

T. C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRK TOPLUMUNDA
TÜBERKÜLOZA YATKINLIKTA
NRAMP1 GEN POLİMORFİZMLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Genetik Doktora Programı

Doktora Tezi
Dr. Aslıhan Yılmaz EKMEKÇİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Cihangir ÖZKINAY

İZMİR

2008

T. C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRK TOPLUMUNDA
TÜBERKÜLOZA YATKINLIKTA
NRAMP1 GEN POLİMORFİZMLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Genetik Doktora Programı

Doktora Tezi
Dr. Aslıhan Yılmaz EKMEKÇİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Cihangir ÖZKINAY

İZMİR

2008

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

Başkan

(Danışman) : Prof. Dr. Cihangir ÖZKINAY

Üye : Prof. Dr. Derya ERÇAL

Üye : Doç. Dr. Özgür ÇOĞULU

Üye : Prof. Dr. Sevgi MİR

Üye : Yrd. Doç. Dr. Elçin BORA

Doktora Tezinin kabul edildiği tarih: 21. 08. 2008

ÖNSÖZ

Hayatıma farklı pencereler açan doktora eğitimim boyunca; tez danışmanım olmasından onur duyduğum genetik biliminin önemli isimlerinden Prof. Dr. Cihangir Özkınay'a tüm katkılarından dolayı,

Kendisini bilimsel ve kişisel olarak örnek almaya çalıştığım, tezim süresince de desteğini esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Ferda Özkınay'a,

Tezime ve doktora eğitimime değerli katkılarından dolayı Prof. Dr. Derya Erçal'a,

Doktoramın ilk gününden itibaren sonsuz desteğini ve enerjisini hissettiğim sevgili abim Doç. Dr. Özgür Çoğulu'ya,

Sabrı ve desteği için Doç. Dr. Cumhur Gündüz'e,

Her zaman bana olan güveni ve katkıları için Doç. Dr. Sacide Pehlivan'a,

Eğitimime bilimsel katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Haluk Akın'a,

Doktoramın ilk gününden itibaren desteği ve güveni ile hep yanımda olan dostum Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Onay'a,

Hayatıma güzel ve özel katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Elçin Bora, Uzm. Dr. Tufan Çankaya, Uzm. Dr. Emin Karaca ve Uzm. Dr. Asude Alpman'a,

Sevgili doktor arkadaşlarım Ayça Aykut, Burak Durmaz, Filiz Hazan, Ali Vahabi, Erhan Parıltay, Özgür Kırbıyık, Mehmet Akgül, Esra Ataman'a ve tüm

Çocuk Genetik ile Tıbbi Genetik çalışanlarına bana destekleri ve sabırlarından dolayı,

Özellikle tez dönemindeki neşesi ve laboratuvar desteği için Bio. Elif Emine Bilal'e,

Doktoramın önemli kısmında mesaiyi paylaştığım Ege Üniversitesi Kan Merkezi çalışanlarına,

İlk günden itibaren uzmanlık yolunda desteklerini esirgemeyen Aliağa Sağlık Grup Başkanlığı'nın tüm çalışanlarına,

Tez süresince sık sık birlikte olduğumuz Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları Hastanesi Tüberküloz servisi ve Bornova Verem Savaş Dispanseri çalışanlarına yardımlarından dolayı teşekkürü bir borç bilirim.

Ekmekçi Ailesi'nin tüm bireylerine bana özellikle tezim süresince gösterdikleri anlayış, sabır ve destek için,

Annem, babam ve kardeşlerime bugün burada olabilmeme neden oldukları için ve yaşantıma tüm katkıları için,

Sevgili dostum ve eşim Çağrı'ya tüm sabrı ve desteği için sonsuz teşekkürler....

'Egecim' senin olman ise doktoramın en güzel kısmıydı...

Aslıhan Yılmaz EKMEKÇİ

İzmir, 2008

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
A. ÖNSÖZ	i
B. İÇİNDEKİLER	iii
C. TABLO DİZİNİ	vi
D. ŞEKİL DİZİNİ	xi
E. KISALTMALAR	xii
F. BÖLÜM 1: GİRİŞ	1
1. 1. AMAÇ	
1. 2. GENEL BİLGİLER	4
1. 2.1. Tüberküloz	4
1.2.1.1.Tarihsel Gelişim	4
1.2.1.2. Epidemiyoloji	5
1.2.1.3. Tüberküloz Basili (<i>M. tuberculosis</i>)	8
1.2.1.4. Tüberkülin Cilt Testi (TCT)	9
1.2.1.5. Tüberküloz Basilinin Bulaş Yolları ve Konaktaki Seyri	9
1.2.1.6. Klinik Bulgular ve Tanı	18
1.2.1.7. Korunma ve Tedavi	27
1.2.1.8. Tüberküloza Genetik Yatkınlık	34
1.2.2. Natural Resistance Associated Macrophage Protein-1 (NRAMP1)	35
1.2.2.1. Yapısı ve Fonksiyonu	37
1.2.2.2. Moleküler Biyolojisi	39
1.2.2.3. NRAMP1 geninde bulunan Polimorfizmler	41
1.2.2.4. NRAMP1'in Klinik Önemi ve Enfeksiyonlar ile Olan İlişkisi	43
1.2.2.5. Tüberküloz ve NRAMP1	44
G. BÖLÜM 2: GEREÇ ve YÖNTEM	50
2.1. Hasta ve Kontrol Grubu	50
2.2. NRAMP1 Genotipinin Araştırılması	51
2.2.1. DNA izolasyonu	51

2.2.2. <i>NRAMP1</i> geni INT4, D543N, 3'UTR	
Polimorfizmlerinin Genotiplenmesi	53
2.2.2.1. PCR işlemi	53
2.2.2.2. PCR Ürünlerinin Jel Elektroforezinde	
Kontrolü	54
2.2.2.3. Enzim Kesimi	56
2.2.2.4. Enzim Kesim Ürünlerinin Jel	
Elektroforezinde Kontrolü	57
2.2.3. <i>NRAMP1</i> INT4 Genotiplenmesi	59
2.2.3.1. INT4 polimorfizmi PCR işlemi	59
2.2.3.2. INT4 PCR Ürünlerinin Jel Elektroforezinde	
Kontrolü	60
2.2.3.3. Apa1 Enzim Kesimi	62
2.2.3.4. Apa1 Kesim Ürünlerinin Jel	
Elektroforezinde Kontrolü	62
2.2.4. <i>NRAMP1</i> D543N ve 3'UTR Genotiplenmesi	64
2.2.4.1. D543N ve 3'UTR polimorfizmleri	
PCR işlemi	65
2.2.4.2. D543N ve 3'UTR PCR Ürünlerinin Jel	
Elektroforezinde Kontrolü	66
2.2.4.3. A _{va} II Enzim Kesimi	68
2.2.4.4. A _{va} II Kesim Ürünlerinin Jel	
Elektroforezinde Kontrolü	68
2.2.4.5. Fok1 Enzim Kesimi	70
2.2.4.6. Fok1 Kesim Ürünlerinin Jel	
Elektroforezinde Kontrolü	71
2.2.5. <i>NRAMP1</i> 5'(CA) _n Genotiplenmesi	73
2.2.5.1. 5'(CA) _n polimorfizmi PCR işlemi	73
2.2.5.2. 5'(CA) _n PCR Ürünlerinin Genetik	
Analizöre Yüklenmesi	75
2.2.5.3. 5'(CA) _n PCR Ürünlerinin Genetik Analizörde	
Değerlendirilmesi	76
2.3. İstatistiksel Analiz	77

H. BÖLÜM 3: BULGULAR	78
I. BÖLÜM 4: TARTIŞMA	114
J. BÖLÜM 5: SONUÇLAR	134
K. BÖLÜM 6: ÖZET	136
6.1. Türkçe Özet	136
6.2. İngilizce Özet	138
L. KAYNAKLAR DİZİNİ	140
M. EKLER: Özgeçmiş	156

TABLO DİZİNİ:**SAYFA NO:**

Tablo 1. Erişkin tipi akciğer tüberkülozu ile primer akciğer tüberkülozu arasındaki farklar	27
Tablo 2 . Ülkemizde koruyucu ilaç tedavisi endikasyonları	30
Tablo 3. Tüberküloz olgu tanımlarına göre tedavi şeması	34
Tablo 4. <i>NRAMP1</i> INT4, 3'UTR, D543N polimorfizmlerinin genotiplemesinde kullanılan primer dizileri ve genotipleme için uygulanan enzim kesimi yöntemlerinde kullanılan enzimler, kesim sıcaklığı ve süresi	58
Tablo 5. Hasta ve kontrol grubunun yaş ortalamaları ve cinsiyet dağılımı	78
Tablo 6. Hasta ve kontrol olgularının yaş gruplarına göre cinsiyet dağılımı ve yaş özellikleri	79
Tablo 7. Akciğer TB ve akciğer dışı TB olgularının cinsiyet oranlarının yaş gruplarına göre dağılımı	80
Tablo 8. Çalışmaya alınan tüberkülozlu hastaların yaş gruplarına göre klinik formlarının dağılımı	81
Tablo 9. Akciğer ve akciğer dışı tüberkülozlu hastalardan radyolojisinde kavitasyon saptanan olguların yaş gruplarına göre dağılımı	82
Tablo 10. Akciğer ve akciğer dışı tüberkülozlu hastalardan balgam direk bakısı pozitif saptanan olguların yaş gruplarına göre dağılımı	82

Tablo 11. Akciğer tüberkülozlu olgularda kavitasyon ve kavitasyon ile birlikte balgam pozitifliği saptanma oranlarının yaş gruplarına göre dağılımı	83
Tablo 12. Yetişkin yaş grubu (19 yaş ve üstü) tüberküloz olgularında ilaç direnci görülenlerin cinsiyet, klinik form ve kavitasyon durumuna göre dağılımı	84
Tablo 13. Çocuk hasta ve çocuk kontrol gruplarındaki <i>NRAMP1</i> geni 3'UTR polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması	85
Tablo 14. Çocuk hasta ve çocuk kontrol gruplarındaki <i>NRAMP1</i> geni D543N polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması	86
Tablo 15. Çocuk hasta ve çocuk kontrol gruplarındaki <i>NRAMP1</i> geni INT4 polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması	86
Tablo 16. Çocuk hasta ve çocuk kontrol gruplarındaki <i>NRAMP1</i> geni 5'(CA) _n polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması	87
Tablo 17. Çalışmaya alınan 19 yaş ve üstü yetişkin hasta gruplarında ve kontrol grubundaki <i>NRAMP1</i> geni 3'UTR polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması	88
Tablo 18. Çalışmaya alınan 19 yaş ve üstü yetişkin hasta gruplarında ve kontrol grubundaki <i>NRAMP1</i> geni D543N polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması	89
Tablo 19. Çalışmaya alınan 19 yaş ve üstü yetişkin hasta gruplarında ve kontrol grubundaki <i>NRAMP1</i> geni INT4 polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması	90

Tablo 20. Çalışmaya alınan 19 yaş ve üstü yetişkin hasta gruplarında ve kontrol grubundaki <i>NRAMP1</i> geni 5'(CA) _n polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması	91
Tablo 21. Çocuk hasta ve yetişkin hasta gruplarındaki <i>NRAMP1</i> geni 3'UTR polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması	92
Tablo 22. Çocuk hasta ve yetişkin hasta gruplarındaki <i>NRAMP1</i> geni D543N polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması	93
Tablo 23. Çocuk hasta ve yetişkin hasta gruplarındaki <i>NRAMP1</i> geni INT4 polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması	93
Tablo 24. Çocuk hasta ve yetişkin hasta gruplarındaki <i>NRAMP1</i> geni 5'(CA) _n polimorfizmi genotiplerinin sıklığının karşılaştırılması	94
Tablo 25. Çocuk hasta ve kontrol gruplarında klinik formlara göre <i>NRAMP1</i> geni 3'UTR polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması	95
Tablo 26. 19 yaş ve üstü yetişkin hasta ve kontrol grubunda klinik formlara göre <i>NRAMP1</i> geni 3'UTR polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması	96
Tablo 27. 60 yaş ve üstü hasta grubunda klinik formlara göre <i>NRAMP1</i> geni 3'UTR polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması	97
Tablo 28. Çocuk hasta ve kontrol gruplarında klinik formlara göre <i>NRAMP1</i> geni D543N polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması	98
Tablo 29. 19 yaş ve üstü yetişkin hasta ve kontrol grubunda klinik formlara göre <i>NRAMP1</i> geni D543N polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması	99

Tablo 30. 60 yaş ve üstü hasta grubunda klinik formlara göre <i>NRAMP1</i> geni D543N polimorfizmi genotiplerinin sıklığının karşılaştırılması	100
Tablo 31. Çocuk hasta ve kontrol gruplarında klinik formlara göre <i>NRAMP1</i> geni INT4 polimorfizmi genotiplerinin sıklığının karşılaştırılması	101
Tablo 32. 19 yaş ve üstü yetişkin hasta ve kontrol grubunda klinik formlara göre <i>NRAMP1</i> geni INT4 polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması	102
Tablo 33. 60 yaş ve üstü hasta grubunda ve kontrol grubunda klinik formlara göre <i>NRAMP1</i> geni INT4 polimorfizmi genotiplerinin sıklığının karşılaştırılması	103
Tablo 34. Çocuk hasta ve kontrol gruplarında klinik formlara göre <i>NRAMP1</i> geni 5'(CA) _n polimorfizmi genotiplerinin sıklığının karşılaştırılması	104
Tablo 35. 19 yaş ve üstü yetişkin hasta ve kontrol grubunda klinik formlara göre <i>NRAMP1</i> geni 5'(CA) _n polimorfizmi genotiplerinin sıklığının karşılaştırılması	105
Tablo 36. 60 yaş ve üstü hasta grubunda klinik formlara göre <i>NRAMP1</i> geni 5'(CA) _n polimorfizmi genotiplerinin sıklığının karşılaştırılması	106
Tablo 37. Tüberkülozlu olguların birleşik genotip sonuçlarının yaş gruplarına ve akciğer veya akciğer dışı yerleşimine göre dağılımı	109
Tablo 38. Farklı yaş gruplarındaki tüberküloz olgularının ve sağlıklı kontrol olgularının <i>NRAMP1</i> gen polimorfizmlerinin birleşik genotip sıklıklarının karşılaştırılması	110
Tablo 39. Çocuk hasta grubundaki akciğer ve akciğer dışı tüberküloz olgularında, kavitasyon saptanan tüberküloz olgularında ve sağlıklı kontrol olgularındaki <i>NRAMP1</i> gen polimorfizmlerinin birleşik genotip sıklıklarının karşılaştırılması	112

Tablo 40. Yetişkin hasta grubundaki akciğer ve akciğer dışı tüberküloz olgularında, balgam direk bakısı pozitif saptanan tüberküloz olgularında, kavitasyon saptanan tüberküloz olgularında ve sağlıklı kontrol olgularındaki *NRAMP1* gen polimorfizmlerinin birleşik genotip sıklıkları

113

ŞEKİL DİZİNİ:**SAYFA NO:**

Şekil 1. Türkiye’de tüberküloz yeni olgularının olgu hızları, 1996-2005	7
Şekil 2. Akciğer tüberkülozu patogenezi	14
Şekil 3. NRAMP1’in makrofaj içindeki lokalizasyonu ve divalent metal katyonların transportundaki rolü	37
Şekil 4. <i>NRAMP1</i> genindeki dört polimorfizmin şematik yerleşimi	42
Şekil 5. INT4 PCR ürünlerinin agaroz jel kontrol görüntüleri	61
Şekil 6. INT4 polimorfizmine ait 23 hastanın PCR ürünlerinin Apa1 enzimi ile kesimi sonrasında %4’lük jeldeki analiz görüntüsü	64
Şekil 7. Otuz hastanın D543N ve 3’UTR polimorfizmlerine ait PCR ürünlerinin %2’lik jeldeki analiz görüntüsü.	67
Şekil 8. D543N polimorfizmine ait 16 hastanın PCR ürünlerinin Avall enzimi ile kesimi sonrasında %4’lük jeldeki analiz görüntüsü	70
Şekil 9. 3’UTR polimorfizmine ait 18 hastanın PCR ürünlerinin Fok1 enzimi ile kesimi sonrasında %4’lük jeldeki analiz görüntüsü	72
Şekil 10. 5’(CA) PCR jel kontrol görüntüleri	74
Şekil 11. 5’(CA) _n polimorfizmine ait (198-198) genotipi	76
Şekil 12. 5’(CA) _n polimorfizmine ait (196-198) genotipi	77

KISALTMALAR

M. tuberculosis: Mycobacterium tuberculosis
BCG: Basille Calmette and Guerin
DGTS: Doğrudan Gözetimli Tedavi Stratejisi
DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü
LTBE: Latent Tüberküloz Enfeksiyonu
NRAMP1 (SCL11A1): Natural Resistance Associated Macrophage Protein-1
MBL: Mannoz Bağlayan Lektin
HLA: Human Lökosit Antijeni
VDR: Vitamin D Reseptörü
TNF: Tümör Nekroz Faktörü
IL: İnterlökin
HIV: Human Immunodeficiency Virus
TCT: Tüberkülin Cilt Testi
PPD: Saflaştırılmış Protein Türevi
ARB: Aside Dirençli Basil
PAM: Pulmoner Alveolar Makrofaj
DTH: Gecikmiş Tip Aşırı Duyarlılık (Delayed-Type Hypersensitivity)
TLR: Toll-like Reseptör
MHC(Major Histocompatibility Complex-Büyük Doku Uygunluk Kompleksi)
CMI: Hücre Aracılı İmmün Yanıt (Cell-mediated Immunity)
Th: T helper
IFN: İnterferon
ESAT: Erken Salınan Antijenik Hedef (The early secreted antigenic target)
CFP: Kültür Filtrat Proteini (culture filtrate protein)
C: Karbon
ADA: Adenozin Deaminaz
DGT: Doğrudan Gözetimli Tedavi
TB: Tüberküloz
INH, H: İzoniazid
RIF, R: Rifampisin
PZA, Z: Pirazinamid
EMB, E: Etambutol
SM, S: Streptomisin
PTP: Protein-tirozin fosfataz

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1. AMAÇ

Tüberküloz, *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*)'in neden olduğu, en sık görülen mikobakteriyel hastalıktır. Dünya çapında enfeksiyondan ölümlerin başında gelmektedir. Tüm dünya nüfusunun yaklaşık üçte biri tüberküloz basili ile enfektedir. 2005 yılında dünyada 8.8 milyon yeni hastanın olduğu tahmin edilmektedir ve 1.6 milyon kişi tüberkülozdan ölmüştür. Türkiye'de 2005 yılında tanı konulan tüberküloz hasta sayısı 20.535 olarak bildirilmiştir (1). 'Basille Calmette and Guerin' (BCG) aşısının geliştirilmesine ve etkin ilaçların tedavide kullanılmasına ve Doğrudan Gözetimli Tedavi Stratejisi (DGTS)'nin 187 ülkede uygulanmaya başlamasına karşın, tüm dünyada, özellikle de gelişmekte olan ülkelerde, tüberküloz önemli bir sağlık sorunu olarak varlığını sürdürmektedir.

Yayma pozitif hastaları tanımlama oranları, DGTS programlarının Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) bölgelerinde uygulanmaya başlaması ile %35'ten %76'ya yükselmiştir. *M. tuberculosis* ile enfekte olan bireylerin %90 kadarında mikroorganizmalar sessiz kalan odaklarda tutulur ve klinik belirti vermezler. Basille karşılaşma sonrasındaki ilk iki yıl içinde hastalık gelişmesi riski %5'tir. Kalan %95 olguda ise sessiz enfeksiyon yani latent tüberküloz

enfeksiyonu (LTBE) gelişmektedir. LTBE olgularının %5'i yaşamlarının herhangi bir döneminde aktif akciğer tüberkülozu geliştirmektedir (2).

Bu durum mikobakterinin kendi virölansının hastalığın prognozunu belirleyen tek faktör olmadığının göstergesidir (3).

Farklı toplumlardan bildirilen tüberküloz ile ilgili ikiz çalışmaları konak genetik faktörlerinin, çevresel faktörlerin yanında enfeksiyonun gelişmesinde temel belirleyici faktör olduğuna dikkat çekmektedir. Tüberküloza konak duyarlılığı üzerine etkili olduğu düşünülen genetik faktörler arasında özellikle Natural Resistance Associated Macrophage Protein-1 (NRAMP-1), Mannoz Bağlayan Lektin (MBL), Human Lökosit Antijeni (HLA) tipleri, Vitamin D Reseptörü (VDR), Tümör Nekroz Faktörü- α (TNF- α) ve İnterlökin-1 (IL-1) bulunmaktadır. Yeni moleküler yöntemlerin gelişmesi ile bu konuda artan çalışmalar da konağa ait genetik faktörlerin enfeksiyonun gelişimindeki önemini desteklemektedir.

Mycobacteria, Salmonella ve Leishmania gibi ilişkisiz intrasellüler mikroorganizmalara bağlı enfeksiyonlarda doğal direncin kontrolünün farede birinci kromozom üzerindeki, *Bcg*, *Ity*, veya *Lsh* olarak belirlenmiş tek bir gen ile kontrol edildiği gösterilmiş ve *Bcg* gen bölgesinde bazı aday transkripsiyon birimleri tanımlanmıştır. Bu aday genlerden biri olan *Nramp* cDNA'nın, farelerden alınan örneklerde yapılan nükleotid sekans analizi sonucu saptanan aminoasit değişimi ile enfeksiyona yatkınlık gösteren fenotip arasında bir ilişki gösterilmiştir (4). İnsan monosit cDNA kütüphanesinin taranması ile insan *NRAMP* geni için cDNA izole edilmiştir ve faredeki ile %89 homolog olduğu saptanmıştır (5). *NRAMP1* geni 2q35 lokusuna haritalanmıştır (6).

NRAMP1, makrofajlarda lizozom ve geç endozomların membranlarında lokalize bir proteindir (7). Fagozomal bölgeden divalent katyonların çıkartılması yolu ile enfeksiyonlara karşı defansta rol oynar. Bu katyonlar mikrobiyal fonksiyonlar için gereklidir ve fagozomal çevreden uzaklaştırılmaları ile bakteriyostaz veya bakterisidal aktivitedeki artış, patogenezin zayıflamasına neden olur. Fagositozun bir parçası olarak fagozom membranına dahil olmak yerine trans-golgi yolağındaki endozomal kompartmanı direkt olarak hedefler (8).

Gambia’da yapılan olgu-kontrol çalışmasında *NRAMP1* genindeki polimorfizmlerden bazıları tüberküloz hastalarında daha sıklıkla heterozigot olarak saptanmıştır (9). Yapılan bağlantı analizi çalışmaları ile 2q35 bölgesinde *NRAMP1* geninin hemen distalinde bir tüberküloz yatkınlık lokusu saptanmıştır (10). Günümüze kadar çeşitli etnik gruplardaki tüberküloz hastalarında ve diğer intrasellüler patojene bağlı enfeksiyonlar ile çeşitli otoimmün hastalıklarda farklı *NRAMP1* gen polimorfizmleri çalışılmış ve yatkınlık veya direnç açısından değişen sonuçlar elde edilmiştir (11,12). Tüberkülozun klinik formları, radyolojik bulguları, tanı yöntemleri, tedaviye yanıt durumları ile *NRAMP1* gen polimorfizmleri de çeşitli araştırmacılar tarafından farklı etnik gruplarda ilişkilendirilmeye çalışılmıştır (12).

Tüberküloz, günümüzde ülkemiz için önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Tüberküloza yatkınlık veya direnç durumu ile *NRAMP1* gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi araştıran, farklı etnik gruplarda çalışılmış ve farklı sonuçlar elde edilmiş çalışmalar olmasına rağmen henüz Türk toplumunda yapılmış *NRAMP1* geni ile tüberküloz ilişkisini araştıran bir çalışma bildirilmemiştir. Bu alışmada Türk toplumundaki tüberküloz

olgularında *NRAMP1* genine ait dört polimorfizm ile hastalığın gelişmesi, yaş ve cinsiyet farklılıkları, çeşitli klinik formları, ilaca direnç durumu arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

1.2. GENEL BİLGİLER

1.2.1. Tüberküloz

Tüberküloz, %97-99 oranında çok sayıda antijene ve değişik virülans faktörlerine sahip *Mycobacterium tuberculosis* basili ile, farklı klinik tablolarda gelişebilen kronik granülomatöz bir enfeksiyon hastalığıdır (13). Pulmoner tüberküloz, klinik olarak ateş, öksürük, kilo kaybı ve anormal akciğer grafisi ile karakterizedir. Akciğer dışı tüberküloz semptomları ise etkilenen organa bağlı olarak değişiklik göstermektedir (14).

1.2.1.1.Tarihsel Gelişim

Tüberkülozun genetik bir hastalık olduğu görüşünden, 1843'te insandan alınan kazeöz materyalin tavşanlara enjeksiyonu ile tüberkülozun bulaştığının deneysel olarak gösterilmesi ile uzaklaşmaya başlanmıştır. Robert Koch, 1882 yılında *M. tuberculosis*'i bulmuş ve tüberküloz hastalığının etkeni olduğunu ispat etmiştir. Flügge 1897 yılında hastalığın damlacıklar yoluyla bulaştığını bildirmiştir. Wilhelm Konrad von Rontgen 1895 yılında hastalığın konaktaki prognozunun ve ağırlığının takibini sağlayacak X ışınını bulmuştur.

Calmette ve Guerin, 1922 yılından günümüze dek insanlarda kullanılan Basille Calmette and Guerin (BCG) aşısını bulmuşlardır. Çeşitli etken maddelerin denenmesine rağmen, tüberküloz kemoterapisinde 1944 yılındaki ilk Streptomisin uygulamasına kadar başarılı sonuçlar elde edilememiştir. Streptomisinin ve diğer antitüberküloz ilaçların keşfi ile *M. tuberculosis*'in tedavi edilebilecek bir bakteri olduğu ispat edilmiştir.

Günümüzde ikiz çalışmalarının sonuçlarının da desteklediği gibi tüberküloz konak genetik faktörlerinin de hastalığın ortaya çıkışında ve prognozunda etkili olduğu bir enfeksiyondur.

1.2.1.2. Epidemiyoloji

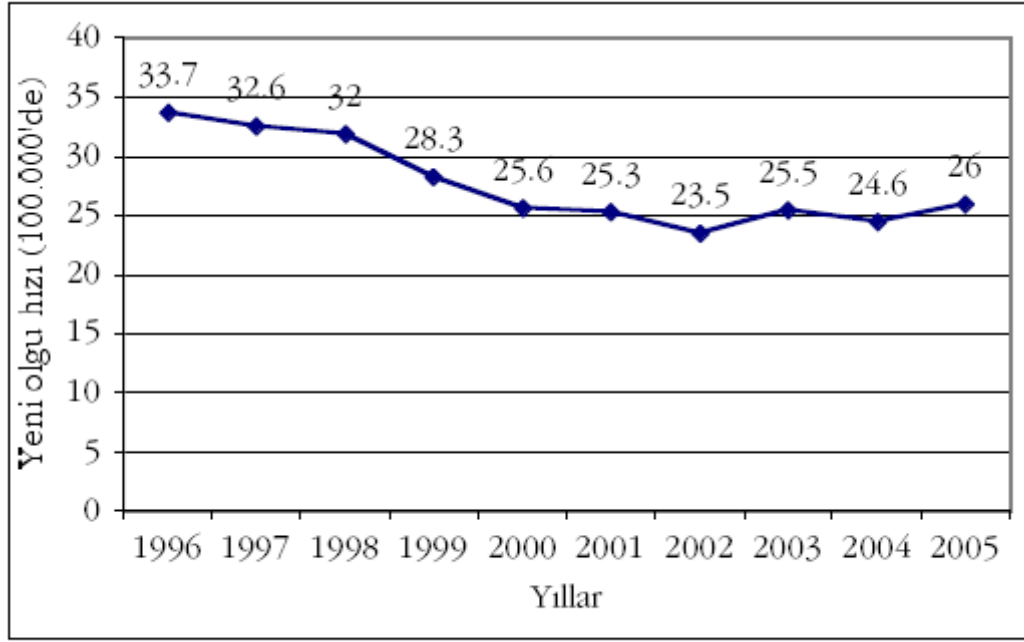
Yirminci yüzyılın ikinci yarısında, aşı uygulamaları ve kemoterapi etkisiyle endüstrileşmiş ülkelerde tüberküloz olgularının morbidite ve mortalitesinde bir düşüş görülmüştür. Ancak 1985'ten sonraki on yılda olgu sayısında %12'lik bir artış olmuştur. DSÖ ve Tüberküloz ve Akciğer Hastalıkları ile Savaşım Birliği (IUATLD)'nin 1990 araştırma sonuçlarına göre *M. tuberculosis* ile enfekte kişi sayısı 1.7 milyar iken, 1994'te 1.9 milyar olarak bildirilmiştir. DSÖ'ne 1980 ve 2005 yılları arasında bildirilen tüberküloz olgu sayısı ise 90 milyondan fazladır. DSÖ 2007 tüberküloz raporunda, yeni olgu sayısı 8.8 milyon olarak bildirilmiştir. Bu olguların 7.4 milyonu Asya ve batı Afrika'da bulunmaktadır. Tüberküloz nedeniyle ölen 1.6 milyon kişinin 195.000'i HIV (Human Immunodeficiency Virus) ile enfekte olarak bildirilmiştir (1).

HIV enfeksiyonunun ortaya çıkışının dünyadaki tüberküloz olgu sayısının artışına katkısı yanında, tüberküloza bağlı mortalite ve morbiditedeki artışa da neden olduğu görülmektedir. HIV ile enfekte olgulardan her yıl yüzde onunun tüberküloz enfeksiyonunu geliştirmesi beklenmektedir. Bu duruma ek olarak ilaca dirençli tüberküloz olgularının çevrelerini enfekte etmeleri, sanayileşmiş ülkelere, yüksek tüberküloz insidansına sahip ülkelerden göçlerin fazla olması da olgu sayısının artışına katkıda bulunmuştur (15).

DSÖ, olgu sayılarındaki artış ve tüberküloz kontrol çalışmalarının başarılı olamaması nedeniyle acil durum ilan etmiş ve DGTS uygulamaları 90'lı yılların sonlarına doğru hız kazanmıştır. Birçok ülkede DGTS kabul görmüştür ancak halen yeterli organizasyon sağlanamamıştır. DGTS uygulamalarına dahil olan yaklaşık 5 milyon tüberküloz hastası 2005 yılı için bildirilmiştir.

Dünyadaki tüberküloz olgularının dağılımı ekonomik durum ile korelasyon göstermektedir. Afrika, Doğu Akdeniz ve Güneydoğu Asya'da yeni olgu sayılarında artış devam etmektedir.

Ülkemizdeki tüberküloz hastalığı insidansı, Sağlık Bakanlığı, Verem Savaşı Dairesi Başkanlığı, Türkiye'de Verem Savaşı, 2007 Raporuna göre, 2005 yılında tanı konulan 20.535 hastadan 18.753'ü (%91.3) yeni olgudur ve olgu hızı 26.0/100.000'dir. Bu olguların %73'ü akciğer tüberkülozu, %27'si ise akciğer dışı tüberküloz tanısı ile izlenmiştir. Hastaların %34.9'u kadındır. Ulusal Tüberküloz Programı tarafından yapılan raporlamada DGTS'nin 2003 yılındaki yaygınlığı %2, 2005 yılındaki yaygınlığı %3 olarak bildirilmiştir (16).



Şekil 1. Türkiye’de tüberküloz yeni olgularının olgu hızları, 1996-2005 (17).

Ancak 2006 yılı haziran ayında sağlık bakanlığı bütün illerde DGTS uygulamasını başlatmıştır. 2005 yılı hastalarının verileri Türkiye Ulusal Tüberküloz Sürveyans Araştırması (TUTSA) adlı proje ile bireysel toplanıp analiz edilmiştir. Verilerin toplanmasında, DSÖ ile uyumlu ülkemizde kullanılan tanımlar ve Avrupa Tüberküloz sürveyansının veri standartları esas alınmıştır. Hazırlanan Türkiye’de Verem Savaşı, 2007 Raporu, Verem Savaş Derneği’ne kayıtlı hastalar esas alınarak, ülkemizdeki tüberkülozun durumuna ilişkin bir tabloyu değişik yönleri ile sunmaktadır. Hastanelerde ve laboratuvarlarda tanı almış fakat kayda geçmemiş hastalar olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, DGTS uygulamalarının ülke çapında başlamasından önce yapılan bu sunu, sonraki yıllarda ortaya konulacak yeni verilerin karşılaştırılabileceği bir temel oluşturmaktadır ve verem savaşı hizmetlerinin değerlendirilmesinde kanıta dayalı yaklaşımı sağlayacaktır. Bu

rapora göre 1996 yılındaki 33.7/100.000 olan yeni olgu hızı 2005 yılında 26/100.000'ya düşmüştür [Şekil 1, (17)].

1.2.1.3. Tüberküloz Basili (*M. tuberculosis*)

Aside dirençli uzun ve kısa çomaklar halinde, hareketsiz, sporsuz, aerobik, kapsülsüz bir mikroorganizmadır. Etken, fiziksel ve kimyasal maddelere karşı oldukça dirençlidir. Aside dayanıklılığı basillerin boyalı preparatlarda kolaylıkla tanınmasını sağlar. Çoğalma zamanı 18-25 saattir. Hidrofob oluşları ve küme halinde üreyişleri sebebiyle dış etkenlere oldukça dayanıklıdır. Fenol (%2), kreosol (%1), formalin (%3) ve NaOH (%5) solüsyonlarında 4 saatte ölür. Mera, toprak ve gübrede 2-6 ay canlı kalır. Kurumaya karşı dayanıklıdır. Pastörizasyon ısısında genellikle ölmelerine karşın bazıları 75-80⁰C' ye 5-10 dakika, 100⁰C'ye bir dakika, güneş ışığına iki saat dayanır. Salt alkol (%70-90)'e 5-10 dakika dayanır. Karanlık ve kuru ortamlarda aylarca canlı kalabilir.

Kimyasal olarak protein, polisakkarit ve lipidlerden meydana gelmişlerdir. Tüberküloz basillerinin hiçbir toksini yoktur. Organizmada çoğalmaları sonucunda hastalık meydana getirirler. Zorunlu aerob hücre içi parazitlerdir ve bu özelliği nedeniyle akciğerlerin üst loblarına yerleşme eğilimindedirler (18).

1.2.1.4. Tüberkülin Cilt Testi (TCT)

Tüberkül basil kültürü filtresinden elde edilen saflaştırılmış protein türevi (PPD)'nin içerdiği *M. tuberculosis* antijenlerine karşı oluşan, aktive edilmiş antijen spesifik T hücre aracılı gecikmiş tip aşırı duyarlılık yanıtıdır. Kişinin tüberküloz basili ile enfekte olup olmadığını gösterir, hastalık hakkında bilgi vermez. LTBE'nun tanımlanması TCT reaksiyonunun pozitif saptanması ile mümkün olabilir ancak aktif enfeksiyon varlığını ekarte ettirmez (19, 20). *M. tuberculosis* enfeksiyonu ile BCG aşılama veya çevresel mikobakteri ile temas arasında da TCT reaksiyonunun pozitif saptanması ayırıcılık sağlamaz. TCT'nin negatif saptanması miliyer tüberküloz veya sepsiste görülebilir, tüberküloz hastalığını hiçbir zaman ekarte ettirmez (21).

1.2.1.5. Tüberküloz Basilinin Bulaş Yolları ve Konaktaki Seyri

Tüberküloz, hava yolu ile bulaşan hastalıkların klasik bir örneği olarak kabul edilmektedir. Çevresel faktörler, kaynak olgunun, tüberküloz basilinin ve hedef kişinin özellikleri, karşılaşma süresi ve yoğunluğu bulaşı etkileyebilecek faktörler arasındadır (22).

Tüberküloz hastalığında bulaştırıcılığı yüksek olan gruplar, akciğer, endobronşiyal, larinks tüberkülozlu, balgam yaymasında aside dirençli basil (ARB) pozitif olan, akciğer grafisinde kavitasyon görülen olgulardır. 'Damlacık çekirdekleri ile bulaşma teorisi' 1930'lu yıllarda Wells ve

arkadaşları tarafından ileri sürülmüştür. Hastalık etkeni olabilecek damlacık çekirdekleri 1-3 canlı tüberküloz basili içeren ve birkaç saat havada asılı halde kalabilen, çapı 1-5 mikron arasında değişen özelliktedirler. Kaynak olgunun akciğerlerinde bulunan basil sayısı balgam yayması ile değerlendirilebilir. Mililitresinde 10.000 basil bulunan olguların yayması %95 oranında pozitif olarak tesbit edilir. Balgam yayması negatif, kültürü pozitif hastalar yayması pozitif olanlara oranla daha az bulaştıracıdır. Tedavi almakta olan yayma pozitif hastalar da tedavi almayanlara oranla daha fazla bulaştıracıdır (18).

Uzun süre ve yakın temas, uygunsuz havalandırılan ortamlar basil içeren damlacıklara maruziyeti artırarak bulaşıcılık riskini arttıran çevresel faktörlerdir.

Hastalığa veya basile direnç, hastalanmayı kolaylaştıran eşlik eden durumların bulunması, basil kaynağı ile geçirilen süre hastalığın ortaya çıkışını etkileyen hedef kişiye ait faktörlerdir (18).

Tüberküloz basili hasta ineklerden alınan, çiğ olarak tüketilen süt yoluyla sindirim sisteminden, daha nadir olarak konjuktivadan, östaki tüplerinden aspirasyonla orta kulaktan, genitoüriner sistemden, deriden organizmaya girebilir (18).

Konjenital tüberküloz çok nadirdir ve fetus karaciğerinde bir primer kompleks bulunması kanıtıdır (18).

M. tuberculosis ile enfekte olan bireylerin %90 kadarında mikroorganizmalar sessiz kalan odaklarda tutulur ve klinik belirti vermezler.

