

İnnate İmmunite ve Konakçı Savunması

Alper VATANSEVER* M. Müfit KAHRAMAN*

Geliş Tarihi: 17.07.2012
Kabul Tarihi: 11.09.2012

Özet: İnnate immün sistem memelilerin savunma sisteminde önemli bir role sahiptir. Adaptif immün sistemin aksine, patojenlerle karşılaşıldığı zaman ani olarak immün yanıtın şekillenmesini sağlar. İnnate immün sistem, mikroorganizmaların patojen olarak tanınmalarını sağlayan Patojen ilişkili moleküler yapıları (P.A.M.P.), bu yapıları tanımakla görevli yapı tanıyan reseptörler (P.R.R.) aracılığı ile tanıyarak, hücre içinde innate immün sistemin sinyal mekanizmalarını tetikler, sonuç olarak yangının şekillenmesi ile son bulan reaksiyonları başlatır. İnnate immün sistemin en önemli yapılarından olan Toll benzeri reseptörler (T.L.R.), patojenlerin tanınmasında rol oynarlar. P.R.R.'ler sadece patojen etkenleri tanımakla kalmayıp, radyasyon, yüksek sıcaklık, travma gibi fiziksel sebeplere karşı da yanıtın oluşmasını ve reaksiyonların başlatılmasını sağlarlar. İnnate immün sistemi hedef alan tedavi çalışmaları günümüzde büyük bir önem ve hızla devam etmektedir.

Anahtar Kelimeler: İnnate immünite, Toll-Like Reseptör, Yangı, Patogenez.

Innate Immunity and Host Defense

Abstract: Innate immune system has an important role in the mammalian defense mechanism. Contrast to adaptive immune system, innate immune system provides occurrence of a rapid response against pathogens. It determines Pathogen Associated Molecular Pattern (P.A.M.P.), pathogenic structures of microorganisms, by Pattern Recognition Receptors (P.R.R.) and then induces intracellular signal mechanisms resulted with inflammation. Toll like receptors (T.L.R.s), an important component of the innate immune system, recognize pathogens. P.R.R.s recognizes not only pathogens, but also these receptors response against physical factors such as radiation, heat, and trauma. Therapeutic studies targeting innate immune system are still continuing with extensive importance and a pace.

Key Words: Innate immunity, Toll-Like Receptors, Inflammation, Pathogenesis.

Giriş

Memelilerin bağışıklık sistemi doğuştan (innate) ve edinsel (adaptif) olmak üzere 2'ye ayrılır. Adaptif immünite antijenik etkene özel yanıt oluşturması ile karakterizedir ve gen düzenlenmesi tarafından üretilen antijen-spesifik reseptörlere sahip çok fazla çeşitteki lenfositlerin klonal seçimi ile gelişir. Adaptif immünite, konakçının immunolojik hafıza oluşturmasına imkan sağlar. Ancak bu spesifik yanıtın oluşabilmesi zaman alan bir süreçtir. Bu yüzden,

adaptif immün sistem, antijenik etkene karşı acil cevabı indükleyemez. Bir patojen ile karşılaşıldığında, enfeksiyöz etkenleri öncelikle spesifik olmayan vücut yüzeylerindeki fiziksel hattan, özelleşmiş hücrelerden ve vücuttaki moleküllerden oluşan bir bariyer karşılar. Fiziksel ve kimyasal ve hücre yapısından oluşan bu bariyer innate immün sistem olarak adlandırılır. Epidermis, siliyumlu solunum epiteli, damar endotel ve sekresyon özelliğindeki mukozal yüzeyler bu bariyerin fiziksel ve kimyasal yapısını oluşturur. Hücre yapısı ise antijen sunan

* Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, avatansever@uludag.edu.tr

dentritik hücrelerden, fagositik makrofajlardan ve granulositlerden, sitotoksik doğal öldürücü hücrelerden ve T hücrelerinden meydana gelir. İnate immun yanıt, patojenlerin hızlı bir şekilde tanınmasını sağlayarak enfeksiyonlara karşı korunmanın ilk basamağını oluşturur. Monosit, makrofaj, dentritik hücre, doğal öldürücü hücreler (N.K.) gibi yangı hücrelerinin yanında, fibroblast, endotel ve epitel hücreleri gibi yangısal olmayan hücreler de innate immun cevaba katılır. Bu hücreler hastalık etkenlerinin patojen olarak tanınmasını sağlayan "Pathogen-associated molecular patterns (P.A.M.P.)"lara karşı, Nuclear Factor-Kappa B (N.F.-K.B)'yi aktive ederek yanıt oluştururlar. N.F.-K.B, DNA transkripsiyonunu kontrol eden protein kompleksi olup hemen hemen bütün hücrelerde bulunan ve stres, sitokin, serbest radikaller, bakteriyel ve viral antijenlere karşı oluşturulan hücresel yanıtta katılırlar. Yapılan bir çalışmada fibroblastların Toll-like reseptör (T.L.R.2) bağımlı yol ile N.F.-K.B'yi aktive ederek ve kemokin üretmek nekrotik hücrelere karşı yanıt oluşturduğu gösterilmiştir²⁴. P.A.M.P.'lar Gram (-) bakterilerin lipopolisakkariti (LPS), Gram (+) bakterilerin peptidoglikanları, flagellin ve hatta bakterilerin nükleik asitlerini içerir. Adaptif immun sistemin aksine, innate immun sistem hızlı bir şekilde aktive olarak patojenlere karşı reaksiyon şekillendirir.

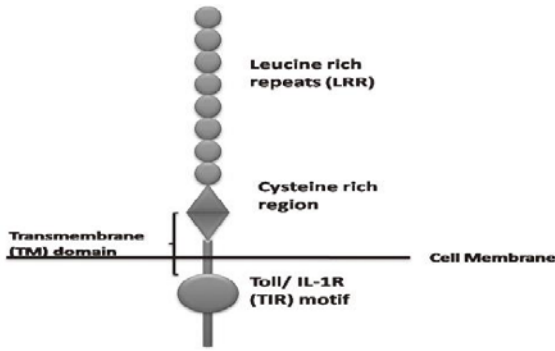
İnate immun sisteme katılan hücreler, P.A.M.P.'ları "Pattern-recognition receptors (P.R.R.)" adı verilen reseptörler aracılığı ile tanırlar ve hücrelerin her biri etkene karşı uygun cevabı oluşturmak için direkt ya da indirekt olarak uyarılırlar. İnate immun yanıt oluştuğunda, innate immun yanıtta katılan hücrelerden sitokin ve kemokin salınımı başlar ve yangısal cevap oluşumu uyarılmış olur. Bu basamaklar sırasında, aktive olmuş N.K. hücre türevli interferon- γ (IFN- γ), erken yanıtta önemli rol oynar. Ayrıca IFN- γ , yangıya önderlik eder ve innate ile adaptif immun cevaplar arasında bağlantıyı kurar^{4,20,50}.

