T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI

NAZAL POLİPOZİSTE ORMDL3 (Orosomucoid like 3) GEN EKSPRESYON DÜZEYLERİNİN VE GENETİK POLİMORFİZMLERİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. AYÇA AYDIN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. YUSUF KIZIL

ANKARA
NİSAN 2019

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI

NAZAL POLİPOZİSTE ORMDL3 (Orosomucoid like 3) GEN EKSPRESYON DÜZEYLERİNİN VE GENETİK POLİMORFİZMLERİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. AYÇA AYDIN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. YUSUF KIZIL

ANKARA
NİSAN 2019

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimime büyük katkıları olan değerli hocalarım Prof. Dr. Necmettin Akyıldız'a, Prof. Dr. Nebil Göksu'ya, Prof. Dr. İsmet Bayramoğlu'na, Prof. Dr. Yusuf Kemaloğlu'na, Prof. Dr. Kemal Uygur'a, Prof. Dr. Sabri Uslu'ya, Prof. Dr. Metin Yılmaz'a, Prof. Dr. Alper Ceylan'a, Prof. Dr. Mehmet Birol Uğur'a, Doç. Dr. Utku Aydil'e, Doç. Dr. Ayşe İriz'e, Doç. Dr. Hakan Tutar'a, Doç. Dr. Mehmet Düzlü'ye, Dr. Öğr. Üyesi Recep Karamert'e ve Öğr. Gör. Dr. Süleyman Cebeci'ye teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimimde ve bu tezi oluşturmamda büyük katkısı olan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Yusuf Kızıl'a teşekkürlerimi sunarım. Tezimin moleküler biyolojik yöntemleri konusunda çok büyük yardımı olan Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'ndan Sayın Prof. Dr. Mehmet Ali Ergün'e, immünhistokimyasal çalışma kısmında beni yönlendiren ve çok emek sarf eden Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'ndan Sayın Prof. Dr. İpek Işık Gönül'e ve Dr. Aysu Sadioğlu'na teşekkür ederim. Tezimin istatistik analiz kısmında bana çok yardımcı olan Halk Sağlığı Anabilim Dalı'ndan Dr. Emine Arslan'a ve Dr. Kadir Koç'a teşekkür ederim. Tezimi hazırlama sürecinde her zaman fikirlerine başvurduğum Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'ndan araştırma görevlisi İlker Kılıççıoğlu'na ayrıca şükranlarımı sunarım.

Eğitimim süresince beraber mesai harcadığımız Dr. Furkan Karaloğlu, Dr. Faruk Kadri Bakkal, Dr. Alper Dilci, Dr. Vildan Baştürk Tutar, Dr. Mustafa Çolak, Dr. Muammer Melih Şahin, Dr. Aynur Valiyeva, Dr. Fakih Cihat Eravcı, Dr. Mehmet Ekrem Zorlu, Dr. Nagihan Gülhan, Dr. Agâh Yeniçeri, Dr. Merve Yıldız, Dr. Eray Uzunoğlu, Dr. Burak Hazır, Dr. İbrahim Kuyumcu, Dr. Gökçen Cesur, Dr. Mücahit Yalçın, Dr. Mehmet Mahsum Tekin, Dr. İbtisam Mohammad'a, tüm KBB hemşire ve personeline ve Odyoloji Bölümü'ne çok teşekkür ederim.

Beş yıllık asistanlığım boyunca bana her zaman destek olan, kendilerinden çok şey öğrendiğim sevgili eş kıdemlilerim ve dostlarım Dr. Alper Türkcan ve Dr. Mehmet Göcek'e teşekkür ederim.

Son olarak; beni yetiştiren, bu günlere gelmemde çok büyük pay sahibi olan, her zaman yanımda olan annem ve babama teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR ..... İ
İÇİNDEKİLER ..... İİ
KISALTMALAR ..... İV
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... Vİİ
TABLOLAR DİZİNİ ..... Vİİİ
GRAFİKLER DİZİNİ X
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 4
2.1. Rinosinüzitler 4
2.1.1. Tanım ve sınıflandırma 4
2.1.2. Rinosinüzit Patogenezi 5
2.2. Nazal Polipozis 6
2.2.1. Tanım ve Tarihçe 6
2.2.2. Epidemiyoloji 8
2.2.3. Anatomik Köken 10
2.2.4. Histopatoloji 10
2.2.5.Etyopatogenez 13
2.2.6. Nazal polipozis ve genetik 16
2.2.7. Nazal Polipoziste İnflamasyon 18
2.2.8. Tanı ve evreleme 28
2.2.9. Nazal Polipozis ve Astım 30
2.3. ORMDL3 (Orosomucoid like 3) geni ve Astım 32
3. GEREÇ VE YÖNTEM 35
3.1. Kullanılan cihazlar 37
3.2. Kullanılan sarf malzemeler 37
3.3. Kullanılan Kimyasallar 38
3.4. Yöntemler 38
3.4.1. Dokudan DNA İzolasyonu 38
3.4.2. Real Time PCR ile genotipleme 39
3.4.3. Melting analiz grafikleri 41

3.4.4. Dokudan RNA izolasyonu 57
3.4.5. DNAaz 1 uygulaması 58
3.4.6. Real-Time PCR reaksiyonu 59
3.4.7. Sonuçların değerlendirilmesi 61
3.4.8. İmmünhistokimyasal çalışma 63
3.5. İstatiksel Analiz Yöntemleri 64
4. BULGULAR 65
4.1. Tek Gen Nükleotid Polimorfizmlerinin Analizi 68
4.2. Gen İfade Düzeylerinin Kantitatif Olarak Değerlendirilmesi 77
4.3. ORMDL3 proteinin ifadelenme düzeyi 86
5. TARTIŞMA 98
6. ÖZET 115
7. SUMMARY 118
8. KAYNAKLAR 121
9. EKLER 131
10.ÖZGEÇMİŞ 135

KISALTMALAR

EPOS:	European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps
ARS:	Akut rinosinüzit
KRS:	Kronik rinosinüzit
NP:	Nazal polipozis
AR:	Alerjik rinit
NSAİİ:	Nonsteroid antiinflamatuar ilaç
HLA:	Human leukocyte antigen
NALT:	Nasal associated lymphoid tissue
NK:	Natural killer hücre
AFRS:	Alerjik fungal rinosinüzit
S.aureus:	Staphylococcus aureus
Th:	T helper lenfosit
SNP:	Single nucleotid gene polymorphism
DNA:	Deoksiribonükleik asit
IL:	İnterlökin
TNF:	Tümör nekrozis faktör
AOAH:	Acyloxyacyl Hydrolase
TEF:	Tirotrop embriyonik faktör
MHC:	Majör histokompatibilite kompleksi
COX:	Siklooksijenaz
LO:	Lipooksijenaz
PG:	Prostaglandin
LT:	Lökotrien
CFTR:	Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator
Cl:	Klor
cAMP:	Siklik adenozin monofosfat
DSG:	Desmoglein
SPINK5:	Serine protease inhibitor Kazal-type 5
LEKTI:	Lympho-epithelial Kazal-type-related inhibitor
OSM:	Onkostatin M
PRR:	Pattern recognition receptor

PAR:	Protease activated receptor
TLR:	Toll like receptor
mRNA:	Messenger RNA
PLUNC:	Palate, lung, and nasal epithelium clone protein
STAT3:	Signal transducer and activator of transcription 3
VCAM:	Vasküler hücre adezyon molekülü
GM-CSF:	Granülosit-monosit koloni stimüle edici faktör
RANTES:	Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted
TSLP:	Timik stromal lenfopoetin
BAFF:	B hücre aktive edici faktör
EPO:	Eozinofil peroksidaz
MBP:	Majör bazik protein
ECP:	Eozinofilik katyonik protein
EDN:	Eozinofil kökenli nörotoksin
MMP:	Matriks metalloproteinaz
TIMP-1:	Doku metalloproteinaz inhibitör 1
Treg:	T regülatuar lenfosit
TGF-ß:	Transforming growth faktör beta
Ig:	İmmünglobulin
ECM:	Ekstraselüler matriks
VEGF:	Vasküler endotelyal growth faktör
OPN:	Osteopontin
POSTN:	Periostin
TXA2:	Tromboksan A2
PNS BT:	Paranazal sinüs bilgisayarlı tomografi
MRG:	Manyetik rezonans görüntüleme
ORMDL3:	Orosomucoid like 3
GWAS:	Genome wide association study
SPT:	Serin palmitoil koA transferaz
ATF6:	Activating transcription factor 6
µl:	mikrolitre
rpm:	revolutions per minute
PCR:	Polimeraz zincir reaksiyonu

cDNA:	kompleman DNA
Cq:	cycle quantification
ESC:	Endoskopik sinüs cerrahisi
IHK:	İmmünhistokimya

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. ORMDL'nin serin palmitoil transferaz aracılığıyla sfingolipid sentezi üzerine etkisi (122)..... 34
Şekil 2. Nazal polip, H&E ile boyalı kesitler..... 95
Şekil 3. Nazal polip, anti ORMDL3 antikoru ile boyalı kesitler. 95
Şekil 4. Nazal polip, anti ORMDL3 ile boyanmış kesitler. 96
Şekil 5. Nazal polipozisli olguya ait alt konka mukozası 97
Şekil 6. Kontrol grubundan bir olguya ait konka mukozası..... 97

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Meltzer ve ark. tarafından önerilen endoskopik evreleme sistemi tablosu.. 29
Tablo 2. Lund Mackay radyolojik evreleme sistemi..... 30
Tablo 3. Real Time PCR ve Melting Analiz Programı 41
Tablo 4. PCR programı 61
Tablo 5. Çalışmaya dahil edilen hastaların tanımlayıcı özelliklerinin dağılımı,..... 65
Tablo 6. Hasta ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyet dağılımları..... 66
Tablo 7. Nazal polipozisli hasta grubunda yer alan olguların tanımlayıcı özellikleri 67
Tablo 8. Hasta ve kontrol grubunda RS8076131 lokasyonuna ait genotip dağılımı ve allel sıklıkları..... 69
Tablo 9. Hasta ve kontrol grubunda RS4065275 lokasyonuna ait genotip dağılımı ve allel sıklıkları..... 69
Tablo 10. Hasta ve kontrol grubunda RS12603332 lokasyonuna ait genotip dağılımı ve allel sıklıkları..... 70
Tablo 11.Hasta ve kontrol grubunda RS17608925 lokasyonuna ait genotip dağılımı ve allel sıklıkları..... 70
Tablo 12. Hasta ve kontrol grubunda RS3169572 lokasyonuna ait genotip dağılımı ve allel sıklıkları..... 71
Tablo 13. RS8076131 lokasyonunda genotip karşılaştırması..... 72
Tablo 14. RS4065275 lokasyonunda genotip karşılaştırması..... 72
Tablo 15. RS12603332 lokasyonunda genotip karşılaştırması..... 75
Tablo 16. RS3169572 lokasyonunda genotip karşılaştırması..... 76
Tablo 17. RS17608925 lokasyonunda genotip karşılaştırması (1=Timin, 2=Sitozin) 76
Tablo 18. Hasta grubundan alınan polip ve alt konka örneklerinde B-Aktin ve ORMDL3 Cq değerleri 79
Tablo 19. Kontrol grubundan alınan alt konka örneklerinde B-Aktin ve ORMDL3 Cq değerleri..... 80
Tablo 20. Nazal polipozisli hasta grubundan alınan polip (POLİP) ve konka örneklerinde (NORMAL) ORMDL3 ekspresyon düzeyinin karşılaştırılması..... 82

Tablo 21. Nazal polipozisli hasta grubundan alınan polip (POLİP) ve sağlıklı kişilerden alınan konka örneklerinde (KONTROL) ORMDL3 ekspresyon düzeyinin karşılaştırılması 83
Tablo 22. Nazal polipozisli hasta grubundan alınan konka örnekleri (NORMAL) ve sağlıklı kişilerden alınan alt konka örneklerinde (KONTROL) ORMDL3 ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması 84
Tablo 23. Astımı olmayan nazal polipozisli hastaların polip örnekleri (NP POLİP) ile nazal polipozis ve astımın birlikte görüldüğü hastalardan (NP+ASTIM POLİP) alınan polip örneklerinin ORMDL3 ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması 85
Tablo 24. Polip örnekleri ve kontrol grubundan alınan konka örneklerinin IHKsal parametreler açısından karşılaştırılması 88
Tablo 25. NP'li hasta grubundan alınan konka örnekleri ile kontrol grubundan alınan konka örneklerinin IHKsal parametreler açısından karşılaştırılması 88
Tablo 26. Polip örnekleri ile aynı gruptan alınan konka örneklerinin IHKsal parametreler açısından karşılaştırılması 89
Tablo 27. Polip örnekleri ile kontrol grubundan alınan konka örneklerinin epitelyal boyanma açısından karşılaştırılması 90
Tablo 28. Polip örnekleri ve aynı gruptan alınan konka örneklerinin epitelyal boyanma durumları 91
Tablo 29. Polip örneklerinin astım varlığına göre IHKsal parametreler açısından karşılaştırılması 92
Tablo 30. Polip örneklerinin astım varlığına göre epitelyal boyanma açısından karşılaştırılması 92
Tablo 31. Polip örneklerinde epitelyal boyanma ile mRNA ekspresyonu arasındaki korelasyon analizi..... 93
Tablo 32. Polip örneklerinde mRNA ekspresyonu ile IHKsal parametrelerin karşılaştırılması 93

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. POLİP, RS8076131 bölgesinde AG genotipi. 43
Grafik 2. POLİP, RS8076131 bölgesinde GG genotipi. 44
Grafik 3. POLİP, RS8076131 bölgesinde AA genotipi. 46
Grafik 4. KONTROL, RS4065275 bölgesinde AA genotipi. 47
Grafik 5. KONTROL, RS4065275 bölgesinde GG genotipi. 48
Grafik 6. KONTROL, RS4065275 bölgesinde GG genotipi. 50
Grafik 7. POLİP, RS12603332 bölgesinde TT genotipi. 51
Grafik 8. POLİP, RS12603332 bölgesinde CT genotipi. 52
Grafik 9. KONTROL, RS12603332 bölgesinde CC genotipi 53
Grafik 10. POLİP, RS17608925 bölgesinde TT genotipi. 54
Grafik 11. POLİP, RS17608925 bölgesinde CT genotipi. 55
Grafik 12. KONTROL, RS3169572 bölgesinde CT genotipi 56
Grafik 13. Polip dokusunda ve aynı gruptan alınan konka örneğinde B- Aktin ve ORMDL3 mRNA amplifikasyon eğrileri 62
Grafik 14. Kontrol dokusunda B-Aktin ve ORMDL3 mRNA ekspresyonuna ait amplifikasyon eğrileri 62
Grafik 15. Hasta grubundan alınan polip dokusu örneğinde ve alt konka örneğinde B- AKTİN ve ORMDL3 mRNA amplifikasyon eğrileri 78
Grafik 16. Kontrol grubundan alınan konka örneğinde B- AKTİN ve ORMDL3 mRNA amplifikasyon eğrileri 78

1. GİRİŞ

Rinosinüzitler, burun ve paranazal sinüs mukozasının inflamasyonu ile karakterize bir hastalık grubudur. Semptomların 12 haftadan kısa sürüp kliniğin düzeldiği durumlar akut rinosinüzit (ARS) olarak değerlendirilirken; semptomların 12 haftadan uzun sürdüğü durumlar ise kronik rinosinüzit (KRS) olarak tanımlanmaktadır. Kronik rinosinüzit belirti ve klinik bulgularının yanı sıra endoskopik muayenede nazal poliplerin varlığının gösterilmesi ile hastalık, polipli KRS veya nazal polipozis (NP) adını almaktadır (1).

Nazal polipozis, nazal kavite ve paranazal sinüs mukozasının kronik inflamasyonu sonucunda gelişen benign mukozal çıkıntılarla karakterize bir hastalıktır. Nazal polipler çoğunlukla lateral nazal duvardan, özellikle orta meatus ve ön etmoid hücrelerden kaynaklanmaktadır (16). Prevalans çalışmalarına göre toplumdaki nazal polip prevalansı %1-4 arasında değişmektedir (14). Nazal polipozis; sık görülen, günümüzde hem medikal hem cerrahi yöntemlerle tedavi edilmeye çalışılan ve tedavisi sırasında güçlüklerle karşılaşılan, sıklıkla nükslerin görüldüğü ve sosyal yaşamı etkileyen bir hastalıktır. Nazal polipozis gelişimi, ilişkili hastalıklar ve tedavi seçenekleri ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Ancak günümüzde nazal polip etyopatogenezi hala net olarak aydınlatılabilmiş değildir.

Nazal polipozis multifaktöriyel bir hastalıktır, hastaya ve çevreye ait faktörler hastalığın ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Nazal mukozada inflamasyona ve ödem gelişmesine neden olan çevresel etkenlerin başında enfeksiyöz nedenler (bakteriler, mantarlar, biyofilmler ve süperantijenler) gelmektedir. Ancak enfeksiyöz etkenlerin NP'de primer antijenik uyaran olduğu görüşü büyük ölçüde terk edilmiştir, dolayısıyla bu etkenlerin kesin etiyolojik ajan olmaktan ziyade hastalık şekillendirici

olarak rol oynadıkları düşünülmektedir (1). Çevresel faktörlerin yanı sıra genetik unsurların nazal polipozis etiyolojisinde rol aldığı pek çok çalışmada gösterilmiştir. Birçok genetik ilişki çalışmasında, belirli HLA (insan lökosit antijeni) allelleri ve NP arasında anlamlı ilişki bulunmuştur (55-57). Bunun dışında, nazal polipozisle ilişkilendirilen tek gen polimorfizmleri ve ekspresyonunun arttığı gösterilen pek çok gen mevcuttur (49-51). Samter triadı, kistik fibrozis, Churg-Strauss sendromu, Young sendromu, primer siliyer diskinezi ve Woakes sendromu nazal polipozis ile ilişkilendirilen genetik temelli sendromlardır. Bunların yanı sıra nazal polipozisin astımla ilişkisi ilgi çekicidir. Nazal polipozis ve bronşiyal astımın, havayolu mukozasındaki aynı kronik inflamatuar hastalığın sonuçları olarak karşımıza çıktığı giderek daha fazla kabul edilen bir görüştür. Nazal ve bronşiyal mukoza pek çok açıdan benzerlik gösterir. Astımda ortaya çıkan inflamatuar hücrelerin, mediatörlerin ve fizyopatolojik mekanizmaların benzerleri rinitlerde ve nazal polipoziste de görülmekte, bu da "tek havayolu tek hastalık" tezini güçlendirmektedir.