TCT negatif temaslıların %30'u enfekte olur ve klinik ve radyolojik hiçbir bulgu olmaksızın TCT'leri pozitifleşir (primer enfeksiyon) (23). Basille karşılaşma sonrasındaki ilk iki yıl içinde erken hastalık gelişimi ile primer tüberküloz gelişmesi riski %5'tir. Kalan %95 olguda ise sessiz enfeksiyon yani latent tüberküloz enfeksiyonu gelişmektedir. LTBE olgularının %5'i yaşamlarının herhangi bir döneminde geç reaktivasyon hastalığı (sekonder tüberküloz) geliştirmektedir (2).

Solunum yolu ile alınan basillerin en sık yerleştiği orta ve alt akciğer zonlarında viseral plevranın hemen altında, kapiller dilatasyon ve kandan gelen polimorf nüveli lökositler ile eksudasyon oluşur. Yaklaşık bir gün sonra lezyon bölgesine alveolar makrofajlar toplanmaya başlar ve özgül olmayan bir inflamatuvar yanıt gelişir. Bu evrede alveolar makrofajların mikrobisidal gücü ve basilin virulansı sonucu belirler. Basil sayısı fazlaysa, virülansı yüksekse ve konakçının immünitesi zayıfsa makrofajlar basili öldüremez, basil çoğalarak makrofajı parçalar.

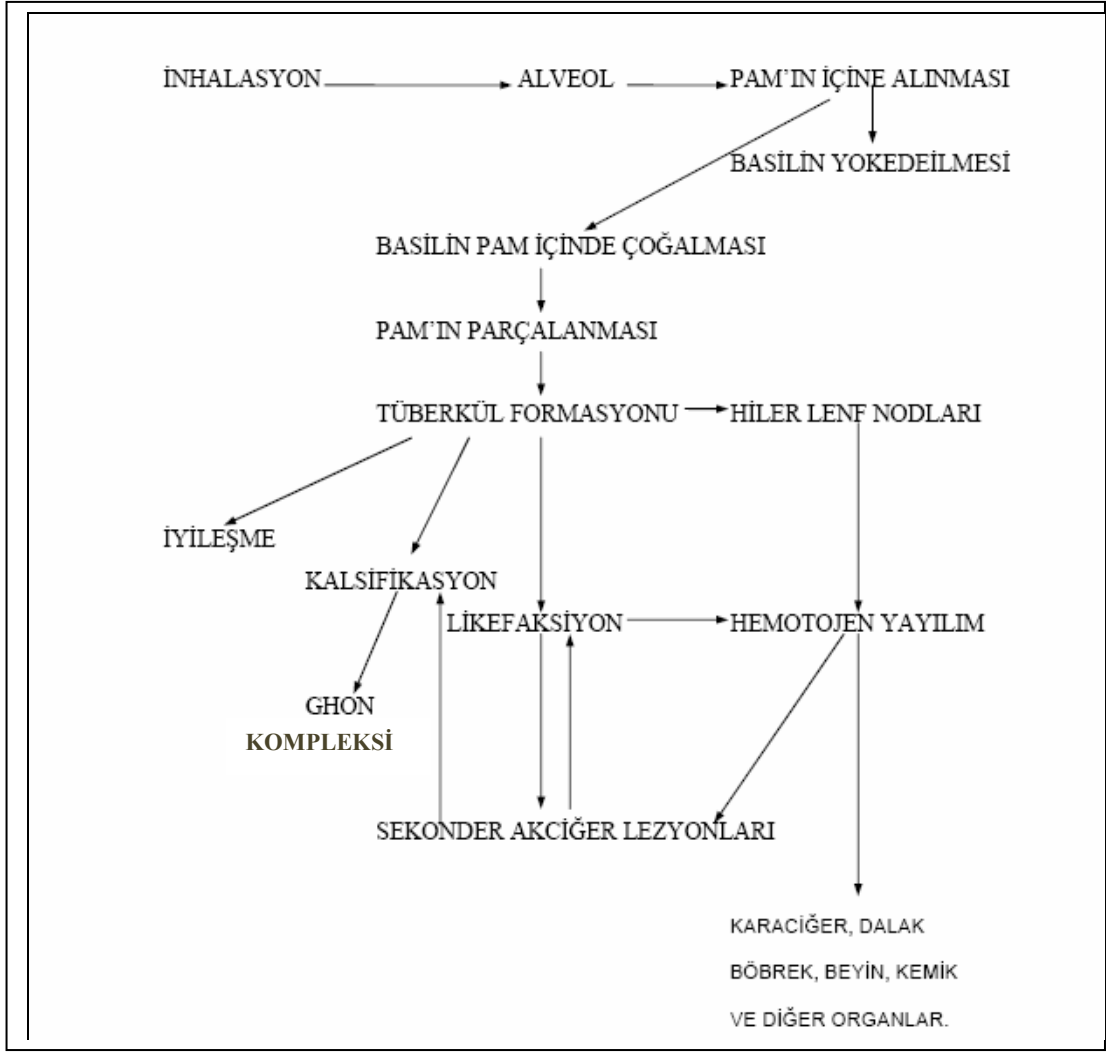
- Güçlü bir konakçı yanıtı ile alveolar makrofajlarca basiller fagosite edilebilir ve hiçbir lezyon oluşmayabilir. Basille karşılaşan olguların %90'ında bu şekilde latent enfeksiyon gelişir. Klinik semptomlarının olmaması, balgam yayma incelemesinde ARB bulunmaması, akciğer lezyonlarında radyolojik ilerleme olmaması latent enfeksiyonun özelliğidir. Bu olgular TCT uygulaması sırasında tanınabilirler.
- Bölgeye monosit, makrofaj, nötrofil ve T lenfosit göçü olur. Epiteloid hücreler ve Langhans tipi dev hücreler tüberkül formasyonu oluşturarak olayı sınırlamaya çalışırlar. Ancak basiller çoğalmaya başlayabilir ve olayın başlangıcından 2-4 hafta sonra aktive olan

CD4+ T hücreleri bölgeye gelir. Yardımcı T hücreleri sitokinler yoluyla makrofajları aktive edip basilleri öldürebilme yeteneği kazandırır. Bu evrede lezyonlardaki basil sayısı Hücre Aracılı İmmün Yanıt (CMI) ile yok edilemeyecek sayılara ulaşabilir ve gelişen gecikmiş T hücre yanıtı basillerin logaritmik çoğalmasını durdurur. Tüberkül merkezinde nekroz ve fibrozis gelişmesi sonucunda granülom oluşur. Granülom merkezinde birkaç milimetre çapındaki küçük kazeöz lezyonların (Ghon foküsü) oluşumu ile koruyucu immünite gelişebilir. Basiller bu odaklarda canlılıklarını sürdürebilir ancak ortam koşullarının uygun olmaması nedeniyle daha fazla çoğalamazlarsa, latent enfeksiyonu oluşturabilecek şekilde az sayıda inaktif halde kalabilirler. Klinik ve radyolojik hiçbir bulgu olmaksızın TCT pozitifleşerek primer enfeksiyon oluşur.

- İmmün denetim yetersiz kalır ve basiller çoğalmaya devam ederse, makrofajı parçalayarak ve salınan kemotaktik faktörlerin de etkisiyle dolaşımdaki inaktif makrofajların lezyon bölgesine gelmesine neden olurlar. Bu makrofajların basillerin etrafında toplanması ile granülom oluşur. Geniş kazeöz lezyonların oluşması ile basiller, kan ve lenfatik sistem yoluyla özellikle apikal kısımlarda yerleşen akciğer tüberkülozu veya akciğer dışı tüberküloz (dalak, karaciğer, kemik, böbrek, santral sinir sistemi) oluşturacak şekilde lenfohematojen yol ile tüm vücuda dağılabilir ve primer tüberküloz (erken hastalık) tablosu oluşabilir. Lenf yolları ile hiler lenf bezlerine ulaşan basiller primer foküse (Ghon foküsü) uyan bir kompleks meydana getirirler. Akciğer ve lenf

bezlerindeki foküsler ile aralarındaki lenfatik damar üçlüsü primer kompleksi meydana getirirler (18).

- Primer enfeksiyon veya hastalıktan yıllar sonra inaktif basillerin çoğalmaya başlaması veya eksojen reenfeksiyonu ile yetişkin tip akciğer tüberkülozu olan geç reaktivasyon hastalığı (sekonder tüberküloz) gelişebilir. Yaygın granulom bütünlüğünün bozulması ile doku yıkımı meydana gelir ve bu süreç kavitasyon oluşumu ile sonuçlanır. Yetişkin akciğer hastalığının karakteristik bir özelliğidir. Kazeöz materyale komşu bronş duvarında nekroza bağlı gelişen rüptür ile basiller diğer akciğer bölgelerine ulaşırlar. Kavite oluşumu hem kişide hastalığın yayılmasına hem de hastanın bulaştırıcı özellik kazanmasına neden olmaktadır [Şekil 2, (18)].



Şekil 2. Akciğer tüberkülozu patogenezi (21).

- İntrasellüler patojenlerle oluşan enfeksiyonlar hücre aracılı immün yanıt ile kontrol edilir. Etkili bir hücre aracılı immün yanıt iyi organize olmuş granülomatöz lezyonlarda bulunan patojen organizmalara bağlı enfeksiyonun yayılmasına karşı konağı koruyacaktır (24). Konağın hücre aracılı immün yanıtı makrofaj aktivasyonu ile basil çoğalmasını inhibe eden bir süreç olarak tanımlanırken, gecikmiş tip aşırı duyarlılık (Delayed-Type Hypersensitivity-DTH) yanıtı basillerin üremesi için uygun hücre içi ortamı ortadan kaldırıp, basil yüklü aktive olmamış makrofajları ve komşu dokuları hasarlayarak basil çoğalmasını önleyen bir süreçtir. Bu iki sürecin gelişimi tüberküloz

patogenezinde belirgin rol oynamaktadır. Bu immun yanıtlar oluşuncaya kadar, basilin kendisi konakçı dokularda herhangi bir hasar yaratmaz (18).

Tüberkülozun kontrolü enfekte makrofajların aktivasyonu ve çeperlerinde granülomatöz lezyonların formasyonu ile basillerin yayılımının önlenmesi gibi antijen spesifik T-hücre yanıtının oluşmasına bağlıdır. Makrofajların mikobakteri enfeksiyonları sırasında birçok rolü bulunmaktadır. Bunlar mikobakterilerin intrasellüler çoğalması için ana konak hücrelerdir. Enfeksiyon bölgesindeki lenfositlerin reaktivasyonu sırasında antijen sunan hücre olarak davranırlar ve mikobakterinin öldürülmesinden sorumludurlar (25). Makrofajlar ve dendritik hücreler tarafından patojenin Toll-like reseptörler (TLR), mannoz reseptörleri ve kompleman reseptörleri aracılığı ile fagosit edilmesi insan immün sisteminin aktive olmasında ilk basamaktır (24). TLR'ler memeli hücre yüzey proteinlerinin bir ailesini oluştururlar ve proinflamatuvar sitokin gen transkripsiyonu ile patojen ilişkili moleküllere bağlanarak dendritik hücre matürasyonunu uyarırlar. TLR-2 mikobakteriyal lipoproteinlerin tanınması ile ilişkilidir.

Dendritik hücre matürasyonu en uygun antijen üretimi ve salınımını sağlamaktadır. Antijen üretimi özelleşmiş konak hücre proteinleri olan Büyük Doku Uygunluk Kompleksi (MHC-Major Histocompatibility Complex) molekülleri ile, fagosit edilmiş mikobakteriyal proteinlerin daha küçük peptidlere parçalanmasını sağlar. Hücre yüzeyine taşınan MHC-peptid kompleksleri antijen sunumunda T hücrelerle birlikte görev alır (23).

Fagosit edilen basil farklı hücre içi öldürme mekanizmaları ile yok edilmeye çalışılır. Fagozom-lizozom birleşmesi, reaktif oksijen ve reaktif

nitrojen ara ürünlerinin üretimi önemli mekanizmalardandır. ATP bağımlı bir proton pompasıyla ortamın asiditesinin uygunluğunun sağlanması ile lizozomal enzimler fonksiyonlarını en iyi şekilde gösterebilirler. Nitrojen ve oksijen ara ürünlerinin üretimi, basilin protein yapısı ve DNA'sında hasar oluşturarak ölümüne neden olur. Ayrıca enfekte makrofajın ölümü de, hücre içi canlı basil sayısını azaltarak konakçı savunmasına katkıda bulunmaktadır (26).

Mikobakteriler makrofajlardaki sağ kalımlarını arttırmak için bazı mekanizmalar geliştirmişlerdir. Bunlar mikobakteri içeren fagozomların maturasyonunun durması, fagozom asidifikasyonunun önlenmesi ve fagolizozomal birleşmenin inhibisyonudur. Ancak *M. Tuberculosis* yoğun amonyak üretebilme yeteneği nedeniyle lizozomal enzimlerin etkisini azaltarak ve diğer bir mikobakteriyel ürün olan sülfatidler ile birlikte de fagozom-lizozom birleşmesini inhibe ederek vakuol içindeki toksik çevreden kaçabilir (27). Mikrobiyal fonksiyonlar için gerekli olan divalent katyonların fagozomal çevreden uzaklaştırılmaları ile bakteristaz veya bakterisidal aktivitedeki artış, patogenezin zayıflamasına neden olur (8, 28). NRAMP1 (SCL11A1) makrofaj aktivasyonunda pleiotrofik etkili, makrofajların lizozomal kompartmanında eksprese olan bir polipolik integral membran proteindir. NRAMP1 (SCL11A1), Cysteine-X amino acid-Cysteine (CXC) kemokine, İnterlökin-1 β (IL-1 β), inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS), Büyük Doku Uygunluk Kompleksi (MHC) sınıf II molekülü, Tümör Nekroz Faktörü- α (TNF- α), Nitrik Oksid (NO) salınımı, L- arjinin düzeyleri, oksidatif burst, tümörisidal ve antimikrobiyal aktivite regülasyonunu içeren etkilere sahiptir.

M. tuberculosis'in immünolojik kontrolü Th hücrelerine bağlıdır. T hücreleri, CD4+ ve CD8+ T hücreleri olarak iki ana gruptur. Hastalık bölgesindeki temel T hücreleri CD4+ olanlardır ve primer rolleri çevredeki diğer immün hücreleri kontrol edecek şekilde sitokinlerin üretimidir. Tüberküloz spesifik CD4+ T hücreleri esas olarak Tip I sitokinleri üretirler (22). CD4+ T hücrelerinin Th1 hücrelerine farklılaşması, CD4+ hücrelere MHC sınıf II ile sınırlı mikobakteriyal antijen sunumu ile sağlanmaktadır. IL-12, IL-18 ve IL-23 gibi erken sitokin ortamı TLR-2'nin aktivasyonu aracılığı ile kısmen uyarılır. Th1 yanıtı IFN-gamma (IFN- ) 'nın üretimi ile olmaktadır, IFN-  makrofajların optimal aktivasyonundaki en etkili Tip I sitokindir. Reaktif oksijen ve nitrat ara ürünleri gibi anti-mikobakteriyal moleküllerin üretimi ve fagozomal matürasyonu böylece destekler. TNF de granuloma oluşumunda ve devamlılığında önemli olan diğer Tip I sitokinlerdendir. CD8+ T hücreleri de sitokinleri salgılayabilirler ve direk olarak mikobakteri içeren makrofajları öldürme yeteneğine sahiptirler. Mikobakteriyel antijenler MHC sınıf I yolağı üzerinden CD8+ hücreleri aktive eder. Bu hücreler mikobakteriyi granulin ve perforinin makrofajın membranında delik oluşturma etkisiyle öldürebilir ve mikobakterilerin daha etkili efektör hücrelere taşınmasını sağlarlar (23).

T hücreleri ve makrofajlar arasındaki ilişki çift yönlüdür. Akciğerdeki makrofajların ürettiği IL-12 T hücre fonksiyonlarını kontrol eder ve T hücrelerden salınan IFN-  da makrofajları aktive eder.

1.2.1.6. Klinik Bulgular ve Tanı

Tüberküloz basili ile enfekte olduktan sonraki ilk yıl içinde hastalık gelişme riski %15,2'dir. İlk iki yıl içinde %5 olguda, daha sonrasında da %5'inde olmak üzere, yaşamın herhangi bir zamanında tüberküloz hastalığı gelişir (29).

Tüberkülozun endemik olduğu bölgelerde iki temel klinik formu bulunmaktadır. İnsidansın iki yaş bağımlı epidemiyolojik piki ile karşımıza gelmektedir. Küçük çocuklarda, genellikle primer pulmoner enfeksiyonu takiben mikobakterinin erken hematogen yayılımına bağlı olarak dissemine tüberküloz gelişmektedir. Yetişkinlerde ise enfeksiyon genellikle akciğerlerde sınırlıdır ve sessiz primer enfeksiyondan latent tüberkülozun reaktivasyonu ile hastalık görülür (3).

Basilin alınmasını takiben otuz yıllık süreçte gelişen enfeksiyonun %80'i ilk iki yıl içerisinde görülmektedir (30). Türkiye gibi tüberkülozun yaygın olduğu ülkelerde tüberküloz basili ile karşılaşmanın yaşamın erken yıllarında fazla olması nedeniyle primer tüberküloz sıklıkla çocukluk yaşlarına denk gelmektedir ve kontrol altına alınamayan erişkin tüberkülozunun bir yansıması olarak çocuk tüberkülozu ortaya çıkmaktadır. Erişkin bir tüberkülozlunun temaslı taraması yapılırken özellikle çocuk yaş grubu bu nedenle iyi değerlendirilmelidir. Enfeksiyondan hastalık gelişmesi ilk beş yaşta daha fazla görülür ve miliyer ve menenjit tüberküloz gibi önemli hastalık şekilleri bu yaş grubunda daha sıktır (17). Daha yavaş progresyon gösteren olgular iki yıldan daha uzun süre sonrasında hastalık geliştirebilirler ve

reaktivasyon olguları olarak değerlendirilir, sekonder tüberküloz (erişkin tüberkülozu) olarak da adlandırılırlar (31). Çocukların balgamında, açlık mide suyunda basil sayısı az olduğu için yetişkinlerden farklı olarak bakteriyolojik tanı oranı %30-50'dir ve yetişkinlere oranla çok daha az bulaştıracıdır (29, 32). Ancak semptomları veya akciğer grafisindeki bulguları ile tüberküloz hastalığı tanısı almış olan çocuklar, ardışık olarak üç balgam yayması negatif bulunana, öksürüğü azalana ve uygun tedavisi tamamlana kadar izole edilmelidir (32).

Tüm tüberküloz olgularının %80-90'ında hastalık akciğerlerde ortaya çıkar. Primer enfeksiyonunun bakteriyemik fazı sırasında lenfohematojen yayılım veya komşuluk yoluyla direkt invazyon sonucu diğer organlara basillerin ulaşması ile metastatik bir odak oluşur. Klinik latent bir dönemin arkasından bu odağın aktif hale geçmesi sonucu akciğer dışı tüberküloz gelişir (33). Lenfatik sistem, tüberküloz hastalığının en sık görüldüğü akciğer dışı organdır. Plevra, santral sinir sistemi, genitoüriner sistem, kemikler ve eklemler tek başlarına tutulabileceği gibi, akciğer dışı tüberküloz yaygın olarak tüm organları tutabilir ki buna miliyer tüberküloz (ya da dissemine tüberküloz) denilir. Primer enfeksiyon sonrası ilk iki yılda gelişen genellikle akciğer dışı tüberkülozdur. Çocuklarda hematojen yayılım olasılığı yüksek olduğundan akciğer dışı tüberküloz görülmesi daha sıktır (29) .

Akciğer dışı tüberküloz ateş, anoreksi, kilo kaybı, halsizlik gibi semptomların yanı sıra tutulan organa bağlı tüberküloza özgün olmayan semptomlara da neden olarak bir çok hastalıkla karışabilir. Akciğer dışı tüberküloz, tüm tüberküloz olgularının %15-20'sini oluşturur (33). Türkiye

TUTSA verilerine göre ise 2005 yılı yeni olgularının %71.4'ü akciğer, %28.6'sı akciğer dışı tüberküloz hastalarından oluşmaktadır (17). Çocuklarda ise tüberküloz olgularının %25-30'u ekstrapulmoner tüberkülozdur (22,23).

Çocuklarda akciğer tüberkülozu oldukça hafif klinik bulgularla seyreder. Erişkinlerde sıklıkla görülen ateş, iştahsızlık, halsizlik, kilo kaybı veya kilo alımının durması ve balgamlı öksürük gibi yakınmalara çocuklarda oldukça az oranda rastlanır. Uzun süren kilo alamama, kuvvet kaybı, terleme, öksürük, wheezing, bir haftadan uzun süren ve açıklanamayan ateş görülebilmektedir. Ral, ronkus duyulması, hepatosplenomegali, eklem ve kemiklerde hassasiyet, hareket kaybı fizik muayenede saptanabilecek bazı bulgulardır. Aşırı duyarlılık reaksiyonu nedeniyle ilk yıl içinde flükteniler konjunktivit, enfeksiyonun 3-8. haftalarında eritema nodosum görülebilir. Çocuklarda primer tüberküloz hastalığının %95'i akciğerlerde meydana gelmektedir. Bu nedenle şüphelenilen her çocuk primer odak ve lenfadenopati açısından ön-arka ve yan akciğer grafileri ile değerlendirilmelidir. Direk grafiler ile saptanamayan lenfadenopatilerin yarısı bilgisayarlı tomografi ile saptanabilmektedir. TCT ile birlikte değerlendirildiğinde tüm bu bulgular tanıda yardımcıdır (21).

TCT sınırlarının değerlendirilmesinde pozitif kabul edilen hastalar üç grupta incelenebilir (21).

PPD: 5-9 mm

- Tüberkülozlu erişkinlerle temaslılar
- Klinik veya radyolojik olarak tüberküloz bulguları olanlar

- HIV seropozitifliler

PPD: 10-14 mm

- Yüksek prevalanslı bölgede doğup yaşayan bebek ve çocuklar
- İntravenöz ilaç bağımlılığı
- Tüberküloz riskini arttırdığı bilinen koşullarda yaşayanlar
- İmmunosupresif ilaç alan ya da hastalığı olanlar

PPD $\geq$ 15 mm

- Risk bulunmayan kişiler

Erişkin bir hastada semptomlar solunum sistemi ve genel semptomlar başlıkları altında incelenebilir. Bu bulgularından bir veya birkaçının bulunması ile tüberkülozdan şüphelenmek gerekir.

- Solunum sistemine ait semptomlar arasında daha önce başka bir hastalığa ait olduğu gösterilmemiş, başlangıçta kuru ve kesik kesik olan, üç haftayı geçen öksürük görülebilir. Parankim lezyonlarının ilerlemesi ile öksürük balgamlı hale dönüşebilir ve bronş tutulumu da varsa uzun süre devam edebilir. Özellikle kaviteli olgularda belirgin olacak şekilde balgam kanlı olabilir. Etkin bir tedavi ile birinci ayın sonunda kaybolur. Plevra tüberkülozunda ve pnömotoraksta nefes darlığı ve göğüs ağrısı görülebilir (30).

- Halsizlik, yorgunluk, zayıflama, iştahsızlık, ateş, gece terlemesi hastalarda görülen fakat özgün olmayan sistemik semptomlardır. Hafif

derecede ateş çeşitli çalışmalarda %35-80 arasındaki sıklığıyla en sık gözlenen sistemik semptom olarak verilmektedir. Öğleden sonraları başlayan ateşin düşmesi ile birlikte, gece terlemeleri görülür (30). Hasta genel olarak soluktur ve kilo kaybı nedeniyle zayıftır. Miliyer tüberkülozda yaygın lenfadenopati ve hepatosplenomegali saptanabilir. Diğer organ tüberkülozlarında bulgular, tutulan organa göre değişir. Larinks tüberkülozunda ses kısıklığı, omurga tüberkülozunda sırt ağrısı, böbrek tüberkülozunda idrarda kan görülmesi ve rutin idrar kültürlerinde etken mikroorganizmanın saptanamaması, tüberküloz menenjitte kusma ve baş ağrısı gibi yakınmalar olabilir (33).

Tüberküloz hastalığı şüphesi olan erişkinlerin değerlendirilmesinde hastanın öyküsünün iyi alınması gerekir. Çevresinde tüberküloz hastasının olup olmadığı ve önceden tüberküloz hastalığı geçirip geçirmediği öğrenilmelidir. Daha önceden de tüberküloz tanısı almışsa, hastalığı döneminde kullandığı ilaçlar, süresi ve düzenliliği ile ilgili bilgi alınmalı ve mümkünse kayıtları incelenmelidir. Hastanın tüberküloz açısından riski artıran bir sağlık sorununun olup olmadığı da sorgulanmalıdır. Olası tüberküloz tanısı genellikle hastanın iyi bir fizik muayenesine, klinik semptomlarının değerlendirilmesine dayanır. Eğer hastada uzun süreli öksürük, ateş ve kilo kaybı varsa tüberkülozdan kuşulanılır. TCT, akciğer grafisi bulguları ile olası tanı desteklenir. Tüberkülozun kesin tanısı balgam yayması veya kültürünün pozitifliğinin görülmesi ile konur (17).

Akciğer tüberkülozunda akciğer grafisi hemen daima bulgu verir. Ancak primer tüberküloz olgularında akciğer grafisi normal olan vaka oranı %15'dir.

Primer tüberkülozda parankimal konsolidasyon (lobar veya segmental) genellikle tek lobda sınırlıdır. Herhangi bir lobda olabilir ve genellikle sublobar, subplevraldır. Birden fazla lob tutulumu ise %25 düzeyindedir. Primer tüberkülozun bakteriyel pnömoniden ayırımında, eşlik eden lenfadenomegali varlığı, sistemik toksisite ve antibakteriyel tedaviye yanıtın olmaması anlamlı bulgulardır. Radyolojik olarak olguların üçte birinde sekel (skar) kalır. Gohn fokusu direk grafide kalsifiye skar olarak görülür ve %15-17 oranında saptanır. Sekonder olarak etkilenen bölgelerin düzelmesi de radyolojik olarak skar veya kalsifikasyonla veya her ikisinin görülmesi ile olabilir ve bu odaklara “Simon odağı” adı verilir. Kalsifiye hiler lenfadenomegali tanıyı destekler. Çocuklarda kavitasyon progressif primer tüberkülozun görünümüdür ve %10-50 oranında görülür. Erişkin tip primer tüberkülozda ise kavitasyon %7-29 oranında görülür. Primer tüberkülozda genellikle klinik ve radyolojik belirti göstermeyen erken hematogen yayım sıklıdır. Tüberkülozun tüm formlarında klinik ve radyolojik olarak saptanabilen miliyer hastalık, primer tüberkülozda ancak %1-7 oranında saptanır (34).

Reaktivasyon tüberkülozundaki sekonder odaklar parsiyel arteriyel oksijen basıncının yüksek ve lenfatik drenajın az olması nedeniyle üst lobların apikal ve posterior segmentleri ile alt lobların süperior segmentlerinde meydana gelir. Reaktivasyon tüberkülozunun en erken radyolojik bulgusu bu alanlara yerleşmiş eksüdatif lezyonlara bağlı olarak meydana gelen, sınırları belirsiz, heterojen opasitelerdir. Üst lobların tutulumu, kavite oluşumu, lenfadenopatilerin olmaması primer tüberkülozdan ayırıcı tanıda önemli radyolojik bulgulardandır. Bilateral üst lob hastalığı %32-64 oranında görülür ve %88 olguda birden fazla segment olaya katılır.

Başlangıçtaki eksüdatif lezyonların bir kısmı daha iyi sınırlı kaba retiküler ve nodüler opasitelere (fibroproduktif veya fibroproliferatif lezyonlar) dönüşebilir, iki lezyonun birlikteliği %79 oranında görülür.

En az 6 aylık radyolojik stabilite ve negatif balgam kültürlerinin peşpeşe alınması inaktif hastalığın en güvenilir kriterleridir. Direkt radyografi ile hastalık aktivitesi değerlendirilemez. Aktivite tespiti için genellikle bronkoalveoler lavaj veya balgamda aside dirençli bakteri üretilmesi (kültür) esastır. Ancak bu %20-25 olguda gerçekleşebilir.

LTBE'nun tanısında, duyarlılık ve özgüllüğündeki sınırlılıklara rağmen, TCT standart test olma özelliğini korumaktadır. Erken salınan antijenik hedef-6 (ESAT6) ve kültür filtrat proteini-10 (CFP-10) gibi, BCG ve tüberküloz etkeni olmayan, diğer mikobakterilerde bulunmayıp sadece *M. tuberculosis*'de bulunan mikobakteriyel antijenlerinin kullanıldığı, tüberküloz enfeksiyonu ayırıcı tanısında %89 duyarlılık ve %98 özgüllük ile kullanılabilecek yeni tanı testleri geliştirilmiştir (35,36).

Aktif tüberkülozun kesin tanısı balgam yayması veya kültürüdür. Yayma mikroskopisinin temel sınırlayıcılığı düşük duyarlılığıdır. Sadece %50-70 tüberküloz hastasında balgam yayması pozitifdir. Kültür daha özgüldür ancak basilin üremesi iki aya kadar uzayabilir (36). Çocukluk çağı primer akciğer tüberkülozunda basilin klasik mikrobiyolojik yöntemler ile gösterilebilmesi %40 düzeyinde kalmaktadır. Mikobakterilerin çoğalmaları sırasında yağ asidini metabolize ettiklerinin bilinmesi, radyoaktif karbon (C)-14 ile işaretlenmiş palmitik asidin kullanıldığı hızlı kültür yönteminin geliştirilmesini sağlamıştır. BACTEC yönteminde, mikobakterilerin yağ asidinin yıkımı

sırasında ürettiği radyoaktif işaretli karbon içeren karbondioksitin radyometrik ölçümüyle saptanması ile sonuç alınabilir. Bu yöntemle balgam çıkaran hastalarda 1-3 hafta gibi kısa bir sürede mikobakterinin saptanması, üreyen mikobakterinin tiplendirilmesi ve antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması mümkün olacaktır (37, 38). Ancak *M. tuberculosis*'in nükleik asid amplifikasyon teknikleri ile saptanması yeni yöntemler içinde en çok ümit verendir. Alınan örnekten basilin DNA'sının polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılıp saptanmasına dayanan bu yöntemde basil sayısının az olduğu durumlarda sonuç alınamaması, kontaminasyon durumlarında yanlış pozitif sonuçlar alınması mümkündür. Bu nedenle sonucun negatif olduğu durumlar hastalığı ekarte ettirmez ve pozitif çıkması her zaman kesin hastalığı göstermez (38). Nükleik asid amplifikasyon testlerinin duyarlılığı farklı çalışmalarda, balgam yayması pozitif saptanan hastalar için % 84-92, balgam yayması negatif saptanan hastalar için % 41-75, tüm olgular dikkate alındığında ise %96-99 olarak bildirilmiştir (36).

Akciğer, karaciğer, kemik iliği biyopsileri ve plevra sıvısının bakteriyolojik ve histolojik incelemeleri tanıda yardımcıdır. Plevral sıvı örneklerinde pürin metabolizmasında rol alan bir enzim olan adenoazin deaminaz'ın (ADA) yüksek olduğunun gösterilmesi tüberküloz tanısını destekler. Özellikle 40 Ünite ve üzerindeki değerler tüberküloz tanısı için değerlidir. ADA2 izoenzimi tüberküloz için daha spesifiktir.

DSÖ'nün çocuklarda akciğer tüberkülozunda kullanılmak üzere hazırladığı rehber gere göre olgular üç grupta değerlendirilir:

1. Şüpheli tüberküloz: Akciğer grafisinde tüberküloz düşündüren bulgular(parankimal lezyon ile birlikte veya parankimal lezyon olmadan hiler opasite) ile birlikte 2 haftadan daha uzun süren öksürük veya wheezing varlığı gibi tüberküloz şüphesi uyandıran klinik bulguların olması

2. Olası tüberküloz: Akciğer grafisinde tüberkülozu kuvvetle düşündüren bulgular (parankimal lezyon ile birlikte veya parankimal lezyon olmadan hiler lenfadenopati veya miliyer görünüm) veya şüpheli akciğer grafisi bulguları ile birlikte tüberkülozlu ile temas öyküsü veya şüpheli akciğer grafisi bulguları ile birlikte PPD testinin pozitif olması.

3. Kesin tüberküloz: Kültürde *M.tuberculosis*'in gösterilmesi

Bunların hiçbirini yoksa tanı büyük olasılıkla tüberküloz değildir. Hastadaki tüberkülin negatifliği 2-3 ay içinde pozitifleşmezse veya klinik durumu iyi veya düzeliyor ise tüberküloz düşünülmemelidir.

Erişkin tipi akciğer tüberkülozu ile primer akciğer tüberkülozu arasındaki farklar tablo 1’de özetlenmiştir.

Tablo 1. Erişkin tipi akciğer tüberkülozu ile primer akciğer tüberkülozu arasındaki farklar

	<i>Primer tüberküloz</i>	<i>Erişkin tipi tüberküloz</i>
YERLEŞİM	akciğerlerin her yeri	başlangıç yeri çoğunlukla apeksler, subapikal bölgeler ve alt lobların apikal bölgeleri
YAYILIM	lenfo-hematojen yolla	bronş yolu ile
KAVİTE	nadir	sık
SPONTAN ŞİFA	büyük bir kısmında	sık değil
YAŞ	küçük	erişkin

1.2.1.7. Korunma ve Tedavi

Doğrudan gözetimli tedavi stratejisi, Dünya Sağlık Örgütü tarafından 1991’de tanımlanmış olan tüberküloz kontrolü için önerilen stratejidir. Doğrudan gözetimli tedavi (DGT), görevli bir kişinin, hastanın her doz ilacını yuttuğunu gözlemesidir. Bu görevli, eğitim almış ve denetlenen bir kişidir. Böylece hastanın tedaviye uyumu garantilenir, her doz ilacı içtiğinden emin olunur.

DSÖ'nün 2002 Tüberküloz raporuna göre DGTS şu unsurlardan oluşur (39):

- Tüberküloz kontrol aktivitelerinin sürekliliğini ve bütünlüğünü sağlamak için hükümetin kararlılık içinde olması
- Sağlık kurumlarına kendileri başvuran semptomlu hastalarda balgam yayma mikroskopisi yaparak pasif olgu bulma
- En azından bütün yayma pozitif olgular için, altı-sekiz aylık rejimler kullanarak standart kısa süreli ilaç tedavisi uygulamak. İyi olgu yönetimi; bütün balgam pozitif yeni olgularda başlangıç dönemi süresince, rifampisin içeren rejimlerde idame döneminde ve bütün yeniden tedavi rejimlerinde DGT uygulamayı gerektirir
- Gerekli bütün anti-TB ilaçların düzenli, kesintisiz sağlanması
- Her hasta için, olgu özelliklerini, tedavi sonuçlarını ve TB kontrol programının bütününe performansını değerlendirmeye olanak sağlayan standart bir kayıt ve raporlama sistemi

DSÖ'nün 2007 raporuna göre, dünya popülasyonunun yaşadığı bölgelerin %89'unu kapsayacak şekilde 187 ülkede uygulanmaktadır. DGTS ile izlenen yaklaşık beş milyon tüberküloz hastası 2005 yılı için bildirilmiştir ve yayma pozitif olgu saptama oranları Avrupa ve Batı Pasifik DSÖ bölgelerinde sırasıyla %35 ve %76 olarak farklılıklar göstermektedir.

Tüberküloz koruma çalışmalarında, en etkili yaklaşım bulaştırıcı olgulara hızla tanı konulması ve tedavi başlanmasıdır. Ortalama on beş günlük kombine ilaç tedavisinin balgamın bir mililitresindeki tüberküloz basil

sayısını %99 azalttığı gösterilmiştir (40). En çok bulaşma, tanı öncesinde olmaktadır. Koruyucu ilaç tedavisi, tüberküloz hastalığı gelişme riski yüksek olan gruplara önerilmektedir (Tablo 2). Koruyucu ilaç tedavisinin tüberküloz hastası ile teması olan TCT negatif kişide amacı, enfeksiyon gelişimini önlemek (primer koruma) ve TCT pozitifleşmeden basilleri yok etmektir. Tüberküloz ile enfekte TCT pozitif kişilerde ise inaktif basillerin reaktivasyonla tüberküloz hastalığı oluşturmamasını önlemek amacıyla koruyucu ilaç tedavisi (sekonder koruma) uygulanır. İlacın koruyucu etkisi organizmada bulunan ancak henüz daha hastalık tablosu oluşturmamış basillerin yok edilmesi veya sayılarının azaltılması yoluyla olur (41).

Tablo 2 . Ülkemizde koruyucu ilaç tedavisi endikasyonları (29).

TÜBERKÜLOZ HASTASI İLE TEMASI OLMAYANLAR	
15 yaşından küçük TCT pozitif çocuklar	Yeni enfeksiyonda tüberküloz hastalığı gelişme riski yüksektir ve çocuklarda genellikle yeni enfeksiyon söz konusudur Çocuklarda tüberküloz hastalığı, miliyer ve menenjit formlarında ortaya çıkabilir
TCT konversiyonu	Son 2 yılda negatif olan TCT'nin pozitifleşmesi veya en az 6 mm artış göstermesi (Bu arada BCG aşısı yapılmamış olmak koşuluyla)
Akciğer filminde tüberküloz sekeli lezyonu	Eski tüberküloz ile uyumlu sekel lezyonu olan 35 yaş altındakiler
Tüberküloz riskini artıran bağışıklığı baskılanmış TCT pozitif kişiler	Bu grup hastada TCT pozitifliği kriteri 5 mm ve üzeri değerlerdir
TÜBERKÜLOZ HASTASI İLE TEMASI OLANLAR	
35 yaşından daha genç olanlar	Koruyucu tedavi 6 ay süreyle verilir. 6 yaşından küçük çocuklara koruyucu tedavinin sonunda TCT yapılır Negatif bulunursa, BCG aşısı yapılır; pozitif bulunursa bir şey yapılmaz
TCT konversiyonu	Son 2 yılda negatif olan TCT'nin pozitifleşmesi veya en az 6 mm artış göstermesi (Bu arada BCG aşısı yapılmamış olmak koşuluyla)
Akciğer filminde tüberküloz sekeli lezyonu	Eski TB ile uyumlu sekel lezyonu olan 35 yaş altındakiler
Tüberküloz riskini artıran bağışıklığı baskılanmış kişiler	

Primer koruma amacıyla erişkinlerde izoniazid (INH) 5 mg/kg/g (maksimum 300 mg), çocuklarda 10 mg/kg/g (maksimum 300 mg) dozlarda altı ay süreyle tedavide kullanılır. Temasta bulunulan kişide INH direnci varsa günlük 10 mg/kg dozda, maksimum 600 mg'ı olacak şekilde 4 ay süreyle rifampisin (RIF) kullanılabilir. 2 ay süreyle RIF+pirazinamid (PZ) ve üç ay RIF+PZ kullanılması gibi farklı protokoller farklı hasta gruplarında önerilmektedir. Çok ilaca dirençli tüberkülozlu bir kişi ile temas durumunda, birden fazla ilaçla koruyucu tedavi yapılabilir (29).

