

T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***ADAM19, FAM13A, IREB2* GENLERİ YAYGIN VARYANTLARININ KOAH  
YATKINLIĞI VE ŞİDDETİ İLE İLİŞKİSİ**

Dr. Merve YUMRUKUZ ŞENEL

Genetik Programı  
DOKTORA TEZİ

ANKARA  
2022



T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***ADAM19, FAM13A, IREB2* GENLERİ YAYGIN VARYANTLARININ KOAH  
YATKINLIĞI VE ŞİDDETİ İLE İLİŞKİSİ**

Dr. Merve YUMRUKUZ ŞENEL

Genetik Programı

DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Mehmet ALİKAŞİFOĞLU

ANKARA

2022

**ONAY SAYFASI****HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA TEZ BAŞLIĞI:** ADAM19, FAM13A, IREB2 Genleri Yaygın Varyantlarının  
KOAH Yatkinlığı ve Şiddeti ile İlişkisi

**Öğrencinin Adı ve Soyadı:** Merve Yumrukuz Şenel

**Danışman:** Prof. Dr. Mehmet Alikashifoğlu

Bu tez çalışması 08.06.2022 tarihinde jürimiz tarafından "Genetik Programı" nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

**İmza**

**Jüri Başkanı:** Prof. Dr. Koray Boduroğlu  
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.B.D.,Genetik

**Üye:** Prof. Dr. Eda Utine  
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.B.D.,Genetik

**Üye:** Prof. Dr. Zerrin Çelik  
Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik

**Üye:** Prof. Dr. Esra Tuğ  
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik

**Üye:** Prof. Dr. Serap Sivri  
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.B.D., Metabolizma

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

04 Temmuz 2022

Prof. Dr. Müge YEMİŞÇİ ÖZKAN

Enstitü Müdürü

## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan **“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”** kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi/ H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- o Enstitü/ Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. <sup>(1)</sup>
- o Enstitü/ Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ... ay ertelenmiştir. <sup>(2)</sup>
- o Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. <sup>(3)</sup>

08/06/2022

(İmza)

Öğrencinin Adı SOYADI

*Merve Yumrukuz Şenel*

<sup>1</sup>“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

(1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.

(2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullandığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulgular içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.

(3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarılan veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, tezin yapıldığı kurum tarafından verilir. Kurum ve kuruluşlarda yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlerle ilişkin gizlilik kararı ise, ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü veya fakültenin uygun görüşü üzerine üniversite yönetim kurulu tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.

Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

\*Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulutarafından karar verilir.

## ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynakgösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof. Dr. Mehmet Alikasıfoğlu danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

*Merve Yumrukuz Şenel*

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez sürecinde bilgi, birikim ve deneyimleri ile bana yol gösteren Tıbbi Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi değerli hocam, tez danışmanım Prof. Dr. Mehmet Alikaşifoğlu'na,

Doktora eğitimimde değerli ilgi ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım hocalarım, Çocuk Genetik Hastalıkları Bilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Eda Utine'ye, Prof. Dr. Özlem Şimşek Kiper'e ve Prof. Dr. Koray Boduroğlu'na,

Tez çalışmamın laboratuvar uygulamalarında desteğini esirgemeyen başta Bio. Serkan Kabaçam olmak üzere Genetik ailesine,

Tez çalışmamın yapılmasını sağlayan, projemize destek olan HÜTF Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne

Son olarak; bugünlere gelmemi sağlayan, benim için her fedakârlığı yapan, her zaman yanımda olan annem, babam, abim ve eşime

Teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

**Yumrukuz Şenel, M. ADAM19, FAM13A, IREB2 Genleri Yaygın Varyantlarının KOAH Yatkinlığı ve Şiddeti İle İlişkisi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 2022.** Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), kalıcı hava akımı kısıtlaması ile karakterize, çevresel etkenler ile genetik yatkinlik neticesinde gelişen, heterojen bir hastalıktır. Bu çalışmada KOAH ile güçlü seviyede ilişkilendirilmiş genler olan; *IREB2*, *FAM13A*, *ADAM19* yaygın polimorfizmleri ile KOAH yatkinlığı ve şiddeti ile ilişkisini incelemeyi amaçladık. İlk olarak GOLD'un KOAH tanımlamasına uygun olarak persistan hava akımı kısıtlaması olan toplam 110 hastanın klinik verileri elde edildi. Periferik kandan elde edilen DNA ve spesifik primerler ile PCR yapıldı ve sonrasında *ABI Prism 3500* cihazında Sanger dizileme yöntemi ile *ADAM19*, *FAM13A*, *IREB2* genleri dizi analizleri tamamlandı. *IREB2* rs2568494 GA genotipi ile KOAH hastalık yatkinlığı arasında anlamlı ilişki saptandı. *FAM13A* rs2869967 TC genotipi olanlarda solunum yetmezliği görülmesi riski 3.758 kat, mMRC  $\geq$  2olma riski 2.359, daha fazla olduğu görüldü. *FAM13A* TC olan hastalarda GOLD B+D oranı (%74,4), *FAM13A* TC olmayanlara göre (%55,2) anlamlı derecede yüksekti. *ADAM19* AG varyantı olanlarda istatistiksel anlamlı olarak FEV1 değerinin daha düşük seyrettiği, veriler değerlendirildiğinde *IREB2* heterozigot varyantın KOAH hastalığı ile ilişkisi olabileceği görüldü. *FAM13A* TC varyanta sahip bireylerde KOAH gelişmesi halinde daha semptomatik seyredebileceği görüldü. Benzer şekilde *ADAM19* rs1422795 AG genotipi ile hastalığa yatkinlik arasında ilişkisi saptanmadı ancak FEV1 değerlerinin hastalarda daha düşük olduğu tespit edildi. Bu çalışma sonucunda *ADAM19*, *FAM13A*, *IREB2* genlerinin KOAH patofizyolojisinde yer alabileceği gösterildi. Çalışmamızda gösterilen farklı yollardaki ilişkiler, KOAH heterojenitesini yansıtan yeni yolları belirlemek için çok önemlidir.

**Anahtar Kelimeler:** KOAH, *ADAM19*, *FAM13A*, *IREB2*

**Destekleyen Kuruluş:** Bu çalışma HÜTF Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (2019-17521).



## ABSTRACT

**Yumrukuz Senel, M. Relationship Between *ADAM19*, *FAM13A*, *IREB2* Genes Common Variants and COPD Susceptibility and Severity, Hacettepe University Graduate School of Health Science Doctor of Philosophy Thesis, Ankara, 2022.**

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a heterogenous disease characterized by persistent airway limitation caused by both genetic predisposition and environmental factors. In this study, we aimed to investigate relationship between *ADAM19*, *FAM13A*, *IREB2* genes previously detected common variants and COPD susceptibility and severity. The clinical data of 110 patients having persistent airway limitation according to COPD definition of GOLD were collected. PCR was performed with the DNA extracted from peripheral blood and specific primers. Then, patients were screened for *ADAM19*, *FAM13A*, *IREB2* genes common variants using Big Dye terminator on an ABI Prism 3500 genetic analyzer. COPD was significantly related with *IREB2* rs2568494 GA genotype. In the patients with *FAM13A* rs2869967 TC genotype, respiratory insufficiency risk was 3.758 fold increase, mMRC  $\geq 2$  risk was 2.359 fold increase. GOLD B+D rate was higher in the patients with *FAM13A* TC variant (74.4%) compared to the patients without *FAM13A* TC variant (55.2%). FEV1 measure was observed to be lower statistically in the patients with *ADAM19* rs1422795 AG genotype. *IREB2* heterozygote variant may be related with COPD. In case COPD developed in a person with *FAM13A* TC variant, the disease pattern may be more symptomatic. Similarly, it was detected that *ADAM19* heterozygote variant was not related with the disease susceptibility but FEV1 ratio was lower. As a result of this study it was shown that *ADAM19*, *FAM13A*, *IREB2* genes may be contributor of COPD pathophysiology. Furthermore, associations in different pathways investigated in our study are so important to identify new pathways reflecting COPD heterogeneity.

**Key Words:** COPD, *ADAM19*, *FAM13A*, *IREB2*

**Supported by:** This study was supported by Hacettepe University Faculty of Medicine Scientific Research Projects Coordination Unit (2019-17521).

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiii
TABLolar	xiv
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>4</b>
2.1. Akciğer Anatomisi ve Fizyolojisi	4
2.2. Akciğer Embriyolojisi ve Akciğer Gelişiminin Genetik Kontrol Mekanizmaları	7
2.2.1. Ventral-Dorsal Patern ve Trakeo-özefageal Ayrılma	9
2.2.2. Dallanma Morfogenezi: Bronşiyal Ağacın Gelişimi	9
2.2.3. Proksimal-Distal Düzenleme	10
2.2.4. Hava Yolu Farklılaşması	12
2.3. Akciğer Havayolu Hastalıkları-KOAH	12
2.3.1. Genel Tanım ve Epidemiyoloji	12
2.3.2. KOAH Risk Faktörleri	20
2.3.3. Patogenez	31
2.3.4. Patofizyoloji	32
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	<b>36</b>
3.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzeme, Çözelti ve Cihazlar	36
3.1.1. Periferik Kandan DNA Eldesi ve Kantitasyon	36
3.1.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve DNA Dizi Analizi	36
3.2. Hastaların Değerlendirilmesi	37
3.3. Periferik Kandan Genomik DNA Eldesi ve Kantitasyon	38

3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu	38
3.5. PCR Ürünlerinin Agaroz Jelde Yürütülmesi	39
3.6. PCR Ürünlerinin Pürifikasyonu	39
3.7. Genlerin Dizi Analizi	40
3.8. DNA Dizileme Ürünlerinin Pürifikasyonu	40
3.9. Gen Dizi Analizi Sonuçlarının Değerlendirilmesi	41
<b>4. BULGULAR</b>	<b>43</b>
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>49</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>58</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b>	<b>59</b>
<b>8. EKLER</b>	<b>67</b>
<b>EK-1: CAT (KOAHA Değerlendirme Testi)</b>	
<b>EK-2: mMRC (Modifiye Medical Research Council) Dispne Skalası</b>	
<b>EK-3: Etik Kurul İzin Belgesi</b>	
<b>EK-4: Orijinallik Raporu Örneği</b>	
<b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>	

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>μL</b>	Mikrolitre
<b>ADAM</b>	A Disintegrin And Metalloproteinase
<b>AFE</b>	Anterior Foregut Endodermi
<b>Bmp</b>	Bone Morphogenic Protein
<b>Bmpr1a</b>	Bone Morphogenic Protein Receptor 1a
<b>Bmpr1b</b>	Bone Morphogenic Protein Receptor 1b
<b>bp</b>	Base Pair
<b>BODE</b>	Vücut Kitle İndeksi, Hava Yolu Obstrüksiyonu, Dispne ve Egzersizkapasitesi
<b>BT</b>	Bilgisayarlı Tomografi
<b>CAT</b>	COPD Assesment Test
<b>CHARGE</b>	Chorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology
<b>CHRNA3/5</b>	Cholinergic Receptor Nicotinic Alpha 3/5
<b>Dkk-1</b>	Dickkopf-1
<b>DSÖ</b>	Dünya Sağlık Örgütü
<b>ECM</b>	Ekstraselüler Matriks
<b>EDTA</b>	Etilen-Diamin-Tetra-Asetik asit
<b>FAM13A</b>	Family with Sequence Similarity 13, Member A
<b>FEV1</b>	Forced Expiratory Volume in 1 Second
<b>Fgf</b>	Fibroblast Büyüme Faktörü
<b>FVC</b>	Forced Vital Capacity
<b>g</b>	Gravity
<b>GAP</b>	GTPase-Activating Protein
<b>GOLD</b>	Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease
<b>GWAS</b>	Genome-Wide Association Study
<b>HHIP</b>	Hedgehog Interacting Protein
<b>IREB2</b>	Iron Responsive Element Binding Protein 2
<b>IRP2</b>	Iron Regulatory Protein 2
<b>kDa</b>	KiloDalton

<b>KOAH</b>	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
<b>mg</b>	Miligram
<b>ml</b>	Mililitre
<b>mM</b>	Milimolar
<b>MMP</b>	Matrix Metallopeptidase
<b>mMRC</b>	Modified Medical Research Council
<b>mRNA</b>	Mesajcı RNA
<b>Nkx2.1</b>	NK2 Homeobox 1
<b>PCR</b>	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>RA</b>	Retinoik Asit
<b>Rho</b>	Ras Homologous
<b>Rpm</b>	Revolutions Per Minute
<b>SERPINA</b>	Serpin Peptidase Inhibitor Clade A, 1
<b>Shh</b>	Sonic Hedgehog
<b>Sn</b>	Saniye
<b>SNP</b>	Single Nucleotide Polymorphism
<b>Sox2</b>	SRY-Box Transcription Factor 2
<b>Tbx</b>	T-box transcription factor
<b>TGFB</b>	Transforming Growth Factor Beta
<b>TNF</b>	Tumor Necrosis Factor
<b>UV</b>	Ultraviyole
<b>V</b>	Volt
<b>Wnt</b>	Wingless

**ŞEKİLLER**

<b>Şekil</b>		<b>Sayfa</b>
<b>2.1.</b>	Solunum sistemi bileşenleri	4
<b>2.2.</b>	Hava yolu dallanması	5
<b>2.3.</b>	Akciğer gelişim evreleri	7
<b>2.4.</b>	Akciğer gelişiminde görülen sinyal yolları	11
<b>2.5.</b>	Yaş-standardize KOAH ilişkili ölüm oranları	14
<b>2.6.</b>	KOAH sınıflandırılma şeması	16
<b>2.7.</b>	Hafif, orta, konfluen, ileri derece destrüktif amfizem örnekleri	18
<b>2.8.</b>	Amfizem ve akciğer kanserinin ortak yolları	26
<b>2.9.</b>	KOAH ile ilişkilendirilen genlerin gösterimi	27
<b>2.10.</b>	<i>IREB2</i> geni rs2568494 bölgesi	28
<b>2.11.</b>	<i>FAM13A</i> rs2869967 bölgesi	29
<b>2.12.</b>	<i>ADAM19</i> rs1422795 bölgesi	31
<b>3.1.</b>	<i>ADAM19</i> , <i>FAM13A</i> , <i>IREB2</i> genleri normal dizilim örnekleri	41
<b>4.1.</b>	Varyantlara göre <i>FEV1</i> değerlerinin ortama $\pm$ standart sapma grafiği	47
<b>5.1.</b>	KOAH'a genetik yaklaşım	57

**TABLolar**

<b>Tablo</b>		<b>Sayfa</b>
<b>2.1.</b>	KOAH'da hava yolu darlığı ciddiyetinin sınıflandırılması	15
<b>2.2.</b>	KOAH'da görülen amfizem tipleri ve hava yolu değişiklikleri	17
<b>2.3.</b>	KOAH Risk Faktörleri	21
<b>2.4.</b>	KOAH ile ilişkili olabilecek genetik faktörler	25
<b>3.1.</b>	<i>IREB2</i> , <i>FAM13A</i> ve <i>ADAM19</i> gen varyantları için hazırlanan primerler	39
<b>3.2.</b>	<i>IREB2</i> , <i>FAM13A</i> ve <i>ADAM19</i> genleri PCR koşulları	39
<b>4.1.</b>	Hastaların klinik ve demografik verileri	44
<b>4.2.</b>	<i>IREB2</i> , <i>FAM13A</i> , <i>ADAM19</i> gen varyantları klinik dağılımı	45
<b>4.3.</b>	<i>IREB2</i> , <i>FAM13A</i> , <i>ADAM19</i> gen varyantlarının cinsiyet ve sigara içiciliğine göre dağılımı	48

## 1. GİRİŞ

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), persistan hava yolu obstrüksiyonu ile karakterize, genetik olarak kompleks bir hastalıktır (1). KOAH günümüzde önemli bir halk sağlığı problemi olup, yüksek mortalite ve morbiditeye sahiptir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre, KOAH dünyada ölüm nedenleri arasında 3. sırada yer almaktadır. En önemli etiyolojik sebebi sigara olup, çevresel ve genetik risk faktörleri etkisinde hastalık gelişmektedir.

Genetik yatkınlık araştırmalarında birçok aday gen araştırılmış olup, birbirinden farklı sonuçlar elde edilmiştir. Araştırılan popülasyon farklılıkları, hastalığın oldukça heterojen olması, çalışmalardaki örnek sayısının düşük olması net sonuç alınmasını zorlaştırmaktadır. Şimdiye kadar KOAH gelişimi için sadece alfa-1 antitripsin eksikliği, genetik risk faktörü olarak kanıtlanmıştır ve KOAH hastalarının %1-2'sinde saptanmaktadır (2). Bu nedenle KOAH riski ile ilişkili aday genlerin araştırılması oldukça önemlidir. Yapılan genom boyu ilişkilendirme çalışmalarında (GWAS) bazı genlerde görülen polimorfizmler ile KOAH arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmıştır. Bu polimorfizmler arasında; *IREB2* (15q25) geni polimorfizmi rs2568494, *FAM13A* (4q22.1) polimorfizmi rs2869967, *ADAM19* (5q32-33) polimorfizmi rs1422795 yer almaktadır. Vaka-kontrol çalışmalarında da KOAH ile tespit edilen polimorfizmler arasındaki ilişki araştırılmıştır.

*IREB2* geni insanda demir homeostazını düzenleyen bir gen olup yapılan çalışmalarda KOAH ile güçlü ilişkisi gösterilmiştir. *IREB2* geni 15q25 bölgesinde *CHRNA3/4/5* gibi genlerle birlikte yer almaktadır (3). Bu bölgenin akciğer kanseri, nikotin bağımlılığı ve KOAH ile ilişkisi tespit edilmiştir. Aynı zamanda, KOAH hastalarının akciğer dokularındaki *IREB2* ekspresyonu, kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür (4). Bu çalışmalar neticesinde *IREB2* geninin KOAH yatkınlığında rol alabileceği gösterilmiştir.

*FAM13A* proteini en önemli bölümü Rho-GAP domainin bulunduğu N-terminal uzantısıdır (5). Bu bölüm intraselüler sinyal iletim molekülü olan RhoA inhibe ederek tümör supresör aktivite gösterir. *FAM13A* geninde görülen genetik varyasyonların KOAH ve akciğer kanserine yatkınlık yapabileceği gösterilmiştir. Aynı



zamanda, *FAM13A* "knockdown" A549 insan akciğer kanseri hücrelerinde Wnt sinyalinin azaldığı gösterilmiştir (6). *FAM13A* geninin Wnt yolağını B-catenin aracılığıyla etkileyebileceği gösterilmiştir (7). Wnt yolağının santral molekülü, B-catenin özellikle havayolu ve alveolar epitel hücrelerinin tamirinde rol oynamaktadır. Rho GTPaz da akciğerde endotel bariyer fonksiyonunda yer almaktadır (8). Kronik akciğer hastalıklarında akciğer tamir mekanizmaları ve bariyer fonksiyonunda görülen bozukluklar genin KOAH patolojisinde yer alabileceğini göstermektedir (9).

*ADAM19*, ADAM (A Disintegrin and Metalloproteinase) endopeptidaz ailesinin bir üyesi olup birçok fonksiyonel *domaine* sahiptir (10). ADAM üyeleri "disintegrin" domaini bağlanma kapasitesi ile membran füzyonu, hücreler arası ve hücre matriks iletişiminin kontrolünde yer aldığı düşünülmektedir. *ADAM19* alveolar epitel hücreleri ile inflamatuvar hücrelerde eksprese olup, erken inflamatuvar cevap ve sürecin devamını sağlar. *Transforming growth factor beta1* (TGFB1) ekspresyonu uyarılır ve *tumor necrosis factor* (TNF) aracılığıyla proinflamatuvar aktivite artırılır. ADAM üyelerinin keşfedilen biyolojik aktiviteleri neticesinde hastalık gelişimindeki rollerinin araştırılması oldukça önemli hale gelmiştir. ADAM üyelerinin özellikle astım, KOAH ve akciğer kanseri gibi hastalıklarda rolü olabileceği düşünülmektedir (11, 12). GWAS çalışmalarını kapsayan bir meta-analizde *ADAM19* geni varyantları ile akciğer fonksiyonu arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (13).

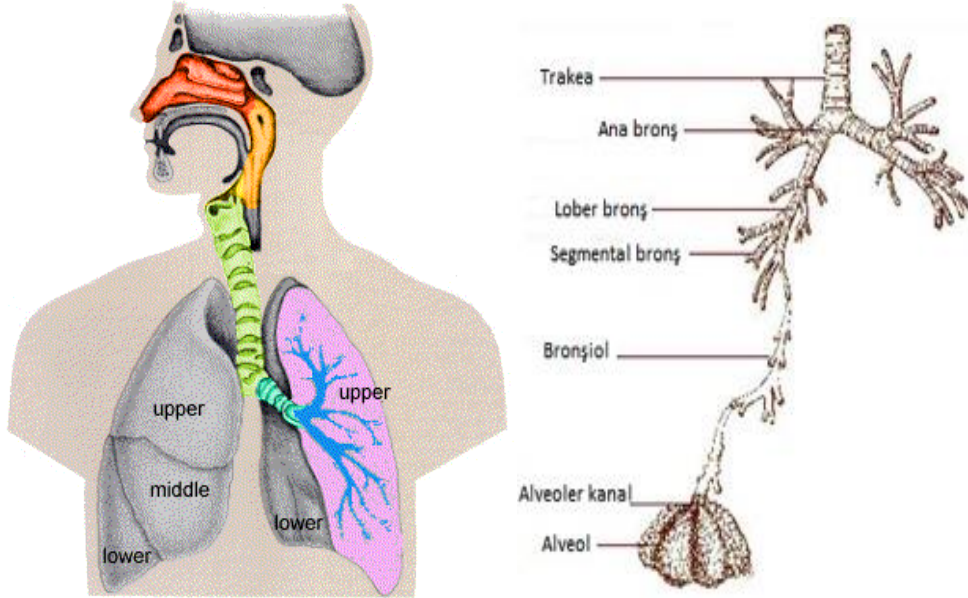
Bu tez çalışması kapsamında, klinik bulguları KOAH ile uyumlu 110 hasta değerlendirilmiştir. Literatürde bildirilen, hastalık yatkınlık ya da ciddiyetini etkileyebileceği düşünülen gen polimorfizmleri Sanger dizileme yöntemi ile hedefe yönelik olarak incelenmiştir. Hastaların seçilen üç gen için genotipleri belirlenerek KOAH kliniği ile ilişkileri araştırılmıştır. Hastaların solunum fonksiyon testleri, amfizem dereceleri, *Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease* (GOLD) dereceleri ve solunum yetmezliği gibi bulguları ile genotip arasındaki ilişki tartışılmıştır. Çalışmamız sonucunda KOAH heterojenitesini yansıtabilecek aday genler araştırılmış, KOAH patogenezinde yeni yollar belirlenmesi için yol gösterici olduğu düşünülmüştür. Ayrıca, KOAH hastalarında klinik izlem, genetik danışma, risk

değerlendirmesi ve prognozu öngörme, kişiye özel tedavi yaklaşımları açısından önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

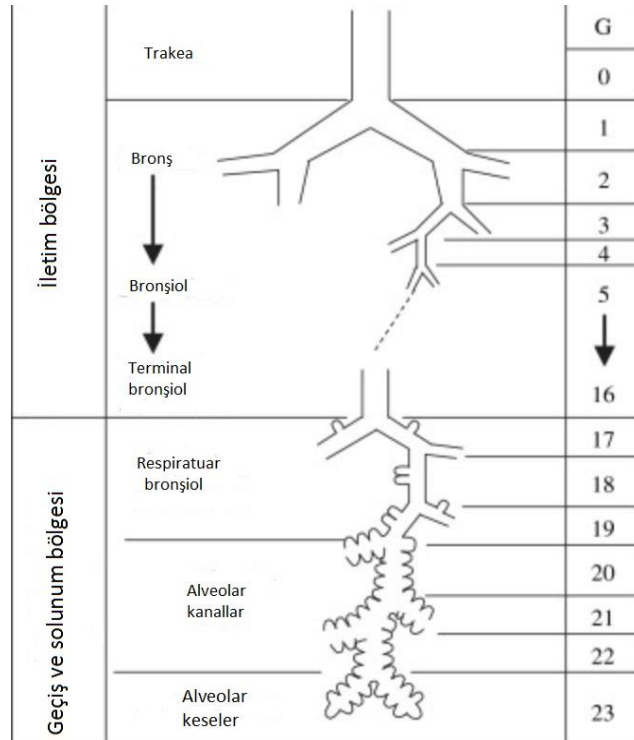
### 2.1. Akciğer Anatomisi ve Fizyolojisi

Solunum sistemi, yapı ve fonksiyonlarına göre iki gruba ayrılır. Bunlardan birincisi, havanın tidal ventilasyon sırasında akciğerlere girdiği ve çıktığı hava yollarından oluşan iletken bölgedir. İletken bölge burundan başlar; nazal kavite, farenks, larenks, trakea, bronş ve bronşiyollerini içine alır. İkincisi ise, solunum parankimi olup, hava ile kan arasındaki gaz alışverişinin gerçekleştiği bölgedir. Solunum parankimi, iletken bölgenin sonlandığı yerden itibaren, bronşiyoller, alveolar kanal, alveolar kese ve alveollerden oluşur (Şekil 2.1.).



