

İNSAN AĞIZ EPİTEL HÜCRESİNİN FARKLI ANTİJENİK MİKTARLARDAKİ *STREPTOCOCCUS PYOGENES*'E KARŞI BAKTERİSİDAL ETKİSİNİN VE SİTOKİN YANITININ ARAŞTIRILMASI*

INVESTIGATION OF BACTERICIDAL EFFECT AND CYTOKINE RESPONSE OF THE ORAL EPITHELIAL CELLS AGAINST DIFFERENT ANTIGENIC DOSES OF *STREPTOCOCCUS PYOGENES*

Nurhan ALBAYRAK**, **Derya BİRİKEN****, **Hatice ÖZENCİ****

ÖZET: Epitel hücreleri, doğal ve kazanılmış immün yanıtın oluşmasında önemli bir role sahiptir. Bu çalışmada, *Streptococcus pyogenes*'in artan miktarlarına karşı insan ağız epitel hücrelerinin (AEH) bakterisidal etkisi ve sitokin üretimlerindeki değişikliklerin araştırılması amaçlanmıştır. AEH ve *S.pyogenes* 1/1, 1/100, 1/1.000 ve 1/10.000 efektör/hedef (E/H) hücre oranlarında karşılaştırılmış, bir ve altı saatlik inkübasyonlardan sonra bakterisidal etki ile interlökin (IL) düzeyleri (IL-6, IL-8, IL-10) değerlendirilmiştir. Bakterisidal etki oranlarının birinci ve altıncı saatlerde sırasıyla ortalama %38.7 ve %54.5 olduğu saptanmıştır. AEH'nin bakterisidal etkisi, E/H hücre oranlarına göre değerlendirildiğinde; 1. saatte 1/1 oranı ile ve 6. saatte 1/1 ve 1/100 oranı ile elde edilen bakterisidal etkilerin, daha yüksek oranlar ile elde edilen etkiye göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). AEH'nin farklı *S.pyogenes* miktarları ile uyarıma vermiş olduğu sitokin yanıtları süreye ve doza bağlı olarak değişiklik göstermiştir. Uyarılmış hücrelerin birinci saatte oluşturduğu IL-6 yanıtları, yapısal olarak (uyarılmamış) meydana getirdiğinden anlamlı olarak yüksek bulunmuş ($p<0.05$), IL-8 yanıtında yüksek E/H oranlarına doğru anlamlı bir azalma izlenmiş ($p<0.001$), IL-10 yanıtında ise farklı mikroorganizma miktarları ile uyarımdan sonra değişim saptanmamıştır ($p>0.05$). Altıncı saat IL-6 oluşumunda, yapısal üretimden farklı bir yanıt saptanmazken, IL-8 yanıtı 1/100 ve üzerindeki E/H hücre oranlarında yapısal üretiminden anlamlı olarak düşük (sırasıyla $p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.01$) ve IL-10 yanıtı 1/100, 1/1.000 E/H hücre oranlarında yapısal üretiminden anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p<0.05$, $p<0.05$). Sonuç olarak, AEH'nin farklı *S.pyogenes* miktarları ile uyarıma karşı bakterisidal etki ve IL-6, IL-8 ve IL-10 üretiminde doza bağlı olarak farklı yanıt oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu durum, değişen antijen miktarlarına karşı epitel hücrelerinin immün sistemin aktivasyon veya tolerans yönünde uyarılmasındaki katkısını vurgulamaktadır.

Anahtar sözcükler: Bakterisidal etki, epitel hücresi, interlökin.

* Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nce 2004.08.09.176 sayısı ile desteklenen proje, ilk yazarın tez çalışmasıdır.

** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

ABSTRACT: Epithelial cells (EC) have an important role in the constitution of both innate and acquired immune responses. The aim of this study was to investigate the alterations of bactericidal effects and cytokine production patterns of human oral epithelial cells (OEC) against different doses of *Streptococcus pyogenes*. For this purpose, OEC have been stimulated with *S.pyogenes* with an effector/target (E/T) cell ratio of 1/1, 1/100, 1/1.000 and 1/10.000, and bactericidal effects and interleukin (IL)-6, IL-8 and IL-10 levels were detected in the first and sixth hours of incubation. The mean rates of bactericidal effect detected in the first and sixth hours were 38.7% and 54.5%, respectively. The bactericidal effects observed at 1/1 E/T cell ratio in the first hour, and at 1/1 and 1/100 E/T cell ratio in the the sixth hour were found significantly higher then the other cells ratios ($p<0.05$). Time- and dose-depended differences were detected in the cytokine responses of OEC for different *S.pyogenes* concentrations. IL-6 levels produced by stimulated OEC were found higher, and IL-8 levels were found lower then the levels which were produced by unstimulated OEC ($p<0.05$, $p<0.001$, respectively) in the first hour, while there were no change in IL-10 levels after stimulation with different bacterial concentrations ($p>0.05$). At the sixth hour there were no differences in the IL-6 levels produced by stimulated and unstimulated cells, while the levels of IL-8 produced by stimulated cells were found lower then the levels produced by unstimulated cells in the E/T cell ratio of 1/100, 1/1000 and 1/10.000 ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.01$, respectively). Nevertheless IL-10 levels in the E/T cell ratio of 1/100 and 1/1.000 were statistically higher then the levels produced by unstimulated cells ($p<0.05$, $p<0.05$). As a result OEC stimulated with *S.pyogenes* showed dose dependent manner in bactericidal effect and cytokine production. It is suggested that epithelial cells stimulation with different doses of antigen contributed to the immune system activation or tolerance.

Key words: Bactericidal effect, epithelial cell, interleukin.

G İ R İ Ş

Konak bulunduğu çevrede dış ve iç epitelyal yüzeyler yoluyla mikroorganizmalarla sürekli karşı karşıya kalmaktadır^{1,2}. Epitel hücreleri, patojene karşı mukus gibi enfeksiyondan önce var olan ve antimikrobiyal peptidler gibi enfeksiyonun ilk dakikaları içinde etkinleşen doğal savunma mekanizmalarını aktifleştirmekte; bu savunmayı aşan veya bu savunmadan kaçan mikroorganizmalara karşı MHC molekül ekspresyonu, sitokin ve kemokin üretimi ve adezyon moleküllerinin ekspresyonu ile kazanılmış immün yanıtın uyarımını yapmakta; kazanılmış immün yanıtın yönünü 'immün tolerans' veya 'immün aktivasyon' şeklinde belirlemektedir³⁻⁷. Mukozal immün sistemde epitel hücreleri, özgül olmayan immün yanıtıtan kazanılmış immün yanıtı geçişte ve immün homeostazın regülasyon veya tolerans yönünde oluşmasında rol oynamakta, bu noktada antijene; antijenin yapısı, miktarı ve sunum şekline göre nasıl bir yanıt oluşturulacağını belirlemektedir⁸⁻¹⁰.

Çalışmamızda, ağız epitel hücre yanıtının mikroorganizma dozu ile ilişkisini belirlemek için, bu hücreler, nazofarinksin yaygın bir patojeni olan *Streptococcus pyogenes*'in farklı miktarları ile uyarılmış ve gerek bakterisidal etki yönünden

gerekse doğal immüniteye aracılık eden IL-8, kazanılmış immüniteye aracılık eden IL-6 ve toleransa aracılık eden IL-10 sitokinlerinin üretimindeki değişiklikler yönünden araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma için, antibiyotik almayan ve sigara kullanmayan sağlıklı 9 erişkin bireyin uyarılmamış tükrük örnekleri toplandı. Örnekler, içinde 10 ml antibiyotikli (%1 penisilin-streptomisin) "Hanks Balanced Salt Solution" (HBSS) bulunan steril polipropilen santrifüj tüplerine alındı ve 3 kez HBSS ile yıkandı. Süpernatant, yıkama işlemlerinden sonra sırasıyla 800, 200 ve 800 rpm'de 10'ar dakika santrifüj edildi. Yıkama işlemlerinin sonunda elde edilen ağız epitel hücreleri (AEH), ısı ile inaktivasyondan sonra %10 fetal dana serumu (FCS) içeren RPMI (Roswell Park Memorial Institute) 1640 besiyerinde sulandırıldı ve 20 µl hücre süspansiyonu %4'lük tripan mavisi ile boyandı. Boya almayan canlı hücreler Thoma lamında sayılarak %95 saflıkta elde edilen AEH, besiyerinde 1×10^5 hücre/ml olacak şekilde süspanse edildi^{11,12}.

