T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

TÜBERKÜLOZ HASTALARINDA *NRAMP-1* POLİMORFİZMLERİNİN ETKİSİ

Dr. Göksel MİÇOOĞULLARI

UZMANLIK TEZİ

BURSA- 2010

T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

TÜBERKÜLOZ HASTALARINDA *NRAMP-1* POLİMORFİZMLERİNİN ETKİSİ

Dr. Göksel MİÇOOĞULLARI

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Mehmet KARADAĞ

BURSA- 2010

İÇİNDEKİLER

Özet……..……..…ii
Summary……..……...iii
Giriş……..…….....1
Gereç ve Yöntem…….....22
Bulgular…….....28
Tartışma ve Sonuç…….…….. 31
Kaynaklar……....36
Teşekkür……..42
Özgeçmiş……....43

ÖZET

Tüberküloz**,** *Mycobacterium tuberculosis*(*Mtb*)'in neden olduğu kronik granülomatöz bir enfeksiyon hastalığıdır. İki milyar insan; dünya nüfusunun üçte biri; *Mycobacterium tuberculosis* ile enfektedir. Enfekte populasyonun % 5-10'unda; hayatlarının bir döneminde tüberküloz gelişme riski vardır. Ne zaman hastalık gelişeceği, lokalizasyon, hastalık şiddeti oldukça değişkendir. Konak savunmasında rol alan faktörler aktif tüberküloz gelişimini etkileyebilir. Natural resistance associated macrophage protein 1*(NRAMP1)* geni; diğer adıyla solute carrier family 11 member a1(*SLCA11A1*) ; makrofaj aktivasyon yolağında multipl pleiotropik etkiye sahiptir. Tüberkülozlularda *NRAMP1* ile ilgili çalışmalar, gendeki başlıca dört polimorfizme odaklanmıştır. NRAMP1 polimorfizmleri tüberküloza duyarlılığı arttırabilir. Çalışmamızda *NRAMP1* geninin iki polimorfizminin (3' UTR ve D543N) tüberküloza duyarlılık ve hastalık ağırlığı ile ilişkisini araştırmayı amaçladık. 58 tüberküloz olgusu ve 56 yaşça denk sağlıklı kontrolde iki *NRAMP1* gen polimorfizmini analiz ettik. Hasta ve kontrol gruplarının ortalama yaşları, sırasıyla; 33. 43 ± 9.194 ve 32.05 ± 9.264 idi (p=0.336). İstatistiksel analiz SPSS versiyon 15.0 ile yapıldı. Çalışmamızda tüberküloza duyarlılık ve *NRAMP1* gen polimorfizmleri arasında ilişki saptayamadık. Ek olarak; 2 lokústeki *NRAMP1* polimorfizmleri ile pulmoner tüberkülozun ağır formları arasında (tüberküloz plörezi, kavitasyon varlığı ve akciğer grafide en az üç zonda lezyon varlığı) anlamlı ilişki olmadığı sonucuna vardık.

Anahtar kelimeler: *NRAMP1*, polimorfizm, tüberküloz, duyarlılık.

SUMMARY

The Effect of the *NRAMP-1* Polymorphisms in Tuberculosis Patient

Tuberculosis is a chronic granulomatous infection disease that is caused by *Mycobacterium tuberculosis* (*MTb*). Two billion humans, one third of the world's population is infected with MTb. Only 5 to 10 % of this population has a lifetime risk of developing active tuberculosis. When active tuberculosis develops, disease localization, severity, and outcome are highly variable. Host defense factors may influence the development of active tuberculosis. Natural resistance associated macrophage protein 1*(NRAMP1)* gene, also named as solute carrier family 11 member a1(*SLCA11A1*) gene has multiple pleiotropic effects on macrophage activation pathways. Studies of *NRAMP1* in humans with tuberculosis have primarily focused on four polymorphisms distributed across the gene. *NRAMP1* polymorphisms may increase susceptibility to tuberculosis. In this study we aimed to investigate the association between the two polymorphisms (3'UTR and D543N) of the *NRAMP1* gene and susceptibility to tuberculosis including clinical severity of disease in Turkish population. We analysed two *NRAMP1* gene polimorphisms in 58 patients with tuberculosis disease and 56 age-matched healthy controls. Mean ages of the patient and control groups were 33.43 ± 9.194; 32.05 ± 9.264 respectively (p=0.336). Statistical analysis performed with SPSS version 15.0. There were no associations between *NRAMP1* gene polymorphisms and susceptibility to tuberculosis. Additional, *NRAMP1* polymorphisms at these 2 loci were not significantly associated with severe forms of pulmonary tuberculosis (pleurisy and cavitary tuberculosis and at least three zone disease on chest radiography).

Key words: *NRAMP1*, polymorphisms, tuberculosis, susceptibility.

GİRİŞ

Tüberküloz ve *Mycobacterium Tuberculosis*

Tanım

Tüberküloz, başta *Mycobacterium tuberculosis* olmak üzere "tuberculosis complex" olarak adlandırılan mikobakteriler tarafından oluşturulan, kronik granülomatöz bir enfeksiyon hastalığıdır (1). Dünya nüfusunun yaklaşık üçte birinde latent enfeksiyon vardır. Tüberküloz, human immunodeficiency virus (HIV) ile kıyaslanabilecek ölçüde mortaliteye sahiptir. Tüberküloz basilinin keşfinden 100 yıldan uzun bir süre geçmiştir. Ayrıca, 50 yıldan fazla bir süredir tedavide etkin ilaçlar kullanılmaktadır. Buna rağmen, enfeksiyonun kontrolünde bir takım zorluklar yaşanmaktadır. 6 veya 9 ayı bulan uzun tedavi süresi söz konusudur. İlaç direnci önemli bir problemdir ve yüksek etkinlikte aşı bulunamamıştır. Dahası, enfeksiyonun ve hastalığa progresyonun nasıl kontrol edileceği tam anlaşılamamıştır (2).

Sorunun Büyüklüğü

2 milyar insan, dünya nüfusunun üçte biri *Mycobacterium tuberculosis* ile enfektedir (2). Dünya Sağlık Örgütü'nün 2009 raporunda, tüberküloz insidansının 2007'de 100.000'de 139 olduğu bildirilmiştir (3). Prevalans 100.000 'de 206'dır (13.7 milyon hasta). 2007 yılı için HIV negatif tüberküloz olgularından 1.3 milyonunun kaybedildiği düşünülmektedir. Tüberkülozdaki global azalmaya karşın, yayma pozitif hastaların %37'sinin doğrudan gözetimli tedaviye(DOT) dahil olmadığı, multi-drug rezistan olguların %90'dan fazlasının tanı ve tedavisinin başarılamadığı bildirilmektedir (3).

Türkiye Ulusal Tüberküloz Sürveyans Araştırması'na göre, 2005 yılında tanı konulan 20.535 hastadan 18.753 (%91.3)'ü yeni olgudur. Hastaların %34.9'u (7.176 olgu) kadındır. Akciğer tüberkülozu oranı %73'dür (14.987 olgu). 2005 yılı için olgu hızı yüz binde 26 olarak saptanmıştır. Bir kohort oluşturmayan ilaç duyarlılık testlerinin sonuçları incelendiğinde, yeni olgularda %14.4, tedavi görmüş olgularda ise %34.8 oranında en az bir ilaca

direnç saptanmıştır. Yeni olgularda izoniazid ve streptomisin, tedavi görmüşlerde ise izoniazid ve rifampisin direnci yüksek bulunmuştur. Çok ilaca direnç oranı, yeni olgularda %3.1, tedavi görenlerde %17.7'dir ve toplam multi-drug rezistan hasta sayısı 191'dir (4).

Tüberküloz Basili

Tüberküloza yol açan mikroorganizma *Actinomycetales* takımı içinde bulunan *Mycobacteriaceae* familyasından *Mycobacterium* cinsi bir bakteridir (1). Runyon'un mikobakterileri dört grupta toplayan sınıflaması, bazı tiplerin bulunmasıyla yetersiz kalmıştır. Benzer biyokimyasal, serolojik, patolojik özelliği olan bakteriler aynı grupta toplanarak bir kompleks oluşturmuştur. *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti*, *M. caprae* ve *M. pinnipedii* '' *Mycobacterium tuberculosis complex* '' olarak anılmaktadır.

M. tuberculosis kompleks ve *M. leprae* dışında kalan mikobakterilere nontüberküloz mikobakteriler (NTM) ,atipik mikobakteriler ya da tüberküloz basili dışındaki mikobakteriler (Mycobacteria other than *M. tuberculosis*-MOTT) denilmektedir. Bunlardan *M. avium* ve *M. intracellulare* '' *M. avium complex* '' i, *M. fortuitum* ve *M. chelonae* '' *M. fortuitum complex* '' i oluşturur. 80 kadar mikobakteri türü tanımlanmıştır. Virulansı ve enfeksiyonun yaygınlığı nedeniyle *M. tuberculosis* cinsin en önemli üyesi olmayı sürdürmektedir. Non tüberküloz mikobakteriler ise; özellikle AIDS gibi immunsupresyona yol açan bir durum varlığında; artan oranda önem kazanmaktadır (5).

MTb 0.2-0.5 μm eninde, 1-4 μm boyunda basildir. Tek tek, kısa zincir veya küçük demetler halinde bulunur. Hareketsiz, sporsuz ve kapsülsüzdür. Hücre duvarının yoğun lipid içeriği nedeniyle gram boyasıyla boyanmaz. Aromatik metan halkası içeren fuksin veya florokrom boyalar (rodamin, oramin) ile boyanabilir. Bakteri, Erlich-Ziehl-Neelsen (EZN) yönteminde olduğu gibi alkol ve asit alkol ile yapılan dekolorasyona rağmen boyayı tutar. Bu nedenle asido-alkolo rezistan bakteri (AARB) olarak isimlendirilir. Mikobakteriler EZN ile mavi zemin üzerinde parlak kırmızı renkte boyanmaktadır (5).

MTb, katı besin yerinde 1-2 mm çapında kuru, devetüyü renginde koloniler oluşturur. Sıvı besiyerinde ise, hücre duvarının hidrofobik özelliği nedeniyle granüler ve yüzeye yakın bir üreme gösterir. Logaritmik üreme fazında ikiye bölünme zamanı ortalama 15-20 saattir. Diğer bakterilere kıyasla daha uzun bir sürede çoğalmaktadır. Bu nedenle, görülebilir koloni en erken 10-14 günde oluşmaktadır. Bu süre, 2 aya kadar uzayabilir. Basil, üremek için zengin besiyerlerine ihtiyaç duyar. Lovenstein-Jensen, Middlebrook 7H 10-12 sıklıkla kullanılan besiyerleridir (5). Daha hızlı tanı için işaretlenmiş C-14 içeren besiyerleri de kullanılmaktadır. Çoğalan basillerin ürettiği karbondioksit gazının ölçümüne dayanan radyometrik yöntemler (BACTEC 460) geliştirilmiştir. Ancak; radyoaktif atık sorunu nedeniyle fluorometrik yönteme dayanan BACTEC MGIT 960 gibi sistemler tercih edilmektedir (1).

Klinik ve Patogenez

MTb ile enfekte kişilerde ne zaman hastalık gelişeceğini; hastalığın lokalizasyonu, şiddet ve sonucunu konak ve bakteri arasındaki karşılıklı etkileşim ve bu etkileşimde rol alan faktörler belirler. MTb immunkompetan bireylerde latent enfeksiyona yol açabilen, makrofaj içerisinde yaşama yeteneğine sahip bir bakteridir. Konakta güçlü bir immun yanıt enfeksiyonu kontrol edebilmektedir. Ancak bakterinin eliminasyonu başarılamaz (6). Böylece, enfekte populasyonun sadece %5-10'unda aktif tüberküloz gelişir.

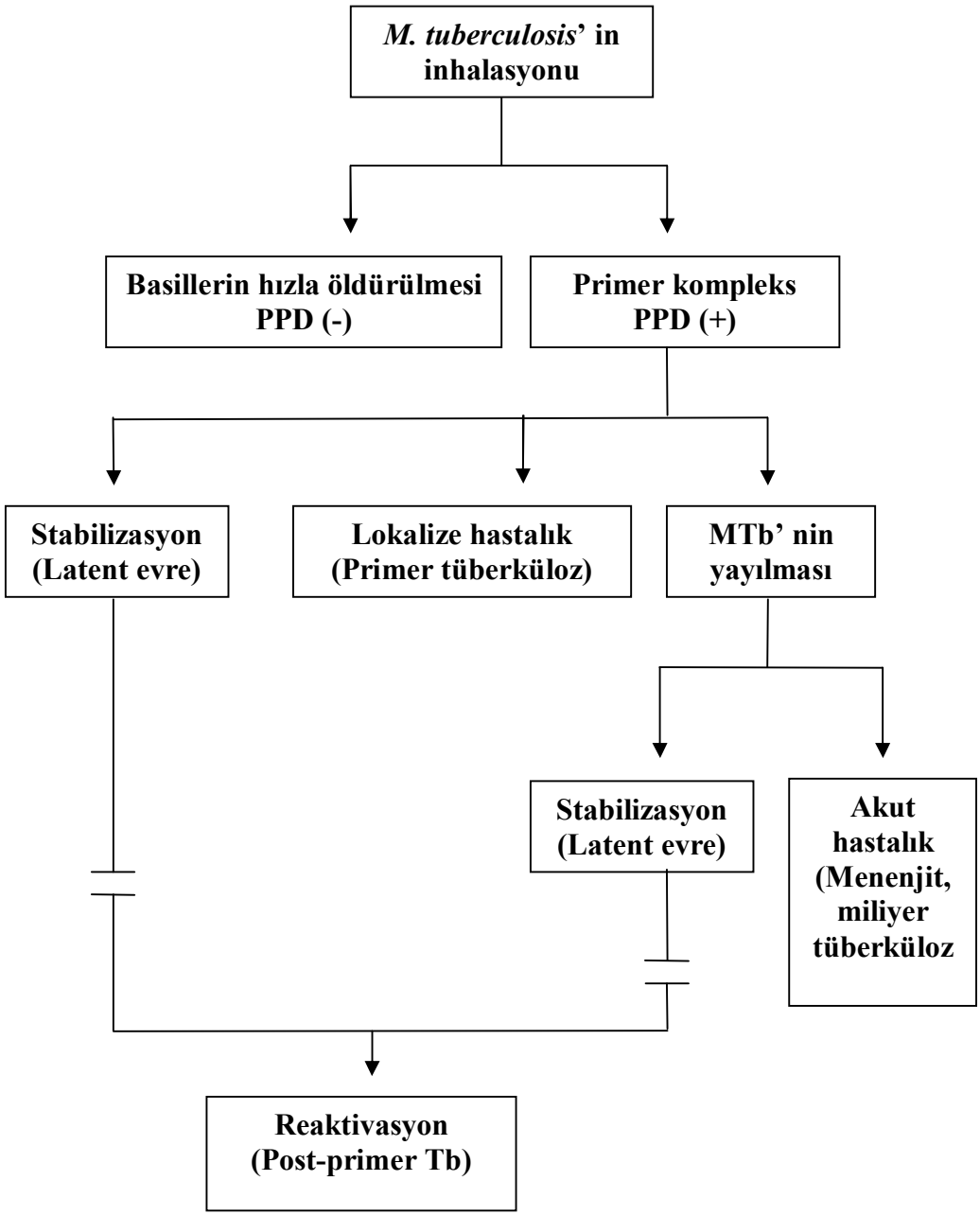
İnhalasyon ile alınan basil, alveollerde makrofajlar tarafından tutulur. Bu noktada, konağın doğal immun yanıtı üstün gelerek basilin alveoler makrofaj içerisinde öldürülmesi başarılabilir. Enfeksiyon gelişmemiştir. Ancak bu yapılamadığında; basil makrofaj içerisinde çoğalmaya başlar. Aktive olmamış makrofajlar, basilleri fagosite edebilirse de onları öldüremez. 3. haftadan sonra gecikmiş tip aşırı duyarlılık ve hücresel immunitenin gelişmesiyle, kısmen aktive olmuş makrofajlarca enfeksiyon kontrol altına alınır. Granülomların merkezinde kazeöz nekroz gelişir ve PPD (Purified Protein Derivative) pozitifleşir. Bu durum ''primer enfeksiyon'' olarak bilinmektedir. Hücresel bağışıklığı zayıf kişilerde gecikmiş tip aşırı duyarlılık

reaksiyonları devam eder, kazeöz nekroz genişler ve ‘’primer tüberküloz‘’ gelişir (6).