BCG aşısı, hastalıktan korumamakla birlikte, kanla ve lenfatik sistemle basilin yayılmasını engelleyerek hayatı tehdit eden miliyer ve menenjit tüberküloz gibi durumların ortaya çıkışını azaltır (29).

En etkili, en güvenli ve en kısa süreli tedavi seçilmelidir. Ülkemizde olduğu gibi INH direncinin %4'ten yüksek olduğu bölgelerde başlangıç döneminde dört ilacın kombine edildiği tedavi protokolü uygulanmalıdır. İdame döneminde en az iki ilaç kullanılmalıdır. İlaçların düzenli ve yeterli sürede kullanılması ile hastada ilaç direnci ortaya çıkması ve tedavi başarısızlığı önlenmeye çalışılır.

Erken bakterisidal aktivite özelliği ile basilleri hızla öldüren (bakterisidal), ilaç direnci gelişimini önleyici aktiviteye sahip olan ve hastanın vücudundaki basilleri sterilize eden farklı tüberküloz ilaçlarının bir arada ve yeterli sürede kullanılması sonucunda hastada kür sağlanır ve nüks etme olasılığı da oldukça düşer.

Çocuğu enfekte eden erişkin hastanın, eğer biliniyorsa kültür ve ilaç direnci sonuçları çocuğun tedavisinin planlanmasında da faydalıdır. Çocukluk

çağı tüberkülozunda basil sayısının az olması nedeni ile sekonder direnç geliştirme riski düşüktür ve erişkinlere göre daha az sayıda ilaç tedavide yeterlidir.

Çocuklarda akciğer tüberkülozunun tedavisi en az iki bakterisidal ilaçla yapılmalıdır. Çocukluk çağı akciğer tüberkülozunda önerilen klasik tedavi; ilk iki ayı üçlü (INH+RIF+PZ) ilaç kombinasyonu olmak üzere INH+RIF ile 6 aylık tedavi süresinin tamamlanmasıdır. İlk iki aydan sonraki tedavide ikili ilaç intermittant olarak (haftada 2 veya 3 kez) uygulanabilir. Balgam yaymasında basil saptanan ya da kavitesi olan çocuk tüberküloz hastalarına da erişkin hastalar gibi, tedavinin başlangıç döneminde dört ilaç verilir. Miliyer ve menenjit tüberkülozda dörtlü ilaç tedavisi 9-12 ay süre ile önerilir. Çocuklar tüberküloz ilaçlarını erişkinlere göre çok daha iyi tolere ederler ve ilaç yan etkileri çocuklarda çok daha az görülür (Tablo 3).

Kortikosteroidler, çocukluk çağında menenjit tüberkülozda antiinflamatuvar etkisi nedeni ile, hipoksi ile giden miliyer tüberkülozda alveol kapiller geçişi artırmak için, peribronşial ve endobronşial tüberkülozda da bronş basısını azaltmak için kullanılabilirler. Ayrıca perikard ve plevra tüberkülozunda anti-tüberküloz tedavisi yanında kullanılabilirler.

Çocuklardaki tüberküloz tedavisinin de ideal olanı direkt gözlem altında uygulanmasıdır ve tedavi başarısını artırır. Klinik bulgularda düzelmenin gözlenmesi, çocuğun ateşinin düşmesi, iştahı ve kilosunun artması tedavinin başarısının öncelikli işaretleridir. Daha sonra solunum sistemi bulgularında gerileme izlenir. Radyolojik düzelme uzun sürer. Çocuklarda tüberküloz ilaçlarının yan etkileri çok daha nadir olduğundan; düzenli karaciğer

enzimlerinin izlenmesi gerekli değildir. Etambutol (EMB)'un optik nörit yapıcı etkisi nedeniyle kullanım sırasında göz muayenesi önerilir. Streptomisin (SM) ve diğer aminoglikozidler kullanan çocuklarda tedavi başlangıcında ve kontrollerde böbrek fonksiyon testleri ve işitme muayeneleri yapılmalıdır (29).

Erişkin tüberküloz tedavisinde de en önemli etken ilaçlardır. Dirençli mutant suşların ortaya çıkma olasılığı, basil sayısının en fazla düzeyde olmasından dolayı, tedavinin başlangıç döneminde en yüksektir. INH direncinin, ülkemizde olduğu gibi, %4'ten yüksek olması, başlangıç döneminde dört ilacın kombinasyonu ile tedaviye başlamayı gerektirmektedir. İdame döneminde de en az iki ilaç kullanılmalıdır. Akciğer tüberküloz tanılı olgularda başlangıç dönemi için iki ay süreyle INH+RIF+PZ+EMB veya INH+RIF+PZ+SM ilaç kombinasyonu seçilmesi uygundur. İdame doz olarak dört ay süreyle INH+RIF tedavisi önerilmektedir. Akciğer dışı tüberküloz olgularında idame dönemde INH+RIF tedavisinin yedi-on aya dek uzaması gerekmektedir. Tedaviyi terkten dönen olgularda iki ay süreyle INH+RIF+PZ+EMB+SM kombinasyonu uygundur. Nüks olgularında iki ay süreyle INH+RIF+PZ+EMB tedavisine, yedi aya tamamlayacak şekilde INH+RIF+EMB kombinasyonu ile devam edilmesi uygundur. Tedavi başarısızlığı olmuş olgular ve kronik olguların uzmanlaşmış merkezlerde Amikasin, Kanamisin, Kapreomisin, Etiyonamid, Protionamid, Para-amino salisilik asit, Sikloserin, Ofloksasin, Siprofloksasin, Rifabutin, Klofazimin, Thiasetazon gibi ikinci grup ilaçlarla tedavi edilmesi gerekmektedir (29). Akciğer dışı tüberküloz olgularında genellikle kortikosteroidlerin kullanımı gerekmektedir. Tüberküloz perikarditte ve tüberküloz menenjitte, akciğer

tüberkülozu ve plevra tutulumundan farklı olarak komplikasyonları da azalttığı gösterilmiştir [Tablo 3, (29, 42-44)].

Tablo 3. Tüberküloz olgu tanımlarına göre tedavi şeması (29).

OLGU TANIMI	BAŞLANGIÇ DÖNEMİ (günlük)	İDAME DÖNEMİ (günlük)
Yeni olgu	2 ay HRZE ya da HRZS	4 ay HR
Çocuk tüberkülozu	2 ay HRZ	4 ay HR
Menenjit, miliyer, kemik-eklem tüberkülozu	2 ay HRZE ya da HRZS	7-10 ay HR
Tedaviyi terkten dönenler Nüks olgular	2 ay HRZES* 1 ay HRZE	5 ay HRE
Tedavi başarısızlığı olmuş olgular Kronik olgular	Uzmanlaşmış merkezlerde ikinci grup ilaçlarla tedavi edilir	

*H: İzoniazid, R: Rifampisin, Z: Pirazinamid, E: Etambutol, S: Streptomisin

1.2.1.8. Tüberküloza Genetik Yatkınlık

Tüberküloza yatkınlık multifaktöriyel özellik göstermektedir. *M. tuberculosis* ile enfekte olan bireylerin sadece %10'u hastalık geliştirmektedir. Beslenme durumunu da içeren çevresel faktörlerden küresel bakıldığında en önemlisi HIV enfeksiyonudur. *M. tuberculosis* ile HIV enfeksiyonunun birlikteliği hastalık geliştirme riskini yaşam boyunca %10'dan, bir yıl içinde %

10 riske yükseltmektedir (45). Konağa ait genetik faktörler intrasellüler patojenlerle oluşan hastalıklara yatkınlık kontrolünde önemli rol almaktadır. İnsan genetik faktörlerinin hastalığın gelişimini etkilediğinin en güçlü kanıtı ikiz çalışmalarıdır. Tüberküloz için monozigotik ikizlerde dizigotik ikizlere kıyasla daha yüksek konkordans oranları saptanmıştır. Son yirmi yılda pozisyonel klonlama ve aday gen çalışmaları ile hastalığa yatkınlığı etkileyen birçok gen tanımlanmıştır. Bugüne kadar tüberküloza konak duyarlılığı üzerine etkili olduğu bildirilen genetik faktörler arasında *NRAMP-1*, *HLA* tipleri, *VDR*, *MBL*, *TNF- α* ve *IL-1* bulunmaktadır (46).

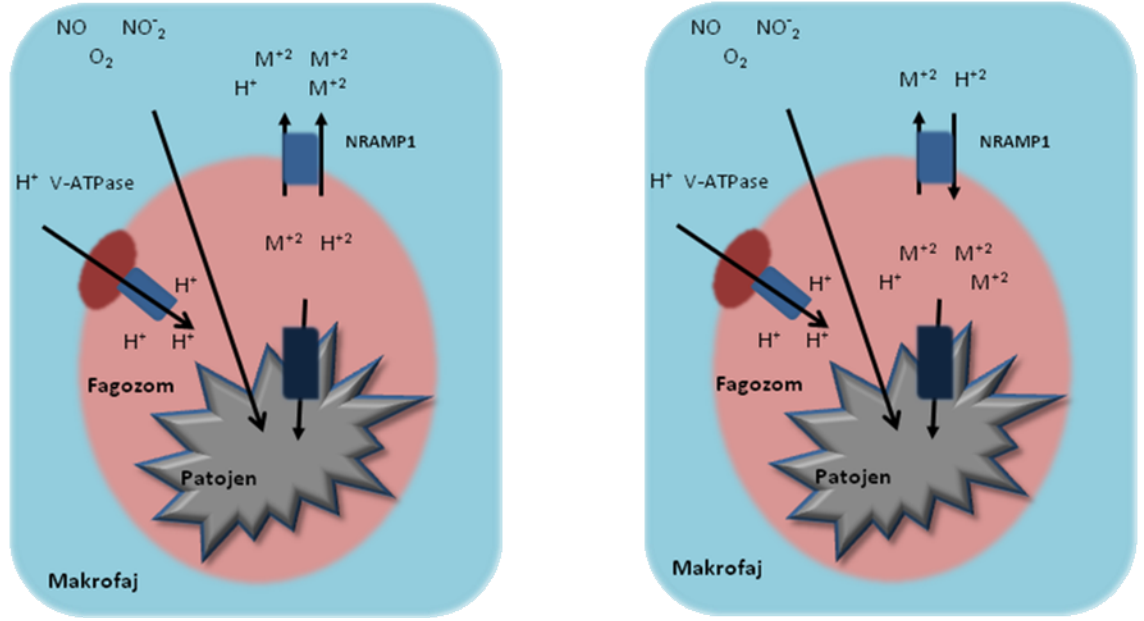
Bu çalışmalardan elde edilen veriler, birden fazla aday genin tüberküloza yatkınlık ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Elde edilen veriler tanı, tedavi ve korunma açısından önemli adımların atılmasında yol gösterici olacaktır (47).

1.2.2. Natural Resistance Associated Protein 1 (NRAMP1)

NRAMP ailesinin bakteriler, insan ve diğer birçok organizmada metal iyon homeostazında temel rolü olduğu son yıllarda anlaşılmıştır. NRAMP ailesi üyelerinin memelideki protein sekansı, maya, bitki, sinekteki ile farklı oranlarda benzerlik göstermektedir. Bu oldukça korunmuş olan aile, mayada üç gen (*SMF1*, *SMF2* ve *SMF3*), sinekte *MVL* (malvolio) geni ve memelilerde *NRAMP1* ve *NRAMP2* genleri ile temsil edilmektedir. Divalent cation transporter 1 (*DCT1*), insan *NRAMP2* geninin faredeki %92 benzerlik

gösteren muhtemel izoformudur ve insan *NRAMP1* ile %73 özdeşdir. İnsan *NRAMP1* mRNA akciğer, dalak ve karaciğerde eksprese olur, ancak en yüksek ekspresyonu periferik kan lökositlerindedir (48). *NRAMP1* makrofajların fagozomal membranından; *NRAMP2* ise duodenum ve periferik doku hücrelerinin plazma membranından metal iyon transportunda görevlidir. *NRAMP* aile üyelerinin genel metal iyon taşıyıcısı fonksiyonları vardır ve divalent katyon transportu yapabilirler (49).

NRAMP1, antijenik olarak birbirleri ile ilgisi olmayan intrasellüler patojen enfeksiyonlarına doğal direnç, proinflamatuvar makrofaj fonksiyonlarında artış ve otoimmün hastalıklara yatkınlık ile ilişkilidir. Retiküloendotelial sistem makrofajlarının geç endozom veya lizozomal kompartmanlarında lokalize olan ve nötrofillerin jelatinaz pozitif tersiyer granüllerinde yer alan *NRAMP1*, pH bağımlı, Mn^{+2} , Zn^{+2} , Cu^{+2} , Fe^{+2} , Cd^{+2} , Ni^{+2} ve Co^{+2} gibi, divalent metal katyonların (Me^{+2}) taşıyıcısıdır (50). Jelatinaz negatif tersiyer granüllerde de *NRAMP1*'in bulunduğu gösterilmiştir. Fagositozda, divalent metal katyonların transportuna aracılık etmek üzere hızla fagozomal membranda görev alır [Şekil 3, (48)].



Şekil 3. NRAMP1'in makrofaj içindeki lokalizasyonu ve divalent metal katyonların transportundaki rolü

NRAMP1 fonksiyonel ekspresyonu, makrofaj protein-tirozin fosfataz (PTP) aktivitesinde azalma ve protein fosforilasyonunda artış ile sonuçlanır (50).

1.2.2.1. Yapısı ve Fonksiyonu

Fare *Nramp1* 1993 yılında mikobakteri enfeksiyonlarına direnç için sorumlu gen olarak klonlanmıştır. *Nramp1*'in bilinen prokaryotik ve ökaryotik transport sistemlerinin yapısal homoloğu olan bir integral membranı kodladığı öne sürülmüştür, ancak halen fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir.

Drosophila melanogaster'deki homoloğu olan, *Mvl* tarafından kodlanan MVL proteini 1995'te bulunmuştur. MVL proteini makrofajlar ile sinir sisteminde eksprese olur ve normal tat alma davranışı için gereklidir. Ancak moleküler etkileri halen açık değildir (49).

Maya *Nramp* homoloğu ve metal iyon taşıyıcısı olan *Smf1p*'nin keşfi, memeli NRAMP yapısı hakkında bilgilerimizin ilerlemesine yol açmıştır.

Nevo ve arkadaşlarının hipotezine göre, mikrobiyal invazyona karşı makrofaj savunmasında *Nramp1*'in bir rolü, bakteri içeren fagozomlardaki metal iyon konsantrasyonlarını azaltmasıdır. *Nramp1*'in metal iyonları fagozomal lümenden sitoplazmaya taşıdığı öne sürülmüştür. Bunun sonucu olarak fagositler tarafından mikroorganizmaların üzerlerine salınan reaktif oksijen ve/veya nitrojen toksik maddelerine karşı kendilerini savunmaları için gerekli olan bakteriyal metalloenzimlerinin üretimi ve fonksiyonu sınırlanmış olur ve bakterilerin çoğalması engellenir (49).

Defektif *Nramp1*, metal iyonlarının konsantrasyonlarının fagozomda artmasına neden olarak mikobakterinin çoğalmasına yol açar ve enfekte organizmanın patojene karşı duyarlı hale gelmesine neden olur. Bu hipotez birkaç çalışma ile de desteklenmiştir (49).

Bir grup bilim adamının hipotezine göre ise , NRAMP1'in bir diğer rolü makrofaj fagozomlarına metal iyonlarını pompalayarak lümende artmalarını sağlamaktır. Fe^{+2} 'nin bakteri içeren fagositlere girişi pH gradiyentine bağlıdır. *Nramp1* eksprese olan enfekte makrofajlarda, ekspresyon göstermeyenlere oranla çok yüksek oranda hidroksil radikaller tesbit

edilmiştir. Bu durum makrofajın bakteriyostatik etkisini artırarak mikobakterinin çoğalmasının inhibisyonuna katkıda bulunur (49).

Nramp1 eksprese olan makrofajlarda Fe^{+2} 'nin %28'inin ferritine bağlanmış olarak, %60'ının ise sitoplazmada çözülebilir halde bulunduğu gösterilmiştir. Makrofajın uyarılması ile sitoplazmadaki Fe^{+2} 'nin %82'ye yükseldiği gösterilmiş, Nramp1'in fagozomlardan Fe'in serbest kalmasında ve sitoplazmaya transportunda gerekli olduğu sonucuna varılmıştır (49).

Gomez ve arkadaşları, divalent katyon taşıyıcısı olan NRAMP1'in, proinflamatuvar fagosit fonksiyonlarının başlatılmasında temel olan pozitif sinyal iletimini düzenleyerek, direkt protein-tirozin fosfataz (PTP)-metal etkileşimi ve/veya PTP oksidasyonu bağımlı reaktif oksijen türleri yolu ile PTP'lerin geçici inhibisyonuna neden olduğunu öne sürmüştür (50).

NRAMP1'in, nötrofil ve makrofajlarda aynı biyokimyasal aktiviteye ve aynı fonksiyonel role sahip olabileceğini destekleyen bulgular elde edilmiştir. Me^{+2} 'leri sitoplazmaya pompalar (48).

1.2.2.2. Moleküler Biyolojisi

Cellier ve arkadaşları tarafından 1994 yılında insan *NRAMP1* geni klonlanmış ve cDNA klonları tanımlanmıştır. Sekans analizi ile insan NRAMP1 proteininin, on iki adet transmembran bölgesi, iki adet N-linked glikozilasyon bölgesinden oluşan 550 aminoasitlik bir polipeptid olduğu gösterilmiştir. On tanesi iyi korunmuş hidrofobik çekirdek, 2 tanesi oldukça

hidrofobik ancak korunmamış transmembran yapılar içermektedir. On beş ekzonu ve intron 4'te bulunan Alu element tarafından kodlanan alternatif olarak spliced bir ekzonu bulunmaktadır. Kishi ve arkadaşları moleküler ağırlığı 52.8 kD olan, 483 aminoasitten oluşan proteini 2245 bp'lik cDNA'nın kodladığını, aminoasit sekansının faredeki ile %89 homolog olduğunu göstermiştir (5).

Faredeki *Nramp1* geninin homoloğu olan *NRAMP1* geni insan kromozomu 2q35 bölgesine haritalanmış ve klonlanmıştır. Marquet ve arkadaşları 2000 yılında kromozom 2q35 bölgesinin 32198 bp'lik bölgesini sekanslamışlardır ve *NRAMP1* geninin uzunluğunun 13604 bp olduğunu bildirmişlerdir. Ekzonları 68 ile 873 bp arasındaki uzunluklarda ve intronları ise 88 ile 1915 bp arasındaki uzunluklarda değişmektedir. Ekzon 1 translasyonel başlangıç kodunu içermektedir. Translasyonel stop kodon (TAG) 3'UTR bölge ile birlikte ekzon 15'te yer almaktadır. Daha önceki sekanslama sonuçlarından farklı olarak intron 9, intron 10 ve intron 12'nin splice donör/akseptör bölgelerinde dört nükleotid değişikliği Marquet ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir. Ekzon 15'in +13.398. pozisyonunda poliadenilasyon sinyali (AATAAAA) tanımlanmıştır (51).

NRAMP1 geninin sekans analizi tekrar elementlerinin yüksek sayısının varlığını ortaya koymuştur. İnsan DNA'sında ortalama 4 kb'lık aralıklarla Alu tekrarları bulunmasına rağmen, *NRAMP1* geni upstream bölgesindeki 14 Alu tekrarı 6 kb, genin kendisindeki 15 Alu tekrarı ise 14 kb aralıklarla yerleşmiştir. Tekrar dizilerinin yoğun olduğu genom bölgeleri, fonksiyonel *NRAMP1* polimorfizmlerinin kaynağı olarak görülmemektedir (51).

1.2.2.3. *NRAMP1* geninde bulunan polimorfizmler

5'(CA)_n polimorfizmi fonksiyonel bir kompleks tekrardır ve lusiferaz bildirici sistem içinde *NRAMP1* ekspresyonunu etkiler (Şekil 4). Dört farklı varyantı bulunur. Awomoyi ve arkadaşlarının allel 3 olarak isimlendirdiği varyant, diğer alleller ile kıyaslandığında yüksek ekspresyon gösterir ve lipopolisakkaridler tarafından arttırılır, tüberküloza direnç ile ilişkilidir (52). Li ve arkadaşlarının meta-analizinde allel 2 olarak adlandırılan 5'(CA)_n varyantının ise daha düşük promotor aktivite ve tüberküloza yatkınlık ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (53).

INT4 (469+14G → C) polimorfizmi, intron 4'te G'den C'ye baz değişimidir (Şekil 4) .

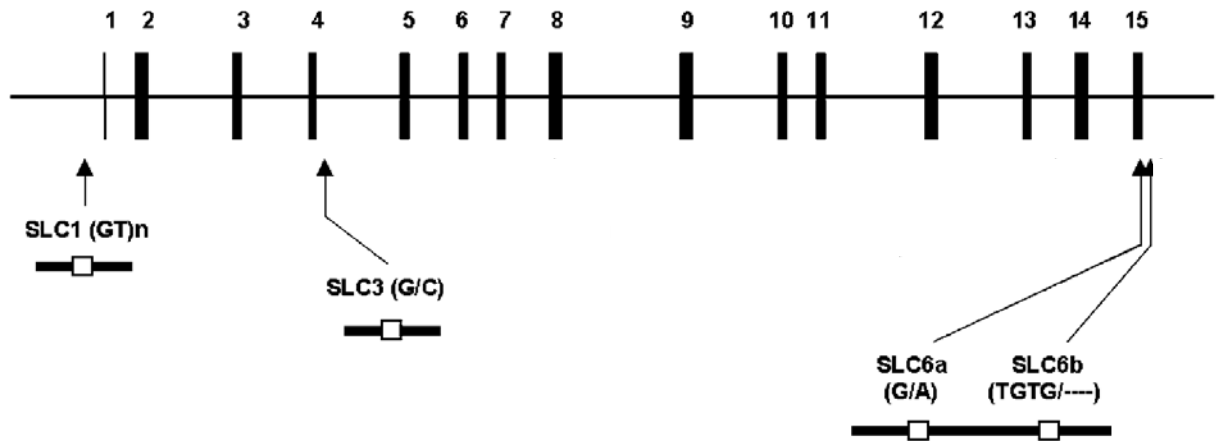
3'UTR (1729+272del4) polimorfizminde bir (CAAA) delesyonu görülürken, Şekil 4'te görülen **3'UTR (1729+55del4)** polimorfizminde bir (TGTG) delesyonu görülür (54). 3'UTR polimorfizminde ekzon 15'in son kodonunun 55 nükleotid gerisinde 4 bazlık delesyon saptanmaktadır. 3'UTR ve INT4 polimorfizmlerinin, *NRAMP1* proteininin fonksiyonunu etkileyerek mi yoksa diğer fonksiyonel polimorfizmler ile linkaj göstererek mi tüberkülozda etkili olduğu tartışmalıdır (53).

D543N polimorfizmi *NRAMP1* proteininin sitoplazmik kuyruğunda 15. ekzonda kodon 543'te 1703. nükleotidde G'nin yerine A gelmesi ile negatif yüklü aspartik asit (GAC), yüksüz asparajine (AAC) değişerek *NRAMP1* proteininin fonksiyonunu etkileyebilir [Şekil 4, (53)].

274C/T polimorfizmi 3. ekzonda kodon 66'da 274. nükleotidde C'nin yerine T gelmesi, **577-18G/A** polimorfizmi 5. intronda 18. nükleotidde G'nin yerine A gelmesidir (54).

A318V polimorfizminde 9. ekzonda kodon 318'de 1029. nükleotidde C'nin yerine T gelmesi ile Alanin (GCG), Valine (GTG) değişir (54).

-237 C/T polimorfizminde transkripsiyon başlangıç bölgesinden 237 baz uzaklıkta C'den T'ye tek bazlık değişim görülür (54).



SLC1	(GT)n; 5'(CA)n
SLC3	469+14G/C; INT4 (G/C)
SLC6a	D543N (G/A)
SLC6b	1729+55del4; 3'UTR (TGTG/- - -)

Şekil 4. *NRAMP1* genindeki dört polimorfizmin şematik yerleşimi (54).

1.2.2.4. *NRAMP1*'in Klinik Önemi ve Enfeksiyonlar ile Olan İlişkisi

NRAMP1 geni, insanlarda enfeksiyon hastalıklarına karşı normal konakçı defansında önemli rol oynamaktadır. Doğal dirençle ilişkili makrofaj proteinini kodlayan *NRAMP1* geni, enfeksiyonun erken devresinde makrofaj aktivasyonu ve mikobakteri öldürülmesine katkıda bulunan bir genidir. *NRAMP1*, IL-10 regülasyonu ile tüberküloza karşı duyarlılığı etkiler. *NRAMP1* proteini, metal iyon taşıyıcılar ailesine ait integral membran proteinidir. Bu metal iyonlarının (özellikle Fe^{+2}) makrofaj aktivasyonu ve toksik antimikrobik radikallerin oluşumunda katkısı vardır. Fagositoz sonrasında, *NRAMP1* fagozomun bir parçası olur ve enfekte fagozomlara Fe^{+2} sunumunda kritik rolü olduğu düşünülmektedir. Mikobakteriler için esansiyel olan katyonların, özellikle demirin sitoplazmik düzeylerini düzenleyerek mikobakterilerin öldürülmelerini etkilemektedir (25). Gros ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada demir şelatörlerinin intrasellüler bakteriyel üreme üzerinde *Nramp1* knock-out faredeki ile benzer etkileri olduğu gösterilmiştir (55). *Nramp1* mutant fareler azalmış fagozomal olgunlaşma ve asidifikasyon gösterirler. Sürpriz bir şekilde bu hayvanlarda mikobakteri üremesi etkilenmez.

İnsanlarda yapılan populasyon çalışmalarında *NRAMP1* gen polimorfizmlerinin değişen şekillerde enfeksiyonlara yatkınlık ile ilişkili olduğu görülmüştür (55, 56). Faredeki *Nramp1* geni, *leishmania*, *salmonella* ve *mycobacteria* gibi intrasellüler patojenler ile oluşan enfeksiyonlara karşı konak direnç lokusu olarak saptanmıştır ve mutasyonlarının enfeksiyonlara dirençte zayıflık yarattığı saptanmıştır. İnsandaki *Nramp1* homologu olan

NRAMP1 allelik varyantlarının tüberküloz ve lepra ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (48). *NRAMP1* proteininin, makrofajlarda *Salmonella*'nın replikasyonunu inhibe ederek intrafagozomal ortamı düzenlediği bildirilmiştir(48, 57). Ancak Doorduyn ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *NRAMP1* gen c.198G>A polimorfizminin *Salmonella* ve *Campylobacter* enfeksiyonlarına yatkınlık ile ilişkisi saptanmamıştır (58).

NRAMP1 geni INT4, D543N ve 3'UTR polimorfizmleri tüberküloz dışı mikobakteriyel akciğer hastalıklarına yatkınlık ile ilişkili bulunmuştur (59).

1.2.2.5. Tüberküloz ve *NRAMP1*

NRAMP1 geni ve tüberküloza yatkınlık ile ilgili yapılan ilk çalışmada Bellamy ve arkadaşları Gambia'da bu gene ait 5'(CA)_n, INT4, D543N ve 3'UTR polimorfizmlerinin akciğer tüberkülozu ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Özellikle INT4 ve 3'UTR polimorfizmlerinin heterozigotluğunun en yüksek riski oluşturduğunu tesbit etmişlerdir. INT4, D543N ve 3'UTR polimorfizmlerine ait allel frekanslarının etnik gruplar arasında farklılık gösterdiği tesbit edilmiş ve genetik olgu-kontrol çalışmalarında etnik kökenin belirlenmesinin gerekliliğine dikkat çekilmiştir (9). Awomoyi ve grubu da Gambia toplumunda 5'(CA)_n polimorfizminin balgam pozitif akciğer tüberkülozlu olgularda IL-10 düzeylerini düzenleyerek etkili olduğunu bildirmişlerdir. 5'(CA)_n polimorfizmine ait allel 2 taşıyan bireylerde, erken mikobakteriyel enfeksiyonun gelişimini önlemede önemli olan proinflamatuvar

yanıtların up-regölasyonunun hatalı olduğu hipotezini öne sürmüşlerdir. Ancak insanlarda tüberküloza yatkınlıkla ilişkili olan allelin azalmış proinflatuar aktivite yerine, artmış anti-inflatuar aktivite ile ilişkili olduğu sonucuna ulaşmışlardır (52).

Yayma veya kültür pozitifliği veya radyolojik bulguları ile tüberküloz tanısı almış Koreli olgularda 3'UTR gen polimorfizmi çalışılmış ve yayma pozitif tüberküloz hastaları ile bu polimorfizm arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Beyaz ırkta az görülen bu polimorfizmin Koreli ve Batı Afrikalılarda tüberküloza yatkınlığı açıklayabileceği yorumu yapılmıştır (60).

Japon toplumundaki iki farklı etnik grupta *NRAMP1* gen polimorfizmleri balgam yaymasında ARB+ olan tüberküloz olgularında çalışılmış ve aktif tüberküloz ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. 5'(CA)_n polimorfizmine ait allel 3'ün tüberküloza dirençte bağımsız bir genetik belirteç olduğu saptanmıştır (61).

Amerika Birleşik Devletleri'nde beyaz ırkta *NRAMP1* 5'(CA)_n, D543N, 3'UTR polimorfizmleri çalışılmış ve *M. tuberculosis* enfeksiyonunun başlamasındaki etkisi ile kıyaslandığında *NRAMP1*' in enfeksiyonun lokalizasyonunun belirlenmesinde daha önemli rolü olduğu sonucu elde edilmiştir (62).

Malik ve arkadaşları, farklı etnik kökenlerden gelen, tüberküloz hastası çocukları olan ailelerde yaptıkları çalışma sonucunda *NRAMP1* gen polimorfizmlerinin çocukluk çağı tüberküloz hastalığı ile ilişkili olduğu sonucunu elde etmişlerdir. Yetişkin ve çocuk tüberküloz hasta grupları arasındaki farklılığı açıklamak için, *NRAMP1* polimorfizmlerinin

enfeksiyondan tüberküloz hastalığına progresyon hızını etkilediği hipotezini öne sürmüşlerdir (31).

Liu ve arkadaşlarının çalışmasında D543N ve 3'UTR polimorfizmlerinin Çin Han popülasyonunda tüberküloza yatkınlık ile ilişkili olabileceği sonucu elde edilmiştir (63). Tümü Çin kökenli olan tüberküloz hastalarından ve kontrol grubundan oluşan olgularda *NRAMP1* polimorfizmlerinin hastalığa yatkınlık, cinsiyet ve yaş ile ilişkisi araştırılmıştır. Hasta ve kontrol grupları arasında, *NRAMP1* D543N ve 3'UTR polimorfizmlerinin allel ve genotip sıklıkları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tesbit edilmiştir. Cinsiyete göre gruplandırıldığında dişi olgulardan oluşan grupta ve yaşa göre gruplandırıldığında 65 yaş altı grupta D543N ve 3'UTR polimorfizmlerinin allel ve genotip frekansları açısından pozitif bir ilişki saptanmıştır (64). Çin'in kuzey bölgesindeki Han popülasyonunda yapılan çalışmanın sonucunda ise 3'UTR polimorfizmi tüberküloza yatkınlık ile ilişkilendirilmiş, INT4'ün ise tüberkülozun patolojik karakterini etkileyebileceği bildirilmiştir (65).

Kamboçyalı on dört yaş üstü akciğer tüberkülozu tanısı almış olgularda yapılan çalışmada *NRAMP1* D543N ve 3'UTR polimorfizmlerinin heterozigotluğu tüberküloz direnci ile ilişkili bulunmuştur. INT4 ve -236C/T polimorfizmleri hastalık ile ilişki gösterecek sıklıkta tesbit edilmemiştir (11).

Güney Afrika'da yapılan çalışmada 5'(CA)_n polimorfizminin tüberküloza karşı koruyucu olduğu ve 3'UTR polimorfizmindeki homozigot delesyonun akciğer tüberkülozlu olgularda daha fazla görüldüğü sonucu elde edilmiştir (54). Doğu Afrika'da Tanzanya'nın kuzeyindeki tüberküloz olgularında

yapılan çalışmada *NRAMP1* 5'(CA)_n polimorfizminin tüberküloz ile ilişkili olduğu, INT4, D543N, 3'UTR polimorfizmlerinin ise ilişkili olmadığı tesbit edilmiştir (66).

Peru halkı tüberküloz hastaları ve kontrol grubunda *NRAMP1* INT4, D543N, 3'UTR polimorfizmleri çalışılmış ve tüberküloza yatkınlık yaratan polimorfizm, allel ve haplotip ile tüberkülozun klinik formları arasındaki ilişki araştırılmıştır. INT4, D543N ile akciğer tüberkülozu arasında allelik ilişki gösterilmiştir. INT4-D543N-3'UTR haplotipinin de akciğer tüberkülozu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (67).

Hiçbir ilişkinin saptanamadığı çalışmalara da birçok örnek bulunmaktadır. Ancak *NRAMP1*'in tüberküloza yatkınlık geni olarak araştırıldığı çalışmaların çoğu beklenen genetik etkinin saptanması için küçük ve yetersiz çalışmalar olarak yorumlanmaktadır (12, 14, 68).

Endonezya'da yapılan olgu-kontrol çalışmasında *NRAMP1* genindeki INT4, D543N ve 3'UTR polimorfizmleri tüberküloz hastalarında araştırılmıştır. Demirin konakçı immünitesinde ve mikobakterinin çoğalmasında zorunlu bir element olması ve tüberküloz hastalarının çoğunda anemi görülmesinden yola çıkarak *NRAMP1* polimorfizmleri ile tüberküloza yatkınlık ilişkisinin yanında hastalığın ağırlığı ile ilişkisi ve anemi ile ilişkisi de sorgulanmıştır. Bu klinik bulgular ile polimorfizmler arasında anlamlılık saptanamamıştır (69).

Fas'ta asosiasyon ve linkaj yöntemleri kullanılarak yapılan çalışmada Gine, Kore, Japonya, Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan çalışmaların tersine *NRAMP1*'in akciğer tüberkülozuna yatkınlıkta önemli rolü olmadığı

sonucu elde edilmiştir. Ancak bu sonuç araştırmacılar tarafından olgu grubunun yetersizliği ile ilişkilendirilmiştir (70).

Tayvan'da 49 tüberküloz hastası ve 48 sağlıklı kontrolden oluşan olgu grubunda *NRAMP1* geni (274C/T, 577-18G/A, A318V, D543N ve 3'UTR) polimorfizmleri çalışılmış ve tüberküloza yatkınlık ile *NRAMP1* allelleri arasında bir ilişki saptanamamıştır (68). Ancak Hsu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Tayvan'da iki farklı etnik kökende tüberküloza yatkınlık ile *NRAMP1* gen polimorfizmleri (INT4, D543N, 77-385C/T, 3'UTR (CAAA) delesyonu ve 5'(CA)_n) arasındaki ilişki araştırılmıştır. İki etnik kökenden sadece Tayvan yerli halkında tüberküloz yüksek prevalansına *NRAMP1* gen polimorfizmleri gibi genetik faktörlerin, çevresel faktörler yanında etkili olduğu sonucu elde edilmiştir (71).

Meksika'lı melez tüberküloz hastaları ve kontrol grubunda yapılan çalışmada *NRAMP1* geni D543N ve 3'UTR polimorfizmleri ile hastalığa yatkınlık arasında bir ilişki saptanamamıştır (72).

Tayland'dan 2007 yılında yayınlanan çalışmada *NRAMP1* INT4, D543N, 3'UTR polimorfizmlerinin tüberküloza yatkınlık ile ilişkisi olmadığı bildirilmiştir (73).

NRAMP1 geni ve tüberküloz ilişkisi ile ilgili yayınlanan son çalışmada Japon toplumunda 5'(CA)_n, INT4, D543N ve 3'UTR polimorfizmleri ilaca dirençli tüberküloz insidansı, balgam kültürünün konversiyonunun uzaması, kavitasyon oluşumu ile ilişkili bulunmuştur (74).

Li ve arkadaşları *NRAMP1* gen polimorfizmleri ve tüberküloza yatkınlık konusunda 2005 yılında yayınlanmış olan meta-analizinde 5'(CA)_n, INT4, D543N ve 3'UTR polimorfizmleri ile tüberküloz arasındaki ilişkiyi değerlendirmişlerdir. Avrupa kökenlilerde bu dört polimorfizm ile tüberküloza yatkınlık arasında istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunmadığı, ancak Asya kökenli olgularda INT4 dışındaki, Afrikalı olgularda 3'UTR dışındaki polimorfizmlerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ve tüm populasyon dikkate alındığında ise INT4 dışındaki polimorfizmlerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu bildirilmiştir. Doğu-asya kökenlilerde ise 3'UTR ve D543N polimorfizmleri ile tüberküloza yatkınlık arasında istatistiksel olarak bir anlamlılık olduğu ancak INT4 polimorfizmi ile ilişkili bulunmadığı bildirilmiştir (53, 75).