Refik Saydam Hıfzısıhha Kültür Koleksiyonundan sağlanan *S.pyogenes* ATCC 19613 suşu, koyun kanlı agara ekilerek 37°C'de bir gece inkübe edildi. Ertesi gün plak yüzeyindeki koloniler toplandı ve 3 kez fosfat tamponu (PBS) ile yıkandı. Bakteri pelleti %10 FCS içeren RPMI 1640 besiyerinde sulandırılarak tripan mavisi ile boyandı ve Thoma lamında sayıldı. Bu şekilde 10^5 , 10^7 , 10^8 ve 10^9 cfu/ml bakteri içeren süspansiyonlar hazırlandı¹².

Efektör hücrelerin (AEH) hedef hücreye (*S.pyogenes*) karşı oluşturacağı bakterisidal etkiyi değerlendirmek için, AEH ve *S.pyogenes*, mikropoplaklarda 1/1, 1/100, 1/1.000 ve 1/10.000 efektör/hedef hücre olacak şekilde ve her bir oran için 3'er kuyucuk kullanılmak suretiyle karşılaştırıldı. Mikropoplak 37°C ve %5 CO₂'li etüvde inkübasyona bırakıldı. Kontrol olarak, bakteri ile uyarılmamış epitel hücreleri ve epitel hücresi ile karıştırılmamış bakteri süspansiyonu kullanıldı ve kontroller için 3'er kuyucuk ayrıldı. Bir ve 6 saatlik inkübasyonların ardından her bir kuyucuk içeriği üremenin engellenmesi deneyi için alındı ve seri sulandırılmaları hazırlanarak uygun dilüsyonlardan kanlı agara çift ekim yapıldı. Inkübasyondan sonra ertesi gün, besiyerlerinde koloni oluşturan birimler (cfu) sayıldı ve bakteri kontrolleri ile kıyaslanarak bakterisidal etki (BE) yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı^{11,12}:

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

S. pyogenes ile uyarılmış AEH ve kontrol olarak bakteri ile uyarılmamış AEH süpernatantları 1 ve 6. saatlerde ependorf tüplerinde toplandı, 3000 rpm'de santrifüj edildi ve süpernatant -70°C'de saklandı. Farklı mikroorganizma miktarları ile uyarılmış ve mikroorganizma ile uyarılmamış hücrelerin oluşturduğu IL-6, IL-8

ve IL-10 düzeyleri, ticari ELISA (Biosource, USA) kitleriyle araştırıldı. Sonuçlar spektrofotometrik olarak 450 nm'de değerlendirildi ve protein düzeyleri pikogram cinsinden hesaplandı^{13,14}.

İstatistiksel değerlendirme, SPSS programında non-parametrik testler ile yapıldı. AEH'nin farklı miktarlardaki *S.pyogenes*'e karşı bakterisidal etkisi ve sitokin yanıtları arasındaki fark Kruskal-Wallis testi ile, farklı mikroorganizma miktarları ile uyurım arasındaki farklılıkların değerlendirilmesi çoklu karşılaştırma testi ile yapıldı. Değerlendirmelerin sonucunda $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

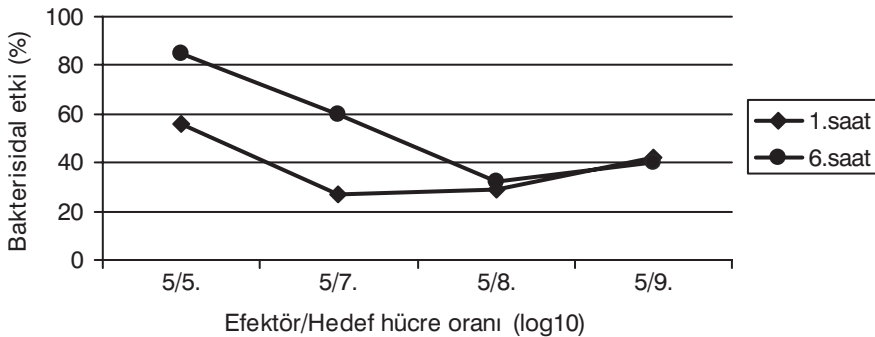
BULGULAR

Çalışmamızda, *S.pyogenes* ile karşılaştırılan AEH'nin birinci saatte ortalama %38.7 ve altıncı saatte ortalama %54.5 bakterisidal etki gösterdiği saptanmıştır (Tablo I).