Enfekte kişilerin %5 kadarında basiller, dormant halde bulundukları odaklarda çoğalmaya başlayarak, hastalık tablosu oluşturabilir. Bu tablo ‘’post primer‘’ ya da ‘’reaktivasyon tüberkülozu‘’ olarak isimlendirilir (1). Reaktivasyon olasılığı immuniteyi bozan HIV/AIDS, diabetes mellitus, silikozis, uzun süreli steroid kullanımı ve kanser gibi durumlarda artmaktadır (1). Şekil-1’de tüberküloz patogenezi görülmektedir (7).

Tüberkülozun Histopatolojisi

M. tuberculosis, kazeifiye ve nonkazeifiye tüberküller ile karakterli, granülomatöz inflamasyona yol açar. Tüberküller tek tek mikroskopik boyuttadır. Çok sayıda granülom birleşerek makroskopik lezyon oluşturabilir. Granülomlar lenfosit içeren fibroblast tabakası ile çevrelenmiştir. Daha içte epiteloid, multinükleer dev hücreler vardır. Organizmaya karşı hücre aracılı immunite oluştuğunda, santral kazeifikasyon nekrozu gelişir. İmmun süprese kişilerde granülomatöz bir yanıt izlenemeyebilir. Basil içeren, tabakalar halinde köpüksü histiyositler görülür. Bu tablo ‘‘nonreaktif tüberküloz ‘’ olarak bilinir (8).



Şekil-1: Basil inhalasyonu sonrası kronolojik olaylar.

Tüberkülin Deri Testi

PPD (Purified Protein Derivative), bir protein presipitatıdır ve sentetik ortamda kültüre edilen basilin ısı ile öldürülüp filtre edilmesi ile elde olunur. Elde edilen protein presipitatlarına "tüberkülinler" denir. Tüberkülinler, 10.000 Da molekül ağırlığındaki proteinlerdir. Ayrıca bazı polisakkarit ve lipidler de solüsyonda bulunur. İlk PPD Seibert ve Gleen tarafından 1939 yılında

üretilmiştir. PPD- S adıyla bilinmektedir. Solüsyonun 5 tüberkülin ünitesi eşdeğeri olan 0.1 ml'si, ön kolun volar yüzüne, 26- 27 gauge iğnelerle intradermal olarak uygulanır (Mantoux metodu). Test sonucu, enjeksiyonun 2 ya da 3. gününde okunmalıdır. Endürasyon çapı, ön kolun uzun aksına transvers olarak ölçülür ve milimetre cinsinden kaydedilir (9). Tablo-1'de tüberkülin testinin değerlendirme kriterleri gösterilmiştir (10, 11).

Tablo-1: Tüberkülin cilt testi değerlendirme kriterleri.

BCG'lilerde	
0-5 mm	Negatif kabul edilir.
6-14 mm	BCG'ye atfedilir.
15 mm ve üzeri	Pozitif kabul edilir, enfeksiyon olarak değerlendirilir.
BCG aşısı olmayanlarda	
0-5 mm	Negatif kabul edilir
6-9 mm	Şüpheli kabul edilir. 1 hafta sonra test tekrarlanır. Yine 6-9 mm bulunursa negatif, 10 mm ve üzeri bulunursa pozitif kabul edilmelidir.
10 mm ve üzeri	Pozitif kabul edilir
Bağışıklığı baskılanmış kişilerde 5 mm ve üzeri pozitif kabul edilir.	

Bakteriyolojik Tanı

Tüberkülozun kesin tanısı için direkt ya da boyalı preparatta AARB aranması ya da kültürde üreme görülmesi esastır. Balgam, indükte balgam, idrar, bronşiyal lavaj, plevral/peritoneal/perikardiyal /serebrospinal sıvı ve doku örnekleri bakteriyolojik tanı için uygundur. Tüberküloz kuşkulu hastalardan alınan biyopsi örnekleri bakteriyolojik ve patolojik inceleme için gönderilmelidir. Nekrotizan granülomatöz enflamasyon tüberküloza işaret etmekle birlikte; yabancı cisim, ilaçlar, fungal ve non-mikobakteriyel enfeksiyonlar da benzer bir histolojik lezyona neden olabilir. Plevral doku örneklerinde granülom varlığı hemen her zaman tüberküloz lehinedir (9).

İnceleme öncesi materyallerin ‘’teksif’’ olarak da bilinen dekontaminasyon ve konsantrasyon işlemine tabi tutulması, incelenen materyalde mikobakteri saptanmasını kolaylaştırır. Özellikle balgam gibi klinik örnekler, mikobakteri dışında pek çok mikroorganizma içerir. Sodyum hidroksit ile işleme alınan örneklerde, alkali pH'ya dayanıklı mikobakteriler canlı kalırken diğer mikroorganizmalar ölür. N-asetil-L-sistein ise, mukus proteinlerindeki disülfit bağlarını indirgeyerek kırar ve balgamın sıvılaşmasını sağlar. Santrifüj ile bakteriler çöktürülür. Direkt olarak ya da teksif işlemi sonrası yaymalar Ziehl-Neelsen veya florokrom teknikle boyanıp incelenebilir. Pulmoner tüberkülozlu olguların % 50-80'inde basil saptanabilmektedir (9).

Tüberküloz tanısında kültür, mikroskopik incelemeden çok daha sensitiftir. Kültürün bir diğer avantajı antibiyogram yapılmasına olanak sağlamasıdır. Ancak kültürün önemli bir dezavantajı zaman sorunudur. Standart kültür için 6-8 haftaya gereksinim vardır. (9).

Tüberküloz Tanısında Yeni Yöntemler

Tüberküloz tanısında başlıca gelişmelerden biri, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi çeşitli nükleik asit amplifikasyon tekniklerdir. Ticari kitleri onaylanan nükleik asit amplifikasyon teknikleri, yayma pozitif solunum yolu örneklerinde yüksek duyarlılık ve özgüllük gösterir. Yayma negatif olan örneklerde duyarlılık ve özgüllükleri düşük bulunduğundan tanının ekarte edilmesinde kullanılamazlar (12). Real-time PCR metodları, amplifiye edilen nükleik asitlerin, araştırılan DNA bölgelerini kateden floresan işaretli problar ile hibridizasyonu ve termal cyclerlar içinde monitörize edilmesi esasına dayanır. Pek çok çalışmada elde edilen duyarlılık ve özgüllük değerlerinin heterojen olması nedeniyle nükleik asit amplifikasyon yöntemlerinin klinikteki yararına ilişkin tahminlerin yapılması çok güçtür (12). Yakın zamanlarda, hızlı üremenin saptanması metoduna dayanan teknikler de geliştirilmiştir. MTb'nin enfekte edici bir mikobakteriyofajın üremesini desteklemesi esasına dayanan Fastplaque tüberküloz testi ve mikobakteri üremesinin floresans ile saptanmasına dayanan Mikobakteri Büyüme İndikatörü Tüpü (MGIT) kullanılması kültüre göre daha hızlı sonuç vermektedir.

Latent tüberküloz enfeksiyonu tanısında kullanılan tüberkülin deri testinin pek çok dezavantajı vardır. BCG aşılaması, non-tüberküloz mikobakteri infeksiyonları, Booster etkisi, küçük venüllerin rüptürü, sekonder infeksiyonlar, eritemin ölçülmesi gibi hatalı yorumlamalar ve yeni kan transfüzyonları yalancı pozitifliklere yol açar. Sistemik viral/bakteriyel/fungal infeksiyonlar, kronik böbrek yetmezliği ve hipoproteinemi gibi metabolik bozukluklar, lenfoma ve sarkoidoz gibi hastalıklar yanlış negatiflik nedenidir. Kortikosteroid ya da immünsupresif ilaç kullanımı, yenidoğan veya 45 yaş üzeri yaşta olmak, stres (cerrahi, yanıklar), kullanılan tüberküline ait faktörler, uygulama yöntemine ilişkin faktörler, okuma ile ilgili hatalar, canlı viral aşılar yalancı negatifliğe neden olabilecek diğer faktörlerdir.

1990'lı yılların sonuna doğru mikobakteri genomu yapısına yönelik çalışmalardaki ilerlemeler sayesinde; BCG aşısı suşlarında ve NTM'lerin çoğunda (*Mycobacterium kansasii, M. marinum ve M. szulgai* dışında) olmayan; *M. tuberculosis* genomuna özgü, farklılık bölgesi-1 (Region of Difference-1) tanımlanmıştır. Bu DNA bölgesinde iki protein kodlanmaktadır: "Early Secretory Antigenic Target-6" (ESAT-6) ve "Culture Filtrate Protein-10" (CFP-10). Bu proteinler, *M. tuberculosis* infeksiyonuna sahip kişilerde T helper tip 1 hücrelerinin güçlü hedefidir. Bu antijenlere karşı IFN-γ salgılanması ile sonuçlanan T hücre yanıtının, *M. tuberculosis* infeksiyonu için spesifik belirteç olabileceği düşünülmüştür ve son yıllarda antijen spesifik T hücre yanıtını ölçen iki test kullanıma girmiştir. İnterferon gamma testlerinin, tüberkülin cilt testine göre önemli avantajları vardır. Testlerde yalancı negatif ve pozitiflikler nadir saptanır. BCG ile aşılı olmanın test sonucuna etkisi yoktur. Ayrıca ikinci bir vizite gerek kalmamaktadır (13).

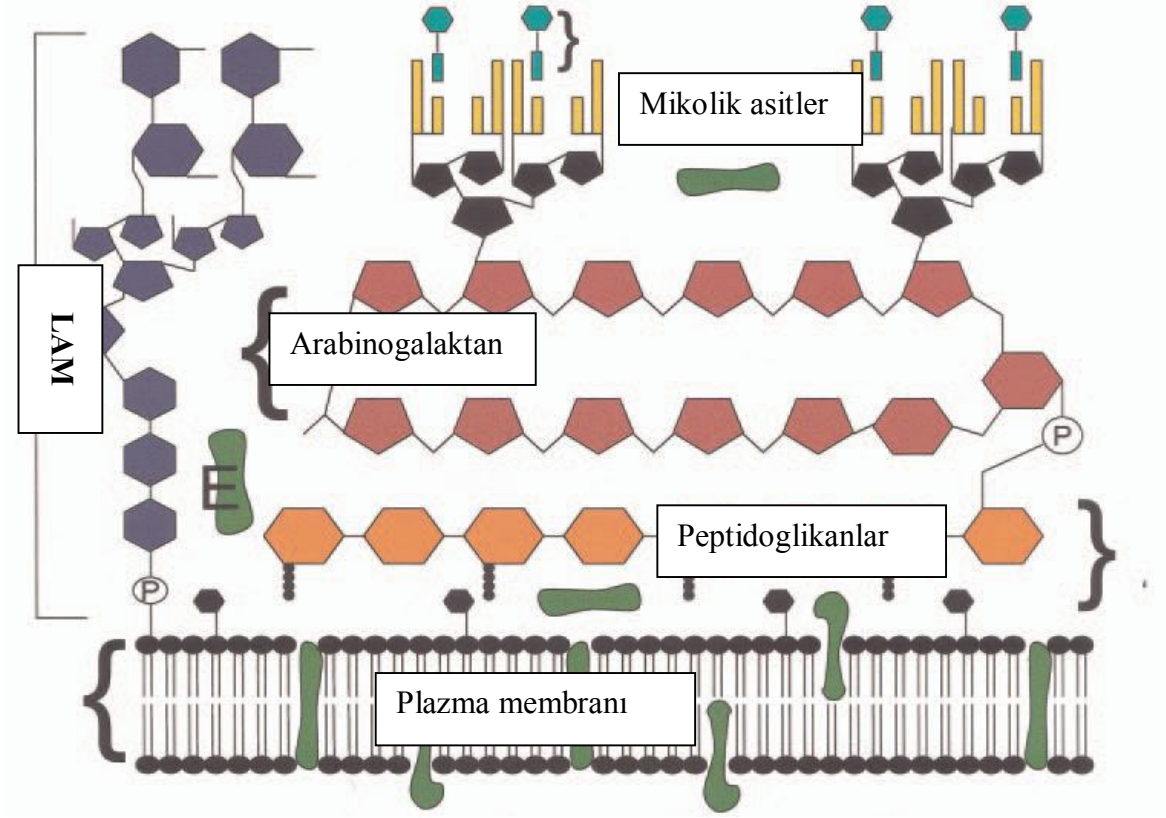
Doğal İmmunite ve *Mycobacterium Tuberculosis*

Tüberküloz basilinin in vivo, toksik ya da zedeleyici ürünler çıkardığı saptanmamıştır. Tüberküloz hastalığının hasar yapıcı etkileri, büyük ölçüde konak immun sisteminin basile karşı yaptığı savunma amaçlı yanıtlar tarafından oluşturulmaktadır.

