

**T.C.**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**

**KULAK BURUN BOĞAZ ve BAŞ BOYUN CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**NAZAL POLİP DOKUSUNDA İNFLAMATUAR VE APOPTOTİK  
SİNYAL YOLAĞINDA ETKİLİ GENLERİN TRANSKRİPTOMİK  
VE PROTEİN DÜZEYİNDEKİ İFADELENME PROFİLLERİ**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. ALPER DİLCİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. S. SABRİ USLU**

**ANKARA  
KASIM 2014**

**T.C.**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**

**KULAK BURUN BOĞAZ ve BAŞ BOYUN CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**NAZAL POLİP DOKUSUNDA İNFLAMATUAR VE APOPTOTİK  
SİNYAL YOLAĞINDA ETKİLİ GENLERİN TRANSKRİPTOMİK  
VE PROTEİN DÜZEYİNDEKİ İFADELENME PROFİLLERİ**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. ALPER DİLCİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. S. SABRİ USLU**

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 01/2012 - 37  
proje numarası ile desteklenmiştir.

**ANKARA  
KASIM 2014**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimime büyük katkıları olan değerli hocalarım Prof. Dr. Suat Özbilen'e, Prof. Dr. Erdoğan İnal'a, Prof. Dr. Ahmet Köybaşıoğlu'na, Prof. Dr. Fikret İleri'ye, Prof. Dr. Nebil Göksu'ya, Prof. Dr. İsmet Bayramoğlu'na, Prof. Dr. Yusuf Kemaloğlu'na, Prof. Dr. Kemal Uygur'a, Prof. Dr. Yıldırım Bayazıt'a, Prof. Dr. Metin Yılmaz'a, Prof. Dr. Alper Ceylan'a, Doç. Dr. Yusuf Kızıl'a, Doç. Dr. Utku Aydil'e, Doç. Dr. Mehmet Birol Uğur'a, Doç. Dr. Ayşe İriz'e, Doç. Dr. Hayriye Karabulut'a, Yrd. Doç. Dr. Hakan Tutar'a, Yrd. Doç. Dr. Recep Karamert'e ve Yrd. Doç. Dr. Mehmet Düzlü'ye çok teşekkür ederim.

Ayrıca uzmanlık eğitimimde ve bu tezi oluşturmamda büyük katkısı olan Sayın Prof. Dr. Sabri Uslu'ya ve uzmanlık tezinin moleküler biyolojik yöntemleri kısmında büyük yardımları olan Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalından Sayın Doç. Dr. Ece Konaç'a, Yrd. Doç. Dr. Nuray Varol ve Arş. Gör. İlker Kılıçcıoğlu'na teşekkür ederim.

Eğitim süresince beraber mesai harcadığımız Dr. Ozan Gökdoğan, Dr. Raşit Cevizci, Dr. Emine Korkuyu Yardımcı, Dr. Veysel Akif Savaş, Dr. Ayça Ant, Dr. Süleyman Cebeci, Dr. Selin Üstün Bezgin, Dr. Osman Tuğrul Güzeldir, Dr. Mustafa Çelik, Dr. Faruk Kadri Bakkal, Dr. Furkan Karaloğlu, Dr. Aynur Valieva, Dr. Muammer Melih Şahin, Dr. Vildan Tutar, Dr. Mustafa Çolak, Dr. Fakih Cihat Eravcı, Dr. Mehmet Ekrem Zorlu, Dr. Alper Türkcan, Dr. Ayça Aydın, Dr. Mehmet Göcek, Dr. Nagihan Gülhan ve tüm KBB hemşire, personel ve odyoloji bölümüne çok teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan babam Sami Dilci, annem Menduha Dilci, canım kardeşim İrem Dilci'ye çok teşekkür ederim. Her türlü iyi ve kötü günlerimde yanımda olan ve olacak olan, bana desteğini hiç esirgemeyen eşim Duriye Gizem Tosun Dilci'ye çok teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

**Sayfa No:**

|                                                           |      |
|-----------------------------------------------------------|------|
| TEŞEKKÜR.....                                             | iii  |
| İÇİNDEKİLER.....                                          | v    |
| KISALTMALAR.....                                          | x    |
| TABLolar DİZİNİ .....                                     | xiii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                     | xiv  |
| GRAFİKLER DİZİNİ.....                                     | xv   |
| 1) GİRİŞ.....                                             | 1    |
| 2) GENEL BİLGİLER.....                                    | 5    |
| 2.1) Rinosinüzit ve Rinosinüzit Etiyopatogenezi.....      | 5    |
| 2.2) Nazal Polipozis.....                                 | 10   |
| 2.2.1) Tanım ve Tarihçe.....                              | 10   |
| 2.2.2) Epidemiyoloji.....                                 | 11   |
| 2.2.3) Nazal Polip Histopatolojisi.....                   | 14   |
| 2.2.4) Nazal Polipozis Etiyopatogenezi.....               | 17   |
| 2.2.5) Nazal Polipoziste Sitoloji ve Sitokin Profili..... | 22   |

|                                                      |           |
|------------------------------------------------------|-----------|
| 2.2.6) Nazal Polipoziste İnflamasyon.....            | 26        |
| <b>2.3) Nazal Polipozis ve Genetik.....</b>          | <b>29</b> |
| 2.3.1) CD11b.....                                    | 34        |
| 2.3.2) Galectin - 1.....                             | 36        |
| 2.3.3) Beclin - 1.....                               | 38        |
| 2.3.4) Caspase - 3.....                              | 40        |
| <b>3) GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>                       | <b>43</b> |
| <b>3.1) Kullanılan cihazlar.....</b>                 | <b>46</b> |
| <b>3.2) Kullanılan sarf malzemeler.....</b>          | <b>47</b> |
| <b>3.3) Kullanılan kimyasallar.....</b>              | <b>47</b> |
| <b>3.4) Kullanılan kitler.....</b>                   | <b>48</b> |
| <b>3.5) Kullanılan çözeltilerin hazırlanışı.....</b> | <b>49</b> |
| 3.5.1) Hücre lizis solüsyonunun hazırlanışı.....     | 49        |
| 3.5.2) PMSF solüsyonu.....                           | 49        |
| 3.5.3) %30'luk Akrilamid/bisakrilamid Solüsyonu..... | 49        |
| 3.5.4) 1,5 M Tris Buffer (pH:8,8).....               | 49        |
| 3.5.5) 0,5 M Tris Buffer (pH:6,8).....               | 50        |

|                                                                          |           |
|--------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.5.6) 10x Tris-Glisin Stok Solüsyonu.....                               | 50        |
| 3.5.7) 10x Running Buffer (pH:8,3).....                                  | 50        |
| 3.5.8) Transfer Buffer.....                                              | 50        |
| 3.5.9) Sample Buffer.....                                                | 51        |
| 3.5.10) Amonyum Persülfat (APS) Solüsyonu.....                           | 51        |
| 3.5.11) 10x TBS Solüsyonu.....                                           | 51        |
| 3.5.12) Yıkama Solüsyonu.....                                            | 51        |
| 3.5.13) Primer ve Sekonder Dilüsyon Solüsyonu.....                       | 51        |
| 3.5.14) Bloklama solüsyonu.....                                          | 52        |
| <b>3.6) Yöntemler.....</b>                                               | <b>52</b> |
| 3.6.1) Dokudan Total RNA İzolasyonu.....                                 | 52        |
| 3.6.2) cDNA Sentezi.....                                                 | 53        |
| 3.6.3) Genlerin İfade Edilmesinin Real-Time PCR ile Ölçümü.....          | 55        |
| 3.6.4) Light Cycler (LC) 480 Deney Programı.....                         | 57        |
| 3.6.5)Protein İzolasyonu.....                                            | 58        |
| 3.6.6) BCA Kiti İle Protein Miktar Tayini.....                           | 59        |
| 3.6.7) Western Blot Yöntemiyle Protein Düzeylerinin<br>Belirlenmesi..... | 60        |

|                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.7) İstatistiksel Analiz Yöntemleri.....                                                  | 61 |
| 4) SONUÇLAR VE BULGULAR.....                                                               | 62 |
| 4.1) Gen İfade Düzeylerinin Kantitatif Değerlendirilmesi.....                              | 65 |
| 4.1.1) Kantitatif <i>BECN1</i> Geninin mRNA İfade Düzeyinin<br>Değerlendirilmesi.....      | 67 |
| 4.2.2) Kantitatif <i>CASP3</i> Geninin mRNA İfade Düzeyinin<br>Değerlendirilmesi.....      | 69 |
| 4.2.3) Kantitatif <i>CD11b</i> Geninin mRNA İfade Düzeyinin<br>Değerlendirilmesi.....      | 70 |
| 4.2.4) Kantitatif <i>Galectin-1</i> Geninin mRNA İfade Düzeyinin<br>Değerlendirilmesi..... | 72 |
| 4.2) Caspase-3 Protein İfade Düzeyi.....                                                   | 75 |
| 5) TARTIŞMA VE SONUÇ.....                                                                  | 77 |
| 6) ÖZET.....                                                                               | 91 |
| 7) SUMMARY.....                                                                            | 94 |

|                                           |            |
|-------------------------------------------|------------|
| <b>8) KAYNAKLAR.....</b>                  | <b>96</b>  |
| <b>9) EKLER.....</b>                      | <b>113</b> |
| <b>EK 1) ÖZGEÇMİŞ.....</b>                | <b>113</b> |
| <b>EK 2) ETİK KURUL ONAY BELGESİ.....</b> | <b>115</b> |

## **KISALTMALAR**

**BAFF** : B Cell Activating Factor

**BECN1** : Beclin 1, Autophagy Related

**cAMP** : Cyclic Adenosine Mono Phosphate

**CASP3** : Caspase 3, Apoptosis - Related Cysteine Peptidase

**CD** : Cluster of Differentiation

**CFTR** : Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator

**CR** : Complement Receptor

**DNA** : Deoksiribonükleik Asit

**ECP** : Eosinophil Cationic Protein

**GM- CSF** : Granulocyte Monocyte - Colony Stimulating Factor

**HLA** : Human Leukocyte Antigen

**IAP** : Inhibitor of Apoptotic Protein

**ICAM** : Intercellular Adhesion Molecule

**Ig** : Immünglobin

**IL** : Interlökin

**ITGAM** : Integrin Alfa M

LGALS1 : Lectin, Galactosidase - Binding, Soluble, 1

MAC : Macrofaj 1 Antijen

MBP : Major Basic Protein

MMP : Matriks Metalloproteinaz

NARES : Non Allergic Rhinitis with Eosinophilic Syndrome

NFκB : Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells

NK : Natural Killer

NP : Nazal Polipozis

PCR : Polymerase Chain Reaction

PGE : Prostaglandin E

PMSF : Fenil metil sülfonil florid

RANTES : Regulated Upon Activation, Normally T cell Expressed and Secreted

RNA : Ribonükleik Asit

RT - PCR : Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction

SAE : Staphylococcus Aureus Entereoxin

SLE : Sistemik Lupus Eritematozus

SPINK : Serine Protease Inhibitor Kazal Type

TIMP : Tissue Inhibitor of Metalloproteinases

TLR : Toll Like Receptor

TGF : Transforming Growth Factor

TH : T Helper Hücre

TNF -  $\alpha$  : Tumor Necrosis Factor -  $\alpha$

VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor

VCAM : Vascular Adhesion Molecule

## TABLÖLAR DİZİNİ

### Sayfa No:

|                  |                                                                                                                                        |    |
|------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 1:</b>  | Rinosinüzit etiyopatogenezinde rol oynayan faktörler.....                                                                              | 9  |
| <b>Tablo 2:</b>  | Nazal poliplerin endoskopik evrelemesi.....                                                                                            | 44 |
| <b>Tablo 3:</b>  | Lund - Mackay radyolojik evreleme sistemi.....                                                                                         | 45 |
| <b>Tablo 4:</b>  | cDNA RT-PCR tepkime karışımı.....                                                                                                      | 54 |
| <b>Tablo 5:</b>  | Real - time PCR, primer, prob dizileri.....                                                                                            | 56 |
| <b>Tablo 6:</b>  | GAPDH, BECN1, CASP3, CD11b, Galectin1 Real - time PCR tepkime karışımı.....                                                            | 57 |
| <b>Tablo 7:</b>  | GAPDH, BECN1, CD11b, Galectin1 ve CASP3 genlerinin ifade düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan Real Time PCR tepkime programı..... | 58 |
| <b>Tablo 8:</b>  | Hasta ve Kontrol gruplarının cinsiyet dağılımı.....                                                                                    | 62 |
| <b>Tablo 9:</b>  | Hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları.....                                                                                     | 63 |
| <b>Tablo 10:</b> | Hasta ve kontrol gruplarındaki hastaların eşlik eden hastalıkları.....                                                                 | 64 |
| <b>Tablo 11:</b> | Galectin - 1, Beclin - 1, CD11b ve Caspase - 3 proteinleri mRNA düzeyindeki ifadenme düzeylerinin değişimleri.....                     | 74 |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No:

|                                                                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 1:</b> Rinosinüzit patofizyolojisi.....                                                                                               | 8  |
| <b>Şekil 2:</b> Nazal polip patogenezi.....                                                                                                    | 21 |
| <b>Şekil 3:</b> İntegrin alfa M beta.....                                                                                                      | 35 |
| <b>Şekil 4:</b> Lectin, galactosidase - binding, soluble, 1.....                                                                               | 37 |
| <b>Şekil 5:</b> Beclin 1.....                                                                                                                  | 38 |
| <b>Şekil 6:</b> Caspase 3, apoptoz ilişkili sisteinil peptidaz.....                                                                            | 40 |
| <b>Şekil 7:</b> Caspase 3 aktivasyon yolağı.....                                                                                               | 41 |
| <b>Şekil 8:</b> BECN1, CD11b, Galectin1, CASP3, GAPDH genlerinin mRNA düzeyinde ifadesini kantitatif olarak gösteren amplifikasyon eğrileri... | 66 |
| <b>Şekil 9:</b> BECN1 geni mRNA düzeyi ifadenme düzeyleri.....                                                                                 | 68 |
| <b>Şekil 10:</b> CASP3 geni mRNA düzeyi ifadenme düzeyleri.....                                                                                | 69 |
| <b>Şekil 11:</b> CD11b geni mRNA düzeyi ifadenme düzeyleri.....                                                                                | 71 |
| <b>Şekil 12:</b> Galectin - 1 geni mRNA düzeyi ifadenme düzeyleri.....                                                                         | 72 |
| <b>Şekil 13:</b> Nazal polip ve sağlıklı kontrol örneklerinde Aktif Caspase - 3 protein düzeylerindeki değişimler.....                         | 76 |

## GRAFİKLER DİZİNİ

### Sayfa No:

|                                                                                                           |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Grafik 1:</b> Çalışma grubu endoskopik evreleme grafiği.....                                           | 64 |
| <b>Grafik 2:</b> Çalışma grubu hastalarının radyolojik evreleme grafiği.....                              | 65 |
| <b>Grafik 3:</b> Nazal polip ve sağlıklı kontrol örneklerinin BECN1 mRNA düzeyindeki değişimler.....      | 68 |
| <b>Grafik 4:</b> Nazal polip ve sağlıklı kontrol örneklerinin CASP3 mRNA düzeyindeki değişimler.....      | 70 |
| <b>Grafik 5:</b> Nazal polip ve sağlıklı kontrol örneklerinin CD11b mRNA düzeyindeki değişimler.....      | 71 |
| <b>Grafik 6:</b> Nazal polip ve sağlıklı kontrol örneklerinin Galectin-1 mRNA düzeyindeki değişimler..... | 73 |

## 1) GİRİŞ

Rinosinüzit, burun ve paranasal sinüs mukozasının inflamasyonu ile karakterize bir hastalık grubudur. Hastalarda bu inflamasyona ek olarak burun tıkanıklığı, burun akıntısı, yüzde ağrı ve baskı hissi, koku bozuklukları ve ateş eşlik edebilir. Ayrıca endoskopik muayenede orta meatustan gelen mukopürülan akıntı, orta meatus başta olmak üzere saptanan mukozal ödem ile tıkanıklık ve nazal polip izlenmesi de diğer bulgulardan sayılabilir. Ayrıca bilgisayarlı tomografi görüntülerinde de osteomeatal kompleks ve paranasal sinüslerde mukozal değişiklikler ve yumuşak doku artışlarına rastlanabilir. Rinosinüzitler; akut rinosinüzit, nazal polip içeren kronik rinosinüzit ve nazal polip içermeyen kronik sinüzit, alerjik fungal rinosinüzit olarak alt başlıklarda incelenmektedir (1).

Enfeksiyöz süreçlerin beklenen cevabı inflamatuvar yanıttır. Burun ve paranasal sinüslerdeki inflamasyon sinüs ostiumlarının kapanmasına ve tekrar eden bir enfeksiyöz sürece yol açmaktadır. Genetik faktörler, anatomik varyasyonlar, enfeksiyona yatkınlık yaratan sistemik hastalıklar, neoplazi, alerjik veya immunolojik nedenler hastanın kendisinden kaynaklanan rinosinüzit etiolojisinde yer alan faktörlerdir. Çevresel faktörler ise; bakteriyel, viral veya fungal enfeksiyon, fungal veya bakteriyel kolonizasyona bağlı olan inflamasyon, travma, tütün veya sigara maruziyeti, medikal tedavi veya cerrahiye bağlı iyatrojenik nedenler ve çeşitli iritan kimyasal maruziyetidir (2).

Nazal polip ile seyreden kronik rinosinüzit; semptomları 12 haftadan uzun süren, endoskopik veya tomografik incelemede nazal kavite ve paranasal

sinüslerde poliplerin saptandığı bir rinosinüzit tipidir (1). Prevelansı yaklaşık % 1 - 4 olmakla beraber popülasyonları etkileyen önemli bir hastalık grubudur (3). Özellikle etiolojisinin tam olarak bilinmemesi, tedavi sonrası sık rekürrens görülmesi ve hastalık süresince sosyal aktivite ve yaşam standartlarını etkilemesi nedeniyle kulak burun boğaz hekimleri tarafından üzerinde durulan bir hastalıktır.

Nazal polip, sinonazal kavitenin epitelinden projekte olan mukozal ödem ve enflamasyonla karakterize non-granülatöz bening bir lezyondur ancak polip histolojisine bakıldığında sadece burun lateral duvar mukozasının ödeminden daha fazlası olduğu görülmüştür. Nazal polipin histopatolojisi incelendiğinde burun lateral duvar mukozasında sıklıkla osteometal kompleks civarından kaynaklanan mukozanın de novo inflamatuvar büyümesiyle karakterizedir. Bazal hücre hiperplazisi, goblet hücre hiperplazisi ve skuamoz hücre metaplazisi ile beraber lamina propriada ödem, mukus artışı, eosinofili ve lenfositöz görülebilmektedir (4). Bu bulgular temel alındığı zaman nazal polip gelişiminde hücrelerin hiperproliferasyonu ve inflamasyonun etkili olduğu ve net olarak etiopatogenezin ortaya çıkarılması için bu konuda araştırılma yapılması gereksinimi olduğu ortaya çıkmıştır. Son günlerde yapılan immunolojik ve genetik çalışmalar sonucunda 6. Kromozomun kısa kolundaki HLA antijenleri, TNF -  $\alpha$ , kompleman sistemi ve proinflamatuvar genlerin bu hastalığın temelinde olabileceğine dair bilgiler ortaya koyulmuştur (5). Bu nedenler nazal polip gelişiminde genetik alt yapının önemi daha da arttırmış ve bu konudaki çalışmalar nazal polip etiolojisinde moleküler genetik altyapıyı ortaya çıkarmaya yönelik olarak yoğunlaşmıştır.

Kronik inflamasyon ile ilerleyen birçok hastalıkta hücre proliferasyonu ve apoptotik mekanizmaların etkili olduğu tespit edilmiştir. NP hastalığında da hücre proliferasyonu ile beraber seyreden kronik bir inflamatuvar sürecin olduğu bilinmektedir. Bu nedenle bu hastalığın etiyopatogenezinde hücre proliferasyonu ve apoptozu ile ilgili genlerin, bu genlerin transkripsiyon ve translasyonu sonucu oluşan protein sentezinin etkili olduğu düşünülmektedir (6). Son yıllarda NP ile ilgili yapılan literatür çalışmalarına bakıldığında genetik ve moleküler düzeyde çalışmaların yoğunlaştığını ve bu hastalığın etiyoloji, tedavi ve prognozunda bu yollara müdahale edilmesi gerektiği gündeme gelmiştir.

Bu çalışmanın amacı; nazal polipozise sahip hastalarda CD11b, Beclin - 1, Galectin - 1, Caspase - 3 gibi hücre proliferasyonu, apoptozu, immunolojik cevap ve inflamasyon ile ilgili olan genlerin normal nazal mukozada ve nazal polip dokularında mRNA / protein düzeylerinin araştırılmasıdır. Bahsedilen bu genler ile ilgili literatür incelendiğinde, inflamasyon ve epitel hiperproliferasyonu ile seyreden çoğu hastalıkta bu genlerin ekspresyonunun değişmiş olduğu görülmüştür. CD11b temel olarak immunolojik ve inflamatuvar yanıtın oluşturulmasında anahtar rol oynayan bir protein alt grubudur ve sistemik lupus eritematozus gibi kronik inflamatuvar bir hastalığın patofizyolojisinde yer almaktadır. Beclin - 1, Galectin - 1 ve Caspase - 3 hücre adezyonu, proliferasyonu ve apoptotik süreçlerle ilişkili proteinlerdir. Bu genlerin ve gen ekspresyonu sonucu ortaya çıkan ürünlerin bir çok neoplastik ve nörodejeneratif hastalığın etiyopatogenezinde rol oynayabileceği düşünülmektedir (7). Bu nedenle bu genlerin ekspresyonunun nazal polip dokusunda araştırılması ile nazal polip

etiolojisinde yeni bilgilere ulaşılabileceği hedeflenmektedir. Çünkü, nazal polipozis hastalığı da temelinde inflamatuvar, immunolojik ve hücre proliferasyon - apoptoz mekanizmalarının bulunduğu bir hastalıktır. Nazal polip dokusunda belirtilen genlerin, gen ekspresyonlarının ve sonucunda üretilen ürün miktarının incelenmesiyle bu hastalığın moleküler ve genetik temelini aydınlatılması, yeni bilgiler elde edilerek daha sonraki çalışmalara ışık tutması amaçlanmaktadır.

## **2) GENEL BİLGİLER**

### **2.1) Rinosinüzit ve Rinosinüzit Etiyopatogenezi**

Rinosinüzit, nazal kavite ve paranasal sinüs mukozasının inflamasyonu ile karakterize ve buna eşlik edebilen burun tıkanıklığı, burun akıntısı, yüz ağrısı ve dolgunluk ile koku bozukluğunun eşlik edebileceği bir hastalık grubudur (1). Endoskopik muayenede nazal polip, orta meatustan mukopürülan akıntı ve orta meatusta ödem ve mukozal tıkanıklık görülebilir. Bilgisayarlı tomografi incelemelerinde ise osteomeatal kompleks ve paranasal sinüslerde mukozal değişiklikler ile karşılaşılabilir. Rinosinüzit ile ilgili semptomların 12 haftadan kısa sürdüğü ve bu süre içerisinde tamamen iyileştiği grup akut rinosinüzit olarak sınıflandırılırken; 12 haftadan daha uzun süre devam eden hastalık kronik rinosinüzit olarak tanımlanmaktadır (1,2).

Rinosinüzitler temel olarak dört ana başlıkta incelenebilir.

1. Akut rinosinüzit
2. Nazal polip eşlik etmeyen kronik rinosinüzit
3. Nazal polip eşlik eden kronik rinosinüzit
4. Fungal rinosinüzit

Akut rinosinüzit; bulgulardan en az birisi burun tıkanıklığı/obstrüksiyonu/konjesyonu veya burun akıntısı (önden veya postnazal burun akıntı) olan ve bu bulgularla birlikte fasiyal ağrı/dolgunluk veya

hiposmi/anosmi gibi bulgulardan iki veya daha fazlasının aniden başlayıp, 12 haftadan kısa sürmesi ile tanımlanan bir hastalık grubudur. Hastalık eğer tekrar ediyor ise hastalık aralarında telefon veya karşılıklı görüşme ile konfirme edilmiş semptomsuz bir dönem olması gereklidir (1).

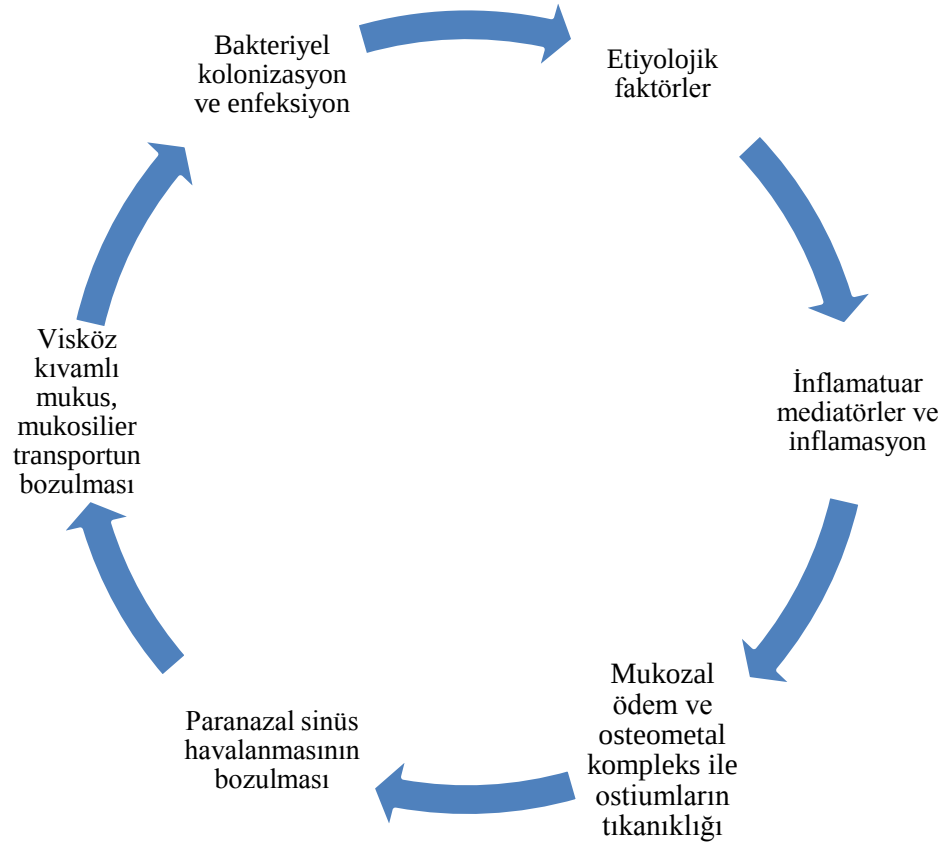
Kronik rinosinüzit; bulgulardan en az birisi burun tıkanıklığı/obstrüksiyonu/konjesyonu veya burun akıntısı (önden veya postnazal burun akıntı) olan ve bu bulgularla birlikte fasiyal ağrı/dolgunluk veya hiposmi/anosmi gibi bulgulardan iki veya daha fazlasının 12 haftadan uzun sürmesi ile tanımlanan bir hastalık grubudur. Bulguların süresi yine telefon veya karşılıklı görüşme ile konfirme edilebilir. Nazal polip eşlik eden kronik rinosinüzit de bu tanı kriterlerine ek olarak sıklıkla lateral nazal duvar ve orta meatustan kaynaklanan nazal polip fizik muayenede görülmelidir (1).

Fungal rinosinüzit; basit rahatsız edici kolonizasyonlardan hızla mortaliteye yol açan invazif enfeksiyonlara kadar geniş bir yelpazeyi kapsamaktadır. Fungal sporlar; paranazal sinüsler, nazal kavite ve geri kalan solunum yollarında kolonize olarak bulunabilmektedir. Nazal kavite ve paranazal sinüslerdeki fungal kolonizasyonun haricinde paranazal sinüslerde fungal enfeksiyonlar fungal rinosinüzit olarak tanımlanır. Akut invazif, kronik invazif, fungus topu, alerjik fungal rinosinüzit ve non-alerjik eozinofilik fungal rinosinüzit olarak alt gruplara ayrılmıştır (8).

Burun ve paranazal sinüslerde çeşitli nedenler sonucu ortaya çıkan inflamasyon sinüs ostiumlarının tıkanmasına ve sonuç olarak rinosinüzit

gelişimine zemin hazırlamaktadır. İnflamasyona bağlı olarak nazal ve paranasal sinüs mukozasında ödem ve şişme ortaya çıkar ve bu durum da sinüs ostiumlarının tıkanıklığına yol açmaktadır. Paranasal sinüslerdeki oksijen tansiyonunun düşmesi mukosilier aktiviteyi bozar ve sinüslere doğru transuda içeriğinde mukus geçişine yol açar. İnflamasyona bağlı olarak mukus daha visköz kıvamlıdır ve bunun sonucunda mukus stazı oluşur ve mukusun paranasal sinüslerden klerensi bozulur. Paranasal sinüslerin bu durumu bakteriyel kolonizasyon için uygun bir ortamdır ve ostiumlardaki tıkanıklık devam ettikçe kolonizasyon artarak enfeksiyon gelişimine yol açmaktadır. Enfeksiyon ve enflamasyonun sonucu olarak mukozal yüzeyler şişer ve ödemlenir böylelikle ostiumlardaki tıkanıklık daha da artar. Bağışıklık sisteminin yanıtı ve bunun sonucunda ostiumlardaki inflamasyonun çözülmesi ve tıkanıklığın açılmasına kadar bu kısır döngü devam eder (Şekil 1)(2). Temelinde alerji olan rinosinüzitlerde de antijen antikor reaksiyonu ve histamin ile diğer inflamatuvar mediatörlerin salınımıyla da aynı patofizyolojik süreç başlayabilmektedir.

İnflamasyon, rinosinüzit etiyopatogenezinde yer alan temel kriterdir. Bir çok etiyolojik faktör inflamasyona yol açarak rinosinüzit gelişimine yol açmaktadır (9). Hastanın kendisinden kaynaklanan başlıca etiyolojik nedenler; genetik faktörler, anatomik varyasyonlar, enfeksiyona yatkınlık yaratan hastalık veya medikal tedaviler, neoplazi, alerji ve immunolojik faktörlerdir.



**Şekil 1:** Rinosinüzit patofizyolojisi

Rinosinüzit etiyolojisindeki temel çevresel nedenler ise; bakteriyel, viral veya fungal enfeksiyonlar, bakteriyel veya fungal kolonizasyona bağlı inflamatuvar süreç, travma, primer veya sekonder sigara maruziyeti, iyatrojenik faktörler, iritan kimyasal maruziyeti, geçirilmiş cerrahi, nazal tamponlama ve nazogastrik tüp yerleştirilmesi gibi işlemler olarak sıralandırılabilir (10). Rinosinüzit etiyopatogenezindeki faktörler Tablo 1' de özetlenmiştir.

**Tablo 1:** Rinosinüzit etiyopatogenezinde rol oynayan faktörler

| Hastadan kaynaklanan faktörler | <ul style="list-style-type: none"><li>• Genetik faktörler (Kistik fibrozis, siliyer diskineziler...)</li><li>• Konjenital anomaliler (Koanal atrezi, yarık damak...)</li><li>• Anatomik varyasyonlar (Konka bülloza, septum deviasyonu, paradoksik orta konka...)</li><li>• Konjenital veya kazanılmış immünyetmezlik</li><li>• Alerji, astım, atopi</li><li>• Neoplazi</li><li>• Geçirilmiş cerrahi, kullanılan ilaçlar</li><li>• Yabancı cisim, nazogastrik tüp, nazal tamponlama</li></ul> |
|--------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Çevresel faktörler             | <ul style="list-style-type: none"><li>• Enfeksiyöz nedenler (bakteri, virüs, fungus )</li><li>• Fungal veya bakteriyel kolonizasyona bağlı inflamatuvar süreç</li><li>• Travma</li><li>• Primer veya sekonder sigara/tütün kullanımı</li><li>• Hava kirliliği</li><li>• İrritatif kimyasal maruziyeti</li></ul>                                                                                                                                                                               |

Rinosinüzitler hem yaşam kalitesi üzerine olan olumsuz etkileri hem de toplumlara getirdiği sosyoekonomik yük nedeniyle önemli bir hastalık grubudur. Özellikle kronik rinosinüzit gibi uzun bir süre boyunca devam eden veya rekürrenslerin sık olarak izlenebildiği bir grupta tanı ve tedavi kulak burun boğaz hekimleri tarafından önem verilmesi gereken bir konudur (11).

## **2.2) Nazal Polipozis**

### **2.2.1) Tanım ve Tarihçe**

Nazal polip, lateral nazal duvardan genellikle osteometal kompleksten kaynaklanan kronik bir inflamasyon sonrası gelişen ödem, fibröz doku, inflamatuvar hücrelerden oluşan yumuşak, ağrısız, non granülamatöz mukozadan kaynaklanan pediküllü keselerdir. Multifaktöriyel bir hastalık olup aspirin intoleransı, astım gibi respiratuvar hastalıklarla yakından ilişkilidir (12).

NP ile ilgili en eski bilgiler yaklaşık 4000 yıl kadar önce Mısır tıp kayıtlarına değin uzanmaktadır. Ni- Ankh Sekhmet isimli kraliyet hekiminin bu konudaki ilk tanımlamayı yaptığı ve tedavi ettiğine dair papirüsler mevcuttur (13).

Eski Yunan' da Hipokrat nazal polipleri tanımlamış ve bu hastalığın vücudun temel yapısını oluşturduğuna inanılan dört sıvının dengesinin bozulmasına bağlı olabileceğini ortaya koymuştur. Nazal polipleri sünger ve halka kullanarak, sıcak demir ile koterizasyon yaparak tedavi etmiştir (14).

Aeginalı Paulus; nazal polipleri ağız ve damak yoluyla cerrahi olarak çıkarmıştır. MS. 1. yy' da Celsus nazal polipleri bir neşter yardımıyla kesmiş ve çıkarmıştır. Roma Dönemi' nde de buna benzer tedaviler uygulanarak NP tedavi edilmeye çalışılmıştır (15).

İslam Tarihi'ne bakıldığında ise İbn-i Sina ve Ebu Kasım nazal polipleri koter ve bir takım cerrahi aletlerle çıkarmaya çalışmışlar ve burunu sonrasında temizleyerek hastalığı tedavi etmişlerdir (16).

Türk tıp literatüründe nazal polip ilk defa Türk cerrahı Şerefettin Sabuncuoğlu tarafından tarif edilmiş ve tedavi önerilerinde bulunulmuştur. Sabuncuoğlu' nun Cerrahiyyetül-Haniyye isimli kitabında nazal poliplere cerrahi müdahalenin yanında, mandibula kırık ve dislokasyonları, nazal fraktür gibi diğer alanlarda da yaklaşımlar tanımlanmıştır (17) .

Nazal poliplerin modern tedavisi 20. yy' ın başlarında Hirschman' ın nazal endoskopiye tanımlaması ile tanımlanmaya başlamıştır. Nazal endoskopinin kullanılmasından sonra 1970 li yıllarda Messerklinger ve Kennedy' nin sistemik nazal endoskopiyle bir çok rinolojik hastalığın tedavisini gerçekleştirmeye başlamıştır (16). Bu yıllardan sonra nazal polip hastalığının hem cerrahi hem de medikal anlamda sistematik bir tedavi planı oluşturulmaya başlanmış ve bu tedavi planlaması günümüzde hala hızla ilerleyerek gelişimini sürdürmektedir.

#### 2.2.2) Epidemiyoloji

NP altyapısında bir çok immunolojik ve genetik yolak olduğu için epidemiyolojisini tanımlamak kolay olmamaktadır. Nazal polip ile seyreden

kronik sinüzit hastaları klinikte karşılan NP hastalarının büyük bir çoğunluğunu oluşturmaktadır. Bu vakaların da büyük bir kısmında TH2 ilişkili (eozinofilik) immünite etkili olmaktadır (18).

NP prevelansının yaklaşık % 1 - 4 kadar olduğu bilinmektedir (3) . Allerjik rinit, atopi ve astım nazal polipozise eşlik edebilen komorbiditelerdir. Allerjik rinit ve atopi ile NP gelişimi arasında bir ilişki olduğu ilk başlarda düşünülmüş olsa da günümüzde yapılan çalışmalarda net bir ilişki saptanamamıştır. Allerjik rinite sahip yaklaşık % 1,5- 1,7 hastada nazal polip bildirilmiş ve bu değer normal popülasyon ile karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır (19).

Ayrıca allerjik fungal rinosinüzite sahip hastalarda da nazal polipozise yaklaşık % 80 oranında rastlanmaktadır ve bu hastalık grubunun tanısında kriterlerden birini nazal polipozis teşkil etmektedir. Ancak nazal polipozisli hastaların sadece % 5-10 civarında allerjik fungal rinosinüzite rastlanılabilir (20).

NP ile astım arasında ilişki incelendiğinde non allerjik astımı olan hastalarda NP insidansının allerjik olanlara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca yapılan diğer bir çok çalışmada da atopi ve allerjinin NP prevelansını etkilemediği ve astımın da NP için bağımsız bir öngörücü etken olduğunu düşündürmektedir (21). Sonuç olarak astımlı hastalarda astımı olmayanlara göre nazal polipozis gelişimi daha kolay olurken allerji ve atopinin herhangi bir ilişkisi saptanamamıştır. Astım ve NP ile ilgili bu ilişkinin temelinde

de benzer kronik inflamatuvar yanıtı benzer sitokin, inflamatuvar hücreler ve yolaklar kullanarak oluşmasına bağlanabilir.

NP 40-60 yaş arası sık olarak görülürken 80 yaşından sonra nadiren karşılan bir durumdur. En sık tanı konulan yaş grubu erkek hastalarda 51 iken kadın hastalarda 49 yaş civarındadır. Çocuk hastalarda ise nadiren karşılaşılmaktadır eğer pediatrik bir hastada NP ile karşılaşıldığında kistik fibroz veya silier diskineziler gibi hastalıklar altta aranmalıdır (21).

Literatüre bakıldığında NP hastalarının yaklaşık % 14 kadarında aile öyküsü tespit edilmiştir ve bu durum genetik altyapının etiyopatogeneizde rol oynayabileceğini düşündürmektedir (5). Ancak günümüze kadar net bir kalıtsal aktarım tespit edilememiştir. Ancak; kistik fibrozis, primer silier diskinezi ve Young sendromu gibi genetik altyapısı tanımlanmış hastalıklarda sıklıkla nazal polipozis görülmektedir.

NP sıklıkla aspirin veya non steroid anti-inflamatuvar intoleransı bulunan hastalarda görülebilir. Aspirin intoleransı, nazal polipozis ve eşlik eden bronşial astım belirtileri Samter Triadı olarak bilinmektedir. Bu triada sahip hastalarda hem medikal hem cerrahi tedavilere karşı sık rekürrens görülmekte ve tedavisinde oldukça zorlanılmaktadır (22).

Sonuç olarak nazal polipozis altta bir çok immunolojik ve genetik faktörün rol oynadığı bir hastalıktır. Atopi ve allerjiden bağımsız olarak astım ile nazal polipozis benzer patofizyolojiye sahip oldukları için beraber görülebilmektedir.

Tam olarak kalıtımı tanımlanmamış olsa da genetik faktörler ve bunu etkileyen çevresel etmenlerin nazal polipozis gelişiminde rol oynadığı bilinmektedir.

### 2.2.3) Nazal Polip Histopatolojisi

Nazal kavite ve paranasal sinüslerden kaynaklanan polip, sinonazal kaviteyi döşeyen mukozanın non granülatöz inflamatuvar pediküllü mukozal genişlemeleridir. Temel histolojik özelliklerine baktığımızda; inflamatuvar hücrelerden zengin bir ödematöz doku, müköz glandüler yapı, yüzey epitelinde skuamöz metaplazi, stroma ile epitel hiperproliferasyonu ve bazal membranda kalınlaşma ile karşılaşılır (23). Histopatolojik olarak nazal polipler etiyolojik kaynağı, içerdiği inflamatuvar hücreler ve stromal görünümüne göre gruplandırılabilir.

Nazal poliplerin boyutu; büyüme oranı, polip yaşı, inflamasyon derecesi, ödem ve diğer faktörlere bağlı olarak değişkendir. Polip gövdesi ya da apeksi, nazal mukozadan kaynaklandığı bölgeye, değişken kalınlık ve uzunlukta bir sapla bağlıdır. Polip şekli değişkendir ve temel olarak meatus anatomisi, yayılabileceği boşluk durumu ve komşu polip sayı ve büyüklüğüne bağlı olarak değişmektedir (24).

Makroskopik olarak nazal polipler ödematöz, düzgün yüzeyli ve çevredeki diğer mukozalara göre parlak görünümlüdür. Genellikle soluk, translüsen ve mobil olmasına rağmen bir pedikül ile mukozaya bağlıdır ancak uzun dönem hastalık süreçlerinde fibrozis nedeniyle daha sert ve solid polipler ile karşılaşılabilir. Çevresindeki sinonazal mukoza eritemli ve bir miktar

ödemlidir ancak polip dokusu gibi pedikülle genişlemiş bir mukoza kesesi yoktur. Nazal polipler genellikle orta meatus ve sfenoethmoidal reesten kaynaklanır ve bilateralidir. Boyutları değişmekle beraber tüm nazal kaviteyi dolduracak kadar büyük olabilmektedir hatta uzun dönemde sinonazal kemiklerin remodelizasyonuna yol açarak nazal dorsumda genişlemeye bile yol açabilmektedir. Genellikle allerjik fungal rinosinüzitte karşılaşılan koyu renkli, yoğun kıvamlı ve yapışkan bir mukus olabilmektedir (4).

Nazal mukoza ve sinüslerde goblet hücre ve silyalı hücreler ile dominant epitel psödostratifiye kolumnar epitelidir (25). Nazal polip yüzeyinde de genellikle bu tip epitel mevcut iken bazı poliplerde transizyonel epitel veya non keratinize yassı hücreli epitel ile karşılaşmıştır. Psödostratifiye silindirik epitel çoğu bölgede hiperplastik ve goblet hücre yoğunluğu fazla olarak bulunmaktadır. Transizyonel epitel ise genellikle önde yer alan poliplerin yüzeylerinde olur ve kalın bir tabaka halindedir. Ayrıca; hava akımının etkisiyle respiratuar epitel transizyonel veya yassı hücreli epitele dönüşebilmektedir. Hava akımı olmasa bile epitelde metaplazi deneysel olarak gözlenmiştir (26).

Mikroskopik olarak nazal poliplerin normal kronik sinüzit mukozasına göre iki temel farkı bulunmaktadır. Bunlar epitel, submukoza ve kimi zaman altta yer alan kemikte görülen yapısal değişikliklerin olması ile içerdiği inflamatuvar hücre ve sitokin seviyeleridir. Nazal polipler tipik olarak respiratuar epitel ile döşelidir ve altta yapısal değişikliklerin ve inflamatuvar hücrelerin yoğun olarak bulunduğu bir stroma içeririr (4,27). Nazal polipler histolojik olarak 3 alt grupta incelenebilir:

a) ödematöz, eozinofilik, allerjik polipler

b) kronik inflamatuvar polipler

c) seromüsinöz glandüler polipler

Allerji ve atopinin eşlik ettiği nazal polipler çok sık olmamasına rağmen histolojik olarak en sık oranda eozinofilik allerjik polipler ile karşılaşılmaktadır. Bu tip poliplerde bir miktar ülserasyon içeren respiratuvar epitel, granülasyon dokusu, akut mukozit, epitel ve goblet hücre hiperplazisi ve skuamoz metaplazi ile karşılaşılmaktadır. Submukozal ödem ve eozinofil, lenfosit, plazma hücreleri ile bir miktar inflamatuvar hücrelerden oluşan bir infiltrat içermektedir(4).

Kronik inflamatuvar polipler; inflamatuvar nazal poliplerin yaklaşık % 10 kadarını oluşturmaktadır. Polip travmatize olursa veya stromada sekonder inflamatuvar değışiklikler olursa myofibroblastik proliferasyon ortaya çıkmaktadır. Diğer inflamatuvar poliplere oranla lenfoid predominansı içeren bir infiltrat ve submukozal fibrozis ile karşılaşılmaktadır. Goblet hücresi bulunur ancak epitelde goblet hücre hiperplazisi gözlenmez. Hastalığın kronikliğini gösteren skuamoz metaplazi görülebilmektedir (28).

Seromüsinöz nazal polipler ise en nadir olarak karşılaşılan alt gruptur. Respiratuvar epitelyal adenomatoid hamartom ve seromüsinöz hamartom gibi epitelyal neoplastik oluşumlar ile ilişkili bir alt gruptur. Bu tip polipler patolojik olarak adenomlarla karışabilmektedir (28).

Fibroinflamatuvar poliplerde, özellikle kronik dönemde altta yer alan kemikte remodelizasyon ile karşılaşılabilir. Ayrıca nazal polip ile seyreden kronik rinosinüzitte sıklıkla eozinofilik mukus salgısı bulunabilir. Salgı yoğun kıvamlı ve katıdır; içeriğinde yoğun eozinofil, Charcot - Leyden kristalleri, diğer inflamatuvar ve epitelyal ürünler bulunmaktadır. Ayrıca fungal elementler ile de karşılaşabilmektedir (4).

Histolojik yapılar arasında farklılıklar bulunmaktadır ancak unutulmamalıdır ki aynı hastadaki farklı poliplerin hatta aynı polipin değişik kesimlerinde bile farklı histolojik yapı bulunabilir.

#### 2.2.4) Nazal Polipozis Etiyopatogenezi

Bir çok teori bulunmasına rağmen nazal polip patogenezi tam olarak tanımlanmış değildir. Histolojik olarak eozinofil, lenfosit, mast hücresi, plazma hücresi gibi inflamatuvar infiltrat ile yoğun ekstraselüler ödem ile karşılaşılır. Bu hücre kümesinin yaklaşık % 60 kadarı eozinofildir ve eozinofilin nazal polip formasyonunda anahtar rolü oynadığı düşünülebilir. İnflamatuvar hücre artışına ek olarak nazal polip de proinflamatuvar mediatörler, sitokinler ve kemokinlerin de sayısı artmıştır ve eozinofilik inflamasyonun oluşumuna bu moleküller de katkıda bulunmaktadır (29).

Nazal mukozada başta enfeksiyon olmak üzere meydana gelen hasarlanmalarda inflamatuvar hücreler sistemik dolaşımdan nazal mukozaya gelerek inflamatuvar yolağın aktifleşmesine yol açarlar ve bunun sonucunda çeşitli

proliferatif mekanizmalarında devreye girmesiyle nazal polip oluşumu görülebilir (30).

Virüslerin NP'e neden olabileceği ile ilgili teoriler ortaya atılmıştır. Adenovirus, Epstein-Barr virus, Herpes simpleks ve Human papilloma virus üzerinde durulup viral enfeksiyonun inflamasyona yol açtığı ve antijenik uyarı sonucunda NP gelişebileceği öngörülmüştür (31). Ancak viral etioloji günümüzde tam olarak ortaya konulamamıştır. Virüslerin dışında nazal polip dokusunda H. influenza, peptostreptococcus, S. pneumoniae, S. aureus, alfa-hemolitik streptokok ve koagülaz negatif streptokok gibi birçok bakterinin ürediği tespit edilmiştir (32). Fakat, nötrofil infiltrasyonu yerine daha çok eosinofil görülmesiyle bu teori de net olarak ispatlanamamıştır.

Biyofilm, hücrelerin birbirlerine veya bir yüzeye bağlanarak oluşturdukları mikroorganizma kümesi olarak tanımlanabilir (33). Bakterilerin %99'unun biyofilm içinde bulunduğu ve insandaki bakteriyel enfeksiyonların %80'inde biyofilmlerin rol oynadığı düşünülmektedir. Kronik rinosinüzitli hastalarda yapılan çalışmada, biyofilm %80 oranında gözlenmiştir (34). Biyofilm olan hastaların mukozaları incelendiğinde siliyalı hücrelerin ve goblet hücrelerinin azalmış olduğu gözlenmiştir. NP etyopatogenezi açısından biyofilmlerle ilgili birçok teori ortaya atılmış olsa da kabul edilmiş bir patogenetik mekanizma ortaya konulamamıştır.

Solunumla alınan fungal elementler, sinonazal mukus tarafından yakalanır ve eozinofillerin solunum mukozasından lümene doğru yer değiştirmesine neden

olmaktadır. Eozinofiller fungal elementlere karşı toksik mediatörler degranüle ederler ve sonuç olarak mukozal hasar ortaya çıkar (35). Ayrıca, kronik rinosinüzitli hastaların nazal mukuslarında yapılan mikrobiyolojik çalışmalarda yüksek oranlarda fungal kolonizasyonla karşılaşılmaktadır. Bu nedenle, NP etiopatogenezinde saprofit fungal kolonizasyonun üzerinde durulmuştur.

1970 li yıllarda tanımlanan allerjik teori; nazal polip dokusunda yoğun eozinofil, allerjik inflamasyon ve ödem olmasını temel almaktadır. Özellikle nazal polip dokusunda lokal olarak üretilen Ig E ve intranazal olarak uygulanan spesifik antijenler ile immünoisitlerin azalması bu teoriyi desteklemektedir (36). Ancak; nazal polip olan hastaların yaklaşık % 5 kadarında allerji ve atopi öyküsünün olması bu teorinin kanıtlanamamasının etmenlerinden biridir (30). Allerjik fungal rinosinüzit de ise % 80 oranında nazal poliple karşılaşılır ancak bunun nedeninin allerjiden ziyade fungal elementlerin süperantijen şeklinde davranarak fazla miktarda immünoisit ve sitokin salınımına ve böylelikle polip formasyonuna neden olduğu düşünülmektedir (37).

Alerji ve nazal polip hikayesi olan hastaların nazal mukozalarındaki inflamatuvar infiltrat, sıklıkla eozinofil içermektedir. Polip dokusu ve nazal mukoza yaymasındaki dominant hücre eozinofillerdir. Bu yüzden alerji nazal polipler için hep önemli bir etyolojik ajan olarak düşünülmektedir. Genel olarak kronik rinosinüzit ve NP' li hastalarda ortalama %10 - %54 bazı yazılarda %64'e kadar varan oranlarda alerji ile ilişki gösterilmiştir (38). Fakat bu birliktelik etyolojik bir ilişkiden çok komorbidite ilişkisi şeklindedir. NP'li hastalarda alerji görülme oranı, normal popülasyona göre anlamlı bir fark göstermemektedir.

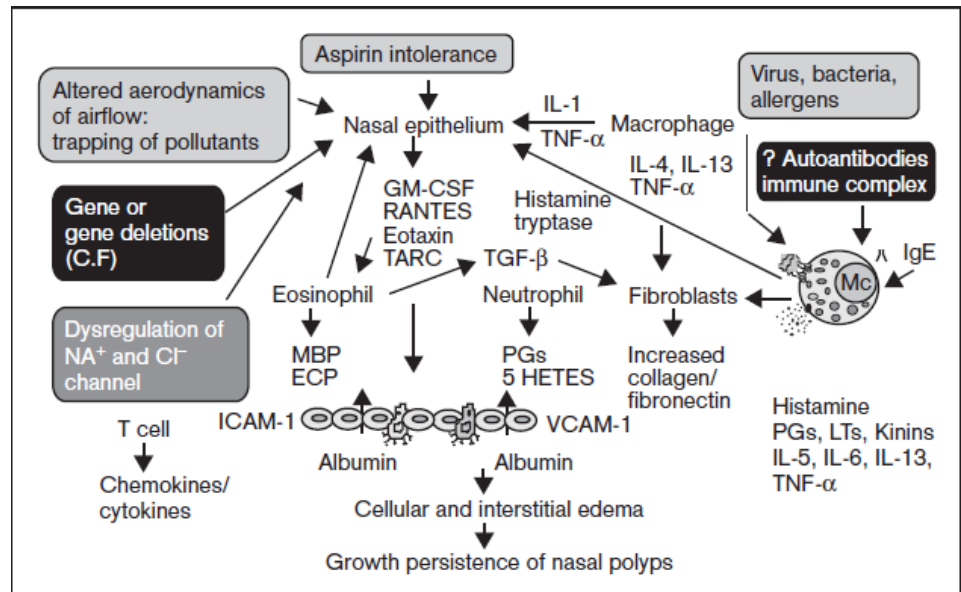
Nazal polipin eozinofilik sendromla beraber olan non allerjik rinitin (NARES) uzun dönemde olan bir varyasyonu olabileceğine dair teoriler de sunulmuştur ancak NARES 'in sadece % 30 - 40 hastada görülmesi bu teoriyi zayıflatmıştır (39). Bunun dışında IL - 5 in etkinliği sonucu oluşan eozinofili ve kronik hiperplastik sinüzitin de nazal polipe yol açabileceği düşünülmüştür (40).

1994' de Bernstein nazal polip ile ilgili inflamatuvar- biyoelektrik hipotezini öne sürmüştür. Buna göre lateral nazal duvarda türbülant hava akımından dolayı inflamatuvar değişiklikler olmaktadır. Viral veya bakteriyel enfeksiyonların da eklenmesiyle inflamatuvar değişiklikler yoğunlaşır ve mukozada yer alan hücrelerin Na ve K kanallarının elektriksel yüklerinde değişikliklere ve sonuç olarak da bu transportun bozularak ödeme, visküz kıvamlı mukusa ve nazal polipe yol açtığını önermiştir (41). Kistik fibröz hastalarında da respiratuvar epitelde yer alan CFTR transmembran proteinin bozulması benzer sonuçlara yol açmaktadır ve bu hastalarda nazal polip % 50 den fazla oranda görülebilmektedir (42).

Kronik inflamasyon ile seyreden birçok hastalık hücresel düzeyde incelendiği zaman lizozomlarda glikokonjugat mekanizmasında bir artış görülmüştür. Ancak aksine nazal polipozis hastalarında düşük aktivitede ve düşük konsantrasyonlarda ekzoglikozidazlara rastlanmıştır (43). Bu durum nazal polipozis etiopatogenezinde sadece inflamasyonun olmadığını bunun dışında başta genetik faktörler olmak üzere birçok faktörün rol oynayabileceğini düşündürmüştür. NP hastalarında IL - 4, IL - 5 gibi mediatörlerin inflamatuvar hücrelerde apoptozisi engelleyip proliferasyonu arttırdığı görülmüştür (44). Ayrıca; Lee ve arkadaşları yaptığı çalışmada 114 genin ekspresyonunun nazal

poliplerde artmış olduğunu tespit etmiştir. Bu genlerin temel olarak apoptoz, hücre differansiasyonu, hücre adezyonu, immünolojik faktör metabolizması ve hücre siklusu büyüme faktörleri ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (45).

2003 yılında Fritz nazal polip etiopatogenezinde neoplastik teoriyi ortaya atmıştır. Mammoglobulin isimli steroid reseptörünün nazal poliplerde tespit edilmesi ve bu reseptörün başta meme kanseri ve lenf kaynaklı kanserlerde de görülmesi nedeniyle bu fikir ortaya çıkmıştır (46). Ayrıca; glutatyon transferaz gibi mesane, prostat ve akciğer kanserinde rol oynayabilen bir proteinin nazal polip dokusunda da tespiti mitomisin - c gibi antineoplastik bir ajanın lokal uygulanmasıyla nazal polipte iyileşmenin görülmesi de bu teoriyi desteklemiştir (47). Onkolojik hastalıklarla olan bu benzerliği nedeniyle nazal polipte de inflamasyonun yanında apoptozis ve hücre proliferasyonundan sorumlu genlerin ekspresyonunun artmış olabileceği düşünülmekte ve bir çok çalışma, bu fikir temel alınarak planlanmaktadır.



Şekil 2: Nazal polip patogenezi (48)

Sonuç olarak NP etiyopatogenezi tam olarak tanımlanamamış bir hastalık grubudur. Birçok teori ortaya atılmış olsa da günümüzde inflamatuvar, neoplastik ve genetik faktörler ön plana çıkmaktadır. Bu nedenle inflamasyon ve hücre proliferasyonu ile apoptozu ile ilgili genlerin analizi ve ekspresyon düzeylerinin araştırılması nazal polipozis etiyopatogenezinin ortaya çıkarılmasına yardımcı olabileceğı düşünölmektedir (49).

#### 2.2.5) Nazal Polipoziste Sitoloji ve Sitokin Profili

Nazal polipoziste görölen kronik inflamasyon ve mukozal ödem; inflamatuvar hücrelerden kaynaklanan mediatörler tarafından oluşturulmaktadır. Sitokinler; aktive olmuş proinflamatuvar hücrelerden sentezlenen enfeksiyöz ve inflamatuvar olaylarda, hücreler arası etkileşimde, hücre differensiasyonu ve aktifleşmesinde, doku tamirinde görevli mesaj yolağındaki maddelerdir. Hedef hücrelerindeki reseptörlerine bağlanarak immunit ve inflamasyon gibi bir çok önemli olayda etkilidir.

Nazal polip dokusundaki hücre popölasyonunun yaklaşık % 60 kadarını eozinofiller oluşturmaktadır. Bunun dışında; CD8+ T hücrelerde CD4+ T hücrelere oranla daha fazla bir artış görölmektedir. Normal mukozaya oranla mast hücreleri ve plazma hücreleri sayısı artmıştır. İnflamatuvar hücrelerin sayısının artmasıyla beraber proinflamatuvar sitokin ve kemokinlerin de salınımı artmıştır. Bu mediatörler daha çok kronik eozinofilik inflamasyonun gelişmesine katkıda bulunmaktadır (50).

TNF -  $\alpha$ , IL - 4, IL - 13 gibi sitokinler; ICAM - 1, VCAM - 1 gibi hücre adezyon moleküllerinin ekspresyonunu arttırarak nazal mukozaya eozinofil göçüne yol açmaktadır. Ayrıca, IL - 4, TGF -  $\beta$  ekspresyonunu arttırarak submukozal stromal proliferasyona yol açtığı bilinmektedir. Ayrıca eozinofil dominant nazal polip dokularında yapılan çalışmada; IL - 4'ün TNF- $\alpha$  ile birlikte fibroblastları indükleyerek eozinofilik olmayan poliplere göre daha fazla eotaksin salınımına yol açtığı ve sonuç olarak eozinofil göçünde önemli rol oynadığı saptanmıştır (51). GM - CSF ve IL - 5 gibi faktörler ise eozinofillerin apoptozunu engelleyerek inflamasyonun kronik bir şekilde devam etmesine yol açar. Nazal polip dokusunda GM - CSF mRNA ekspresyonunun, konka mukozasına göre artmış olduğu gözlenmiştir. Eozinofil göçünü, sağ kalımını ve aktivasyonunu arttırarak kronik eozinofilik yanıtta katkıda bulunmaktadır. Topikal steroidler GM - CSF üretimini baskılayarak eozinofil yaşam süresini kısaltma yoluyla anti inflamatuvar etki oluşturmaktadırlar (52).

Ayrıca, IL - 8, RANTES ve eotaxin gibi kemoattraktan moleküller de eozinofil ve nötrofil kemotaksisini arttırmaları ve nazal polip dokusunda tespit edilmektedir (53). RANTES; IL -  $1\beta$  ve TNF -  $\alpha$  nın etkisiyle hücrelerden salgılanan ve inflamatuvar hücre göçüne yol açan bir sitokindir. Eozinofil göçü ve aktivasyonunun yanında, transendotelyal migrasyonu, radikal oksijen ürünleri salınımı ve ECP salgılanmasına yol açmaktadır (54).

IL - 1, nazal polipoziste hücre adezyon moleküllerini indükleyerek inflamasyona katkıda bulunmaktadır. IL - 3 ise eozinofiller tarafından salgılanarak otoaktivasyon ile eozinofil üretimini ve yaşam süresini arttırmaktadır. Ayrıca, IL -

3, kronik inflamasyon zemininde gelişen fibroze indirekt de olsa katkıda bulunarak mukozal kalınlaşma ve osteometal kompleksin tıkanmasında rol oynar. (55)

Nazal polip dokusundaki fibroblast proliferasyonu ve stromal fibrozis TGF -  $\beta$  sitokininin etkisiyle oluşmaktadır. Eozinofiller, salınan TGF -  $\beta$ ' nın en büyük kaynağıdır (56). VEGF de angienez ve ödemin önemli kaynaklarından biridir. TGF -  $\beta$  hem nazal mukozaya eozinofil migrasyonunda hem de VEGF salınımının upregülasyonunda önemli rol oynamaktadır (57).

Sonuç olarak; eozinofiller IL - 5, GM - CSF, TNF -  $\alpha$ , TGF -  $\beta$  gibi bir çok kemokinin kaynağını oluşturmaktadır. Bu moleküllerin de etkisiyle kendi aktivasyon, migrasyon ve yaşam sürelerini otokrin bir yol ile düzenlerler. MBP ve ECP gibi toksik proteinler ile de doku hasarına yol açarlar (58).

Nazal polip dokusuna eozinofil göçü sonrası, bu hücrelerden eozinofil peroksidaz, eozinofil derive nörotoksin, MBP ve ECP gibi sitotoksik ajanlar salgılanmaktadır. Bu mediatörler epitel hasarı, anjienez, stromal fibrozis gibi histolojik değişikliklere yol açarlar. Epitel hücrelerinde meydana gelen hasar sonrasında Na absorpsiyonu ve Cl sekresyonu bozulur ve polip karakteristiği olan doku ödemi oluşur (58). Bu hasar sonucunda ödemin yanı sıra mikroorganizma kolonizasyonu ve infeksiyonu için de bir kolaylık oluşur (59). Eozinofillerden salınan eotaxin, nötral proteaz, MMP ve üreaz plazminojen aktivatör gibi mediatörler ile de ekstrasellüler matriks ve bazal membran hasarı ortaya çıkmaktadır (60).

Sitokin ve kemokinlerin yanı sıra triptaz ve histamin gibi mediatörler de nazal polip dokusunda ve nazal lavajlarda artmış bir şekilde tespit edilmiştir. Ig A, Ig E, Ig G ve Ig M de nazal polip dokusunda ve sıvısında saptanmıştır (61).

MMPler doku yıkımında önemli rol oynayan ve nazal polip patogenezinde rolü olan molekülüdür. Nazal polip fibroblastlarında MMP - 1 'in daha fazla eksprese edildiği saptanmıştır. MMP lerin gevşek stromada hızlı matriks doku yıkımı, damar geçirgenlik artışı ve ödeme neden olarak nazal polip gelişimine yol açtığı düşünülmektedir (62).

Lokal aktive olmuş dentritik hücreler dokunun drene olduğu lenf nodlarına gidip T lenfositleri aktive eder. Bakteriyel ve viral enfeksiyonda bu aktivasyon Th1 subtipinde olurken, parazitik enfeksiyonlarda bu aktivasyon Th2 subtipinde gözlenmektedir. Nazal polip dokularında T lenfositlerin (CD3) ve aktive olmuş T lenfositlerin (CD25) sayısı normal dokulardan daha fazladır (63). Bu lokal dendritik hücrelerin immün sistem regülasyonunda etkili olduğu düşünülse de nazal polipozis patogenezinde nasıl etki gösterdikleri net olarak ortaya konulamamıştır. T hücreler özellikle Th2 yanıtı ile kronik inflamatuvar süreçte dolayısıyla nazal polip gelişiminde önemli ve merkezi bir rol oynamaktadır.

Polip dokusunda diğer bir inflamatuvar hücre grubu mast hücreleridir. GM-CSF, IL-6 ve IL-8 artışı sonucu mast hücre kemotaksisi ve aktivasyonu oluşmaktadır (64). Histamin, heparin ve triptaz başta olmak üzere IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-13, GM-CSF, TNF-  $\beta$  salgılamaktadırlar (25). Histamin alerjik reaksiyonda önemli bir rol oynamaktadır. Nazal polipli dokular incelendiğinde;

histamin salınımının fibroblastlar üzerinde, inflamatuvar hücreler arası etkileşimi sağlayan VCAM - 1 artışına yol açtığı gözlenmiştir (65). Polip içerisinde degranüle olmuş veya olmamış mast hücrelerinin dağılımı değişkendir. Degranüle olmuş mast hücreleri sıklıkla daha derin stromal kısımda bulunur. Nazal polip pedinkülü; apeks kısmına göre daha fazla mast hücresi ve degranüle olmuş mast hücresi içermektedir, bu da sap kısmının etyopatogenezdaki önemini göstermektedir.

#### 2.2.6) Nazal Polipoziste İnflamasyon

Nazal polipozis histopatolojisine bakıldığında lateral nazal duvardan kaynaklanan basit bir mukozal ödemden ziyade mukozadan kaynaklanan de novo inflamatuvar bir büyüme söz konusudur. Nazal polip dokusu incelendiği zaman karşılaşılan lenfositoz, eozinofili ve lamina propriadaki ödem açıkcası inflamatuvar bir sürecin olduğunun göstergesidir. Bu inflamasyonun enfeksiyöz, immunolojik ve genetik bir çok faktörden kaynaklandığı düşünülmektedir (66).

Kronik rinosinüzitlerde inflamasyon; Th1 polarizasyonu ile beraber yüksek IFN- $\gamma$  ve TGF- $\beta$  içeriyorsa klinik durum nazal polipsiz kronik sinüzit lehine, Th2 polarizasyonu ile beraber yüksek IL-5 ve Ig E seviyeleri ile beraber seyrediyorsa klinik durum nazal polipli kronik sinüzit tarafına ilerlemektedir (67).

Nazal polipli kronik sinüzit hastalarında eozinofiller, IL-5 yoluyla apoptozis inhibisyonu sonucunda sağ kalımlarını arttırarak, aktive olurlar (57). Aktive olan eozinofiller, eozinofil-spesifik adezyon reseptörleri ve eotaksin gibi kemoreseptörlerle dokuda toplanırlar (68). Bu sitokinler ve dolayısıyla eozinofilik

inflamasyon, süperantijen gibi davranarak B ve T lenfositleri uyarıp Ig E üretiminin artmasına ve inflamasyonun artmasına yol açan, Staphylococcus aureus enterotoxins (SAEs)'lere karşı üretilen Ig E ile daha da artmaktadır (69).

Staphylococcus aureus, süperantijen olarak fonksiyon gösteren ekzotoksin salgılayabilmektedir ve bu durum lenfositlerin Vb kısımlarında upregülasyona yol açarak inflamasyona neden olabilmektedir. Bunun dışında yapılan laboratuvar çalışmalarında nazal polipozis hastalarında ekzotoksinlere uygun olarak lenfositlerin Vb kısımlarında upregülasyonun in vivo olarak görüldüğü tespit edilmiş ve stafilokokkal antijenlerin dışında da genetik nedenlerle bu yolağın etkili olduğu görülmüştür (70). Sonuç olarak; süperantijen olarak davranan stafilokokkal ekzotoksinler ve bunlara karşı gelişen immünolojik cevap ile genetik yatkınlığın nazal polipozis gelişimine yol açabileceği düşünülmüştür.

Nazal polipoziste polip dokusuna eozinofil ve lenfosit göçü bu inflamatuvar hücrelerin nazal mukozadaki reseptörleri ile olan ilgisinin artmasına bağlıdır. TNF-  $\alpha$ ; fibroblastlar ve inflamatuvar hücrelerde VCAM- 1 ve NF-kb gibi hücre adezyonu ile ilgili proteinlerin ekspresyonunu arttırarak inflamatuvar hücrelerin göçünde rol almaktadır. TNF-  $\alpha$  molekülünün ekspresyonunun artması hem inflamatuvar hücreler üzerindeki integrinlerin hem de karşı reseptörlerin ekspresyonunu arttırarak inflamatuvar hücre göçüne neden olmaktadır (71). Nazal polipli kronik sinüzit hastalarında ödem oluşumu ile birlikte, TGF-  $\beta$ 1 azalmasına paralel olarak doku matriks metalloproteinazlarından MMP- 7 ve MMP- 9 seviyelerinde artış ve de doku metalloproteaz inhibitör (TIMP-1) seviyelerinde azalma görülmektedir (62).

İnflamatuar hücre göçünden sonra bu hücreler tarafından salınan MBP, sodyum kanalları üzerine etki ederek hücre ve interstisyel dokuya sıvı transportunu böylelikle ödematöz doku oluşumuna yol açmaktadır (6).

Sonuç olarak çeşitli inflammatuar hücrelerin artması, bunun sonucunda açığa çıkan mediatörler ve doku ödemi sonucu nazal polip formasyonunun olduğu düşünülebilir. Ancak inflamasyonun yanında immunolojik, hücre proliferasyonu ve apoptozu ile ilgili mekanizmanların da polip gelişiminde rolü olduğu düşünülmektedir.

### 2.3) Nazal Polipozis ve Genetik

Günümüzde bir çok immunolojik ve inflamatuvar hastalığın etiyolojisinde kalıtsal özelliklerin, kişiler arası farklılıkların da rol oynadığı yani genetik faktörlerin de bu hastalıkların temelinde olduğu düşünülmektedir. Nazal polipozis gibi kronik inflamatuvar bir hastalığın temelinde de inflamatuvar sitokinler ve immunolojik yanıtın olduğu bilinmektedir. Ayrıca, bu yanıtların oluşturulmasında ve nazal polip formasyonunda genetik faktörlerin de olduğu bilinmektedir. Örneğin; aspirin intoleransı olan hastaların % 36 - 96 kadarında, astımlı hastaların % 7 sinde, kistik fibrozlu çocukların % 10 ve erişkinlerin % 50 sinde, allerjik fungal rinosinüzitli hastaların % 66 - 100 ünde ve primer silier diskinezi hastalarının % 40 kadarında nazal polipozis görülmektedir. Bu durum nazal polipozis etiopatogenezinde inflamasyon ve genetik alt yapının olduğunu göstermektedir (5).

Nazal polipozis astım ve aspirin intoleransı gibi hastalıklarla sık olarak izlenebilen, temel olarak mukozal inflamasyon ve ödemin görüldüğü kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Hastalığın şiddeti ve rekürrens olasılığı bireyler arasında farketmekle beraber aspirin intoleransı ve astım olan hastalarda prognoz daha kötü izlenmektedir. Aspirin intoleransı temel olarak arasıdonik asit ve lökotrien metabolizmasındaki bozukluklardan kaynaklandığı bilinmekle beraber nazal polip formasyonu ile ilişkisi tam olarak tanımlanamamıştır. Ancak arasıdonik asit metabolizmasındaki etkili genlerin aktivitesinin nazal polipli hastalarda artmış olduğu görülmüştür (72). Ayrıca, günümüzde bu durumun HLA

genlerindeki farklılıklar ve lokal eozinofillerin apoptozunda azalmaya yol açan antiapoptotik mekanizmalara bağlı olduğu düşünülmektedir

Nazal polip gelişiminde genetik etyolojiden ailesel birikim zemininde şüphelenilmektedir. Paranasal mukoza ve nazal poliplerdeki inflamatuvar hücrelerin yüzeyinde HLA-DR (Human leukocyte antigen-DR) bulunmaktadır. HLA-DR7-DQA1\*0202 ve HLA-DQB1\*0202 haplotipi bulunan insanlar, nazal polip gelişimi için iki veya üç kat yüksek bir orana sahiptirler. Bununla birlikte HLA-A74 ve nazal polipler arasında anlamlı bir ilişki de mevcuttur (73).

Nazal polipoziste sinonazal mukozanın ödemi, inflamasyon ve lokal doku yıkımı mevcuttur. Nazal polipozisteki histopatolojik değişiklikler içerisinde ekstraselüler matriksin yıkımı da mevcuttur. Matriks metalloproteinaz ( MMP ) enzimleri ve bu enzimlerin inhibitörü olarak çalışan matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri ( TIMP ) bu histopatolojik değişikliklerin oluşmasında temel rolü üstlenmektedir. Nazal polipozisli hastalarda bu enzimlerin ve ilgili sinyal yolağındaki proteinlerin ekspresyonunun genetik temelli olarak aktifleştiği saptanmıştır. Zaten nazal polipozis tedavisinde kullanılan glukokortikoidlerin de bu enzim yolağını etkilediği ve ekspresyonlarını azalttığı görülmüştür (74).

Nazal polipozis proinflamatuvar sitokinlerin başlıca rolü üstlendiği kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Günümüzde bir çok terapötik tedavi stratejisi bu sitokinlere ve bu mediatörlerin genetik kontrolleri üzerine oluşturulmaya çalışılmaktadır. Periodontit, inflamatuvar bağırsak hastalığı, kanser, septik şok gibi inflamatuvar hastalıkların genetik analizlerinde kor genlerde ve promotor

bölgelerde polimorfizmler saptanmıştır. Bu duruma benzer şekilde nazal polipozis ile proinflatuar mediatörlerin genlerinde de tek nükleotid polimorfizmleri saptanmıştır. Özellikle TNF -  $\alpha$  geninde nazal polipozisli hastalarda polimorfizm saptanmış ve buna bağlı olarak transkripsiyonu artmıştır (75).

Nazal polipozis etiyopatogenezinde proinflatuar ve anti inflamatuvar genler ve bu genlerin ekspresyonları arasındaki dengenin olduğu bilinmektedir. Bu dengeyi de etkileyen en önemli faktör genetik nedenlerdir. Özellikle tek nükleotid polimorfizmleri hastalığın şiddetini etkilemektedir. Kişiler arası genotipik çeşitlilik nazal polipozisin hastalar arasında fenotipik olarak şiddetli bir klinik ve rekürrens ile görülmesinde etkili olduğuna inanılmaktadır (76).

Samter triadı, kistik fibrozis, Churg - Strauss sendromu, Young sendromu, primer silier diskinezi ve Woakes sendromu nazal polipozis ile ilişkilendirilen genetik temelli sendromlardır (5). Samter triadı; nazal polipozis, astım ve aspirin intoleransı ile karakterize bir sendromdur. Patogenezinde araşidonik asit metabolizmasındaki siklooksijenaz -1 enziminin inhibe olması suçlanmaktadır. Sonuç olarak; PGE2 azalmakta ve PGE2' nin antiinflamatuvar etkinliği kaybolmakta, lökotrienler artarak tüm mukozalarda inflamasyon ortaya çıkmaktadır. Eozinofil ve mast hücreleri bu hastalık grubunda önemli bir rol oynamaktadır. Astım da bu tür hastalarda nazal polipozise eşlik etmektedir. Bu triadın temelinde bu metabolizmanın bozulmasına yol açan bir genetik etken olduğu düşünülmektedir (77).

Kistik fibrozis, otozomal resesif olarak aktarılan ve 7. kromozomda bulunan CFTR proteinini kodlayan gendeki mutasyon sonucunda görülen kalıtsal bir hastalıktır. Bu mutasyon sonucunda cAMP kontrollü Cl kanalında işlev bozukluğu oluşur (77). Bu bozukluk daha çok salgı bezleri ve solunum epitelinde işlevsel bozukluklar ortaya çıkar. Artmış mukus viskozitesi sonucu mukosilier aktivite bozulmakta ve sinüs ostiumu tıkanmakta ve hastalık gelişmektedir. Bu hastalıkta nazal polip görülme sıklığı % 6 - 43 arasındadır. Kistik fibrozis hastalarında gözlenen nazal polip dokularında inflamatuvar hücre infiltrasyonu yanında belirgin bir visküz musin ile ince bir bazal membran ile karşılaşmaktadır (78).

İmmotil silia sendromu, Kartegener sendromu olarak bilinen otozomal resesif bir kalıtsal hastalığın alt grubu olarak görülmektedir. Solunum epitelinde; mikrotübüler yapıda, dynein kolundaki işlev bozukluğuna sekonder gelişen sillier fonksiyon bozukluğu mevcuttur. Nazal polipozis sıklıkla bu sendromda görülmekte ve tedaviye rağmen nüks etmektedir (79).

Churg Strauss sendromu, atopi, astım ve eozinofili ile seyreden bir sistemik nekrotizan vaskulittir. Yaklaşık % 34 hastada nazal polip ile karşılaşılır. Polip dokusu incelendiğinde; dev hücrelerin toplandığı granülomlar, yoğun fibrinoid değişiklikler ve eozinofilik ekzuda şeklinde histolojik değişiklikler görülmüştür (80). Young tarafından; tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonları, obstrüktif azospermi ve nazal polip ile karakterize bir sendrom olarak tanımlanmıştır (81). Woakes sendromu ise otozomal resesif geçen, özellikle genç

hastalarda görülen nazal polipozis; nekrotizan etmoidit ve burun kökünde genişleme ile karakterizedir (82).

Nazal polipozisde SPINK-5(Serine protease inhibitör Kazal-type 5) gen ekspresyonunun da azaldığı gözlenmiştir (83). Bu gen serin proteaz inhibitörlerini kodlamaktadır. SPINK-5 gen ekspresyonu azaldığında, epitelyal hücreler arası bulunan sıkı bağlantılar azaldığı için mikroorganizmalara karşı olan koruma fonksiyonları azalmaktadır. Sonuç olarak hücre yıkımında bir artış ve inflamatuvar bir cevap oluşmaktadır (84).

TNF ailesinden olan BAFF(B-cell activating factor) protein düzeyinin de nazal polipozis hastalarında artmış olduğu gözlenmiştir (85). BAFF proteini, B hücre immünitesini kontrol etmektedir. Ayrıca BAFF proteini T hücre reseptör sinyal yolunu stimüle ederek T hücre uyarımı da yapmaktadır. Sonuçta artan Ig seviyeleri (özellikle IgA) ile eozinofil degranülasyonu artmakta ve inflamasyon gelişmektedir (86).

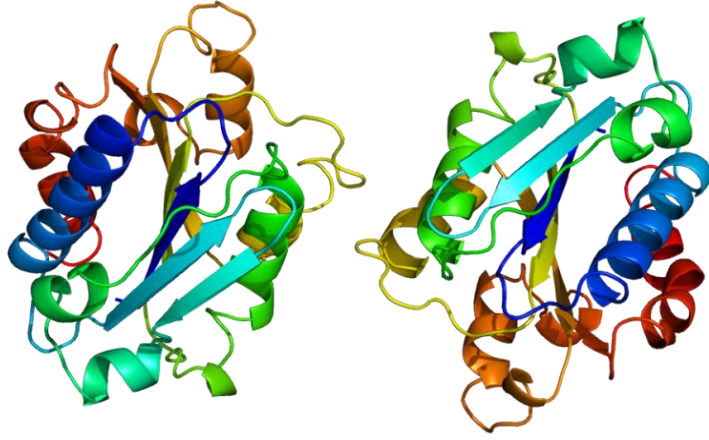
Nazal polipozis etiopatogenezinde kronik inflamatuvar bir sürecin olduğu bilinmektedir. Nazal polip gelişiminde etkili olan proinflamatuvar sitokinlerin aktive olmasında ve nazal polipozis gelişiminde genetik bir alt yapı olduğu ortadadır. Eşlik eden genetik temelli hastalıklar, hastalığın her hastada aynı şiddette görülmemesi ve tedaviye direnç göstererek nüks etmesi bu genetik temeli desteklemektedir (87). Bu nedenle; inflamasyon ve hücre proliferasyon ve anti apoptozu ile ilgili proteinlerin araştırılmasının bu hastalığın etiopatogenezinde önemli olabileceği düşünülmektedir. CD11b, Galectin - 1, Beclin - 1, Caspase - 3

gibi hücre proliferasyonu, apoptozu ve inflamasyonu ile ilgili bu genlerin ekspresyonunun nazal polipozis etiyopatogeneğinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

### 2.3.1) CD11b

CD11b; makrofaj - 1 antijen (MAC - 1) veya kompleman reseptör - 3 (CR3) olarak da bilinmekte olan bir protein alt ünitesidir. Ayrıca CD11b, integrin alfa M (ITGAM) olarak da bilinir ve heterodimerik bir protein olan integrin alfa M beta 2 ( $\alpha_M\beta_2$ ) alt ünitesini oluşturmaktadır (88). Bu heterodimerik proteinin diğer alt grubu ise CD18 olarak bilinen lökosit integrin ailesine ait olan integrin  $\beta_2$  dir (89).

İntegrin alfa M beta 2 ( $\alpha_M\beta_2$ ); NK hücreler, makrofajlar, granülositler, monositler ve lökositler başta olmak üzere hücre yüzeylerinde eksprese edilmektedir. Lökosit adezyon ve migrasyonunda önemli rol oynayarak inflamasyona katkıda bulunmaktadır. Fagositoz, sitotoksiste, kemotaksis ve selüler aktivasyon gibi immün yanıtlar ile ilişkilidir (88). Ayrıca, inaktif kompleman komponenti 3b ye bağlanarak kompleman sistemde de aktif rol oynamaktadır (90). Özellikle integrin alfa M subüniti hücre adezyonu ve yayılmasından sorumluyken diğer alt ünit olan integrin  $\beta_2$  olmadan migrasyon yapılamaz (88).



**Şekil 3:** Integrin alfa M beta

Nazal polipozis gibi kronik inflamasyon ile giden ve sitolojisinde proinflamatuvar hücrelerin aktif olarak rol oynadığı bir hastalığın etiyolojisinde de bu proteinin ve bu proteinin ekspresyonundan sorumlu olan genin bir etkisi olabileceği düşünülebilir. Nazal polipler histopatolojik olarak incelendiğinde eozinofiller ile beraber lökositler de artmış bir şekilde bulunmaktadır. Ayrıca, mukozal ödem ve nazal polipin gelişiminde de bu inflamatuvar hücrelerin adezyonu ve dokuyu olan kemotaksisinin önemli bir basamak olduğu bilinmektedir.

Son yapılan genom araştırmalarında, integrin alfa M (ITGAM) tek nükleotid pleomorfizminin sistemik lupus eritematozus (SLE) ile ciddi bir ilişkisi olduğu saptanmıştır. Spesifik olarak proteinin 77. sırasındaki argininin histidin ile yer değiştirmesi sonucu disfonksiyonel bir integrin oluşur (91).

Aspirinin indüklediği astım ve Samter triadı olan hastaların periferik kanlarındaki eozinofillerinde de CD11b nin ekspresyonunun saptandığı tespit

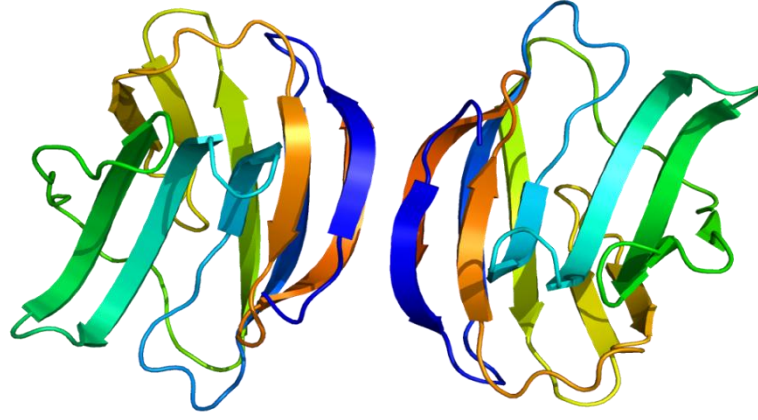
edilmiştir. Aspirinin indüklediği astımın tanısında flowsitometri ile non invazif olarak tanıda kullanılabileceği önerilmektedir. Allerjik nazal mukozada yapılan çalışmalarda eozinofillerin artmış olduğu bilinmektedir ve bu eozinofillerin yüzeyinde de CD11b ekspresyonunun artmış olduğu tespit edilmiştir (92).

Yapılan birçok immunohistokimyasal çalışmada CD11b molekülünün TLR, NF - $\kappa$ B, IL - 8 gibi bir çok mediatörle ilişkili olduğu ve birbirlerinin ekspresyonlarını regüle ettiği görülmüştür (93).

#### 2.3.2) Galectin - 1

Galectin - 1, insanlarda LGALS1 geni tarafından kodlanan bir proteindir (94). Galectin -1 proteini 135 amino asitten oluşan; nükleus, sitoplazma, hücre yüzeyi ve ekstraselüler matrikste bulunabilen bir proteindir. Galectin -1 in plazma membranında salgılanabilmesi için fonksiyonel bir glikan bağlayıcı bölgeye ihtiyacı vardır ve böylelikle karbonhidratlar ile dimer yapı oluşturarak fonksiyonel olur. Oksidize halinde glikan bağlayamaz ve non oksidize olduğu zaman karbonhidrat ile bağlanmak yerine farklı fonksiyonlar gösterir (95).

Galectin proteinleri  $\beta$ - galaktozidaz bağlayan proteinler ailesinde yer alır. Hücre - hücre ve hücre - matriks arası iletişimde önemli rol oynayarak hücre proliferasyonunda otokrin negatif bir büyüme faktörü olarak görev alır (96).



**Şekil 4:** Lectin, galactosidase - binding, soluble, 1

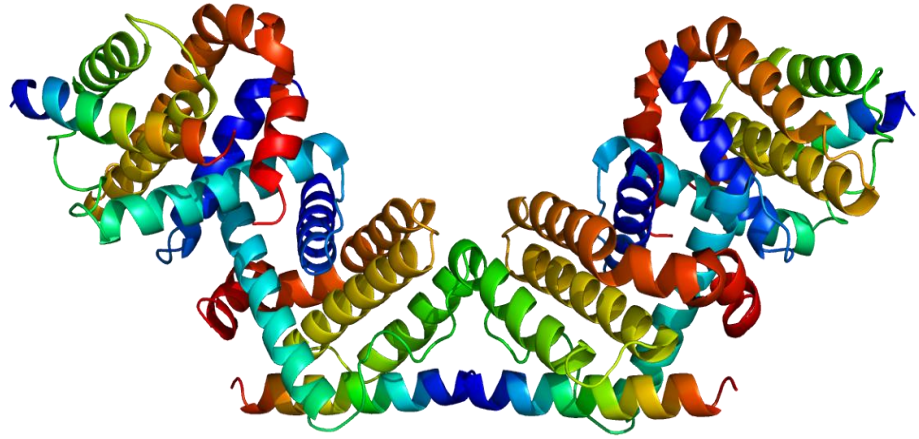
Hamilelik süresinde immün yanıtın oluşturulmasında önemli görev almaktadır. Endometrial stromal hücrelerde ekspresyonunun artmış olduğu tespit edilmiştir. Dendritik hücrelerin T hücrelere farklılaşmasını ve interlökin salınımını arttırarak immün yanıtın oluşturulmasına yardımcı olur (97).

Galectin proteinleri; galaktosidazlara bağlanabilen lesitinlerin spesifik bir protein ailesidir. Galectin - 1 başlıca timus, lenf nodları, aktif makrofaj ve T hücrelerinde eksprese olduğu tespit edilmiş ve üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Eksprese olduğu yerler göz ününde bulundurulduğunda immün tolerans ve immün yanıtın verilmesinde önemli olabileceği düşünülmektedir. İmmunhistokimyasal olarak yapılan bazı hayvan deneylerinde galectin - 1 antikorlarının inflamasyonu bastırdığı ve lokal olarak inflamatuvar hücre göçünü engellediği görülmüştür. Galectin - 1 antikorları ile inflamatuvar yanıt bastırılmış ve başta eozinofil olmak üzere hücre göçü inhibe olmuştur. Bu durum galectin - 1 in eozinofilin ön planda olduğu nazal polipozis gibi kronik inflamatuvar bir hastalıkta önemli bir etiyolojik faktör olabileceğini düşündürmektedir (98). Ayrıca nazal polipozis ve allerjik rinit

hastalarında alt konka ve orta konkada galectin tespit edilmiş ve inflamasyondaki etkisi gösterilmiştir (99). Ayrıca ekspresyonunun da glukokortikoidler ile düzenlenebileceği düşünülmekte ve böylelikle nazal polipozisdeki mukozal inflamasyonun bastırılabilceği düşünülmektedir (100).

### 2.3.3) Beclin - 1

Beclin - 1 proteini insanlarda BECN1 geni tarafından kodlanmaktadır. Beclin -1 proteini otofaji ve otofajinin düzenlenmesi ile ilişkilidir (101). Dokuların gelişimi, tümörigenez ve nörodejenerasyonda önemli bir rol üstlenmektedir. Özellikle programlı hücre ölümünde rol almaktadır ve hücre siklusunda özellikle hücre stresinin arttığı dönemlerde miktarı artmaktadır. Beclin - 1 aktivatör proteinleri ile birlikte hücre homeostazının ve otofajinin her önemli basamağında etkilidir (102).



Şekil 5: Beclin 1

Beclin - 1 proteini; otofaji, hücre differansiasyonu, anti apoptozis ve neoplastik hücre çoğalması ile ilgili önemli bir rol oynamaktadır. T hücreli

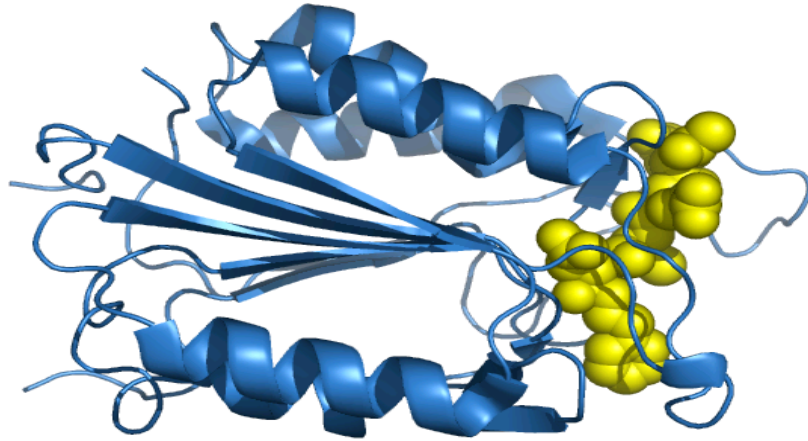
lenfoma gibi lenfoid hücreler ile ilgili bir neoplazide bu proteinin ekspresyonunun prognozda etkili olduğu saptanmıştır. Lenfoid kanserlerin yanında over kanseri, gastrik kanser ve renal şeffaf hücreli kanseri gibi bir çok kanserde de etkinliği tespit edilmiştir (103). Çünkü otofaji, tümör proliferasyonu ve apoptozisi gibi hücrel olaylarda önemli rol üstlenmektedir.

Beclin - 1 ve otofaji sadece neoplastik süreçlerde etkili değildir bunun dışında fazla ve artık proteinlerin yıkımı gibi hücrel mekanizmalarda da etkilidir. Bunun sonucunda yapılan bir çok çalışmada proliferatif ve dejeneratif hastalıklarla ilişkisi saptanmıştır. Özellikle şizofrenide hipokampüste beclin - 1 seviyesinin düştüğü tespit edilmiştir. Bu durum otofaji ve otofagozom oluşumunun azalmasına ve sonuç olarak nöronal hücre ölümü ve dejenerasyona yol açtığı bulunmuştur (104).

Nazal polipozis de kronik inflamasyon zeminde gelişen ve sonuç olarak nazal mukozada ödem ve hiperproliferasyon ile seyreden bir hastalıktır. Beclin - 1 gibi otofaji ve apoptozis gibi hücre homeostazı ile ilgili önemli süreçlerde etkili olan bir protein nazal polipozis etiyopatogenezinde de etkili olabilmektedir. Beclin - 1 hem dejeneratif hem de neoplazi gibi proliferasyon ile seyreden hastalıklarda ekspresyonlarının değiştiği saptanmıştır. Nazal polip gelişiminde, rekürrens ve hastalık prognozunda beclin - 1 ekspresyonunun etkili olabileceği düşünülebilir.

#### 2.3.4) Caspase - 3

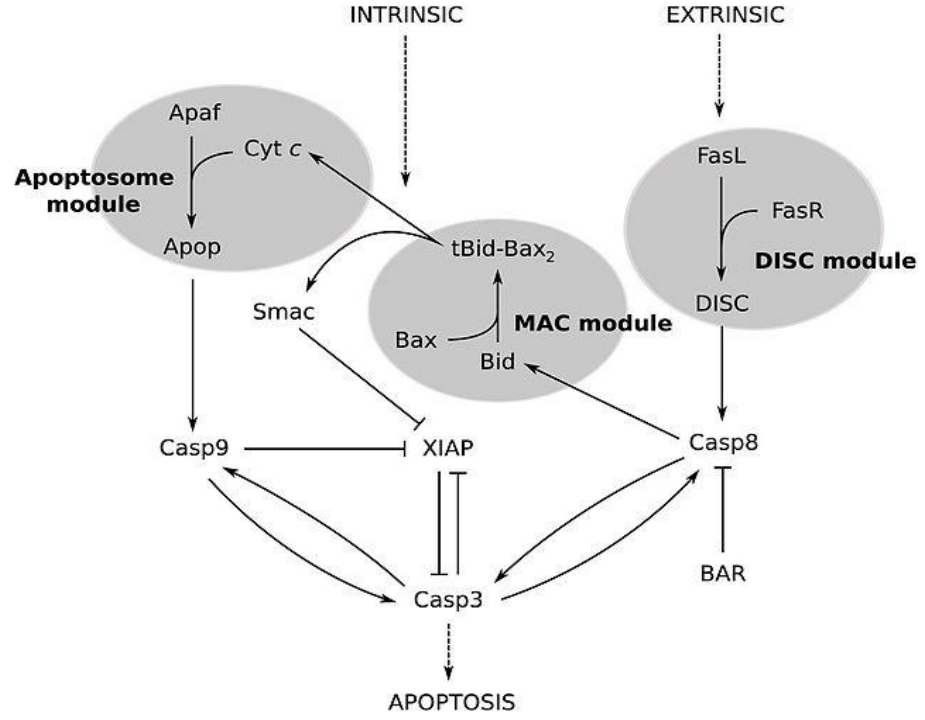
Caspase proteinleri apoptozis, nekroz ve inflamasyonda etkili rol oynayan sistein proteaz ailesinde yer almaktadır. Caspase - 3; caspase - 8 ve caspase - 9 ile ilişkili olan CASP3 geni tarafından kodlanan bir caspase proteinidir. Caspase - 3 proteini hücre apoptozunun ana basamaklarında rol oynamaktadır. Normalde hücrede inaktif bir proenzim olarak bulunmakla beraber apoptozun başlamasıyla beraber diğer caspase proteinleri ile beraber aktifleşir ve sürece katılır (105).



**Şekil 6:** Caspase 3, apoptoz ilişkili sisteinil peptidaz

Caspase - 3 hem ekstrinsik hem de intrinsik uyarılar sonucu aktifleşerek apoptoz da aktif rol oynar. Normalde hücrede caspase - 3 zimojen şeklinde bulunmaktadır ve gerekli sinyal yolağının aktifleşmesi sonucu diğer caspase enzimleri yardımıyla aktifleşir. Ekstrinsik olarak granzim B gibi T hücrelerden kaynaklanan bir sinyal hücrede caspase enzim yolağıyla beraber apoptozu

aktifleştirir. İntrinsik olarak mitokondrilerden kaynaklanan sitokrom c de yine caspase enzim yolağını aktifleştirir (106).



**Şekil 7:** Caspase 3 aktivasyon yolağı (107)

Caspase - 3 temel olarak beyin gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Hücrelerde kromatin kondensasyonu ve DNA fragmentasyonundan sorumludur (108). Alzheimer hastalığındaki nöronal hücre ölümünde caspase - 3 ün etkili olduğu düşünülmektedir (109). Ayrıca embriyonik ve hematopoetik sistemde kök hücre farklılaşmasında görev almaktadır. Myokard enfarktüsünde de caspase - 3 ün kanda seviyesinin artmış olduğu saptanmıştır (110).

Günümüzde romatoid artrit, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı gibi otoimmunitenin etiyolojide önemli rol oynadığı hastalıklarda programlı hücre ölümü yani apoptozun önemli olduğuna inanılmaktadır. Bu hastalıklarda

hücrelerin prematür apoptoza girerek dejeneratif ve kronik inflamatuvar hastalıklara yol açtığı düşünülmektedir (111). Ayrıca; bazı bozulmuş ve neoplastik hücreler apoptoz yolağına giremez ve çoğalmaya devam ederek kanser gelişimine yol açar. Caspase proteinleri ve başta temel efektör enzim olduğu için caspase - 3 bu tür hastalıkların tanısında kullanılabilir ve etiyolojisinde yer alabilir (112).

Kronik rinosinüzit etiyopatogenezindeki inflamatuvar süreçlerin yanında apoptotik aktivitenin de önemli olduğu bilinmektedir. Rinosinüzitli hastaların nazal mukozalarında yapılan incelemede apoptotik aktivitenin epitel, submukoza ve glandüler hücrelerde artmış olduğu tespit edilmiştir. Rinitis medikamentoza, atrofik rinit ve nazal polip gibi birçok rinosinüzit alt gruplarında apoptotik aktivite ve caspase -3 proteinin önemi bulunmuştur (113).

Nazal polip gibi inflamasyonun yanında nazal mukozada hiperproliferasyon ile seyreden bir hastalıkta apoptozis ve proliferasyon mekanizmaları önemli rol oynamaktadırlar. Apoptozis ve bu yolda yer alan proteinlerin ekspresyonunun azalması nazal mukozada, submukozada ve glandüler hücrelerde hiperproliferasyona yol açacaktır. Caspase - 3 gibi apoptozis yolağının temelinde yer alan bir protein de dolayısıyla bu mekanizmada yer almaktadır (114). Nazal polipozis etiyopatogenezinde apoptoz yolağında yer alan Caspase - 3 proteinin ekspresyonunun etkili olabileceği bu bağlamda düşünülebilir. Bu çalışmada Caspase - 3 proteininin sentezlendiği sırada inaktif olması ve sonrasında aktifleşmesi nedeniyle hem mRNA düzeyinde geninin ekspresyon düzeyi hem de protein düzeyindeki ifadenme profili incelenmiştir.

### 3) GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamıza dahil edilen çalışma ve kontrol gruplarının tüm inceleme ve değerlendirmeleri Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 18.01.2012 tarih ve 24 numaralı onayıyla; Gazi Üniversitesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Gazi Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı tarafından yapılmıştır.

Gazi Üniversitesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları polikliniğine Mart 2012 - Mayıs 2014 tarihleri arasında başvuran anamnez ve fizik muayenesi ile kronik rinosinüzit tanısı konulan ve yapılan endoskopik muayenelerinde nazal polip saptanan hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Hastalar allerji, astım, aspirin intoleransı bakımından incelenmiş ve bu hastalıkların nazal polipozis prognozuna olan etkileri nedeniyle detaylandırılmıştır. Hastalar tanı anında prognozu etkileyen bu hastalıkların yanında endoskopik ve paranazal sinüs tomografisi yardımıyla radyolojik olarak evrelendirilmiştir.

Çalışma grubu; nazal polip ile seyreden kronik rinosinüzit nedeniyle medikal tedaviye rağmen düzelme göstermeyen ve endoskopik sinüs cerrahisi planlanan hastalardan oluşturulmuştur. Kontrol grubu ise daha önceden nazal polipozis ve kronik rinosinüzit öyküsü olmayan septum deviasyonu ve alt konka problemleri nedeniyle sadece burun tıkanıklığına yönelik cerrahi olan hastalardan oluşturulmuştur. Hem çalışma grubu hem de kontrol grubuna dahil edilen hastalar çalışma hakkında bilgilendirilmiş ve gönüllü olur onamları alınarak çalışmaya dahil edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen hastalar hem nazal endoskopik olarak hem de bir radyolojik evreleme sistemi olan Lund - Mackay evreleme sistemine göre evrelendirilmiştir. Çalışmada kullanılan endoskopik evreleme Tablo 2' de gösterilmiştir(115).

**Tablo 2: Nazal poliplerin endoskopik evrelendirilmesi**

| Evre 0 | Nazal polip yok                                                                   |
|--------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| Evre 1 | Orta konkanın altında endoskop kullanılarak görülebilen nazal polip               |
| Evre 2 | Orta konkanın altına protrude olan, endoskop kullanılmadan da görülen nazal polip |
| Evre 3 | Diffüz masif nazal polipler                                                       |

Lund - Mackay evreleme sisteminde nazal kavite sağ ve sol olarak ayrı ayrı skorlanır. Paranasal sinüslerin tomografik olarak opaklaşması temel alınmaktadır. Minimal mukozal kalınlaşma ve şeffaf görünüm 0 puan, parsiyel opaklaşma 1 puan ve tamamen opasifikasyon 2 puan olarak değerlendirilir. Ayrıca osteometal kompleks bu puanlamadan farklı olarak tıkalı değilse 0 puan ve obstrükte ise 2 puan olarak sınıflandırılır. Sonuç olarak 0 ile 24 puan arası bir skor elde edilerek radyolojik evrelendirme yapılmış olunur (116).

**Tablo 3: Lund - Mackay evrelendirme sistemi**

|                                | Sağ Sol |
|--------------------------------|---------|
| <b>Maksiller sinüs</b>         |         |
| <b>Anterior ethmoid sinüs</b>  |         |
| <b>Posterior ethmoid sinüs</b> |         |
| <b>Sfenoid sinüs</b>           |         |
| <b>Frontal sinüs</b>           |         |
| <b>Osteomeatal kompleks</b>    |         |

Çalışma grubundaki endoskopik sinüs cerrahisi yapılan hastalardan genel anestezi altında ameliyat sırasında nazal polip dokusu alınmış ve alınan polip dokusu sıvı nitrojen tankı içerisinde soğuk zincir oluşturularak moleküler çalışma aşamasına dek – 85 °C’de saklanmıştır. Kontrol grubundaki hastaların ise burun tıkanıklığı nedeniyle septum deviasyonu ve alt konka cerrahisi yapılırken alt konkalarından sağlıklı mukozadan doku örneği alınmış ve sıvı nitrojen tankı içerisinde soğuk zincir oluşturularak moleküler çalışma aşamasına dek – 85 °C’de saklanmıştır. Nazal polip dokuları toplanırken en az 0,1 gr olarak, hastalığın yaygın olduğu orta meatus ve ethmoid sinüs bölgelerinden alınmıştır. Kontrol dokuları ise tamamen sağlıklı mukozaya sahip hastaların alt konkalarından toplanmıştır. Her iki dokunun da ameliyat sırasında temizlenip ependorf kabına konulduktan sonra sıvı nitrojen tankına temini sağlanmıştır.

Çalışma grubuna 37 tane nazal polipli kronik rinosinüzit nedeniyle ameliyat olan hasta ile kontrol grubuna 30 tane herhangi bir rinosinüzit ve nazal polip şikayeti olmayan burun tıkanıklığı nedeniyle septoplasti ve alt konka cerrahisi yapılan hasta dahil edilmiştir. Ancak ameliyat sırasında alınan dokulardaki yetersizlik, sıvı nitrojen tankına doku transportu aşamasındaki aksaklıklar ve uygunsuz saklama koşulları nedeniyle örneklem de fire verilmiş ve çalışmaya 21 adet çalışma hastası ile 20 adet kontrol hastası dahil edilmiştir. Çalışma için gerekli olan genetik kitler ve laboratuvar ekipmanları sağlandıktan sonra çalışmanın molöküler genetik kısmına geçilmiş ve toplanılmış olan dokuların uygun bir şekilde Gazi Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Bölümü Laboratuvarı'na temini sağlanmıştır.

### **3.1 ) Kullanılan Cihazlar**

- Hassas terazi (AND-ER-182A)
- PCR-Sprint otomatik ısı döngü cihazı (Eppendorf)
- Mikroplaka ELISA okuyucu (Spectramax M3, Molecular Devices)
- Light Cycler Real Time PCR cihazı (Roche)
- Nanodrop (Thermo Scientific)
- Kuru ısıtıcı blok (Biosan)
- Ph metre (WTW 422)
- Soğutmalı santrifüj (Hettich Mikro 22R)
- Manyetik karıştırıcı (TMA 2071)
- Spin vorteks (Biosan)

- Vorteks (Biosan)
- Mikropipetler; 10µl, 100µl, 1000µl, 5000µl (Thermo)
- Derin dondurucu -30°C (Sanyo)
- Derin dondurucu -80°C (Sanyo)
- Buzdolabı (Arçelik)
- Mini protean elektroforez ve blot sistem (Bio-Rad)
- Gel logic 2200 görüntüleme sistemi (Carestream)
- Homojenizatör (IKA)

### **3.2) Kullanılan Sarf Malzemeler**

- 15ml ve 50ml santrifüj tüpü (Thermo-Nunc)
- Hücre kültür plakları (96 well plate) (Thermo-Nunc)
- Uçlar (10µl, 100µl, 1000µl, 5000µl )(Thermo-Nunc)
- 0.2ml, 0.5ml ve 1.5ml Mikrosantrifüj tüpleri (Greiner)

### **3.3) Kullanılan Kimyasallar**

- Fenilmetilsülfonilflorid (PMSF) (Thermo Scientific)
- Etanol (Sigma)
- Metanol (Merck)
- Hücre Lizis Solusyonu (CST)
- Primerler (GAPDH, BECN1, CASP3, CD11b, Galectin1) (Ella Biotech)

- Tripure Isolation Reagent (Roche)
- Universal prob (Roche)
- Amonyum Persülfat (Amresco)
- Temed (Amresco)
- Tris base (Sigma)
- Akrilamid (Amresco)
- Bisakrilamid (Amresco)
- Gliserol (Merck)
- Hidroklorik asit (Merck)
- Yağsız süt tozu (CST)
- LDS Sample Buffer (Life Technologies)
- ColorPlus Protein Belirteci (NEB)
- Beta-Aktin antikor (CST)
- Caspase-3 antikor (CST)
- Sekonder antikor (CST)
- Fosfotaz inhibitörü (Thermo Scientific)
- Glikojen (Roche)

### **3.4) Kullanılan Kitler**

- cDNA Sentez Kiti (Roche)
- High Pure RNA izolasyon kiti (Roche)
- 480 Taqman Master Mix (Roche)
- BCA Protein Tayin Kiti (Thermo)

### **3.5) Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanışı**

#### **3.5.1) Hücre Lizis Solüsyonunun Hazırlanışı**

10x Cell Lizis buffer (Cell Signaling, Kat. No:# 9803), dH<sub>2</sub>O yardımıyla 1x haline getirildi ve 10x Fosfotaz inhibitörü Cell Lizis buffer (Thermo Scientific, Kat. No: 78440) yardımıyla 1x haline getirildi.

#### **3.5.2) PMSF Solüsyonu**

0,03484 g PMSF (Thermo Scientific, Kat. No: 36978) 10 ml izopropanol içerisinde çözüldü.

#### **3.5.3) %30'luk Akrilamid/bisakrilamid Solüsyonu**

29,2 g akrilamid ve 0,8 g bisakrilamid 100 ml dH<sub>2</sub>O içerisinde çözüldü.

#### **3.5.4) 1,5 M Tris Buffer (pH:8,8)**

27,23 g Tris-base, 150ml dH<sub>2</sub>O içerisinde çözüldü ve pH, HCl ile 8,5'e ayarlandı.

#### 3.5.5) 0,5 M Tris Buffer (pH:6,8)

6 g Tris-base, 100ml dH<sub>2</sub>O içerisinde çözöldü ve pH, HCl ile 8,5'e ayarlandı.

#### 3.5.6) 10x Tris-Glisin Stok Solüsyonu

30.3 g Tris-base ve 144 g Glisin 1000 ml dH<sub>2</sub>O içerisinde çözöldü ve pH, HCl ile 8,5'e ayarlandı.

#### 3.5.7) 10x Running Buffer (pH:8,3)

10x konsantrasyondaki Tris-Glisin stotuđu dH<sub>2</sub>O ile 1x haline getirildi ve 10 ml %10'luk SDS ilave edildi. pH, HCl ile 8,3'e ayarlandı.

#### 3.5.8) Transfer Buffer

20 ml 10x Tris-Glisin stok solüsyonu, 40 ml Metanol ilave edildi ve toplam hacim dH<sub>2</sub>O kullanılarak 200 ml'ye tamamlandı. pH, HCl ile 8,3'e ayarlandı.

### 3.5.9) Sample Buffer

4 x LDS Sample Buffer dH<sub>2</sub>O ve  $\beta$ -merkaptotanol kullanılarak 1x haline getirildi.

### 3.5.10) Amonyum Persülfat (APS) Solüsyonu

100 mg APS, 1ml dH<sub>2</sub>O içerisinde çözöldü.

### 3.5.11) 10x TBS Solüsyonu

12,1 g Tris-base ve 40 g NaCl 500 ml dH<sub>2</sub>O içerisinde çözöldü.

### 3.5.12) Yıkama Solüsyonu

10x konsantrasyonundaki TBS stoęu, dH<sub>2</sub>O kullanılarak 1x haline getirildi ve total hacmin %0,1'i kadar Tween-20 eklendi.

### 3.5.13) Primer ve Sekonder Dilüsyon Solüsyonu

1x TBS, %0,1 Tween-20 ve %5 yağsız süt tozu karıştırıldı. Primer ve sekonder antikorlar üretici firmanın belirttiği oranda dilüsyon solüsyonu ile dilue edildi.

#### 3.5.14) Bloklama solüsyonu

1x TBS, %0,1 Tween-20 ve %5 yağsız süt tozu karıştırıldı.

### 3.6) Yöntemler

#### 3.6.1 ) Dokudan Total RNA İzolasyonu

18.01.2012 tarih ve 24 nolu etik kurul izniyle elde edilmiş ve nazal polip ve kontrol alt konka mukozası dokularından yaklaşık 0.1 g doku aşağıdaki basamaklara göre Tripure Isolation Reagent ile total RNA izolasyonu gerçekleştirildi. İşlemler laminar akım kabini içerisinde gerçekleştirildi.

1. Yaklaşık 0.1 g doku üzerine 1 ml Tripure solüsyonu eklendi ve dokular homojenize edildi. 10 mg'dan az dokular için glikojen ilave edildi.
2. Nükleoprotein komplekslerinin tamamen ayrımı için 5 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.
3. Her bir tüpe 200'er µl kloroform eklendi ve 15 saniye boyunca kuvvetlice vorteks yapıldı.
4. Oda sıcaklığında 15 dakika inkübasyondan sonra 12000 rpm'de 15 dakika santrifüj yapıldı.
5. Süpernatantların her biri yeni ependorf tüplere alındı.
6. Her bir tüpe 500'er µl izopropanol eklendi ve 10 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.

7. 12000 rpm’de 10 dakika santrifüjden sonra süpernatantlar atıldı ve pelletlerin üzerine 1’er ml %75 lik etanol yıkama amacıyla kondu.
8. Tüpler 7500 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi ve süpernatantlar atıldı.
9. Pelletler belirli süre kurumaya bırakıldı ve 35µl DEPC muamele edilmiş H<sub>2</sub>O eklendi.
10. Peletlerin çözülmesi için kuru ısıtıcıda 60°C’de 15 dk inkübe edildi.
11. Elde edilen RNA’ ların miktarları ve saflığı NanoDrop ND-1000 Spektrofotometre” cihazında ölçülerek RT-PCR’da kullanılabilecek kadar -80°C’lik derin dondurucuda saklandı.

#### 3.6.2) cDNA Sentezi

High Fidelity Transcriptor cDNA sentez kiti (Roche Almanya; Kat. No: 0508995001) ile total RNA’dan cDNA sentezi yapıldı. Primer olarak random heksamerler kullanıldı. cDNA sentezi sırasında kullanılan malzemeler ve miktarları Tablo 4’de verilmiştir.

**Tablo 4. cDNA RT-PCR tepkime karışımı.**

|                                   | Son                            | Hacim                          |
|-----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|                                   | Konsantrasyon                  |                                |
| Steril H <sub>2</sub> O-PCR grade | -                              | RNA miktarına göre<br>değişken |
| Reaksiyon Tamponu (5x)            | 1x (8mM<br>MgCl <sub>2</sub> ) | 4,00                           |
| dNTP                              | 1mM                            | 2,00                           |
| Random hekzamer primeri           | 60µM                           | 2,00                           |
| RNaz inhibitörü                   | 20 ünite                       | 0,50                           |
| DTT                               | 5 mM                           | 1                              |
| Transcriptor Ters Transkriptaz    | 10 ünite                       | 1,1                            |
| Total RNA                         | 1µg                            | 1µg olacak şekilde             |

cDNA için PCR karışımı ince çeperli 0,2ml’lik mikrosantrifüj tüplerine dağıtıldıktan sonra saflaştırılan total RNA eklendi. Aşağıda belirtilen protokole uygun olarak cDNA ters transkripsiyon polimeraz zincir tepkimesi uygulandı.

1. Son konsantrasyon 100 ng/ml olacak şekilde RNA, 2 µl Hekzamer primer ve total hacim 11,4 µl olacak şekilde steril H<sub>2</sub>O-PCR grade eklendi.
2. Otomatik ısı döngüsü cihazında 65<sup>0</sup>C’de 10 dakika inkübasyon edildikten sonra örnekler buz üzerine alındı.
3. 8,6 µl master karışım (5x Tampon, 1mM dNTP, 20U RNaz inhibitörü, 5mM DTT ve 10U Transkriptor Ters Transkriptaz enzimi) buz üzerinde bekletilen örneklere eklendi.
4. Thermal Cycler cihazına yerleştirilen örnekler sırasıyla;

- 25<sup>0</sup>C’de 10 dakika,
- 50<sup>0</sup>C’de 60 dakika,
- 85<sup>0</sup>C’de 1 dakika inkübe edildi.

5. Reaksiyon sonucu cDNA örnekleri Real-Time PCR’da kullanılıncaya kadar -20<sup>0</sup>C’lik derin dondurucuda saklandı.