Günümüzde NP ile ilgili yapılan çalışmalarda etyopatogenezi araştırmak amacıyla genetik ve moleküler düzeyde çalışmalara yoğunlaşılmaktadır. Tedavide ise belirtilere değil, nedene yönelik tedavi yaklaşımı gündeme gelmiştir.

Bu çalışmada, nazal polipozisin genetik temeli ve astımla ilişkisi göz önünde bulundurularak, astımla ilişkisi insan genom çalışmaları ve in vivo hayvan çalışmaları ile kanıtlanmış, sfingolipid homeostazından sorumlu endoplazmik retikulum proteini olan ORMDL3 (orosomucoid like 3)'ün nazal polipozisteki olası rolü ortaya konmaya çalışılmıştır (120). ORMDL3 geni, 17q21 lokusunda yerleşimlidir (121). Yapılan genom çapında ilişki çalışmaları (GWAS: genome wide association study) sonucunda astım, alerjik rinit, romatoid artrit, tip 1 diabetes mellitus, ankilozan spondilit, ülseratif kolit, Crohn hastalığı, primer biliyer siroz,

gliom gibi pek çok patoloji ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur (122). Bunun yanı sıra; bu gende tanımlanmış bazı polimorfizmlerin astımla ilişkili olduğu, astımlı hastalarda ve hayvan modellerinde ORMDL3 düzeylerinin yüksek olduğu gösterilmiştir (123).

Astım gelişiminde rolü kanıtlanan bu genin nazal polipoziste incelenmesi ile NP etyopatogenezindeki olası rolünün ve astımla ilişkisinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Bu amaçla bu çalışmada; nazal polipoziste ORMDL3 genindeki tek gen nükleotid polimorfizmleri, genin mRNA ve protein düzeyindeki ekspresyonları incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Rinosinüzitler

2.1.1. Tanım ve sınıflandırma

Rinosinüzitler, burun ve paranazal sinüs mukozasının inflamasyonu ile karakterize bir hastalık grubudur. Rinosinüzit olguları; burun tıkanıklığı, burun akıntısı, postnazal akıntı, yüz ağrısı, yüzde basınç hissi ve koku almada azalma veya kayıp belirtileri ile başvurmaktadır.

Sonuncusu 2012'de yayınlanan Rinosinüzit ve Nazal Polipler üzerine Avrupa Durum Raporu'nda (EPOS 2012) rinosinüzit tanı kriterleri belirlenmiştir. Buna göre rinosinüzit tanısı için; en az biri burun tıkanıklığı veya burun akıntısı (anterior veya posterior nazal akıntı) olmak üzere, yüz ağrısı, yüzde basınç hissi ve koku almada azalma veya kayıp belirtilerinden iki veya daha fazlası olmalıdır. Bunun yanı sıra inflamasyon, endoskopik muayene bulguları ve görüntüleme bulguları ile gösterilmelidir. Endoskopik muayenede nazal poliplerin izlenmesi, başlıca orta meatustan kaynaklanan mukopürülan akıntı görülmesi, başlıca orta meatusta ödem ve mukozal obstrüksiyon tespit edilmesi rinosinüzit tanısını desteklemektedir. Bilgisayarlı tomografide ise, ostiomeatal kompleks ve/veya sinüslerde mukozal değişikliklerin görülmesi gerekmektedir. Çocuklarda rinosinüzit tanı kriterleri arasında hipozmi ve anozminin yerine öksürük yer almaktadır.

Rinosinüzitler, belirti süresinin uzunluğuna göre akut ve kronik rinosinüzit olmak üzere iki gruba ayrılır. Belirtilerin 12 haftadan kısa sürmesi halinde hastalık akut rinosinüzit olarak adlandırılır. Akut rinosinüzit (ARS), viral ARS ve postviral ARS'den oluşur. Akut viral rinosinüzitte belirtiler 10 günden kısa sürer.

Semptomların 5. günden sonra şiddetlenmesi veya 10 günden uzun sürmesi halinde klinik, akut postviral rinosinüzit olarak tanımlanır. Rengi değişmiş burun akıntısı, şiddetli lokal ağrı, ateş, yüksek C-reaktif protein (CRP) veya sedimentasyon hızı ve "çifte hastalanma" bulgularından en az üç tanesinin olması akut bakteriyel rinosinüziti düşündürmelidir. Belirtilerin 12 haftadan uzun sürmesi halinde hastalık kronik rinosinüzit (KRS) olarak tanımlanır. KRS, polipli ve polipsiz olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Polipli kronik rinosinüzit tanısı koyabilmek için, KRS tanı kriterlerinin yanı sıra endoskopik muayenede nazal poliplerin varlığı gösterilmelidir.

Rinosinüzit, toplumda yaygın görülmesi, hayat kalitesini bozması ve yüksek mali yük getirmesi nedeniyle önemli bir sağlık problemidir. KRS görülme prevalansı ve insidansını araştıran epidemiyolojik çalışmalar yetersizdir. Hastalığın tanısal belirsizliği ve heterojen yapısı nedeniyle KRS prevalansını belirlemek zordur. Anket yoluyla yapılan epidemiyolojik çalışmalara göre KRS toplumun %5-15'ini etkilemektedir. Ancak hekimlerin tanı koyduğu rinosinüzit prevalansı %2-4'tür. KRS'nin kadınlarda görülme sıklığı daha fazladır (1).

2.1.2. Rinosinüzit Patogenezi

Paranazal sinüslerin normal fizyolojisi için, ostiumların açık, mukosiliyer klirensin ve sekresyonların normal olması gerekmektedir. Bu üç faktörden birinin bozulması, normal sinüs fizyolojisinin bozulmasına, ostiumların tıkanarak sekresyonların birikmesine ve inflamasyonun ortaya çıkmasına neden olur (2). Anatomik olarak rinosinüzit patogenezinde önemli rol oynayan yer ostiomeatal kompleks adı verilen bölgedir. Üstte kafa tabanı, lateralde burun lateral duvarı, medialde ise orta konka arasında yer alan bu bölgeye maksiller sinüs, ön etmoid

hücreler ve frontal sinüs drene olur. Her sinüsteki mukosiliyer transport ostiumlara doğrudur. Bu transport, sekresyonları nazal kaviteye ve nazofarenkse iletir. Sinüs ostiumunun tıkanması ile bakterilerin üremesi için uygun çevre oluşur, sinüs içerisinde negatif basınç oluşur. Buna karşılık immün sistem enfeksiyona cevap oluşturur. İnflamatuar yolaklar aktive olur, konjesyon artar. Sinüs içerisinde asidik pH ve anaerob ortam oluşur. Bunun sonucunda mukozal hasar ortaya çıkar, silya fonksiyonu bozulur ve mukosiliyer klirensteki bozulma inflamasyonu daha da arttırır. Sonuç olarak siliyer disfonksiyon, sekresyon birikimi, mukoza hipertrofisi, ödem ve kronik hastalık ortaya çıkar.

2.2. Nazal Polipozis

2.2.1. Tanım ve Tarihçe

Nazal polipozis, nazal kavite ve paranazal sinüs mukozasının kronik inflamasyonu sonucunda gelişen benign mukozal çıkıntılarla karakterize bir hastalıktır. Polip kelimesi eski Yunanca'dan köken almaktadır ve çok ayaklı anlamına (poly: çok ve pous: ayak) gelmektedir (3).

Nazal poliplerle ilgili ilk kayıtlar yaklaşık 4000 yıl öncesine, eski Mısır dönemine kadar uzanmaktadır (4). M.Ö. 1000 yılında polipleri eksize etmek için küretlerin kullanıldığı bilinmektedir (5). Eski Yunan'da Hipokrat (MÖ 460-370) gördüğü nazal kitleleri polip olarak adlandırmıştır, medikal tedaviyi ve polipektomi tekniklerini ayrıntılı olarak tanımlamıştır. Nazal polipleri sünger yardımıyla nazal kaviteden orofarenkse doğru çekmeyi, halka yardımıyla polipleri eksize etmeyi ve sıcak demirle polipleri koterize etmeyi tarif etmiştir. Sünger yardımıyla poliplerin

eksizyonu 1880'li yıllara kadar kullanılmıştır (6). Romalı hekimler olan Claudius Galen, Paulus Aeginata ve Fabricius Hildanus'un da nazal polipleri kendi geliştirdikleri medikal ve cerrahi yöntemlerle tedavi etmeye çalıştıkları bilinmektedir (7). Rönesans dönemine kadar Batıda nazal polipozis tedavisi için kullanılan tekniklerde büyük değişiklikler olmamıştır. İbn-i Sina (MS 980-1037), bugün kullandığımız aletlere çok benzer aletler ile polipleri eksize etmiş ve kızgın demirler ile koterize etmiştir. Ayrıca hastaların tedavisinde kokular ve yapraklar kullanmıştır. Arap cerrahlardan Ebu Kasım (MS 1013-1106) da koter kullanmış ve çengelle polipi öne çekip makasla kökünden kesmeye çalışmıştır (5). Türk tıp literatüründe nazal polip ilk defa Türk cerrahı Şerafettin Sabuncuoğlu'nun (MS 1385-1468) Cerrahiyyetül-Haniyye (İmparatorluk Cerrahisi) isimli kitabında yer bulmuştur. 1465 yılında yazılan kitapta nazal polip tanımlanmıştır, cerrahi işlemleri gösteren minyatürler de bulunmaktadır. (8) Polipleri eksize etmek için kullanılan forseps, 1600'lü yılların ortasında Fabricius tarafından tarif edilmiştir. 18.yüzyılda John Van Horne ve Benjamin Bell, forsepsleri geliştirerek cerrahi olarak daha kullanışlı hale gelmelerini sağlamışlardır (6). 18. ve 19. yüzyılda, endoskopların nazal cerrahide kullanılmaya başlamasından önce nazal poliplerin tedavisinde daha geniş rezeksiyonların yapıldığı Caldwell- Luc antrostomi, intranazal etmoidektomi, eksternal frontoetmoidektomi gibi teknikler kullanılmıştır. Ancak bu yöntemlerde, paranazal sinüs anatomisi önemli ölçüde değişmekte, mukoza soyulmakta ve cerrahi mirengi noktaları yok olmaktadır (9). Nazal polibin histolojik tanımı ilk kez Billroth tarafından yapılmıştır. 1882'de Zuckerkandl tarafından poliplerin inflamatuar yapıda olduğu ileri sürülmüştür (10). 20. yüzyılın başında Hirschmann ilk defa sistoskopları kullanarak nazal endoskopi yapmıştır. Ancak, endoskopların sinonazal cerrahide popülerleşmesi ve günümüzde kullandığımız modern endoskopik sinüs cerrahisi

tekniğinin geliştirilmesi 1960'lı yıllarda Messerklinger tarafından gerçekleştirilmiştir (11). Steroidlerin keşfi ile medikal tedavi anlayışı değişmiştir. Nazal polipozis tedavisinde sistemik ve topikal steroidler 1970'li yıllardan beri kullanılmaktadır (12, 13).

2.2.2. Epidemiyoloji

Nazal polipozisle ilgili epidemiyolojik çalışmalar nazal endoskopi sonuçlarına ve anket çalışmalarına dayanmaktadır. Anket formları ile yapılan prevalans çalışmalarına göre toplumdaki nazal polip prevalansı %1-4 arasında değişmektedir (14). Endoskopik muayene ile yapılan prevalans çalışmaları ise daha güvenilir sonuçlar vermektedir. NP'si olduğu iddia edilen hastaların tümünde polip olmadığının anlaşılmasını sağlaması bakımından nazal endoskopi, NP prevalans tahmininin doğru şekilde yapılabilmesi için bir ön koşuldur. Johansson ve arkadaşlarının nazal endoskopi ile yaptığı çalışmada nazal polip prevalansı %2,7 olarak bulunmuştur (15). Kadavra çalışmalarında ise nazal polip prevalansının çok daha yüksek olduğu görülmüştür. Endoskopik diseksiyon yapılan bir kadavra çalışmasında bu oranın %42'ye ulaştığı bildirilmiştir (16). Erkeklerde kadınlara göre daha fazla görülmektedir (17). Nazal polip görülme insidansı yaşla birlikte artar. Ortalama ortaya çıkış yaşı 42'dir (18). 20 yaşın altında ise nadiren görülür (19). Çocuklarda nazal polip prevalansı (%0,1) oldukça düşüktür (20). Ancak prevalans, siliyer disfonksiyonu olan çocuklarda %5'e, aspirin intoleransı olanlarda %10'a ve kistik fibrozisi olanlarda %20-25'e çıkar (21).

Alerjik rinit (AR) hastalarının %0,5 ila 4,5'inde nazal polipozis mevcuttur (20, 22, 23). Bu sonuca göre toplumdaki NP prevalansı ile AR hastalarındaki

prevalans arasında fark bulunmamıştır. Nazal polipli hastalarda alerji prevalansı ise %10-64 arasında bildirilmiştir (24, 25). Literatürde NP'li hastalarda atopinin daha yaygın olduğunu belirten çalışmaların yanı sıra, atopinin genel popülasyonla aynı oranda görüldüğünü iddia eden çalışmalar da mevcuttur (1).

Nazal polipozis ve astım arasında güçlü bir ilişki mevcuttur. Nazal polipozis ve bronşiyal astımın havayolu mukozasının aynı kronik inflamatuar hastalığın üst ve alt havayolundaki sonuçları olarak karşımıza çıktığı giderek daha fazla kabul gören bir görüştür. Settipane, astımlı hastalarda nazal polip görülme prevalansını %6,7 olarak bildirmiştir. Ancak, nazal polipozis prevalansının alerjik olmayan astımlı hastalarda alerjik astımlı hastalara göre daha yüksek olduğunu göstermiştir (20). Grigoreas ve arkadaşlarının kronik rinit ve astımlı hastalarda nazal polipleri inceledikleri çalışmanın sonuçları benzerdir, nazal polipozis görülme prevalansı alerjik olmayan astımlı hastalarda alerjik gruba göre daha yüksektir (26). Astım ve NP'li hastaların %69'unda önce astım ortaya çıkmaktadır. Hastaların %10'unda astım ve NP eş zamanlı olarak tanı alırken, geri kalan hastalarda öncelikle NP ortaya çıkmaktadır (27). Astımlı hastalarda NP ortaya çıkması 9 ila 13 yıl sonra gerçekleşmektedir. Aspirin duyarlılığı olan astımda ise bu süre sadece 2 yıldır (28). NP, erkeklerde kadınlara göre 2 kat fazla görülmesine karşın, nazal polipozisli kadınlar astıma 1,6 kat daha yatkındır (17).

Nazal polipozis aspirin ve nonsteroid antiinflamatuar ilaç (NSAİİ) duyarlılığı olan hastalarda görülebilir. Aspirin duyarlılığı, NP ve astımın birlikte görüldüğü klinik Samter triadı olarak tanımlanmaktadır. Aspirin duyarlılığı olan hastaların %36-96'sında polipli kronik rinosinüzit mevcuttur (17, 19). Bu hastalarda astım ve NP sıklıkla atopik değildir ve prevalans 40 yaşın üstünde artar (1). Astım ve aspirin duyarlılığı birlikte görülen hastalarda HLA A1/B8 insidansı daha yüksektir (29).

2.2.3. Anatomik Köken

Nazal polipler çoğunlukla ostiomeatal bölgede yer alan unsinat proses, etmoid bulla, orta konka, frontal reses, etmoid infundibulum, retrobullar ve suprabullar resesten kaynaklanmaktadır. Nazal polipler bu anatomik yapıların potansiyel boşluklara, orta meatusa ve nazal kaviteye bakan yüzeylerinden köken alır (16, 30, 31). Alerji, astım ve NSAİİ duyarlılığı eşlik eden nazal polipozis hastalarında ise nazal poliplerin orta konka medial yüzünden, septumdan, üst meatus ve üst konkadan, olfaktör fossadan, sfenoetmoid resesten ve alt konkadan köken alabileceği gösterilmiştir (31, 32). Polipler nadiren sinüslerin içerisinden köken alır. Mukosiliyer fonksiyonun bozulduğu kistik fibrozis ve siliyer diskinezi gibi hastalıklarda poliplerin sinüs içerisinden de köken alabileceği gösterilmiştir (31, 32).