M. tuberculosis ’in en önemli virülans faktörü, konak makrofajları içerisinde çoğalabilmesini sağlayan ve konağın bakterisidal mekanizmalarına karşı bariyer görevi yapan, aynı zamanda konak immun yanıtını yönlendiren hücre duvarıdır. MTb hücre duvarı oldukça kompleks bir yapı olup başlıca 2 kısımdan oluşmaktadır. Birinci kısımda sitoplazmik membran üzerinde yer alan peptidoglikan, ona kovalent bağlarla bağlanmış arabinogalaktan ve arabinogalaktana ester bağları ile bağlanmış mikolik asit bulunmaktadır. İkinci kısımda ise serbest lipid fraksiyonları phthiocerol dimycoceroseta, fenolik glikolipidler, lipoarabinomannan, trehaloz taşıyan glikolipidler ve sülfolipidler bulunmaktadır (6). M. tuberculosis hücre duvarının şematik sunumu Şekil-2’dedir (14).

Kemotaksis

M. tuberculosis hücre duvar lipidleri, nötrofil ve monosit migrasyonunda etkilidir. Genel olarak 3 tipte olan lipoarabinomannan (LAM)’dan arabinan sonlanımlarında mannozilasyon yokluğuyla karakterli AraLAM, makrofaj ve periferik kan monosit kemotaksisini indükler (15). Arabinogalaktana kovalent bağlı mikolik asitler ve özellikle kord faktör olarak da bilinen trehalose-6,6’-dimycolate (TDM), monosit, makrofaj ve nötrofiller için kemotaktik etkinlik gösterir (14, 16).



Şekil-2: *M. tuberculosis*'in hücre duvar yapısının şematik gösterimi. LAM: ManLAM – Mannose-capped lipoarabinomannan. E: Plazma membran ve hücre zarfı ilişkili proteinler (14).

Fagositozis

Tüberküloz ile ilişkili hücrelerden en önemlisi, periferik kan monositlerinden kaynaklanan makrofajlardır. Basiller ilk önce alveoler makrofajlar tarafından tutulur. Basilin makrofaj ile etkileşimi; Fc reseptörleri, kompleman reseptörleri, mannoz reseptörleri, surfaktan proteini, CD14 ve CD43 gibi hücresel reseptörler aracılığıyla olmaktadır. Makrofaj yanıtı bakterinin etkileştiği reseptör türüne bağlıdır. Fc reseptörleri ile etkileşim, reaktif oksijen radikallerinin oluşumu ve fagozom-lizozom füzyonunu arttırırken, kompleman reseptörü 3 (CR3) ile etkileşim respiratuvar patlamayı ve fagolizozom oluşumunu önler (17). Opsonize olmamış basiller CR3 ve CR4'e direkt bağlanabilir. Ancak; mikobakterilerde terminal mannoz rezidülerini tanıyan mannoz reseptörler (MR) opsonize olmamış basiller için en iyi reseptördür. Bu reseptörler dışında makrofajlar, tip A scavenger reseptörler ile de basili alabilir (6). Basilin makrofajlar tarafından tutulması,

organizmada yayılım için elverişlidir. Polimorf nüveli lökositler tarafından eliminasyon böylece engellenebilir. Basil, makrofajlar tarafından fagosite edilmek için bir takım özel mekanizmalar geliştirmiş olabilir. Avirülan mikobakteri AraLAM'ı, makrofaj proinflamatuvar yanıtı açısından ManLAM'a göre daha etkili bulunmuştur (18). AraLAM, tümör nekrozis faktör-alfa (TNFα) için potent bir indükleyicidir (19). Alveollerde aktive olmamış alveoler makrofajlar tarafından tutulan basiller, toll-like reseptörler (TLR) ile tanınarak hücreye girer. TLR, makrofaj ve dendritik hücrelerde bulunan transmembran proteinlerdir. Hücre dışı domainlerinde tekrarlayan lösince zengin motifler vardır. TLR sitoplazmik domaini IL-1 reseptör domaini ile homologdur ve IL-1 receptor associated kinase(IRAK)'a bağlanır. IRAK, nükleer faktör–κB gibi transkripsiyon faktörlerini sitokin üretimi için aktive eden bir serin kinazdır. Tüm TLR, myeloid differantiation protein 88 (My D 88) aracılığıyla IRAK'a bağlanır. TLR uyarısı ile özellikle lenfosit aktivasyonunda görev alan en önemli sitokin IL-12 üretimi gerçekleşir (6). TLR- bağımlı makrofaj IL-12 üretiminin ManLAM ile yetersiz indüksiyonu, M. tuberculosis'in konak immun yanıtından kaçmasındaki en önemli stratejisi olabilir.

Mononükleer fagositlerde ManLAM, TNF-alfa ve IL-2 ekspresyonunu azaltırken, makrofaj aktivasyonunu önleyen bir tirozin fosfatazın ekspresyonunu arttırır (20). Ek olarak ManLAM, interferon-gama aracılı makrofaj aktivasyonunu inhibe ederek ya da makrofaj tümör growth faktör-beta üretimini indükleyerek etkili olmayan Th2 tipte immun yanıta yol açar (21).

Trehalose-6,6'-dimycolate (Kord faktör) makrofaj aktivasyonu ve intrasellüler patojenlere non-spesifik dirençte rol alır. Th1 tipte yanıtın başlaması ve makrofaj aktivasyonunda kord faktörün rolünü destekleyen çalışmalar mevcuttur. Ancak; in-vitro fagozom-lizozom füzyonunu inhibe ettiğini destekleyen çalışmalar da vardır (22, 23).

M. tuberculosis 19 kDA lipoprotein, makrofajdan IL-12 salınımının en büyük indükleyicisidir. Böylece, indüklenebilir NO sentaz transkripsiyonu ve nitrik oksit üretimi artar (24). Bu yolak, toll-like receptor 2 (TLR-2) ilişkili mekanizma ile düzenlenir. 19 kDA lipoprotein, MTb ilişkili monosit ve

makrofaj apoptozisinde anahtar bir moleküldür (25). Makrofaj apoptozisinin artmış mikobakteriyel sağkalımla ilişkili olduğunu destekleyen deliller vardır. Ancak Keane ve ark. (26), alveoler makrofaj apoptozisinde artışı, azalmış basil sağkalımıyla ilişkilendirmiştir.

Tüberküloz Risk Faktörleri ve *NRAMP-1*

M. tuberculosis'e karşı konak immun yanıtında iyi anlaşılamamış bir takım sorular vardır. MTb ile enfekte kişilerin yaklaşık %10'unda aktif hastalık gelişmektedir. Direnç ya da duyarlılık ile ilişkili immun yanıtlar bilinmemektedir. Neden bazı kişilerde hastalık santral sinir sistemi ve meninksleri tutacak kadar yayılım göstermekteyken, pek çok kişide akciğerlerde sınırlı kalmaktadır? Ayrıca; BCG aşısının geniş bir yelpazede farklı etkinlik gösterme nedeni de bilinmemektedir (27, 28).

Çevresel Risk Faktörleri

Batı Afrika'dan bir vaka-kontrol çalışmasında smear-pozitif olgular, eviçi temaslılar ve toplumdan bireylerle karşılaştırılarak araştırılmıştır. Tüberküloz duyarlılığı erkek cinsiyet (odds ratio (OR) 1.43), HIV enfeksiyonu (OR 2.07), sigara içme (bırakmışlarda OR 1.53; halen içenlerde OR 2.03), astım (OR 0.28), yalnız/dul yaşama (OR1.48-1.67), ailede tüberküloz öyküsü (OR 3.24), ev halkı nüfusu (>10 erişkin için OR 2.80) ve evsiz olma (OR 1.42) ile ilişkili bulunmuştur (29).

Bir başka çalışmada, tüberküloz olgularının eviçi temaslılarında belirlenen başlıca risk faktörleri; HIV enfeksiyonu (OR 4.03), 5 yaşından küçük olma (OR 6.88), BCG ile aşılanmış olma (OR 0.51), index olguyla günde 18 saati aşan temas (OR2.39), ev tipi (OR 2.80) ve indeks olgunun kaviter hastalığı (OR 1.97)'dır (30).

Webb ve ark.'nın (31) 0-21 yaş Tip 1 diyabeti olan çocuk ve adolesanlarda yaptıkları çalışmada tüberküloz prevalansı, 14 yaşından küçük non-diyabetik populasyonla kıyaslandığında 7 kat daha yüksek bulunmuştur. Timor, Rote Islands ve Indonesia'dan yakın tarihli bir çalışmada; tüberküloz hastalarının ortalama body mass index (BMI)'leri kontrollerle kıyaslandığında anlamlı düşük bulunmuştur. BMI (OR 0.5, %95 CI 0.4-0.6), ailede tüberküloz

öyküsü (OR 3.2, %95 CI 1.6-6.4), kalabalık aile bireyi olmak (OR 2.7, %95 CI 1.5-4.8) ve işsiz olmak (OR 3.8, %95 CI 1.7-8.6) tüberküloz ile ilişkili risk faktörleri olarak belirlenmiştir (32).

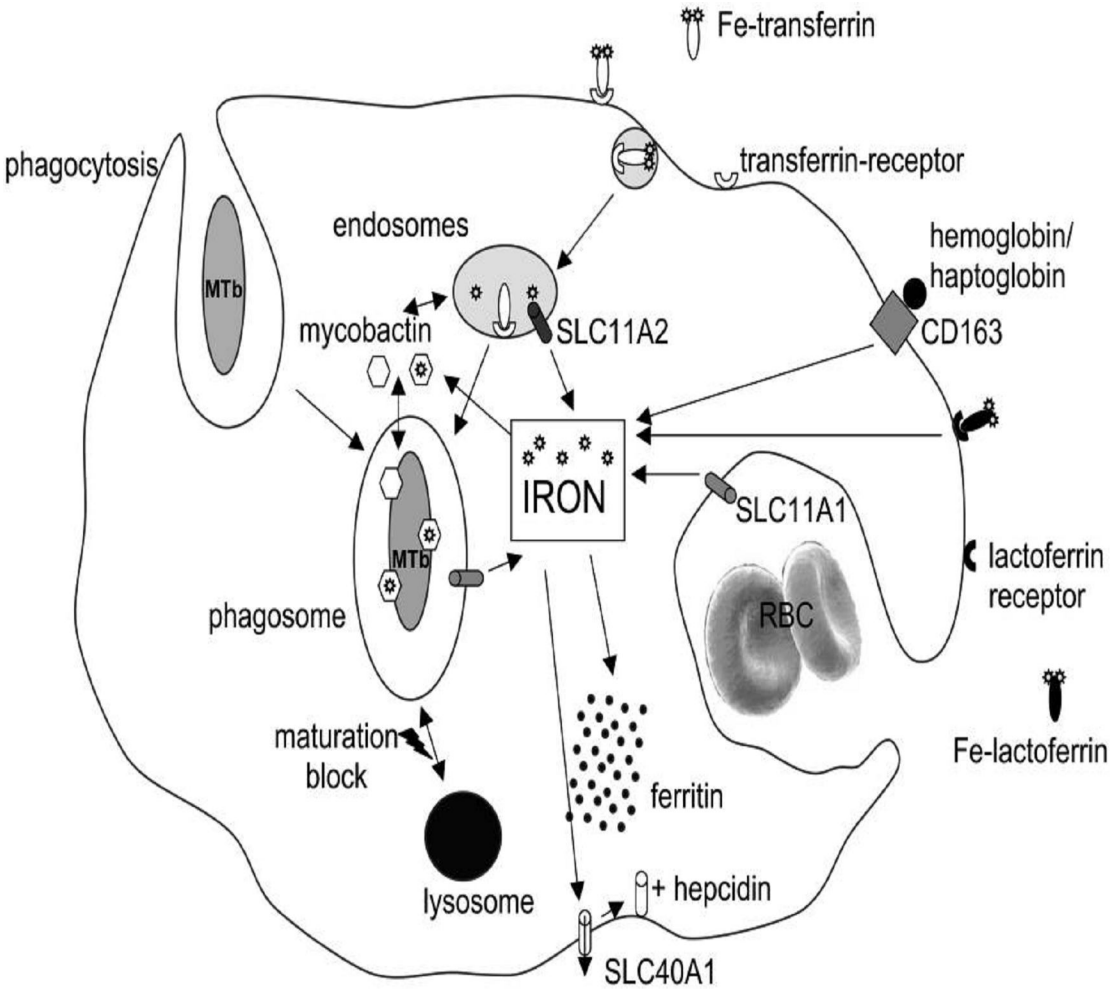
Pulmoner tüberkülozlu olguların eviçi temaslılarında yapılan bir diğer çalışmada, temaslılardaki tüberküloz frekansı; yaş, cinsiyet, indeks olguya yakınlık derecesi, AARB pozitifliği ya da indeks olgudaki tüberkülozun radyolojik derecesi ile ilişkili bulunmamıştır. Ancak, indeks olguda kavite varlığı (%7.4'e %2.6, $p<0.05$) önemli bir risk faktörü olarak belirlenmiştir (33).

Tütün kullanımı bir diğer çalışmada önemli bir risk faktörü olarak belirlenmiştir. Sigara kullanan veya daha önce kullanmış olanlarda tüberküloz riski, hiç kullanmamış olanlara göre %30-50 daha yüksek bulunmuştur (34). Tüberküloz ve sigara içimi arasındaki ilişkiyi irdeleyen çalışmalarda bronkoalveoler makrofajların demir ile yüklendiği (içmeyenlere göre 5-7 kat daha fazla), bunun da MTb çoğalmasını kolaylaştırdığı ortaya konulmuştur (35).

Makrofaj demir dengesi hücre içi ajan patojenler için kritik önem taşımaktadır (36). İndirgenmiş hem bileşikler ve yaşlanmış eritrositler makrofajlarca parçalanırken, makrofaj sitozolünde demir (Fe) birikir. RES makrofajlarındaki Fe, eritroid seri öncülerine taşınmak üzere plazma transferrinine bağlanır. Makrofajdan demir atılımı, SLC40A1'de denilen ve hepsidin için bir reseptör olan ferroportin I aracılığıyla gerçekleşir. Hepsidin, karaciğer tarafından Fe fazlalığı ya da enflamasyona yanıt olarak salgılanan bir peptiddir. Hepsidin-Ferroportin I kompleksi lizozom içine alınarak degrade edilir (Şekil-3).