Bazı çalışmalarda polimorfizmlerinin plörezi, kavitasyon gibi farklı klinik durumlar ile ilişkisi araştırılmıştır (25). *NRAMP1* polimorfizmlerinden özellikle INT4 ve 3'UTR'nin tüberküloz plörezi ile ilişkili olduğu saptanmıştır (76). Abe ve arkadaşlarının Japon tüberküloz hastalarında yaptığı çalışmada D543N polimorfizminin A alleli kavitasyon geliştirme ve balgam kültür pozitifliğinin uzun sürmesi gibi klinik bulgularla ilişkili bulunmuştur (77). Çin halkında yapılan olgu-kontrol çalışmasında INT4 ve D543N polimorfizmlerinin hastalığa yatkınlıktan çok balgam yayması pozitifliği veya kaviter lezyon oluşumu ile ilişkili olduğu sonucu elde edilmiştir (78). Danimarka'da yapılan çalışmada *NRAMP1* INT4 ve 5'(CA)_n polimorfizmlerinin mikroskopi-pozitif tüberküloz geliştirme riskini arttırdığı, ancak göğüs grafisi ile tesbit edilen kavitasyon oluşumu veya akciğer dışı tüberküloz gelişimi ile ilişkisi olmadığı tesbit edilmiştir (12).

BÖLÜM 2

GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Hasta ve Kontrol Grubu

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, İzmir Dr.Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İzmir Dr.Suat Seren Göğüs Hastalıkları Ve Cerrahisi Eğitim Ve Araştırma Hastanesi ve Bornova Verem Savaş Dispanseri'nde tüberküloz hastalığı tanısı alarak tedavi başlanan 472 hasta ile 571 sağlıklı kontrol grubu çalışmaya alındı.

Hastalar klinik bulguları, radyoloji, histopatoloji veya bakteriyoloji sonuçlarından herhangi birinin varlığı ile herhangi bir dönemde tüberküloz tanısı alan olgulardan seçildi. Hastaların medikal kayıtları taranarak elde edilen bilgiler ve/veya hastalardan alınan anamnez ile standard hasta formları dolduruldu. Bu forma hastaların epidemiyolojik özellikleri, başvuru semptomları, fizik muayene bulguları, tanıları, laboratuvar bulguları, tanı metodları, tedavi rejimleri ve prognozu kaydedildi.

Kontrol grubu; Ege Üniversitesi Kan Merkezine başvuran sağlıklı, Anti-HIV testleri negatif olan 18-65 yaş arası sağlıklı kan donörlerinden ve Ege Üniversitesi genel pediatri polikliniğine başvuran sık enfeksiyon geçirme

öyküsü ve kronik hastalığı olmayan, 6 ay-18 yaş aralığında olan çocuklardan seçildi. Kontrol grubu seçilirken cinsiyet ve yaş ortalamalarının hasta grubu ile uyumlu olmasına dikkat edildi. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi ve İzmir Dr. Suat Seren Göğüs Hastalıkları Ve Cerrahisi Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Araştırma Etik Kurullarının onayı alındı. Gönüllü olur formu imzalatıldıktan sonra hasta ve kontrol grubundan 2 ml EDTA'lı tüpe kan örnekleri alındı. Örnekler, örnek toplama işlemi tamamlanıncaya kadar -20°C'de saklandı. Bu örneklerden *NRAMP1* genine ait dört polimorfizmin genotipi çalışıldı. Hastaların Anti-HIV testleri çalışılarak pozitif olanlar çalışmaya dahil edilmedi.

2.2. *NRAMP1* Genotipinin Araştırılması

2.2.1. DNA izolasyonu

Genomik DNA, periferik EDTA'lı kan örneklerinden INVITEK Kandan DNA izolasyon kiti kullanılarak aşağıdaki basamaklar izlenerek elde edilen DNA'lar kendine ait DNA saklama kutularına konuldu ve -20°C'de saklandı.

Tüplerin hazırlanması aşamasında ön sıraya 1,5 ml'lik ependorf tüpleri, yerleştirilerek, 2.sıraya kitin içinden çıkan sarı 2 ml'lik ependorflar dizilir ve içlerine yine kitin içinden çıkan filtreler yerleştirilerek 3. sıraya sarı 2 ml'lik tekrar ependorflar dizilir, en sona kitin içinden çıkan 1,5 ml'lik ependorflar dizilir. En sondaki tüplerin üzerine hasta adları, izolasyon tarihi, kodu ve numarası yazılıp bantlanır. İzolasyon aşamasında:

1. 200 µl kan 1,5 ml'lik ependorf tüplerinin içine aktarıldı.
2. 200 µl 'Lysis Buffer' eklendi.
3. 20 µl 'proteinaz K' konulup vortekslendi.
4. Tüpler 10 dakika 56°C'de 350-400 rpm'de sallanma durumunda inkübasyona bırakıldı. [Bu arada her hasta için 200 µl olacak şekilde 'Elution buffer' ependorflara konulup 56° C'ye bırakıldı. (Elution buffer'ın ılık olması gerekmektedir.)]
5. İnkübasyondan sonra her birine 400 µl 'Binding buffer' eklendi.
6. Her biri 10 saniye vortekslendi.
7. Karışmış olan kanlar sarı 2 ml'lik filtreli tüplere aktarıldı. (~830 µl) 1 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
8. 12000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi.
9. Filtreler diğer 2' ml'lik sarı tüplere aktarıldı.
10. Yeni filtreleri aktardığımız sarı tüplerin her birine 500 µl 'Wash buffer I' eklendi.
11. 12000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
12. Filtrenin altındaki kan dökülüp, filtreler aynı tüplere tekrardan kondu.
13. 800 µl 'Wash buffer 2' aynı ependorflara eklendi.
14. 12000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
15. Filtrenin altındaki kan dökülüp, filtreler aynı tüplere tekrardan kondu.
16. 13500 rpm'de (maksimum hızda) 4 dakika santrifüj edildi.
17. Filtreler beyaz 1,5 ml'lik ependorflara aktarıldı.
18. 200 µl 'elution buffer' her bir filtreli tüpe kondu.

19. 10000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
20. Filtreler atıldı.
21. Beyaz 1,5 ml'lik ependorflarda etiketli halde DNA elde edildi.

2.2.2. *NRAMP1* geni INT4, D543N, 3'UTR Polimorfizmlerinin

Genotiplenmesi

Her polimorfizm için standardize edilen oranlardaki PCR miksi ve koşulları ile uygun primerler kullanılarak PCR işlemi gerçekleştirildi (9). PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde değerlendirildi. PCR ürünlerine uygun enzim ile uygun şartlarda kesim işlemi uygulanarak elde edilen kesim ürünleri %4'lük agaroz jelde görüntülenerek analiz edildi (Tablo 4).

2.2.2.1.PCR işlemi

1. Çalışılacak her materyal için ve 1 tane negatif kontrol için 0,2 ml'lik ependorf tüp hazırlanarak ve materyalin kodu ve numarası yazıldı.
2. Miks hazırlanması için çalışılacak örnek miktarı başına her polimorfizm için verilen değerlerde olacak şekilde ayrı bir ependorf tüpte miks hazırlanarak ve iyice pipetaj yapılarak karışması sağlandı.
3. Hazırlanan miks, ilk hazırlanan 0,2 ml'lik boş ependorf tüplere her polimorfizm için verilen değerlerde olacak şekilde pay edildi. Negatif kontrol hariç, tüm tüplere DNA'larından 5'er µl alınarak içinde miks

bulunan 0,2 ml'lik ependorflara sırasıyla konmuş ve baloncuk oluşturmada 2-3 kez pipetaj yapıldı.

4. Örnekler her polimorfizm için verilen şartlarda PCR aletine yerleştirildi. PCR ürünleri bir sonraki işleme tabi tutulana dek +4° C'de saklandı.

2.2.2.2. PCR Ürünlerinin Jel Elektroforezinde Kontrolü

Jel Dökümü:

%2'lik agaroz jel hazırlanması

Erlenin içine 2 gr Agaroz ve 100 ml 0,5X'lik TBE konarak mikrodalgada orta derecede kaynayana kadar bekletildi. Sık sık kontrol edilip içinde hiç baloncuk kalmayacak aşamaya gelene kadar devam edildi. Baloncuk kalmadığından emin olduktan sonra çeker ocak içinde bir süre soğumaya bırakıldı. 100 ml 0,5X'lik TBE için 16 µl ethidium eklenip, iyice karıştırılarak jel uygun boyuttaki tanka boşaltıldıktan sonra baloncuk varsa patlatıldı ve soğumaya bırakıldı.

10X TBE tampon hazırlanması

Aşağıdaki miktarlardaki malzemeler iyice eriyinceye kadar saf su içinde karıştırıldı.

- Trizma Base : 108 g

- Na-EDTA : 8,3 g

- Borik asit : 55 g
- Ultra saf su : 1000 ml

0.5X' lik TBE hazırlanması:

10X'lik stoktan 100 ml alıp üzerine 1900 ml ultra saf su eklendi.

Agaroz jelin yüklenmesi ve değerlendirilmesi:

Kullanılan maddeler :

- Orange G (+4 C)
- 50 / 100 baz çifti Ladder (- 20° C)
- PCR ürünleri (+ 4° C)
- %2'lik agaroz jel

1. Parafilm üzerine, her örnek için 4'er µl orange G konup ve 4'er µl PCR ürünleri ile karıştırılarak %2 ml'lik jele sırasıyla yüklendi. Jele yüklenen sıra dikkatle not edildi.

2. En baş ya da en sondaki kuyucuğa en az 2 µl ladder yüklendi.

3. Yaklaşık olarak 100 volt'da 10-15 dakika örneklerin yürümesi beklendi.

4. UV ışığı altında kamerada jel görüntülendi. PCR ürününün polimorfizmlere göre belirtilen baz çifti düzeyinde 1 adet bant şeklinde görülmesi gerekmektedir. Ancak negatif kontrolde primer bağlanmaları

dışında herhangi bir bant görüldüğü takdirde kontaminasyondan şüphelenilmelidir ve PCR işlemini tekrar uygulamak gerekmektedir.

5. Elde edilen bantlar ladder ile birlikte değerlendirilerek her örnek için kayıt edildi.

2.2.2.3. Enzim Kesimi

Kullanılan maddeler

- Buffer Tango (- 20° C)
- Kesim Enzimi (- 20° C)
- PCR ürünleri (+ 4° C)

1. Çalışılacak her materyal için 0,5 ml'lik ependorf tüp hazırlandı ve üzerine etiket konarak materyalin kodu ve numarası yazıldı.

2. Örnek başına 0,8 µl 'Buffer Tango', 0,8 µl enzim olacak şekilde miks hazırlandı. Pipetaj kaybı olacağı için örnek sayısından 3-5 fazla hazırlanmıştı. Miksin buzda durmasına özen gösterilerek maddeler kullanmadan önce kısa süreli vortekslendi.

3. Hazırlanan ependorf tüplere sırasıyla 8'er µl PCR ürünlerinden konarak hazırlanan miksten 1,6'şar µl alarak PCR ürünlerinin üzerine eklendi ve 2-3 kez pipetaj yapıldı.

4. Tüpler her enzime uygun sıcaklıkta ve sürede, uygun ortamda bekletilerek kesim işlemi yapıldı (Tablo 4). Analiz aşamasına geçilene kadar ürünler +4 C'de saklandı.

2.2.2.4. Enzim Kesim Ürünlerinin Jel Elektroforezinde Kontrolü

%4'lik agaroz jel hazırlanması

Erlenin içine 4 gr Agaroz ve 100 ml 0,5X'lik TBE konarak %2'lik jel dökümündeki yollar izlendi.

Kullanılan maddeler :

- Orange G (+4° C)
- 50 / 100 baz çifti Ladder (- 20° C)
- PCR enzim kesim ürünleri (+4° C)
- %4'lük agaroz jel

1. Parafilm üzerine, her örnek için 7'şer µl orange G konarak ve 7'şer µl PCR enzim kesim ürünleri orange G ile karıştırılıp %4'lük jele sırasıyla yüklendi. Jele yüklenen sıra dikkatle not edilmeli.

2. En baş ya da en sondaki kuyucuğa en az 2 µl ladder yüklendi.

3. Bir kuyucuğa kesim enzimi ile muamele edilmemiş PCR ürünü yüklendi.

4. Yaklaşık olarak 100 volt'da 10-15 dakika örneklerin yürümesi beklendi.

5. UV ışığı altında kamerada jel görüntülendi.
6. Her polimorfizm ve uygulanan kesim enzimine göre jelde görüntülenen bantlar kontrol edildi.

Tablo 4. *NRAMP1* INT4, 3'UTR, D543N polimorfizmlerinin genotiplemesinde kullanılan primer dizileri ve genotipleme için uygulanan enzim kesimi yöntemlerinde kullanılan enzimler, kesim sıcaklığı ve süresi

<i>NRAMP1</i> enzim kesimi yöntemi ile genotipleme yapılan polimorfizmler				
	PRİMERLER	ENZİM	KESİM SICAĞIĞI	SÜRE
INT4	5'-TCTCTGGCTGAAGGCCTCTCC-3'(F) 5'-TGTGCTATCAGTTTGAGCCTC-3'(R)	Apal	37°C	2 saat
3'UTR	5'-GCATCTCCCCAATTCATGGT-3' (F)	FokI	55°C	1 saat
D543N	5'-AACTGTCCCACTCTATCCTG-3' (R)	Avall	37°C	2 saat

2.2.3. *NRAMP1* INT4 Genotiplemesi

NRAMP1 geni **INT4** polimorfizmi için hedeflenen bölge standardize edilen PCR koşulları ile çoğaltıldı ve PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde görüntülendikten sonra enzim kesimi uygulandı. Kesim ürünleri %4'lük jelde yürütülerek sonuçlar elde edildi.

2.2.3.1. INT4 polimorfizmi PCR işlemi

1. Çalışılacak her materyal için ve 1 tane negatif kontrol için 0,2 ml'lik ependorf tüp hazırlanarak ve materyalin kodu ve numarası yazıldı.

2. Miks hazırlanması için çalışılacak örnek miktarı başına aşağıda verilen değerlerde olacak şekilde ayrı bir ependorf tüpte miks hazırlandı ve iyice pipetaj yapılarak karışması sağlandı.

INT4 PCR miksi hazırlanmasında kullanılan maddeler:

- Ultra saf su11,75 µl
- MgCl₂.....2 µl
- 10X PCR Buffer.....2,5 µl
- dNTP.....1 µl
- 5'-TCTCTGGCTGAAGGCCTCTCC-3'
(Forward).....1,25 µl
- 5'-TGTGCTATCAGTTTGAGCCTC-3'
(Reverse).....1,25 µl)
- Taq polimeraz.....0,25 µl
- Örnek DNA.....5 µl

3. Hazırlanan miks, ilk hazırlanan 0,2 ml'lik boş ependorf tüplere 20 µl olacak şekilde pay edildi. Negatif kontrol hariç, içinde miks bulunan 0,2 ml'lik ependorflara örnek DNA'larından 5'er µl alınarak sırasıyla kondu ve baloncuk oluşturmada 2-3 kez pipetaj yapıldı.

4. 0,2 ml'lik ependorflardaki örnekler PCR aletine yerleştirildi ve aşağıda verilen şartlarda amplifiye edildi. INT4 PCR ürünleri bir sonraki işleme tabi tutulana dek +4° C'de saklandı.

95⁰C – 2 dak

95⁰C – 30 sn
60,8⁰C – 30 sn
72⁰C – 30 sn

30 Siklus

72⁰C – 10 dak

4⁰C – ∞

2.2.3.2. INT4 PCR Ürünlerinin Jel Elektroforezinde Kontrolü

Kullanılan maddeler :

- Orange G (+4° C)
- 50 / 100 baz çifti Ladder (- 20° C)
- INT4 PCR ürünleri (+4° C)
- %2'lük agaroz jel

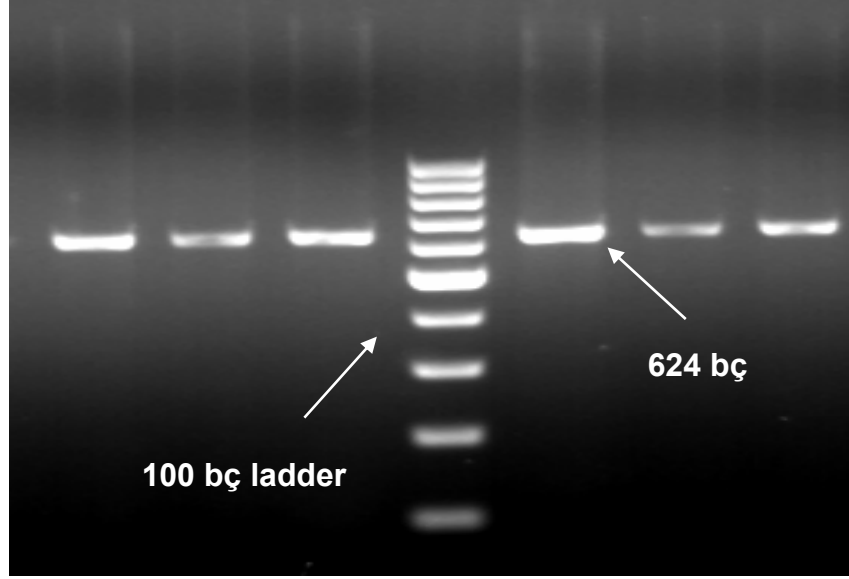
1. Parafilm üzerine, her örnek için 4'er µl orange G konup ve 4'er µl INT4 PCR ürünü ile karıştırılarak %2'lik jele sırasıyla yüklendi. Jele yüklenen sıra dikkatle not edildi.

2. En baş ya da en sondaki kuyucuğa en az 2 µl ladder yüklendi.

3. Yaklaşık olarak 100 volt'da 10-15 dakika örneklerin yürümesi beklendi.

4. UV ışığı altında kamerada jel görüntülendi. INT4 PCR ürününün 624 baz çifti düzeyinde 1 adet bant şeklinde görülmesi gerekmektedir (Şekil 5).

5. Elde edilen bantlar her örnek için kayıt edildi.



Şekil 5. INT4 PCR ürünlerinin agaroz jel kontrol görüntüleri

2.2.3.3. Apa1 Enzim Kesimi

Kullanılan maddeler

- Buffer Tango (- 20° C)
- Apa1 Enzimi (- 20° C)
- INT4 polimorfizmi PCR ürünleri (+ 4° C)

1. Çalışılacak her materyal için 0,5 ml'lik ependorf tüp hazırlandı ve üzerine etiket konarak materyalin kodu ve numarası yazıldı.

2. Örnek başına 0,8 µl 'Buffer Tango', 0,8 µl Apa1 enzimi olacak şekilde miks hazırlandı. Pipetaj kaybı olacağı için örnek sayısından 3-5 fazla hazırlandı. Miksin buzda durmasına özen gösterilerek maddeler kullanmadan önce kısa süreli vortekslendi.

3. Hazırlanan ependorf tüplere sırasıyla 8'er µl INT4 PCR ürünlerinden kondu, hazırlanan miksten 1,6'şar µl alarak PCR ürünlerinin üzerine eklendi ve 2-3 kez pipetaj yapıldı.

4. Tüpler 2 saat süreyle 37°C'de bekletilerek kesim işlemi yapıldı (Tablo 4). Analiz aşamasına geçilene kadar ürünler +4 C'de saklandı.

2.2.3.4. Apa1 Kesim Ürünlerinin Jel Elektroforezinde Kontrolü

Kullanılan maddeler :

- Orange G (+4° C)
- 50 / 100 baz çifti Ladder (- 20° C)
- Apa1 kesim ürünleri (+4° C)
- %4'lük agaroz jel

1. Parafilm üzerine, her örnek için 7'şer µl orange G kondu ve 7'şer µl Apa1 kesim ürünleri orange G ile karıştırılıp %4'lük jele sırasıyla not edilerek yüklendi.

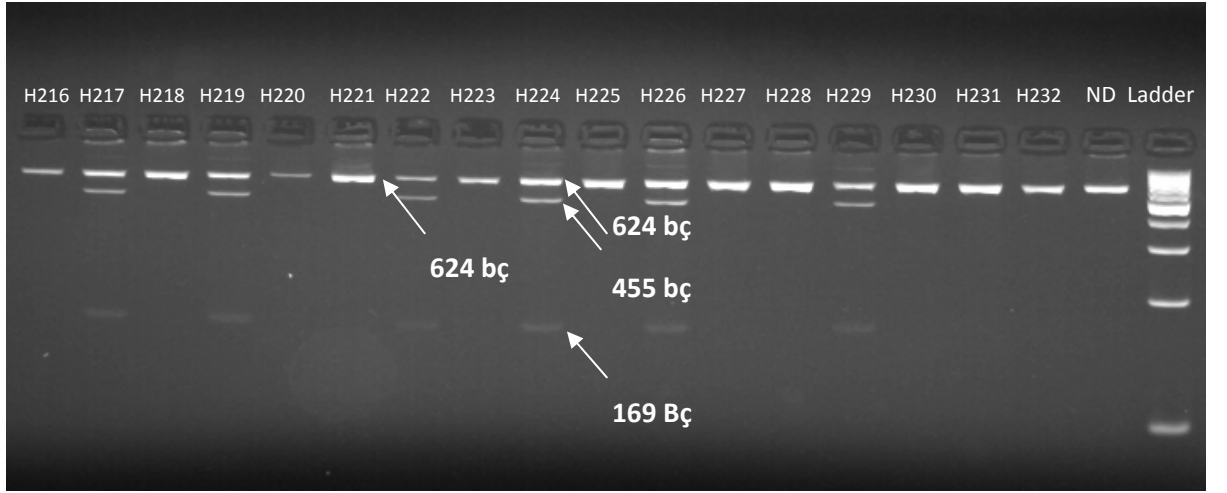
2. En baş ya da en sondaki kuyucuğa en az 2 µl ladder yüklendi.

3. Bir kuyucuğa Apa1 enzimi ile muamele edilmemiş INT4 PCR ürünü yüklendi.

4. Yaklaşık olarak 100 volt'da 10-15 dakika örneklerin yürümesi beklendi.

5. UV ışığı altında kamerada jel görüntülendi.

6. Jelde görüntülenen bantlar 50 / 100 baz çifti Ladder kullanılarak kontrol edildi. Normal allel (G) kesilmemiş ve 624 baz çifti olarak %4'lük agaroz jelde görüntülendi. Varyant allel (C) ise 455+169 baz çifti olarak kesilmiş olarak %4 agaroz jelde görüntülendi (Şekil 6).



Şekil 6. INT4 polimorfizmine ait 23 hastanın PCR ürünlerinin Apa1 enzimi ile kesimi sonrasında %4'lük jeldeki analiz görüntüsü. ND: Enzim ile kesim uygulanmamış 624 bç'lik PCR ürününe ait kuyucuk. H221: 624 bç'lik tek bant görülmesi sonucu homozigot normal saptanan 221 numaralı hastaya ait kuyucuk. H224: 624+455+169 bç'lik bantlarının görülmesi sonucu heterozigot saptanan 224 numaralı hastaya ait kuyucuk. Son kuyucuğa 100 bç'lik ladder yüklendi.

2.2.4. *NRAMP1* D543N ve 3'UTR Genotiplemesi

NRAMP1 geni D543N (codon, Arg → Asp) ve 3'UTR (1729+55del4) polimorfizmleri için hedeflenen bölge standardize edilen PCR koşulları ile çoğaltıldı ve PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde görüntülendikten sonra her polimorfizm için uygun olan enzim ile kesim uygulandı. Kesim ürünleri %4'lük jelde yürütülerek sonuçlar elde edildi.

2.2.4.1. D543N ve 3'UTR polimorfizmleri PCR işlemi

1. Çalışılacak her materyal için ve 1 tane negatif kontrol için 0,2 ml'lik ependorf tüp hazırlanarak ve materyalin kodu ve numarası yazıldı.
2. Miks hazırlanması için çalışılacak örnek miktarı başına aşağıda verilen değerlerde olacak şekilde ayrı bir ependorf tüpte miks hazırlandı ve iyice pipetaj yapılarak karışması sağlandı.

D543N ve 3'UTR PCR miksi hazırlanmasında kullanılan maddeler:

- o Ultra saf su24 µl
- o MgCl₂.....3,5 µl
- o 10X PCR Buffer.....5 µl
- o dNTP.....2 µl
- o 5'-GCATCTCCCCAATTCATGGT-3'
(Forward).....2,5 µl
- 5'-AACTGTCCCACTCTATCCTG-3'
(Reverse).....2,5 µl)

- o Taq polimeraz.....0,5 µl
- o Örnek DNA.....10 µl

3. Hazırlanan miks, ilk hazırlanan 0,2 ml'lik boş ependorf tüplere 40 µl olacak şekilde pay edildi. Negatif kontrol hariç, içinde miks bulunan 0,2 ml'lik ependorflara örnek DNA'larından 10'ar µl alınarak sırasıyla kondu ve baloncuk oluşturmada 2-3 kez pipetaj yapıldı.

4. 0,2'lik ependorflardaki örnekler PCR aletine yerleştirildi ve aşağıda verilen şartlarda amplifiye edildi. D543N ve 3'UTR PCR ürünleri bir sonraki işleme tabi tutulana dek +4° C'de saklandı.

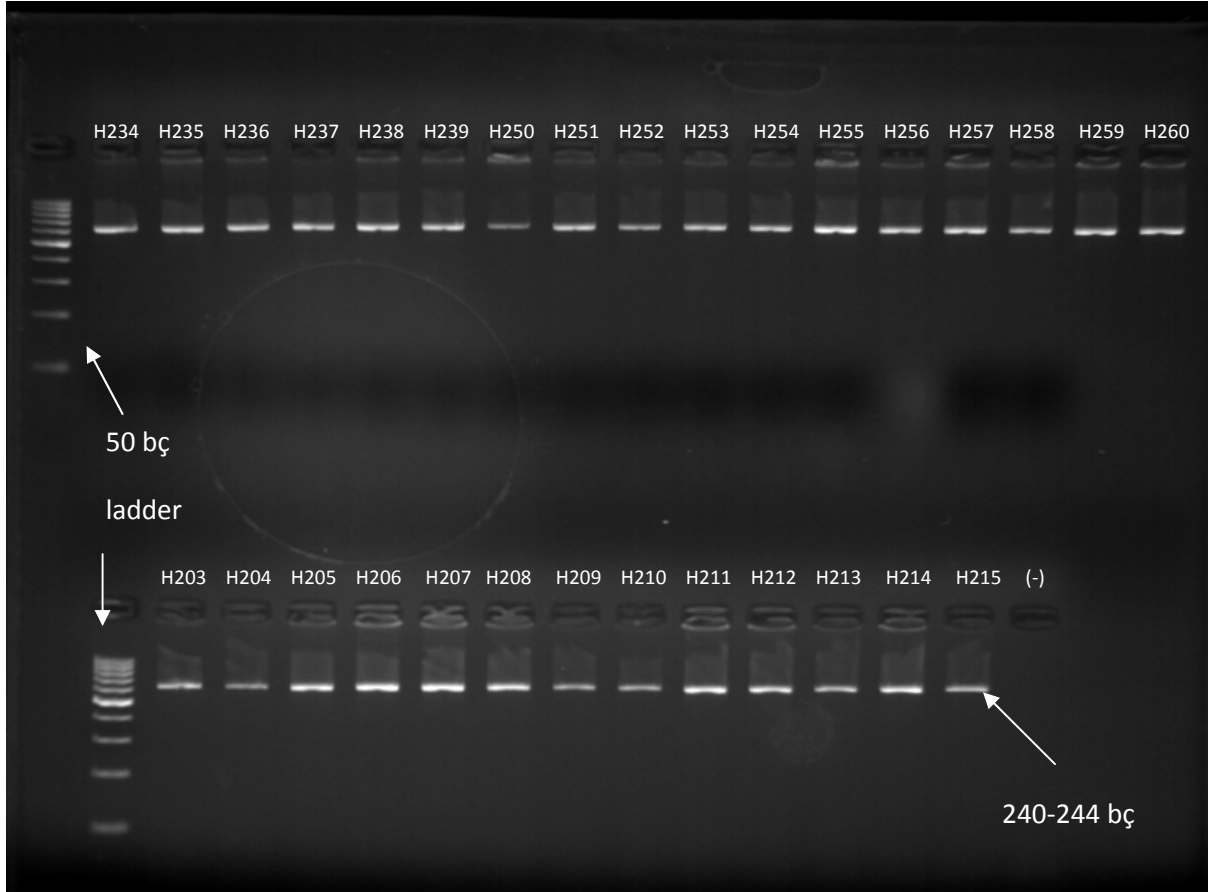
95 ⁰ C – 5 dak	
95 ⁰ C – 30 sn	} 35 Siklus
58,6 ⁰ C – 30 sn	
72 ⁰ C – 1 dak	
72 ⁰ C – 10 dak	
4 ⁰ C – ∞	

2.2.4.2. D543N ve 3'UTR PCR Ürünlerinin Jel Elektroforezinde Kontrolü

Kullanılan maddeler :

- Orange G (+4° C)
- 50 / 100 baz çifti Ladder (- 20° C)
- D543N ve 3'UTR PCR ürünleri (+4° C)
- %2'lük agaroz jel

1. Parafilm üzerine, her örnek için 4'er µl orange G konup ve 4'er µl D543N ve 3'UTR PCR ürünü ile karıştırılarak %2'lik jele sırasıyla yüklendi. Jele yüklenen sıra dikkatle not edildi.
2. En baş ya da en sondaki kuyucuğa en az 2 µl ladder yüklendi.
3. Yaklaşık olarak 100 volt'da 10-15 dakika örneklerin yürümesi beklendi.
4. UV ışığı altında kamerada jel görüntülendi. D543N ve 3'UTR PCR ürününün 240 veya 244 baz çifti düzeyinde 1 adet bant şeklinde görülmesi gerekmektedir (Şekil 7).
5. Elde edilen bantlar her örnek için kayıt edildi.



Şekil 7. Otuz hastanın D543N ve 3'UTR polimorfizmlerine ait PCR ürünlerinin %2'lik jeldeki analiz görüntüsü. H234: 234 numaralı hastanın PCR örneğinin, (-): negatif kontrol amaçlı PCR örneğinin yüklendiği kuyucukları belirtmektedir. PCR ürünlerinin 240-244 bp uzunlukta olduğu görülmektedir. İlk kuyucuklara 50 bp'lik ladder yüklendi.

2.2.4.3. Avall Enzim Kesimi

Kullanılan maddeler

- Buffer Tango (- 20° C)
- Avall Enzimi (- 20° C)
- D543N polimorfizmi PCR ürünleri (+ 4° C)

1. Çalışılacak her materyal için 0,5 ml'lik ependorf tüp hazırlandı ve üzerine etiket konarak materyalin kodu ve numarası yazıldı.
2. Örnek başına 0,8 µl 'Buffer Tango', 0,8 µl Avall enzimi olacak şekilde miks hazırlandı. Pipetaj kaybı olacağı için örnek sayısından 3-5 fazla hazırlandı. Miksin buzda durmasına özen gösterilerek maddeler kullanmadan önce kısa süreli vortekslendi.
3. Hazırlanan ependorf tüplere sırasıyla 8'er µl D543N PCR ürünlerinden kondu, hazırlanan miksten 1,6'şar µl alarak PCR ürünlerinin üzerine eklendi ve 2-3 kez pipetaj yapıldı.
4. Tüpler 2 saat süreyle 37⁰C'de bekletilerek kesim işlemi yapıldı (Tablo 4). Analiz aşamasına geçilene kadar ürünler +4 C'de saklandı.

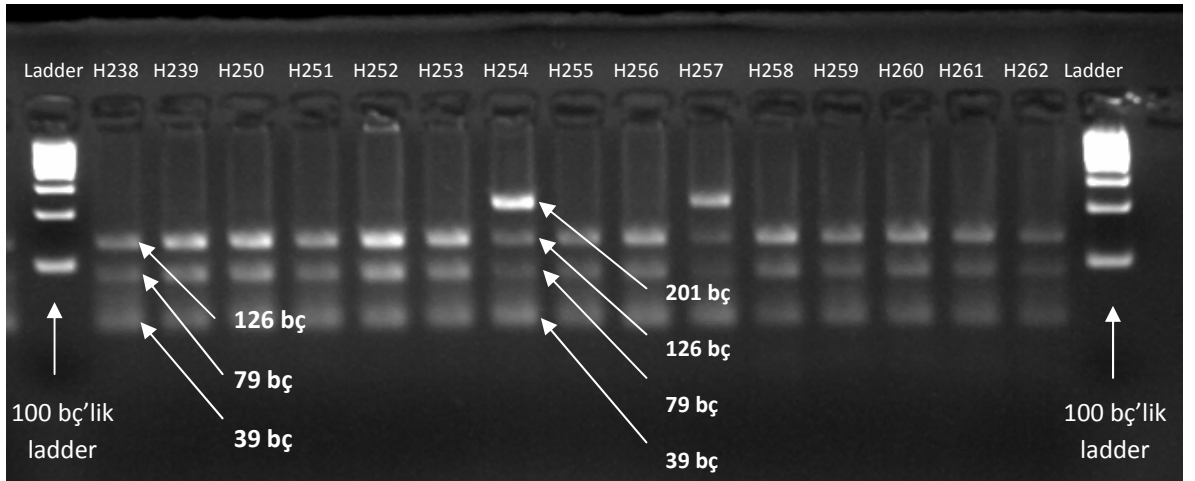
2.2.4.4. Avall Kesim Ürünlerinin Jel Elektroforezinde Kontrolü

Kullanılan maddeler :

- Orange G (+4° C)
- 50 / 100 baz çifti Ladder (- 20° C)
- Avall kesim ürünleri (+4° C)
- %4'lük agaroz jel

1. Parafilm üzerine, her örnek için 7'şer µl orange G kondu ve 7'şer µl Avall kesim ürünleri orange G ile karıştırılıp %4'lük jele sırasıyla not edilerek yüklendi.
2. En baş ya da en sondaki kuyucuğa en az 2 µl ladder yüklendi.

3. Bir kuyucuğa Avall enzimi ile muamele edilmemiş D543N PCR ürünü yüklendi.
4. Yaklaşık olarak 100 volt'da 10-15 dakika örneklerin yürümesi beklendi.
5. UV ışığı altında kamerada jel görüntülendi.
6. Jelde görüntülenen bantlar 50 / 100 baz çifti Ladder kullanılarak kontrol edildi. Normal allel (G) 126+79+39 baz çifti olarak kesilmişti ve %4'lük agaroz jelde görüntülendi. Varyant allel (A) ise 201+39 baz çifti olarak kesilmiş olarak %4 agaroz jelde görüntülendi (Şekil 8).



Şekil 8. D543N polimorfizmine ait 16 hastanın PCR ürünlerinin Avall enzimi ile kesimi sonrasında %4'lük jeldeki analiz görüntüsü. H238: 126+79+39 bç'lik bantlarının görülmesi sonucu homozigot normal saptanan 238 numaralı hastaya ait kuyucuk. H254: 201+126+79+39 bç'lik bantlarının görülmesi sonucu heterozigot saptanan 254 numaralı hastaya ait kuyucuk. İlk ve son kuyucuklara 100 bç'lik ladder yüklendi.

2.2.4.5. Fok1 Enzim Kesimi

Kullanılan maddeler

- Buffer Tango (- 20° C)
- Fok1 Enzimi (- 20° C)
- 3'UTR polimorfizmi PCR ürünleri (+ 4° C)

1. Çalışılacak her materyal için 0,5 ml'lik ependorf tüp hazırlandı ve üzerine etiket konarak materyalin kodu ve numarası yazıldı.

2. Örnek başına 0,8 µl 'Buffer Tango', 0,8 µl Fok1 enzimi olacak şekilde miks hazırlandı. Pipetaj kaybı olacağı için örnek sayısından 3-5 fazla hazırlandı. Miksin buzda durmasına özen gösterilerek maddeler kullanmadan önce kısa süreli vortekslendi.

3. Hazırlanan ependorf tüplere sırasıyla 8'er µl **3'UTR** PCR ürünlerinden kondu, hazırlanan miksten 1,6'şar µl alarak PCR ürünlerinin üzerine eklendi ve 2-3 kez pipetaj yapıldı.

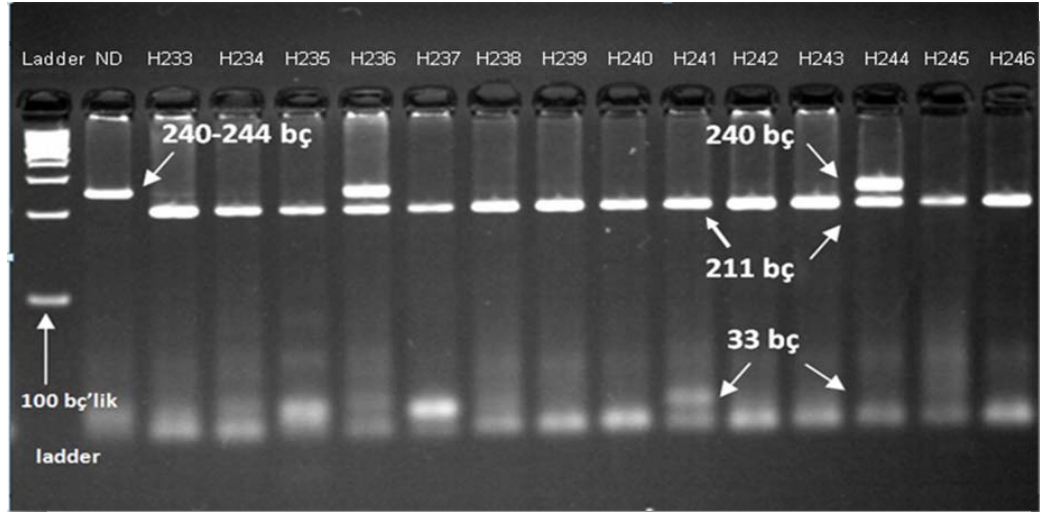
4. Tüpler 1 saat süreyle 55⁰C'de bekletilerek kesim işlemi yapıldı (Tablo 4). Analiz aşamasına geçilene kadar ürünler +4 C'de saklandı.

