde bazal seviyede iken prime grupta arttığı	(M. Dai ve diğerleri, 2015)
16 saat	KSHV	THP-1	TLR3 mRNA seviyesinin hafif miktarda arttığı	(West ve Damania, 2008)
16 saat	KSHV	THP-1	CXCL10 mRNA üretiminin çok fazla miktarda arttığı	(West ve Damania, 2008)
16 saat	KSHV	THP-1	İNF–β mRNA arttığı	(West ve Damania, 2008)
16 saat	KSHV	THP-1	CCL2 mRNA üretiminin arttığı	(West ve Damania, 2008)
16 saat	KSHV	THP-1	IRF1 mRNA seviyesinin hafif miktarda arttığı	(West ve Damania, 2008)
16 saat	KSHV	THP-1	İL-6 mRNA seviyesinin hafif miktarda arttığı	(West ve Damania, 2008)
16 saat	KSHV	THP-1	MyD88 mRNA seviyesinin hafif miktarda arttığı	(West ve Damania, 2008)
16 saat	KSHV	THP-1	CD80 mRNA seviyesinin hafif miktarda arttığı	(West ve Damania, 2008)
18-22 saat	1 μg/ml	fare BM-DM	MHC-II; kontrolde pozitif hücrelerin yüzdesinin düşük olduğu prime grupta çok az miktarda arttığı,	(Celhar ve diğerleri, 2016)
18-22 saat	1 μg/ml	fare BM-DM	CD80; kontrol ve prime grubunda yaklaşık aynı düzeyde eksprese edildiği,	(Celhar ve diğerleri, 2016)
18-22 saat	1 μg/ml	fare BM-DM	CD86; kontrol grubunda eksprese edilirken prime grupta ekspresyonun arttığı,	(Celhar ve diğerleri, 2016)
18-22 saat	1 μg/ml	fare BM-DM	CD64; kontrolle prime grupta yaklaşık aynı düzeyde eksprese edildiği,	(Celhar ve diğerleri, 2016)
18-22 saat	1 μg/ml	fare BM-DM	CD16/CD32 kontrolle prime grupta yaklaşık aynı düzeyde eksprese edildiği,	(Celhar ve diğerleri, 2016)
18-22 saat	1 μg/ml	fare BM-DM	CD115 kontrolde eksprese edilirken prime grupta ekspresyonun baskılandığı,	(Celhar ve diğerleri, 2016)
18-22 saat	1 μg/ml	fare BM-DM	CD40; kontrolde bazal düzeye yakın eksprese edilirken prime grupta ekspresyonun arttığı	(Celhar ve diğerleri, 2016)
20 saat	1 μg/ml	fare BM-DM	TNF–α kontrolde salgılanmazken prime grupta salgılanmasının çok az miktarda arttığı	(Celhar ve diğerleri, 2016)
20 saat	1 μg/ml	fare BM-DM	İL-6 kontrolde salgılanmazken prime grupta salgılanmasının çok az miktarda arttığı,	(Celhar ve diğerleri, 2016)

EK-13. (devam) Makrofajların uzun süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisi

20 saat	1 μg/ml	fare BM-DM	İL-10 kontrolde salgılanmazken prime grupta salgılanmasının çok az miktarda arttığı	(Celhar ve diğerleri, 2016)
20 saat	20 μg/ml	insan PBMC	İL-8'in kontrol grubunda mRNA üretiminin olduğu prime grupta mRNA üretiminin arttığı	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
24 saat	10 ng/ml poli(ICLC)	fare BM-DM	iNOS; kontrolde bazal seviyede mRNA üretilirken prime grubunda mRNA üretiminin arttığı	(B. Liu ve diğerleri, 2016)
24 saat	10 ng/ml poli(ICLC)	fare BM-DM	TNF–α kontrolde bazal seviyede mRNA üretilirken prime grubunda mRNA üretiminin çok arttığı	(B. Liu ve diğerleri, 2016)
24 saat	10 ng/ml poli(ICLC)	fare BM-DM	İL-1β kontrolde bazal seviyede mRNA üretilirken 10 ng/ml prime grubunda mRNA üretiminin çok arttığı	(B. Liu ve diğerleri, 2016)
24 saat	10 ng/ml poli(ICLC)	fare BM-DM	CD206, mRNA üretiminin kontrolde prime grupta da bazal seviyede olduğu	(B. Liu ve diğerleri, 2016)
24 saat	10 ng/ml poli(ICLC)	fare BM-DM	Arg-1 mRNA üretiminin kontrolde, prime grupta da bazal seviyede olduğu	(B. Liu ve diğerleri, 2016)
24 saat	10 ng/ml poli(ICLC)	fare BM-DM	Tim-1 mRNA üretiminin kontrolde, prime grupta da bazal seviyede olduğu	(B. Liu ve diğerleri, 2016)
24 saat	100 ng/ml poli(ICLC)	fare BM-DM	iNOS; kontrolde bazal seviyede mRNA üretilirken prime grubunda mRNA üretiminin artışın daha fazla olduğu	(B. Liu ve diğerleri, 2016)
24 saat	100 ng/ml poli(ICLC)	fare BM-DM	TNF–α kontrolde bazal seviyede mRNA üretilirken prime grubunda mRNA üretiminin artışın çok daha fazla olduğu	(B. Liu ve diğerleri, 2016)
24 saat	100 ng/ml poli(ICLC)	fare BM-DM	İL-1β kontrolde bazal seviyede mRNA üretilirken prime grubunda mRNA üretiminin artışın çok daha fazla olduğu,	(B. Liu ve diğerleri, 2016)
24 saat	100 ng/ml poli(ICLC)	fare BM-DM	CD206, mRNA üretiminin kontrolde prime grupta da bazal seviyede olduğu	(B. Liu ve diğerleri, 2016)
24 saat	100 ng/ml poli(ICLC)	fare BM-DM	Arg-1 mRNA üretiminin kontrolde, prime grupta da bazal seviyede olduğu	(B. Liu ve diğerleri, 2016)
24 saat	100 ng/ml poli(ICLC)	fare BM-DM	Tim-1 mRNA üretiminin kontrolde, prime grupta da bazal seviyede olduğu	(B. Liu ve diğerleri, 2016)
24 saat	1 μg/ml	fare BM-DM	İL-12p40 mRNA üretiminin kontrolde de prime grupta da yaklaşık aynı düzeyde bazal seviyeye yakın olduğu,	(Celhar ve diğerleri, 2016)
24 saat	1 μg/ml	fare BM-DM	İL-10 kontrol grupta mRNA bazal düzeye yakın üretilirken prime grupta mRNA üretiminin az miktarda arttığı	(Celhar ve diğerleri, 2016)
24 saat	1 μg/ml	insan astrositleri	İL-12 kontrol ve prime grubunda salgılanmadığı	(Serramía ve diğerleri, 2015)

EK-13. (devam) Makrofajların uzun süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisi

24 saat	1 μg/ml	insan astrositleri	TNF-α kontrol grubunda salgılanırken prime grupta salgılanmasının belirgin düzeyde arttığı,	(Serramía ve diğerleri, 2015)
24 saat	1 μg/ml	insan astrositleri	İL-1β'nın kontrol ve prime grubunda aynı düzeyde salgılandığı	(Serramía ve diğerleri, 2015)
24 saat	1 μg/ml	insan astrositleri	İL-17'nın kontrol ve prime grubunda salgılanmadığı	(Serramía ve diğerleri, 2015)
24 saat	1 μg/ml	insan astrositleri	İL-4'ün kontrol ve prime grubunda salgılanmadığı	(Serramía ve diğerleri, 2015)
24 saat	1 μg/ml	insan astrositleri	İL-6'nın kontrol grubunda yüksek düzeyde salgılanırken prime grupta çok fazla miktarda arttığı	(Serramía ve diğerleri, 2015)
24 saat	1 μg/ml	insan astrositleri	İL-8 kontrol gurubunda salgılanırken prime grupta çok fazla miktarda arttığı	(Serramía ve diğerleri, 2015)
24 saat	1 μg/ml	insan astrositleri	İL-10 kontrol ve prime grupta salgılanmadığı	(Serramía ve diğerleri, 2015)
24 saat	1 μg/ml	insan astrositleri	İL-2 kontrol grupta salgılanırken prime grupta baskılandığı	(Serramía ve diğerleri, 2015)
24 saat	1 μg/ml	insan astrositleri	İNF–γ'nın kontrol ve prime grubunda salgılanmadığı	(Serramía ve diğerleri, 2015)
24 saat	5 μg/ml	PBMC	CCL3/MIP-1α protein miktarının kontrolde bazal seviyede iken prime grupta belirgin düzeyde arttığı	(M. Dai ve diğerleri, 2015)
24 saat	5 μg/ml	PBMC	CCL4 protein miktarının miktarı kontrolde bazal seviyede iken prime grupta arttığı,	(M. Dai ve diğerleri, 2015)
24 saat	5 μg/ml	PBMC	CCL5 (RANTES) protein miktarının kontrolde bazal seviyede iken prime grupta arttığı	(M. Dai ve diğerleri, 2015)
24 saat	10 μg/ml	PMA/THP-1	İL-13 kontrol grubunda az miktarda salgılandığı prime grubunda salgılanmasının az miktarda arttığı,	(Zhou ve diğerleri, 2015)
24 saat	10 μg/ml	RAW264.7	İL-6 kontrolde bazal seviyede salgılanırken prime grupta az miktarda salgılandığı	(Zhou, Cao, Fang, Li ve Fan, 2015)
24 saat	10 μg/ml	RAW264.7	İL-10 kontrol ve prime grupta yaklaşık aynı düzeyde bazal seviyeye yakın salgılandığı	(Zhou, Cao, Fang, Li ve Fan, 2015)
24 saat	10 μg/ml	RAW264.7	İL-13 kontrol grubunda az miktarda salgılandığı prime grubunda salınımının az miktarda arttığı	(Zhou, Cao, Fang, Li ve Fan, 2015)
24 saat	10 μg/ml	insan astrosit	IDO kontrol grubunda üretilmezken prime grupta üretildiği	(H. S. Suh ve diğerleri, 2007)
24 saat	20 μg/ml	insan PBMC	TNF-α kontrol grubunda salgılanırken iken prime grupta salgılanmasının arttığı,	(H. Liu ve diğerleri, 2014)

EK-13. (devam) Makrofajların uzun süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisi

24 saat	20 μg/ml	insan PBMC	İL-6; kontrol grubunda salgılanırken iken prime grupta salgılanmasının çok fazla miktarda arttığı	(H. Liu ve diğerleri, 2014)
24 saat	20 μg/ml	insan PBMC	İNF-β; kontrol grupta salgılanırken prime grupta salgılanmasının arttığı	(H. Liu ve diğerleri, 2014)
24 saat	50 μg/ml	insan BAL	CXCL10 (IP10) salınımı bazal seviyede iken prime grupta çok fazla miktarda arttığı	(Todt ve diğerleri, 2013)
48 saat	20 μg/ml	insan PBMC	CXCL10 kontrol grubunda salgılanmazken prime grupta salgılandığı	(Lyons ve diğerleri, 2015)
48 saat	2 μg/ml	insan PBMC	İL-6 kontrol gurubunda salgılandığı, prime grubunda salgılanmasının arttığı	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
48 saat	20 μg/ml	insan PBMC	İL-6 kontrol gurubunda salgılandığı, prime grubunda salgılanmasının arttığı	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
48 saat	2 μg/ml	insan PBMC	CCL5 kontrol gurubunda salgılandığı, prime grubunda salgılanmasının arttığı	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
48 saat	5 μg/ml	insan PBMC	İFN-α, İNF-β ve İNF-λ mRNA miktarının kontrolde bazal seviyede iken prime grupta hafif düzeyde arttığı,	(M. Dai ve diğerleri, 2015)
48 saat	20 μg/ml	insan PBMC	CCL5 kontrol gurubunda salgılandığı, prime grubunda salgılanmasının arttığı	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
48 saat	20 μg/ml	PMA/THP-1	İL-10 salgılanması kontrolde bazal düzeyde iken prime grupta az miktarda arttığı	(Lyons ve diğerleri, 2015)
48 saat	20 μg/ml	PMA/THP-1	CXCL10(IP10) salgılanması kontrol grubunda bazal seviyede iken prime grupta arttığı	(Lyons ve diğerleri, 2015)
48 saat	20 μg/ml	PMA/THP-1	İL-8 kontrol gurubunda salgılandığı prime grupta salgılanmasının arttığı	(Lyons ve diğerleri, 2015)
Not: Poli(I:C) dışındaki uyaranlar ayrıca belirtilmiştir.				

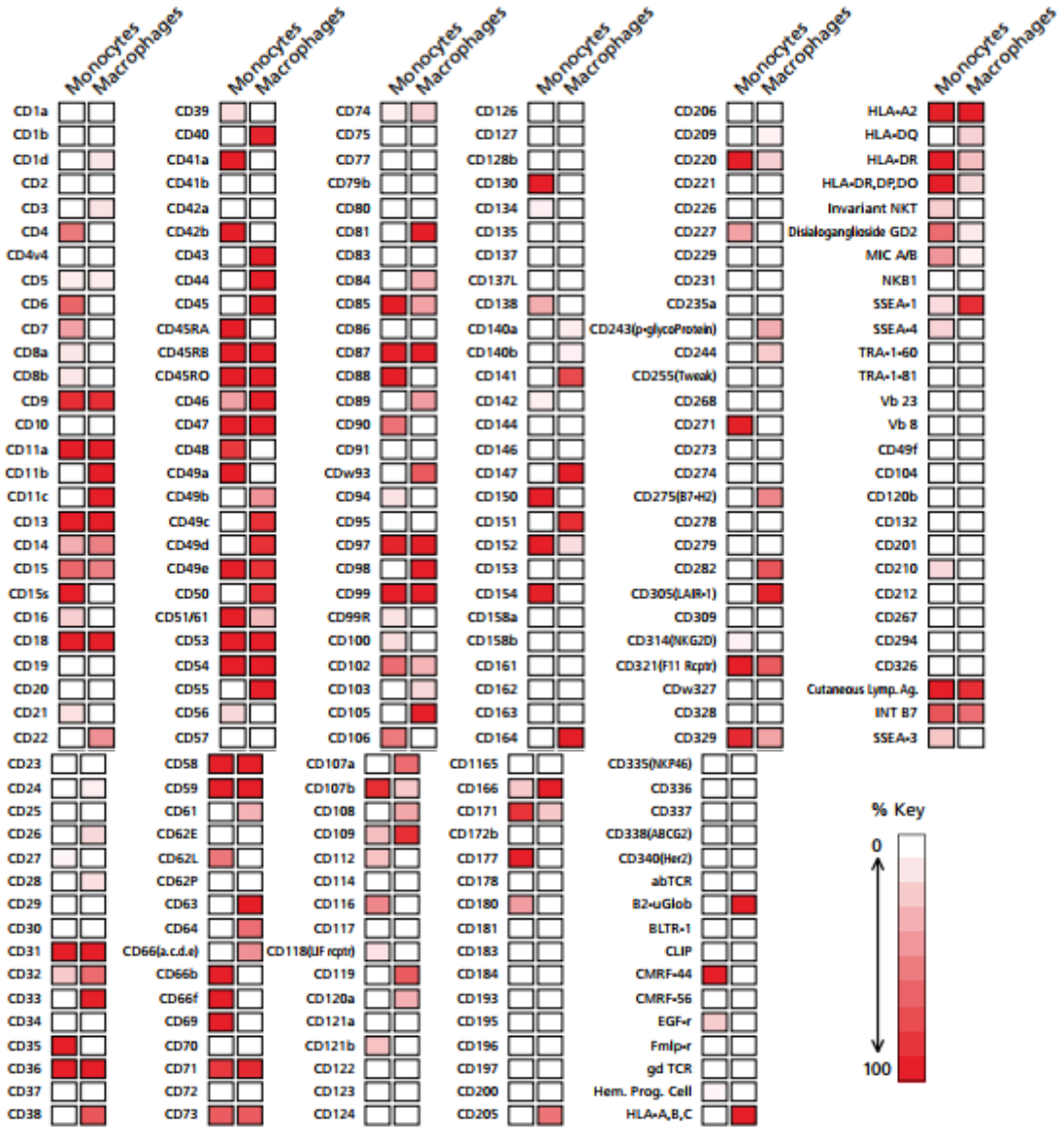
EK-14. Makrofajların poli(I:C) ile uzun süreli çeşitli dozlarda TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisi

Makrofajların poli(I:C) ile uzun süreli çeşitli dozlarda poli(I:C) ile TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisi						
	12-48 SAAT					
immün molekül	Prime Süresi	Poli(I:C) Dozu	Makrofaj kaynağı	kontrol grubu	prime grubu	kaynak
İL-4	24 saat	1 µg/ml	insan astrositleri	salgılanmıyor	salgılanmıyor	(Serramía ve diğerleri, 2015)
İL-5	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
İL-10	20 saat	1 µg/ml	fare BM-DM	salgılanmıyor	salgılanmasının çok az miktarda arttığı	(Celhar ve diğerleri, 2016)
	24 saat	1 µg/ml	fare BM-DM	mRNA bazal düzeye yakın üretilirken	mRNA üretiminin az miktarda arttığı	(Celhar ve diğerleri, 2016)
	24 saat	1 µg/ml	insan astrositleri	salgılanmıyor	salgılanmıyor	(Serramía ve diğerleri, 2015)
	24 saat	10 µg/ml	RAW264.7	bazal seviyeye yakın salgılanıyor	kontrol ve prime grupta yaklaşık aynı düzeyde bazal seviyeye yakın salgılandığı	(Zhou ve diğerleri, 2015)
	48 saat	20 µg/ml	PMA/THP-1	salgılanması bazal düzeyde	salgılanmasının az miktarda arttığı	(Lyons ve diğerleri, 2015)
İL-13	24 saat	10 µg/ml	RAW264.7	az miktarda salgılanıyor	salgılanmasının az miktarda arttığı	(Zhou ve diğerleri, 2015)
TGF-β	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
CCL22 MDC	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
İL-1β	24 saat	100 ng/ml poli(ICLC)	fare BM-DM	bazal seviyede mRNA üretiliyor	mRNA üretiminin artışın çok daha fazla olduğu	(B. Liu ve diğerleri, 2016)
	24 saat	1 µg/ml	insan astrositleri	salgılanıyor	kontrol ve prime grubunda aynı düzeyde salgılandığı	(Serramía ve diğerleri, 2015)
İL-6	16 saat	KSHV	THP-1		İL-6 mRNA seviyesinin hafif miktarda arttığı	(West ve Damania, 2008)
	20 saat	1 µg/ml	fare BM-DM	salgılanmıyor	salgılanmasının çok az miktarda arttığı	(Celhar ve diğerleri, 2016)
	24 saat	1 µg/ml	insan astrositleri	yüksek düzeyde salgılanıyor	çok fazla miktarda arttığı	(Serramía ve diğerleri, 2015)
	24 saat	10 µg/ml	RAW264.7	bazal seviyede salgılanıyor	az miktarda salgılandığı	(Zhou ve diğerleri, 2015)
	24 saat	20 µg/ml	insan PBMC	salgılanıyor	salgılanmasının çok fazla miktarda arttığı	(H. Liu ve diğerleri, 2014)
	48 saat	2 µg/ml	insan PBMC	salgılanıyor	salgılanmasının arttığı	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)
	48 saat	20 µg/ml	insan PBMC	salgılanıyor	salgılanmasının arttığı	(Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009)

EK-14. (devam) Makrofajların poli(I:C) ile uzun süreli çeşitli dozlarda TLR3 üzerinden prime edilmesinin immün molekül üretimi üzerine etkisi

İL-12p40	24 saat	1 μg/ml	fare BM-DM	mRNA üretiminin bazal seviyeye yakın olduğu	mRNA üretiminin kontrolde de prime grupta da yaklaşık aynı düzeyde bazal seviyeye yakın olduğu	(Celhar ve diğerleri, 2016)
İL-12	24 saat	1 μg/ml	insan astrositleri	salgılanmıyor	salgılanmıyor	(Serramía ve diğerleri, 2015)
TNF–α	20 saat	1 μg/ml	fare BM-DM	salgılanmıyor	salgılanmasının çok az miktarda arttığı	(Celhar ve diğerleri, 2016)
	24 saat	100 ng/ml poli(ICLC)	fare BM-DM	bazal seviyede mRNA üretiliyor	mRNA üretiminin artışın çok daha fazla olduğu	(B. Liu ve diğerleri, 2016)
	24 saat	1 μg/ml	insan astrositleri	salgılanıyor	salgılanmasının belirgin düzeyde arttığı,	(Serramía ve diğerleri, 2015)
	24 saat	20 μg/ml	insan PBMC	salgılanıyor	salgılanmasının arttığı,	(H. Liu ve diğerleri, 2014)
IDO	24 saat	20 μg/ml	insan astrosit	salgılanmıyor	salgılanıyor	(H. S. Suh ve diğerleri, 2007)
İL-15	**İLGİLİ VERİYE RASTLANMADI**					
İL-17A	24 saat	1 μg/ml	insan astrositleri	salgılanmıyor	salgılanmadığı	(Serramía ve diğerleri, 2015)
İNF-γ	24 saat	1 μg/ml	insan astrositleri	salgılanmıyor	salgılanmıyor	(Serramía ve diğerleri, 2015)
CCL2 MCP-1	16 saat	KSHV	THP-1	mRNA üretiliyor	mRNA üretiminin arttığı	(West ve Damania, 2008)
CCL3 MIP-1α	12 saat	5 μg/ml	insan PBMC	mRNA miktarı bazal seviyede	mRNA miktarının belirgin düzeyde arttığı	(M. Dai ve diğerleri, 2015)
	24 saat	5 μg/ml	insan PBMC	protein miktarı bazal seviyede	protein miktarının belirgin düzeyde arttığı	(M. Dai ve diğerleri, 2015)
CCL4 MIP-1β	12 saat	5 μg/ml	insan PBMC	mRNA miktarı bazal seviyede	mRNA miktarının arttığı	(M. Dai ve diğerleri, 2015)
	24 saat	5 μg/ml	insan PBMC	protein miktarı bazal seviyede	protein miktarının arttığı	(M. Dai ve diğerleri, 2015)
CXCL10 IP10	16 saat	KSHV	THP-1		mRNA üretiminin çok fazla miktarda arttığı	(West ve Damania, 2008)
	24 saat	50 μg/ml	insan BAL	bazal seviyede	salınımının çok fazla miktarda arttığı	(Todt ve diğerleri, 2013)
	48 saat	20 μg/ml	insan PBMC	salgılanmıyor	salgılandığı	(Lyons ve diğerleri, 2015)
	48 saat	20 μg/ml	PMA/THP-1	salgılanması bazal seviyede	salgılanmasının arttığı	(Lyons ve diğerleri, 2015)
iNOS	24 saat	100 ng/ml poli(ICLC)	fare BM-DM	bazal seviyede mRNA üretiliyor	mRNA üretiminin artışın daha fazla olduğu	(B. Liu ve diğerleri, 2016)
Arg-1	24 saat	100 ng/ml poli(ICLC)	fare BM-DM	mRNA üretimi bazal seviyede	mRNA üretimi bazal seviyede	(B. Liu ve diğerleri, 2016)
Not: Poli(I:C) dışındaki uyaranlar ayrıca belirtilmiştir.						

EK-15. THP-1 yüzey belirteçleri



EK-16. Uyarımsız MKH ve makrofaj ko-kültür sonuçları

İnsan kardiyak yağ dokusundan elde edilen MKH'lar ve insan PBMC elde edilen makrofajların kültürü sonucunda sitokin seviyelerindeki değişikliklerin çizelgesi aşağıda verilmiştir.

Table 1. Cytokine Secretion of Human Macrophages Cocultured With Human Cardiac Adipose Tissue-Derived AT-MSC by ELISA Results (pg/mL)

Cytokine	Incubation Days	MΦ	AT-MSC	Sum of MΦ + AT-MSC	Direct Coculture	Indirect Coculture (Transwells)	AT-MSC and MΦ Conditioned Medium
IL-1α	Day 1	11.17 ± 1.93	10.57 ± 1.70	21.74 ± 1.27	13.01 ± 3.94[a]	12.12 ± 3.54[a]	18.67 ± 1.01
	Day 3	2.51 ± 0.05	9.14 ± 2.06	11.65 ± 2.06	8.35 ± 3.02	13.88 ± 1.81	8.75 ± 4.46
IL-1β	Day 1	37.08 ± 3.10	14.76 ± 4.36	51.84 ± 7.46	24.82 ± 3.91	29.05 ± 10.78	104.78 ± 36.81
	Day 3	3.66 ± 0.00	21.80 ± 3.57	25.46 ± 3.57	20.90 ± 4.38	66.55 ± 51.99	31.10 ± 5.01
IL-2	Day 1	11.13 ± 0.52	10.28 ± 1.10	21.41 ± 1.49	13.34 ± 0.41[b]	12.19 ± 2.44[b]	18.55 ± 1.15
	Day 3	3.89 ± 2.94	12.21 ± 1.26	16.10 ± 1.80	12.14 ± 1.33[c]	14.05 ± 0.75	11.20 ± 2.14[a]
IL-4	Day 1	1.09 ± 0.44	2.61 ± 0.29	3.69 ± 0.23	7.68 ± 4.20[c]	3.05 ± 0.80	5.42 ± 0.75
	Day 3	0.83 ± 0.00	3.06 ± 0.79	3.89 ± 0.79	2.03 ± 0.03	2.37 ± 1.10	2.65 ± 1.71
IL-5	Day 1	6.09 ± 0.78	40.47 ± 1.42	46.56 ± 1.38	34.65 ± 2.20[c]	28.41 ± 1.28[c]	40.57 ± 6.88
	Day 3	3.84 ± 1.14	37.07 ± 4.47	40.91 ± 3.45	34.35 ± 1.66	40.15 ± 9.47	31.21 ± 6.32
IL-6	Day 1	25.96 ± 9.82	2500.00 ± 0.00[d]	2525.96 ± 9.82[d]	2500.00 ± 0.00[d]	1576.52 ± 59.18	2500.00 ± 0.00[d]
	Day 3	12.72 ± 1.94	2500.00 ± 0.00[d]	2512.72 ± 1.94[d]	2500.00 ± 0.00[d]	3333.25 ± 0.00	2500.00 ± 0.00[d]
IL-12	Day 1	15.67 ± 2.38	33.55 ± 4.33	49.22 ± 2.62	34.03 ± 4.26[a]	31.35 ± 3.44[b]	43.61 ± 3.85
	Day 3	4.37 ± 1.84	31.67 ± 0.95	36.04 ± 0.94	35.56 ± 1.82	46.20 ± 5.29[c]	32.94 ± 8.29
IL-13	Day 1	1.45 ± 2.33	4.28 ± 1.88	6.46 ± 4.66	16.31 ± 3.93[c]	3.89 ± 2.68	9.93 ± 3.02
	Day 3	0.00 ± 0.00	3.96 ± 3.76	3.96 ± 3.76	4.43 ± 2.80	10.57 ± 1.09	13.63 ± 4.52[a]
IL-15	Day 1	7.33 ± 5.47	9.77 ± 6.36	17.10 ± 2.21	20.69 ± 14.11	0.00 ± 0.00[c]	17.35 ± 5.83
	Day 3	0.00 ± 0.00	3.42 ± 5.92	3.42 ± 5.92	2.85 ± 4.94	3.20 ± 3.83	15.01 ± 4.74
IL-17	Day 1	17.93 ± 5.48	13.42 ± 1.47	31.35 ± 6.95	15.88 ± 1.56[b]	10.67 ± 2.42[b]	29.70 ± 3.10
	Day 3	4.56 ± 3.46	15.30 ± 0.10	19.86 ± 3.48	15.53 ± 1.70	20.92 ± 1.85	20.33 ± 5.90
IL-23	Day 1	154.02 ± 94.49	10.94 ± 0.00	164.96 ± 94.49	10.94 ± 0.00[a]	14.59 ± 0.00[a]	165.68 ± 42.79
	Day 3	39.86 ± 50.09	10.94 ± 0.00	50.80 ± 50.09	10.94 ± 0.00	10.94 ± 0.00	29.39 ± 31.96
Interferon-γ	Day 1	2.77 ± 0.18	4.82 ± 0.98	7.59 ± 0.81	4.38 ± 0.11[a]	3.69 ± 0.45[b]	5.11 ± 1.18[a]
	Day 3	1.27 ± 0.41	4.28 ± 0.42	5.55 ± 0.79	4.31 ± 0.47	5.92 ± 0.56	4.77 ± 1.37
Tumor necrosis factor α	Day 1	38.22 ± 1.83	24.03 ± 2.44	62.25 ± 0.71	36.62 ± 0.31[b]	43.97 ± 0.85[b]	30.65 ± 2.99[b]
	Day 3	14.91 ± 1.43	21.91 ± 0.21	36.82 ± 1.27	34.18 ± 2.73	51.31 ± 1.16[b]	27.09 ± 6.28[a]
Angiopoietin II	Day 1	604.41 ± 26.14	584.03 ± 43.59	1188.44 ± 56.09	614.41 ± 42.04[b]	848.48 ± 82.54[b]	588.34 ± 67.26[b]
	Day 3	444.23 ± 20.03	462.19 ± 35.41	906.42 ± 54.57	447.34 ± 15.72[b]	573.79 ± 97.51[b]	447.73 ± 26.79[b]
Fibroblast growth factor	Day 1	116.88 ± 21.44	158.81 ± 14.18	275.68 ± 32.59	211.70 ± 5.90	146.75 ± 8.15[b]	165.39 ± 13.37[a]
	Day 3	124.00 ± 13.90	206.56 ± 22.18	330.56 ± 34.91	198.45 ± 16.90[b]	176.32 ± 76.15[b]	188.04 ± 14.64[b]
Hepatocyte growth factor	Day 1	134.88 ± 11.63	99.77 ± 6.59	234.65 ± 10.50	124.99 ± 1.80[b]	195.52 ± 5.37[b]	105.33 ± 8.87[b]
	Day 3	321.39 ± 12.70	75.27 ± 6.27	396.66 ± 13.36	77.06 ± 0.90[b]	172.16 ± 24.26[b]	126.72 ± 11.35[b]
IL-8	Day 1	3400.00 ± 0.00[d]	2951.27 ± 777.22[d]	6351.27 ± 777.22[d]	3010.60 ± 674.45[d]	3156.28 ± 1230.79[d]	2284.20 ± 1011.40[d]
	Day 3	2909.54 ± 849.50[d]	2947.75 ± 783.33[d]	5857.29 ± 1632.83[d]	3076.03 ± 561.13[d]	4178.56 ± 501.56[d]	1738.76 ± 227.91
Platelet-derived growth factor	Day 1	8.02 ± 2.87	13.68 ± 2.91	21.70 ± 5.78	15.93 ± 2.46	14.13 ± 2.78[c]	10.37 ± 1.13[c]
	Day 3	15.96 ± 2.19	15.79 ± 1.35	31.75 ± 3.40	18.98 ± 5.54[a]	20.12 ± 4.09[a]	13.62 ± 0.93[b]
Tissue inhibitor of metalloproteinases 1	Day 1	1706.15 ± 44.43	16 000.00 ± 0.00[d]	17 706.15 ± 44.43[d]	16 000.00 ± 0.00[d]	9957.95 ± 1736.92	16 000.00 ± 0.00[d]
	Day 3	5895.80 ± 68.79	16 000.00 ± 0.00[d]	21 895.8 ± 68.79 [d]	16 000.00 ± 0.00[d]	21 332.80 ± 0.00	16 000.00 ± 0.00[d]
Tissue inhibitor of metalloproteinases 2	Day 1	79.56 ± 7.76	1692.11 ± 210.86	1771.67 ± 218.25	1979.55 ± 233.83	156.13 ± 3.23[a]	1729.32 ± 120.60
	Day 3	354.98 ± 8.27	9401.16 ± 1037.22[d]	9758.15 ± 1045.30[d]	9105.63 ± 1549.09[d]	493.69 ± 72.01[b]	6580.05 ± 904.75[b]
Vascular endothelial growth factor	Day 1	0.00 ± 0.00	309.25 ± 19.48	309.25 ± 19.48	857.23 ± 95.56[c]	32.59 ± 2.25	245.78 ± 19.78
	Day 3	0.00 ± 0.00	1058.3 ± 158.14	1058.3 ± 158.14	1333.94 ± 148.32[c]	195.73 ± 52.65[a]	556.52 ± 68.48[c]