Pattern-recognition reseptörler, P.A.M.P.'ların tanınması için innate immun sistem hücreleri tarafından eksprese olan proteinlerdir ve uygun yanıtın oluşmasında önemli rol oynarlar. P.R.R.'ler hücre yüzeyinde ya da hücre içinde bulunurlar ve enfeksiyon varlığında sinyal yollarını aktive ederek yangısal yanıtın uyarılmasını sağlarlar. İnate immun sistemin oluşması sırasında önemli rol oynayan "Toll-like reseptörler (T.L.R.)" P.R.R.'lere ait reseptör grubundandır. Toll ilk olarak, sadece innate immuniteye sahip olan *Drosophila*'daki mantar

enfeksiyonuna karşı geliştirilen konakçı savunması için gerekli bir reseptör olarak tanımlanmıştır²³. Bu çalışmadan bir yıl sonra, Toll reseptörünün memelilerdeki homoloğu olarak tanımlanan T.L.R.4'ün gen ekspresyonlarının yangısal cevabı tetiklediği gösterilmiştir²⁸. T.L.R.'ler bir transmembran glikoproteinidir ve değişken sayılarda ekstraselüler N-terminal leucine rich repeat (L.R.R.) domaini içerirler. L.R.R.'ye bağlı bir cysteine-rich bölgesi, devamında transmembran domain ve C-terminal sitoplazmik Toll/IL-1R (T.I.R.) domaini bulunmaktadır (Şekil 1)¹². Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, çok sayıda T.L.R. tanımlanmış ve T.L.R.'lerin çeşitli durumlara spesifite gösterdikleri ortaya konmuştur. Örneğin; T.L.R.1, T.L.R.2, T.L.R.4, T.L.R.5, T.L.R.6'nın bakterilere, T.L.R.3, T.L.R.7, T.L.R.8, T.L.R.9'un viral RNA ve viral DNA'ya affinite gösterdikleri belirtilmiştir⁴². Biraz daha spesifik bir örnek olarak, T.L.R.4'ün bakteriyel lipopolisakkarit (LPS) veya endotoksinlere, T.L.R.2'nin lipoteichoic acid (LPA) ve peptidoglikana, T.L.R.3'ün tek sarmallı viral RNA'ya ve T.L.R.9'un bakteriyel CpG DNA'ya karşı oluşturulan innate immun yanıtta rol oynadıkları bilinmektedir. İnate immun yanıtın oluşmasında, T.L.R.'lerin yerleşim yerlerinin de etkili olduğu vurgulanmaktadır. T.L.R.1, T.L.R.2, T.L.R.4, T.L.R.5, T.L.R.6 hücre yüzeyinde bulunurken, T.L.R.3, T.L.R.7, T.L.R.8, T.L.R.9 hücre içinde endozomların yüzeyinde yerleşim göstermektedir. P.R.R.'lerin diğer bir grubu ise; Nükleotit oligomerizasyon domain-like (N.O.D.-like) reseptörlerdir. Bu reseptörler sitozolikler ve viral yapılar dahil olmak üzere hücre içi etkenleri tanırlar. Yapılan deneysel çalışmalarda, *Mycobacterium tuberculosis* etkeninin tanınmasında, T.L.R. ve N.O.D.-Like reseptörlerin yanında C-Tip lectin, Dentritik hücre-spesifik interselüler adhezyon molekül 3 grabbing nonintegrin (D.C.-S.I.G.N., CD209) ve Dectin-1 reseptörlerinin de rol oynadığı gösterilmiştir (Şekil 2)^{18,30}.

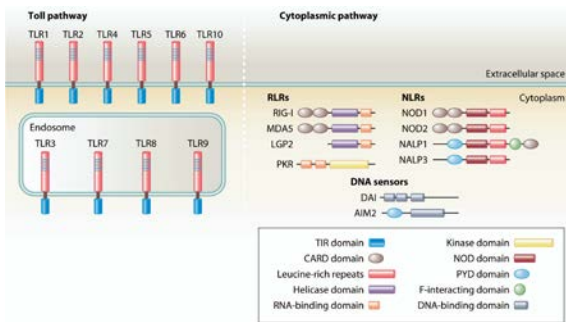
Şap hastalığında meydana gelen innate immun cevap çeşitli çalışmalarla incelenmiştir. Şap hastalığının daha çok epitel hücrelerine affinite gösterdiği bilinmektedir. Şap hastalığı virüsüne ait olan "L proteini", enfekte olan epitel hücrelerinden protein sentezini engelleyerek, virüse karşı yanıtın oluşmasını engeller. Özellikle IFN- α salınımının engellenmesi innate immun yanıtın oluşmamasında önemli etkiye sahiptir. Deri dentritik hücreleri tip 1 IFN ve kemik iliği türevli dentritik hücreler IFN- α üretmek şap hastalığı virüsüne karşı innate immun yanıtın oluşabilmesini sağlar. Kısacası, bugüne

kadar yapılmış çalışmalar ile dentiritik hücrelerin şap hastalığı virüsüne karşı innate immün savunmada önemli rol oynadıkları ve tip 1 IFN'nin bu yanıtın önemli bir komponenti oldukları gösterilmiştir. Şap hastalığına karşı yapılan aşılama çalışmalarında, aşılamanın hemen ardından, antiviral aktivitenin olmamasına rağmen, proinflammatuar sitokinleri, artmış migrasyon yeteneği ve kemotaktik aktiviteyi içeren innate yanıtın indüklendiği gösterilmiştir. Sonraki çalışmalarda, IFN- α 'nın ekspresyonu için Adenovirus temelli vektör eklendiğinde, enfeksiyona karşı korunmanın en erken 1. günde başladığı gösterilmiştir. İmmün sisteme IFN- γ sağlandığında, enfeksiyona karşı korumada faydalı sonuçlar alındığı gösterilmiştir. Bu sitokin sadece şap hastalığı etkenine karşı antiviral aktivite göstermez, ayrıca virüsün kontrolüne katılan doğal öldürücü hücrelerin ve makrofajların aktivasyonlarını sağlar⁴⁴.



Şekil-1. Toll-Like Reseptör'ün yapısı (Hans et al, 2011).

Figure-1. Structure of Toll Like Receptor (Hans et al, 2011).



Şekil-2. Hücresel Patogen-Recognition (tanıma) Reseptörleri. Toll-Like Reseptörlerin ve Nod-Like Reseptörlerin komponentleri ve hücresel yerleşim yerleri gösterilmiştir (Mogensen, 2009)

Figure-2. Cellular Pathogen Recognition Receptors. Components of Toll Like Receptors and Nod Like Receptors and their localization are shown.

İnnate immün sistem ile ilgili, insanlarda ve sığırlarda yapılan çalışmalarda, makrofajlarda bulunan "The Intracellular Pathogen Resistance Gene 1-Hücre İçi Patojen Direci Geni 1 (I.p.r.1), bir çok hücre içi patojenin innate immün yanıtı oluşturmasında görevli olduğu gösterilmiştir. *Mycobacterium spp.* etkeninin replikasyonunu sınırlayarak ve enfektif makrofajların apoptozis ya da nekroza uğraması için çeşitli sinyal yollarını düzenleyerek görev aldığı belirtilmektedir. I.p.r.1'ler içersinde *Mycobacterium spp.*'nin tanınması, bu etken için duyarlı faktör olan SP110 geni sayesinde olur ve hücre içi mekanizmalar ile innate immün yanıtın uyarıldığı yapılan çalışmalarla vurgulanmıştır^{13,25,37}.

İmmün sistem sadece mikroorganizmalara karşı cevap oluşturmaz, ayrıca fiziksel travma, radyasyon, oksidatif sinyal, iskemi ve yüksek sıcaklığa karşı da yanıt oluşturur. İnnate immünite, bu yüzden, bütün yaşayan organizmalarda acil defans durumunun oluşmasını sağlar. Multifonksiyonel antimikrobiyal peptitlerin bir grubu, innate immün cevabın kaynağını oluştururlar. Gelişmiş canlılarda mikrobiyal işgalciler ile ilk karşılaşma kutanöz yüzeylerde veya gastrointestinal sistemin, reproduktif sistemin, solunum sisteminin ve üriner sistemin epitel tabakasında gerçekleşir. Bu yüzden, omurgalıların epitel hücrelerinin, ilk defans hattı olarak "Host Defans Proteini-H.D.P." üretmesi şaşırtıcı değildir. Çünkü yangı, innate immün cevaptaki başlangıç reaksiyonu ile meydana gelir, H.D.P.'ler yangı hücreleri tarafından üretilirler²⁶.

