

T.C.

**ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**NAZAL POLİPLERDE
BİYOFİLM VE TOLL-LIKE RESEPTÖR
GEN EKSPRESYONU ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
DR. TUĞÇE ŞİMŞEK**

**TEZ DANIŞMANI
YARD. DOÇ. DR. VEYSEL YURTTAŞ**

BOLU

ARALIK 2014

T.C.

ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

NAZAL POLİPLERDE
BİYOFLM VE TOLL-LIKE RESEPTÖR
GEN EKSPRESYONU ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ
DR. TUĞÇE ŞİMŞEK

TEZ DANIŞMANI
YARD. DOÇ. DR. VEYSEL YURTTAŞ

Bu tez Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. (B.A.P 2013.08.02.613)

BOLU
ARALIK 2014

TEŞEKKÜR

Değerli fikir ve görüşleri ile her zaman yanımda olan tez danışmanım Yard. Doç. Dr. Veysel YURTTAŞ' a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince teorik ve pratik anlamda yetişmemde bana her türlü desteği veren, bilgi ve tecrübelerini paylaşan, iş ve sosyal hayatta büyük kazanımlar elde etmemimi sağlayan Prof. Dr. Serap KÖYBAŞI ŞANAL, Prof. Dr. Üzeyir GÖK, Prof. Dr. Muharrem DAĞLI, Doç. Dr. Tayfun APUHAN, Yard. Doç. Dr. Özgür BİÇER ve Yard. Doç. Dr. Murat ŞEREFLİCAN, Op. Dr. Erkan TEZCAN ve Op. Dr. Yasemin ONGUN FUNDA' ya teşekkür ederim.

Tez hazırlama aşamasında yardımlarından ötürü Prof. Dr. Esra KOÇOĞLU, Prof. Dr. Candan ÖZOĞUL, Doç. Dr. Zeynep OCAK, Arş. Gör. Dr. Duygu Tekin, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları servisinin sorumlu personeli Hatice CAN' a teşekkür ederim.

Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı'ndaki tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma, hemşirelerimize, görevli personele asistanlık döneminde birlikte zevkle, keyifle çalışma ortamı sağladıklarından dolayı teşekkür ederim. Ayrıca yaşamım boyunca bana destek olan arkadaşlarım Aysin AYSU, Özge UĞUR TÜRKMEN, Pınar MEMEDOĞLU, Güngör MEMEDOĞLU, Hilal SARI, Defne KALAYCI, Seray Gizem GÜR ve Bilge AYDEMİR' e teşekkürü bir borç bilirim.

Her daim yanımda olan, varlıkları yaşamamın en önemli sebebi olan annem, babam ve ablama da sonsuz teşekkürler. Son olarak da hayatıma bir şekilde dokunan herkese teşekkürler.

İÇİNDEKİLER

Teşekkür	i
İçindekiler.....	ii
Kısaltmalar.....	iv
Tablo Dizini.....	viii
Grafik Dizini.....	viii
Şekil Dizini.....	ix
Resim Dizini.....	ix
Özet	x
Abstract	xi

I) GİRİŞ.....1

II) GENEL BİLGİLER.....2

a. Nazal polipozis..... 2

i) Tarihçe..... 2

ii) Epidemiyoloji..... 3

iii) Histoloji..... 4

iv) Anatomi ve Embriyoloji..... 7

v) Fizyoloji..... 11

vi) Etiyoloji..... 13

1) Allerji..... 13

2) Süperantijenler..... 14

3) Genetik..... 14

4) Enfeksiyonlar.....15

5) Mukozal Temas.....17

6) Bernoulli Fenomeni.....18

7) İlişkili Hastalıklar.....18

vii) Patogenezi..... 20

1) İnterlökinler 20

2) Matriks metalloproteinazlar..... 21

3) Kemokinler.....	22
4) Enflamatuar hücre infiltrasyonu	23
5) Sıvı-elektrolit geçişinin bozulması.....	23
6) Nitrik Oksit (NO).....	24
viii) Tanı.....	25
ix) Tedavi.....	28
1) Medikal tedavi.....	28
2) Olası tedavi modaliteleri.....	31
3) Cerrahi tedavi.....	33
b. Biyofilm	34
i) Giriş.....	34
ii) Tarihçe ve tanım.....	35
iii) Biyofilm oluşumu.....	35
iv) Biyofilm İncelenmesi ve Ölçümü	36
v) Antimikrobial Ajanlara Rezistans.....	37
vi) Biyofilmle İlişkili İnsan Enfeksiyonları	39
vii) Tıbbi Cihazlarda Biyofilm Oluşumu	41
viii) Hastalık ve Biyofilm İlişkisi.....	43
ix) Biyofilm Oluşumunu Engelleme Stratejileri	45
III) GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	52
a) Bakterilerin İzolasyon.....	52
b) Biyofilm Oluşumu	53
c) Spektrofotometrik yöntem ile biyofilm oluşumunun gösterilmesi.....	53
d) Scanning elektron mikroskobu ile biyofilm oluşumunun gösterilmesi	54
e) Toll-like reseptör gen ekspresyonun ölçümü.....	54
IV) İSTATİSTİK.....	59
V) BULGULAR.....	60
VI) TARTIŞMA	69
VII) SONUÇ.....	80
VIII) KAYNAKLAR.....	81

KISALTMALAR

AFRS: Allerjik Fungal Rinosinüzit

Anti-IL-5mAb: Anti interlökin-5 Monoklonal Antikoru

AOM: Akut Otitis Media

AR: Allerjik Rinit

AS: Aspirin duyarlılığı

BAFF: B-cell activating faktör

BHI: Brain Heart İnfüzyon

BT: Bilgisayarlı Tomografi

CCR3: C-C kemokin reseptör tip3

CD : Cluster of Differentiation

cDNA: Complementary DNA

CFTR : Kistik Fibrozis Transmembran İletim Düzenleyicisi

CLSM: Confokal Lazer Scanning Mikroskobu

COX : Siklooksijenaz

CSS: Churg-Strauss Sendromu

DAPI: 4',6'-Diamidino-2-Phenylindole

DNA : Deoksiribonükleik Asit

dsRNA: Çift Sarmal RNA

EMB: Eosin Metilen Blue

EKP: Eozinofilik Katyonik Protein

ESC: Endoskopik Sinüs Cerrahisi

FISH: Fluorescent In Situ Hybridization

GM-CSF: Granülosit Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör

HE: Hemotoksilen-eozin

HLA-DR: Human leukocyte antigen-DR
ICAM : Intercellular Adhesion Molecule
IFN-gama: İnterferon-gama
IgA: İmmünglobulin A
IgE: İmmünglobulin E
IL: İnterlökin
IRF-3: İnterferon Regülatuvar Faktör-3
KBP: Kronik Bakteriyel Prostatit
KEOM: Kronik Efüzyonlu Otitis Media
KF: Kistik Fibrozis
KNS: Koagülaz Negatif Stafilokok
KRS: Kronik Rinosinüzit
KS: Kortikosteroid
LPS: Lipopolisakkaritler
LRR: Lösinden Zengin Tekrar Alanı
LT: Lökotrien
MAL: MyD-88 Adaptörü Benzeri
MBP: Majör Bazik Protein
MHC: Major Histokompatibilite Kompleks
MIC : Macrophage Inhibitory Cytokine
MMP: Matriks Metalloproteinazlar
mRNA: Messenger RNA
MRG: Magnetik Rezonans Görüntüleme
MyD88: Myeloid Diferansiasyon Faktör-88
NARES: Allerjik Olmayan Eozinofilik Rinit Sendromu

NBTE: Non-Bakteriyel Trombotik Endokardit

NO: Nitrik oksit

NF-kB: Nükleer Faktör-kappa beta

NP: Nazal Polip

PAMP: Patojen İlişkili Moleküler Pattern

PBS: Phosphate Buffered Saline

PG : Prostaglandin

PRR: Pattern Recognition Receptors

PSD: Primer Siliyer Diskinezi

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RANTES : Regulated Upon Activation, Normally T cell Expressed and Sectered

RNA : Ribonükleik Asit

SEM: Scanning Elektron Mikroskobu

SPINK-5: Serine Proteaz İnhibitör Kazal-type 5

ssRNA: Tek zincirli RNA

siRNA: Small Interfering RNA

SVK: Santral Venöz Kateter

TCR : T Cell Receptor

TEM: Transmisyon Elektron Mikroskobu

TGF : Transforming Growth Factor

Th1 : Tip 1 Yardımcı T Hücreleri

Th2 : Tip 2 yardımcı T hücreleri

TIR: IL-1 Reseptör

TLR: Toll Like Reseptör

TNF- α : Tümör Nekrozis Faktör- α

TNF- β : Tumor nekroz faktör- β

TSB: Tryptic Soy Broth

TRAM: TRIF ilişkili Adaptör Molekül

TRIF: TIR-alanı İçeren IFN-B Uyarıcı Adaptör

VCAM : Damar Hücresi Adezyon Molekülü

VLA : Very Late Antigen

μ l: Mikrolitre

AuPd: Altın- Paladyum

ng: Nanogram

pmol: Picomole

TABLO DİZİNİ**Sayfa No**

Tablo 1. Hastalık gruplarına göre nazal polip prevalansı	4
Tablo 2. Lildholdt Evreleme Sistemi	26
Tablo 3. Radyolojik Lund-Mackay Evreleme Sistemi	27
Tablo 4. cDNA sentezi için hazırlanan reaksiyon karışımı	55
Tablo 5. cDNA sentezi için reaksiyona eklenen karışım	55
Tablo 6. LightCycler kullanılarak hazırlanan PZR karışımı	56
Tablo 7. Cihaz programının hazırlandığı PZR protokolü	59
Tablo 8. Nazal polipli hastalarda semptomların görülme oranı	60
Tablo 9. Nazal polip ile ilişkili hastalıklar	61
Tablo 10. Biyofilm oluşumu	64
Tablo 11. Slaym faktör oluşumu	64
Tablo 12. Kültürde üreme	65
Tablo 13. Çalışma grubunda Spearman korelasyon analizi ile kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması (Korelasyon katsayısı “r” değeri)	65
Tablo 14. Kontrol grubunda Spearman korelasyon analizi ile kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması (Korelasyon katsayısı “r” değeri)	66
Tablo 15. Çalışma ve kontrol gruplarının Kruskal-Wallis yöntemi ile bakılan parametrelere göre karşılaştırılması	67

GRAFİK LİSTESİ**Sayfa No**

Grafik 1. Çalışma grubu ile kontrol grubu arasında TLR2 gen ekspresyonu açısından ilişkisi	68
---	----

Grafik 2. Çalışma grubu ile kontrol grubu arasında TLR2 gen ekspresyonu açısından ilişkisi	69
---	----

ŞEKİL DİZİNİ	Sayfa No
Şekil 1. İnsanda TLR yapısı	47
Şekil 2. TLR sinyal yolağı	49
Şekil 3. TLR'nin doğal ve kazanılmış bağışık cevaptaki yeri	51
Şekil 4. PZR karışımının LightCycler 480 MultiwellPlate' e dağılımı	57

RESİM DİZİNİ	Sayfa No
Resim 1. Polip dokusunda kırmızı okla işaretli alanda biyofilm oluşumu	62
Resim2. Polip dokusunda kırmızı okla işaretli alanda biyofilm oluşumu (sağ üst köşede biyofilm oluşumu büyütülerek gösterilmiş)	62
Resim 3. Normal konka dokusunda biyofilm oluşumu gözlenmedi.	63
Resim 4. Normal konka dokusunda biyofilm oluşumu gözlenmedi.	63

ÖZET

Nazal polipler, nazal kavite mukozasında veya nazal sinüslerin mukozalarında ortaya çıkan benign lezyonlardır. Nazal poliplerin etiyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Nazal poliplerin ana semptomu, devamlı nazal obstruksiyondur fakat polipin yerine ve boyutuna bağlı olarak değişebilir. Hastalar, sıklıkla su gibi burun akıntısı ve postnazal akıntıdan şikayetçilerdir. Patofizyolojisi ile ilgili birçok teori anlatılmasına rağmen, nazal poliplerin immünolojik inflamatuvar süreçlerinin sebebi hala tanımlanamamaktadır. Son zamanlarda, nazal poliple ilgili birçok faktörün farkına varılmış; immün sistemin baskılandığı durumlar, lokal konak faktörleri, stafilokok süperantijenler, mantar kolonizasyonu ile indüklenmiş eozinofilik inflamasyon, osteoitler ve biyofilmler gibi. Biofilmde büyüyen bakteri; nemde, pH' ta ve sıcaklıkta fluktuasyonlara yüksek oranda dirençli olabilmektedir. Birçok çalışmada, kronik rinosinüzitli hastaların mukozal yüzeyinde biyofilm varlığı gösterilmiştir. Toll-like reseptör (TLR), multigen ailesi ile kodlanmaktadır ve patojene karşı savunmanın ilk uzanım rolünü oynamaktadır. Germ hücrelerinde doğal immünite etkisi, bakteriyel ve viral enfeksiyonlara karşı defans, transmembran hücre reseptörleri aracılığıyla kodlanmaktadır. Bunlardan biri de toll like reseptörlerdir. Nazal poliplerin patofarmakolojik karakteristiğinde ekspresyona bağlı yoğunluğu gösterilmiştir.

Bu çalışmanın amacı, nazal polipli hastaların doku örneklerinde elektron mikroskopisi ve doku kültürü ile biyofilm varlığı; mukozal değişiklikler ile de toll like reseptör gen ekspresyonunu araştırmaktır.

Anahtar kelime: nazal polip, biyofilm, kültür, elektron mikroskopisi, TLR gen ekspresyonu

ABSTRACT

Nasal polyps are benign lesions arising from the mucosa of the nasal sinuses or from the mucosa of the nasal cavity. The etiology of nasal polyps is unknown. The main presenting symptom of nasal polyp is nasal obstruction which is constant but can vary depending on the site and size of the polyps. Sufferers will also frequently complain of watery rhinorrhea and postnasal drip. Nasal polyp is an immunological inflammatory process whose cause is still undefined, although several theories have tried to explain its pathophysiology. Nowadays, chronic rhinosinusitis (CRS) is recognized as a disease related to several factors, such as immuno compromised state, local host factors, *Staphylococcus aureus* superantigens, eosinophilic inflammation induced by fungal colonization, aspirin-exacerbated respiratory disease, osteitis, and biofilms. Biofilm-grown bacteria can be highly resistant to fluctuations in moisture, pH, and temperature. Many studies reported the evidence of biofilms in the mucosal surface of patients with CRS. Effects in the germ cells of innate immunity, defense against bacterial and viral infections, is encoded by means of transmembrane cell receptors. One of them is the toll like receptors. It was shown that the intensity of expression depended on the pathomorphological characteristics of nasal polyps.

The aim of this study is to investigate that toll-like receptor expression correlation with mucosal change and biofilm presence by tissue culture and elektron microscopy in the tissue sample of patients with nazal polypozis.

Key words: nasal polyp, biofilm, culture, electron microscopy, TLR-gen expression

I) GİRİŞ

Nazal polipler, nazal kavite mukozasında veya nazal sinüslerin mukozalarında ortaya çıkan benign lezyonlardır. Nazal poliplerin ana semptomu, devamlı nazal obstrüksiyondur fakat polipin yerine ve boyutuna bağlı olarak değişebilir. Nazal poliplerin etiyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Nazal polipin etiopatolojisinde pek çok faktörün rol oynadığı düşünülmektedir. Biyofilmler ve TLR' in de bu faktörlerden olduğu ön görülmektedir.

Yaptığımız bu tez çalışmasında, nazal polipli hastalarında biyofilm oluşumunu ve toll-like reseptörlerinin ekspresyonundaki artışın etiopatogenezdaki yerini araştırılması ve çıkan sonuçlar doğrultusunda da hastaların daha etkin tedavi alması amaçlanmıştır.

II) GENEL BİLGİLER

a. Nazal polipozis

i) Tanım ve Tarihçe

Polip, Yunanca kökenli bir kelime olup çok ayaklı anlamına gelmektedir (1). Nazal polipler; paranazal sinüslerden köken alan kronik inflamatuvar bir hastalığı takiben gelişen ödem, fibröz doku, inflamatuvar doku, damarsal yapı ve bezlerden oluşan mukoza keseleri olarak tanımlanmaktadır (2).

Nazal polipozisin (NP) tarihçesi yaklaşık 4000 yıl öncesine Mısır' a dayanan; hasta ve hekimin adının bilindiği (Hasta: KralSahura, Doktor: Ni-Ankh Sekh-met) en eski hastalıktır (3).

Eski Yunan'da Hipokrat nazal polipleri tanımlayarak sebebinin vücuttaki dört sıvı arasındaki dengenin bozulmasına bağlı olabileceğini belirtmiş (3). Poliplerin alınması için burundan geçirilerek ağızdan çıkarılan ipin ucuna spanç bağlanıp ipin ucu ağızdan çekilerek polipler ağızdan çıkarılıp; daha sonra ise kızgın demir ile koterize edilmekteymiş (4). Bugün kullanılan aletlere benzer materyaller ile polipleri çıkararak ve kızgın demirler ile dağlayarak en büyük katkıyı İbn-i Sina yapmıştır (4).

Türk tıp literatüründe ilk defa büyük Türk cerrahı *Şerafettin Sabuncuoğlu*'nun (MS 1385-1468) Cerrahiyyetül-Haniyye (imparatorluk cerrahisi) isimli kitabında nazal polipten bahsedilmektedir (5).

İlk kez Billroth tarafından histolojik tanımı yapılan nazal polipler 19 yy.'a kadar tümoral bir lezyon olarak kabul edilmekteydiler(6), ancak 1882'de Zuckerkandl tarafından poliplerin inflamatuvar yapıda oldukları ileri sürülmüştür (7).

Kokainin 1884 yılında nazal cerrahi anesteziinde Carl Koller tarafından kullanıma girmesinden sonra daha az ağırlı operasyonlar yapılmaya başlanmıştır. Hirschman, yirminci yüzyıl başında nazal kavite ve nazofarinkste 4 mm'lik bir sistoskop kullanarak daha iyi bir görüş sağlamıştır. Hopkins' in fiberoptik teknolojisini geliştirmesi ve 1960' ların sonu ve 1970' lerin başında Messerklinger'in sistemik nazal endoskopi tekniğini geliştirmesi ile NP tanı ve tedavisinde ilerlemeler daha da hızlanmıştır (7, 8, 9). Endoskop, shaver, gümüş nitrat çubuklar, elektrokoterler, nazal dekonjestanlar ve steroidler bu tarihsel gelişimin sonunda kullanıma girmiştir (9).

ii) **Epidemiyoloji:**

NP tek bir hastalık grubu değildir. Astıma ek olarak kistik fibrozis (KF), primer siliyer diskinezi (PSD), Churg-StraussSendromu (CSS) gibi diğer respiratuar hastalıklarla ve allerjik fungal rinosinüzit (AFRS), allerjik rinit (AR), allerjik olmayan eozinofilik rinit sendromu (NARES) gibi rinolojik hastalıklarla yakın ilişkili olduğu gösterilmiştir (10). Nazal polip hastalarının prevelans hesaplamaları için nazal endoskopik muayene mutlaka gerekli olmakla birlikte toplumda hesaplanan NP sıklığı %1-4 arası değişmektedir (10). Nazal polip, genel olarak her yaş ve cinsiyette ortaya çıkabilen bir hastalık olmasına rağmen, en sık yaşamın 4. ve 5. dekadlarında görülür (11). Erkeklerde kadınlardan daha sık olarak görülmekle birlikte, 20 yaş altında nadirdir (12). Erkek kadın oranı 2-4:1 şeklindedir (13). NP sıklığı yaşla beraber artar. Nazal polipin klinik olarak ortaya çıkması sıklıkla 20 yaşından sonradır. Altmış yaşından sonra çok nadir görülür (13).

On yaşından küçük çocuklarda KF ile ilişkili olan NP haricinde, erişkinlerde daha sık görülmektedir. Çocuklarda NP insidansı %0,1 civarında olduğu bulunmuştur (14). Atopik olmayan astımlı ve rinitli kişilerde insidansı, atopik olanlara göre daha yüksektir (10). Yapılan postmortem çalışmalarda NP görülme sıklığı basit nazal muayenede %2, ayrıntılı nazal endoskopik muayenesinde %42 olarak gözlenmiştir (13). Nazal polipozis izole olarak görülebildiği gibi diğer bazı hastalıklarla beraber de görülebilir. Farklı gruplardaki NP sıklığı Tablo 1'de belirtilmiştir (6).

Tablo 1. Hastalık gruplarına göre nazal polip prevalansı

Hastalık	Prevelans
Aspirin intoleransı	%36-72
Yetişkinlerde astım	%7
Yetişkinlerde kronik sinüzit	%2
Çocuklarda astım sinüzit	%0,1
Alerjik fungal sinüzit	%66-100
Primer siliyer diskinezi	%40

iii) Histoloji

Polip dokusu; yer yer epitelyal hasar, kalınlaşmış bir bazal membran, ödemli bir stroma içinde azalmış damar, nöral ve bez yapıları gözlenmiştir. Ayrıca fibrotik bir zemin içinde yoğun albumin ve plazma proteinleri içeren psödokist oluşumu, etrafında fibroblast infiltrasyonu, fibronektin birikimi gösteren yapılar ve yoğun inflamatuvar hücrelerin olduğu tespit edilmiştir (15).

Sağlıklı bir sinüs mukozası için çalışan bir ostium açıklığı gereklidir. Ostium tıkanması sonrasında sinüs kavitesi içinde bölgesel oksijen ve karbondioksit parsiyel gaz basınçlarında değişiklikler meydana gelir. Bunun sonucu olarak; plazma ve protein kaynaklı sıvının hücre dışı alana geçmesi ve mukozal eksudasyon sonucu lamina propriada inflamatuvar mediatör birikimi oluşur. Bunun da epitel deskuamasyonu ve polip oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir. Dolayısıyla polipler; kan damarlarındaki endotelyal hücre aralarından süzülen plazma sonrası oluşan yoğun doku ödemi ile karakterizedir (16).

Poliplerin; goblet ve silyalı hücrelerle birlikte dominant epitel hücresi psödostratifiye kolumnar silindirik epiteldir (17). Polip yüzeyinde diğer epitel hücreleri de olabilir. Vakaların çoğunda pseudostratifiye epitel varken bazı vakalarda transizyonel epitel ve nonkeratinize epitelyum da gözlenmiştir. Psödostratifiye silindirik silli epitel çoğu bölgede hiperplastik olarak bulunmaktadır. Hiperplastik psödostratifiye epitel

bulunan alanlarda goblet hücre yoğunluğu en fazla olarak gözlenmiştir. Transizyonel epitel genelde kalındır ve en önde bulunan poliplerin sıklıkla ön yüzünde bulunur. Psödostratifiye epitele göre goblet hücre yoğunluğu daha az bulunmaktadır.

Hava akımı; burun respiratuar epiteli üzerinde etkili olup nazal mukozanın bazı yerlerinde squamöz veya transizyonel epitele dönüşümüne yol açmaktadır (18). Burun deliğinin deneysel olarak kapatılıp hava akımının elimine edilmesiyle squamöz ve transizyonel epitelin respiratuar epitele dönüştüğü gözlenmiştir (19). Belirli alanlarda goblet hücre yoğunluğu çok değişkenlik gösterebilir. Aynı zamanda bu epitel ve goblet hücrelerindeki değişkenlik nazal polip histopatolojisindeki çok fazla değişken olduğunu da yansıtmaktadır. Bu değişikliği hava akımı dışında, epitelyal yüzeyler arasındaki ilişki, polip yüzeyinin hasarlanıp hasarlanmama durumu ve rejenerasyon evresi, polipin büyüme oranı ve yaşı, alerji veya enfeksiyonun varlığı gibi faktörler etkilemektedir (20).

Bazı poliplerde intraepitelyal bezler büyük miktarlarda bulunmaktadır. Bu patolojik yapılar mukus hücrelerinin bir lümen etrafında dizilmesiyle oluşmaktadır. Bunlar değişken sayıda bulunmakla birlikte bazı yazarlar tarafından bu durumun indüklenebilir bir yapı olduğunu düşünmektedir (20).

Nazal polip oluşumunda ve polipin büyümesinde, mukus glandları önemli rol oynamaktadır (21). Gland yoğunluğu açısından nazal mukozaya göre oldukça fakirdir. Glandlar; boyutları ve değişik şekilleri ile burundakilerden farklılıklar gösterir (20).

Glandların polip büyürken oluştuğunun ve glandların nazal mukozadan polipe doğru büyümediğinin göstergesi gland dağılımının polipin alt kısmında olması, glandın sapta skarlaşması ve glandların nazal mukozadakilerden farklı olmasıdır. İlk gland oluştuğu zaman polip belli bir boyuta ulaşmış haldedir. Polip büyümeye devam ettikçe gland da büyür ve uzun halini alır. Gland dejenerasyonu kanal içinde ve tübülde mukus stazı ile başlar, sonunda distansiyon meydana gelir. Zaman içinde sekretuar epitel hücre gerimi arttıkça küboid ve yassı hal alır ve sonunda inaktif hale gelir (22).

Nazal polipler, histolojik özelliklerine göre eozinofilik ödematöz tip (%86), kronik inflamatuvar veya fibrotik tip (<%10), serömüsinöz bez tip (<%5), atipik stromal tip (<%1) dört ana tipe ayrılır (23). En sık eozinofilik ödematöz tip görülür (23). Eozinofilik ödematöz tip polipler; sıklıkla seromüköz bezlerin hiperplazisi, ödemli stroma, sayısız mast ve eozinofil hücresi ile kalınlaşmış bazal membrandan oluşmaktadır (24). Kronik inflamatuvar tip poliplerin en önemli özelliği stromal ödemin ve goblet hücre

hiperplazisinin olmamasıdır. Goblet hücresi bulunur ancak epitelde goblet hücre hiperplazisi gözlenmez. Burada epitel sıklıkla squamöz veya kuboidal metaplazi göstermektedir (24). Bu polip tipi sıklıkla KF, PSD ve *Young* sendromunda gözlenmektedir (25). Üçüncü sıklıkta seromüsinöz bez hiperplazisi gözlenen polipler görülür (24). Bu tür polipler adenomlarla karışabilir. En nadir gözlenen polip tipi stromal atipi gözlenen poliplerdir. Bu poliplerde; mitoz olmayışı atipik stromayı neoplazmdan ayıran temel histolojik özelliktir (24).

Nazal polipte; inflamatuvar hücrelerin ortalama %50'sini eozinofillerin oluşturduğu tespit edilmiş ve aktive eozinofil oranı da %80 olarak gözlenmiştir. Eozinofiller; birçok alerjik, parazitik, malign ve idiyopatik olaylarda rol oynamaktadır.

Eozinofiller bir kez nazal polip dokusunda ortaya çıkınca aktive olur ve IL-3 ve IL-5'le birlikte degranülasyon olur. Bu iki sitokin eozinofillerin otokrin upregülasyonundan sorumludur. Ayrıca bu sitokinler apoptozisin inhibisyonu sağlayarak eozinofil ömrünün uzamasına neden olmaktadır (14). Nazal polip dokusunda eozinofil birikimi sonrasında bu hücreler tarafından; EKP (eozinofilik katyonik protein), eozinofil peroksidaz, eozinofil derivate nörotoksin ve majör bazik protein (MBP) gibi birçok sitotoksik ajan salgılanmaktadır. Bu proteinler sayesinde; epitel hasarı, anjiyogenez, stromal fibrozis, epitel ve glandüler hiperplazi meydana gelmektedir. Respiratuvar epitel hücrelerin apikal kısmında oluşan epitel hasarı; sodyum absorpsiyonunda ve klor sekresyonunda artışa neden olmakta, bunun sonucu olarak nazal polip dokusunun karakteristik özelliği olan ödem gelişmektedir (26,27). Bu hasar sonrasında bakteri yerleşmesi ve çoğalması için bir yol oluşmaktadır (28). Ayrıca eozinofiller; kalsiyum ve çinko bağımlı nötral proteazlardan olan matriks metalloproteinazlar (MMP) ve üreaz plazminojen aktivatörü salgılamaktadır. Üreaz plazminojen aktivatörü sonucu oluşan bir serin proteaz olan plazmin ve MMP; fibrin, fibrinojen ve laminin gibi ekstrasellüler matriks elemanlarını sindirerek bazal membran ve doku hasarına yol açmaktadır (29).

Dentritik hücre ve T lenfositler; hava yolu mukozasında doğal immün yanıtta önemli rol oynamaktadır. Tehdit edici bir durum epitelyal bariyeri aştığı durumda; patojenin direkt fagositozu veya dolaylı olarak enfekte doku hücresinin fagositozu, gerekli immün yanıtın başlatılmasına yol açmaktadır. Lokal aktive olmuş dentritik

hücreler dokunun drene olduğu lenf nodlarına gidip T lenfositleri aktive eder. Bakteriyel ve viral enfeksiyonda bu aktivasyon Th1 subtipinde olurken, parazitik enfeksiyonlarda bu aktivasyon Th2 subtipinde gözlenmektedir. Nazal polip dokularında T lenfositlerin (CD3) ve aktive olmuş T lenfositlerin (CD25) sayısı normal dokulardan daha fazladır (30). Bu lokal dendritik hücrelerin immün sistem regülasyonunda etkili olduğu düşünülse de NP patogenezinde nasıl etki gösterdikleri net olarak ortaya konulamamıştır. T hücreler özellikle Th2 yanıtı ile kronik inflamatuvar süreçte dolayısıyla nazal polip gelişiminde önemli ve merkezi bir rol oynamaktadır(31).

Mast hücreleri, polip dokusunda diğer bir inflamatuvar hücre grubudur. GM-CSF, IL-6 ve IL-8 artışı sonucu mast hücre kemotaksisi ve aktivasyonu oluşmaktadır (14). Mast hücreleri hem IgE bağımlı hem de IgE bağımsız olarak birçok inflamatuvar reaksiyonda rol oynamaktadır. Nazal polip mukoza örneklerinde epitel ve stroma içinde yoğun olarak tespit edilmiştir. Polip mast hücrelerinin granülleri relatif olarak küçük ve dış lamellar elemandan yoksundur. Histamin, heparin ve triptaz başta olmak üzere IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-13, GM-CSF, TNF- β salgılamaktadırlar (17). Histamin allerjik reaksiyonda önemli bir rol oynamaktadır. Nazal polipli dokular incelendiğinde; histamin salınımının fibroblastlar üzerinde, inflamatuvar hücreler arası etkileşimi sağlayan VCAM - 1 artışına yol açtığı gözlenmiştir. Polip içerisinde degranüle olmuş veya olmamış mast hücrelerinin dağılımı değişmektedir. Degranüle olmuş mast hücreleri sıklıkla daha derin stromal kısımda bulunur. Nazal polip pedinkülü; apeks kısmına göre daha fazla mast hücresi ve degranüle olmuş mast hücresi içermektedir.

iv) Embriyoloji ve Anatomi

Burun Lateral Duvar ve Paranasal Sinüslerin Embriyolojisi

Kırk günlük fetusta, yan duvarda alt ve orta meayı oluşturacak çıkıntılar nazal kavite genişledikçe ortaya çıkar. Alt konkayı, bu çıkıntıların arasındaki maksillotürbinat mezenşim lümenin içine doğru çoğalarak oluşturur. Diğer konkalar ise daha sonra oluşan etmoidotürbinat çıkıntılardan gelişir. Burun yan duvarında orta meaya uyan alanda ilk önce infundibulum ortaya çıkar ve bunun arkasında etmoid bulla, önünde unsinat çıkıntı

gözlenir. Paranasal sinüsler de, burun yan duvarının divertikülleri şeklinde ortaya çıkarlar ve maksilla, etmoid, frontal ve sfenoid kemiklerin içine doğru uzanırlar. Paranasal sinüsler; sfenoid sinüs hariç, konkavimleri içine uzanan nazal epitelyum cepleri şeklinde gelişmeye başlarlar. Sfenoid sinüs ise sfenoetmoid resesin arka-üst bölümünde sfenoid konkanın gelişmesine bağı olarak bir girinti şeklinde ortaya çıkar. Sinüslerdeki primer pnömatizasyon gelişim sürecini takip eder. Sekonder pnömatizasyonun büyük bir bölümü doğumdan sonra da devam eder. Sadece etmoid sinüsler doğum sırasında iyi gelişmiştir(32).