Tablo I. Ağız Epitel Hücrelerinin Farklı Efektör/Hedef (E/H) Hücre Oranlarında *S.pyogenes*'e Karşı Gösterdiği Bakterisidal Etki Oranları

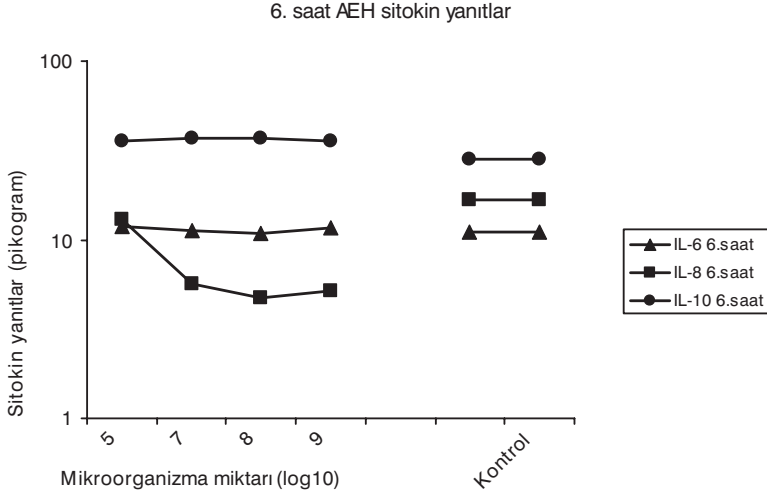
<i>S.pyogenes</i>	AEH 1/1 E/H	AEH 1/100 E/H	AEH 1/1000 E/H	AEH 1/10000 E/H
Ortanca (Ortalama $\pm$ Standart sapma)				
Birinci saat	60.0 (56.0 $\pm$ 17.2)	28.0 (27.4 $\pm$ 15.0)	17.0 (29.3 $\pm$ 16.2)	32.0 (38.7 $\pm$ 21.7)
Altıncı saat	91 (85.8 $\pm$ 11.9)	70 (60.1 $\pm$ 21.2)	36 (32.2 $\pm$ 9.9)	36 (40.0 $\pm$ 24.0)

AEH'nin *S.pyogenes* üzerindeki bakterisidal etki yüzdeleri, efektör/hedef (E/H) hücre konsantrasyonlarına göre değerlendirildiğinde; 1. saatte 1/1 oranı ile ve 6. saatte 1/1 ve 1/100 oranı ile elde edilen bakterisidal etkilerin, 1/1.000 ve 1/10.000 oranları ile elde edilen etkiye göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$) (Şekil 1).



Şekil 1: AEH'nin 1/1, 1/100, 1/1.000 ve 1/10.000 E/H hücre oranlarında *S.pyogenes*'e karşı 1 ve 6. saatte gösterdiği bakterisidal etki ortalamaları.

Altıncı saat IL-6 oluşumunda, yapısal üretimden farklı bir yanıt saptanmazken, IL-8 yanıtı 1/100, 1/1.000, 1/10.000 E/H hücre oranlarında yapısal üretiminden anlamlı olarak düşük (sırasıyla $p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.01$) ve IL-10 yanıtı 1/100, 1/1.000 E/H hücre oranlarında yapısal üretiminden anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p<0.05$, $p<0.05$) (Şekil 3).



Şekil 3: AEH'nin 1/1, 1/100, 1/1000 ve 1/10000 E/H hücre oranlarında *S.pyogenes*'e karşı altıncı saatte oluşturduğu sitokin düzeyleri ortalamaları.