Kedi ve köpeklerde innate immün sistem üzerine yapılan çalışmalar sınırlıdır. Ancak, kedilerin lenfoid dokuları "Feline Immunodeficiency Virüs (F.I.V.)" tarafından ekspresyon oranı değişen T.L.R.1 ve T.L.R.9 ekspres ederler¹⁶. Aynı zamanda, yapılan bir çalışmada, köpeklerin bağırsak epitellerinde T.L.R.2 ve T.L.R.4'ün bozukluğu "Canine Inflammatory Bowel Disease"nin patogeneziye katılabileceği gösterilmiştir⁴⁶.

Köpeklerin testislerinde yapılan bir çalışmada, farklı hücre tiplerinde β -defensinlerin Gram (+) ve Gram (-) bakterilere, mayalara karşı geniş spektrumlu etkileri gösterilmiştir³⁸. Bununla birlikte kemik iliğindeki myeloid hücrelerinde ve dolaşımdaki nötrofillerde bulunan, geniş spektrumlu ve kuvvetli antimikrobiyal etkiye sahip olan "Canine cathelicidin" adı verilen peptit tanımlanmıştır. Bu peptit, dolaşımdaki hücrelerden ekspres olduğu için, sadece etkili bir antimikrobiyal olarak görev almaz, ayrıca

potansiyel bir immun modülatördür³⁹. Tüm bu bulgular, köpeklerin seksüel yolla bulaşan hastalıklara karşı dirençli oluşunu açıklar. Bu çalışmaların ışığında bu peptitlerin sentetiklerinin kullanılması, köpeklerde seksüel yolla bulaşan hastalıkların oluşumunu engelleyebileceği gibi, üriner sistem enfeksiyonlarının da tedavisinde kullanılabilir.

Sığırlar, farklı defensin ve cathelicidinleri, bactenesinleri ve inoldicinleri içeren en az 38 konakçı savunma peptitlerine (host defense peptide-H.D.P.) sahiptir⁴¹. Bovine oligosaccharide-binding protein (b.O.B.P.), sığır nötrofillerinde ve eozinofillerinde bulunan proteinleri taşıyan bir peptidoglikandır ve antiparazitik aktiviteleri mevcuttur⁴⁹. Bovine β -defensinleri, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Candida spp.* 'ye karşı antimikrobiyal etkiye sahiptir⁹. Epitelyal β -defensin sığırlarda çeşitli dokulardan izole edilmiştir; bunlar, Trakea (tracheal antimikrobiyal peptit, T.A.P.)⁴⁰, dil (lingual antimikrobiyal peptit, L.A.P.)²⁴, bağırsak (enteric β -defensin, E.B.D.)⁴⁸ ve meme bezi (bovine β -defensin-1, b.B.D.-1 ve diğerleri)^{2,36}. Sentetik T.A.P., hızlı ve etkili bakterisidal ve *Aspergillus* ve *Candida spp.*'ye karşı antifungal etkiye sahiptir²¹. T.A.P.'ın aksine, L.A.P. daha yaygındır, sindirim sistemi, solunumu sistemi, meme bezleri ve kornea epitellerinde mevcuttur^{43,45}. L.A.P.'ın mastitis oluşturan etkenlere karşı geliştirilen innate immun yanıtta rol oynadığı, sığırların meme enfeksiyonlarında artan L.A.P. ekspresyonu ile gösterilmiştir¹¹. Benzer şekilde bovine nötrofil β -defensin-5'in, mastitislerde T.L.R.2 ve T.L.R.4 ile birlikte ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir^{36,52}.

Steroid uygulanan sığırlarda, L.A.P. ve T.A.P. seviyeleri daha azdır, bu da eksojen olarak kortikosteroid uygulamasının akciğerlerde zayıflatılmış innate immun yanıtın oluşmasını öncülük edebilir²⁹.

Sindirim sistemindeki enterik β -defensin (E.B.D.) mRNA seviyesi, buzağılarda deneysel olarak oluşturulan "Cryptosporidiosis" olgusunda artmıştır ve bu da H.D.P.'lerin, parazit enfestasyonları sırasında konakçı cevabında aktif rollerinin olduğunu göstermiştir⁴⁸. Geniş spektrumlu antimikrobiyal etkileri ve yangı sırasında indüklenebilen ekspresyonları β -defensin'in bovine mukozal konakçı savunmasında merkez role sahip olduğu bilgisini destekler^{8,40,48}.

Modern tıbbın en önemli sorunlarından bir tanesi, hızla artan antibiyotik direncidir. Bu yüzden, patojen etkenlerle savaşmak için yeni

yolların araştırılması ihtiyacı doğmuştur. Evrensel bir bakış açısıyla, H.D.P.'ler, çok eskiden bu yana bilinen ve hala yaygın olarak kullanılan etkili endojen biyokimyasal silahlardır⁵³. Yapılan araştırmalar, innate immunitenin organ spesifik olarak regule edilmesinden dolayı, H.D.P. sentezinin seçili organ ya da dokuda şekillendirilecek immunomodifiye özellikte ilaçlar geliştirmek üzerinedir^{3,33}.

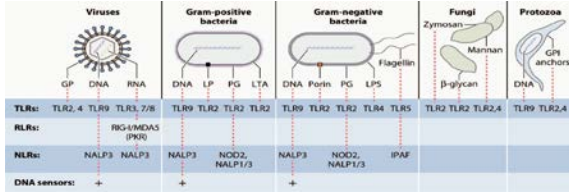
T.L.R.'ler üzerine aşı üretimi ile ilgili de birçok çalışma yapılmıştır. T.L.R.2 birçok hastalığın tedavisinde kullanılmak üzere, antagonistler geliştirilmesi için en kullanışlı terapötik hedeflerdir. Patojen etkenlerin hücre duvarı komponentleri, innate immun yanıtı indüklemek için güçlü bir adjuvant olarak görev yapabilirler. Sepsis, diabet, rheumatoid artrit ve kardiyovasküler sistem hastalıkları gibi birçok hastalık, T.L.R.2 ve T.L.R.4 ile ilişkilidir. MyD88 adaptör proteini ile indüklenen T.L.R.2 sinyali bloke edildiğinde, özellikle T.L.R.4 olmak üzere birçok T.L.R. sinyali inhibisyona uğrar. T.L.R.2 ve diğer T.L.R.'lere karşı antikolar, yeni doğan sepsisinin tedavisinde kullanışlı ve ekonomik olabilirler. T.L.R.3 çift sarmallı viral RNA'ları veya viral replikasyon sırasında açığa çıkan ara ürünleri tanıyarak antiviral cevapta önemli rol oynar. T.L.R.3 antagonizmi, Batı Nil Virüsü ve Bovine Viral Diarrhoea Virüsünün sebep olduğu enfeksiyonların tedavisinde faydalı olabilir⁵.

Aşı üretim teknolojisini sınırlandıran durum, innate immun reaksiyonu aşmadan T.L.R. agonistlerinin adjuvant olarak görev almasının hücresel ve moleküler mekanizması hakkındaki bilginin tamamlanmamasıdır. Hangi immun reseptörün hangi adjuvanta en etkili immun yanıt geliştireceğini bilmek önemlidir. T.L.R. agonistleri kullanılarak aşı üretiminin geliştirilmesi, aşılama ile birçok enfeksiyöz hastalığın korunmasında önemli bir yer tutar. İnsan hekimliğinde bazı aşılar direkt olarak T.L.R. agonistidir⁵.