Burun Lateral Duvar Ve Paranasal Sinüslerin Anatomisi:

Etmoid sinüs yapısının, embriyolojik yapılar esas alınarak birtakım lamellerle ayrılması anatomisinin daha kolay anlaşılmasını sağlamıştır. Bu lameller, birbirine paralel olacak şekilde obliktir. İlk lamel ünsinat çıkıntısıdır. İkinci lamel etmoid bulladır. Üçüncü lamel ise orta konkanın bazal lamelidir. Ön ve arka etmoidleri birbirinden ayıran orta konkanın bazal lamelidir. Frontal, maksiler sinüsler ve ön etmoidler orta meatustan kaynaklanır ve dolayısıyla da buraya drene olur. Posterior etmoid hücreler üst ve en üst meatuslardan kaynaklanır ve buralara açılırken; sfenoid sinüs sfenoetmoidal resese drene olur (33).

Agger nasi; frontal reses bölgesinden veya infundibulum üst bölümünden kaynaklanan anterior etmoid hücreler (34). Orta konkanın burun lateral duvarına yapışma yerinin hemen lateralinde bir çıkıntı olarak göze çarpar. Agger nasi, ünsinat çıkıntısının da havalanmasını aşağı ve içe doğru pnömatize olarak sağlar (33).

Ünsinat çıkıntı; sagittal planda yerleşmiştir ve hemen hemen etmoid bullaya paralel yapıdadır. Arka kenarı serbesttir.

Hiatus semilunaris; ünsinat çıkıntısının arka kenarının hemen arkasında yer alır. Önde ve yukarıda orta konka ve agger nasinin ön bölümünün lateral tutunma yerinin hemen altında maksillanın etmoid krestine tutunur. Bu noktanın hemen altında ise lakrimal kemiğin arka kenarıyla birleşir. Ünsinat çıkıntısının ön-altında herhangi bir tutunma yeri yoktur. Arka ve aşağıda, alt konka kemiğinin etmoid çıkıntısına tutunur. Arka ve üst sınırlarında palatin kemiğinin lamina perpendikularisine tutunmak için küçük kemik çıkıntılar oluşturur (34, 35). Ünsinat çıkıntısının alt konka kemiğine tutunma yerinin ön ve arkasında başka bir tutunma yeri olmayıp burada burun yan duvarı sadece kemikten ibaret değildir; hatta daha çok oranda araya giren orta mea ve

sinüs mukozasından oluşur. Bu alanlar ön ve arka fontaneller olarak tanımlanırlar. Arka fontanel, öndekinden çok daha büyüktür ve burada sıklıkla aksesuar maksiller ostium görülür. Aksesuar ostiumlar hastaların %20-25'inde sıklıkla arka fontanel bölgesinde görülür (33). Unsınat çıkıntı, orta konkanın tutunduğu yerin arka ve yukarısına uzanır ve çoğunlukla dışa doğru dönerek orbitanın lamina papriseasına ve ön etmoidlere yapışır. Unsınat çıkıntının bu bölümünde, resesus terminalis adı verilen alt ve dış kısmında infundibüler boşluğun üst bölümü yer alır. Yine aynı bölümün üst ve iç kısmında ise büyük çoğunlukla frontal resesin tabanı bulunur. Etmoidal infundibulumun ön-iç sınırını, unsınat çıkıntı oluşturur. Seyrinin büyük bölümünde üç tabakadan oluşan bir yapıdır. Bunlar ön-içte nazal veya orta meatal mukoza, etmoid kemik ve daha arka-yanda da infundibüler mukozadır (33).

Etmoid bulla; etmoid havalı hücrelerinin en büyük olanıdır. Orta meatusta orta konkanın bazal laminasının önünde ve unsınat çıkıntının arkasında yer alır. Etmoid bulla lamina papriseasının üzerine yerleşmiş olup orta konkaya doğru kabırlıklık oluşturur. Etmoid bullanın ön duvarı yukarıda kafa tabanına kadar uzanır ve frontal resesin arka sınırını oluşturur. Arkada ise bazal lamina ile birleşir (33).

Hiatus semilunaris; unsınat çıkıntının serbest arka kenarıyla etmoid bullanın ön duvarı arasında yer alan yarım ay şeklinde bir aralıktır. Bu aralık vasıtası ile orta meatusla etmoid infundibulum birbirine bağlanır (33).

Etmoid infundibulum; maksiler sinüsten, bazı etmoid hücrelerden ve zaman zaman da frontal sinüsten gelen sekresyonun orta meaya yönlendirilmesi ve iletilmesini sağlar. Ön etmoid alanda yer alan üç boyutlu bir boşluktur. İçte mukoza ile kaplı unsınat çıkıntı, dışta lamina paprisea, önde ve yukarıda maksillanın frontal çıkıntısı ve üst-yanda da lakrimal kemikle sınırlandırılmıştır (35). Etmoid infundibulumun arka sınırını, etmoid bulla ön duvarı oluşturur. Etmoid infundibulum, hiatus semilunaris aracılığıyla orta meayla bağlantılıdır. Maksiler sinüsün ostiumu genelde etmoid infundibulumun arka-alt bölümüne açılır (33).

Lateral sinüs (suprabullar ve retrobullar resesler); etmoid bullanın arka üst kısmında yer alan ve suprabullar ve retrobullar resesler olarak da adlandırılan kişiden kişiye değişiklik gösteren bir boşluktur (7). Lateral sinüs, bazal laminanın önünde yer alır ve dolayısı ile ön etmoid alanda bulunur. Ancak havalanma ve drenaj için ostiumu bulunmadığından yerleşim olarak ön etmoid hücre olarak kabul edilmez ve daha çok orta

meaya açılan bir boşluk veya reses olarak düşünülür. Etmoid bulla, sıklıkla arkada lateral sinüse açılır (33).

Ostiomeatal ünite; unsinat çıkıntı, etmoid infundibulum, ön etmoid hücreler, frontal ve maksiler sinüslerin ostiumlarıdır. Ostiomeatal ünite, anatomik olmaktan çok fonksiyonel bir yapıdır (33).

Frontal reses ve sinüs: Frontal reses, frontal sinüs ile bağlantıyı sağlayan ön etmoid sinüsün önünde ve yukarısında yer alan bölümdür. Frontal resesin sınırları; içte orta konka, dışta lamina paprisea, önde eğer mevcutsa *agger nasi* hücrelerinin üst duvarı ve arkada etmoid bullanın ön duvarıdır. Agger nasi hücresi aşırı pnömatize ise frontal reses kısmen daralır (33).

Maksiller sinüs; genellikle tek bir boşluk olup yukarıda orbita tabanı; aşağıda sert damak ve maksillaların alveoler çıkıntısı, dış yanda zigomatik çıkıntı, arkada infratemporal ve pterigopalatin fossa ve iç yanda unsinat çıkıntı, fontaneller ve alt konkayla sınırlıdır. Maksiller sinüs bölgesinde en çok rastlanan anatomik varyasyon infraorbital etmoid hücre veya Haller hücresidir. Haller hücresi, maksiler sinüsün etmoidal tavanı içine ve etmoid bullanın alt ve dış tarafına doğru pnömatize olan bir etmoid hücredir ve etmoid infundibulumu ve maksiler sinüs ostiumu ile yakın ilişki içerisinde. Yüzde 88 oranında ön, %12 oranında da arka etmoidden kaynaklandığı düşünülür (33).

Orta konka: Etmoid kemiğin orta konkasının göze çarpan bazı özellikleri vardır. Orta konka önde agger nasi bölgesinde maksillanın krista etmoidalisine yapışır. Buradan yukarı ve içe doğru seyrederek vertikal düzlemde lamina kribrosanın latereline yapışır. Bu yapışma, horizontal olarak kafa tabanında ve aşağıda dala lamina paprisea/veya maksiler sinüsün iç duvarında belirli bir süre devam eder (34). Bu parça, önde hemen hemen koronal düzlemdeyken daha arkadanereydeyken tamamen horizontal düzlemde yer alır. Bu bölüm, etmoidlabirenti önve arka olarak bölümlere ayırır ve orta konkanın bazal laminası adını alır. Orta konkanın şekli değişkenlik gösterebilir. Paradoksal olarak kıvrık veya pnömatizeolabilir(33).

Arka etmoid sinüs: Embriyolojik olarak ikinci ve üçüncü primer oluktankaynaklandığından dolayı üst ve en üst mealara açılan, bir ile beş arasındaki hücreden oluşur. İç yanda üst konka ve en üst konkanın vertikal bölümüne bunlara eşlik eden meatuslar, dış yanda lamina paprisea, önde orta konkanın bazal laminası, arkada

sfenoid sinüsün ön duvarı, yukarıda da etmoid tavanıyla sınırlandırılır. Arka etmoidler kafa tabanına ve optik sinire yakınlıkları nedeniyle cerrahi açıdan özel bir öneme sahiptir (35).

Sfenoid sinüs: Kafatasının merkezinde yer alır. Sinüsün dış yanında karotis arter, optik sinir, kavernoöz sinüs ve üçüncü, dördüncü, beşinci ve altıncı kafa çiftleri bulunur. Bu nedenle, sfenoid sinüs içindeki diseksiyonlar karotis ve optik sinirin kazarayaralanmalarına yol açabilir. Sağ ve sol sfenoid sinüsler oblik yerleşimli bir intersinüs septumla birbirinden ayrılır (33).

v) Fizyoloji

Burun Lateral Duvar Ve Paranasal Sinüslerin Histolojisi

Paranasal sinüsler, burun boşluğunun mukozayla örtülü divertikülleridir. Sinüslerin mukozası yalancı çok katlı silyalı kolumnar epitelle örtülüdür ve burun boşluğu mukozasıyla devamlılık gösterir. Sinüs mukozasını döşeyen epitelyum; silyalı hücreler, bazal hücreler ve mukus salgılayan goblet hücreleri içerir. Lökositler ve mast hücrelerine de nadiren rastlanır. Nazal ve sinüs mukozası içindeki silyalı hücrelerin yenilenmesi hızlıdır. Tüm sinüslerde, silyer hareketler sonucunda düzenlenen akımın yönü sinüs ostiumlarına doğrudur (32).

Burun Ve Paranasal Sinüslerin Fizyolojisi

Paranasal sinüsler, solunum mukozası ile örtülü olup solunum kavitesi içinde yer alır. Burun ile paranasal sinüsler birbiri ile ilişkili olduğundan dolayı fizyolojik fonksiyonları birlikte değerlendirilir.

Sempatik ve parasempatik innervasyon: Nazal mukozanın ve paranasal sinüslerin parasempatik innervasyonu beyin sapındaki *nukleus salivatorius superiordan* kaynaklanıp bu nükleustan çıkan lifler *nervus intermedius* oluşturur ve daha sonra fasiyal sinir ile birlikte devam eder. Liflerin bir kısmı fasiyal sinirden genikulat ganglion seviyesinde *nervus superficialis major* olarak ayrılır ve bu sinir lifleri postgangliyonik sempatik liflerle birleşip Vidian kanalı sinirini meydana getirir. Vidian sinir ise pterigopalatin

fossada bulunan sfenopalatin gangliyonu gelir. Parasempatik lifler gangliyonu sinaps yaptıktan sonra postgangliyonik lifler buruna, nazofarenkse ve farenkse gider. Sempatik lifler ise spinal kord 1. ve 2. torasik segmentlerindeki lateral boynuz hücrelerinden köken alır. Anterior sinir kökleri içinde devam edip süperior servikal gangliyonu sinaps yapar. Postgangliyonik sinir demetleri internal karotis arter çevresinde plexus meydana getirirler. Bu plexustan çıkan liflerin bir kısmı nervus petrosus profundus oluşturup Vidian sinir kanalı içindeki parasempatik liflere dahil olur. Sfenopalatin gangliyonu sinaps yapmadan geçer. Parasempatik sinir liflerinde olduğu gibi sfenopalatin sinirin dalları olarak buruna, nazofarenkse ve orofarenkse gider. Parasempatik liflerin uyarılması sonucu, vazodilatasyon ve nazal konjesyon meydana gelir. Ayrıca nazal sekresyon miktarında da artma gözlenir. Sempatik liflerin uyarılması ise vazokonstriksiyon ve nazal mukozada dolaşan kan hacmi azalması ile sonuçlanır. Parasempatik uyarım daha sulu salgıya, sempatik uyarım ise daha kıvamlı salgıya sebep olur. Nazal mukozada bulunan süperfisyel kapillerler yüzeydeki sıcaklık değişikliklerini, derin venöz sinüsler ise mukoza kalınlığını kontrol eder (32).

Nazosistemik refleksler, nazokardiyak ve nazopulmoner yollar uzun süredir bilinmektedir. Bu sistemin afferent yolunu trigeminal sinirin maksiler dalının lifleri, efferent arkını ise vagus sinirinin lifleri oluşturur. Bu uyarılardan en çok etkilenen organlar kalp, akciğerler ve vasküler sistemler olup bu reflekslerin uyarımı ile ilgili organlarda apne, hipopne, bradikardi, kardiyak disritmi ve hipotansiyon ile sonuçlanan periferik vasküler direncin azalması gibi etkiler meydana gelir (32).

Paranasal sinüslerin fizyolojik fonksiyonları tam olarak aydınlatılamamış olup sinüslerin fonksiyonları hakkında birçok teori üretilmiştir (32). Paranasal sinüslerin fonksiyonları; havayolu sağlamak, kafatasının ağırlığını azaltmak, önemli yapıları (orbita, beyin gibi) dış travmaların etkisinden korumak (enerji emilimi), solunum havasının akciğerlere uygun basınçta ve hacimde ulaşmasını sağlamak, solunum havasını filtre etmek, nemlendirmek ve ısıtmak, vokal rezonansa katkıda bulunmak, yüz iskeletinin gelişiminde rol oynamak, olfaktör sahanın alanını genişletmek olarak sıralanabilir (32).

vi) Etiyoloji:

Nazal polip gelişimi ile ilgili olarak henüz tam anlamıyla kabul görmüş ve kesinlik kazanmış bir teori bulunmamaktadır. Nazal polipin etiyojisinde pek çok faktörün rol oynadığı düşünülmektedir. Nazal polip etiyojisinde rol oynadığına inanılan faktörler şunlardır (36).

1) Allerji:

Nazal polipli hastaların büyük bir kısmında alerjik rinit semptomları mevcuttur. Nazal polipli hastalarda yapılan çalışmalarda, alerji prevalansı %10 ile %64 arasında değişmektedir (36). Alerjisi olan hastalarda ise nazal polip insidansı % 5'ten az olarak saptanmıştır(36).

Allerji ve nazal polip hikayesi olan hastaların nazal mukozalarındaki inflamatuvar hücre grubu, sıklıkla eozinofillerden oluşmaktadır. Hem polip dokusu hem de nazal mukoza yaymasındaki dominant hücre eozinofillerdir. Bu yüzden alerji, nazal polipler için bir etyolojik ajan olarak düşünülmüştür.

NP'li hastalarda allerji görülme oranı ile, normal popülasyondaki görülme oranı arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Ayrıca NP'li atopik ve atopik olmayan bünyeler arasında Ig-E, IL- 4 ve IL-5 seviyelerinde anlamlı farklılık saptanmamıştır (37).

Toplumda NP görülme sıklığı %1-4 iken alerjik rinit sıklığı %10-15 civarındadır. Ancak alerjik rinitli hastalarda NP görülme oranı normal popülasyona göre oldukça düşük olup %0,1-%0,5 arasında değişmektedir. Nazal polipli hastalarda allerjenlere karşı pozitif cilt testi görülme oranı normal popülasyonla aynı oranda gözlenmiştir (37). Nazal polip ve normal mukozadan elde edilen doku kültürlerinde; alerjik reaksiyon ve NP süresince oluşan eozinofilik infiltrasyonun kısmen de olsa epitel hücreleri tarafından kontrol edildiği gözlenmiştir. Sağlıklı nazal mukozadaki epitel hücreler, nazal polipteki epitelyal hücreler ile kıyaslandığında, solunum mukozasının eozinofillerle infiltrasyonunu çok daha güçlü bir şekilde indüklediği tespit edilmiştir (39).

Deri testleri veya serum spesifik IgE yoluyla nonatopik yapı tanımlanan hastalarda, mukozal allerji olarak da tanımlanan burun mukozasına lokalize IgE aracılı allerji bulunabilir. Dokuz farklı çalışmanın metaanalizinde nazal polip hastalarının %19'unda sistemik allerji bulgusu olmamasına rağmen spesifik IgE aracılı nazal

mukozal allerji olduğu gözlenmiştir (40). Bunlar allerjinin etyolojik bir faktörden çok, komorbid faktör olarak NP etyopatogenezinde rol oynadığını düşündürmektedir (39).

2) Süperantijen:

Süperantijen terimi; ilk defa 1989 yılında *White* ve arkadaşları tarafından, insan ve diğ er memelilerde CD4+, CD8+ ve bazen de T lenfositlerde yüksek dereceli potent uyarıma yol açan bir grup viral ve bakteriyel protein yapı lı toksin ve mitojen için kullanılmış tır (41).

Süperantijenler, masif poliklonal T hücre proliferasyonuna neden olan, immün sistemi hedef alan mikrobiyal orjinli toksinlerdir (42). Süperantijenlerin insanda hastalık yapabilme kabiliyeti; hücre yüzey adezinlerine, antifagositik faktörlere ve salınan eksotoksinlere bağı lı olup bunlar mikroorganizmaya besin sağı lamakta ve insanda immün sistem fonksiyonunu baskı lamaktadır. *Staphylococcus aureus* süperantijen olarak 19 adet ekzotoksin salgılar (43). Bunlardan en çok bilinenleri stafilokok enterotoksini B ve toksik sok sendrom toksini-1 gibi toksinlerdir (43,44, 45, 46). Bu süperantijenlerin etkileriyle IL-4, IL-5, IL-13, IFN-gama üretiminde artış yaparak NP’de eozinofilik enflamasyona neden olduğu belirtilmiştir (45). Yapılan son çalışmalarda nazal polip spesmenlerinde *Staphylococcus aureus* üremesi ve % 60’lara varan oranlarda stafilokok toksinlerinin varlığının gösterilmesi, NP gelişiminde süperantijenlerin rol oynayabileceğı fikrini desteklemektedir (46,47,48,49).

3) Genetik:

Genetik anlamda, Kistik Fibrozis transmembran iletim düzenleyicisi (CFTR) en çok çalışılan genlerdendir (50). Gen mutasyonu heterozigot olarak defektif olduğ unda 3 alanda immün cevap bozuk olarak gözlenmektedir. Bunlar; mekanik bariyer fonksiyonlarında azalma, doğ uştan olan immün cevapta azalma, doğ uştan immün cevabın kazanılmış immün cevapa aktarımında bozulma olarak görülür.

NP’te IL-22 seviyeleri düşük olarak gözlenmiştir (51). IL-22 sitokinlerine, yapısında 2 kalsiyum bağ layacak bölgesi olan düşük molekül ağı rlıklı lı bir protein grubu olan S-100 ailesi duyarlıdır. Miyoepitelyal hücreler, makrofajlar, *Langerhans* hücreleri

ve dentritik hücrelerde S-100 normalde bulunmaktadır. Nazal poliplerde S-100 gen ailesinde de azalma gözlenmiştir (52).

NP'te SPINK-5 (*Serine protease inhibitör Kazal-type 5*) gen ekspresyonunun da azaldığı gözlenmiştir (53). Bu gen serin proteaz inhibitörlerini kodlamaktadır. Bu inhibitörler mukozal yüzeylerin antimikrobiyal korunmasından sorumludur. SPINK-5 gen ekspresyonu azaldığında, epitelyal hücreler arası bulunan sıkı bağlantıların azalmasına bağlı olarak mikroorganizmalara karşı olan koruma fonksiyonları azalmaktadır(54).

Gerek SPINK-5 ekspresyonunda azalma gerekse S-100 proteinlerinde azalma hücre yıkımının artışına neden olmaktadır. Hücre yıkımının artışı da TLR ve PAR aktivitesinin artışına neden olarak inflamatuvar cevabın artışına yol açmaktadır(51,54).

TLR2 reseptör uyarım bozuklukları (TLR2/-16934) da genetik olarak etkili faktördür. TLR2 uyarım bozukluğu, doğuştan immün yanıt sonucu artması gereken IL-8 yerine kazanılmış immün yanıtla artan IL-6 artışına yol açmaktadır. IL-6 artışı da IL-10 seviyelerini azaltarak inflamasyonu artırır (55).

TNF ailesinden olan BAFF (*B-cell activating factor*) protein düzeyinin de NP hastalarında artmış olduğu gözlenmiştir (56). BAFF proteini, B hücre immünesini kontrol etmektedir. Ayrıca BAFF proteini TCR sinyal yolunu stimüle ederek T hücre uyarımı da yapmaktadır. Sonuçta artan immünoglobulin seviyeleri (özellikle IgA) ile eozinofil degranülasyonu artmakta ve inflamasyon gelişmektedir (57).

Nazal polip gelişiminde genetik etyolojiden ailesel birikim zemininde şüphelenilmektedir. Paranasal mukoza ve nazal poliplerdeki inflamatuvar hücrelerin yüzeyinde HLA-DR (*Human leukocyte antigen-DR*) bulunmaktadır. HLA-DR7-DQA1*0202 ve HLA-DQB1*0202 haplotipi bulunan insanlar, nazal polip gelişimi için iki veya üç kat yüksek bir orana sahiptirler (58).

4) Enfeksiyon:

NP'li hastalarda burun ve paranasal sinüslerin kronik enfeksiyonuna sık rastlanmaktadır. Poliplerin büyük bir çoğunluğunda aerob bakteri izole edilebilir ve bakteri yoğunluğu ile eozinofilden çok nötrofil infiltrasyon yoğunluğu arasında bir ilişki vardır; ancak steril kalan olgularda çoktur (59).

a) Virüs Enfeksiyonları:

Virüsler; DNA veya RNA şeklinde nükleik asit molekülü içeren glikoprotein kapsülü olan mikroorganizmalardır (60). Virüslerin NP'e neden olabileceği ile ilgili çeşitli teoriler ortaya atılmıştır. *Adenovirus*, *Epstein-Barr virus*, *herpes simpleks* ve *human papilloma virus* üzerinde durularak viral enfeksiyonun inflamasyona yol açtığı ve virüsün sinüste kalması ile antijenik uyarı sonucunda NP gelişebileceği ön görülmüştür (61). Ancak yapılan tüm çalışmalara rağmen viral etyoloji ortaya konulamamıştır.

b) Bakteri Enfeksiyonları:

Paranasal sinüsler; normal şartlar altında steril kabul edilmesine rağmen, nazal kavite ve nazofarenks normal flora elemanları ile kolonizedir (62). Erişkinlerde normal flora elemanları, *Staphylococcus aureus* *Staphylococcus epidermidis*, *Proopibobacterium acnes*, *Corynebacterium difteroides*, alfa ve gama streptokok çeşitlerinden oluşmaktadır (63).

Nazal polipozis mikrobiyolojisi ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda; *H. influenza*, *peptostreptococcus*, *S.pneumoniae*, *S.aureus*, alfa-hemolitik streptokok ve koagülaz negatif streptokok gibi birçok bakterinin ürediği tespit edilmiştir (64).

Bakteriyal enfeksiyonda eozinofillerden çok nötrofil infiltrasyonu görülmesi beklenmektedir. Tavşanlarda deneysel maksiller sinüzit oluşturulması sonucu polip gelişimi gözlenmiştir. Bu çalışmalarda sinüs ostiumu tılandıktan sonra sinüsler *S.pneumonia* tip 3, *Bacteriodes fragilis* veya *S.aereus* ile inoküle edilmiştir. İndükleyen ajandan bağımsız bütün sinüzit gruplarında polip oluşumu gözlenmiş fakat belirli bir mikroorganizma bulunmasıyla direk bir ilişkisi gözlenmemiştir (65).

c) Mantar Enfeksiyonları:

Solunumla alınan fungal materyaller, sinonazal mukus tarafından yakalanır ve eozinofillerin solunum mukozasından lümene doğru yer değiştirmesine neden olurlar. Eozinofiller saprofit olarak bulunan fungusları sarıp saldırırlar ve kendileri parçalanır (degranülasyon yoluyla). Parçalanan eozinofillerden bazı toksik proteinler açığa çıkması sonucu bu toksik proteinler fungusu parçalayarak mukozada hasara neden olurlar (66). Mantarların solunum yolunda IgE aracılığı ile alerjik cevap oluşturdıkları yapılan çalışmalarda açıkça ortaya konmuştur (67). Fakat diğer inhalan allerjenler aksine fungal antijenler tip III ve tip IV immun reaksiyonlara da yol açmaktadır (68). Nazal polip hastalarının, %45'inde mold ekstraktlarına karşı, %40'ında C. Albicans'a karşı pozitif deri testi bulunmuştur. Kontrol hastaların da ise sadece %11'lik kısmında mold ekstraktlarına karşı pozitif deri testi bulunmuştur (69).

Yeni kültür ve inceleme yöntemleri ile mukus spesmenleri incelendiğinde kronik rinosinüzitli hastalarda %96, sağlıklı kontrol grubunda %100 oranında spesmenlerde mantar gözlenmiştir. Bu durum, burun ve paranazal sinüslerde normalde sık görülen mikroskopik fungal kolonizasyonu göstermektedir (70).

5) Mukozal Temas:

Polipler, nazal kavitedeki basınç noktalarından gelişir (34). Özellikle etmoid sinüslerin dar bölgelerindeki mukozada herhangi bir nedenle gelişen ödem, karşı mukozayla temas edip polip gelişimine zemin oluşturur (71). Beraberindeki mukozal hasar, sinüs drenajında bozulma ve siliyer fonksiyonun engellenmesi; kolaylıkla bakteriyel invazyona ve sinüzite yol açar. Sinüzit de venöz stazı ve mukozal ödemi arttırarak poliplerin daha fazla büyümesine neden olur (72, 73, 74).

6) Bernoulli fenomeni

Havanın dar bir bölgeden geçerken basıncının azalması olup çevresinde bulunan mukozanın lümenine doğru çekilmesine neden olur. Poliplerin özellikle osteomeatal kompleks çevresinden ve etmoidden kaynaklanması, ekspiryumda ve inspiryumda azalan burun boşluğu basıncının, en fazla bu anatomik bölgeleri etkilediğinin göstergesi olarak kabul edilebilir (6, 32 71).

7) İlişkili Hastalıklar:

a) Samter Triadı (Fernand Widal Hastalığı)

Nazal polipozis, astım ve aspirin intoleransı ile karakterize bir sendromdur. İlk kez 1922’ de Widal ve ark. tarafından tanımlanmıştır (75). Patogenezinde; aspirin tarafından inhibe edilen araşidonik asit COX-1 enzimi eksikliği ile 5-lipooksijenaz yolunun baskın hale geçmesi sonucunda prostaglandin E2 azalmakta ve lökotrienler artmaktadır. Hem lökotrienlerin enflamatuar etkisi hem de PGE2’ nin antienflamatuar etkisinin azalması sonucunda tüm mukozal yüzeylerde reaktivasyon meydana gelir. Bu reaktivasyonda en önemli enflamatuar hücre grubu ise eozinofiller ve mast hücreleridir (76,77).

Aspirin duyarlılığı (AS) olan hastalarda, %35-96 oranında nazal polip görülmektedir. Sadece nazal polipi olan hastalarda ise %2 oranında AS gözlenmiştir (78). Nazal polipli hastalarda astım gelişme oranı %20-40 arasında değişmektedir(78). Samter triadı; genellikle 30-40 yaşlarda ortaya çıkar. Hastaların %15’ i AS bulunduğu habersizdir. Tedavide hastalığın durumuna göre topikal veya sistemik steroid kullanılmaktadır (78).

b) Churg-Strauss Sendromu (CSS)

CSS granülomatöz alerjik vaskülit olarak tanımlanmaktadır. Atopi, astım ve eozinofili ile seyreden sistemik nekrotizan vaskulit şeklinde karakterizedir. Bu hastaların yaklaşık %34' ünde nazal polip ile karşılaşmaktadır (79).

c) Kistik Fibrozis

Otozomal resesif geçişli, 7. kromozomdaki “cystic fibrosis transmembrane conductance regulator” (CFTR) adlı bir proteinin genindeki mutasyon sonucu gelişen kalıtsal bir hastalıktır. Bu gendeki mutasyon sonucunda, klor kanallarında işlev bozukluğu meydana gelmektedir(80, 81). Klor kanalı işlev bozukluğu sonucu; salgı bezleri ve solunum epitelindeki hücrelerde işlev bozukluğu oluşup mukus viskozitesinde artma, buna ikincil mukosiliyer aktivitede bozulma ve sonuç olarak da sinüs ostium tıkanıklığı meydana gelmektedir (82, 83). Çocuklardaki KF’de NP %10 oranında; yetişkinlerde ise %20–48oranında rapor edilmistir (84, 85).

d) Young Sendromu

Tekrarlayan üst solunum yolu enfeksiyonları, obstruktif azospermi ve NP ile karakterize bir sendrom olup 1970 yılında Young tarafından tanımlanmıştır. Solunum yolu hastalığı, bronşiektazi ile ilişkili olabilen şiddetli kronik sinüziti kapsamaktadır. KF’ ten, terde klor testi ve pankreas fonksiyonlarının normal olmasından dolayı dışlanır. Sillia yapısı normaldir. Azospermi epididimis tıkanıklığı sonucu gelişir. Hastalarda spermatogenez normaldir. Erkek kaynaklı kısırlığın %7,4’ ünün nedenidir (25, 86).

e) Primer siliyer diskinezi sendromu

Primer siliyer diskinezi(PSD) sendromuna sahip hastaların %40'ında kronik sinüzit ve NP mevcuttur. Çocukların yaklaşık %100'ünde kronik ya da rekürren kulak problemleri mevcuttur (87). Hastalığın oluşmasındaki ana neden mikrotübül yapısındaki dynein eksikliğine bağlı sillerin işlev bozukluğudur (88).

f) Allerjik olmayan eozinofilik rinit sendromu (NARES)

NARES hastalarında allerji belirtilerine ilişkin hikaye yoktur ve deri testleri ile serum IgE seviyeleri normaldir. Fakat nazal sekresyonlarda oldukça fazla sayıda eozinofil bulunur. NARES hastalarını %29'unda NPsaptanmıştır(89).

vii) Patogenez

NP etyopatogenezi halen tam olarak aydınlatılamamıştır (90). NP multifaktöriyel bir hastalık olup oluşumunda birçok faktör rol oynar (91). Nazal poliplerle ilişkilendirilmiş sitokinler, kimyasal araçlar, büyüme faktörleri ve adezyon molekülleri tablo 2'te özetlenmektedir (92,93,94).