**Şekil 2.1.** Solunum sistemi bileşenleri.

Hava yolları ortalama olarak 23 kez dallanmaya uğrayarak ikiye ayrılır ve en son alveolar kese ile sonlanır (Şekil 2.2.). Dallanan hava yollarının son 9 nesli gaz değişiminin gerçekleştiği alveollerle birleşir (14). Bu ikiye ayrılmış hava yolları küçüldükçe duvarındaki kıkırdak doku ve submukozal bez oranı da azalır. Bronşiyol lümenin sonunda alveoller mevcut ise solunum bronşiyölü, proksimalinde yer alan kısma ise terminal bronşiyol denir. Solunum bronşiyölü, gaz değişimi yani solunumun başlangıcını gösterir.



**Şekil 2.2.** Hava yolu dallanması. İlk 14 jenerasyon tamamen iletim bölgesi olup, 15. jenerasyon geçiş, sonrası ise solunum bölgesidir (14).

Trakea, larenksten başlayan tüp şeklinde bir organdır. Trakea ve bronşlar epitel ve lamina propria tabakalarından oluşan solunum mukozası ile kaplıdır. Büyük proksimal bronşlardan daha küçük distal bronşlara gidildikçe epitelyum psödokatmanlı silyalı kolumnar epitelden, basit silyalı kübik epitele doğru geçer. Trakeal mukozanın lamina propria kısmında çok sayıda seromüsinöz bez bulunur. Trakea'da submukozanın sıkı bağ dokusu trakea hyalin kıkırdakları ile devam eder. C şeklinde trakeal kıkırdak halka, arkaya doğru açılır ve düz kas halka duvarını tamamlar. Trakea karinada sağ ve sol ana bronşlara ayrılır. Bronş duvarında lamina propria üzerinde muskularis mukoza tabakası bulunur, bu tabakada düz kaslar birbirlerini çaprazlayacak şekilde düzenlenmişlerdir. Ayrıca bronşlarda trakeaya göre daha az sayıda seromüsinöz bez ve submukozal tabaka yer alır.

Hava yolları her seferinde ikiye ayrılarak giderek küçülür ve kıkırdak ve submukozal bez oranı azalır. Bronşiyollerde kıkırdak ve submukozal bez yoktur. Goblet hücreleri distale doğru sayıca azalmakta ve terminal bronşiyol seviyesinde kaybolmaktadır. Daha küçük hava yollarında mukus üretimi ve diğer fonksiyonlara sahip Clara hücreleri ortaya çıkmaktadır. Düz kaslar trakea ve büyük hava yollarında

bantlar ve spiral ağlar şeklinde bulunurken daha kk bronş ve bronşiyollerde aralıksız düz kas tabakası olarak hava yolunu çevrelemektedir. Distale doğru gidildikçe hava yolu boyutu azaldığı için düz kas oranı giderek artmakta ve terminal bronşiyol seviyesinde en yüksek oranda gözlenmektedir.

Alveolar kanallar ve bu kanalları çevreleyen alveoller, toplam alveolar yüzey alanının % 95'inden sorumlu tip 1 pnositlerden oluşan basit skuamöz epitel ile örtülüdür. Tip 1 hücreler arasında, alveolar yüzeyin % 5'inin oluşturan tip 2 pnositler dağınık olarak bulunur. Tip 2 pnositler sıklıkla alveol köşelerinde bulunur; yüzey gerilimini azaltan ve alveolar stabiliteyi artıran sürfaktan salgılar. Alveolar hava boşluğunda gerçekleşen gaz değişimi en fazla tip 1 pnositler vasıtasıyla olur. Akciğerlerde gerçekleşen gaz değişimi hava ve kan arasındaki oldukça ince bir bariyer aracılığıyla olur. Bariyer; kapillerdeki endotel yüzey, hava boşluklarındaki epitel yüzey ve bağ dokusunun yer aldığı interstisyel tabaka olmak üzere üç tabakadan oluşur. Bariyeri oluşturan tabakalar oldukça uzun ancak ince olarak gelişirler. Alveol duvarında geniş bir kapiller ađ bulunur ve bağ dokusu ile birbirine kaynamış durumdadır.

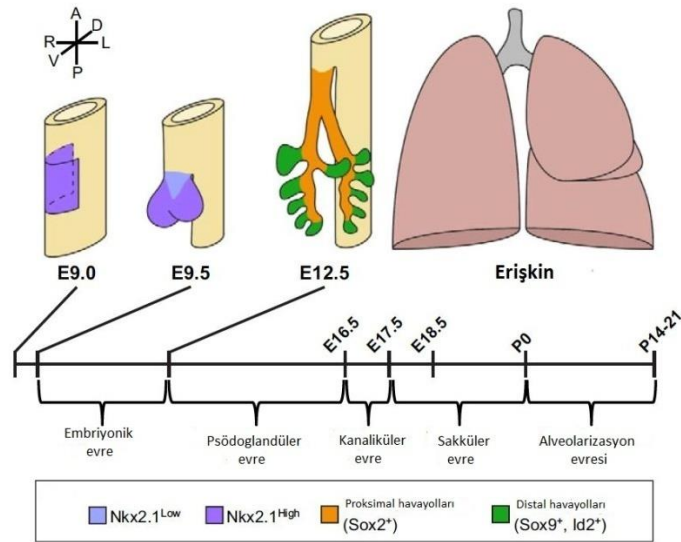
Akciğer parankimi sağ akciğerde iki fissür ile üst, orta ve alt lobları oluştururken; sol akciğerde üst ve alt loblar bir fissür ile birbirinden ayrılmaktadır. Akciğer lobları yapısal ve fonksiyonel olarak birbirlerinden bağımsız segmentlere ayrılır. Bronşiyoller ise alveol kanallarına ve birkaç alveole açılırlar ve bu yapı asinus olarak adlandırılır. Sekonder pulmoner lobül ise ortasında arter, lenf ve venin yer aldığı 3-6 asinustan oluşan ve bağ dokusu ile vrili akciğerin en kk parçasıdır.

Solunum sisteminin asıl görevi vücuda oksijen sağlamak ve hücrelerde oluşan karbondioksiti dışarı atmaktır. Gaz değişimi akciğerlerde gerçekleşmektedir. Akciğerlere hava giriş çıkışı, göğüs kafesi, solunum kasları, santral sinir sistemi ile motor ve duysal sinirlerin kontrolü aracılığıyla olmaktadır. Hava yolu açıklığının sağlanması gaz değişimi için oldukça önemli olup açıklığı sağlayan faktörlerden birisi kompliance'dir. İntratorasik hava yollarını çevreleyen akciğer parankiminin elastik recoil gücü, hava yollarının açık kalmasını sağlayan bir faktördür. Diğer faktör ise

hava yolu düz kasıdır. Hava yolu direnci, klinik pratikte spirometri ile değerlendirilen hava akım hızlarını belirleyen faktördür.

## 2.2. Akciğer Embriyolojisi ve Akciğer Gelişiminin Genetik Kontrol Mekanizmaları

Akciğerler trakea ile birlikte, solunum sistemi, özefagus, tiroid, karaciğer gibi birçok organın köken aldığı anterior foregut endoderminden gelişir (15). Akciğer spesifikasyonu anterior foregut'un ventral yüzündeki endoderm hücrelerinden eksprese olan Nkx2.1 transkripsiyon faktörü ile başlar (Şekil 2.3.). Bu epitelyum hücreleri çıkıntı yapması sonucu trakea ve iki akciğer tomurcuğu oluşur. Bu dönemde trakea, özefagustan tamamen ayrılır. Embriyonik ve psödoglandular evre döneminde iki akciğer tomurcuğu dallanma morfogenezi olarak adlandırılan hava yollarını oluşturur. Bu evreyi kanaliküler ve sakküler evreler izler, terminal dallar bu dönemde ilerde alveollere gelişecek olan epitel kese kümeleri oluşur. Alveollerin tamamen olgunlaşması ise alveolar evrede olur.



**Şekil 2.3.** Akciğer gelişim evreleri (15). Akciğer endoderm spesifikasyonu embriyolojik 9. günde (E9.0), Nkx2.1 ekspresyonunun başladığı anterior foregut endoderminden ventral yüzünde (sarı) başlar. E9.5-E10.0'da trakea gelişimi görülür ve akciğer gelişiminin embriyolojik evresi başlar ve E12.5'de sonlanır. Akciğer gelişiminin diğer evreleri ve zamanlaması şekilde gösterilmiştir.

Respiratuar sistem spesifikasyonunun ilk göstergesi insanda gestasyonun 28. gününde, anterior foregut endoderminde (AFE) bir transkripsiyon faktörü olan Nkx2.1 ekspresyonu ile başlar. Çalışmalar bu evrede Wnt sinyal yolağının oldukça önemli olduğunu göstermiştir. Wnt2 ve Wnt2b, endoderm progenitörlerin bulunduğu endodermi çevreleyen ventral anterior mezodermden eksprese olur. Wnt2/2b null mutantlarda akciğer endoderm progenitörleri ile Nkx2.1 yokluğu neticesinde trakea ve akciğer dallanmasının gelişmesi sağlanmadığı gösterilmiştir (16). Aynı fenotip AFE'de B catenin yokluğunda da gelişir.

Wnt sinyali akciğer spesifikasyonunda tek başına rol almaz; Bmp (*Bone Morphogenic Protein*) sinyali ile bağlantılı olarak Wnt/B catenin sinyali respiratuar endoderm progenitörlerini aktive eder (17). Bmp4, anterior foregut'ı çevreleyen ventral mezenkimden eksprese olur. Bmp sinyalinin olmaması durumunda trakeal agenez görülmüştür. Bmp sinyali, transkripsiyon faktörü Sox2'i baskılayarak Nkx2.1 ekspresyonuna izin vererek rol alır. Bu nedenle akciğerin erken spesifikasyonu ve gelişiminde Wnt ve Bmp sinyalleri gerekmektedir.

Vitamin A türevi retinoik asit (RA), Fgf10'un akciğer gelişiminde önemli düzenleyicilerinden birisidir (18). Vitamin A eksikliği ya da genetik sebeplerle RA sinyalizasyonunda görülen aksaklıklar akciğer agenezi gibi çeşitli gelişimsel defektlerle sonuçlanır. Foregut mezoderminde RA sinyali, Wnt inhibitörü Dkk1'i baskılayarak, Wnt yolağının aktivasyonunu sağlar. RA aynı zamanda TGF-B sinyalini de inhibe eder. Wnt ve TGF-B dengeli aktivasyonu neticesinde mezodermal Fgf10 ekspresyonu sağlanır.

Akciğer gelişiminin erken basamaklarında görülen önemli regülatörlerden diğerleri ise T-box ve Gli transkripsiyon faktörleridir (14). Birçok T-box genleri foregutta eksprese olur ve özellikle Tbx2-Tbx5 akciğer mezenşim dokusunun gelişiminde rol almaktadır. Tbx4-Fgf10 akciğer progenitörlerinde Nkx2-1 regülasyonunu sağlamaktadır. Gli 1, 2, 3 foregut mezoderminde ve akciğer mezenşiminde erken dönemde saptanan sonic hedgehog (Shh) sinyalinin transkripsiyon efektörüdür.

### 2.2.1. Ventral-Dorsal Patern ve Trakeo-özefageal Ayrılma

Endodermde Nkx2.1 ekspresyonu olurken (respiratuar progenitörler), dorsal bölgede Sox2 ve P63 ekspresyonu olur ve ventral-dorsal hücrelerin kaderi belirlenir (14). Ventral-dorsal patern oluşmasında Bmp yolağı da önemlidir. Bmp4 ventral foregut mezenşiminde eksprese olurken, antagonisti Noggin dorsal endodermde bulunur. Bmpr1a ve Bmpr1b reseptör delesyonu, Sox2 ile işaretlenmiş dorsal hücre popülasyonunun genişlemesine neden olur ve bu durum sonucunda trakeal agenez ve akciğer tomurcuklarının ektopik yerleşimleri ile sonuçlandığı görülmüştür (17).

Akciğer ve trekea primordiumu oluşurken, foregut posteriordan anteriora doğru trakeoözefageal septum uzanır ve sindirim sistemi ve solunum sistemi birbirinden ayrılır. Bu bölgelerin ayrılmasında sorun olması halinde oldukça morbid bir durum olan trakeoözefageal fistül ile sonuçlanır.

### 2.2.2. Dallanma Morfogenezi: Bronşiyal Ağacın Gelişimi

Ana bronş ve hava yollarının gelişmesinin başlangıcındaki erken tomurcuklar etrafını çevreleyen mezenkime doğru ilerler ve dallanma morfogenezi başlamış olur (15). Dallanma morfogenezi hava yollarının gelişimi ile birlikte terminal alveolar yapıların oluşumu için oldukça önemlidir. Bu evrede endoderm ve mezoderm arasında gerçekleşen sinyalizasyon hava yollarının gelişmesi için önemlidir. Fibroblast büyüme faktörü (Fgf) sinyali, özellikle Fgf10'dan gelişmekte olan endodermdeki Fgf2'ye, dallanma morfogenezinde zorunludur ve yokluğunda dallanma gerçekleşemez. Fgf10 ekspresyonu distal akciğer mezenkiminde belli bölgelerde görülür ve Bmp4 ve Shh'nin de bulunduğu sinyal yolları ile düzenlenir.

Çıkıntı yapan tomurcukta bulunan Fgf10 dengesi sisteinden zengin protein ailesi Sprouty (Spry) tarafından düzenlenir (14). Distal akciğerde, Spry2 ve Spry4 sırasıyla epitel ve mezenşimde eksprese olur. Spry2, Fgf aracılı tirozin kinaz sinyal aktivasyonunu negatif yönde etkileyerek tomurcuk gelişimini inhibe eder.

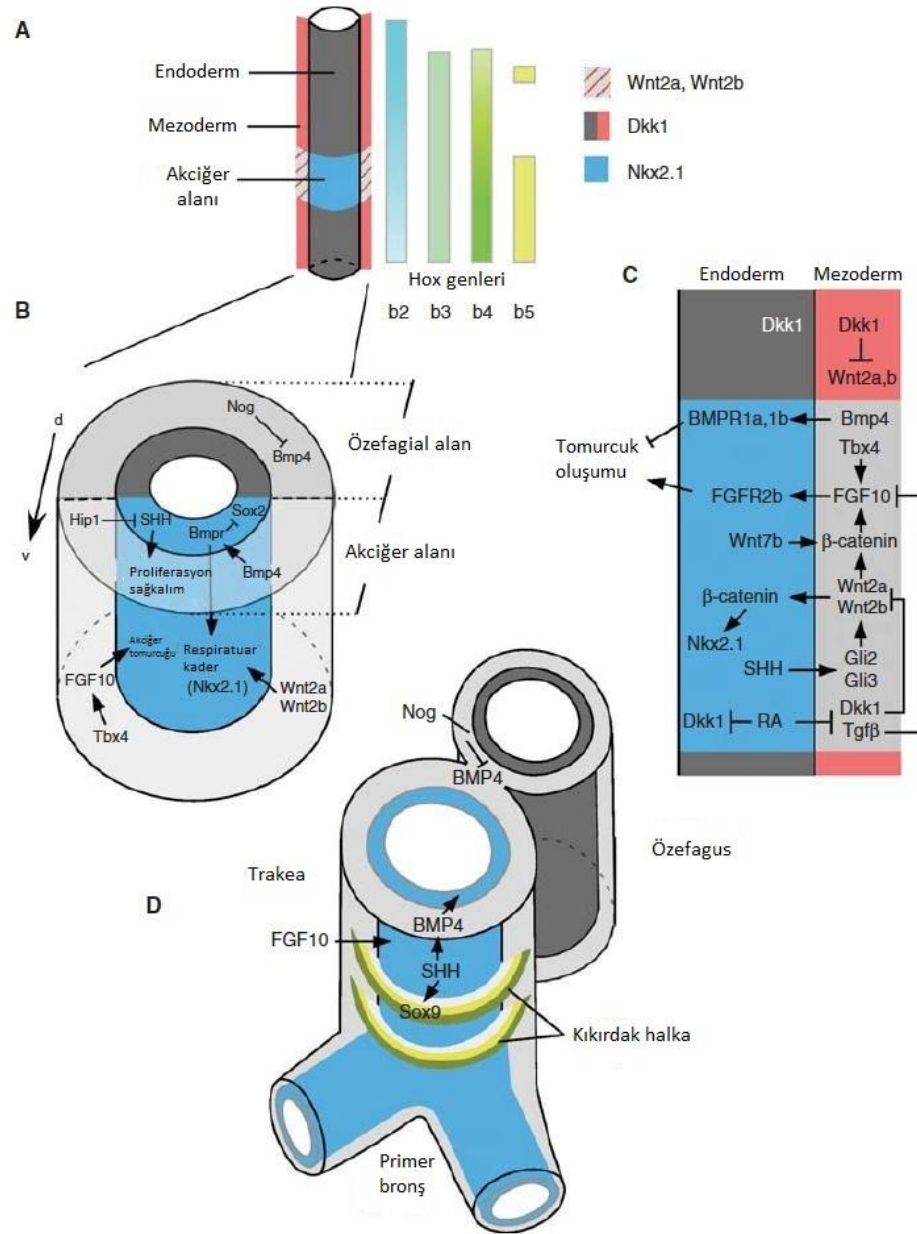
Hava yollarının dallanmasında bir diğer mekanizma yarıkların oluşmasıdır. Yarık oluşumu TGF-B sinyalinin mezenşimdeki lokal aktivitesi ile ilişkilendirilmiştir. Fgf10 ekspresyonu baskılanarak ekstraselüler matriks (ECM) bileşimlerinin sentezi



indüklenir. Embriyonik akciğerin rekombinan TGF-B1 maruziyeti sonucu dallanma morfogenezi inhibe olur. Bu durum TGF-B1'in büyümeye karşı negatif etkisi ile ilgilidir.

### **2.2.3. Proksimal-Distal Düzenleme**

Akciğer gelişimi sırasında epitelyal progenitörlerin proksimal-distal yöndeki kaderi dallanma morfogenezi ile yakın ilişkidir (14). Yeni gelişen tomurcukların distal kesimlerinde Bmp4 ve Sox9 yüksek oranda bulunur, Sox2 eksprese olan daha proksimal kesimlerde ve sap kısımlarında *down-regüle* olur. Wnt ve Bmp sinyali proksimal-distal hücre kaderinde ana regülatörler olarak düşünülmektedir.



**Şekil 2.4.** Akciğer gelişiminde görülen sinyal yolları (19). A, mezenşimal ve endodermal moleküller. B, akciğer tomurcuğu oluşmasını düzenleyen sinyal molekülleri ve anahtar transkripsiyon faktörleri. C, akciğer tomurcuğu oluşmasını düzenleyen sinyal yolları. D, trakea ve özefagus morfogenezini düzenleyen sinyal molekülleri.

#### **2.2.4. Hava Yolu Farklılaşması**

Psödoglandular evrenin ortasında, proksimal hava yollarındaki epitelyal hücreler bazı belirteçler eksprese etmeye başlar; sekretuar Clara hücreleri (sekretoglobulin Scgb3a2), silialı (Foxj1), nöroendokrin (bltb transkripsiyon faktörü Ascl1) ve epitel progenitor hücrelerin farklılaşması başlar (14).

Clara hücreleri ile bazal hücreler kendi kendilerini yenileme ve silialı hücreleri oluşturabilme yetenekleri nedeni ile akciğerin progenitor hücreleri olarak düşünülmektedir. Notch sinyali Clara hücrelerinin gelişimi için kritik olup, hava yollarındaki diğer hücre tiplerinin dengesini sağlamaktadır. Embriyonik dönemde akciğer dokusunda görülen Notch aktivasyonu, silialı hücre sayısında azalma, sekretuar goblet hücrelerinde artışa neden olur. Postnatal dönemde Notch, clara hücrelerinin fenotipinin sağlanması ve goblet hücre metaplazisine gitmesini engeller. KOAH'lı hastalarda Notch yolağının bileşenlerinin azaldığı, mukus metaplazisi tespit edilmiştir (20). Goblet hücre farklılaşması Spdef ve Foxa2 gibi transkripsiyon faktörleri ile kontrol edilir.

### **2.3. Akciğer Havayolu Hastalıkları-KOAH**

#### **2.3.1. Genel Tanım ve Epidemiyoloji**

KOAH, GOLD 2020 rehberine göre önlenemez ve tedavi edilebilir, oldukça yaygın bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (1). GOLD rehberine göre KOAH, zararlı partikül ve gazlara önemli derecede maruziyet sonrası gelişen alveol ya da hava yolu düzeyindeki değişimler sonucu gelişen hava yolu limitasyonu ve persistan respiratuar semptomlarla karakterize bir hastalıktır.

Dünya'da 2015 yılı itibariyle kayıtlı olarak 7.3 milyar insana ev sahipliği yapmaktadır. Nüfus bilimciler popülasyon artışı, hijyenik şartlar iyileştikçe, yaşlanma ve sigara ile ilişkili KOAH gibi kronik durumların artışa geçeceğine vurgu yapmaktadırlar (21).

KOAH dünyada önemli sağlık problemlerinden biridir, prevalansın gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde giderek arttığı bilinmektedir. KOAH prevalansına yönelik

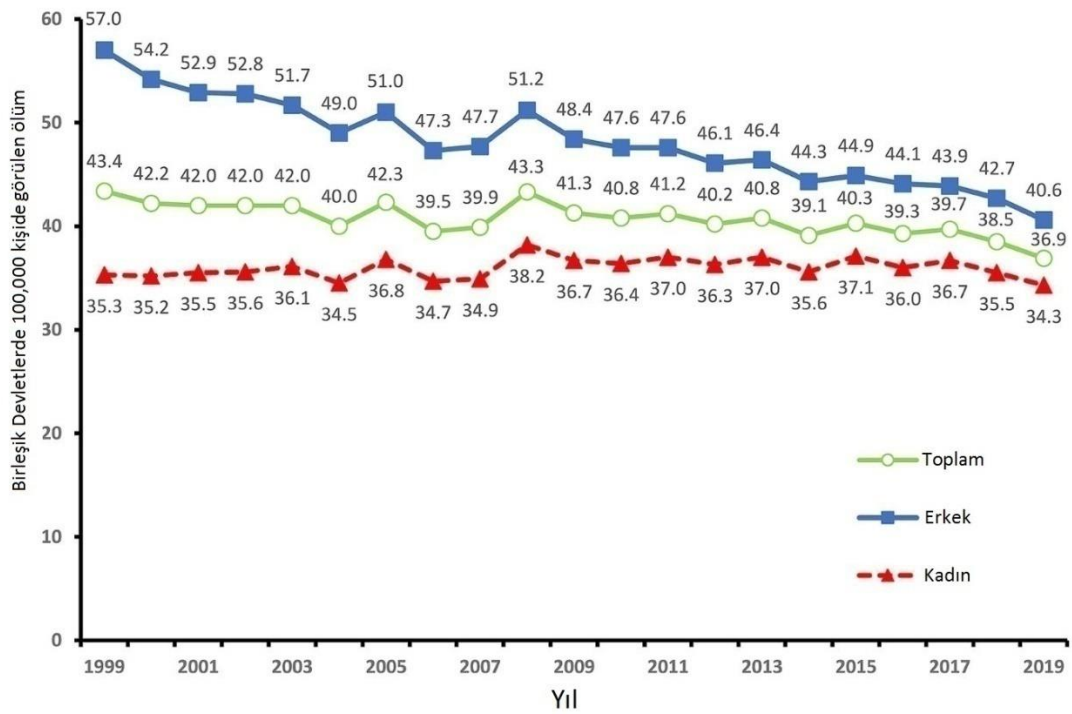
yayınlar 1980'lere kadar çok yapılmasa da, hastalığın popülasyon düzeyinde coğrafi ve geçici dağılımını bilmek, sağlık sistemi kaynaklarını iyi yönetebilmek açısından oldukça önemlidir. KOAH prevalans çalışmalarında doğru sonuçlar elde etmek için ilk adım vaka tanımlaması yapılmasıdır. Özellikle vaka tanımında sabit FEV1/FVC oranı ya da *lower limit of normal* (LLN) kullanılıp kullanılmayacağı ile pre-post bronkodilatör değerlerin kullanılması sonuçları etkileyebilmektedir.