Patojenlerin P.R.R.'ler Tarafından Tanınması

Patojenlerin tanınmasında görev alan "Pattern Recognition Receptors" (P.R.R.)'lerin geniş bir skalası bulunmaktadır. Her bir P.A.M.P.'a karşı bulunan P.R.R.'ler, daha güçlü ve spesifik yangısal yanıtların oluşmasından sorumludurlar. P.R.R.'lerin bu spesifikite özellikleri nedeniyle, hastalıkların patogenezlerinin anlaşılabilmesi için istenilen reseptörden yoksun deney hayvanları, deneysel çalışmalara çok sayıda konu olmuş ve bu deneyler sonucunda

her bir P.R.R.'nin hastalık patogenezi sırasındaki rolleri ortaya konmaya çalışılmış ve daha sonraki araştırmalar için ışık tutmuşlardır (Şekil-3).



Şekil-3. Çeşitli patojen etkenlerin PRR'ler tarafından tanınması (Mogensen, 2009)

Figure-3. Recognition of various pathogens by PRRs (Mogensen, 2009)

Virüsler

Virüsler, antijenik özellikte olan, yüzey glikoproteinleri, DNA ve RNA türleri gibi birçok yapıya sahiptirler. Örneğin DNA, T.L.R.9 ve DNA bağımlı IFN düzenleyici faktör aktivatörü (D.A.I.) tarafından, ssRNA, T.L.R.7 ve T.L.R.8 reseptörlerini, dsRNA ve 5'-trifosfat RNA, T.L.R.3, retinoid asit indüklenebilir gen 1 benzeri reseptörleri (R.L.R.) ve IFN-indüklenebilir dsRNA aktive edilmiş protein kinazları (P.K.R.) aktive ederler. Birçok viral glikoprotein, T.L.R.2 ve T.L.R.4 tarafından tanınır. Örneğin respiratör sinsityal virüse ait füzyon proteini T.L.R.4'ü aktive ederken, Herpes Simpleks Virüs'ü de (H.S.V.) içeren birçok virüs veya viral yapılar T.L.R.2'yi aktive ederler³⁰.

Viral hastalıklar olarak verilen en yaygın örnek H.S.V.'ler tarafından meydana getirilen hastalıklardır. H.S.V.'ye ait füzyon proteini T.L.R.2 ile etkileşime girerek, sitokin üretimi ile sonlanan reaksiyonları başlatır. T.L.R. bağımlı yolun yanında, T.L.R. bağımsız yolla da H.S.V. enfeksiyonunun kontrol edilebildiği gösterilmiştir^{19,30}. Bunların dışında H.S.V.'nin tanınmasında R.L.R.'ler ve D.A.I.'ler de rol oynarlar ve T.L.R. bağımsız sinyal yolları ile N.F.-K.B ve IFN üretimini uyararak antiviral cevabı uyarırlar.

Bakteriler

Gram (+) bakterilere ait lipoteikoik asit, lipoprotein ve peptidoglikan gibi P.A.M.P.'lerin tanınmasında, T.L.R.2 önemli rol oynar. Yapılan bir çalışmada, T.L.R.2 ve N.O.D.2 knock-out makrofajlarda, *Listeria monocytogenes*'e

karşı oluşan yanıt sırasında N.F.-K.B sinyalinin düzensiz olduğu gösterilmiştir¹. Buna ek olarak Gram (+) bakterilere ait, bakteriyel CpG DNA önemli bir P.A.M.P. molekülüdür ve T.L.R.9 tarafından tanınır¹⁴. T.L.R.'lerin yanında Gram (+) bakterilerin tanınmasında ve güçlü bir yanıtın oluşturulmasında N.O.D.2 ve NALP1 inflamazomları gibi, sitozolik P.R.R.'lerin de rolleri vardır³⁰.

Gram (-) bakteriler, sitoplazmik membranlarında ince bir peptidoglikan tabakasına sahiptirler ve dış membranlarında, endotoksin olarak adlandırılan lipopolisakarit (LPS), fosfolipit ve proteinler bulunmaktadır. LPS'nin yapısında, LPS'ye antijenik özelliğini kazandıran Lipid A komponenti bulunmaktadır ve LPS'nin fosforilasyonuna göre farklı yapılarda Lipid A gözlenebilir. LPS ekstraselüler olarak LPS bağlayıcı akut faz proteinine bağlandıktan sonra, hücre yüzeyinden CD14 eksprese olmaya başlar ve daha sonra da T.L.R.4'ün ekstraselüler birimi olan aksesör molekül MD2'ye geçerek T.L.R.4'ün oligomerizasyonunu tetikler ve sinyal yollarının aktive olmasına sebep olur. Bunlara ek olarak, Gram (-) bakterilere ait diğer bir P.A.M.P. molekülü olan flagellin, T.L.R.5 tarafından tanınarak, peptidoglikan ise sitozolde N.O.D.1 ve N.O.D.2 tarafından tanınarak sinyal yollarının aktive olmasına neden olurlar³⁰.

Mantarlar ve Protozoalar

Candida albicans, *Aspergillus fumigatus*, *Cryptococcus neoformans* ve *Pneumocystis jirovecii* gibi bir çok mantar etkeni T.L.R.2 ve T.L.R.4 tarafından tanınır⁴¹. Mantarlara ait olan zymosan, mannan, fosfolipomannan ve β -glycan gibi P.A.M.P.'ler, T.L.R.'ler tarafından tanınarak sinyal yollarının aktifleşmesine ve mantarlara karşı yanıt oluşturulmasında önemli etkenlerdir³⁰.

P.R.R.'ler tarafından protozoal etkenlerin tanınma mekanizmaları hakkında, diğer patojen etkenlere oranla daha az bilgi edinilmiştir. Protozoal etkenlere ait tanımlanan ana P.A.M.P. molekülleri, T.L.R.2 ve T.L.R.4'ü aktive eden glikozilfosfatidilinositol (GPI) ve T.L.R.9'ü aktive eden metile olmamış DNA'dır (Tablo-1)³⁰.

İnate İmmun Sistem Tarafından Yangının Oluşturulması

İnate immün sistem patojenlere karşı yanıt oluştururken, farklı sinyal yollarını kullanırlar. Bu sinyal yolları T.L.R. aracılı olabileceği gibi, T.L.R.'lerden farklı olan diğer P.R.R.

proteinleri tarafından da gerçekleştirilebilir. Bakterilere ait patojen yapıların büyük bir çoğunluğu ve virüslere ait DNA ve RNA'ların tanınmasında da T.L.R.'lerin rol aldığı belirtilmiştir. T.L.R.'lerden farklı olarak P.A.M.P.'lerin tanınmasında, peptidoglikan tanıma proteinlerini, sitozolik nükleotit-bağlayıcı oligomerizasyon birimi (N.O.D.) proteinini ve T.R.E.M.1 (miyeloid hücre-1'lerden eksprese olan tetikleyici reseptör) içeren diğer proteinler de patojen etkenlerin tanınmasında önemli rol oynarlar⁴².