Böylece Fe, enterosit ve makrofajlarda tutulur. Eritrofagositoz ve ferroportin I aracılığıyla demir atılımı makrofajdaki temel Fe taşınma yoludur. İnflamasyon makrofaj demir birikimini indükler. İnflamasyonda monositler; artmış ferritin ve üriner hepsidin düzeylerinin yansıttığı şekilde; düşük ferroportin I exprese eder (37). *M. tuberculosis*, fagozom-lizozom füzyonunu açık olmayan bir mekanizma ile önler. Fagosom içinde düşük demir düzeyi sağlayacak ve endozom asidifikasyonunu önleyecek mekanizmalar geliştirmiştir. Fe sınırlandırılması, en azından 35 adet *M. tuberculosis* geni ile

indüklenir. *M. tuberculosis* sideroforları, yani mycobactinler özelleşmiş yapılardır. 2 tipi tanımlanmıştır: Hidrofilik mycobactin T ve lipofilik-*M. tuberculosis* hücre duvarı ilişkili mycobactin T. Örneğin; mbtB geni silinmiş *M. tuberculosis* suşları mycobactin sentezleyemez. İntrafagozomal demir aşırımı bozulur ve bu suşların makrofaj benzeri THP-1 hücrelerde gelişimi gecikir (38).



Şekil-3: MTb ile enfekte makrofaj ve makrofaj demir metabolizması. Serum hepcidin düzeyi düşük ya da normal olduğunda demir, hücre dışına SLC40A1(ferroportin 1) aracılığıyla atılır. Demir fazlalığı ya da enflamasyon halinde serum hepcidin düzeyleri yükselir. Hepcidin ferroportin 1'e bağlanır. Ferroportin 1-Hepcidin kompleksi hücre içine alınır. Böylece demir atılımı inhibe olur. *M. tuberculosis* sitozolik demir kaynaklarından ya da erken endozomla etkileşen transferin-transferrin reseptör kompleksinden demir aşırmaktadır. Burada mycobactin'lerden yapılmış siderophore sistem rol oynamaktadır (36).

İnsan Genetiği ve Tüberküloza Duyarlılık

Tüberküloza genetik yatkınlığı destekleyen bulgular başlıca dört koldan incelenebilir (2). Birincisi; ikiz çalışmalarında, monozigot ikizlerde tüberküloz hızının dizigotik ikizlerdekinden daha yüksek olduğu (31.4'e karşı 14.9) gösterilmiştir (40). İkincisi, tüberküloza duyarlılıkla sonuçlanan primer immun yetmezlik hastalıkları (ağır kombine immun yetmezlik, hiperimmunglobulin E sendromu, kronik granülomatöz hastalık, immun yetmezlik-anhidrotik ektodermal displazi, hiperimmunglobulin M sendromu, mikobakteriyal hastalıklara Mendelian duyarlılık) önemli bir kanıt teşkil etmektedir. Üçüncü tip kanıt, 2q35, 8q12-13, 17q11.2, 15q ve Xq gibi kompleks kalıtılan allel çalışmalarıdır (41-44). Yatkınlıkla ilişkili dördüncü kanıt, aday genler ile yapılan çalışmalardan gelmektedir. Bu çalışmalarda olası sık polimorfizmler üzerinde durulmuştur. Tablo-2'de araştırılan genler ve varyantlardan, tüberkülozla ilişkisi olanlar özetlenmiştir (2).

Tablo-2: Gen ilişki çalışmaları ve tüberküloza duyarlılık (2).

Gen	Değişken	Tüberkülozda geçerlilik	Yorum
Bağlanma, reseptörler ve sinyal			
MBL	B, C, D allel ve promoter	Değişken	Heterojen sonuçlar
P2XA7	A1513C (E469A)	Evet	ATP-induced makrofaj fonksiyonunda değişiklik
TIRAP/MAL	C539T (S180L)	Evet	
Sitokin/Kemokinler			
IFN-γ	+ 874A	Evet	Umutlandırıcı sonuçlar
IFN-γR1	T-56C	Evet	
IL-12-Rβ1	Q214R, G378R, M365T	Değişken	
IL-10	A-1082G,A-592C	Değişken	
CCL2	A-2518G	Evet	IL-12 etkilenir
TNF-α	G-308A, G-238A	Değişken	
TNFR1	Multipl	Evet	
Diğer			
HLA			Pek çok çalışmada ilişki gösterilmiştir
VDR	Fok1,Bsm1,Apa1,Taq1		Heterojen sonuçlar
NRAMP1	3'UTR, D543 N, INT4, 5'(GT)n	Evet	15 çalışmayla iyi dökümante edilmiş ilişki. Fonksiyonel bilgi net değil.
Ube3a	Multipl	Evet	
SP110	2 değişken	Evet	

İnbred fare suşlarında, pek çok intrasellüler patojen infeksiyonuna doğal direnç, *Bcg, lsh ve ıty* olarak adlandırılmış genler ile kontrol edilir (45-47). Lsh ve ıty, fare kromozom 1'de aynı pozisyona haritalandırılmıştır (48). İzleyen süreçte her üç genin, aynı gene karşılık geldiği belirlenmiştir. Bcg^s ve Bcg^r fenotipleri, *M. avium complex, M. lepraemurium, Leishmania donovani* ve *Salmonella typhimurium* enfeksiyonu erken aşamalarında, enfeksiyona

duyarlılık (Bcg^s) ve dirençten (Bcg^r) sorumlu tutulmuştur. In vivo duyarlı suşlardan izole edilen makrofajlar, mycobacteria, salmonella ve leishmania çoğalmasını sınırlamada yetersiz kalmaktaydı (49, 50). *Bcg*, enfeksiyonun sadece inisiyal fazında rol alan bir genetik regülasyondu. Enfeksiyona spesifik immun yanıtı etkilemiyordu. Spesifik immun yanıt gelişmeden önce, duyarlı farelerde virulan salmonella suşları ile fulminan ve fatal bir enfeksiyon gelişiyordu (50). Schurr ve ark. (51) linkage analizle, Bcg geni insan homoloğunun 2 kromozom uzun kolunda lokalize olduğunu belirledi. Aday gen, pozisyonel klonlama ile izole edilmiş ve *NRAMP1*(natural resistance associated macrophage protein1) olarak isimlendirilmiştir (52). Genin kromozom 2q35'te, 15 exonu içeren 12 kb genişlikte olduğu ortaya konulmuştur (53, 54). *NRAMP1*, 90-110 kiloDalton ağırlıkta, on iki adet transmembran bölgesi olan ve iki adet N-linked glikozilasyon bölgesinden oluşan 550 aminoasitlik bir polipeptidi kodlar. Protein, *NRAMP1* geni ile % 85 identiktir (53, 54).

Vidal ve ark. (41) *Aspergillus nidulans*'ta nitrit/nitrat taşıyıcısı CrnA'nın *NRAMP1* ile yapısal olarak benzerlik gösterdiğini bildirdi. *NRAMP1*'in, bu nitrit/nitrat taşıyıcısı gibi basit nitrojen bileşiklerinin taşınmasında rol aldığı ileri sürülmüştür. Alternatif olarak *NRAMP1*, nitrik oksit (NO) sentezinin substratı L-arginin transportuna da aracılık edebilir (55). BCG, lipopolisakkarit ve interferon gama ile uyarılan Bcg^r fareden izole edilen makrofajlar, Bcg^s kökenli makrofajlardan daha fazla NO sentezlemektedir (56). Hackam ve ark. (57) *M. bovis* içeren $Nramp1^{+/+}$ fare fagozomunun $Nramp1^{-/-}$ mutant fare makrofajlarından daha asidik olduğunu göstermiştir. Bu bulgu, *NRAMP1*'in intrasellüler patojen replikasyonunu intrafagozomal pH'ı değiştirerek etkilediğini destekler.

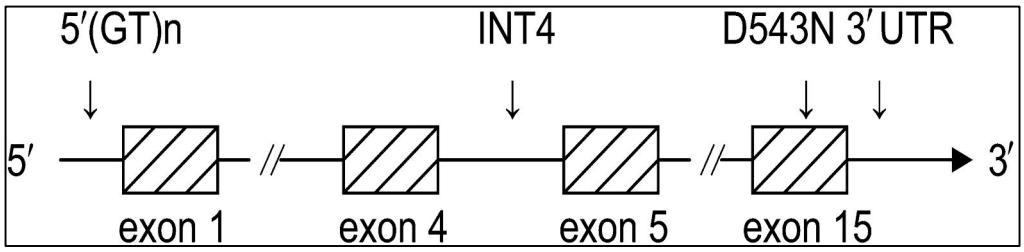
NRAMP2, *NRAMP1* ile benzer yapısal özelliklere sahip (%77 homolog) bir proteindir. *Xenopus oocytes* ile elektrofizyolojik çalışmalar; NRAMP2'nin divalan katyon taşıyıcısı (Fe^{2+}, Zn^{2+}, Mn^{2+}, Cd^{2+} ve diğer bazı katyonlar) olduğunu göstermiştir. NRAMP2 aracılı transport pH bağımlıdır (58). NRAMP2 lokus mutasyonu olan farelerde mikrositozla karakterli ağır bir anemi izlenmesi, NRAMP2'nin barsakta major transferin bağımsız demir

uptake sistemi olduğunu düşündürmüştür (36, 59). NRAMP ailesi ile ilgili çalışmalar, *NRAMP1*'in fagozom ve/veya lizozom membranlarında divalan katyon taşıyıcısı olarak rol aldığını güçlü bir şekilde desteklemektedir.

Özetle *NRAMP1* (yeni adıyla solute carrier family 11, member1-*SLC11A1*) makrofaj lizozom, fagozom ve geç endozom membranlarında eksprese edilir. İntrasellüler patojenlere karşı doğal immunitenin erken aşamasında kritik rol üstlenir. Pleiotropik özelliklere sahiptir. Reaktif oksijen ve nitrojen ara ürünleri ile TNF-alfa ve IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımı, indüklenebilir nitrik oksit sentazın ekspresyonu ve major histocompatibility complex (MHC) class II moleküllerinin up-regülasyonunda görev alır (60). *NRAMP1*, başta demir olmak üzere divalan katyonları fagozomal memrana taşır. Bakteri içeren fagozom içine Fe akımı, reaktif oksijen radikal ürünlerinin oluşumuyla bakteri ölümüne yol açar (39, 61). *NRAMP1*; başta mikobakteri çoğalması için gerekli olan bir nutrient olan demir olmak üzere; sitoplazmik katyon düzeylerini regüle ederek tüberküloza doğal dirençte rol oynar.

NRAMP1 geninde değişiklikler, *NRAMP1* fonksiyonlarını etkilemektedir. Başlıca 4 tip polimorfizminin tüberküloza duyarlılık ile ilişkili olduğu üzerinde durulmaktadır (Şekil 4).

1. D543N: Kodon 543'de, proteinin sitoplazmik uzantısında negatif yüklü aspartik asidin yüksüz asparajin ile yer değiştirmesi ile sonuçlanan nonkonservatif tek baz değişikliği.
2. INT4: Dördüncü intronda tek nükleotid değişikliği (469+14G/C).
3. 3'UTR: Exon 15 son kodonunun 55 nükleotid gerisinde, TGTG'den oluşan 4 bazlık delesyon (1729+55 del4).
4. 5'$(GT)_n$: 5'(CA)n dinükleotid mikrosatellitleri fonksiyonel bir kompleks tekrardır. Promoter bölgede z-DNA formunu kodlayan alleller *NRAMP1* ekspresyonunu etkilemektedir.



Şekil-4: *NRAMP1* polimorfizmleri (62).

***NRAMP1* polimorfizmleri tüberkülozla ilişkili mi?**

NRAMP1 polimorfizmlerini tüberküloza duyarlılıkla ilişkilendiren ilk çalışmalardan biri, Bellamy ve ark. (50) tarafından yayınlanmıştır. Gambia'dan yayma pozitif 410 erişkin tüberküloz olgusunda 3'UTR, INT4, D543N ve 5'$(CA)_n$ polimorfizmlerinin, aynı etnik kökenden 417 sağlıklı kontrole göre daha fazla görüldüğü (sırasıyla; $p<0.001$, $p=0.009$, $p=0.008$, $p=0.03$) raporlanmıştır.

Slc11a1 (solute carrier family 11 member 1, önceden bilindiği gibi natural resistance-associated macrophage protein 1) promoter bölgesinde allel 2 varlığı ile tüberküloza duyarlılık arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır (63). Allel 2 frekansı, 329 tüberküloz olgusuna karşılık 324 kontrolün alındığı bu çalışmada, hasta grupta daha yüksek izlenmiştir (0.184'e 0.137, $p=0.024$). Allel 3 ise, hasta grupta daha az sıklıkta izlenmiştir ve tüberküloza dirençle ilişkilendirilmiştir ($p= 0.0068$).

Güney Afrika'dan, 224 pulmoner tüberküloz hastasının alındığı bir diğer çalışmada Hoal ve ark. (64), TGTG delesyon homozigotluğunun (1729155del4-3'UTR) tüberküloz hastaları arasında daha sık görüldüğünü raporlamıştır ($p=0.013$; OR 5.19; % 95 CI; 1.42-18.94).

Polymerase chain reaction (PCR) ve restriction fragment length polymorphism (RFLP) teknikleri kullanılarak, *NRAMP1* polimorfizmlerinin (INT4, D543N ve 3'UTR) araştırıldığı Çinli Han popülasyonunda, D543N G/A ve 3'UTR TGTG+/del genotipleri tüberküloz olgularında daha sık izlenmiştir (Sırasıyla; OR 2.22 %95 CI (1.03-4.78) ve 1.93 % 95 CI (1.14-3.26)). INT4 polimorfizmleri ile tüberküloz arasında anlamlı bir ilişki ortaya konulamamıştır (65).

Plevral biyopsi ile ispatlanmış 56 tüberküloz plörezi olgusu *NRAMP1* polimorfizmleri açısından araştırılmıştır. Kim ve ark.'nın (66) çalışmasında, intron 4'de tek baz değişikliği (469 +14G/C, INT4) ve 3' untranslated bölgede TGTG delesyonu (1729+55del4, 3'UTR) plörezi grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p= 0.01 ve p= 0.02). Ancak; D543N sıklığı açısından, iki grup arasında anlamlı bir fark gösterilememiştir.

Ryu ve ark. (67) Kore'den 192 tüberküloz olgusunda, 3'UTR polimorfizmini tüberküloza duyarlı olmayla ilişkilendirmiştir (OR 1.845; %95 CI 1.097-3.104; p=0.020).