2.2.4. Histopatoloji

Nazal kavite, vestibül ve olfaktör bölge hariç ektodermden köken alan solunum yolu mukozası ile örtülüdür. Solunum yolu epiteli yalancı çok katlı silyalı hücrelerden oluşur. Bu hücreler arasında yer yer yassı ve küboid epitel metaplazisi gösteren alanlar ve goblet hücreleri bulunur. Mukoza, goblet hücrelerinin ürettiği mukus ile kaplıdır. Nazal kavitenin çatısı, nazal septumun superioru, üst konka ve orta konkanın superomedial kısmı ise olfaktör mukoza ile örtülüdür. Olfaktör mukozada çok katlı yassı epitel hücrelerinin yanı sıra koku duyusunun reseptörleri olan bipolar olfaktör hücreler mevcuttur. Submukozada damarlar, sinirler, serömüköz bezler, myeloid ve lenfoid hücreler mevcuttur. Paranazal sinüs mukozası nazal kavite mukozasından farklılık gösterir, epitel dokusunda daha az silya ve daha az goblet hücresi mevcuttur. Submukozada serömüköz bez sayısı daha azdır. Sinonazal

mukozada lenfoid hücreler, epitel tabakası ve lamina propriada yerleşimli tek tek lenfositler ve lamina propriada kapsülsüz kümeler oluşturan NALT (nasal associated lymphoid tissue) olmak üzere iki şekilde bulunur. NALT çok organize olmamakla birlikte yoğunluğu inflamasyonla birlikte artmaktadır. Lenfoid hücreler; T lenfosit, B lenfosit, plazma hücreleri, natural killer (NK) hücrelerden oluşurken, myeloid hücreler monosit, makrofaj, dendritik hücreler, granülositler ve mast hücrelerinden oluşmaktadır. Bu hücreler birlikte mukozanın doğal ve kazanılmış immün yanıtında rol oynamaktadır.

Polipler makroskopik olarak yumuşak, hareketli, düzgün ve parlak yüzeyli, pembe veya gri-mavi şeffaf renkli oluşumlardır. Çoğunlukla kaynaklandıkları mukozaya bir sap ile bağlıdırlar. Poliplerin boyutu değişkendir, genellikle bilateral ve çok sayıdadırlar. İleri nazal polipozis olgularında bütün nazal kaviteyi doldurabilirler. Boyut ve sayılarının artmasıyla kemikte yeniden şekillenmeye, nazal dorsumda genişlemeye ve deformiteye neden olabilirler.

Nazal polipoziste, epitel hücrelerinde, submukozada, inflamatuar hücrelerde ve hatta bazen alttaki kemik dokuda dahi histolojik değişiklikler olmaktadır. Histolojik olarak polipler solunum epiteli ile döşeli, altta bazal membranı olan, ödemli ve inflamatuar hücrelerden zengin bir stromaya sahip değişken kalınlıktaki dokulardır. Poliplerde en sık aralarında goblet hücreleri bulunan yalancı çok katlı silyalı epitel görülür. Daha az oranlarda kübik veya silindirik, çok katlı nonkeratinize yassı epitel görülebilir. Epitel içinde goblet hücre sayısı artmıştır ancak goblet hücrelerinin polip içinde ve polipler arasındaki sayısı çok değişkendir. Hücresel infiltrat nötrofiller, lenfositler, plazma hücreleri, makrofajlar, eozinofiller ve mast hücrelerinden oluşmaktadır. Eozinofiller en çok görülen inflamatuar hücrelerdir. Polip sıvılarındaki yüksek histamin seviyelerinden sorumlu olan mast hücre

degranülasyonunun, nazal poliplerin oluşumuna katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Ayrıca dolaşımdaki bazofiller dokulara geçerek mast hücrelerine dönüşmektedirler.

Nazal polipler histolojik olarak baskın inflamatuar hücre tipine ve stroma özelliklerine göre sınıflandırılmaktadırlar. Bu sınıflandırma, altta yatan patolojiden bağımsız olarak yapılmıştır. Nazal polipozis, histolojik özelliklerine göre eozinofilik ödematöz tip (%86), kronik inflamatuar veya fibrotik tip (<%10), serömüsinöz glandüler tip (<%5) ve atipik stromal tip (<%1) olmak üzere dört ana grupta incelenebilir.

Ödematöz ve eozinofilik polipler en çok karşılaşılan poliplerdir. Ödemli stroma, goblet hücre hiperplazisi, stromada eozinofiller, mast hücreleri ve kalınlaşmış bazal membran ile karakterizedirler. Nazal poliplerle ilişkili hastalıklar olan alerjik fungal rinosinüzit, Samter triadı, kistik fibrozis ve Churg Strauss sendromunda eozinofilik polipler izlenmektedir. Kistik fibroziste görülen nazal poliplerde ise daha ince bazal membran, stromada daha az eozinofil ve daha çok nötrofil izlenmektedir. Bu nedenle bu polipler nötrofilik polipler olarak adlandırılmaktadır. Ayrıca kistik fibroziste karakteristik olarak yoğun kıvamlı eozinofilik müsin mevcuttur. Kronik inflamatuar polipler fibroinflamatuar polip olarak da adlandırılır, nazal poliplerin %10'dan azını oluşturmaktadır. Karakteristik histolojik özellikleri, stromada fibrozis ve lenfositten zengin inflamasyon bulunmasıdır. Stromal ödem ve goblet hücre hiperplazisi mevcut değildir. Diğer poliplere benzer şekilde submukozada serömüköz bezler mevcuttur, bu özellik fibroinflamatuar polipleri gerçek mezenkimal lezyonlardan ayırır. Kronik inflamasyonun bir göstergesi olarak yüzey epiteli yer yer yassı epitel metaplazisi gösterebilir. Serömüsinöz glandüler tip polipler tüm poliplerin %5'inden azını oluşturur. Ödemli stromada serömüköz glandların hiperplazisi ile karakterizedir. Bu

görünüm, poliplerin benign glandüler neoplaziler ile karıştırılmasına neden olabilir (33). Çok nadir olan stromal atipili polip, kolaylıkla neoplazi ile karıştırılabilir. Makroskopik olarak diğer poliplere benzer. Histolojik olarak stromal hücrelerin anormal görünümü ve atipisi ile karakterizedir. Hücreler hiperkromatik ve irregüler görünümdedir. Mitozun bulunmaması, bu polip tipini neoplazmdan ayıran en belirgin özelliktir (34).

2.2.5. Etyopatogenez

Nazal polip etiyolojisi multifaktöriyeldir. Nazal polip oluşumu ile ilgili birçok teori ortaya atılmıştır, ancak bu teorilerin hiçbiri kesinlik kazanmış değildir. Polip oluşumu ile ilgili çok sayıda teori mukoza ödemi üzerine kurulmuştur (19). Etiyoloji ne olursa olsun nazal poliplerin ilk görünümü mukozada ödemin oluşması ve mukozanın kalınlaşmasıdır, mukozal ödeme neden olan patoloji devam ederse ödem polipleşir. Çeşitli nedenlerle oluşan ödem, nazal polip gelişiminde anahtar bölge olan ostiomeatal kompleksi daraltır, bu bölgenin tıkanmasına, sekresyon stazına ve endotel birleşim yerlerinden sıvı kaçışına neden olur. Enfeksiyon, alerji, aspirin duyarlılığı, astım, kistik fibrozis, silya fonksiyonunun bozulduğu Kartagener sendromu gibi kalıtsal ve metabolik hastalıklar polip oluşumunda rol oynayabilir (35).

Nazal polipozis etyopatogenezinde enfeksiyonların rolü pek çok çalışma ile incelenmiştir. Nazal polip oluşumuna virüslerin katkısının olabileceği düşünülerek Adenovirüs, Epstein Barr virüs, Herpes simpleks ve Human papilloma virüs ile çalışmalar yapılmıştır. Ancak bu çalışmaların sonucunda NP'de viral etiyoloji kanıtlanamamıştır (10).

Mantarların sinonazal mukozada eozinofilik inflamasyonu başlatan temel neden olduğu hipotezi ortaya atılmıştır. Ponikau ve arkadaşları tarafından ortaya atılan "*mantar hipotezine*" göre, Alternaria ve diğer mantar türlerine maruziyet ve bu mantar tiplerinin kolonizasyonu bütün KRS tiplerindeki patolojik süreci başlatan faktördür (36, 37). Ancak daha sonra mantarların AFRS'deki (alerjik fungal rinosinüzit) gibi etyopatogenezde majör bir role sahip olmadıkları anlaşılmıştır. Mantarların KRS'de primer antijenik uyaran olduğu görüşü büyük ölçüde terk edilmiştir, ancak KRS'nin bazı tiplerinde hastalık şekillendirici olarak rol oynadıkları düşünülmektedir (1).

Staphylococcus aureus, Batı ülkelerindeki KRS hastalarında tespit edilen en yaygın bakteriyel patojendir. S.aureus'un ve salgıladığı enterotoksinin polipli kronik sinüzit patogenezindeki rolünü gösteren pek çok çalışma mevcuttur. Stafilokokların ürettikleri enterotoksinler direkt T hücre proliferasyonuna neden olmaktadır ve bunlara bu nedenle "süperantijen" adı verilmektedir. Süperantijenlerin Th1 (T helper 1 lenfosit) yanıtını baskılayıp immün cevabı Th2 (T helper 2 lenfosit) yönüne kaydırdığı ve bu sayede eozinofilik inflamasyon ile sonuçlanacak olan inflamatuar yanıtı tetiklediği tespit edilmiştir (38). Bundan yola çıkılarak süperantijenlerin NP gelişiminde rolü olabileceği düşünülmüş ve "*Stafilokokal Süperantijen Teorisi*" gündeme gelmiştir. Polipli KRS'de yapılan kültür çalışmaları, intraselüler S.aureus'un gösterilmesi, nazal polip dokusunda enterotoksinin ve bu süperantijene spesifik IgE'lerin gösterilmesi bu teoriyi desteklemiştir (39-41). Stafilokokal süperantijenlerin NP'deki inflamasyonu arttırdığı ve yönlendirdiği görülmektedir, ancak doğrudan etiyolojik rolü konusunda bir kanıt yoktur. Süperantijen etkileri NP'li KRS hastalarının sadece yarısında gösterilebilmiştir. Bu nedenle stafilokokal

süperantijenler kesin etiyolojik ajan olmaktan çok, genellikle hastalık şekillendirici olarak görülürler (42).

Biyofilmler, koruyucu bir ekstraselüler matriks içine gömülü bakteri topluluklarından oluşan oldukça organize yapılardır. Biyofilmler bakteriyi konakçı savunmasından ve antibiyotiklerden korumaktadır. Serbest bakterilerin biyofilmlerden periyodik salınımının KRS'de tekrarlayan alevlenmelere neden olduğu düşünülmektedir (43). Biyofilmler hem NP'siz KRS hem de NP'li KRS hastalarında bulunur, dolayısıyla biyofilmlerin her iki KRS türünde de patogenezde etkili olduğu fikri ortaya atılmıştır. Biyofilm gösterilen olgularda nazal polipozisin daha kötü seyirli olduğunu ve tedavi sonrası nükslerin daha fazla görüldüğünü bildiren yayınlar mevcuttur. Fakat biyofilmlerin KRS'nin ve nazal polipozisin ortaya çıkmasında herhangi bir rolü olup olmadığı hakkında henüz yeterli bilgi bulunmamaktadır (44).

Polip dokusunda aşırı miktarda ekstraselüler sıvı toplanması, mast hücre degranülasyonu, eozinofil ağırlıklı inflamatuar hücre infiltrasyonu ve yüksek IgE (immünglobulin E) seviyesi nedeniyle alerjinin nazal polip etiyolojisinde önemli bir faktör olduğu düşünülmüştür (10). Nazal polipli hastalarda alerji prevalansı %10-64 arasında bildirilmiştir. Ancak, alerjik hastalarda nazal polip insidansı %5'ten azdır. Bu da normal popülasyona göre atopik hastalarda nazal polip gelişme riskinin daha fazla olmadığını göstermektedir. Nazal poliplerin genellikle alerjik olmayan kişilerde görülmesi, nazal polipozisi olan hastaların alerji testlerinin normal popülasyona göre farklılık göstermemesi alerjinin polip etiyolojisinde önemli bir rolü olmadığını düşündürmektedir (45).

2.2.6. Nazal polipozis ve genetik

Nazal polipozisin aynı ailenin bireylerinde sıkça görülmesi herediter ya da ortak çevresel faktörlerin varlığını düşündürmüştür. Alexiou ve arkadaşları yaptıkları çalışmada NP'li hastaların %13,3'ünde, Greisner ve arkadaşları hastaların %14'ünde, Rugina ve arkadaşları ise hastaların %52'sinde aile öyküsünün pozitif olduğunu bildirmiştir (46, 47). Bu sonuçlar NP'li KRS'nin patofizyolojisinde kalıtımsal bir faktörün varlığını şiddetle desteklemektedir. Bununla birlikte, tek yumurta ikizlerinde yapılan çalışmalar iki kardeşte her zaman polip gelişmediğini göstermiştir. Bu da çevresel faktörlerin de nazal polip oluşumunda etkili olduğuna işaret etmektedir (48). Nazal polipozis etyopatogenezinde proinflamatuar ve antiinflamatuar genler ve bu genlerin ekspresyonları arasındaki dengenin olduğu bilinmektedir. Bu dengeyi etkileyen en önemli faktör genetik nedenlerdir. Özellikle tek gen nükleotid polimorfizmleri hastalığın şiddetini etkilemektedir. Polimorfizm, bir popülasyonda % 1'den daha fazla sıklıkta görülen genetik farklılıklardır. Polimorfizmler, hastalık nedeni değildir, ancak hastalığa yatkınlık nedeni olabilirler. İnsan genomunda en çok bulunan polimorfizm tipi, tek gen nükleotid polimorfizmleridir (single nucleotid gene polymorphism: SNP). SNP, DNA sekansında tek bir nükleotidin (adenin, timin, guanin ve sitozin) farklı olmasıdır. Bugüne kadar farklı çalışmalarda NP'li KRS ile ilişkili üç SNP gösterilmiştir ve bu genler IL-1α (İnterlökin 1 alfa) , TNF (Tümör nekrozis faktör) ve AOAH (Acyloxyacyl Hydrolase)'dir (49-51). Bu üç gendeki polimorfizmler dışında nazal polipozisle başka polimorfizmler de ilişkilendirilmiştir, ancak farklı çalışmalarla teyit edilmemiştir. 2007 yılında Türk popülasyonunda yapılan bir çalışmanın sonucunda IL-1α, IL-1β ve TEF (tirotrop embriyonik faktör) NP'li KRS ile ilişkilendirilmiştir

(52). TNF-α, IL-4 ve IL-33 genlerindeki SNP'lerin nazal polipozisle ilişkisi gösterilmiştir (50, 53, 54).

Birçok genetik ilişki çalışmasında, belirli HLA (insan lökosit antijeni) allelleri ve NP arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. HLA-A74, HLA-DR7-DQA1*0201, HLA-DR7¬DQB1*0202 ve HLA-DQA1*0201-DQB1*0201 haplotipi taşıyan bireylerde nazal polip gelişme olasılığının daha fazla olduğu gösterilmiştir (55-57).

Samter triadı, kistik fibrozis, Churg-Strauss sendromu, Young sendromu, primer siliyer diskinezi ve Woakes sendromu nazal polipozis ile ilişkilendirilen genetik temelli sendromlardır. Samter triadı; nazal polipozis, astım ve aspirin intoleransı ile karakterizedir. Patogenezinde araşidonik asit metabolizmasındaki siklooksijenaz-1 (COX-1) enziminin inhibe olması suçlanmaktadır. Sonuç olarak; antiinflamatuar PGE2 azalmakta, lökotrienler artarak tüm mukozalarda inflamasyon ortaya çıkmaktadır. Bu triadın temelinde bu metabolizmanın bozulmasına yol açan bir genetik etken olduğu düşünülmektedir (58). Kistik fibrozis, otozomal resesif olarak aktarılan ve 7. kromozomda bulunan CFTR (Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) proteinini kodlayan gendeki mutasyon sonucunda görülen kalıtımsal bir hastalıktır. Bu mutasyon sonucunda cAMP kontrollü Cl (klor) kanalında işlev bozukluğu oluşur. Bu bozukluk sonucunda salgı bezleri ve solunum epitelinde işlevsel bozukluklar ortaya çıkmaktadır. Artmış mukus viskozitesi sonucu mukosiliyer aktivite bozulmakta ve kronik sinüzit gelişmektedir. Bu hastalıkta nazal polip görülme sıklığı %6-43'tür. Kistik fibrozis hastalarında gözlenen nazal polip dokularında inflamatuar hücre infiltrasyonu yanında belirgin bir visköz müsin ve ince bir bazal membran ile karşılaşılmaktadır. Nötrofilik inflamasyon baskındır (59). İmmotil silya sendromu (Kartagener sendromu) otozomal resesif geçiş

göstermektedir. Mikrotübüler yapıda dynein kolundaki işlev bozukluğuna sekonder olarak solunum epitelinde siliyer fonksiyon bozukluğu gelişmektedir. Nazal polipozis bu sendromda sıklıkla görülmekte ve tedaviye rağmen nüks etmektedir (60). Churg Strauss sendromu, atopi, astım ve eozinofili ile seyreden bir sistemik nekrotizan vaskülittir. Hastaların yaklaşık %34'ünde nazal polipozis görülmektedir. Polip dokusu incelendiğinde; dev hücrelerin toplandığı granülomlar, yoğun fibrinoid değişiklikler ve eozinofilik eksuda şeklinde histolojik değişiklikler görülmektedir (61). Young sendromu, bronşektazi, azospermi ve nazal polip ile karakterizedir. Siliyer yapılar normaldir, mukus viskozitesinde artış söz konusudur (62). Woakes sendromu otozomal resesif kalıtım göstermektedir, özellikle genç hastalarda görülen nazal polipozis, nekrotizan etmoidit ve burun kökünde genişleme ile karakterizedir (63).