1) İnterlökinler

a) IL-4

NP oluşumuna neden enflamatuvar olaylar esnasında IL-4'ün önemli bir yeri olduğu düşünülmektedir (70). IL-4; eozinofiller, bazofiller, Th2 hücreler, mast hücreleri ve natural killer hücreler tarafından salgılanmaktadır (95). IL-4 ise TGF-beta salgılanmasına neden olur. TGFbeta'nında fibroblast çoğalması sonucu NP oluşumundaki basamaklardan biri olan submukozal stroma proliferasyonunu

Sağladığı düşünülmektedir (70, 96). IL-4 aynı zamanda eotaksin ve VCAM-1 salgılayıp ortama proenflamatuar hücrelerin göçünü hızlandırmaktadır (70).

b) IL-5

NP' de kimyasal mediatörlerden üzerinde en çok durulanı IL-5' tir. Çoğunlukla Th2 hücreler, mast hücreler, az oranda eozinofiller tarafından salgılanan IL-5 eozinofilik enflamatuar süreçte oldukça etkilidir (97). Eozinofiller üzerinde özel IL-5 reseptörleri olan tek insan lökositleridir. NP' te eozinofillerin yaşam sürelerini uzatılmasında rol oynamaktadırlar(97). Bununla birlikte, lokal artış gösteren IL-5'in sistemik etki ile kemik iliğinde eozinofil üretimini tetiklediği düşünülmektedir (98,99).

c) IL-8

IL-8, güçlü bir kemotaktik olup T-lenfosit aktivasyonunu sağlar (96). Kontrol gruplarına göre polipli dokularda IL-8'in çok daha yüksek oranda olduğu gösterilmiş. NP' teki inflammatuar süreçten sorumlu ajanlardan biri olarak IL-8 de görülmektedir (11).

2) Matriks Metalloproteinazlar

Matriks metalloproteinazlarının (MMP) esas fonksiyonları embriyonik gelişim döneminde ve doku morfogeneğinde doku şekillenmesini kontrol etmektir. MMP' lar immün sistem aktivasyonu, migrasyonu ve modifikasyonu için önemli efektör moleküllerdir. Bazı MMP' lar antienflamatuar özellikler göstermektedir. Fizyolojik süreçte hücre dışı matriks depolanması ve yıkılması arasındaki dengeyi sağlamaktadır (100). NP ile pek çok benzerlik taşıyan astımda MMP ailesinin; damar geçirgenlik artışı, ödem, hücre göçü, yeniden şekillendirme ve fibrozisden sorumlu olduğu bilinmektedir. Polip gelişimi sırasında bazı inflammatuar araçların uyarısıyla üretilen MMP' lar; epitel ve endotel bazal membranında bulunan tip 4 kollajen ve laminin

yıkımı yoluyla yeniden şekillendirmeye, damar geçirgenlik artışına ve ödeme sebep olduğu öne sürülmektedir (101).

3) **Kemokinler**

Kemokinler sitokinlere göre hedef hücrelerin daha spesifik aktivatörleri olup kemokinler selektif hücre migrasyonunda önemli rol oynamaktadır. Değişik hücre tipleri için spesifik kemokin olmasa da, eotaksinler (eotaksin 1,2,3) olarak bilinen bir grup C-C kemokin sadece CCR3(C-C kemokin reseptör tip3) tipi C-C kemokin reseptör yoluyla özellikle eozinofilleri aktive eder (102). RANTES ise CCR-1,-3,-5 yoluyla monositleri, T lenfositleri, eozinofilik ve bazofilik granülositleri etkiler (103). Eotaksin ve RANTES gibi epitelyal CC-kemokin ürünlerinin disregülasyonu, eozinofil kemotaksisinin artmasından sorumludur (104).

a) **RANTES (regulated upon activation, normally T-cell expressed and secreted)**

IL-1 β ve TNF- α tarafından uyarılması sonucunda havayolu epitel hücrelerinden salgılanan, enflamatuar hücre göçünden sorumlu bir sitokindir (105). İn vitro çalışmalarda; kronik enflamasyona zemin hazırlayan eozinofil göçünü ve aktivasyonunu, transendotelyal migrasyonunu, radikal oksijen ürünlerinin salınımını ve EKP salgılanmasını arttırdığı saptanmıştır (70).

b) **Eotaksin**

Lipopolisakkarit, IL-4, IL-1 β ve TNF- α stimülasyonu sonucu endotel, epitel hücreler ve fibroblastlar tarafından salgılanan eotaksin; bir C-C kemokindir. Eozinofiller başta olmak üzere birçok enflamatuar hücre tipinin kan dolaşımından mukozaya göçüne neden olmaktadır (29). C-C kemokin reseptör 3 yoluyla

enflamatuar hücre üzerinde etki gösterip eozinofil göçü ve aktivasyonundan sorumludurlar (106). Göçü arttırmanın yanında, plazminojen-plazmin sistemini de aktive ederek birçok proteinazın ortaya çıkmasına neden olup doku hasarı oluşmasına yol açmaktadır (29).

4) Enflamatuar Hücre İnfiltrasyonu

Eozinofiller, nazal poliplerdeki infiltrasyonda en önemli ve öne çıkan hücrelerdir (82, 93, 106, 107, 108). Nazal polipozisde, ayrıca lenfosit, plazma hücreleri ve mast hücrelerinden oluşan infiltrasyon tipiktir (109, 110). Nazal polipoziste eozinofil gelişiminde, IL-5' in oldukça önemli bir rolü vardır. IL-5 kemik iliğinde eozinofil üretimini, göçünü ve endotele yapışmasını; IL-4 ve IL-4'ün ve diğer bazı aracılardan etkisiyle sentezi artan VCAM-1 ise eozinofillerin hedef organdaki vasküler endotele VLA-4 ve p-selectin reseptörleri yardımıyla tutunmasını sağlamaktadır (109, 111). ICAM-1, VCAM-1, IL-4, IL-5, IL-8 ve eotaksin eozinofili gelişmesinde gerekli olan diğer maddelerdir (109, 111). Nazal polipozisdeki hücre infiltrasyonunda plazma hücreleri de görülmekte olup NP'de görülen plazma hücrelerinin IgE değil, IgA sentezledikleri tespit edilmiştir (110). Bu nedenle NP gelişiminde, IgE aracılı hipersensitivite gerekli ya da önemli olmayabilir. Nazal polip dokusunda belirgin ve yaygın mast hücre degranülasyonu izlenmektedir. Polip dokusundaki serbest histamin konsantrasyonu da tüm diğer dokulardan yüksektir ve polip dokusundaki ödemde serbest histamin miktarı ölçülebilir düzeydedir (14).

5) Sıvı Elektrolit Geçişinin Bozulması

Poliplerde yoğun ekstraselüler sıvının; mast hücrelerinden salınan, damar geçirgenliğini arttıran maddelerin sıvı ve elektrolit geçişinde bir bozukluk yapması sonucu meydana gelebileceği düşünülmektedir. Polip epitelinde sodyum absorpsiyonu ve klor permeabilitesinde artış olduğunu tespit edilmiştir (112). Bu nedenle su ve tuz geçişi kolaylaşıp intertisyel alanda ödem oluşumunu tetiklemektedir. Bu bulgulardan

hareketle nazal polip hastalarında anormal düzeylerde bulunan mediyatörlerin sodyum ve klor kanallarının çalışmasını etkileyerek ödem oluşmasına neden olduğu öne sürülmüştür (2).

6) Nitrik Oksit (NO)

Nitrik oksit (NO), düşük molekül ağırlığı ve lipofilik yapısı nedeni ile kolay ve hızlı bir şekilde hücre zarlarından geçebilmektedir. NO taşıdığı bir veya daha fazla sayıda ortaklanmamış elektron nedeniyle bir serbest radikal moleküldür. Diğer serbest radikaller her konsantrasyonda hücre için zararlı olmakla beraber NO düşük konsantrasyonlarda çok önemli fizyolojik işlevlerde bulunmaktadır ve bu özellikler NO'yu ideal bir molekül yapmaktadır. Ancak aşırı ve kontrolsüz NO üretimi hücrelere zarar verebilmektedir(113). Serbest radikaller antioksidan sistemler tarafından bir denge içerisinde tutulur. Ancak dengenin oksidan tarafına kayması sonucu hücre hasarları ve kronik hastalıklar ortaya çıkabilir (114).

Karlıdağ ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalara göre NP dokusunda NO seviyesinin arttığını ve buna karşın antioksidan enzimlerde ise azalma olduğu gözlenmiştir. Bundan dolayı NP'lerde serbest radikal hasarının varlığını düşünülmektedir (37). Ayrıca yüksek miktarlarda ve sürekli NO üretimi özellikle demire bağımlı enzimlerin (COX ve ALOX gibi) inhibisyonuna yol açarak NP'nin oluşumunda etkin rol üstlenen metabolitlerin (PG'ler, lökotrienler) sentezini gerçekleştiren enzimlerin inhibisyonuna neden olmaktadır. NO fizyolojik ve inflamatuvar süreçte önemli bir aracı molekül olarak kabul edilir (115, 116).

viii) Tanı

NP tanısı; anamnez, fizik muayene, endoskopik ve radyolojik inceleme ile konulmaktadır (117). Burun tıkanıklığı, nazal polipli hastalarda en sık şikayet olmakla beraber burun akıntısı, nazal rezonans azlığı, anosmi, özellikle burun dorsumu, alın ve yanaklarda hissedilen baş ağrısı, horlama gibi şikayetlerle de karşılaşılmaktadır (118).

Nazal polip; anterior rinoskopik muayenede düzgün yüzeyli, soluk renkte şeffaf ve yuvarlak bir kitle olarak görülmektedir. Genellikle birden çok sayıda ve bilateral olarak görülmektedir. Tanıda kullanılan en değerli yöntem nazal endoskopidir. Endoskopik nazal muayene ile başlangıç dönemindeki orta meatusa sınırlı polipler dahi kolayca saptanabilir.

Paranasal sinüs BT görüntüleme, şu anda paranasal sinüslerin ve komşu yapıların değerlendirilmesinde altın standart yöntemdir (117). Paranasal sinüsler ve çevre dokulardaki hastalığın yayılımının doğru değerlendirilmesini sağlar (119, 120). Paranasal sinüs MRG'sinin pahalı olması nedeniyle değerlendirmede öncelikli yeri yoktur. MRG'nin BT'ye göre avantajı yumuşak doku çözünürlüğünün çok daha iyi olmasından kaynaklanmaktadır. Özellikle bakteriyel ve fungal sinüzit ayırımı ile enflamasyon ve tümör ayırımında BT'ye üstünlük sağlar (121).

Nazal polibin tedavi öncesi ve sonrası seyrinin değerlendirilebilmesi ve standardizasyon sağlanması için hem radyolojik hem de endoskopik skorlamalar geliştirilmiştir (119, 122). Bugüne kadar NP için kabul edilen tam bir evreleme yapılamamıştır. NP boyutlarındaki değişikliklerin değerlendirilmesinde kullanılan en iyi yöntemlerden biri Lildholdt evreleme sistemidir (Tablo 2) (119). Lund-Mackay evreleme sistemi ise en yaygın olarak kullanılan radyolojik evreleme yöntemidir (Tablo 3) (122).

Tablo 2. Lildholdt Evreleme Sistemi

Endoskopik Görünüm	Evre
Polip yok	0
Orta meatusta sınırlı küçük polipler	1
Orta meatustan taşmış alt konkanın üst yüzüne uzanan polipler	2
Alt konkanın alt kenarının arkasına uzanan polipler	3

Tablo 3. Radyolojik Lund-Mackay Evreleme Sistemi

Etkilenen Sinüs	Sol	Sağ
Maksiller	0-1-2*	0-1-2*
Anterior etmoidal	0-1-2*	0-1-2*
Posterior etmoidal	0-1-2*	0-1-2*
Sfenoidal	0-1-2*	0-1-2*
Frontal	0-1-2*	0-1-2*
Osteomeatal kompleks	0 veya 2**	0 veya 2**
Toplam	0-12	0-12

ix) Tedavi

NP tedavisinin amacı; polipleri ortadan kaldırmak veya azaltmak, rinit semptomlarını azaltmak, burun tıkanıklığını gidermek, koku duyusunun tekrar kazanımını sağlamak ve nüksleri önlemektir (123). Günümüz olanaklarına göre tedavide en gerçekçi amaç hasta için en uzun asemptomatik süreyi sağlamaktır.

NP tedavisinde medikal ve cerrahi tedavi vardır. Birçok yazar öncelikle kortikosteroid tedavisini önermektedir (124,125,126). KS'lerin birçok yan etkilere sebep olması ve çok sık nüks ile karşılaşılması bu preparatların güvenli kullanımı tartışmalıdır. Vento ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada 41 nazal polipli hastanın 20 yıllık takibi sonunda,%85'inde hala hastalık mevcut iken, 8 tanesi ise 11 kez farklı operasyon geçirmek zorunda kalmıştır (127).

1) Medikal Tedavi

a) Kortikosteroidler

NP' de steroid tedavisinin etkinliği net olarak ortaya konmuştur. Steroid tedavisi, eozinofillerin artışına neden olan sitokin salınımını ve T hücre sayısı ile mikrovasküler kaçağı azaltarak etki eder (128). Steroidler lokal veya sistemik olarak kullanılabilir. Sistemik steroid tedavisi, hem nazal polipozisi büyük oranda küçültür hem de koku alımında azalma şikayetini ciddi oranda azaltır (129). Depo enjeksiyonlar ve oral olmak üzere iki şekilde sistemik steroid tedavi uygulaması mevcuttur. KS'in kullanımına dair net bir görüş birliği yoktur. Bachert ve arkadaşlarına göre 32 mg metilprednisolon 5 günde bir azaltılarak 8 mg'a düşürülmeli ve tedavi süresi üç hafta olmalıdır. Bu protokol eğer kontraendikasyon yoksa aynı hastada yılda dört kez uygulanabilir (124). Sistemik steroid tedavisinin uzun dönem uygulanamama ve tedavi kesildikten sonra nazal polipozis nüksü gibi dezavantajları mevcuttur. Ayrıca sistemik steroid kullanımının diabetes mellitus, glokom, miyopati, avasküler kemik nekrozu, cilt atrofisi, yara

iyileşmesinde gecikme, hipertrikozis, akne, perioral dermatit, Cushing benzeri görünüm, duygu durum değişikliği ve psikoz gibi psikiyatri hastalıkları, arteriyel hipertansiyon, gastrik ülser ve artmış enfeksiyon riski gibi yan etkileri vardır. İntranazal steroidlerin ise uzun süreli uygulanabilmeleri ve yan etkilerinin oldukça az olması nedeniyle NP tedavisinde önemli yere sahiptir (130). Yaygın olarak kullanılan topikal ajanlar flutikazon propiyonat, mometazon furoat, betametazon, triamsinolon asetonid, budesonid, beklametazon bipropiyonat ve flunisoliddir. Damla veya sprey şeklinde kullanılabilen bu ajanlardan, damla formlarının daha etkili olduğu düşünülmektedir (126). İntranazal steroidlerin NP boyutunu küçülttüğü, nazal akımı arttırdıkları ve cerrahi sonrası NP rekürrensini azalttıkları tespit edilmiştir (130).

b) Antimikrobiyal tedavi

Antibiyotikler

Nazal kavitede normalde patojen olmayan *corynebacteria*, koagülaz negatif *staphylococcus*, *propionibacteria* ve *peptostreptococcus* gibi bakteriler bulunabilir. NP hastalarında orta meatusda en sık %70 oranındaki koagülaz pozitif *staphylococcus aureus* bakterisine rastlanmış olup bu bakterinin yaklaşık %60-70'i eksotoksin salgılamaktadır (46, 49, 124). Makrolidlerin antibiyotik etkilerinin yanında IL-8 düzeylerinin azaltılması, fibroblast proliferasyonunun inhibe edilmesi gibi antiinflamatuvar etkilerinin de olduğu gösterilmiştir (124). Roksitromisinin invitro olarak polip dokusu fibroblastlarının proliferasyonunu engellediği gösterilmiştir ve roksitromisinin bu yolla dolaylı olarak IL-8 üretimini azalttığı düşünülmektedir (131). Bir ay boyunca 300 mg/gün roksitromisin tedavisi alan hastalardan alınan NP biyopsilerinde tedavi almayan hastalara göre fibroblastların çoğalmasının baskılanmış olduğu tespit edilmiştir (132). Yapılan başka bir çalışmada ise altı hafta günde iki kez 500 mg klaritromisin kullanılan hastalarda tedavi sonrası BT görüntüleri karşılaştırılmış ve anlamlı bir düzelme olmadığı gözlenmiştir (133).

Antifungaller

NP etyolojisinde mantarların da yer alabileceği fikrinden ötürü antifungal tedavinin de uygulanabileceği düşünülmüştür. Nazal amfoterisin irrigasyonu ile yüksek başarı oranı elde edildiğine dair yayınlar vardır (134). Shin ve Ye serum fizyolojik ve amfoterisinle irrigasyon uygulamalarını karşılaştırdıkları çalışmalarında irrigasyonun polip dokusunda sitokin ifadesini azalttığını saptamışlardır ancak amfoterisinin serum fizyolojiğe üstünlüğü gösterilememiştir (135).

c) Lökotrien Antagonistleri

Asprine duyarlı kişiler başta olmak üzere araşidonik asit metabolizmasındaki değişikliklerin nazal polip gelişiminde etkili olduğu düşünülmüş olup sisteinil lökotrien seviyeleri yüksek, PGE2 seviyeleri ise düşük bulunmuştur (124). Bundan dolayı özellikle aspirin sensitif kişilerde lökotrien antagonistlerinin kullanımı düşünülebilir. Ancak bu ilaçların etkinliğinin tam olarak ortaya konması için daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

d) Aspirin Desentisizasyonu

Nazal polipli asprin duyarlı hastalarda uygulanabilecek tedavilerden bir diğeri asprin desentisizasyonudur. Asprin ya da COX inhibitörleri dozları arttırılarak hastalara uygulanıp desentisizasyon yapılabilir. Uzun süreli tedavi sonrasında, tekrarlayan sinüs enfeksiyonlarında, astımdan dolayı hospitalizasyon sayılarında ve kullanılan kortikosteroid dozlarında belirgin düzelme gözlenmiş (136).

e. Furosemid

Furosemid, respiratuar epitel yüzeyinde sodyum-klorür co-transport kanallarını inhibe ederek etkisini gösterir. Furosemidin nazal polip hücre kültürlerinde in vitro prostoglandin üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir (124).

f. Antihistaminikler

Allerjik rinitli ve NP' li hastalarda antihistaminikler kullanılabilirler fakat sadece NP' si olan hastalarda kullanımı ile ilişkili kesin bilgiler bulunmamaktadır. Bununla beraber in vitro bazı antihistaminiklerin doz bağımlı olarak polip dokusunda LTB₄, PGD₂, TNF α ve GM-CSF düzeylerini düşürdükleri gösterilmiştir (124). Haye ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, rekürren NP' si bulunan 45 hastada üç ay setirizin kullanmışlar ve plasebo ile karşılaştırmışlardır. Çalışma sonunda polip boyutları ve miktarı değişmese de tedavi süresinde hapşırtma ve burun akıntısı şikayetlerinde belirgin azalma gözlenmiştir (137).

2) Olası Tedavi Modaliteleri

a) IL-5 Antagonistleri

IL-5 bir eosinofil diferansiyasyon faktörü olup, eosinofillere karşı sensitiviteyi artırır. IL-5 reseptörleri sadece eosinofil ve bazofillerde bulunmaktadır. Bundan dolayı eozinofilik bozukluklarda, tedavide IL-5 nötralizasyonunun hedeflenmesi anlamlı bir yaklaşım görülmektedir (124). Yapılan hayvan deneylerinde anti-IL-5mAb uygulamasının anti-astımatik etkileri gözlenmiştir (138). Diğer bir eozinofilik bozukluk olan NP' lerde de etkili olacağı düşünülmektedir (124).

b) Kemokin Reseptör 3(CCR3) ve Eotaksin Antagonistleri

Eotaksin, eotaksin-2 ve RANTES gibi kemokinler CCR3 üzerinden etki ederek eozinofil kemotaksisini ve aktivasyonunu başlatma özelliğine sahiptirler. Bundan dolayı CCR3antagonizmi tedavi yöntemleri nazal polip tedavisinde etkili olabileceği düşünülmektedir (124).

c) IL-4 ve IL-13 Antagonistleri

Nazal polip dokusunda IL-4 ve IL-13 mRNA hücreleri saptanmıştır. IL-4 ve IL-13'ün havayolu enflamasyonunda IgE ve VCAM-1 salgılanması, eozinofillerin epitelden transmigrasyonu gibi önemli görevleri bulunmaktadır. IL-4 antagonistlerinin astım hastalarında kullanımıyla önemli sonuçlar elde edilmiştir. Ancak bu ajanların nazal polip hastalarında kullanımı ile ilişkili çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (124).

d) IgE Antagonistleri

Nazal polip dokusunda artmış lokal IgE antikorları ve bunların hastalık şiddetiyle orantılı olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç IgE'nin kronik enflamasyon evrelerinde yer aldığını ortaya çıkarmıştır. Allerjik astımı ve riniti olan hastalar bir anti-IgE antikor olan omalizumab ile tedavi edilmiş ve dolaşımdaki serbest IgE seviyelerinde anlamlı bir düşüş görülmüş, ayrıca dahası hastalarda allerjik semptomların azalmasını da sağlamıştır (124). Ancak bu ajanın nazal polipte nasıl sonuçlar vereceği henüz bilinmemektedir.

e) Matriks Metalloproteinaz İnhibitörleri

NP tedavisinde, yeni bilgiler ışığında yeni hedef moleküller arasında matriks metalloproteinazlar olup bunlardan da MMP-9 bulunmaktadır. MMP-9 ve MMP-2 antikorları geliştirilmiş olup bunların invitro MMP aktivitesini azalttıkları saptanmıştır.

f) **Doksisiklin**

Doksisiklinin in vitro MMP-9 aktivitesini ve sentezini azalttığı gösterilmiştir. Çalışmalarda değişik seviyelerde başarı bildirilmiş olsa da kortikosteroidlere geçerli bir alternatif olabilmeleri için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Şu anda bu ilacın rutin klinik kullanımı bulunmamaktadır (139).

3) **Cerrahi Tedavi**

Tedavide için yalnız polipektomi ameliyatı uygulandığı zaman nüks oranı %40-80 arasında değişmektedir(140). Bundan dolayı, sinüslerin daha iyi ventilasyonu ve drenajı için endoskopik sinüs cerrahisi de uygulanmaktadır. Obstrüksiyona neden olan anatomik olarak mevcut deformiteler de (septum deviyasyonları, konka büllosa...) cerrahi tedavi ile ortadan kaldırılır böylece polip oluşumuna neden olan mukoza teması engellenmiş olur. Nazal polipoziste cerrahi tedavi uzun süreli kortikosteroid tedavisine rağmen düzelmeyen olgulara, dirençli enfeksiyonu, sinüslerde obstrüksiyon u olan olgulara, total nazal obstrüksiyonu olan vakalara yapılmaktadır(32, 141, 142, 143).Uygulanan cerrahi yöntemler ise intranazal polipektomi, intranazal etmoidektomi, endoskopik polipektomi ve etmoidektomi, Caldwell-Luc ameliyatı, transantral etmoidektomi, eksternal frontoetmosfenoidektomi , endoskopik sinüs cerrahisi (ESC)' nden oluşmaktadır. Osteometal kompleksteki patolojinin, etmoid hücrelerin, maksiler, frontal ve etmoid hücrelerin temizlenerek normal ventilasyon ve drenajının sağlanması ESC' nin asıl amacını oluşturmaktadır(109,143). Messerklinger tekniği ve Wigand teknikleri olmak üzere ESC'de iki teknik uygulanmaktadır (34,141, 143, 144). Messerklinger tekniği ile, endoskoplara yapılarak önden arkaya ilerleyen bir diseksiyon tekniği uygulanmaktadır. Maksiler sinüs ostiumu ve antrostomi genişletilip lamina papyracea bulunarak, ön ve arka etmoid hücrelere girilip buradaki polipler temizlenir. Sfenoid sinüs ostiumu bulunup, sinüs içerisi temizlendikten sonra agger nasi ve frontal hücreler açılır. Sonra frontal reses kontrol edilir (141). Wigand tekniği; özellikle masif polipoziste tercih edilen arkadan öne doğru yapılan, parsiyel orta konka rezeksiyonunu da içeren sfeno-etmoidektomidir. Önce posterior etmoid hücreler açıldıktan sonra sfenoid sinüs ön duvarı alınır, kafa tabanına kadar ilerlenilir ve öne doğru gelinerek en son maksiler sinüs açılır. Genel durumu ESC' ye uygun olmayan hastalarda lokal anestezi altında polipektomi yapılır(109,145).

Postoperatif medikal tedavide tuzlu su ile yapılan burun lavajı, dekonjestanlar ve mukolitikler kullanılır (146). Diffüz nazal polipoz durumlarında genel anestezi tercih edilmelidir. Kanama, görme kaybı, karotis arter zedelenmesi, beyin travması, BOS fistülleri gibi operasyon sırasında görülebilir. Postoperatif erken dönemde diplopi, subkutan orbital amfizem, geç dönemde ise nazolakrimal kese travması, sineşi, maksiller sinüsün doğal ostiumunun kapanması gibi komplikasyonlar görülebilir(141).

b. Biyofilm

i) Giriş

İlk defa 17.yy'da Van Leeuwenhoek kendi dışındaki plakları inceleyerek bu plaklarda hayvancıklar olduğunu belirtmiş ancak 1978 yılına kadar bu teori ile yorum yapılamamış (147). İlk olarak bakterilerin, yeterli besin bulunan yüzeylere yapışan bir matriks ile çevrili biyofilm içinde gelişimini sürdürdüğü savı 1978 yılında ortaya atılmıştır (147). Daha sonra yapılan çalışmalarda; özellikle su ekosisteminde, derin yer altı ve okyanus suları hariç, biyofilm oluşumunun oldukça yaygın olduğu görülmüştür (148).

Bakteriyel biyofilmler, endüstriyel su sistemlerinde çok büyük problemler oluşturmuş ve bu sorunun üstesinden gelebilmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Günümüzde su şebekelerinde biyofilm oluşumunu tespit eden sistemler kullanılmaktadır (149). Biyofilm oluşumunu direk gösteren yöntemlerin geliştirilmesinden sonra birçok tıbbi cihaz üzerinde biyofilm oluşumu gösterilmiş ve birçok kronik enfeksiyondan da sorumlu tutulmuştur (150). Bakteriler geliştirdikleri yöntemle biyofilm oluşturmak üzere fagositik amiplerden, çevresel bakteriyofajlardan ve antibakteriyel kimyasallardan korunmayı başarmışlardır (149). Yüzyıllardır insanların önemli sağlık problemi olan akut bakteriyel enfeksiyonların çoğu etken patojenlere karşı geliştirilen antibiyotik ve aşılarla kontrol altına alınmıştır. Ancak, *Pseudomonas* ve *Legionella* gibi, sağlık için hala tehdit oluşturan bakterilerin en büyük özelliği biyofilm oluşturma özelliklerinin bulunmasıdır (149).

ii) Tarihçe ve Tanım

Biyofilmler ile ilgili çalışmalar, son 30 yıl içinde teknolojinin gelişmesi ile de hız kazanmıştır. Marshall, 1976 yılında bakterilerin çeşitli yüzeylere yapışma imkanı sunan çok ince ekstraselüler polimer fibrillerden söz etmiştir. Costerton ise 1987'de biyofilmlerin yüksek oranda hidrate anyonik eksopolimer matriks içinde bulunan mikrokoloniler olduğunu tanımlamıştır. Yine Costerton ve arkadaşları bakterilerin polisakkarit yapıda bir glikokaliks matriks içerisinde yaşadığını ve buyapının bakterinin yüzeylere yapışmasını kolaylaştırdığını tespit etmiştir. Costerton ve Lappin-Scott, 1995'de bakterilerin biyofilm oluşturmalarının ve adezyonunun spesifik genler tarafından kontrol edildiğini yayınlamışlardır (151). *Pseudomonas aeruginosa* herhangi bir yüzeye tutunmak için aljinat denilen eksopolisakkarite gereksinimi vardır. Aljinat sentezini kontrol eden fosfomannomutaz enziminin sentezini sağlayan algC geni'nin miktarı, bakterinin bir yüzeye tutunmasından sonra ortamda oldukça artmaktadır (152).

Sonuç olarak biyofilm; birbirlerine ve bulunduğu ortama geri dönüşümsüz olarak bağlanan, ekstrasellüler polimerik bir matriks içine gömülü olup büyüme hızı ve gen transkripsiyonu değişikliklerine bağlı olarak farklı bir fenotipte görülen, mikroorganizmalar tarafından meydana getirilen bir kolonidir (149).

iii) Biyofilm Oluşumu

Tıbbi literatürden önce biyofilm ile ilgili çalışmalar çevresel ve endüstriyel mikrobiyoloji alanında yapılmış. Planktonik bakteriler yüksek akım hızı olan ortamlarda (defektif kalp kapakçıkları) biyofilm oluşturmaktadır. Mühendisler türbülans akımının planktonik bakterilerin yüzeylere çarpmasına sebep olup bakteriyel tutunmayı arttırdığı savını ortaya atmışlardır. Bakterilerin, hem düzgün yüzeylere hem de düzgün olmayan yüzeylere yapışarak biyofilm oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu durumdan ötürü biyofilm oluşumunda, bakterilerin yapıştığı yerin yüzey özelliğinin etkisinin çok olmadığı kanısına varılmıştır (148). Planktonik bakteriler biyofilm oluşturduktan sonra eksopolisakkarit matriks salgılayarak elastik bir özellik kazanıp mekanik travmalara karşı dirençli hale gelir (153). Kateter enfeksiyonları hastanelerde önemli ve tedavisi güç olan enfeksiyonlardır. Mikroorganizmaların kateterlere tutunma ve kolonizasyonu sonucunda meydana gelmekte olup bu tutunma ve kolonizasyon için slaym faktörün gerekli olduğu tespit edilmiştir. Kateterlerde ortaya çıkan biyofilmlerde hem mikrobiyal

hem de konak faktörleri etkindir. Mikrobiyal faktör olarak slaym, konak faktörü olarak da fibrin ve fibronektin rol oynamaktadır. Slaym üretiminin, bakterilerin düz yüzeylere yapışmasında etkili olduğu gösterilmiştir (154). Özellikle *Staphylococcus Epidermidis* tarafından üretilen bu ekstrasellüler madde, birçok polisakkaritten oluşmakta ve özellikle yabancı cisim enfeksiyonlarının oluşmasında önemli rol oynamaktadır (155). Slaym faktör üretiminin kandida ile ilişkili hastane enfeksiyonlarında da etkili bir virulans faktörü olabileceği bildirilmiştir (156). Confokal Lazer Scanning Mikroskopun (CLSM) ile yapılan incelemelerde biyofilmlerin çok düzenli 3 boyutlu yapılar oldukları gözlenmiştir. *Pseudomonas* biyofilm tabakasının etrafını kaplayan ekstrasellüler matriksin bir takım kanallar tarafından bölünüp bu kanallardan bakterilere besin taşındığı ve bu kanallar yolu ile atık materyalin dışarı atıldığı tespit edilmiştir. Bu karmaşık yapıların oluşumu bakterinin yüzeye yapışması ile başlayıp daha karmaşık bir hal alması ile son bulur (157).

iv) Biyofilm İncelenmesi ve Ölçümü

Biyofilmle ilgili ilk çalışmalarda Scanning Elektron Mikroskopu (SEM) kullanılmıştır. Bu yöntemde spesmen, inceleme öncesinde alkol, aseton ve ksilen gibi solventler kullanılarak dehidrate edilmektedir. Bu işlem, birtakım artefakt oluşumuna neden olabilmektedir. Biyofilm içerisindeki ekstrasellüler matriks yapısı ve bunun hücrelerle olan ilişkisi transmisyon elektron mikroskopu (TEM) ve rutheniyum kırmızısı gibi bazı polisakkarit boyaların kullanılmasından sonra daha iyi anlaşılmıştır. Sonradan yapılan çalışmalarda TEM ve SEM kullanılarak tıbbi cihazlar ve bazı insan enfeksiyonlarında biyofilm oluşumu incelenmiştir (158, 159).