EK-17. MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

MOLEKÜL	KÜLTÜR TİPİ	MKH	MAKROFAJ	UYARAN	Makrofajlar tarafından eğitilmiş MKH	MKH'lar tarafından eğitilmiş makrofajlar (MEM)	KAYNAK
HOX1 ve PARP	transvel	fare BM	LPS, İNF-□ ve TLR9 ligandı CpG ile aktive edilen N9	yok		HOX1 ve PARP mRNA seviyesinin seviyesinde düşme	(Giunti ve diğerleri, 2012).
ROI/ROS	transvel	insan BM	THP-1	yok		ROS seviyesinin hafif arttığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
ROI/ROS	transvel	insan BM	THP-1	salmonella enterika		ROS seviyesinin düştüğü	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
ROI/ROS	transvel	insan BM	PMA/THP-1	yok		ROS seviyesinde değişme yok	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
ROI/ROS	transvel	insan BM	PMA/THP-1	salmonella enterika		ROS seviyesinin arttığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
ROI/ROS	transvel	insan BM	İnsan PBMC	yok		ROS seviyesinin arttığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
ROI/ROS	transvel	insan BM	İnsan PBMC	salmonella enterika		ROS seviyesinde değişme yok	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
ROI/ROS	direkt ve transvel	insan BM	insan PBMC	LPS ATP uyarımı	anti-apoptotik bir protein olan STC-1 (stanniocalcin-1) ekspresyon ve salgısını artırdığı	mitokondri kaynaklı ROS oluşumunu baskıladığı	(Oh ve diğerleri, 2014)
RNI (NO, NO2, HNO2)	Kültür medyumu	LPS ile uyarılan insan UC-MKH'lardan elde edilen eksozomları içeren medyum	PMA/THP-1	yüksek glikozlu ortam		Arg-1 üretiminin arttığı	(Ti ve diğerleri, 2015)
RNI (NO, NO2, HNO2)	fare yara kenarına enjekte edilmesi	LPS ile uyarılan insan UC-MKH'lardan elde edilen eksozomları içeren medyum	fare	Yara/yangı		Yara dokusunda Arg-1 üretiminin arttığı	(Ti ve diğerleri, 2015)
RNI (NO, NO2, HNO2)	transvel	insan BM-MKH	THP-1	yok	NO seviyesinde değişiklik olmadığı		(Vasandan ve diğerleri, 2016)
RNI (NO, NO2, HNO2)	transvel	insan BM-MKH	THP-1	salmonella	NO seviyesinde hafif bir düşme olduğu		(Vasandan ve diğerleri, 2016)
RNI (NO, NO2, HNO2)	transvel	insan BM-MKH	PMA/THP-1	yok	NO seviyesinde değişiklik olmadığı		(Vasandan ve diğerleri, 2016)

EK-17. (devam) MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

RNI (NO, NO2, HNO2)	transvel	insan BM-MKH	PMA/THP-1	salmonella	NO seviyesinin daha da arttığı		(Vasandan ve diğerleri, 2016)
RNI (NO, NO2, HNO2)	transvel	NOS-/- farelerden elde edilen BM-MKH	NOS-/- farelerden elde edilen fare BM-DM		MKH ve Makrofajlardan NO salgılanmadığı Makrofajlardan İL-10 salgılamadığı		(Nemeth ve diğerleri 2009)
RNI (NO, NO2, HNO2)	transvel	fare BM	LPS, İNF-□ ve TLR9 ligandı olan CpG ile ayrı ayrı aktive edilen N9			iNOS mRNA seviyesinin ve NO metabolitlerinin (nitrite ve nitrat) seviyesinin azaldığı	(Giunti ve diğerleri, 2012)
RNI (NO, NO2, HNO2)	Fare lenfoma modeli	L-MKH	fare	EL4 Tümörden salgılanan TNF-α		tümör dokusunda makrofajların Arg-1 eksprese etmedikleri ama iNOS eksprese ettikleri	(Ren ve diğerleri, 2012)
Arg-1	Kemelerin koroner arterlerinin bağlanarak oluşturulan MI modelin	MI geliştikten sonra fare BM-MKH'ların direkt infarkt alanına enjeksiyonu	keme			kalp dokusu incelendiğinde MKH ya yakın alanlarda CD68+ Arg-1+ makrofajların varlığı	(Cho ve diğerleri, 2014)
Arg-1	transvel	fare BM-MKH	fare BM-DM	İNF-□ ve LPS		iNOS mRNA ve protein seviyesinin azaldığı, NO üretiminin inhibe edildiği, Arg-1 mRNA ve protein seviyesinin arttığı üre üretiminin uyarıldığı	(Cho ve diğerleri, 2014),
üre	transvel l	fare BM-MKH	fare BM-DM	İL-4		üre üretiminin arttığı	(Cho ve diğerleri, 2014),
Arg-1	Pankreatik kanserin genetik mühendislikle hazırlanan fare modeli	farelerin tümör oluşmuş pankreaslarından elde edilen MKH'lar	fare	tümör		farede oluşan tümör dokusu incelendiğinde makrofajlarda iNOS ekspresyonun azaldığı Arg-1 ekspresyonun ise arttığı	(Martinez ve diğerleri, 2014).
NLRP3/ inflammasom kompleksi	direkt ve transvel	insan BM	insan PBMC	LPS ATP uyarımı	anti-apoptotik bir protein olan STC-1 (stanniocalcin-1) ekspresyon ve salgısını artırdığı	inflammasomların sentezlenmesinin azaldığı NLRP3-inflammasom kompleksi aktivasyonu engellendiği	(Oh ve diğerleri, 2014)
IDO	direkt	insan-BM	insan-PBMC	İNF-γ	IDO	CXCR4(CD184) CD206 İL-10	(François, Romieu-Mourez, Li ve Galipeau, 2012)

EK-17. (devam) MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

IDO	transvel	insan BM	PMA/THP-1	İNF-□ LPS		IDO mRNA seviyesinde artış	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
IDO	transvel	insan BM	PMA/THP-1	İL-4		PMA/THP-1 'de IDO mRNA seviyesinde azalma	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
TSG-6	transvel	insan BM	TPA/THP-1	yok	TSG-6 mRNA seviyesinde artış	TSG-6 mRNA seviyesinde artış	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
TSG-6	direkt	insan BM	fare kemik iliğinden elde edilen Mq	LPS İNF-γ	TSG-6 mRNA seviyesinde artış	TNF–α salınımında azalma	(Qi ve diğerleri 2014)
FASL	direkt	fare BM	fare dalağından elde edilen Mq		MKH ve T lenfositler arasında FasL/Fas bağlantısının sonucu T lenfositlerin apopitozu	Apopitoza giden T lenfositlerinin fagositozu ve TGF-β salgılanması	(Akiyama ve diğerleri 2012)
PGE2	transvel	asılı damlalar halinde küresel şeklinde üretilen insan BM	J774A.1	LPS		TNF-α salgılanmasını baskılanması İL-10 ve İL-1ra salgılanma CD206 eksprese edilmesi	(Ylostalo, Bartosh, Coble ve Prockop 2012)
EP2	transvel	fare BM	N9	LPS		EP2 ekspresyonu	(Giunti ve diğerleri, 2012),
PGE2	transvel	fare BM	Fare BM	LPS	NO salınımı NF-κB aktivasyonu yüksek miktarda PGE2 salgılanması	NO ve İL-10 salınımı	(Nemeth ve diğerleri 2009)
PGE2	transvel	insan BM	TPA/THP-1	yok	COX2 mRNA seviyesinde artış		(Valles ve diğerleri, 2015),
GC VE PG	transvel	insan BM	insan-PBMC	GM-CSF Mifepristone	GC ve PG salgısının Mifepristone tarafından engellenmesi	M2 plastisitesi engellenme M1, M2 ve yapışmayan hücrelerden oluşan karışık bir popülasyon, B7-H4, CD163 ve CD204 seviyesinin belirgin düzeyde düşme, İL-10 seviyesinde azalma İL-1β, İL-12(P70) ve MIP-1α düzeyinde artma (p-MKH'ların GC ve PG salgılayarak monositleri MEM plastisitesine neden olduğunu düşündürmektedir.)	(Abumaree ve diğerleri 2013)
TGF-β	transvel	İnsan plesantası	insan-PBMC	GM-CSF	TGF-β seviyesinde daha da artma		(Abumaree ve diğerleri, 2013),
TGF-β	transvel	insan BM	PMA/THP-1	İL-4		TGF–β mRNA seviyesinde daha da artma	(Freytes ve diğerleri, 2013; Vasandan ve diğerleri, 2016),

EK-17. (devam) MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

TGF-β	direkt	LPS ile uyarılan insan UC-MKH'lardan elde edilen eksosomları içeren medyum	THP-1	yüksek glikozlu		TGF-β mRNA seviyesinde artma	(Ti ve diğerleri, 2015),
TGF-β	DSS ile oluşturulan ülseratif kolit modeli	fare BM	fare	yangı	TGF-β salgılanması	TGF−α salgılanması	(W. Liu, Zhang, Gu, Sang ve Dai, 2015)
TGF-β	Farede ovalbümin ile oluşturulan alerjik astım modeli	insan BM	fare	allerji	TGF−β salgılanması	M2 plastisitesi	(X. Song, Xie, Lu ve Wang, 2015),
İNF-□	direkt ve transvel MKH kültür medyumu	insan AT	insan PBMC	Normal koşullarda	İNF-□ düzeyinde değişme yok	İNF-□ düzeyinde değişme yok	(Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013)
İNF-□	Vücutta yangı ortamında	İnsan/fare	İnsan/fare	yangı	lisanslamasına ve yangı söndürücü özellik kazanması	Yangıda M1 makrofajlar yüksek seviyelerde İFN-γ ve TNF-α salgılar	(English, Barry, Field-Corbett ve Mahon, 2007; Mauro Krampera ve diğerleri, 2006; X.-D. Liu ve diğerleri, 2014; Sheng ve diğerleri, 2008)
İNF-□	DSS ile oluşturulan kolit modelinde	fare BM	fare	kolit		kolon dokusunda bulunan makrofajlarda İNF-□ mRNA seviyesinde azalma	(W. Liu ve diğerleri, 2015)
TNF-α	Vücutta yangı ortamında	İnsan/fare	İnsan/fare	yangı	PGE2 VEGF, FGF2, HGF ve IGF-1 salgılanması	Yangıda M1 makrofajlar TNF-α salgılar	(English ve diğerleri, 2007) (Crisostomo ve diğerleri, 2008) (Xiao ve diğerleri, 2012)
TNF-α	direkt transvel ve MKH kültür medyumu	İnsan PBMC	insan AT	Normal koşullarda		TNF-α seviyesinde azalma	(Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013),
TNF-α	transvel	insan BM	TPA/THP-1	iki boyutlu ve üç boyutlu ko-kültür		TNF-α seviyesinde azalma	(Valles ve diğerleri, 2015),
TNF-α	transvel	insan BM	PMA/THP-1	LPS		TNF-α seviyesinde azalma	(Vasandan ve diğerleri, 2016),

EK-17. (devam) MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

TNF-α	transvel ve MKH kültür medyumu	insan BM	J774.A.1	LPS	PGE salgılanması	TNF-α seviyesinde azalma	(Ylostalo ve diğerleri, 2012),
TNF-α	transvel	kemelerin BM	NR8383	LPS	İL-6 salgılanması	STAT3 fosforilasyonunda artma SOCS3 seviyesinde artma NF-κB aktivasyonunda azalma M1 sitokini kabul edilen TNF-α, İNF- ve İL-1β seviyesinde azalma	H. J. Zhang ve diğerleri (2016)
TNF-α	Fare periton yangı modeli direkt	fare BM	yangı ile ilgili fare peritoneal makrofajlar	LPS		TNF-α seviyesinde azalma	(Maggini ve diğerleri, 2010)
TNF-α	DSS ile oluşturulan kolit modelinde	fare BM	yangı ile ilgili fare bağırsak makrofajları	kolit		sonra kolon dokusunda TNF-α mRNA seviyesinde azalma	(W. Liu ve diğerleri, 2015),
TNF-α	transvel	fare BM	N9	LPS		TNF-α mRNA seviyesinde azalma	(Giunti ve diğerleri, 2012),
TNF-α	transvel	fare BM M-CSF	fare BM	İNF- LPS		sTNF-R1 ve sTNF-R2 seviyesinde azalma	(Cho ve diğerleri, 2014)
İL-1	yangı			İL-1	HLA-G ekspresyonunda artma	IL-1 salgılanması	(Ding, Chou, Chang, Hung, Liu ve Chu, 2016; Rebmann, da Silva Nardi, Wagner ve Horn, 2014)
İL-1β	yangı			İL-1β	farklılaşmasına ve göç	İL-1β ve TNF-α salgılanması	(Sullivan ve diğerleri, 2014; Wehling ve diğerleri, 2009)
İL-1β	yangı			İL-1β	HGF reseptör ekspresyonunu artırma		(Galimi ve diğerleri, 2001)
İL-1α veya İL-1β	yangı			İL-1α veya İL-1β	G-CSF salgısında artma		(Redondo-Castro ve diğerleri, 2017)
İNF- ve TNF-α, İL-1α, veya İL-1β				İNF- ve TNF-α, İL-1α, veya İL-1β	kemokinlerin ve NO üretiminin artması, kemokinlere yanıt olarak MKH'lara yaklaşan T hücrelerinin fonksiyonlarının NO tarafından baskılanması		(Ren ve diğerleri, 2008)
İL-1α ve İL-1β	Direkt transvel	insan AT	İnsan PBMC	yok	İL-1α ve İL-1β seviyesinin daha da düştüğü		(Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013),
İL-1β	DSS ile oluşturulan kolit	İL-1β prime edilmiş insan UC	peritonel fare makrofajları	Kolit İL-1β	PGE2, İL-6 ve İL-8 ekspresyonun artması	M2 plastisitesi	(Fan ve diğerleri, 2012)

EK-17. (devam) MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

İL-1β	direkt ve transvel	İnsan BM	LPS ve ATP ile uyarılan insan PBMC'den elden edilen, fare peritoneal makrofajlar		STC-1 (stanniocalcin-1) ekspresyon ve salgısının artması	NLRP3-inflammasom aktivasyonunu negatif yönde düzenlendiği, İL-1β salgılanmasını azaldığı	(Oh ve diğerleri, 2014)
İL-1β	transvel	keme BM	NR8383	LPS		İL-1α seviyesinin azaldığı	İL-1 seviyesinin azaldığı
İL-1β	CLP modelinde	fare BM	Fare	Sepsis LPS		plazmasında İL-1β düzeyinin düştüğü	(Mei ve diğerleri, 2010)
İL-1β	transvel	fare BM	Fare BM M-CSF	LPS ve İNF-		İL-1β salgılanmasının baskılandığı	(Cho ve diğerleri, 2014)
İL-1β	transvel	fare BM	N9	LPS		İL-1β seviyesinde belirgin yükselme	(Giunti ve
İL-1ra	MKH süpernatanlarının (conditioned media)	Fare ve insan BM	slika veya LPS ile aktive aktive RAW-264.7		İL-1ra	TNF salgılanmasını inhibe	(Ortiz ve diğerleri, 2007),
İL-1ra		asılı damlalar halinde küre şeklinde üretilen insan BM	LPS ile uyarılmış J774.A.1		PGE-2	İL-1ra gen düzeyinin arttığı	(Ylostalo ve diğerleri, 2012)
İL-2	Direkt transvel	İnsan AT	insan PBMC	yok		İL-2 seviyesinin düştüğü	(Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013),
İL-2	transvel	keme BM	NR8383	LPS		İL-2 seviyesinin düştüğü	(H. J. Zhang ve diğerleri, 2016) gösterilmiştir.
İL-5	direkt ve transvel	AT-MKH	İnsan PBMC	yok		İL-5 düzeyinde belirgin azalma	(Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013)
İL-5	transvel	keme BM	NR8383	LPS		İL-5 seviyesinin azaldığı	(H. J. Zhang ve diğerleri, 2016)
İL-6	transvel	İnsan BM	İnsan PBMC	LPS		hücre içi sitokin boyamasında makrofajların İL-6'yı yüksek düzeyde ürettikleri	(J. Kim ve Hematti, 2009)
İL-6	direkt	insan BM	insan PBMC	İL-4 GM-CSF		monositlerden iDC oluşumu İL-10 ve İL-6 düzeyinin artması ve Treg oluşumu	(Melief, Geutskens, ve diğerleri 2013)
İL-6	transvel	insan AT	insan PBMC	yok		İL-6 seviyesinin daha da arttığı	(Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013)
İL-6	transvel	insan AT	insan PBMC	İL-6		İL-10 seviyesinde artış	Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013)
İL-6	transvel	insan G	insan PMNC			İL-10 ve İL-6'nın hücre içi boyamasında artış	(Q. Z. Zhang ve diğerleri, 2010)