"*The Global Burden of Disease Study*" sonuçlarına göre dünyada, 2016 yılında KOAH prevalansı 251 milyon vaka olarak rapor edilmiştir (22). DSÖ verilerine göre, KOAH dünyada ölüm nedenleri arasında 3. sırada yer almaktadır. Yüksek morbidite ve mortaliteye sahip, önemli bir toplum sağlığı sorunudur (1). KOAH prevalansı ülkelere, coğrafi bölgeye, yaşam tarzına, sosyokültürel yapıya, yaş ve cinsiyete göre farklılıklar göstermektedir. Ülkemizde KOAH prevalansı ile ilgili yapılan çalışmalar kısıtlıdır. 2008 yılında yayınlanan bir çalışmaya göre 1160 vaka incelenmiş ve 40 yaş üstü sigara kullanmakta olanlarda KOAH prevalansı %18,1; genç sigara içen grupta ise %4,5 olarak belirtilmiştir (23).

Sigara içme oranlarında azalma, ekonomik ilerleme, hijyenik şartlarda iyileşme olması ve solunum ilaçlarına ulaşımın artmasına rağmen dünya çapında KOAH'a bağlı ölümlerin artması beklenmektedir (21). Hindistan ve bazı Afrika ülkelerinde ölüm oranları batı ülkelerine göre daha fazla görülmektedir. Yaş-standardize ölüm oranlarına bakıldığında ise Güney Asya ve Sub-Saharan Afrika gibi düşük gelirli ülkelerde ölüm oranlarının en yüksek olduğu görülmektedir. Bu bölgelerde hava yolu obstrüksiyonundan ziyade sigara içme oranı oldukça yüksektir. Amerika Birleşik Devletlerde yaş-standardize ölüm oranlarının verildiği grafik eklenmiştir (Şekil 2.5.).

Dünyada ölüm nedenleri incelendiğinde en sık 10 nedenden 5'inin respiratuar durumlar nedeni ile olduğu görülmektedir (21). KOAH 1990'da 4. sıradayken, 2010 yılında iskemik kalp hastalıkları ve inme'den sonra 3. sıraya yükselmiştir. Dünya çapında 2020 yılında 68 milyon ölüm görüleceği, 11.9 milyon ölümün akciğer hastalıkları (4.7 milyon KOAH, 2.5 milyon pnömoni, 2.4 milyon tüberküloz, 2.3 milyon akciğer kanseri) nedeni ile olacağı tahmin edilmiştir (24).

*Global Burden of Disease (GBD)* çalışmalarında yılda en az 2.9 milyon ölüm KOAH nedeni ile olduğu tahmin edilmiştir. Aynı zamanda GBD, KOAH'ın 1990'da 6. en sık ölüm nedeni, 2000'den beri ise 4. sırada olduğu, 2020'de 3. sırada olacağı tahmin etmiştir.



**Şekil 2.5.** Yaş-standardize KOAH ilişkili ölüm oranları. Birleşik Devletler, 1999-2019. ölüm oranları 100.000 kişide görülen ölüm oranlarıdır (www.cdc.gov).

KOAH'ın ülkelere ekonomik yükü de oldukça yüksektir. KOAH'ın ekonomik yükünü belirleyen en önemli faktörler; hastalığın ciddiyeti, sık atak geçirilmesi ve hastaların büyük çoğunluğunda olan komorbiditelerin varlığıdır (1). Sağlık hizmetleri ile ilişkili giderlerin büyük oranını ataklar nedeni ile hastaneye yatışlar oluşturmaktadır ve Birleşik Devletlerde yıllık direk 18 milyar dolar gidere denk gelmektedir (21). Bu veriler atakların önlenmesi, komorbidite gelişme riskinin düşürülmesi ve hastalık ilerlemesinin geciktirilmesinin oldukça önemli hale geldiğini göstermektedir.

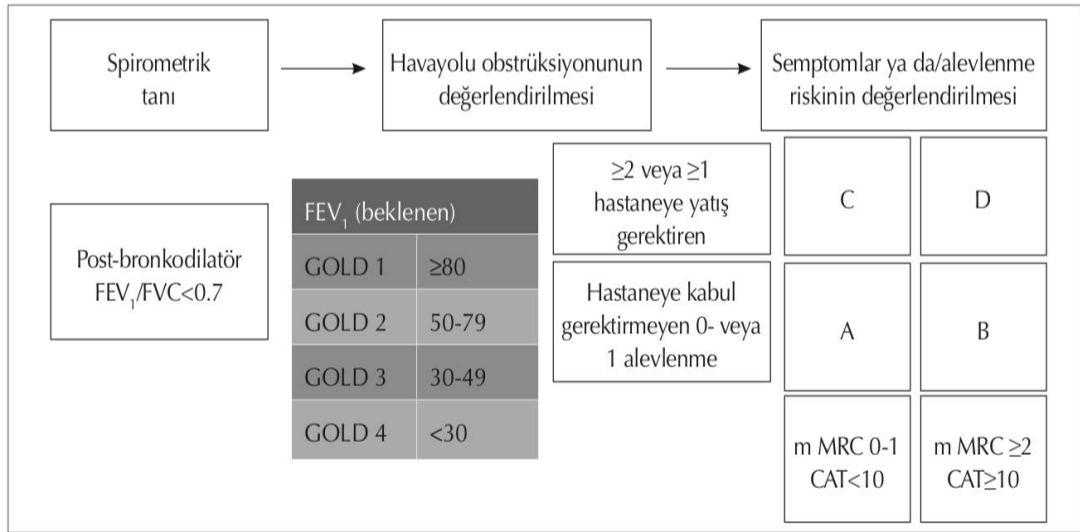
KOAH hastalarında semptomlar ve semptomların ciddiyeti değişkenlik göstermekle birlikte, eforla gelişen dispne, kronik öksürük ve balgam çıkarma şikayetleri oldukça yaygındır. Yapılan bir çalışmada nefes darlığı görülen en sık

semptom olarak belirtilmiş aynı zamanda semptomatik hastaların %62,7'sinde gün içinde ve/veya hafta içinde semptomların değişkenlik gösterdiği, sabah saatlerinin en kötü zaman olduğu belirtilmiştir (25). Bu semptomlarla başvuran, risk faktörlerine sahip her hastada spirometrik test uygulanmaktadır. Semptomlarla birlikte spirometride gösterilen hava yolu darlığı KOAH tanısı koymak için gerekmektedir (1). Bronkodilatör sonrası birinci saniye zorlu ekspiratuar volüm (FEV1) ile zorlu vital kapasite (FVC) oranı 0,70 altında olması persistan hava yolu darlığının göstergesidir. Hava yolu darlığı derecesini belirlemek için bronkodilatör sonrası elde edilen FEV1 değeri kullanılmaktadır (Tablo 2.1.).

**Tablo 2.1.** KOAH'da hava yolu darlığı ciddiyetinin sınıflandırılması

<b>GOLD 1</b>	Hafif	FEV1 $\geq$ % 80
<b>GOLD 2</b>	Orta	%50 $\leq$ FEV1 $<$ % 80
<b>GOLD 3</b>	Ciddi	%30 $\leq$ FEV1 $<$ % 50
<b>GOLD 4</b>	Çok ciddi	FEV1 $<$ % 30

KOAH sınıflandırılması ise semptomların belirlenmesi ve risk değerlendirilmesini kapsamaktadır (14). Semptomlar standardize edilmiş anketler [*COPD Assessment Test (CAT)* ve *Modified MRC Dyspnea Scale (mMRC)*] ile yapılırken, risk değerlendirmesi hastanın atak sıklığı ve hava yolu darlık derecesi ile belirlenmektedir. mMRC dispne skalası nefes darlığı derecesini basit bir şekilde ölçmeye yarar ancak hastanın sağlık durumunu daha kapsamlı gösteren CAT'in de sınıflandırmada kullanılması önerilmektedir (26). Buna göre hastalar dört kategoriye ayrılmaktadır; Grup A, Grup B, Grup C ve Grup D (Şekil 2.6.).



**Şekil 2.6.** KOAH sınıflandırılma şeması (27).

KOAH değerlendirme ve tanı aşamasında kullanılan diğer yöntemlerden biri de radyolojik görüntülemedir (1). Akciğer radyolojik görüntülemesi, KOAH tanısında rutin kullanılan bir yöntem olmamakla birlikte özellikle plevral hastalıklar, bronşektazi, pulmoner fibrozis gibi pulmoner; aynı zamanda kardiyak ve iskelet sistemi komorbid durumlarının değerlendirilmesinde oldukça değerlidir. KOAH'ın kendi içinde oldukça heterojen olduğu göz önünde bulundurulduğunda, hastaların klinik karakterizasyonunda ve hasta yönetiminde radyolojik görüntüleme yöntemlerinden faydalanılmaktadır.

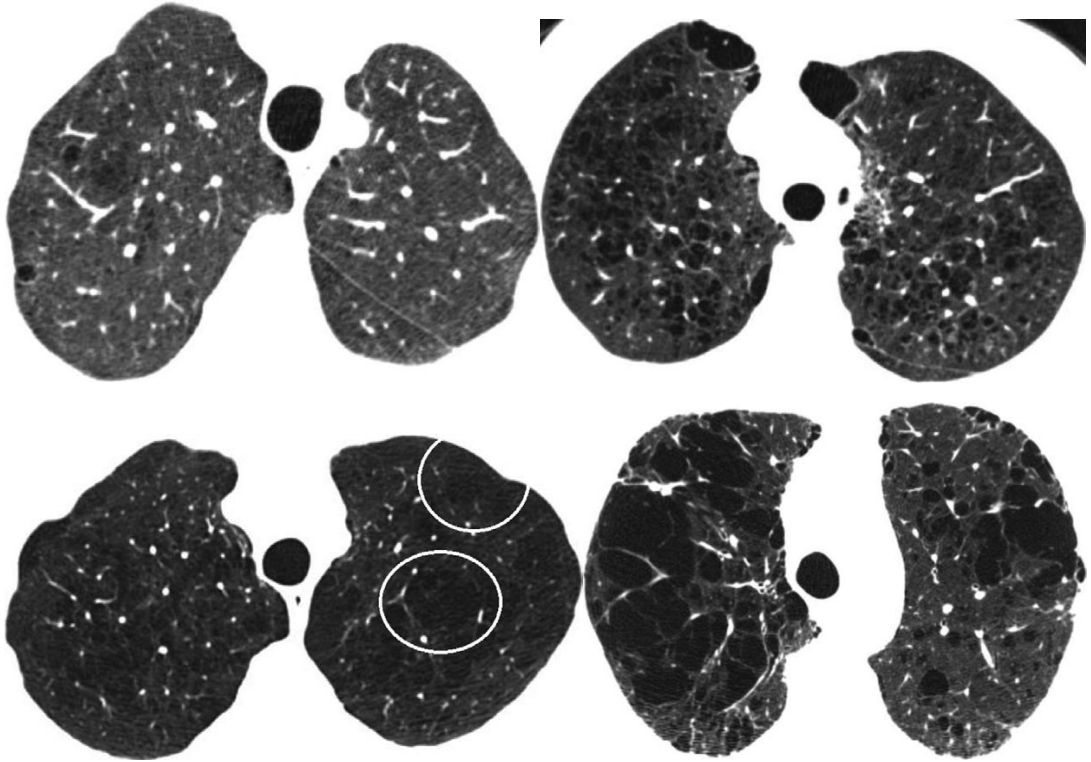
KOAH'da görülen hava yolu değişiklikleri ile amfizematöz yıkım fenotipleri görsel olarak sınıflandırılmıştır (Tablo 2.2.). Amfizem terminal bronşiyolün distalinde bulunan hava boşluklarının anormal ve kalıcı olarak büyümesi ile karakterize, duvarlarında yıkımın eşlik ettiği bir durumdur. Hava yolları duvarında yıkım olmaması halinde *overinflasyon* olarak ifade edilmektedir.

**Tablo 2.2.** KOAH'da görülen amfizem tipleri ve hava yolu değişiklikleri (28)

<b>Amfizem</b>	
<b>1. Sentrilobüler Amfizem:</b>	Dominant olan patern ifade edilmelidir.
i)	İz Sentrilobüler Amfizem (CLE): Minimal lusensi alanları varlığında, bir akciğer zonunun < % 0,5'ini kaplayan lusensi varlığında.
ii)	Hafif CLE: Dağınık lusensi alanları, genellikle büyük normal akciğer alanları ile birbirinden ayrılmıştır, bir akciğer zonunun % 0,5-5'ini kaplayan lusensi varlığında.
iii)	Orta CLE: % 5'inden fazlasını kaplayan lusensi varlığında.
iv)	Konfluen CLE: Birleşmiş sentrilobüler ve lobüler lusensiler, birçok alanda lusensi mevcut ancak arada birkaç sekonder pulmoner lobülde yoktur, sekonder pulmoner lobüllerde genişleme ya da yapıda bozulma olmaz.
v)	İleri Derecede Destruktif Amfizem: Sekonder pulmoner lobüllerin ileri derecede genişlemesi ve pulmoner yapının bozulması, panlobüler lusensiler.
<b>2. Panlobüler amfizem:</b>	Alfa1 antitripsin eksikliği ile ilişkilidir; nerdeyse tüm asinusun yıkımı ile alt lob baskın patern mevcuttur.
<b>3. Paraseptal amfizem:</b>	
i)	Hafif Paraseptal Amfizem (PSE): Küçük (<1 cm), plevranın hemen yanında sınırları belirli, yuvarlak lusensiler, plevral sınırın kenarı boyunca lusensiler.
ii)	Büyük PSE: Daha büyük (>1 cm), plevra yanında kist benzeri lusensiler ya da bül mevcuttur.
<b>Hava Yolu Hastalığı</b>	
Hava yolu hastalığı tüm amfizem tiplerinde yaygındır, fakat amfizem yokken de bulunabilir.	
i)	Bronşiyal Hastalık: Segmental ve subsegment hava yollarının duvarlarında kalınlaşma
ii)	Küçük Hava Yolu Hastalığı (SAD): İnflamatuvar SAD, BT görüntülerinde periferik sentrilobüler mikronodüler opasiteler olarak tespit edilebilir. Obstrüktif SAD, ekspiratuvar BT'de hava hapsi olarak görülür, ya da amfizem yokken FEV1/FVC<0,7 olması halinde tespit edilebilir.
<b>Diğer İlişkili Durumlar</b>	
i)	Büyük Hava Yolu Hastalığı: Trakeobronkomalazi, trakeobronşiyal divertikül
ii)	İnterstisyel Akciğer: Yamasal buzlu cam alanları, hafif subplevral retiküler lezyonlar
iii)	Pulmoner Arter Genişlemesi: Pulmoner arterlerde görülen genişleme, pulmoner hipertansiyonu düşündürmektedir, ileri dönem KOAH'da görülür.
iv)	Bronşiektazi



KOAH'da geri dönüşümü olmayan yapısal pulmoner değişiklikler görülür. Bu değişiklikler parankimal yıkım (amfizem), büyük hava yolu yeniden yapılanması ve akciğer küçük hava yollarının azalması olarak sıralanabilir. Amfizem terminal bronşiyol distalinde bulunan asinoslarda görülür. Asinusun hangi bölgesinde amfizem görüldüğü tipini belirler. Fleishner topluluğu tarafından yapılan sınıflama ve derecelendirme Tablo 2.2.'de gösterilmiştir. Bilgisayarlı Tomografi (BT) özellikle amfizem tespit ve derecelendirilmesinde oldukça geçerli bir yöntemdir.



**Şekil 2.7.** Hafif, orta, konfluen, ileri derece destrüktif amfizem örnekleri (28). Beyaz halkalarla gösterilen resimde konfluen amfizem örneği verilmiş olup, bazı sekonder pulmoner lobüller atlanmıştır.

Amfizem ve hava yolu obstrüksiyonu arasındaki ilişkinin zayıf olduğu daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (29). KOAH olan hastalarda hafif hava yolu obstrüksiyonu halinde bile amfizem görülebilmektedir. Bu durum hastalığın fenotipi için yol gösterici olabilir. Ciddi düzeyde görülen amfizem; daha kötü sağlık durumu, daha yüksek BODE (vücut kitle indeksi, hava yolu obstrüksiyonu, dispne ve egzersiz kapasitesi) indeksi, hastalık prognozu için belirteç, daha yüksek sayıda atak ve daha hızlı hastalık progresyonu için bağımsız bir göstergedir (30). Ayrıca hastalarda

görülen amfizem tipi de bu durumda önemli olabilir (31, 32). Sentrilobüler amfizem tipi olan hastalarda, panlobüler tip olanlara göre, küçük hava yollarında daha yüksek derecede inflamasyon görülmüştür ve bu durum, küçük hava yollarında kalınlaşma ve daha ciddi düzeyde bronşiyal aşırı cevapla ilişkilidir.

KOAH hastalarında karakteristik olan kronik hava yolu obstrüksiyonu, çoğunlukla amfizem ve küçük hava yolu hastalığının kişiden kişiye değişen oranlarda bir araya gelmesi sonucu görülmektedir (1). Bu değişiklikler zaman içinde hep birlikte görülmez ancak, değişen oranlarda birarada gelişmektedirler. Kronik inflamasyon küçük hava yollarında yapısal değişikliklere yol açarak daralmasına ve akciğer parankiminde yıkıma neden olur. Bunun neticesinde alveoller ile küçük hava yolları bağlantıları yıkıma uğrar ve akciğer elastik recoil kabiliyeti azalır. Recoil kabiliyeti azalması sonucu ise hava yolları ekspiryum sırasında açık kalma kabiliyeti azalmaktadır.

Küçük hava yolları kaybının da katkı sağladığı hava yolu obstrüksiyonu ve mukosilyer aktivitenin azalması hastalığın karakteristik özelliklerini oluşturmaktadır (1). Hava yolu obstrüksiyonu oldukça yaygın olarak kullanılan bir yöntem olan spirometri ile ölçülebilmektedir. Ancak spirometride daha çok değerlendirilen FEV1 ve FVC değerleri büyük hava yollarındaki obstrüksiyonu yansıtmaktadır ve KOAH'lı hastalarda semptom ve hayat kalitelerinde görülen varyasyonun bir kısmını açıklamaktadır (33). Hogg ve ark. yaptığı çalışmada KOAH olan hastalarda küçük hava yollarında daha yüksek oranda inflamatuvar hücre bulunması daha ciddi düzeyde hava yolu obstrüksiyonu ile ilişkilendirilmiştir (34). Çalışmada, lümeninde inflamatuvar mukus eksudat birikimi ve duvarlarında ise inflamatuvar hücre birikimi olması KOAH progresyonu ile ilişkilendirilmiştir. Bu değişiklikler tamir onarım yollarını aktive ederek duvarların kalınlaşması ile sonuçlandığı belirtilmiştir.

Kronik bronşit; üst üste 2 yıl, 3 aydan fazla süren öksürük ve balgam çıkarma şikayetlerinin olma durumu olarak tanımlanmaktadır (1). Daha çok sigara içicilerinde görülür ve KOAH hastalarında ise daha ciddi hava yolu obstrüksiyonu varlığında görülmektedir. Yapılan çalışmalarda KOAH'lı hastalarda görülen kronik bronşit dispne ve *wheezing* gelişmesine katkı sağlamakla birlikte, daha kötü sağlık durumu,

atak sayısında artış ve hastalık progresyonunda artış ile ilişkilendirilmiştir (35). Mukus sekresyonunda artış ve öksürük solunum yolu enfeksiyonları ile ilişkili olabileceği gibi artmış hava yolu inflamasyonu ile birlikte KOAH'lı hastalarda daha fazla sayıda atak görülmesi ile ilişkilendirilmektedir (36). Bu ataklar sırasında görülen öksürük ve balgam şikayetleri uzun sürmekte ve sık atak geçiren hastalarda kronik bronşitin olduğundan fazla bildirilmesi ile sonuçlanmaktadır.

Kronik bronşit tanımı, cinsiyet ve sosyokültürel düzey gibi faktörlerden etkilenmesi nedeni ile objektif bir değerlendirme olarak kabul edilmesi konusunda tartışmalar mevcuttur. Kronik bronşit tanımı epidemiyolojik ve klinik yaklaşımlarda faydalı olmasına rağmen, tanımlamaya uygun hasta oranı oldukça azdır (1). Bazı durumlarda örneğin, sigara öyküsü çok olan yaşlı popülasyon ya da mesleki olarak çeşitli gazlara maruziyet durumları sorgulandığında kronik bronşit prevalansı artmaktadır. Kronik bronşitin KOAH'daki rolünün araştırıldığı, farklı tanımlamalar ile farklı popülasyonlarda yapılan araştırmalarda farklı sonuçlar elde edildiği görülmüştür.

KOAH'da görülen farklı fenotiplerin belirlenmesi, hastalığın heterojenitesi açısından oldukça önemlidir (36). Kronik respiratuar semptomlar normal spirometrik değerleri olanlarda görülebildiği gibi; bir kısım sigara içicilerde hava yolu limitasyonu olmaksızın amfizem, hava yolu duvar kalınlaşması ve hava hapsi görülebilmektedir. KOAH multifaktöryel bir hastalık olup hastalığın gelişmesi için kişinin genetik özellikleri ile çevresel faktörler birarada önemlidir. Yapılan GWAS çalışmalarında hastalığa yatkınlık genleri araştırılmakla birlikte bazı genler genel popülasyonda düşük akciğer fonksiyonları ile ilişkili bulunmuştur.

### **2.3.2. KOAH Risk Faktörleri**

KOAH risk faktörleri çevresel ve kişiye özel olarak iki ana başlıkta incelenebilir (Tablo 2.3.). Hastalarda genellikle birden çok risk faktörü gözlenmektedir. Hastaların yönetiminde risk faktörlerinin belirlenmesi oldukça önemlidir.

**Tablo 2.3.** KOAH Risk Faktörleri

<b>Çevresel</b>	<b>Kişiyeye Özel</b>
Sigara kullanımı	Hava yolu aşırı duyarlılığı
İç ve dış ortam hava kirliliği	Akciğer gelişimi
Meslek	Genetik
Düşük sosyoekonomik durum	

### **Sigara**

Sigara KOAH gelişiminde en önemli çevresel risk faktörüdür (37). Gelişmiş ülkelerde, KOAH hastalarının % 80-90'ında sigara öyküsü vardır. Sigara içenlerde ise klinik olarak KOAH gelişme riski % 20 civarındadır. Avrupa'da geniş hasta popülasyonunda yapılan bir çalışmada, normal spirometrik değerleri olan katılımcıların izleminde, KOAH gelişiminde en yaygın risk faktörü olarak sigara belirlenmiştir (38). Aynı zamanda, hastaların paket-yıl öyküleri ile FEV1 değerlerinin kötüleşmesi korelasyon göstermiş ancak sigara miktarının kişisel bazda KOAH riskini öngörmediği belirtilmiştir.

Çevresel tütün dumanı maruziyeti de KOAH riskini artırmaktadır (37). Sigara dumanında bulunan güçlü respiratuar iritan maddeler hava yolunda kronik inflamasyona ve sonuç olarak hava yolu obstrüksiyonuna neden olmaktadır. Bu etki akciğere inhale edilen toplam partikül ve gaz yükünde artma ile ilişkilidir.

### **İç ve Dış Ortam Hava Kirliliği**

Hava kirliliği, endüstriyel kaynaklı ya da trafik, ısınma gibi nedenlerden kaynaklanan yüzlerce partikül ve gazın karışımıdır (37). Diğer risk faktörlerinden farklı olarak, hava kirliliğine kişinin tüm hayatı boyunca maruziyeti söz konusudur. İç ortam hava kirliliği özellikle gelişmekte olan ülkelerde KOAH gelişimi için önemli bir risk faktörüdür. İç ortam hava kirliliğinin en önemli nedeni biomass maruziyetidir. Isınma ve yemek pişirme için kullanılan tezek, odun, odun kömürü gibi katı yakıtların yakılması özellikle kadın ve çocuklarda hemen her gün saatlerce solunabilir gaz ve

partikül maruziyeti yaratmaktadır (14). DSÖ, iç ortam hava kirliliği nedeni ile gelişen KOAH sonucu 1 milyondan fazla kişinin öldüğünü tahmin etmektedir (22).