2.2.4.6. Fok1 Kesim Ürünlerinin Jel Elektroforezinde Kontrolü

Kullanılan maddeler :

- Orange G (+4° C)
- 50 / 100 baz çifti Ladder (- 20° C)
- Fok1 kesim ürünleri (+4° C)
- %4'lük agaroz jel

1. Parafilm üzerine, her örnek için 7'şer µl orange G kondu ve 7'şer µl Fok1 kesim ürünleri orange G ile karıştırılıp %4'lük jele sırasıyla not edilerek yüklendi.
2. En baş ya da en sondaki kuyucuğa en az 2 µl ladder yüklendi.
3. Bir kuyucuğa Fok1 enzimi ile muamele edilmemiş D543N ve 3'UTR PCR ürünü yüklendi.
4. Yaklaşık olarak 100 volt'da 10-15 dakika örneklerin yürümesi beklendi.
5. UV ışığı altında kamerada jel görüntülendi.
6. Jelde görüntülenen bantlar 50 / 100 baz çifti Ladder kullanılarak kontrol edildi. Varyant allel (TGTG-) kesilmemiş ve 240 baz çifti olarak %4'lük agaroz jelde görüntülendi. Normal allel (TGTG+) ise 211+33 baz çifti olarak kesilmiş olarak %4 agaroz jelde görüntülendi (Şekil 9).



Şekil 9. 3'UTR polimorfizmine ait 14 hastanın PCR ürünlerinin Fok1 enzimi ile kesimi sonrasında %4'lük jeldeki analiz görüntüsü. ND: Enzim ile kesim uygulanmamış 240-244 bç'lik PCR ürününe ait kuyucuk. H241: 211+33 bç'lik iki bant görülmesi sonucu homozigot normal saptanan 241 numaralı hastaya ait kuyucuk. H244: 244+211+33 bç'lik bantlarının görülmesi sonucu heterozigot saptanan 244 numaralı hastaya ait kuyucuk. İlk ve son kuyucuklara 100 bç'lik ladder yüklendi.

2.2.5. *NRAMP1* 5'(CA)_n Genotiplemesi

NRAMP1 geni **5'(CA)_n** polimorfizmi için hedeflenen bölge standardize edilen PCR koşulları ile çoğaltıldı ve 196-202 baz çifti uzunluğundaki PCR ürünlerinin (Şekil 10) ABI 3100 sekans cihazında elektroforezi yapıldı ve GeneMapper yazılım programı kullanılarak örnekler analiz edildi.

2.2.5.1. 5'(CA)_n polimorfizmi PCR işlemi

1. Çalışılacak her materyal için 0,2 ml'lik ependorf tüp hazırlandı ve materyalin kodu ve numarası yazıldı.

2. Miks hazırlanması için çalışılacak örnek miktarı başına aşağıda verilen değerlerde olacak şekilde ayrı bir ependorf tüpte miks hazırlandı ve iyice pipetaj yapılarak karışması sağlandı.

5'(CA)_n PCR miksi hazırlanmasında kullanılan maddeler:

- o Ultra saf su12,25 µl
- o MgCl₂.....2 µl
- o 10X PCR Buffer.....2,5 µl
- o dNTP.....1 µl
- o 5'-ACTCGCATTAGGCCAACGAG -3'
(Forward).....1 µl
- o 5'-TTCTGTGCCTCCCAAGTTAGC-3'
(florasan işaretli) (Reverse)...1 µl
- o Taq polimeraz.....0,25 µl
- o Örnek DNA.....5 µl

3. Hazırlanan miks, ilk hazırlanan 0,2 ml'lik boş ependorf tüplere 20 µl olacak şekilde pay edildi. İçinde miks bulunan 0,2 ml'lik ependorflara örnek DNA'larından 5'er µl alınarak sırasıyla konu ve baloncuk oluşturmada 2-3 kez pipetaj yapıldı.

4. 0,2 ml'lik ependorflardaki örnekler PCR aletine yerleştirildi ve aşağıda verilen şartlarda amplifiye edildi. **5'(CA)_n** PCR ürünleri bir sonraki işleme tabi tutulana dek +4° C'de saklandı.

94⁰C – 2 dak

94⁰C – 60 sn

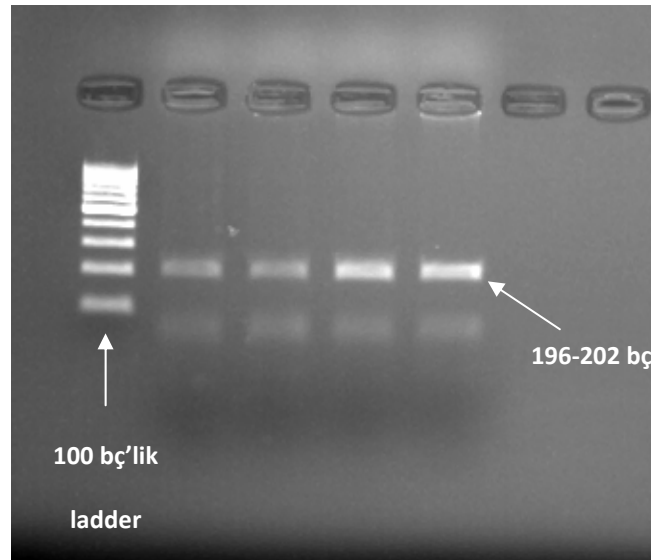
58⁰C – 60 sn

72⁰C – 60 sn

35 Siklus

72⁰C – 10 dak

4⁰C – ∞



Şekil 10. 5'(CA) PCR jel kontrol görüntüleri

2.2.5.2. 5'(CA)_n PCR Ürünlerinin Genetik Analizöre Yüklenmesi

Kullanılan maddeler

- Formamid 9,7 µl
- LIZ (turuncu) 0,3 µl
- PCR ürünleri 0,5 µl

1. Örnek başına 9,7 µl formamid, 0,3 µl LIZ kullanılarak ayrı bir ependorf tüpte miks hazırlanmıştı.

2. Plate üzerindeki örnek sayısı kadar kuyucuk içerisine 10 µl hazırlanan miksten kondu.

3. 5'(CA)_n PCR örneklerinden 0,5'er µl, önceden miks dağıtılmış olan kuyucuklara eklendi ve 2-3 kez baloncuk oluşturmada pipetaj yapıldı. Örneklerin hangi kuyucuğa yüklendiği not edildi.

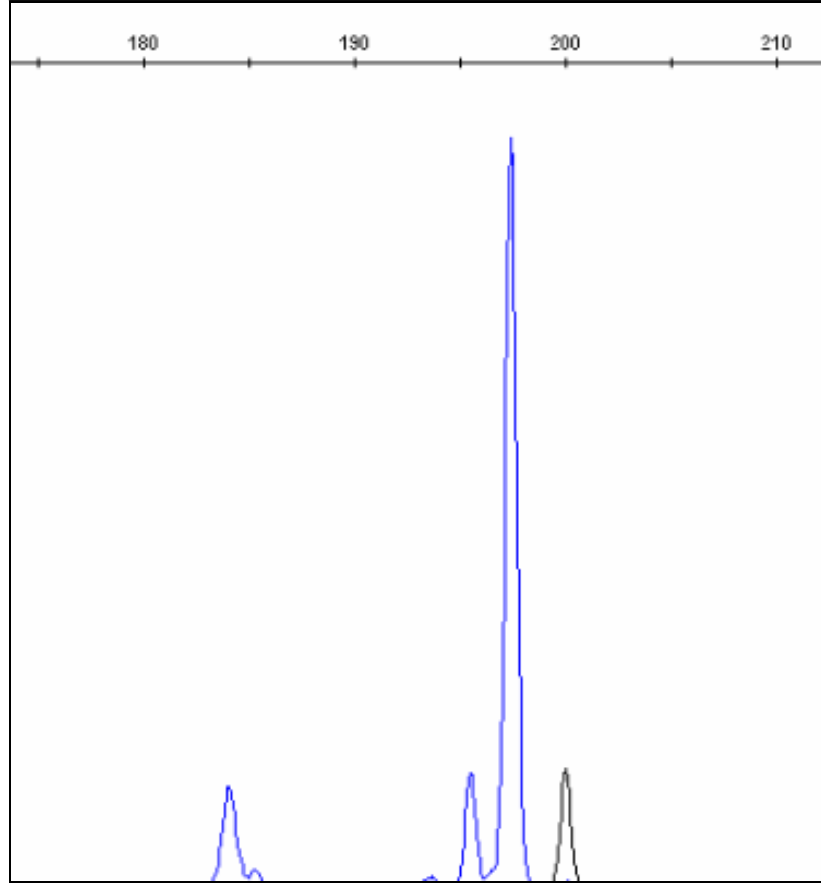
4. Plate üzeri plastikle kapatıldı.

5. PCR aleti üzerinde, 95°C'de 5 dakika denaturasyon işlemi yapıldı ve bu işlemde sonra örnekler hemen buza alındı.

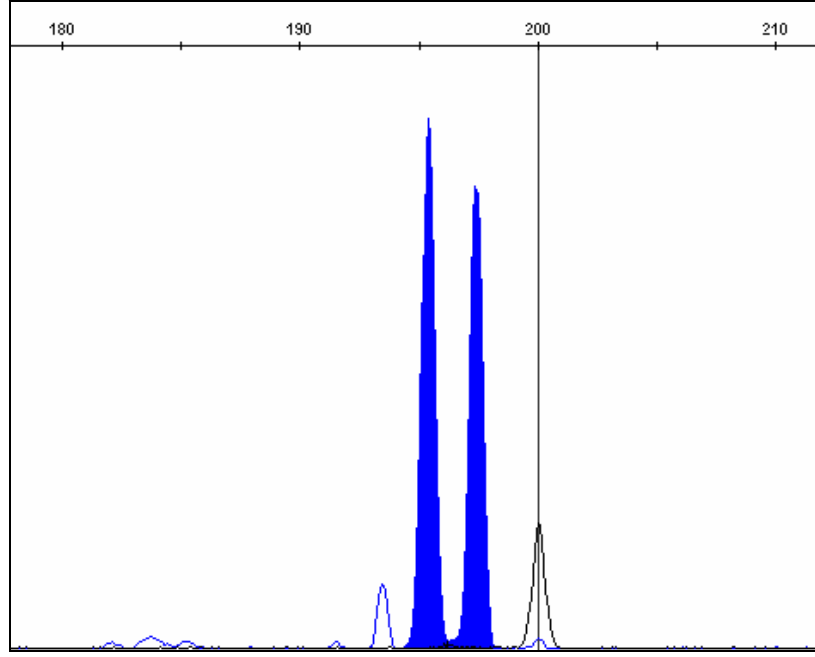
6. Örnekler ABI 3100 sekans cihazına yüklendi.

2.2.5.3. 5'(CA)_n PCR Ürünlerinin Genetik Analizörde Değerlendirilmesi

GeneMapper yazılım programı kullanılarak her örnek için analiz yapıldı. Mavi pikler dikkate alınarak 196, 198, 200, 202 baz çifti uzunluğa denk gelen pikler kontrol edilerek sonuçlar kaydedildi (Şekil 11, 12).



Şekil 11. 5'(CA)_n polimorfizmine ait (198-198) genotipi



Şekil 12. 5'(CA)_n polimorfizmine ait (196-198) genotipi

2.3. İstatistiksel Analiz

Kontrol ve hasta grubunun genotip ve allel sıklıkları SPSS versiyon 15.0 istatistik programında ki-kare analizi ile hesaplandı. Anlamlılık derecesi $p < 0.05$ olarak alındı.

BÖLÜM 3

BULGULAR

Çalışmaya alınan toplam 472 tüberkülozlu hastanın 340 tanesi erkek, 132 tanesi kadın olgulardan oluşuyordu ve yaş ortalamaları $39,21 \pm 18.597$ (minimum: 1, maksimum: 93) yılı. 432 erkek ve 139 kadından oluşan kontrol grubunun yaşları ortalamaları $36,48 \pm 13,963$ yılı (Tablo 5). Tüm hastaların ve kontrol grubunun Anti-HIV testleri negatifti.

Tablo 5. Hasta ve kontrol grubunun yaş ortalamaları ve cinsiyet dağılımı

	Hasta (n = 472)	Kontrol (n= 571)
Yaş (yıl)	39,21 ± 18.56	36,48 ± 13,96
Cins (E / K)	340 / 132	432 / 139

Hastaların 57 tanesi 0-18 yaş grubunda, 347 tanesi 19-59 yaş grubunda, 68 tanesi 60 yaş ve üstü olarak gruplandırılmıştır. Tüm hastaların ve kontrol grubunun yaş gruplarına göre cinsiyet dağılımı tablo 6'da görülmektedir.

Tablo 6. Hasta ve kontrol olgularının yaş gruplarına göre cinsiyet dağılımı ve yaş özellikleri

			n	E/K	Ortalama	Minimum-Maksimum
HASTA	n=472	0-18 yaş	57	32/25	8,66 ± 5,25	1-17
		19-59 yaş	347	257/90	38,46 ± 11,56	19-59
		60 yaş ve üstü	68	51/17	68,65 ± 6,42	60-93
KONTROL	n=571	0-18 yaş	73	37/36	7,79 ± 4,14	1-16
		19 yaş ve üstü	498	395/103	40,68 ± 9,08	25-64

Hastaların 391'ine (%79,3) akciğer tüberkülozu, 81'ine (%20,7) Amerikan Toraks Derneği'nin kriterlerine göre akciğer dışı tüberküloz tanısı konulmuştur. Akciğer tüberkülozlu olguların %76,73'ü, akciğer dışı tüberkülozlu olguların ise %49,38'i erkeklerden oluşmaktaydı. Yaş gruplarına göre akciğer ve akciğer dışı tüberküloz olgularındaki cinsiyet oranlarının dağılımı tablo 7'de verilmiştir. Akciğer dışı tüberküloz olgularının yaş gruplarına göre klinik formlarının dağılımı ise tablo 8'de görülmektedir.

Tablo 7. Akciğer TB ve akciğer dışı TB olgularının cinsiyet oranlarının yaş gruplarına göre dağılımı

YAŞ GRUPLARI	AKCİĞER TB			AKCİĞERDIŞI TB		
	Erkek n (%)	Kadın n (%)	Toplam n (%)	Erkek n (%)	Kadın n (%)	Toplam n (%)
0-18 yaş	24 (61,54)	15 (38,46)	39 (100)	8 (44,45)	10 (55,55)	18 (100)
19-59 yaş	229 (78,15)	64 (21,85)	293 (100)	28 (51,85)	26 (48,15)	54 (100)
60 yaş ve üstü	47 (79,67)	12 (20,33)	59 (100)	4 (44,45)	5 (55,55)	9 (100)
toplam	300 (76,73)	91 (23,27)	391 (100)	40 (49,38)	41 (50,62)	81 (100)

Tablo 8. Çalışmaya alınan tüberkülozlu hastaların yaş gruplarına göre klinik formlarının dağılımı

TANI	0-18 yaş	19-59 yaş	60 ve üstü yaş
AKCİĞER TB (n)	39	293	59
Primer akciğer TB	33		
Sekonder akciğer TB	6	293	59
AKCİĞER DIŞI TB (n)	18	54	9
Merkezi sinir sistemi TB	6	0	0
Miliyer TB	5	2	0
TB lenfadenit	3	25	2
İskelet sistemi TB	2	3	1
Abdominal TB	1	2	0
Üriner sistem TB	1	0	0
Genital sistem	0	2	0
Plevra	0	25	5
Larinks	0	2	0
Parotis	0	1	1
Retina	0	1	0
Perikard	0	1	0

Çocukluk grubundaki akciğer tüberkülozlu olguların %15,38'inde, 19-59 yaş grubundaki akciğer tüberkülozlu olguların %41,29'unda ve 60 yaş ve üstü akciğer tüberkülozlu olguların %37,28'inde kavitasyon saptanmıştır. On dokuz yaş ve üstü gruptaki olguların % 4,93'ünde kavitasyon saptanmıştır. Çocukluk yaş grubundaki (0-18 yaş) akciğer dışı tüberküloz olgularında ise kavitasyon saptanmamıştır (Tablo 9). Akciğer tüberkülozlu olguların

%63,42'sinde balgam pozitifliği saptanırken, bu oran akciğer dışı tüberkülozlu olgularda %12,34 olarak saptanmıştır (Tablo 10).

Tablo 9. Akciğer ve akciğer dışı tüberkülozlu hastalardan radyolojisinde kavitasyon saptanan olguların yaş gruplarına göre dağılımı

YAŞ GRUPLARI	AKCİĞER TB			AKCİĞER DIŞI TB		
	Kavitasyon Saptanmayan n (%)	Kavitasyon Saptanan n (%)	Toplam	Kavitasyon Saptanmayan n (%)	Kavitasyon Saptanan n (%)	Toplam
0-18 yaş	33 (84,62)	6 (15,38)	39	18 (100)	0 (0)	18
19-59 yaş	172 (58,71)	121 (41,29)	293	51 (94,45)	3 (5,55)	54
60+ yaş	37 (62,72)	22 (37,28)	59	8 (88,89)	1 (11,11)	9
TOPLAM	242 (61,90)	149 (38,10)	391	78 (95,07)	4 (4,93)	81

Tablo 10. Akciğer ve akciğer dışı tüberkülozlu hastalardan balgam direk bakısı pozitif saptanan olguların yaş gruplarına göre dağılımı

YAŞ GRUPLARI	AKCİĞER TB			AKCİĞERDIŞI TB		
	BALGAM ARB (-) n (%)	BALGAM ARB (+) n (%)	Toplam	BALGAM ARB (-) n (%)	BALGAM ARB (+) n (%)	Toplam
0-18 yaş	36 (82,31)	3 (7,69)	39	18 (100)	0 (0)	18
19-59 yaş	88 (30,04)	205 (69,96)	293	47 (87,04)	7 (12,96)	54
60+ yaş	19 (32,21)	40 (67,79)	59	6 (66,67)	3 (33,33)	9
TOPLAM	153 (36,58)	248 (63,42)	391	71 (87,66)	10 (12,34)	81

Tüm tüberküloz olgularının %32,41'inde kavitasyon, %24,78'inde kavitasyonla birlikte balgam direk bakısında pozitif sonuç saptanmıştır. Tüm tüberküloz olgularında balgam pozitifliği saptanma oranları, yetişkin grubunda çocukluk yaş grubuna kıyasla kavitasyon görülme sıklığı ile orantılı olarak daha yüksek saptanmıştır. Yaş gruplarına göre bu durumların dağılımı tablo 11'de görülmektedir.

Tablo 11. Akciğer tüberkülozlu olgularda kavitasyon ve kavitasyon ile birlikte balgam pozitifliği saptanma oranlarının yaş gruplarına göre dağılımı

TB OLGULARI		Kavitasyon Saptanan TB	Kavitasyon Saptanan Balgam ARB (+) TB
YAŞ GRUPLARI	n	n (%)	n (%)
0-18 yaş	57	6 (10,52)	1(1,75)
19-59 yaş	347	124 (35,73)	98 (28,24)
60+ yaş	68	23 (33,82)	18 (26,47)
TOPLAM	472	153 (32,41)	117 (24,78)

On dokuz yaş ve üstü tüberküloz olgularının %4,09'unda ilaç direnci görülmüştür. Akciğer tüberkülozlu olgular akciğer dışı tüberkülozlu olguların 16 katı kadardı ve ilaç direnci olan olgulardan kavitasyon gösterenlerin oranı %76,5 olarak tesbit edilirken, ilaç direnci görülmeyen tüberkülozlu olgulardan %33,7'sinde kavitasyon tesbit edilmiştir (Tablo 12).

Tablo 12. Yetişkin yaş grubu (19 yaş ve üstü) tüberküloz olgularında ilaç direnci görülenlerin cinsiyet, klinik form ve kavitasyon durumuna göre dağılımı

YETİŞKİN (n=415)	İlaç Direnci Olan TB (n= 17) (%4,09)		İlaç Direnci Olmayan TB (n=398) (%95,91)	
	n	(%)	n	(%)
E / K	15 / 2	88,2 / 11,8	293 / 105	73,6 / 26,4
AKCİĞER TB / AKCİĞERDIŞI TB	16 / 1	94,1 / 5,9	357 / 41	89,7 / 10,3
KAVİTASYON (+ / -)	13 / 4	76,5 / 23,5	134 / 264	33,7 / 66,3

Olgu ve kontrol grubumuz çocuk olgular (0-18 yaş) ve yetişkin olgulardan (19 yaş ve üstü) oluşacak şekilde iki gruba ayrılarak *NRAMP1* genine ait 3'UTR, D543N, 5'(CA)_n polimorfizmlerinin sonuçlarına göre değerlendirilmiştir.

NRAMP1 geni 3'UTR polimorfizmi TGTG delesyonu allelini ve D543N polimorfizmi A allelini taşıyan çocuk hastalar kontrol grubuna kıyasla iki katı oranda olmasına rağmen iki grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Homozigot 3'UTR polimorfizmi TGTG delesyonu genotipi ve D543N polimorfizmi A/A genotipi çocuk hasta grubunda saptanmamasına rağmen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 13, 14).

Tablo 13. Çocuk hasta ve çocuk kontrol gruplarındaki *NRAMP1* geni 3'UTR polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması

3'UTR	ÇOCUK HASTA		ÇOCUK KONTROL		p
	n	%	n	%	
TGTG+/TGTG+	51	91,07	69	98,6	1
TGTG+/TGTG-	5	8,93	1	1,4	1
TGTG-/TGTG-	0	0	0	0	
TOPLAM	56	100	70	100	
TGTG+	107	95,5	139	99,28	1
TGTG-	5	4,5	1	0,72	
TOPLAM	112	100	140	100	

Tablo 14. Çocuk hasta ve çocuk kontrol gruplarındaki *NRAMP1* geni D543N polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması

D543N	ÇOCUK HASTA		ÇOCUK KONTROL		<i>p</i>
	n	%	n	%	
G/G	51	91,08	68	97,1	1
G/A	5	8,92	2	2,9	1
A/A	0	0	0	0	
TOPLAM	56	100	70	100	
G	107	95,5	138	98,57	1
A	5	4,5	2	1,43	
TOPLAM	112	100	140	100	

INT4 polimorfizminin C/C genotipi çocuk hasta grubunda saptanmamasına rağmen kontrol grubu ile arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 15).

Tablo 15. Çocuk hasta ve çocuk kontrol gruplarındaki *NRAMP1* geni INT4 polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması

INT4	ÇOCUK HASTA		ÇOCUK KONTROL		<i>p</i>
	n	%	n	%	
G/G	32	60,37	25	69,4	1
G/C	21	39,63	9	25,0	1
C/C	0	0	2	5,6	1
TOPLAM	53	100	36	100	
G	85	80,2	59	81,94	1
C	21	19,8	13	18,06	
TOPLAM	106	100	72	100	

Çocuk hasta grubundaki olgular kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 5'(CA)_n polimorfizmi (196-200) genotipi ve allel 200 kontrol grubunda bulunmamasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 16).

Tablo 16. Çocuk hasta ve çocuk kontrol gruplarındaki *NRAMP1* geni 5'(CA)_n polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması

5'(CA) _n	ÇOCUK HASTA		ÇOCUK KONTROL		p
	n	%	n	%	
196-196	29	51,80	36	51,4	1
196-198	22	39,28	29	41,4	0,856
196-200	2	3,57	0	0	0,196
196-202	0	0	0	0	
198-198	3	5,35	5	7,2	0,719
198-200	0	0	0	0	
198-202	0	0	0	0	
200-200	0	0	0	0	
200-202	0	0	0	0	
202-202	0	0	0	0	
TOPLAM	56	100	70	100	
196	82	73,21	101	72,15	0,888
198	28	25	39	27,85	0,668
200	2	1,79	0	0	0,197
202	0	0	0	0	
TOPLAM	112	100	140	100	

Çalışmaya alınan 19 yaş ve üstü yetişkin hasta gruplarında *NRAMP1* geni 3'UTR polimorfizmine ait elde edilen sonuçlar ve kontrol grubunda elde edilen genotip ve allel sıklıkları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir fark saptanmamıştır. TGTG delesyonuna homozigot olarak sahip olan bireyler kontrol grubunda bulunmamasına rağmen bu farklılık hastalığa yatkınlık açısından istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 17).

Tablo 17. Çalışmaya alınan 19 yaş ve üstü yetişkin hasta gruplarında ve kontrol grubundaki *NRAMP1* geni 3'UTR polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması

3'UTR	YETİŞKİN HASTA		YETİŞKİN KONTROL		p
	n	%	n	%	
TGTG+/TGTG+	384	93,2	404	94,4	0,475
TGTG+/TGTG-	26	6,3	24	5,6	0,662
TGTG-/TGTG-	2	0,5	0	0	0,240
TOPLAM	412	100	428	100	
TGTG+	794	96,36	832	97,20	0,329
TGTG-	30	3,64	24	2,80	
TOPLAM	824	100	856	100	

Her iki grupta D543N polimorfizmine ait elde edilen genotip ve allel sıklıkları karşılaştırıldığında da tüberküloza yatkınlık veya direnç açısından istatistiksel olarak anlamlı fark elde edilmemiştir (Tablo 18).

Tablo 18. Çalışmaya alınan 19 yaş ve üstü yetişkin hasta gruplarında ve kontrol grubundaki *NRAMP1* geni D543N polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması

D543N	YETİŞKİN HASTA		YETİŞKİN KONTROL		<i>p</i>
	n	%	n	%	
G/G	382	92,7	407	95,1	0,149
G/A	29	7,0	20	4,7	0,143
A/A	1	0,2	1	0,2	0,740
TOPLAM	412	100	428	100	
G	793	96,24	834	97,43	0,162
A	31	3,76	22	2,57	
TOPLAM	824	100	856	100	

Yetişkin hasta grubu (19 yaş ve üstü) ve kontrol grubunda *NRAMP1* geni INT4 polimorfizmine ait sonuçlar karşılaştırıldığında, C/C genotipi hastalarda kontrol grubuna oranla yaklaşık iki kat saptanmıştır. Ancak INT4'ün bu ve diğer genotiplerine ait sonuçlar hastalıkla ilişkilendirilebilecek şekilde istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 19).

Tablo 19. Çalışmaya alınan 19 yaş ve üstü yetişkin hasta gruplarında ve kontrol grubundaki *NRAMP1* geni INT4 polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması

INT4	YETİŞKİN HASTA		YETİŞKİN KONTROL		p
	n	%	n	%	
G/G	242	62,50	324	66,66	0.225
G/C	133	34,40	154	31,69	0.425
C/C	12	3,10	8	1,65	0.175
TOPLAM	387	100	486	100	
G	617	79,72	802	82,50	0.154
C	157	20,28	170	17,50	
TOPLAM	774	100	972	100	

NRAMP1 geni 5'(CA)_n polimorfizminin 19 yaş ve üstü yetişkin hasta grubu ve kontrol grubu sonuçları değerlendirildiğinde tüberküloz açısından istatistiksel olarak anlamlılık tesbit edilmemiştir. Sadece hasta grubunda (196-200) genotipi ve kontrol grubunda (198-202), (198-202) genotipleri saptanmamasına rağmen istatistiksel olarak hastalık açısından anlamlı bulunmamıştır. Allel 202 kontrol grubunda saptanmazken, allel 200 kontrol

grubunda hasta grubunun iki katı sıklıkta saptanmıştır. Ancak allel sıklıkları açısından da anlamlı bir fark tesbit edilmemiştir (Tablo 20).

Tablo 20. Çalışmaya alınan 19 yaş ve üstü yetişkin hasta gruplarında ve kontrol grubundaki *NRAMP1* geni 5'(CA)_n polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması

5'(CA) _n	YETİŞKİN HASTA		YETİŞKİN KONTROL		p
	n	%	n	%	
196-196	235	57,20	289	58,62	0.631
196-198	144	35,00	174	35,29	0.920
196-200	0	0	2	0,40	0.503
196-202	1	0,20	0	0	0.455
198-198	28	6,80	25	5,07	0.271
198-200	2	0,50	3	0,608	1
198-202	2	0,20	0	0	0.206
200-200	0	0	0	0	1
200-202	0	0	0	0	1
202-202	0	0	0	0	1
TOPLAM	412	100	493	100	
196	615	74,64	754	76,47	0.365
198	204	24,76	227	23,03	0.389
200	2	0,24	5	0,50	0.465
202	3	0,36	0	0	0.094
TOPLAM	824	100	986	100	

Çocuk hasta grubunun yetişkin hasta grubu ile karşılaştırılması sonucunda *NRAMP1* genine ait 3'UTR, D543N, INT4 polimorfizmleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 21-23). Ancak (196-200) genotipinin yetişkin hastalarda hiç görülmemesinin istatistiksel olarak anlamlı bir fark yarattığı saptanmıştır (Tablo 24).

Tablo 21. Çocuk hasta ve yetişkin hasta gruplarındaki *NRAMP1* geni 3'UTR polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması

3'UTR	ÇOCUK HASTA		YETİŞKİN HASTA		P
	n	%	n	%	
TGTG+/TGTG+	51	91,07	384	93,20	0,576
TGTG+/TGTG-	5	8,93	26	6,30	0,400
TGTG-/TGTG-	0	0	2	0,50	1
TOPLAM	56	100	412	100	
TGTG+	107	95,50	794	96,36	0,598
TGTG-	5	4,50	30	3,64	
TOPLAM	112	100	824	100	

Tablo 22. Çocuk hasta ve yetişkin hasta gruplarındaki *NRAMP1* geni D543N polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması

D543N	ÇOCUK HASTA		YETİŞKİN HASTA		p
	n	%	n	%	
G/G	51	91,08	382	92,70	0,593
G/A	5	8,92	29	7,00	0,584
A/A	0	0	1	0,20	1
TOPLAM	56	100	412	100	
G	107	95,50	793	96,24	0,608
A	5	4,50	31	3,76	
TOPLAM	112	100	824	100	

Tablo 23. Çocuk hasta ve yetişkin hasta gruplarındaki *NRAMP1* geni INT4 polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması

INT4	ÇOCUK HASTA		YETİŞKİN HASTA		P
	n	%	n	%	
G/G	32	60,37	242	62,50	0,764
G/C	21	39,63	133	34,40	0,447
C/C	0	0	12	3,10	0,376
TOPLAM	53	100	387	100	
G	85	80,20	617	79,71	1
C	21	19,80	157	20,29	
TOPLAM	106	100	774	100	

Tablo 24. Çocuk hasta ve yetişkin hasta gruplarındaki *NRAMP1* geni 5'(CA)_n polimorfizmi genotiplerinin sıklığının karşılaştırılması

5'CA	ÇOCUK HASTA		YETİŞKİN HASTA		p
	n	%	n	%	
196-196	29	51,80	235	57,20	0,475
196-198	22	39,28	144	35,00	0,553
196-200	2	3,57	0	0	<u>0,014</u>
196-202	0	0	1	0,20	1
198-198	3	5,35	28	6,80	1
198-200	0	0	2	0,50	1
198-202	0	0	2	0,20	1
200-200	0	0	0	0	
200-202	0	0	0	0	
202-202	0	0	0	0	
TOPLAM	56	100	412	100	
196	82	73,21	615	74,63	0,646
198	28	25	204	24,76	1
200	2	1,79	2	0,24	0,072
202	0	0	3	0,37	1
TOPLAM	112	100	824	100	

Çalışmaya alınan hastalar, 0-18 yaş çocuk olgular, 19 yaş ve üstü yetişkin olgular, 60 ve üstü yaş yetişkin olgulardan oluşan üç gruba ayrılarak incelenmiştir. Her grup, polimorfizmlerin farklı klinik formlar ile birlikteliği açısından değerlendirilmiştir. Ayrıca 0-18 yaş çocuk olguların ve 19 yaş ve üstü yetişkin olguların sonuçları ile yaş uyumlu kontrol olgularının sonuçları *NRAMP1* genine ait polimorfizmlerin hastalık ile ilişkisi açısından

değerlendirilmiştir. Akciğer ve akciğer dışı tüberküloz tanısı almış olgular ve kavitasyon saptanan akciğer tüberküloz olguları kendi arasında ve kontrol grubu ile her polimorfizmin sıklıkları açısından karşılaştırılmıştır.

Çocuk tüberküloz hastaları (0-18 yaş) ve kontrol grubunun 3'UTR polimorfizmi sonuçları tablo 25'de verilmektedir. Tüberkülozun herhangi bir formunu gösteren olgu grupları ve kontrol grubu sonuçları arasında yapılan karşılaştırmalarda hiçbir genotip ve allel ile anlamlı bir ilişkili bulunmamıştır.

Tablo 25. Çocuk hasta ve kontrol gruplarında klinik formlara göre *NRAMP1* geni 3'UTR polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması

Çocuk	Hasta (n=56)		Kavitasyon Saptanan TB III (n=6) n (%)	Çocuk Kontrol IV (n= 70) n (%)	I-II <i>p</i>	I-III <i>p</i>	I-IV <i>p</i>	II-IV <i>p</i>	III-IV <i>p</i>
3'UTR	AKCİĞER TB I (n=38) n (%)	AKCİĞERDIŞI TB II (n=18) n (%)							
TGTG+/TGTG+	34 (89,5)	17 (94,5)	6 (100)	69 (98,6)	0.662	1	0,051	0,369	1
TGTG+/TGTG-	4 (10,5)	1 (5,5)	0 (0)	1 (1,4)	0.662	1	0,051	0,369	1
TGTG-/TGTG-	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	1			
TGTG+	72 (94,73)	35 (97,2)	12 (100)	139 (99,28)	0.669	1	0,053	0,368	1
TGTG-	4 (5,27)	1 (2,8)	0 (0)	1 (0,72)					

Yetişkin tüberküloz hastaları (19 yaş ve üstü) ve kontrol grubunun 3'UTR polimorfizmi sonuçları tablo 26'da verilmektedir. Homozigot TGTG delesyonunun akciğer dışı tüberküloz olgularında diğer genotiplere oranla anlamlı olarak yüksek bulunduğu saptanmıştır. TGTG delesyonu alleli akciğer tüberkülozlu olgularda akciğer dışı tüberkülozlu olguların on katı kadar saptanmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p= 0.042$).

Tablo 26. 19 yaş ve üstü yetişkin hasta ve kontrol grubunda klinik formlara göre *NRAMP1* geni 3'UTR polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması

Yetişkin	Hasta (n=412)		Kavitasyon Saptanan TB III (n=147) n (%)	Yetişkin Kontrol IV (n=428) n (%)	I-II <i>p</i>	I-III <i>p</i>	I-IV <i>p</i>	II-IV <i>p</i>	III-IV <i>p</i>
3'UTR	AKCİĞER TB I (n=349) n (%)	AKCİĞERDIŞI TB II (n=63) n (%)							
TGTG+/TGTG+	322 (92,3)	62 (98,5)	140 (95,2)	404(94,40)	0.099	0.251	0.246	0.230	0.833
TGTG+/TGTG-	25 (7,2)	1(1,5)	7 (4,8)	24 (5,6)	0.153	0.423	0.458	0.230	0.833
TGTG-/TGTG-	2 (0,5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	0.582	0.214	1	1
TGTG+	669 (92)	125 (99,2)	287(97,60)	832(97,20)	<u>0.042</u>	0.196	0.187	0.236	0.862
TGTG-	29 (8)	1 (0,8)	7 (2,40)	24 (2,80)					

Yetişkin hastalardan 60 ve üstü yaştakilerin 3'UTR polimorfizmi sonuçları hastalığın klinik formlarına göre değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 27).

Tablo 27. 60 yaş ve üstü hasta grubunda klinik formlara göre *NRAMP1* geni 3'UTR polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması

60+ yaş	Hasta (n= 66)		Kavitasyon Saptanan TB III (n=23) n (%)	I-II <i>p</i>	I-III <i>p</i>	II-III <i>p</i>
3'UTR	AKCİĞER TB I (n=57) n (%)	AKCİĞERDİŞİ TB II (n=9) n (%)				
TGTG+/TGTG+	50 (87,8)	9 (100)	20 (86,95)	0.580	1	0,541
TGTG+/TGTG-	6 (10,5)	0 (0)	3 (13,05)	0.585	1	0,541
TGTG-/TGTG-	1 (1,7)	0 (0)	0 (0)	1	1	
TGTG+	106 (93)	18 (100)	43 (93,5)	0.376	1	0,553
TGTG-	8 (7)	0 (0)	3 (6,5)			

Çocuk hasta grubunda *NRAMP1* geni D543N polimorfizmi ile ilgili istatistiksel olarak anlamlı olan sonuçlar saptanmamıştır (Tablo 28).

Tablo 28. Çocuk hasta ve kontrol gruplarında klinik formlara göre *NRAMP1* geni D543N polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması

Çocuk	Hasta (n=56)		Kaviteasyon Saptanan TB III (n=6)	Çocuk Kontrol IV (n=70)	I-II p	I-III p	I-IV p	II-IV p	III-IV p
D543N	AKCİĞER TB I (n=38)	AKCİĞER DİŞİ TB II (n=18)	n (%)	n (%)					
G/G	34 (89,50)	17 (94,50)	5 (83,30)	68 (93,20)	1	0,662	0,181	0,501	0,221
G/A	4 (10,50)	1 (5,50)	1 (16,70)	2 (2,70)	1	0,662	0,181	0,501	0,221
A/A	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	1			
G	72 (94,73)	35 (97,20)	11(91,70)	138(98,57)	1	0,669	0,188	0,499	0,220
A	4 (5,27)	1 (2,80)	1 (8,30)	2 (1,43)					

19 yaş ve üstü yetişkin olgularda *NRAMP1* geni D543N polimorfizmi G/G genotipi akciğer tüberkülozlu olguların %91,5'inde, akciğer dışı tüberkülozlu olguların %100'ünde ve sağlıklı kontrol grubunun %95,1'inde saptanmıştır. Akciğer tüberkülozlu olgular, akciğer dışı tüberküloz olguları ve sağlıklı kontrol grubu ile G/G genotipi sıklığı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p=0.014$, $p=0.042$). G/A genotipi sıklığı açısından akciğer tüberkülozlu olgular ile akciğer dışı tüberkülozlu olgular karşılaştırıldığında ($p=0.027$) ve akciğer tüberkülozlu

olgular ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında ($p=0.027$) istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulunmuştur. Akciğer tüberkülozlu olgular ile akciğer dışı tüberküloz olguları arasında ve akciğer tüberkülozlu olgular ile sağlıklı kontrol grubu arasında A allelinin sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmüştür [$p=0.017$, $p=0.049$, (Tablo 29)].