Tablo-1. P.R.R.'ler Tarafından Bakteriyel yapıların Tanınması (Mogensen, 2009)

Table-1. Recognition of bacterial structures by PRRS (Mogensen, 2009)

Receptor	Cellular localization	Microbial component(s)	Origin(s)
TLRs			
TLR1/TLR2	Cell surface	Triacyl lipopeptides	Bacteria
TLR2/TLR6	Cell surface	Diacyl lipopeptides Lipoteichoic acid	<i>Mycoplasma</i> Gram-positive bacteria
TLR2	Cell surface	Lipoproteins Peptidoglycan Lipourabinomannan Porins Ermolipase glycoproteins GPI-mucin Phospholipomannan Zymosan β -glucan	Various pathogens Gram-positive and -negative bacteria Mycobacteria Mastocytosis Viruses (e.g., measles virus, HSV, cytomegalovirus) Protozoa Candida Fungi Fungi
TLR3	Cell surface/endosome	dsRNA	Viruses
TLR4	Cell surface	LPS Envelope glycoproteins Cholesterol/oligophospholipids Mannan HSP70	Gram-negative bacteria Viruses (e.g., BSV) Protozoa Candida Host
TLR5	Cell surface	Flagellin	Flagellated bacteria
TLR7/8	Endosome	ssRNA	RNA viruses
TLR9	Endosome	CpG DNA	Viruses, bacteria, protozoa
RLRs			
RIG-I	Cytoplasm	dsRNA (short), 5'-triphosphate RNA	Viruses (e.g., influenza A virus, HCV, BSV)
MDA5	Cytoplasm	dsRNA (long)	Viruses (picorna- and nonviruses)
NLRs			
NOD1	Cytoplasm	Diaminopimelic acid	Gram-negative bacteria
NOD2	Cytoplasm	MDP	Gram-positive and -negative bacteria
NALP1	Cytoplasm	MDP	Gram-positive and -negative bacteria
NALP3	Cytoplasm	ATP, uric acid crystals, RNA, DNA, MDP	Viruses, bacteria, and host
Miscellaneous			
DAI	Cytoplasm	DNA	DNA viruses, intracellular bacteria
AJM2	Cytoplasm	DNA	DNA viruses
PKR	Cytoplasm	dsRNA, 5'-triphosphate RNA	Viruses

T.L.R.'lerin mikrobiyal komponentler tarafından uyarılması, immun yanıtta da katılan birçok genin ekspresyonunun tetiklenmesine neden olur. T.L.R.'lerin etkenleri tanınması, dimerizasyonlarını kolaylaştırır. T.L.R.2, T.L.R.1 ve T.L.R.6 ile heterofilik ikili formda gözüktür ancak diğer durumlarda T.L.R.'ler homodimer formlarda bulunurlar. T.L.R.'lerin dimerizasyonu, sitoplazmik Toll-IL-1 reseptör (T.I.R.) biriminden köken alan sinyal yollarının aktive olmasını tetikler. T.I.R. birimi etkisindeki sinyal yollarında, T.L.R.'ler aracılığıyla T.N.F.- α ve IL-12 gibi yangısal sitokinlerin indüklenmesi için T.I.R.-birimi içeren adaptör protein MyD88 gereklidir. Bununla birlikte spesifik T.L.R. aktivasyonları, farklı kalıplardaki gen ekspresyon kalıplarının oluşmasına neden olur. Örneğin, T.L.R.3 ve T.L.R.4 sinyal yollarının aktivasyonu

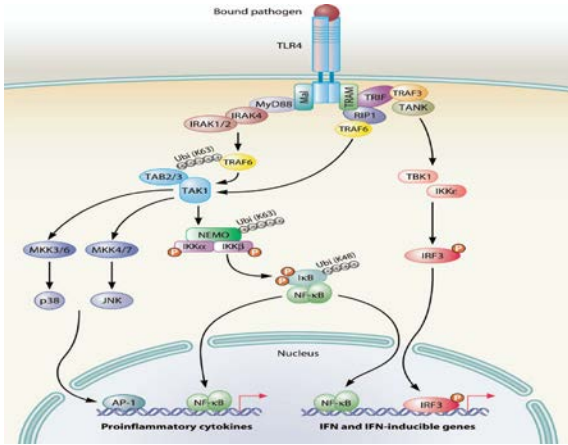
tip 1 interferonların indüklenmesiyle sonuçlanırken T.L.R.2 ve T.L.R.5 ilişkili yolları tip 1 interferonu indüklemeyebilir. Ayrıca, T.L.R.8 ve T.L.R.9 sinyal yolları da T.L.R.3/4 ilişkili yollardan farklı mekanizmalarla tip 1 interferonun indüklenmesini sağlar. Bu yüzden, MyD88 proteininin bütün T.L.R.'ler için yaygın olmasına rağmen, bireysel T.L.R. sinyal yolları farklılık gösterir. Bütün bunların ışığında, T.L.R. sinyal yolunda, MyD88 bağımlı ve MyD88 bağımsız olmak üzere iki sinyal yolu tanımlanmıştır⁴².

Sepsis durumlarında, LPS reseptör kompleksinin üretimi (CD14, T.L.R.4, MD-2), T.L.R.4'ün dimerizasyonunu indükler ve N.F.-K.B'nin transkripsiyon faktör inhibitörünün (I.K.B) fosforilasyonunun aktivasyonu ile sonuçlanan sinyal yolunu başlatır. Bu işlem, yangısal yanıtta rol alan sitokinlerin (T.N.F.- α , IL-1, IL-6, IL-12) üretiminden sorumlu genlerin transkripsiyonunu indükler. Ekstraselüler T.L.R.'lere ek olarak, sinyal yollarına katılan sitoplazmik moleküller de bulunmaktadır. Bunlar, Toll-IL-1 reseptör domain (T.I.R.-domain), adaptör protein olan myeloid differentiation factor 88 (MyD88), T.I.R. domain içeren adaptör protein (T.I.R.A.P.), interferon içeren protein Toll/IL-1 reseptör domain adaptörü (T.R.I.F.), T.R.I.F. ilişkili adaptör molekül (T.R.A.M.), T.N.F.- α reseptör ilişkili faktör 6 (T.R.A.F.6), kinazlar (I.R.A.K.1, I.R.A.K.4: IL-1 reseptör ilişkili kinazlar, T.A.K.: Transforming growth factor (T.G.F.)- β activated kinaz) ve kinaz kompleks inhibitör K.B kinaz kompleksidir (I.K.K.).

MyD88 Bağımlı Yol

MyD88, T.R.A.F.6, T.R.I.F. ve T.R.A.M. proteinleri, T.L.R.'ler tarafından başlatılan sinyal yolunda etkili rol oynarlar. MyD88, T.L.R.3 dışında diğer T.L.R.'lerin aktivasyonunda önemli bir adaptör proteindir. T.L.R.4'lerin uyarılmasına karşı oluşan yanıtta MyD88, reseptörlerin sitoplazmik bölümleri ile etkileşir ve I.R.A.K. yerini almaya başlar. I.R.A.K.1'in T.L.R.'ler tarafından uyarılan N.F.-K.B aktivasyonunda önemli rolleri vardır ancak son bilgiler I.R.A.K.2'nin de N.F.-K.B aktivasyonunda rol aldıkları gösterilmiştir³⁰. IL-1 reseptörleri aracılığıyla oluşan sinyallere analog olan MyD88 bağımlı yolda, uyarıma bağlı olarak I.R.A.K.1'in, I.R.A.K.4 ilişkili fosforilasyonu kolaylaştırılmış olur. Aktive olan I.R.A.K.1, T.R.A.F.6 ile etkileşerek M.A.P. kinazlarla birlikte aktivatör protein-1 (A.P.-1) transkripsiyon faktörünün aktivasyonu ve IKK kompleksinin aktivitesinin artmasına neden olan "Transfor-

ming growth factor-activated proteine kinase/T.A.K.1 binding protein” (T.A.K.1/T.A.B.) kompleksinin aktivasyonunu kolaylaştırır⁴⁷. T.A.K.1 aktive olduktan sonra I.K.K. kompleksini ve “Mitogen-activated protein kinase (M.A.P.K.)”yı içeren iki ayrı yolu uyarır³⁰. Tüm bu basamaklar N.F.-K.B.’nin ve sitokin üreten genlerin aktivasyonu ile sonuçlanır. Makrofajlar üzerindeki T.L.R.4’lere bağlanan LPS, kısa bir süre sonra yangısal sitokin üretiminin başlamasında etkili olur (Şekil-4).



Şekil-4. T.L.R. sinyal yolu basamakları. MyD88 bağımlı ve MyD88 bağımsız yol şeması (Mogensen, 2009)

Figure-4. T.L.R. signaling mechanisms. MyD88 dependent and MyD88 independent pathways (mogensen, 2009)

MyD88 Bağımsız Yol

MyD88 bağımlı yolda T.R.A.F.6 proteini önemli rol oynarken, MyD88 bağımsız yolda T.R.A.M. ve T.R.I.F. proteinler ön plandadır. T.R.A.M. molekülünün eksikliğinde sitokin üretimi azalarak yangısal yanıt gerilemiş olur. T.L.R.4 veya MyD88 eksikliğinde ise bakteri fagositozu ertelenir.

MyD88 adaptör proteininin yetersizliğinde ve daha önceden LPS tarafından uyarılmış T.L.R.4 ilişkili N.F.-K.B bulunmadığında, yangısal reaksiyonların şekillenmesi ve sitokin üretiminin başlatılması için T.R.I.F. adlı diğer bir protein görev alır. T.R.I.F. proteini, MyD88 proteininin yetersizliğinde T.R.A.F.6 proteini ile birlikte interferon düzenleyici faktörü (I.R.F.) aktifleştirir. I.R.F., N.F.-K.B ve A.P.-1 ile birlikte bir kompleks oluşturup IFN-β geninin transkripsiyonunu indükler (Şekil-3)³⁰. Yapılan bir çalışmada, MyD88 bağımsız sinyal yolu ile

N.F.-K.B aktivasyonu, MyD88 bağımlı sinyal yoluna kıyasla daha geç şekillendiği gösterilmiştir⁷. T.R.A.M. eksikliği olan fareler üzerindeki çalışmalar, T.R.A.M.’ın T.L.R.4 ilişkili sinyal yoluna katıldığı ancak T.L.R.3 sinyal yoluna katılmadığı ortaya konmuştur. T.R.I.F. ve T.R.A.M. eksikliği olan farelerde ise, yangısal sitokin üretiminin T.L.R.2, T.L.R.7 ve T.L.R.9 ligandları tarafından indüklendiği, I.R.A.K.1 fosforilasyonunun T.L.R.4 ligandı tarafından indüklendiği gösterilmiştir.

Yukarıda da belirtildiği gibi, P.A.M.P.’ların tanınmasında T.L.R.’ler önemli fonksiyon ve görevlere sahiptirler. Ancak T.L.R.’lerden farklı olarak, P.A.M.P.’ların tanınmasında, peptidoglikan tanıma proteinleri, sistozolik N.O.D. proteini ve T.R.E.M.1 reseptör proteinlerini içeren protein grupları da önemli rol oynarlar. Bu proteinlerin bakteriyel LPS, peptidoglikan gibi antijenik yapılara bağlanması sonucu, N.F.-K.B’yi aktive eden genler uyarılarak innate immün yanıt başlatılmış olur. N.O.D.1 ve N.O.D.2 gibi N.O.D.-Like Reseptörler (N.L.R.’ler) ile P.A.M.P.’ların tanınması ve innate immün yanıtın başlatılması için MyD88 adaptör proteinine ihtiyaç yoktur. Genel olarak monosit ve makrofajlarda bulunan ve bir glikoprotein olan T.R.E.M.1’in ekspresyonu, Gram (+) ve Gram (-) bakterilerin sebep olduğu enfeksiyonlarda yangısal reaksiyonla birlikte artış gösterir. Yapılan bir çalışmada T.R.E.M.1 proteininin engellenmesi, aşırı yangısal reaksiyonun şekillenmesiyle meydana gelen şok ve sepsis oluşumunu ve ölümü azalttığı gösterilmiştir⁶.

İmmün sistemin, patojen etkenlerin etkisiz hale gelmesi ve ardından konak üzerinden temizlenmesi üzerinde çok önemli görevinin olmasına rağmen, aşırı şekillenen ya da kontrolsüz olarak şekillenen immün yanıtlar konağa zarar verebilir. Bu aşırı veya kontrolsüz yanıtlar konakta immunopatolojilere veya otoimmüniteye neden olabilirler. Bu yüzden, patojen etken etkisiz hale geldikten ve konak üzerindeki hasar onarıldıktan sonra, innate immün yanıt, yangısal reaksiyonları kontrol edebilmelidir. Bu kontrol mekanizması, T.L.R.’lerin, IL-10, IL-4, IL-5 ve IL-13 gibi anti-inflammatuar sitokinleri tetiklemesi ile gerçekleşir. Bu mekanizma konak savunması için yararlı olsa da patojenler bu mekanizmaları kullanarak immün sistemden kaçabilirler. Sonuç olarak patojen etkenlerin konakçı savunmasından kaçmak için geliştirdikleri yöntemler bulunmaktadır³².

Örneğin virüsler, kolaylıkla antijenik yapılarını değiştirebilme özellikleri ile konakçı savunması için ciddi denebilecek seviyede tehlike oluştururlar. Yapılan çalışmalarda, Poxviridae, Flaviviridae, Herpesviridae, Reoviridae, Asfarviridae ve Bunyaviridae ailelerinde viral N.F.-K.B inhibitörlerinin çoğu rapor edilmiştir²². Mohamed ve arkadaşları 2009 yılında, Bu viral N.F.-K.B inhibitörleri 2 genel kategori altında sınıflandırmışlardır. Bu kategoriler, salgılanan ligandlar ve hücre içi N.F.-K.B inhibitörleridir³¹. Salgılanan ligandlar, tuzak reseptörü olarak görev alarak, normal hücrel sinyal yollarını engeller ve böylece N.F.-K.B'nin aktive olmamasını sağlarlar. Hücre içi N.F.-K.B inhibitörleri, birkaç farklı yol ile N.F.-K.B aktivasyonunu engelleyerek virüslerin konakçı savunmasından kaçmasını sağlarlar. Hücre içi inhibitörler, T.L.R. ilişkili yolu baskılayarak, I.K.K. kompleksini baskılayarak ve direkt olarak N.F.-K.B'yı baskılayarak, virüslerin immun sistemden kaçmalarına neden olurlar²². Vincent ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (2011), Hepatitis B Virüs'ü, MyD88-I.R.A.K.4 birleşmesini bloke ederek, Plazmasitoid Dentirik hücrelerden ve B hücrelerden, bakteriyel ve viral DNA kalıplarını tanıyan T.L.R.9 ekspresyonunu azalttığı ve immun sistemden kaçışını kolaylaştırdığı görülmüştür. Ancak Hepatitis B Virüs'ünün varlığında T.L.R.7 ilişkili IL-6 üretiminde artış olduğu gösterilmiştir⁵¹.

İnate ve Adaptif İmmun Yanıt Arasındaki Bağlantı

İnate ve adaptif immun yanıt arasındaki bağlantının açığa çıkarılması amacıyla çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Ancak bütün bu araştırmalara rağmen, bu bağlantının moleküler düzeydeki mekanizması hakkında tam olarak elde edilen bir veri bulunmamaktadır. Yapılan çalışmalarda edinilen bilgiler ışığında, inate ve adaptif immun yanıt arasındaki geçiş aydınlatılmaya çalışılmaktadır.

Yapılan araştırmalar sonucu elde edilen bilgi, genel olarak, inate immun yanıt uyarıldıktan sonra, daha önce bahsedilen aktivasyon yolları aracılığı ile başta sitokin ve kemokinler olmak üzere çeşitli genlerin ekspresyonlarında artış ile T hücrelerinin ve alt populasyonlarının aktive olduğu ve uyarı bölgesine toplanmasıdır^{10,15,17,27,34}.

Tedavi Hedefleri

Çoğu hastalığın patogenezinde aşırı yanğısal reaksiyonlar rol oynadığından dolayı, inna-

te immun yanıt aktivasyonunu sinyal yollarını hedef alan tedavi metodları geliştirilmeye çalışılmaktadır. Tedavi için kullanılan ajanlar arasında, glukokortikoidler, N.F.-K.B p38 inhibitörleri, T.L.R. agonist ve antagonistleri kullanımı ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır.

Glukokortikoidler, T.L.R. sinyal yollarını inhibe ederek N.F.-K.B'nin translokasyonunu bloke eder ve proinflammatuar sitokin salınımının engellenmesine neden olurlar. N.F.-K.B ve p38 inhibitörleri, direkt olarak I.K.K. kinaz aktivitesini inhibe ederek N.F.-K.B'nin nüklear translokasyonunu ve I.K.B α fosforilasyonunu engellerler. Bu grupta aspirin ve sodyum salisilat gibi preparatlar örnek olarak gösterilebilir. T.L.R. agonistlerinden, çoğunlukla aşı üretim teknolojisinde yararlanılmaktadır. T.L.R antagonistleri ise yangının sonlandırılması ve oluşabilecek muhtemel immunopatolojilerin önüne geçmek için kullanılırlar³⁰.

Sonuç olarak, patojen tanınması ve innate immun sistemin aktive olarak proinflammatuar sitokin salınımı konakçı için önemli bir aşamadır. Erken ve hızlı bir şekilde aktive olan innate immun yanıt enfeksiyonun kontrol altına alınmasında önemli rol oynar. Konağa ait P.R.R.'ler, antijen etkenlerin P.A.M.P.'lerinin tanınarak proinflammatuar sitokin ve tip 1 IFN üretimini içeren innate immun yanıtın uyarılmasını sağlarlar. Ayrıca P.R.R.'ler, antijen sunan dentritik hücrelerin ve antijen spesifik T hücrelerinin olgunlaşmasını sağlayarak adaptif immun yanıtın da başlatılmasında rol oynarlar. P.R.R.'lerin fonksiyon bozukluklarında bir takım immun yetmezlikler ön plana çıkarak enfeksiyöz etkenlere karşı konağı daha duyarlı hale getirebilirler. Sadece enfeksiyöz hastalıklar için değil, yine P.R.R.'lerin fonksiyon bozuklukları, immunopatolojik hastalıkların oluşmasına da neden olabilir. Bu sebeplerden dolayı patojenlerin tanınması ve proinflammatuar sinyallerin başlatılması için ve hastalık patogenezinin araştırılması ve tedavi yolları aramak için innate immun sistem üzerinde yapılan çalışmalar günümüzde de büyük bir önemle devam etmektedirler.

Kaynaklar

1. Anand P.K., Tait S.W., Lamkanfi M., Amer A.O., Nunez G., Pagès G., Pouyssegur J., McGargill M.A., Green D.R., Kanneganti T.D., 2011. TLR2 and RIP2 pathways mediate autophagy of *Listeria monocytogenes* via extracellular signal-regulated kinase (ERK) activation. *The Journal of Biological Chemistry*, 16;286(50):42981-42991.

2. Aono S, L.I. C, Zhang G., Kemppainen R.J., Gard J., Lu W., Hu X., Schwartz D.D., Marrison E.E., Dykstra C., Shi J., 2006. Molecular and functional characterization of bovine beta-defensin-1. *Veterinary Immunology and Immunopathology*; 113:181–190.
3. Boman H.G., 2003. Antibacterial peptides: Basic facts and emerging concepts. *Journal of Internal Medicine*, 254:197–215.
4. Caamaño J., Hunter C.A., 2002. NF-kappaB family of transcription factors: central regulators of innate and adaptive immune functions. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(3):414-429.
5. Coffey T.J., Werling D., 2011. Therapeutic targeting of the innate immune system in domestic animals. *Cell and Tissue Research*, 343:251-261.
6. Colonna M., Facchetti F., 2003. TREM-1 (triggering receptor expressed on myeloid cells): a new player in acute inflammatory responses. *The Journal of Infection Disease*, 15;187 2: 397-401.
7. Covert M.W., Leung T.H., Gaston J.E., Baltimore D., 2005. Achieving stability of lipopolysaccharide-induced NF-kappaB activation. *Science*, 16;309(5742):1854-1857.
8. Diamond G., Russell J.P., Bevins C.L., Inducible expression of an antibiotic peptide gene in lipopolysaccharide-challenged tracheal epithelial cells. *Proceedings of the National Academy of Science of United States of America*, 93:5156–5160, 1996.
9. Diamond G., Zasloff M., Eck H., Brousseau M., Maloy W.L., Bevins C.L., 1991. Tracheal antimicrobial peptide, a cysteine-rich peptide from mammalian tracheal mucosa: Peptide isolation and cloning of a cDNA. *Proceedings of the National Academy of Science of United States of America*, 88:3952-3956.
10. Flynn R.J., Mulcahy G., Elsheikha H.M., 2010. Coordinating innate and adaptive immunity in *Fasciola hepatica* infection: implications for control. *Veterinary Parasitology*, 11;169(3-4):235-240.
11. Goldammer T., Zerbe H., Molenaar A., Schuberth H.J., Brunner R.M., Kata S.R., Seyfert H.M., 2004. Mastitis increases mammary mRNA abundance of beta-defensin 5, Toll-like receptor (TLR2), and TLR4 but not TLR9 in cattle. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 11:174–185.
12. Hans M., Hans V.M., 2011. Toll-like receptors and their dual role in periodontitis: a review. *Journal of Oral Science*, 53(3):263-271.
13. He X.N., Su F., Lou Z.Z., Jia W.Z., Song Y.L., Chang H.Y., Wu Y.H., Lan J., He X.Y., Zhang Y., 2011. Ipr1 gene mediates RAW 264.7 macrophage cell line resistance to *Mycobacterium bovis*. *Scandinavian Journal of Immunology*, 74(5):438-444.
14. Hemmi H., Takeuchi O., Sato S., Yamamoto M., Kaisho T., Sanjo H., Kawai T., Hoshino K., Takeda K., Akira S., 2004. The roles of two IkappaB kinase-related kinases in lipopolysaccharide and double stranded RNA signaling and viral infection. *The Journal of Experimental Medicine*, 21;199(12):1641-1650.
15. Hua J., Liang S., Ma X., Webb T.J., Potter J.P., Li Z., 2011. The interaction between regulatory T cells and NKT cells in the liver: a CD1d bridge links innate and adaptive immunity. *PLoS One*, 6(11):e27038.
16. Ignacio G., Nordone S., Howard K.E., Dean G.A., 2005. Toll-like receptor expression in feline lymphoid tissues. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 106(3-4):229-237.
17. Kennedy-Crispin M., Billick E., Mitsui H., Gulati N., Fujita H., Gilleaudeau P., Sullivan-Whalen M., Johnson-Huang L.M., Suárez-Fariñas M., Krueger J.G., 2012. Human keratinocytes' response to injury upregulates CCL20 and other genes linking innate and adaptive immunity. *The Journal of Investigative Dermatology*, 132(1):105-113.
18. Kleinnijenhuis J., Oosting M., Joosten L.A., Netea M.G., Van Crevel R., 2011. Innate immune recognition of *Mycobacterium tuberculosis*. *Clinical and Developmental Immunology*, 2011:405310.
19. Krug A., Luker G.D., Barchet W., Leib D.A., Akira S., Colonna M., 2004. Herpes simplex virus type 1 activates murine natural interferon-producing cells through toll-like receptor 9. *Blood*, 15;103(4):1433-1437.
20. Lauzon N.M., Mian F., Ashkar A.A., 2007. Toll-like receptors, natural killer cells and innate immunity. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 598:1-11.
21. Lawyer C., Watabe M., Pai S., Bakir H., Eagleton L., Mashimo T., Watabe K., 1996. A synthetic form of tracheal antimicrobial peptide has both bactericidal and antifungal activities. *Drug Design and Discovery*, 14:171–178.
22. Le Negrato G., 2012. Viral interference with innate immunity by preventing NF-κB activity. *Cellular Microbiology*, 14(2):168-181.
23. Lemaitre B., Nicolas E., Michaut L., Reichhart J.M., Hoffmann J.A., 1996. The dorsoventral regulatory gene cassette *spätzle/Toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell*, 20;86(6):973-983.
24. Li M., Carpio D.F., Zheng Y., Bruzzo P., Singh V., Ouaz F., Medzhitov R.M., Beg A.A., 2001. An essential role of the NF-kappa B/Toll-like receptor pathway in induction of inflammatory and tissue-repair gene expression by necrotic