EK-17. (devam) MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

İL-6	transvel	insan G	insan PMNC	LPS		İL-6'da artış	(Q. Z. Zhang ve diğerleri, 2010)
İL-6	direkt	insan BM	RAW 264.7	zimosan		İL-6'da artış	(H. Choi ve diğerleri, 2011),
İL-6	transvel	insan BM	PMA /THP-1	LPS		İL-6 mRNA ve İL-6 salgılanma düzeyin azaldığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016),
İL-6	transvel	İnsan BM	TPA/THP-1	PGE2'yi nötralize eden antikorlar	PGE2	İL-6 seviyesinde azalma	(Valles ve diğerleri, 2015),
İL-6	deneysel artrit modelinde	Fare BM	fare		PGE2	İL-6'da artış ve lokal yangının baskılanması	(Bouffi, Bony, Courties, Jorgensen ve Noel, 2010)
İL-6	transvel	İnsan BM	TPA/THP-1	TSG-6 nötralize eden antikorlar		İL-6 seviyesinin arttığı	(Valles ve diğerleri, 2015),
İL-6	transvel	İnsan BM	TPA/THP-1	MCP-1'i nötralize eden antikorlar		İL-6 seviyesinin azaldığı	(Valles ve diğerleri, 2015),
İL-6	transvel	fare BM	Fare BM M-CSF	LPS ve İNF-		İL-6 salgılanmasının baskılandığı	(Cho ve diğerleri, 2014),
İL-6	transvel	kemelerin BM	NR8383	LPS	İL-6 seviyesinin arttığı	TNF-α, seviyesinin azaldığı, makrofajları M2 plastisitesine neden olduğu	(H. J. Zhang ve diğerleri, 2016),
İL-6	DSS ile oluşturulan kolit modelinde	fare BM	fare	kolit		kolon dokusunda İL-6 mRNA seviyesinin düştüğü	(W. Liu ve diğerleri, 2015),
İL-6	CLP	fare BM	fare	sepsis		plazmasında İL-6 düzeyinin düştüğü	(Mei ve diğerleri, 2010)
İL-6	CLP	fare BM	fare alveolar makrofajlar	sepsis		İL-6 seviyesinde artış ile akciğer dokusundaki yangı ve aptotik hücre sayısında azalma	(Mei ve diğerleri, 2010),
İL-6	direkt	fare BM	yangısal peritoneal makrofajlar	LPS		İL-6 düzeyinde azalma	(Maggini ve diğerleri, 2010)
İL-6	Tümör modeli	Kendiliğinden oluşan lenfoma geliştiren fare modelinden elde edilen BM-MKH	İmmün baskılanmış fare makrofajları	EL4 Tümörden salgılanan TNF–α	İL-6 salgılanması	farelerin hem periferik kanında hem tümör dokusunda CD11b+ Ly6C+ monositlerin ve F4/80 makrofajların arttığı, , İL-12 düşük İL-10 yüksek TNF-α düşük MHC-IIdüşük , Arg-1 eksprese etmeyen iNOS eksprese eden CD206+ karakterde oldukları	(Ren ve diğerleri, 2012)

EK-17. (devam) MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

İL-6	Pankreatik kanserin genetik mühendislikle hazırlanan fare modelinde	pankreas	fare	yok	İL-6 salgılanması		(Martinez ve Gordon, 2014)
İL-6	transvel	fare BM	RAW 264.7 İL-4		MKH2 İL-6 seviyesinin arttığı		(Wolfe ve diğerleri, 2016)
İL-6	transvel	fare BM MKH2	RAW 264.7		İL-6 seviyesinin arttığı	MEM CD206+ Arg-1	(Wolfe ve diğerleri, 2016)
İL-6	transvel	İnsan BM	İnsan PBMC		İL-6 ve PGE salgılanması	Monositlerden immatür DC oluşumunu ve İL-6'nında monositlerden İL-10 salımını artırdığı,	Melief ve diğerleri (2013a)
İL-6	transvel	İnsan UC	insan PBMC			İL-6, TNF-α, and VEGF-α salgılanmasını azalttığı	(Ding ve diğerleri, 2016;)
LİF	transvel	İnsan plasenta	insan PBMC	GM-CSF	LIF salgısının daha da arttığı		(Abumaree ve diğerleri, 2013)
İL-7	transvel	kemelerin BM	NR838	LPS		İL-7 seviyesinin azaldığı	(H. J. Zhang ve diğerleri, 2016).
İL-13	direkt	İnsan AT	insan PBMC	yok	İL-13 seviyesinin ise hafif yükseldiği		(Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013)
İL-13	transvel	İnsan AT	insan PBMC	İL-6	İL-13 salgısının belirgin derecede arttığı		(Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013)
İL-13	transvel	fare BM-DM M-CSF	fare BM-	İL-4		İL-4R ekspresyonun çok daha fazla arttığı	(Cho ve diğerleri, 2014)
İL-4 ve İL-13	transvel	keme BM	NR8383	LPS	İL-4 ve İL-13 seviyesinde belirgin bir artış olmadığı		(H. J. Zhang ve diğerleri, 2016)
İL-13	(Spinal Cord İnjury (SCI)) için oluşturulan fare modeli	genetik mühendislikle elde edilen İL-13 sürekli salgılayan MKH'ların	fare	MKH'dan İL-13 salgısı		alternatif olarak aktive olan makrofaj sayısının arttığı	(Dooley ve diğerleri, 2016; Nakajima ve diğerleri, 2012).
İL-10	transvel	İnsan plesantal	insan PBMC	GM-CSF ve Mifepristone	MKH'dan salgılanan GC ve PG'nun engellenmesi	İL-10 seviyesi azaldığı	(Abumaree ve diğerleri, 2013),

EK-17. (devam) MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

İL-10	direkt ve transvel	İnsan AT	insan PBMC		İL-6	İL-10 salgısını artırdığı	(Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013)
İL-10	trans	İnsan BM-MKH	insan PBMC'den	LPS		yüksek düzeyde İL-10 salgıladığı	(J. Kim ve Hematti, 2009)
İL-10	transvel	Asılı damlalar halinde küre şeklinde üretilen insan BM-MKH	İnsan PMNC	LPS	PGE	İL-10 mRNA seviye artışı	(Ylostalo ve diğerleri, 2012)
İL-10	direkt	İNF-□ ve TNF-α muamele edilen insan BM	insan PBMC		IDO	İL-10 salgısını arttırdığı	(François ve diğerleri, 2012),
İL-10	medyum	LPS ile uyarılan insan UC-MKH'lardan elde edilen eksosomları içeren medyumla	PMA/THP-1	yüksek glikozlu bir ortam		İL-10 mRNA seviyesinin arttığı	(Ti ve diğerleri, 2015)
İL-10	transvel	insan BM	TPA/THP-1	İL-4	İL-10 salgıladığı		(Vasandan ve diğerleri, 2016)
İL-10	Pankreatik kanserin genetik mühendislikle hazırlanan fare modelinde	Fare	fare		CA-MKH'larda İL-10 artışı		(Mathew ve diğerleri, 2016),
İL-10	direkt	Fare BM	fareye thioglikolate periton içine enjeksiyonu sonrasında elde edilen yangısal peritoneal makrofajlar	LPS	IL-10 salgıladığı		(Maggini ve diğerleri, 2010)
İL-10	Fare /cam silindirler yerleştirilmesi	Fare BM-	yangı alanına göç eden makrofajların	yangı		yüksek düzeyde İL-10 salgıladıkları	(Maggini ve diğerleri, 2010)

EK-17. (devam) MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

İL-10	CLP modelinde	fare BM	Fare akciğer	LPS	PGE	İL-10 salgıladığı	(Nemeth ve diğerleri, 2009)
İL-10	CLP modelinde	fare BM		LPS		Plazmasında İL-10 seviyesinin düştüğü	(Mei ve diğerleri, 2010)
İL-10	transvel	keme BM	NR8383	LPS		İL-10 seviye artışı	(H. J. Zhang ve diğerleri, 2016)
İL-10	Pankreatik kanserin genetik mühendislikle hazırlanan fare modelinde	Fare CA	fare			tümör dokusuna infiltrasyonunu arttırdığı, İL-10 salgılayan tümör oluşumunu destekleyen bir fenotipe dönüşümünü sağladığı	(Mathew ve diğerleri, 2016)
İL-10	İmmün baskılanmış farede lenfoma modeli	L-MKH	İmmün baskılanmış fare makrofajları	Tümör oluşumu		IL-10 salgısının artışı	(Ren ve diğerleri, 2012)
İL-10	transvel	fare BM	Far e Kİ M-CSF	İL-4		çok daha fazla miktarda İL-10 salgıladığı	(Cho ve diğerleri, 2014)
İL-12	direkt ve transvell	insan AT	insan PBMC	uok	IL-12 seviyesinin azaldığı		(Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013).
İL-12	transvel	insan BM	PMA/THP-1	LPS		İL-12 mRNA ve İL-12 salgılanma düzeyin azaldığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
İL-12	transvel	İnsan BM	LPS ve İNF-□ ile M1 yönünde farklılaştırılmış THP-1			İL-12 mRNA seviyesinde düşme	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
İL-12	transvel	İnsan BM	LPS ve İNF-□ ile M1 yönünde farklılaştırılmış PBMC elde edilen makrofajlar			İL-12 mRNA seviyesinde düşme	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
İL-12	Fare/ cam silindirler yerleştirilmesi	fare BM	fare	yangı		MHC sınıf-II düşük, Iab düşük, CD86 düşük, TNF-α düşük, İL-6 düşük, İL-12p70 düşük ve İL-12p40 yüksek, İL-10 yüksek	(Maggini ve diğerleri, 2010),

EK-17. (devam) MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

İL-12p40	Direkt	fare BM	Fare yangısal peritoneal makrofajların	LPS		İL-12p40 düzeyinde çok fazla miktarda artış olduğu	(Maggini ve diğerleri, 2010)
İL-12p70	Direkt	fare BM	fare yangısal peritoneal makrofajlar	LPS		İL-12p70 düzeyinde azalma	Maggini ve diğerleri, 2010)
İL-12	Tümör	L-MKH	İmmün baskılanmış fare	Tümör TNf-α	İL-6	İL-12 düşük tümörün büyümesine yardım eden karakterde	(Ren ve diğerleri, 2012),
İL12p40/p70	transvel	fare BM	Fare BM-DMM-CSF	İNF-□ ve LPS		İL-12p40/p70 seviyesinin azaldığı	(Cho ve diğerleri, 2014)
İL-12p/70	transvel	keme BM	NR8383	LPS		İL-12p70 seviyesinde belirgin bir fark olmadığı	(H. J. Zhang ve diğerleri, 2016)
İL-15	transvel	AT-MKH	İnsan PBMC	yok	1. günde sıfırlandığı		(Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013).
İL-17	direkt ve transvel	AT-MKH	İnsan PBMC	yok	İL-17 seviyesinde azalma		(Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013).
İL-17	DSS ile oluşturulan kolit modelinde	fare BM	fare		kolon dokusunda İL-17 mRNA seviyesinin düştüğü		(W. Liu ve diğerleri, 2015)
İL-17	transvel	keme BM	NR8383	LPS	İL-17A seviyesinin düştüğü		(H. J. Zhang ve diğerleri, 2016)
İL-18	transvel	keme BM	NR8383	LPS		İL-18 seviyesinin azaldığı	(H. J. Zhang ve diğerleri, 2016)
IL-23	direkt, transvel	insan AT	İnsan PBMC	yok		İL-23 seviyesinde düşüme	(Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013)
IL-23	Direkt	küre şeklinde üretilmiş insan BM-MKH'ları	J774A.1	LPS		TNF-α, CXCL2, İL-6, İL-12p40, İL-23 baskıladığı	(Ylostalo ve diğerleri, 2012),
IL-23	THP-1 süpernatan	İnsan BM	THP-1süpernatan	yok	osteojenik faklılaşmasını artırdığı	İL-23	(Tu ve diğerleri, 2015)
RANKL	transvel	İnsan BM	TPA/THP-1	yok			(Valles ve diğerleri, 2015).

EK-17. (devam) MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

KEMOKİN LİGANDLARI							
CCL-1	transvel	İnsan UC	RAW264.7	LPS	CCL1salgılanması		(J. Y. Song ve diğerleri, 2017)
CCL2/ MCP-1/JE	transvel	insan P-MKH	İnsan PBMC	GM-CSF	CCL2/MCP-1 salgılanması		(Abumaree ve diğerleri, 2013),
CCR2(CD192)		insan BM		TNF-α	CCR2(CD192) ekspresyonunu artırdığı		(Ankrum, Dastidar, ve diğerleri, 2014; Tomchuck, Zwezdaryk, Coffelt, Waterman, Danka ve Scandurro, 2008)
CCL2/ MCP-1	transvel	insan BM-MKH	TPA/THP-1		CCL2/MCP-1 mRNA seviyesinin arttığı	CCL2/MCP-1 mRNA seviyesinin düştüğü	(Valles ve diğerleri, 2015)
CCL2/ MCP-1	transvel	Fare BM	fare KI'den elde edilen ve M-CSF ile farklılaştırılan	LPS ve İNF-𝛾		CCL2/MCP-1 salgılanmasının baskılandığı	(Cho ve diğerleri, 2014)
CCL2/ MCP-1	Fare yara iyileşmesi modelinde	fare BM	fare	Yara iyileşmesi	CCL2/MCP-1 salgılanması	Monosit göçü	(L. Chen ve diğerleri, 2008; Hass ve Otte, 2012; Le Blanc ve Mougiakakos, 2012),
CCL2/ MCP-1	periton içi yangı modelinde	insan BM	Fare periton sıvısındaki monosit/makrofaj	zimosan		periton sıvısındaki monosit/makrofaj sayısının azaldığı	
CCL2/ MCP-1	CLP	fare BM	Fare akciğer dokusu ve BAL makrofajları	sepsis		akciğer dokusuna hücre göçünde ve yangıda azalma	(Mei ve diğerleri, 2010)
CCL2/ MCP-1	farede kendiliğinden oluşan lenfoma modeli	L-MKH	fare	Tümöre bağlı TNF–α	yüksek düzeyde CCL2/MCP-1 ve CCL7 ve CCL12'yi salgılanması	CD11b+ Ly6C+ monositlerin ve F4/80 makrofajların farenin hem tümör dokusunda hem de periferik kanında arttığı, MEM karakterde oldukları,	Ren ve diğerleri (2012)

EK-17. (devam) MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

CCL3/ MIP-1 α	transvel	P-MKH	insan PBMC	GM-CSF		CCL3/MIP-1α düzeyinin azaldığı	(Abumaree ve diğerleri, 2013)
CCL3/ MIP-1 α	transvel	P-MKH	insan PBMC	GM-CSF ve Mifepristone		CCL3/MIP-1α düzeyinin arttığı (MKH'ların GC ve PG salgılayarak makrofajlardan CCL3/MIP-1α salgılanmasını baskıladıklarını düşündürmektedir	(Abumaree ve diğerleri, 2013)
CCL3/ MIP-1 α	Cilt skleroder matos GVHD modeli	İnsan BM	Fare CD11b+			CCR1(CD191) ekspresyonunu ve deri dokusundaki CCL3 salınımını azalttığı	(J.-Y. Lim, Ryu, Lee, Park ve Min, 2017)
CCL3/ MIP-1 α	transvel	fare BM	fare Kİ M-CSF	İNF-□ ve LPS		CCL3/MIP-1α seviyesinin azaldığı	(Cho ve diğerleri, 2014).
CCL5/R ANTES	transvel	insan BM	TPA/THP-1	yok	CCL5/RANTES mRNA seviyesini arttırdıkları	CCL5/RANTES mRNA seviyesi azalırken	(Valles ve diğerleri, 2015)
CCL5/R ANTES	Fare Alzaymır (Alzheim er) modelind e	fare BM	Fare		CCL5/RANTES salgılanması		(J. K. Lee, Schuchman, Jin ve Bae, 2012)
CCL5/R ANTES	CLP	fare BM	fare akciğer dokusu ve BAL makrofajları	sepsis		CCL5/RANTES seviyeleri ile akciğer dokusundaki yangı ve apoptoza giden hücre sayısında azalma	(Mei ve diğerleri, 2010)
CCL18	MKH süpernata tı	İnsan BM	İnsan PMNC M-CSF	yok		CD206+ CD163+ İL-10 ve CCL-18 salgılayan MEM tipine	(Melief, Schrama, ve diğerleri, 2013).
CCR7	transvel	insan BM	İnsan PBMC	yok		CCR7 (CD197) seviyesini arttırdıkları	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
CCR7	transvel	insan BM	İnsan PBMC LPS ve İNF-□			CCR7 (CD197) mRNA seviyesinin düştüğü	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
CCR7	transvel	insan BM	İnsan PBMC İL-4			CCR7(CD197) mRNA seviyesinin biraz daha da arttığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016)