Yaş, etnisite, eğitim durumu gibi sosyodemografik ve sigara içimi, medikal öykü gibi faktörlerin de bir anketle değerlendirildiği çalışmada, 120 pulmoner tüberküloz olgusunda vitamin D reseptörü ve *NRAMP1* polimorfizmleri araştırılmıştır. Demografik özellikler açısından kontrol grubuyla aynı özellikler gösteren olgularda, temaslı olma ve BCG immunizasyon durumuna göre düzeltilmiş istatistiksel analizde, D543N ve 3'UTR polimorfizmlerinin tüberküloza duyarlılıkla ilişkili olduğu belirlenmiştir (p=0.036, OR 2.415, %95 CI 1.079-8.759; ve p=0.018, OR 2.187, %95 CI 1.146-4.175). Diğer yandan; 3'UTR TGTG del/del homozigotluğu ve INT4 polimorfizmi ile tüberküloz arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır (68).

En azından bir ferdin pulmoner tüberkülozdan etkilenmiş olduğu aile bazlı linkage analiz çalışmasında, *NRAMP1* polimorfizmleri tüberküloza yatkın olmakla ilişkili bulunmamıştır (69).

NRAMP1 polimorfizmlerinin romatoid artrite ve tüberküloza duyarlılıkla ilişkisini araştıran Ateş ve ark. (70); 30'u ekstrapulmoner tüberküloz olmak üzere 128 tüberküloz olgusunun alındığı çalışmada; NRAMP1 polimorfizmleri (5'promoter $(GT)_n$, INT4, 3'UTR, D543N) ile tüberküloz arasında anlamlı bir ilişki olmadığını rapor etmiştir.

Cervino ve ark.'nın (71) çalışmasında, 44 ailede tüberküloz ile *NRAMP1* arasındaki ilişki araştırılmıştır. INT4 tek baz değişikliği tüberküloza duyarlılıkla ilişkili bulunmuştur (p=0.036). Öte yandan, 3'UTR ve 5'$(GT)_n$ polimorfizmleri tüberkülozla ilişkili değildir.

Mexico'dan 94 tüberküloz olgusu, 100 sağlıklı temaslıyla *NRAMP1* polimorfizmleri açısından araştırılmıştır (72). D543N ve 3'UTR polimorfizmlerinin dağılımı tüberküloz ve kontrol grubunda benzer bulunmuştur.

Zhang ve ark.'nın (73) çalışmasında, 127 aktif pulmoner tüberküloz olgusunda, INT4 ve D543N polimorfizmleri tüberküloza duyarlılıkla ilişkili bulunmamıştır. Ancak, yayma pozitifliği ile bu iki değişken arasında anlamlı bir birliktelik (sırasıyla; p=0.013 ve p=0.010) ortaya çıkmıştır. Kavitesi olan tüberküloz hastalarında bu iki alleldeki polimorfizm daha sık izlenmiştir. INT4 ve D543N polimorfizmlerinin tüberkülozun ciddi formlarıyla ilişkisi olduğu sonucuna varılmıştır. *NRAMP1* polimorfizmlerinin tüberkülozla ilişkisini irdeleyen bir diğer çalışma 278 tüberküloz olgusunu içermiştir. 5'$(GT)_n$ polimorfizmleri açısından kontrol ve olgu grubu arasında anlamlı bir farklılık izlenmemişse de; SLC6a (D543N) ve SLC6b (3'UTR) polimorfizmleri için allel frekansları ($\chi 2=5.747$, p=0.0165) ve genotip frekansları ($\chi 2=5.767$, p=0.0163) farklı bulunmuştur. Yaş ve cinsiyete göre analizde, kadın ve <65 yaş grubunda allel ve genotip frekanslarının, kontole göre farklı olduğu görülmüştür (74).

Bu çalışmada, tüberküloz hastalarında tüberküloza duyarlılık ile ilişkilendirilen *NRAMP1* polimorfizmlerinin araştırılması amaçlandı. Bu konudaki tartışmanın devam ettiğni düşünmekteyiz. *NRAMP1* allelleri, tüberküloza duyarlılıkla veya hastalığın şiddeti (PA akciğer grafisinde üç zon ve fazlasında lezyon olması, kaviter lezyon varlığı, tüberküloz plörezi, ekstratorasik tutulum) ile ilişkilendirilebilir mi? Böyle bir çalışma yapılmasının diğer bir nedeni de Türkiye'de çok az çalışılmış bir konu olmasıdır. Literatürde mevcut çalışmalarda plörezi, kavite açısından analiz yapılmışsa da tutulan zon sayısı ya da ekstratorasik tüberkülozla ilgili bilgiye çok az çalışmada yer verilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun çalışmayı onayladığı tarih olan 16 Eylül 2008'den (2008-15/71 karar no ile) itibaren 1 yıl süreyle Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz AD poliklinik ya da kliniğinde tüberküloz tanısı almış hastalarla, Bursa Merkez Verem Savaş Dispanseri ile Yıldırım Verem Savaş Dispanseri takibindeki tüberküloz hastaları çalışmaya alındı.

Dışlama kriteri olmayan ve aydınlatılmış gönüllü onam veren hastaların tümüne, demografik özellikler (yaş, cinsiyet, sigara alışkanlığı, ortalama aylık gelir) ve akrabalarında daha önce konulmuş tüberküloz tanısı olup olmadığı sorularını içeren anket uygulandı. Bilinen başka hastalıkları olup olmadığı sorusuna diyabet, kronik böbrek yetmezliği, kanser, astım, KOAH yanıtı veren olgular çalışmadan dışlandı. Steroid ya da immunsüpresif ilaç kullanımı bir diğer dışlama kriteriydi.

Tüm hastalara uygulanan formun ikinci bölümünde; hastalık öyküsü (yeni hasta, nüks, tedavi başarısızlığı), nasıl tanı konulduğu (yayma, kültür, sitoloji-biyopsi, klinik-radyolojik), tanı anında kavite varlığı, tutulan zon sayısı, BCG skarı varlığı, hastalığın hangi lokalizasyonda saptandığı (akciğer, tüberküloz plörezi, miliyer tüberküloz, lenfadenit, ürogenital, santral sinir sistemi, gastrointestinal sistem, yumuşak doku-kemik) bilgilerine yer verildi. Tanı anındaki akciğer grafileri, kavite varlığı ve tutulan zon sayısı açısından değerlendirildi. Tedavi edilmiş ve iyileşmişken yeniden yayma ya da kültür pozitifliği olan olgular nüks, tedavinin beşinci ayında yayma ve kültür pozitifliği olanlar tedavi başarısız olgu olarak değerlendirildi. Tedavi uyumsuzluğu nedeniyle kronikleşmiş olgular çalışmaya dahil edilmedi.

Çalışmaya dahil edilen 58 hastanın sadece 3'ünde tedavi klinik-radyolojik tanıya dayandırılmıştı. Bu üç hastanın birinde kavite, diğerinde iki zonu içine alan parankim lezyonuyla birlikte plevral efüzyonu destekler radyolojik görünüm mevcuttu. Diğer hastaların ya mikrobiyolojik(yayma pozitif ve/veya kültür pozitif) ya da patolojik (kazeifikasyon gösteren granülomatöz iltihap) tanıları vardı.

Aydınlatılmış gönüllü onamları yazılı olarak alınan sağlıklı, tüberküloz geçirmediğini ifade eden 56 olgu ile kontrol grubu oluşturuldu. Kontrol olguları; hastane çalışanlarıyla, klinikte tüberküloz dışı bir akciğer hastalığı nedeniyle izlenen hasta yakınları arasından seçildi.

DNA İzolasyonu

Hasta ve kontrol grubundan gen analizleri için EDTA'lı tüplere yaklaşık 2 cc'lik periferik venöz kan örneği alındı. DNA izolasyonu için 2 cc EDTA'lı kan steril falkon tüpüne aktarıldı ve üzerine 1:3 oranında (6 cc) "lysis buffer" ilave edildi. Tüp birkaç defa ters yüz çevrilerek iyi bir şekilde karıştırıldıktan sonra +4°C'de 15 dakika bekletildi. Oluşan nükleer pelleti çöktürmek için dakikada 1500 devirde 10 dk santrifüj edildi. Oluşan süpernatant döküldü. Pellet yeniden süspanse edildi. İkinci bir yıkama için yine 6 ml ''lysis buffer'' eklendi, 10 dk 1500 rpm'de santrifüj edildi, süpernatant atıldı ve pellet tamamen süspanse edildi. Bundan sonraki aşamalarda Dr. Zeydanlı DNA izolasyon kiti prosedürü uygulandı. Çöktürülmüş hücre pelleti 1,5 ml'lik nükleaz içermeyen tüp içine alınarak üzerine 500 µl solüsyon B ve 20 µl solüsyon A eklendi. Karışım vortekslenerek 42°C'de 2 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası üzerine 500 µl solüsyon C eklenip vortekslenerek 10.000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Oluşan 2 fazdan üstteki berrak faz alınarak temiz 1,5 ml'lik nükleaz içermeyen tüpe konuldu. Üzerine 500 µl solüsyon D konuldu. 10.000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Oluşan süpernatant atılarak üzerine 500 µl solüsyon E konulup 10.000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant atılarak tüpler kurumaya bırakıldı. Kuruduktan sonra 100 µl distile su eklenerek çalışılma zamanına kadar - 20°C'de saklandı.

Polimeraz Zincir Reaksiyon Protokolü

PCR yöntemi, genomik DNA'nın ısının etkisiyle çift zincirinin tek zincir hale gelmesi sonrasında uygun sıcaklıkta ilgili primerlerin ilgili primer bölgesine yapışması ve DNA Tag polimeraz enzimi katalizörlüğünde ortamdaki dört deoksinükleotid trifosfatın(adenin, guanin, sitozin, timin) yeni

zincire eklenmesi sonucunda ilgili gen bölgelerin çoğaltılması temeline dayanmaktadır.

Bu çalışmada izole edilen DNA'larda *SLC11A1* geninin D543N ve 3'UTR(TGTG delesyonu) polimorfizmlerini belirlemek için PCR yöntemi kullanıldı. Bunun için PCR reaksiyonu karışımı hazırlandı. 25 µl'lik PCR karışımı 0,2 ml'lik PCR tüpünde aşağıdaki sıra ile karıştırıldı:

- dNTP (10 mM)……0,3 µL
- 10x PCR Buffer (Magnezyumlu)……...2,5 µL
- 10 pmol/ml primer forward……1,0 µL
- 10 pmol/ml primer reverse ……1,0 µL
- dH2O ……...17 µL
- Hasta DNA'sı ……..3,0 µL
- Taq polimeraz enzimi (5 ünite/µl) …….0,1 µl

SLC11A1 geninin D543N ve 3'UTR polimorfizmlerinin gen bölgelerini çoğaltmak için forward: 5'-GCATCTCCCCAATTCATGGT-3've reverse: 5'-AACTGTCCCACTCTATCCTG-3'primerleri kullanılarak PCR yapıldı (Taype CA, 2006).

Tüplerde bulunan reaksiyon karışımı PCR yapılmak üzere PCR cihazına yerleştirildi ve belirlenen program uygulandı.

SLC11A1 geninin D543N ve 3'UTR polimorfizmleri için PCR döngü programı olarak aşağıdaki sıcaklık ve süreler kullanılarak PCR işlemi PCR cihazında gerçekleştirildi:

Kapak sıcaklığı (cihaz tipine özel) 103°C,

1- Başlangıç denatürasyonu 94°C, 10 dakika

2- Denatürasyon 94°C, 1 dakika

3- "Annealing" 58°C, 1 dakika

4- "Extention" 72°C, 1 dakika

5- Son "Extention" 72°C, 10 dakika

(2, 3 ve 4 işlemler sırasıyla 34 siklus)

Jel Elektroforez Protokolü

Agaroz Jel Elekroforezi, DNA ve PCR ürünlerinin ayrılması ve tanımlanması için kullanılan standart metotlardan biridir. Bu çalışmada PCR ile çoğaltılmış ürünlerin tanımlanması için %2'lik agaroz jel elektroforezi uygulandı. %2'lik jel hazırlanması için 5 mL 10xTris-Borik Asit-EDTA (TBE) solüsyonu 45 ml dH2O ile beher içinde karıştırıldı. Karışımın içine 1 gr agaroz eklendi. Çözelti mikrodalga fırında "medium-high" ayarında agaroz çözününceye kadar ısıtıldı. Eriyen jel içine 5 µL etidyum bromid eklenerek karıştırıldı. Jel elektroforez aparatına dökülerek soğumaya bırakıldı. Elektroforez tankı 1xTBE ile doldurularak jel yürütme işlemine hazır hale getirildi. PCR ürünlerİ brom-fenol mavisi ile muamele edilerek agaroz jele yüklendi. 90-100 V akımda 15 dk kadar yürütüldü.

PCR ürünü bantları görülen olgular, genotiplerini belirlemek için DNA dizi analizi işlemine alındı.

Genotiplerin Belirlenmesi

PCR reaksiyonları sonucu yaklaşık 240 baz çiftlik ürünler elde edilmesi beklendi. PCR ürünü bantları görülen olgular, genotiplerini belirlemek için DNA dizi analizi işlemine alındı.

A) DNA Dizi Analiz "CYCLE SEQUENCING" İşlemi

10 µl'lik PCR karışımı 0,2 ml'lik PCR tüpünde aşağıdaki sıra ile karıştırıldı.

- Big Dye Cycle Sequencıng v3.1 Kit ……2 µL
- 5x Sequencing Buffer …… 2,5 µL
- Forward ya da reverse primer ……1,5 µL
- PCR Ürünü ……1,5 µL
- dH2O ……3,5 µL

Hazırlanan karışımlar PCR cihazında aşağıdaki sıcaklık ve süreler kullanılarak PCR reaksiyonu gerçekleştirildi.