Yapılan kohort çalışmalarda dış ortam hava kirliliğinin çocuk ve adölesanlarda akciğer fonksiyonunu kötü yönde etkilediğine dair sonuçlar gösterilmiştir (39). Hava kirliliği maruziyeti, akciğer hava yollarında oksidatif stres, inflamasyon, silier aktivitenin azalması, akciğer enfeksiyonlarına yatkınlık gibi kötü etkileri vardır (40). Bu mekanizmalar sonucu zaman içinde akciğer fonksiyonları geri dönüşsüz etkilenecek KOAH gelişmektedir.

### **Meslek**

Fabrika, üretim tesisleri ve çiftlik gibi ortamlarda solunan organik, inorganik tozlar, çeşitli kimyasal ajanların inhalasyon yoluyla alınması ve uzun süreli maruziyeti sonucu KOAH gelişebilir (1). Dünyada mesleki risk faktörlerinin yasalarla daha az kontrol edildiği gelişmekte olan ülkelerde daha fazla olduğu tahmin edilmektedir. Kesitsel yapılan bir çalışmada, çalışma ortamlarında maruz kalınan toz ve kokular sonucu, katılımcılarda hava yolu limitasyonu ile çeşitli respiratuar semptomlara ek olarak görüntüleme bulgularında daha fazla amfizem ve hava hapsi alanları tespit edilmiştir (41). Gaz ve partiküllerin yoğunluk, miktar ve temas süresi akciğer fonksiyonlarındaki kayıp ile paraleldir.

### **Düşük Sosyo-Ekonomik Durum**

Yoksulluk KOAH için risk faktörüdür. Düşük sosyoekonomik duruma bağlı respiratuar enfeksiyonların eksik tedavisi, daha fazla tütün kullanımı, mesleki olarak toz ve partikül inhalasyonunda artış, ev içi alerjenlere maruziyetin daha fazla olması gibi farklı bileşenler KOAH gelişiminde risk yaratmaktadır (14). Ayrıca düşük eğitim düzeyindeki KOAH'lılarda mortalitenin daha fazla olduğu gösterilmiştir.

### **Hava Yolu Aşırı Duyarlılığı**

Hava yolu aşırı duyarlılığı, potansiyel bronkokonstriktör ajanların inhalasyonu sonrası gelişen maksimum ekspiratuar hava akımında akut geçici düşme olup, KOAH

gelişimi için bağımsız risk faktörüdür (14). Astımlı erişkinlerde sigara açısından düzeltme yapıldıktan sonra astımı olmayan erişkinlere göre KOAH gelişme riski 12 kat daha fazla olduğu saptanmıştır (42). Aynı zamanda KOAH'lı hastalarda FEV1'de hızlı azalma ve dolayısıyla negatif prognostik belirteç olarak belirtilmiştir (43). Bu çalışmada hastalardaki obstrüksiyon başlangıç seviyesinden bağımsız olarak, bronş aşırı cevabı FEV1 azalmasında sigaradan sonra ikinci önemli belirleyici faktör olarak belirtilmiştir.

### **Genetik**

Günümüzde modern genetik araçlar sayesinde insan genomu daha detaylı keşfedilmiş ve daha önce düşünülenenden daha kompleks, çeşitli ve dinamik olduğu görülmüştür. DNA'nın protein kodlamayan bölgelerinde dahi görülen sekans varyasyonları insan genomuna bakış açısını değiştirmiştir (44). Çalışmalar bazı varyasyonların hastalık yatkınlığı, ilaç cevabı gibi durumlarla ilişkisini göstermiştir. Birçok hastalığın oldukça kompleks genetik karakteri olduğu belirlenmiştir (45). Günümüzde biyomedikal araştırmalar bu varyasyonların fonksiyonel önemini anlama ve hastalıklarla ilişkisini ortaya koymaya yönelmektedir. Sekanslama araçları kişiselleştirilmiş tıbbın gelişiminde oldukça önemli olacaktır.

DNA dizisinde görülen bir varyasyon popülasyonun %1'inden fazlasında görülüyorsa polimorfizm olarak adlandırılmaktadır (46). Mutasyonlar gibi polimorfizmler de bir ya da daha fazla nükleotidde görülebilir. SNP'ler (*single nucleotide polymorphism*) her 1000 baz çiftinde bir ortaya çıkar ve genellikle protein-kodlayan genlere komşu bölgelerde olur (47). Bu bölgelerin son zamanlarda mikroRNA bağlanması için kritik olduğu ve gen/protein ekspresyonu için kritik olduğu görülmüştür. Ayrıca SNP'ler protein kodlayan bölgelerde de görülmektedir. Günümüzde SNP'ler popülasyon düzeyinde özellikle hastalıklara yatkınlık konusunda araştırılmaktadır.

KOAH'ın bazı ailelerde kümeleşmesi ve ikiz çalışmalarında solunum fonksiyonlarında görülen benzerlikler, genetik faktörlerin KOAH gelişiminde rol aldığını düşündürmektedir (48). Erken başlangıçlı KOAH olan hastaların sigara

içmemiş birinci derece akrabalarında da maksimum ekspiratuar hava akımında azalma görülmesi bu düşünceyi desteklemektedir (49). KOAH'ın sigara ile olan ilişkisi bilinmekle birlikte tüm sigara içicilerinde KOAH gelişmemektedir. Bu durum, bazı insanlarda bulunan genetik farklılıkların sigaranın kötü sonuçlarına yatkınlık yaratabileceğini düşündürmektedir. Yapılan çalışmalarda genetik faktörlerin kişilerin fonksiyonel bozukluk derecelerini de etkilediği gösterilmiştir (50). Farklı genetik faktörler farklı basamaklarda etki ederek kişinin sadece KOAH olup olmaması değil, KOAH ilişkili fonksiyonel fenotipleri ile pulmoner fonksiyon değerleri, egzersiz kapasiteleri ve respiratuar semptomlarını da etkilemektedir.

KOAH yaygın görülen diğer kompleks hastalıklar gibi multifaktöryel kalıtılmaktadır. Bu hastalıklar tek bir gende oluşan mutasyon sonucu oluşabilseler de daha yaygın olarak bir ya da daha fazla lokustaki genotip ve hastalık sürecini tetikleyen, hızlandıran, alevlendiren çeşitli çevresel etkileri içeren yatkınlık faktörleri arasındaki karmaşık etkileşimler sonucu gelişmektedirler (51). Bu tür kompleks hastalıkların etiolojisinde görülen yaygın ve nadir varyantların görece önemi tartışma konusudur (52). Yaygın genetik varyantlar kompleks hastalıkların gelişmesinde katkı sağlamakla birlikte, tek başına yarattığı risk oldukça ılımlı olup, birçok genin bir arada katılımını gerektirmektedir. Nadir genetik varyantlar ise risk yaratabilmekle birlikte toplumda az görülmesi, etkisinin vaka-kontrol çalışmaları ile kanıtlanabilmesini zorlaştırmaktadır.

Fonksiyonel  $\alpha$ -1 antitripsin eksikliği KOAH gelişimine neden olduğu en iyi bilinen genetik risk faktörüdür (2). Ancak  $\alpha$ -1 antitripsin eksikliği toplum genelinde yaygın değildir ve KOAH hastalarının tahminen sadece %1-2'sinde ciddi  $\alpha$ -1 antitripsin eksikliği vardır. Serin proteazların önemli bir inhibitörü olan  $\alpha$ -1 antitripsin, inflamatuvar hücrelerden salınan yıkıcı enzimleri bloke eder.  $\alpha$ -1 antitripsin geninde görülen mutasyon (*SERPINA1*; 14q32.1) resesif geçişli olup erken yaşlarda ve hızla gelişen panlobüler amfizemden sorumludur. En sık Kuzey Avrupa kökenli toplumlarda görülür, en ciddi Z alleli (Glu342Lys mutasyonu) görülme sıklığı 1/2000 olarak saptanmıştır. S alleli (Glu264Val mutasyonu) ise hafif varyant olarak adlandırılabilir ve KOAH gelişiminde küçük bir artışa neden olabilir (53). ZZ  $\alpha$ -1

antitripsin homozigot bireylerde görülen mutasyon, normal MM genotipli kişilere göre erken başlangıçlı amfizem ile ilişkili olup; MZ genotipi FEV1’de artmış hızlı düşüş ve %50 oranında klinik tanı KOAH riskinde artış ile ilişkilendirilmiştir (54).

Genetik mutasyon KOAH dışında, siroz, bronşektazi ve cilt hastalıklarının oluşumunda da rol oynamaktadır. Erken yaşta ve hızlanmış panlobüler amfizem gelişimi, akciğer fonksiyonlarında azalma, sigara içmeyen  $\alpha$ -1 antitripsin eksikliği olanlarda da ortaya çıkabileceği gibi, sigara KOAH riskini önemli ölçüde artırmaktadır (55). Genetik faktörlere ek olarak çevresel faktörler de hastalık gelişiminde katkı sağladığı ve amfizem gelişimi ve progresyonu sigara gibi çevresel etkilerle hızlandığı görülmektedir.

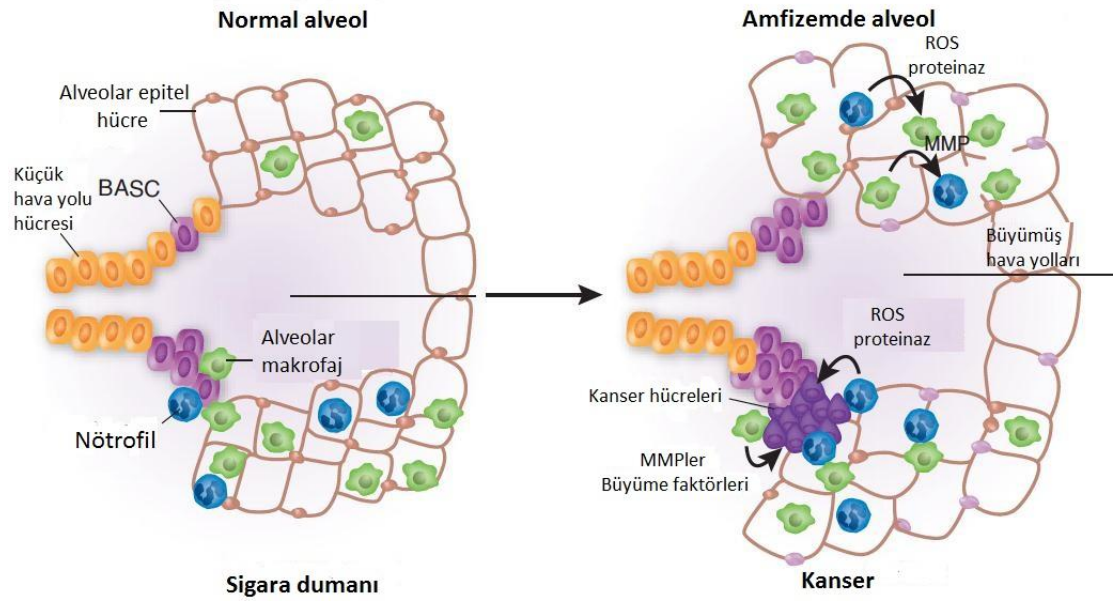
Henüz tam olarak ispatlanmamış olmakla birlikte, bazı farklı genlerin KOAH gelişimine katkıda bulunduğunu ileri süren hipotezler bulunmaktadır (Tablo 2.4.).

**Tablo 2.4.** KOAH ile ilişkili olabilecek genetik faktörler (14)

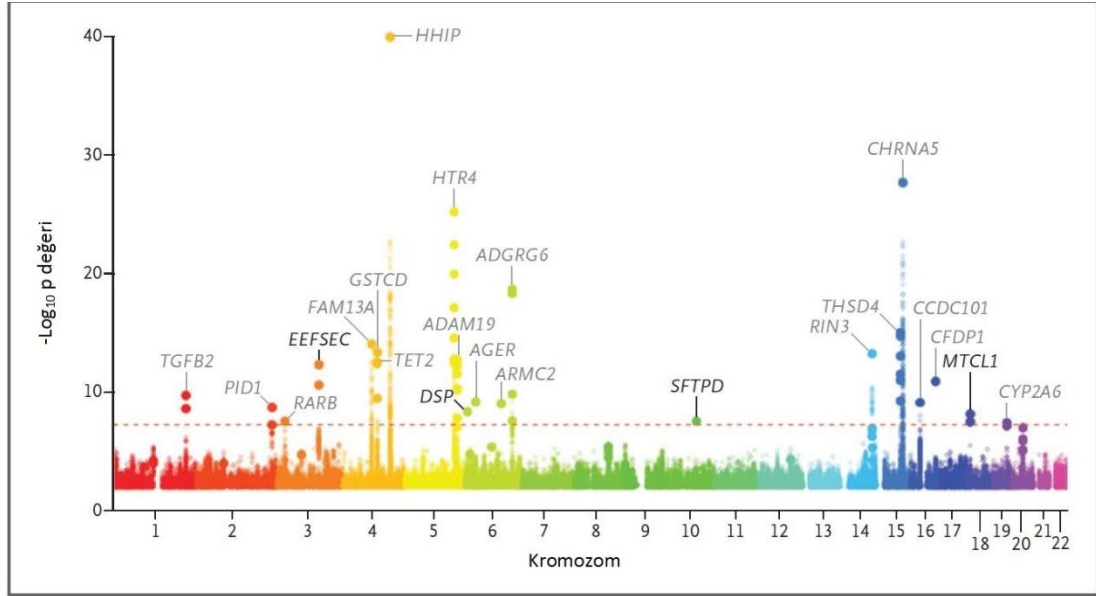
Gen	Fonksiyonel kategori
<i>SERPINA 1</i>	Anti-proteaz
<i>MMP12</i>	Proteaz
<i>MMP1</i>	Proteaz
<i>ADAM19</i>	Disintegrin, metalloproteaz
<i>SOD3</i>	Antioksidan
<i>HMOX1</i>	Antioksidan
<i>EPHX1</i>	Detoksifikasyon
<i>GSTM1</i>	Detoksifikasyon
<i>ADRB2</i>	Adrenerjik
<i>TGFB1</i>	Sitokin
<i>TNS1</i>	Matrikse hücre adezyonu
<i>FAM13A</i>	Sinyal iletimi
<i>HHIP</i>	Akciğer gelişimi
<i>HTR4</i>	Serotonin reseptörü
<i>AGER</i>	Glikolizasyon reseptörü
<i>THSD4</i>	TGF- $\beta$ sinyali
<i>CHRNA3/5</i>	Nikotin bağımlılığı
<i>IREB2</i>	Demir homeostazi
<i>BICD1</i>	Telomer/yaşlanma
<i>TMEM26</i>	Transmembran protein



KOAH ve akciğer kanserinin genetik nedenlerini araştıran çalışmalar farklı yollar üzerine odaklanmıştır. Amfizem ve KOAH varlığı, akciğer kanseri için risk faktörü olarak bilindiğinden ortak genetik risk faktörleri araştırılmıştır (56). Proteaz-antiproteaz dengesi, anti-oksidan fonksiyon, inflamasyon, immün cevap gibi yollarda rol alan genlerde görülen polimorfizmler KOAH için yapılan aday gen çalışmalarında incelenmiştir.



**Şekil 2.8.** Amfizem ve akciğer kanserinin ortak yolları (56). Sigara dumanı maruziyeti sonrası, inflamatuvar hücreler özellikle nötrofil ve makrofajlar aktive olarak serin matris metalloproteinaz ve reaktif oksijen türlerin salınmasına neden olur. Amfizem ekstraselüler matris yıkımı sonucu gelişir ve hücre ölümü ile hava boşlukları genişler. Bronkoalveolar kök hücreler, zarar gören alveolar hücrelerin yerine geçerek alveolar bütünlüğü sağlamaya çalışır. Ancak, sigara dumanında bulunan karsinojenler ve inflamatuvar hücreler aracılı salınan büyüme faktörlerinin etkisi altında bu hücrelerin çoğalması maligniteye yakınlık yaratmaktadır.



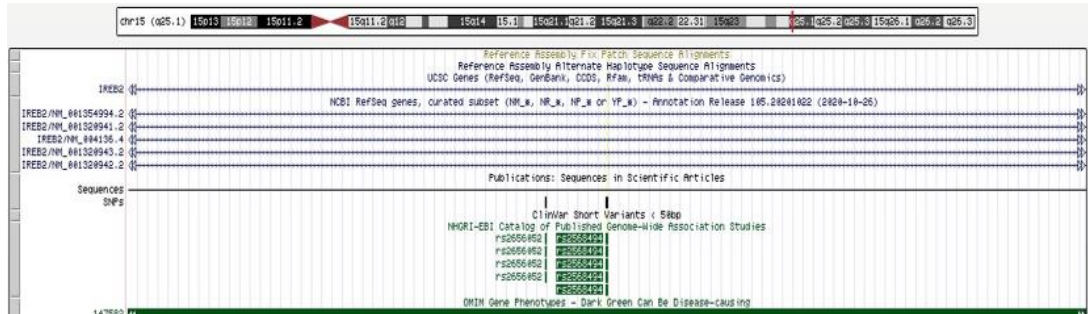
**Şekil 2.9.** KOAH ile ilişkilendirilen genlerin gösterimi (57).

### **IREB2**

*IREB2* (iron responsive element binding protein 2) 15q25'te lokalize, IRP2 (iron regulatory protein 2) kodlayan genidir. Hücresel demir miktarının kontrolü için demirin hücre içine alımı, depolanması ya da dışarı atılmasında önemli mekanizmalar rol oynamaktadır (58). IRP1 ve IRP2 insanlarda hücresel demir homeostazında görev alan başlıca regülatörlerdir. Demir hücre içine alımı, depolanması ve dışarı atılması basamakları IRP'ler tarafından düzenlenir ve IRP'ler hücrelerin ihtiyaçlarına yetecek kadar demir almalarını ve toksik düzeye ulaşmamasını sağlar.

GWAS çalışmaları KOAH gibi kompleks hastalıklar için yatkınlık genlerini belirlemek amacı ile yapılmaktadır. *IREB2* geni ile KOAH arasındaki ilişki yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. İlk olarak 2009 yılında Pillai ve ark. (3) tarafından yapılan GWAS çalışmasında 15q25 kromozomunda bulunan *CHRNA3/CHRNA5/IREB2* bölgeleri ile KOAH arasında ilişki gösterilmiştir. KOAH için yapılan ilk GWAS olan bu çalışmada, kromozom 15 üzerinde bulunan, *IREB2* geni ile yakın lokalizasyondaki nikotinik asetilkolin reseptör 3/5 lokusu ile KOAH arasında ilişki tespit edilmiştir. Yüksek derecede saptanan "Linkage Disequilibrium" nedeniyle CHRNA lokusu ile *IREB2* ayrımı zorlaşmıştır. Bu bölge daha önce yapılan çalışmalarda sigara içme

davranışı ile akciğer kanseri riski ile ilişkilendirilmiştir. Dolayısıyla bu bölgede görülen çeşitli fonksiyonel polimorfizmlerin geniş bir yelpazede fenotipik sonuçları olduğu düşünülmektedir.



**Şekil 2.10.** *IREB2* geni rs2568494 bölgesi (www.genome.ucsc.edu).

DeMeo ve ark tarafından yapılan bir çalışmada ise, KOAH hastalarından alınan akciğer dokularında *IREB2* geni ekspresyonu, mRNA ve proteini, KOAH olmayanlara göre artmış olduğu gösterilmiştir (4). Çalışma sonucunda *IREB2*, gen bölgesi içinde KOAH gelişiminde rol oynayan anahtar genlerden biri olabileceği vurgulanmıştır. Ayrıca, sigaranın demir homeostazını değiştirdiğini gösteren çalışma sonuçları mevcuttur. Sigara dumanı maruziyeti sonrasında katalitik olarak aktif demir miktarında artış, oksidatif stres yaratarak inflamasyona yol açmaktadır (59). Akciğerde biriken partiküller, demir birikimi ve olası hasar ile ilişkilidir. Demir homeostazında görülen imbalansın, pulmoner inflamasyona ve hasara yol açması KOAH patogenezinde *IREB2* geninin rolünü desteklemektedir.

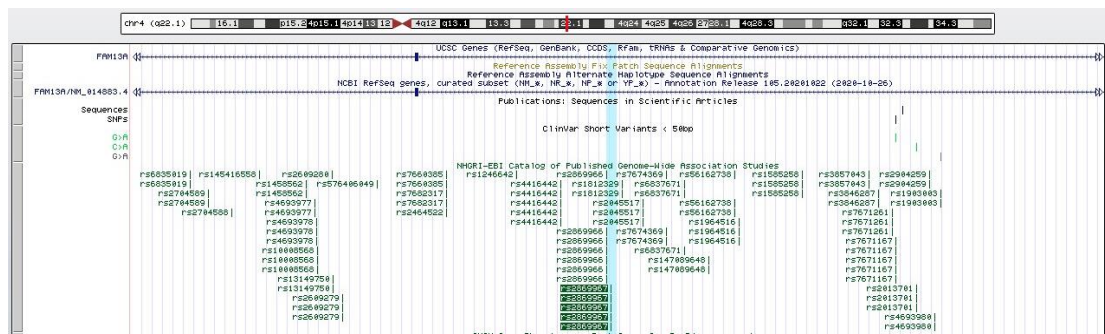
*IREB2* geninde görülen yaygın varyantlar ile KOAH ilişkisi çeşitli çalışmalarda incelenmiştir. Daha önceki çalışmalarda KOAH ve akciğer kanseri ile ilişkilendirilen rs2568494 polimorfizmi, genin intronik bölgesinde yer almakta olup G>A değişimidir. *IREB2* geninde görülen bu polimorfizmin incelendiği 4 çalışma ile yapılan bir meta-analizde genotipik AA taşıyıcılarının KOAH gelişiminde artmış riskleri olabileceği belirtilmiştir (60).

### **FAM13A**

*FAM13A* (family with sequence similarity 13, member A) 4q22.1 bölgesinde lokalize bir gendir (9). İnsanlarda iki *splice* varyantı tespit edilmiş olup, uzun varyantı

24 ekzondan oluşmakta ve 117 kDa protein kodlamaktadır. Böbrek, pankreas, karaciğer, akciğer ve timusta yüksek ekspresyon göstermektedir. Üretilen protein dizisinde Rho (*Ras homologous*) GAP (*GTPase-activating protein*) kısmı bulunmakta olup Rho GTPaz sinyal yolağında görevi olduğu düşünülmektedir. Genin kısa varyantı ise 17 ekzondan oluşmakta ve 80 kDa protein kodlamaktadır. İskelet kası, timüs, beyin ve akciğerlerde ekspresyonu baskındır.

*FAM13A* geni sinyal iletiminde rolü olduğu düşünülmektedir ve özellikle RhoGAP domaini *downstream* intronik bölgesindeki polimorfizmlerin KOAH yatkınlığı ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir (61, 62). Çeşitli dokularda yapılan gen ekspresyon analizleri neticesinde hipoksi cevabı olarak gen ekspresyonunda artış gözlenmiştir (63). Aynı zamanda, akciğerde Rho GTPaz, pulmoner endotelial bariyer fonksiyonunda yer alır ve KOAH gibi kronik akciğer hastalarında fonksiyonun bozulduğu gösterilmiştir (8). İmmün hücre göçü ve inflamasyondaki Rho GTPaz modülatörleri de özellikle kanserde araştırılmış olup KOAH gibi inflamasyon/immün cevabın bozulduğu akciğer hastalıklarında tedavide ümit vadetmektedir (64). Genel popülasyon üzerinde yapılan GWAS çalışmalarında *FAM13A* akciğer fonksiyonu ile ilişkili bulunmuştur (13). KOAH hastalar üzerinde yapılan kohort çalışmalarında gen ile akciğer fonksiyonu arasında ilişki saptanmış ve sonuçlar bu genin akciğer fenotipinde yer aldığını desteklemektedir (61).