EK-17. (devam) MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

CCL22/ MDC		MKHdan salgılandığı gösterilen rekombinant fare SCRG1	RAW264.7	LPS		CCL22/MDC salgılanmasını baskıladığı	(Inoue ve diğerleri, 2017)
CXCL1 / GROα/ KC	CLP	fare BM	fare akciğer dokusu ve BAL makrofajları		CXCL1/ GROα/KC seviyeisnde azalma ?	CXCL1/ GROα/KC seviyeleri ile karaciğer dokusundaki yangı ve apopitoza giden hücre sayısında azalma	(Mei ve diğerleri, 2010)
CXCL5 /ENA-78/LIX	transvel	fare BM	fare BM-DM M-CSF	İNF- ve LPS	CXCL5/ENA-78/LIX seviyesinin arttığı		(Cho ve diğerleri, 2014)
İL-8/CXC L8	transvel ko-kültür ortamında ve MKH kültür medyumu olan ortamda	insan AT	İnsan PBMC	yok	İL8/CXCL8 salgısında belirgin azalma		(Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013)
İL-8/CXC L8		rhTSG-6	RAW 264.7	zimosan		İL-8/CXCL8 azaldığı	(H. Choi ve diğerleri, 2011)
CXCL1 0		İnsan BM-MKH	İnsan PMNC'den elde edilen makrofajların kültür medyumu	yok	"Makrofajlar Alakalı MKH" tipe dönüşerek İL-6 ve CXCL10 salgıladıkları		(Anton, Banerjee ve Glod, 2012)
CXCL1 2/SDF-1	Kİ mikroçevresi				Makrofajların CXCL12/SDF-1 salgılanmasını sağlayarak HKH'lerin hareket kazanmasını ve kana geçmesini sağladıkları		(Ehninger ve Trumpp, 2011)
CX3CR 1	transvel	fare BM	N9	İNF- ve TLR9 ligandı CpG		CX3CR1 mRNA seviyesinin düştüğü	(Giunti ve diğerleri, 2012)
CX3CR 1	transvel	fare BM	N9	LPS	MKH'ların CX3CL1 salgıladıkları	yüksek düzeyde CX3CR1 mRNA eksprese ettiği	(Giunti ve diğerleri, 2012)

EK-17. (devam) MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

BÜYÜME FAKTÖRLERİ							
M-CSF	transvel	İnsan plasenta	insan PBMC	GM-CSF	M-CSF salgılarını artırdıkları		(Abumaree ve diğerleri, 2013)
M-CSF	transvel	insan BM	TPA /THP-1	Yok	M-CSF düzeyinin azaldığı		(Valles ve diğerleri, 2015)
M-CSF	transvel	keme BM	NR8383	LPS	M-CSF seviyesinde artış		(H. J. Zhang ve diğerleri, 2016),
	transvel	fare BM	N9	LPS		IGF-1 seviyesinin arttığıarttığı	(Giunti ve diğerleri, 2012)
	transvel	fare BM	N9	TLR9 ligandı CpG		IGF-1 mRNA seviyesinin düştüğü	(Giunti ve diğerleri, 2012)
HGF		rhHGF	insan PBMC	yok		İL-10 salgılayan immün düzenleyici tipe dönüştürdüğü	(P.-M. Chen ve diğerleri, 2014; Rutella ve diğerleri, 2006)
HGF	direkt, transvel ve kültür medyumu	insan AT	İnsan PBMC	yok	HGF'de azalma		(Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013)
FGF	direkt, transvel ve kültür medyum uyla	insan AT	İnsan PBMC	yok	FGF seviyesinde azalma		(Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013)
PDGF	direkt, transvel vemedyumu	insan AT	İnsan PBMC	yok	PDGF seviyesinde azalma		(Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013)
VGEF	direkt, transvel	insan AT	İnsan PBMC		direkt ko-kültür ortamında 1. günde VGEF salgısının arttığı ve transvel ko-kültür ortamında 1. günde VGEF salgısının azaldığı		(Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013).
VGEF	transvel	insan Kİ	LPS ve İNF-□ +PMA/THP-1	yok		VEGF salınımı belirgin düzeyde artmakta olduğu	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
Ang	Direkt, transvel ve kültür medyumu	İnsan AT	insan PBMC		Ang düzeyinde azalma		(Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013).

EK-17. (devam) MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

HLA							
HLA-ABC	transvel	insan BM	THP-1	yok		HLA-ABC ekspresе etmeye devam etikleri	(Vasandan ve diğerleri, 2016).
HLA-ABC	transvel	insan BM	PMA/THP-1	yok		HLA-ABC ekspresе etmeye devam etikleri	(Vasandan ve diğerleri, 2016).
HLA-ABC	transvel	insan BM	PMA/THP-1 LPS ve İFN-γ	yok		HLA-ABC ekspresyonun azaldığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016).
HLA-G	transvel	İnsan UC	PBMC	yok		İL-6, TNF-α,ve VEGF-α salgılanmasını azalttığı	
HLA-DR	Transvel Kültür medyumu	p-MKH	insan PBMC			makrofajlarda HLA-DR ekspresyonun arttığı	(Abumaree ve diğerleri, 2013),
HLA-DR	transvel	insan BM	THP-1			HLA-DR ekspresе etmedikleri	(Vasandan ve diğerleri, 2016).
HLA-DR	transvel	insan BM	PMA/THP-1			HLA-DR ekspresе etmedikleri	(Vasandan ve diğerleri, 2016).
HLA-DR	transvel	insan BM	PMA/THP-1	LPS ve IFNγ		HLA-DR ekspresе etmeye devam etmekle birlikte ekspresyon seviyesinde düşme	(Vasandan ve diğerleri, 2016).
MHC sınıf-II	Fare/ vücuduna cam silindirler yerleştirildikten sonra	fare BM	fare	yangı		yangı alanına göç eden makrofajların sayısının arttığı bunların MHC sınıf-II düşük düzeyde ekspresе ettikleri	(Maggini ve diğerleri, 2010),
MHC sınıf-II	Kornea transplantasyonu ve deneysel oto immün üveit fare modelinde	insan BM	fare	Yangı oto immün	TSG-6	MHC sınıf-II, B220, CD11b + ve İL-10 salgılayan ve T hücrelerini baskılayan MEM ve kornea transplantasyonun reddedilmesini ve deneysel otoimmün uveiti azalttığı	(Ko ve diğerleri, 2016),

EK-17. (devam) MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

KO-İNHİBİTÖR MOLEKÜLLER							
PD-L1/B7-H1/CD274	transvel ve kültür medyumu	p-MKH	İnsan PBMC	GM-CSF		PD-L1/B7-H1/CD274 ekspresyonun arttığı	(Abumaree ve diğerleri, 2013)
PD-L1/B7-H1/CD274 ve PD-L2/B7-DC/CD273	transvel	İnsan BM filtrelerinden elde edilen	insan PBMC			PD-L1 ve PD-L2 ekspresyonu arttığı	(Bouchlaka ve diğerleri, 2017)
B7-H4	transvel ve kültür medyumu	p-MKH	İnsan PBMC	GM-CSF		B7-H4 eksprese edildiği	(Abumaree ve diğerleri, 2013)
DİĞER RESEPTÖRLER							
NURR1	transvel	fare BM	N9	LPS		NURR1 seviyesinin arttığı	(Giunti ve diğerleri, 2012),
NURR1	transvel	fare BM	N9	İNF-□		NURR1 mRNA seviyesinin düştüğü	(Giunti ve diğerleri, 2012),
NURR1	transvel	fare BM	N9	TLR9 uyarımı		NURR1 mRNA seviyesinin düştüğü	(Giunti ve diğerleri, 2012),
CD200R	transvel	fare BM	N9	LPS		CD200R ekspresyonun arttığı	(Giunti ve diğerleri, 2012)
TREM2	transvel	fare BM	N9	LPS		TREM2 ekspresyonun arttığı	(Giunti ve diğerleri, 2012)
HÜCRE YAPIŞMASINA ARACILIK EDEN MOLEKÜLLER							
CD50	transvel	insan BM	PMA/THP-1	yok		CD50 ekspresyon seviyesinin çok arttığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016),
CD50	transvel	insan BM	PMA/THP-1LPS ve İFN-γ			CD50 +seviyesinin azaldığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
ICAM-1/CD54	direkt	İnsan BM	İNF-γ ve LPS + insan PBMC'ler	yok	ICAM-1/CD54'ün ekspresyonun arttığı		(Espagnolle, Balguerie, Arnaud, Sensebe ve Varin, 2017),
CD54/ICAM-1	transvel	insan BM	THP-1, PMA/THP-1, +LPS VE INF-γ			ICAM-1/CD54 + seviyesinde düşme	(Vasandan ve diğerleri, 2016)

EK-17. (devam) MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

HA	direkt	insan BM	İnsan PBMC, THP-1 ve U937	poli(I:C)	HA	bağlantısının arttığı	(Kota ve diğerleri, 2014).
TLR							
TLR	Kültür medyumu	M1 yönünde plastisitesi sağlanan M1 makrofajlar	İnsan PBMC silika	oksidatif stres	mikro-RNA içeren mikrovesiküller	TLR ekspresyonunu inhibe ettiği	(Phinney ve diğerleri, 2015).
TLR2	transvel	insan BM	RAW 264.7	zimozan	TSG-6	CD44 ekspresyonunu arttırdığı, CD44'ün TLR2 sinyalini negatif etkilediği ve makrofajlardan TNF-α salgılamasını baskıladığı	
TLR2	direkt	fare BM	fare peritonyumundan elde edilen yangı ile ilgili makrofajlar (Thioglycolate Elicited Peritoneal Macrophages)			TLR2 ekspresyonun azaltması Tripanosoma Cruzi ile enfekte olduğu ve konakçıyı Tripanosoma Cruzi bulaşmasına karşı koruyamadığı	(Maggini ve diğerleri, 2010).
TLR3	transvel	İnsan BM	İnsan PBM	poli(I:C)	"yangı söndürücü MKH"/MKH2 PGE-2, IDO, NO, TGF-β, sHLAG, CCL5/RANTES ve IP-10/CXCL10'un salgılamasına	CD206+,CD163+, İL-6, İL-10 ve CCL18 salgılayan MEM yönünde plastisitesine	(Bernardo ve Fibbe, 2013; Glenn ve Whartenby, 2014; M. Krampera, 2011; Waterman ve diğerleri, 2010).
TLR3	direkt	İnsan BM	İ THP-1 ve U937 nsan PBMC	poli(I:C)	MKH'ların yüzeyindeki HA ekspreseyonun artması	MKH'ya yapışmanın artması	(Kota ve diğerleri, 2014)
TLR4				Düşük doz LPS	TRAIL, CXCL9, CXCL10, MIP-α, MIP1α, MIP–1β eksprese eden, CCL5 /RANTES, İL-1, İL-6 ve İL-8 T-hücresi aktivasyonunu baskılamayan MKH1	M1 plastisistesi	(Bernardo ve Fibbe, 2013; Glenn ve Whartenby, 2014; M. Krampera, 2011; Romieu-Mourez ve diğerleri, 2009; Y. Wang ve diğerleri, 2014;

EK-17. (devam) MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

TLR4		İnsan veya fare	İnsan veya fare	Yüksek dozda LPS		M2 plastisitesi	(E. Lombardo ve diğerleri, 2015),
TLR4	Kültür medyumu	LPS ile uyarılan insan UC-MKH'lardan elde edilen eksosomları içeren medyum	PMA/THP-1	LPS		TLR4 ve P65 düzeyinin azalırken pSTAT3 ve pAKT düzeyinin arttığı gösterilmiştir. AKT yolağı TLR4 ve Nf-κB yolağını baskılarken STAT3 aktivasyonu yangı söndürücü tipte MEM yönünde plastisiteye neden olan birçok yolağı aktive olduğu	(Ti ve diğerleri, 2015)
TLR4	transvel	Keme BM	NR8383	LPS	İL-6 salgıladığı	makrofajlarda STAT3 üzerinden SOCS3 aktivasyonu ile NF-κB'nin aktivasyonunu baskıladığını, CD80 ve CD86 ekspresyonun TNF-α, İNF-□, İL-2, İL-18, İL-7, İL-5, İL-1α ve İL-β seviyesinin azaldığı ve makrofajları MEM yönünde plastisitesine neden olduğu	
TLR	direkt	fare BM	thioglikolatın periton içine enjeksiyonu sonrasında elde edilen yangısal peritoneal makrofajlar	LPS		İNF-□ seviyesinin belirgin derecede azaldığı	(Maggini ve diğerleri, 2010)
TLR4	CLP	fare BM	fare	LPS		serumdaki TNF–α ve İL-6 seviyesinin azaldığı ve İL-10 seviyesinin arttığı, periferik kandaki monosit sayısının azaldığı, septik akciğerden izole edilen makrofajlarda İL-10 sekresyonun arttığı,	(Nemeth ve diğerleri, 2009)
TLR4	Transvel	fare BM	fare BM	LPS	PGE	İL-10	(Nemeth ve diğerleri, 2009)

EK-17. (devam) MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

TLR9	Transvel	fare BM	N9 CpG			CX3CR, NURR1, HOX1, PARP ve TNF-α mRNA seviyesinin düştüğü	(Giunti ve diğerleri, 2012)
CD MOLEKÜLLERİ							
CD11b	Transvel ve kültür medyumu	p-MKH	İnsan PBMC'dan	GM-CSF		CD11b ekspresyonun azaldığı	(Abumaree ve diğerleri, 2013; Arango Duque ve Descoteaux, 2014).
CD14	Transvel ve kültür medyumu	p-MKH	İnsan PBMC	GM-CSF		CD14 ekspresyonun arttığı	(Abumaree ve diğerleri, 2013; Arango Duque ve Descoteaux, 2014).
CD14	medyum	fare BM süpernatantı	Fare yangısal peritoneal makrofajlar			CD14'ün ekspresyonun azaldığı	(Maggini ve diğerleri, 2010)
CD36	Transvel ve kültür medyumu	p-MKH	İnsan PBMC	GM-CSF		CD36 ekspresyonun arttığı	(Abumaree ve diğerleri, 2013; Arango Duque ve Descoteaux, 2014).
CD36	transvel	insan BM	İnsan PBMC'den elde edilip M-CSF ile makrofajlara dönüştürülen makrofajlar	yok		CD36 ekspresyon yüzdesinin sıfırlandığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016),
CD36	transvel	insan BM	İnsan PBMC'den elde edilip M-CSF ile makrofajlara dönüştürülen makrofajlar İFN-γ ve LPS			CD36 eksprese etmedikleri	(Vasandan ve diğerleri, 2016),
CD36	transvel	insan BM	Monositik THP-1			CD36 ekspresyon seviyesinin belirgin derecede arttığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
CD36	transvel	insan BM	İnsan PBMC M-CSF İL-4			CD36 eksprese etmedikleri	(Vasandan ve diğerleri, 2016),