2.2.7. Nazal Polipoziste İnflamasyon

Sinonazal mukoza, sürekli olarak irritanlar, alerjenler ve patojen mikroorganizmalara maruz kalır. Normalde alerjenlerin ve irritan maddelerin epitel bariyerini aşıp eozinofil, mast hücreleri, makrofaj ve lenfositlerle temasa geçmesi zordur. Epitel, yabancı antijenler için savunmayı sağlayan ilk bariyeri oluşturur, bu fiziksel bariyer fonksiyonunu hücreler arasındaki sıkı bağlantılar yoluyla gerçekleştirmektedir. Astım gibi kronik alt solunum yolu hastalıklarında havayolu epitelinin fiziksel bariyer fonksiyonunun bozulduğu kanıtlanmıştır (64). Nazal polip oluşumunu açıklayan teorilerden biri olan *epitelyal rüptür teorisine* göre, polip oluşumunda ilk basamak epitel hücrelerinde hasar gelişmesi ve sonuçta geçirgenliğin artmasıdır (65). Polipli KRS'de sinonazal epitelde bariyer defektlerinin olduğu ve bu

defektlerin epitel hücreleri arasında yerleşimli sıkı bağlantı proteinlerinin ekspresyonunun azalmasına ve protenlerin yanlış yerleşmesine neden olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak bu değişiklikler epitelyal geçirgenliği arttırmaktadır. Polipli KRS'de, desmozomal proteinler olan DSG2 (Desmoglein 2) ve DSG3 (Desmoglein 3), sıkı bağlantı proteinleri olan claudin ve occludin seviyelerinde ve SPINK5 geni tarafından kodlanan epitelyal protein LEKTI ekspresyonunda belirgin bir düşüş bildirilmiştir (66-68). Polipli KRS'de hâkim olan IL-4 ve IL-13 gibi tip 2 sitokinlerin de sıkı bağlantı proteinlerinin ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (69). Proinflamatuar bir sitokin olan Onkostatin M (OSM)'nin sıkı bağlantıları bozduğu ve geçirgenliği arttırdığı saptanmıştır (70). Sonuç olarak; astımda olduğu gibi bariyer fonksiyonundaki bozulmanın, submukozaya yabancı antijenlerin geçişine neden olarak inflamatuar yanıtı tetiklediği veya arttırdığı, böylece polipli KRS patogenezinde önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir.

Havayolu epitelinin diğer bir savunma mekanizması ise mukosiliyer klirenstir. Yabancı maddeler mukus örtüsünde tutulur, sinüslerden ve nazal boşluktan nazofarenkse doğru gönderilir. Bu mekanizmanın polipli KRS'de bozulduğu gösterilmiştir. Mukusun fazla üretilmesi, mukus içeriğinin değişmesi, çeşitli elektrolitlerin hücre içine alımı ve lümene atılmasının bozulmasıyla mukus örtüsünün sol ve jel fazlarının değişmesi, silya fonksiyonunun bozulması antijen ve debrislerin yeterince temizlenememesine neden olur. Bu da antijenlerin havayolunda birikmesine ve inflamasyonun tetiklenmesine neden olur. Çeşitli elektrolitlerin taşınmasıyla görevli pendrin, periostin ve PLUNC ailesinde yer alan proteinlerin polipli KRS'de ekspresyonlarının azaldığı kanıtlanmıştır (71). Klor taşınmasını düzenleyen CFTR geninde heterozigot mutasyonu olan, kistik fibrozis olmayan olgularda da polipli KRS gelişme olasılığının daha yüksek olduğu gösterilmiştir (72).

Sinonazal epitel hücreleri, fiziksel bariyer olarak görev yapmalarının yanı sıra doğal immün yanıtta aktif rol oynamaktadır. Epitel hücreleri, üzerlerindeki reseptörler (PRR: pattern recognition receptor) aracılığıyla patojenleri tanır ve PRR'ler ile yaptıkları bu tanıma işlemi, nötrofilleri aktive eden doğal koruyucu ajanların yanı sıra kemokinlerin ve sitokinlerin de salınımına sebep olur. PRR reseptörleri arasındaki en önemli grup olan Toll like reseptörlerin (TLR) ekspresyon bozukluklarının polipli KRS'de rolü olduğu düşünülmüştür. NP'li KRS'de mukozal TLR2 ve TLR9 mRNA ekspresyonlarının azalması bu hipotezi desteklemektedir (73, 74). Sinonazal epitel hücreleri enzimler (lizozim, kitinaz, peroksidaz), opsoninler (kompleman ve pentraksin-3), geçirgen proteinler (A defensinler, B defensinler ve LL-37 gibi katelisidinler), kolektinler (sürfaktan protein A, sürfaktan protein D ve mannoz bağlı lektin) ve bağlayıcı proteinler (laktoferrin ve müsinler) gibi birçok sınıfta çok büyük miktarlarda antimikrobiyal savunma molekülü sentezler (1). Bu moleküller, patojeni direkt öldürerek veya inflamasyonu aktive ederek savunmaya katkıda bulunurlar. Antimikrobiyal moleküllerin ekspresyonunda azalma, patojenlere karşı savunma gücünü azaltır ve lümende mikroorganizmaların birikmesine neden olur. Polipli KRS hastaların nazal lavajlarında ve polip dokularında bu moleküllerden S100A7 ve PLUNC ailesi proteinlerinin ekspresyonlarında azalma gösterilmiştir. Antimikrobiyal peptidlerin üretimindeki azalma nazal polipoziste submukozal bezlerin azalmasıyla, tip 2 sitokinlerin artışıyla ve STAT3 yolağındaki defektlerle ilişkilendirilmiştir (75, 76).

Epitel hücresi nazal polip oluşumunda inflamatuar olayları yöneten temel hücredir. Epitel hücreleri, tipik olarak PRR ve PAR (protease activated receptor) uyarılmalarına karşılık çeşitli inflamatuar sitokinler üretir. Mukozal irritasyonun oluşmasından sonra başlayan inflamatuar yanıtla histamin, trombin, oksidanlar,

lökotrienler, eotaksin, RANTES gibi kemoatraktanlar, IL-6 ve IL-8 gibi sitokinler, TNF-α ve IL-1β gibi proinflamatuar sitokinler salarak inflamasyonu başlatır. TNF-α ve IL-1β özellikle damar endotelini uyarır, adezyon moleküllerinin (VCAM-1:vasküler hücre adezyon molekülü-1) ve inflamatuar mediatörlerin salınmasına neden olur. Epitel hücrelerinden salınan sitokinlerin çoğu ağrı, şişlik, vazodilatasyon, vasküler geçirgenlik artışı ve diğer inflamatuar belirtilere neden olmanın dışında, eozinofiller, mast hücreleri, nötrofiller, dendritik hücreler ve lenfositler gibi çeşitli lökositleri çeken kemokin özelliklere sahiptir. Bu sitokinlerin, dendritik hücrelerin yönlenmesinde ve T hücrelerinin antijenlere verdiği yanıtın şekillendirilmesinde anahtar rol üstlendiği düşünülmektedir (77).

Epitel hücrelerinde yükselmiş GM-CSF (granülosit-monosit koloni stimüle edici faktör), eotaksinler ve RANTES seviyeleri eozinofillerin NP'li KRS'de toplanmasına ve sağ kalımının devamlılığına neden olmaktadır. Eotaksin 1 (CCL11), eotaksin 2 (CCL24) ve eotaksin 3 (CCL26), dokuya eozinofil göçünden sorumlu temel kemokinlerdir ve bu sitokinlerin NP'de arttığı gösterilmiştir (78). Nazal polip dokusunda yer alan fibroblastlarda ve epitel hücrelerinde Eotaksin 1 ekspresyonunun IL-4, IL-13 ve TNF-α tarafından arttırıldığı gösterilmiştir, bu da tip 2 inflamasyonun eozinofil göçü üzerindeki pozitif feedback etkisini göstermektedir (79, 80). Epitel hücrelerinden salınan üç önemli sitokinin inflamasyonu tip 2 yönüne kaydırdığı gösterilmiştir. Bu sitokinler IL-25, IL-33, TSLP (Timik stromal lenfopoetin)'dir (77). Bu sitokinlerin T hücre farklılaşmasında önemli bir rol üstlendikleri gösterilmiştir. Epitel hücreleri tarafından salınan IL-6 ve BAFF (B cell activating factor)'ın B hücre proliferasyonunda ve farklılaşmasında rolü olduğu ortaya konmuştur (81).

Sonuç olarak bu bilgiler ışığında, epitel hücrelerinin hem doğal immün yanıtı oluşturmada, hem de adaptif immün yanıtı şekillendirmede önemli bir rol üstlendikleri görülmektedir. Epitel hücreleri polip oluşumunda hasarın ilk oluştuğu hücre olması, endotel ve eozinofillerle ilişkisi sonucu inflamatuar olayları tetiklemesi ve şekillendirmesi nedeniyle önemlidir.

Nazal polipoziste epitel hücre proliferasyonunun yanı sıra skuamöz metaplazi, submukozal gland hiperplazisi ve inflamatuar hücre sayısında artış görülmektedir. Ödem ve inflamasyonda eozinofiller, bazofiller, mast hücreleri, nötrofiller, dendritik hücreler, monositler ve makrofajlar görev almaktadır. Dendritik hücreler ve makrofajlar, antijenlerin yakalanması, antijenlerin immatür T hücrelerine sunulması ve inflamatuar mediatörlerin salgılanması ile hem doğal hem adaptif bağışıklığı uyarmaktadır. Dendritik hücreler, T hücre yanıtının belirlenmesinde önemli olup, doğal ve adaptif immün yanıt arasında köprü görevi görmektedirler (82).

Kistik fibrozis ve Kartagener sendromlu hastalar hariç tutulduğunda inflamatuar hücreler arasında en önde gelen grup eozinofillerdir. Önceleri eozinofillerin neden olduğu doku hasarının KRS'de temel patofizyolojik mekanizma olduğu düşünülmüştür (83). KRS'li olgulara ait doku örnekleri histopatolojik olarak incelendiğinde eozinofillerin polipli KRS'de baskın hücre olduğu, polipsiz KRS'de diğer inflamatuar hücre tiplerinin (özellikle nötrofillerin) daha yoğun olduğu görülmüştür. Bu ilişki, eozinofillerin atopiden bağımsız olarak polip gelişiminde kritik bir rol üstlendiğini düşündürmüştür. Ancak Asya toplumlarında ve Batı tipi nazal poliplerin bir kısmında doku eozinofilisi gösterilememiştir. Beyaz ırkta görülen poliplerin yaklaşık %80'i eozinofilik iken, Asyalılarda görülen poliplerin %50'sinden azında eozinofillerin baskın hücre olduğu gösterilmiştir (84, 85). Bu

nedenle eozinofillerin polip gelişiminde mutlak rolü olduğu düşüncesi değişmiştir. Ancak sinonazal mukozadaki eozinofili seviyesinin hastalık şiddeti, tekrarlayan hastalık, kötü prognoz ve astım varlığıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (86).

Eozinofil göçü, sağ kalımı ve aktivasyonu; epitel hücreleri tarafından salgılanan GM-CSF, eotaksinler ve Th2 sitokinleri (IL-3, IL-5) ve endotel tarafından salgılanan VCAM-1 tarafından sağlanmaktadır. Bu sitokinler aynı zamanda eozinofillerin apoptozunun azalmasından sorumludur. Eozinofiller dokuda hücresel hasar yapan EPO (eozinofil peroksidaz), MBP (majör bazik protein), ECP (eozinofilik katyonik protein) ve EDN (eozinofil kökenli nörotoksin) salgılarlar. Eozinofillerin salgıladığı mediatörler aynı bölgede daha fazla eozinofil toplanmasına ve yaşam sürelerinin artmasına neden olur. MBP solunum yolu mukozasında klor sekresyonunda ve sodyum emiliminde artışa neden olur. Lümen içindeki su önce hücre içine, sonra lamina propriaya hareket eder, bu da epitelde su tutulumuna ve doku ödemine neden olmaktadır. (87) MBP'nin yanı sıra doku hasarına neden olan başka proteolitik enzimler de mevcuttur, bu enzimlerin başlıcaları matriks metalloproteinazlar (MMP) olup ekstraselüler matriksin (ECM) yıkımına neden olurlar. MMP'ler epitel, endotel ve fibroblastların yanı sıra ortama göç eden eozinofil, makrofaj, nörofil, lenfositler ve mast hücrelerinden salgılanır. Nazal polipoziste MMP- 7 ve MMP- 9 seviyelerinde artma, doku metalloproteinaz inhibitör (TIMP-1) seviyelerinde azalma olduğu gösterilmiştir (88).

Eozinofilinin dirençli hastalıkla ilişkisi, eozinofillerin tedavide önemli bir hedef olmasına neden olmuştur. Eozinofiller steroide yanıt vermektedir, bu durum glukokortikoidlerin KRS'deki tedavi edici etkilerinin bir kısmını açıklamaktadır (89). Oral kortikosteroidlerin nazal sekresyonda IL-5 ve ECP'nin azalmasına neden olduğu gösterilmiştir (90). Anti IL-5 antikorları kullanılarak yapılan hedefe yönelik

tedavi nazal polipoziste ümit vericidir, klinik çalışmalarda polip dokusunda eozinofil sayısının azalmasının yanı sıra klinik etkinlik de gösterilmiştir (91).

Nötrofiller genellikle akut yanıt hücreleri olarak kabul edilmektedir. Ancak, nazal polip olgularının %15-20'sinde nötrofilik inflamasyon hâkimdir. Kistik fibrozis, Kartagener sendromu ve Young sendromunda nötrofiller baskın hücre olarak rol oynamaktadır (92). IL-8 nötrofil göçüne neden olan başlıca sitokindir.

Mast hücrelerinin sinonazal mukozada aktivasyonu sonucu degranülasyon meydana gelir, histamin, serotonin, proteoglikan ve serin proteazlar salınır. Bunun yanı sıra mast hücreleri irritanlara, patojen mikroorganizmalara ve alerjenlere karşı reaksiyon olarak çeşitli sitokinler ve eikozanoidleri de novo sentezleyebilir. Bunun sonucunda bariyer bütünlüğünde bozulma, doku ödemi ve ekstrasellüler matrikste bozulma gerçekleşmektedir. Mast hücrelerinin nazal polipte doku ayrışmasından sorumlu tutulan matriks metalloproteinaz üretimini etkilediği düşünülmektedir (65).

Lenfositler normalde nazal mukozada yaygın bulunan hücrelerdir. Burundaki immün yanıtta dendritik hücreler antijen sunan hücre olarak görev yapar ve antijen sunumunu takiben, duyarlanmamış CD4+ lenfositler adaptif immün yanıtın doğasını belirleyecek şekilde T hücre dizilerinden birine farklılaşır. T lenfosit alt kümeleri, Th1 ve Th2 lenfositleri, son dönemde tanımlanan Th17 ve indüklenebilir T regülatuar lenfositleri (Treg) kapsar ve bunların her biri ayrı moleküler, hücresel ve fonksiyonel özelliklere sahiptir (93). Th1 lenfositler virüsler ve intraselüler bakterilere karşı etkilidir. Th2 yanıtı ile ilişkili sitokinler IL-4, IL-5 ve IL-13'tür, hücresel yanıt eozinofiliktir. Th2 yanıtı parazitler, özellikle çok büyük olup fagositoza uğrayamayan mikroorganizmalar içindir. Th17 hücresel yanıt klasik olarak nötrofiliktir. Ekstraselüler bakteriler, özellikle S. aureus ana hedeftir.

Klasik olarak polipsiz KRS'de nötrofillerin baskın olduğu Th1 tipi inflamasyon, polipli KRS'de ise eozinofillerin baskın olduğu Th2 tipi inflamasyon hâkimdir. Ancak, güncel çalışmalarla Batı ve Asya toplumlarında görülen nazal polipozisteki inflamasyonun farklı karakterlerde olduğu ortaya konmuştur. Batı toplumlarında görülen nazal polipli kronik sinüzitte IL-5 ve IL-13 düzeylerinin yüksek, eozinofilinin baskın olduğu Th2 tipi inflamasyon görülmektedir. Ancak; Çin, Kore, Japonya gibi Asya ülkelerinde nazal polipli hasta gruplarında nötrofilik inflamasyonun baskın olduğu Th1 ve Th17 tipi inflamasyonun görüldüğü tespit edilmiştir. Asya toplumlarında, Batı tipi nazal polipozisle karşılaştırıldığında astımın eşlik ettiği hastalık insidansı düşüktür. Bu farklı fenotiplerin ortaya çıkmasındaki temel mekanizma henüz bilinmemektedir (71). NP'siz KRS'nin fibrozis, yüksek oranda TGF-ß (transforming growth factor-ß) ve artmış Treg aktivitesi ile karakterize olduğunu, NP'li KRS'nin ise ödem, düşük TGF-ß ve düşük Treg aktivitesi gösterdiğini ileri süren yeni bir hipotez ortaya atılmıştır (42).

Normal şartlarda burun mukozasında bulunan B lenfositler ve plazma hücreleri lokal IgA salgılarlar ve mukozada doku hasarı yaratan inflamasyona neden olmadan mukozal kolonizasyonu sınırlandırırlar. Nazal polip dokusunda ise B lenfositlerin, plazma hücrelerinin, foliküllerin ve immünglobulin seviyelerinin (özellikle IgA, IgD, IgE) arttığı gösterilmiştir (1). Nazal polipoziste yüksek IgE seviyeleri sistemik atopiden bağımsızdır, ancak stafilokoksik süperantijenik toksinlerin varlığı ile korelasyon göstermektedir (94). Bu toksinlere karşı gelişen IgE varlığı eozinofilik katyonik protein (ECP) ve astım birlikteliği ile ilişkilidir (95). Nazal polipoziste poliklonal IgE, mast hücre degranülasyonunu tetiklemektedir, bu da IgE'nin nazal polip patofizyolojisinde önemli bir rolü olduğunu düşündürmektedir (96). Benzer şekilde IgA eozinofilik degranülasyon için güçlü bir tetikleyicidir, polip

dokusunda lokal mediatör salınımında anahtar rol oynayabileceği düşünülmüştür (97).