**Şekil 2.11.** *FAM13A* rs2869967 bölgesi (www.genome.ucsc.edu).

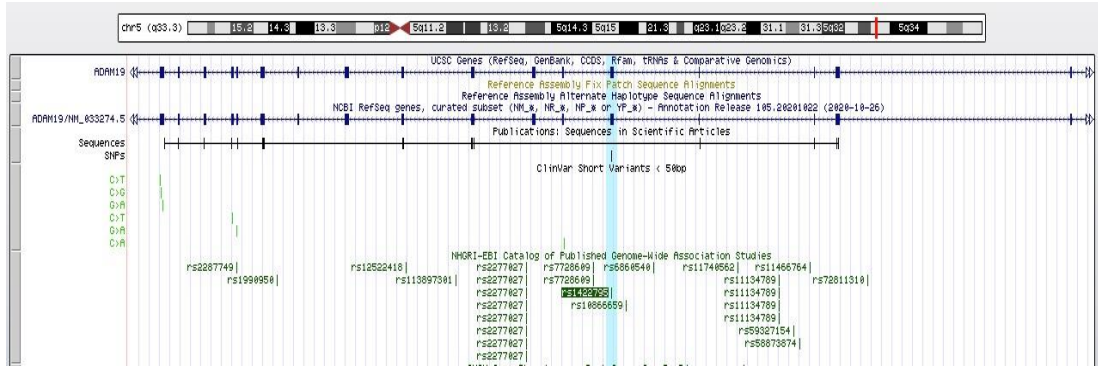
*FAM13A* geninin Wnt yolağını B-catenin aracılığıyla etkileyebileceği gösterilmiştir (7). Wnt yolağının santral molekülü, B-catenin normalde hücre içinde düşük seviyelerde bulunur. Wnt yolağının uyarılması ile B-catenin nükleusa giderek

*T-cell factor/lymphoid enhancer factor* (TCF/LEF) transkripsiyon faktörlerine bağlanarak, Wnt hedef genlerini aktive ederek hücre çoğalması, hücre farklılaşmasında rol oynar. Bu yolla özellikle havayolu ve alveolar epitel hücrelerinin tamirinde rol oynamaktadır. KOAH'lı hastaların akciğer dokusunda KOAH olmayan sigarayı bırakmış kişilere göre, *FAM13A* protein düzeyinin daha fazla ve B-catenin düzeyinin ise daha az olduğu görülmüştür. Bu bulgu neticesinde *FAM13A* geninin B-catenin aracılı akciğer tamir mekanizmasını inhibe ederek amfizem gelişimine neden olabilmektedir.

### ***ADAM19***

ADAM (A Disintegrin And Metalloproteinase) endopeptidaz ailesi, hücre yüzeyinde bulunan glikoproteinler olup metalloproteinaz ve disintegrin gibi çeşitli fonksiyonel domainler içerirler (10). *ADAM19* bu ailenin bir üyesi olup akciğerin de dahil olduğu birçok dokuda eksprese olmaktadır. *ADAM19* geni 5q32-33 bölgesinde lokalizedir ve ADAM ailesinin tüm fonksiyonel domainlerine sahiptir. Hücre - matriks iletişimini kontrol eder ve hücrenin büyüme ve gelişim regülasyonuna yardım etmektedir.

*ADAM19* geni çeşitli fizyolojik ve patolojik olaylarla ilişkilendirilmiştir. *ADAM19* geni ile renal hastalıklar, kanserler, Alzheimer hastalığı, akciğer hastalıkları ilişkisi çalışılmıştır. *ADAM19*, pulmoner fibrozis gibi akciğer hastalıklarının patogenezinde kritik önemi olan alveolar epitel hücrelerinin hasara karşı cevapta anahtar rolü olan TGF-B' a karşı önemli bir araçtır (65). *ADAM19*, hava yolu inflamasyonunun anahtar modülatörü TNF-a'ın pro-inflamatuar aktivitesini artırır. *ADAM19* aynı zamanda kardiyak gelişimde de önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir, gende görülen kopya sayısı değişikliklerinin konjenital kalp hastalıkları ile ilişkisi tespit edilmiştir (66). Gende görülen genetik varyasyonların hem pulmoner hem de kardiyak hastalıkların patogeneziyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. GWAS çalışmalarını kapsayan bir meta-analizde *ADAM19* geni varyantları ile akciğer fonksiyonu arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (13).



Şekil 2.12. ADAM19 rs1422795 bölgesi (www.genome.ucsc.edu).

### 2.3.3. Patogenez

KOAH hastalarında, sigara gibi inhale edilen partiküllere karşı gelişen akciğer inflamasyon cevabının farklı olduğu görülmektedir (1). Kronik inflamatuvar cevap parankim dokusunda amfizem ile sonuçlanan yıkıma ya da normal tamir ve savunma mekanizmasının bozulması sonucu küçük hava yolu fibrozisi ile sonuçlanabilmektedir. KOAH hastalarında görülen patolojik değişiklikler hava yolları, parankim ve damar yapılarında görülmektedir. KOAH'da görülen artmış inflamasyon mekanizması net olarak anlaşılacak şekilde birlikte genetik özelliklerin belirlediği düşünülmektedir. Kişilerde görülen oksidatif stres, artmış proteinaz cevabı ve inflamatuvar hücre ve mediatörler akciğer inflamasyonunu modifiye etmektedir.

Sigara ve diğer inhale edilen irritan maddeler sonucu **inflamasyon** tetiklenir, akciğer ve hava yollarına innate inflamatuvar hücreler göç eder, akciğer dokusu hasara uğrar ve akciğer tamir mekanizması bozulur(14). KOAH'ı olan bireylerden alınan biyopsiler, ameliyat ya da post mortem materyaller ile bronkoalveolar lavaj ve balgam örneklerinde inflamatuvar hücrelerde artış görülmektedir (67). KOAH'ı olan bireylerin akciğerlerinde nötrofil, makrofaj, ve bazen eozinofiller ile dentritik hücre ve lenfosit yoğunluğu görülmektedir. Sigara ile tetiklenen inflamasyon, sigara bırakıldıktan sonra da uzun süre devam edebilir, haftalar içinde sistemik nötrofil sayısı azalmakla birlikte aktive alveolar makrofajlar yıllarca kalmaktadır (68).

Hücrel ve humoral immünite de KOAH patogenezinde yer aldığı düşünülmektedir (14). T ve B hücreleri KOAH'ı olan hastalarda alveol ve hava yollarında biriktiği görülmüştür ancak ilerlemiş hava yolu hastalığı olan KOAH'lılarda

mikrobal kolonizasyona karşı gelişen hücresel ve humoral cevap ile ayrımı zor olması nedeni ile ileri inceleme ve araştırma gerekmektedir. Ayrıca KOAH hastalarında inflamatuvar hücreleri çeken çeşitli inflamatuvar mediatörlerin artmış olduğu gösterilmiştir.

İnflamatuvar ve epitel hücrelerden kaynaklanan birçok proteaz seviyesinin KOAH olan hastalarda arttığı görülmüştür (1). Bağ dokusu bileşenlerini yıkan **proteazlar** ile dengeleyen **anti-proteazlar** arası dengesizlik KOAH hastalarında görülmüştür. Akciğer parankiminde önemli bir bağ dokusu elementi olan elastinin proteazlar ile yıkımı amfizem gelişiminde önemli bir basamaktır.

Sigara dumanındaki ya da sigaraya karşı akciğerin yapısal hücreleri ile inflamatuvar hücrelerden salınan reaktif oksijen türleri akciğer hasarına sebep olabilmektedir. **Oksidatif stres** biobelirteçleri KOAH hastalarının balgam örneklerinde ve sistemik dolaşımında artmış olduğu gösterilmiştir. Özellikle ataklar sırasında oksidatif stres artmaktadır. Sigara içicilerin akciğer dokularında içmeyenlere kıyasla hidroksil radikallerin üretimi için katalizör sağlayan daha fazla demir bulunmaktadır. Bu durum sigara içicisi KOAH hastalarında görülen *IREB2* polimorfizmi ile ilişkilidir (59). Oksidanlar inflamasyon ve proteinaz ekspresyonunu ve ekstraselüler matriks yıkımını kolaylaştırmaktadır.

#### 2.3.4. Patofizyoloji

KOAH'ın temel patofizyolojisi hava yollarındaki akım kısıtlaması ve hava hapsi, parankimal değişiklikler, gaz değişim anormallikleri, aşırı mukus salgılanması, damarsal değişiklikler, pulmoner hipertansiyon ve ataklar olarak sıralanabilir (1).

KOAH'da **hava yolu kısıtlılığı ve hava hapsi** çeşitli mekanizmalarla gerçekleşmektedir. Akciğere inhale edilen irritan ajanlar, oksidanlar, inflamasyon hücreleri ve ürünleri ile meydana gelen parankimal hasar, alveolar kayıp, büyük ve küçük hava yollarının hastalığı, hava yollarında bulunan sekresyonlar hava yollarında kısıtlama ile sonuçlanmaktadır. Bu faktörlerin etkisi ile solunum fonksiyonlarında, özellikle ekspiryum akımlarında kısıtlama saptanmaktadır, FEV1 değerinde hızlı düşüş KOAH için karakteristiktir. Ekspirasyon sırasında progresif olarak görülen hava

yolu kısıtlaması ise hava hapsi, hastada dispne ve egzersiz kapasitesinde düşme ile sonuçlanmaktadır.

KOAH'da **gaz değişim anormallikleri** hipoksemi ve hiperkapniyi kapsamaktadır ve çeşitli mekanizmalarla gerçekleşmektedir. Hastalık ilerledikçe kötüleşmektedir. KOAH'lı hastalarda ventilasyon/perfüzyon uyumsuzluğu, hiperinflasyon, hızlı ve yüzeysel solunum, hipoventilasyon, distal hava yollarında, akciğer damarlarında ve alveolokapiller membranda görülen değişiklikler sonucunda gaz değişim anormallikleri görülmektedir.

Kronik bronşitin bir özelliği olan kronik öksürük **mukus hipersekresyonu** sonucu gelişmektedir ve hava yolu inflamasyonu ile birlikte olmak zorunda değildir. KOAH'ı olan bütün hastalarda semptomatik mukus hipersekresyonu yoktur. Özellikle sigara dumanı olmak üzere zararlı partiküllere cevap olarak gelişen kronik hava yolu irritasyonu nedeni ile goblet hücre sayılarında artış ve submukozal bezlerde büyüme mukus hipersekresyonuna neden olmaktadır.

KOAH'ın ileri evrelerinde **pulmoner hipertansiyon** gelişebilir. Ana mekanizması, küçük pulmoner arterlerde gelişen hipoksik vazokonstriksiyona bağlıdır ve zamanla intimal tabaka ve ileride düz kas hiperplazi gelişimi ile sonuçlanan yapısal değişiklikler olmaktadır. KOAH'lı hastaların damarlarında endotel hücre disfonksiyonu ile ilişkilendirilen, hava yollarındaki benzer şekilde inflamatuvar cevap gelişmektedir. Ayrıca amfizemde pulmoner kapiller yatağın kaybı, pulmoner dolaşımda basınç artışı ile sonuçlanmaktadır. Pulmoner hipertansiyonun ilerlemesi ilerde sağ kalp ventrikül hipertrofisi ve sağ kalp kalp yetmezliğine sebep olmaktadır.

KOAH seyrinde özellikle solunum yolu enfeksiyonları ile tetiklenen, respiratuar semptomların alevlenmesi ile karakterize **ataklar** gelişebilmektedir. Bakteri ve virüslere bağlı solunum yolu enfeksiyonlarına ek olarak çevresel hava kirliliği ve bazen bilinmeyen nedenlerle hava yollarında inflamasyon artışı olmakta, hava yolu kısıtlılığı ve hava hapsi ile hastada artmış dispne ile karşımıza çıkmaktadır.

KOAH hastalığında birçok genetik bağlantı analizleri ile epitel-ilişkili genler, sigara alışkanlığına etki eden genler ve sigara dumanına maruziyet ile ilişkili genler



araştırılmıştır (69). Patojenlere karşı akciğerde gelişen doğal ve adaptif immünitinin direk etkilerine ek olarak sigara dumanı mukus üretimine neden olur ve doku immünitelerini negatif etkiler. Örneğin, KOAH'lı hastalardan alınan epitelyal fırçalama örneklerinde, insan antimikrobial peptid B-defensin-2 ekspresyonu sağlıklı insanlardan alınan örneklerle göre daha düşük saptanmıştır (3).

Sigara içme davranışı üzerine etkisi olan ve nikotinin bağlandığı nikotinik asetilkolin reseptör gen kümesi CHRNA bölgesi olup KOAH'a yatkınlık genleridir. Örneğin *CHRNA5* geni rs16969968 risk alleli taşıyanların taşımayanlara göre daha yoğun sigara içicisi olduğu görülmüş ve bu yüzden epitel bariyer fonksiyonunda bozulma ve daha yüksek KOAH gelişme riski taşıdıkları görülmüştür (70, 71).

Demir homeostaz kontrolünü sağlayan *IREB2* geni, normal hücre fonksiyonları için oldukça önemli olup aynı zamanda birikmiş demire bağlı oksidatif stres ve hasarı önlemek için de hayati rolü vardır. Demir homeostazında bozulma KOAH hastalarının hava yollarında bulunan faydalı bakterilerin zararlı türlere kaymasına yol açabilir (72, 73). Bakterilerin ekstraselüler alanda demir ihtiyaçları vardır ve zararlı patojenlerin invazyonunu engellenir. Bu mukozal doğal immünitinin önemli bir bileşenidir ve mikrobiyal büyümenin önüne geçer. *IREB2* genetik olarak disregülasyonu ile hava yollarında patojenik bakterilerin kolonizasyonu kolaylaşarak atak riski gelişir ve kalıcı inflamasyon olur (69).

*FAM13A* geni hipoksiye cevapta rol alan sinyal iletiminde rolü olup çalışmalarda hipoksi durumunda artmış ekspresyonu görülmüştür ve KOAH için koruyucu genlerden olabileceği yorumu yapılmıştır (69). Ayrıca alveolar tip 2 hücrelerin in vitro farklılaşması sırasında gen ekspresyonunda farklılık tespit edilmiştir. Bu nedenle epitelyal bariyer fonksiyonunda rolü olduğu sonucu çıkarılabilir.

KOAH olan ve olmayan daha önce sigara içmiş ve içmekte olan 238 kişi üzerinde yapılan bir çalışmada, bronşiyal fırça örneklerinin gen profilleri incelenmiştir (74). Çalışmada KOAH hastalarında 98 gen ekspresyonunda hastalık ciddiyeti ile ilişkili farklılıklar görülmüştür. Genler fonksiyonel olarak sınıflandırıldığında, glikoproteinler (artmış), akut inflamatuvar cevaplara ilişkili

proteinler (artmış) ve EGF benzer domainler (azalmış) tespit edilmiştir. Gen kümeleri KOAH ile ilişkili değişiklikleri yansıtmaktadır. Özellikle inflamatuvar cevap ile ilişkili genler, hücre büyümesini kontrol eden genleri içermektedir. Çalışmalar neticesinde KOAH patogenez ve patofizyolojisinde genlerin oldukça önemli yeri olduğu sonucu çıkarılabilmektedir.

KOAH, fenotipik olarak oldukça farklı hastaların gözlemlendiği solunum yolu hastalığıdır. Bu fenotipik farklılığa sebep olan etiyolojik faktörler günümüzde tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışma, ilk kez Türk hastaların katılımı ile, KOAH fenotipi ilişkili olduğu gösterilen genlerin ve varyantlarının araştırılmasını ve ortaya çıkarılmasını hedeflemektedir. Çalışmamızda klinik bulgular açısından çok heterojen olan havayolu hastalıklarında; genotip–fenotip ilişkisinin kurulması amaçlanmaktadır.

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Malzeme, Çözelti ve Cihazlar

Bu çalışmada *IREB2*, *FAM13A*, *ADAM19* genleri dizi analizi uygulanmıştır. Ayrıca hastaların değerlendirilmesinde solunum fonksiyon testi ve bilgisayarlı tomografi kullanılmıştır. KOAH hastalık ciddiyetinin belirlenmesinde ise CAT ve mMRC gibi anketler uygulanmıştır.

##### 3.1.1. Periferik Kandan DNA Eldesi ve Kantitasyon

Amonyum asetat (Sigma)

Tris klorür (Sigma)

Disodyum EDTA (Sigma)

Nanodrop ND-1000 UV-VİS spektrofotometre (*ThermoFisher scientific*)

##### 3.1.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve DNA Dizi Analizi

*Geneall* PCR master miks (*Geneall Biotech*)

*Forward* ve *Reverse* Primer

*Veriti 96 Well Fast Thermal Cycler* (*Applied biosystems™*, *ThermoFisher Scientific*, Katalog no: 4375305)

*SeaKem® LE agaroz* (*Lonza*, Katalog no: 50002)

Etidyum Bromür (Sigma)

Orange G (Sigma)

*Ladder* markör (*Promega*)

*UVP BioSpectrum 500* Jel Görüntüleme Sistemi

*Geneall* PCR pürifikasyon kiti (*Geneall Biotech*, Katalog no: GA-113-102)

ZR DNA dizileme pürifikasyon kiti (*Zymo Research*, Katalog no: D4050)

*3500-Genetic Analyzer* (*Applied biosystems™*, Katalog no: 4440462)

Anot Tamponu 3500 Serisi (*Applied biosystems™*, Katalog no: 4393927)

Katot Tamponu 3500 Serisi (*Applied biosystems™*, Katalog no: 4408256)

POP-7™ Polimer (*Applied biosystems™*, Katalog no: 4393708)

3500 *Genetic Analyzer* 8'lik kapiller 50 cm (*Applied biosystems™*, Katalog no: 4404684)

### 3.2. Hastaların Değerlendirilmesi

Çalışmaya dahil edilecek hastaların saptanması amacıyla, Sağlık Bakanlığı Kahta Devlet Hastanesi Göğüs hastalıkları polikliniğine başvuran, klinik bulguları KOAH ile uyumlu hastalar değerlendirildi. GOLD 2020'nin KOAH tanımlamasına uygun olarak persistan hava akımı kısıtlaması olan toplam 110 hasta çalışmaya dahil edildi. Çalışmamız için Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alındı (GO 18/489-25) (Bkz. EK 3). Yazılı onam formları tüm hastalardan alındı. Çalışmaya 35 yaş üstü, KOAH tanısı ile izlenen, GOLD 2020 KOAH tanımına uygun olarak spirometrik değerleri; FEV1/FVC < 0.70 olan hastalar çalışmaya dahil edildi. Solunum fonksiyon testi Jaeger Master Lab Pro cihazı ile yapıldı. Hava akımı kısıtlılığına yol açan bronşektazi ve tüberküloz öyküsü olan ve nörodejeneratif hastalığı olan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Hastaların sigara öyküsü, meslekleri sorgulanarak çevresel maruziyetleri ile akciğer kanseri ve KOAH aile öyküsü öğrenildi. Hastaların bir yılda geçirdikleri atak sayısı ile dispne derecesini ölçen anketler (CAT, mMRC) uygulanarak GOLD dereceleri tespit edildi (Bkz. Şekil 2.6.).

Çalışmaya dahil edilen bütün hastaların ayrıntılı görüntüleme bulguları mevcuttu. Hastaların BT bulguları ile amfizem derecesi, Fleischner Derneği tanımlamasına uygun olarak değerlendirildi (28). KOAH'da görsel olarak görülen amfizematöz yıkım fenotipleri sentrilobüler, panlobüler, paraseptal amfizem olarak üç grup altında incelenmektedir. Görülen bu fenotipler çoğunlukla bir arada görülmektedir ve en baskın tip seçilmektedir. Bizim hasta grubumuzda sentrilobüler amfizem baskın tip olup, derecesi üç grup altında incelendi. Bir akciğer zonunun < %5'ini kaplayan lusensi varlığında, hafif; bir akciğer zonunun > %5'inde lusensi varlığında, orta; ileri derecede bir araya gelmiş amfizem alanları varlığında, ciddi olarak sınıflandırıldı.

### 3.3. Periferik Kandan Genomik DNA Eldesi ve Kantitasyon

*IREB2* (15q25) geni polimorfizmi rs2568494, *FAM13A* (4q22.1) polimorfizmi rs2869967, *ADAM19* (5q32-33) polimorfizmi rs1422795 daha önce yapılan çalışmalarda KOAH ile ilişkisi saptanması nedeni ile seçildi. Çalışma grubunun tümünden periferik kan örneği alınarak DNA izole edildi. EDTA'lı tüplere periferik kan alınmasının ardından amonyum asetat ile çöktürme yöntemi kullanıldı. Bunun için 50 ml'lik *Falcon* tüplere boşaltılan 10 ml'lik kan örneği 40 ml steril distile su karıştırılarak kuvvetlice çalkalandı. Örnekler 1750 rpm hızda (500x g) 20 dakika santifrüj edildi. Süpernatant lavaboya döküldü ve kalan çökelti üzerinde aynı işlem tekrarlanarak 1900 rpm hızda (600x g) 20 dakika santifrüj edildi. Süpernatant atıldı. Her bir tüpteki çökelti üzerine 3 ml nükleer lizis tampon (10 mM Tris, 400 mM NaCl, 200 µM, pH 8,2); 150 µl 10 mg/ml proteinaz K ve 200 µl %10'luk sodyum dodesil sülfat solüsyonu eklendi. Tüpler karıştırıldı ve bir gece boyunca 37 derece sıcaklıkta etüvde bekletildi. On altı saat sonunda her bir tüpe 3 ml 148 g/100 ml amonyum asetat eklenerek çalkalandı. Sonra 4000 rpm hızda (3000x g) 20 dakika santifrüj edildi. Süpernatant pastör pipeti ile dipteki pelete dokunmadan başka bir temiz tüpe alınarak üzerine etil alkol eklendi. Tüpler hafifçe çalkalandı. Görünür hale gelen DNA pipet ucu yardımıyla toplanarak 400 µl Tris-EDTA tamponu içeren tüpler içerisine yerleştirildi. DNA'nın konsantrasyonu *Nanodrop ND-1000 UV-VİS* spektrofotometre cihazında *ND-1000 software ver. 3.8.1* yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi. Genomik DNA A260/A280 oranı 1.8-2.0 arasında olması ile DNA'lar ile çalışılmaya başlandı.

### 3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Primer dizileri Tablo 3.1.'de gösterilmektedir. Primerler ana stok için 100 mikromolar, çalışmalarda kullanılacak ara stok için ise 10 mikromolar olacak şekilde dilue edildi. Hem ana stok hem ara stok primerler -20 °C'de saklandı. Tüm PCR reaksiyonları 10 µL *Promega 2x* miks, 6 µL DH20, 2 µL DNA, 1 µL *forward* primer ve 1 µL *reverse* primer kullanılarak yapıldı. *Applied Biosystems Veriti 96 Well Fast Thermal Cycler* cihazında sadece bağlanma sıcaklıkları farklı olmak üzere PCR

reaksiyonu gerçekleştirildi. En iyi alınan PCR reaksiyon koşulları Tablo 3.2.'de gösterildi.

**Tablo 3.1.** *IREB2*, *FAM13A* ve *ADAM19* gen varyantları için hazırlanan primerler

SNP	Gen	Forward primer	Reverse primer	Ürün boyutu (bp)
rs2568494	<i>IREB2</i>	5'-CGCCTGGTTCTGGTTAGAGA-3'	5'-GCTAACCTGCTGAAGGCTA-3'	153
rs2869967	<i>FAM13A</i>	5'-GCAGAGCTCTTGAACAAGG-3'	5'-AAACAGCTTTCCAAAACCTACA-3'	126
rs1422795	<i>ADAM19</i>	5'-CGGGAACATGTGTGAAGTTTC-3'	5'-ATTAATTGGGCGTTGCATG-3'	108

**Tablo 3.2.** *IREB2*, *FAM13A* ve *ADAM19* genleri PCR koşulları

Sıcaklık	Süre	
95°C	1 dk	
95°C	30 sn	
59-60°C	45 sn	35 siklus
72°C	45 sn	
72°C	7 dk	

### 3.5. PCR Ürünlerinin Agaroz Jelde Yürütülmesi

Öncelikle 4 gram agaroz ve 200 ml 1x TBE Erlenmayer şişesinde karıştırıldı. Bu karışım 5 dakika süresince mikrodalgada kaynatıldı ve içerisine 12 µL etidyum bromür ilave edilerek %2'lik agaroz jel hazırlandı. 3 µL PCR ürünü 3 µL *Orange G* ile karıştırılarak %2'lik agaroz jeldeki kuyulara yüklenerek 120 V'de 30 dakika boyunca *BIO-RAD PowerPac™ HC High-Current* güç kaynağı kullanılarak elektroforezde yürütüldü. Elektroforez sonunda bant büyüklüklerinin karşılaştırılması için 1.5 µL *Promega* 1000 bp marker kullanıldı. Jel görüntülemesi *Biospectrum* görüntüleme sistemi ve *Vision Works LS* programı aracılı yapıldı.