Kapak sıcaklığı (cihaz tipine özel) 103°C,

1- Başlangıç denatürasyonu 96°C, 1 dakika

2- Denatürasyon 96°C, 10 saniye

3- “Annealing” 50°C, 5 saniye

4- “Extention” 60°C, 4 dakika

5- Bekleme 4°C ∞

(2, 3 ve 4 işlemler sırasıyla 25 siklus)

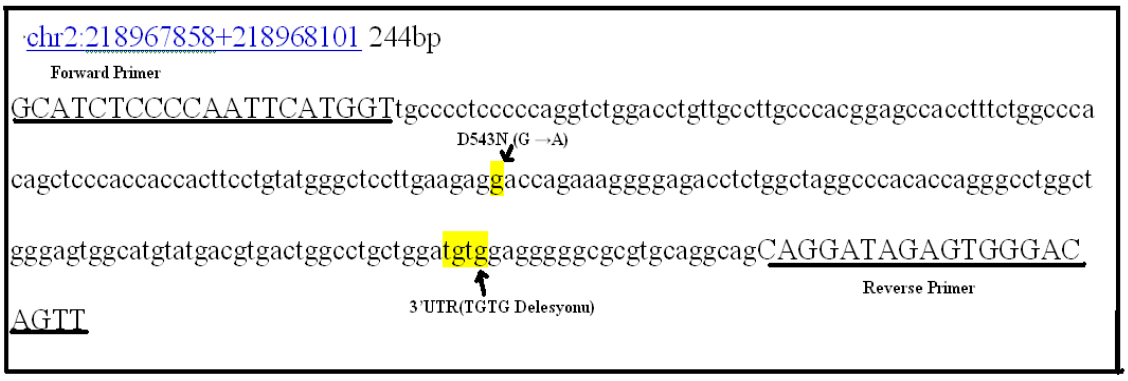
B) DNA Dizi Analiz “CYCLE SEQUENCING” Ürünlerinin SEPHADEX G-50 ile Temizlenmesi

1 gr. Sephadex 14 ml distile suda çözülür ve çalkalanarak oda ısısında bekletilir. Sephadex kolonlarının içerisine 500 µL dağıtılır. 4000 rpm’de 2 dakika santrifüj edilir. Santrifüj sonrası Sephadexli kolonlar 1,5 ml’lik bir tüpe aktarılır. 10 µL Cycle Sequencing ürünü Sephadex üzerine bırakılır. 4000 rpm’de 3 dakika tekrar santrifüj edilir. Alttaki tüpe aktarılmış olan ürün dizileme için uygun olan üründür. Oluşan yaklaşık 10 µL’lik ürünler Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzers cihazına yüklenir.

C) Genotiplerin Belirlenmesi

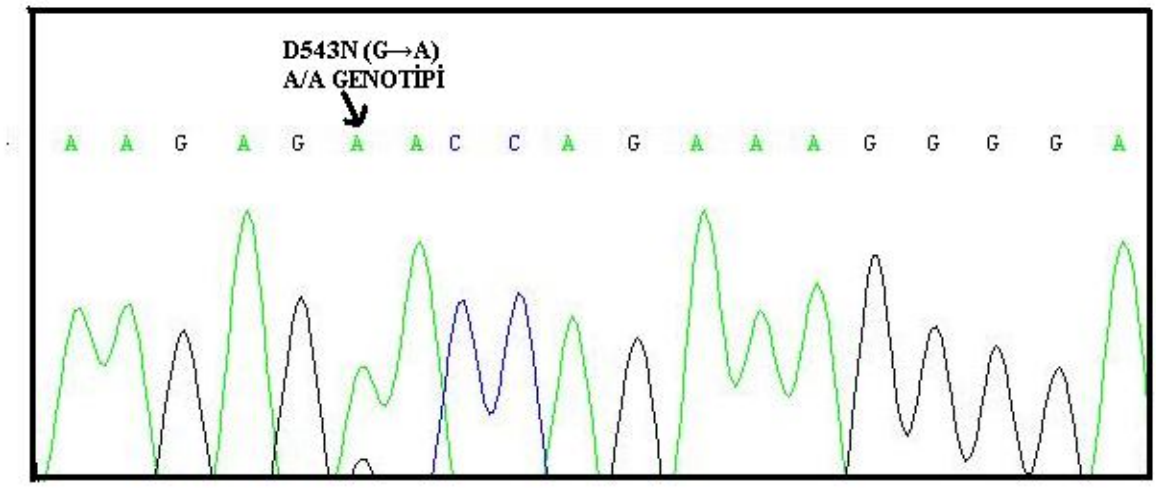
Olguların genotiplerini belirlemek için Applied Biosystems 3130 Genetic Analyzers cihazında yürütülen ürünlerin bilgileri “Sequencing Analysis’’ programında analiz edildi.

Ürünlerin dizisi ve polimorfik bölgeler Şekil-5’de gösterilmiştir.

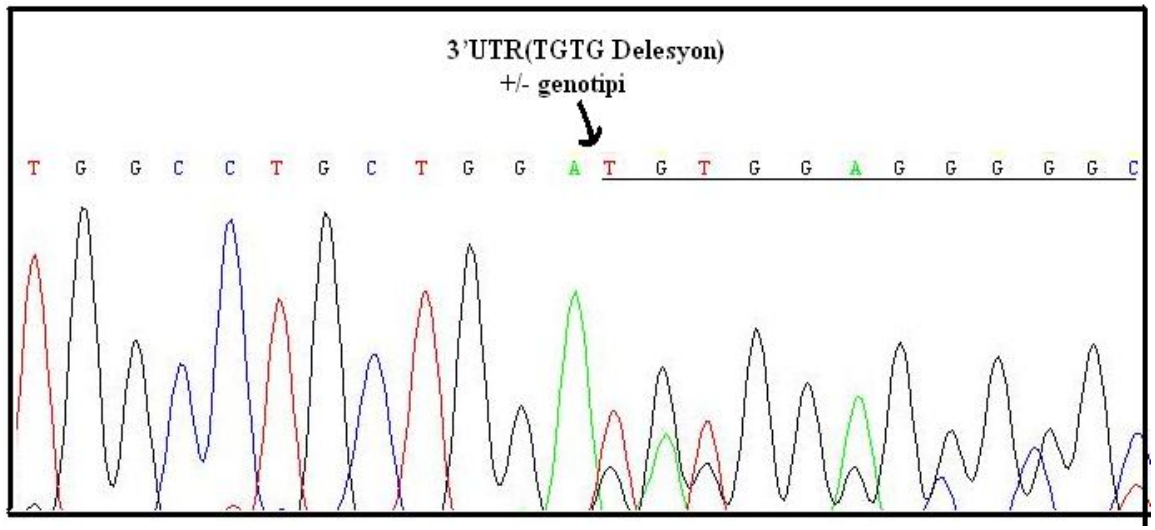


Şekil-5: Primerlerin dizisinin ve SLC11A1 geninin D543N ve 3’UTR polimorfizmlerinin PCR ürünü nüklotid dizisinde gösterimi**.**

Bazı genotiplerin “Sequencing Analysis’’ programında Şekil-6 ve Şekil-7’de analiz görüntüleri gösterilmiştir.



Şekil-6: *SLC11A1* geninin D543N polimorfizmi açından analiz edilen A/A genotipli olgunun gösterimi.



Şekil-7: *SLC11A1* geninin 3'UTR(TGTG delesyonu) polimorfizmi açından analiz edilen +/- genotipli olgunun gösterimi. (+): TGTG dizisi var, (-): TGTG dizisi yok (Altı çizili kısım heterozigot delesyonu bulunan dizi) .

İstatistiksel Analiz

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

BULGULAR

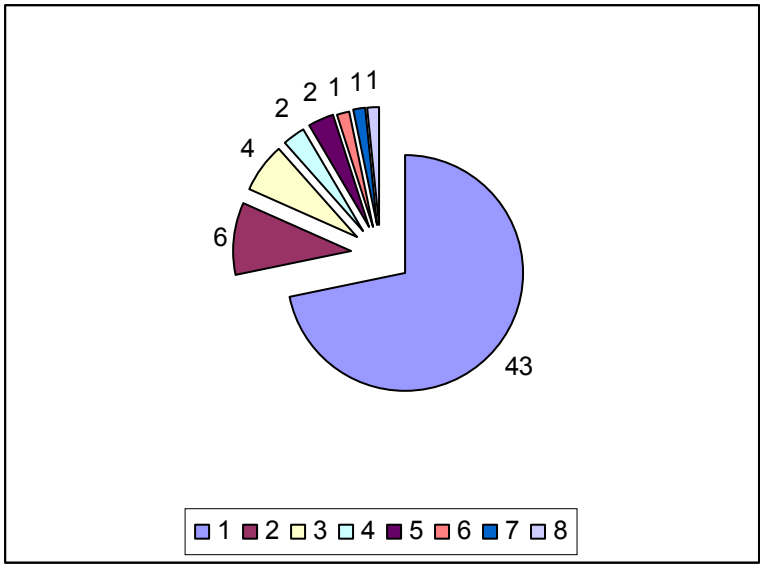
Çalışmaya dahil edilen 58 tüberküloz olgusunun 19'u kadın, 39'u erkekti. Kontrol grubunu 17'si kadın, 39'u erkek olmak üzere 56 olgu oluşturdu. Yaş açısından irdelendiğinde, hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel farklılık yoktu (p = 0.336). Hasta ve kontrol gruplarının ortalama yaşları, sırasıyla; 33. 43 ± 9.194 ve 32.05 ± 9.264 idi. Body-mass indeksleri (BMI) incelendiğinde kontrol grubu lehine anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi (Ortalama 22.50'ye 24.23, p=0.008). Sigara alışkanlıkları açısından yapılan analizde, hasta grubunda kişi başına sigara tüketimi kontrol grup ile farklılık göstermedi (p=0.131). Gelir düzeyleri açısından analiz yapıldığında, tüberküloz hastalarının alt gelir grubundan oldukları belirlendi (p=0.025).

Çalışmaya katılanlara birinci ve ikinci dereceden akrabalarında tüberküloz olup olmadığı sorulmuştu. Hasta grubunda 17, kontrol grubunda ise 4 olgunun akrabasında tüberküloz öyküsü vardı (p=0.002).

Çalışmaya dahil edilen tüberküloz hastalarının 43'ünde (%74.1) akciğer tüberkülozu vardı. Şekil-8'de tutulum yerine göre olguların dağılımları izlenmektedir.

Natural resistance-associated macrophage protein-1 polimorfizmlerinin analizinde, D543N lokusunda G/G variantı 57, G/A variantı 1, A/A variantı ise 0 hastada belirlendi. Kontrol grubunda allel dağılımları, sırasıyla; G/G için 51, G/A için 1, A/A için 4 şeklindeydi (Tablo-3).

3'UTR allelleri (TGTG +/+, TGTG +/-) açısından polimorfizm sıklıkları Tablo 4'de gösterilmiştir. Yapılan istatistiksel analiz kontrol ve olgu grupları arasında bir fark olmadığını gösterdi (Ki-kare: 2. 966, p = 0.11).



Şekil-8: Tutulum yerine göre tüberküloz olgularının dağılımı (Sırasıyla; akciğer, lenf nodu, plevra, gastrointestinal, kemik-yumuşak doku, miliyer, merkez sinir sistemi, ürogenital).

Tablo-3: D543N allelleri ve hasta-kontrol gruplarında görülme sıklıkları.

Lokus, *NRAMP1* variyantı	Hasta grup (n = 58) %	Kontrol grubu (n = 56) %	
D543N			p > 0.05
G/G	57 (98.3)	51 (91.1)	
G/A	1 (1.7)	1 (1.8)	
A/A	0 (0)	4 (7.1)	

Tablo-4: 3'UTR allelleri ve hasta-kontrol grubunda görülme sıklıkları.

Lokus, *NRAMP1* variyantı	Hasta grup (n = 58) %	Kontrol grubu (n = 56) %	
3'UTR			p > 0.05
TGTG +/+	57 (98.3)	51 (91.1)	
TGTG +/-	1 (1.7)	5 (8.9)	

Tüberküloz olguları kendi içlerinde 3 gruba ayrıldı:

1. Grup: Akciğer grafisinde üç zon ve fazlasında lezyon varlığı ya da kavite varlığı veya plörezi olması ağır hastalık olarak alındı.
2. Grup: Diğer akciğer tüberkülozlu olgular hafif hasta olarak adlandırıldı.
3. Grup: Ekstratorasik tutulum bir başka grubu oluşturdu.

Gerek ağır hastalık ile hafif hastalık olarak addedilen iki grup arasında; gerek ekstratorasik tutulum varlığında D543N ve 3'UTR polimorfizmleri anlamlı bir farklılık göstermedi (p=0.642).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Antijenin makrofajla etkileşimi ve Th hücresinin aktivasyonu çeşitli sitokinlerin salınımına neden olur. Bu sitokinler çeşitli immun yanıtlarda rol alır. Doğuştan edinilmiş bağışıklıkta sitokinler, makrofajlar ve NK hücreleri tarafından üretilir ve mikroplara karşı erken inflamatuvar yanıtı başlatır. TNF-α, IL-1, IL12, IFN-γ doğal bağışıklıkta rol alan temel sitokinlerdir. IL-1, TNF ile birlikte ateşe, karaciğerden akut faz proteinlerinin sentezlenmesine ve kaşeksiye neden olur. Çalışmamızda hasta grubunda kontrole göre BMI anlamlı olarak daha düşük saptanmıştır (p=0.008). Bu sonuç, tüberküloz hakkındaki; deyim yerindeyse; kadim bilgiyle uyumludur. Malnütrisyon tüberküloz için en önemli risk faktörlerindendir. Malnütrisyon, hücre aracılı immuniteyi etkileyerek primer ya da latent enfeksiyonun aktif tüberküloza ilerlemesine yol açar (75). Tüberküloz için malnütriyonun bir risk faktörü olduğu kabülüne rağmen, bu konudaki kanıtlar sürpriz olarak azdır. In vitro çalışmalar, malnütrisyonun hücre aracılı immuniteye ve tüberküloz immunolojisine negatif etkileri olduğunu ortaya koymuştur (76). Nutrisyon, enfeksiyon ve immunite kompleks ve dinamik bir paternde etkileşim içindedir (77).

Jee ve ark.'nın (78) 14 yıl süren ve 1.294.504 kişiyi içeren çalışmasında, aktif sigara içen erkeklerde sigarayı bırakmış olanlara göre tüberküloz riski daha yüksektir (HR 1.4, %95 CI, 1.3-1.5). Ayrıca aktif sigara içen erkeklerde tüberküloz riski, günde içilen sigara adediyle ilişkili olarak artmaktadır. Jee ve ark. kadın populasyonda, sigara ve tüberküloz arasında böyle bir ilişki bulamamıştır. Kadın ve erkeklerde tüberkülozdan ölüm ile aktif sigara içimi arasında anlamlı bir ilişki belirlenmiştir (Hazard ratio (HR)= 1.6, %95 CI, 1.3-2.0 ve kadınlarda HR= 1.6, %95 CI, 1.0-2.4). Bir diğer çalışmada sigara içme (bırakmışlarda OR 1.53; halen içenlerde OR 2.03) artmış tüberküloz riskiyle ilişkilidir (29). Bizim çalışmada sigara alışkanlıkları açısından yapılan analizde, hasta grubunda kişi başına sigara tüketimi

kontrol grup ile farklılık göstermedi (p=0.131). Çalışılan populasyonun küçük olması, bu konuda yorum yapmayı güçleştirmektedir.