CLSM, 1980'lerde kullanımından sonra biyofilmler araştırmalarında büyük ilerlemeler olmuştur. CLSM ve epiflörasan mikroskopinin kullanılmasına başladıktan sonra biyofilm içinde mevcut mikroorganizmalar bazı flörasan boyalarla boyanmaya başlanmış; spesifik hücre fonksiyonları için dalga boyuna özel flörasan boyalar hazırlanmış, bu sayede bazı hücre fonksiyonlarının değerlendirilmesi için fırsat doğmuştur. Orn. DAPI (4',6'-diamidino-2-fenylindole), acridine orange ve Syto 9 gibi nükleik asit boyaları hücrenin canlı olup olmaması fark etmeden hücrenin RNA ve

DNA'sını boyamaktadır. Daha sonra hücre canlılığını göstermeye yarayan boyalar geliştirilmiştir; böylece biyofilmin barındırdığı bakterilerin hangisinin canlı hangisinin canlı olmadığı tespit edilmiştir (149). Ayrıca, biyofilm oluşturan bakterilere karşı uygulanan antibakteriyel tedavinin etkinliğinin ölçülmesi de önemli bir mevzudur. Klasik MIC (Macrophage Inhibitory Cytokine) ölçüm yöntemleriyle biyofilm oluşturan bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarının tespit edilmesi doğru sonuçlar vermeye yetmeyecektir. Biyofilm oluşturan bakteriler planktonik bakterilere göre daha dirençli olup biyofilm oluşturan bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarını analiz etmek amacı ile Modifiye Robbins cihazı ve Calgary biyofilm cihazı gibi cihazlar geliştirilmiştir (160, 161).

v) Antimikrobiale Ajanlara Direnç

Bakterilerin % 99'unun biyofilm içinde bulunduğu ve insanda enfeksiyon oluşturan bakterilerin %65' nin biyofilm oluşturduğu düşünülmektedir (162). Biyofilm oluşturan bakteriler antimikrobiyal ajanlara karşı olağanca yüksek direnç göstermektedirler. Bu dirençten; biyofilm oluşumunun büyüme hızlarını değiştirmesi, biyofilm oluşumu ile ilişkili fizyolojik değişiklikler, antimikrobiyal ajanların biyofilm matriksinden geçip penetre olması sorumlu tutulmaktadır.

a) Antimikrobiyal Ajanların Geç Penetrasyonu

Antimikrobiyal ajanların hedef mikroorganizmaya etkili olabilmesi için öncelikle biyofilm matriksinden geçebilmesi şarttır. Biyofilm matriksini meydana getiren ekstrasellüler maddeler, difüzyona olağanca yüksek engel oluştururlar. Suci ve arkadaşları, siprofloksasinin *Pseudomonas Aeruginosa* biyofilmlerine penetrasyon süresini 21 dakika olarak saptamışlardır; oysaki normalde bu süre 40 saniyedir (163). DuGuid ve arkadaşları *Staphylococcus Epidermidis*'e karşı tobramisin'in etkisini incelemeleri sonucunda antibiyotiğe dirençten sorumlu olarak biyofilm yapısını tespit etmişlerdir (164). Antibiyoterapi, biyofilmin periferindeki bakterileri etkisiz hale getirmekte olup biyofilmin daha derinlerinde olan bakterileri etkilemez ve bu yüzden ortamda antibiyotik konsantrasyonu azaldığında derinde yaşayan bakteriler tekrar çoğalmaya başlarlar (165). Hatch ve Schiller *P. Aeruginosa*'dan izole edilen %2'lik

aljinatın; gentamisin ve tobramisin difüzyonunu engellediğini ancak bu etkinin aljinat liyaz ile ortadan kalktığını bildirmişlerdir (166). Başka bir çalışmada seftazidim, cefsulodin, piperasillin, gentamisin ve tobramisin gibi antibiyotiklerin sentetik veya doğal yollardan üretilmiş aljinat jelinden penetrasyonu incelenmiş ve beta laktam antibiyotiklerin aminoglikozitlere göre matriksden daha hızlı difüze olduğu saptanmıştır (167).

b) Biyofilm Oluşturan Organizmaların Büyüme Hızlarının Değişmesi

Biyofilm oluşturan mikroorganizmaların büyüme hızlarının yavaşlaması sonucunda antibakteriyel ajanların mikroorganizmaya alımının da yavaşlaması bir diğer direnç mekanizması olarak gösterilmektedir. Evans ve arkadaşları biyofilm oluşturan ve en yavaş büyüyen *Escherichia Coli* kolonilerinin en dirençli koloniler olduğunu göstermişlerdir. Diğer bir çalışmada ise büyüme hızlarının yüksek olduğu *S. Epidermidis* kolonilerinde siprofloksasinin daha çabuk ve daha etkin olduğu tespit edilmiştir (168).

c) Biyofilm Oluşumuna Bağlı Meydana Gelen Fizyolojik Değişimler

Gram negatif bakteriler besin azlığı veya diğer çevresel stres etkenlerine karşı sigma faktörleri salgılayarak cevap verirler. Bu sigma faktörleri *rpoS* geninin kontrolünde salgılanır. Adams ve McLean *rpoS* geni bulunan ve bulunmayan *E. Coli* suşlarını incelemişler, *rpoS*+ *E. coli* biyofilmlerinin daha uzun hayatta kaldıklarını tespit etmişlerdir (169). Bazı gen transkripsiyonlarının başlaması ile bakterilerin yaşamlarını tehdit eden dış ortam değişikliklerine daha dirençli hale geldikleri tespit edilmiştir (157,170).

vi) Biyofilmle İlişkili İnsan Enfeksiyonları

Biyofilm ile ilişkili enfeksiyonlar, kulak burun boğaz hastalıklarının da olduğu gibi diğer bölümlerde de görülmektedir. Olduğu kadar diğer bölümlerle ilgili enfeksiyonlara darastlanmaktadır. Otitis media, kronik efüzyonlu otitis media, kronik rinosinüzit, adenoidit enfeksiyon hastalıklarında görüldüğü gibi koklear implant, timpanostomi tüpü, ProvoxR konuşma protezi gibi bir takım tıbbi cihazlar üzerinde de tespit edilmiştir (171, 172).

a) Enfektif Endokardit

Mitral, aortik, trikuspid ve pulmoner kapakçıkların vasküler endoteline dolaşımda bulunan bakteri veya mantarların yerleşmesi sonucu meydana gelir. İntakt endotelde kan akımı laminar olduğu için bakterilerin yapışma olasılığı düşük olması ile beraber hasarlı endotelde türbülant akım oluşur ve dolayısı ile bakterilerin endotele yapışması kolaylaşır. Endotel hasarı olan yerde trombüs oluşur; bu durum non-bakteriyel trombotik endokardit (NBTE) olarak adlandırılır. Kapakçık endotelinde hasar olup türbülant akım meydana gelince hastalarda cerrahi girişimler sonucunda geçici bakteriyemiler meydana gelir ve bakteriyemi sırasında bakteri hasarlı endotele tutunur, endotelde mikroorganizma ve pıhtıdan oluşan bir kitle meydana gelir. Daha sonra bu kitle içindeki bakteriler etraflarındaki fibrin matriks sayesinde konakçı savunma mekanizmalarından etkilenmeden üremelerini sürdürürler. Vegetasyon olarak bilinen bu yapı aslında bir biyofilm oluşumudur (149).

b) Otitis Media

Otitis mediaya neden olabilecek birçok bakteri mevcut olup *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, grup A beta-hemolitik streptokokci, enterik bakteriler, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* bunlar arasında sayılabilir. Timpanostomi

tüplerinde biyofilm oluşumu gösterilmiştir (173). Yapılan bir çalışma 24 adet kronik efüzyonlu otitis mediası olan çocuğa tüp takılması sırasında alınan biopsilerin hepsinde PCR ileetken mikroorganizmalar saptanmıştır (174).Ancak bu çocuklardan yapılan kültürlerinise yalnızca 6 tanesinde üreme tespit edilmiştir (biyofilmlerdeki bakteriler normal kültürdeüretilemez). Ayrıca yapılan diğer çalışmalarda CLSM ile inceleme neticesinde hem kronik efüzyonlu otitis medialı hem de akut otitis medialı kulaklarda biyofilm oluşumu gösterilmiştir.

c) Kronik Bakteriyel Prostatit

Kronik bakteriyel prostatitte (KBP) biyofilm oluşumunu gösteren pek çok yayın bulunmaktadır. Domingue ve Hellstrom KBP’de tedavide başarısızlığın en büyük nedeni olarak KBP ile ilişkili mikroorganizmaların biyofilm oluşturmalarını göstermişlerdir (175). KBP’de biyofilm oluşumunun etkisi çok açık olup uygun tedavi bu durum göz önüne alınarak planlanmalıdır (176).

d) Kistik Fibrozis

Yapılan calısmalarda P. Aeruginosa kolonizasyonu saptanan KF’li hastalarda 2-3 katımortalite riski bildirilmektedir (177). P. Aeruginosa CFTR(-) olan akciğerlerde daharahlıklıla kolonize olduğu tespit edilmiş olup bu durum P. Aeruginosa’nın salgılamış olduğu pikosiyenin adlımaddenin CFTR ekspresyonunu azaltmasına ve kolonizasyona, dolayısı ile biyofilm oluşumuna yardım etmesine bağlanmıştır (178,179).KF’li hastaların visküz mukuslarının içinde P. Aeruginosa mukoid forma dönüşerek biyofilm formuna döner. Bakteriler biyofilm oluşumunu “Quorum Sensing” denen bir mekanizma ile birbirleri ilehaberleserek yaparlar (180).

e) Periodontit

Oral kavitede biofilm oluşturan bakteriler polimikrobiyaldir. S. Mutans, S. Gordonii, P.Gingivalis, Streptococcus Cristatus, Fusobacterium Nucleatum, PeptostreptococcusMicros, Eubacterium Timidum, Eubacterium Brachy, Lactobacillus, ActinomycesNaeslundii, Pseudomonas anaerobius, Bacteroides intermedius, Fusobacterium,Selenomonas Sputigena, Eubacterium, Bacteroides Pneumosintes ve HaemophilusAphrophilus bu bakteriler arasındadır (181). Bazı yayınlarda da periodontitden sorumluprimer ajanın *Porphyromonas gingivalis* olduğu bildirilmiştir (182). Bu mikroorganizmalar dişçevresinde uygun ortamı bulduklarında birbirlerine ayrıca diş yüzeyine yapışarak biyofilm oluşumunu başlatmaktadırlar. Kalsiyum ve fosfat ile mineralize olan bu plak yapısına tartar denir. Bu plak dişin iç katmanlarına doğru ilerleyerek diş çürüğü ve gingival enfeksiyonlara neden olur. Plak içindeki bakteriler tükürük salgısının koruyucu etkisinden korunur. Yapılan laboratuvar çalışmalarında klorheksidinin biyofilm içindekipatojen bakterilere karşı etkili olduğu bulunmuştur (183).

vii) Tıbbi Cihazlarda Biyofilm Oluşumu

Tıbbi cihazlarda biyofilm oluşumu uzun yıllardır üzerinde çalışılan bir konu olup, birçokcihaz üzerinde biyofilm oluşumu saptanmıştır. En sık biyofilm oluşumu gözlenencihazlar arasında prostetik kalp kapakçıkları, kontakt lensler, intrauterin cihazlar, ürinerkateterler ve santral venöz kateterler bulunmaktadır.

a) Prostetik Kalp Kapakçıkları

Prostetik kalp kapakçıklarının cerrahi olarak yerleştirilmesinden sonra, doku hasarımeydana gelmekte olup sütür hattında ve prostetik kalp kapakçığı üzerinde fibrin ve plateletbirikimi meydana gelmektedir. Daha sonra bu pıhtı üzerinde mikroorganizma kolonizasyonu ile biyofilm oluşumu başlamaktadır. Erken dönemde koagülaz negatif stafilokoklar etken olarak izlenirken geç dönemde(replasmandan 12 ay sonra), biyofilm

oluşturan etkenlerin streptococcus, koagülaznegatif stafilokoklar, enterococci, *S. aureus*, gram-negatif coccobacilli, veya funguslarolduğu izlenmektedir (184).

b) Santral Venöz Kateterler

Santral venöz kateterle (SVK) ilişkili enfeksiyon oranı %3-5 olarak belirtilmiş olup oldukça yüksektir. SVK'in hem üzerinde hem de lümen içerisinde biyofilm oluşumu tespit edilmiştir (185). Kateter, kan akımıyla temas halinde olduğundan dolayı yüzeyi plateletler, plazma ve albumin, fibrinojen, fibronektin ve laminin gibi doku proteinleriyle kaplanmaktadır. Daha sonra mikroorganizmalar bu doku proteinleri ve plateletlere yapışmakta ve biyofilm oluşumunu tetiklemektedir (186). Kateterizasyonu takiben kolonizasyon ve biyofilm oluşumu 3 gün içerisinde başlar. SVK enfeksiyonlarında en sık izole edilen ajanlar, *S. aureus*, koagülaz negatif stafilokoklar *P. aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, ve *Candida albicans* olarak belirtilmektedir (187).

c) Üriner Kateterler

Üriner kateterizasyon yapılan hastaların uzun dönem (28 gün) kateterizasyon yapılan hastaların hepsinde enfeksiyon geliştiği bildirilmiştir (188). Mc Lean ve arkadaşları yaptıkları çalışmalar neticesinde kateterin içeride kaldığı her gün için enfeksiyon riskinin %10 arttığını bildirmişlerdir (189). Üriner kateterlerde in vivo ve invitro olarak biyofilm oluştuğunu gösteren birçok yayın mevcuttur (188, 190).

d) **Kontakt Lensler**

Bakteriler hem rijit hem de yumuşak kontakt lenslere rahatlıkla yapışabilmektedir(191). Miller ve Ahearn kontakt lenslere ilk olarak *P. Aeruginosa* bakterisinin yapıştığını bildirmişlerdir (192). Kontakt lenslerle ilişkili enfeksiyonlarda saptanan mikroorganizmalar arasında *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Serratia* s, *E. coli*, *Proteus*, ve *Candida* ilk akla gelenlerdir(193).

e) **İntrauterin Cihazlar**

İntrauterin cihazlar, pelvik enflamatuvar hastalık meydana gelmesinde başlıca rol oynayan etkenlerdendir (194,195). Birçok mikroorganizma tarafından kontamine olabilen bu cihazlardaki biyofilm oluşumu yayınların çoğunda gösterilmiştir (196, 197).

viii) **Hastalık ve Biyofilm İlişkisi**

Enfeksiyöz birçok hastalıkta biyofilm oluşumu rol oynamaktadır. Özellikle bağışıklık sisteminde defekt olan hastalarda, biyofilm oluşumunun hastalık gelişiminde daha etkin bir rolü olduğu düşünülmektedir. Ancak biyofilm oluşturan mikroorganizmaların hastalık oluşumunda nasıl rol oynadığı henüz netlik kazanmamıştır. Hastalık oluşturdığı düşünülen mekanizmalar şunlardır: Tıbbi cihazlardan (SVK veya uriner kateterler gibi) mikroorganizmaların kopup ayrılarak dolaşıma katılması, endotoksin üretimi, konakçı immün sistemine rezistans oluşması, dirençli mikroorganizma nesillerinin meydana gelmesi(plazmid aracılığı).

a) Hücre ve Hücre Agregatlarının Ayrılması

Hücreler büyüdükçe teker teker veya kümeler halinde biyofilmden ayrılabilirler. Özellikle akım hızının yüksek olduğu ortamlarda biyofilm üzerindeki erozyon dahabarız hale gelmektedir (198). Sebep her ne olursa olsun, biyofilmden kopan ve ayrılan hücreler çok kolay bir şekilde hastalık oluşturma potansiyeline sahiptir (199).

b) Endotoksin Üretimi

Bazı medikal cihazlarda biyofilm oluşturan gram(-) bakteriler, konakçı immün sistemini uyaraabilecek endotoksin üretimi yapabilirler. Biyofilmlerdeki endotoksin seviyelerini ölçen birçok çalışma yapılmıştır (200, 201). Vincent ve arkadaşları, hemodiyaliz tüplerindeki bakteri sayısı ile endotoksin seviyeleri ile korele olduğunu göstermişlerdir (202).

c) Konakçı İmmün Sistemine Rezistans

Shiau ve Wu, makrofaj fagositik aktivitesinin, *S. Epidermidisin* slaym üretimini engellediğini gösterdiler (203). Meluleni ve arkadaşları ise KF'li hastalarda immün sistem tarafından üretilen antikorların, biyofilm içindeki bakterileri yok edemediğini gösterdiler (204). Ward ve arkadaşları, aşılanmış tavşanlara biyofilm barındıran peritoneal bir cihaz implante etmişler ve tavşanlardaki antikor titresinin normalden 1000 kat fazla olmasına rağmen, biyofilm içindeki bakterilerin büyümelerinin etkilenmediğini saptamışlardır (205).

d) Dirençli Mikroorganizma Nesillerinin Geliştirilmesi

Biyofilm içindeki bakterilerin konjugasyon ile plazmid transferi yapabildiği ve bu sayede plazmidler vasıtasıyla direnç faktörlerinin bakteriler arasında birbirlerine aktarım sağlayabildiği saptanmıştır. Hausner ve Wuertz laboratuvarında oluşturulan biyofilm içerisinde *E. coli* ve *Alcaligenes eutrophus* arasında plazmid transferi olduğunu gösterdiler (206). Bathe, biyofilm içindeki bakterilerin fiziksel olarak birbirlerine çok yakın bir konumda olmasının konjugasyonu kolaylaştıran bir faktör olduğu fikrini ortaya atmış, biyofilm oluşturan bakterilerin, planktonik bakterilerden daha fazla konjugasyon yaptığını göstermişlerdir (207).

ix) Biyofilm Oluşumunu Engelleme Stratejileri

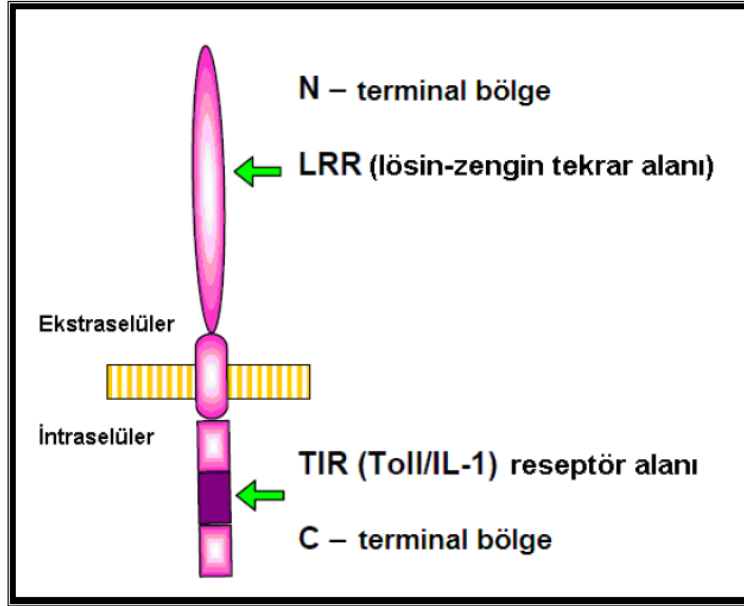
Biyofilm, basitçe yıkamakla dağıtılamayacak şekilde geri dönüşsüz (irreversible) olarak inert veya yaşayan bir yüzeye yapışmış olan ve mikroorganizmaların kendi ürettikleri polimerik polisakkarit matriks içinde oluşturdukları karmaşık bir düzendir. Biyofilmde, oksijen ve besin ihtiyacı azalmakta, atıklar su kanallarıyla atılmakta ve antibiyotiklere direnç sağlanmaktadır (162). Polisakkarit matriks antimikrobiyal ajanların içeri girişine engel olarak biyofilm oluşturan bakterilerin en önemli direnç mekanizmasını meydana getirir (208). Biyofilm oluşumunu engellemeye yönelik endüstri alanında yapılan birçok çalışmada sonuçsuz kalmıştır. Tıbbi cihazlarda da, şu an ki teknik olanaklarla biyofilm oluşumunu engelleyecek çok fazla seçenek bulunmamaktadır. Mekanik temizlik ve oksidatif biyosidler, endüstri alanında biyofilme karşı kullanılmıştır. Mekanik temizlikle biyofilmi ortamdan temizlemek, oksidatif biyosidlerle ise biyofilm matriksi eritip içindeki sesil mikroorganizmaları yok etmek amaçlanmaktadır. Tıbbi cihazlardaki biyofilmle mücadelede uygulanabilecek bazı stratejiler arasında; tıbbi cihazların kontaminasyonunun engellenmesi, mikroorganizmaların bu cihazlara yapışmasının önlenmesi, biyofilm matriksinden içeri girebilecek antimikrobiyal ajanların geliştirilmesi sayılabilir. Illingworth ve arkadaşları, gümüş ile kaplı prostetik kalp kapakçıkları kullanarak bakteri yapışması ve

kolonizasyonunun engellenebileceğini hayvan modeli kullanarak göstermişlerdir (209). Daha sonra yapılan çalışmalarda ise bu yöntemin invitro başarılı olabileceği fakat klinik olarak çok faydasının olmadığı saptanmıştır (210, 211).SVK'ler üzerinde biyofilm oluşumunu engellemek için çeşitli yöntemler öne sürülmüş olup bunlar topikal antimikrobiyal ajanların kullanılması, kateter uzunluğunun azaltılması, lümen için antimikrobiyal ajanlarla kaplanması olarak sıralanabilir. Veenstra, klorheksidin ve gümüş sulfadiazin kaplı kateterlerin bakteri kolonizasyonunu ve bununla ilişkili kateter enfeksiyonlarını anlamlı bir şekilde azalttığını göstermiştir (212). Biyofilmler, hücreler ve hücreleri çevreleyen ekstraselüler polimerik matriksten oluştukları için tedavi aşamasında bu matriksi eriten veya penetre eden moleküllerin etkili olabileceği öne sürülmüştür. Johansen ve arkadaşları, yaptıkları bir çalışmada çeşitli enzimlerden oluşan bir karışımın laboratuvar ortamında oluşturulan biyofilmlere etkili olduğunu göstermişlerdir (213). Hatch ve Schiller yaptıkları bir çalışmada aljinat liyazın tobramisin ve gentamisinin, *P. aeruginosa* 'nın ürettiği bir biyofilm polisakkariti olan aljinattan daha kolay geçmesine olanak sağladığını tespit etmişlerdir (166). Yeni oluşan biyofilmler, eski biyofilmlere göre antibiyotiklere daha duyarlıdır. Bundan dolayı erken biyofilm oluşumunu saptayacak non-invaziv yöntemlerin geliştirilmesi, biyofilmle ilişkili hastalıklarla mücadelede tedavinin etkinliğinin artmasını sağlayacaktır (199).

c. Toll – Like Reseptör

Toll like reseptörleri; bakteriler, virüsler, mantarlar ve tek hücreli canlıları kapsayan patojenlerin moleküler özelliklerini tanıyan reseptörlerdendir (214). Memelilerde patojenik enfeksiyonlara karşı bağışıklık; doğuştan olan ve kazanılmış bağışıklık olarak ikiye ayrılmıştır. Doğuştan olan bağışıklık, konakda ilk savunma olarak gelişmiştir ve nonspesifik bağışık yanıttır; görevi hızlı bir şekilde patojenleri yok etmek veya sınırlamaktır (215). Kazanılmış bağışıklık ise T (Hücrel) ve B (Humoral) hücrelerinin aracılık ettiği bağışıklık yanıtları kapsayan ikincil savunmadır. Bu

bağışıklık spesifiktir, sadece patojenleri hedefler ve tekrarlayan enfeksiyonlara karşı uzun bir bağışıklık hafızasına sahiptir. Antijenik uyarım sonrası T hücreleri; antijen affinitesine, immun sinaptaki co-sitimülasyona ve ortamdaki sitokine bağlı olarak T helper tip 1 (Th1), T helper tip 2 (Th2) ya da düzenleyici T hücrelerine farklılaşır. Th1 hücreleri, hem intraselüler enfeksiyonların kontrolü hem de inflamatuvar hastalıklar ile ilişkilidirler. Th2 hücreleri ise ekstraselüler patojenlere karşı konağı korurken aynı zamanda konağın alerjik reaksiyonlarına cevabında da görev alır (216,217). İnterlökin 1 (IL-1) reseptörler süper ailesine ait proteinlerin bir grubu olan insan TLR'leri, tip 1 transmembran proteinidir ve yapısı bir ekstraselüler lösinden zengin tekrar alanı (leucine-rich repeat: LRR) ve bir intraselüler karboksi-terminal Toll/IL-1 reseptör (TIR) alanı ile karakterizedir (218,219)(Şekil 1).

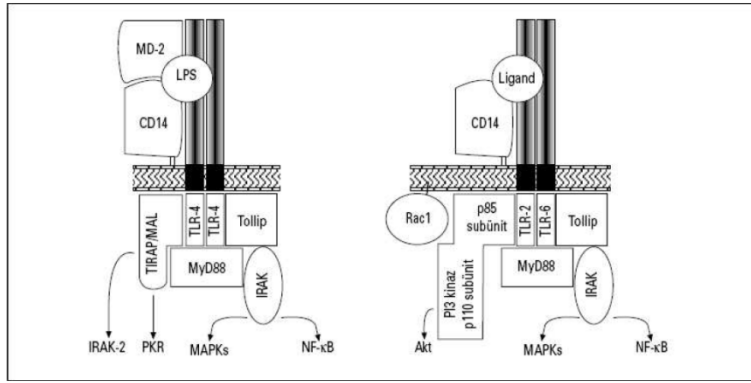


Şekil 1. İnsanda TLR yapısı

Toll ilk olarak, *Drosophila*'da meyve sineklerinde fungal enfeksiyona karşı konak savunmasının parçası olarak tanımlanmıştır (220). Şimdiye kadar insanlarda 11 tane TLR tanımlanmış ve bunlar doğuştan olan bağışık yanıtın major başlatıcısı olarak ayrıntılı olarak irdelenmiştir(221, 222). Bununla birlikte TLR'nin doğrudan veya dolaylı olarak özellikle T hücre fonksiyonları aracılığı ile kazanılmış bağışıklık yanıtını da uyardığı gösterilmiştir (223). Doğal bağışıklığın hücreleri patojenlerin komponentleri

tarafından aktive edilen makrofajlar ve dendritik hücrelerden meydana gelir(224). Doğuştan olan bağışıklığın aktif hale gelmesi, antijene spesifik kazanılmış bağışıklığın gelişmesinde önemli bir adımdır (224). Doğuştan olan bağışıklık sisteminde patojenlere ilk yanıt, organizmaların geniş bir kesiminde bulunan ve “patojen ilişkili moleküler patternleri” (PAMP) bağlayan “pattern tanıyıcı reseptörler” (Pattern Recognition Receptors: PRR) tarafından başlatılmaktadır (224). Geniş bir çeşitlik ve karmaşık varyasyonlar gösteren PAMP’ları büyük bir seçicilikle tanıyan TLR’ler PRR’lerin en önemli sınıfını oluşturmaktadır (224). TLR liganda bağlanınca aktive olup intraselüler bölümü aracılığıyla nükleer faktör-kappa beta (NF-kB)’ yı veya mitojenle aktive edilen protein kinazı uyarır (225, 226). NF-kB; TNF- α , IL-1, IL- 6 ve IL-8 gibi sitokin ve proinflamatuvar ürünlerin genlerini aktive eder. Bu süreç konağın doğal immün cevabıdır (227). Patojen mikroorganizmadaki PAMP tanıyan dendritik hücreler, pattern tanıyıcı reseptörler ile matüre olurlar. Periferden lenf nodlarına taşınırlar ve T hücrelerine antijen sunarlar. Bunun yanı sıra T ve B hücrelerin aktivasyonunda rol oynarlar. Bu süreç esnasında enfeksiyonların ortadan kaldırılmasında önemli bir yere sahip olan T hücrelerinin hangi tür yanıt oluşturacağını belirleyen “dominant sitokin profili” dir (228, 229). Dominant T hücre tipinin, TLR’nin sitokinler vasıtası ile düzenlediği ön görülmektedir. Ayrıca TLR, kostimulan molekül denilen dendritik hücrelerin dendritik hücrelerin T hücrelerini daha etkin bir şekilde uyarmasını sağlayan moleküllerin de seviyesini arttırır; sitokinlerin üretim ve salınmasını düzenler(228, 229). Dendritik hücrelerin TLR ile uyarılması sonrası esas olarak IL-12 ve IL-18 salgılanması ile Th1 hücrelerinin gelişmesi sağlanır (230). IL-10 ve IL-4 salgılanması baskın olduğunda ise Th2 yönünde immün yanıt gelişip B hücreleri uyarılır ve bunun sonucunda antikor sentezi başlar (225).Yüksek doz bakteriyel lipopolisakkaritler (LPS) Th1, düşük doz ise Th2 cevabı gelişmesini sağlar. Bu yüzden LPS’ lerin tanınmasında rol oynayan TLR4’ ün, Th1 ve Th2 dengesinin sağlanmasında önemli yeri vardır (230). TLR’ nin liganda bağlanması ile başlayıp NF-kB’ nin aktivasyonu ile sonuçlanan süreçte, sitokin aksını düzenleyen çeşitli moleküler yapılar mevcuttur. Bu moleküler yapılardan en önemlisi myeloiddiferansiasyon faktör-88 (MyD88)’dir. MyD88, myeloid hücre farklılaşması esnasında uyarılan bir moleküldür (230). Farklı ligandları tanıyan TLR’ler immün yanıtların düzenlenmesinde de rol oynar. Farklı TLR’ler üzerindenkarşılaşılan patojene karşı doğal immün sistem üzerinde biçimlendirmeler yapılabilmektedir. Bu durum “myeloid diferansiasyon faktör-88” (MyD-88) ve “TIR-alanı içeren IFN-B uyarıcı

adaptör” (TRIF) gibi sinyal birimleri ve adaptörler ile sağlanır. MyD-88 bağımlı sinyal yolu, çekirdek içindeki NF- κ B transkripsiyon faktörünün translokasyonunu uyarır ve bu da immün genlerinin transkripsiyonunu sağlar. NF- κ B vasıtası ile transkripsiyon; inflamatuvar süreçteki sitokinlerin üretimi, sekresyonları ile de direk antimikrobiyal mekanizmaların indüklenmesini sağlar. Bunun tam aksine, genellikle Myd-88 bağımsız yol olarak da bilinen TRIF aracılı yolda ise interferon regülatuvar faktör-3’ ün (IRF-3) aktive olması ve bu duruma bağlı olarak da Tip-1 interferonların (IFN) transkripsiyonu meydana gelir. Daha sonra IFN- bağımlı genler otokrin ve parakrin şekilde IFN’ ler tarafından uyarılması sonucu antiviral etki ortaya çıkar (231)(Şekil 2).