### 3.6. PCR Ürünlerinin Pürifikasyonu

Elektroforezde uygun uzunlukta spesifik bant elde edilen PCR ürünleri *GeneAll Expin™* ile pürifiye edildi. Pürifikasyon üç basamakta gerçekleştirildi. İlk basamak olan bağlanma basamağında; PCR ürünün üzerine 100 µL membran

bağlama çözeltisi PB tamponu karıştırılarak minikolonların üzerine eklendi ve sonrasında 30 sn boyunca 12,000 g'de santrifüj edildi. Yıkama için; santrifüj sonrasında minikolonların üzerine 500 µL yıkama solüsyonu eklenerek 12.000 g'de 30 sn boyunca daha santrifüj gerçekleştirildi. Sonrasında minikolonların toplama tüpünde biriken yıkama solüsyonu uzaklaştırıldı ve herhangi bir solüsyon eklenmeden yıkama solüsyonun içerisindeki alkolün uzaklaşması amacıyla 16.000 g'de 1 dakika boyunca santrifüj edildi. Son basamak olan elüsyon için önce minikolonların içindeki PCR ürünlerinin bağlı olduğu membrana yeni bir 1.5 ml ependorf tüpe aktarıldı. Membran üzerine 45 µL l elüsyon çözeltisi eklendi ve oda sıcaklığında 1 dakika bekletildi. Sonrasında 16.000 g'de 1 dakika süresince santrifüj işlemi gerçekleştirilerek ependorf tüpün içerisinde saflaştırılmış PCR ürünleri elde edildi. Purifikasyon işleminin ardından hemen *Sanger* yöntemi ile DNA dizileme işlemine başlandı.

### 3.7. Genlerin Dizi Analizi

Purifiye edilmiş PCR ürünleri uygun primerler ve *Big Dye Terminator 3.0 Kiti* (*Applied Biosystems, Foster City, CA, USA*) kullanılarak hedefe yönelik DNA dizileme reaksiyonu gerçekleştirildi. Dizileme için 4 µL distile dH<sub>2</sub>O, 2 µL *Big Dye* tamponu, 2 µL *Big Dye* enzimi, 1 µL primer ve 1 µL pürifiye PCR ürünü kullanılarak SNP analizi gerçekleştirildi.

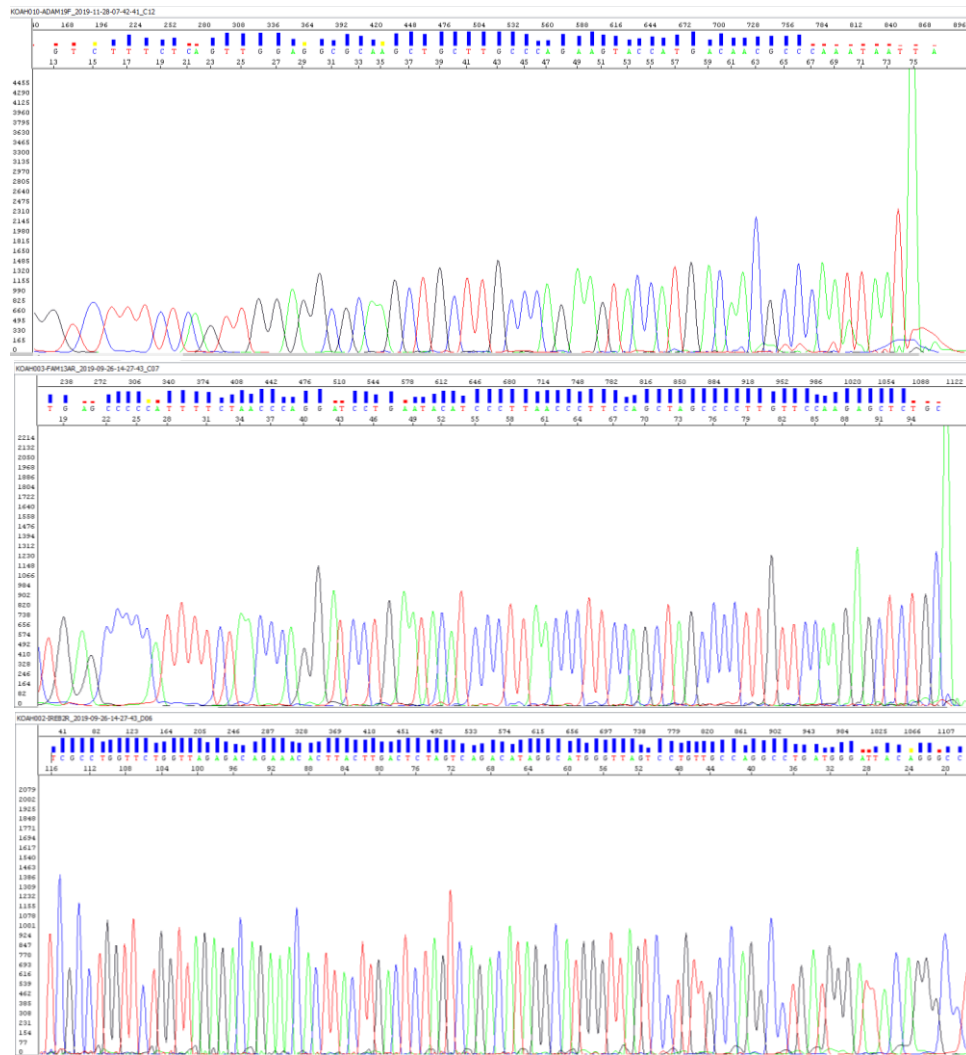
### 3.8. DNA Dizileme Ürünlerinin Pürifikasyonu

DNA dizileme reaksiyonu sonrası örnekler *Zymo Research ZR DNA sequencing clean up* sekans purifikasyon kiti kullanılarak saflaştırıldı. Sekans reaksiyonu ürünleri "*Zymo Research DNA Sequencing Clean-Up Kit*" ile pürifiye edildi. Bunun için 20µl sekans reaksiyonu ürünü ile 240 µl sekans bağlama çözeltisi karıştırıldı ve pürifikasyon kolonlarının üzerine eklendi. 14.000 g'de 30 saniye santrifüj ile PCR ürünlerinin kolonlara tutunması sağlandı. Ardından, 300 µl membran yıkama çözeltisi eklenerek 14.000 g'de 30 saniye santrifüj ile kolona bağlı olan sekans reaksiyonu ürünleri yıkanarak sekans reaksiyonu ürünleri saf olmayanlar

uzaklaştırıldı. 20µl formamid eklenerek 14.000 g'de 30 saniye santrifüj sonrası pürifiye sekans reaksiyonu ürünleri elde edildi. Pürifiye edilmiş sekans ürünlerinin kapiller elektforezi *ABI Prism 3500 Avant Genetic Analyzer* cihazı kullanılarak gerçekleştirildi.

### 3.9. Gen Dizi Analizi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Kapiller elektforez sonrası sonuçlar öncelikle *Seqscape* programı ile değerlendirildi. Sonrasında *Codon Code Aligner* programı ile *NCBI*, *Ensembl* ([www.ensembl.org](http://www.ensembl.org); [www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/)) ve *HGMD* ([www.hgmd.cf.ac.uk/ac/all.php](http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/all.php)) gibi veritabanları kullanılarak değerlendirildi.



Şekil 3.1. ADAM19, FAM13A, IREB2 genleri normal dizilim örnekleri.



## **İstatistik Analizler**

Veriler *IBM SPSS Statistics V23* programına aktarılarak analizler gerçekleştirilmiştir. Tanımlayıcı istatistik olarak kategorik değişkenler için sıklık ve yüzde, sayısal değişkenler için ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum verilmiştir. KOAH hastalarında polimorfizmlerin görülme oranları Tek Örneklem Ki-kare Testi (*One Sample Chi-square Test*) ile %50'ye karşı test edilmiştir. İki kategorik değişken arasındaki ilişkiler Ki-kare Analizi ile incelenmiştir. İki bağımsız grup arasında (polimorfizmler için var-yok şeklinde) sayısal değişken (FEV1) bakımından fark olup olmadığına, parametrik test varsayımları sağlandığı için İki Ortalama Arasındaki Farkın Anlamlılık Testi (*Independent Samples t Test*) ile bakılmıştır. Analizlerde anlamlılık düzeyi 0,05 alınmıştır.

#### 4. BULGULAR

KOAH tanısı olan toplam 110 hasta çalışmaya alındı, yaş ortalamaları  $67 \pm 11$  (39-90) idi. Hastaların 82'si erkek (%74,5), 28'i kadındı (% 25,5). Hastaların 65'inde (% 59,1) 20 paket-yıl ve üstü sigara öyküsü olup; 42 hasta (% 38,2) hiç sigara içmemiş olduğu görüldü. Hastaların tümü göğüs hastalıkları hekimi tarafından KOAH tanısı ile izlenen hastalar olup, spirometrik değerleri; ortalama FEV1/FVC  $59,1 \pm 7$  (42-69), ortalama FEV1  $58 \pm 23$  (17-122), FVC  $77,7 \pm 22,9$  (32-138) olarak görüldü, hepsinde GOLD kriterlerine uygun olarak kalıcı hava yolu kısıtlılığı mevcuttu. Hastaların GOLD kriterlerine göre KOAH sınıflamaları ise; A grubunda 36 kişi (%32,7), B grubunda 51 kişi (%46,4), C grubunda 5 kişi (% 4,5), D grubunda 18 kişi (% 16,4) kişi olduğu görüldü. Tablo 4.1.'de hastaların klinik ve demografik verileri ayrıntılı verildi.

**Tablo 4.1.** Hastaların klinik ve demografik verileri

<b>Özellikler</b>	
<b>Yaş, (ortalama ± SD) (yıl) (aralık)</b>	67 ± 11 (39-90)
<b>Cinsiyet, n (%)</b>	
Erkek	82 (74,5)
Kadın	28 (25,5)
<b>Sigara öyküsü, n (%)</b>	
Hiç içmemiş	42 (38,2)
<20 paket-yıl	3 (2,7)
≥20 paket-yıl	65 (59,1)
<b>GOLD</b>	
GOLD A	36 (32,7)
GOLD B	51 (46,4)
GOLD C	5 (4,5)
GOLD D	18 (16,4)
<b>Atak sıklığı (yılıda)</b>	
Hiç	67 (60,9)
1-2	25 (22,7)
≥3	18 (16,4)
<b>mMRC</b>	
0-1	41 (37,3)
≥2	69 (62,7)
<b>FEV1/FVC (ortalama ± SD) (%) (aralık)</b>	59,1 ± 7 (42-69)
<b>FEV1 (ortalama ± SD) (öngörülen %) (aralık)</b>	58 ± 23 (17-122)
<b>FVC (ortalama ± SD) (öngörülen %) (aralık)</b>	77,7 ± 22,9 (32-138)

SD: Standart deviasyon

mMRC: *Modified Medical Council Dyspnea* Skalası, GOLD: *Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease*'e göre semptom değerlendirilmesi ve atak riskine göre hastalık derecesi.

KOAH hastalarında incelenen 3 gende görülen yaygın varyantların sıklık ve görülme yüzdeleri Tablo 4.2.'de verildi.

**Tablo 4.2.** *IREB2*, *FAM13A*, *ADAM19* gen varyantları klinik dağılımı

	KOAH		Solunum Yetmezliği			Amfizem			GOLD			
	Vaka n (%)	P değeri	Var	Yok	P değeri	Hafif	Orta	Ağır	P değeri	A+C	B+D	P değeri
<b><i>IREB2</i> (rs2568494)</b>												
GG	28 (25.5)	<b>&lt;0.05</b>	6	22	0.203	20	3	5	0.112	7	21	0.120
GA	66 (60)	<b>0.036</b>	8	58	0.571	38	19	9	0.600	26	40	0.573
AA	16 (14.5)	<b>&lt;0.05</b>	1	15	0.693	9	6	1	0.391	8	8	0.255
<b><i>FAM13A</i> (rs2869967)</b>												
CC	10 (9.1)	<b>&lt;0.05</b>	0	10	0.352	5	2	3	0.267	4	6	1.00
TC	43 (39.1)	<b>0.022</b>	10	33	<b>0.019</b>	27	13	3	0.226	11	32	<b>0.042</b>
TT	57 (51.8)	0.703	5	52	0.123	35	13	9	0.693	26	31	0.061
<b><i>ADAM19</i> (rs1422795)</b>												
AA	28 (25.5)	<b>&lt;0.05</b>	5	23	0.525	16	9	3	0.612	12	16	0.479
AG	51 (46.4)	0.446	7	44	0.980	29	14	8	0.706	17	34	0.427
GG	31 (28.2)	<b>&lt;0.05</b>	3	28	0.550	22	5	4	0.331	12	19	0.845

KOAH hastalığı ile yaygın varyantların ilişkisi incelendiğinde ise;

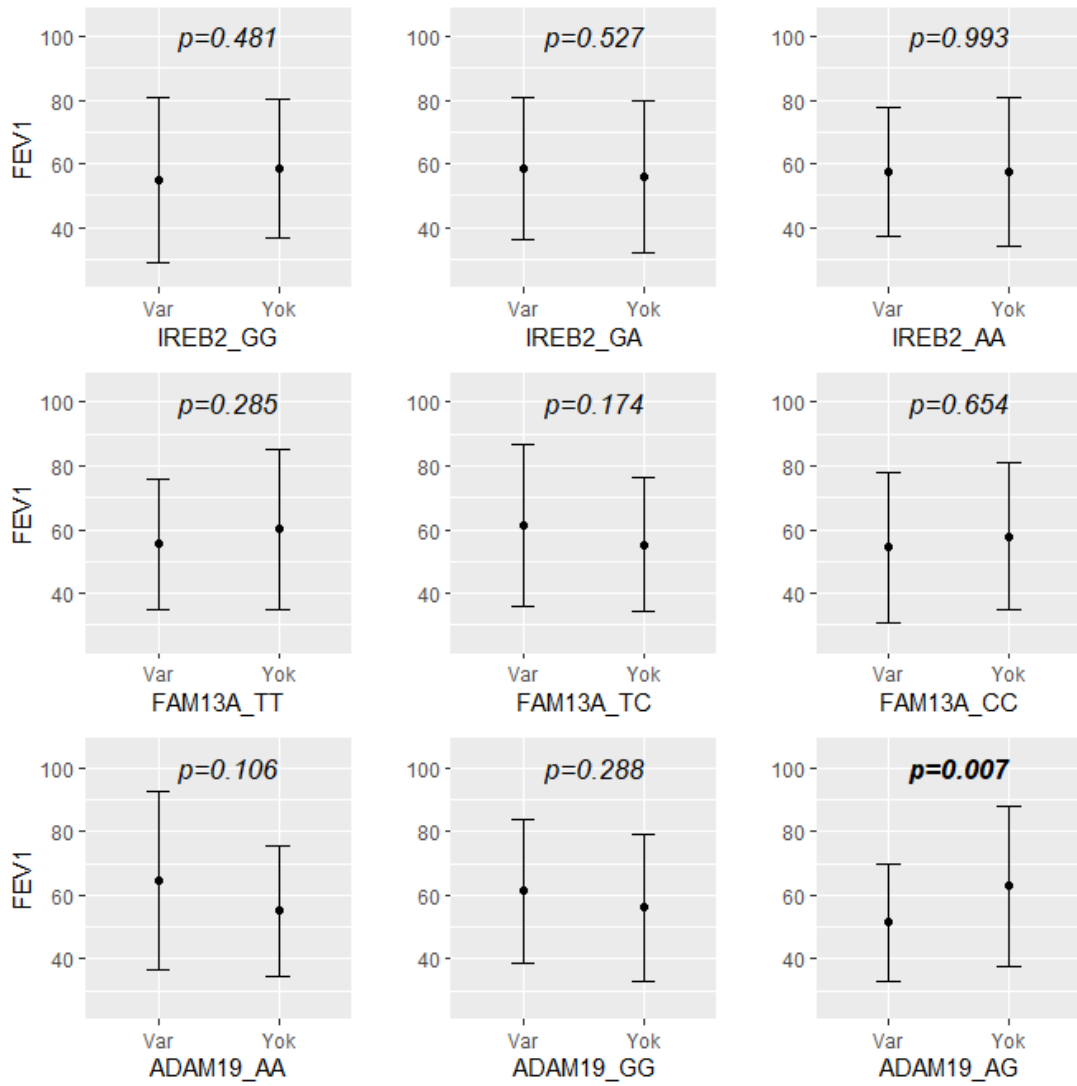
- KOAH hastalarında *IREB2* GA varyantına sahip olanların oranı, olmayanlara göre anlamlı derecede daha yüksekti ( $p=0.036$ ). *IREB2* GG ve AA varyantlarına sahip olanların oranı ise, olmayanlara göre anlamlı derecede daha düşüktü (iki grup için  $p<0.001$ ).

- KOAH hastalarında *FAM13A* TC varyantı olanların oranı, olmayanlara göre anlamlı derecede daha düşüktü ( $p=0.022$ ); *FAM13A* CC olanların oranı ise, olmayanlara göre anlamlı derecede daha düşüktü ( $p<0.001$ ).

- KOAH hastalarında *ADAM19* AA varyantı olanların oranı, olmayanlara göre anlamlı derecede daha düşüktü ( $p<0.001$ ), GG olanların oranı, olmayanlara göre anlamlı derecede daha düşüktü ( $p<0.001$ ). *ADAM19* AG varyantı ile KOAH arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $p=0.446$ ).

*FAM13A* TC varyantı olanlarda olmayanlara göre solunum yetmezliği görülmesi riski 3.758 kat daha fazla olduğu görüldü ( $p=0.08$ ). *FAM13A* TC varyantı olanlarda, olmayanlara göre mMRC  $\geq 2$  olma riski,  $< 2$  olmasına göre 2.359 kat daha fazla idi ( $p=0.042$ ). *FAM13A* TC olanlarda GOLD B+D oranı (%74,4), *FAM13A* TC olmayanlara göre (%55,2) anlamlı derecede yüksekti ( $p=0.042$ ).

*ADAM19* AG varyantı olanlarda istatistiksel anlamlı olarak FEV1 değerinin daha düşük seyrettiği görüldü ( $p=0.007$ ), diğer varyantlarla FEV1 ilişkisi Şekil 4.1.'de gösterildi.



**Şekil 4.1.** Varyantlara göre FEV1 değerlerinin ortama  $\pm$  standart sapma grafiği.

Veriler değerlendirildiğinde *IREB2* heterozigot varyantın KOAH hastalığı ile ilişkisi olabileceği görüldü. *FAM13A* heterozigot varyantın ise hastalık yatkınlığı ile değil ancak ciddiyet bulguları ile ilişkisi olduğu görüldü. *FAM13A* TC varyanta sahip bireylerde KOAH gelişmesi halinde daha semptomatik seyredebileceği görüldü. Benzer şekilde *ADAM19* heterozigot varyantı için de hastalık ile ilişkisi saptanmadı ancak FEV1 değerlerinin hastalarda daha düşük olduğu görüldü.

KOAH hastalarında, cinsiyet ve sigara içiciliği ile genotip arasındaki ilişki incelendiğinde, *IREB2* GG genotipi olan kadın hastalarda erkeklere göre KOAH görülme riski 2.474 kat daha fazla idi ( $p=0.052$ ). *IREB2* AA genotipinde olan hastalarda ise fazla sigara öyküsü olan hastalarda KOAH gelişme riski sigara öyküsü

20 paket-yıldan az olanlara göre 3.5 kat daha fazla idi ( $p=0.051$ ). Diğer genotipler ile ilişkiler Tablo 4.3.'de özetlenmiştir.

**Tablo 4.3.** *IREB2*, *FAM13A*, *ADAM19* gen varyantlarının cinsiyet ve sigara içiciliğine göre dağılımı

	Cinsiyet			Sigara		
	Kadın	Erkek	P değeri	< 20 paket-yıl	≥20 paket-yıl	P değeri
<b><i>IREB2</i> (rs2568494)</b>						
GG	11	17	0.052	15	13	0.114
GA	15	51	0.421	27	39	1.000
AA	2	14	0.351	3	13	0.051
<b><i>FAM13A</i> (rs2869967)</b>						
CC	1	9	0.447	3	7	0.522
TC	13	30	0.357	22	21	0.080
TT	14	43	0.824	20	37	0.198
<b><i>ADAM19</i> (rs1422795)</b>						
AA	5	23	0.285	8	20	0.124
AG	14	37	0.655	22	29	0.659
GG	9	22	0.589	15	16	0.318

## 5. TARTIŞMA

Günümüzde kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımları oldukça popüler olup, gelecek tıbbında birçok alanda yer alması beklenmektedir. Akciğer hava yolu hastalıkları toplumda oldukça sık görülen, bu grupta yer alan KOAH ise yüksek mortalite ve morbiditesi olan multifaktöryel bir hastalıktır. Spirometrik değerlendirme akciğer fonksiyonunu değerlendirmek için başvuru en yaygın yöntem olup, FEV1/FVC ve FEV1 değerleri hava yolu obstrüksiyonunun belirlenmesinde, klinikte hastalık ciddiyeti ve progresyonunun izlenmesinde önemli yeri olan parametrelerdir. Ancak daha önce yapılan çalışmalarda tek başına spirometrik değerlerin hastalığın prognozunu öngörmediği, tedavi düzenleme konusunda tek başına değerlendirilmemesi gerektiği görülmüştür (29). GOLD önerilerinde şu an için hastanın semptom değerlendirilmesi ile atak geçirme durumlarının da değerlendirilmesi önerilmektedir. Ancak klinik pratikte sadece bu faktörlerin tedaviyi belirlemede, prognozu öngörmeye yetersiz oldukları gözlenmektedir. Genetik faktörlerin hastalık yatkınlığını belirleme ve ciddiyetini öngörmeye faydalı olabileceği çalışmalarda gösterilmiştir (75).

KOAH gelişimi için genetik risk faktörleri araştırılmaktadır. Özellikle antioksidasyon, detoksifikasyon, proteaz, antiproteaz, inflamatuvar rolleri olan yollarda daha önce tespit edilen genler üzerinde durulmaktadır ve bu genlerde görülen yaygın polimorfizmler araştırılmaktadır.

*IREB2* 15q25'te lokalize, IRP2 kodlayan gen olup hücrel demir homeostazında görev alan başlıca regülatörlerdendir (76). Demir hücre içine alımı, depolanması ve dışarı atılması basamakları IRP'ler tarafından düzenlenir ve IRP'ler hücrelerin ihtiyaçlarına yetecek kadar demir almalarını ve toksik düzeye ulaşmamasını sağlar. KOAH yatkınlık genlerini belirlemek için yapılan GWAS çalışmalarında *IREB2* geni varyantlarının KOAH ile ilişkili olabileceği saptanmıştır (3, 4). Bizim çalışmamızda da *IREB2* GA varyantına sahip olmak KOAH için yatkınlığa neden olacağı yönünde sonuç elde edilmiştir.

Demir homeostazı ve serbest demir konsantrasyonu önemli bir oksidatif stres mediatörü olup, bu mekanizma ile demir lokal hasara sebep olabilir (77). *IREB2*



*knock out* fare çalışmalarında, beyinde demir homeostazında bozulma ve sonucunda nörodejeneratif hastalık geliştiği görülmüştür (78). Ancak bu çalışmada akciğer dokuları detaylı incelenmemiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise KOAH hastaları ile kontrol bireylerin akciğer dokuları karşılaştırıldığında, *IREB2* protein ve mRNA ekspresyonunun KOAH hastalarında artmış olduğu görülmüştür (4). *IREB2* geni ile ilgili saptanan önemli bir özellik de, daha düşük oksijen basıncında; hipoksi durumunda post-translasyonel olarak genin aktif olduğu görülmüştür (76, 79). Bu durumun, hipoksi neticesinde bozulmuş demir homeostazı ile oksidatif stres oluşması, doku hasarı ve FEV1 değerinde düşmeye sebep olabileceği görülmüştür.