Tüberküloz olgularıyla yapılan epidemiyolojik çalışmalar, hastalığın az gelişmişlik ve yoksullukla ilişkisini ortaya koymuştur. 733 tüberküloz olgusunu içeren bir çalışmada Balbay ve ark. (79), hastaların 581'inin (%79,3) herhangi bir işte çalışmadığını, 225'inin (%30,7) iş bulma güçlüğü çektiğini, 377'sinin (%51,4) ortalama gelirinin 0-210 dolar arasında olduğunu, 395'inin (%80,6) aynı evi 1-4 kişi ile paylaştığını, 505'inin (%68,9) 2 ile 3 odalı evlerde oturduğunu saptamıştır. Araştırma sonunda tüberküloz hastalarının, kalabalık ailelerde, elverişsiz çevre koşullarında ve iyi bir gelire sahip olmadan yaşadığı belirlenmiştir**.** Bizim çalışmamızda da, tüberküloz olgularının kontrol gruba göre düşük gelir düzeyine sahip oldukları belirlenmiştir (p = 0.025).

Lienhardt ve ark. (29) ailede tüberküloz öyküsü olmasını bağımsız bir risk faktörü olarak raporlamıştır. Bir başka çalışmada, tüberküloz hastalarının ev içi temaslılarında tüberküloz riski, indeks olguyla günde 18 saati aşan temas halinde (OR2.39) anlamlı artış göstermektedir (30). İkiz çalışmalarında, monozigot ikizlerde dizigot ikizlere göre tüberküloz daha sık görülmektedir (40). Çalışmamızda hasta grubunda 17, kontrol grubunda ise 4 olgunun akrabasında tüberküloz öyküsü vardı (p=0.002). Populasyonun küçük olması, *NRAMP1* polimorfizmleri açısından analize olanak vermemiştir. Temas sıklığı ya da genetik bir yatkınlık mı belirleyicidir sorusu yanıtsız kalmaktadır. İndeks olguyla temas sıklığı ve akrabalık derecesini hesaba katan, daha geniş aile bazlı çalışmalar aydınlatıcı olacaktır.

3'UTR ve D543N Polimorfizmleri Tüberkülozla İlişkili midir?

Li ve ark.'nın (62) meta-analizinde, bildirilmiş 9 çalışmadaki 1398 tüberküloz hastası ve 1585 kontrol olgu analiz edilmiştir. 3'UTR ve D543N polimorfizmleri pulmoner tüberkülozla ilişkili bulunmuştur. Düzeltilmiş relatif riskler, sırasıyla 1.27 ve 1.61 olarak hesaplanmıştır. Yine Liu ve ark.'nın (65) Çinli Han populasyonunda yaptıkları çalışmada, 120 pulmoner tüberküloz ve 240 kontrol olgu araştırılmıştır. D543N G/A ve 3'UTR TGTG +/del heterozigot

polimorfizmleri tüberküloz olgularında daha sık izlenmiştir (OR 2.590, % 95 CI, 1.043-6.434 ve OR 1.890, %95 CI, 1.171-3.051). Bellamy ve ark. (50), Liu ve ark. (65, 68) hem 3'UTR hem de D543N polimorfizmlerini tüberküloza duyarlılıkla ilişkilendirmiştir. Hoal ve ark. (64) 3'UTR TGTG del/del homozigotluğunu pulmoner tüberküloz olgularında daha sık saptamıştır ve variantın tüberküloza duyarlılıkla ilişkili olduğunu öne sürmüştür. Ryu ve ark.'nın (67) çalışmasında, Kore'den 192 tüberküloz olgusunda, 3'UTR polimorfizmi ile tüberküloza duyarlılık arasında anlamlı ilişki raporlanmıştır (OR 1.845; %95 CI 1.097-3.104; p=0.020). Kim ve ark. (66) 3'UTR variantlarını tüberküloz plöreziye yatkınlıkla ilişkilendirmiştir. Leung ve ark. (74), sadece <65 yaş ve kadın tüberküloz olgularında, çalışmamıza konu olan iki polimorfizmin, kontrol gruba göre bir farklılık gösterdiğini bildirmiştir.

Soborg ve ark. (80) Danimarka'dan 104 tüberküloz olgusunda *NRAMP1* polimorfizmleri-tüberküloz ilişkisini araştırmıştır. Ekstrapulmoner tüberküloz veya kavite varlığından çok, INT4 ve 5'$(CA)_n$ polimorfizmlerini mikroskopi pozitifliği ile ilişkilendirmiştir. Tüberküloza duyarlılık açısından anlamlı ilişki bulunamamıştır (p>0.16). 100 pulmoner, 57 spinal tüberküloz hastasının alındığı çalışmada Selvaraj ve ark. (81), TGTG+/del ve D543N G/A polimorfizmleri sıklığının kontrol grupla farklılık göstermediğini saptamıştır. Liaw ve ark. (82), daha küçük bir populasyonda 3'UTR ve D543N polimorfizmlerinin tüberkülozla ilişkisi olmadığını belirlemiştir. Abe ve ark. (83) 95 tüberküloz olgusunu, 90 kişilik kontrol grubuyla karşılaştırmıştır. *NRAMP1* polimorfizmleri ile hastalığa duyarlılık arasında bir ilişki olmadığını; ancak, D543N A allelin kaviter lezyona sahip olmayla ilişkilendirilebileceğini ifade etmiştir. Delgado ve ark. (84) 358 pulmoner tüberküloz hastasında 3'UTR ve D543N heterozigot variantlarını tüberkülozla dirençle ilişkilendirmiştir (p=0.02, OR 0.59; % 95 CI, 0.38–0.91). Daha ilginç bir saptamaları da, tüberküloza direncin bu iki varyantın bir arada olmasıyla mümkün olacağıdır. Cervino ve ark. (71), Moreno ve ark. (72), Zhang ve ark. (73) 3'UTR ve D543N polimorfizmlerinin tüberkülozla ilişkili olmadığını göstermiştir. Ancak; Zhang ve ark. kavitesi ve yayma pozitifliği olan tüberküloz olgularının, kontrol gruba göre INT4 ve D543N polimorfizmleri

açısından farklılık gösterdiğini belirtmiştir. Fitness ve ark. (85), Malawi'de geniş skala çalışmasında, gerek HIV pozitif gerek HIV negatif 435 tüberküloz olgusunu, 3'UTR TGTG variyantları açısından, 709 sağlıklı kontrolle karşılaştırmıştır. İstatistiksel anlamlılıkta bir fark olmadığı sonucuna varılmıştır. Ateş ve ark. (70) ise, 3'UTR ve D543N variantlarının tüberkülozla bir ilişkisi olmadığını bildirmiştir.

Sonuç olarak çalışmamızda, *NRAMP1*'in 2 ayrı polimorfizmi araştırıldı. Ateş ve ark.'nın (70) sonuçları ile paralel olarak, 3'UTR ve D543N variantlarının tüberküloza duyarlılıkla bir ilişkisi olmadığını belirledik. Çalışma populasyonunun küçüklüğü çalışmamızın önemli bir limitasyonudur. Literatürde farklı populasyonlarla yapılmış çalışmalardaki birbiriyle çelişkili sonuçlar; Li ve ark.'nın (62) iyi düzenlenmiş meta-analizine rağmen tartışmaya açıktır. Hoal ve ark. (64), 3'UTR TGTG del/del variantını tüberküloza duyarlılıkla ilişkilendirirken Bellamy ve ark.'nın (50) çalışmasında TGTG +/del variantıyla bir ilişki kurulmuştur. Tam tersi sonuçlar nasıl yorumlanmalıdır? Delgado ve ark.'nın (84) çalışmasında 3'UTR ve D543N heterozigotluğu tüberküloza dirençle ilişkilendirilmiştir.

Tüberküloza duyarlılığın genetik temeli var mıdır? Maruziyet sıklığı, malnütrisyon, sağlıksız ortamda yaşam ve sosyal stresler tüberküloz gelişme riskini arttırmaktadır. Savaş ya da ekonomik bunalımlarda tüberküloz görülme sıklığında coğrafi bir fark olmaksızın artış olması, yoksul ülkelerdeki yüksek insidansı; genetik faktörlerden daha çok; çevresel faktörlerin önemine dikkat çekmektedir. Ancak; enfeksiyonun global dağılımı, patofizyolojik süreçlerin benzer olmasına rağmen farklı sonlanımlar genetik temellere atıfta bulunmaktadır. Burada gözden kaçırılmaması gereken, tüberkülozun diğer multifaktöryel hastalıklardan daha kompleks oluşudur. Gen-gen ve gen-çevre etkileşimine ek olarak; bir genoma sahip, asırlar boyunca kommensal bir ilişkinin etkili silahlarına sahip olma yetenekleri geliştirmiş bir patojen de vardır. *NRAMP1* ile ilgili hiçbir çalışma patojeni dikkate almamıştır. *M. tuberculosis* ve onun insan konağı kararlı bir dengeye ulaşmak için, kuşaklar boyu evrim geçirmiştir. Çiçek hastalığı gibi antikor oluşumuyla uzun vadede bağışıklık kazandıran bulaşıcı hastalıkların tersine, insan vücudu *M.*

tuberculosis'i yok edememektedir. Bağışıklık sisteminin *M. tuberculosis*'e olan tepkisi komplekstir ve bir sürü immunolojik bileşeni içerir. Günümüzde genetik konusunda daha çok şey biliyoruz. Patofizyolojik ve immunolojik süreçleri daha iyi anlamış durumdayız. Buna rağmen; bu karmaşık yap-bozun daha pek çok parçasının kayıp olduğu düşüncesindeyiz. Araştırılmış genetik faktörler ve ve özellikle *NRAMP1* ile ilgili tartışmaların sürüp gideceği kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Kılıçaslan Z. Tüberküloz. Özlü T, Metintaş M, Ardıç S, Kaya A (editörler). Akciğer Hastalıkları Temel Bilgiler. Ankara: Toraks Derneği Yayınları; 2008. 323-39.

2. Berrington WR, Hawn TR. *Mycobacterium tuberculosis*, macrophages, and the innate immune response: does common variation matter? Immunol Rev 2007; 219:167-86.

3. WHO/HTM/TB/2009.Global tuberculosis control: Surveillance, planning, financing.

4. Gümüşlü F, Özkara Ş, Özkan S, Baykal F, Güllü Ü. Türkiye'de Verem Savaşı, 2007 Raporu. Verem Savaşı Dairesi Başkanlığı. Ankara: Rekmay; 2007. 2-32.

5. Gedikoğlu S. Tüberküloz basilinin özellikleri. Özyardımcı N. (editör) Akciğer ve akciğer dışı organ tüberkülozları. Bursa: Uludağ Üniversitesi Basımevi; 2008. 15-24.

6. Yüce A. Tüberküloz immunolojisi. Türkiye Klinikleri J Inf Dis-Special Topics 2008;1:31-41.

7. Crevel R, Ottenhoff TH, Meer JWM. Innate immunity to *Mycobacterium tuberculosis.* Clin Microbiol Rev 2002; 15:294-09.

8. Kargı A, Tataroğlu C. Akciğer. Çevikbaş U, Güllüoğlu M, Mete Ö (çeviri editörleri). Robbins Temel Patoloji. İstanbul: Nobel Tıp; 2008. 479-39.

9. Bülbül Y, Özlü T. Akciğerlerin infeksiyöz hastalıkları. Türktaş H (çeviri editörü). FRASER Synopsis of Diseases of the Chest (Türkçe). Ankara: Güneş Kitabevi; 2006. 222-336.

10. Özkara Ş, Aktaş Z, Özkan S, Ecevit H. Türkiye'de Tüberkülozun Kontrolü için Başvuru Kitabı. T.C. Sağlık Bakanlığı Verem Savaşı Daire Başkanlığı. Ankara: Rekmay; 2003. 7-22.

11. Uçan ES, Sevinç C, Abadoğlu Ö, Arpaz S, Ellidokuz H. Tüberkülin testi sonuçlarının yorumlanması-Ülkemiz standartları ve yeni gereksinimler. Toraks Dergisi 2000;1:25-9.

12. Palamino JC. Newer diagnostics for tuberculosis and multi-drug resistant tuberculosis. Curr Opin Pulm Med 2006;12:172-8.

13. Taşbakan MS, Sayıner A. Tüberküloz hastalığı ve infeksiyonunda interferon gamma testlerinin yeri. İnfeksiyon Dergisi 2008; 22: 179-84.

14. Karakousis PC, Bishai WR, Dorman SE. Mycobacterium tuberculosis cell envelope lipids and host immune response. Cell Microbiol 2004; 6:105-16.

15. Bernardo J, Billingslea AM, Blumenthal RL, Seetoo KF, Simons ER, Fenton MJ. Differential responses of human mononuclear phagocytes to mycobacterial lipoarabinomannans: role of CD14 and the mannose receptor. Infect Immun 1998;66: 28-35.

16. Ofek I, Bekierkunst A. Chemotactic response of leukocytes to cord factor (trehalose-6,6'-dimycolate). J Natl Cancer Inst 1976*;* 57:1379-81.

17. Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne BA, Kuby J. Overview of the immune system. 5th edition. New York: W.H. Freeman and Company; 2003. 1-23.
18. Fenton MJ, Vermeulen MW. Immunopathology of tuberculosis: roles of macrophages and monocytes. Infect Immun 1996; 64: 683-90.
19. Emoto M, Emoto Y, Buchwalow IB, Kaufmann SH. Induction of IFN-gamma-producing CD4+ natural killer T cells by *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette Guerin. Eur J Immunol 1999; 29: 650-59.
20. Knutson KL, Hmama Z, Herrera-Velit P, Rochford R, Reiner NE. Lipoarabinomannan of *Mycobacterium tuberculosis* promotes protein tyrosine dephosphorylation and inhibition of mitogen-activated protein kinase in human mononuclear phagocytes. Role of the Src homology 2 containing tyrosine phosphatase 1. J Biol Chem 1998; 273: 645-52.
21. Takeuchi M, Alard P, Streilein JW. TGF-beta promotes immune deviation by altering accessory signals of antigen-presenting cells. J Immunology 1998; 160: 1589-97.
22. Spargo BJ, Crowe LM, Ioneda T, Beaman BL, Crowe JH. Cord factor(alpha, alpha –trehalose 6,6'-dimycolate) inhibits fusion between phospholipid vesicles. Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88: 737-40.
23. Indrigo J, Hunter RL, Actor JK. Influence of trehalose 6,6'-dimycolate during mycobacterial infection of bone marrow macrophages. Microbiology 2002; 148: 1991-98.
24. Brightbill HD, Libraty DH, Krutzik SR, et al. Host defense mechanisms triggered by microbial lipoproteins through toll-like receptors. Science 1999;285: 732-36.
25. Santucci MB, Amicosante M, Cicconi R, et al. *Mycobacterium tuberculosis*-induced apoptosis in monocytes/macrophages: early membrane modifications and intracellular mycobacterial viability. J Infect Dis 2000;181: 1506-9.
26. Keane J, Remold HG, Kornfeld H. Virulent *Mycobacterium tuberculosis* strains evade apoptosis of infected alveolar macrophages. J Immunol 2000;164: 2016-20.
27. Colditz GA, Berkey CS, Mosteller F, et al. The efficacy of bacillus Calmette-Guerin vaccination of newborns and infants in the prevention of tuberculosis: meta-analyses of the published literature. Pediatrics 1995;96: 29-35.
28. Fine PE. BCG: the challenge continues. Scand J Infect Dis 2001;33:243-5.
29. Lienhardt C, Fielding K, Sillah JS, et al. Investigation of the risk factors for tuberculosis: a case-control study in three countries in West Africa. Int J Epidemiol 2005;34: 914-23.
30. Guwatudde D, Nakakeeto M, Jones-Lopez EC, et al. Tuberculosis in household contacts of infectious cases in Kampala, Uganda. Am J Epidemiol 2003;158: 887-98.
31. Webb EA, Hesseling AC, Schaaf HS, et al. High prevalence of *Mycobacterium tuberculosis* infection and disease in children and adolescent with type 1 diabetes mellitus. Int J Tuberc Lung Dis 2009; 13: 868-74.