Doku yeniden biçimlenmesi, astım ve alt solunum yolunun diğer inflamatuar hastalıklarının yanı sıra kronik inflamasyona maruz kalan üst hava yollarında da gerçekleşmektedir. Kronik rinosinüzitte fibrozis, epitelyal değişiklikler, bazal membranda kalınlaşma, goblet hücre hiperplazisi, subepitelyal ödem ve inflamatuar hücre infiltrasyonu ortaya çıkmaktadır (98). KRS hastalarında lamina proprianın ekstraselüler matriksinin (ECM) yeniden biçimlenmesi detaylı olarak çalışılmış ve farklı olan yeniden şekillenme paternleri, hastalığın alt grupları ile ilişkilendirilmiştir. KRS'de ECM ödem ve fibrozis alanları ile karakterizedir. NP'siz KRS'de fibrozis, NP'li KRS'de ise ödem baskındır (99). Yeniden şekillenmenin iki grup arasında farklı olmasında hava yolunda ECM depolanmasını düzenleyen TGF-β'nın rolü olduğu düşünülmektedir. Nazal polipoziste düşük, polipsiz KRS'de ise yüksek seviyede TGF-β mevcuttur. Polipli KRS'de TGF-β'nın düşük düzeylerinin azalmış doku onarımı, sekonder albümin birikimi ve doku ödemi ile birlikte kollajen oluşumunda önemli rol oynadığı, NP'siz KRS'de yüksek düzeylerin ise bazal membran kalınlaşması, aşırı kollajen birikimi ve fibrozise neden olduğu öne sürülmüştür (100). Doku ödemine katkıda bulunduğu düşünülen başka bir faktör ise anjiyogenezdir. Vasküler geçirgenliği düzenleyen anahtar protein vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), polip dokusunda yüksek oranda eksprese edilmektedir (101). Koagülasyon kaskadının bileşenleri, doku yeniden biçimlenmesi üzerindeki etkileri nedeniyle KRS patogenezisinden sorumlu tutulmuştur. Trombin ve plazminojen aktivatörü olan ürokinaz düzeylerinin polipli KRS'de yüksek olduğu gösterilmiştir (102, 103). Kemikte yeniden şekillenmeye neden olan OPN (osteopontin) ve POSTN (periostin) proteinlerinin düzeylerinin, nazal polipoziste

yüksek olduğu gösterilmiştir. Kemikte gelişen yeniden şekillenmenin persistan hastalık ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (104).

Nazal polip gelişiminde diğer bir teori ise araşidonik asit metabolizması bozukluğuna dayandırılmaktadır. Araşidonik asit metabolizması bozuklukları, aspirin duyarlı nazal polipozis ile yakından ilişkilendirilmiştir, ancak bu yolaktaki sorunların aspirin toleranslı nazal polipozis gelişiminde de etkili olduğu savunulmuştur. Membran fosfolipidlerinin fosfolipaz A2 aracılığı ile araşidonik aside dönüşmesinden sonra iki yol mevcuttur. Serbest araşidonik asit 5-lipooksijenaz (5-LO) yolu veya siklooksijenaz (COX) yolu ile parçalanır. 5-LO aktivitesi sonucu lökotrienler (LTA4, B4, C4, D4, E4), COX aktivitesi ile prostaglandinler (PGD2, PGE2 ve PGF2), prostasiklin (PGI2) ve tromboksan A2 (TXA2) sentezlenir. Proinflamatuar lökotrienlerin sentezinin artışı ve antiinflamatuar prostaglandinlerin (PGE2) sentezinin azalması nazal polip gelişiminde bir mekanizma olarak öne sürülmüştür (42, 105). Asetil salisilik asit (aspirin) kullanımında COX yolu inhibe olur ve lipooksijenaz yolu aktive olarak proinflamatuar lökotrienlerin sentezi artar. Aspirin duyarlılığı olan hastalarda lökotrienlerin aşırı üretimi havayolu duyarlılığı ve inflamasyon oluşumunu tetikler, astım ve nazal polip oluşumuna neden olan kontrol edilemeyen inflamatuar cevap ortaya çıkar. Nazal polipozis, astım ve aspirin duyarlılığı ile karakterize sendroma Samter triadı adı verilmiştir, diğer bir ismi ise aspirinle alevlenen hava yolu hastalığıdır. Aspirin duyarlılığı nazal polipli hastaların %2-8'inde mevcutken, aspirin duyarlılığı olan hastaların %35-96'sında nazal polipozis mevcuttur (58).

2.2.8. Tanı ve evreleme

Nazal polipli olgularda tanı; öykü, fizik muayene (tam bir kulak burun boğaz muayenesi ve nazal endoskopik muayene), radyolojik değerlendirme (bilgisayarlı tomografi) ve histopatolojik değerlendirme ile konulur. Nazal polipoziste klinik, poliplerin büyüklüğü ve yaygınlığıyla ilişkilidir. Küçük poliplerin varlığında hastanın şikâyeti olmayabilir, tanı ancak rutin muayene sırasında konulabilir. Semptom veren poliplerde ise burun tıkanıklığı, nazal polipli hastaların en belirgin şikâyetidir. Ayrıca burun akıntısı, postnazal akıntı, koku alamama, hiponazal konuşma, özellikle burun dorsumu, alın ve yanaklarda hissedilen yüz ve baş ağrıları, horlama ve kronik ağız solunumu gibi şikâyetlerle de sık karşılaşılmaktadır. Nazal polip, anterior rinoskopik muayenede düzgün yüzeyli, soluk renkte şeffaf ve yuvarlak bir kitle olarak, genellikle birden çok sayıda ve bilateral olarak görülmektedir. Geniş yaygın mukozal ödemden tek bir polipoid kitleye veya tüm paranazal sinüsleri dolduran yaygın polipozise kadar uzanan bir görünümle karşılaşılabilmektedir. Nazal endoskopi tanıda kullanılan en değerli yöntemdir, tüm hastalara mutlaka nazal endoskopi yapılmalıdır. Nazal endoskopide özellikle orta meatusta yerleşimli karakteristik polip görünümü tanı koydurucudur (106). Nazal polipoziste hastalığın yaygınlığının endoskopik olarak evrelenmesi amacıyla da bir takım sistemler önerilmiştir. Endoskopik evrelemede poliplerin orta konka ve orta meatusa göre konumu ve yaygınlığı temel alınmaktadır. Konka hacimlerinin hastadan hastaya farklılık göstermesi, poliplerin hacimlerinin hastaların aldıkları tedaviler ve çevresel faktörlerle değişebilmesi endoskopik evrelemenin eksik yönleri olarak karşımıza çıksa da hastalığın yaygınlığı konusunda hekimlere yol göstericidir. Ancak poliplerin yaygınlığı belirtilerin şiddeti ile uyumlu değildir (107).

Tablo 1. Meltzer ve ark. tarafından önerilen endoskopik evreleme sistemi tablosu

Evre 0	Endoskopik olarak polip izlenmiyor
Evre 1	Orta mea ile sınırlı az sayıda polip
Evre 2	Orta meada yoğun polipler
Evre 3	Orta meadan taşan polipler
Evre 4	Burun boşluğunu dolduran polipler
Evre 5	Burun tabanına kadar ulaşan polipler

Tablo 1'de Meltzer ve arkadaşları tarafından önerilen endoskopik evreleme sistemi görülmektedir. Paranazal sinüs bilgisayarlı tomografisi (PNS BT), 4-6 haftalık medikal tedavi sonrası tedaviye yeterli cevap vermeyen hastalığın yaygınlığını görmek, hastaya özgü anatomik özellikleri değerlendirmek için koronal ve aksiyal planlarda çekilmektedir. PNS BT'de nazal kavite ve sinüslerde artmış yumuşak doku dansitesi, ostiumlarda genişleme, kemiklerde incelme ve destrüksiyon görülebilmektedir. Hastalığın evrelemesinde BT'den de yararlanılmaktadır. Bu amaçla geliştirilmiş birçok sistem olsa da en sık kullanılan Lund-Mackay skorlama sistemidir. Yapılan birçok çalışma Lund-Mackay skorlarının endoskopik evreler ile uyumlu olduğunu göstermiştir. Bu sistemde burun boşluğu sağ ve sol olarak ayrı ayrı değerlendirilmektedir. Paranazal sinüslerin tomografik olarak opaklaşması temel alınmaktadır. Hafif mukozal kalınlaşma ve şeffaf görünüm 0 puan, kısmi opaklaşma 1 puan ve tamamen opaklaşma 2 puan olarak değerlendirilmektedir. Ostiometal kompleks tıkalı değilse 0 puan ve tıkalı ise 2 puan verilmektedir. Sonuç olarak radyolojik evreleme ile 0 ile 24 puan arası bir skor belirlenmektedir (108). **Tablo 2**'de Lund-Mackay radyolojik evreleme sistemi görülmektedir.

Manyetik rezonans görüntüleme ise ayırıcı tanıda yararlıdır. MRG ile yumuşak dokuların iyi değerlendirilebilmesi, bu görüntüleme tekniğinin özellikle inflamasyon ve tümöral oluşumların ayırımında kullanılmasını sağlamaktadır (109).

Tablo 2. Lund Mackay radyolojik evreleme sistemi

	Patoloji yok	Kısmi opaklaşma	Total opaklaşma
Ön etmoid hücreler			
SAĞ	0	1	2
SOL	0	1	2
Arka etmoid hücreler			
SAĞ	0	1	2
SOL	0	1	2
Maksiller sinüs			
SAĞ	0	1	2
SOL	0	1	2
Frontal sinüs			
SAĞ	0	1	2
SOL	0	1	2
Sfenoid sinüs			
SAĞ	0	1	2
SOL	0	1	2
Ostiomeatal kompleks	**Tıkalı**	**Tıkalı değil**	
SAĞ	0	2	
SOL	0	2	

2.2.9. Nazal Polipozis ve Astım

Astım, alt havayollarının kronik inflamasyonu ile oluşan, nöbetler şeklinde öksürük, hışıltı, nefes darlığı ve göğüste baskı hissi yakınmaları ile seyreden, bronş hiperreaktivitesi ve geriye dönüşümlü havayolu obstrüksiyonu ile karakterize bir hastalıktır. Toplumda prevalansı %5-10'dur (110). Havayolu epitelinde dökülme, submukozal fibrozis, mukus sekresyonunda artış, düz kaslarda hipertrofi ve aktive olmuş immün hücreler astımın ana histopatolojik özellikleridir. Bu hücrelerin aktivasyonu histamin, proteazlar, büyüme faktörleri, trombosit aktive edici faktörler, sitokinler ve lökotrienler gibi geniş bir inflamatuar mediatör grubunun açığa çıkmasına neden olmaktadır. Bu mediatörler; bronkospazm, havayolu hiperreaktivitesi, mukus salgısında artış ve duyu sinirlerinin aşırı derecede uyarılmasına ve sonuçta astım belirtilerinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır.

Nazal ve bronşiyal mukoza pek çok açıdan benzerlik gösterir. Astımda ortaya çıkan inflamatuar hücrelerin, mediatörlerin ve fizyopatolojik mekanizmaların benzerleri rinitlerde ve nazal polipoziste de görülmekte, bu da "tek havayolu tek hastalık" tezini güçlendirmektedir (111). Nazal polipozis ve astımın havayolu mukozasının aynı kronik inflamatuar hastalığın üst ve alt havayolu sonuçları olarak karşımıza çıktığı giderek daha fazla kabul gören bir görüştür. Üst ve alt solunum yollarındaki hastalıkların ortak bir mekanizma ile geliştiğini savunan "tek hava yolu hastalığı" tezinin ortaya atılmasından sonra polipli kronik rinosinüzit ve astım arasındaki ilişkiyi gösteren pek çok epidemiyolojik, histolojik, fizyopatolojik veri sunulmuştur. Nazal polipozis ve astım sıklıkla birlikte bulunur. Nazal polipli hastaların %20-60'ında astım görülmektedir (27). KRS'li hastalarda astım prevalansı daha yüksektir. Benzer şekilde astımlı hastalarda KRS genel popülasyona göre daha sık görülmektedir (112, 113). Bunun yanı sıra KRS ağır, zor kontrol edilen astım ve sık astım ataklarıyla ilişkilendirilmiştir. Polipli KRS hastalarının yaklaşık %45'inde astım mevcuttur veya astım gelişmesi öngörülmektedir (110). Astımlı hastalarda nazal polipozis prevalansı (%7) genel popülasyonla karşılaştırıldığında (%4) daha yüksektir, kadınlarda astım ve nazal polipozis birlikteliği daha sık görülmektedir (20, 114). Non atopik astım ve geç başlangıçlı astımda NP görülme prevalansı (%15-20) daha yüksektir, NP'li hastaların yaklaşık %60'ında ise farklı seviyelerde alt havayolu tutulumu mevcuttur (115, 116). Astım ve nazal polipoziste histopatolojik bulgular, havayolunda doku yeniden biçimlenmesi (epitelyal dökülme, bazal membranda kalınlaşma), eozinofilik infiltrasyon, Th2 hücre hâkimiyeti ve IL-5 üretimi ortaktır. Bu durum, bu iki hastalıkta benzer fizyopatolojik mekanizmaların olduğunu düşündürmektedir (111). Nazal poliplerin medikal ve cerrahi tedavisinin astımın seyrini olumlu yönde değiştirdiği gösterilmiştir (117, 118). Nazal polipozis

tedavisinde sistemik ve topikal kortikosteroidlerin yanı sıra, astımda etkili olduğu gösterilen lökotrien antagonistleri, Anti IL-5 ve Anti IgE'nin de etkili olduğu gösterilmiştir (119).

Nazal polipozis gelişimi, ilişkili hastalıklar ve tedavi seçenekleri ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır ancak günümüzde nazal polip patogenezi hala net olarak aydınlatılabilmiş değildir. Nazal polipozisin astımla ilişkisi ise ilgi çekicidir. Bu çalışma ile nazal polipozis patogenezini ortaya koymaya yardımcı genetik bir faktörün ortaya konması, tek havayolu hastalığı teorisini destekleyen nazal polip-astım ilişkisinin gösterilmesi amaçlanmıştır. Bu nedenle astımla ilişkisi insan genom çalışmaları ve in vivo hayvan çalışmaları ile kanıtlanmış olan sfingolipid homeostazından sorumlu bir endoplazmik retikulum proteini olan ORMDL3 (orosomucoid like 3)'ün nazal polipozis gelişimindeki olası rolünün ortaya konması amaçlanmıştır (120).

2.3. ORMDL3 (Orosomucoid like 3) geni ve Astım

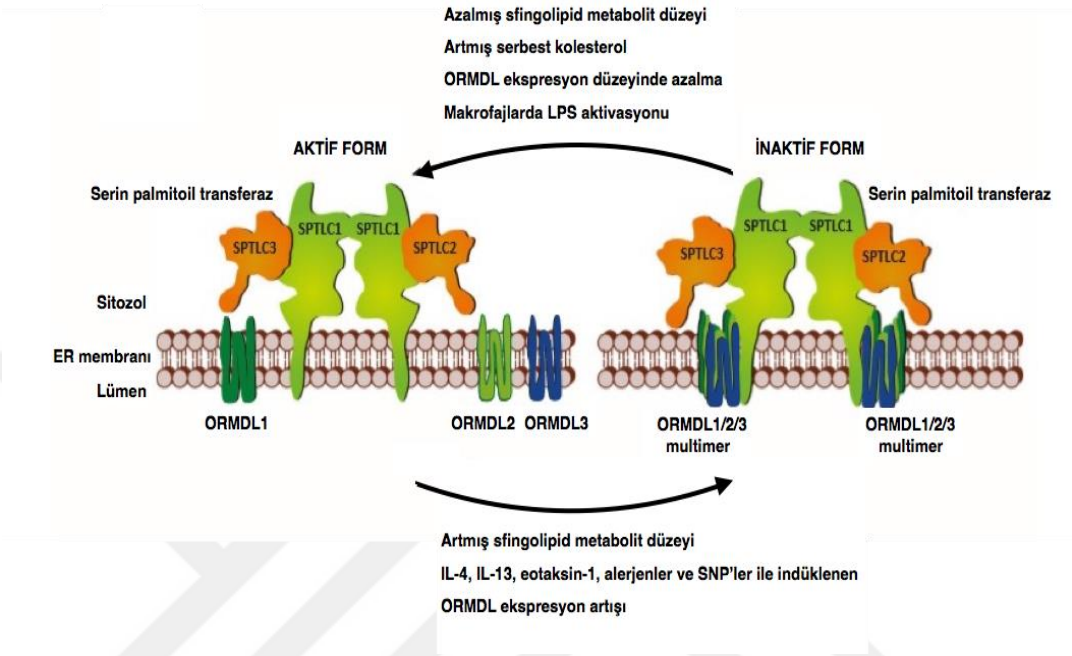
ORM1, ilk defa maya mantarlarında tanımlanmış bir DNA sekansıdır. 2002 yılında insan genom projesiyle ORM1 homologlarının insan genomunda bulunduğu keşfedilmiştir, bu genler ORMDL1 (ORM1 like 1), ORMDL2 ve ORMDL3 olarak adlandırılmıştır (120). Bu gen ailesi, 2q32, 12q13.2 ve 17q21 lokalizasyonunda yer almaktadır. ORMDL3 gen ürünü, endoplazmik retikulum yerleşimli 153 aminoasitten oluşan transmembran bir proteindir. En başta, 17q21 lokusunun ve ORMDL3'ün çocukluk çağı astımıyla olan ilişkisi tanımlanmıştır. (121) Yapılan genom çapında ilişki çalışmaları (GWAS: genome wide association study) sonucunda ORMDL3 lokusunun astım, alerjik rinit, romatoid artrit, tip 1 diabetes

mellitus, ankilozan spondilit, ülseratif kolit, Crohn hastalığı, primer biliyer siroz, gliom gibi pek çok patoloji ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur (122). Bunun yanı sıra her üç ORMDL genindeki polimorfizmlerin astımla ilişkili olduğu ve astımlı hastalarda ORMDL düzeylerinin yüksek olduğu gösterilmiştir (123). ORMDL3'ün astımdaki rolü farklı popülasyonlarda çalışılarak teyit edilmiştir (124-126). Ayrıca ORMDL3 ekspresyonunu düzenleyen gen ürünlerinin de astımda rolü olabileceği gösterilmiştir (127, 128).