TARTIŞMA

Mukozal immün sistemde epitel hücreler, özgül olmayan immün yanıtı kazanılmış immün yanıtı geçişte ve immün homeostazın regülasyon veya tolerans yönünde belirlenmesinde bir kavşak noktası oluşturmakta ve antijene nasıl bir yanıt oluşturulacağını belirlemektedirler. Ancak epitel hücrelerinin karşılaştığı mikroorganizma dozu ve karşılaşma süresi, sitokin profilinde ve oluşacak olan immün yanıtın yönünde etkili olmaktadır^{8,10,15}. Oluşan sitokinler, immün yanıtla ilgili farklı hücreleri, hücre yüzeyindeki özgül reseptörlerine bağlanarak ve dış ortamı uyaran sinyalleri oluşturarak farklı şekillerde etkilemekte, böylece lokal veya sistemik değişik biyolojik fonksiyonların oluşumuna aracılık etmektedir¹⁶. Mukozalarda sitokin ve kemokinlerin oluşumu ile sağlanan sitokin ağı; doku makrofajları, monositler, T hücreleri ve epitel hücrelerinin arasında çift yönlü iletişimi sağlamaktadır^{17,18}. Bu çalışmada, ağız epitel hücreleri (AEH)'nin *S.pyogenes*'in farklı miktarları ile uyarımının, gösterdiği bakterisidal etkide ve bazı sitokinleri (doğal immün yanıtın oluşumuna aracılık eden ve düzenlenmesine katkıda bulunan sitokinlerden IL-8, hem doğal hem de kazanılmış immünitenin düzenlenmesinde rolü olan IL-6, immün yanıtın tolerans yönünde aktivasyonuna aracılık eden IL-10) üretmesinde değişikliğe neden olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

Yapılan çalışmalarda, insan AEH'nin *S.pyogenes* ve *Candida* üremesini^{12,19}, Caco2 intestinal epitel hücrelerinin *C.albicans* ve *albicans* dışı *Candida*'ların üremesini¹¹, üriner epitel hücrelerinin ise *Escherichia coli*'nin üremesini²⁰ engellediği gösterilmiştir. Bu çalışmalarda mukozal epitel hücrelerinin düşük efektör/hedef (E/H) hücre oranlarında anlamlı antimikrobiyal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir^{11,12,19,20}. Çalışmamızda, AEH'nin bakterisidal etki oranlarının birinci saatte ortalama %38.7, altıncı saatte ortalama %54.5 olduğu saptanmış, ancak farklı E/H hücre oranlarında *S.pyogenes* ile karşılaştırılan AEH'nin, bakterinin artan miktarlarına karşı (birinci saatte 1/100 ve üzeri, altıncı saatte 1/1.000 ve üzeri) bakterisidal etkisinde anlamlı derecede azalma olduğu gösterilmiştir (Tablo I).

Mukozal epitel hücreleri (EH)'nin yapısal olarak pek çok sitokinin salınımını ve ekspresyonunu gerçekleştirdiği, mikroorganizma ve mikroorganizma ürünleri ile uyarıma, farklı, birbirini etkileyen ve dengeleyen sitokin salınımı ile yanıt verdiği daha önce yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir^{17,21-29}. Ancak bu çalışmaların çoğu tek bir E/H hücre oranında yapılmıştır²¹⁻²⁵. Çalışmamızda, AEH'nin yapısal ve indüklenebilir olarak pikogram düzeyinde IL-6, IL-8 ve IL-10 oluşturduğu tespit edilmiştir. AEH'nin birinci saatte bakteri ile uyarıma karşı oluşturduğu IL-6 düzeyinin anlamlı olarak yükseldiği, ancak altıncı saatte yapısal üretimden farklı olmadığı görülmüştür. Buna karşın, uyarım sonucunda gerek birinci gerekse altıncı saatlerde özellikle 1/100 ve üzerindeki E/H hücre oranlarında IL-8 yanıtının anlamlı olarak azaldığı izlenmiştir (Tablo II). IL-10 düzeyinde ise birinci saatte önemli bir değişim saptanmazken, altıncı saatte 1/100 ve 1/1.000 E/H hücre oranlarında anlamlı bir artış belirlenmiştir. EH'nin hem yapısal olarak hem de indüklendikten sonra aynı yanıtı oluşturması, enfeksiyona yanıtta doğal ve özgül konak savunmasındaki rolünü desteklemektedir.