32. Pakasi TA, Karyadi E, Dolmans WM, Meer JW, Velden K. Malnutrition and socio-demographic factors associated with pulmonary tuberculosis in Timor and Rote Islands, Indonesia. Int J Tuberc Lung Dis 2009; 13: 755-59.
33. Talay F, Kumbetli Ş. Risk factors affecting the development of tuberculosis infection and disease in household contacts of patients with pulmonary tuberculosis. Turkish Respiratory Journal 2008;9: 34-37.
34. Buskin SE, Gale JL, Weiss NS, Nolan CM. Tuberculosis risk factors in adults in King County, Washington, 1988 through 1990. Am J Public Health 1994;84: 1750-6 .
35. Boelaert JR, Gomes MS, Gordeuk VR. Smoking, iron, and tuberculosis. Lancet 2003; 362: 1243-4.
36. Boelaert JR, Vandecasteele SJ, Appelberg R, Gordeuk VR. The effect of the host's iron status on tuberculosis J Infect Dis 2007; 195: 1745-53.
37. Theurl I, Mattle V, Seifert M, Mariani M, Marth C, Weiss G. Dysregulated monocyte iron homeostasis and erythropoeitin formation in patients with the anemia of chronic disease. Blood 2006;107: 4142-8.
38. De Voss JJ, Rutter K, Schroeder BJ, Su H, Zhu Y, Barry CE. The salicylate-derived mycobactin siderophores of *Mycobacterium tuberculosis* are essential for growth in macrophages. Proc Natl Acad Sci USA 2000;97: 1252-7.
39. Zwilling BS, Kuhn DE, Wikoff L, Brown D,Lafuse W. Role of iron in Nramp1-mediated inhibation of mycobacterial growth. Infect Immun 1999;67: 1386-92.
40. Comstock GW. Tuberculosis in twins. A reanalysis of the Prophit survey. Am Rev Respir Dis 1978; 117: 621-24.
41. Greenwood CM, Fujiwara TM, Boothroyd LJ, et al. Linkage of tuberculosis to chromosome 2q35 loci, including *NRAMP1*, in a large aboriginal Canadian family. Am J Hum Genet 2000;67: 405-16.
42. El Baghdadi J, Orlova M, Alter A, et al. An autosomal dominant major gene confers predisposition to pulmonary tuberculosis in adults. J Exp Med 2006;203: 1679-84.
43. Jamieson SE, Miller EN, Black GF, et al. Evidence for a cluster of genes on chromosome 17q11-q21 controlling susceptibility to tuberculosis and leprosy in Brazilians. Genes Immun 2004;5: 46-57.
44. Bellamy R, Beyers N, McAdam KP, et al. Genetic susceptibility to tuberculosis in Africans: a genome-wide scan. Proc Natl Acad Sci USA 2000;97: 8005-9.
45. Plant JE, Glynn A. Genetics of resistance to infection with *Salmonella typhimurium* in mice. J Infect Dis 1976;133: 72-8.
46. Bradley DJ. Regulation of Leishmania populations within the host. II.Genetic control of acute susceptibility of mice to *Leishmania donovani* infection. Clin Exp Immunol 1977;30:130-40.
47. Gros P, Skamene E, Forget A. Genetic control of natural resistance to *Mycobacterium bovis* BCG in mice. J Immunol 1981;127: 417-21.
48. Plant JE, Blackwell JM, O'Brien AD, Bradley DJ, Glynn AA. Are the *Lsh* and *Ity* disease resistance genes at one locus on mouse chromosome1? Nature 1982;297:510-11.

49. Bellamy R. The natural resistance-associated macrophage protein and susceptibility to intracellular pathogens. Microbes Infect 1999;1: 23−7.
50. Bellamy R, Ruwende C, Corrah T, McAdam KP, Whittle HC, Hill AV, et al. Variations in the *Nramp1* gene and susceptibility to tuberculosis in West Africans. N Engl J Med 1998;338: 640-4.
51. Vidal SM, Malo D, Vogan K, Skamene E, Gros P. Natural resistance to infection with intracellular parasites: isolation of a candidate for Bcg. Cell 1993;73: 469-85.
52. Schurr E, Skamene E, Forget A, Gros P. Linkage analysis of the Bcg gene on mouse chromosome 1. Identification of a tightly linked marker. J Immunol 1989;142: 4507-13.
53. Govoni G, Vidal S, Cellier M, Lepage P, Malo D, Gros, P. Genomic structure, promoter sequence, and induction of expression of the mouse *Nramp1* gene in macrophages, Genomics 1995; 27: 9-19.
54. Blackwell JM, Barton CH, White JK, et al. Genomic organization and sequence of the human *NRAMP* gene: identification and mapping of a promoter region polymorphism. Mol Med 1995;1: 194-205.
55. Barton CH, Whitehead SH, Blackwell JM. *Nramp* transfection transfers *Ity*/*Lsh*/*Bcg*-related pleiotropic effects on macrophage activation: influence on oxidative burst and nitric oxide pathways. Mol Med1995;1:267-79.
56. Barrera LF, Kramnik I, Skamene E, Radzioch D. Nitrite production by macrophages derived from BCG-resistant and -susceptible congenic mouse strains in response to IFN-γ and infection with BCG. Immunology 1997;82: 457-64.
57. Hackam DJ, Rotstein OD, Zhang W, Gruenheid S, Gros P, Grinstein S. Host resistance to intracellular infection: mutation of *Nramp1* impairs phagosomal acidification. J Exp Med 1998; 188: 351-64.
58. Gunshin H, Mackenzie B, Berger UV, et al. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. Nature 1997; 388: 482-88.
59. Fleming MD, Trenor CC, Su MA, et al. Microcytic anemia mice have a mutation in Nramp2, a candidate iron transporter. Nat Genet 1997;16: 383-6.
60. Blackwell JM, Searle S, Goswani T, Miller EN. Understanding the multiple functions of *Nramp1*. Microbes Infect 2000;2: 317–21.
61. Gomes MS, Appelberg R. Evidence for a link between iron metabolism and *NRAMP 1* gene function in innate resistance against Mycobacterium avium. Immunology 1998; 95: 165-8.
62. Li HT, Zhang TT, Zhou YQ, Huang QH, Huang J. *SLC11A1*(formerly *NRAMP1*) gene polymorphisms and tuberculosis susceptibility: a meta-analysis. Int J Tuberc Lung Dis 2006;10: 3-12.
63. Awomoyi AA, Marchant A, Howson JM, McAdam KP, Blackwell JM, Newport MJ. Interleukin-10, polymorphism in *SLC11A1* (formerly *NRAMP1*), and susceptibility to tuberculosis. J Infect Dis 2002;186: 1808-14.
64. Hoal EG, Lewis LA, Jamieson SE, et al. *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 2004;8:1464-71.
65. Liu W, Zhang CY, Tian L, et al. A case-control study on natural-resistance-associated macrophage protein 1 gene polymorphisms and susceptibility to pulmonary tuberculosis. Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi. 2003;37: 408-11.
66. Kim JH, Lee SY, Lee SH, et al. *NRAMP1* genetic polymorphisms as a risk factor of tuberculous pleurisy. Int J Tuberc Lund Dis 2003;7:370-5.
67. Ryu S, Park YK, Bai GH, Kim SJ, Park SN, Kang S. 3' UTR polymorphisms in the *NRAMP1* gene are associated with susceptibility to tuberculosis in Koreans. Int J Tuberc Lung Dis 2000;4: 577-80.
68. Liu W, Cao WC, Zhang CY, et al. VDR and *NRAMP1* gene polymorphisms in susceptibility to pulmonary tuberculosis among the Chinese Han population: a case-control study. Int J Tuberc Lung Dis 2004;8: 428-34.
69. El Baghdadi J, Remus N, Benslimane A, et al. Variants of the human *NRAMP1* gene and susceptibility to tuberculosis in Morocco. Int J Tuberc Lung Dis 2003;7: 599-602.
70. Ateş Ö, Dalyan L, Müsellim B, et al. *NRAMP1 (SLC11A1)* gene polymorphisms that correlate with autoimmune versus infectious disease susceptibility in tuberculosis and rheumatoid arthritis. Immunogenet 2009;36:15-9.
71. Cervino AC, Lakiss S, Sow O, Hill AV. Allelic association between the *NRAMP1* gene and susceptibility to tuberculosis in Guinea-Conakry. Ann Hum Genet 2000;64: 507-12.
72. Moreno NP, Perez PD, Castro HB, et al. P2X7 and *NRAMP1/SLC11 A1* gene polymorphisms in Mexican mestizo patients with pulmonary tuberculosis. Clin Exp Immunol 2007;148: 469-77.
73. Zhang W, Shao L, Weng X, et al. Variants of the natural resistance–associated macrophage protein 1 gene *(NRAMP1)* are associated with severe forms of pulmonary tuberculosis. Clin Infect Dis 2005; 40: 1232-6.
74. Leung KH, Yip SP, Wong WS, et al. Sex- and age-dependent association of *SLC11A1* polymorphisms with tuberculosis in Chinese: a case control study. BMC Infect Dis 2007;7:1-9.
75. Chandra R K. Nutrition and immunity: lessons from the past and new insights into the future. Am J Clin Nutr 1991; 53: 1087-101.
76. Ellner JJ. The immune response in human tuberculosis-implications for tuberculosis control. J Infect Dis 1997;176: 1351-9.
77. Cegielski JP, McMurray DN. The relationship between malnutrition and tuberculosis: evidence from studies in humans and experimental animals. Int J Tuberc Lung Dıs 2004; 8: 286-98.
78. Jee SH, Golub JE, Jo J, Park IS, Ohrr H, Samet JM. Smoking and risk of tuberculosis incidence, mortality, and recurrence in South Korean men and women. Am J Epidemiol 2009; 170: 1478-85.
79. Balbay Ö, Işıkhan V, Annakkaya AN, et al. Sosyal ve ekonomik boyutuyla Türkiye'deki tüberküloz hastaları: 23 Göğüs Hastanesinde

733 hasta üzerine bir çalışma. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi 2004; 2: 5-14.

80. Soborg C, Andersen A B, Madsen H O, Kok-Jensen A, Skinhoj P, Garred P. Natural resistance–associated macrophage protein 1 polymorphisms are associated with microscopy-positive tuberculosis. J Infect Dis 2002;186: 517-21.

81. Selvaraj P, Chandra G, Kurian SM, Reetha AM, Charles N, Narayanan PR. *NRAMP1* gene polymorphism in pulmonary and spinal tuberculosis. Curr Sci 2002; 82: 451-54.

82. Liaw Y S, Tsai-Wu J J, Wu C H, et al. Variations in the *NRAMP1* gene and susceptibility of tuberculosis in Taiwanese. Int J Tuberc Lung Dis 2002;6: 454-60.

83. Abe T, Iinuma Y, Ando M, et al. *NRAMP1* polymorphisms, susceptibility and clinical features of tuberculosis. J Infect 2003; 46: 215-20.

84. Delgado JC, Baena A, Thim S, Goldfeld AE. Ethnic-specific genetic associations with pulmonary tuberculosis. J Infect Dis 2002; 186: 1463-68.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sırasında bilgi ve deneyimleri ile katkıda bulunan değerli hocalarım Prof. Dr. Oktay Gözü'ye, Prof. Dr. Ercüment Ege'ye, Prof. Dr. Esra Uzaslan'a, Doç. Dr. Dane Ediger'e; bilgi ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Mehmet Karadağ'a; pratik ve teoriği bütünleştirmemde çok yarar gördüğüm Doç. Dr. Ahmet Ursavaş'a teşekkürlerimi sunarım.

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum Uzm. Dr. Funda Coşkun'a, asistan arkadaşlarıma, yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen bölüm çalışanlarına teşekkür ederim.

Tıbbi Genetik AD Başkanı Doç. Dr. Tahsin Yakut'a planlamadaki desteklerinden, Dr. Mutlu Karkucak'a özverili çalışmalarından ve çalışmanın mutfağındaki emeklerinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmanın yürütülmesinde maddi ve manevi desteklerinden ötürü Bursa Verem Savaş Derneği Yönetim Kurulu Başkanı Sn. Necdet ERECE'ye; Nilüfer Verem Savaşı Dernek Dispanseri çalışanlarına; katkılarından dolayı Dr. Timur YILDIZ'a; Osmangazi Merkez Verem Savaş Dispanseri Başhekimi Dr. Merter YOĞURTÇU'ya; kurumun değerli hekim ve çalışanlarına; Yıldırım Verem Savaş Dispanseri çalışanlarına sonsuz teşekkür ederim.

Asistanlığım süresince desteklerini esirgemeyen aileme ve eşim Güner'e çok şey borçluyum. Kendilerine teşekkür ediyorum.

ÖZGEÇMİŞ

Şubat 1974 doğumluyum. İlkokul, ortaokul ve lise öğrenimimi Hatay'ın Samandağ ilçesinde tamamladım. 1993 yılında Ege Ü. Tıp Fakültesi'nde tıp öğrenimime başladım. 1999'daki mezuniyetim sonrası, Kastamonu-Ağlı ve Hatay-Samandağ'da sağlık ocağı hekimi olarak çalıştım. 1 yıllık askerlik görevimi Osmaniye'de yerine getirdim. 25 Şubat 2005'ten beri, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları AD'nda asistan olarak çalışmaktayım.