ORMDL3, serin palmitoil koA transferaz (SPT) aktivitesini inhibe ederek sfingolipid sentezinin azalmasına neden olmaktadır. Sfingolipidler membranların yapısında yer alır ve membran akışkanlığını sağlar. SPT; ER membranında lokalize, katalizör kısmı sitozolde yerleşimli, üç alt üniteden oluşan (SPTLC1, SPTLC2, SPTLC3) bir enzimdir. Aktif formdayken SPT serbest haldedir, serin palmitoil koA'nın birleşimini sentezler. Sfingolipid sentezi metabolitlerinin artışı, sitokinler tarafından uyarılan ORMDL ekspresyon artışı ve alerjenler hücre tarafından algılandığında ORMDL proteini SPT'ye bağlanır ve SPT aktivitesini inhibe eder. Böylece, de novo sfingolipid sentezi inhibe olur. **Şekil 1**'de ORMDL proteininin SPT enziminin regülasyonu üzerine etkisi gösterilmiştir (122).

Sfingolipid homeostazının önemi, Gaucher ve Alzheimer hastalıklarının patogenezindeki rollerinin anlaşılmasıyla ortaya çıkmıştır (129, 130). ORMDL3 geninde astımla ilişkili SNP'lerin sfingolipid sentezinde azalmaya ve böylece havayolu reaktivitesini artmasına neden olduğu bildirilmiştir (131). Alerjik astım modelinde ORMDL3'ün fazla ekspresyonunun ATF6 (activating transcription factor 6) yolağının uyarılmasına, böylece katlanmamış protein yanıtının artmasına neden olduğu gösterilmiştir. ATF6 yolağı, sarkoplazmik retikulum Ca^{+2} ATPaz sayısının

artmasına ve sitozolden endoplazmik retikuluma Ca^{+2} geçişine neden olmaktadır.Bu mekanizmanın havayolu yeniden biçimlenmesine yol açtığı düşünülmektedir (121).



Şekil 1. ORMDL'nin serin palmitoil transferaz aracılığıyla sfingolipid sentezi üzerine etkisi (122)

Genom çalışmaları ile son dönemde ORMDL3'ün astım için önemli bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir. Bronş epitelinde yüksek oranda eksprese edilen ORMDL3, bilindiği kadarıyla daha önce nazal polipoziste çalışılmamıştır. Nazal polipozis ve astımın pek çok ortak genetik ve fizyopatolojik mekanizmayı paylaştığı bilinmektedir. Bu nedenle bu tez çalışmasında; nazal polipoziste, astımda önemi ortaya konmuş olan, ilerleyen dönemde tanı ve tedeavide rol oynayabileceği düşünülen ORMDL3'ün polimorfizmleri, mRNA ve protein düzeyindeki ekspresyonları incelenmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından desteklenen 01/2018-06 kodlu araştırmamıza dahil edilen çalışma ve kontrol gruplarının inceleme ve değerlendirmeleri, Ankara Keçiören Eğitim Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 10.05.2017 tarih ve 1429 toplantı karar numaralı izni ile Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı tarafından yapılmıştır.

Gazi Üniversitesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları polikliniğine Mayıs 2017 - Ekim 2017 tarihleri arasında başvuran, hikaye ve fizik muayeneleri ile polipli kronik rinosinüzit tanısı konulan hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma grubu; polipli kronik rinosinüzit nedeniyle uygun ilaç tedavisi verilmesine rağmen düzelme göstermeyen ve endoskopik sinüs cerrahisi planlanan hastalardan oluşturulmuştur. Kontrol grubu ise daha önceden nazal polipozis ve kronik rinosinüzit öyküsü olmayan, kronik rinosinüzit dışı nedenlerle orta konkaya yönelik endoskopik sinüs cerrahisi veya burun tıkanıklığı nedeniyle alt konka cerrahisi endikasyonu konulan hastalardan oluşturulmuştur. Hastalar alerji, astım, nonsteroid antiinflamatuar ilaç duyarlılığı bakımından incelenmiştir. Daha önce nazal polipozis nedeniyle operasyon geçirmiş olup bu kez revizyon cerrahi geçiren olgular çalışmaya dahil edilmiştir. 18 yaşından küçük, polipsiz kronik rinosinüzit nedeniyle endoskopik sinüs cerrahisi uygulanan hastalar, paranazal sinüs tümörü olan hastalar, kistik fibrozis, inverted papillom, fungal sinüzit ve antrokoanal polipli olgular çalışma dışı bırakılmıştır. Bunun dışında, ORMDL3 gen ekspresyonunun astımlı hastalarda arttığı göz önüne

alınarak kontrol grubuna astım hastalığı olan olgular dâhil edilmemiştir. Hastalar, endoskopik olarak ve paranazal sinüs tomografisi yardımıyla Lund-Mackay evreleme sistemine göre radyolojik olarak evrelendirilmiştir. Çalışma grubu ve kontrol grubuna dahil edilen hastalar çalışma hakkında bilgilendirilmiş ve gönüllü olur onamları alınarak çalışmaya dahil edilmiştir.

Nazal polipozis nedeniyle endoskopik sinüs cerrahisi uygulanan hastalardan genel anestezi altında nazal polip dokusu ve alt konkalarından normal mukoza örneği alınmıştır. Alınan dokular serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra 1,5 ml'lik ependorf kapları içerisine konulmuştur. Sıvı nitrojen tankı içerisinde soğuk zincir oluşturularak moleküler çalışma aşamasına dek – 80 °C'de saklanmıştır. Nazal polip dokuları toplanırken hastalığın yaygın olduğu orta meatus ve etmoid sinüs bölgeleri tercih edilmiştir. Kontrol grubundaki hastaların, konulan cerrahi endikasyona göre, orta veya alt konkalarından sağlıklı doku örneği alınmıştır. Dokular serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra 1,5 ml'lik ependorf kabına konulmuş ve sıvı nitrojen tankı içerisinde soğuk zincir oluşturularak moleküler çalışma aşamasına dek – 80 °C'de saklanmıştır.

Çalışma grubuna nazal polipli kronik rinosinüzit nedeniyle opere edilen 30 hasta dahil edilmiştir. Bu hastaların her birinden polip ve alt konkadan alınan mukoza olmak üzere iki adet doku örneği alınmıştır. Kontrol grubuna ise kronik rinosinüzit dışı nedenlerle orta konka veya alt konka cerrahisi yapılan 30 hasta dahil edilmiştir. Böylece çalışma grubundan alınan alt konka örnekleri ve kontrol grubundan alınan konka örnekleri olmak üzere iki ayrı kontrol grubu oluşturulmuştur. Ancak ameliyat sırasında alınan dokuların RNA izolasyonu için yeterli miktarı sağlayamaması nedeniyle örneklemde fire verilmiş, miktarı yetersiz olan 5 polip örneğinde ve kontrol grubuna ait 1 alt konka örneğinde RNA

izolasyonu yapılamamıştır. Bu nedenle çalışmaya 25 tane çalışma hastası ve 29 tane kontrol hastası dahil edilmiştir. Hastaların klinik, patolojik ve demografik özellikleri kaydedilmiş ve değerlendirilmiştir. Çalışma için gerekli olan kitler ve laboratuar ekipmanları sağlandıktan sonra toplanmış olan dokuların uygun bir şekilde Gazi Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı laboratuarına temini sağlanmıştır.

3.1. Kullanılan cihazlar

Kuru ısıtıcılı blok (Boeco, Almanya)

Soğutmalı santrifüj (Ependorf, Almanya)

Vorteks (Boeco, Almanya)

Real Time PCR cihazı (Bio-Rad CFX96, Amerika Birleşik Devletleri)

Otomatik pipet 0,5-10 ul (Boeco, Almanya)

Otomatik pipet 5-50 ul (Boeco, Almanya)

Otomatik pipet 20 -200 ul (Boeco, Almanya)

Otomatik pipet 100 -1000 ul (Boeco, Almanya)

3.2. Kullanılan sarf malzemeler

1,5 ml'lik ependorf tüpü (Corning, Amerika Birleşik Devletleri)

0,1 ml'lik PCR tüpü (BioPlastic, Hollanda)

0,1 ml'lik PCR tüpü için optik kapak (BioPlastic, Hollanda)

Beyaz pipet ucu 0,5-10 ul (Corning, Amerika Birleşik Devletleri)

Sarı pipet ucu 2-200 ul (Corning, Amerika Birleşik Devletleri)

Mavi Pipet Ucu 100 – 1000 ul (Corning, Amerika Birleşik Devletleri)

3.3. Kullanılan Kimyasallar

DNA izolasyon sistemi (SNP Bioteknoloji, Türkiye)

RNA izolasyon sistemi (SNP Bioteknoloji, Türkiye)

One-Run RT QPCR sistemi 1X (SNP Bioteknoloji, Türkiye)

Primer (Metabion, Almanya)

Prob (Metabion, Almanya)

Eva Green® (Biotium, Amerika Birleşik Devletleri)

Hot-Start Taq DNA Polimeraz (Metabion, Almanya)

İzopropanol (Merck, Almanya)

DNAse I (Serva, Almanya)

Tris (Amresco, Amerika Birleşik Devletleri)

Magnesium Chloride Hexahydrate (Merck, Almanya)

Calcium Chloride (Merck, Almanya)

DNAse RNAse Free Su (SNP Biyoteknoloji, Türkiye)

3.4. Yöntemler

3.4.1. Dokudan DNA İzolasyonu

SNP DNA İzolasyon Sistemi (Kat No:21S-02-50, Türkiye) kullanılarak DNA izolasyonu yapıldı.

1. 30 mg doku üzerine 500 µl Solüsyon B, 20 µl Solüsyon A eklendi, vortekslendi ve 45°C'de bir gece inkübasyona bırakıldı.

2. İnkübasyon sonrası örneklerin üzerine 500 µl Solüsyon C eklendi ve vortekslendi. Bu işlem sonucunda süt rengi ve kıvamında bir karışımın ortaya çıktığı izlendi.

3. Daha sonra örnek, 20 °C'de 10.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.

4. Santrifüjden sonra oluşan iki fazdan, üsteki berrak faz (yaklaşık 500 µl) alındı, temiz bir ependorf tüpe aktarıldı.

5. Berrak fazın üzerine 600 µl kadar Solüsyon D eklendi, yavaşça tüpler çalkalandı ve karanlık bir yerde 1 saat kadar bekletildi.

6. Daha sonra 20 °C'de 10.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatant döküldü.

7. Solüsyon D'nin süpernatantı döküldükten sonra üzerine 500 µl Solüsyon E eklendi. Vortekslendi ve 20 °C'de 10.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.

8. Vorteks sonrası süpernatant döküldü ve tüpler temiz bir yerde ağzı açık bir şekilde oda sıcaklığında kuruyana kadar, yaklaşık 30-60 dakika bırakıldı.

9. Kuruyan örnekler 100 µl PCR grade su ile sulandırıldı ve DNA kullanıma hazır hale getirildi.

3.4.2. Real Time PCR ile genotipleme

Reaksiyon, Taqman probları kullanılarak 5'Nükleaz Assay yöntemi ile yapılmıştır. Çalışmada temel araştırma teknolojisi olarak ASO (Allele specific oligonucleotide) ve melting analiz yöntemleri birlikte kullanılmıştır. Melting analiz yönteminin çalışma prensibi, nükleik asit örneklerinin erime davranışına dayanmaktadır. Çift zincirli DNA'nın denatürasyonu erime sıcaklığının artmasıyla

oluşan floresan değişikliklerinin saptanmasıyla belirlenir. Wild type (yaban tip) ve heterozigot örneklerinin farklılıkları erime grafiklerinde kolaylıkla saptanabilmektedir. Melting curve (erime eğrisi) analizi, floresan boyaların kullanıldığı analizlerde, çoğalan DNA'nın hedef bölge olduğunu kesinleştirmek amacıyla kullanılmaktadır. Bu analizde, ikili sarmal DNA örneğinin sıcaklığı yavaş yavaş arttırılarak floresan sinyalin sıcaklığa bağlı değişimini gösteren bir grafik oluşturulmuştur. Floresan sinyalin ani düşüşünden kaynaklanan tepecikler aracılığıyla DNA iplikçiklerinin birbirlerinden ayrılmaları gözlemlenmiştir. Oligonükleotidlerin 3' uçlarında mutasyona özgü gerekli nükleotid değişiklikleri yapılarak spesifik PCR reaksiyonlarının ortaya çıkması sağlanmıştır. Bu reaksiyonlar sonucunda elde edilen amplifikasyon ürünleri reaksiyona ilave edilen Eva Green varlığında melting curve yöntemi ile real time PCR cihazında analiz edilmiştir. Bu analizler amplikonlara ait spesifik melting ısıları göz önünde bulundurularak "derivative" ve "normalize" seçenekler şeklinde yapılmıştır. PCR döngüsü ve melting analizi olarak çalışmada kullanılan deneysel aşamalar **Tablo 3**'te gösterilmiştir. Çalışmada, ORMDL3 genindeki beş farklı tek gen nükleotid polimorfizmi (SNP) lokasyonu incelenmiştir. PubMed biyomedikal veri tabanında (US National Library of Medicine, Bethesda, Maryland) İngilizce literatür taranarak astımla ilişkili olduğu gösterilmiş olan beş adet SNP seçilmiştir, bu DNA bölgelerinin 17. kromozom üzerinde, ORMDL3 gen ekspresyonunu etkileyebilecek bölgede yer aldıkları National Center for Biotechnology Information (NCBI) kuruluşunun veri tabanından kontrol edilmiştir. (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene)

Tablo 3. Real Time PCR ve Melting Analiz Programı

	G		A	
10	1 Test (µl)	10 Test	1 Test (µl)	10 Test
dH2O	12,40	124,00	12,40	124,00
10X Buffer	2,50	25,00	2,50	25,00
MgCl2 (25 mM)	3,00	30,00	3,00	30,00
dNTP (25 mM)	0,20	2,00	0,20	2,00
DMSO	0,50	5,00	0,50	5,00
P1 + P2 (10 pmol)	0,50	5,00	0,50	5,00
Eva Green	0,60	6,00	0,60	6,00
HotStart Taq	0,30	3,00	0,30	3,00
DNA 5 µl	**20,00**	**200,00**	**20,00**	**200,00**

PCR Programı		
95 °C	10 dk	1 döngü
95 °C	15 sn	30 döngü
60 °C	1 dk	

MELTING PROGRAM		
95 °C	15 sn	
70 °C	30 sn	100%
	30 sn	2%
60 °C	15 sn	100%

3.4.3. Melting analiz grafikleri

1. RS8076131

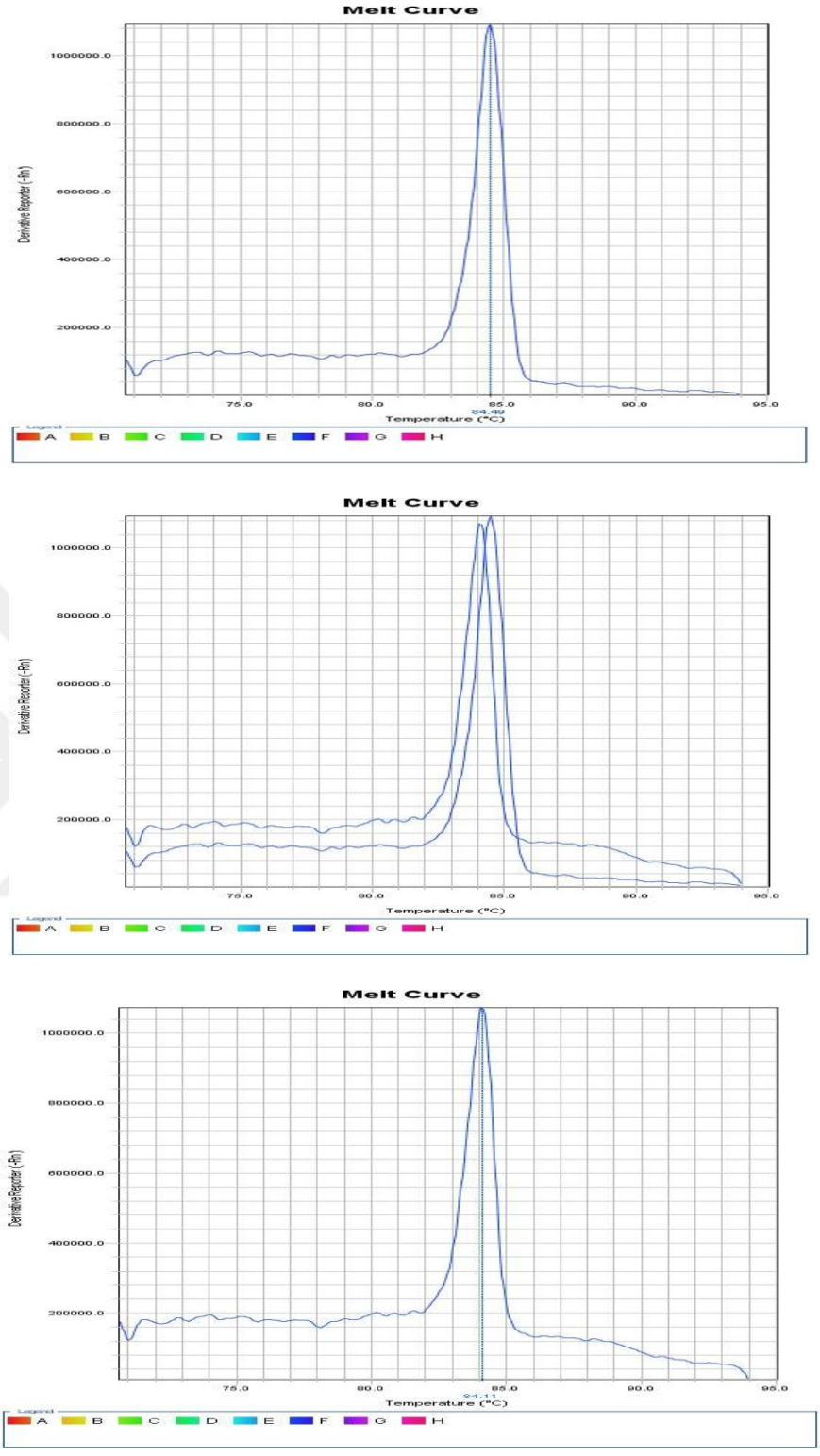
AP1: CTGAAGGCCTAATGTGGGACATCAA

CP1: AAGGCCTAATGTGGGACATCAC

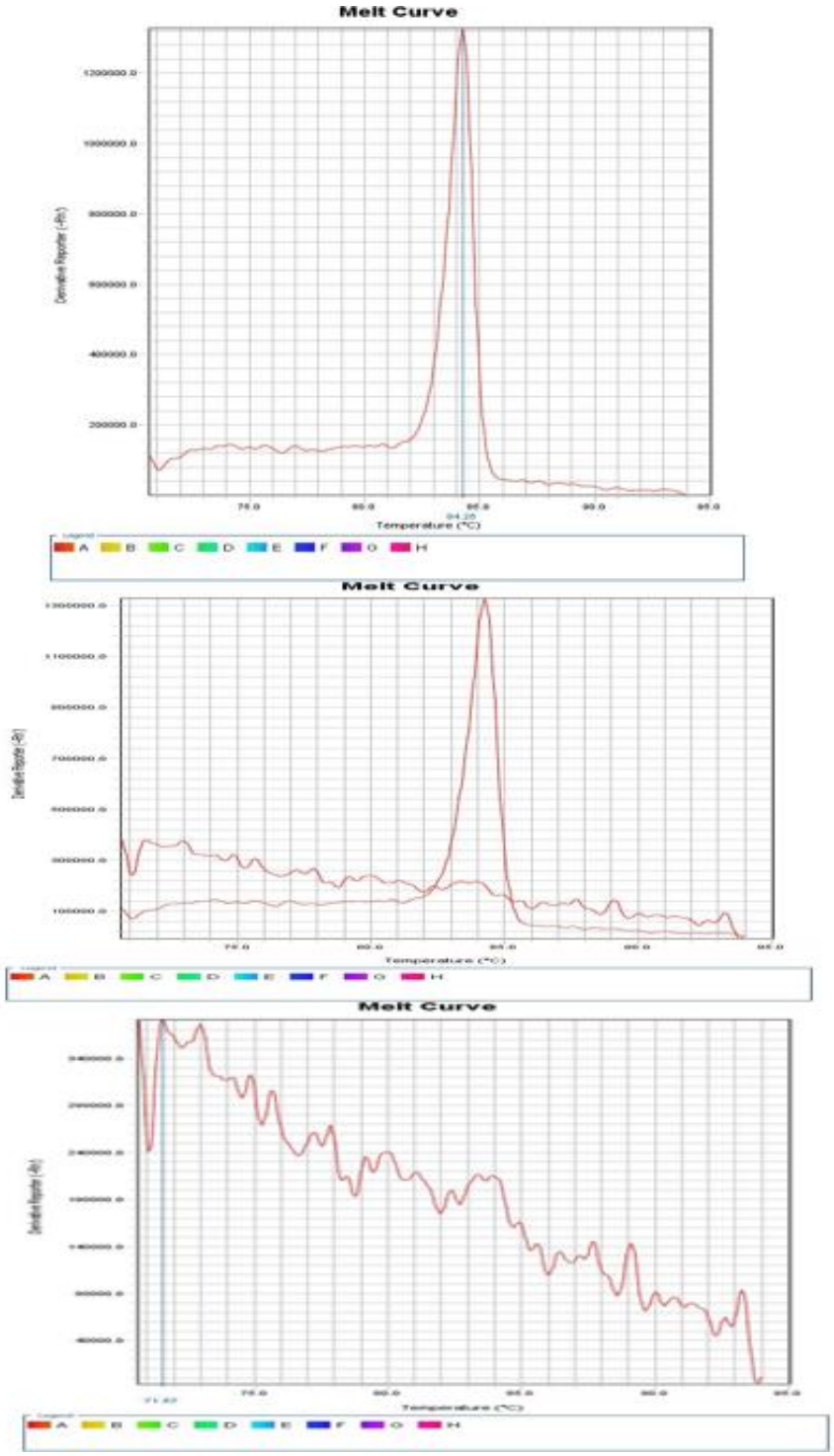
GP1: GAAGGCCTAATGTGGGACATCAG

OP2: GAGGAGGTGAGTGGATGCAGTG

Grafik 1'de polip dokusu örneğinde ***RS8076131*** bölgesinde çalışılmış melting curve analizine ait grafikler görülmektedir. 1. grafikte A (adenin) miksinde sıcaklığa bağlı floresan sinyalin değişimi izlenmektedir. 2. grafikte her iki mikse ait (A ve G), 3. grafikte ise G (guanin) miksine ait denatürasyon eğrileri görülmektedir. Analiz sonucunda polip dokusu örneğinde ***RS8076131*** bölgesindeki baz çiftinin **AG** olduğu ortaya konmuştur. **Grafik 2**'de başka bir olguya ait polip dokusu örneğinde ***RS8076131*** bölgesinde çalışılmış melting curve analizine ait grafikler izlenmektedir. 1. grafikte A+G miksinde sıcaklığa bağlı floresan sinyalin değişimi izlenmektedir. 2. grafikte G, 3. grafikte ise A miksine ait denatürasyon eğrileri görülmektedir. Analiz sonucunda doku örneğinde ***RS8076131*** bölgesindeki baz çiftinin **GG** olduğu ortaya konmuştur. **Grafik 3**'te ise ***RS8076131*** bölgesinde baz çifti **AA** olan bir örneğin grafikleri gösterilmektedir. 1. grafikte A+G miksinde sıcaklığa bağlı floresan sinyalin değişimi izlenmektedir. 2. grafikte G,3. grafikte ise A miksine ait denatürasyon eğrileri görülmektedir.



Grafik 1. POLİP, *RS8076131* bölgesinde AG genotipi.
Grafik 1': A miksi, Grafik 2': A + G miksi, Grafik 3': G miksi



Grafik 2. POLİP, *RS8076131* bölgesinde GG genotipi.
Grafik 1': A + G miksi, Grafik 2': G miksi, Grafik 3': A miksi

2. RS4065275

AP1: CAGGGAGAGAATTCTCACTCAGCATA

GP1: GGGAGAGAATTCTCACTCAGCATG

OP2: GAGGAGGTGAGTGGATGCAGTG

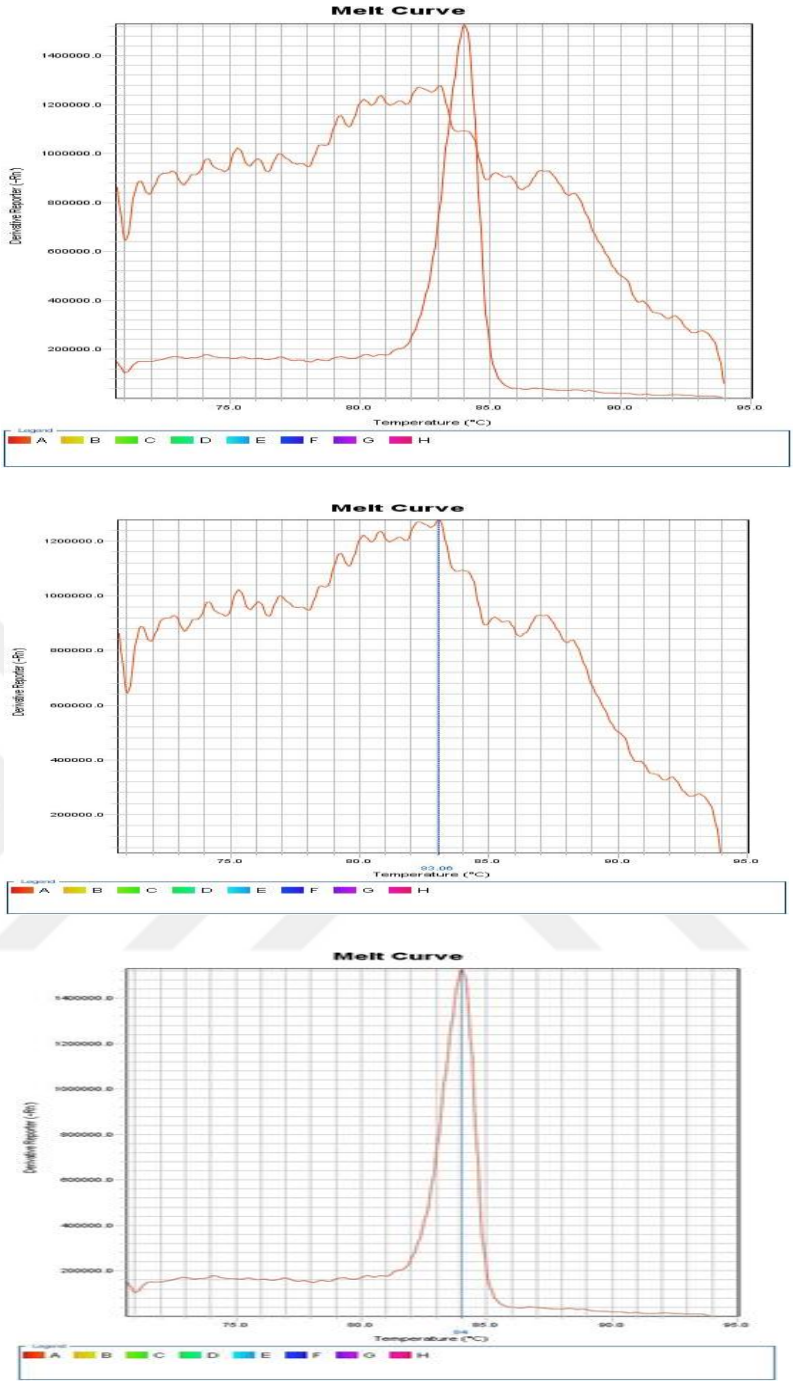
Grafik 4'te kontrol grubuna ait bir alt konka örneğinde ***RS4065275*** bölgesinde melting curve analiz yöntemi ile çalışılmıştır.1. grafikte A ve G miksinde, 2. grafikte G miksinde, 3. grafikte A miksinde sıcaklığa bağlı floresan sinyalin değişimi görülmektedir. Bu sonuca göre bu bölgede örnek **AA** genotipini taşımaktadır. **Grafik 5**'te kontrol grubuna ait başka bir doku örneğinde yapılan analize ait grafikler izlenmektedir. Bu örnek ***RS4065275*** bölgesinde **GG** genotipini taşımaktadır. **Grafik 6**'da kontrol gurubuna ait başka bir doku örneğinde yapılan melting curve analizine ait grafikler izlenmektedir. Bu örnek ***RS4065275*** bölgesinde **AG** genotipi taşımaktadır.

3. RS12603332

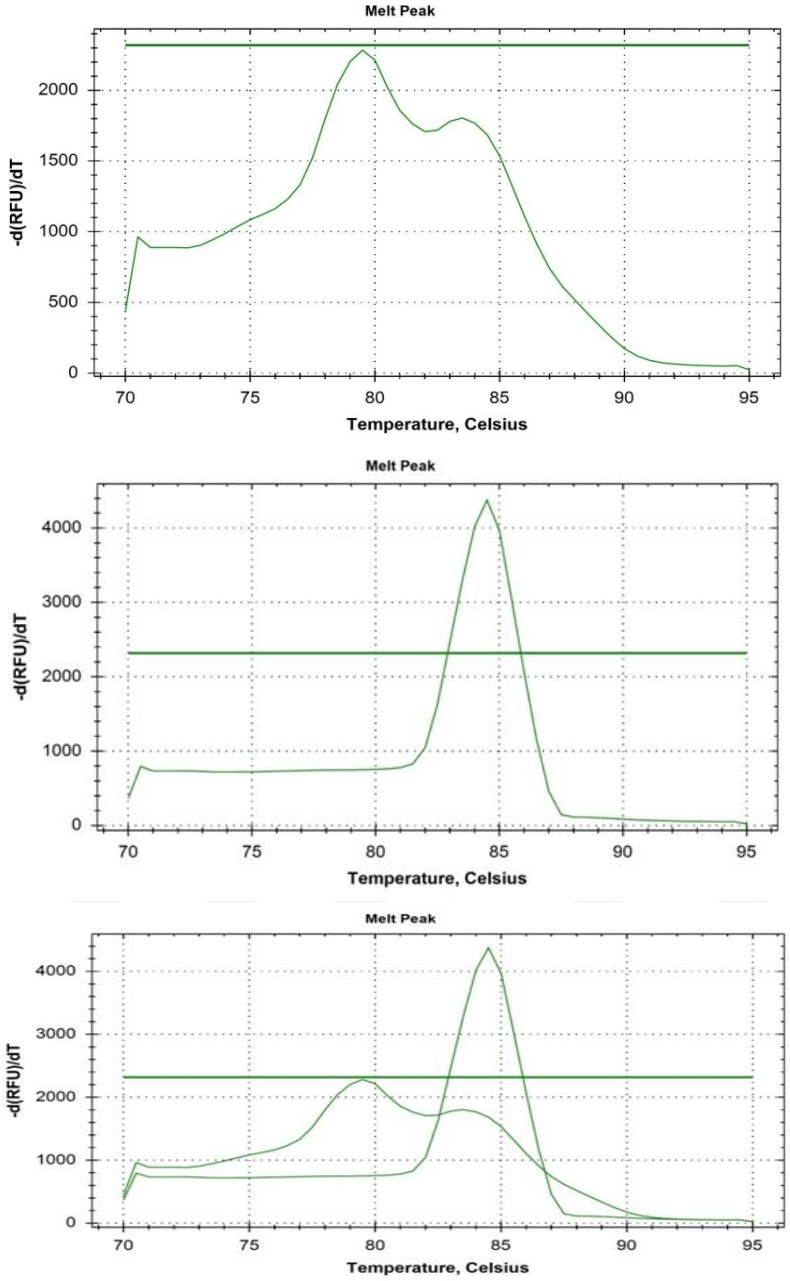
CP1: TTCTGCTGCCATAGCTGGCAGAC

TP1: CTTCTGCTGCCATAGCTGGCAGAT

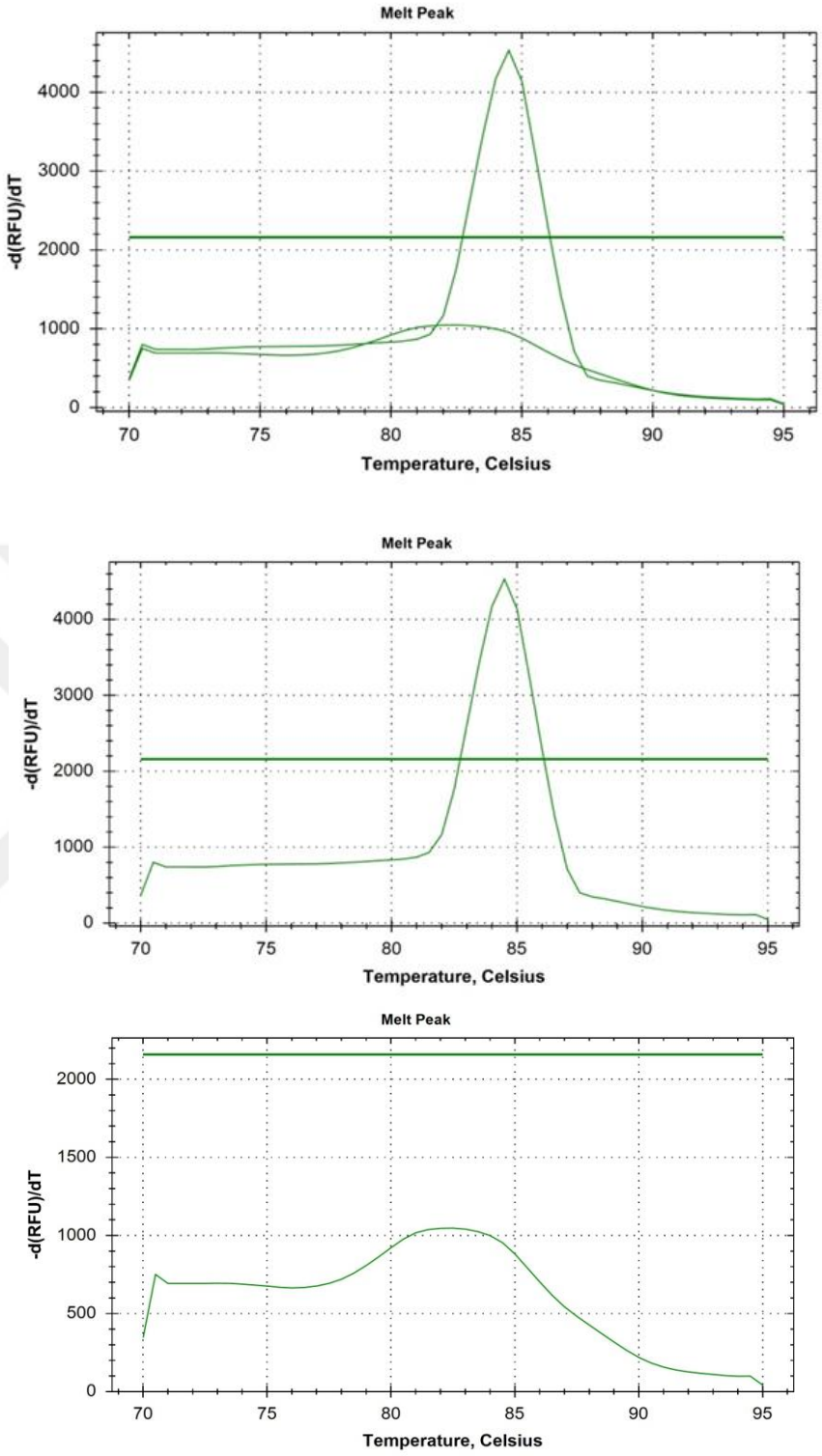
OP2: GTTAACACAACAGAGTTGCTGCAG



Grafik 3. POLİP, *RS8076131* bölgesinde AA genotipi.
Grafik 1': A+G miksi, Grafik 2': G miksi Grafik 3': A miksi



Grafik 4. KONTROL, *RS4065275* bölgesinde AA genotipi.
Grafik 1': A+G miksi, Grafik 2': A miksi, Grafik 3': G miksi



Grafik 5. KONTROL, *RS4065275* bölgesinde GG genotipi.
Grafik 1': A+G miksi, Grafik 2': G miksi, Grafik 3': A miksi

Grafik 7'de nazal polipozisli bir hasta grubuna ait polip örneğinde ***RS12603332*** bölgesinde yapılan analizin grafikleri gösterilmektedir. Doku örneği, bu bölgede **TT** genotipini göstermektedir. **Grafik 8**'de başka bir olguya ait polip örneğinde ***RS12603332*** bölgesinde yapılmış melting analiz yöntemine ait grafikler görülmektedir. Bu analize göre doku örneği, **CT** genotipini göstermektedir. **Grafik 9**'da ise kontrol grubuna ait bir konka örneğinde aynı bölgede yapılmış analiz grafikleri görülmektedir. Bu örnek ***RS12603332*** bölgesinde **CC** genotipi taşımaktadır.