EK-17. (devam) MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

CD36	transvel	insan BM	PMA/THP-1			CD36 ekspresyon seviyesinin belirgin derecede arttığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
CD36	transvel	fare BM süpernatantı	Fare yangısal peritoneal makrofajlar			CD36 ekspresyonun azaldığı	(Maggini ve diğerleri, 2010)
CD40	Transvel ve kültür medyum u	p-MKH	İnsan PBMC	GM-CSF		CD40 ekspresyonun azaldığı	(Abumaree ve diğerleri, 2013; Arango Duque ve Descoteaux, 2014).
CD40		Fare BM	LPS ile uyarılan BV2 hücreleri (Fare Mikroglial Hücre Dizisi)			CD40 ekspresyonu baskıladığı	(Ooi, Ramasamy, Rahmat, Subramaiam, Tan, Abdullah, Israf ve Vidyadaran, 2010).
CD64	ile miks lenfosit reaoksiyo nu	İnsan BM	insan PBMC			CD14(++) CD16(+) CD64(++) aktive monositlerin CD14(++) CD16(-) CD64(+) M1 makrofajlara dönüşümünü engellediği	(Du Rocher, Mencalha, Gomes ve Abdelhay, 2012; Hristodorov ve diğerleri, 2015).
CD80	Transvel ve kültür medyum u	p-MKH	İnsan PBMC	GM-CSF		CD80 ekspresyonun azaldığı	(Abumaree ve diğerleri, 2013).
CD80	transvel	insan BM	İnsan PBMC M-CSF			CD80 eksprese etmedikleri	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
CD80	transvel	insan BM	İnsan PBMC M-CSF İNF- ve LPS			CD80 ekspresyon seviyesinin %3'lere düştüğü	Vasandan ve diğerleri, 2016)
CD80	transvel	insan BM	PMA/THP-1 LPS ve İFN-γ			yüksek düzeyde CD80 eksprese ettikleri	Vasandan ve diğerleri, 2016)
CD80	transvel	insan BM	İnsan PBMC M-CSF İL-4			CD80 eksprese etmedikleri	(Vasandan ve diğerleri, 2016)

EK-17. (devam) MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

CD80	transvel	keme BM	NR8383	LPS		CD80 ekspresyonun azaldığı	(H. J. Zhang ve diğerleri, 2016)
CD86	Transvel ve kültür medyumu	p-MKH	İnsan PBMC	GM-CSF		CD86 ekspresyonun azaldığı	(Abumaree ve diğerleri, 2013).
CD86	transvel	insan BM	İnsan PBMC M-CSF	yok		CD86 ekspresyon seviyesinin daha da arttığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
CD86	transvel	insan BM	Monositik THP-1	yok		CD86 eksprese etmedikleri	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
CD86	transvel	insan BM	PMA/THP-1	yok		CD86 ekspresyon seviyesinde azalarak sıfır düzeyine düştüğü	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
CD86	transvel	insan BM	İnsan PBMC M-CSF İNF- ve LPS			CD86 ekspresyon seviyesinin düştüğü	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
CD86	transvel	insan BM	PMA/THP-1 İNF- ve LPS			CD86 eksprese etmeye devam etmekle birlikte ekspresyon seviyesinin belirgin düzeyde azaldığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
CD86	transvel	insan BM	İnsan PBMC M-CSF İL-4			CD86 ekspresyon seviyesin kültüre edilmemiş olanla aynı oranlarda ve M1 göre daha düşük seviyede olduğu	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
CD86	transvel	insan G-	PMA/THP-1			CD86 ekspresyonun arttığı	(Q. Z. Zhang ve diğerleri, 2010)
CD86	direkt	fare BM	yangısal peritoneal makrofajlar	LPS		CD86 ekspresyonun azaldığı	(Maggini ve diğerleri, 2010)
CD86	Fare deri yangı modelinde	fare BM	fare	Steril yangı		yangı alanına göç eden makrofajların sayısının arttığı bunların CD86 düşük düzeyde eksprese ettikleri	(Maggini ve diğerleri, 2010)
CD86	transvel	kemelerin BM	NR8383	LPS	İL-6	CD86 ekspresyonuna engel olduğu	(Q. Z. Zhang ve diğerleri, 2010)

EK-17. (devam) MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

CD16	Miks lenfosit reaksiyonu	insanBM	İnsan PBNC			CD14(++) CD16(-) CD64(+) olarak tanımlanan klasik monosit oluşumunu azaltarak CD14(++) CD16(+) CD64(++) olarak tanımlanan aktive monosit oluşumunu arttırdığı	(Du Rocher ve diğerleri, 2012),
CD16	transvel	İnsan AT	insan PBMC	yok		makrofajlarda CD16 ekspresyonun arttığı	(Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013).
CD68	Kronik tıkayıcı akciğer hastalığının keme modelinde (chronic obstructive pulmonary disease (COPD))	keme BM	keme	sigara		akciğer dokusunda CD68+ makrofajların varlığının, yangı ve amfizem oluşumunun azaldığı	(W. Gu, Song, Li, Wang, Guo ve Xu, 2015)
CD68	transvel	insan BM	THP-1	yok		CD68 ekspresyonun arttığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
CD163	Transvel ve kültür medyumu	p-MKH	İnsan PBMC	GM-CSF		yüksek düzeyde CD163 eksprese edildiği	(Abumaree ve diğerleri, 2013).
CD163	transvel	insan PBMC	İnsan AT			CD163 ekspresyonun arttığı	(Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013)
CD163	kültür medyumu	LPS ile uyarılan insan UC-MKH'lardan elde edilen eksosomları içeren medyumla	PMA/THP-1	yüksek glikozlu bir ortamda		CD163 ekspresyonun arttığı	(Ti ve diğerleri, 2015)
CD163	transvel	insan BM	PMA/THP-1			CD163 ekspresyonun arttığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016),
CD163	transvel	insan BM	İnsan PBMC M-CSF İFN–γ ve LPS			CD163 eksprese etmedikleri	(Vasandan ve diğerleri, 2016),

EK-17. (devam) MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

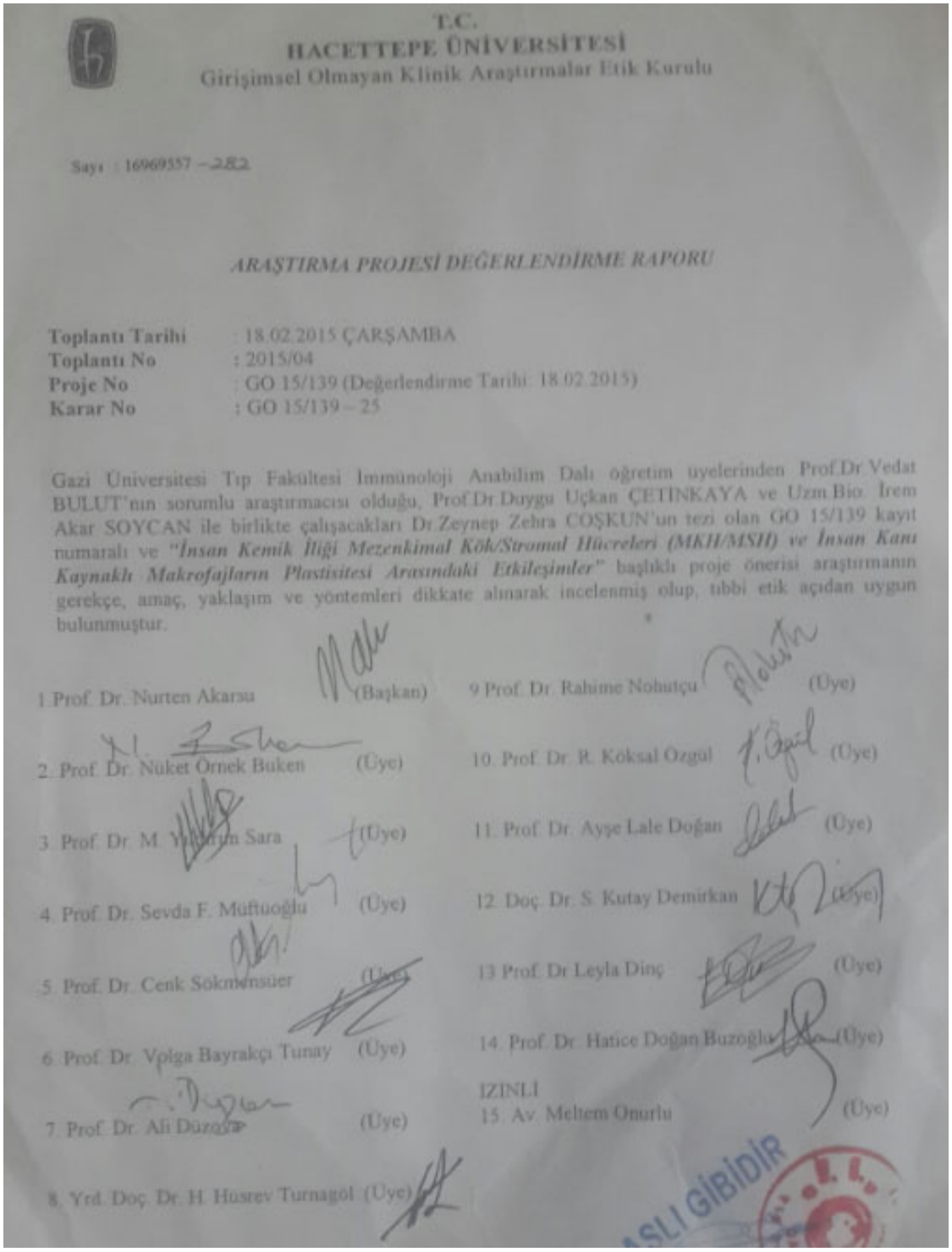
CD163	transvel	insan BM	İnsan PBMC M-CSF İL-4			CD163 seviyesinde artış	(Vasandan ve diğerleri, 2016),
CD163	transvel	insan BM	PMA/THP-1 İL-4			CD163 seviyesinde artış	(Vasandan ve diğerleri, 2016),
CD204	Transvel ve kültür medyumu	p-MKH	İnsan PBMC	GM-CSF		CD204 ekspresyonun arttığı	(Abumaree ve diğerleri, 2013).
CD205	transvel	PMA/THP-1	insan BM	yok		CD205 eksprese ettikleri	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
CD206	Transvel ve kültür medyumu	p-MKH	İnsan PBMC	GM-CSF		CD206 ekspresyonun arttığı	(Abumaree ve diğerleri, 2013).
CD206	direkt	G-MKH	insan PBMC	yok		CD206 ekspresyonun arttığı	(Q. Z. Zhang ve diğerleri, 2010)
CD206	transvel	İnsan AT	insan PBMC			CD206 ekspresyonun arttığı	(Adutler-Lieber ve diğerleri, 2013)
CD206	transvel	insan BM	İnsan PBMC			CD206 seviyesinin düştüğü	(Vasandan ve diğerleri, 2016
CD206	transvel	insan BM	THP-1			CD206 mRNA seviyenin hafif bir şekilde arttığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
CD206	transvel	insan BM	PMA/THP-1			CD206 mRNA seviyenin arttığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
CD206	transvel	insan BM	İnsan PBMC M-CSF İFN-γ ve LPS			CD206 ekspresyon seviyesinin belirgin derecede arttığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
CD206	transvel	insan BM	İnsan PBMC M-CSF İL-4			CD206 ekspresyon seviyesinin arttığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016)
CD206	transvel	insan BM	PMA/THP-1	İL-4		CD206 mRNA seviyesinin arttığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016)

EK-17. (devam) MKH ve makrofaj ko-kültürlerinde immüm molekül seviyelerinin değişimi

CD206	transvel	keme BM	NR8383	LPS	İL-6	NF-κB aktivasyonu CD206 mRNA transkripsiyonuna ve CD206 yüzeyde ekspresyonuna neden olduğu	(H. J. Zhang ve diğerleri, 2016)
CD206	transvel	fare BM	Fare BM M-CSF	İL-4		CD206 ekspresyonun arttığı	(Cho ve diğerleri, 2014)
CD206	Pankreatik kanserin genetik mühendislikle hazılanan fare modelinde	CA-MKH	Fare tümör dokusu	tümör		tümör dokusu incelendiğinde CD206 ekspresyonun arttığı	(Mathew ve diğerleri, 2016)
CD209	transvel	insan BM	İnsan PBMC M-CSF			CD209/DC-SIGN mRNA transkribsiyon seviyesinin arttığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016),
CD209	transvel	insan BM	İnsan PBMC M-CSF İNF-□ ve LPS			CD209/DC-SIGN mRNA transkribsiyon seviyesinin arttığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016),
CD209	transvel	insan BM	İnsan PBMC M-CSF İL-4			CD209/DC-SIGN mRNA transcribsiyon seviyesinin M1 plastisitesine göre çok yükseldiği ama M2 koşullarında transvel öncesi ve sonrası hemen hemen aynı olduğu	(Vasandan ve diğerleri, 2016),
CD209	Direkt ve transvel	insan G	PMA/THP-1	LPS ve İNF-γ		CD209/DC-SIGN ekspresyonunu arttırdıkları	(Q. Z. Zhang ve diğerleri, 2010)
CD209	transvel	insan BM	THP-1			CD209/DC-SIGN mRNA seviyenin arttığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016),
CD209	transvel	insan BM	PMA/THP-1			CD209/DC-SIGN mRNA düştüğü	(Vasandan ve diğerleri, 2016),
CD209	transvel	insan BM	PMA/THP-1 İL-4			CD209/DC-SIGN mRNA çok belirgin bir şekilde arttığı	(Vasandan ve diğerleri, 2016),

EK-18. Etik kurul kararı

18.02.2015 tarih ve GO15/139-25 karar numaralı Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun Kararı aşağıda eklenmiştir.



T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557 – 282

ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 18.02.2015 ÇARŞAMBA
Toplantı No : 2015/04
Proje No : GO 15/139 (Değerlendirme Tarihi: 18.02.2015)
Karar No : GO 15/139 – 25

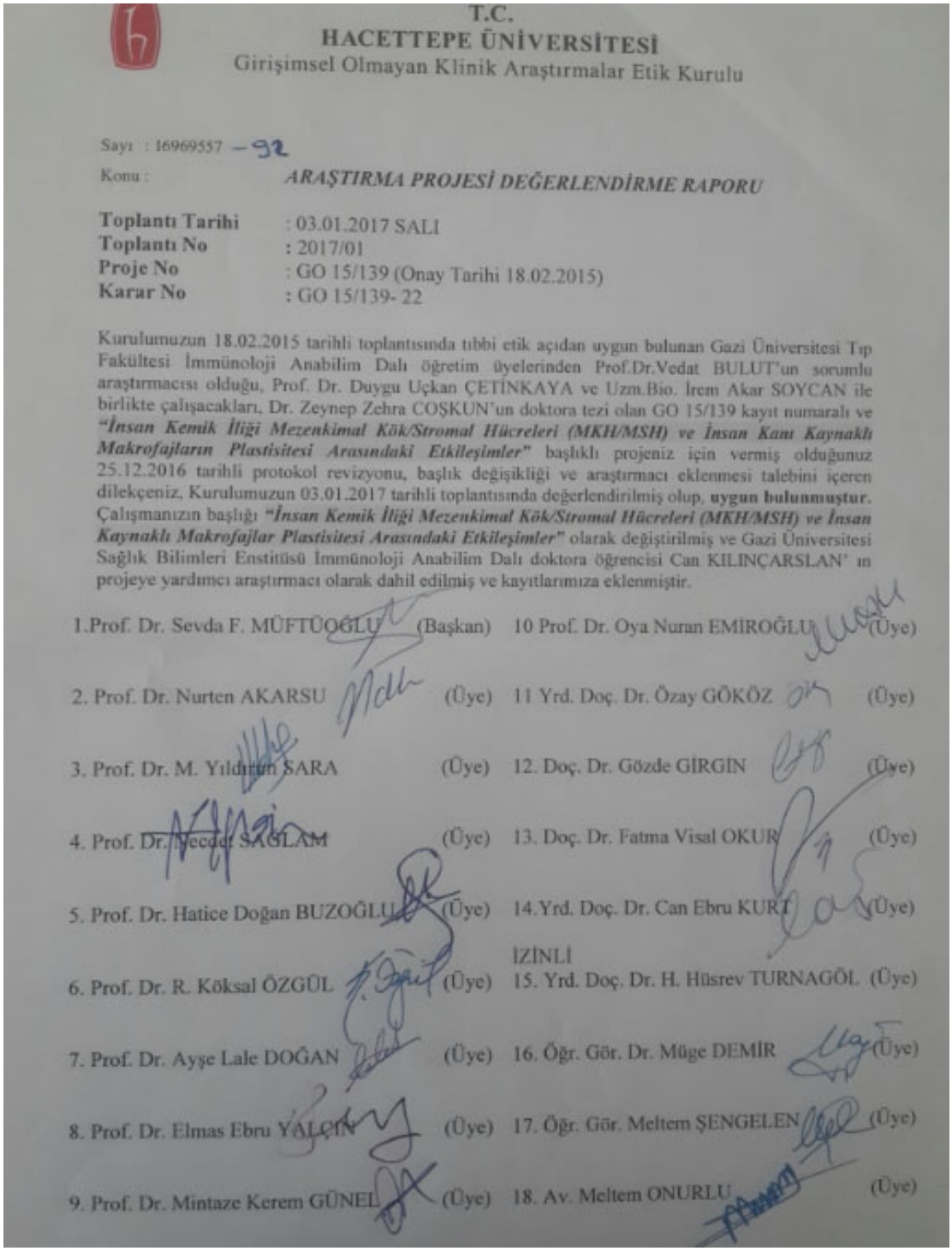
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof.Dr.Vedat BULUT'nın sorumlu araştırmacısı olduğu, Prof.Dr.Duygu Uçkan ÇETİNKAYA ve Uzm.Bio. İrem Akar SOYCAN ile birlikte çalışacakları Dr.Zeynep Zehra COŞKUN'un tezi olan GO 15/139 kayıt numaralı ve ***"İnsan Kemik İliği Mezenkimal Kök/Stromal Hücreleri (MKH/MSH) ve İnsan Kanı Kaynaklı Makrofajların Plastisitesi Arasındaki Etkileşimler"*** başlıklı proje önerisi araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, tıbbi etik açıdan uygun bulunmuştur.