Çalışmamızda insan AEH tarafından sitokin üretiminin, artan mikroorganizma miktarına karşı farklı inkübasyon sürelerinde doza bağlı olarak değişen yanıtlar verdiği gösterilmiştir. Bulgularımızın, diğer araştırmacıların bulguları ile paralellik gösterdiği izlenmektedir^{8,13,26}. Ellerich ve arkadaşlarının¹³ çalışmasında, ağız ve intestinal EH kültürlerinin *Streptococcus bovis*'e karşı IL-8 üretiminin doza bağlı olarak değiştiği tespit edilmiştir. Ma ve arkadaşları⁸, insan kolon EH kültürlerinin kolera toksini ve toksinin alt birimine karşı IL-6, IL-8 ve IL-10 yanıtlarının doza bağlı olarak değiştiğini bildirmişlerdir. Wilson ve arkadaşları²⁶ ise, normal flora elemanı olan Gram pozitif bakterilerin proinflamatuvar sitokinlerin salınımını daha zayıf olarak indüklediğini ve çoğu Gram negatif bakterinin Gram pozitiflerden daha yüksek düzeyde (100-1.000 kat) sitokin oluşumuna neden olduğunu göstermişlerdir. Steele ve arkadaşlarının¹⁴ yaptığı çalışmada, 1/10, 1/100 ve 1/1.000 E/H hücre oranlarında *C.albicans* ile uyarılmış EH'nin Th1 ve Th2 tipi sitokinleri çok düşük düzeylerde ürettiği ve E/H hücre oranlarının değişmesiyle sitokin yanıtlarında bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir.

Sonuç olarak çalışmamızda, AEH'nin doza bağlı antibakteriyel etkinlik ve sitokin yanıtı oluşturduğu tespit edilmiştir. EH bakterisidal etkisindeki değişimler, değerlendirdiğimiz sitokin yanıtları ile birebir ilişkili olmasa da, değerlendirmemiş olduğumuz diğer sitokin ve çözünür faktörlerin ortak yansıması olarak karşımıza