Tablo 29. 19 yaş ve üstü yetişkin hasta ve kontrol grubunda klinik formlara göre *NRAMP1* geni D543N polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması

Yetişkin	Hasta (n=512)		Kavitasyon Saptanan TB III (n=147) n (%)	Yetişkin Kontrol IV (n=428) n (%)	I-II p	I-III p	I-IV p	II-IV p	III-IV p
D543N	AKCİĞER TB I (n=349) n (%)	AKCİĞERDIŞI TB II (n=63) n (%)							
G/G	319 (91,50)	63 (100)	139 (94,50)	407 (95,10)	<u>0.014</u>	0.270	<u>0.042</u>	0.092	0.827
G/A	29 (8,30)	0 (0)	8 (5,50)	20 (4,70)	<u>0.027</u>	0.349	<u>0.027</u>	0.092	0.663
A/A	1 (0,20)	0 (0)	0 (0)	1 (0,20)	1	1	1	1	1
G	667 (95,50)	126 (100)	286 (97,20)	834 (97,43)	<u>0.017</u>	0.217	<u>0.049</u>	0.098	0.920
A	31 (4,50)	0 (0)	8 (2,80)	22 (2,57)					

D543N polimorfizmine ait genotip ve allel sıklıklarının 60 ve üstü yaş grubunda klinik formlara göre dağılımı incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığı görülmüştür (Tablo 30).

Tablo 30. 60 yaş ve üstü hasta grubunda klinik formlara göre *NRAMP1* geni D543N polimorfizmi genotiplerinin sıklığının karşılaştırılması

60+ yaş	Hasta (n=68)		Kavitasyon Saptanan			
D543N	AKCİĞER TB I (n=57) n (%)	AKCİĞERDIŞI TB II (n=9) n (%)	TB III (n=23) n (%)	I-II <i>p</i>	I-III <i>p</i>	II-III <i>p</i>
G/G	50 (87,70)	9 (100)	20 (87,00)	0,580	1	0,541
G/A	6 (10,50)	0 (0)	3 (13,00)	0,585	1	0,541
A/A	1 (1,80)	0 (0)	0 (0)	1	1	
G	106 (93,00)	18 (100)	43 (93,50)	0,376	1	0,553
A	8 (7,00)	0 (0)	3 (6,50)			

Çocuk hasta grubunda INT4 polimorfizmi genotip sıklıkları ve allel sıklıkları açısından klinik formlar ve kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 31).

Tablo 31. Çocuk hasta ve kontrol gruplarında klinik formlara göre *NRAMP1* geni INT4 polimorfizmi genotiplerinin sıklığının karşılaştırılması

Çocuk	Hasta (n=53)		Kavitasyon Saptanan TB III (n=5)	Çocuk Kontrol IV (n=36)	I-II	I-III	I-IV	II-IV	III-IV
INT4	AKCİĞER TB I (n=36)	AKCİĞERDİŞİ TB II (n=17)	n (%)	n (%)	<i>p</i>	<i>p</i>	<i>p</i>	<i>p</i>	<i>p</i>
G/G	22 (61,11)	10 (58,82)	2 (40,00)	25 (69,40)	1	0,632	0,621	0,539	0,317
G/C	14 (38,89)	7 (41,18)	3 (60,00)	9 (25,00)	1	0,632	0,312	0,337	0,139
C/C	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (5,60)	1	1	0,493	1	1
G	58 (80,55)	27 (79,41)	7 (70,00)	59 (81,40)	1	0,679	1	0,793	0,401
C	14 (19,45)	7 (20,59)	3 (30,00)	13 (18,06)					

NRAMP1 genine ait INT4 polimorfizminin 19 yaş ve üstü yetişkin gruptaki akciğer ve akciğer dışı tüberkülozlu, kavitasyon gösteren akciğer tüberkülozlu ve sağlıklı yetişkin kontrol grubunda elde edilen sonuçları tablo 32’de verilmiştir. Akciğer dışı tüberküloz saptanan olgular ile kontrol grubu karşılaştırıldığında ise C/C genotipi akciğer dışı tüberküloz grubunda daha yüksek oranda saptanmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.033$).

Tablo 32. 19 yaş ve üstü yetişkin hasta ve kontrol grubunda klinik formlara göre *NRAMP1* geni INT4 polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının karşılaştırılması

Yetişkin	Hasta (n=387)		Kavitasyon Saptanan TB III (n=141) n (%)	Yetişkin Kontrol IV (n=486) n (%)	I-II <i>p</i>	I-III <i>p</i>	I-IV <i>p</i>	II-IV <i>p</i>	III-IV <i>p</i>
INT4	AKCİĞER TB I (n=327) n (%)	AKCİĞERDIŞI TB II (n=60) n (%)							
G/G	205 (62,6)	37 (61,7)	99 (70,21)	324 (66,66)	0,885	0,353	0,260	0,470	0,475
G/C	114 (35)	19 (31,7)	41 (29,08)	154 (31,69)	0,660	0,240	0,361	1	0,606
C/C	8 (2,4)	4 (6,6)	1 (0,71)	8 (1,65)	0,098	0,286	0,448	<u>0,033</u>	0,693
G	524 (80)	93 (77,5)	239 (84,75)	802 (82,5)	0,537	0,099	0,248	0,222	0,418
C	130 (20)	27 (22,5)	43 (15,25)	170 (17,5)					

NRAMP1 geni INT4 polimorfizminin 60 ve üstü yaş grubundaki sonuçları değerlendirildiğinde, G/G genotip sıklığının akciğer tüberkülozlu ve kaviter tüberkülozlu gruplar arasında, G ve C allel sıklıklarının ise akciğer tüberkülozlu ve kaviter tüberkülozlu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yarattığı görülmektedir [$p=0.033$, $p=0.012$ (Tablo 33)].

Tablo 33. 60 yaş ve üstü hasta grubunda ve kontrol grubunda klinik formlara göre *NRAMP1* geni INT4 polimorfizmi genotiplerinin sıklığının karşılaştırılması

60+ yaş	Hasta (n=66)		Kavitasyon Saptanan TB III (n=23) n (%)	I-II <i>p</i>	I-III <i>p</i>	II-III <i>p</i>
INT4	AKCİĞER TB I (n=57) n (%)	AKCİĞERDIŞI TB II (n=9) n (%)				
G/G	34 (59,65)	6 (66,6)	20 (87)	0,734	<u>0,033</u>	0,314
G/C	19 (33,35)	3 (33,4)	3 (13)	1	0,096	0,314
C/C	4 (7)	0 (0)	0 (0)	1	0,319	
G	87 (76,3)	15 (83,3)	43 (93,5)	0,568	<u>0,012</u>	0,338
C	27 (23,7)	3 (16,7)	3 (6,5)			

Çocuk hasta ve kontrol grubu 5'(CA)_n polimorfizmi sonuçları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 34).

Tablo 34. Çocuk hasta ve kontrol gruplarında klinik formlara göre *NRAMP1* geni 5'(CA)_n polimorfizmi genotiplerinin sıklığının karşılaştırılması

Çocuk	Hasta (n=56)		Kaviteasyon Saptanan TB III (n=6) n (%)	Çocuk Kontrol IV (n=70) n (%)	I-II <i>p</i>	I-III <i>p</i>	I-IV <i>p</i>	II-IV <i>p</i>	III-IV <i>p</i>
5'(CA) _n	AKCİĞER TB I (n=39) n (%)	AKCİĞERDIŞI TB II (n=17) n (%)							
196-196	22 (56,41)	7 (41,17)	3 (50,00)	36 (51,40)	0,386	1	0,691	0,592	1
196-198	12 (30,76)	10 (58,82)	2 (33,33)	29 (41,40)	0,360	1	0,308	0,277	1
196-200	2 (5,12)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,569	1	0,126		
196-202	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	1			
198-198	3 (7,69)	0 (0)	1 (16,67)	5 (7,10)	0,549	0,448	1	0,578	0,400
198-200	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	1			1
198-202	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	1			
200-200	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	1			
200-202	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	1			
202-202	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	1			
196	58 (74,35)	24 (70,59)	8 (66,70)	101(72,14)	0,816	0,726	0,753	0,853	0,741
198	18 (23,07)	10 (29,41)	4 (33,30)	39 (27,86)	0,635	0,478	0,521	0,835	0,741
200	2 (2,56)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,573	1	0,127		
202	0 (0)	0(0)	0 (0)	0 (0)	1	1			

NRAMP1 geni 5'(CA)_n polimorfizminin 19 yaş ve üstü olgu grubundaki sonuçları klinik formlara göre değerlendirildiğinde ise sadece kaviter tüberküloz görülen grup ile sağlıklı kontrol grubu arasında, (198-198)

genotipinin ($p=0.006$), allel 196'nın ($p=0.012$) ve allel 198'in ($p=0.018$) istatistiksel olarak anlamlı bir fark yarattığı görülmektedir (Tablo 35).

Tablo 35. 19 yaş ve üstü yetişkin hasta ve kontrol grubunda klinik formlara göre *NRAMP1* geni 5'(CA)_n polimorfizmi genotiplerinin sıklığının karşılaştırılması

Yetişkin	Hasta (n=411)		Kavitasyon Saptanan TB III (n=156) n (%)	Yetişkin Kontrol IV (n=493) n (%)	I-II <i>p</i>	I-III <i>p</i>	I-IV <i>p</i>	II-IV <i>p</i>	III-IV <i>p</i>
5'(CA) _n	AKCİĞER TB I (n=348) n (%)	AKCİĞERDIŞI TB II (n=63) n (%)							
196-196	199 (57,2)	36 (57,2)	80 (51,3)	289 (58,62)	1	0.244	0.722	0.892	0.115
196-198	121 (34,8)	23 (36,5)	55 (35,3)	174 (35,29)	0.885	0.919	0.883	0.889	1
196-200	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (0,40)	1	1	0.514	1	1
196-202	1 (0,3)	0 (0)	1 (0,6)	0 (0)	1	1	0.413	1	1
198-198	24 (6,9)	4 (6,3)	18 (11,6)	25 (5,07)	1	0.081	0.296	0.761	<u>0.006</u>
198-200	2 (0,5)	0 (0)	1 (0,6)	3 (0,608)	1	1	1	1	1
198-202	1 (0,3)	0 (0)	1 (0,6)	0 (0)	1	1	0.413	1	0.240
200-200	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	1	1	1	1
200-202	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	1	1	1	1
202-202	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	1	1	1	1
196	519 (74,7)	95 (75,3)	216(69,2)	754 (76,47)	0.911	0.133	0.431	0.887	<u>0.012</u>
198	172 (24,7)	31 (24,7)	93 (29,8)	227(23,022)	1	0.107	0.446	0.777	<u>0.018</u>
200	2 (0,3)	0 (0)	1 (0,4)	5 (0,507)	1	1	0.707	1	1
202	2 (0,3)	0 (0)	2 (0,6)	0 (0)	1	0.592	0.171		0.058

NRAMP1 geni 5'(CA)_n polimorfizmi genotip ve allel sıklıklarının 60 yaş ve üstü hasta grubunda klinik formlara göre karşılaştırılması sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 36).

Tablo 36. 60 yaş ve üstü hasta grubunda klinik formlara göre *NRAMP1* geni 5'(CA)_n polimorfizmi genotiplerinin sıklığının karşılaştırılması

60+ yaş	Hasta (n=68)		Kavitasyon Saptanan TB III (n=23) n (%)	I-II <i>p</i>	I-III <i>p</i>	II-III <i>p</i>
5'(CA) _n	AKCİĞER TB I (n=59) n (%)	AKCİĞERDİŞİ TB II (n=9) n (%)				
196-196	31 (52,55)	5 (55,5)	12 (52,18)	1	1	1
196-198	25 (42,37)	4 (44,5)	10 (43,48)	1	1	1
196-200	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	1	
196-202	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	1	
198-198	3 (5,08)	0 (0)	1 (4,34)	1	1	1
198-200	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	1	
198-202	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	1	
200-200	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	1	
200-202	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	1	
202-202	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	1	
196	87 (73,7)	14 (77,7)	34 (74)	0.782	1	1
198	31 (26,3)	4 (22,3)	12 (26)	0.782	1	1
200	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	1	
202	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	1	

Tüberkülozlu olguların birleşik genotip sonuçlarının çocuk yaş grubu, 19-59 yaş grubu, 60 ve üstü yaş gruplarında tüberkülozun akciğer veya akciğer dışı yerleşimine göre dağılımı tablo 37’de verilmiştir. Birleşik genotip sonuçları 3'UTR, D543N, INT4, 5'(CA)_n sıralaması ile verilmiştir. 3'UTR, D543N, INT4 polimorfizmleri için 1: homozigot normal varyant, 2: heterozigot varyant ve 3: homozigot mutant varyant genotipi temsil etmektedir. 5'(CA)_n polimorfizmi için 1: 196-196, 2: 196-198, 3: 196-200, 4: 196-202, 5: 198-198, 6: 198-200, 7: 198-202 genotiplerini temsil etmektedir. Aynı ayrı yaş grupları ve tüberkülozun akciğer veya akciğer dışı yerleşimine göre değerlendirildiğinde en sık görülen birleşik genotip **1111** olarak saptanmıştır. Sağlıklı kontrol grubunda da **1111** en sık birleşik genotip olarak saptanmıştır.

Çocuk hastaların ve yetişkin hastaların birleşik genotip sonuçları birbirleri ile ve yaş uyumlu kontrol grubu sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Birleşik genotiplerden **1123**’ün çocuk hastalarda, yetişkin hasta grubu ile karşılaştırılması sonucu anlamlı olarak yüksek bulunduğu görülmüştür ($p=0,014$). Çocuk hastaların sonuçlarının çocuk kontrol grubu sonuçları ile karşılaştırılması sonucunda ise **1112** birleşik genotipinin anlamlı bir istatistiksel fark yarattığı görülmüştür [$(p=0,036)$, (Tablo 38)].

Yetişkin hasta grubundaki 19-59 yaştaki hastalar ve 60 ve üstü yaştaki hastaların sonuçları değerlendirildiğinde, **2112 ve 2211** birleşik genotiplerinin yetişkin grupta 60 ve üstü yaştaki tüberküloz hastalarında anlamlı olacak şekilde yüksek olduğu saptanmıştır ($p=0,028$, $p=0,017$). Yetişkin hasta grubunda 19-59 yaştaki hastaların ve sağlıklı kontrol

grubunun sonuçları karşılaştırıldığında **1112** birleşik genotipinin kontrol grubunda anlamlı olacak şekilde yüksek olduğu görülmüştür [$p=0,045$, (Tablo 38)].

Tablo 37. Tüberkülozlu olguların birleşik genotip sonuçlarının yaş gruplarına ve akciğer veya akciğer dışı yerleşimine göre dağılımı

3'UTR D543N INT4 5'(CA)n	ÇOCUK BİRLEŞİK GENOTİP (n=52)		ÇOCUK BİRLEŞİK GENOTİP (n=52)	19-59 yaş BİRLEŞİK GENOTİP (n= 321)		19-59 yaş BİRLEŞİK GENOTİP (n= 321)	60 + yaş BİRLEŞİK GENOTİP (n=65)		60 + yaş BİRLEŞİK GENOTİP (n=65)
	AKCİĞER TB (n= 35) n (%)	AKCİĞERDİŞİ TB (n= 17) n (%)		AKCİĞER TB (n=287) n (%)	AKCİĞERDİŞİ TB (n=34) n (%)		AKCİĞER TB (n= 60) n (%)	AKCİĞERDİŞİ TB (n=5) n (%)	
1111	14 (40)	8 (47,05)	22 (42,34)	147(51,22)	16 (47,05)	163(50,77)	26 (43,33)	2 (40)	28(43,07)
1112	2 (5,71)	2 (11,76)	4 (7,68)	16 (5,57)	3 (8,82)	19 (5,91)	4 (6,66)	1 (20)	5 (7,69)
1114	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0,34)	0 (0)	1 (0,31)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
1115	1 (2,85)	0 (0)	0 (0)	3 (1,04)	0 (0)	3(0,93)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
1116	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0(0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
1121	2 (5,71)	0 (0)	2 (3,84)	0 (0)	1 (2,94)	15(4,67)	2 (3,33)	0 (0)	2 (3,07)
1122	9 (25,76)	6 (35,29)	15 (28,88)	64 (22,30)	11 (32,35)	75(23,36)	14 (23,33)	2 (40)	16(24,61)
1123	2 (5,71)	0 (0)	2 (3,84)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
1125	1 (2,85)	0 (0)	1 (1,92)	0 (0)	0 (0)	12(3,73)	1 (1,66)	0 (0)	1 (1,53)
1126	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (0,69)	0 (0)	2(0,62)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
1131	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0(0)	0 (0)	0 (0)	1 (1,53)
1132	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1(0,31)	1 (1,66)	0 (0)	1 (1,53)
1135	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (1,04)	3 (8,82)	6(1,86)	2 (3,33)	0 (0)	2 (3,07)
1211	1 (2,85)	0 (0)	1 (1,92)	1 (0,34)	0 (0)	1(0,31)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
1212	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0,34)	0 (0)	1(0,31)	1 (1,66)	0 (0)	0 (0)
1221	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0,34)	0 (0)	1(0,31)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
1222	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (1,04)	0 (0)	3(0,93)	1 (1,66)	0 (0)	1 (1,53)
2111	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (1,04)	0 (0)	3(0,93)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
2112	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0(0)	0 (0)	0(0)	2 (3,33)	0 (0)	2 (3,07)
2122	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0(0)	0 (0)	0(0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
2211	2 (5,71)	0 (0)	2 (3,84)	3 (1,04)	0 (0)	3(0,93)	4 (6,66)	0 (0)	4 (6,15)
2212	1 (2,85)	0 (0)	1 (1,92)	5 (1,74)	0 (0)	5(1,55)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
2217	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0,34)	0 (0)	1(0,31)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
2221	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
2222	0 (0)	1 (5,9)	1 (1,92)	3 (1,04)	0 (0)	3 (0,93)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
2225	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0,34)	0 (0)	1 (0,31)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
2235	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0,34)	0 (0)	1 (0,31)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
2311	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
3111	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0,34)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
3312	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1,66)	0 (0)	1 (1,53)

Tablo 38. Farklı yaş gruplarındaki tüberküloz olgularının ve sağlıklı kontrol olgularının *NRAMP1* gen polimorfizmlerinin birleşik genotip sıklıklarının karşılaştırılması

3'UTR D543N INT4 5'(CA) _n	ÇOCUK BİRLEŞİK GENOTİP I (n=52) n (%)	YETİŞKİN BİRLEŞİK GENOTİP II (n= 386) n (%)	19-59 yaş BİRLEŞİK GENOTİP III (n= 321) n (%)	60 + yaş BİRLEŞİK GENOTİP IV (n=65) n (%)	ÇOCUK KONTROL V (n=33) n (%)	YETİŞKİN KONTROL VI (n=426) n (%)	I-II <i>p</i>	I-V <i>p</i>	II-VI <i>p</i>	III-IV <i>p</i>	III-VI <i>p</i>
1111	22 (42,34)	191(49,48)	163 (50,77)	28 (43,07)	12 (36,40)	219 (51,40)	0,376	0,653	0,623	0,278	0,883
1112	4 (7,68)	2 (0,52)	19 (5,91)	5 (7,69)	8 (24,20)	43 (10,09)	0,761	0,036	0,055	0,783	0,045
1114	0 (0)	1 (0,26)	1 (0,31)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1		0,475	1	0,430
1115	1 (1,92)	3 (0,72)	3 (0,93)	0 (0)	1 (3,00)	0 (0)	0,398	1	0,510	1	0,739
1116	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0,23)			1		1
1121	2 (3,84)	17 (4,42)	15 (4,67)	2 (3,07)	1 (3,00)	14 (3,28)	1	1	0,465	0,749	0,345
1122	15 (28,88)	91 (23,84)	75 (23,36)	16 (24,61)	7 (21,20)	100(23,47)	0,393	0,612	1	0,873	1
1123	2 (3,84)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0,23)	0,014	0,519	1		1
1125	1 (1,92)	13 (3,38)	12 (3,73)	1 (1,53)	1 (3,00)	12 (2,81)	1	1	0,840	0,704	0,533
1126	0 (0)	2 (0,52)	2 (0,62)	0 (0)	0 (0)	1 (0,23)	1		0,607	1	0,580
1131	0 (0)	1 (0,26)	0 (0)	1 (1,53)	1 (3,00)	1 (0,23)	1	0,322	1		1
1132	0 (0)	2 (0,52)	1 (0,31)	1 (1,53)	0 (0)	1 (0,23)	1		0,607	1	1
1135	0 (0)	8 (2,08)	6 (1,86)	2 (3,07)	1 (3,00)	5 (1,17)	0,604	0,322	0,404	0,627	0,543
1211	1 (1,92)	1 (0,26)	1 (0,31)	0 (0)	1 (3,00)	0 (0)	0,223	1	0,475	1	0,430
1212	0 (0)	2 (0,52)	1 (0,31)	1 (1,53)	0 (0)	0 (0)	1		0,226	0,321	0,430
1221	0 (0)	1 (0,26)	1 (0,31)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1		0,475	1	0,430
1222	0 (0)	4 (1,04)	3 (0,93)	1 (1,53)	0 (0)	1 (0,23)	1		0,197	0,564	0,320
2111	0 (0)	3 (0,72)	3 (0,93)	0 (0)	0 (0)	2 (0,47)	1		0,673	1	0,656
2112	0 (0)	2 (0,52)	0 (0)	2 (3,07)	0 (0)	0 (0)	1		0,226	0,028	
2122	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)			1		1
2211	2 (3,84)	7 (1,82)	3 (0,93)	4 (6,15)	0 (0)	11 (2,58)	0,288	0,519	0,486	0,017	0,111
2212	1 (1,92)	5 (1,30)	5 (1,55)	0 (0)	0 (0)	2 (0,47)	0,534	0,322	0,267	0,594	0,146
2217	0 (0)	1 (0,26)	1 (0,31)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1		0,475	1	0,430
2221	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)			1		1
2222	1 (1,92)	3 (0,72)	3 (0,93)	0 (0)	0 (0)	3 (0,7)	0,398	0,322	1	1	1
2225	0 (0)	1 (0,26)	1 (0,31)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1		0,475	1	0,430
2235	0 (0)	1 (0,26)	1 (0,31)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1		0,475	1	0,430
2311	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0,23)			1		1
3111	0 (0)	1 (0,26)	1 (0,31)	0 (0)	0 (0)	0 (0)			0,475	1	0,430
3312	0 (0)	1 (0,26)	0(0)	1 (1,53)	0 (0)	0 (0)			0,475	0,168	

Çocuk hasta grubunun birleşik genotip sonuçları klinik formlarına göre gruplandırılarak değerlendirilmiştir. Çocuk hastalardan akciğer tüberkülozlu olgular ile çocuk kontrol grubu karşılaştırıldığında **1112** genotipinin istatistiksel olarak anlamlı bir fark yarattığı görülmüştür [$p=0,042$, (Tablo 39)].

Tüm yetişkin tüberkülozlu hastalar klinik bulgularına ve formlarına göre gruplandırılarak değerlendirildiğinde akciğer tüberkülozlu olgular ile kontrol grubu arasında **1112** birleşik genotipinin anlamlı bir fark yarattığı görülmüştür ($p=0.034$). Birleşik genotiplerden **1135**'in akciğer ile akciğer dışı tüberkülozlu olgular arasında ve akciğer dışı tüberkülozlu olgular ile sağlıklı kontrol grubu arasında akciğer dışı tüberküloz yönünde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yarattığı görülmüştür [$p=0,037$, $p=0,023$, (Tablo 40)].

Tablo 39. Çocuk hasta grubundaki akciğer ve akciğer dışı tüberküloz olgularında, kavitasyon saptanan tüberküloz olgularında ve sağlıklı kontrol olgularındaki *NRAMP1* gen polimorfizmlerinin birleşik genotip sıklıklarının karşılaştırılması

3'UTR D543N INT4 5'(CA) ⁿ	ÇOCUK BİRLEŞİK GENOTİP (n=52) I		ÇOCUK KONTROL (n=33) V n (%)	II-III <i>p</i>	II-V <i>p</i>	III-V <i>p</i>
	AKCİĞER TB	AKCİĞERDIŞI TB				
	II (n= 35) n (%)	III (n= 17) n (%)				
1111	14 (40)	8 (47,05)	12 (36,40)	0,628	0,807	0,548
1112	2 (5,71)	2 (11,76)	8 (24,20)	0,442	0,042	0,709
1115	1 (2,85)	0 (0)	1 (3,00)	0,481	1	1
1116	0 (0)	0 (0)	0 (0)			
1121	2 (5,71)	0 (0)	1 (3,00)	0,314	1	1
1122	9 (25,76)	6 (35,29)	7 (21,2)	0,474	0,778	0,322
1123	2 (5,71)	0 (0)	0 (0)	0,314	0,493	
1125	1 (2,85)	0 (0)	1 (3,00)	0,481	1	1
1126	0 (0)	0 (0)	0 (0)			
1131	0 (0)	0 (0)	1 (3,00)		0,485	1
1132	0 (0)	0 (0)	0 (0)			
1135	0 (0)	0 (0)	1 (3,00)		0,485	1
1211	1 (2,85)	0 (0)	1 (3,00)	0,481	1	1
1222	0 (0)	0 (0)	0 (0)		0,485	
2111	0 (0)	0 (0)	0 (0)			
2122	0 (0)	0 (0)	0 (0)			
2211	2 (5,71)	0 (0)	0 (0)	0,314	0,493	
2212	1 (2,85)	0 (0)	0 (0)	0,481	1	
2221	0 (0)	0 (0)	0 (0)			
2222	0 (0)	1 (5,9)	0 (0)	0,147		0,340
2311	0 (0)	0 (0)	0 (0)			

Tablo 40. Yetişkin hasta grubundaki akciğer ve akciğer dışı tüberküloz olgularında, balgam direk bakısı pozitif saptanan tüberküloz olgularında, kavitasyon saptanan tüberküloz olgularında ve sağlıklı kontrol olgularındaki *NRAMP1* gen polimorfizmlerinin birleşik genotip sıklıkları

3'UTR D543N INT4 5'(CA) _n	YETİŞKİN BİRLEŞİK GENOTİP (n=386) I		KAVİTASYON SAPTANAN (+) TB IV (n=138) n (%)	YETİŞKİN KONTROL (n=426) V n (%)	I-IV <i>p</i>	II-III <i>p</i>	II-IV <i>p</i>	II-V <i>p</i>	III-V <i>p</i>
	AKCİĞER TB II (n= 347) n (%)	AKCİĞERDIŞI TB III (n= 39) n (%)							
1111	173 (49,85)	18 (46,15)	66 (47,82)	219 (51,40)	0,767	0,737	0,689	0,664	0,616
1112	20 (5,76)	4 (10,25)	15 (10,86)	43 (10,09)	0,088	0,286	0,078	0,034	1
1114	1 (0,29)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	1	1	0,449	
1115	3 (0,86)	0 (0)	2 (1,45)	6 (1,40)	0,611	1	0,626	0,738	1
1116	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0,23)				1	1
1121	16 (4,61)	1 (2,56)	4 (2,90)	14 (3,28)	0,614	1	0,460	0,355	1
1122	78 (22,47)	13 (33,33)	34 (24,63)	100 (23,47)	0,816	0,162	0,634	0,797	0,175
1123	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0,23)				1	1
1125	13 (3,74)	0 (0)	5 (3,62)	12 (2,81)	1	0,378	1	0,542	0,611
1126	2 (0,57)	0 (0)	1 (0,72)	1 (0,23)	1	1	1	0,590	1
1131	1 (0,29)	0 (0)	0 (0)	1 (0,23)	1	1	1	1	1
1132	2 (0,57)	0 (0)	0 (0)	1 (0,23)	1	1	1	0,590	1
1135	5 (1,44)	3 (7,69)	1 (0,72)	5 (1,17)	0,457	0,037	1	0,760	0,023
1211	1 (0,29)	0 (0)	1 (0,72)	0(0)	0,458	1	0,489	0,449	
1212	2 (0,57)	0 (0)	1 (0,72)	0(0)	1	1	1	0,201	
1221	1 (0,29)	0 (0)	1 (0,72)	0(0)	0,458	1	0,489	0,449	
1222	4 (1,15)	0 (0)	0 (0)	1 (0,23)	0,577	1	0,582	0,180	1
2111	3 (0,86)	0 (0)	1 (0,72)	2 (0,47)	1	1	1	0,662	1
2112	2 (0,57)	0 (0)	1 (0,72)	0 (0)	1	1	1	0,201	
2122	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0,23)				1	1
2211	7 (2,01)	0 (0)	3 (2,17)	11 (2,58)	0,728	1	1	0,641	0,611
2212	5 (1,44)	0 (0)	1 (0,72)	2 (0,47)	1	1	1	0,253	1
2217	1 (0,29)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	1	1	0,449	
2221	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0,23)				1	1
2222	3 (0,86)	0 (0)	0 (0)	3 (0,7)	0,570	1	0,562	1	1
2225	1 (0,29)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1	1	1	0,449	
2235	1 (0,29)	0 (0)	1 (0,72)	0 (0)	0,458	1	0,489	0,449	
2311	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0,23)				1	1
3111	1 (0,29)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,458	1	1	0,449	
3312	1 (0,29)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0,458	1	1	0,449	

BÖLÜM 4

TARTIŞMA

Tüberküloz, enfeksiyon oluşumu ve bundan sonraki dönemde hastalık gelişimi olmak üzere iki aşamalı bir sürece sahiptir. İlk enfeksiyon inhalasyon ile oluşur. *M. tuberculosis* mukusu geçemediğinden enfeksiyon oluşumu için mutlaka alveoler alana ulaşmalıdır. Buraya da ancak 1-10 µm.lik damlacık çekirdekleri ulaşabilir. Bulaşıcı nitelikteki bir akciğer tüberkülozlu hasta ile (yayma pozitif) karşılaşan tüberkülin deri testi negatif temaslıların yaklaşık %30'unda tüberküloz enfeksiyonu oluşur. Güçlü bir konakçı yanıtı ile alveolar makrofajlarca basiller fagosit edilebilir ve hiçbir lezyon oluşmadan latent enfeksiyonu oluşturabilecek şekilde az sayıda inaktif halde kalabilirler. İmmün denetim yetersiz kalır ve basiller çoğalmaya devam ederse, lenfohematojen yol ile tüm vücuda dağılabilirler ve primer tüberküloz (erken hastalık) tablosu oluşabilir. Primer enfeksiyonu izleyen uzun bir latent dönemden sonra infekte kişilerin bir kısmında inaktif basillerin çoğalmaya başlaması veya eksojen reenfeksiyonu ile yetişkin tip akciğer tüberkülozu olan geç reaktivasyon hastalığı gelişebilir (sekonder tüberküloz).

Konakçı tarafından oluşturulan hem CMI hem de DTH yanıtları tüberküloz basillerinin çoğalmasını eşit düzeyde inhibe ederler. CMI bunu, fagosit ettikleri basilleri öldürmeleri için makrofajları aktive ederek yaparken,

DTH ise basil yüklü aktive olmamış makrofajları ve komşu dokuları harap edip, basillerin üremesi için uygun hücre içi ortamını yok ederek sağlar.

Tüberküloz hastalığının kontrolünde hastaların tanısı ve tedavisi kadar, enfekte bireylerin saptanması da önemlidir. Tüberküloz basili ile enfekte olan bireylerin ancak %10'unda hastalık gelişmektedir. Ancak bu bireylerden özellikle balgam çıkaran veya kavitasyon gösteren akciğer tüberkülozu olguları, akciğer dışı olgulardan da özellikle larinks tüberkülozu olguları *M. tuberculosis'in* yayılmasında en önemli etkenlerdir.

Amerikan Toraks Derneği'nin kriterlerine göre torasik plevra ve/veya lenf nodlarının veya ekstratorasik tutulumun olduğu tüberküloz hastaları akciğer dışı tüberküloz olgusu olarak kabul edilmektedir (79). Tüm tüberküloz olgularının %15-20'si akciğer dışı tüberkülozlu hastalardır (33). Çocuklarda hematojen yayılım olasılığı yüksek olduğundan akciğer dışı tüberküloz görülme sıklığı daha yüksektir (29). Bizim çalışmamızdaki olguların % 79.3'ü akciğer tüberkülozlulardan, %20,7'si Amerikan Toraks Derneği kriterlerine uyan akciğer dışı tüberkülozlu olgulardan oluşmaktadır. Olgular hastaneye veya verem savaş dispanserlerine başvuran olgular arasından tesadüfi olarak seçilmiştir. Akciğer dışı tüberküloz olgularının bizde de önceki yayınlardakine uygun olduğu görülmektedir. Yaş gruplarına göre değerlendirdiğimizde akciğer dışı tüberküloz çocuk hastalarda yetişkin hastalara oranla daha fazla görülmüştür (sırasıyla %46,15, %17,89). Bu sonuç da çocuklarda akciğer dışı tüberküloz görülme olasılığının daha yüksek olduğu bilgisini desteklemektedir.

Enfekte olan bireylerden hastalığı geliştirecek olanların saptanması, hastalık geliştirenlerde hangi formunun görüleceği, hangi hastanın ilaç direnci bulunan grupta olacağı halen öngörülememektedir. *M. tuberculosis* ile enfekte olan bir bireyi tüberküloz hastalığı ve komplikasyonları açısından bekleyen risklerinin belirlenebilmesi ile bu risklerin azaltılması mümkün olabilir. Hastalığı geliştirme riski yüksek olan bireylere BCG aşısı ve/veya koruyucu ilaç tedavisi uygulanması, ilaç direnci geliştirme riski olanlara ikinci grup ilaç tedavisinin ilk seçenek olarak uygulanması bu riskleri minimuma indirebilir.

Birçok toplumda tüberküloz ile ilgili yapılan çalışmalar *M. tuberculosis*'in immünolojik kontrolünde rolü olabilecek yatkınlık ve direnç genleri üzerinde yoğunlaşmaktadır. Riskli grupların genetik özelliklerine göre belirlenebilmesi için farklı genlere ait polimorfizmler çalışılmıştır.

M. tuberculosis'in immünolojik kontrolü Th hücrelerine bağlıdır. Tüberküloz spesifik olan CD4+ T hücreleri esas olarak Tip I sitokinleri üretirler. Tip I sitokin yolağındaki IL-12, IL-18 ve IL-23 gibi sitokinler TLR-2'nin aktivasyonu aracılığı ile kısmen uyarılırlar. Th1 yanıtı makrofajların optimal aktivasyonundaki en etkili Tip I sitokin olan IFN-gamma (IFN- γ)'nın üretimi ile olmaktadır. TNF de granuloma oluşumunda ve devamlılığında önemli olan diğer Tip I sitokinlerdendir (23). Bu bilgilerden yola çıkarak Tip I sitokin yolağındaki sitokinleri kodlayan genler tüberküloza yatkınlık çalışmalarında aday genler olarak seçilmiştir. Makrofajlarda IL-12 veya *M. Tuberculosis*'in neden olduğu *IL-27* gen ekspresyonunun arttığı ve enfeksiyon sırasında bakteri çoğalmasını baskıladığı gösterilmiştir (80).

IL12Rβ1 polimorfizmi varyantlarının IL-12 ilişkili düşük IFN-γ üretimi ile ve klinik tüberküloz ile ilişkisi bildirilmiştir (81). Japon toplumunda yapılan bir ilişkilendirme çalışmasında *IL12Rβ1* geni polimorfizmlerinin hastalığa yatkınlık ve hastalığın progresyonu ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (82).

IFNG, *IL10*, *TNF* gen polimorfizmlerinin tüberküloz hastalarındaki çalışmalarının Pacheco ve arkadaşları tarafından yayınlanan meta-analizde *IFNG* genine ait (+874T) allelinin koruyucu etkili olduğu bildirilmiştir. IL-10 ve *TNF* genlerine ait bir istatistiksel olarak anlamlı olabilecek bir sonuca ulaşılamamıştır (83).

Türkiye’den yapılan bir yayında *IL-10* gen polimorfizmlerinden (-1,082 G/A) alleli ve bu allele sahip haplotiplerin Th1/Th2 dengesini etkileyerek tüberküloza yatkınlıkta ve hastalığın görülmesinde artmış risk oluşturabileceği bildirilmiştir. Aynı çalışmada *TNF-α* gen polimorfizmleri ile hastalık arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Ancak Hindistan’dan bildirilen çalışmada *IL-10* genine ait aynı polimorfizm tüberküloz hastalığı ile ilişkili bulunmamıştır (84, 85).

Yapıyı tanıma (pattern recognition) moleküllerinden Manno-*z*-bağlayıcı lektin (MBL) fagositoz ve MBL komponent yolağını aktive ederek kalıtsal immünitede rol oynar. *MBL* gen polimorfizmlerinin, MBL düzeyleri ve tüberküloz ile ilişkisinin çocuklarda araştırılması sonucunda düşük MBL düzeylerinin ve kodon 54 polimorfizmi heterozigot genotipinin çocuklarda özellikle akciğer dışı tüberküloza karşı koruyucu olduğu tesbit edilmiştir (86). Çin Han toplumunda yetişkin tüberküloz olgularında MBL ile hastalık arasında anlamlı bir ilişki saptanamadığı bildirilmiştir (87). Selveraj ve

arkadaşlarının çalışmasında yüksek serum düzeyleri ile ilişkili olan *MBL* geninin sık görülen allelinin homozigot genotipinin tüberküloz immünitesinde, düşük *MBL* düzeyleri ile ilişkili olan fonksiyonel mutant homozigot genotipe oranla daha etkili rolü olduğu bildirilmiştir (88).

Transmembran proteinleri olan TLR ailesi üyeleri makrofaj ve dendritik hücrelerde mikobakteri tanınması için esas olan doğal direnç araçlarından biridir. *TLR2* polimorfizm varyantları *M. Tuberculosis* ile uyarılan TNF- α oluşumunu inhibe eder. Çalışmalar fonksiyonel TLR yokluğunda fagositozun immun aktivasyona sebep olmayacağını göstermiştir (13). *TLR2* (Arg677Trp) polimorfizmi Tunuslu tüberküloz hastalarında çalışılmış ve tüberküloz için bir risk faktörü olabileceği düşünülmüştür (89).