1. Prof. Dr. Nurten Akarsu (Başkan)
2. Prof. Dr. Nüket Örnek Buken (Üye)
3. Prof. Dr. M. Yıldırım Sara (Üye)
4. Prof. Dr. Sevda F. Müftüoğlu (Üye)
5. Prof. Dr. Cenk Sökmensüer (Üye)
6. Prof. Dr. Volga Bayrakçı Tunay (Üye)
7. Prof. Dr. Ali Düzgün (Üye)
8. Yrd. Doç. Dr. H. Hüsrev Turnagöl (Üye)
9. Prof. Dr. Rahime Nohutçu (Üye)
10. Prof. Dr. R. Köksal Özgül (Üye)
11. Prof. Dr. Ayşe Lale Doğan (Üye)
12. Doç. Dr. S. Kutay Demirkan (Üye)
13. Prof. Dr. Leyla Dinç (Üye)
14. Prof. Dr. Hatice Doğan Buzoğlu (Üye)
15. Av. Meltem Onurlu (İZİNLİ) (Üye)

ASLI GİBİDİR

EK-19. Etik kurul'un revizyon kararı

03.01.2017 tarih ve GO15/139-22 karar numaralı Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun revizyon kararı aşağıda eklenmiştir.



T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557 – 92
Konu : *ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU*

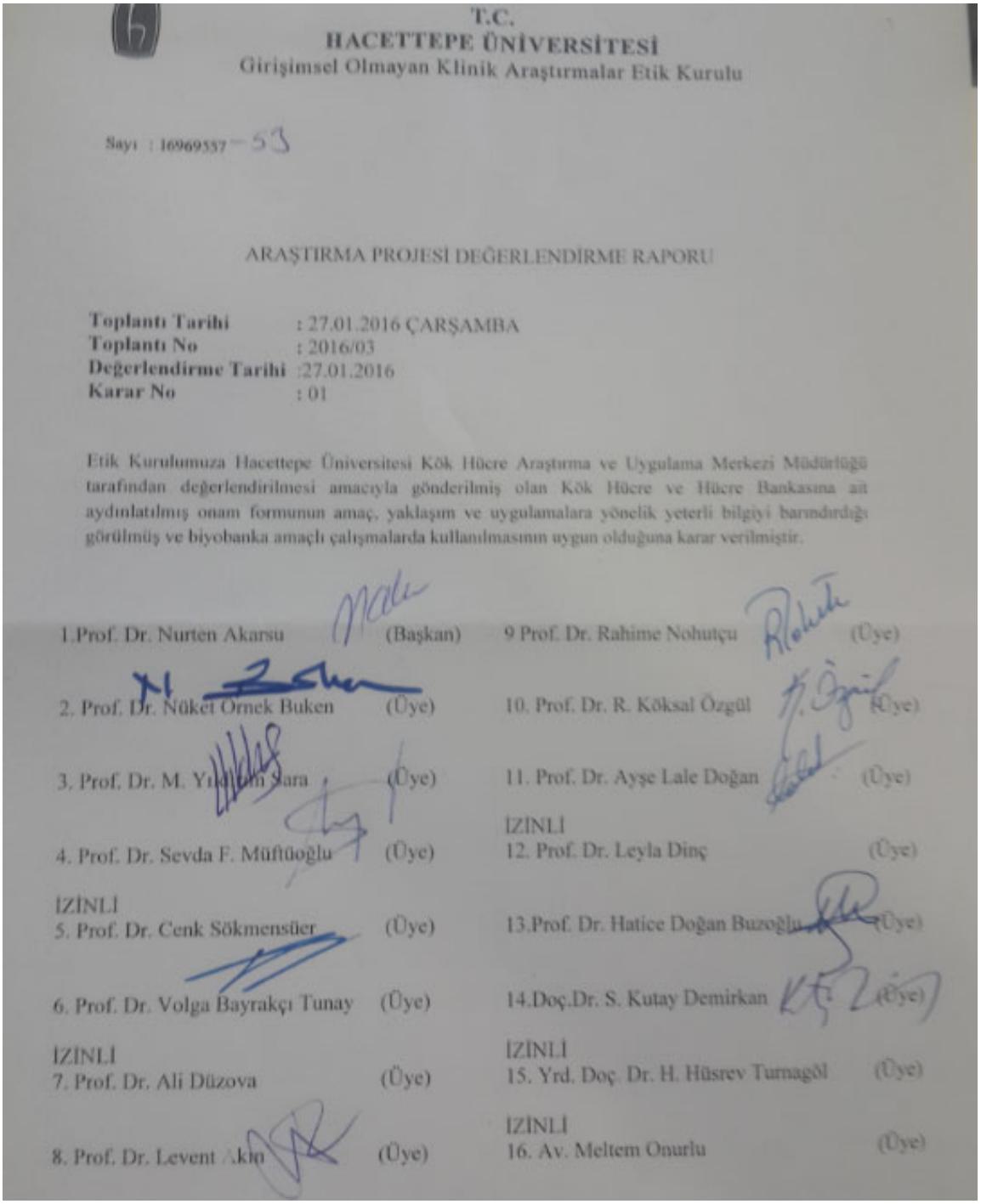
Toplantı Tarihi : 03.01.2017 SALI
Toplantı No : 2017/01
Proje No : GO 15/139 (Onay Tarihi 18.02.2015)
Karar No : GO 15/139- 22

Kurulumuzun 18.02.2015 tarihli toplantısında tıbbi etik açıdan uygun bulunan Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof.Dr.Vedat BULUT'un sorumlu araştırmacısı olduğu, Prof. Dr. Duygu Uçkan ÇETİNKAYA ve Uzm.Bio. İrem Akar SOYCAN ile birlikte çalışacakları, Dr. Zeynep Zehra COŞKUN'un doktora tezi olan GO 15/139 kayıt numaralı ve ***"İnsan Kemik İliği Mezenkimal Kök/Stromal Hücreleri (MKH/MSH) ve İnsan Kanı Kaynaklı Makrofajların Plastisitesi Arasındaki Etkileşimler"*** başlıklı projeniz için vermiş olduğunuz 25.12.2016 tarihli protokol revizyonu, başlık değişikliği ve araştırmacı eklenmesi talebini içeren dilekçeniz, Kurulumuzun 03.01.2017 tarihli toplantısında değerlendirilmiş olup, **uygun bulunmuştur.** Çalışmanızın başlığı ***"İnsan Kemik İliği Mezenkimal Kök/Stromal Hücreleri (MKH/MSH) ve İnsan Kaynaklı Makrofajlar Plastisitesi Arasındaki Etkileşimler"*** olarak değiştirilmiş ve Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İmmünoloji Anabilim Dalı doktora öğrencisi Can KILINÇARSLAN' ın projeye yardımcı araştırmacı olarak dahil edilmiş ve kayıtlarımıza eklenmiştir.

1.Prof. Dr. Sevda F. MÜFTÜOĞLU	(Başkan)	10 Prof. Dr. Oya Nuran EMİROĞLU	(Üye)
2. Prof. Dr. Nurten AKARSU	(Üye)	11 Yrd. Doç. Dr. Özay GÖKÖZ	(Üye)
3. Prof. Dr. M. Yıldırım SARA	(Üye)	12. Doç. Dr. Gözde GİRGİN	(Üye)
4. Prof. Dr. Necdet SAĞLAM	(Üye)	13. Doç. Dr. Fatma Visal OKUR	(Üye)
5. Prof. Dr. Hatice Doğan BUZOĞLU	(Üye)	14.Yrd. Doç. Dr. Can Ebru KURT	(Üye)
6. Prof. Dr. R. Köksal ÖZGÜL	(Üye)	İZİNLİ 15. Yrd. Doç. Dr. H. Hüsrev TURNAGÖL	(Üye)
7. Prof. Dr. Ayşe Lale DOĞAN	(Üye)	16. Öğr. Gör. Dr. Müge DEMİR	(Üye)
8. Prof. Dr. Elmas Ebru YALÇIN	(Üye)	17. Öğr. Gör. Meltem ŞENGELEN	(Üye)
9. Prof. Dr. Mintaze Kerem GÜNEL	(Üye)	18. Av. Meltem ONURLU	(Üye)

EK-20. Biobanka onam kararı

27.01.2016 tarih ve 01 karar numaralı Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun biobanka onam kararı aşağıda eklenmiştir.



T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557-53

ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

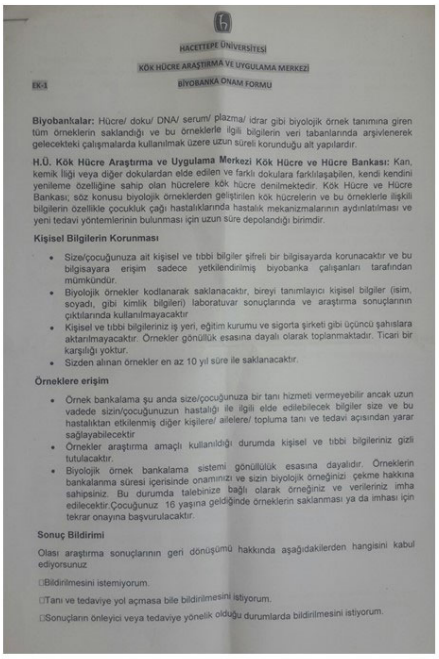
Toplantı Tarihi : 27.01.2016 ÇARŞAMBA
Toplantı No : 2016/03
Değerlendirme Tarihi :27.01.2016
Karar No : 01

Etik Kurulumuza Hacettepe Üniversitesi Kök Hücre Araştırma ve Uygulama Merkezi Müdürlüğü tarafından değerlendirilmesi amacıyla gönderilmiş olan Kök Hücre ve Hücre Bankasına ait aydınlatılmış onam formunun amaç, yaklaşım ve uygulamalara yönelik yeterli bilgiyi barındırdığı görülmüş ve biyobanka amaçlı çalışmalarda kullanılmasının uygun olduğuna karar verilmiştir.

1.Prof. Dr. Nurten Akarsu (Başkan)
2. Prof. Dr. Nüket Örnek Buken (Üye)
3. Prof. Dr. M. Yıldırım Sara (Üye)
4. Prof. Dr. Sevda F. Müftüoğlu (Üye)
İZİNLİ
5. Prof. Dr. Cenk Sökmensüer (Üye)
6. Prof. Dr. Volga Bayrakçı Tunay (Üye)
İZİNLİ
7. Prof. Dr. Ali Düzova (Üye)
8. Prof. Dr. Levent Akın (Üye)
9 Prof. Dr. Rahime Nohutçu (Üye)
10. Prof. Dr. R. Köksal Özgül (Üye)
11. Prof. Dr. Ayşe Lale Doğan (Üye)
İZİNLİ
12. Prof. Dr. Leyla Dinç (Üye)
13.Prof. Dr. Hatice Doğan Buzoğlu (Üye)
14.Doç.Dr. S. Kutay Demirkan (Üye)
İZİNLİ
15. Yrd. Doç. Dr. H. Hüsrev Turnagöl (Üye)
İZİNLİ
16. Av. Meltem Onurlu (Üye)

EK-21. Biobanka tıbbi onam formu

27.01.2016 tarih ve 01 karar numarası ile Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun onayladığı biobanka onam formu aşağıya eklenmiştir.



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

KÖK HÜCRE ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ

EK-3 BİYOBANKA ONAM FORMU

Biyobankalar: Hücre/ doku/ DNA/ serum/ plazma/ idrar gibi biyolojik örnek tanımına giren tüm örneklerin saklandığı ve bu örneklerle ilgili bilgilerin veri tabanlarında arşivlenerek gelecekteki çalışmalarda kullanılmak üzere uzun süreli korunduğu alt yapılardır.

H.Ü. Kök Hücre Araştırma ve Uygulama Merkezi Kök Hücre ve Hücre Bankası: Kan, kemik iliği veya diğer dokulardan elde edilen ve farklı dokulara farklılaşabilen, kendi kendini yenileme özelliğine sahip olan hücrelere kök hücre denilmektedir. Kök Hücre ve Hücre Bankası; söz konusu biyolojik örneklerden geliştirilen kök hücrelerin ve bu örneklerle ilişkili bilgilerin özellikle çocukluk çağı hastalıklarında hastalık mekanizmalarının aydınlatılması ve yeni tedavi yöntemlerinin bulunması için uzun süre depolandığı birimdir.

Kişisel Bilgilerin Korunması

- Size/çocuğunuza ait kişisel ve tıbbi bilgiler şifreli bir bilgisayarda korunacaktır ve bu bilgisayara erişim sadece yetkilendirilmiş biyobanka çalışanları tarafından mümkündür.
- Biyolojik örnekler kodlanarak saklanacaktır, bireyi tanımlayıcı kişisel bilgiler (isim, soyadı, gibi kimlik bilgileri) laboratuvar sonuçlarında ve araştırma sonuçlarının çıktılarında kullanılmayacaktır.
- Kişisel ve tıbbi bilgileriniz iş yeri, eğitim kurumu ve sigorta şirketi gibi üçüncü şahıslara aktarılmayacaktır. Örnekler gönüllülük esasına dayalı olarak toplanmaktadır. Ticari bir karşılığı yoktur.
- Sizden alınan örnekler en az 10 yıl süre ile saklanacaktır.

Örneklere erişim

- Örnek bankalama şu anda size/çocuğunuza bir tanı hizmeti vermeyebilir ancak uzun vadede sizin/çocuğunuzun hastalığı ile ilgili elde edilebilecek bilgiler size ve bu hastalıktan etkilenmiş diğer kişilere/ ailelere/ topluma tanı ve tedavi açısından yarar sağlayabilecektir
- Örnekler araştırma amaçlı kullanıldığı durumda kişisel ve tıbbi bilgileriniz gizli tutulacaktır.
- Biyolojik örnek bankalama sistemi gönüllülük esasına dayalıdır. Örneklerin bankalanma süresi içerisinde onamınızı ve sizin biyolojik örneğinizi çekme hakkına sahipsiniz. Bu durumda talebinize bağlı olarak örneğiniz ve verileriniz imha edilecektir.Çocuğunuz 16 yaşına geldiğinde örneklerin saklanması ya da imhası için tekrar onayına başvurulacaktır.

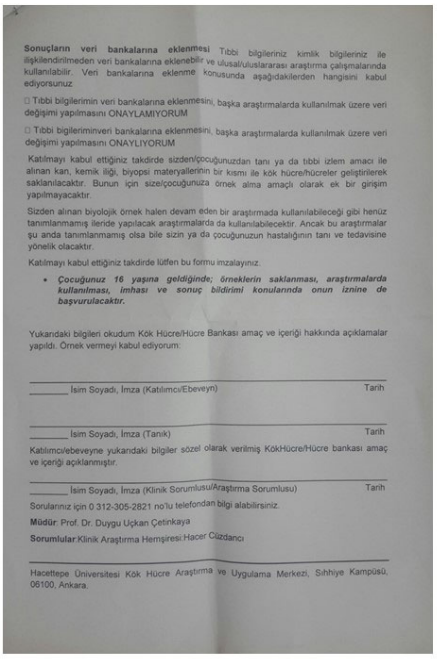
Sonuç Bildirimi

Olası araştırma sonuçlarının geri dönüşümü hakkında aşağıdakilerden hangisini kabul ediyorsunuz

☐Bildirilmesini istemiyorum.

☐Tanı ve tedaviye yol açmasa bile bildirilmesini istiyorum.