çıkmiş olabilir. EH'nin mikroorganizmaya karşı yanıtının daha iyi anlaşılması için, hücresel ve çözünür faktörlerin mikroorganizma üzerinde tek başına ve diğer faktörler ile birlikte etkilerinin daha ayrıntılı olarak araştırılmasına gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Ganz T. Epithelia: not just physical barriers. PNAS 2002; 99: 3357-58.
2. Neish AS. The gut microflora and intestinal epithelial cells: a continuing dialogue. Microb Infect 2002; 4: 309-17.
3. Hershberg RM, Mayer LF. Antigen processing and presentation by intestinal epithelial cells-polarity and complexity. Immunol Today 2000; 21: 123-6.
4. Rastogi D, Ratner AJ, Prince A. Host bacterial interaction in the initiation of inflammation. Pediatr Respir Rev 2001; 2: 245-52.
5. Mayer L. Mucosal immunity. Pediatrics 2003; 111: 1595-600.
6. Nochi T, Yuki Y, Terahara K, et al. Biological role of Ep-CAM in the physical interaction between epithelial cells and lymphocytes in intestinal epithelium. Clin Immunol 2004; 113: 326-39.
7. Pivarcsi A, Nagy I, Koreck A, et al. Microbial compounds induce the expression of pro-inflammatory cytokines, chemokines and human beta-defensin-2 in vaginal epithelial cells. Microb Infect 2005; 7: 1117-27.
8. Ma D, Wolvers D, Stanisiz AM, Bienenstock J. Interleukin-10 and nerve growth factor have reciprocal upregulatory effects on intestinal epithelial cells. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2003; 284: R1323-R1329.
9. Acheson DWK, Luccioli S. Mucosal immune responses. Best Prac Res Clin Gastroenterol 2004; 18: 387-404.
10. Mavris M, Sansonetti P. Epithelial cell responses. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2004; 18: 373-86.
11. Özenci H, Çelik Hİ, Tekeli FA, Aksoy AM. Comparison of growth inhibition effect of CaCo2 human epithelial cells and polymorphonuclear neutrophils on various *Candida* species. Turkish J Infect 2001; 15: 527-532.
12. Dolapci I, Albayrak N, Boyvat A, Ozenci H. Antibacterial capacity of oral (epithelial) cells from healthy donors and patients with Behçet's disease. Arch Dermatol Res 2003; 295: 124-26.
13. Ellmerich S, Djouder N, Schöller M, Klein JP. Production of cytokines by monocytes, epithelial and endothelial cells activated by *Streptococcus bovis*. Cytokine 2000; 12: 26-31.
14. Steele C, Fidel PL. Cytokine and chemokine production by human oral and vaginal epithelial cells in response to *Candida albicans*. Infect Immun 2002; 70: 577-83.
15. Boyaka PN, Wright PF, Marinaro M, et al. Human nasopharyngeal-associated lymphoreticular tissues. Am J Pathol 2000; 157: 2023-35.
16. Abbas AK, Lichtman AH. Innate Immunity, pp. 275-98. In: Jason Malley (ed), Cellular and Molecular Immunology. 2002, 5th ed. Saunders, Philadelphia.
17. Hedges S, Agace W, Svensson M, et al. Uroepithelial cells are art of a mucosal cytokine network. Infect Immun 1994; 62: 2315-21.
18. Sangari F, Petrofsky M, Bermudez LE. *Mycobacterium avium* infection of epithelial cells results in inhibition or delay in the release of interleukin-8 and RANTES. Infect Immun 1999; 67: 5069-75.
19. Steele C, Leigh J, Swoboda R, Fiedel PJ. Growth inhibition of *Candida* by human oral epithelial cells. J Infect Dis 2000; 185: 1479-85.
20. Albayrak N, Biriken D, Özenci H. İnsan ağız ve üriner sistem epitel hücrelerinin farklı *Escherichia coli* suşlarına karşı bakterisidal etkisinin araştırılması. Mikrobiyol Bül 2005; 39: 161-67.

21. Mikamo H, Johri AK, Paoletti LC, Madoff LC, Onderdonk AB. Adherence to, invasion by, and cytokine production in response to serotype VIII group B streptococci. *Infect Immun* 2004; 72: 4716-22.
22. Mostefaoui Y, Bart C, Frenette M, Rouabhia M. *Candida albicans* and *Streptococcus salivarius* modulate IL-6, IL-8, and TNF-alpha expression and secretion by engineered human oral mucosa cells. *Cell Microbiol* 2004; 6:1085-96.
23. Schmid Y, Grassi GA, Bühler OT, Skurnik M, Autenrith IB, Bohn E. *Yersinia enterocolitica* adhesin A induces production of interleukin-8 in epithelial cells. *Infect Immun* 2004; 72: 6780-89.
24. Shimizu T, Yokota S, Takahashi S, et al. Membrane-anchored CD14 is important for induction of interleukin-8 by lipopolysaccharide and peptidoglycan in uroepithelial cells. *Clin Diag Lab Immunol* 2004; 11: 969-76.
25. Hunstad DA, Justice SS, Hung CS, Lauer SR, Hultgren SJ. Suppression of bladder epithelial cytokine responses by uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun* 2005; 73: 3999-4006.
26. Wilson M, Seymour R, Henderson B. Bacterial perturbation of cytokine networks. *Infect Immun* 1998; 66: 2401-09.
27. Agace W, Hedges S, Andersson U, et al. Selective cytokine production by epithelial cells following exposure to *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1993; 61: 602-9.
28. Fünfstück R, Franke S, Hellberg M, et al. Secretion of cytokines by uroepithelial cells stimulated by *Escherichia coli* and *Citrobacter spp.* *Int J Antimicrob Agents* 2001; 17: 253-8.
29. Doran KS, Chang JCW, Benoit VM, Eckmann L, Nizet V. Group B streptococcal beta-hemolysin/cytolysin promotes invasion of human lung epithelial cells and the release of interleukin-8. *J Infect Dis* 2002; 185: 196-203.