Türkiye'den *TLR2* genine ait aynı polimorfizmin tüberküloz hastalığı için risk faktörü olduğu bildirilmiştir (90). Vietnamlı akciğer ve miliyer tüberküloz olgularında yapılan çalışma sonucunda *TLR2* (T597C) polimorfizminin dissemine tüberküloz gelişimi ile ilişkili olduğu saptanmıştır (91). *TLR4* (Asp299Gly) polimorfizminin aktif tüberküloz gelişiminde artmış risk oluşturduğu ve CD4+ T hücrelerinde azalmaya neden olduğu Tanzania halkında yapılan çalışma ile belirlenmiştir (92).

Liu ve arkadaşlarının çalışmasında mikobakterilere karşı TLR ile uyarılmış antimikrobiyal aktivitenin VDR aktivasyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Monositlerdeki TLR aktivasyonu VDR ekspresyonunun artışına neden olmakta ve VDR'nin aktivasyonu ile *M. Tuberculosis*'e karşı direk antimikrobiyal aktivite oluşmaktadır. Aktif D vitamini monositleri aktive ederek, hücre aracılı bağışıklığı regüle eder ve lenfosit regülasyonu ile

immunglobulin ve sitokin sentezini baskılar (93). *VDR* geni Cdx-2 G alleli ile G/G genotipinin tüberkülozdan koruyucu ve Cdx-2, (A1012G) polimorfizmlerinin A-A haplotipinin tüberküloza yatkınlıktan sorumlu olabileceği Selveraj ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir (94). Tibet halkında yapılan çalışmada *VDR* FokI polimorfizminin akciğer tüberkülozu ile ilişkili olduğu saptanmışken, TaqI polimorfizmi ile hastalık arasında bir ilişki bulunamamıştır (95). *VDR* ve *NRAMP1* gen polimorfizmlerinin birlikte çalışıldığı Çin Han toplumunda *VDR* geni FokI polimorfizmi ve *NRAMP1* geni 3'UTR, D543N polimorfizmlerinin hastalık ile ilişkili olduğu, *VDR* geni TaqI polimorfizmi ve *NRAMP1* geni INT4 polimorfizminin ise ilişkisiz olduğu bildirilmiştir (96).

NRAMP1, retiküloendotelyal sistem makrofajlarının geç endozom veya lizozomal kompartmanlarında lokalize olan ve nötrofillerin jelatinaz pozitif tersiyer granüllerinde yer alan, pH bağımlı divalent metal katyonların (Me^{+2}) taşıyıcısıdır. Doğal dirençle ilişkili makrofaj proteinini kodlayan *NRAMP1* geni, enfeksiyonun erken devresinde makrofaj aktivasyonu ve mikobakteri öldürülmesine katkıda bulunan bir gendir.

NRAMP1 geninin tüberküloza yatkınlık ile ilişkisi ilk kez Gambia toplumunda araştırılmıştır. 3'UTR, D543N, INT4 ve 5'(CA)_n polimorfizmlerinin bu toplumda akciğer tüberkülozu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (9).

Bu çalışmayı izleyen Gine, Kore, Japonya, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki çalışmalarda da *NRAMP1* gen polimorfizmleri ile tüberküloza yatkınlık arasındaki ilişki gösterilmiştir (52, 60-62, 97).

NRAMP1 gen polimorfizmleri ve tüberküloza yatkınlık konusunda 2005 yılında yayınlanmış olan meta-analizde 3'UTR, D543N, INT4 ve 5'(CA)_n polimorfizmleri ile tüberküloz arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Coğrafi dağılım göz önünde bulundurularak yapılan meta-analizde Avrupa kökenlilerde bu dört polimorfizm ile tüberküloza yatkınlık arasında istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunmadığı bildirilmiştir. Ancak Asya kökenli olgularda INT4 dışındaki, Afrikalı olgularda 3'UTR dışındaki polimorfizmlerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ve tüm populasyon dikkate alındığında ise INT4 dışındaki polimorfizmlerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu bildirilmiştir. Doğu-asya kökenlilerde ise 3' UTR ve D543N polimorfizmleri ile tüberküloza yatkınlık arasında istatistiksel olarak bir anlamlılık olduğu ve diğer toplumlara benzer özellikte INT4 polimorfizmi ile tüberküloza yatkınlık arasında istatistiksel olarak bir anlamlılık bulunmadığı bildirilmiştir (53, 75). Bu meta-analiz ile etnik köken farklılıklarının genetik yatkınlık çalışmalarında dikkate alınması gerekliliğine dikkat çekilmektedir.

Bizim çalışmamızda *NRAMP1* geni 3'UTR, D543N, INT4 ve 5'(CA)_n polimorfizmleri ile tüberküloz arasında yatkınlık veya direnç yönünden bir ilişki saptanamamıştır (Tablo 13-20). Li ve arkadaşlarının meta-analizine göre değerlendirildiğinde, olgu grubumuz Avrupa kökenlilerle aynı moleküler epidemiyolojik özellikte görülmektedir.

Tayvan, Tayland ve Meksika'dan bildirilen çalışmalarda da bizimkine benzer şekilde yatkınlık ile *NRAMP1* polimorfizmleri arasında ilişki bulunamamıştır (68, 72, 98).

Endemik bölgelerde tüberkülozun iki farklı ana klinik formunun insidansın iki yaş bağımlı epidemiyolojik pikine karşılık geldiği belirtilmektedir. Genç çocuklarda tüberküloz sıklıkla primer akciğer enfeksiyonunun ardından erken hematojen yayılıma bağlı olarak yaygınlaşır. Yetişkinler de ise enfeksiyon sıklıkla akciğerlerde sınırlıdır ve latent tüberkülozun reaktivasyonuna bağlıdır. Alcais ve arkadaşları bu farklılıkların immünolojik ve genetik farklılıklara bağlı olabileceğini belirtmektedirler (3).

Malik ve arkadaşlarının çocuk tüberküloz hasta grubunda yaptığı çalışmasında ise *NRAMP1* polimorfizminin *M. tuberculosis* enfeksiyonuna yatkınlıktan çok, enfeksiyonun tüberküloz hastalığına ilerlemesinde modülatör rolü olduğu yorumu yapılmıştır (31).

Bizim çalışmamızda da olgularımız çocuk hasta grubu (0-18 yaş), yetişkin hasta grubu (19 yaş ve üstü) olarak iki grupta yaş uyumlu kontrol grupları ile karşılaştırılarak *NRAMP1* polimorfizmlerinin hastalık ile ilişkisi yönünden değerlendirilmiştir. Ayrıca çocuk hastalar ile 19 ve üstü yaştaki yetişkin hastaların *NRAMP1* gen polimorfizmleri sonuçları iki grup arasında da değerlendirilmiştir.

Çocuk hasta grubu incelendiğinde 3'UTR polimorfizmine ait TGTG-/TGTG- genotipinin bulunmadığı tesbit edilmiştir. D543N polimorfizmine ait A/A genotipi, INT4 polimorfizmine ait C/C genotipi ve 5'(CA)_n polimorfizmine ait 202 alleli çocuk hasta grubunda görülmemiştir (Tablo 13-16).

Yetişkin hasta ve sağlıklı kontrol grubu genotip ve allel sıklıkları açısından incelendiğinde *NRAMP1* geninin tüm polimorfizm varyantlarından

sadece 3'UTR polimorfizminin TGTG-/TGTG- genotipinin sağlıklı kontrol grubunda bulunmadığı görülmüştür. Ancak bu durumun hastalığa yatkınlık açısından anlamlı bir fark yaratmadığı saptanmıştır. Diğer polimorfizmlerin genotip ve allelleri incelendiğinde de hastalığa yatkınlık veya direnç yönünde anlamlı olabilecek bir sonuç saptanmamıştır (Tablo 17-20).

NRAMP1 geni polimorfizmlerinin genotip ve allel sıklıklarının çocuk hasta ve yetişkin hasta grubunda değerlendirilmesi sonucunda 3'UTR, D543N, INT4 polimorfizmlerinin sonuçlarının iki grup arasında anlamlı bir fark yaratmadığı görülmüştür (Tablo 21-23). Ancak 5'(CA)_n polimorfizmi (196-200) genotipinin çocukluk çağı tüberkülozuna yatkınlık yaratabileceği görüşü ağırlık kazanmıştır (Tablo 24). Yetişkin tüberkülozlu ile temas öyküsü olan çocukların hastalığı geliştirme riskinin hesaplanmasında 5'(CA)_n polimorfizmi (196-200) genotipinin varlığı, riski arttıran bir özellik olarak değerlendirilebilir.

Soborg ve arkadaşlarının Danimarka toplumunda yaptıkları çalışmada ise yetişkin tüberküloz hasta grubu *NRAMP1* gen polimorfizmleri yönünden incelenmiş, 3'UTR polimorfizmine ait TGTG-/TGTG- genotipi ve D543N polimorfizmine ait A/A genotipi tesbit edilmemiştir (12). Bizim çalışmamızda D543N polimorfizmine ait benzer özellik 19-59 yaş yetişkin hasta grubunda görülmüştür. Ancak bu durumun hastalıktan koruyucu olduğu istatistiksel olarak gösterilememiştir. 3'UTR polimorfizminin homozigot mutant varyantı farklı olarak bizim yetişkin hasta grubumuzda görülmüş sağlıklı kontrol grubumuzda görülmemiştir, ancak hastalıkla istatistiksel olarak ilişkili bulunmamıştır. Güney Afrika'da yapılan bir çalışmada ise TGTG-/TGTG- genotipi hastalığa yatkınlık ile ilişkili bulunmuştur (54).

NRAMP1, makrofajlarda eksprese olan fagositoz ve antijen sunumunda görevli bir membran proteinidir. Zhang ve arkadaşları tarafından tüberküloza karşı immünite gelişiminde NRAMP1'in olası rolünün, *M.tuberculosis* ile enfeksiyon sonrasında kalıtsal veya edinsel immün yanıtın başlaması ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir. NRAMP1'in bu rolü, bakteriyel yoğunluk veya pulmoner *M.tuberculosis* enfeksiyonunun yayılmasında önemli olan, erken ve etkin bir granülomatöz yanıt oluşmasında etkili olabilir. Bu nedenle *NRAMP1* gen polimorfizmlerinin varyasyonlarının *M.tuberculosis* enfeksiyonuna yatkınlıktansa tüberkülozun progresyonunu etkileyebileceği düşünülmektedir (78). *NRAMP1* gen polimorfizmleri ile prognozu etkileyebilecek özellikler arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda da bu görüşü destekler sonuçlar elde edilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nde beyaz ırkta yapılan çalışmada *NRAMP1* polimorfizmlerinin enfeksiyonun lokalizasyonunun belirlenmesinde daha önemli rolü olduğu, Koreli olgularda yapılan çalışmada ise yayma pozitifliği saptanması ve tüberküloz plörezi görülmesi ile *NRAMP1* polimorfizm varyantlarının ilişkili olduğu bildirilmiştir (62, 76).

Japon ve Çin toplumlarından bildirilen çalışmalarda ise kavitasyon gelişimi ve akciğer dışı tüberküloz gelişimi ile polimorfizmler arasındaki ilişki araştırılmış ve anlamlı sonuçlar elde edilmiştir (77, 78). Ancak Danimarka toplumunda yapılan çalışmada kavitasyon gelişimi ve akciğer dışı tüberküloz gelişimi ile *NRAMP1* polimorfizmleri arasında ilişki bulunamamıştır ve *NRAMP1* polimorfizmlerinin hastalığın progresyonundan çok yatkınlık ile ilişkisi olduğu sonucuna varılmıştır (12) .

Çalışmamızda 3'UTR polimorfizminin genotip ve allel sıklıkları ile tüberkülozun herhangi bir formuna yatkınlık veya direnç ilişkisi saptanmamıştır (Tablo 25-27). D543N, INT4 ve 5'(CA)_n polimorfizmlerinin farklı genotip ve allellerinin akciğer dışı tüberküloz ve kavitasyon gelişimi ile ilişkili olduğu görülmüştür.

Çeşitli toplumlarda farklı yaş gruplarında yapılan çalışmalarda da farklı sonuçlar elde edilmiştir. Çocuk tüberküloz hasta grubunda yapılan çok az sayıdaki çalışmadan *NRAMP1* polimorfizmi ile ilişkili olanında *M. tuberculosis* enfeksiyonuna yatkınlıktansa, enfeksiyonun tüberküloz hastalığına ilerlemesinde *NRAMP1*'in modülatör rol oynadığı yorumu yapılmıştır (31). Tüberküloz hastalarını 65 yaş altı ve üstü iki grupta inceleyen bir çalışmada genç yaş hasta grubunda *NRAMP1* polimorfizm varyantlarının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark yarattığı görülmüştür (64).

Çalışmamızda da, olgularımız çocuk hasta grubu (0-18 yaş), yetişkin hasta grubu (19 yaş ve üstü) olarak iki grupta *NRAMP1* polimorfizmlerinin tüberkülozun klinik formları ile ilişkisi yönünden değerlendirilmiştir. Yetişkin olgulardan 60 ve üstü yaştakiler, tüm yetişkin tüberküloz olguları ve çocuk tüberküloz olguları ise farklı klinik özellikleri ile polimorfizmlerin ilişkisi açısından da değerlendirilmiştir.

NRAMP1 genine ait polimorfizmler tek başlarına değerlendirildiğinde tüberküloz hastalığına, klinik formlarına yatkınlık veya direnç yönünden farklı sonuçların bildirildiği çalışmalar bulunmaktadır.

NRAMP1 geni 3'UTR polimorfizminin tüberküloz ile ilişkisinin çalışıldığı gruplardan Gine, Tunus, Tayvan'da hastalık ile ilişkisiz bulunmuştur (68, 70, 71). *NRAMP1* polimorfizmleri Çin Han toplumunda 18 yaş üstü akciğer tüberkülozlu hastalarda, Gambia'da farklı etnik kökenlerden tüberküloz hastalarında çalışılmış ve 3'UTR polimorfizmi (TGTG+/TGTG-) varyantının hastalık ile ilişkili olduğu saptanmıştır (9, 96). Kamboçya toplumunda yapılan çalışmada ise TGTG+/TGTG- genotipinin Gambia, Gine ve Kore toplumlarındaki çalışmalardan da farklı olacak şekilde akciğer tüberkülozuna dirençten sorumlu olduğu saptanmıştır (60, 97). Bizim çalışmamızda tüm yaş gruplarında akciğer tüberkülozu, akciğer dışı tüberküloz ve kavitasyon görülen tüberküloz olgularının 3'UTR polimorfizmi sonuçları kendi arasında ve sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, Bellamy ve arkadaşlarının Gambia toplumunda yaptıkları çalışmanın sonuçlarından farklı olacak şekilde yatkınlık veya direnç yönünden anlamlı ilişki tesbit edilmemiştir [Tablo 25-27, (9)].

NRAMP1 gen polimorfizmlerinin çocuk tüberküloz hastalarında yatkınlık veya direnç ile ilişkisini araştıran Malik ve arkadaşlarının çalışmasında da bizimkini destekler şekilde 3'UTR varyantları yönünden anlamlı bir fark bulunmamıştır (31).

Hastalar çocuk (0-18 yaş) ve yetişkin (19 ve üstü yaş) olgulardan oluşacak şekilde gruplandırılmış ve her yaş grubundaki akciğer tüberkülozu, akciğer dışı tüberküloz olguları ve kavitasyon görülen tüberküloz olgularının D543N polimorfizm sonuçları kendi arasında ve sağlıklı kontrol grubu sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

Çocuk hastalarda D543N polimorfizmi ile akciğer, akciğer dışı tüberküloz veya kavitasyon gösteren tüberküloz formları arasında yatkınlık veya direnç ilişkisi görülmemiştir (Tablo 28).

Gambia toplumunda yapılan çalışmada ise D543N heterozigotluğu akciğer tüberkülozuna direnç ile ilişkili bulunmuştur (9). Bizim çalışmamızda 19 yaş ve üstü yetişkin hastalar ile yetişkin kontrol grubunun sonuçları karşılaştırıldığında G/G genotipinin akciğer tüberkülozundan koruyucu olduğu görülmüştür ($p=0.042$). Tüberküloz hastalarında akciğer dışı tüberküloz gelişimine G/G genotipinin yatkınlık yarattığı ($p=0.014$), G/A genotipinin ise akciğer dışı tüberküloz gelişimine dirençten ($p=0.027$) sorumlu olabileceği saptanmıştır. A allelinin varlığının akciğer dışı tüberküloza karşı koruyucu olabileceği görülmüştür [$p=0.017$, (Tablo 29)].

Diğer yetişkin hasta grubunu oluşturan 60 ve üstü yaştaki hastaların sonuçlarına göre *NRAMP1* geni D543N polimorfizmi genotip ve allellerinin tüberkülozun klinik formları ile ilişkisiz olduğu görülmüştür (Tablo 30). D543N polimorfizmi yönünden Çin Han toplumunda 18 yaş üstü akciğer tüberkülozlu hastalarda yapılan çalışma incelendiğinde bizim çalışmamızdan farklı olarak G/A varyantının akciğer tüberkülozu ile ilişkili olduğu görülmüştür(96).

Çalışmamızda tüm hasta yaş gruplarındaki hastaların kavitasyon geliştirme sıklığı ile D543N polimorfizm varyantları arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Tablo 28-30). Japon toplumunda yapılan bir çalışmada ise D543N polimorfizmi kavitasyon gelişimi ile ilişkili bulunmuştur (74).

Gambia toplumunda ve Tayvan toplumunda yapılan çalışmalarda INT4'ün C/G genotipinin tüberküloza yatkınlık ile ilişkili olduğu saptanmıştır

(9, 71). Gine’de balgamın mikroskopik incelemesi ve göğüs radyografisi ile tanı konulan en az iki tüberküloz hastasının bulunduğu ailelerden oluşturulan olgu grubunda *NRAMP1* genine ait 3’UTR, INT4, 5’(CA)_n polimorfizmleri çalışılmış ve INT4 polimorfizmi tüberküloz ile ilişkili bulunmuştur (97).

Çalışmamızda çocuk yaş grubundaki hastalar, akciğer ve akciğer dışı tüberkülozlu, kavitasyon gösteren akciğer tüberkülozlu olgulardan oluşacak şekilde gruplandırılarak INT4 polimorfizmi ile ilişkisi yönünden incelendiğinde yatkınlık veya direnç yönünden anlamlı olacak sonuçlar elde edilmemiştir (Tablo 31). Malik ve arkadaşlarının çocuk hastalardan oluşan çalışma grubunda da INT4 polimorfizmi ile tüberküloz hastalığının ve klinik formlarının ilişkisi yönünden anlamlı sonuçlar bildirilmemiştir (31).

Yetişkin gruptaki 19 yaş ve üstü olgular, akciğer tüberkülozlu hastalar, akciğer dışı tüberkülozlu hastalar ve kavitasyon gösteren tüberkülozlu hastalardan oluşacak şekilde gruplandırılmıştır. Her gruba ait *NRAMP1* geni INT4 polimorfizmi sonuçları ile sağlıklı yetişkin kontrol grubunda elde edilen INT4 polimorfizmi sonuçları tablo 32’de verilmiştir. Akciğer dışı tüberküloz saptanan olgular ile kontrol grubu karşılaştırıldığında C/C genotipinin 19 yaş ve üstü hasta grubunda bu klinik forma yatkınlıktan sorumlu olduğu görülmüştür ($p=0.033$). Diğer INT4 genotip ve allel sıklıkları ile klinik formların karşılaştırılması sonucu yatkınlık veya direnç yönünden anlamlı sonuçlar elde edilmemiştir.

Danimarka’da yapılan çalışmada *NRAMP1* INT4 polimorfizminin göğüs grafisi ile tesbit edilen kavitasyon oluşumu veya akciğer dışı tüberküloz gelişimi ile ilişkisi olmadığı tesbit edilmiştir (12).

Çalışmamızdaki yetişkin olgular alt yaş gruplarına göre incelendiğinde ise INT4 polimorfizmi sonuçları yönünde farklılık göstermiştir. 60 yaş ve üstü hastalar kendi içinde klinik durumlarına göre gruplandırıldığında ise G/G genotipinin ve G allelinin bulunmasının ise akciğer tüberkülozlu olgularda kavitasyon gelişimi ile ilişkili olduğu görülmüştür [$p=0.033$, $p=0.012$, (Tablo 33)].

Peru toplumunda yapılan çalışmada bizim çalışmamızın aksine INT4 C/C genotipi özellikle akciğer tüberkülozuna yatkınlıktan sorumlu bulunmuştur ve bizimkine benzer şekilde akciğer dışı tüberküloz ile ilişkisiz bulunmuştur (67). Zhang ve arkadaşlarının Çin toplumundaki çalışmasında da bizimkini destekler şekilde INT4 polimorfizmi varyantları tüberkülozda kavitasyon görülmesiyle ilişkili bulunmuştur (78).

Japon toplumunda tüberküloz hastalarında *NRAMP1* geni 5'(CA)_n polimorfizmi hastalığa direnç ile ilişkili bulunmuştur (61). Tanzanya'da yapılan çalışmada 5'(CA)_n polimorfizmi ile akciğer tüberkülozu arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır. Awomoyi ve arkadaşlarının Gambia toplumunda yaptıkları çalışmada bir allel tüberküloza yatkınlıktan sorumlu, bir allel de dirençten sorumlu bulunmuştur (52). Tayvan'da yerli halktan tüberküloz hastalarında yapılan çalışmada hem yatkınlık hem de direnç ile ilişkili farklı genotipler saptanmıştır. Aynı çalışmadaki Han etnik kökenli tüberküloz hastalarında ise *NRAMP1* gen polimorfizmleri ile yatkınlık veya direnç arasında bir ilişki saptanmamıştır (71). *NRAMP1* geni polimorfizmlerinin genotip ve allel sıklıklarının çocuk hasta ve yetişkin hasta grubu arasında değerlendirilmesi sonucunda 5'(CA)_n polimorfizmi (196-200) genotipinin çocukluk çağı

tüberkülozuna yatkınlık yaratabileceği saptanmasına rağmen hasta grubumuzda *NRAMP1* geni 5'(CA)_n polimorfizminin farklı yaş gruplarındaki sonuçlarının yaş uyumlu sağlıklı kontrol grubunun sonuçları ile karşılaştırılması sonucunda tüberküloza yatkınlık veya direnç yönünden anlamlı sonuçlar elde edilmemiştir. Tayvan yerli halkında, Çin etnik kökenli olgularda, Gine ve Tunus'da yapılan farklı çalışmalarda da bizimkine benzer şekilde akciğer tüberkülozlu hasta ve sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında anlamlı fark görülmemiştir. Tunuslu olgu grubu yaşa göre alt gruplara ayrılarak incelendiğinde de akciğer tüberkülozu açısından anlamlı sonuçlar bulunmamıştır (64, 70, 71, 97). Ancak çalışmamızda yaş grupları klinik alt gruplara ayrılarak değerlendirildiğinde 5'(CA)_n polimorfizmi açısından anlamlı sonuçlar elde edilmiştir.

Her yaş grubundaki olgularımız akciğer tüberkülozu, akciğer dışı tüberküloz, kavitasyon gösteren tüberküloz olgularından oluşacak şekilde alt gruplara ayrılmış ve 5'(CA)_n polimorfizm sonuçları birbirleriyle ve sağlıklı kontrol grubu sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır.

Çocuk hastalarımız ile 19 yaş ve üstü hastalarımızda tüberkülozun yerleşimi yönünden 5'(CA)_n polimorfizmi ile anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (Tablo 34, 35). Malik ve arkadaşlarının farklı etnik kökenlerden gelen, tüberküloz hastası çocukları olan ailelerde yaptıkları çalışma sonucunda 5'(CA)_n polimorfizminin çocukluk çağı tüberkülozu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir ama tüberkülozun yerleşimi ile ilişkilendirilme yapılmamıştır (31). Amerika Birleşik Devletleri'nde beyaz ırkta *NRAMP1* 5'(CA)_n polimorfizmi çalışılmış ve bir allel yönünden homozigot olan bir genotipin diğer genotipler

ile karşılaştırıldığında akciğer ve akciğer dışı tüberkülozuna karşı belirgin koruyucu etkisi olduğu görülmüştür (62).

Yetişkin hasta grubunda kavitasyon gösteren olguların kontrol grubuyla karşılaştırılması sonucunda 5'(CA)_n polimorfizmi (198-198) genotipi ile allel 198'in kavitasyona yatkınlıktan sorumlu olduğu ($p=0.006$, $p=0.018$) ve allel 196'nın kavitasyondan koruyucu ($p=0.012$) olduğu görülmüştür (Tablo 35). Soborg ve arkadaşlarının Danimarka toplumunda tüberküloz hastalarında yaptığı çalışmada bizimkinden farklı olarak *NRAMP1* 5'(CA)_n polimorfizminin göğüs grafisi ile tesbit edilen kavitasyon oluşumu veya akciğer dışı tüberküloz gelişimi ile ilişkisi olmadığı tesbit edilmiştir (12). Ancak bizim 60 ve üstü yaş grubundaki hastalarımız klinik formlarına göre alt gruplara ayrılarak değerlendirildiğinde hastalığın yerleşimi veya kavitasyon gelişimi ile 5'(CA)_n polimorfizm varyantları arasında bir ilişki saptanmamıştır (Tablo 36).

Tüberküloza genetik yatkınlık konusunda *NRAMP1* gen polimorfizmlerinin rolü farklı etnik kökenlerde, yaş, cinsiyet, tüberkülozun yerleşim yeri, klinik seyri gibi çeşitli özelliklerine göre alt gruplara ayrılarak incelenmiştir. Bu çalışmalarda *NRAMP1* gen polimorfizmleri tek başlarına ve/veya haplotip analizi sonuçları ile hastalığa yatkınlık veya direnç ilişkisi yönünden değerlendirilmişlerdir. Ancak bugüne dek literatürde *NRAMP1* gen polimorfizmlerinin birleşik genotip sonuçlarının değerlendirilmesine rastlanmamıştır. Multifaktöriyel bir hastalık olan tüberkülozun yayılmasındaki en önemli etkenin özellikle ev içi temaslılar olduğu bilinmektedir. *M.tuberculosis*' e aile içinde maruz kalan kişinin evdeki enfekte veya hasta diğer bireyle aynı haplotipe sahip olma ihtimali %25-50 kadardır. Aile içinde

bir gen için aynı haplotipe sahip bireylerin hepsinin *M. tuberculosis*'e maruz kalmasına ve büyük oranda aynı çevresel faktörlere sahip olmalarına rağmen, enfekte olmaması veya enfekte olsa da hastalığı geliştirmemesi farklı birleşik genotipe sahip olmalarına bağlanabilir.

Bizim çalışmamızda hasta ve kontrol gruplarımız birleşik genotip sonuçları ile hastalığa, farklı klinik formlara yatkınlık veya direnç yaratması yönünden yaş gruplarına da ayrılarak değerlendirilmiştir.

Çalışma grubumuzdaki tüberkülozlu olguların birleşik genotip sonuçlarının çocuk yaş grubu, 19 yaş üstü hasta grubu, 19-59 yaş grubu, 60 ve üstü yaş gruplarında tüberkülozun akciğer veya akciğer dışı yerleşimine göre dağılımı tablo 37 ve 38'de verilmiştir. Birleşik genotip sonuçları 3'UTR, D543N, INT4, 5'(CA)_n sıralaması ile verilmiştir. Ayrı ayrı yaş grupları en sık görülen birleşik genotip yönünden incelendiğinde 1111'in hepsinde en yüksek oranda olduğu görülmüştür. Yaş grupları kendi içlerinde tüberkülozun akciğer veya akciğer dışı yerleşimine göre değerlendirildiğinde yine her grup için en sık görülenin 1111 birleşik genotipi olduğu saptanmıştır (Tablo 37). Sağlıklı kontrol grubunda da **1111** en sık birleşik genotip olarak saptanmıştır (Tablo 38).

Çocuk hastaların *NRAMP1* gen polimorfizmlerinin birleşik genotip sonuçları ile sağlıklı çocuk kontrol grubunun sonuçları karşılaştırıldığında **1112'nin** çocuklarda tüberküloza direnç yönünde anlamlı bir fark yarattığı görülmüştür ($p=0,036$). Çocuk hasta grubunun birleşik genotip sonuçlarının yetişkin hasta grubunun sonuçları ile karşılaştırılması sonucunda **1123'ün**

çocukluk yaş grubunda tüberküloza yatkınlıktan sorumlu olabileceği saptanmıştır [$p=0,014$, (Tablo 38)].

Yetişkin hasta grubumuz kontrol grubumuz ile birleşik genotip sonuçları yönünden karşılaştırıldığında yatkınlık veya direnç yönünden anlamlı bir fark görülmemiştir. Yetişkin hastalarımızın sonuçları 19-59 yaş ve 60 ve üstü yaştakilerden oluşan iki gruba ayrılarak değerlendirilmiş ve kontrol grubunun sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Birleşik genotiplerden **1112**'nin 19-59 yaş grubunda tüberküloz hastalığına dirençte ($p=0.045$) etkili olduğu görülmüştür. Yetişkin yaş grubundaki hastalardan 19-59 yaş grubundakilerin sonuçları ile 60 ve üstü yaş grubundakilerin sonuçları karşılaştırıldığında **2112 ve 2211** birleşik genotiplerinin, 60 ve üstü yaş grubunda hastalığa yatkınlıktan sorumlu olduğu görülmüştür [$p=0.028$, $p=0.017$, (Tablo 38)].

Her dört yaş grubundaki hastalarımızın birleşik genotip sonuçları kaviteasyon görülmesi, akciğer ve akciğer dışı yerleşimi özelliklerine göre klinik alt gruplara ayrılarak incelenmiştir.

Çocuk akciğer tüberkülozlu olgular kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 1112 birleşik genotipinin akciğer tüberkülozundan koruyucu etki gösterdiği saptanmıştır [$p=0,042$, (Tablo 39)].

Yetişkin tüberküloz olgularından akciğer tüberkülozu olguları ile sağlıklı kontrol grubunun birleşik genotip sonuçlarının değerlendirilmesi sonucunda çocuk olgu grubundakine benzer şekilde 1112'nin akciğer tüberkülozuna dirençten sorumlu olabileceği görülmüştür ($p=0.034$). Yetişkin akciğer tüberkülozlu olgular ile akciğer dışı tüberkülozlu olgular karşılaştırıldığında, birleşik genotiplerden **1135**'in akciğer dışı tüberküloz görülmesine

yatkınlıktan sorumlu olduğu görölmüştür ($p=0,037$). Aynı birleşik genotipin, akciğer dışı tüberküloz olguları ile sağlıklı kontrol grubu karşılaştırıldığında ise yetişkin yaş grubunda akciğer dışı tüberküloza yatkınlıktan da sorumlu olduğu görölmüştür [$p=0,023$, (Tablo 40)].

Tüberküloz olgularımızın klinik formlar dikkate alınmadan sadece 0-18 yaş çocuk ve 19 ve üstü yaş yetişkinlerden oluşacak şekilde gruplandırılarak, yaş uyumlu kontrol grubu ile ve birbirleri ile *NRAMP1* polimorfizmlerinin sonuçları yönünden karşılaştırılmasıyla sadece 5'(CA)_n polimorfizminin çocukluk yaş grubunda yetişkin yaş grubuna oranla hastalığa yatkınlık yaratabileceğini düşündüren anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Oysa birleşik genotip sonuçlarının yine klinik formlar dikkate alınmadan yaşa göre gruplandırılarak değerlendirilmesi sonucunda her yaş grubu için anlamlı sonuçları olan farklı birleşik genotipler elde edilmiştir.

BÖLÜM 5

SONUÇLAR

NRAMP1 geninin 3'UTR, D543N, INT4 ve 5'(CA)_n polimorfizmleri çocukluk ve yetişkin hasta grubunda ve yaş uyumlu sağlıklı kontrol gruplarında karşılaştırıldığında hastalığa yatkınlık veya direnç yönünden her iki yaş grubunda da anlamlı sonuçlar elde edilmemiştir.

Her iki yaş grubundaki hastaların sonuçları birbirleri ile çocukluk çağı tüberkülozu ve yetişkin tüberkülozuna yatkınlık yönünden *NRAMP1*'in rolünü değerlendirmek amacı ile karşılaştırıldığında sadece 5'(CA)_n polimorfizmi (196-200) genotipinin çocukluk çağı tüberkülozuna yatkınlık yaratabileceği saptanırken, 3'UTR, D543N, INT4 polimorfizmleri yönünden anlamlı sonuçlar elde edilmemiştir.

Ancak yaş grupları klinik formlarına göre ayrılarak kendi içinde ve sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldığında *NRAMP1* gen polimorfizmlerinin tüberkülozun yerleşim yerinin belirlenmesi açısından ve sağlıklı kontrollere göre belli klinik formlara daha fazla yatkınlık veya direnç yaratması bakımından önem kazandığı görülmüştür.

NRAMP1 geninin 3'UTR, D543N, INT4 ve 5'(CA)_n polimorfizmlerinin birleşik genotip sonuçlarının değerlendirmesi ile farklı yaş gruplarında hastalığa yatkınlık veya direnç yönünden, hastalığın görülme çağı yönünden ve hastalığın progresyonu yönünden de anlamlılık gösterdiği saptanmıştır.

NRAMP1 geninin 3'UTR, D543N, INT4 ve 5'(CA)_n polimorfizmlerinin tek tek incelendiğinde, toplumumuzda kişinin hastalığa yatkınlık veya direnç özelliğinin belirlenmesinden çok hastalığın kişideki seyri konusunda fikir verebileceği görülmüştür. *NRAMP1* polimorfizmlerinin birleşik genotip sonuçlarının ise hastalığa yatkınlık ve direnç özelliğinin belirlenmesinin yanında, hastalığın görülme çağı ve hastalığın seyri ile ilgili de kişi hakkında yorum yapmamızı sağlayabileceği görülmüştür.

BÖLÜM 6

6.1. Türkçe Özet

Türk Toplumunda Tüberküloza Yatkınlıkta *NRAMP1* Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması

Tüberküloz, *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*)'in neden olduğu, en sık görülen mikobakteriyel hastalıktır. Tüberkülozun kontrolünde görevli olduğu düşünülen Natural Resistance Associated Protein 1 (NRAMP1), makrofajlarda lizozom ve geç endozomların membranlarında lokalize bir proteindir. Fagozomal bölgeden divalent katyonların çıkartılması yolu ile enfeksiyonlara karşı savunmada rol oynar. Bu çalışmada Türk toplumundaki tüberküloz olgularında *NRAMP1* genine ait dört polimorfizmin (3'UTR, D543N, INT4, 5'(CA)_n) tüberküloz hastalığına yatkınlık ve tüberkülozun farklı klinik formlarıyla ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmaya 472 tüberküloz hastası (340 erkek, 132 kadın) ve 571 yaş uyumlu kontrol olgusu (432 erkek, 139 kadın) dahil edilmiştir. Hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları sırasıyla 39,21 ± 18.597, 36,48 ± 13,963'dir. Tüm olgular çocuk (18 yaş ve altı) ve yetişkin (19 yaş ve üstü) olmak üzere iki grupta incelenmiştir.

Tüm hasta ve kontrol olgu örneklerinin 3'UTR, D543N, INT4 polimorfizmleri enzim kesimi yöntemi ile ve 5'(CA)_n polimorfizmi mikrosatellit

analiz yöntemi ile araştırılmıştır. Sonuçlar SPSS versiyon 15.0 istatistik programında ki-kare analizi ile değerlendirilmiştir.

NRAMP1 genine ait dört polimorfizmin allel ve genotip sıklıkları farklı yaş gruplarında tek tek ele alındığında hastalığa yatkınlık veya direnç ile anlamlı ilişki bulunmamakla birlikte birleşik genotip sonuçları değerlendirildiğinde, birleşik genotiplerden birinin hem çocukluk yaş ve hem de 19-59 yaştaki hasta grubunda hastalıktan koruyucu olduğu saptanmıştır.

Tüm hastalar klinik formlarına göre ve yaşlarına göre gruplandırılarak birbirleri ile ve yaş uyumlu kontrol grupları ile karşılaştırıldığında da farklı bir birleşik genotipin çocukluk çağı tüberkülozuna yatkınlıktan sorumlu olabileceği görülmüştür. Yetişkin grupta 60 yaş altı ve üstü tüberküloz hastalarının sonuçları karşılaştırıldığında iki farklı birleşik genotipin hastalığa yatkınlık ile ilişkili olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak *NRAMP1* gen polimorfizmlerinin Türk toplumunda hastalığa yatkınlığı, hastalığın ortaya çıkma yaşını ve hastalığın progresyonunu etkileyebileceği görülmüştür.

6.2. İngilizce Özet

***NRAMP1* Polymorphisms and Susceptibility To Tuberculosis in Turkish Population**

Tuberculosis (TB) is the most common mycobacterial disease that is caused by *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*). Natural Resistance Associated Protein 1 (NRAMP1) protein localises on macrophage membrane and regulates macrophage functions against *M. tuberculosis* and other intracellular microorganisms. In this study we aimed to investigate the association between the four polymorphisms (3'UTR, D543N, INT4 and 5'(CA)_n) of the *NRAMP1* gene and susceptibility to TB including clinical severity of disease in different age groups in Turkish population.

Four hundred and seventy two HIV negative Turkish TB patients (340 males, 132 females) and 571 age-matched healthy controls (432 males, 139 females) were included in the study. Mean ages of the patient and control groups were $39,21 \pm 18,597$, $36,48 \pm 13,963$ respectively. All TB patients were divided into subgroups as pediatric TB patients who were younger than 18 years of age and as adult TB patients who were older than 18 years of age (n: 57, n:415, respectively).

All patient and control samples were investigated for 3'UTR, D543N, INT4 polymorphisms by RFLP method and for 5'(CA)_n polymorphism by microsatellite analysis method. Qui square tests were performed for statistical analysis using SPSS version 15.0.

Although our results indicate that none of the *NRAMP1* polymorphisms investigated is associated with susceptibility or resistance to TB at each age groups, one of the compound genotypes is associated with disease susceptibility at both children and adult populations.

We found out that another compound genotype might be associated with the pediatric tuberculosis when all age groups were subdivided according to clinical variations and compared with each other and with age-matched control groups. In adult population two different compound genotypes were found to be associated with the disease susceptibility when we subdivided the adult group as over and under 60 years old.

Our results showed that in Turkish population, *NRAMP1* polymorphisms might effect the age of onset, clinical variations and the progression of the TB disease.

BÖLÜM 7

KAYNAKLAR DİZİNİ

- [1] Global tuberculosis control: surveillance, planning and financing. WHO report 2007. Geneva, World Health Organization, 2007 (WHO/HTM/TB/2007).
- [2] **Başıoğlu, Ö.K., Atasever, A.**, 2005, İzmir İli Verem Savaşı Dispanserlerinde Latent Tüberküloz Enfeksiyonu Tedavisi. *Akciğer Arşivi*; 6(1): 14 - 18.
- [3] **Alcaïs, A., Fieschi, C., Abel, L., Casanova, J.L.**, 2005, Tuberculosis in children and adults : two distinct genetic diseases. *JEM*, Vol. 202, No. 12, 1617–1621.
- [4] **Malo, D., Vogan, K., Vidal, S., Hu, J., Cellier, M., Schurr, E., Fuks, A., Bumstead, N., Morgan, K., Gros, P.**, 1994, Haplotype mapping and sequence analysis of the mouse Nramp gene predict susceptibility to infection with intracellular parasites. *Genomics*, 23(1):51-61.
- [5] **Kishi, F.**, 1994, Isolation and characterization of human Nramp cDNA. *Biochem Biophys Res Commun*. 204(3):1074-80.
- [6] **Liu, J., Fujiwara, T. M., Buu, N. T., Sanchez, F. O., Cellier, M., Paradis, A. J., Frappier, D., Skamene, E., Gros, P., Morgan, K., Schurr, E.**, 1995, Identification of polymorphisms and sequence variants in the human homologue of the mouse natural resistance-

associated macrophage protein gene. *Am. J. Hum. Genet.* 56: 845-853.

- [7] **Blackwell, J.M., Searle, S.**, 1999, Genetic regulation of macrophage activation: understanding the function of Nramp1 (=Ity/Lsh/Bcg). *Immunol Lett.* 65(1-2):73-80.
- [8] **Jabado, N., Jankowski, A., Dougaparsad, S., Picard, V., Grinstein, S., Gros P.**, 2000, Natural resistance to intracellular infections: natural resistance-associated macrophage protein 1 (Nramp1) functions as a pH-dependent manganese transporter at the phagosomal membrane. *J Exp Med*, 192(9):1237-48.
- [9] **Bellamy, R., Ruwende, C., Corrah, T., McAdam, K.P., Whittle, H.C., Hill, A.V.**, 1998, Variations in the NRAMP1 gene and susceptibility to tuberculosis in West Africans. *N Engl J Med.* 338(10):640-4.
- [10] **Greenwood, C.M., Fujiwara, T.M., Boothroyd, L.J., Miller, M.A., Frappier, D., Fanning, E.A., Schurr, E., Morgan, K.**, 2000, Linkage of tuberculosis to chromosome 2q35 loci, including NRAMP1, in a large aboriginal Canadian family. *Am J Hum Genet.* 67(2):405-16.
- [11] **Delgado, J.C., Baena, A., Thim, S., Goldfeld, A.E.**, 2002, Ethnic-specific genetic associations with pulmonary tuberculosis. *J Infect Dis.* 186(10):1463-8.
- [12] **Søborg, C., Andersen, A.B., Madsen, H.O., Kok-Jensen, A., Skinhøj, P., Garred, P.**, 2002, Natural resistance-associated

macrophage protein 1 polymorphisms are associated with microscopy-positive tuberculosis. *J Infect Dis.* 186(4):517-21.

- [13] **Öztürk, R.**, 2003, Tüberkülozda doğal direnç ve risk faktörleri, 21. yy'da Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu Kitabı, Samsun.
- [14] **Frodsham, A.J., Hill, A.V.**, 2004, Genetics of infectious diseases. *Hum Mol Genet.* No 2:R187-94.
- [15] **Anğ, Ö., Uzun, M.**, 1998, Türkiye'de Tüberkülozun Son Durumu. *Klimik Dergisi, Cilt 11, Sayı:1, s:3-5*
- [16] Global tuberculosis control: surveillance, planning and financing. WHO report 2005. Geneva, World Health Organization, 2005 (WHO/HTM/TB/2005), s.215.
- [17] **Gümüşlü, F., Özkara, Ş., Özkan, S., Baykal, F., Güllü, Ü.**, 2007, Türkiye'de Verem Savaşı Raporu. Verem Savaşı Dairesi Başkanlığı, Ankara.
- [18] **Vidinel, İ.**, 1989, Akciğer hastalıkları. Ege Üniversitesi, İzmir.
- [19] **Yew, W.W., Leung, C.C.**, 2007, Update in tuberculosis 2006. *Am J Respir Crit Care Med.* 175(6):541-6.
- [20] **Ulrichs, T., Kosmiadi, G.A., Jörg, S., Pradl, L., Titukhina, M., Mishenko, V., Gushina, N., Kaufmann, S.H.**, Differential organization of the local immune response in patients with active cavitary tuberculosis or with nonprogressive tuberculoma. *J Infect Dis.* 192(1):89-97.

- [21] **Kiper, N.**, 2003, Çocukluk çağı akciğer tüberkülozu. 21. yy'da Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu Kitabı, Samsun.
- [22] **Oğuz, V. A.**, Tüberküloz basilinin bulaş yolları ve konaktaki seyri. 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun.
- [23] **Hanekom, W.A., Abel, B., Scriba, T.J.**, 2007, Immunological protection against tuberculosis. *S Afr Med J.* 97(10 Pt 2):973-7.
- [24] **Ottenhoff, T.H., Bevan, M.J.**, 2004, Host-pathogen interactions. *Curr Opin Immunol.* 16(4):439-42.
- [25] **Fernando, S.L., Britton, W.J.**, 2006, Genetic susceptibility to mycobacterial disease in humans. *Immunol Cell Biol.* 84(2):125-37.
- [26] **Weissler, J.C.**, 1993, Southwestern internal medicine conference: Tuberculosis-immunopathogenesis and therapy. *Am J Med Sci;* 305: 52-65.
- [27] **Bellamy, R.**, 2000, Identifying genetic susceptibility factors for tuberculosis in Africans: a combined approach using a candidate gene study and a genome-wide screen. *Clin Sci;* 98: 245-250.
- [28] **Agranoff, D., Krishna, S.**, 2004, Metal ion transport and regulation in Mycobacterium tuberculosis. *Front Biosci.* 9:2996-3006.
- [29] **Özkara, Ş., Aktaş, Z., Özkan, S., Ecevit, H.**, 2003, T.C. Sağlık Bakanlığı Verem Savaşı Daire Başkanlığı, Türkiye'de Tüberkülozun kontrolü için başvuru kitabı. Ankara.

- [30] **Okutan, O.**, 2003, Yetişkin ağda akciğer tüberkulozu. 21. yy'da Tüberkuloz Sempozyumu ve II. Tüberkuloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu Kitabı, Samsun.
- [31] **Malik, S., Abel, L., Tooker, H., Poon, A., Simkin, L., Girard, M., Adams, G.J., Starke, J.R., Smith, K.C., Graviss, E.A., Musser, J.M., Schurr, E.**, 2005, Alleles of the NRAMP1 gene are risk factors for pediatric tuberculosis disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 102(34):12183-8.
- [32] **Ijaz, K., Castro, K.G.**, 2002, Pediatric tuberculosis: all in the family? *Infect Control Hosp Epidemiol.* 23(10):562-3.
- [33] **Sharma, S.K., Mohan, A.**, 2004, Extrapulmonary tuberculosis. *Indian J Med Res.* 120(4):316-53.
- [34] **Mutlu, B.**, 1999, İ.U. Cerrahpaşa Tıp Fakultesi Surekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Akciğer tüberkulozu radyolojisi, Erişkin ve ocukta Tüberkuloz Sempozyumu Kitabı, İstanbul, s. 39-48.
- [35] **Gey van Pittius, N.C, Warren, R.M., van Helden, P.D.**, 2002, ESAT-6 and CFP-10: what is the diagnosis? *Infect Immun.* 70(11):6509-10.
- [36] **Furin, J.J., Johnson, J.L.**, 2005, Recent advances in the diagnosis and management of tuberculosis. *Curr Opin Pulm Med.* 11(3):189-94.
- [37] **Öztürkeri, H.**, Bactec yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testi.
http://www.klimik.org.tr/pdfs/tuberkuloz/Hakan_Ozturkeri%202.pdf

- [38] **Özçelik, U.**, Çocukluk çağı akciğer tüberkülozunda tanı.
http://www.verem.org.tr/pdf/cocukluk_a_t.pdf
- [39] World Health Organization. Stop TB, Communicable Diseases. An Expanded DOTS Framework for Effective Tuberculosis Control, 2002, Geneva, WHO/CDS/TB.297.
- [40] **Hacievliyagil, A.**, Tüberkülozda bulaşma.
http://www.verem.org.tr/pdf/tuberkuloz_bulasma.pdf
- [41] **Özlü, T.**, 2003, Tüberkülozdan ilaçla korunma, 21. yüzyılda tüberküloz sempozyumu ve II. tüberküloz laboratuvar tanı yöntemleri kursu, Samsun.
- [42] **Strang, J.I.**, 1987, Unusual presentation of neurological tuberculosis. A case report. *S Afr Med J.* 72(12):83-4.
- [43] **Schoeman, J.F., Rutherford, G.S., Hewlett, R.H.**, 1997, Acute stroke in a child with miliary tuberculosis. *Clin Neuropathol.* 16(6):303-8.
- [44] **Girgis, N.I., Farid, Z., Kilpatrick, M.E., Sultan, Y., Mikhail, I.A.**, 1991, Dexamethasone adjunctive treatment for tuberculous meningitis. *Pediatr Infect Dis J.* 10(3):179-83.
- [45] **McShane, H.**, 2003, Susceptibility to tuberculosis--the importance of the pathogen as well as the host., *Clin Exp Immunol.* 133(1):20-1.
- [46] **Karahan, Z.C., Akar, N.**, 2002, Tüberküloza genetik yatkınlık, *Ankara Üniversitesi tıp fakültesi mecmuası cilt 55, sayı 2, 151-162.*
- [47] **Selvaraj, P., Rajeswari, D. N., Jawahar, M.S., Narayanan, P.R.**, 2007, Influence of HLA-DRB1 alleles on Th1 and Th2 cytokine

response to *Mycobacterium tuberculosis* antigens in pulmonary tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*87(6):544-50.

- [48] **Canonne-Hergaux, F., Calafat, J., Richer, E., Cellier, M., Grinstein, S., Borregaard, N., Gros, P.,** 2002. Expression and subcellular localization of NRAMP1 in human neutrophil granules. *Blood*.100(1):268-75.
- [49] **Nevo, Y., Nelson, N.,** The NRAMP family of metal-ion transporters, 2006, *Biochim Biophys Acta*. 1763(7):609-20.
- [50] **Gomez, MA., Li, S., Tremblay, ML., Olivier, M.** 2007, NRAMP-1 expression modulates protein-tyrosine phosphatase activity in macrophages: impact on host cell signaling and functions. *Epub, J Biol Chem*,282(50):36190-8.
- [51] **Marquet, S., Lepage, P., Hudson, T.J., Musser, J.M., Schurr, E.,** 2000, Complete nucleotide sequence and genomic structure of the human NRAMP1 gene region on chromosome region 2q35. *Mamm Genome*.11(9):755-62.
- [52] **Awomoyi, A.A., Marchant, A., Howson, J.M., McAdam, K.P., Blackwell, J.M., Newport, M.J.,** 2002, Interleukin-10, polymorphism in SLC11A1 (formerly NRAMP1), and susceptibility to tuberculosis. *J Infect Dis*. 186(12):1808-14.
- [53] **Li, H.T., Zhang, T.T., Zhou, Y.Q., Huang, Q.H., Huang, J.,** 2006, SLC11A1 (formerly NRAMP1) gene polymorphisms and tuberculosis susceptibility: a meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis*.;10(1):3-12.

- [54] **Hoal, E.G., Lewis, L.A., Jamieson, S.E., Tanzer, F., Rossouw, M., Victor, T., Hillerman, R., Beyers, N., Blackwell, J.M., Van Helden, P.D.,** 2004, SLC11A1 (NRAMP1) but not SLC11A2 (NRAMP2) polymorphisms are associated with susceptibility to tuberculosis in a high-incidence community in South Africa. *Int J Tuberc Lung Dis*; 8(12):1464-71.
- [55] **Cooke, G.S., Siddiqui, M.R.,** 2004, Host genetics and the dissection of mycobacterial immunity. *Clin Exp Immunol*. 135(1):9-11.
- [56] **Govoni, G., Gros, P.,** 1998, Macrophage NRAMP1 and its role in resistance to microbial infections. *Inflamm Res*. ;47(7):277-84.
- [57] **Forbes, J.R., Gros, P.,** 2001, Divalent-metal transport by NRAMP proteins at the interface of host-pathogen interactions. *Trends in Microbiology*; 9: 397–403.
- [58] **Doorduyn, Y., Van Pelt, W., Siezen, C.L., VAN DER Horst, F., VAN Duynhoven, Y.T., Hoebee, B., Janssen, R.,** 2007, Novel insight in the association between salmonellosis or campylobacteriosis and chronic illness, and the role of host genetics in susceptibility to these diseases., *Epidemiol Infect*;1-10.
- [59] **Koh, J.W.K.W., Kwon, O.J., Eun, J. K., Kyung, S. L., Chang-Seok, K.,** 2005, Mycobacterial Lung Diseases NRAMP1 Gene Polymorphism and Susceptibility to Nontuberculous Mycobacterial Lung Diseases. *Chest* 128;94-101.

- [60] **Ryu, S., Park, Y.K., Bai, G.H., Kim, S.J., Park, S.N., Kang, S.**, 2000, 3'UTR polymorphisms in the NRAMP1 gene are associated with susceptibility to tuberculosis in Koreans. *Int J Tuberc Lung Dis.* ;4(6):577-80.
- [61] **Gao, P.S., Fujishima , S., Mao, X.Q., Remus, N., Kanda, M., Enomoto, T., Dake, Y., Bottini, N., Tabuchi, M., Hasegawa, N., Yamaguchi, K., Tiemessen, C., Hopkin, J.M., Shirakawa, T., Kishi, F.**, 2000, Genetic variants of NRAMP1 and active tuberculosis in Japanese populations. *International Tuberculosis Genetics Team. Clin. Genet.*, 58,74–76.
- [62] **Ma, X., Dou, S., Wright, J.A., Reich, R.A., Teeter, L.D., El Sahly, H.M., Awe, R.J., Musser, J.M., Graviss, E.A.**, 2002, 5' dinucleotide repeat polymorphism of NRAMP1 and susceptibility to tuberculosis among Caucasian patients in Houston. Texas. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 6, 818–823.
- [63] **Liu W, Zhang CY, Tian L, Li CZ, Wu XM, Zhao QM, Zhang PH, Yang SM, Yang H, Cao WC.**, 2003, A case-control study on natural-resistance-associated. macrophage protein 1 gene polymorphisms and susceptibility to pulmonary tuberculosis. 37(6):408-11.
- [64] **Leung, K.H., Yip, S.P., Wong, W.S., Yiu, L.S., Chan, K.K., Lai, W.M., Chow, E.Y., Lin, C.K., Yam, W.C., Chan, K.S.**, 2007, Sex- and age-dependent association of SLC11A1 polymorphisms with tuberculosis in Chinese: a case control study, *BMC Infectious Diseases*, 7:19.

- [65] **An, YC., Feng, FM., Yuan, JX., Ji, CM., Wang, YH., Guo, M., Deng, XJ., Gao, BX., Wang, D., Liu, Q.,** 2006, Study on the association of INT4 and 3'UTR polymorphism of natural-resistance-associated macrophage protein 1 gene with susceptibility to pulmonary tuberculosis], *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi.* 27(1):37-40.
- [66] **Søborg, C., Andersen, AB., Range, N., Malenganisho, W., Friis, H., Magnussen, P., Temu, MM., Chagalucha, J., Madsen, HO., Garred, P.,** 2007, Influence of candidate susceptibility genes on tuberculosis in a high endemic region. *Mol Immunol.*44(9):2213-20.
- [67] **Taype, J.C. Castro, R.A. Accinelli, P. Herrera-Velit, M.A. Shaw and J.R. Espinoza.,** 2006, Association between SLC11A1 polymorphisms and susceptibility to different clinical forms of tuberculosis in the Peruvian population, *Infection, Genetics and Evolution, Volume 6, Issue 5, Pages 361-367, C.A.*
- [68] **Liaw, Y.S., Tsai-Wu, J.J., Wu, C.H., Hung, C.C., Lee, C.N., Yang, P.C., Luh, K.T. and Kuo, S.H.** 2002, Variations in the NRAMP1 gene and susceptibility of tuberculosis in Taiwanese. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.,* 6, 454–460.
- [69] **Sahiratmadja, E., Wieringa, FT., van Crevel, R., de Visser, AW., Adnan, I., Alisjahbana, B., Slagboom, E., Marzuki, S., Ottenhoff, TH., van de Vosse, E., Marx, JJ.,** 2007, Iron deficiency and NRAMP1 polymorphisms (INT4, D543N and 3'UTR) do not contribute to severity of anaemia in tuberculosis in the Indonesian population. *Br J Nutr.* 98(4):684-90.

- [70] **El Baghdadi, J., Remus, N., Benslimane, A., El Annaz, H., Chentoufi, M., Abel, L. and Schurr, E.** 2003, Variants of the human NRAMP1 gene and susceptibility to tuberculosis in Morocco. *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.*, 7, 599–602.
- [71] **Hsu, YH., Chen, CW., Sun, HS., Jou, R., Lee, JJ., Su, IJ.,** 2006, Association of NRAMP 1 gene polymorphism with susceptibility to tuberculosis in Taiwanese aboriginals., *J Formos Med Assoc.* 105(5):363-9.
- [72] **Niño-Moreno, P., Portales-Pérez, D., Hernández-Castro, B., Portales-Cervantes, L., Flores-Meraz, V., Baranda, L., Gómez-Gómez, A., Acuña-Alonzo, V., Granados, J., González-Amaro, R.,** 2007, P2X7 and NRAMP1/SLC11 A1 gene polymorphisms in Mexican mestizo patients with pulmonary tuberculosis. *Clin Exp Immunol.* 148(3):469-77.
- [73] **Vejbaesya, S., Chierakul, N., Luangtrakool, P., Sermduangprateep, C.** 2007 NRAMP1 and TNF-alpha polymorphisms and susceptibility to tuberculosis in Thais., *12(2):202-6.*
- [74] **Takahashi, K., Hasegawa, Y., Abe, T., Yamamoto, T., Nakashima, K., Imaizumi, K., Shimokata, K.,** 2008, SLC11A1 (formerly NRAMP1) polymorphisms associated with multidrug-resistant tuberculosis., *Tuberculosis (Edinb).* 88(1):52-7.

- [75] **Li, H.T., Zhang, T.T., Huang, Q.H., Lv, B., Huang, J.**, 2006, Meta-analysis on NRAMP1 gene polymorphisms and tuberculosis susceptibility in east-asia population, *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi.* 27(5):428-32.
- [76] **Kim, JH., Lee, SY., Lee, SH., Sin, C., Shim, JJ., In, KH., Yoo, SH., Kang, KH.** 2003, NRAMP1 genetic polymorphisms as a risk factor of tuberculous pleurisy., *Int J Tuberc Lung Dis.* 7(4):370-5.
- [77] **Abe, T., Iinuma, Y., Ando, M., Yokoyama, T., Yamamoto, T., Nakashima, K., Takagi, N., Baba, H., Hasegawa, Y., Shimokata, K.**, 2003, NRAMP1 polymorphisms, susceptibility and clinical features of tuberculosis., *J Infect.* 46(4):215-20.
- [78] **Zhang, W., Shao, L., Weng, X., Hu, Z., Jin, A., Chen, S., Pang, M., Chen, ZW.**, 2005, Variants of the natural resistance-associated macrophage protein 1 gene (NRAMP1) are associated with severe forms of pulmonary tuberculosis., *Clin Infect Dis.* 40(9):1232-6.
- [79] **Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children.**, 2000, *Am J Respir Crit Care Med.* 161(4 Pt 1):1376-95.
- [80] **Robinson, C.M., Nau, G.J.**, 2008, Interleukin-12 and Interleukin-27 Regulate Macrophage Control of Mycobacterium tuberculosis. *J Infect Dis.*
- [81] **Akahoshi, M., Nakashima, H., Miyake, K., Inoue, Y., Shimizu, S., Tanaka, Y., Okada, K., Otsuka, T., Harada, M.**, 2003, Influence of

interleukin-12 receptor beta1 polymorphisms on tuberculosis. *Hum Genet.* 112(3):237-43.

- [82] **Kusuhara, K., Yamamoto, K., Okada, K., Mizuno, Y., Hara, T.,** 2007, Association of IL12RB1 polymorphisms with susceptibility to and severity of tuberculosis in Japanese: a gene-based association analysis of 21 candidate genes. *Int J Immunogenet.* 34(1):35-44.
- [83] **Pacheco, A.G., Cardoso, C.C., Moraes, M.O.,** 2008, IFNG +874T/A, IL10 -1082G/A and TNF -308G/A polymorphisms in association with tuberculosis susceptibility: a meta-analysis study. *Hum Genet.* 123(5):477-84.
- [84] **Ates, O., Musellim, B., Ongen, G., Topal-Sarıkaya, A.,** 2007, Interleukin-10 and Tumor Necrosis Factor-alpha Gene Polymorphisms in Tuberculosis., *J Clin Immunol.*
- [85] **Anand, P.S., Selvaraj, P., Jawahar, M.S., Adhilakshmi, A.R., Narayanan, P.R.,** 2007, Interleukin-12B & interleukin-10 gene polymorphisms in pulmonary tuberculosis. *Indian J Med Res.* 126(2):135-8.
- [86] **Cosar, H., Ozkinay, F., Onay, H., Bayram, N., Bakiler, A.R., Anıl, M., Can, D., Ozkinay, C.,** 2008, Low levels of mannose-binding lectin confers protection against tuberculosis in Turkish children., *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.*
- [87] **Liu, W., Zhang, F., Xin, Z.T., Zhao, Q.M., Wu, X.M., Zhang, P.H., de Vlas, S., Richardus, J.H., Habbema, J.D., Yang, H., Cao, W.C.,**

2006, Sequence variations in the MBL gene and their relationship to pulmonary tuberculosis in the Chinese Han population., *Int J Tuberc Lung Dis.* 10(10):1098-103.

- [88] **Selvaraj, P., Jawahar, M.S., Rajeswari, D.N., Alagarasu, K., Vidyarani, M., Narayanan, P.R.,** 2006, Role of mannose binding lectin gene variants on its protein levels and macrophage phagocytosis with live Mycobacterium tuberculosis in pulmonary tuberculosis., *FEMS Immunol Med Microbiol.* 46(3):433-7.
- [89] **Ben-Ali, M., Barbouche, M.R., Bousnina, S., Chabbou, A., Dellagi, K.,** 2004, Toll-like receptor 2 Arg677Trp polymorphism is associated with susceptibility to tuberculosis in Tunisian patients., *Clin Diagn Lab Immunol.* 11(3):625-6.
- [90] **Ogus, A.C., Yoldas, B., Ozdemir, T., Uguz, A., Olcen, S., Keser, I., Coskun, M., Cilli, A., Yegin, O. ,** 2004, The Arg753Gln polymorphism of the human toll-like receptor 2 gene in tuberculosis disease. *Eur Respir J.* 23(2):219-23.
- [91] **Thuong, N.T., Hawn, T.R., Thwaites, G.E., Chau, T.T., Lan, N.T., Quy, H.T., Hieu, N.T., Aderem, A., Hien, T.T., Farrar, J.J., Dunstan, S.J.,** 2007 , A polymorphism in human TLR2 is associated with increased susceptibility to tuberculous meningitis. *Genes Immun.* 8(5):422-8.
- [92] **Ferwerda, B., Kibiki, G.S., Netea, M.G., Dolmans, W.M., van der Ven, A.J.,** 2007, The toll-like receptor 4 Asp299Gly variant and

tuberculosis susceptibility in HIV-infected patients in Tanzania., *AIDS*. 21(10):1375-7.

- [93] **Liu, P.T., Krutzik, S.R., Modlin, R.L.**, 2007, Therapeutic implications of the TLR and VDR partnership. *Trends Mol Med*, 13(3):117-24.
- [94] **Selvaraj, P., Alagarasu, K., Harishankar, M., Vidyarani, M., Narayanan, P.R.**, 2008, Regulatory region polymorphisms of vitamin D receptor gene in pulmonary tuberculosis patients and normal healthy subjects of south india., *Int J Immunogenet*. 35(3):251-4.
- [95] **Chen, X.R., Feng, Y.L., Ma, Y., Zhang, Z.D., Li, C.Y., Wen, F.Q., Tang, X.Y., Su, Z.G.**, 2006, Study on the association of two polymorphisms of the vitamin D receptor (VDR) gene with the susceptibility to pulmonary tuberculosis (PTB) in Chinese Tibetans], *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 37(6):847-51.
- [96] **Liu , W., Cao, W.C., Zhang, C.Y., Tian, L., Wu, X.M., Habbema, J.D., Zhao, Q.M., Zhang, P.H., Xin, Z.T., Li, C.Z., Yang, H. ,** 2004, VDR and NRAMP1 gene polymorphisms in susceptibility to pulmonary tuberculosis among the Chinese Han population: a case-control study., *Int J Tuberc Lung Dis*. 8(4):428-34.
- [97] **Cervino, A.C., Lakiss, S., Sow, O. and Hill, A.V.**, 2000, Allelic association between the NRAMP1 gene and susceptibility to tuberculosis in Guinea-Conakry. *Ann. Hum. Genet.*, 64, 507–512.
- [98] **Vejbaesya, S., Chierakul, N., Luangtrakool, P., Sermduangprateep, C.**, 2007, NRAMP1 and TNF-alpha

polymorphisms and susceptibility to tuberculosis in Thais.,
Respirology. 12(2):202-6.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Aslıhan Yılmaz EKMEKÇİ

Doğum Tarihi : 31. 05. 1972

Medeni hali : Evli

Adres Ev : 1671 Sokak No: 112/9, Karşıyaka / İZMİR

Telefon Ev : 232-3694344

Cep : 533 3636450

E-mail : aslihan.ekmekci@ege.edu.tr
ekmekciaslihan@gmail.com

Eğitim :

1986- İzmir Eşrefpaşa Lisesi

1989- Diploma

1990- Shenendehowa High School, New York, ABD

1990- Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi

1996- Diploma

2003- Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve
Hastalıkları AD, Genetik BD Genetik Doktora
Programı

Özellikler :

1989-1990 : AFS bursu ile ABD'de bulundum

Yabancı Dil : İngilizce (iyi derecede)

Üye Olduğu Mesleki Kuruluşlar: Türkiye Tıbbi Genetik Derneği

İzmir Perinataloji Derneği

ASHG (American Society of Human
Genetics)

Araştırma Konuları : Tüberküloz Genetiği

Mesleki Deneyimler :

Laboratuvar Uygulamaları: 1. Hücre kültürü çalışmaları (periferik kan, kemik iliği, amniotik sıvı)

2. Kromozom analizi

3. FISH uygulamaları

4. RFLP

5. DNA dizi analizi uygulamaları

6. Fragman analizi uygulamaları (kimerizm)

7. Strip assay uygulamaları

8. QF-PCR uygulamaları

9. MLPA uygulamaları

Klinik Uygulamalar : 1. Genetik danışma

2. Genetik hastaların takibi

Yurtdışı Eğitimler:

1. ESHG 7. Biyoinformatik Kursu, 18-22 Mart 2007, Bologna, İtalya

Kurslar ve Kongreler :

1. IX. Tıpta uzmanlık Eğitimi Kurultayı, 2003, İzmir, Türkiye
2. “Anemili Çocuğa Yaklaşım” Konulu Mezuniyet Sonrası Eğitim Semineri, 2004, İzmir, Türkiye
3. II. Uluslararası Katılımlı Moleküler Tanı ve Uygulamaları Sempozyumu, 2004, İzmir, Türkiye
4. Hücre Kültürü Teknolojisinde Temel Prensipler ve Yapay Organlar Kursu, 2004, İzmir, Türkiye
5. I. Ulusal Moleküler Tıp Kongresi, 2005, İstanbul, Türkiye
6. European Human Genetics Conference 2005, 2005, Prag, Çek Cumhuriyeti
7. 3. Ulusal Tıbbi Genetik Sempozyumu, 2005, Bursa, Türkiye

8. Ege Perinatoloji Derneği, Olgu Sunumları Toplantıları, 2005, İzmir, Türkiye
9. 1. Ege Genetik Sempozyumu, 2005, İzmir, Türkiye
10. International Symposium on Genetic Endocrine Diseases, 2006, Antalya, Türkiye
11. European Human Genetics Conference 2006, 2006, Amsterdam, Hollanda
12. VII. Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi, 2006, Kayseri, Türkiye
13. 2. Ege Genetik Sempozyumu, 2006, Afyon, Türkiye
14. ESHG Biyoinformatik Kursu, 2007, Bologna, İtalya
15. 1. Nörogenetik Sempozyumu, 2007, İzmir, Türkiye
16. 3. Ege Genetik Sempozyumu, 2007, Denizli, Türkiye
17. VIII. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi, 2008, Çanakkale, Türkiye

Projeler :

1. Türk Toplumunda Tüberküloza Yatkınlıkta *NRAMP1* Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması, (EBİLTEM), 2005 (yardımcı araştırmacı)
2. Sepsiste hemostatik gen polimorfizmlerinin araştırılması (EBİLTEM), 2005 (yardımcı araştırmacı)
3. Emziren anne ve bebeklerindeki Vitamin D reseptör polimorfizimlerinin anne saç kökü hücrelerinde ekspresyonları, anne sütünde ve bebek serumundaki vitamin D düzeyleri ilişkisi (TÜBİTAK), 2006 (yardımcı araştırmacı)

4. Astım Hastalarında CCR5, ADAM33, TLR4 polimorfizmlerinin Araştırılması, (CBÜ Araştırma Fon Saymanlığı), 2006 (yardımcı araştırmacı) (Proje devam etmektedir)
5. Türk Toplumunda Yetişkinlerde Tüberküloza Yatkınlıkta *MBL* Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması, (EBİLTEM), 2007 (yardımcı araştırmacı)

Ulusal Düzeyde Düzenlenen Bilimsel Toplantılar:

1. Uluslararası Katılımlı QF-PCR Workshop, 2006, İzmir
2. Uluslararası Katılımlı II. QF-PCR Workshop, 2008, İzmir, Türkiye

ESERLER:

A. Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Yayınlar:

- A1. Onder A, Cogulu O, **Ekmekci A**, Pariltay E, Kirbiyik O, Ozkinay F., Seckel syndrome with Morgagni hernia. Clin Dysmorphol. 2007 Jul;16(3):209-10.
- A2. Aykut A, Cogulu O, **Ekmekci AY**, Ozkinay F., An additional manifestation in acrocallosal syndrome: temporal lobe hypoplasia. Genet Couns. 2008;19(2):237-40.

B. Ulusal Hakemli Dergilerde Yayımlanan Yayınlar:

- B1. Pehlivan S, Onay H, Itirli G, **Ekmekci A**, Unuvar D, Bulut H, Ozkinay F. DNA Replikasyonu ve Tamirinde Görevli DNA Polimerazlar. Arşiv Tıp Dergisi, 2004; 13: 256-278
- B2. Pehlivan S, Bulut H, Onay H, Itirli G, **Ekmekçi A**, Ünüvar D, Özkinay F. RNA Polimerazların Görevleri ve Önemi. Arşiv Tıp Dergisi, 2004; 13: 575-592

C. Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında

Basılan Poster Bildirileri:

- C1. Ozkinay C, **Ekmekci A**, Onay H, Cankaya T, Cogulu O, Ozkinay F. A case of fetal hydantoin syndrome having hemangioma associated with hemiatrophy at the left side of the body. European Human Genetics Conference, European Journal of Human Genetics, Volume 12-Supplement 1, 116, 2004, Münih, Almanya
- C2. E Karaca, O Cogulu, **A Ekmekci**, H Onay, S Pehlivan, F Ozkinay, C Ozkinay. A family of type I BPES with 5 affected members. European Human Genetics Conference, European Journal of Human Genetics, Volume 13-Supplement 1, 94, 2005, Prag, Çek Cumhuriyeti
- C3. **A Ekmekci**, H Onay, O Cogulu, MT Arslan, H Akin. Spondylocostal dysplasia in a three generation family with 4 affected members. European Human Genetics Conference, European Journal of Human Genetics, Volume 13-Supplement 1, 94, 2005, Prag, Çek Cumhuriyeti

- C4. Uzunkaya D, Onay H, Pehlivan S, Agin H, **Ekmekci A**, Gulez N, Atlihan F, Ozkinay F, Genel F, Ozkinay C. Mannose binding lectin gene polymorphism in the patients with sepsis and its effects on prognosis. 23rd Annual Meeting of the European Society for Pediatric Infectious Diseases, Book of Abstracts, 258, 2005, Valencia, İspanya
- C5. Ozkinay F, Onay H, **Ekmekci A**, Cok G, Ozses A, Guclu S, Gunduz C, Cogulu O, Sayin E, Ozkinay C, Bayındır U. Vitamin D Receptor (VDR) Gene Polymorphisms and Susceptibility to Tuberculosis in Izmir/Turkey: A case-control study. Tuberculosis: From Lab Research to Field Trials, Abstract Book, 158, 2007, Vancouver, Kanada.
- C6. **Ekmekci A**, Onay H, Cosar H, Ozkinay C, Cok G, Aykut A, Vardar F, Ozkinay F. Vitamin D Polymorphisms and Susceptibility to Tuberculosis in Turkish Children and Adults. 25th Annual Meeting of the European Society for Pediatric Infectious Diseases-ESPID, Abstract Book, 96, 2007, Porto, Portekiz
- C7. Onay H, Onay B, Oksuz C, Uslu E, **Ekmekci A**, Karaca E, Ozkinay F. GENIUS: A new universal stripassay analyzer software. European Human Genetics Conference, European Journal of Human Genetics, Volume 15-Supplement 1, 321, 2007, Nice, Fransa
- C8. **Ekmekci AY**, Ozkinay F, Onay H, Bacakoglu F, Sayiner A, SZ Guclu, Pehlivan S, Coglulu O, Aykut A, Gunduz C, Ozkinay C. NRAMP1 polymorphisms and susceptibility to tuberculosis in Turkish adult population. The American Society of Human Genetics 57th Annual Meeting, Abstract Book, 450, 2007, San Diego, ABD

- C9. Onay H, **Ekmekçi AY**, Durmaz B, Sayın E, Coşar H, Bayram N, Can D, Akin H, Ozkinay C. Interferon- γ gene and interferon- γ receptor 1 gene polymorphisms in tuberculosis children from Turkey. The American Society of Human Genetics 57th Annual Meeting, Abstract Book, 450, 2007, San Diego, ABD.
- C10. **Ekmekci AY**, Onay H, Coşar H, Çoğulu O, Bakiler AR, Turker E, Gunduz C, Ozkinay C. NRAMP1 polymorphisms and susceptibility to tuberculosis in Turkish children. The American Society of Human Genetics 57th Annual Meeting, Abstract Book, 451, 2007, San Diego, ABD.
- C11. Cogulu O, Yılmaz S, Alpman A, Gunduz C, **Ekmekci A**, Ercal D, Ozkinay F, Ozkinay C. The cytogenetics analysis of 79 prenatally detected neural tube defects among 8370 prenatal samples. European Journal of Human Genetics, Volume 15, 2007, Nice, Fransa.

D. Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan

Poster Bildirileri:

- D1. **Ekmekçi A**, Bora E, Onay H, Çankaya T, Özkinay F, Özkinay C. Fetal Hidantoin Sendromu: Olgu Sunumu. 39. Türk Pediatri Kongresi. Kongre Kitabı, 497, 2003, Kapadokya, Türkiye
- D2. Demircioğlu Ö, **Ekmekçi A**, Onay H, Çankaya T, Alpman A, Özkinay C, Özkinay F. Robinow sendromu: Olgu Sunumu. 40. Türk Pediatri Kongresi, Konuşma Metinleri ve Özet Kitabı, 365, 2004, İstanbul, Türkiye

- D3. Özkinay C, **Ekmekçi A**, Onay H, Serdaroğlu G, Gökben S, Özkinay F. Parry Romberg sendromlu bir olgu. 40. Türk Pediatri Kongresi, Konuşma Metinleri ve Özet Kitabı, 367, 2004, İstanbul, Türkiye
- D4. Uzunkaya D, Pehlivan S, Atlıhan F, Onay H, Ağın H, Itırlı G, Gülez N, **Ekmekçi A**, Özkinay F, Genel F, Özkinay C. Sepsisli hastalarda Mannose Binding Lectin (MBL) gen polimorfizmi ve prognoz üzerine etkisi. 4. Ulusal Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Özet Kitabı, 215, 2005, İstanbul, Türkiye
- D5. **Ekmekçi AY**, Onay H, Bacakoğlu F, Sayiner A, Güçlü SZ, Pehlivan S, Çoğulu Ö, Aykut A, Gündüz C, Ozkinay C, Ozkinay F. Türk Yetişkin Toplumunda Tüberküloza Yatkınlıkta NRAMP1 Gen Polimorfizmlerinin Rolü. VIII. Ulusal Tıbbi genetik Kongresi, Program ve Bildiri özet Kitabı, 167, 2208, Çanakkale, Türkiye
- D6. Özkinay F, Onay H, Gündüz C, Aykut A, Parıltay E, Biray Ç, **Ekmekçi AY**, Akın A, Çoğulu Ö, Uçar SK, Koturoğlu G, Pehlivan S, Kurugöl Z, Çoker M. Emziren Anne ve Bebeklerinde Vitamin D Reseptör Polimorfizmlerinin Anne Saç Kökü Hücrelerinde Ekspresyonları, Anne Sütünde ve Bebek Serumundaki Düzeylerinin Karşılaştırılması. 44. Türk Pediatri Kongresi, Konuşma Metinleri ve Özet Kitabı, 229, 2008, İstanbul, Türkiye