- cells. *Journal of Immunology*, 15;166(12):7 128-135.
25. Liang L., Zhao Y.L., Yue J., Liu J.F., Han M., Wang H., Xiao H., 2011. Association of SP110 gene polymorphisms with susceptibility to tuberculosis in a Chinese population. *Infection, Genetic and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 11(5):934-939.
 26. Linde A., Ross Cr, Davis E.G., Dib L., Blecha F., Melgarejo T., 2008. Innate immunity and host defense peptides in veterinary medicine. *Journal of Veterinary Internal Medicine/American College of Veterinary Internal Medicine*, 22(2):247-265.
 27. Maxwell J.R., Yadav R., Rossi R.J., Ruby C.E., Weinberg A.D., Aguila H.L., Vella A.T., 2006. IL-18 bridges innate and adaptive immunity through IFN-gamma and the CD134 pathway. *Journal of Immunology*, 1;177(1):234-245.
 28. Medzhitov R., Preston-Hurlburt P., Janeway C.A. Jr., 1997. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature*, 24;388(6640):394-397.
 29. Mitchell G.B., Al-Haddawi M.H., Clark M.E., Beveridge J.D., Caswell J.L., 2006. Effect of corticosteroids and neuropeptides on the expression of defensins in bovine tracheal epithelial cells. *Infection and Immunity*; 75:1325–1334,
 30. Mogensen T.H., 2009. Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(2):240-273.
 31. Mohamed M.R., McFadden G., 2009. NFkB inhibitors: strategies from poxviruses. *The Cell Cycle*, 1;8(19):3125-3132.
 32. Netea M.G., Van Der Meer J.W., Kullberg B.J., 2004. Toll-like receptors as an escape mechanism from the host defense *Trends in Microbiology*, 12(11):484-488.
 33. Raz E., 2007. Organ-specific regulation of innate immunity. *National Immunology*, 8:3–4.
 34. Rijavec M., Volarevic S., Osolnik K., Kosnik M., Korosec P., 2011. Natural killer T cells in pulmonary disorders. *Respiratory Medicine*, 105 Suppl 1:20-25.
 35. Roeder A., Kirschning C.J., Rupec R.A., Schaller M., Korting H.C., 2004. Toll-like receptors and innate antifungal responses. *Trends Microbiology*. (1):44-9.
 36. Roosen S., Exner K., Paul S., Schroder J.M., Kalm E., Looft C., 2004. Bovine beta-defensins: Identification and characterization of novel bovine beta-defensin genes and their expression in mammary gland tissue. *Mammalian Genome*, 15:834–842.
 37. Ruiz-Larrañaga O., Garrido J.M., Iriando M., Manzano C., Molina E., Montes I., Vazquez P., Koets A.P., Rutten V.P., Juste R.A., Estonba A., 2010. SP110 as a novel susceptibility gene for *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis infection in cattle. *Journal of Dairy Science*, 93(12):5950-5958.
 38. Sang Y., Ortega M.T., Blecha F., Prakash O., Melgarejo T., 2005. Molecular cloning and characterization of three beta-defensins from canine testes. *Infection and Immunity*, 73:2611-2620.
 39. Sang Y., Teresa O.M., Rune K., Xiau W., Zhang G., Soulages J.L., Lushington G.H., Fang J., Williams T.D., Blecha F., Melgarejo T., 2007. Canine cathelicidin (K9CATH): Gene cloning, expression, and biochemical activity of a novel pro-myeloid antimicrobial peptide. *Developmental and Comparative Immunology*, 31(12):1278-1296.
 40. Schontwetter B.S., Stolzenberg E.D., Zasloff M.A., 1995. Epithelial antibiotics induced at sites of inflammation. *Science*. 267:1645-1648.
 41. Scott M.G., Hancock R.E., 2000. Cationic antimicrobial peptides and their multifunctional role in immune system. *Critical Reviews in Immunology*, 20:407-431.
 42. Slotwinski R., Slotwinska S., Kedziora S., Balan B.J., 2011. Innate immunity signaling pathways: Links between immunonutrition and responses to sepsis. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 59:139-150.
 43. Stolzenberg E.D., Anderson G.M., Ackermann M.R., Whitlock R.H., Zasloff M., 1997. Epithelial antibiotic induced in states of disease. *Proceedings of the National Academy of Science of United States of America*, 94:8686–8690.
 44. Summerfield A., Guzylack-Piriou L., Harwood L., McCullough K.C., 2009. Innate immune responses against foot-and-mouth disease virus: current understanding and future directions. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 128(1-3):205-210.
 45. Swanson K., Gorodetsky S., Good L., Davis S, Musgrave D., Stelwagen K., Farr V., Molenaar A., 2004. Expression of a beta-defensin mRNA, lingual antimicrobial peptide, in bovine mammary epithelial tissue is induced by mastitis. *Infection and Immunity*, 72:7311–7314.
 46. Swerdlow M.P., Kennedy D.R., Kennedy J.S., Washabau R.J., Henthorn P.S., Moore P.F., Carding S.R., Felsburg P.J., 2006. Expression and function of TLR2, TLR4, and Nod2 in primary canine colonic epithelial cells. *Veterinary Immunology Immunopathology*, 15;114(3-4):313-319.
 47. Takeda K., Akira S., 2005. Toll-like receptors in innate immunity. *International Immunology*, 17(1):1-14.

48. Tarver A.P., Clark D.P., Diamond G., Russell J.P., Erdjument-Bromage H., Tempst P., Cohen K.S., Jones D.E., Sweeney R.W., Wines M., Hwang S., Bevins C.L.. 1998. Enteric beta-defensin: Molecular cloning and characterization of a gene with inducible intestinal epithelial cell expression associated with *Cryptosporidium parvum* infection. *Infection and Immunity*, 66(3):1045-1056.
49. Tydell C.C., Yount N, Tran D., Yuan J., Selsted M.E., 2002. Isolation, characterization and antimicrobial properties of bovine oligosaccharide-binding protein. A microbicidal granule protein of eosinophils and neutrophils. *Journal of Biological Chemistry*, 277:19658-19664.
50. Uematsu S, Akira S., 2008. Toll-Like receptors (TLRs) and their ligands. *Handbook of Experimental Pharmacology*, (183):1-20.
51. Vincent I.E., Zannetti C., Lucifora J., Norder H., Protzer U., Hainaut P., Zoulim F., Tommasino M., Trépo C., Hasan U., Chemin I., 2011. Hepatitis B virus impairs TLR9 expression and function in plasmacytoid dendritic cells. *PLoS One* 6(10):e 26313.
52. Yang W., Molenaar A., Kurts-Ebert B., Seyfert H.M., 2006. NF-kappaB factors are essential, but not the switch, for pathogen-related induction of the bovine beta-defensin 5-encoding gene in mammary epithelial cells. *Molecular Immunology*, 43:210-225.
53. Zasloff M., 2002. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature*, 415:389-395.