Bizim çalışmamız sonucunda, *IREB2* gen varyantlarının KOAH yatkınlığa sebep olması açısından daha önce yapılan çalışmaların sonucunu desteklemektedir. Bu durum bizim çalışmamızda akciğer fonksiyonundan bağımsız olduğu görülmektedir, literatürdeki benzer sonuçlarda da FEV1 ile ilişki tespit edilememiştir (80). Zhou ve ark. (77) yaptığı çalışmada, Çin Han popülasyonunda *IREB2* geninde, rs2568494 polimorfizmin de bulunduğu, 8 ayrı polimorfizm ile KOAH yatkınlığı ve KOAH ilişkili fenotipler arasındaki ilişki araştırılmıştır. KOAH olan hastalar arasında daha önce sigara içmiş ve içmekte olan hastalar değerlendirildiğinde, *IREB2* polimorfizmleri ile hastalık arasında ilişki tespit edilmemiştir. Sigara içmemiş hastalarda ise 2 polimorfizm ile ilişki görülmüştür. *IREB2* geni rs2568494 polimorfizmi ile hastalık arasında ve solunum fonksiyonları arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Erkek, sigara içicisi 236 KOAH hastası, 150 kontrol ile yapılan bir araştırmada, 20 genden 42 polimorfizm ile hastalık ilişkisi incelenmiştir (81). *IREB2* geni rs2568494 polimorfizmi ile KOAH arasında ilişki saptanmıştır. Aynı zamanda A alleli ile FEV1 arasında pozitif korelasyon görülmüştür, bu sonuç daha önce yapılan çalışmaların sonuçları ile farklılık göstermektedir. Jin Kim ve ark. yaptığı çalışmada,  $\alpha$ -1 antitripsin eksikliği olan hastalarda, *IREB2* rs2568494 polimorfizmi ile pre-post bronkodilatör FEV1 ve prebronkodilatör FEV1/FVC arasında ilişki saptanmıştır (82). Çalışmada  $\alpha$ -1 antitripsin eksikliği olan hastalarda *IREB2* geninin modifiye edici gen olabileceği sonucu çıkarılmıştır. Çalışmalar arası farklı sonuçların görülmesi,

hastalarda farklı genetik faktörlerin etki etmesi, çalışmaya katılan hasta popülasyon sayı ve özelliklerinin farklı olmasına bağlanabilir.

Demir homeostazında bozulma sonucu akciğerde görülen fazla miktarda demirin, bölgesel inflamasyona yol açarak akciğer kanseri ve KOAH patogenezinde yer alabileceği düşünülmektedir (59, 83). Ghio ve ark. (59) yaptığı bir çalışmada insan ve fare solunum epitel hücreleri sigara dumanına maruz bırakılmış ve demir homeostazı, oksidatif stres ve inflamatuvar hasar tespit edilmiştir. Sigara içen sağlıklı bireylerin ve KOAH'lı hastaların lavaj örneklerinde demir ve ferritin konsantrasyonlarının sağlıklı sigara içmeyen bireylerin lavaj örnekleri ile karşılaştırıldığında artmış olduğu görülmüş. Aynı zamanda lavaj askorbat düzeylerinin sigara içmekle azaldığı saptanmıştır. Sigara içen bireylerde serum demir ve ferritin düzeyleri artmış olup, sigara dumanına maruziyet sonrası bu metalin sistemik birikimi olabileceğini düşündürmektedir. Çalışma sonucunda sağlıklı ve KOAH'lı olan sigara içicilerinin akciğer dokularında artmış demir konsantrasyonu saptanmış ve sigara bırakılmasından sonra bile KOAH gelişimine katkı sağlayabileceği belirtilmiştir.

Sigara dumanına maruziyet demir birikiminde artışla ilişkilendirilmiş olup, *IREB2* geninde görülen varyantların KOAH ve akciğer kanserine yatkınlık yaratabileceği düşünülmektedir (4). Sigara ilişkili iki hastalığın potansiyel genetik risk faktörlerinin de benzer olabileceği düşünülebilir. *CHRNA3*, *CHRNA5* genleri 15. kromozomda *IREB2* ile yakın bölgelerde olup, farklı GWAS çalışmalarında akciğer kanseri ile ilişkilendirilmişlerdir; ancak bu genlerin sigara içmeye yatkınlık yaratması ya da direkt karsinojenik etkisi ile mi alakalı olduğu konusunda fikir birliği yoktur (84). Spitz ve ark. yaptığı çalışmada bu genlerde görülen polimorfizmler ile nikotin bağımlılığı ve erken yaş akciğer kanseri gibi akciğer kanseri fenotipleri ile istatistiksel olarak ilişki saptanmıştır. Bu bölgedeki polimorfizmler ile KOAH ve akciğer kanseri arasında  $\alpha$ -1 antitripsin eksikliği bulunup bulunmamasından bağımsız olarak ilişki tespit edilmiştir (82). Aynı çalışmada  $\alpha$ -1 antitripsin eksikliği olan erkek hastalarda, *IREB2* geninde görülen polimorfizmler ile amfizem arasında ilişki görülmüştür.

Sigara ilişkili amfizem gelişimi de akciğerde görülen oksidatif stres ile ilişkilendirilebilir, sigara içicilerinde demir birikimi Nelson ve ark. tarafından araştırılmıştır (85). Sigara içicilerinde üst loblardan alınan bronkoalveolar lavaj örneklerinde alt loblardakine göre daha yüksek konsantrasyonda demir saptanmış olup, bu bulgu sigara içmeyenlerde saptanmamıştır. Akciğerde demir konsantrasyonlarındaki farklılık, farklı derecelerde oksidatif hasar ve amfizem dağılımına sebep olabileceği, amfizem ve akciğer kanserinin daha sıklıkla üst loblarda olduğu ve patogenezinde yer alabileceği çalışmada vurgulanmıştır. Bizim çalışmamızda akciğer bölgelerinde amfizem dağılımı incelenmedi ancak amfizem derecesi ile *IREB2* varyantı arasında istatistiksel ilişki saptanmadı.

*FAM13A* geni ise 4q22.1 bölgesinde lokalize bir gen olup Rho GTPaz sinyal yolağında görevi olduğu düşünülmektedir ve özellikle bu bölgedeki polimorfizmlerin KOAH yatkınlığı ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir (61, 62). Bizim çalışmamızda *FAM13A*; rs2869967 T>C varyantı ile KOAH gelişimi açısından istatistiksel anlamlı ilişki saptanmamıştır. Ancak, KOAH ciddiyeti ile ilişkilendirilebilecek GOLD sınıflandırması ile solunum yetmezliği gelişimi açısından risk göstergesi olabileceği görülmüştür. Özellikle semptomların daha ön planda olduğu GOLD B ve D grupları ile *FAM13A* heterozigot varyant arasında ilişki saptanmıştır.

Genel popülasyon üzerinde yapılan GWAS çalışmalarında *FAM13A* akciğer fonksiyonu ile ilişkili bulunmuştur (13). KOAH hastalar üzerinde yapılan kohort çalışmalarında gen ile akciğer fonksiyonu arasında ilişki saptanmış ve sonuçlar bu genin akciğer fenotipinde yer aldığını desteklemektedir (61). Bir meta-analizde, özellikle orta-ciddi ağırlıkta KOAH ile *FAM13A* geni arasında güçlü istatistiksel ilişki saptanmıştır (86). Çalışmamızda da gösterdiğimiz gibi *FAM13A* geninin hastalık ciddiyetine olan etkisini ve mekanizmasını anlamak, özellikle KOAH gibi kompleks hastalıklarda oldukça zordur. Gen bölgesinde görülen varyantlar ile genin fonksiyonu RNA *splicing*, transkripsiyon, protein oluşumu ya da fonksiyonu gibi farklı mekanizmalar ile değişebilmektedir. Genin biyokimyasal, hücresel ve fonksiyonel verileri, varyantların biyolojik sonuçlarını değerlendirebilmekte oldukça öneme sahiptir. KOAH gibi kompleks hastalıklarda birden fazla gende görülen varyantlar

hastalık fenotipini etkileyebilmektedir (86). GWAS çalışmalarında gen bölgelerinde tespit edilen riskin genetik mekanizması tam olarak aydınlatılamamaktadır. Gen bölgesi akciğer ekspresyon çalışmalarında (QTL) bu ilişki araştırılmaktadır. Akciğer dokusunda ekspresyonunun değerlendirildiği bir çalışmada, *FAM13A*'nın KOAH' a yatkınlık etkenlerinden olabileceğini destekleyen sonuçlar görülmüştür (87).

KOAH olan 275 Çin Han popülasyonundan hastalarda yapılan bir araştırmada *FAM13A* rs2869967 ile KOAH arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (61). Ayrıca 4 *CHARGE* (*Chorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology*) kohort çalışmasından 20.890 Avrupa kökenli katılımcının dahil edildiği ve pulmoner fonksiyonların değerlendirildiği meta-analiz neticesinde FEV1/FVC ile aralarında *ADAM19* ve *FAM13A* genlerinin de bulunduğu sekiz lokus arasında ilişki saptanmıştır (13).

*FAM13A* daha önceki çalışmalarda tümör supresör gen olarak tanımlanmış ve çalışmamızda bakılan polimorfizmden farklı bir polimorfizmde (rs7671167), C alleli KOAH hastalığında koruyucu olarak belirtilmiştir (62, 81). Çalışmamız neticesinde KOAH hastalarında *FAM13A* TC ve CC varyantı olanların oranı, olmayanlara göre anlamlı derecede daha düşük olduğu görüldü. Çalışmamız sonucunda da *FAM13A* rs2869967 C allelinin KOAH hastalığından koruyucu olduğu sonucu çıkarılabilir.

Amfizematöz parankimal harabiyet gibi yapısal değişiklikler KOAH heterojenitesini etkileyen faktörlerden biri olarak görülmektedir (88). Bazı hastalarda ciddi düzeyde parankimal hasar söz konusu olup genetik alt yapısı araştırılması gerektiği düşünülmektedir. Çalışmamızda da amfizem derecesi ile polimorfizmler arası ilişki araştırılmıştır. Ancak amfizem derecesi ile yaygın varyantlar arası ilişki saptanmamıştır.

*FAM13A* geninin, Wnt/B-catenin yolağı aracılığıyla, hücre çoğalması, farklılaşması ve akciğer tamir mekanizmasında rolü olabileceği gösterilmiştir (7). *FAM13A* geninin B-catenin aracılı akciğer tamir mekanizmasını inhibe ederek amfizem gelişimine neden olabileceği belirtilmiştir. Bazı hastalarda sigara gibi çevresel faktörler aynı olsa dahi görülen ciddi parankimal hasarın özellikle *FAM13A*

geninde görülen varyantlarla ilişkili olabileceği, daha geniş hasta gruplarında ilişkinin gösterilebileceği ortaya atılmıştır. Çalışmamızda *FAM13A* geni ile hastalarda görülen solunum yetmezliği arasında ilişki tespit edilmiştir. Akciğerde etkili gaz değişimi hava ile damarlar arasındaki oldukça ince bir bariyer aracılığıyla gerçekleşmektedir. Bu bariyer, kapiller endotel sıra, hava boşluğunu çevreleyen epitel doku ile konnektif doku yapılarının yer aldığı interstisyel alan olmak üzere üç tabakadan oluşmaktadır. Bu tabaka dahilinde görülen anormallikler farklı mekanizmalarla solunumsal anormalliklere yol açabilmektedir. Rho GTPaz, akciğerde bariyer fonksiyonunda yer almaktadır ve KOAH, astım, akut respiratuar distres sendromu gibi akciğer hastalıklarında fonksiyonu bozulduğu görülmüştür (8). *FAM13A* geninde görülen genetik varyasyonlar Rho GTPaz aktivitesini etkileyerek endotel bariyer fonksiyonu ve gaz değişimi gibi ilişkili hücre yolaklarını etkileyebilmektedir.

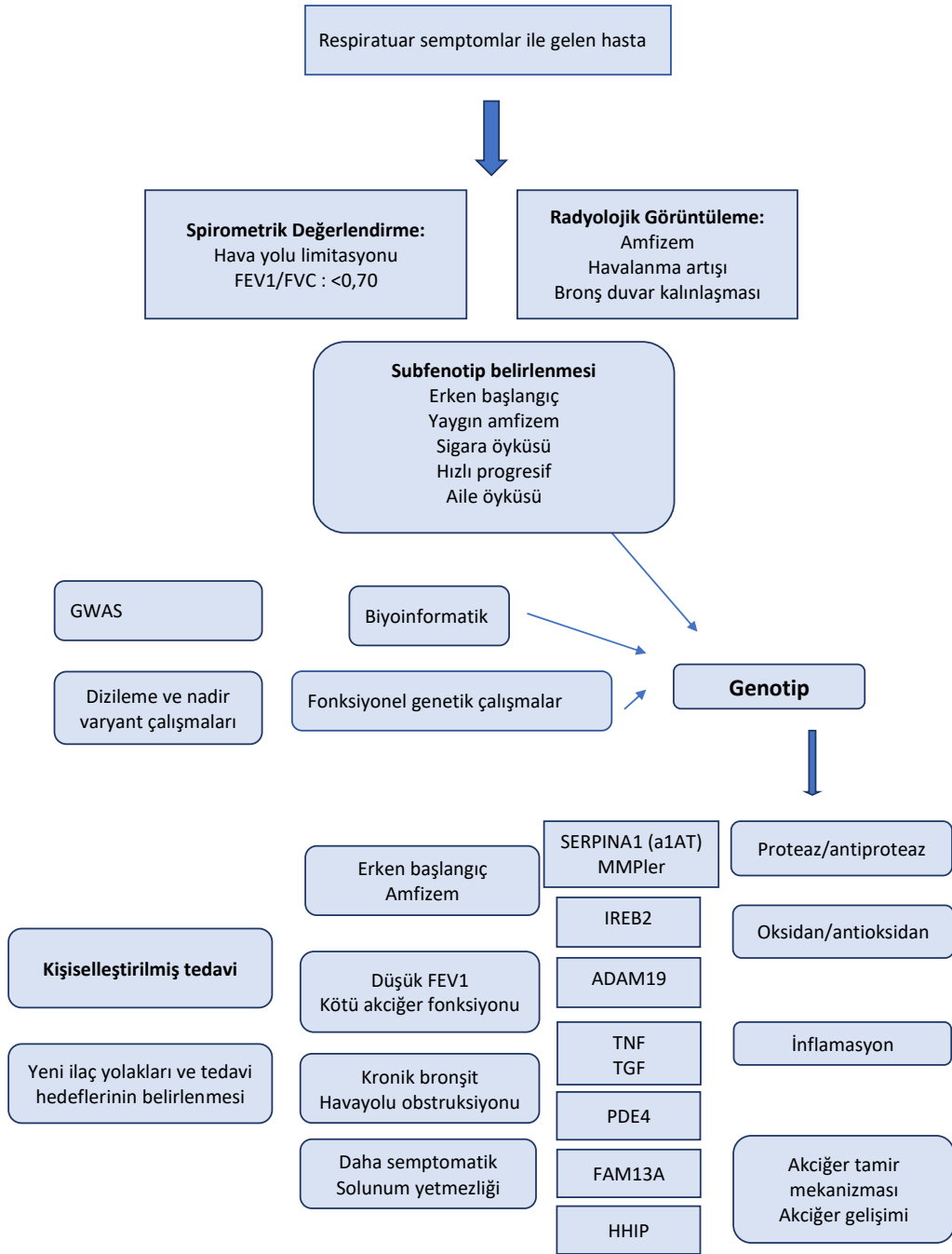
*ADAM19* geni 5q32-33 bölgesinde lokalizedir ve ADAM endopeptidaz ailesinin tüm fonksiyonel domainlerine sahiptir (10). ADAM, disintegrin ve metalloproteinaz ailesinin oldukça önemli biyolojik yolda rolü olduğu keşfedilmiştir. Hücre -matriks iletişimini kontrol eder ve hücrenin büyüme ve gelişim regülasyonuna yardım etmektedir. ADAM ailesinin insanlardaki biyolojik rolü göz önüne alındığında, bu aile üyelerinin lokalizasyonu ve fonksiyonunun incelenmesi hastalık gelişimindeki rollerini anlamak adına oldukça önemlidir. Son zamanlarda yapılan araştırmalarda ADAM ailesinin astım, bronşiyal aşırı cevap (12), KOAH, interstisyel akciğer hastalıkları (89), akciğer kanseri (11) gibi akciğer hastalıklarındaki rolü olduğu gösterilmiştir. ADAM ailesinin birçok üyesi bronş epitel ile alveolar tip 2 epitel hücreleri, interstisyel inflamatuvar hücreler, düz kas dokusu ve endotelde eksprese olduğu görülmüştür (90). Özellikle *ADAM19* geninin hava yolu epitel hücrelerinde erken inflamatuvar cevap oluşmasında önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir. *ADAM19*, hava yolu inflamasyonunun anahtar modülatörü TNF- $\alpha$ 'ın pro-inflamatuvar aktivitesini artırır. Ayrıca *ADAM19*'un düz kas hücrelerinde de eksprese olduğunun görülmesi bu genin kronik hava yolu inflamasyonunda da rolü olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamız sonucunda *ADAM19* ile en önemli pulmoner fonksiyon belirteçlerinden olan FEV1 ile ilişkisi tespit edilmiştir. Klinikte akciğer dokusu ve hava yollarının fizyolojik durumunu yansıtan pulmoner fonksiyonlar, spirometrik değerler ile değerlendirilmektedir. İki önemli spirometrik değer olan FEV1 ile FEV1/FVC hava yolu obstrüksiyonunun göstergelerindedir. Özellikle FEV1 değeri hava yolu obstrüksiyonunun ciddiyetini gösteren en önemli göstergelerden birisi olup, KOAH gibi akciğer hastalıklarının progresyonunu değerlendirmede kullanılmaktadır. Düşük pulmoner kapasite, respiratuar hastalıkların tanı ve takibinde kullanılmakla birlikte, kronik akciğer hastalıklarına eşlik eden komorbid kardiyovasküler hastalıklar ile mortalite ve morbidite ile de ilişkisi olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (91, 92). Çalışmamızda *ADAM19* geni varyantı ile düşük FEV1 arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptanmış olup, KOAH olan hastalarda düşük akciğer kapasitesi için risk faktörü olarak değerlendirilebileceği düşünülmüştür. Daha önce yapılan çalışmalarda da *ADAM* ailesinin KOAH hastalığı gelişimi ile genel popülasyonda progresif akciğer fonksiyon kaybı ile ilişkisi görülmüştür (93). GWAS çalışmalarını kapsayan bir meta-analizde *ADAM19* geni varyantları ile akciğer fonksiyonu arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (13).

Sonuç olarak;

KOAH dünyada çok sayıda insanı etkileyen önemli bir halk sağlığı sorunudur. KOAH, havayolları kısıtlılığı ve havayollarının sigara, çevresel kirlilik gibi etkenlere inflamatuvar cevabı ile karakterize kronik bir hastalıktır. Bu hastalık çevresel ve genetik faktörler neticesinde ortaya çıkmaktadır. Havayolu hastalıklarında klinik fenotipler ve bunlardan sorumlu genetik etiyolojiler üzerinde yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır. Bildiğimiz kadarıyla bizim çalışmamız, *IREB2* geni rs2568494 polimorfizmi, *FAM13A* rs2869967 polimorfizmi, *ADAM19* rs1422795 polimorfizmlerinin Türk hasta popülasyonunda, KOAH'a yatkınlık ve şiddetini etkileyen faktörlerle ilişkisini inceleyen ilk çalışmadır. Ancak çalışmamızın kısıtlılıkları da bulunmaktadır. Bunlardan ilki kontrol grubumuzun olmamasıdır. Hasta sayısının az olması çalışmamızın bir diğer kısıtlayıcı faktörüdür. Çalışmamız sonucunda *IREB2* geninde görülen varyantın hastalığa yatkınlıkla ilişkisi görülmüştür. Ayrıca,

*ADAM19*'un KOAH ciddiyet belirleyicilerinden FEV1 ile ilişkisi; *FAM13A* geninde görülen varyantın ise solunum yetmezliği gelişmesi ve semptomatik KOAH (GOLD B ve D) gelişmesinde risk faktörü olarak görülebileceği gibi önemli sonuçlar çıkarılmıştır. İlerleyen zamanda bu sonuçlar ile genotip–fenotip ilişkisinin kurulması amaçlanmaktadır. Ayrıca, sonuçlarımızın hastalık prevalansının, penetrans ve klinik çeşitliliğin belirlenmesi ile ilgili çalışmalar için katkı sağlayacağına inanıyoruz. Alta yatan patofizyolojik yolların aydınlatılması ile ilgili fonksiyonel çalışmalar ve tedaviye ilişkin kişiselleştirilmiş tıp ile ilgili çalışmalar için kaynak oluşturarak, bilimsel birikime yardımcı olacağını düşünüyoruz. Sonuçlarımız doğrultusunda KOAH'a genetik yaklaşımla ilgili oluşturduğumuz algoritma Şekil 5.1'de gösterilmiştir.



Şekil 5.1. KOAH'a genetik yaklaşım.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1) Bu çalışma Türkiye’de KOAH hastaları üzerinde *IREB2* geni rs2568494, *FAM13A* rs2869967, *ADAM19* rs1422795 polimorfizmlerinin çalışıldığı ilk çalışmadır.

2) KOAH fenotiplerinin oldukça farklı olması, klinik olarak ayırıcı tanıda, benzer semptomlarla giden farklı hastalıkların olması klinisyenleri zorlamaktadır. KOAH genetiğinin aydınlatılması, farklı patofizyolojik yolların aydınlatılması oldukça önemlidir.

3) Çalışmamız sonucunda, *IREB2*, *FAM13A* ve *ADAM19* genlerinin KOAH patogenezinde yer alabileceği sonucu çıkarılmıştır. Ayrıca, KOAH heterojenitesi hastalarda görülen geniş genetik heterojeniteye bağlı olabileceği sonucu çıkarılmıştır.

4) KOAH hastalığı genetik olarak kompleks hastalıklar arasında olup, heterojenitesinin aydınlatılması için farklı genetik ve fonksiyon çalışmaları oldukça önemlidir, yapılması gerekir.

5) Yatkınlık genleri ve ileri tedavi hedeflerinin belirlenmesi, kişisel etkin tedavilerin geliştirilmesini sağlayacaktır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease: 2020 Report. [www.goldcopd.org](http://www.goldcopd.org). (Accessed on December 16, 2020).
2. Marciniak SJ, Lomas DA. Genetic susceptibility. *Clin Chest Med*. 2014;35(1):29-38.
3. Pillai SG, Ge D, Zhu G, Kong X, Shianna KV, Need AC, et al. A genome-wide association study in chronic obstructive pulmonary disease (COPD): identification of two major susceptibility loci. *PLoS Genet*. 2009;5(3):e1000421.
4. DeMeo DL, Mariani T, Bhattacharya S, Srisuma S, Lange C, Litonjua A, et al. Integration of genomic and genetic approaches implicates IREB2 as a COPD susceptibility gene. *American Journal of Human Genetics*. 2009;85(4):493-502.
5. Young RP, Hopkins RJ, Hay BA, Whittington CF, Epton MJ, Gamble GD. FAM13A locus in COPD is independently associated with lung cancer - evidence of a molecular genetic link between COPD and lung cancer. *The Application of Clinical Genetics*. 2011;4:1-10.
6. Jin Z, Chung JW, Mei W, Strack S, He C, Lau GW, et al. Regulation of nuclear-cytoplasmic shuttling and function of Family with sequence similarity 13, member A (Fam13a), by B56-containing PP2As and Akt. *Molecular Biology of The Cell*. 2015;26(6):1160-73.
7. Jiang Z, Lao T, Qiu W, Polverino F, Gupta K, Guo F, et al. A chronic obstructive pulmonary disease susceptibility gene, FAM13A, regulates protein stability of  $\beta$ -catenin. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016;194(2):185-97.
8. Duluc L, Wojciak-Stothard B. Rho GTPases in the regulation of pulmonary vascular barrier function. *Cell and Tissue Research*. 2014;355(3):675-85.
9. Corvol H, Hodges CA, Drumm ML, Guillot L. Moving beyond genetics: is FAM13A a major biological contributor in lung physiology and chronic lung diseases? *Journal of Medical Genetics*. 2014;51(10):646-9.
10. Qi B, Newcomer RG, Sang QX. ADAM19/adamalysin 19 structure, function and role as a putative target in tumors and inflammatory diseases. *Current Pharmaceutical Design*. 2009;15(20):2336-48.
11. Rocks N, Paulissen G, Quesada Calvo F, Polette M, Gueders M, Munaut C, et al. Expression of a disintegrin and metalloprotease (ADAM and ADAMTS) enzymes in human non-small-cell lung carcinomas (NSCLC). *British Journal of Cancer*. 2006;94(5):724-30.
12. Van Eerdewegh P, Little RD, Dupuis J, Del Mastro RG, Falls K, Simon J, et al. Association of the ADAM33 gene with asthma and bronchial hyperresponsiveness. *Nature*. 2002;418(6896):426-30.