☐Sonuçların önleyici veya tedaviye yönelik olduğu durumlarda bildirilmesini istiyorum.



Sonuçların veri bankalarına eklenmesi Tıbbi bilgileriniz kimlik bilgileriniz ile ilişkilendirilmeden veri bankalarına eklenebilir ve ulusal/uluslararası araştırma çalışmalarında kullanılabilir. Veri bankalarına eklenme konusunda aşağıdakilerden hangisini kabul ediyorsunuz

☐ Tıbbi bilgilerimin veri bankalarına eklenmesini, başka araştırmalarda kullanılmak üzere veri değişimi yapılmasını ONAYLAMIYORUM

☐ Tıbbi bigilerininveri bankalarına eklenmesini, başka araştırmalarda kullanılmak üzere veri değişimi yapılmasını ONAYLIYORUM

Katılmayı kabul ettiğiniz takdirde sizden/çocuğunuzdan tanı ya da tıbbi izlem amacı ile alınan kan, kemik iliği, biyopsi materyallerinin bir kısmı ile kök hücre/hücreler geliştirilerek saklanılacaktır. Bunun için size/çocuğunuza örnek alma amaçlı olarak ek bir girişim yapılmayacaktır.

Sizden alınan biyolojik örnek halen devam eden bir araştırmada kullanılabileceği gibi henüz tanımlanmamış ileride yapılacak araştırmalarda da kullanılabilecektir. Ancak bu araştırmalar şu anda tanımlanmamış olsa bile sizin ya da çocuğunuzun hastalığının tanı ve tedavisine yönelik olacaktır.

Katılmayı kabul ettiğiniz takdirde lütfen bu formu imzalayınız.

- ***Çocuğunuz 16 yaşına geldiğinde; örneklerin saklanması, araştırmalarda kullanılması, imhası ve sonuç bildirimi konularında onun iznine de başvurulacaktır.***

Yukarıdaki bilgileri okudum Kök Hücre/Hücre Bankası amaç ve içeriği hakkında açıklamalar yapıldı. Örnek vermeyi kabul ediyorum:

_____

_____ İsim Soyadı, İmza (Katılımcı/Ebeveyn) Tarih

_____

_____ İsim Soyadı, İmza (Tanık) Tarih

Katılımcı/ebeveyne yukarıdaki bilgiler sözel olarak verilmiş KökHücre/Hücre bankası amaç ve içeriği açıklanmıştır.

_____

_____ İsim Soyadı, İmza (Klinik Sorumlusu/Araştırma Sorumlusu) Tarih

Sorularınız için 0 312-305-2821 no'lu telefondan bilgi alabilirsiniz.

Müdür: Prof. Dr. Duygu Uçkan Çetinkaya

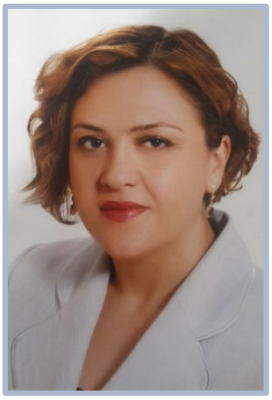
Sorumlular:Klinik Araştırma Hemşiresi:Hacer Cizdancı

_____

Hacettepe Üniversitesi Kök Hücre Araştırma ve Uygulama Merkezi, Sıhhiye Kampüsü, 06100, Ankara.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler



Soyadı, adı : COŞKUN Zeynep Zehra

Uyruğu : T.C. Vatandaşı / USA Green Card

Doğum tarihi ve yeri : 10.06.1972 Üsküdar / İstanbul

Medeni hali : Bekar

Telefon : 0 (507) 941-7288

e-mail : zeynepzehracoskun@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi/ İmmünoloji	Devam ediyor
Lisans	Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi	1995

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2000-2003	İmmunoloji Bölümü İmmunoloji Laboratuvarı Baylor Tıp Fakültesi	Postdoctoral Research Ass.
2003-2006	Houston, Texas Eyaleti, ABD Patoloji Bölümü İmmünopatholoji Laboratuvarı Baylor Tıp Fakültesi	Postdoctoral Research Ass.
2006-2007	Houston, Texas Eyaleti, ABD 3 nolu Merkez Sağlık Ocağı Şereflikoçhisar, Ankara	Sağlık Ocağı Hekimi
2007-2010	T.C.S.B. Tedavi Hizmetleri Genel Müdürlüğü Doku ve Hücre Nakli Hizmetleri Şubesi	Türkiye Kök Hücre Koordinasyon Merkezi Proje Lideri Şube Müdürü
2010-2012	T.C.S.B. Ankara Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hematoloji Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi	KİT Ünitesi Koordinatörü Organ ve Doku Nakli Koordinatörü
2012-2017	T.C.S.B. Sağlık Araştırmaları Genel Müdürlüğü, Araştırma ve Sağlık Sistemleri Geliştirme Dairesi	Uluslararası Araştırmalar Koordinatörü

2018	T.C.S.B. Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, ArGE ve Sağlık Sistemleri Geliştirme Dairesi	Koordinatör
2018	T.C.S.B. Sağlık Hizmetleri Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, TÜRKÖK	TÜRKÖK Sorumlu

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Singh, P., Coskun, Z. Z., Goode, C., Dean, A., Thompson-Snipes, L., and Darlington, G. (2008). Lymphoid neogenesis and immune infiltration in aged liver. *Hepatology*, *47*(5), 1680-1690.

Zheng, B., Coskun (Ozen), Z., Zhang, X., De Silva, S., Marinova, E., Guo, L., and Han, S. (2005). CXCL13 neutralization reduces the severity of collagen-induced arthritis. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, *52*(2), 620-626.

Han, S., Zhang, X., Marinova, E., Coskun (Ozen), Z.Z., Bheekha-Escura, R., Guo, L., and Zheng, B. (2005). Blockade of lymphotoxin pathway exacerbates autoimmune arthritis by enhancing the Th1 response. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, *52*(10), 3202-3209.

Chagnon, F., Tanguay, S., Ozdal, O. L., Guan, M., Coskun (Ozen), Z. Z., Ripeau, J. S., and Thompson-Snipes, L. A. (2005). Potentiation of a dendritic cell vaccine for murine renal cell carcinoma by CpG oligonucleotides. *Clinical cancer research*, *11*(3), 1302-1311.

Coskun, A. K., Sutton, R. E. (2005). Expression of glucose transporter 1 confers susceptibility to human T-cell leukemia virus envelope-mediated fusion. *Journal of Virology*, *79*(7), 4150-4158.

Han, S., Yang, K., Ozen, Z., Peng, W., Marinova, E., Kelsoe, G., & Zheng, B. (2003). Enhanced differentiation of splenic plasma cells but diminished long-lived high-affinity bone marrow plasma cells in aged mice. *The Journal of Immunology*, *170*(3), 1267-1273.

Zheng, B., Coskun (Ozen), Z. Z., Cao, S., Zhang, Y., and Han, S. (2002). CD4-deficient T helper cells are capable of supporting somatic hypermutation and affinity maturation of germinal center B cells. *European journal of immunology*, *32*(11), 3315-3325.

Diğer Eğitim Bilgileri ve Sertifikalar

- 2013, Deney Hayvanı üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, T.C.S.B Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı, Ankara

- 2011, Allerjik Hastalıklar ve İmmün Yetmezlikli Olgulara Yaklaşım Kursu, Türkiye Ulusal Allerji ve Klinik İmmunoloji Derneği, Antalya

- 2011, Allerjik Sık Karşılaşılan Sorunlara Pratik Yaklaşım Kursu, Türkiye Ulusal Allerji ve Klinik İmmunoloji Derneği, Antalya

- 2011, T.C.S.B. Organ ve Doku Nakli Koordinatörlüğü Eğitimi, T.C.S.B., Antalya

- 2010, Akım Sitometri Kursu, Transplantasyon İmmunolojisi ve Genetiği Derneği, Bodrum

- 2009, Aile Hekimliği 1. Aşama Uyum Eğitimi, T.C.S.B. Ankara İl Sağlık Müdürlüğü, Ankara

- 2008, Klinik Araştırmalarında Etik Yaklaşım ve Düşünceler Kursu, T.C.S.B. İlaç Eczacılık Genel Müdürlüğü, Ankara

- 2008, Proje Süreç Eğitimi, Avrupa Birliği Koordinasyon Dairesi Başkanlığı, T.C.S.B. Dış İlişkiler Ve Avrupa Birliği Genel Müdürlüğü, Ankara

- 2008, Avrupa Birliği Temel Eğitim Kursu, Avrupa Toplulukları Araştırma ve Uygulama Merkez (ATAUM), Ankara Üniversitesi, Ankara

- 2007, İşyeri Hekimliği Kursu, Ankara Tabipler Odası, Ankara

- 2007, Diyaliz Doktorluğu Eğitimi, Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi ve T.C.S.B. Ortak Eğitimi, Ankara

- 2004, Hayvan Araştırmaları Temel Eğitim Kursu, Baylor Tıp Fakültesinin Hayvan Bakımı Ve Kullanımı Komitesi, Baylor Tıp Fakültesi, Houston, Amerika (Certification of completion introduction to animal research) (Intuitional animal care and use committee at BCM)

- 2004, Hayvan Cerrahisi Kursu, Baylor Tıp Fakültesi Hayvan Bakımı Ve Kullanımı Komitesi, Baylor Tıp Fakültesi, Houston, USA (Certification of completion aspects of anesthesia / animal surgery) (Intuitional animal care and use committee at BCM)

- 2001, Amerikan Sağlık Enistüsünün Rehberlerine Göre Düzenlenmiş Araştırma Etiği Eğitim Programı, Baylor Tıp Fakültesi, Houston, Amerika (Research Ethics Training Program In Accordance with the guidelines of instruction established by the National Institutes of Health)

Ödüller:

- 2004 ve 2005, Fuloresan İmmunohistokemistry Çalışmasının Kapak Olarak Seçilmesi: Gulf Coast Gastrointestinal Sistem Arastırma Formu, The Texas Medical Center Digestive Diseases Center (DDC), League City,Texas, Amerika (Gulf Coast GI Research Form)

- 2004, Kongreye Katılım Bursu, Klinik İmmunoloji Federasyonunun 4. Yıllık Konferansı ve 12.Uluslararası İmmunoloji Kongresi, Montreal, Kanada (12th International Congress of Immunology and 4th Annual Conference of the Federation of Clinical Immunology Societies Montréal, Quebec, Canada)

Dinleyici Olarak Katılım:

- 2018,……..7. Kök Hücre Sempozyumu, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Marmara Üniversitesi Spor Bilimleri Fakültesi ve Kök Hücre ve Hücresel Tedavi Derneği, İstanbul

- 2014, Kök Hücre Günü 2014, Hacettepe Üniversitesi Kök Hücre Araştırma ve Uygulama Merkezi, Ankara

- 2013, Diyabet ve Kansere İmmünolojik Yaklaşım; Pankreas Adacık Hücre Araştırmaları 5. Sempozyumu, Dışkapı Yıldırım Beyazıt EAH, Ankara

- 2013, Kök Hücre Günü 2013, Hacettepe Üniversitesi Kök Hücre Araştırma ve Uygulama Merkezi, Ankara

- 2012, Türk İmmünoloji Derneği Bölgesel Sempozyumları VIII, Tıbbi Biyoloji ABD ve Türk İmmünoloji Derneği, Kahramanmaraş Sütçü İmam ÜTF, Kahramanmaraş

- 2011, II. Kök Hücre Kursu ve VI Kök Hücre Sempozyumu, Türkiye Bilimler Akademisi (TÜBA), Ankara ÜTF, Ankara

- 2010, 5. Hemaferez Kongresi, Aferez Derneği, Kaya Artemiss Otel, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti

- 2010, 2. Ulusal Transplantasyon İmmünolojisi ve Genetiği Kongresi, Transplantasyon immünolojisi ve Genetiği Derneği, Princess Deluxe Resort & SPA, Bodrum

- 2009, I. Ulusal Hücresel Tedavi Ve Rejeneratif Tıp Kongresi, Hücresel Tedavi ve Rejeneratif Tıp Derneği, Dedeman Otel, Kapodokya

- 2009, Polonya'nın Ulusal Kemik İliği Bankasının 15 Yıl dönümü Münasebetiyle Düzenlenen Transplantasyonda Verici/Alıcı Uyumu Ve Hücresel Tedavi Kongresi, (Donor Recipient Matching and Cellular Therapy in Transplantation: Technological and Clinical Aspects), Polish Society for Immunologenetics, Wroclaw, Poland

- 2008, Amerikan Hematoloji Birliğinin 50. Yıl Kongresi, (50 th ASH Annual Meeting) American Society of Hematology, San Farncisco California Eyaleti, Amerika Birleşik Devleti

- 2008, 22. Avrupa İmmunogenetik ve Histokompatibiliti Konferansı, (22nd European Immunogenetics and Histocompatibility Conference), Federatıon Europeenne D'ımmunogenetıque, Toulouse, Fransa

- 2007, JACIE Information Day, The Joint Accreditation Committee-ISCT, Ankara

- 2007, Hekim ve Hemşireler İçin Damar Yolu Paneli, GATA Nefroloji Bilim Dalı, Ankara

- 2004, İnflamatuvar Bağırsak Hastalıklarının İmmunolojik Ve Patofizyolojık Mekanizması Hakkındaki Amerikan Fizyoloji Topluluğunun Konferansı, APS Conference on Immunological and Pathophysiological Mechanism in Inflammatory Bowel Disease, The American Physiological Society, Snowmass Village, Colorado, Amerika Birleşik Devletleri

Poster Sunumu İle Katılım:

- 2011, Kemik İliği Nakli Yapılan Primer İmmün Yetmezliği Olan Olgularımız, Allerjik Hastalıklar ve Klinik İmmunolojide Tedavi Sempozyumu, Antalya

- 2005, Gai2-/- Farelerde Dendiritik Hücrelerin İncelenmesi, Gulf Coast Gastrointestinal Sistem Araştırma Kongresi, League City, Amerika (Analysis of Dendritic Cells in the Gai2-/- Mouse: A Model of IBD) (Gulf Coast GI Research Form)

- 2004, Gai2-/- Farelerde Dendiritik Hücrelerin İncelenmesi, (Klinik İmmunoloji Federasyonunun 4. Yıllık Konferansı ve 12.Uluslar arası immunoloji Kongresi, Montreal, Kanada (Analysis of Dendritic Cells in the Gai2-/- Mouse: A Model of IBD) (Dendritic Cells at the Center of Innate and Adaptive Immunity: Eradication of Pathogens and Cancer and Control of Immunopathology (B2)/ 12th International Congress of Immunology and 4th Annual Conference of the Federation of Clinical Immunology Societies), (Keystone Symposia), the Federation of Clinical Immunology Societies, Montreal Convention Centre, Montréal, Québec, Kanada

- 2004, Gai2-/- Farelerde Dendiritik Hücrelerin İncelenmesi, Gulf Coast Gastrointestinal Sistem Araştırma Kongresi, League City, Texas (Gulf Coast GI research form),

- 2002, Lenfotoksin Tarafından Otoimmün Artritin ve TH1/TH2 farklılaşmasının kontrolü, (Control of TH1/TH2 Differentiation and Autoimmune Arthritis By Lymphtoxin) 20. Texas Bölgesel İmmunoloji Kongresi (20th Annual Texas Regional Immunology Conference), Texas Üniversitesi, Galveston, Texas Eyaleti, Amerika Birleşik Devletleri

- 2002, Apopitosiz ve B Hücreleri Tarafından Otoimmün Artritin ve TH1/TH2 Farklılaşmasının kontrolü, Baylor Tıp Fakültesi İmmunoloji Departmanının Yıllık Toplantısı, Houston, Amerika Birleşik Devletleri (Regulation of TH1/TH2 Differentiation and Autoimmune Arthritis By B cell activation and Apoptosis) (Baylor College of Medicine Department of Immunology/Retreat)

Üye Olduğu Kurumlar:

2017-halen Türk İmmunoloji Derneği

2011-2012 Türkiye Ulusal Allerji ve Klinik İmmunoloji Derneği

2010-2016 Transplantasyon İmmünolojisi Ve Genetiği Derneği

2007-2012 Ankara Tabipler Odası (Turkish Medical Association)

2003-2006 Amerikan İmmunoloji Birliği (American Association of Immunologists)

Hobiler

Doğa Yürüyüşü, Yamaç Paraşütü, Takı Dizaynı



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR