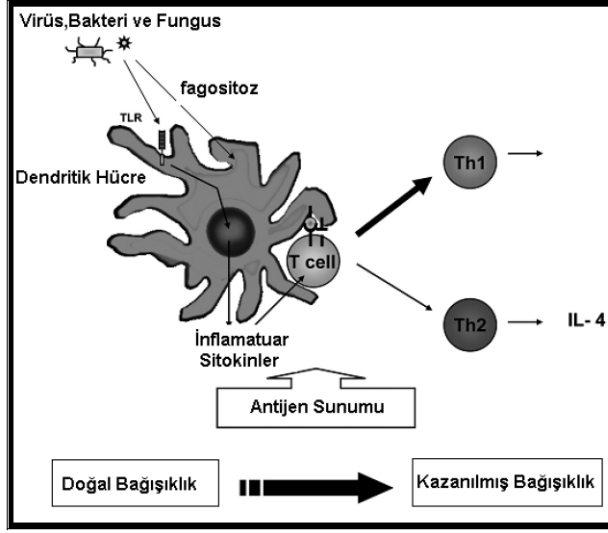


Şekil 2. TLR sinyal yolağı

MyD-88 direkt olarak TLR5, TLR7 ve TLR9 ile, indirekt olarak da MyD-88 adaptörü benzeri (MAL) olarak da bilinen (TIRAP olarak da bilinen) adaptör sayesinde TLR2 ve TLR4 ile ilişkilidir. Ayrıca, TRIF direkt olarak TLR3 ile indirekt olarak da TRIF ilişkili adaptör molekül (TRAM) vasıtası ile TLR4 ile ilişkilidir (232). TLR vasıtası ile NF- κ B’ nin aktive olması ile salınan sitokinler, enzimler ve mediyatörler konağın antimikrobiyal savunmasını sağlar ve inflamatuvar süreci tetikler ve sonuç olarak patojenin ortadan kaldırılmasını sağlar. İnflamatuvar reaksiyon sınırlandırılması yapılamazsa, konak hücrelerin harabiyeti ortaya çıkar (225). Patojenlerin konak hücreleri tarafından fagositozu için TLR’ lerin aktive olması gerekmektedir. TLR enfeksiyöz

ajanların fagositozunu uyarak, fagozom içeriğine karşı ortaya çıkan inflamatuvar yanıtı güçlendirir ve fagozomun olgunlaşmasında rol oynar. Bu sayede fagosit edilmiş enfeksiyöz ajanların öldürülmesi öldürülmesi daha kolay hale gelir(225). Ayrıca TLR aktive olması ile çeşitli antibakteriyel moleküller de salınır. TLR, farelerde intraselüler patojenlerin öldürülmesini sağlayan reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinin üretimine ve salgılanmasına neden olur (233). TLR2 aracılığı ile insan keratinositleri *S. aureus* ile uyarıldığında, NF- κ B ile nitrik oksit sentetaz, siklo-oksijenaz-2 ve IL-8 gen aktivasyonları ortaya çıkmaktadır (234). TLR aktive olması ile apoptozis de indüklenir. Lipopolisakkaritlerin ya da lipoproteinlerin TLR4 ve TLR2/6 üzerinden apoptozis uyardıkları tespit edilmiştir. Bu sayede TLR4 enfekte hücrelerin apoptozis uğraması, konağın enfeksiyonu ortadan kaldırmasına yardımcı olur. Bellek T hücreleri üzerinde bulunan TLR2 ise aynı ajana tekrar maruz kalındığında immün sistemin daha erken ve hızlı uyarılmasını sağlar. Bununla beraber otoimmün hastalıklarda mikrobiyal enfeksiyonların ataklara neden olması aynı mekanizmayla ortaya çıkmaktadır(235). Kromozomal yerleşmesi, genomik yapısı ve amino asit sıralaması temel alınarak, insan TLR'leri beş gruba ayrılabilir: TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, ve TLR9 (219). TLR2 grubu; TLR1, TLR2, TLR6 ve TLR10'nu içerir, TLR9 grubu ise TLR7, TLR8 ve TLR9'dan oluşmaktadır. TLR3, TLR4, ve TLR5 grupları ise sadece birer üyeden oluşmaktadır (219). En son tanımlanan TLR, TLR11 olup TLR11 defekti olan farelerin üropatojenik bakterilerin böbrek enfeksiyonlarına yatkın olduğu gözlenmiştir (235). Üzerinde en çok çalışılan TLR'den birisi olan TLR2 gram-pozitif bakterilerden kaynaklanan lipoproteinler, lipopeptidler, peptidoglikanlar ve lipoteikoik asidi içeren PAMP'leri tanır (224). TLR2 aynı zamanda mikobakteride kaynaklanan lipoarabinomannan (236), *Staphylococcus*'tan kaynaklanan fenol-soluble modulin'ni (237), fungus'tan kaynaklanan zymosan'ı (238) ve *Trypanosoma cruzi*'den kaynaklanan glikozilfosfatidilinositol'u (239) tanır. İlginç bir şekilde, TLR2 ekspresyonu ve aktivitesinin, tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) ve glukokortikoidler gibi pro- ve anti-inflamatuvar moleküllerin işbirliği ile düzenlendiği tespit edilmiştir(240). TLR, PAMP ile bağlandığında, intrasitoplazmik domaini aracılığı ile bir dizi sinyal iletim yolağı aktive olup antimikrobiyal protein ve inflamatuvar sitokinlerin üretilmesini sağlamaktadır. Ayrıca dendritik hücrelerin maturasyonu ve antijen sunum kapasitesindeki artış sonucu doğal bağışık yanıt, kazanılmış bağışık yanıtı uyarmaktadır(241). Enfeksiyonları önlemek için doğal bağışık yanıt, TLR'ler ve antijen sunumu aracılığı ile kazanılmış bağışıklık sürecinin aktivasyonunu sağlar(224). Dendritik hücreler ve makrofajlar, önce TLR'ler ile patojen mikroorganizmaları tanıyıp fagosit

eder; sonra sitokin salgılayıp ve major histokompatibilite kompleks (MHC) vasıtası ile de antijen sunarlar(224). T hücreleri kazanılmış bağışık yanıtın düzenlenmesi esnasında sitokinler ve antijen sunumu aracılığı ile aktive olur ve Th1 ya da Th2 hücrelerine farklılaşırlar(224) (Şekil 3).



Şekil 3.TLR'nin doğal ve kazanılmış bağışık cevaptaki yeri

III) GEREÇ VE YÖNTEMLER:

Ocak 2013 ile Aralık 2013 tarihleri arasında Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları polikliniğine başvuran ve anterior rinoskopide orta meatustannazal kaviteye uzanan yaygın nazal polipozisi olan hastalar çalışmaya dahil edildi.

Çalışmanın kontrol grubunu ise aynı tarihler arasında sinüziti yada NP'i olmayan, konka hipertrofisi nedeniyle ameliyat edilen hastalar oluşturmaktadır. Bu tez 30/03/2012 tarihli B.30.2.ABÜÇ0.20.12/100/28 onay numarası ile Abant İzzet Baysal Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınarak yapıldı.

Çalışma grubunda 30, kontrol grubunda 20 hasta bulunmaktadır. Çalışma grubundayer alan hastaların 18' i erkek (%60), 12' si (%40) kadın; kontrol grubunda yeralan hastaların ise 11' i (%55) erkek, 9' u (%45) kadındır. Çalışma grubunda yaş ortalaması 46,13 iken kontrol grubunda ise 31,65'tir (yaş aralığı 15-65).

Çalışma grubu hastalarından alınan steril polip dokusundan bir parça eppendorf tüpüne, bir parça steril idrar kabına, bir parça da gluteraldehit içerisine konuldu. Sonrasında eppendorf tüpüne alınan parça genetik laboratuvarına gönderildi ve alınan biyopsi örnekleri uygun işlemlerden geçirildikten sonra örneklerde TLR2 ve TLR4 gen ekspresyonuna bakıldı. Steril idrar kabına alınan örnekler ise besiyerlerine steril koşullarda ekildi, daha sonra bu üreyen mikroorganizmalarda slaym faktörü bakıldı. Gluteraldehit içerisine alınan parça ise Elektron Mikroskopu (EM) altında incelenmek üzere muhafaza edildi. Kontrol grubundan da alınan orta konka lateral yüzünün mukozal örnekleri eppendorf tüpüne, steril idrar kabına ve gluteraldehit içerisine konuldu ve aynı işlemler uygulandı. Çalışma ve kontrol grubunda yer alan hastaların demografik bilgileri, muayene bulguları ve tıbbi öyküleri düzenli olarak kaydedildi.

a) Bakterilerin izolasyonu:

Deney için laboratuvara gönderilen doku örnekleri homojenize edilerek %5 koyun kanlı agar ve Eosin Metilen Blue (EMB) agara ekimleri yapıldı. Kültürler 37 °C 'de 24 saat

inkübe edildikten sonra gram boyama ve biyokimyasal reaksiyonlarına göre tanımlandı. Gram pozitif koklar, katalaz pozitif, oksidaz negatif olan koloniler stafilokok cinsi olarak tanımlandı. Stafilokok suşlarına tüpte koagülaz testi yapıldıktan sonra suşlar koagülaz pozitif (*Staphylococcus aureus*) ve koagülaz negatif (KNS) stafilokok olarak gruplandırıldı. Gram negatif bakteriler de oksidaz testi ve şekerlerle vermiş olduğu reaksiyonlara göre cins ve tür düzeyinde tanımlandı.

Tanımlanan suşların kantitatif adezyon testi Christensen tarafından tanımlanan spektrofotometrik mikroplyt yöntemi kullanılarak yapıldı (kaynak aşağıda). Spektrofotometrik mikroplyt yönteminde, 1×10^5 cfu/ml bakteri süspansiyonundan 200'er ml düz tabanlı pleytlere dağıtıldı. Negatif kontrol olarak kuyucuklara TSB (Tryptic Soy Broth) içeren besiyeri konuldu. 37°C'de 18-20 saat bekletildikten sonra kuyucukların içeriği boşaltıldı, 4 kez PBS (Phosphate Buffered Saline) ile yıkanmış, %99'luk metanol ile fikse edilmiş ve kristal viole ile boyandı. %33'lük glisial asetik asit eklenip, 570 nm'de spektrofotometride okundu. Her suş için test 3 kez tekrar edildi. Çalışmada kontrol suşu olarak *S. aureus* ATCC 25923 suşu kullanıldı.

b) Biyofilm oluşumu:

Bütün suşlar, daha önceden tanımlanmış olarak, birkaç modifikasyonla bir kapaklı polistren peg ile 96 mikrotitre platede 3 kez test edildi. İnokülasyon, her mikroplytte 200 µl uygulandıktan sonra OD₆₀₀ 0.04' e %1' lik glukoz ile zenginleştirilmiş brain heart infüzyon (BHI) sıvı besiyerinde kültürdeki logaritmik üreme dilüe edilerek hazırlandı. Daha sonra, mikroplytler, peg kapakları ile kapatıldı ve her 24 saatte replasman ile 72 saat 37°C' de inkübe edildi. Her değerlendirme esnasında biyofilm kontrol suşu (*S. aureus* ATCC25923) ve biyofilm için daima negatif suştan (*S. aureus* 5374) yararlanıldı. Üreme sonrası, pegler oda sıcaklığında PBS' de 3 kez yıkanmış, metanol ile fikse edilmiş ve 15 dakika Hucker's kristal viyole ile boyandı. Daha sonra, pegler distile su ile yıkandı ve boyama, 30 dakika' da 200 µl' de %33' lük asetik asit ile ayrıştırıldı. OD değerleri, 570 nm'de (Multiskan FC photometer, Thermo Scientific) ölçüldü, normalize edildi ve pozitif kontrol suşundaki biyofilmlerle 72 saat sonra karşılaştırıldı. Örneklerler, önceki yayınlanan kriterlere göre 3 gruba ayrıldı: bunlar ortalama değer olarak zayıf biyofilm modeli kitlesi pozitif kontrol suşunun <25% olanları, orta derecede biyofilm modeli kitlesi pozitif kontrol suşunun 25%–75% olanları ve güçlü biyofilm modeli kitlesi pozitif kontrol suşunun ≥75% olanları göstermiştir.

c) Biyofilm oluşumunun spektrofotometrik ölçümü:

Örnekler değerlendirme için üç gruba ayrıldı. Her birinin 570 nm' de ölçülen OD değerlerinin ortalamaları alınarak yorumlandı. (≥ 0.24) pozitif, (≥ 0.21 ve ≤ 0.24) zayıf ve (≤ 0.12) negatif olarak değerlendirildi.

d) Scanning elektron mikroskobu ile biyofilm oluşumunun gösterilmesi:

Doku örnekleri, % 2,5 'luk tamponlu gluteraldehit solusyonuna alınarak bekletildi. Daha sonra aseton içerisinde bekletilerek dehidrate edilen dokular, Leica EM CPD030 kritik nokta kurutma cihazında kurutuldu. Kurutma sonrasında, alüminyum taşıma haznelerine sıvı gümüş ile yapıştırılarak; Denton vacuum, LLC Desk V sputter / etch unit kaplama cihazında, altın- paladyum (AuPd) ile kaplandı. Zeiss EVO LS 10 SEM mikroskopta hızlanan 10 kV voltajda incelenerek, fotoğraflandı.

e) Toll-like reseptör gen ekspresyonun ölçümü:

Hastalardan polipektomi uygulanarak steril bir şekilde alınan NP dokuları, sıvı nitrojen içerisinde taşınarak, kullanılıncaya kadar -80°C'de muhafaza edildi.

Dokudan RNA izolasyon protokolü:

Oluşturulan deneysel model kapsamında, alınan 1 x 1 cm'lik doku örneklerinin ağırlıkları ölçüldü ve yaklaşık 20 mg dokudan RNA izolasyonu gerçekleştirildi. Bu amaçla High Pure RNA Tissue Kit (RocheDiagnostics. GmbH, Mannheim) kullanıldı. RNA izolasyonu, aşağıda tarif edilen protokole göre yapıldı.

- 1- Her örnekten yaklaşık 20 mg ağırlığındaki doku bistüri yardımı ile küçük parçalara ayrıldı.
- 2- Daha sonra üzerlerine 400 µllizis/bağlanma tamponu eklendi ve buhalde 20 Gauge'lik iğneden 5 – 10 kez geçirilerek dokuların parçalanması sağlandı.
- 3- 14000 x g'de santrifüj edilerek doku parçalarının çökmesi sağlandı ve üstte kalan süpernatant ayrı bir tüpe aktarıldı.
- 4- Üzerine 0.5 hacim %99'luk etanol eklendi ve vortekslenerek iyice karışması sağlandı.
- 5- Bu karışım kitin içinden çıkan kolonlara aktarıldı (max 700µl) ve 30sn 14000 x g'de santrifüj edildi.
- 6- Her kolona daha önce hazırlanan 90µl DNase inkübasyon tamponu ve 10µl DNase I solüsyonu eklendi ve oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi.
- 7- Yıkama tamponu ile üç defa yıkamayı takiben, total RNA 80µl elution buffer içinde elde edildi.

8- Elde edilen RNA'ların konsantrasyon ve kalitesi Nanodrop 2000(ThermoSci.) kullanılarak analiz edildi.

Elde edilen total RNA'nın saflığı ve miktarı spektrofotometre (Nano-Drop, ThermoScientific, ABD) ile ölçüldü. İzole edilen RNA'lardan Transcriptor High Fidelity cDNA Synthesis Kiti (RocheDiagnostics. GmbH, Mannheim) kullanılarak cDNA sentezlendi. cDNA sentezi, aşağıda tarif edilen protokole göre gerçekleştirildi:

İlk olarak aşağıda verilmiş olan reaksiyon karışımı hazırlandı.

Tablo 4. cDNA sentezi için hazırlanan reaksiyon karışımı

	Tek reaksiyon için	
İçerik	Hacim	Son hacim
Total RNA	Gereken miktar	1 ng
Random Hexamer Primer (600 pmol/μl)	2 μl	60 μ M
dH ₂ O	Gereken miktar	Total hacim=11.4 μl

Hazırlanan bu reaksiyon 65°C'de 10 dakika inkübe edildikten sonra her bir tüpe aşağıda içeriği verilen karışım eklenmiştir.

Tablo 5. cDNA sentezi için reaksiyona eklenen karışım

İçerik	Hacim	Son Hacim
Transcriptor High Fidelity Reverse Transcriptase Buffer, 5x	4 μl	1x
Protector RNase Inhibitor 40 U/ μl	0.5 μl	20U
Deoxynucleotide karışımı, 10 μM	2 μl	1 mM her biri
DTT	1 μl	5mM
Transcriptor High Fidelity Reverse Transcriptase	1.1 μl	10U
	Son hacim 20 μl	

Hazırlanan karışım PZR cihazında (GeneAmp® PCR System 9700) 55°C’de 30 dakika ve 85°C’de 5 dakika inkübe edildi. Daha sonra hasta ve kontrol gruplarına ait her bir örneğin ilgili genlerinin mRNA ifadenin düzeylerini ölçmek için LightCycler480 cihazı kullanıldı. Probolarak Real-time ready single assay isimli primer-probe mixlerinin master mix olarak da LightCycler480 Probes Master mix kit kullanılarak çalışma yapıldı.

RealTime ready Catalog Assays

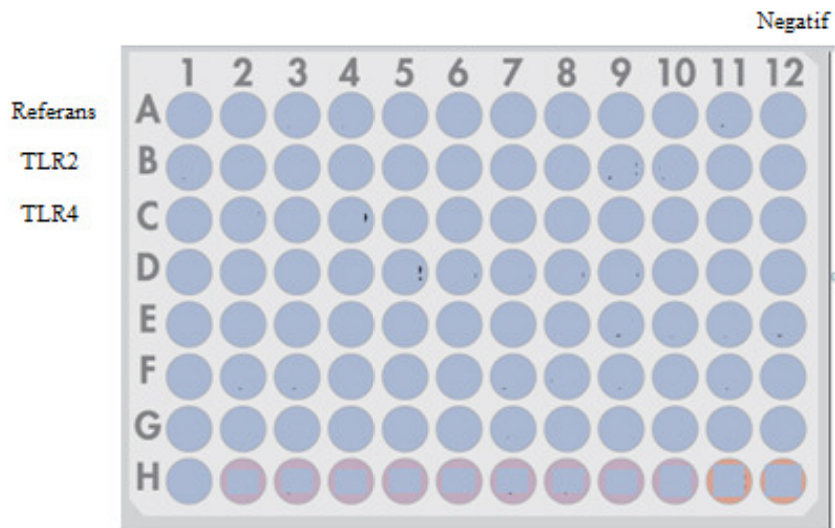
1. cDNA’lar önerilen oranlarda sulandırıldı.
2. 1 tanesine Beta Aktin referans gen probu olmak üzere sırayla TLR2, TLR4, target gen problemlerini içeren toplamda 3 adet ependorf hazırlandı.
3. Aşağıda belirtilen miktarlarda reaksiyonlar hazırlandı.

Tablo 6. LightCycler kullanılarak hazırlanan PZR karışımı

PCR Mix for one 20 µl reaction using the LightCycler® 480 Probes Master			
Component	Conc.	Vol.	Final Conc.
Water, PCR Grade (vial 2)	—	4 µl	—
LightCycler® 480 Probes Master (vial 1)	2× conc.	10 µl	1× conc.
RealTime ready Assay	20× conc.	1 µl	Primers 8 pmol each, 4 pmol UPL probe
Total volume		15 µl	

4. Hazırlanan mixlerden 15 μ alınıp aşağıda belirtilen şekilde LightCycler 480 MultiwellPlate'e dağıtıldı.

Şekil 4. PZR karışımının LightCycler 480 MultiwellPlate' e dağılımı



5. Platedeki 1 numaralı kısma 5'er µl DNA örnekleri dağıtıldı.
6. Platedeki 12 numaralı kısma 5'er µl negatif kontrol olmak üzere su konuldu.
7. Plate üzeri sealingfoil ile hava kabarcığı olmayacak şekilde dikkatlice kapatıldı.
8. Plate 1500xg de 3 dksantrifüj edildi.
9. Plate, LightCycler480 cihazına yerleştirildi.
10. Cihaz programı aşağıdaki tabloda yer alan PCR protokolüne göre hazırlandı.
11. Ardından yaklaşık 1:20dk süren okuma başlatıldı.
12. Target/Referans oranları hesaplanarak sonuçlar analiz edildi.

Tablo 7. Cihaz programının hazırlandığı PZR protokolü

Set-up			
Detection Format		Block Type	Reaction Volume
Monocolor Hydrolysis Probe / UPL Probe		96	20 µl
Filter combination: dynamic Mode FAM 483 – 533 or 465 – 510 respectively, for LightCycler® 480 Instrument Version I or II			
Programs			
Program Name		Cycles	Analysis Mode
Pre-Incubation		1	None
Amplification		45	Quantification
Cooling		1	None
Temperature Targets			
Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)
Pre-Incubation			
95	None	00:10:00	4.4
Amplification			
95	None	00:00:10	4.4
60	None	00:00:30	2.2
72	Single	00:00:01	4.4
Cooling			
40	None	00:00:30	2.2

IV) İSTATİSTİK:

Sonuçların değerlendirilmesi için hesaplamalarda SPSS 21.0 bilgisayar programı kullanıldı. Demografik özellikler için frekans analizi yapıldı. İstatistiksel karşılaştırmada nonparametrik testler olan ki-kare testi; korelasyon analizi için Spearman korelasyon testi ve değerlendirilen parametrelerin gruplar arasında karşılaştırması Kruskal-Wallis testi ile yapıldı. Değerler $p < 0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

V) BULGULAR:

Hastalar NP ile ilişkili olabilecek 5 farklı semptomla başvurmuşlardır (Tablo-6). En sık görülen şikayet burun tıkanıklığıdır (% 100).

Tablo 8. Nazal polipli hastalarda semptomların görülme oranı

Semptom	Oran
Burun tıkanıklığı	%100 (30/30)
Geniz akıntısı	%53,3(16/30)
Horlama	%26,7 (8/30)
Baş ağrısı	%40 (12/30)
Hiposmi	%43,3 (13/30)

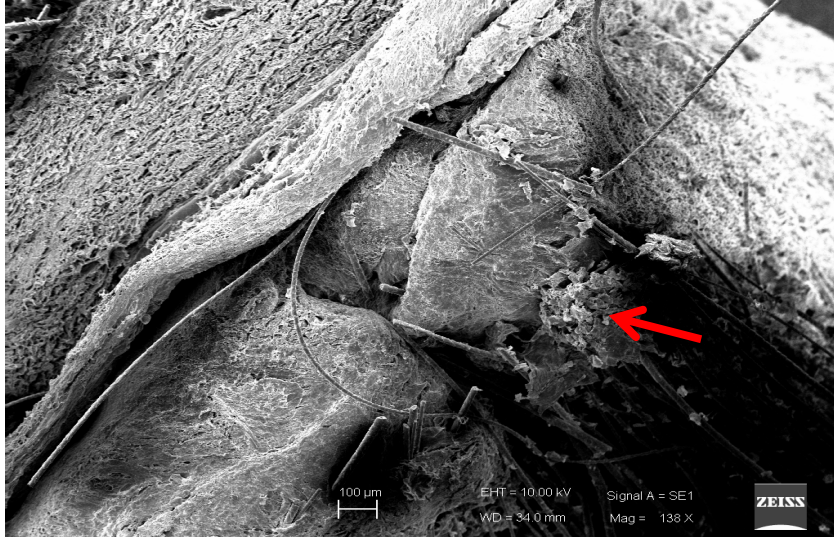
Çalışma grubundaki hastaların 10' u (% 33,3) daha önce NP nedeniyle en az bir kez opere edildi. Çalışma grubundaki 30 hastadan 27 (%90) tanesi daha önce topikal medikal tedavi almış, yine çalışma grubundaki 30 hastadan 9 tanesi(%30) ise oral kortikosteroid tedavisi almış.

Çalışma grubundaki hastaların 11'inde (% 36,7) bilinen allerji öyküsü, kontrol grubundaki hastaların ise 5' inde (%25) alerji öyküsü mevcuttu. Çalışma grubundaki hastaların 6 (%20)' sında bronşiyal astım öyküsü bulunurken kontrol grubunda ise sadece 1(%5) hastada görüldü. Çalışma grubundaki hastaların sadece 2 (%6,7) tanesinde aspirin intoleransı vardı. Kontrol grubunda ise bilinen aspirin intoleransı öyküsü yoktu. (Tablo-7)

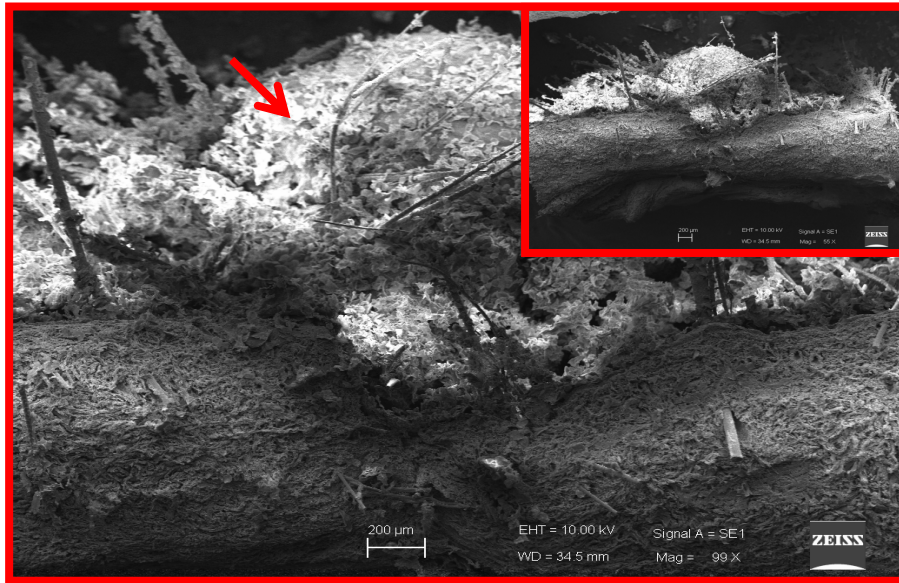
Tablo 9. Nazal polip ile ilişkili hastalıklar

Nazal poliple ilişkili hastalıklar	Oran
Aspirin intoleransı	%6,7 (2/30)
Bronşiyal astım	%20 (6/30)
Astım	%36,7 (11/30)

Çalışma grubundaki 30 hastadan 23'ünde (%76,7) ve kontrol grubundaki 20 hastanın 2'sinde (% 10) biyofilm oluşumu saptandı. Çalışma grubu hastalarından 6'sında (%20) ve kontrol grubu hastalarından 7'sinde (%35) slaym üretimi saptandı. Çalışma grubundaki hastaların 17'sinde (%56,7), kontrol grubu hastalarının ise 15'inde (%75) kültürde üreme saptanmıştır.



Resim 1. Polip dokusunda kırmızı okla işaretli alanda biyofilm oluşumu



Resim2. Polip dokusunda kırmızı okla işaretli alanda biyofilm oluşumu (sağ üst köşede biyofilm oluşumu büyütülerek gösterilmiş)



Resim 3. Normal konka dokusunda biyofilm oluşumu gözlenmedi.



Resim 4. Normal konka dokusunda biyofilm oluşumu gözlenmedi.

Tablo 10. Biyofilm oluşumu

Grup		Hasta sayısı	Oran
Çalışma grubu	Var	23	%76,7
			%23,3
	Yok	7	
	Total	30	%100,0
Kontrol grubu	Var	2	%10,0
	Yok	18	%90,0
	Total	20	%100,0

Tablo 11. Slaym faktör oluşumu

Grup		Hasta sayısı	Oran
Çalışma grubu	Var	6	%20,0
	Yok	24	%80,0
	Total	30	%100,0
	Var	7	%35,0
Kontrol grubu	Yok	13	%65,0
	Total	20	%100,0

Tablo 12. Kültürde üreme

Grup	Hasta sayısı	Oran
Üreme var	17	56,7
Çalışma grubu Üreme yok	13	43,3
Total	30	100,0
Üreme var	15	75,0
Kontrol grubu Üreme yok	5	25,0
Total	20	100,0

Çalışma grubu ve kontrol grubuna ait hastalarda kullanılan yöntemler Spearman korelasyon testine göre karşılaştırılmıştır. Çalışma grubunda kültürde üreme ile slaym faktör oluşumu arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. ($p= 0,016$). Çalışma grubunda slaym oluşumu ile biyofilm oluşumu ($p=0,534$) arasında ve kültürde üreme ile biyofilm oluşumu arasında korelasyon saptanmamıştır. ($p=0,417$)

Tablo 13. Çalışma grubunda Spearman korelasyon analizi ile kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması (Korelasyon katsayısı “r” değeri)

	Kültürde üreme	Slaym oluşumu	Biyofilm oluşumu
Kültürde üreme	1,000	,437	,154
Slaym oluşumu	,437	1,000	-,118
Biyofilm oluşumu	,154	-,118	1,000

Kontrol grubunda ise biyofilm oluşumu ile slaym faktör oluşumu arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. ($p=0,044$) Kontrol grubunda kültürde üreme ile slaym oluşumu arasında ($p=0,063$) ve kültürde üreme ile biyofilm oluşumu arasında korelasyon saptanmamıştır. ($p=0,416$)

Tablo 14. Kontrol grubunda Spearmen korelasyon analizi ile kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması (Korelasyon katsayısı “r” değeri)

	Kültürde üreme	Slaym oluşumu	Biyofilm oluşumu
Kültürde üreme	1,000	,424	,192
Slaym oluşumu	,424	1,000	,454
Biyofilm oluşumu	,192	,454	1,000

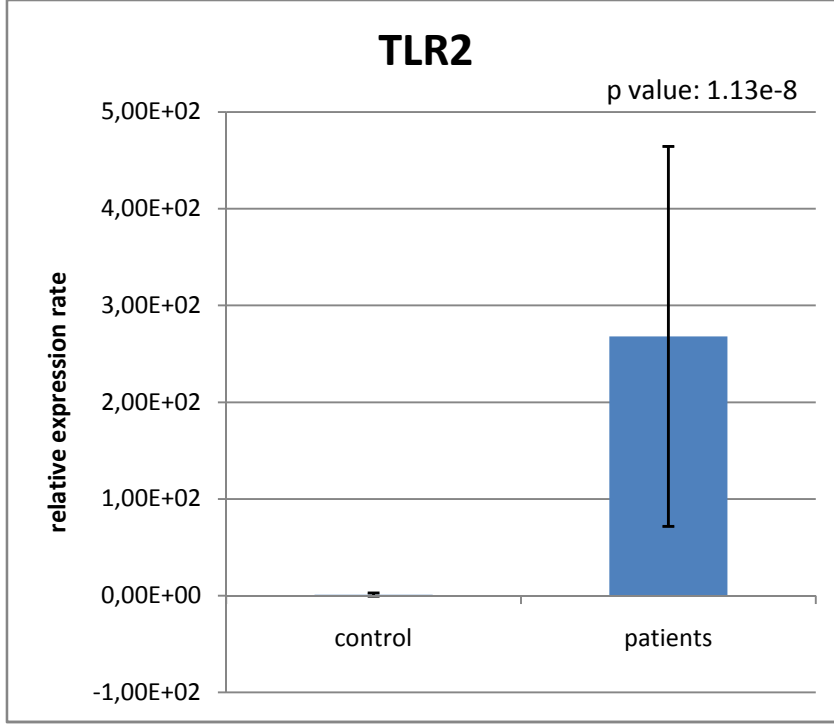
Çalışma ve kontrol grubu arasında Kruskal-Wallis yöntemi ile biyofilm oluşumu, kültürde üreme ve slaym faktör oluşumu tek tek karşılaştırıldığında sadece biyofilm oluşumu sonuçlarının ($p=0.000$) istatistiksel olarak anlamlı fark gösterdiği saptanmıştır. Kültür üretimi ($p=0,190$) ve slaym üretimi ($p=0,241$) sonuçlarına bakıldığında ise her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur.