13. Hancock DB, Eijgelsheim M, Wilk JB, Gharib SA, Loehr LR, Marcianti KD, et al. Meta-analyses of genome-wide association studies identify multiple loci associated with pulmonary function. *Nature Genetics*. 2010;42(1):45-52.
14. Fishman AP, Fishman AP. *Pulmonary diseases and disorders*. 5th Edition ed: McGraw-Hill New York; 2015.
15. Herriges M, Morrisey EE. Lung development: orchestrating the generation and regeneration of a complex organ. *Development (Cambridge, England)*. 2014;141(3):502-13.
16. Goss AM, Tian Y, Tsukiyama T, Cohen ED, Zhou D, Lu MM, et al. Wnt2/2b and beta-catenin signaling are necessary and sufficient to specify lung progenitors in the foregut. *Developmental Cell*. 2009;17(2):290-8.
17. Domyan ET, Ferretti E, Throckmorton K, Mishina Y, Nicolis SK, Sun X. Signaling through BMP receptors promotes respiratory identity in the foregut via repression of Sox2. *Development (Cambridge, England)*. 2011;138(5):971-81.
18. Desai TJ, Malpel S, Flentke GR, Smith SM, Cardoso WV. Retinoic acid selectively regulates Fgf10 expression and maintains cell identity in the prospective lung field of the developing foregut. *Developmental Biology*. 2004;273(2):402-15.
19. Ornitz DM, Yin Y. Signaling networks regulating development of the lower respiratory tract. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2012;4(5).
20. Tilley AE, Harvey BG, Heguy A, Hackett NR, Wang R, O'Connor TP, et al. Down-regulation of the notch pathway in human airway epithelium in association with smoking and chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2009;179(6):457-66.
21. López-Campos JL, Tan W, Soriano JB. Global burden of COPD. *Respirology (Carlton, Vic)*. 2016;21(1):14-23.
22. World Health Organisation (WHO) Website <https://www.who.int/>. 2021 (Accessed on February 25, 2021).
23. Gunen H, Hacievliyagil SS, Yetkin O, Gulbas G, Mutlu LC, Pehlivan E. Prevalence of COPD: first epidemiological study of a large region in Turkey. *European Journal of Internal Medicine*. 2008;19(7):499-504.
24. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet (London, England)*. 2015;385(9963):117-71.
25. Kessler R, Partridge MR, Miravittles M, Cazzola M, Vogelmeier C, Leynaud D, et al. Symptom variability in patients with severe COPD: a pan-European cross-sectional study. *The European Respiratory Journal*. 2011;37(2):264-72.
26. Jones PW. Health status measurement in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 2001;56(11):880-7.

27. Türk Toraks Derneği'nin GOLD 2017 Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH) Raporuna Bakışı. [www.toraks.org.tr](http://www.toraks.org.tr).
28. Lynch DA, Austin JH, Hogg JC, Grenier PA, Kauczor HU, Bankier AA, et al. CT-Definable Subtypes of Chronic Obstructive Pulmonary Disease: A Statement of the Fleischner Society. *Radiology*. 2015;277(1):192-205.
29. Agusti A, Calverley PM, Celli B, Coxson HO, Edwards LD, Lomas DA, et al. Characterisation of COPD heterogeneity in the ECLIPSE cohort. *Respiratory Research*. 2010;11(1):122.
30. Martinez CH, Chen YH, Westgate PM, Liu LX, Murray S, Curtis JL, et al. Relationship between quantitative CT metrics and health status and BODE in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 2012;67(5):399-406.
31. Ballarin A, Bazzan E, Zenteno RH, Turato G, Baraldo S, Zanovello D, et al. Mast cell infiltration discriminates between histopathological phenotypes of chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2012;186(3):233-9.
32. Finkelstein R, Ma HD, Ghezzi H, Whittaker K, Fraser RS, Cosio MG. Morphometry of small airways in smokers and its relationship to emphysema type and hyperresponsiveness. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 1995;152(1):267-76.
33. Wise RA. The value of forced expiratory volume in 1 second decline in the assessment of chronic obstructive pulmonary disease progression. *The American Journal of Medicine*. 2006;119(10 Suppl 1):4-11.
34. Hogg JC, Chu F, Utokaparch S, Woods R, Elliott WM, Buzatu L, et al. The nature of small-airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *The New England Journal of Medicine*. 2004;350(26):2645-53.
35. Kim V, Han MK, Vance GB, Make BJ, Newell JD, Hokanson JE, et al. The chronic bronchitic phenotype of COPD: an analysis of the COPDGene Study. *Chest*. 2011;140(3):626-33.
36. Postma DS, Bush A, van den Berge M. Risk factors and early origins of chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet (London, England)*. 2015;385(9971):899-909.
37. Eisner MD, Anthonisen N, Coultas D, Kuenzli N, Perez-Padilla R, Postma D, et al. An official American Thoracic Society public policy statement: Novel risk factors and the global burden of chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2010;182(5):693-718.
38. de Marco R, Accordini S, Antò JM, Gislason T, Heinrich J, Janson C, et al. Long-term outcomes in mild/moderate chronic obstructive pulmonary disease in the European community respiratory health survey. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2009;180(10):956-63.

39. Wang M, Aaron CP, Madrigano J, Hoffman EA, Angelini E, Yang J, et al. Association Between Long-term Exposure to Ambient Air Pollution and Change in Quantitatively Assessed Emphysema and Lung Function. *Jama*. 2019;322(6):546-56.
40. Donaldson K, Brown D, Clouter A, Duffin R, MacNee W, Renwick L, et al. The pulmonary toxicology of ultrafine particles. *Journal of aerosol medicine: The Official Journal of the International Society for Aerosols in Medicine*. 2002;15(2):213-20.
41. Marchetti N, Garshick E, Kinney GL, McKenzie A, Stinson D, Lutz SM, et al. Association between occupational exposure and lung function, respiratory symptoms, and high-resolution computed tomography imaging in COPD. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2014;190(7):756-62.
42. Silva GE, Sherrill DL, Guerra S, Barbee RA. Asthma as a risk factor for COPD in a longitudinal study. *Chest*. 2004;126(1):59-65.
43. Tashkin DP, Altose MD, Connett JE, Kanner RE, Lee WW, Wise RA. Methacholine reactivity predicts changes in lung function over time in smokers with early chronic obstructive pulmonary disease. The Lung Health Study Research Group. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 1996;153(6 Pt 1):1802-11.
44. Karki R, Pandya D, Elston RC, Ferlini C. Defining "mutation" and "polymorphism" in the era of personal genomics. *BMC Medical Genomics*. 2015;8:37.
45. Gonzaga-Jauregui C, Lupski JR, Gibbs RA. Human genome sequencing in health and disease. *Annual Review of Medicine*. 2012;63:35-61.
46. Brookes AJ. The essence of SNPs. *Gene*. 1999;234(2):177-86.
47. Aerts J, Wetzels Y, Cohen N, Aerssens J. Data mining of public SNP databases for the selection of intragenic SNPs. *Human Mutation*. 2002;20(3):162-73.
48. Ingebrigtsen T, Thomsen SF, Vestbo J, van der Sluis S, Kyvik KO, Silverman EK, et al. Genetic influences on Chronic Obstructive Pulmonary Disease - a twin study. *Respiratory Medicine*. 2010;104(12):1890-5.
49. DeMeo DL, Carey VJ, Chapman HA, Reilly JJ, Ginns LC, Speizer FE, et al. Familial aggregation of FEF(25-75) and FEF(25-75)/FVC in families with severe, early onset COPD. *Thorax*. 2004;59(5):396-400.
50. Hersh CP, Demeo DL, Lazarus R, Celedón JC, Raby BA, Benditt JO, et al. Genetic association analysis of functional impairment in chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2006;173(9):977-84.
51. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Thompson & Thompson genetics in medicine e-book: Elsevier Health Sciences; 2015.

52. Regan EA, Hokanson JE, Murphy JR, Make B, Lynch DA, Beaty TH, et al. Genetic epidemiology of COPD (COPDGene) study design. *Copd*. 2010;7(1):32-43.
53. Sandford AJ, Weir TD, Spinelli JJ, Paré PD. Z and S mutations of the alpha1-antitrypsin gene and the risk of chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 1999;20(2):287-91.
54. Dahl M, Tybjaerg-Hansen A, Lange P, Vestbo J, Nordestgaard BG. Change in lung function and morbidity from chronic obstructive pulmonary disease in alpha1-antitrypsin MZ heterozygotes: A longitudinal study of the general population. *Annals of Internal Medicine*. 2002;136(4):270-9.
55. Silverman EK. Risk of Lung Disease in PI MZ Heterozygotes. Current Status and Future Research Directions. *Annals of the American Thoracic Society*. 2016;13 Suppl 4(4):S341-5.
56. Houghton AM, Mouded M, Shapiro SD. Common origins of lung cancer and COPD. *Nature Medicine*. 2008;14(10):1023-4.
57. Hobbs BD, de Jong K, Lamontagne M, Bossé Y, Shrine N, Artigas MS, et al. Genetic loci associated with chronic obstructive pulmonary disease overlap with loci for lung function and pulmonary fibrosis. *Nature Genetics*. 2017;49(3):426-32.
58. Anderson CP, Shen M, Eisenstein RS, Leibold EA. Mammalian iron metabolism and its control by iron regulatory proteins. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2012;1823(9):1468-83.
59. Ghio AJ, Hilborn ED, Stonehuerner JG, Dailey LA, Carter JD, Richards JH, et al. Particulate matter in cigarette smoke alters iron homeostasis to produce a biological effect. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2008;178(11):1130-8.
60. Du Y, Xue Y, Xiao W. Association of IREB2 Gene rs2568494 Polymorphism with Risk of Chronic Obstructive Pulmonary Disease: A Meta-Analysis. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. 2016;22:177-82.
61. Guo Y, Lin H, Gao K, Xu H, Deng X, Zhang Q, et al. Genetic analysis of IREB2, FAM13A and XRCC5 variants in Chinese Han patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2011;415(2):284-7.
62. Cho MH, Boutaoui N, Klanderman BJ, Sylvia JS, Ziniti JP, Hersh CP, et al. Variants in FAM13A are associated with chronic obstructive pulmonary disease. *Nat Genet*. 2010;42(3):200-2.
63. Chi JT, Wang Z, Nuyten DS, Rodriguez EH, Schaner ME, Salim A, et al. Gene expression programs in response to hypoxia: cell type specificity and prognostic significance in human cancers. *PLoS Medicine*. 2006;3(3):e47.

64. Biro M, Munoz MA, Weninger W. Targeting Rho-GTPases in immune cell migration and inflammation. *British Journal of Pharmacology*. 2014;171(24):5491-506.
65. London SJ, Gao W, Gharib SA, Hancock DB, Wilk JB, House JS, et al. ADAM19 and HTR4 variants and pulmonary function: Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology (CHARGE) Consortium Targeted Sequencing Study. *Circulation Cardiovascular Genetics*. 2014;7(3):350-8.
66. Goldmuntz E, Paluru P, Glessner J, Hakonarson H, Biegel JA, White PS, et al. Microdeletions and microduplications in patients with congenital heart disease and multiple congenital anomalies. *Congenital Heart Disease*. 2011;6(6):592-602.
67. Lapperre TS, Willems LN, Timens W, Rabe KF, Hiemstra PS, Postma DS, et al. Small airways dysfunction and neutrophilic inflammation in bronchial biopsies and BAL in COPD. *Chest*. 2007;131(1):53-9.
68. Marques LJ, Teschler H, Guzman J, Costabel U. Smoker's lung transplanted to a nonsmoker. Long-term detection of smoker's macrophages. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 1997;156(5):1700-2.
69. Malhotra R, Olsson H. Immunology, genetics and microbiota in the COPD pathophysiology: potential scope for patient stratification. *Expert Review of Respiratory Medicine*. 2015;9(2):153-9.
70. Ware JJ, van den Bree M, Munafò MR. From men to mice: CHRNA5/CHRNA3, smoking behavior and disease. *Nicotine & Tobacco Research: Official Journal of the Society for Research on Nicotine and Tobacco*. 2012;14(11):1291-9.
71. El-Zein RA, Young RP, Hopkins RJ, Etzel CJ. Genetic predisposition to chronic obstructive pulmonary disease and/or lung cancer: important considerations when evaluating risk. *Cancer prevention research (Philadelphia, Pa)*. 2012;5(4):522-7.
72. Ong ST, Ho JZ, Ho B, Ding JL. Iron-withholding strategy in innate immunity. *Immunobiology*. 2006;211(4):295-314.
73. Schaible UE, Kaufmann SH. Iron and microbial infection. *Nature reviews Microbiology*. 2004;2(12):946-53.
74. Steiling K, van den Berge M, Hijazi K, Florido R, Campbell J, Liu G, et al. A dynamic bronchial airway gene expression signature of chronic obstructive pulmonary disease and lung function impairment. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2013;187(9):933-42.
75. Silverman EK. Genetics of COPD. *Annual Review of Physiology*. 2020;82:413-31.
76. Rouault TA. The role of iron regulatory proteins in mammalian iron homeostasis and disease. *Nature Chemical Biology*. 2006;2(8):406-14.

77. Zhou H, Yang J, Li D, Xiao J, Wang B, Wang L, et al. Association of IREB2 and CHRNA3/5 polymorphisms with COPD and COPD-related phenotypes in a Chinese Han population. *Journal of Human Genetics*. 2012;57(11):738-46.
78. LaVaute T, Smith S, Cooperman S, Iwai K, Land W, Meyron-Holtz E, et al. Targeted deletion of the gene encoding iron regulatory protein-2 causes misregulation of iron metabolism and neurodegenerative disease in mice. *Nature Genetics*. 2001;27(2):209-14.
79. Hanson ES, Foot LM, Leibold EA. Hypoxia post-translationally activates iron-regulatory protein 2. *The Journal of Biological Chemistry*. 1999;274(8):5047-52.
80. Chappell SL, Daly L, Lotya J, Alsaegh A, Guetta-Baranes T, Roca J, et al. The role of IREB2 and transforming growth factor beta-1 genetic variants in COPD: a replication case-control study. *BMC Medical Genetics*. 2011;12:24.
81. Arja C, Ravuri RR, Pulamaghatta VN, Surapaneni KM, Raya P, Adimoolam C, et al. Genetic determinants of chronic obstructive pulmonary disease in South Indian male smokers. *PLoS One*. 2014;9(2):e89957.
82. Kim WJ, Wood AM, Barker AF, Brantly ML, Campbell EJ, Eden E, et al. Association of IREB2 and CHRNA3 polymorphisms with airflow obstruction in severe alpha-1 antitrypsin deficiency. *Respiratory Research*. 2012;13(1):16.
83. Ziolkowska-Suchanek I, Mosor M, Gabryel P, Grabicki M, Zurawek M, Fichna M, et al. Susceptibility loci in lung cancer and COPD: Association of IREB2 and FAM13A with pulmonary diseases. *Scientific Reports*. 2015;5:13502.
84. Spitz MR, Amos CI, Dong Q, Lin J, Wu X. The CHRNA5-A3 region on chromosome 15q24-25.1 is a risk factor both for nicotine dependence and for lung cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. 2008;100(21):1552-6.
85. Nelson ME, O'Brien-Ladner AR, Wesselius LJ. Regional variation in iron and iron-binding proteins within the lungs of smokers. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 1996;153(4 Pt 1):1353-8.
86. Cho MH, McDonald ML, Zhou X, Mattheisen M, Castaldi PJ, Hersh CP, et al. Risk loci for chronic obstructive pulmonary disease: a genome-wide association study and meta-analysis. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2014;2(3):214-25.
87. Lamontagne M, Couture C, Postma DS, Timens W, Sin DD, Paré PD, et al. Refining susceptibility loci of chronic obstructive pulmonary disease with lung eqtls. *PLoS One*. 2013;8(7):e70220.
88. Occhipinti M, Paoletti M, Crapo JD, Make BJ, Lynch DA, Brusasco V, et al. Validation of a method to assess emphysema severity by spirometry in the COPDGene study. *Respiratory Research*. 2020;21(1):103.
89. Edwards ST, Cruz AC, Donnelly S, Dazin PF, Schulman ES, Jones KD, et al. c-Kit immunophenotyping and metalloproteinase expression profiles of mast cells in interstitial lung diseases. *The Journal of Pathology*. 2005;206(3):279-90.



90. Dijkstra A, Postma DS, Noordhoek JA, Lodewijk ME, Kauffman HF, ten Hacken NH, et al. Expression of ADAMs ("a disintegrin and metalloprotease") in the human lung. *Virchows Archiv: An International Journal of Pathology*. 2009;454(4):441-9.
91. Sin DD, Wu L, Man SF. The relationship between reduced lung function and cardiovascular mortality: a population-based study and a systematic review of the literature. *Chest*. 2005;127(6):1952-9.
92. Young RP, Hopkins R, Eaton TE. Forced expiratory volume in one second: not just a lung function test but a marker of premature death from all causes. *The European Respiratory Journal*. 2007;30(4):616-22.
93. van Diemen CC, Postma DS, Vonk JM, Bruinenberg M, Schouten JP, Boezen HM. A disintegrin and metalloprotease 33 polymorphisms and lung function decline in the general population. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2005;172(3):329-33.

## 8. EKLER

## EK-1: CAT (KOAİ Değerlendirme Testi) (27)

		Skor
Hiç öksürmüyorum	0 1 2 3 4 5	Sürekli öksürüyorum
Akciğerlerimde hiç balgam olmaz	0 1 2 3 4 5	Akciğerlerim her zaman balgam ile dolu
Göğsümde hiç tıkanma/daralma hissetmiyorum	0 1 2 3 4 5	Göğsümde çok daralma hissi mevcut
Yokuş veya bir kat merdiven çıktığımda nefesim daralmıyor	0 1 2 3 4 5	Yokuş veya bir kat merdiven çıktığımda nefesim çok daralıyor
Evdeki hareketlerimde hiç zorlanmıyorum	0 1 2 3 4 5	Evdeki hareketlerimde çok zorlanıyorum
Akciğerlerimin durumuna rağmen evden çıkarken hiç çekinmiyorum	0 1 2 3 4 5	Akciğerlerimin durumu nedeniyle evden çıkmaya çekinmiyorum
Kendimi çok enerjik hissediyorum	0 1 2 3 4 5	Kendimi hiç enerjik hissetmiyorum
		<b>Toplam Skor</b>

**EK-2: mMRC (Modifiye Medical Research Council) Dispne Skalası (27)**

mMRC	
Derece 0	Sadece ağır egzersiz sırasında nefesim daralıyor
Derece 1	Sadece düz yolda hızlı yürüdüğümde ya da hafif yokuş çıkarken nefesim daralıyor
Derece 2	Nefes darlığım nedeniyle düz yolda kendi yaşlarıma göre daha yavaş yürümek ya da ara ara durup dinlenmek zorunda kalıyorum
Derece 3	Düz yolda 100 m veya birkaç dakika yürüdükten sonra nefesim daralıyor ve duruyorum
Derece 4	Nefes darlığım yüzünden evden çıkamıyorum veya giyinip soyunurken nefes darlığım oluyor

**EK-3: Etik Kurul İzin Belgesi**

**T.C.**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557-1187

Konu :

## ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

**Toplantı Tarihi** : 06 TEMMUZ 2018 CUMA  
**Toplantı No** : 2018/17  
**Proje No** : GO 18/489 (Değerlendirme Tarihi: 05.06.2018)  
**Karar No** : GO 18/489-25

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Mehmet ALİKAŞİFOĞLU'nun sorumlu araştırmacı olduğu, Dr. Merve YUMRUKUZ'un doktora tezi olan, GO 18/489 kayıt numaralı, "*ADAMI9, FAMI3a, IREB2 Genleri Yaygın Varyantlarının KOAH Yatkınlığı ve Şiddeti İle İlişkisi*" başlıklı proje önerisi araştırmannın gerekeçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, 10 Temmuz 2018 – 10 Temmuz 2020 tarihleri arasında geçerli olmak üzere etik açıdan uygun bulunmuştur.

- |                                   |          |                                   |
|-----------------------------------|----------|-----------------------------------|
| 1. Prof. Dr. Nurten AKARSU        | (Başkan) | 10 Doç. Dr. Gözde GİRGİN          |
| İZİNLİ                            |          |                                   |
| 2. Prof. Dr. Sevdâ F. MÜFTÜOĞLU   | (Üye)    | 11 Doç. Dr. Fatma Visal OKUR      |
| İZİNLİ                            |          | İZİNLİ                            |
| 3. Prof. Dr. M. Yıldırım SARA     | (Üye)    | 12. Doç. Dr. Can Ebru KURT        |
| 4. Prof. Dr. Necdet KAYILAM       | (Üye)    | 13. Doç. Dr. H. Hüsrev TURNAGÖL   |
| İZİNLİ                            |          |                                   |
| 5. Prof. Dr. Hatice Doğan BUZOĞLU | (Üye)    | 14. Dr. Öğr. Üyesi Özay GÖKÖZ     |
| 6. Prof. Dr. R. Köksal ÖZGÜL      | (Üye)    | 15. Dr. Öğr. Üyesi Müge DEMİR     |
| 7. Prof. Dr. Ayşe Lale DOĞAN      | (Üye)    | 16. Öğr. Gör. Dr. Meltem ŞENGELEN |
| 8. Prof. Dr. Mintaze Kerem GÜNEL  | (Üye)    | 17. Av. Meltem ONURLU             |
| 9. Prof. Dr. Oya Nuran EMİROĞLU   | (Üye)    |                                   |

Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu  
06100 Sıhhiye-Ankara  
Telefon: • Faks: • E-posta:

Ayrıntılı Bilgi için:

#### EK-4. Orijinallik Raporu Örneği

ADAM19, FAM13A, IREB2 Genleri Yaygın Varyantlarının KOAH Yatkinliğı ve Şiddeti ile İlişkisi

Merve YUMRUKUZ ŞENEL

Toplam sayfa sayısı: 62

##### ORIJINALLIK RAPORU

% <b>10</b>	% <b>9</b>	% <b>2</b>	% <b>1</b>
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

##### BİRİNCİL KAYNAKLAR

<b>1</b>	<a href="http://openaccess.hacettepe.edu.tr:8080">openaccess.hacettepe.edu.tr:8080</a> İnternet Kaynağı	% <b>2</b>
<b>2</b>	<a href="http://www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080">www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080</a> İnternet Kaynağı	% <b>2</b>
<b>3</b>	<a href="http://acikbilim.yok.gov.tr">acikbilim.yok.gov.tr</a> İnternet Kaynağı	% <b>2</b>
<b>4</b>	<a href="http://core.ac.uk">core.ac.uk</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>5</b>	<a href="http://docplayer.biz.tr">docplayer.biz.tr</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>6</b>	Submitted to Ankara University Öğrenci Ödevi	<% <b>1</b>
<b>7</b>	<a href="http://www.slideshare.net">www.slideshare.net</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>8</b>	Dawn L. DeMeo. "COPD Genetics", Elsevier BV, 2022 Yayın	<% <b>1</b>

[acikerisim.ybu.edu.tr:8080](http://acikerisim.ybu.edu.tr:8080)

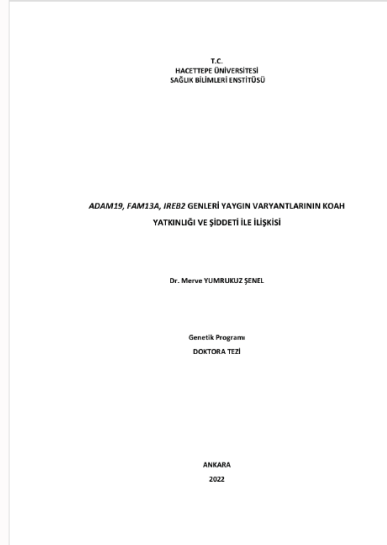


## Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Merve Yumrukuz Şenel  
Ödev başlığı: ADAM19, FAM13A, IREB2 Genleri Yaygın Varyantlarının KOAH...  
Gönderi Başlığı: ADAM19, FAM13A, IREB2 Genleri Yaygın Varyantlarının KOAH...  
Dosya adı: orjinallik\_raporu.docx  
Dosya boyutu: 5.37M  
Sayfa sayısı: 62  
Kelime sayısı: 12,023  
Karakter sayısı: 84,359  
Gönderim Tarihi: 01-Tem-2022 02:24ÖS (UTC+0300)  
Gönderim Numarası: 1865404615



## 9. ÖZGEÇMİŞ