### 3.6.3) Genlerin İfade Edilmesinin Real-Time PCR ile Ölçümü

BECN1, CASP3, CD11b, Galectin1 ve GAPDH genlerinin mRNA miktarları, Real-Time PCR yöntemi ile Light Cyclers (LC) 480 cihazı kullanılarak yapıldı. Amplifikasyonlar 20 µL toplam tepkime hacmi içerisinde; cDNA, bölgeye özgü primerler ve UPL TaqMan probu (Tablo 5), LightCycler TaqMan Master karışımı (Roche, Almanya; Kat. No:0470749400) ve distile su kullanılarak gerçekleştirildi. BECN1, CASP3, CD11b ve Galectin1 genlerinin ifadenmesini normalize etmek için GAPDH mRNA düzeyi referans olarak alındı.

**Tablo 5. Real-time PCR, primer, prob dizileri.**

| DİZİ (5'→3')    |   |                               |
|-----------------|---|-------------------------------|
| <i>BECN1</i>    | 1 | GGA TGG TGT CTC TCG CAG AT    |
|                 | 1 | TTG GCA CTT TCT GTG GAC AT    |
|                 | 1 | # 20                          |
| <i>CD11b</i>    | 1 | GGC ATC CGC AAA GTG GTA       |
|                 | 1 | GGA TCT TAA AGG CAT TCT TTC G |
|                 | 1 | #9                            |
| <i>Galectin</i> | 1 | CGC CAG CAA CCT GAA TCT       |
|                 | 1 | CAG GTT CAG CAC GAA GCT CT    |
|                 | 1 | #80                           |
| <i>CASP3</i>    | 1 | CTGGTTTTTCGGTGGGTGT           |
|                 | 1 | CCACTGAGTTTTTCAGTGTTCTCC      |
|                 | 1 | #34                           |
| <i>GAPDH</i>    | 1 | AGC CAC ATC GCT CAG ACA C     |
|                 | 1 | GCC CAA TAC GAC CAA ATC C     |
|                 | 1 | #60                           |

GAPDH, BECN1, CD11b, Galectin1 ve CASP3 genlerine uygun primer ve proplar kullanılarak Real-Time PCR tepkimesi LC cihazında gerçekleştirildi. Tepkime karışımını hazırlamak için kullanılan bileşenlerin miktarı Tablo 6'de verilmiştir.

**Tablo 6. GAPDH, BECN1, CASP3, CD11b, Galectin 1 Real-Time PCR tepkime karışımı.**

|                          | Son<br>Konsantrasyon | Hacim |
|--------------------------|----------------------|-------|
| dH <sub>2</sub> O        | -                    | 4.1µL |
| MgCl <sub>2</sub> (25mM) | 4mM                  | 1.2µL |
| Primer F (10pmol/µL)     | 2.5pmol              | 0.5µL |
| Primer R (10pmol/µL)     | 2.5pmol              | 0.5µL |
| TaqMan prob (100pmol/µL) | 10pmol               | 0.2µL |
| TaqMan karışımı (10x)    | 1x                   | 2.5µL |

#### 3.6.4) Light Cyclers (LC) 480 Deney Programı

Real-Time PCR karışımları hazırlandıktan sonra 96 kuyucuklu plakalara dağıtıldı ve üzerine cDNA' lar eklendi. Üzeri şeffaf kapatıcı ile kapatıldı ve cihaza yerleştirildikten sonra Tablo 7'de belirtilen amplifikasyon programı kullanılarak PCR tepkimesi gerçekleştirildi. GAPDH, BECN1, CD11b, Galectin1 ve CASP3 genleri için aynı program kullanıldı.

Reaksiyon sonucunda, BECN1, CD11b, Galectin1 ve CASP3 genlerin mRNA düzeylerini gösteren Crossing point (CP) değerleri belirlendi. BECN1, CD11b, Galectin1 ve CASP3 ifade düzeyleri GAPDH ifade düzeyine göre normalize edildi.

**Tablo 7. GAPDH, BECN1, CD11b, Galectin 1 ve CASP3 genlerinin ifade düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan Real Time PCR tepkime programı.**

| Program 1. Ayrılma (Denatürasyon)                                       |         |         |        |
|-------------------------------------------------------------------------|---------|---------|--------|
| Program Verisi                                                          |         | Değer   |        |
| Döngüler                                                                |         | 1       |        |
| Analiz Modu                                                             |         | -       |        |
| Sıcaklık Hedefleri                                                      |         | Kısım 1 |        |
| Hedef Sıcaklık (°C)                                                     |         | 95      |        |
| İnkübasyon zamanı (s:dk:sn)                                             |         | 10:00dk |        |
| Sıcaklık Geçiş Hızı (°C/sn)                                             |         | 4.40    |        |
| Program 2. Primer Bağlanması ve Uzama (Hibridizasyon ve Polimerizasyon) |         |         |        |
| Program Verisi                                                          |         | Değer   |        |
| Döngüler                                                                |         | 50      |        |
| Analiz Modu                                                             |         | Çoğalma |        |
| Sıcaklık Hedefleri                                                      | Kısım 1 | Kısım 2 | Kısım3 |
| Hedef Sıcaklık (°C)                                                     | 95      | 60      | 60     |
| İnkübasyon zamanı (s:dk:sn)                                             | 10sn    | 20sn    | 1      |
| Sıcaklık Geçiş Hızı (°C/sn)                                             | 4.40    | 2.20    | 4.40   |
| Program 3. Soğutma                                                      |         |         |        |
| Program Verisi                                                          |         | Değer   |        |
| Döngüler                                                                |         | 1       |        |
| Analiz Modu                                                             |         | -       |        |
| Sıcaklık Hedefleri                                                      |         | Kısım 1 |        |
| Hedef Sıcaklık (°C)                                                     |         | 40      |        |
| İnkübasyon zamanı (s:dk:sn)                                             |         | 30sn    |        |
| Sıcaklık Geçiş Hızı (°C/sn)                                             |         | 2.20    |        |

### 3.6.5) Protein İzolasyonu

Yaklaşık 0,1 g doku örneğine 500 µl RIPA buffer eklendikten sonra 15 sn'ye buz üzerinde homojenize edildikten sonra elde edilen lizat 14.000 rpm'de 15 dakika santrifüj

edildi. Santrifuj sonrası elde edilen supernatant BCA kiti kullanılarak içerdği protein miktarı belirlendi. Elde edilen protein örnekleri -80 °C’de saklandı.

### 3.6.6) BCA Kiti İle Protein Miktar Tayini

İzole edilen nazal polip ve sağlıklı kontrol proteinlerin miktarlarının tayini BCA protein ölçüm kiti (Pierce, USA, katalog no:23225) ile aşağıdaki basamaklara göre gerçekleştirildi;

- 1- Kit içerisinde gelen bovine serum albumin (BSA) ile 2; 1,5; 1; 0,75; 0,5; 0,25; 0,125; 0,025 ve 0 µg/ml konsantrasyonlarda dH<sub>2</sub>O kullanılarak standart tüpler hazırlandı.
- 2- Protein örnekleri ve standart 96 kuyucuklu plakanın her birine 25’er µl eklendi.
- 3- Kit içerinden çıkan Reaktif A:B oranı 50:1 olacak şekilde hazırlandı.
- 4- Bu reaktif karışımından her bir kuyucuğa 200’er µl eklendi.
- 5- 37°C lik inkübatörde yarım saat inkübasyondan sonunda spektrofotometre ile 562 nm dalga boyunda plaka okutuldu ve excel programında standart eğri çizilerek hesaplamalar yapıldı.

### 3.6.7) Western Blot Yöntemi İle Protein Düzeylerinin Belirlenmesi

Caspase-3 ve  $\beta$ -actin genlerinin protein ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi için nazal polip ve sağlıklı kontrol örneklerinden elde edilmiş proteinlere western blot yöntemi uygulandı.

İlk aşamada, BCA kiti ile miktarları ve standart grafikleri belirlenen proteinler yükleme için hazırlandı. Bu proteinlerle aynı miktarda üzerlerine 2x konsantrasyon değerinde sample buffer'ları eklendi. Böylece protein örnekleri 1:1 oranında dilüe edilerek çalışma konsantrasyonları elde edildi. Protein örnekleri denatürasyon için 70°C'ye ayarlı ısıtıcı blokta 10 dakika bekletildi ve yükleme aşamasına geçildi. Akrilamid ve bisakrilamid polimerleşmesi ile, üst jel olan stacking ve alt jel olan seperating jellerin önceden hazırlanıp donması ile yükleme jeli oluşturuldu. Jele yüklenen protein örnekleri, 1X running buffer eklenmesi ile 150 V ve 250 mA de 90 dakika boyunca yürütüldü.

Proteinler jel üzerinde moleküler yüklerine ve ağırlıklarına göre yürütüldükten sonra güç kaynağı kapatıldı ve jel alındı. Örnekler, wet blotting yöntemi ile PVDF membrana transferleri gerçekleştirildi. Transfer kaseti tank içerisine dikey kondu ve transfer buffer de eklendikten sonra 100 V ve 250 mA'de 2 saat boyunca aktarım gerçekleştirildi. Aktarım aşamasından sonra membran aranan proteine özgü primer (dilüsyon oranı; 1:1000) ve sekonder antikorlarla (dilüsyon oranı; 1:1000) muamele edildi. Dilüe edilen primer antikorlar ile bir gece +4°C de, sekonder antikorla ise 2 saatlik inkübasyon gerçekleştirildi. Son

aşamada ise membranın görüntülenmesi Gel logic 2200 görüntüleme sistemi ile gerçekleştirildi.

### **3.7 ) İstatistiksel Analiz Yöntemleri**

Araştırmanın verileri SPSS v22. (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, United States) bilgisayar paket programına girilmiş, veri kontrolü yapılarak analiz edilmiştir. Analizler yine SPSS v22. bilgisayar paket programında yapılmıştır.

Doza ve zamana bağlı olarak değişen, BECN1, CD11b, Galectin1, CASP3, GAPDH mRNA ifade düzeylerindeki farklılıklar “REST (2009 V2.0.13)” istatistik programı ile karşılaştırıldı. 0,05’den küçük olan *p* değerleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

#### 4) SONUÇLAR VE BULGULAR

Çalışmaya dahil edilmiş toplam 21 hastadan 13 tanesi (% 61,9) erkek ve geriye kalan 8 hasta ( % 38,1) ise kadındır. Kontrol grubu 20 hastanın ise 10 tanesi (%50) erkek ve diğer 10 tanesi (%50) kadındır. Çalışmaya katılan bireylerin cinsiyet dağılımları Tablo 8' de özetlenmiştir.

**Tablo 8: Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyet dağılımı**

| Hasta Gruplarının Cinsiyet Dağılımı |         |          |       |       |
|-------------------------------------|---------|----------|-------|-------|
|                                     |         |          |       |       |
|                                     |         | Cinsiyet |       | Total |
|                                     |         | Erkek    | Kadın |       |
| Grup                                | Hasta   | 13       | 8     | 21    |
|                                     | Kontrol | 10       | 10    | 20    |
| Total                               |         | 23       | 18    | 41    |

Çalışma grubunda yaş ortalaması  $43,3 \pm 14,08$  olarak gözlenmiştir. Kontrol grubunun yaş ortalaması ise  $28,1 \pm 10,39$  olarak gözlenmiştir. Yaş ortalaması ile ilgili bulgular Tablo 9' da özetlenmiştir.

**Tablo 9: Hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları**

| Hasta Gruplarının Yaş Ortalamaları |         |    |                |
|------------------------------------|---------|----|----------------|
| Grup                               | Mean    | N  | Std. Deviation |
| Hasta                              | 43,3333 | 21 | 14,08309       |
| Kontrol                            | 28,1000 | 20 | 10,39180       |
| Total                              | 35,9024 | 41 | 14,48759       |

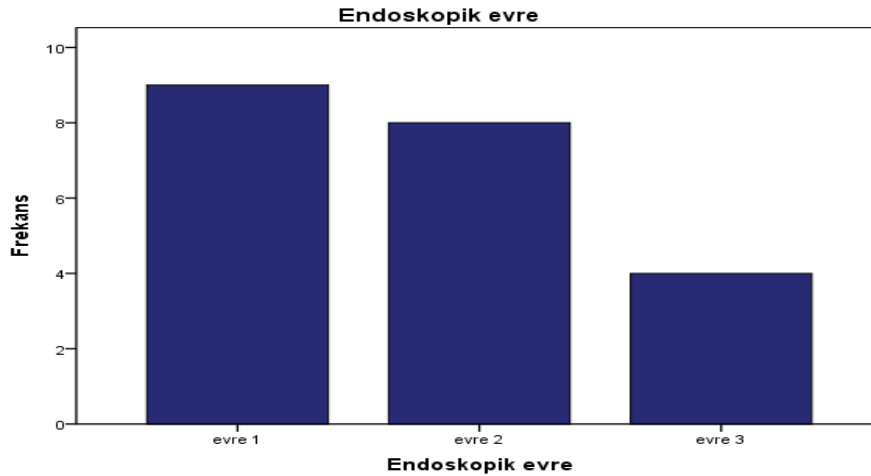
Çalışma grubundaki hastaların 3 tanesinin astım, 5 hastanın ise astım ve non -steroid anti inflamatuvar intoleransına yani Samter triadına sahip olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubundaki hastaların 2 tanesinde ise daha önce herhangi bir nazal cerrahi veya kronik rinosinüzit öyküsü olmamasına rağmen astım gözlenmiştir ( Tablo 10).

**Tablo 10: Hasta ve kontrol gruplarındaki hastaların eşlik eden hastalıkları**

| Hastalık ve Kontrol gruplarının eşlik eden hastalık dağılımları |         |          |        |              |       |
|-----------------------------------------------------------------|---------|----------|--------|--------------|-------|
|                                                                 |         | Hastalık |        |              | Total |
|                                                                 |         | Astım    | Samter | Hastalık yok |       |
| Grup                                                            | Hasta   | 3        | 5      | 13           | 21    |
|                                                                 | Kontrol | 2        | 0      | 18           | 20    |
| Total                                                           |         | 5        | 5      | 31           | 41    |

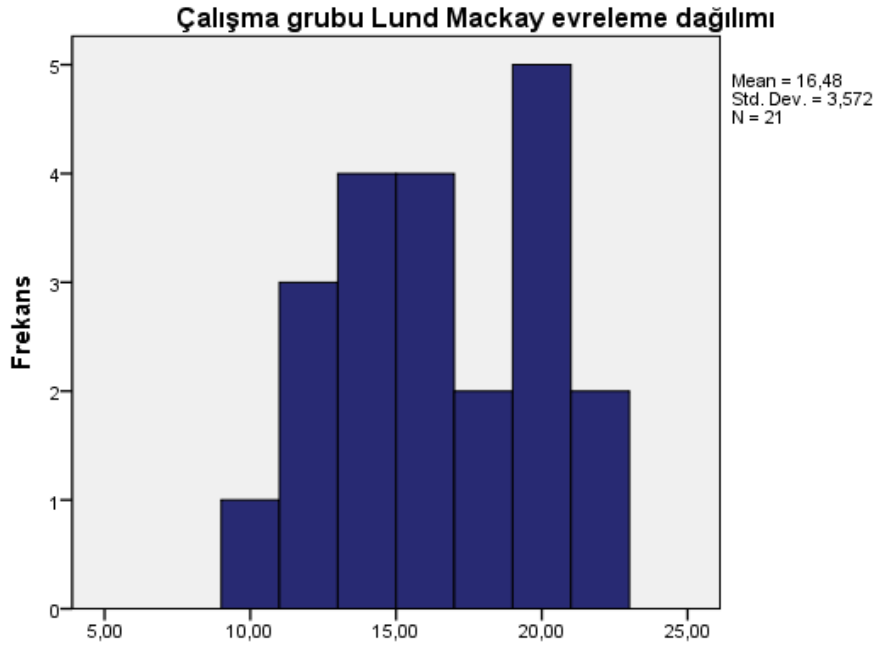
Çalışma grubundaki hastalar ameliyat öncesinde endoskopik olarak evrelendirilmiştir. Bu evreleme sistemine göre 9 hasta (%42,9) evre 1, 8 hasta (%38,1) evre 2 ve 4 hasta (%19) evre 3 olarak saptanmıştır. Çalışma grubu hastaların endoskopik evreleme sonuçları Grafik 1 de özetlenmiştir.

**Grafik 1: Çalışma grubu endoskopik evreleme grafiği**



Çalışma grubundaki hastaların bilgisayarlı tomografi bulguları Lund - Mackay evreleme sistemine göre puanlandırıldığında ise ortalama değer  $16,47 \pm 3,57$  olarak bulunmuştur. Grafik 2 de çalışma grubu hastalarının Lund - Mackay evreleme sistemine göre histogram grafiği gösterilmiştir.

**Grafik 2: Çalışma grubu hastalarının radyolojik evreleme grafiği**

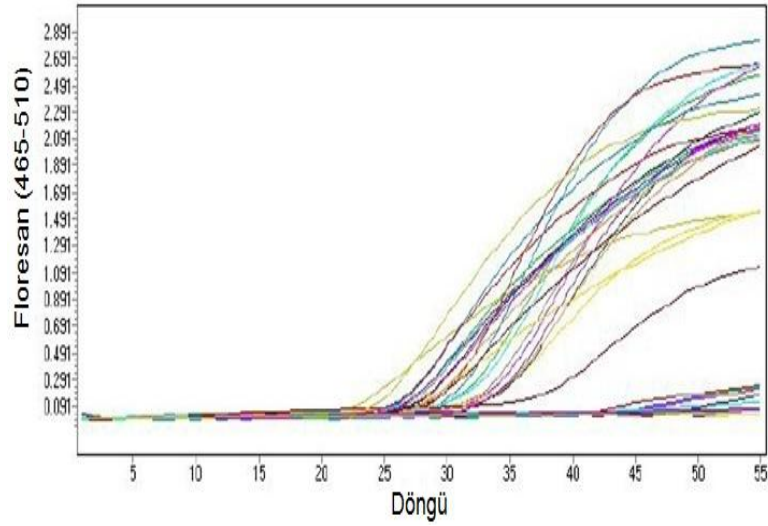


#### **4.1. Gen İfade Düzeylerinin Kantitatif Değerlendirilmesi**

BECN1, CD11b, Galectin1, CASP3 ve GAPDH genlerinin ifade düzeyinin kantitatif değerlendirilmesi için Light Cycler 480 cihazı kullanıldı. 21 nazal polip ve 20 sağlıklı kontrol örneğinden elde edilen cDNA'larda BECN1, CD11b,

Galectin1 ve CASP3 bu genlerin normalizasyonu için seçilen GAPDH genlerine özgül primerler ve UPL LNA problemleri kullanılarak çalışıldı.

BECN1, CD11b, Galectin1, CASP3 ve GAPDH genlerinin mRNA düzeyinde ifadesini kantitatif olarak gösteren Real-Time PCR tepkimesine ait amplifikasyon eğrisi Şekil 8’de gösterildi.



**Şekil 8: *BECN1*, *CD11b*, *Galectin1*, *CASP3*, *GAPDH* genlerinin mRNA düzeyinde ifadesini kantitatif olarak gösteren amplifikasyon eğrileri. *BECN1*, *CD11b*, *Galectin1*, *CASP3* ve *GAPDH* geninin Real Time PCR tepkimesine ait Cp değerleri yatay ekseninde yer almaktadır. Dikey ekseninde floresan sinyal izlenmektedir.**

Göreceli gen ifadesi sonuçları REST programı kullanılarak “Pfaffl” matematiksel yöntemi ile hesaplandı. Pfaffl eşitliği aşağıda belirtilmiştir.

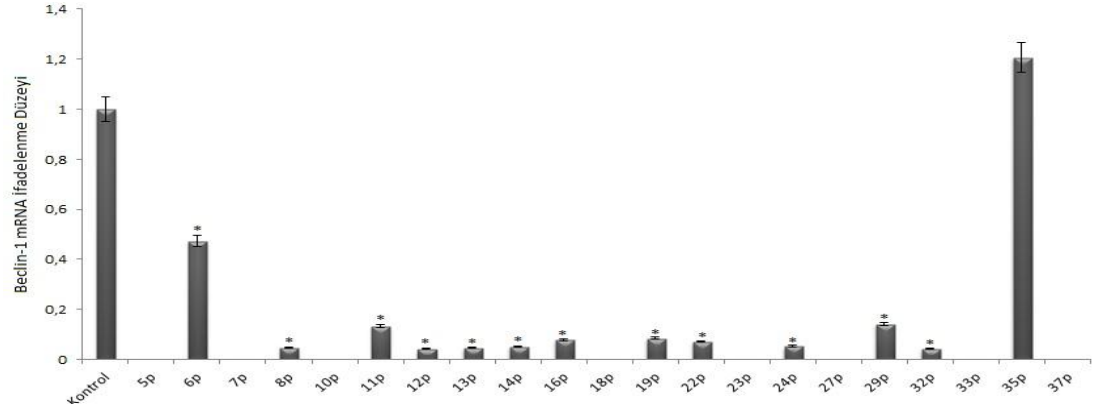
$$R = \frac{E(\text{hedef})^{\Delta Ct(\text{kontrol-örnek})}}{E(\text{referans})^{\Delta Ct(\text{kontrol-örnek})}}$$

Eşitlikte belirtilen Ct, tepkime sırasında oluşan floresan sinyalin eşik değeri geçtiği andaki döngü sayısını ifade etmektedir. Ct değeri tepkimenin başında mevcut olan mRNA (cDNA) miktarı ile ters orantılıdır.  $\Delta Ct$  değeri ise kontrol ile örneklerin Ct değerleri arasındaki farkı göstermektedir. Eşitlikte belirtilen E, PCR etkinliğini, elde edilen R ise ifade oranını göstermektedir.

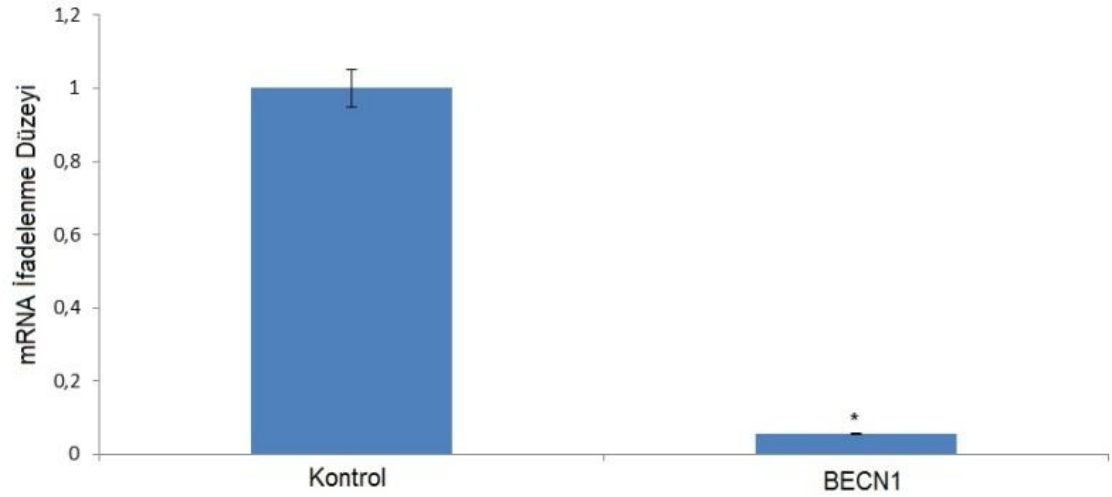
#### 4.1.1) Kantitatif BECN1 Geninin mRNA İfade Düzeyinin Değerlendirilmesi

Beclin - 1 proteinini kodlayan BECN1 geninin mRNA düzeyindeki ifadenin düzeyi incelendiğinde çalışma grubundaki hastalardaki ekspresyondaki değişiklikler Şekil 9 de detaylı olarak gösterilmiştir.

**Şekil 9: BECN1 geni mRNA düzeyi ifadenme düzeyleri ( \* ile işaretli bireyler istatistiksel olarak  $p<0,05$ )**



21 Nazal polip ve 20 sağlıklı kontrol örneğinden BECN1 genin mRNA düzeyi kontrole göre 17 kat azaldığı belirlenmiş ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

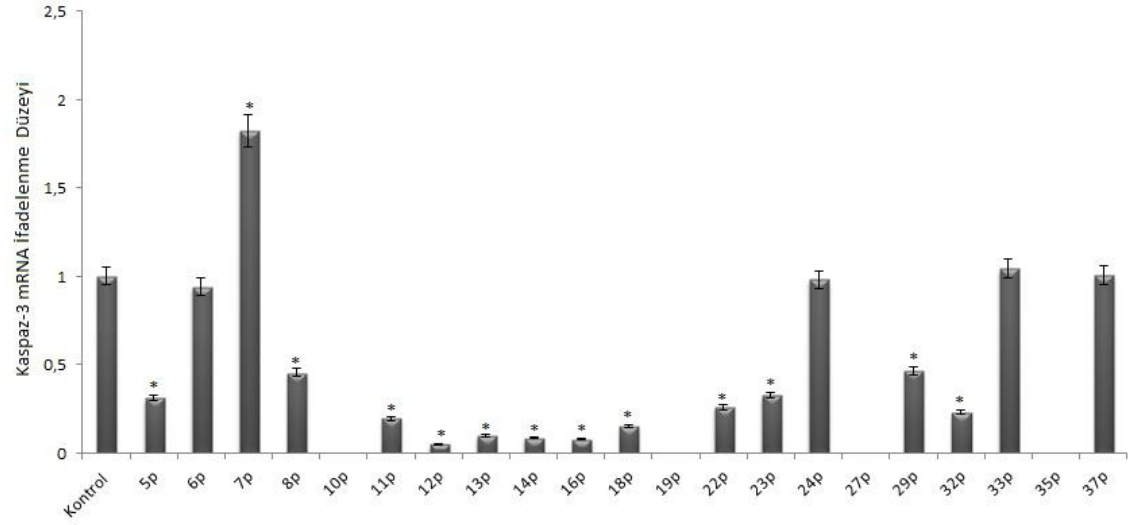


**Grafik 3. Nazal polip ve sağlıklı kontrol örneklerinin *BECN1* mRNA düzeyindeki değişimler. Hedef genlerin ifade düzeyleri *GAPDH* mRNA ifade düzeyi temel alınarak normalize edildi,\*;  $p<0,05$ .**

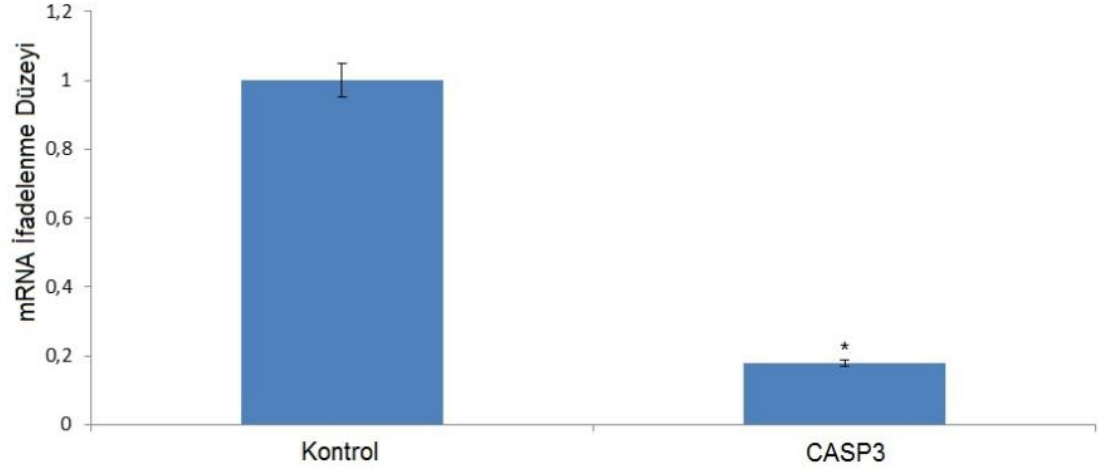
#### 4.2.2) Kantitatif CASP3 Geninin mRNA İfade Düzeyinin Değerlendirilmesi

Caspase - 3 proteinini kodlayan CASP3 geninin mRNA düzeyindeki ifadenme düzeyleri Şekil 10 da detaylı olarak gösterilmektedir.

**Şekil 10: CASP3 geni mRNA düzeyi ifadenme düzeyleri ( \* ile işaretli bireyler istatistiksel olarak  $p<0,05$ )**



21 Nazal polip ve 20 sağlıklı kontrol örneğinden CASP3 genin mRNA düzeyi kontrole göre 5,5 kat azaldığı belirlenmiş ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

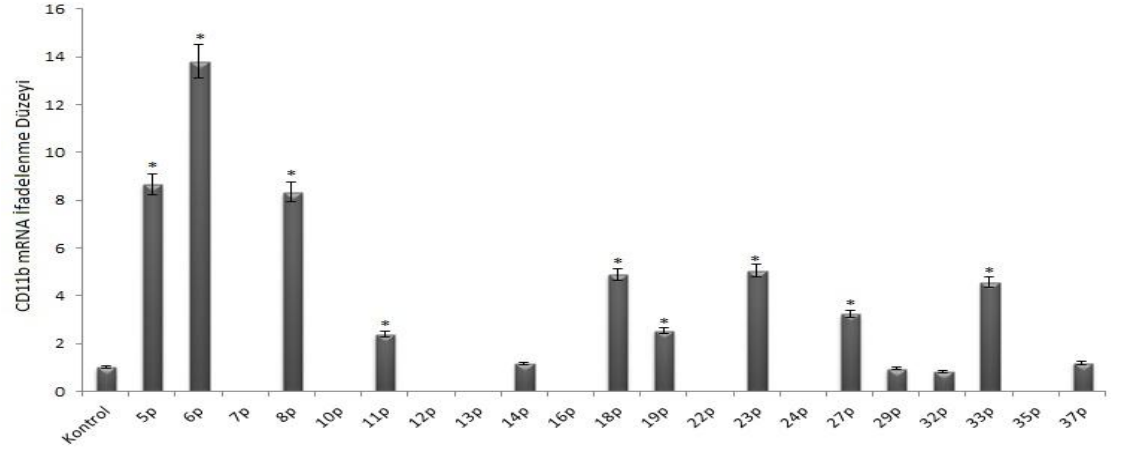


**Grafik 4. Nazal polip ve sağlıklı kontrol örneklerinin CASP3 mRNA düzeyindeki değişimler. Hedef genlerin ifade düzeyleri GAPDH mRNA ifade düzeyi temel alınarak normalize edildi,\*; p<0,05.**

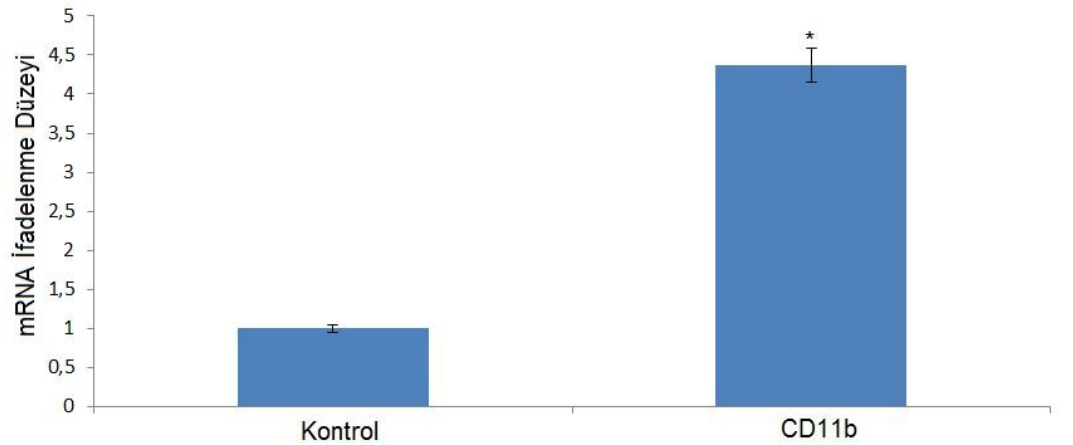
#### 4.2.3) Kantitatif CD11b Geninin mRNA İfade Düzeyinin Değerlendirilmesi

Integrin alpha M proteininin  $\beta 2$  subunitini yani CD11b proteinini kodlayan genin mRNA düzeyindeki ifadenmeleri Şekil 11 de detaylı olarak gösterilmiştir.

**Şekil 11: CD11b geni mRNA düzeyi ifadenme düzeyleri ( \* ile işaretli bireyler istatistiksel olarak  $p<0,05$ )**



21 Nazal polip ve 20 sağlıklı kontrol örneğinden CD11b genin mRNA düzeyi kontrole göre 5,5 kat artma belirlenmiş ve bu artma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

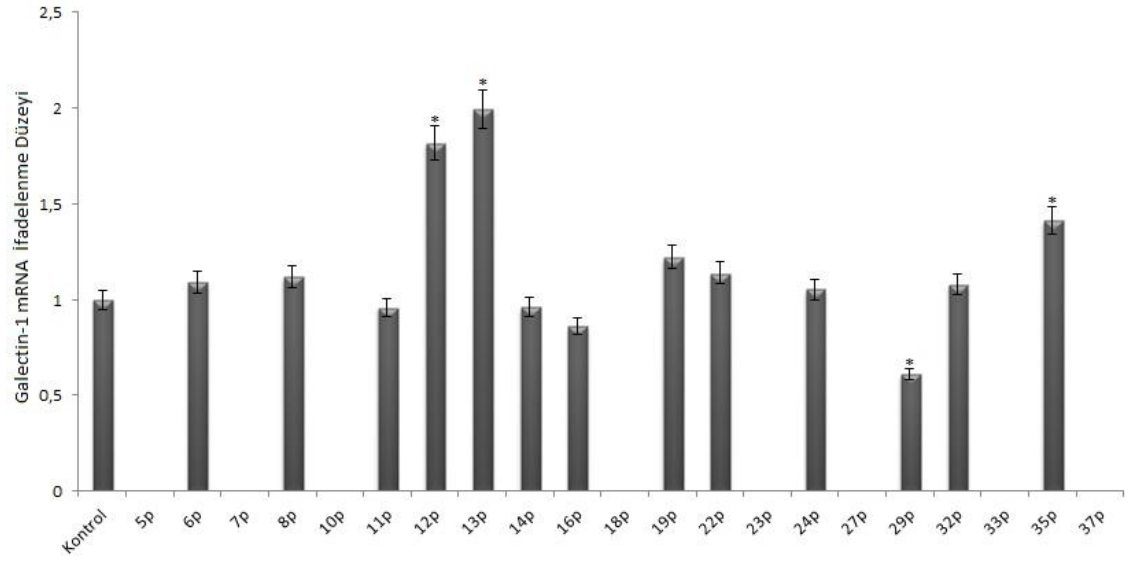


**Grafik 5. Nazal polip ve sağlıklı kontrol örneklerinin *CD11b* mRNA düzeyindeki değişimler. Hedef genlerin ifade düzeyleri *GAPDH* mRNA ifade düzeyi temel alınarak normalize edildi,\*;  $p<0,05$ .**

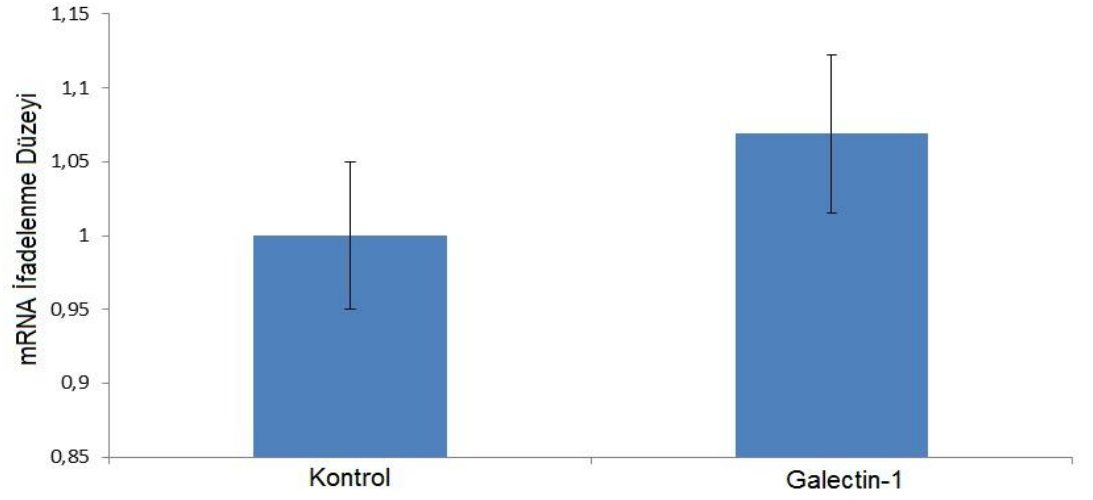
#### 4.2.4. Kantitatif Galectin-1 Geninin mRNA İfade Düzeyinin Değerlendirilmesi

Galectin -1 proteinini kodlayan genin mRNA düzeyindeki ifadenmeleri hasta grubunda Şekil 12 deki gibidir.

**Şekil 12: Galectin - 1 geni mRNA düzeyi ifadenme düzeyleri ( \* ile işaretli bireyler istatistiksel olarak  $p<0,05$ )**



21 Nazal polip ve 20 sağlıklı kontrol örneğinden Galectin-1 genin mRNA düzeyi kontrole göre bir artma belirlenmiş ancak bu artma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.



**Grafik 6. Nazal polip ve sağlıklı kontrol örneklerinin *Galectin-1* mRNA düzeyindeki değişimler. Hedef genlerin ifade düzeyleri *GAPDH* mRNA ifade düzeyi temel alınarak normalize edildi,\*;  $p<0,05$ .**

Çalışma grubundaki hastaların Galectin - 1, Beclin - 1, CD11b ve Caspase - 3 proteinleri için mRNA düzeyindeki ekspresyonlarının kontrole göre istatistiksel olarak farkları Tablo 11 deki gibidir.

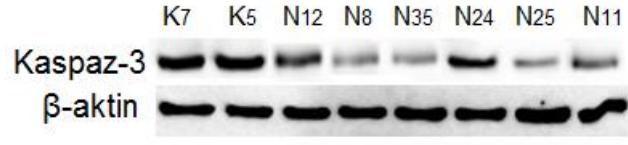
**Tablo 11: Galectin - 1, Beclin - 1, CD11b ve Caspase - 3 proteinleri mRNA düzeyindeki ifadelenme düzeylerinin değışimleri**

|            | <b>Galectin - 1</b> | <b>Beclin - 1</b> | <b>cd11b</b>    | <b>Casp3</b>    |
|------------|---------------------|-------------------|-----------------|-----------------|
| <b>5p</b>  | -                   | -                 | 8,67 kat artış  | 3,2 kat azalış  |
| <b>6p</b>  | 1,091 / fark yok    | 2,112 kat azalış  | 13,8 kat artış  | 0,941 /fark yok |
| <b>7p</b>  | -                   | -                 | -               | 1,826 kat artış |
| <b>8p</b>  | 1,118 /fark yok     | 21 kat azalış     | 8,33 kat artış  | 2,2 kat azalış  |
| <b>10p</b> | -                   | -                 | -               | -               |
| <b>11p</b> | 0,958 /fark yok     | 7,51 kat azalış   | 2,376 kat artış | 5,1 kat azalış  |
| <b>12p</b> | 1,819 kat artış     | 23,7 kat azalış   | -               | 19,4 kat azalış |
| <b>13p</b> | 1,992 kat artış     | 21,3 kat azalış   | -               | 10,1 kat azalış |
| <b>14p</b> | 0,961 /fark yok     | 19,4 kat azalış   | 1,153/fark yok  | 11,4 kat azalış |
| <b>16p</b> | 0,860 /fark yok     | 12,5 kat azalış   | -               | 12,5 kat azalış |
| <b>18p</b> | -                   | -                 | 4,9 kat artış   | 6,6 kat azalış  |
| <b>19p</b> | 1,221 /fark yok     | 11,7 kat azalış   | 2,54 kat artış  | -               |
| <b>22p</b> | 1,138 /fark yok     | 13,9 kat azalış   | -               | 3,84 kat azalış |
| <b>23p</b> | -                   | -                 | 5,05 kat artış  | 3,06 kat azalış |
| <b>24p</b> | 1,053 /fark yok     | 18,5 kat azalış   | -               | 0,982 /fark yok |
| <b>27p</b> | -                   | -                 | 3,24 kat artış  | -               |
| <b>29p</b> | 1,64 kat azalış     | 7,1 kat azalış    | 0,945 /fark yok | 2,15 kat azalış |
| <b>32p</b> | 1,079 / fark yok    | 22,6 kat azalış   | 0,818 /fark yok | 4,35 kat azalış |
| <b>33p</b> | -                   | -                 | 4,57 kat artış  | 1,046 /fark yok |
| <b>35p</b> | 1,412 kat artış     | 1,207 /fark yok   | -               | -               |
| <b>37p</b> | -                   | -                 | 1,184 /fark yok | 1,006 /fark yok |

#### 4.2. Caspase - 3 Protein İfade Düzeyi

Caspase - 3 proteininin nazal polip dokularında sağlıklı kontrollere göre 5,5 kat kadar mRNA düzeyinde daha az eksprese olduğu görülmüştür. Caspase - 3 proteini apoptotik yolaktaki basamakların birinde kilit bir rol üstlenmektedir. mRNA düzeyinde eksprese olduktan sonra oluşturulan protein aktif değildir ve fonksiyonel hale geçmesi için çeşitli kırılma ve konjugasyon işlemleri geçirmektedir. Bu nedenle Caspase - 3 proteininin sadece mRNA düzeyindeki ekspresyonuna bakarak bir sonuca varmak yeterli değildir ve western blot yöntemiyle bu proteinin aktif ifadelenme düzeyi de incelenmelidir.

21 nazal polip ve 20 sağlıklı kontrol örneklerinde western blot yöntemi uygulanmıştır. Caspase - 3 protein düzeylerindeki değişimler Şekil 13'de gösterildi. Nazal polip örneklerinin 12 tanesinde kontrole kıyasla aktif caspase - 3 düzeyinde azalma, 1'inde artma ve 5'inde ise değişme gözlemlenmemiştir. Aktif Caspase - 3 protein düzeyinde kontrole göre bir azalma gözlemlendi. Bu sonuçlar, CASP3 mRNA düzeyinde azalma ile korelasyon göstermektedir.



**Şekil 13:** Nazal polip ve sağlıklı kontrol örneklerinde Aktif Kaspaz-3 protein düzeylerindeki değişimler. β-aktin, western blot yükleme kontrolü olarak kullanıldı. K; sağlıklı kontrol, N; nazal polip.

## 5) TARTIŞMA VE SONUÇ

Rinosinüzit; sık görülmesi, hastaların sosyal hayatını etkilemesi ve ülkelere getirmiş olduğu ekonomik yük ile beraber günümüzde önemli bir hastalık grubunu oluşturmaktadır (117). Etiyopatogenezinin tam olarak aydınlatılamamış olması, tanı ve tedavi aşamalarında karşılaşılan güçlükler ve birçok branşta yer alan hekimin günlük klinik pratiğinde bu hastalık grubuyla karşılaşabilmesi bu hastalığının önemini arttırmaktadır.

Günümüzde rinit ve sinüzit hastalarda eş zamanlı olarak görülmektedir bu nedenle eski terminolojinin aksine rinosinüzit tanımı kullanılmaktadır. Semptomların 12 haftadan kısa sürüp kliniğin düzeldiği durumlar akut rinosinüzit olarak değerlendirilirken; semptomların 12 haftadan uzun sürdüğü durumlar ise kronik rinosinüzit olarak tanımlanmaktadır. Kronik rinosinüzit semptomlarına ek olarak lateral nazal duvar veya orta meadan kaynaklanan nazal polip varlığı nazal polipin eşlik ettiği kronik rinosinüzit olarak bilinmektedir (1). Nazal polipin eşlik ettiği kronik rinosinüzit vakaları prognozun daha kötü olduğu, tanı ve tedavide zorlanılan ve tedavi sonrası nükslerle karşılaşılabilen vakalar olarak düşünülmektedir.

NP; etiyopatogenezinin tam olarak aydınlatılamaması, tedavisinde karşılaşılan güçlükler, nükslerin sık görülmesi ve getirmiş olduğu sosyoekonomik yük nedeniyle önemli bir kronik rinosinüzit grubudur. Kronik rinosinüzitlerin

yaklaşık % 20 - 30 kadarını oluşturmakta ve toplumda % 1 - 4 civarında görülmektedir (3).

Nazal polip dokularının histopatolojisi incelendiğinde sıklıkla lateral nazal duvar ve orta meadan kaynaklanan kronik inflamatuvar süreçle seyreden mukozal ödem ve mukozanın de novo olarak hiperproliferasyonu ve polipleşmesi ile karşılaşmaktadır(4,23). Genetik alt yapı, enfeksiyonlar, allerji, anatomik varyasyonlar, bilgesel immunolojik ve histolojik faktörlerin nazal polip gelişiminde etkili olduğu düşünülmektedir. Günümüzde patogenezi aydınlatmaya yönelik yapılan çalışmalar, nazal polip dokusunda karşılaşılan kronik inflamasyon ve mukoza hiperproliferasyonu üzerine yoğunlaşmaktadır.

Çeşitli faktörlerin etkisi ve bunların sonucunda ortaya çıkan mukozal hasar sonucu salınan inflamatuvar mediatörler kronik inflamasyona ve sonuç olarak nazal polip gelişimine katkıda bulunmaktadır. Ayrıca; nazal polipozisin Samter triadı, astım, atopi ve allerji, kistik fibrozis ve siliyer diskinezi gibi hastalıklarla olan birlikteliği genetik yatkınlığı da ortaya koymaktadır. Artmış mukoza hücre proliferasyonu için proliferatif ve apoptotik mekanizmalarda bir sorun olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle nazal polip gelişimde kronik inflamasyona yol açan moleküller ve hücre proliferasyonunda etkili apoptotik mekanizmaların rol oynayabileceği düşünülmektedir.

Nazal polip histopatolojisi incelendiğinde kronik inflamatuvar mediatörler, artmış yoğun bir ekstraselüler ödem ve sonuç olarak kronik inflamatuvar bir

süreçle karşılaşmaktadır. Temel olarak eozinofil ağırlıklı bir inflamasyondan söz edilse de plazma hücresi, mast hücresi, lökosit, lenfosit ve birçok inflamatuvar sitokin ve kemokinin bu süreçte etkin rol oynadığı tespit edilmiştir (29). Nazal polip oluşumuna yol açan bir çok çevresel veya hastaya bağlı faktörler sonuç olarak moleküler düzeyde kronik inflamatuvar mekanizmaları aktifleştirmekte ve sonuç olarak nazal polip oluşmaktadır. Günümüzde nazal polip tedavisi için başta kortikosteroidler olmak üzere kullanılan tedaviler bu inflamatuvar basamakları engellemek ve süreci durdurmayı amaçlamaktadır(118).

Nazal polip etiyolojisinde temel olarak hem çevresel hem de hastaya bağlı etkenler yer almaktadır. Çevresel etkenler başlıca enfeksiyöz nedenler, fungal elementler ve süperantijenler olarak düşünülürken hastaya bağlı etkenlerin başında genetik altyapı bulunmaktadır. Genetik yatkınlık sonucu hem immün yanıtta oluşan bir sorun sonucu kronik inflamasyon görülebileceği gibi mukoza ve bazal membran hiperproliferasyonu ve anti apoptotik süreçlerin aktifleşmesiyle de nazal polip oluşabileceği düşünülmektedir(13).

Nazal polipozis etiyolojisinin yapılan çalışmalarla gittikçe aydınlanması sonucu; kronik inflamatuvar yollar ve apoptotik mekanizmaların bu hastalığın gelişiminde etkin bir rolü olduğu anlaşılmıştır. Bu nedenle bu çalışmada da nazal polipozis etiyolojisinde rolü olabileceği düşünülen bazı moleküllerin mRNA düzeyindeki ekspresyonları araştırılmıştır.

CD11b; integrin alfa M beta 2 olarak da bilinir ve integrin ailesine ait bir protein alt ünitesidir. Eozinofil, lökosit, makrofaj gibi inflamatuvar yanıtta rol oynayan hücrelerin yüzeyinde eksprese edilmekte selüler aktivasyon, kemotaksis ve sitotoksisite gibi bir çok immunolojik olayda rol oynamaktadır. Ayrıca; kompleman sistem komponenti 3b (C3b) ye bağlanması ve hücre adezyonunda oynadığı etkiler nedeniyle inflamasyon sürecinde etkili bir proteindir (88,89,90). Nazal polipozis gibi inflamasyonun baskın olduğu ve yoğun inflamatuvar hücrelerin ve mediatörlerin aktif rol üstlendiği bir hastalıkta CD11b gibi immunolojik ve inflamatuvar süreçteki aktif bir proteinin de etkili olabileceği düşünülmüştür(92).

Galectin - 1; hücre yüzeyi ve ekstraselüler matrikste bulunabilen  $\beta$  - galaktozidaz bağlayabilen bir proteindir. Hücre ve matriks iletişiminde önemli rol üstlenir. Dendritik hücre farklılaşması, sitokin salınımı ve otokrin negatif büyüme faktörü olarak davranması da hem hücre proliferasyonunda hem de inflamasyondaki etkisini ortaya koymaktadır (95,96).

Beclin - 1 proteini temel olarak otofajiden sorumlu bir proteindir. Temel olarak programlı hücre ölümü ve hücre homeostazında etkin bir rolü mevcuttur. Bu nedenle hücre proliferasyonunun artmış olduğu hastalıklarda moleküler düzeyde bu proteinin de ekspresyonunun azalarak hücrelerin apoptozunun azalacağı ve proliferasyon ile karşılaşılacağı düşünülmektedir(102,103).

Caspase proteinleri; apoptoz, nekroz ve inflamasyonda etkili rol oynayan sistein proteaz ailesinde yer alan proteinlerdir(107). Caspase - 3, apoptotik süreçte aktifleşen ve ana basamakta rol oynayan bir protein alt grubudur. Hem inflamatuvar hastalıklara hem de artmış hücre proliferasyonu ile ilerleyen hastalıklara bu yolaktaki aksaklıklar neden olabilir. Caspase - 3, zimojen olarak üretilen ve çeşitli sinyaller sonucu aktifleşen bir proteindir(108). Bu nedenle nazal polip etiyolojisinde sadece mRNA düzeyindeki ekspresyonunu araştırmak yeterli olmayacak bunun yanında protein düzeyindeki ifadenmesine de bakmak gerekmektedir. Çünkü, bu protein mRNA düzeyinde eksprese olduktan sonra aktifleşmemekte çeşitli reaksiyonlar sonucu aktif haline dönüşmekte ve fonksiyon görmektedir.

Nazal polipozisin etiyolojisini aydınlatmaya yönelik yapılan çalışmalarda inflamatuvar ve apoptotik yolda yer alan birçok molekülün ekspresyonlarında anlamlı değişimler saptanmıştır. Bu çalışmada da; CD11b, Galectin - 1, Beclin - 1 ve Caspase - 3 gibi immunolojik, inflamatuvar ve apoptotik yolda etkili proteinlerin ekspresyon ve ifadenme düzeyleri incelenmiştir.

Cho SH ve arkadaşlarının 2008 yılında yaptığı çalışmada; nazal polip dokusunda apoptotik yolaktaki anahtar rolü oynayan proteinler çalışılmıştır. Apoptotik protein inhibitör (IAP) protein ailesi ve klasik apoptoz mekanizmasının son basamağı olan Caspase - 3 proteini incelenmiştir. Özellikle Caspase - 3 ün sitoplazmik proteinlerin proteolizi konusunda önemli bir rol üstlendiği bu nedenle nazal polip patolojisinde rol oynayabileceği düşünülmüştür. Yaptıkları çalışmada

Caspase - 3 proteininin subepitelyal alanda eksprese olmadığı ancak konkalar ve nazal polip dokusunda eksprese olduğunu tespit etmişlerdir. Bu nedenle Caspase - 3' ün daha çok epitelyal alanda aktivite göstererek nazal mukozanın yeniden oluşumu ve nazal polip formasyonunda rol oynayabileceği düşünülmüştür(119). Lin H ve arkadaşları 2014 yılında nazal polip formasyonundaki apoptotik mekanizmaları ve ilgili proteinleri incelemişlerdir. Apoptotik yolda bulunan Livin, SMAC ve Caspase - 3 proteinlerinin ekspresyonunu incelemişler özellikle eozinofilik tipte olan nazal polip dokularında Caspase - 3 proteinin down regüle olduğunu bulmuşlardır(120). Caspase - 3 proteinin yanında Caspase - 9 ve p53 ekspresyonunda azaldığı sonucuna yönelik çalışmalar mevcuttur(121). Hatta organ kültür çalışmalarında Caspase protein kaskadının inhibe ederek etki gösteren methotrexate gibi ilaçların nazal polip dokusunda apoptoza yol açarak tedavide kullanılabileceğini öneren çalışmalar da mevcuttur(122).

2003 yılında Delbrouck C ve arkadaşları; Galectin - 1 ve Galectin - 3 proteinlerinin nazal polip ve konka dokularındaki ekspresyon düzeylerini incelemişlerdir. Her iki proteinin de nazal polip dokularında konkalara göre daha fazla eksprese olduğu bulunmuştur. Ancak, Galectin - 1 proteininin ekspresyonunun hastaların allerji durumuyla etkilendiği görülmüş ve bu proteinin apoptotik mekanizmalardaki rolü yanında nazal polip formasyonundan çok immunolojik etkilerinin olduğu şeklinde yorumlanmıştır(99). 2010 yılında Fernandes AM ve arkadaşlarının yaptığı benzer çalışmada Galectin -1 ve Annexin - 1 proteinin ekspresyonunun nazal polipte artmış olduğu bulmuş ancak

kortikosteroid tedavisine rağmen Galectin - 1 ekspresyon düzeyinin değişmediği söylemiştir(100). 2012 yılında Negrete - Garcia MC ve arkadaşları aspirin intoleransı bulunan astımlı hastaların nazal sıvılarında Galectin - 10 proteininin artmış olduğunu tespit etmişler ve diğer Galectin grubu proteinlerinde nazal polip veya astım gibi immunolojik inflamatuvar hastalıkların temelinde etkili olabileceğini ortaya koymuşlardır(123).

CD11b molekülünün, immunolojik ve inflamatuvar mekanizmalardaki integrinler üzerinden olan etkisi bilinmektedir. Lim LH ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptığı çalışmalarda eozinofiller üzerindeki CD11b aktivitesi gösterilmiştir. Ayrıca, glukokortikoid tedavisi sonrası steroid reseptörlerinin uyarılmasıyla eozinofillerdeki CD11b ekspresyonunun azaldığı tespit edilmiştir(124). 1998 yılında Spoelstra FM ve arkadaşları astımlı hastaların nazal ve bronkoalveolar sıvılarındaki eozinofillerini incelediğinde CD11b ekspresyonunun artmış olduğunu tespit etmişlerdir(125). Nazal polip formasyonunda etkili olduğu bilinen mediatörlerden eotaxinin eozinofillerde CD11b upregülasyonuna yol açtığı gösterilmiştir(126). Walker C ve arkadaşları nazal polip ve astım hastalarını incelediğinde CD11b ekspresyonunun artmış olduğu ve bunun sonucunda da eozinofillerin aktifleşerek eozinofil - endotel arası etkileşimin artarak hücre göçüne yol açtığını bulmuştur(127). Ayrıca nazal mukoza ve nazal polip dokusundaki eozinofillerdeki CD11b ekspresyonunun, periferik kandaki eozinofillerdeki CD11b ekspresyonuna göre artmış olduğu bulunmuştur(128). Nazal polip formasyonunda eozinofillerin yanında

nötrofillerinde etkili olduğu bilinmektedir. Allerjik rinit ve nazal polip hastalarının nazal mukoza örneklerindeki nötrofillerin başta CD11b olmak üzere yüzey integrinlerinin artmış olduğu ve bu nedenle hücre göçünün nazal mukozaya doğru olduğu düşünülmektedir(129).

Beclin - 1 proteini otofajiden sorumlu ve özellikle neoplazi dokularında ekspresyonu artmış bir proteindir. Bunun dışında Galectin protein ailesi de pro ve anti apoptotik mekanizmalarda etkili olan bir protein ailesidir. Idikio HA' nın 2011 yılında yaptığı çalışmalarda Beclin ve Galectin proteinlerinin benzer sinyal yollarında olduğu bildirilmiştir. Programlı hücre ölümü, apoptoz, otofaji, nekroz ve nekroptoz işlemlerinde iki protein ailesi de koordine yollarda yer almaktadır. Neoplazi dokularında ekspresyonlarının etkilendiği ve neoplazi dışında apoptoz mekanizmalarının etkili olduğu proliferatif süreçlerde de önemli proteinler olduğu belirtilmiştir(130).

Bizim yapmış olduğumuz çalışmada; nazal polipozis hastaları ile herhangi kronik rinosinüzit ve nazal polip hikayesi olmayan hastalar CD11b, Galectin -1, Beclin - 1 ve Caspase - 3 proteinlerini kodlayan genlerin mRNA düzeyindeki ekspresyonları açısından karşılaştırılmıştır. Çalışma grubuna medikal tedaviye rağmen semptomlarında düzelme sağlanamamış ve ameliyat önerilmiş nazal polipli kronik rinosinüzit hastaları dahil edilmiştir. Kontrol grubuna ise daha önceden kronik rinosinüzit ve nazal polip hikayesi olmayan septum deviasyonu nedeniyle ameliyat edilen hastalar dahil edilmiştir. Kontrol grubu olarak aynı hastanın sağlıklı olarak görülen nazal mukozası tercih edilmemiştir. Hem sağlıklı

mukozanın yaygın nazal polipozisi olan hastada değerlendirilmesinin subjektif olması hem de nazal polipozis hastalığından hiç etkilenmemiş bireylerin seçilmesinin karşılaştırma için daha uygun olacağı düşünülmüştür. Zira; nazal polipozis sıklıkla astım, aspirin intoleransı ve Samter triadı gibi sistemik bulgularla da görülmektedir bu nedenle tamamen sağlıklı bireyleri kontrol grubu olarak seçmek daha mantıklıdır.

Çalışma ve kontrol gruplarına dahil edilen bireyler arasında cinsiyet anlamında istatistiksel olarak herhangi anlamlı bir fark yoktur. Her iki grupta da cinsiyetler birbirlerine yakın sayılardadır. Yaş ortalamalarını incelediğimizde; çalışma grubunun yaş ortalaması 43,3 iken kontrol grubunun ise 28,1 dir. Aradaki bu fark çalışma grubuna dahil edilen hastaların medikal tedaviye rağmen semptomları düzelmeyen ve ameliyat kararı verilen hastalardan oluşması ve kontrol grubunun ise sadece burun tıkanıklığı yaşayan genç erişkinlerden oluşmasından kaynaklanmaktadır. Toplumda septum deviasyonu için ameliyat olan hastalar genelde genç erişkinlerdir bu nedenle kontrol grubunun yaş ortalaması hasta grubuna göre düşüktür. Nazal polipozis ise sıklıkla 40 - 50 yaş aralığında görülür ve bu sonuç literatürle uyumluluk göstermektedir.

Çalışma grubundaki hastalar nazal polipozis hastalığının yanında astım, aspirin intoleransı ve Samter triadı gibi nazal polipozis ile eşlik edebilen hastalıklara göre gruplandırılmıştır. Çalışmaya dahil edilen 21 hastanın 3 tanesinde sadece astım, 5 hastada ise astım ve aspirin intoleransı beraber görülmüştür. Bu hastaların doku örnekleri, bakılan proteinler ile ilgili genlerin

ekspresyonu açısından ayrıca incelenmiştir. Ancak; sadece nazal polipozise sahip hastalar ile bu bireyler arasında ekspresyon düzeyi olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir. Ancak, örneklemin küçüklüğü ve hasta grubu içerisinde astım, aspirin intoleransı veya Samter triadı gibi ayrı gruplar oluşturulamaması nedeniyle net olarak bir sonuç da öne sürülememektedir. Bu konuda bir fikir elde etmek için daha geniş bir örneklem içerisinde yeterli sayıda sistemik bulguların da eşlik ettiği nazal polipozis hastalarının ekspresyon düzeyleri incelenmelidir.

Çalışma grubu hastalar ameliyat planı öncesi endoskopik olarak evrelendirilmiştir. Hastaların yaklaşık % 80 kadarı evre 1 ve evre 2 olarak gruplandırılmış sadece 4 hasta evre 3 olarak sınıflandırılmıştır. Hastaların ameliyat öncesi uzun süre medikal tedavi alması ve ameliyat öncesi hazırlık amacıyla uygulanan kortikosteroid tedavi nedeniyle ameliyat öncesi hastalar daha çok düşük evrelerde gözlenmiştir. Ayrıca bu hastalarda nazal polipozis dışında bir miktar septum deviasyonlarının olması da nazal poliplerin sadece endoskopik olarak görülmesine neden olduğu düşünülmüştür.

Çalışma grubu radyolojik olarak Lund - Mackay sistemine göre evrelendirildiğinde ise ortalama olarak 16,48 civarı bir puan elde edilmiştir. Nazal polipozis hastalarının genel olarak tüm paranasal sinüsleri tutması ve osteomeatal kompleksleri oblitere etmesi nedeniyle ortalamanın üzerinde yüksek bir skor elde edildiği düşünülmektedir.

Beclin - 1 proteinini kodlayan BECN1 geninin mRNA düzeyindeki ekspresyonu incelendiğinde çalışma grubunda kontrollere göre yaklaşık 17 kat kadar daha az bir ekspresyon görülmüştür( $p<0,05$ ). Beclin - 1 proteini otofaji ve anti - apoptoz ile ilgili önemli bir düzenleyici proteindir. Beclin - 1 bir çok kofaktörle beraber çalışarak otofaji protein kaskadını ve apoptozu uyarır. Bir çok kanser türünde Beclin -1 disfonksiyonu saptanmıştır(103). Bunların yanında Alzheimer ve şizofreni gibi nörodejeneratif hastalıklarda da ekspresyonunun düştüğü bilinmektedir(104). Nazal polip dokularında da bu azalma polip formasyonundaki apoptotik ve otofajik yolağın önemini ortaya koymaktadır. Nazal polip formasyonunda sadece immunolojik ve inflamatuvar süreçleri düşünmenin yanında hücrelerde aşırı bir proliferasyonu olduğu açıktır. Bu nedenle medikal tedavi planlanırken sadece anti inflamatuvar temelli tedavinin yanında anti proliferatif veya apoptotik temelli tedaviler de ilerleyen yıllarda gündeme gelebilir. Son yıllarda nazal polip etiyolojisini aydınlatmaya çalışan birçok çalışmada da hücre proliferasyonu, apoptozis ve otofajinin üzerinde durulmakta ve bu yollardaki anahtar proteinler araştırılmaktadır(120,121,122).

Caspase - 3 genini kodlayan CASP3 geninin mRNA düzeyindeki ekspresyonuna bakıldığında 5,5 kat kadar bir azalma saptanmıştır ve bu istatistiksel olarak anlamlıdır( $p<0,05$ ). Caspase proteinleri de apoptoz ve inflamasyonda temel rol oynayan bir protein ailesidir ve Caspase 3 bu kaskadın önemli bir anahtar proteindir. Caspase - 3 de aynı Beclin - 1 gibi apoptozda görev alır ve birçok neoplazi ve inflamatuvar dejeneratif hastalıkların etiyopatogenezinde

defektif olarak bulunmuştur. Cho H ve Lin H nin yapmış olduğu çalışmalarda hem caspase kaskadının hem de apoptozun nazal polip gelişimindeki önemi gösterilmiştir(119,120).

Caspase - 3 üretildiği zaman hücrede sürekli aktif olarak bulunmamaktadır. Bu protein zimojen olarak üretilir ve çeşitli sinyaller ile apoptoz uyarıldığı zaman çeşitli konjugasyon ve kırılma reaksiyonları sonrası aktifleşir ve fonksiyonel hale gelir. Bu nedenle nazal polip formasyonunda Caspase - 3 ün sadece mRNA düzeyinde ekspresyonuna bakarak etiyoloji hakkında fikir edinmek yeterli olmayacaktır. Önemli olan nazal polip dokusu içerisinde de fonksiyonel olarak Caspase - 3 proteininin bulunmasıdır bu nedenle ifadenme düzeyi de Western Blot yöntemiyle incelenmiştir. Bu analiz sonucunda da 12 hastada istatistiksel olarak anlamlı bir protein ifadenme düzeyi saptanmıştır ve bu sonuç da mRNA ekspresyon düzeyi ile koreledir.

CD11b, integrin protein ailesine ait immunolojik ve inflamatuvar yanıtın oluşturulmasında etkilidir. İnflamatuvar hücrelerin hedef dokuya olan kemotaksisinde ve dokuyla olan adezyonunda da rol oynamaktadır. Çalışmamızda CD11b proteinini kodlayan genin mRNA düzeyindeki ekspresyonu kontrol grubu hastalarına göre 5,5 kat kadar daha artmıştır ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p<0,05$ ). CD11b başta eozinofil olmak üzere diğer inflamatuvar hücrelerin yüzeyinde eksprese edilmektedir. Nazal polipozis de gözlenen temel inflamatuvar hücrenin de eozinofil olduğu bilinmektedir. Astım ve allerji öyküsü olan hastaların eozinofilleri incelendiğinde bu protein alt ünitesinin artmış olduğu

ve periferik kandaki eozinofillere göre dokuda daha fazla eksprese edildiği bilinmektedir(125,127). Ayrıca; nazal polipozis gibi kronik inflamasyon ile seyreden SLE' nin de etiyolojisinde bu integrin ailesi olduğuna dair kanıtlar mevcuttur(91). Daha önceki literatür çalışmalarına bakıldığında çalışmamızda elde ettiğimiz sonuç korelasyon göstermektedir. Nazal polip formasyonu için CD11b ekspresyonu inflamatuvar hücrelerde artmakta ve nazal mukozaya ve hücre göçü ve adezyonunda önemli rol oynadığı düşünülmektedir.

Galectin - 1 proteinini kodlayan genin mRNA düzeyindeki ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı olmasa da kontrol grubuna göre artmış olarak bulunmuştur. Galectin - 1; ilk başlarda sadece hamilelikte immün sistemde görev aldığı ve immün yanıtın oluşturulmasında etkili olduğu bilinmekteydi(97). Galectin -1 antikorları ile immün sistemin baskılandığı ve inflamasyonun önüne geçildiğini gösteren çalışmalarla inflamatuvar ve immünolojik hastalıkların temelinde bu protein ailesi araştırılmaya başlanmıştır(98). Delbrouck C ve arkadaşlarının nazal polip hastalarındaki Galectin protein düzeylerini incelediği çalışmalarda da ekspresyonunun artmış olduğunu tespit etmiştir. Ancak, bu çalışmada da Galectin - 1 protein ekspresyonunun Galectin - 3 e göre daha az eksprese olduğu, allerjinin eşlik ettiği hastalarda daha çok ekspresyonunun etkilendiği belirtilmiştir(99). Zira, nazal polip ile allerji birlikteliği bile tam olarak bilinemezken Galectin - 1 proteininin nazal poliple olan ilişkisi de net değildir. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da bu proteinin ekspresyonundaki bu artış da nazal polip formasyonundaki immünolojik yanıtla bağlanabilir. Ancak, bu konuda

net sonuçlar elde etmek için daha geniş örneklem ile ve allerji - atopi öyküsü olan hastaların da dahil edildiği çalışmalar planlanabilir.

Nazal polipozis günümüzde hem medikal hem cerrahi yöntemlerle tedavi edilmeye çalışılan ve tedavisi sırasında güçlüklerle karşılaşılan bir hastalık grubudur. Hastaların tedavi sonrasında nüks etme olasılığının yüksek olması nedeniyle klinisyenler tarafından tedavide bazı noktaların eksik olduğu düşünülmektedir. Bu durum da nazal polip etiyopatogenezinin tam olarak aydınlatılamamış olmasındandır. Bir çok teori bulunmasına rağmen nazal polipozisin hem inflamatuvar hem de proliferatif bir hastalık olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle tedavide de bu basamaklar üzerine yoğunlaşılmalı ve süreç durdurulmalıdır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda nazal polipozis etiyolojisinde çeşitli iç ve dış etkenler sonucu kronik inflamasyon olduğu; inflamasyonun başlamasıyla proliferasyonun tetiklendiği ve nazal polip formasyonunun olduğu düşünülmektedir. Hücrelerin proliferasyonun anti apoptotik yolların aktifleşmesi sonucu olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada da hem apoptotik yollarda etkili hem de inflamatuvar süreçlerde etkili olan proteinlerin nazal polip etiyolojisindeki yerleri araştırılmış ve önemli bilgilere ulaşılmıştır. Nazal polip etiyolojisinin tam olarak aydınlatılması ve bunun sonucunda uzun vadede yeni tedavi protokollerinin oluşturulması konusunda bu tür çalışmaların daha fazla sayıda ve geniş gruplarda yapılması önerilmektedir.

## 6) ÖZET

Nazal polipozis, sıklıkla lateral nazal duvar ve orta meadan kaynaklanan nazal poliplerin eşlik ettiği kronik rinosinüzit semptomları ile karakterize endoskopik ve tomografik yöntemlerle tanı koyulabilen kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Hastalığın sık olarak gözlenmesi, tedavi sonrası nüks oranının yüksek olması ve kişilerin sosyal hayatını oldukça etkilemesi nedeniyle günümüzde önemli bir hastalık grubunu teşkil etmektedir.

Nazal polipozisin tedavisi hem medikal hem cerrahi yöntemlerle yapılmaktadır. Ancak, her iki tedavi sonrasında da bening bir hastalık olmasına rağmen nükslerle karşılaşılmaktadır. Bu durumun nedeninin hastalığın etiyopatogenezinin aydınlatılamamış ve bu nedenle uygun tedavi stratejileri benimsenmemiş olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Nazal polipozis etiyolojik açıdan multifaktöriyel bir hastalıktır. Hem kişiye bağlı etkenler hem de çevresel etkenlerin birleşimiyle hastalık ortaya çıkmaktadır. Histopatolojik olarak incelendiğinde ise kronik inflamatuvar bir zeminde gelişen mukozal hücrelerin hiperproliferasyonu ve polipleşmesiyle karşılaşılmaktadır. Bu nedenle günümüzde yapılan çalışmalarda nazal polip etiyopatogenezini aydınlatmak için bu basamaklar üzerine yoğunlaşılmaktadır.

Günümüze kadar inflamasyon ve hücre proliferasyonunu tetikleyen birçok molekül nazal polip etiolojisinde araştırılmış ve anlamlı sonuçlara erişilmiştir. Bizim çalışmamızda da, nazal polip ile ilişkili olabileceği düşünülen apoptoz yollarında düzenleyici olan ve sonuç olarak hücre proliferasyonuna yol açan ve inflamasyon basamaklarında rolü olduğu düşünülen proteinlerin ekspresyon analizleri yapılmıştır. CD11b, Beclin - 1, Galectin - 1 ve Caspase - 3 proteinlerinin ekspresyon düzeyleri ve ifadelenmeleri nazal polip dokularında incelenmiş ve kontrol grubu hastalarla karşılaştırılarak yorumlanmıştır.

Sonuç olarak; CD11b molekülünün ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmış ve inflamasyonda etkili bu proteinin nazal polipozis ile ilişkisi yorumlanmıştır. CD11b nin periferik dolaşımdan nazal mukozaya inflamatuvar hücre göçüne ve bu hücrelerin adezyonuna yol açtığı düşünülmüştür. Bunun dışında; Caspase - 3 ve Beclin - 1 gibi apoptotik yolda etkili olan proteinlerin ekspresyonlarının nazal polipli hastalarda istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı tespit edilmiştir. Nazal polip formasyonunda hiperproliferasyon sürecinde pro ve anti apoptoz mekanizmalarının ve bu mekanizmalardaki proteinlerin ilişkisi ortaya konulmuştur. Bunun yanısıra Galectin - 1 proteininin ekspresyonunda da istatistiksel olarak anlamlı olmasa da bir artış saptanmıştır. Bu bilgilerin ışığında nazal polipozis etiopatogenezinde kronik inflamasyonun yanı sıra hiperproliferasyona yol açan anti apoptotik süreçlerin ilgili olabileceği düşünülmüktedir.

Anahtar kelimeler: Nazal polip, CD11b, Galectin -1, Caspase - 3 , Beclin  
-1, mRNA ekspresyon

Destekleyen kurum: G.Ü.B.A.P.B. (01/2012-37)

## **7) SUMMARY**

Nasal polyposis is a chronic inflammatory disease which is accompanied with nasal polyps that is arisen from lateral nasal wall or middle meatus. It is diagnosed by history and physical examination and is supported with endoscopic evaluation and tomographic findings. It is a very important disease group because of frequency, high recurrence rate despite of medical and surgical therapy, negative effects on social and economic life.

Nasal polyposis is treated both with medical and surgical treatment ways. Although nasal polyposis is a benign disease, recurrences can be seen frequently. It is thought that etiology of this disease remains unclear and so management is not enough for success in routine clinical practice.

Nasal polyposis is a multifactorial disease when you think about the etiology of disease. Both personal and environmental factors are important in formation of nasal polyposis. There is a chronic inflammatory state and hyperproliferation of nasal mucosa and epithelium can be seen microscopically. So, nowadays a lot of research activities point on these key steps of inflammation, apoptosis and hyperproliferation of cells.

There are a lot of molecules that related to chronic inflammation and hyperproliferation of nasal mucosa, is described by current researches. In our research, we analyze some proteins and their mRNA expression levels which are

related with inflammation and apoptosis. CD11b, Beclin - 1, Galectin -1 and Caspase - 3 are examined and analyzed in nasal polyps and the results are compared with healthy mucosa of patients operated for septum deviation .

In conclusion, CD11b mRNA expression level is increased in nasal polyps than controls and this level is statistically meaningful. Caspase - 3 and Beclin - 1 mRNA expression levels are decreased in nasal polyps. This result is also statistically meaningful. It is thought that these proteins and their expression levels are related with nasal polyposis etiology. Galectin - 1 mRNA expression level is increased but this result is not statistically meaningful. We think that, nasal polyposis is formed because of chronic inflammation and hiperproliferation. Apoptotic mechanisms and immunologic inflammatory states effect the nasal polyposis formation.

Keywords: Nasal polyp, CD11b, Galectin - 1, Beclin - 1, Caspase - 3, mRNA expression

Supported by: G.U.B.A.P.B. (01/2012-37)

## 8) KAYNAKLAR

- 1) Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J, Bachert C, Alobid I, Baroody F, et al. EPOS 2012. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012. *Rhinology*. 2012 Mar; 50(1):1-12.
- 2) Benninger MS, Ferguson BJ, Hadley JA, et al. Adult chronic rhinosinusitis: definitions, diagnosis, epidemiology, and pathophysiology. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2003;129:S1-S32.
- 3) Larsen K, Tos M. The estimated incidence of symptomatic nasal polyps. *Acta Otolaryngol*. 2002; 122(2):179-182.
- 4) Raja R. Seethala, Harshita Pant. Pathology of Nasal polyps. In: T. Metin Önerci, Berrylin J. Ferguson editors. *Nasal Polyposis. Pathogenesis, Medical and Surgical Treatment*. Springer, 2010; 17-26.
- 5) Gresiner WA, Settipane GA. Hereditary factor for nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol* 1995;1 ( part 2) 205.
- 6) Bernstein JM. Update on the molecular biology of nasal polyposis. *Otolaryngol Clin North Am*. 2005;38:1243-1255.
- 7) Payne SC, Borish L, Steinke JW. Genetics and phenotyping in chronic sinusitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128(4):710-20.
- 8) Ferguson BJ. Definitions of fungal rhinosinusitis. *Otolaryngol Clin N Am*. 2000;33:227-235.
- 9) Van Drunen CM, Reinartz SM, Wigman J, Fokkens W. Inflammation in Chronic Rhinosinusitis and Nasal Polyposis. *Immunology and Allergy Clinics of North America*. 2009;29.

- 10) Settipane RA, Peters AT, Chandra R. Chapter 4: Chronic rhinosinusitis. *Am J Rhinol Allergy*. 2013;27 Suppl 1: S11-5.
- 11) Hastan D, Fokken WJ, Bachert C, Newson RB, Bislimovska J, Bockelbrink A et al. Chronic rhinosinusitis in Europe - an underestimated disease. A GA(2)LEN study. *Allergy* 2011;66(9):1216-23.
- 12) Bernstein JM, Gorfien J, Noble B, Yankaskas J. Nasal polyposis: Immunohistochemistry and bioelectric findings (a hypothesis for the development of the nasal polyps) *J Allergy Clin Immunol* 1997;2:165-75.
- 13) Brain DJ. Historical background. In: Nasal polyps: epidemiology, pathogenesis and treatment. Settipane GA, Lund VJ, Bernstein JM, Tos M (eds). Providence, RI: Oceanside Publications, 1997, S7-15.
- 14) Stevenson RS, Guthrie D. A history of otolaryngology. 1949, Living Stone, Edinburgh, pp70-71.
- 15) Lascaratos JG, Segas JV, Assimakopoulos Da. Treatment of nasal polyposis in Byzantine times. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2000;109:871-876.
- 16) Weir N. History of medicine: Otorhinolaryngology. *Postgrad Med J* 2000; 76:65-69.
- 17) Koç A, Erginoglu U, Karaaslan O. Otorhinolaryngological procedures in the fifteenth century in Anatolia. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2004;113: 414-417
- 18) Larsen PL, Tos M. Origin of nasal polyps. *Laryngoscope* 1991; 101:305-312.

- 19) Grigoreas C, Vourdas D, Petalas K et al. Nasal polyps in patients with rhinitis and asthma. *Allergy Asthma Proc* 23: 169-174.
- 20) Ryan MW. Allergic fungal rhinosinusitis. *Otolaryngologic clinics of North America*. 2011; 44(3):697-710.
- 21) Settipane GA. Epidemiology of nasal polyps. *Allergy Asthma Proc* 1996;17:231-236.
- 22) Mrowka-Kata K, Czecior E, Kata D, Namyslowski G, Dziechciarz-Werbowska J, Sowa P. Current view on nasal polyps management in Samter's triad patients. *Otolaryngol Pol.*2012;66(6):373-8.
- 23) Jiang N, Kern RC, Altman KW. Histopathological evaluation of chronic rhinosinusitis : a critical review. *Am J Rhinol Allergy*. 2013;27(5):396-402.
- 24) Stierna PL. Physiology, mucociliary clearance and neural control. In: *Diseases of the sinuses diagnosis and management*. Kennedy DW, Bolger WE, Zinreich SJ(eds). B.C. Decker Inc. 2001.
- 25) Kitapci F, Muluk NB, Atasoy p, Koc C. Role of mast and goblet cells in the pathogenesis of nasal polyps. *J Otolaryngol* 2006; 35(2): 122-32
- 26) Larsen PL, Tos M. Nasal polyps; epithelium and goblet cell density. *Laryngoscope*. 1989; 99:1274-80.
- 27) Berger G, Finkelstein Y et al. Old and new aspects of middle turbinate histopathology. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2009;140(1):48-54.

- 28) Kim JW, Hong SL, Kim YK, Lee CH, Min YG, Rhee CS. Histological and immunological features of non-eosinophilic nasal polyps. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2007; 137(6):925-30.
- 29) Jeong WJ, Lee CH, Cho SH, Rhee CS. Eosinophilic allergic polyp: a clinically oriented concept of nasal polyp. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2011;144(2):241-6.
- 30) Jurkiewicz D. Nasal Polyps. *Mag Otorynolaryngol.* 2003;11:3-9.
- 31) Kozak FK, Mahony JB, Chernesky MA, Newhouse MT, Dolovich J, Hittch DA, et al. Nasal polyposis: in search of viral etiology using DNA hybridisation. *J Otolaryngol* 1991; 20:404-407.
- 32) Brook I. The role of bacteria in chronic sinusitis. *Otolaryngol Clin N Am* 2005; 38:1171-92.
- 33) Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant organisms. *Clinical Microbiology Reviews* 2002;15:167-193.
- 34) Sanclement JA, Webster P, Thomas J, Ramadan HH. Bacterial biofilms in surgical specimens of patients with chronic sinusitis. *Laryngoscope* 2005; 115:578-582.
- 35) Luong A, Marple B. The role of fungi in chronic sinusitis. *Otolaryngol Clin N Am* 2005; 38:1203-13.
- 36) Peric A, Vojvodic D, Vukomanovic-Durdevic B, Baletic N. Eosinophilic inflammation in allergic rhinitis and nasal polyposis. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2011;62(4):341-8.

- 37) Gosepath J, Mann WJ. Role of fungus in eosinophilic sinusitis. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg. 2005; 13(1): 9-13.
- 38) Miman MC. Alerji ve nazal polipozis. Nazal Polipler. 1. Baskı. İleri F. (ed) Deomed. T.K.B.B.V. 2007, S:57-60.
- 39) Leone C, Teodoro C, Pelucchi A, Mastopasqua B, Caviglioli G, Marazzini L, Foresi A. Bronchial responsiveness and airway inflammation in patients with nonallergic rhinitis with eosinophilia syndrome. J Allergy Clin Immunol. 1997; 100(6 pt 1): 775-80.
- 40) Mullarkey MF, Hill JS, Webb DR. Allergic and nonallergic rhinitis: their characterization with attention to the meaning of nasal eosinophilia. J Allergy Clin Immunol. 1980; 65(2): 122-6.
- 41) Bernstein JM, Gorfien J, Noble B. Role of allergy in nasal polyposis. Otolaryngol Head Neck Surg. 1995; 113(6): 724-32.
- 42) Mainz JG, Koitschev A. Pathogenesis and management of nasal polyposis in cystic fibrosis. Curr Allergy Asthma Rep. 2012; 12(2): 163-74.
- 43) Chojnowska S, Minarowska A, Knas M et al. Lysosomal exoglycosidases in nasal polyps. Otolaryngol Pol. 2013; 67(4): 192-7.
- 44) Bachert C, Gevaert P, Holtappels G, van Cauwenberge P. Mediators in nasal polyposis. Curr Allergy Asthma Rep. 2002; 2(6): 481-7.
- 45) Lee JY, Lee SH, Lee HM, Lee SH, Jung HH, Lee Sw et al. Analysis of gene expression profiles of normal human mucosa and nasal polyp tissues by SAGE. J Allergy Clin Immunol. 2006; 118(1): 134-42.

- 46) Bernstein JL, Godbold JH, Raptis G, Watson MA, Levinson B, Aaronson SA et al. Identification of mammaglobin as a novel serum marker for breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2005; 1(18): 6528-35.
- 47) De Castro MC, Assuncao E, De Castro MM, Aroujo RN, Guimares RE, Nunes FB. Effect of mitomycin C in eosinophilic nasal polyposis, in vivo: concentration of IL 5 and GM-CSF, RT-PCR. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2006;72(1):38-42.
- 48) Pawankar R. Nasal polyposis: an update : editorial review. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2003;3(1):1-6.
- 49) Arcimovicz M, Balcerzak J, Samolinski BK. Nasal polyp is not a homogenous pathology. *Pol Merkur Lekarski.* 2005;19(111): 276-9.
- 50) Sanchez-Segura A, Brieva Ja, Rodriguez C. T lymphocytes that infiltrate nasal polyps have a specialized phenotype and produce a mixed TH1/TH2 pattern of cytokines. *J Allergy Clin Immunol* 1998;102 (6 pt 1):953-960.
- 51) Bachert C, Wagenmann M, Hauser U, Rudack C. IL - 5 synthesis is upregulated in human nasal polyp tissue. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:837-842.
- 52) Mullol J, Roca-Ferrer J, Xaubet A, Raserra J, Picado C. Inhibition of GM - CSF secretion by topical corticosteroids and nedocromil sodium. A comparison study using nasal polyp epithelial cells. *Respir Med* 2000; 94(5):428-31.

- 53) Hamilos DL, Leung DY, Huston DP, et al. GM - CSF, IL - 5 and RANTES immunoreactivity and mRNA expression in chronic hyperplastic sinusitis with nasal polyposis(NP). Clin Exp Allergy 1998; 28:1145-1152.
- 54) Steinke JW, Crouse CD, Bradley D. Characterization of Interleukin - 4 stimulated nasal polyp fibroblasts. Am J Respir Cell Mol Biol 2004;30: 212 - 219.
- 55) Rudack C, Stoll W, Bachert C. Cytokines in nasal polyposis, acute and chronic sinusitis. Am J Rhinol. 1998; 12(6): 383-8.
- 56) Chang CH, Chai CY, Ho KY, et al. Expression of transforming growth factor- beta 1 and alpha-smooth muscle actin of myofibroblast in the pathogenesis of nasal polyps J Med Sci 2001; 17:133-138.
- 57) Coste A, Brugel L, Maitre B, et al. Inflammatory cells as well as epithelial cells in nasal polyps express vascular endothelial growth factor. Eur Respir J 2000; 5:367-372.
- 58) Fan GK, Wang H, Takenaka H. Eosinophil infiltration and activation in nasal polyposis. Acta Oto Laryngol 2007; 127: 521-526.
- 59) Ponikau JU, Sherris DA, Kephart GM, Kern EB, Congdon DJ, Adolphson Cr, et al. Striking deposition of toxic eosinophil major basic protein in mucus: implications for chronic sinusitis. J Allergy Clin Immunol 2005; 116: 362 - 9
- 60) Schaefer D, Meyer JE, Pods R, Pethe W, Hedderich J, Schmidt C, et al. Endothelial and epithelial expression of eotaxin - 2 (CCL24) in nasal polyps. Int Arch Allergy Immunol 2006; 140(3): 205-14.

- 61) Di Lorenzo G, Drago A, Esposito Pellitteri M, et al. Measurement of inflammatory mediators of mast cells and eosinophils in native nasal lavage fluid in nasal polyposis. *Int Arch Allergy Immunol* 2001; 125: 164-175.
- 62) Liu CM, Hong CY, Shun CT, et al. Matrix metalloproteinase - 1 and tissue inhibitor of metalloproteinase - 1 gene expressions and their differential regulation by proinflammatory cytokines and prostoglandin in nasal polyp fibroblasts. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2001; 110: 1129-1136.
- 63) Van Zele T, Claeys S, Gevaert P, Van Maele G, Holtappels G, Van Cauwenberge P, et al. Differentiation of chronic sinus diseases by measurement of inflammatory mediators. *Allergy* 2006; 61(11):1280-9.
- 64) Mygind N, Dahl R, Bachert C. Nasal polyposis, eosinophil dominated inflammation, and allergy. *Thorax* 2000;55(Suppl 2): 79-83.
- 65) Petecchia L, Serpero L, Silvestri M, Sabatini F, Scarso L, Rossi GA. The histamine - induced enhanced expression of vascular cell adhesion molecule-1 by nasal polyp derived fibroblasts is inhibited by levocetirizine. *Am J Rhinol* 2006;20(5): 445-9.
- 66) Bernstein JM. The molecular biology of nasal polyposis. *Curr Allergy Asthma Rep* 2001; 1:262-267.
- 67) Van Drunen CM, Reinartz S, Wigman J, Wystke F. Inflammation in chronic rhinosinusitis and nasal polyposis. *Immunol Allergy Clin N Am* 2009;29:621-9.
- 68) Bachert C, Gevaert P, Holtappels G, Cuvulier C, van Cauwenberge P. Nasal polyposis: from cytokines to growth. *Am J Rhinol* 2000;14:279-90.

- 69) Patau J, Gevaert P, van Zele T, Holtappels G, van Cauwenberge P, Bachert C. SA enterotoxin B, protein A, lipoteichoic acid stimulations in nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121:110-15.
- 70) Conley DB, Tripathi A, Seiberling KA, Schleimer RP, Suh LA, Harris K, et al. Superantigens and chronic rhinosinusitis: skewing of T - cell receptor V $\beta$  - distributions in polyp - derived CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells. *Am J Rhinol* 20: 534-539.
- 71) Hamilos DL, Leung DY, Wood R, Bean DK, Song YL, Schotman E, et al. Eosinophil infiltration in non - allergic chronic hyperplastic sinusitis with nasal polyposis ( CHS/NP ) is associated with endothelial VCAM - 1 upregulation and expression of TNF -  $\alpha$ . *Am J Respir Cell Mol Biol* 15: 443-450.
- 72) Kowalski ML, Pawliczak R, Wozniak J, et al. Differential metabolism of arachidonic acid in nasal polyp epithelial cells cultured from aspirin - sensitive and aspirin - tolerant patients. *Am J Respir Crit Care Med* 161(2 pt 1):391-398.
- 73) Luxenberger W, Posch U, Berghold A, Hofman T, Lang-Loidolt D. HLA patterns in patients with nasal polyposis. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2000;257(3):137-9.
- 74) Watelet JB, Bachert C, Claeys C, Van Cauwenberge P. Matrix metalloproteinases MMP - 7, MMP - 9 and their tissue inhibitor TIMP - 1: expression in chronic sinusitis vs nasal polyposis. *Allergy* 2004;59:54 - 60.

- 75) Bernstein JM, Anon JB, Rontal M, Conroy J, Wang C, Sucheston L. Genetic polymorphisms in chronic hyperplastic sinusitis with nasal polyposis. *Laryngoscope* 2009; 119(7): 1258-64.
- 76) Settipane GA, Chafee FH. Nasal polyps in asthma and rhinitis: a review of 6,037 patients. *J Allergy Clin Immunol.* 1977; 59:17-21.
- 77) Welsh MJ, Tsui L, Boat TF, Beaudet AL. Cystic fibrosis. In : Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic and molecular bases of inherited disease.* New York: McGraw - Hill ;1995:3799-3876.
- 78) Stern RC, Boat TF, Wood RE, et al. Treatment and prognosis of nasal polyps in cystic fibrosis. *Am J Dis Child.* 1982; 136:1067-1070.
- 79) Rott HD. Genetics of Kartegener's syndrome. *Eur J Respir Dis.* 1983;64:1-4.
- 80) Bacciu A, Buzio C, Giordano D, Pasanisi E, Vincenti V, Mercante G, et al. Nasal polyposis in Churg - Strauss syndrome. *Laryngoscope* 2008;118(2):325-329
- 81) Friedman KJ, Teichtahl H, Dekretser DM, et al. Screening Young's syndrome patients for CFTR mutations. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;152:1353-7.
- 82) Kellerhals B, de Uthemann B. Woakes's syndrome: the problems of infantile nasal polyps. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 1979;1(1):79-85.
- 83) Richer SL, Truong - Tran AQ, Conley DB, Carter R, Vermilyen D, Grammer LC, et al. Epithelial genes in chronic rhinosinusitis with and without nasal polyps. *Am J Rhinol* 2008; 22(3): 228-34.

- 84) Rimpanitchayakit V, Tassanakajon A. Structure and function of intervertebrate Kazal-type serine proteinase inhibitors. *Dev Comp Immunol* 2010;34(4): 377-86.
- 85) Kato A, Petres A, Suh L, Carter R, Harris KE, Chandra R, et al. Evidence of a role for B - cell activating factor of the TNF family in the pathogenesis of chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121(6):1385-92.
- 86) Moisini I, Davidson A. BAFF: a local and systemic target in autoimmune diseases. *Clin Exp Immunol*. 2009; 158(2): 155-63.
- 87) Cutting GR. Genetics of rhinosinusitis. In *Diseases of the Sinuses: Diagnosis and Management*. Kennedy DW, Bolger WE, Zinreich JS (eds).2001; BC Decker; 29-34.
- 88) Solovjov DA, Pluskota E, Plow EF. Distinct roles for the alpha and beta subunits in the functions of integrin alphaMbeta2. *J Biol Chem* 2005;280(2):1336-45.
- 89) Larson RS, Springer TA. Structure and function of leukocyte integrins. *Immunol Rev*.1990;114:181-217.
- 90) Arnaut MA, Todd RF 3rd, Dana N, Melamed J, Schlossman SF, Colten HR. Inhibition of phagocytosis of complement C3 - or immunoglobulin G - coated particles and of C3bi binding by monoclonal antibodies to a monocyte - granulocyte membrane glycoprotein (Mol). *J Clin Invest*. 1983;72(1):171-9.

- 91) Hom G, Graham RR, Modrek B, Taylor KE, Ortmann W, Garnier S, et al. Association of systemic lupus erythematosus with C8orf13-BLK and ITGAM-ITGAX. *N Eng J Med*. 2008;358(9):900-9.
- 92) Isogai S, Hayashi M, Yamamoto N, Morishita M, Minezawa T, Okamura T, et al. Upregulation of CD11b on eosinophils in aspirin induced asthma. *Allergol Int*. 2013; 62(3): 367-73.
- 93) Yee NK, Hamerman JA.  $\beta(2)$  integrins inhibit TLR responses by regulating NF- $\kappa$ B pathway and p38 MAPK activation. *Eur J Immunol*. 2013; 43(3): 779-92.
- 94) Gitt MA, Barondes SH. Genomic sequence and organization of two members of a human lectin gene family. *Biochemistry*. 1991; 30(1): 82-9.
- 95) Cho M, Cummings RD. Galectin -1, a beta - galactosidase - binding lectin in Chinese hamster ovary cells. I. Physical and chemical characterization. *J Biol Chem*. 1995; 270(10): 5198-206.
- 96) Entrez Gene : LGALS1 lectin, galactosidase - binding, soluble, 1 (galectin -1).
- 97) Munoz-Suano A, Hamilton AB, Betz AG. Gimme shelter: the immune system during pregnancy. *Immunol Rev*. 2011; 241(1):20-38.
- 98) Delbrouck C, Doyen I, Belot N, Decaestecker C, Ghanooni R, de Lavareille A, et al. Galectin - 1 is overexpressed in nasal polyps under budesonide and inhibits eosinophil migration. *Lab Invest*. 2002; 82(2):147-58.
- 99) Delbrouck C, Gabius HJ, Kaltner H, Decaestecker C, Kiss R, Hassid S. Expression patterns of galectin - 1 and galectin - 3 in nasal polyps and

middle and inferior turbinates in relation to growth regulation and immunosuppression. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2003;129(6): 665-9.

100) Fernandes AM, Babeto E, Rahal P, Provazzi PJ, Hidalgo CA, Anselmo-Lima WT. Expression of genes that encode the annexin -1 and galectin -1 proteins in nasal polyposis and their modulation by glucocorticoid. Braz J Otorhinolaryngol. 2010;76(2): 213-8.

101) Takacs - Vellai K, Vellai T, Puoti A, Passannante M, Wicky C, Streit A, et al. Inactivation of the autophagy related bec- 1 triggers apoptotic cell death in C. elegans. Curr Biol. 2005; 15(16): 1513-7.

102) Zhong Y, Wang QJ, Li X, Yan Y, Backer JM, Chait BT, et al. Distinct regulation of autophagic activity by Atg14L and Rubicon associated with Beclin -1-phosphatidylinositol-3-kinase complex. Nat Cell Biol. 2009; 11(4): 468-76.

103) Wei Y, Zou Z, Becker N, Anderson M, Sumpter R, Xiao G, et al. EGFR-mediated Beclin -1 phosphorylation in autophagy suppression, tumor progression, and tumor chemoresistance. Cell. 2013; 154(6): 1269-84.

104) Merenlender-Wagner A, Malishkevich A, Shemer Z, Udawela M, Gibbons A, Scarr E, et al. Autophagy has a key role in the pathophysiology of schizophrenia. Mol Psychiatry. 2013; Dec 24.

105) Harrington HA, Ho KL, Ghosh S, Tung KC. Construction and analysis of a modular model of caspase activation in apoptosis. Theor Biol Med Model. 2008; 5:26.

- 106) Salvesen GS. Caspases :opening the boxes and interpreting the arrows. *Cell Death Differ.* 2002;9(1): 3-5.
- 107) Harrington Ha, Ho KL, Ghosh S, Tung KC. Construction and analysis of a modular model of caspase activation in apoptosis. *Theor Biol Med Model* 2008; 5(1): 26.
- 108) Porter AG, Janicke RU. Emerging roles of caspase -3 in apoptosis. *Cell Death Differ.* 1999;6(2): 99-104.
- 109) Simon DJ, Weimer RM, McLaughlin T, Kallop D, Stanger K, Yang J, et al. A caspase cascade regulating developmental axon degeneration. *J Neurosci.* 2012;32(49): 17540-53.
- 110) Agosto M, Azrin M, Singh K, Jaffe AS, Liang BT. Serum caspase - 3 p17 fragment is elevated in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: a novel observation. *J Am Coll Cardiol.* 2011;57(2): 220-1.
- 111) D'amelio M, CavallucciV, Middei S, Marchetti C, Pacioni S, Ferri A, et al. Caspase -3 triggers early synaptic dysfunction in a mouse model of Alzheimer's disease. *Nat Neurosci.*2011; 14(1): 69-76.
- 112) Brentnall M, Rodriguez-Menocal L, De Guevara RL, Cepero E, Boise LH. Caspase - 9, caspase - 3 and caspase - 7 have distinct roles during intrinsic apoptosis. *BMC Cell Biol.* 2013; 14:32.
- 113) Hirt R, Paulsen F, Neumann K, Knipping S. Immunocytochemical detection of caspase 3 in various diseases of human nasal mucosa. *HNO.*2009; 57(5): 466-72.

- 114) Cho SH, Lee SH, Kim KR, Lee HM, Lee SH, Kim TH. Expression and distributional patterns of the inhibitor of apoptosis protein family and caspase 3 in nasal polyps. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2008;134(3):316-21.,
- 115) Koç C. Nazal Polip. In Koç C (2 th Ed). Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş Boyun Cerrahisi. Ankara, Güneş Kitabevi, 2013.p 551-568.
- 116) Lund VJ, Mackay I: Staging in rhinosinusitis. Rhinology, 1993. 31:1834.
- 117) Ray NF, Baruniak JN, Thamer M, et al. Health care expenditures for sinusitis in 1996: contributions of asthma, rhinitis, and other airway disorders. J Allergy Clin Immunol 1999;103:408-14.
- 118) Naclerio RM, Pinto J, Baroody F. Evidence - based approach to medical and surgical treatment of nasal polyposis. J Allergy Clin Immunol. 2013; 132(6): 1461-1462.
- 119) Cho SH, Lee SH, Kim KR, Lee HM, Lee SH, Kim TH. Expression and distributional patterns of the inhibitor of apoptosis protein family and caspase 3 in nasal polyps. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2008; 134(3): 316-321.
- 120) Lin H, Lin D, Xiong X. Differential expression of livin, caspase - 3, and second mitochondria-derived activator of caspases in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. Otolaryngol Head Neck Surg. 2014 Sep 19.
- 121) Küpper DS, Valera FC, Malinsky R, Milanezi CM, Silva JS, Tamashiro E, et al. Expression of apoptosis mediators p53 and caspase 3, 7, and 9 in chronic rhinosinusitis with nasal polyposis. Am J Rhinol Allergy. 2014; 28(3): 187-91.

122) Cho HW, Park SK, Heo KW, Hur DY. Methotrexate induces apoptosis in nasal polyps via caspase cascades and both mitochondria - mediated and p38 mitogen-activated protein kinases/Jun N-terminal kinase pathways. *Am J Rhinol Allergy*. 2013; 27(1): 26-31.

123) Negrete - Garcia MC, Jimenez - Torres CY, Alvarado - Vasquez N, Montes - Vizuet AR, Velazquez - Rodriguez JR, Jimenez - Martinez MC, et al. Galectin - 10 is released in the nasal lavage fluid of patients with aspirin - sensitive respiratory disease. *ScientificWorldJournal*.2012; 2012: 474020.

124) Lim LH, Flower RJ, Perretti M, Das AM. Glucocorticoid receptor activation reduces CD11b and CD49d levels on murine eosinophils: characterization and functional relevance. *Am J Respir Cell Mol Biol*.2000; 22(6): 693-701.

125) Spoelstra FM, Hovenga H, Noordhoek JA, Postma DS, Kauffman HF. Changes in CD11b and L - selectin expression on eosinophils are mediated by human lung fibroblasts in vitro. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998; 158(3): 769 - 77.

126) Tenscher K, Metzner B, Schöpf E, Norgauer J, Czech W. Recombinant human eotaxin induces oxygen radical production, Ca(2+)-mobilization, actin reorganization, and CD11b upregulation in human eosinophils via a pertussis toxin-sensitive heterotrimeric guanine nucleotide-binding protein. *Blood*. 1996; 88(8): 3195-9.

- 127) Walker C, Rihs S, Braun RK, Betz S, Bruijnzeel PL. Increased expression of CD11b and functional changes in eosinophils after migration across endothelial cell monolayers. *J Immunol* 1993; 150(9): 4061-71.
- 128) Horiguchi S, Hisamatsu K, Tasaka K. CD25 T lymphocytes induce CD11b on eosinophils in allergic nasal mucosa. *Mediators Inflamm.* 1995; 4(2): 144-8.
- 129) Kinhult J, Egesten A, Benson M, Uddman R, Cardell LO. Increased expression of surface activation markers on neutrophils following migration into the nasal lumen. *Clin Exp Allergy.* 2003; 33(8): 1141-6.
- 130) Idikio HA. Galectin - 3 and Beclin 1/Atg6 genes in human cancers: using cDNA tissue panel, qRT-PCR, and logistic regression model to identify cancer cell biomarkers. *Plos One.* 2011; 6(10): e26150.

## 9) EKLER

### EK 1) ÖZGEÇMİŞ

|                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b><u>Adı</u></b>                            | : ALPER                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b><u>Soyadı</u></b>                         | : DİLCİ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b><u>Doğum Yeri ve Tarihi</u></b>           | : ADANA 03.04.1985                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b><u>Eğitimi</u></b>                        | : 1991 - 1996 Mustafa Kemal İlkokulu<br>1997 - 2003 ATO Anadolu Lisesi,<br>İngilizce Bölümü<br>2003 - 2009 Hacettepe Tıp Fakültesi,<br>İngilizce Bölümü<br>2009 - 2014 Gazi Üniversitesi Tıp<br>Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ABD., Araştırma Görevlisi                                                                          |
| <b><u>Yabancı Dili</u></b>                   | : İngilizce                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b><u>Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar</u></b> | : Türk Kulak Burun Boğaz ve Baş<br>Boyun Cerrahisi Derneği                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b><u>Bilimsel Etkinlikler</u></b>           | : 9. Uluslararası Kulak Burun Boğaz ve<br>Baş Boyun Cerrahisi Kongresi, 2010<br>7. Türk Rinoloji Kongresi, 2011<br>Observership in Head & Neck Oncology<br>& Surgery of the Netherlands Cancer Institute - Antoni van Leeuwenhoek<br>Hospital, May - July 2012<br>35. Türk Ulusal Kulak Burun Boğaz ve<br>Baş Boyun Cerrahisi Kongresi, 2013 |

### **Yayınlar**

:

- Cebeci S, Dilci A, Ceviker N, Kurt G, Bayazıt Y. Jugular foramen schwannoma - case report. Int Journ of Pediatr Otorhinolaryngol Extra. 2011; 6(4): 322-324.
- Dilci A, Karakullukcu B, Tan B. Radiation Induced Sarcoma of Hypopharynx: A case report. Turk Arch Otolaryngol. 2013; 51: 131- 4.
- Kizil Y, Aydil U, Ekinici O, Dilci A, Koybaşoğlu A, Duzlu M, Inal E. Salivary gland tumors in Turkey: demographic features and histopathological distribution of 510 patients. Indian J Otolaryngol Head Neck Surg. 2013; 65(1): 112-20.

### **Bildiriler**

:

- Ceylan A, Dilci A, Tutar H, Yılmaz M, Köybaşoğlu A. Konjenital boyun kitlelerindeki son 12 yıllık deneyimimiz 34. Türk Ulusal Kulak Burun Boğaz ve Baş boyun cerrahisi Kongresi 10-14 Ekim 2012 Antalya
- Dilci A, Eravci FC, Yılmaz M. Boyun Bölgesinin Sinovyal Sarkomu : 12 yaşında çocuk olgu sunumu. 35. Türk Ulusal Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi 2 - 6 Kasım 2013 Antalya
- Kızıl Y, Aydil U, Ekinici Ö, Dilci A, Uslu S. Leukoplakia of the true vocal folds: a clinical and pathological analysis. 10 th European Laryngological Society Meeting 9 - 12 April 2014 Antalya
- Dilci A, Ceylan A, Yılmaz M, Uslu S, İleri F. Eksternal Frontal Sinüs Cerrahi Müdahaleleri - Klinik Yaklaşımlarımız 10. Türk Rinoloji Kongresi 22 - 25 Mayıs 2014 Antalya
- Dilci A, Ceylan A, Kızıl Y, Yılmaz M, Uslu S, İleri F. Endoskopik Beyin Omurilik Sıvısı - Rinore Onarımı - Klinik Deneyimlerimiz 10. Türk Rinoloji Kongresi 22 - 25 Mayıs 2014 Antalya

## EK 2) ETİK KURUL ONAY BELGESİ



### GAZİ ÜNİVERSİTESİ (GİRİŞİMSSEL OLMAYAN) KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

#### DEĞERLENDİRME FORMU

|                             |                                                                       |
|-----------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| DEĞERLENDİRME KURULUNUN ADI | Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu                     |
| AÇIK ADRES                  | Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası 06500 Beşevler/Ankara |
| TELEFON                     | 0312 202 69 58                                                        |
| FAKS                        | 0312 202 46 73                                                        |
| E-POSTA                     | tipetikkurul@gazi.edu.tr                                              |

|                   |                                       |                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                            |  |
|-------------------|---------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| BAŞVURU BİLGİLERİ | ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI                 | Nazal Polip Dokusunda İnflamatuvar ve Apoptotik Sinyal Yoluğında Etkili Genlerin Transkriptomik ve Protein Düzeylerindeki İfadeleme Profilleri |                                                                                                                                                                                                            |  |
|                   | SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI | Prof.Dr.Sabri USLU                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                            |  |
|                   | UZMANLIK TEZİ/KADEMİK AMAÇLI          | UZMANLIK TEZİ <input checked="" type="checkbox"/>                                                                                              | KADEMİK AMAÇLI <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                    |  |
|                   |                                       | DİĞER <input type="checkbox"/>                                                                                                                 | Uzmanlık Tezi                                                                                                                                                                                              |  |
|                   | İLAC DIŞI ARAŞTIRMA                   | <input type="checkbox"/>                                                                                                                       | <input type="checkbox"/> İLAC DIŞI GİRİŞİMSSEL<br><input checked="" type="checkbox"/> İLAC DIŞI GİRİŞİMSSEL OLMAYAN<br>4-Rutin takip ve tedavi sırasında elde edilmiş materyallerle yapılacak araştırmalar |  |

| DEĞERLENDİRİLEN BELGELER       | Belge Adı               | Tarihi                              | Versiyon No | Dili                                                                                                         |
|--------------------------------|-------------------------|-------------------------------------|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                | ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ     |                                     |             | Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |
|                                | BİL. GÖNÜLLÜ OLUR FORMU |                                     |             | Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |
| DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER | Belge Adı               |                                     |             | Açıklama                                                                                                     |
|                                | ARAŞTIRMA BÜTÇESİ       | <input checked="" type="checkbox"/> |             |                                                                                                              |
|                                | SİGORTA                 | <input type="checkbox"/>            |             |                                                                                                              |

|                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                             |
|-----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| KARAR BİLGİLERİ | Karar No: 024                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Toplantı tarihi: 18.01.2012 |
|                 | <p>Üniversitemiz Tıp Fakültesinde Prof.Dr.Sabri Uslu'nun sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıdaki künyede kayıtlı başvuru bilgileri verilen, Uzmanlık Tezi olan klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup araştırmanın gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına ve "bütçesi dışında uygun olduğuna G.Ü.T.F. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir.</p> <p>Etik Kurulun kararı, projenin bütçesi BAP tarafından kabul edildiği takdirde yürürlüğe girecek olup, BAP kararının Kurulumuza bildirilmesi gerekmektedir.</p> |                             |

| ETİK KURUL BİLGİLERİ            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                  |          |                                                                  |                                                                  |      |
|---------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|----------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------|
| ÇALIŞMA ESASI                   | Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesinin son versiyonu, İyi Klinik Uygulamaları (Uluslararası ICH-GCP kılavuzu ve bununla ilgili 2001/20/EC ve 2005/28/EC sayılı Avrupa Birliği direktifleri, Biyoloji ve Tıbbi uygulamaları bakımından İnsan Hakları ve İnsan Haysiyetinin korunması sözleşmesi ve İnsan Hakları ve Biyotıp Sözleşmesinin onaylanmasının uygun bulunduğu dair kanun (9.12.2003 tarihli 25311 sayılı Resmi Gazete), 2547 sayılı Yükseköğretim Kanunu (06.11.1981 tarihli 17506 sayılı Resmi Gazete), Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu |                                  |          |                                                                  |                                                                  |      |
|                                 | ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI: Prof.Dr.Canan ULUOĞLU                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                  |          |                                                                  |                                                                  |      |
| Unvanı/Adı/Soyadı               | Uzmanlık Alanı                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Kurumu                           | Cinsiyet | İlişki *                                                         | Katılım **                                                       | İmza |
| Prof.Dr.Canan ULUOĞLU<br>BAŞKAN | Tıbbi Farmakoloji                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | G.Ü.T.F<br>Tıbbi Farmakoloji A.D | K        | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |

| Araştırmalar Hakkında Yönetmelik . İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu |                                         |                                                    |          |                            |                                       |                                       |                                       |           |
|---------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------------------------|----------|----------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-----------|
| ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI: Prof.Dr.Canan ULUOĞLU         |                                         |                                                    |          |                            |                                       |                                       |                                       |           |
| Unvanı/Adı/Soyadı                                                   | Uzmanlık Alanı                          | Kurumu                                             | Cinsiyet | İlişki *                   |                                       | Katılım **                            |                                       | İmza      |
| Prof.Dr.Canan ULUOĞLU<br>BAŞKAN                                     | Tıbbi Farmakoloji                       | G.Ü.T.F<br>Tıbbi Farmakoloji A.D                   | K        | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/>            |           |
| Doç.Dr.Arzu BAKIRTAŞ<br>BAŞKAN YRD.                                 | Çocuk Sağ.ve Hast.<br>Çocuk Allerji     | Çocuk Sağlığı ve<br>Hastalıkları A.D               | K        | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/>            |           |
| Prof.Dr.Gonca AKBULUT<br>RAPORTÖR                                   | Fizyoloji                               | G.Ü.T.F<br>Fizyoloji A.D.                          | K        | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/>            |           |
| Prof.Dr.Fusun BOZKIRLI<br>ÜYE                                       | Anesteziyoloji ve<br>Reanimasyon        | G.Ü.T.F<br>Anest.ve Rea. A.D                       | K        | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/>            |           |
| Prof.Dr.Emin TÜRKÖZ<br>ÜYE                                          | Restoratif Diş<br>Tedavisi ve Endodonti | G.Ü.T.F<br>Restoratif Diş Ted. ve<br>Endodonti A.D | E        | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/>            |           |
| Prof.Dr.Seyhan ERSAN<br>ÜYE                                         | Farmasötik Kimya                        | G.Ü.E.F. (Ecz. Mes.Bil.)<br>Farmasötik Kimya A.D.  | K        | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/>            |           |
| Prof.Dr.Sefer AYCAN<br>ÜYE                                          | Halk Sağlığı                            | G.Ü.T.F<br>Halk Sağlığı A.D                        | E        | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/>            |           |
| Prof.Dr.Mustafa KAVUTÇU<br>ÜYE                                      | Tıbbi Biyokimya                         | G.Ü.T.F<br>Tıbbi Biyokimya A.D                     | E        | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/>            |           |
| Prof.Dr.Öznur L.BOYUNAGA<br>ÜYE                                     | Radyoloji                               | G.Ü.T.F<br>Radyoloji A.D                           | K        | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/>            |           |
| Prof.Dr.Galip GÜZ<br>ÜYE                                            | İç Hastalıkları<br>Erşkin Nefroloji     | G.Ü.T.F<br>İç Hastalıkları A.D.                    | E        | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/>            | H <input checked="" type="checkbox"/> | Katılmadı |
| Prof.Dr.Aylar POYRAZ<br>ÜYE                                         | Tıbbi Patoloji                          | G.Ü.T.F<br>Tıbbi Patoloji A.D                      | K        | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/>            |           |
| Prof.Dr.Metin YILMAZ<br>ÜYE                                         | Kulak-Burun-Boğaz<br>Hast.              | Kulak-Burun-Boğaz<br>Hast. A.D                     | E        | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/>            |           |
| Prof.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU<br>ÜYE                                     | Tıp Etiği ve Tıp Tarihi                 | G.Ü.T.F<br>Tıp Etiği ve Tıp<br>Tarihi A.D          | K        | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/>            |           |
| Doç.Dr.Birol DEMİREL<br>ÜYE                                         | Adli Tıp                                | G.Ü.T.F<br>Adli Tıp A.D.                           | E        | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/>            |           |
| Huk.Müş.Adem GELİR<br>ÜYE                                           | Hukuk Müşavirliği                       | Rektörlük<br>Hukuk Müşavirliği                     | E        | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/>            |           |
| Emine ŞEKER<br>ÜYE                                                  | Sivil Temsilci                          | Sivil Temsilci                                     | K        | E <input type="checkbox"/> | H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> | H <input type="checkbox"/>            |           |

\* :Araştırma ile İlişki  
\*\* :Toplantıda Bulunma