Tablo 15. Çalışma ve kontrol gruplarının Kruskal-Wallis yöntemi ile bakılan parametrelere göre karşılaştırılması

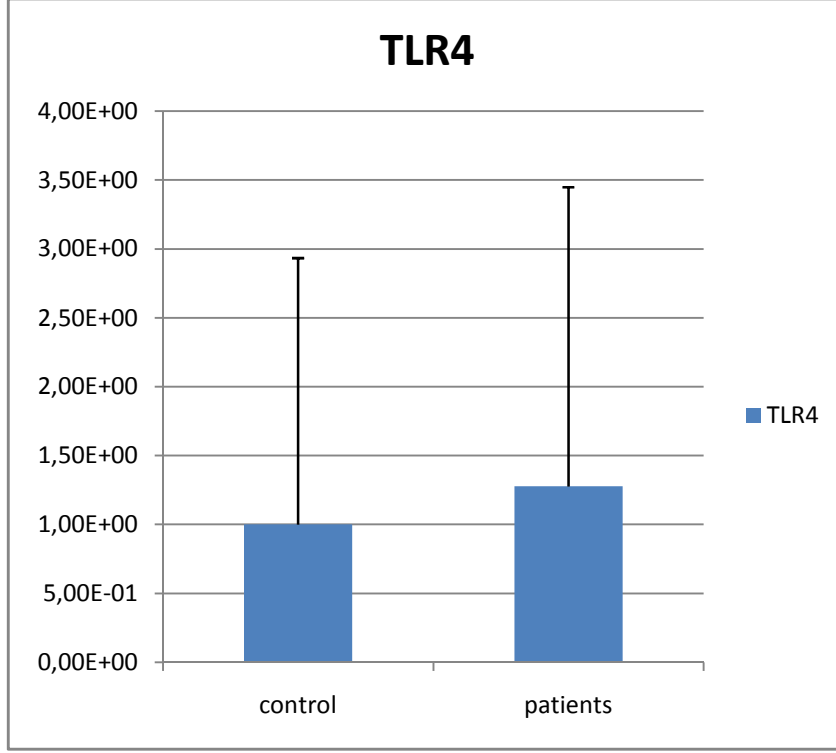
Yöntem	Çalışma grubu		Kontrol grubu		p değeri
	Pozitif hasta sayısı	Negatif hasta sayısı	Pozitif hasta sayısı	Negatif hasta sayısı	
Biyofilm oluşumu	23	7	2	18	0,000
Slaym oluşumu	6	24	7	13	0,241
Kültürde üreme	17	13	15	5	0,190

Çalışma grubu ve kontrol grubunda TLR2 ve TLR4 gen ekspresyonu Student T testi kullanılarak analiz edilmiştir. Çalışma grubunda TLR2 gen ekspresyonu kontrol grubuna göre artmış bulundu. Çalışma grubu ile kontrol grubu arasında TLR2 gen ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. ($p=0,000$) Çalışma grubu ile kontrol grubu arasında TLR4 ekspresyonunda ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. ($p=0,656$)

Grafik 1. Çalışma grubu ile kontrol grubu arasında TLR2 gen ekspresyonu açısından ilişkisi



Grafik 2. Çalışma grubu ile kontrol grubu arasında TLR2 gen ekspresyonu açısından ilişkisi



VI) TARTIŞMA

Nazal polip (NP), toplumda görülme sıklığı yaşla birlikte artan ve medikal ve/veya cerrahi tedaviye rağmen rekürrens riski yüksek olan kronik bir hastalıktır. Genellikle orta meatus ve ön etmoid hücrelerden mukozasından köken alan ve nazal kavite içerisine doğru gelişen benign mukoza protrüzyonlarıyla (polip) karakterizedir (242). NP etiyopatogenezi hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Etiyopatogenez nedenleri arasında alerji, anatomik varyasyonların osteomeatal komplekste obstrüksiyona yol açması sonucu doku hipoksisi, enfeksiyonlar, lokal immün yanıtta değişiklikler ve genetik yatkınlık sayılabilir. Genetik etiyoloji, yeterli cerrahi tedaviye rağmen hızlı bir şekilde tekrarlayan vakalarda ön plana

çıkmaktadır (90). Ayrıca nazal polip ile ilişkili olan astım, aspirin duyarlılığı, kistik fibrozis gibi daha birçok hastalık tespit edildi (114). Ancak farklı bu klinik tabloların sonuç olarak aynı hastalığa nasıl neden olduğu henüz tam olarak anlaşılmış değildir. Bu konuda ortak fikir kronik enflamasyona yol açan çeşitli patolojilerin sonucu olduğu yönündedir (114).

Yapılan araştırmaların büyük bir kısmında nazal poliplerin erkeklerde daha sık görüldüğü tespit edilmiştir (109, 186, 243, 244). Genel olarak erişkin hastalığı olarak kabul edilmektedir ve çoğunlukla 20 yaşın üzerindeki bireyleri etkilemektedir. Görülme sıklığının dördüncü dekatta pik yapmaktadır (245). Erkek/bayan oranı 2/1 olarak saptanmıştır. Klossek ve ark. yaptıkları çalışmada yaş ortalamasını 46.7 ± 17.9 yıl olarak saptamışlardır ancak görülme sıklığı açısından kadın erkek arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (186). Bizim çalışmamızda ise E/K oranı 3/2 olarak saptandı. Ayrıca nazal polipli hastaların ortalama yaşı 46,13 yıl olarak tespit edildi.

Nazal polip vakalarında en sık görülen semptomlar burun tıkanıklığı ve koku alma bozukluğudur (246). Johansson yaptığı çalışmada hastalar %91 oranında burun tıkanıklığı, %75 oranında koku almada azalma tespit etmişlerdir (243). Dufour ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada burun tıkanıklığını (% 88,3) ve koku bozukluklarını (% 96,4) en sık görülen semptomlar olarak saptamışlardır (243). Yaptığımız çalışmada ise hastaların beş farklı semptom ile başvurdukları tespit edildi. En sık rastlanan semptomlar burun tıkanıklığı (%100) ve geniz akıntısı (%53,3) olarak gözlendi.

Larsen ve Tos yaptıkları çalışmada nazal polipli hastalarda alerji görülme oranını %25, astım görülme oranını %21 olarak tespit etmişlerdir (245). Asero ve Bottazzi ise yaptıkları çalışmada nazal polipli hastalarda astım görülme oranını %20 olarak saptamışlardır (111). Yaptığımız çalışmada nazal polipli hastalarda daha önce tanı almış alerji oranı %36,7 ve astım oranı da %20 olarak saptandı.

Genel olarak nazal polipin medikal tedavisinde en fazla fikir birliği sağlanan ilaç kortikosteroidlerdir (143). Ayrıca antibiyotikler ve antihistaminikler de kullanılabilen ilaçlar arasındadır. Bu ilaçların dışında son dönemde antilökotrienlerin ve IL-5 monoklonal antikorların tedavi sürecinde denendiği yayınlar bulunmaktadır. Gevaert ve arkadaşları yaptıkları çalışmada nazal polipli IL-5 düzeyi yüksek olan hastalarda 1 aylık IL-5 monoklonal antikoru olan reslizumab ile tedavi sonrası polip dokusunda %50 küçülme saptamışlardır

(245). Stewart ve arkadaşları ise nazal polipli hastalarda mevcut steroid tedavisine LT-1 reseptör antagonistisi olan montelukastı ekleyip değerlendirme yaptıklarında nazal semptomlarda azalma tespit etmiş olmalarına rağmen, polip dokusunda istatistiksel olarak anlamlı bir küçülme saptamamışlar (247). Bu çalışmada hastaların daha önce aldığı medikal tedaviler incelendiğinde en sık kullandıkları ilacın topikal kortikosteroid tedavisi olduğu gözlemlendi. Bu bulgu da literatürle uyumludur.

Biyofilmler, son dönemde yapılan çalışmalarda birçok kronik enfeksiyöz süreçle ilişkili bulunmuştur. Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi, insanda enfeksiyonların en az %65' ine biyofilmlerin sebep olduğu tahmin etmektedir. Hem de, bakterilerin %99' nun biyofilm içinde bulunduğu ve sadece %1' inin free-floating ya da planktonik durumda yaşadığına inanılmaktadır (248).

Kronik enfeksiyonlarla ilişkili olarak da, Chole ve ark. (249, 250) kronik otitler ve tonsillitlerde biyofilm bulunduğunu açıklamıştır. Özellikle, biyofilmler; kronik otitlerde, kronik tonsillitlerde, kolesteatomada ve diğer inflamatuvar veya enfeksiyöz bozukluklarda bulunmaktadır (157, 251). Biyofilm ile kronik enfeksiyonlar arasındaki ilişki genel olarak araştırmaların konusudur (252). İkibin dört yılından beri de, kronik sinüzit şikayeti olan hastalarda biyofilm bulunduğu düşüncesinin benimsenmesinde artış gözlemlendi (253, 254). Difüz nazal polipli hastaların büyük bir kısmı, arka planda polip olmak üzere kronik rinosinüzit zeminindedir. Bundan dolayı, nazal polipde de biyofilm görülebileceği düşünülebilir.

Nazal polipli kronik rinosinüzit tek hastalık olarak görülmemesi daha yüksek bir ihtimal olup, büyük bir olasılıkla farklı hastalıkların nazal belirtisidir. Kronik sinüzit, sıklıkla sayısız mikroorganizma ile çevresel faktörler ve çoklu konak etkileşiminin göstergesidir. Diğer taraftan, son dönemdeki çalışmalar, bakteriyel biyofilm bulunmasının cerrahi sonrası kötü sonuçlar için predispozan faktör olabileceğini gösterdi (254).

Biyofilm prevelansı, temelde biyofilmi göstermek için kullanılan yöntemle, örnek sayısına ve kronik rinosinüzitin değişen tanımlamalarına bağlı olarak geniş bir spektrum aralığında raporlanmıştır (253, 255, 256, 257). Yapılan başka bir çalışmada nazal polipli kronik rinosinüzitli hastalarda SEM kullanılarak biyofilm prevelansına bakılmış. Mukozada biyofilm bulunduğu, 34 hastanın 23' ünde (%65) gösterilmiş. Bununla beraber, bu bulgu; biyofilmin sinonazal inflamasyonu başlatıp başlatmadığı veya inflamasyonun dirençli olmasına katkıda bulunup bulunmadığı cevabı için yeterli olmayabilir (258).

Sun ve ark., nazal polipli kronik rinosinüzitli 19 hastanın sinüs dokularında ve kontrol grubu olarak kronik rinosinüziti olmayan 12 hastada biyofilm varlığına bakmışlar ve nazal polipli kronik rinosinüzitli 19 hastanın 13'ünde biyofilm pozitif saptanmış fakat kontrol grubu örneklerinde biyofilm negatifmiş (259). Bununla beraber, yapılan başka bir çalışmada, 33 nazal polipli kronik rinosinüzit hastalarının 24'ünde ve 27 hastadan oluşan kontrol grubunun 13'ünde biyofilm varlığı raporlanmış (260). Kontrol grubu olarak septoplastiye giden hastalar seçilmiş. Sun ve ark. yaptıkları çalışmanın sonuçlarının bir kısmını tahminen etkileyen durumun kontrol grubu hastalarının tamamında sağlıklı sinüs mukozası olmamasına bağlamışlar. Aslında, önceden yapılan bir çalışmada bakteriyel biyofilm bulunması daha önceden geçirilen sinüs cerrahileri ile ilişkili olduğu gösterilmiş, fakat polipler, alerji, Samter triadı, uyku apnesi, sigara içiciliği, yaş ve cinsiyetle ilişkisi gösterilememiştir (261). Bir başka çalışmada, difüz nazal polipli yedi hastanın her birinde SEM yöntemi ile biyofilm bulunduğu gösterilmiş, literatüre bağlı olarak, bu hastalıkta kronik inflamasyon bulunduğu gösterilmiştir.

Biyofilmin kronik enfeksiyon başlangıcında herhangi bir etkiye sahip olup olmadığı veya enfeksiyon devamlılığını sağlamada yardımcı olup olmadığı net olarak görülmemektedir ve bu yüzden diffüz nazal polipli biyofilm vakalarında biyofilm hastalığının sebebinden çok sonucu olarak değerlendirilmektedir. Buna ilave olarak, antrakoanal polipli hastalarında maksiler sinüsün ödemli mukoza yüzeyinde biyofilm bulunmaması da bu fikri güçlü bir şekilde desteklemektedir (262).

Araştırmacılar, HE ve Gram boyama kombine edilerek uygulanan yöntem ile, nazal polipli kronik rinosinüzitli 36 hastanın 29'unda, biyofilm bulunduğu gösterilmiş. Biyofilm olmaması, HE veya Gram boyama yöntemlerinden birinin kullanılması ile ilişkili olmadığını düşünmüşler (255, 263, 264).

Sanclement ve ark. (265), kronik rinosinüzitli hastalarda SEM ile yapılan cerrahi spesmen çalışmasında, üç boyutlu yapı, glikokaliks ve su kanallarının bulunduğu gösterilmiştir. Bununla beraber, bu method kullanılarak biyofilm içindeki bakteri türünü ortaya çıkaramamışlar. Elektron mikroskopisi kullanılarak, Palmer ve ark.(251), kronik sinüzitli 16 hastanın nazal mukozasını ve enfeksiyonun farklı tiplerini çalışmışlar. Dört hastada, biyofilm bulunduğunu tespit etmişler, bütün vakalar bakteriyel enfeksiyonla ilişkiliymiş fakat nazal polip yokmuş. Bu çalışmada, nazal polipli kronik rinosinüzitli 2 hastada in vivo olarak biyofilm varlığını göstermişler. Bir diğer hastada da karma biyofilm çalışması için önemli etkileri olabilen 2 bakteri izole edilmiş. Bununla beraber, in vitro biyofilm formu için izole edilen

bakteri yüksek bir kapasite göstermiş, bu yapılar tüm vakalarda mikroskopi veya CSLM ile görülemedi. Bu durumun olabileceği düşünülmüş, çünkü örnekler çok küçükmüş ve poliplerin tüm yüzeyinin fraksiyonu sadece bir dakika gösterilmiş. Biofilmler, mukozada düzensiz dağılıma sahip olabilirler ve teknik prosedür ile kısıtlamalar da olabilir. Ayrıca, biofilm içindeki bakteri kolayca kültürü yapılamaz çünkü onlar matriks, besinsel gereksinim ve türler arasında kültürde üreme zamanları açısından çeşitlilik dolayısı ile korunurlar. Hatta, pozitif kültür vermek için toplanmış dokudan bakteriyel ekim bile yeterli olmayabilir. Cerrahi öncesi bazı hastaların antibiyoterapi aldığı da not edilmelidir.

Diğer otorler, bu çalışmadaki sonuçlarla uyumlu olarak kontrol grubundan alınan mukoza örneklerinde biofilm olmadığını tespit etmişler(255,265). Son dönemde yapılan bir yayında, nazal polipli 7 hastada biyofilm tespit edilmesi ile diffüz nazal polip ve kronik rinosinüzitte biyofilm varlığı gösterilmiş (262).

Başka bir çalışmada nazal polipli kronik sinüzit hastalarında %72.7 (24/33), septoplasti yapılan hastalarda ise %48.1 (13/27) biyofilm tespit edilmiş. Bu çalışma sonuçları, biyofilm ile kronik rinosinüzit arasında güçlü bir ilişki gösterilememiş. Bununla birlikte, bu çalışmada nazal polipli kronik rinosinüzitli hastalarda biyofilm prevelansının, kontrol grubundan önemli ölçüde farklı olmadığı saptanmış. Galli ve arkadaşları (266), biyofilm gelişmesinde siliyer epitelyum hasarlanmasının gösterilebileceğini öne sürmüştür, fakat Galli ve arkadaşların yaptığı çalışmada, biyofilm sağlıklı siliyer hücrelerde de tespit etmişler. Bu çalışmaya benzer, küçük örnek boyutu dezavantaj olmuş. Biyofilm ile sinüs mukoza inflamatuvar cevabı arasındaki bağlantı tam olarak anlaşılmış değildir. Bununla beraber, Heikert ve arkadaşları (267), biyofilm bulunmasının Th1 inflamatuvar profili ile ilişkili olduğunu, küçük örnek boyutlarının, bu sonuçları değerlendirmek için küçük örnek boyutu ilave araştırmalara katkı sağlayacağını öne sürmüşler. Bu olgulara rağmen, nazal polipli kronik sinüzit genellikle Th2 inflamatuvar cevapla ilişkilidir, bazı yayınlar nazal polipli kronik sinüzitte inflamatuvar cevabı açıklamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunu göstermektedir (268, 269). Kronik sinüzitte biyofilm bulunduğunu araştırmak için birçok teknik vardır. SEM çalışmaları, biyofilm prevelansını %25' den %100' e kadar göstermektedir (164, 253, 265). Fluorescent in situ hybridization/confocal laser-scanning microscopy (FISH/CLSM) yaklaşık %77 oranında göstermektedir (256), oysa CSLM prevelansı %44' ten %50' ye kadar göstermektedir (270). Bir yayında in vitro yöntem ile indirekt olarak gösterme %28.6 oranındadır, bununla beraber daha önceki bir çalışmada %84 olarak rapor edilmiş. Bu değerlendirmeden düşük verim beklenilmekteymiş, çünkü bazen

biofilm varlığı kullanılabilen metodlarla gösterilebilmekteymiş (254, 271). Her iki yayında da farklı dahil olma kriterleri ve örnek boyutları, düşük üreme kapasitesi için dayandırılan birçok sebepten biri olabilirmiş. Bir diğer sebep, her örnek için bir görüntüleme yöntemine başvurulması olarak tanımlamışlar, küçük örnek boyutları ile farklı örneklerde farklı metodların dikkatli ölçümü sadece sonuçların kombinasyonu ile verim artışı olmuştur (260).

Yaptığımız çalışmada nazal polip ile biyofilm oluşumu ilişkisi ve kültür ortamında üreme ve slaym faktör üretiminin etiyopatogenezdaki yeri araştırılmıştır. Çalışmamızda SEM yöntemi kullanılarak çalışma grubundaki 30 hastadan 23'ünde biyofilm oluşumu saptanmıştır. Kontrol grubunda ise 20 hastanın sadece 2'inde biyofilm oluşumu saptanmıştır. Çalışma grubu ile kontrol grubu arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Biyofilm oluşturan bakteriler; nükleik asit, polisakkarit ve proteinlerden oluşan ekstraselüler matriks salgılar. Bu matriks biyofilmin dış yapısını kaplar ve bu yapı slaym faktör olarak adlandırılır. Slaym faktör; antibiyotiklere, antiseptik solusyonlara ve çevresel etkenlere karşı dirençten sorumludur(272). Slaym faktör özellikle *S. Epidermidis* ve candidatürleri tarafından üretilir ve mikroorganizmaların bulundukları yüzeye yapışmasını sağlar.

Nazal polip hastalarında 30 hastanın 17'inde kültürde üreme olmuş, bunlardan da 6 tanesinde slaym faktör üretimi izlenmiştir. Kontrol grubu hastalarında da 20 hastanın 15'inde kültürde üreme gözlenmiş; bunlardan da 7'inde slaym faktör üretimi izlenmiştir. Kültürde üreme ve slaym faktör üretimi açısından çalışma grubu ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Yaptığımız çalışmada biyofilm oluşumu olan 23 hastanın 6'sında slaym faktör üretimi gözlenmiştir. Bu çalışmada biyofilm ile slaym üretimi arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu da biyofilm yapışmasını sağlayan slaym faktör dışında başka etmenlerin olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmamızın sonucuna göre nazal polip ile biyofilm arasında bir ilişki olduğu saptanmıştır. Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuç ve literatür çalışmalarındaki sonuçlar nazal polip etiyopatogenezinde biyofilmin önemli bir yere sahip olduğunu düşündürmektedir. Bu durum nazal polip tedavisinde biyofilm eradikasyonun önemli bir basamağı oluşturacağı ön

görülmektedir. Ancak nazal polip ile biyofilm ilişkisini daha net ortaya koyabilmek ve biyofilmin tedavisinde klasik antibakteriyel tedavi başarısının düşük olduğu bilinip alternatif tedavi yöntemleri geliştirmek amaçlı daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Hava yolundaki mikroorganizmalar, memelilerde doğal immun sistemin komponenti olan pattern-recognition reseptörleri (PRRs) tarafından fark edilir (273). Toll-like reseptörler, primer olarak PRRs' i temsil eder (273).Toll-like reseptör ailesi, doğuştan ve kazanılmış immun cevabın regülasyonu ve indüklenmesinde ve patojen tanınmasında anahtar rol oynar. TLR ailesinin bulunan üyeleri arasında; TLR2, TLR4 ve TLR7 mevcuttur. Bunlar, özellikle, virus, mantar, bakterilerden elde edilen moleküler paternlerle ilişkili patojen (PAMPs) geniş aralığında fark edilebilir. Örneğin, TLR2, gram pozitif bakteri ve mantarların ürünlerinde geniş bir aralıkta gözlenir. TLR4, Gram negatif bakterilerde dış membran komponenti olan lipopolisakkarite (LPS) reaksiyon göstermede bir reseptör olarak ayırt edilmiştir. TLR7' nin fonksiyonu, virüslerin ssRNA' sının tanınmasına aracılık eder (273).

TLR ekspresyon örnekleri, birçok farklı doku ve hücre tipinde çalışılmıştır. TLR2 ve TLR4 mRNA' sı üst hava yolu epitelinin nazal epitelyum hücrelerinde eksprese edildiği bulunmuştur. Bu iki genin ekspresyonu, kronik rinosinüzitli grupta normal kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek olduğu keşfedilmiştir(274) ve bir diğer çalışma aralıklı alerjik rinitli hastaların nazal mukozasında TLR (274, 275, 276) protein ve m RNA ekspresyonunu göstermiştir. Nazal mukozada bütün 3 reseptör için protein ekspresyonunda artış, alerjen sorunu takibinde gözlenmiştir(277).

Daha önceki gen ekspresyon çalışmaları, KRS örneklerinin sinonazal mukozalarında TLR mRNA bulunduğunu göstermiştir (278, 279). Lane ve arkadaşları, KRS' nin sağlıklı mukoza ile karşılaştırıldığında önemli derecede daha yüksek oranda TLR2 mRNA ekspresyonu ile ilişkili olduğunu raporlamışlar (279). Zhao ve arkadaşları, önceki çalışmalarında CRS' li hastalarda mikroarray gen analizi vasıtası ile TLR 1-10 arasında gen ekspresyonunu araştırmışlar, nazal polip dokusunda TLR9' un yükseldiği bulunmuş (280). Zhang ve ark. hem kontrol hem de nazal polipli kronik rinosinüzit örneklerinden nazal mukoza doku örnekleri ile karşılaştırıldığında, nazal polip içinde TLR2, TLR4, TLR7 ve bu TLR' lerin IL-4 sitokin ekspresyonunda aksine nazal polipli kronik rinosinüzit örneklerinde anlamlı

şekilde artış olduğunu göstermişler (281). Bu, nazal polipli kronik rinosinüzitin aktive TLR sinyal yoluna aracılık etmesi ile karakterize olduğunu ve bu farkın nazal polip formuna ek olarak nazal polipli kronik sinosinüzitin inflamasyonuna katkıda bulunabileceğini öne sürmekteymişler. Psaltis ve arkadaşları, kronik rinosinüzitli hastaların nazal mukozasında azalmış laktoferrin (doğal immun sistemin antimikrobiyal proteini) ekspresyonu kaydedilmiş (282). Bu, kronik rinosinüzitli hastalarının doğal bağışıklık immun sisteminde defekt olduğunu desteklemiştir ve ileri sürmüştür. Hamilos, nazal polipli kronik rinosinüzit hastaların örneklerinde humoral bağışıklıkta defekt olduğunu ileri süren düşük immunglobulin seviyesi veya aşırıya cevapta antikor üretim defekti nazal polipli kronik rinosinüzit hastalarının %12' sinde saptamış (283). Bütün bu çalışmalar, hastaların doğal ve/veya humoral immun sisteminde defekt olduğunu göstermiştir. Nazal mukozanın doğal bağışıklık sisteminde defekt, nazal polipli kronik rinosinüzit için nedeni tam belli olmayan mikrobiyal kolonizasyonu ve takip eden hava yolu kronik inflamasyonu ile sonuçlanabilir.

Mevcut çalışma sonuçları, hem kontrol grubu hem de nazal polipli kronik rinosinüzit örneklerinde nazal mukoza dokuları karşılaştırıldığında nazal polip dokularında TLR2, TLR4, TLR7 ekspresyonunda önemli derecede artış olduğu gözlenmiştir. Önceki deneysel ve klinik çalışmalar, TLR reseptör ekspresyonu kommensal bakterilere immun cevapta karışıklığa yol açabileceği ileri sürmüştür (279, 280, 284). Ek olarak, TLR9 gen ekspresyonu nazal poliplerde artmış olarak saptanmış (280). Benzer şekilde, Lane ve arkadaşları, sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kronik rinosinüzitli hastalarda TLR2 gen ekspresyonunun artmış olduğunu tespit etmişler (279). Yapılan başka bir çalışmanın sonuçları, nazal polipler airborne mikroorganizmalara daha sensitif olabileceği, TLR ile ilişkili sinyal yolu nazal poliplerde normal nazal mukozadan daha kolay aktive olabileceğini desteklemekteymiş. Bu sonuç, yoğun inflamasyon ile TLR2, TLR4, TLR7 ve IL-4 önemli derecede yükseldiğini göstermiştir (281). Imasato ve arkadaşları, bronşiyal epitelyum hücrelerinde hemofilus influenza, TLR2 ekspresyon artışı için çalışılmış (285). Bu çalışmalar, nazal polipte daha fazla mikroorganizma kolonizasyonu TLR ekspresyon artışına sebep olabileceğini ön sürmektedir. Bu çalışmayı yapanlar, nazal polipli nazal mukozada TLR ekspresyon artışının, bu sebepların bazıları ile ilişkili olabileceğini ve derin araştırmalar gelecekte bunu araştırmak için yapılması gerektiğini ileri sürmekteler.

(281).

Son döneme kadar, bununla beraber, üst hava yolu epitelyum hücrelerinde TLR fonksiyon ve ekspresyonu tam olarak keşfedilmemiştir. Mikrobiyal invazyon sonrası inflamatuvar cevap için üst hava yolu epitelyum hücrelerinde TLR' nin katkısı hakkında, daha detaylı araştırmalara ihtiyaç vardır. Mevcut çalışmalarda, kronik rinosinüzit ve nazal polipli hastalarda viral veya bakteriyel enfeksiyon tarafından alevlenme mekanizmasında TLR' nin rolünün daha iyi anlaşılmasını sağlamak için çalışmalar yapılmış. Bu çalışmada araştırma için TLR2, TLR3 ve TLR4 seçilmiş. TLR2, hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilerin hemen hemen hepsinin hücre duvarı komponenti olan peptidoglukanı tanır. TLR4, gram negatif bakterilerin lipopolisakkaritini tanırken; TLR3, viral replikasyon esnasında hücre içinde oluşturulan çift sarmal RNA' yı (dsRNA) tanır (286). Nazal poliplerin ve kronik sinüzitlerin enfeksiyöz şiddetlenmeleri, mikrobiyal patojenler tarafından TLR' lerin simultan aktivasyonunu kapsadığı umulmaktadır. Bu yüzden bu çalışmayı yapanlar TLR ekspresyonunda TLR ligandın etkileri ve TLR ligand-kemokin salınımı indüklenmesini çalışmışlar. Bu yaptıkları çalışmada TLR3 ekspresyonu in vitro olarak primer nazal polip epitelyum hücrelerinde ve in vivo olarak nazal polip dokusunun epitelinin apikal kısmında göstermişlerdir (287). TLR3 ligand ile situmulasyon, dsRNA, primer nazal polip epitel hücrelerinde en güçlü proinflamatuvar etkiyi indüklemiştir. TLR2 ve TLR4' nin fonksiyon ve ekspresyonu bu hücrelerde zayıf; ayrıca, ligandların test edilenlerinin arasında (PGN, dsRNA, LPS), sadece dsRNA, TLR3 mRNA ekspresyonu up regüle etmiştir. Bu çalışmayı yapanların flow sitometri verileri, intraselüler alanda immatür dendritik hücre alt grupları ve akciğer epitelyum hücreleri gibi aynı olan nazal polip epitelyum hücrelerinin çoğunlukla TLR3 eksprese ettiklerini ileri sürmekteymiş (276, 288), fakat hücre yüzeyinde TLR3 eksprese eden insan fibroblast hücrelerinden farklıdır (289). Real-time PCR verileri, fonksiyonel bir anti-TLR3 antikoruna tarafından dsRNA ile kemokin indüksiyonunun inhibe edilemediğini gösterdi, çünkü protein antikorlar sitoplazmik fonksiyonel TLR3' ün harekete geçmesi için hücreye giremezler. Bunun aksine, anti-TLR3 antikoruna, hücre yüzeyinde TLR3 eksprese eden insan fibroblast hücrelerinde ds-DNA kaynaklı sinyalizasyonun etkili bir şekilde blokladığını göstermiştir (289). TLR4 ligand, LPS de primer nazal polip epitelyum hücrelerinde zayıf proinflamatuvar etkiyi indükler. Bu nedenle, TLR4 mRNA ekspresyonu real-time PCR ile ortaya konmuştur. TLR4' ün bazal mRNA ekspresyonu, nazal polip epitelyum hücrelerinde TLR3 ile karşılaştırıldığında zayıf ilişkisi vardır. Bununla beraber, diğer araştırmacılar immün histokimyasal yöntem ile nazal epitelde TLR4 protein ekspresyonunu göstermişler, bu çalışmayı yapanlar flow sitometri ile nazal polip epitelyum hücresinde TLR4 proteini tespit edememişler. Flow sitometrinin ortalaması ile TLR4 gösterilmesinin yetersizliği, bu hücrelerde

TLR4' ün daha düşük ekspresyonuna bağılı olabilir. Bu çalışmayı yapanlar, TLR' nin test edilenleri arasında, nazal polip epitelyum hücrelerinde en iyi ve en fonksiyonel TLR, TLR3 olarak saptamışlar. Bu sonuç, diğer epitelyum hücreleri ile de uyumludur. Primer küçük hava yolu hücrelerinde, TLR2 ligand PGN ve TLR4 ligand LPS anlamlı proinflatuar etkiyi indüklemiyorken; test edilen liganlar arasında (TLR1-6) dsRNA, en güçlü proinflatuar etkiye aracılık etmiştir (290). İntestinal epitelyum hücrelerinde, TLR2 ve TLR4 az oranda ekspre edilirken, en fazla mRNA ekspresyonu TLR3' te olur. Sürekli bir şekilde, intestinal epitelyum hücreler, PGN ve LPS' ye hızlı cevap vermez (291, 292). Hücreler, PGN ve LPS' ye fonksiyonel olarak cevap vermezken; dsRNA, hücre yüzeyinde TLR3 eksprese eden insan korneal epitelyum hücrelerinde artmış üretimi ve IL-6 ve IL-8 mRNA ekspresyonunu sağlıyormuş çünkü bu hücrelerin yüzeyinde TLR2 ve TLR4 ekspresyonu bulunmamaktaymış (293). Bu çalışmayı yapanların bulguları, kronik rinosinüzitin en sık sebebi olan viral enfeksiyonun klinik bulguları ile nazal polip epitelyum hücrelerinde PGN ve LPS inflamatuvar fonksiyonusınırlı iken dsRNA en güçlü proinflatuar fonksiyona aracılık etmekteymiş (294). Nazal epitel, gram-pozitif ve gram-negatiflerin ikisinden oluşan çeşitli kommensal mikroorganizmalar ile devamlı olarak karşılaşmaktadır. Bununla beraber, nazal kavite, kontrollu inflamasyon durumunu sağlar. Bu çalışmayı yapanların hipotezi, nazal epitel seçilmiş mikrobiyal patojene inflamatuvar cevabı indükleyen hassas bir sistem geliştirdiği fakat nonpatojenik kommensal organizmalara cevapta olmadığı yönündeymiş. dsRNA, normal kommensal mikrobiyal ortamın parçası değildir. Hücrede viral replikasyon esnasında üretilmektedir. Bu çalışmayı yapanlar, nazal epitelyum hücrelerinin, dsRNA sitümülasyonuna hassas olduğunu göstermişler. Sonuç olarak, nazal polip hücrelerinde TLR3 dsRNA' nın ekspresyonun oldukça iyi olduğunu tespit etmişlerdir. Aksine, nazal kavitede PGN ve LPS, normal kommensal bakterinin bir komponentidir (287).

İnflatuar hastalıkların tedavisi, bugüne kadar geniş spektrumlu inflamatuvar mediatör inhibitörleri ile sağlanmaktaydı. Bu terapiler, kür sağlamamakta ve tedavi için uzun zaman periyodlarına ihtiyaç duyulmaktaydı ayrıca, immun sistemi genel olarak inhibe etmesinin sonucu olarak artmış enfeksiyonlarla karşılaşılması gibi yan etkiler ile sonuçlanmaktadır. İnflatuar hastalıkların tedavisi için TLR kesin hedef olarak, daha spesifik hedef sağlayabilir. Böylece, immün sistemin genel olarak etkilenmesi ortadan kalkacak ve tedavinin yan etkileri azalacaktır. Terapi olarak inflamasyonun kötü siklusu kırılabilir ve tehlikeli sinyaller çözülebilir ve bu yüzden hastalığı bastırmaktan ziyade kür sağlanabilir. Spesifik dokularda

farklı TLR mekanizmasının başka nitelikleri, siRNA gibi teknolojiler gibi spesifik antikor blokajı kullanımı ile kuvvetlendirilecektir. Bu yüzden, yeni çalışmalara, spesifik dokularda TLR sinyalinin rolünü tanımlamak için ihtiyaç olacaktır (290).

Çalışmamızda çalışma grubundaki hastalarda TLR2 reseptör gen ekspresyonunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanırken ($p<0,005$); TLR4 reseptör gen ekspresyonunda anlamlı bir artış saptanmamıştır.

Sonuç olarak yaptığımız çalışmada, çalışma grubunu oluşturan nazal polip hastalarında TLR2 reseptör gen ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır. Bu sonuç literatür çalışmaları ile uyumludur. Ancak TLR4 reseptör gen ekspresyonunda ise çalışma grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark saptanamamıştır. Literatürde yapılan bazı çalışmalarda TLR4 reseptör gen ekspresyonunda artış gözlenirken, bir kısım çalışmalarda ise çalışma grupları ile kontrol grupları arasında anlamlı bir fark saptanamamıştır. Ayrıca literatürde TLR2 ve TLR4 reseptör genleri dışında da nazal polip dokusunda artış gösteren TLR genleri mevcuttur. Yaptığımız çalışmada TLR genlerinin nazal polip etyopatogenizinde rol oynayacağı düşünülmüştür. Ayrıca TLR' lere yönelik spesifik tedavilerin nazal poliplerin tedavi modalitelerinden birini oluşturacağı da ön görülmektedir. Ancak hem TLR ile nazal polipler arasındaki ilişki için hem de TLR' lere spesifik tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

VII) SONUÇ

- 1) Nazal polip gelişimi ile ilgili olarak henüz tam anlamıyla kabul görmüş ve kesinlik kazanmış bir teori bulunmamaktadır.
- 2) Nazal polipin etiyopatolojisinde pek çok faktörlerin rolü vardır. Biyofilmler ve TLR' in de etyopatogeneizde rol alabileceği düşünülmektedir.
- 3) Yaptığımız bu çalışmada, nazal polipli hastalarda biyofilm oranı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek tespit ettik.
- 4) TLR2 ekspresyonunun nazal polipli hastaların dokularında anlamlı artışı gösterildi fakat TLR4 ekspresyonu için kontrol ve çalışma grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.
- 5) Elde ettiğimiz bu sonuçlar hem biyofilmlerin hem de TLR' lerin nazal polip etyopatogeneizinde rol oynadığını düşündürmektedir ve nazal polip tedavisinde bu faktörler baz alınarak yeni tedavi modaliteleri oluşturulmasında rol gösterici olmaktadır.
- 6) Bununla beraber literatürde nazal polipin biyofilm ve TLR gen ekspresyonu ile ilişkisi henüz netlik kazanmamıştır. Bu yüzden bu konularda daha çok araştırmaya ihtiyaç vardır.

VIII) KAYNAKLAR:

- 1) Keskin G. Nazal polipozisin patogenezi. In: Nazal Polipler Ėleri F (ed) 2007 TKBBV Akademi toplantıları mezuniyet sonrası eğitim kitapçıkları serisi 3 s35-40.
- 2) Bernstein JM, Gorfien J, Noble B, Yankaskas J. Nasal polyposis: Immunohistochemistry and bioelectric findings(a hypothesis fort he development of the nasal polyps) J Allergy Clin Immunol. 1997;2:165-75.
- 3) Brain TJ. Historical background of nasal polyps. Settipane G, Lund V, Berstein J, Tos M, (eds). Nasal Polyps, Epidemiology, Pathology, Treatment. 4. ed., Rhode Island: Oceanside Publications 1997: 7-15.
- 4) Vancil ME. A historical survey of treatments for nasal polyposis. Laryngoscope 79(3): 435–445,1969
- 5) Koç A, Erginoğlu U, Karaaslan O. Otorhinolarygological procedures in the fifteenth century in Anatolia. Ann Otol Rhinol Laryngol 2004;113:414-417.
- 6) Stammberger H. Rhinoscopic Surgery. In: Settipane GA, Lund VJ, Bernstein JM, Tos M, eds. Nasal Polyps: Epidemiology, Pathogenesis and Treatment. 1. Rhode Island: Oceanside Pub; 1997
- 7) Tos M, Larsen PL. Nasal Polyps: Origin, Etiology, Pathogenesis, and Structure. Kennedy DW, Bolger WE, Zinreich SJ. Diseases of the Sinuses, Diagnoses and Management. 2. Hamilton: B.C. Decker; 2001.)

- 8) Messerklinger W. Diagnosis and endoscopic surgery of the nose and its adjoining structures. *Acta Otorhinolaryngol Belg* 1980;34(2):170-6
- 9) Weir N. History of medicine: Otorhinolaryngology. *Postgrad Med J* 2000;76: 65-69.
- 10) Gökdoğan O, Nazal Polipozis Olgularında Süperantijen Seviyesinin Kantitatif Tayini, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, Ankara, Kasım 2010
- 11) Fokkens, W, Lund, V, Mullol, J. EP3OS 2007: European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2007. A summary for otorhinolaryngologists. *Rhinology* 2007; 45: 97-101.
- 12) Settipane G. Epidemiology of nasal polyps. Settipane G, Lund VJ, Bernstein JM, Tos M.(eds). *Nasal polyps: Epidemiology, Pathology, Treatment*. 3. ed., Rhode Island: Oceanside Publications; 1997: 17-24.
- 13) Meltzer EO, Hamilos DL. Rhinosinusitis: Establishing definitions for clinical research and patient care. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;114(Suppl):155-212.
- 14) Mygind N, Dahl R, Bachert C. Nasal polyposis, eosinophil dominated inflammation, and allergy. *Thorax* 2000;55(Suppl 2):79–83.
- 15) Bachert C, Gevaert P, Holtappels G, Cuvelier C, van Cauwenberge P. Nasal polyposis: from cytokines to growth. *Am J Rhinol* 2000;14: 279-90.
- 16) Bernstein JM. Update on the molecular biology of nasal polyposis *Otolaryngol Clin N Am*. 2005;38:1243-55.
- 17) Kitapçı F, Muluk NB, Atasoy P, Koç C. Role of mast and goblet cells in the pathogenesis of nasal polyps. *J Otolaryngol*. 2006;35(2):122-32.

- 18) Larsen PL, Tos M, Mogensen C. Nasal glands and goblet cells in chronic hypertrophic rhinitis. *Am J Otolaryngol*. 1986;7:28-33.
- 19) Tos M, Mogensen C. Experimental surgery of the nose, anteroposterior changes of the mucosa on altering the airflow. *Rhinology* 1979;17:215-25.
- 20) Stierna PL. Physiology, mucociliary clearance and neural control. In: *Diseases of the sinuses diagnosis and management*, Kennedy DW, Bolger WE, Zinreich SJ (ed). 2001, B.C. Decker Inc. s35-45.
- 21) Tos M, Mogensen C. Mucous glands in nasal polyp. *Arch Otolaryngol*. 1977;103:407-13.
- 22) Nakashima T, Hamashima Y. Loss of secretory activity in the glands of nasal polyps. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1979;88:210-6.
- 23) Pawankar R. Nasal polyposis: an update. *Curr Opin Allergy and Clinic Immunol*. 2003;3:1–6.
- 24) Hellquist HB. Histopathology. *Allergy Asthma Proc*; 1996: 237-42.
- 25) Settipane GA. Epidemiology of nasal polyps. *Allergy Asthma Proc* 1996;17: 231–6.
- 26) Danielsen A, Tynning T, Brokstad KA, Olofsson J, Davidsson A. Interleukin 5, IL6, IL12, IFN- γ , RANTES and Fractalkine in human nasal polyps, turbinate mucosa and serum. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2006;263: 282–289.
- 27) Fan GK, Wang H, Takenaka H. Eosinophil infiltration and activation in nasal polyposis *Acta Oto-Laryngol*. 2007;127: 521-526.
- 28) Ponikau JU, Sherris DA, Kephart GM, Kern EB, Congdon DJ, Adolphson CR ve ark. Striking deposition of toxic eosinophil major basic protein in mucus: implications for chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;116: 362-9.
- 29) Schaefer D, Meyer JE, Pods R, Pethe W, Hedderich J, Schmidt C ve ark. Endothelial and epithelial expression of eotaxin-2 (CCL24) in nasal polyps. *Int Arch Allergy Immunol*. 2006;140(3): 205-14.

- 30) Van Zele T, Claeys S, Gevaert p, Van Maele G, Holtappels G, Van Cauwenberge P ve ark. Differentiation of chronic sinus diseases by measurement of inflammatory mediators. *Allergy*. 2006;61(11):1280-9.
- 31) Bernstein JM, Ballow M, Rich G, Allen C, Swanson M, Dmochowski J. Lymphocyte subpopulations and cytokines in nasal polyps: Is there a local immune system in the nasal polyp? *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2004;130(5):526-35.
- 32) Koç C: Nazal Polip, içinde: Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi (Ed. Koç C), Ankara, Güneş Kitabevi, 2004; 609–624.
- 33) Bolger WE: Paranasal Sinüslerin anatomisi, in Sinüs hastalıkları (Eds. Kennedy DW, Bolger WE, Zinreich SJ). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul 2003; 1–10.
- 34) Stammberger H. Functional endoscopic sinus surgery: the Messerklinger technique. Philadelphia, PA: BC Decker; 1991.
- 35) Stammberger HR, Bolger WE, Clement PAR, et al; Anatomic terminology and nomenclature in sinusitis, *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1995;104 (Suppl 167),7–19
- 36) Muñoz del Castillo F, Jurado-Ramos A, Fernández-Conde BL, Soler R, Barasona MJ, Cantillo E, Moreno C, et al. Allergenic profile of nasal polyposis. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2009; 19: 110-116.
- 37) Karlıdağ T, İlhan N, Kaygusuz İ, Keleş E, Yalçın S, Yıldız M. Roles of free radicals, nitric oxide and scavenging enzymes in nasal polyp development. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2005;114:122–126.
- 38) Döner F, Tahan V, Delibaş N, Doğru H, Kılışkaya M. Baş-boyun tümörlerinde malondialdehit düzeyleri. *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi* 1997; 7: 85–8.

- 39) Uslu C, Taysı S, Bakan N. Lipid peroxidation and some antioxidant enzymeactivities in experimental maxillary sinusitis. *Ann Clin Lab Sci* 2003; 33:18–22.
- 40) Kanai N, Denburg J, Jordana M, Dolovich J. Nasal polyp inflammation. Effect of topical nasal steroid. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 1094–1100.
- 41) Muller-Alouf H, Carnoy C, Simonet M, Alouf J. Superantigen bacterial toxins: state of the art. *Toxicon* 2001;39:1691-1701.
- 42) Seiberling KA, Gramer L, Kern RC. Chronic Rhinosinusitis and superantijens *Otolaryngol Clin N Am* 38:1215-1236,2005
- 43) Poft T, Fraser JD. Bacterial superantijens. *Clin Exp Immunol* 133:299-306,2003 Pant H, Ferguson B, Macardle P. The role of allergy in rhinosinusitis. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2009;17:232-38.
- 44) Schubert MS. Allergic fungal sinusitis. *Otolaryngol Clin N Am* 37: 301-326, 2004
- 45) Schubert MS. A superantigen hypothesis for the pathogenesis of chronic hyperthrophic rinosinusitis, allergic fungal sinusitis, and related disorders. *Ann Allergy Asthma Immunol* 67: 181-188, 2001
- 46) Tripathi A, Conley DB, Gramer LC, Ditto AM, Lowery MM, Seiberling KA, Yarnold PA, Zeifer B, Kern RC. Immunoglobulin E to staphylococcal and streptococcal toxins in patients with chronic sinusitis/nasal polyposis. *Laryngoscope* 114: 1822–1826, 2004
- 47) Van Zele T, Gevaert P, Watelet JP, Claeys G, Holtappels G, Claeys C, van Cauwenberge P, Bachert C. Staphylococcus aureus colonization and IgE antibody formation to enterotoxins is increased in nasal polyposis. *J Alergy Clin Immunol* 114: 981-983, 2004

- 48) Gevaert P, Holtappels G, Johansson SGO, Cuvelier C, van Cauwenberge P, Bachert C. Organization of secondary lymphoid tissue and local IgE formation to staphylococcus aureus enterotoxins in nasal polyp tissue. *Allergy* 60: 71-79, 2005
- 49) Bernstein JM, Kansal R. Superantigen hypothesis for the early development of chronic hyperplastic sinusitis with massive nasal polyposis. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 13: 39-44, 2005.
- 50) Moskowitz SM, Chmiel JF, Stern DL, Cheng E, Gibson RL, Marshall SG ve ark. Clinical practice and genetic counseling for cystic fibrosis and CFTR-related disorders. *Genet Med.* 2008;10(12):851-68.
- 51) Ramanathan M Jr, Spannake EW, Lane AP. Chronic rhinosinusitis with nasal polyps is associated with decreased expression of mucosal interleukin 22 receptor. *Laryngoscope* 2007;117(10):1839-43.
- 52) Donato R. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles. *Int J Biochem Cell Biol.* 2001;33(7):637-68.
- 53) Richer SL, Truong-Tran AQ, Conley DB, Carter R, Vermylen D, Grammer LC ve ark. Epithelial genes in chronic rhinosinusitis with and without nasal polyps. *Am J Rhinol.* 2008;22(3):228-34.
- 54) Rimphanitchayakit V, Tassanakajon A. Structure and function of intervertebrate Kazal-type serine proteinase inhibitors. *Dev Comp Immunol.* 2010;34(4):377-86.
- 55) Sachse F, Becker K, Rudack C. Incidence of staphylococcal colonization and the 753Q Toll-like receptor 2 variant in nasal polyposis. *Am J Rhinol Allergy.* 2010;24(1):10-3.
- 56) Kato A, Petres A, Suh L, Carter R, Harris KE, Chandra R ve ark. Evidence of a role for B cell-activating factor of the TNF family in the pathogenesis of chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;121(6):1385-92.

- 57) Moisini I, Davidson A. BAFF: a local and systemic target in autoimmune diseases. *Clin Exp Immunol.* 2009;158(2):155-63.
- 58) Molnar-Gabor E, Endreffy E, Rozsasi A. HLA-DRB1, -DQA1, and -DQB1 genotypes in patients with nasal polyposis. *Laryngoscope* 2000;110(3):422-5.
- 59) Bernstein JM, Kansal R. Superantigen hypothesis for early development of chronic hyperplastic sinusitis with massive nasal polyposis. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2005; 13: 39-44.
- 60) Gwaltney JM Jr, Phillips CD, Miller RD, Riker DK. Computed tomographic study of the common cold. *N Engl J Med.* 1994;330:25-30.
- 61) Kozak FK, Mahony JB, Chernesky MA, Newhouse MT, Dolovich J, Hittch DA ve ark. Nasal polyposis: in search of a viral etiology using DNA hybridisation. *J Otolaryngol.* 1991;20:404–407.
- 62) Gwaltney JM Jr. Acute community-acquired sinusitis. *Clin Infect Dis* 1996;23:1209-25.
- 63) Savolainen S, Ylikoski J, Jousimies-Somer H. The bacterial flora of the nasal cavity in healthy young men. *Rhinology* 1986;24:249–55.
- 64) Brook I. The role of bacteria in chronic rhinosinusitis. *Otolaryngol Clin N Am* 2005;38:1171-92.
- 65) Norlander T, Fukami M, Westrin KM, Stierna P, Carlsöö B. Formation of mucosal polyps in the nasal and maxillary sinus cavities by infection. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1993;109:522-9.
- 66) Sasama J, Sherris DA, Shin SH, Kephart GM, Kern EB, Ponikau JU. New paradigm for the role of fungi and eosinophils in chronic sinusitis. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2005;13:2-8.

- 67) Pitzurra L, Bellocchio S, Nocentini A, Bonifazi P, Scardazza R, Gallucci L, ve ark. Antifungal immune reactivity in nasal polyposis. *Infect Immun* 2004;72: 7275–81.
- 68) Downs SH, Mitkakis TZ, Marks GB. Clinical importance of *Alternaria* exposure in children. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164: 455–9.
- 69) Asero R, Botazzi G. Hypersensitivity to molds in patients with nasal polyposis: a clinical study. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105(1 Pt 1):186-8.
- 70) Steinke JW, Crouse CD, Bradley D. Characterization of Interleukin-4–Stimulated NasalPolyp Fibroblasts. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol* 2004;30: 212–219.
- 71) Kaytaç A: Nazal Polip, içinde: Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi (Ed. Çelik O). İstanbul, Turgut Yayıncılık, 2002; 475–485.
- 72) Larsen PL, Tos M. Anatomic Site of Origin of Nasal Polyps. *Endoscopic Nasal and Paranasal Sinüs Surgery as a Screening Method for Nasal Polyps in an Autopsy Material*, *Am J Rhinol* 1996; 10, 211–216.
- 73) Larsen PL, Tos M. Origin of Nasal Polyps: An Endoscopic Autopsy Study, *Laryngoscope* 2004; 114, 710–719.
- 74) Larsen PL, Tos M. Goblet Cell Density in Nasal Polyps, *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1990; 99, 310–315.
- 75) Bikhazi NB. Contemporary management of nasal polyps. *Otolaryngol Clin N Am* 2004;37:327–37.
- 76) Pérez-Novo CA, Watelet JB, Claeys C, Van Cauwenberge P, Bachert C. Prostaglandin, leukotriene, and lipoxin balance in chronic rhinosinusitis with and without nasal polyposis. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115(6):1189-96.

- 77) Szczeklik A. The cyclooxygenase theory of aspirin-induced asthma. *Eur Respir J* 1990;3: 588–93.
- 80) Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A, Buchwald M, Tsui LC. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science* 1989;245: 1073–80.
- 81) Stern RC, Boat TF, Wood RE, Matthews LW, Doershuk CF. Treatment and prognosis of nasal polyps in cystic fibrosis. *AJDC* 1982;136: 1067–70.
- 82) Deane PMG, Schwartz RH. Nasal polyps in cystic fibrosis. In: Nasal polyps: epidemiology, pathogenesis and treatment. Settipane GA, Lund VJ, Bernstein JM, Tos M (eds.). Providence, RI: OceanSide Publications. 1997, ss:137–46.
- 83) Hui Y, Gaffney R, Crysedale W. Sinusitis in patients with cystic fibrosis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1995;252: 191–6.
- 84) Aitken ML, Fiel SB. Cystic fibrosis. *Dis Mon* 39(1): 1–52,1993
- 85) Sant’Agnese PA, Davis PB. Cystic fibrosis in adults: 75 cases and a review of 232 cases in literature. *Am J Med* 66: 121–32,1979
- 86) Frenkiel S, Small P. Pathogenesis and treatment of nasal polyps. In: Surgery of the paranasal sinuses. Blitzer A, Lawson W, Friedman WH (eds.). Philadelphia. WB Saunders, 1991:41–9
- 87) Pedersen M, Mygind N. Rhinitis, sinusitis and otitis media in Kartagener’s syndrome (primary ciliary dyskinesia). *Clin Otolaryngol* 7: 373–380,1982
- 88) Chao J, Turner AP, Sturgess JM. Genetic heterogeneity of dynein-deficiency in cilia from patients with respiratory disease. *Am Rev Respir Dis* 126: 302– 5,1982

- 89) Monoret-Vautrin DA, Hsieh V, Wayoff M, Guyot JL, Mouton C, Maria Y. Nonallergic rhinitis with eosinophilia syndrome a precursor of the triad: nasal polyposis, intrinsic asthma, and intolerance to aspirin. *Ann Allergy* 1990; 64: 513–518,1990
- 90) Bernstein JM, Gorfien J, Noble B. Role of allergy in nasal polyposis: a review. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1995;113(6):724-32.
- 91) Perez-novo AC,Kowalski ML,Kuna P,Ptasinska A Aspirin sensitivity and IgE antibodies to staphylococcus aureus enterotoxins in nasal polyposis:studies on the relationship. *Int Arch Allergy Immunol* 133:255-260,2004
- 92) Danielsen A, Tynning T, Brokstad KA, Olofsson J ,Davidssso A. Interleukin 5, IL6, IL12, IFN-gamma, RANTES and Fractalkine in human nasal polyps, turbinate mucosa and serum. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology and Head and Neck Surgery* 89:176-185,2004
- 93) Kramer MF, Rasp G. Nasal polyposis: Eosinophils and interleukin-5. *Allergy* 54: 669-680, 1999.
- 94) Molet MS,Hamid AQ,Hamilos DL. IL 11 and IL-17 expression in nasal polyps:Relation to collagen deposition and supression by intranasal fluticasone propionate. *Laryngoscope* 113:1803-1812,2003
- 95) Düzlü M, İleri F. Nazal Polip Dokusunda NAG-1 (Non-Steroidal Antienflamatuar İlaç İle Aktive Olan Gen) Geni İfadeleme Düzeyinin Belirlenmesi. Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, Ankara, Ekim 2011
- 96) Bradley DT, Kountakis SE. Role of interleukins and transforming growth factor-beta in chronic rhinosinusitis and nasal polyposis. *Laryngoscope* 115: 684-686, 2005.

- 97) Hamilos DL, Leung DY, Huston DP, Kamil A, Wood R, Hamid Q. GM-CSF, IL-5 and RANTES immunoreactivity and mRNA expression in chronic hyperplastic sinusitis with nasal polyposis (NP). *Clin Exp Allergy* 1998;28:1145–52.
- 98) Nonaka M, Pawankar A, Fukumoto N, Ogihara A. Induction of eotaxin production by interleukin-4, interleukin-13 and lipopolysaccharide by nasal fibroblasts. *Clin Exp Allergy* 2004;34: 804–11.
- 99) Kramer MF, Ostertag P, Pfrogner E, Rasp G. Nasal interleukin-5, immunoglobulin E, eosinophilic cationic protein, and soluble intercellular adhesion molecule-1 in chronic sinusitis, allergic rhinitis, and nasal polyposis. *Laryngoscope* 2000;110: 1056–62.
- 100) Aksun S, Özmen D, Bayındır O. Metalloproteinazlar, inhibitörleri ve ilişkili fizyolojik ve patolojik durumlar. *T Klin Tıp Bilimleri* 2001;21:332-42.
- 101) Bhandari A, Takeuchi K, Suzuki S, Harada T, Hayashi S, Imanaka-Yoshida K et al. Increased expression of matrix metalloproteinase-2 in nasal polyps. *Acta Otolaryngol* 2004;124:1165-1170.
- 102) Kitauro M, Suzuki N, Imai T, Takagi S, Suzuki R, Nakajima T ve ark. Molecular cloning of human eotaxin, an eosinophilic-selective CC chemokine, and identification of a specific eosinophil eotaxin receptor, CC chemokine receptor 3. *J Biol Chem*. 1996;271:7725-30.
- 103) Ebisawa M, Yamada T, Bickel C, Klunk D, Schleimer RP. Eosinophyl transendothelial migration induced by cytokines. Effect of the chemokine RANTES. *J Immunol*. 1994;153:2153-2160.

- 104) Beck LA, Stellato C, Beall LD, Schall TJ, Leopold D, Bickel CA ve ark. Detection of the chemokine RANTES and endothelial adhesion molecules in nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol.* 1996;98:766-80.
- 105) Wise SK, Ahn CN, Schlosser RJ. Localized immunoglobulin E expression in allergic rhinitis and nasal polyposis. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2009;17(3):216-22.
- 106) Morinaka S, Nakamura H. Inflammatory cells in nasal mucosa ad nasal polyps. *Auris Nasus Larynx* 27: 59-64, 2000.
- 107) Rogala B, Namyslowski G, Mrowka-Kata K, Gawlik R, Gabriel A. Concentration of s-ICAM-1 in nasal polyps tissue. *Med Sci Monit* 6: 1109-1112, 2000
- 108) Suh KS, Park HS, Nahm DH, Kim YK, Lee YM, Park K. Role of IgG, IgA, and IgE antibodies in nasal polyp tissue: Their relationships with eosinophilic infiltration and degranulation. *J Korean Med Sci* 17: 375-380, 2002
- 109) Bateman ND, Fahy C, Woolford TJ. Nasal polyps: Still more questions than answers. *J Laryngol Otol* 117(1): 1–9,2003
- 110) Sánchez-Segura A, Brieva JA, Rodríguez C. Regulation of immunoglobulin secretion by plasma cells infiltrating nasal polyps. *Laryngoscope* 110: 1183– 1188, 2000.
- 111) Allen JS, Eisma R, Leonard G, Lafreniere D, Kreutzer D. Interleukin-8 expression in human nasal polyps. *Otolaryngol Head Neck Surg* 117: 535-541, 1997.
- 112) Bernstein JM, Yankaskas JR. Increased ion transport in cultured nasal polyp epithelial cells. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 120: 993-996, 1994.

- 113) Lowenstein CJ, Dinerman JL, Synder SH. Nitric oxide: A physiologic Messenger. *Ann Intern Med* 1994; 120: 227-37.
- 114) Kirtsreesakul V. Update on Nasal Polyps: Etiopathogenesis. *Med Assoc Thai* 2005; 88: 1966-72.
- 115) Nussler AK, Billiar TR. Inflammation, immunoregulation and inducible nitric oxide synthase. *J Leukoc Biol* 1993; 54: 171-8.
- 116) Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J* 2001; 357: 593-615.
- 117) Alobid I, Antón E, Armengot M, Chao J, Colás C, del Cuvillo A, et al. SEAIC-SEORL. Consensus Document on Nasal Polyposis. Rhinoconjunctivitis Committee; Spanish Society of Allergy and Clinical Immunology; Rhinology and Allergy Commission; Spanish Society of Otorhinolaryngology. POLINA Project. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2011; 21: 1-58.
- 118) Li MH, Yang ZQ, Yin WZ. The influence of protein kinase C inhibitor in eosinophil apoptosis of nasal polyps. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi*. 2004; 39:6, 353–5.
- 119) Lildholdt T, Rundcrantz H, Bende M, Larsen K. Glucocorticoid treatment for nasal polyps. The use of topical budesonide, intramuscular betamethasone, and surgical treatment. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 123: 595–600,1997
- 120) Maran AGD, Lund VJ. Infections and nonneoplastic disease. In: *Clinical rhinology*. New York, Thieme Medical Publishers 1990, s. 94-8
- 121) S. Imaging of chronic sinusitis in adults: X-ray, computed tomography, and magnetic resonance imaging. *J Allergy Clin Immunol* 90 (3/2): 445–451,1992
- 122) Lund VJ, Mackay IS. Staging in rhinosinusitis. *Rhinology* 1993; 31: 183-184.

- 123) Bernstein JM. Nasal polyps: finding the cause, determining treatment. *J Respir Dis* 18:847-856, 1997
- 124) Bachert C, Watelet JB, Gevaert P, Cauwenberge PV. Pharmacological management of nasal polyposis. *Drugs* 65:1537-1552, 2005
- 125) Bonfils P, Nores JM, Halimi P, Avan P. Corticosteroid treatment in nasal polyposis with a three year follow-up period. *Laryngoscope* 113:683-687, 2003
- 126) Cauwenberge PV, Hoecke HV, Vandebulcke L, Van Zele T, Bachert C. Glucocorticosteroids in allergic inflammation: Clinical benefits in allergic rhinitis, rhinosinusitis, and otitis media. *Immunol Allergy Clin N Am* 25:489- 509, 2005
- 127) Vento SI, Ertama LO, Hytönen ML, Wolff CHJ, Malmberg CHO. Nasal polyposis: Clinical course during 20 years. *Ann Allergy Asthma Immunol* 85: 209-214, 2000
- 128) Bolger WE, Joshi AS, Spear S, Nelson M, Govindaraj K. Gene expression analysis in sinonasal polyposis before and after oral corticosteroids: a preliminary investigation. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2007; 137: 27-33.
- 129) Damm M. Effects of systemic steroids treatment in chronic polypoid rhinosinusitis evaluated with magnetic resonance imaging. *Otol Head Neck Surgery* 1999; 120: 517-523.
- 130) Assanasen P. Medical and surgical management of nasal polyps. *Curr Opin Otol Head and Neck Surgery* 2001; 9: 27-36.
- 131) Nonaka M, Pawankar R, Saji F, Yagi T. Effect of roxithromycin on IL-8 synthesis and proliferation of nasal polyp fibroblasts. *Acta Otolaryngol Suppl* 539: 71–75, 1998
- 132) Nonaka M, Pawankar R, Tomiyama S, Yagi T. A macrolide antibiotic, roxithromycin, inhibits the growth of nasal polyp fibroblasts. *Am J Rhinol* 13: 267–272, 1999

- 133) Kraft M,Cassell GH,Pak J. Mycoplasma pneumoniae and chlamydia pneumoniae in asthma:effect of clarithromycin. Chest 121:1782 -1788,2002
- 134) Sherris DA, Ponikau JU, Kern EB. First results of antifungal therapy in CRS patients. European Rhinologic Society, Barcelona, 2000: Abstract 478
- 135) Shin SH, Ye MK. Effects of topical amphotericin B on expression of cytokines in nasal polyps. Acta Otolaryngol 124: 1174-1177, 2004
- 136) Stevenson DD,Hankammer MA,Mathison DA. Aspirin desensitization treatment of aspirin- sensitive patients with rhinosinusitis-asthma:longterm outcomes.J Allergy Clin Immunol 98:751-758,1996
- 137) Haye R,Aanesen JP,Burtin B. The effect of cetirizine on symptoms and signs of nasal polyposis.J Laryngol Otol 112:1042-1046,1998
- 138) Danzig M,Cuss F.Inhibition of interleukin-5 with a monoclonal antibody attenuates allergic inflammation. Allergy 52:787-794,1997
- 139) Yüksel A, Uslu S. Yaygın Nazal Polipozis Hastalarında Biyofilm Oluşumunun Araştırılması, Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi Tıp fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı
- 140) Benson M. Pathophysiological effects of glucocorticoids on nasal polyps: an update, Cur Opin Allergy Clin Immunol 2005; 5:1, 31–35.
- 141) Önerci M: Yaygın Nazal Polipozis. Endoskopik Sinüs Cerrahisi, İkinci Baskı, Ankara, Kutsan Ofset, 1999, 66–70.
- 142) Drake-Lee AB: Nasal Polyps, in Scott-Brown’s Otolaryngology. Sixth ed. Great Britain (Ed. Kerr AG, Stephens D). Butterworth&Co. Ltd, 1997; 3: 4, 1–16.

- 143) Pata YS, Bicik E, Aygenç E, Koç C, Özdem C; Endoskopik sinüs cerrahisinin geç dönem sonuçları, Türkiye Klinikleri KBB Dergisi 2003; 3, 9–15.
- 144) Değer K, Keleş N, Savaş I, Çilingiroğlu T, Hafızali B; Nazal polipoziste allerji ve fonksiyonel endoskopik sinüs cerrahisi, Türk Otolarinolojisi Arşivi 1994; 32, 196–9.
- 145) Krouse JH, Christmas DA. Powered Nasal Polypectomy in the Office Setting. Ear Nose Throat J 1996; 75,608–610.
- 146) Tong YF, Sun XZ, Li DW. Observation of maxillary mucosa restoration after the endoscopic sinus surgery operation of chronic sinusitis and nasal polyps. Zhonghua Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi. 2004; 39:7, 402–6.
- 147) Costerton J.W, Geesey G.G, Cheng G.K. How bacteria stick. Sci. Am. 238:86-93,1978
- 148) Costerton J.W, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, H. M. Lappin-Scott. Microbial biofilms. Annu. Rev. Microbiol. 49:711-745,1995
- 149) Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms. Clinical Microbiology Reviews,. 15:167-193,2002
- 150) Costerton, JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. Science 284:1318-1322, 1999
- 151) Costerton J.W., Lappin-Scott H.M.. Introduction to microbial biofilms, p. 1-11. In H. Lappin-Scott H.M and Costerton J.W. (ed.), Microbial biofilms. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom, 1995
- 152) Davies DG, Geesey GG. Regulation of the alginate biosynthesis gene algC in Pseudomonas aeruginosa during biofilm development in continuous culture. Appl. Environ. Microbiol. 61:860-867,1995

- 153) Stoodley P, Lewandowski Z, Boyle JD, Lappin-Scott HM. Oscillation characteristics of biofilm streamers in turbulent flowing water as related to drag and pressure drop. *Biotechnol. Bioeng.* 57: ; 536-544 1998

- 154) Christensen GD, Simpson WA, Bisno AL, Beachey EH. Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infect Immun* 37: 318-326, 1982F

- 155) Baldassari L, Doneli G, Gelosia A, Voglino MC, Simpson AW, Christensen GD. Purification and characterization of the staphylococcal slime associated antigen and its occurrence among staphylococcus epidermidis clinical isolates. *Infect Immun* 64: 3410-3415,1996

- 156) Kalkancı A, Mansuroğlu, H., ve Kustimur S., “Candida Türlerinde Slaym Faktor Belirlenmesi,” *Türk Mikrobiyoloji Cemiyet Dergisi* 29: 183-185,1999

- 157) Post JC, Stoodley P, Hall Stoodley L, Ehrlich GD. The role of biofilms in otolaryngologic infections. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*: 12:185–190, 2004.

- 158) Nickel JC, Costerton JW. Coagulase-negative staphylococcus in chronic prostatitis. *J. Urol.* 147: 398-401, 1992

- 159) Stickler D, Morris N, Moreno MC, Sabbuba N. Studies on the formation of crystalline bacterial biofilms on urethral catheters. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 17: 649-652, 1998.

- 160) Vorachit M, Lam K, Jayanetra, Costerton JW. Resistance of *Pseudomonas pseudomallei* growing as a biofilm on silastic disks to ceftazidime and cotrimoxazole. *Antimicrob. Agents Chemother.* 37: 2000-2002, 1993

- 161) Ceri H, Olson ME, Stremick C, Read RR, Morck D, Buret A. The Calgary Biofilm Device: new technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. *J. Clin. Microbiol.* 37: 771-1776, 1999
- 162) Ramadan HH, Sanclement JA, Thomas JG. Chronic rhinosinusitis and biofilms. *Otolaryngol Head Neck Surg* 132: 414-417, 2005
- 163) Suci PA, Mittelman MW, Yu FP, Geesey GG. Investigation of ciprofloxacin penetration into *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Antimicrob. Agents Chemother.* 38: 2125-2133, 1994
- 164) DuGuid IG, Evans E, Brown RW, Gilbert P. Effect of biofilm culture on the susceptibility of *Staphylococcus epidermidis* to tobramycin. *J. Antimicrob. Chemother.* 30: 803-810, 1992
- 165) Borriello G, Werner E, Roe F, et al. Oxygen limitation contributes to antibiotic tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms. *Antimicrob Agents Chemother* 48:2659–2664, 2004
- 166) Hatch RA, Schiller NL. Alginate lyase promotes diffusion of aminoglycosides through the extracellular polysaccharide of mucoid *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 42: 974-977, 1998
- 167) Gordon CA, Hodges NA, Marriot C. Antibiotic interaction and diffusion through alginate and exopolysaccharide of cystic fibrosis-derived *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Antimicrob. Chemother.* 22: 667-674, 1988
- 168) DuGuid IG, Evans E, Brown RW, Gilbert P. Growth-rate-dependent killing by ciprofloxacin of biofilm-derived *Staphylococcus epidermidis*; evidence for cell-cycle dependency. *J. Antimicrob. Chemother.* 30: 791-802, 1990

- 169) Adams JL, McLean RJC. Impact of rpoS deletion on Escherichia coli biofilms. Appl. Environ. Microbiol. 65: 4285-4287, 1999
- 170) Dagostino L, Goodman AE, Marshall KC. Physiological responses induced in bacteria adhering to surfaces. Biofouling 4:113-119, 1991
- 171) Perloff JR, Palmer JN. Evidence of bacterial biofilms in a rabbit model of sinusitis. Am J Rhinol 19: 1–6, 2005
- 172) Patrick J. Antonelli, James C. Lee, and Robert A. Burne Bacterial Biofilms May Contribute to Persistent Cochlear Implant Infection Otol Neurotol 25: 953–957, 2004
- 173) Berry JA, Biedlingmaier J, Whelan P. In vitro resistance to bacterial biofilm formation on coated fluoroplastic tympanostomy tubes. Otolaryngol. Head Neck Surg. 123: 246-251, 2000
- 174) Hall-Stoodley L, Hu FZ, Gieseke A, et al. Direct detection of bacterial biofilms on the middle-ear mucosa of children with chronic otitis media. JAMA 296:202–211, 2006
- 175) Domingue GJ, Hellstrom WJG. Prostatitis. Clin. Microbiol. Rev. 11: 604-613, 1998
- 176) Nickel JC, Costerton JW, McLean RJC, Olson M. Bacterial biofilms: influence on the pathogenesis, diagnosis, and treatment of urinary tract infections. J. Antimicrob. Chemother. 33 (Suppl. A) :31-41, 1994
- 177) Emerson J, Rosenfeld M, McNamara S, et al. Pseudomonas aeruginosa and other predictors of mortality and morbidity in young children with cystic fibrosis. Pediatr Pulmonol 34:91–100, 2002
- 178) Lisa I., Jonathan B., Princen A.. Cystic fibrosis epithelial cells have a receptor for pathogenic bacteria on their apical surface. Proc. Natl. Acad. Sci. USA March Vol. 92: 3019-3023, 1995

- 179) Kong F, Young L, Chen Y, Ran H, Meyers M, Joseph P, Cho YH, Hassett DJ, Lau GW. *Pseudomonas aeruginosa* pyocyanin inactivates lung epithelial vacuolar ATPase-dependent cystic fibrosis transmembrane conductance regulator expression and localization *Cellular Microbiology* July Volume 8 Issue 7: 1121-1133, 2006.
- 180) Thomas S. Murray B., Egana M., Barbara I, *Pseudomonas aeruginosa* chronic colonization in cystic fibrosis patients. *Curr Opin Pediatr* 19: 83–88, 2007.
- 181) Howard F. Jenkinson and Richard J. Lamont Moore WEC, Holdeman LV, Cato EP, Smibert RM, Burmeister JA, Ranney RR. Bacteriology of moderate (chronic) periodontitis in mature adult humans. *Infect. Immun.* 42: 510-515, 1983
- 182) Andrian E., Grenier D., Rouabhia M., *Porphyromonas gingivalis*-Epithelial Cell Interactions in Periodontitis *J Dent Res* 85(5):392-403, 2006
- 183) Rold D.S., Herrera M.. Sanz Biofilms and the tongue: therapeutical approaches for the control of halitosis *Clin Oral Invest* 7:189–197, 2003
- 184) Kinniment SL, Wimpenny JWT, Adams D, Marsh PD. The effect of chlorhexidine on defined, mixed culture oral biofilms grown in a novel model system. *J. Appl. Bacteriol.* 81:120-125,1996
- 185) Kjaergard HK, Tingleff J, Abildgaard U, Pettersson G. Recurrent endocarditis in silver-coated heart valve prosthesis. *J. Heart Valve Dis.* 8:140-142,1999
- 186) Klossek JM, Neukirch F, Pribil C, Jankowski R, Serrano E, Chanal I, El Hasnaoui A. Prevalence of nasal polyposis in France: A cross-sectional, case–control study. *Allergy* 60: 233–237, 2005.
- 187) Koch C, Hoiby N. Pathogenesis of cystic fibrosis. *Lancet* 341:1065-1069,1993

- 188) Stickler DJ. Bacterial biofilms and the encrustation of urethral catheters. *Biofouling* 94:293-305,1996
- 189) McLean RJC, Nickel JC, Olson ME. Biofilm associated urinary tract infections, p. 261-273. In H. M. Lappin-Scott and J. W. Costerton (ed.), *Microbial biofilms*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.1995
- 190) Nickel JC, Downey JA, Costerton JW. Ultrastructural study of microbiologic colonization of urinary catheters. *Urology* 34:284-291,1989
- 191) Stapleton F, Dart J. *Pseudomonas* keratitis associated with biofilm formation on a disposable soft contact lens. *Br. J. Ophthalmol.* 79: 864-865, 1995.
- 192) Miller M.J., Ahearn D.G. Adherence of *Pseudomonas aeruginosa* to hydrophilic contact lenses and other substrata. *J. Clin. Microbiol.* 25: 1392-1397, 1987.
- 193) McLaughlin-Borlace L., Stapleton F., Matheson M., Dart J.K.G. Bacterial biofilm on contact lenses and lens storage cases in wearers with microbial keratitis. *J. Appl. Microbiol.* 84: 827-838, 1998
- 194) Chesney P.J. Infections of the female genital tract, p. 347-374. In A. L. Bisno and F. A. Waldvogel (ed.), *Infections associated with indwelling medical devices*, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 1994
- 195) Lewis RA. review of bacteriological culture of removed intrauterine contraceptive devices. *Br. J. Fam. Plan.* 24: 95-97, 1998
- 196) Bank HL, Williamson HO. Scanning electron microscopy of Dalkon Shield tails. *Fertil. Steril.* 40: 334-339, 1983

- 197) Jaques M, Olson ME, Costerton JW. Microbial colonization of tailed and tailless intrauterine contraceptive devices: influence of the mode of insertion in the rabbit. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 154: 648-655, 1986

- 198) Characklis WG, McFeters GA, Marshall KC. Physiological ecology in biofilm systems, p. 341-394. In W. G. Characklis and K. C. Marshall (ed.), *Biofilms*. John Wiley and Sons, New York, N.Y. 1990

- 199) Davies DG, Parsek MR, Pearson JP, Iglewski BH, Costerton JW, Greenberg EP. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science* 280: 295- 298, 1998

- 200) Holland SP, Mathias RG, Morck DW, Chiu J, Slade SG. Diffuse lamellar keratitis related to endotoxins released from sterilizer reservoir biofilms. *Ophthalmology* 107: 1227-1234, 2000

- 201) Rioufol C, Devys C, Meunier G, Perraud M, Goullet D. Quantitative determination of endotoxins released by bacterial biofilms. *J. Hosp. Infect.* 43: 203-209, 1999

- 202) Vincent FC, Tibi AR, Darbord JC. A bacterial biofilm in a hemodialysis system. Assessment of disinfection and crossing of endotoxin. *ASAIO Trans.* 35: 310-313, 1989

- 203) Shiau AL, Wu CL. The inhibitory effect of *Staphylococcus epidermidis* slime on the phagocytosis of murine peritoneal macrophages is interferon-independent. *Microbiol. Immunol.* 42: 33-40, 1998

- 204) Meluleni GJ, Grout M, Evans DJ, Pier GB. Muroid *Pseudomonas aeruginosa* growing in a biofilm in vitro are killed by opsonic antibodies to the muroid exopolysaccharide capsule but not by antibodies produced during chronic lung infection in cystic fibrosis patients. *J. Immunol.* 155: 2029-2038, 1995

- 205) Ward KH, Olson ME, Lam K, Costerton JW. Mechanism of persistent infection associated with peritoneal implants. *J. Med. Microbiol.* 36: 406-413, 1992
- 206) Hausner M, Wuertz S. High rates of conjugation in bacterial biofilms as determined by quantitative in situ analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 3710-3713, 1999
- 207) Bathe1 S, Schwarzenbeck1 N, and Hausner M, Plasmid-mediated bioaugmentation of activated sludge bacteria in a sequencing batch moving bed reactor using pNB2 *Lett Appl Microbiol.* 41(3): 242-7, 2005
- 208) Stewart PS. Theoretical aspects of antibiotic diffusion into microbial biofilms. *Antimicrob. Agents Chemother.* 40: 2517-2522, 1996
- 209) Illingworth BL, Tweden K, Schroeder RF, Cameron JD. In vivo efficacy of silver-coated (silzone) infection-resistant polyester fabric against a biofilm-producing bacteria, *Staphylococcus epidermidis*. *J. Heart Valve Dis.* 7: 524-530, 1998
- 210) Cook G, Costerton JW, Darouiche RO. Direct confocal microscopy studies of the bacterial colonization in vitro of a silver-coated heart valve sewing cuff. *Int. J. Antimicrob. Agents* 13: 169-173, 2000
- 211) Kjaergard HK, Tingleff J, Abildgaard U, Pettersson G. Recurrent endocarditis in silvercoated heart valve prosthesis. *J. Heart Valve Dis.* 8: 140-142, 1999
- 212) Veenstra DL, Saint S, Saha S, Lumley T, Sullivan SD. Efficacy of antiseptic-impregnated central venous catheters in preventing catheter-related bloodstream infection. *JAMA* 281: 261- 267, 1999
- 213) Johansen C, Falholt P, Gram L. Enzymatic removal and disinfection of bacterial biofilm. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 3724-3728, 1997

- 214) Liu G,Zhao Y. Toll-like receptors and immune regulation: their direct and indirect modulation on regulatory CD4+ CD25+ T cells. *Immunology*,2007: 122: 149–156.
- 215) Damo Xu, Haiying Liu and Mousa Komai-Koma. Direct and Indirect Role of Toll-Like Receptors in T Cell Mediated Immunity. *Cellular & Molecular Immunology*,2004:1(4):239-246.
- 216) Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol*. 1989; 7: 145-173.
- 217) O'Garra A. Cytokines induce the development of functionally heterogeneous T helper cell subsets. *Immunity*. 1998; 8: 275-283.
- 218) O'Neill LA, Dinarello CA. The IL-1 receptor/toll-like receptor superfamily: crucial receptors for inflammation and host defense. *Immunol Today*. 2000; 21: 206-209.
- 219) Sandor F, Buc M. Toll-like Receptors. I. Structure, Function and Their Ligands. *Folia Biologica (Praha)*, 2005: 51: 148-156.
- 220) Unutmaz D, Pileri P, Abrignani S. Antigen-independent activation of naive and memory resting T cells by a cytokine combination. *J Exp Med*. 1994; 180: 1159-1164.
- 221) Anderson KV. Toll signaling pathways in the innate immune response. *Curr Opin Immunol*. 2000; 12: 13-19.

- 222) Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 2001;1: 135-145.
- 223) Kapsenberg ML. Dendritic-cell control of pathogen-driven T-cell polarization. *Nat Rev Immunol.* 2003;3: 984-993.
- 224) Arancibia S A, Beltrán C J, Aguirre I M, et al. Toll-like Receptors are Key Participants in Innate Immune Responses. *Biol Res.* 2007; 40: 97-112.
- 225) McInturff JE, Modlin RL, Kim J. The Role of Toll-like Receptors in the pathogenesis and treatment of dermatological disease. *J Invest Dermatol* 2005;125:1-8.
- 226) Underhill DM, Ozinsky A, Hajjar AM, et al. The Toll-like receptor 2 is recruited to macrophage phagosomes and discriminates between pathogens. *Nature* 1999; 401: 811-815.
- 227) Tosi MF. Innate immune responses to infection. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116: 241-249.
- 228) Roeder A, Kirschning JC, Rupec RA, Schaller M, Korting HC. Toll-like receptors and innate antifungal responses. *TRENDS Microbiol* 2004;12:44-49.
- 229) Dabbagh K, Lewis DB. Toll-like receptors and T-helper-1/T-helper-2 responses. *Curr Opin Infect Dis.* 2003 Jun;16: 199-204.
- 230) Kaisho T, Akira S. Pleiotropic function of Toll-like receptors. *Microbes Infect* 2004;6:1388- 1394.
- 231) Doyle S et al. IRF3 mediates a TLR3/TLR4-specific antiviral gene program *Immunity.* 2002; 17:251-63.
- 232) Kaisho T, Akira S. Toll-like receptor function and signaling. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2006; 117, 979-987.

- 233) Thoma-Uszynski S, Kiertscher SM, Ochoa MT, et al. Activation of Tolllike receptor 2 on human denritic cells triggers induction of IL-12 but not IL-10. J Immunol 2000;165:3804-3810.
- 234) Kollisch G, Kalali BN, Voelcker V, et al. Various members of the Toll-like receptor family contribute to the innate immune response of human epidermal keratinocytes. Immunology 2005;114:531-541.
- 235) Adışen E, Önder M. (2006). Dermatolojide Toll Like Reseptörler. Dermatose 1: 14-21.
- 236) Wieland Cw, Knapp S, Florquin S,et al. Non-mannosecapped lipoarabinomannan induces lung inflammation via toll-like receptor 2. Am J Respir Crit Care Med 2004;170: 1367-74.
- 237) Ozinsky A, Underhill DM, Fontenot JD, et al. The repertoire for pattern recognition of pathogens by the innate immune system is defined by cooperation between toll-like receptors. Proc Natl Acad Sci U S A 2000; 97: 13766-71.
- 238) Sato M, Sano H, Iwakı D, et al. Direct binding of Toll-like receptor 2 to zymosan, and zymosan-induced NFkappa B activation and TNF-alpha secretion are downregulated by lung collectin surfactant protein, A. J Immunol,2003;171: 417-25
- 239) Campos MA, Almeida IC, Takeuchi O, et al. Activation of Toll-like receptor-2 by glycosylphosphatidylinositol anchors from a protozoan parasite. J Immunol: 2001;167: 416-23.

- 240) Hermoso MA, Matsuguchi T, Smoak K, Cidlowski JA. Glucocorticoids and tumor necrosis factor alpha cooperatively regulate toll- like receptor 2 gene expression. *Mol Cell Biol* 2004; 24: 4743-56.
- 241) Yüksel H. Alerjik yanıtta genetik faktörler ve gen çevre etkileşimi. *Sağlıkta Birikim* 2006:Cilt:1 Sayı:1.
- 242) Andrews AE, Bryson JM, Rowe-Jones JM. Site of origin of nasal polyps: relevance to pathogenesis and management. *Rhinology* 2005;43:180–4.
- 243) Johansson L, Bramerson A, Holmberg J, Melen I, Akerlund A, Bende M. Clinical relevance of nasal polyps in individuals recruited from a general population-based study. *Acta Otolaryngol* 124: 77-81, 2004.
- 244) Pang YT, Eskici O, Wilson JA. Nasal polyposis: Role of subclinical delayed food hypersensitivity. *Otolaryngol Head Neck Surg* 122: 298-301, 2000.
- 245) Larsen K, Tos M. Clinical course of patients with primary nasal polyps. *Acta Otolaryngol* 1994;114(5):556-9
- 246) Alobid I, Benitez P, Bernal-Sprekelsen M, Roca J, Alonso J, Picado C, Mullol J. Nasal polyposis and its impact on quality of life: comparison between the effects of medical and surgical treatments. *Allergy* 2005;60: 452–8
- 247) Stewart RA, Ram B, Hamilton G, Weiner J, Kane KJ. Montelukast as an adjunct to oral and inhaled steroid therapy in chronic nasal polyposis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2008;1 Turner JH,

- 248) Liang KL, May L, Lane AP. Tumor necrosis factor alpha inhibits olfactory regeneration in a transgenic model of chronic rhinosinusitis- associated olfactory loss. *Am J Rhinol Allergy* 2010;24:336–340.39(5):682-7.
- 249) Chole RA, Faddis BT. Anatomical evidence of microbial biofilms in tonsillar tissue: a possible mechanism to explain chronicity *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2003 Jun;129(6): 634-6.
- 250) Chole RA, Faddis BT. Evidence for microbial biofilms in cholesteatomas. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2002 Oct;128(10):1129-33.
- 251) Palmer James N. Bacterial Biofilms: do they play a role in chronic sinusitis?. 2005 *Otolaryngol Clin of North Am.* 2005 Dec; 38(6):1193-201.
- 252) Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW. Biofilm as complex differentiated communities. *Annu. Rev. Microbiol.* 2002 Jan; 56:
- 253) Cryer J, Schipor I, Perloff JR, Palmer JN. Evidence of bacterial biofilms in human chronic sinusitis. *ORL* 2004; 66:155–158.
- 254) Bendouah Z, Barbeau J, Hamad WA, Desrosiers M. Biofilm formation by *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* is associated with an unfavorable evolution after surgery for chronic sinusitis and nasal polyposis. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2006; 134: 991-996.
- 255) Psaltis AJ, Ha KR, Beule AG, Tan LW, Wormald PJ (2007) Confocal scanning laser microscopy evidence of biofilms in patients with chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope* 117:1302–1306.
- 256) Sanderson AR, Leid JG, Hunsaker D. Bacterial biofilms on the sinus mucosa of human subjects with chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope.* 2006;116:1121-1126.

- 257) Toth L, Csomor P, Sziklai I, Karosi T (2011) Biofilm detection in chronic rhinosinusitis by combined application of hematoxylineosin and gram staining. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 268(10):1455–1462.
- 258) Fokkens W, Lund V, Mullol J et al (2012) European position paper on rhinosinusitis nasal polyps. *Rhinol Suppl* 50(23):1–298
- 259) sun y, zhou b, wang c, huang q, zhang q, han y, dai w, sun y, fan e, li y. Clinical and histopathologic features of biofilm-associated chronic rhinosinusitis with nasal polyps in Chinese patients. *Chin Med J* 2012;125(6):1104-1109
- 260) Bezerra TF, Padua FG, Gebrim EM, Saldiva PH, Voegels RL. Biofilms in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2011; 144: 612-616.
- 261) Zhang Z, Kofonow JM, Finkelman BS, Doghramji L, Chiu AG, Kennedy DW, et al. Clinical factors associated with bacterial biofilm formation in chronic rhinosinusitis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2011; 144: 457-462
- 262) Mladina R, Poje G, Vukovi K, Risti M, Musi S. Biofilm in nasal polyps. *Rhinology*. 2008 Dec;46(4):302-7.
- 263) Ferguson BJ, Stolz DB. Demonstration of biofilm in human bacterial chronic rhinosinusitis. *Am J Rhinol* 2005;19:452–457.
- 264) Hochstim CJ, Choi JY, Lowe D, Masood R, Rice DH. Biofilm detection with hematoxylin-eosin staining. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2010;136:453–456. 187-209.
- 265) Sanclement JA, Webster P, Thomas J, Ramadan HH. Bacterial biofilms in surgical specimens of patients with chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope*. 2005 Apr;115(4):578-82.

- 266) Galli J, Calo L, Ardito F, et al. Damage to ciliated epithelium in chronic rhinosinusitis: what is the role of bacterial biofilms? *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2008;117:902-908.
- 267) AM, Kofonow JM, Doghramji L, et al. Biofilms correlate with TH1 inflammation in the sinonasal tissue of patients with chronic rhinosinusitis. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2009;141:448-453.
- 268) Bachert C, Gevaert P, Holtappels G, van Cauwenberge P. Mediators in nasal polyposis. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2002;2:481-487.
- 269) Cheng W, Zheng C, Tian J, Shi G. T helper cell population and eosinophilia in nasal polyps. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2007;17:297-301.
- 270) Psaltis AJ, Weitzel EK, Ha KR, Wormald PJ. The effect of bacterial biofilms on post-sinus surgical outcomes. *Am J Rhinol.* 2008;22:1-6.
- 271) Prince AA, Steiger JD, Khalid AN, et al. Prevalence of biofilm-forming bacteria in chronic rhinosinusitis. *Am J Rhinol.* 2008;22:239-245.
- 272) Jackson DW, Suzuki K, Oakford L, et al. Biofilm formation and dispersal under the influence of the global regulator CsrA of *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 184:290–301, 2002
- 273) Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol* 2010;11:373–84.
- 274) Z. Dong, Z. Yang, Z. Wang, Expression of TLR2 and TLR4 messenger RNA in the epithelial cells of the nasal airway, *Am. J. Rhinol.* 19 (2005) 236–239.

- 275) Q. Sha, A.Q. Truong-Tran, J.R. Plitt, L.A. Beck, R.P. Schleimer, Activation of airway epithelial cells by Toll-like receptor agonists, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 31 (2004) 358–364.
- 276) L. Guillot, R. Le Goffic, S. Bloch, N. Escriou, S. Akira, M. Chignard, et al., Involvement of Toll-like receptor 3 in the immune response of lung epithelial cells to double-stranded RNA and influenza A virus, *J. Biol. Chem.* 280 (2005) 5571–5580.
- 277) M. Fransson, M. Ander, J. Erjefalt, L. Jansson, R. Uddman, L.O. Cardell, Up-regulation of Toll-like receptors 2, 3 and 4 in allergic rhinitis, *Respir. Res.* 6 (2005) 100.
- 278) Vandermeer J, Sha Q, Lane AP, Schleimer RP. Innate immunity of the sinonasal cavity: expression of Messenger RNA for complement cascade components and toll-like receptors. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2004;130: 1374–80.
- 279) Lane AP, Truong-Tran QA, Myers A, Bickel C, Schleimer RP. Serum amyloid A, properdin, complement 3, and toll-like receptors are expressed locally in human sinonasal tissue. *Am J Rhinol* 2006;20:117–23.
- 280) Zhao CY, Wang X, Liu M, Jin DJ. Microarray gene analysis of Toll-like receptor signaling elements in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Int Arch Allergy Immunol* 2011; 156:297–304.
- 281) Qi Zhang, Cheng-shuo wang, De-min han, Christopher sy, Qian huang, yan sun, er-zhong fan, ying li & bing zhou. Differential expression of Toll-like receptor pathway genes in chronic rhinosinusitis with or without nasal polyps. *Acta Oto-Laryngologica*, 2013; 133: 165–173
- 282) Psaltis AJ, Bruhn MA, Ooi EH, Tan LW, Wormald PJ. Nasal mucosa expression of lactoferrin in subjects with chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope* 2007;117:2030–5.

- 283) Hamilos DL. Chronic rhinosinusitis: epidemiology and medical management. *J Allergy Clin Immunol* 2011;128: 693–707.
- 284) Hausmann M, Kiessling S, Mestermann S, Webb G, Spöttl T, Andus T, et al. Toll-like receptors 2 and 4 are up-regulated during intestinal inflammation. *Gastroenterology* 2002;122:1987–2000.
- 285) Imasato A, Desbois-Mouthon C, Han J, Kai H, Cato AC, Akira S, et al. Inhibition of p38 MAPK by glucocorticoids via induction of MAPK phosphatase-1 enhances nontypeable *Haemophilus influenzae* induced expression of toll-like receptor 2. *J Biol Chem* 2002;277:47444–50.
- 286) S. Akira, S. Uematsu, O. Takeuchi, Pathogen recognition and innate immunity, *Cell* 124 (2006) 783–801.
- 287) Jiyun Wang a,c,□, Satoshi Matsukura b, So Watanabe a, Mitsuru Adachib, Harumi Suzuki. Involvement of Toll-like receptors in the immune response of nasal polyp epithelial cells. *Clinical Immunology* (2007) 124, 345–352
- 288) M. Matsumoto, K. Funami, M. Tanabe, H. Oshiumi, M. Shingai, Y. Seto, et al., Subcellular localization of Toll-like receptor 3 in human dendritic cells, *J. Immunol.* 171 (2003) 3154–3162.
- 289) M. Matsumoto, S. Kikkawa, M. Kohase, K. Miyake, T. Seya, Establishment of a monoclonal antibody against human Toll-like receptor 3 that blocks double-stranded RNA-mediated signaling, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 293 (2002) 1364–1369.

- 290) M. Ritter, D. Mennerich, A. Weith, P. Seither, Characterization of Toll-like receptors in primary lung epithelial cells: strong impact of the TLR3 ligand poly(I:C) on the regulation of Tolllike receptors, adaptor proteins and inflammatory response, *J. Inflam. (Lond.)* 29 (2005) 16.
- 291) E. Furrie, S. Macfarlane, G. Thomson, G.T. Macfarlane, Toll-like receptors-2, -3 and -4 expression patterns on human colon and their regulation by mucosal-associated bacteria, *Immunology* 115 (2005) 565–574.
- 292) S. Naik, E.J. Kelly, L. Meijer, S. Pettersson, I.R. Sanderson, Absence of Toll-like receptor 4 explains endotoxin hyporesponsiveness in human intestinal epithelium, *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 32 (2001) 449–453.
- 293) M. Ueta, J. Hamuro, H. Kiyono, S. Kinoshita, Triggering of TLR3 by polyI:C in human corneal epithelial cells to induce inflammatory cytokines, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 331 (2005) 285–294.
- 294) S.L. Osur, Viral respiratory infection in association with asthma and sinusitis: a review, *Ann. Allergy, Asthma, Immunol.* 8 (2002) 553–560.
- 295) Stefan K. Drexler□, Brian M. Foxwell. The role of Toll-like receptors in chronic inflammation. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 42 (2010) 506–518