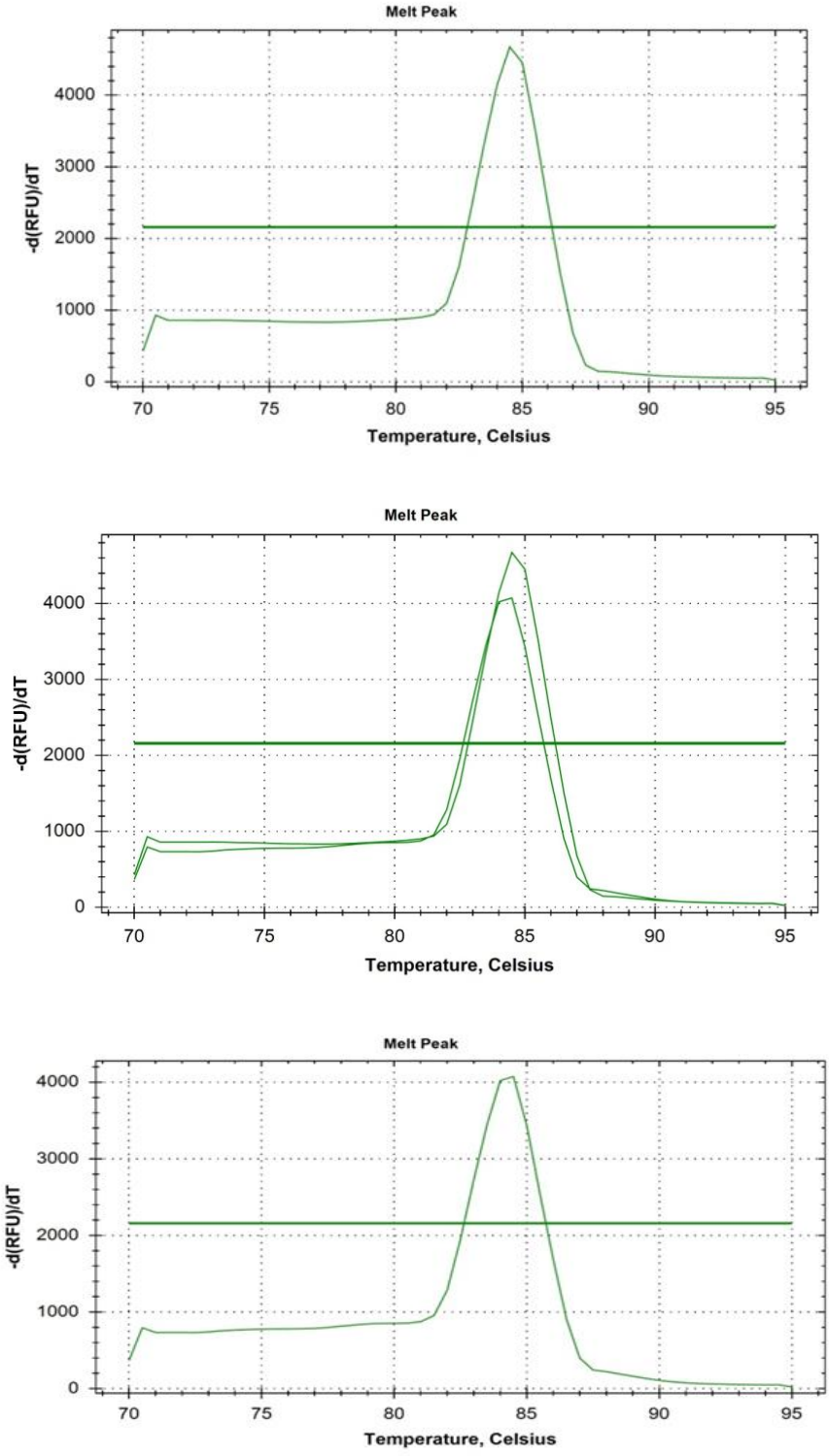
4. RS17608925

CP2: GTTTGAGGCAGGTTATGAAACCATG

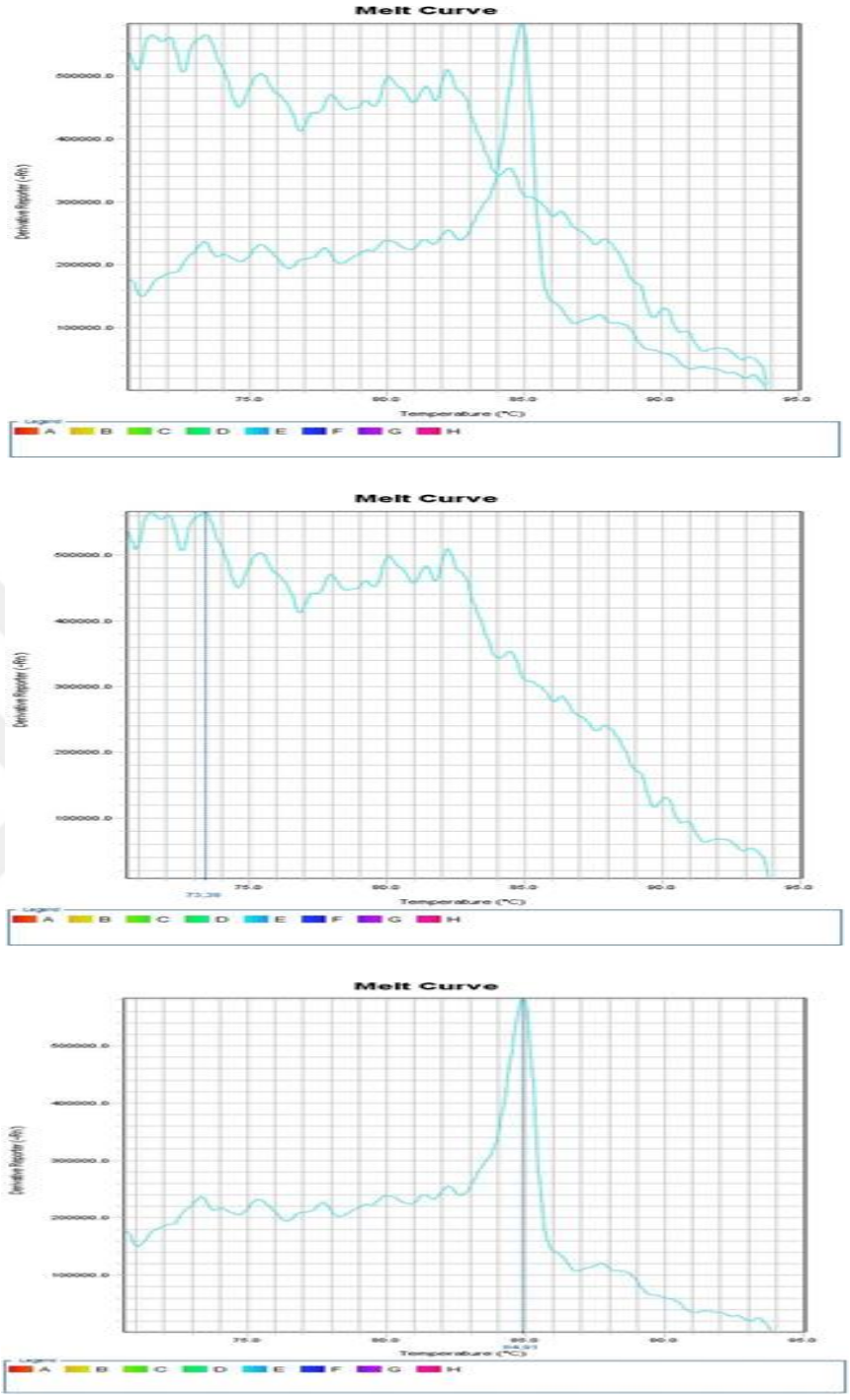
TP2: GGTTTGAGGCAGGTTATGAAACCATA

OP1: CGTGTGACTATGGATACATATCACTTC

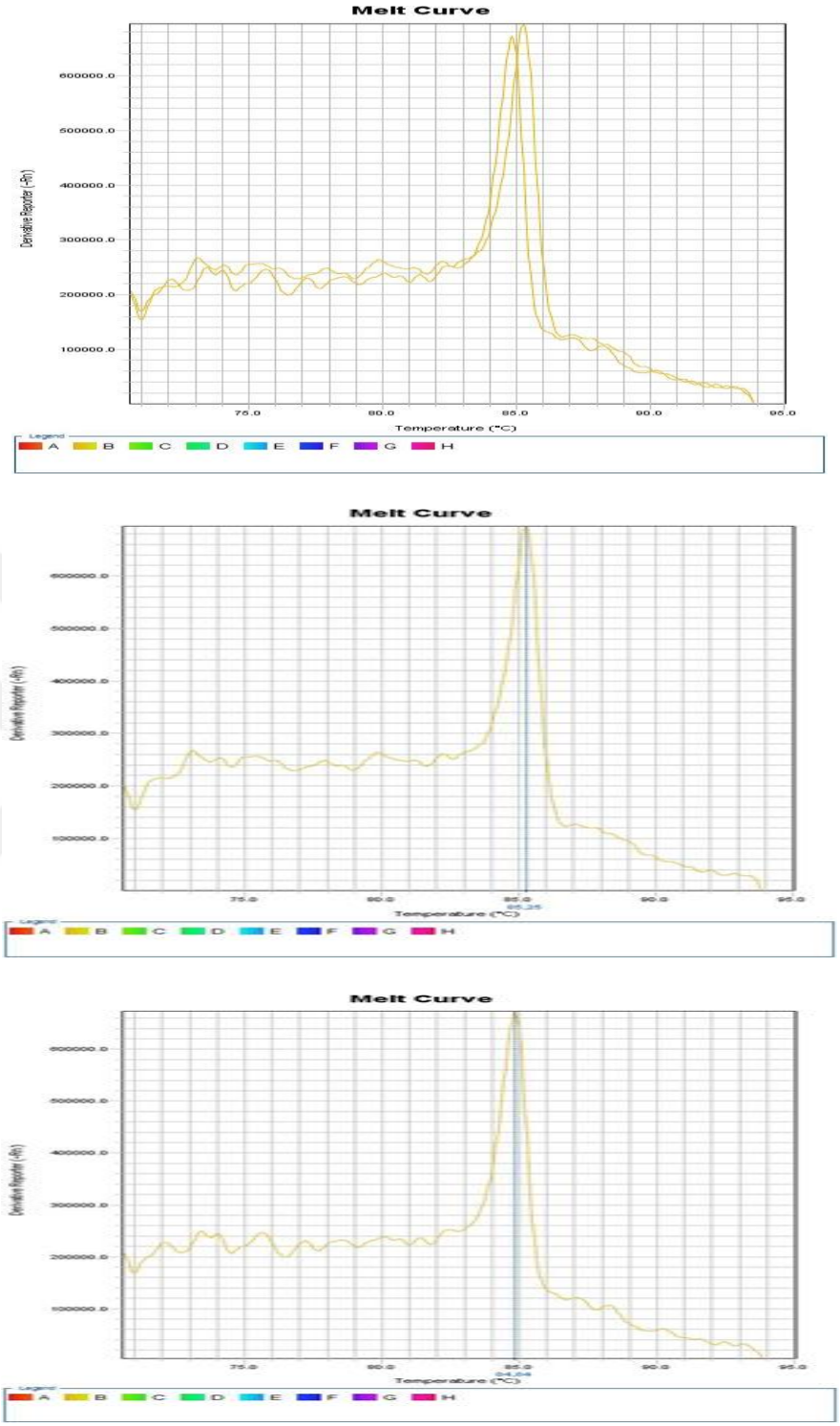
Grafik 10'da hasta grubunda yer alan bir olgunun polip örneğinde ***RS17608925*** bölgesine ait genotiplemenin grafikleri yer almaktadır. Bu analize göre örnek bu bölgede **TT** genotipi taşımaktadır. **Grafik 11**'de hasta grubunda yer alan bir olguya ait polip örneğinde ***RS17608925*** bölgesine ait genotip analizi grafikleri yer almaktadır. Bu analize göre örnek bu bölgede **CT** genotipi taşımaktadır.



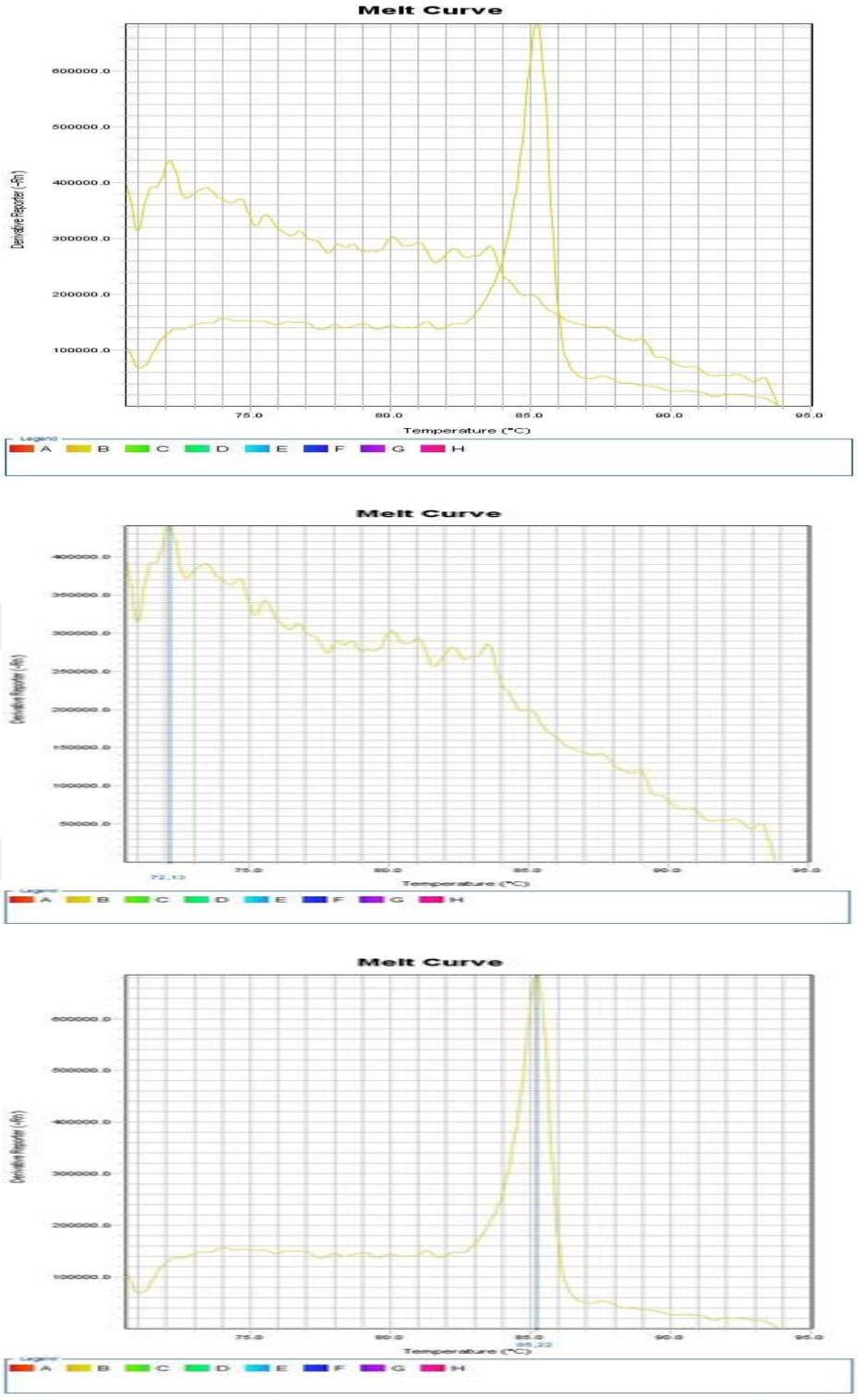
Grafik 6. KONTROL, *RS4065275* bölgesinde GG genotipi.
Grafik 1': A+G miksi, Grafik 2': A miksi, Grafik 3': G miksi



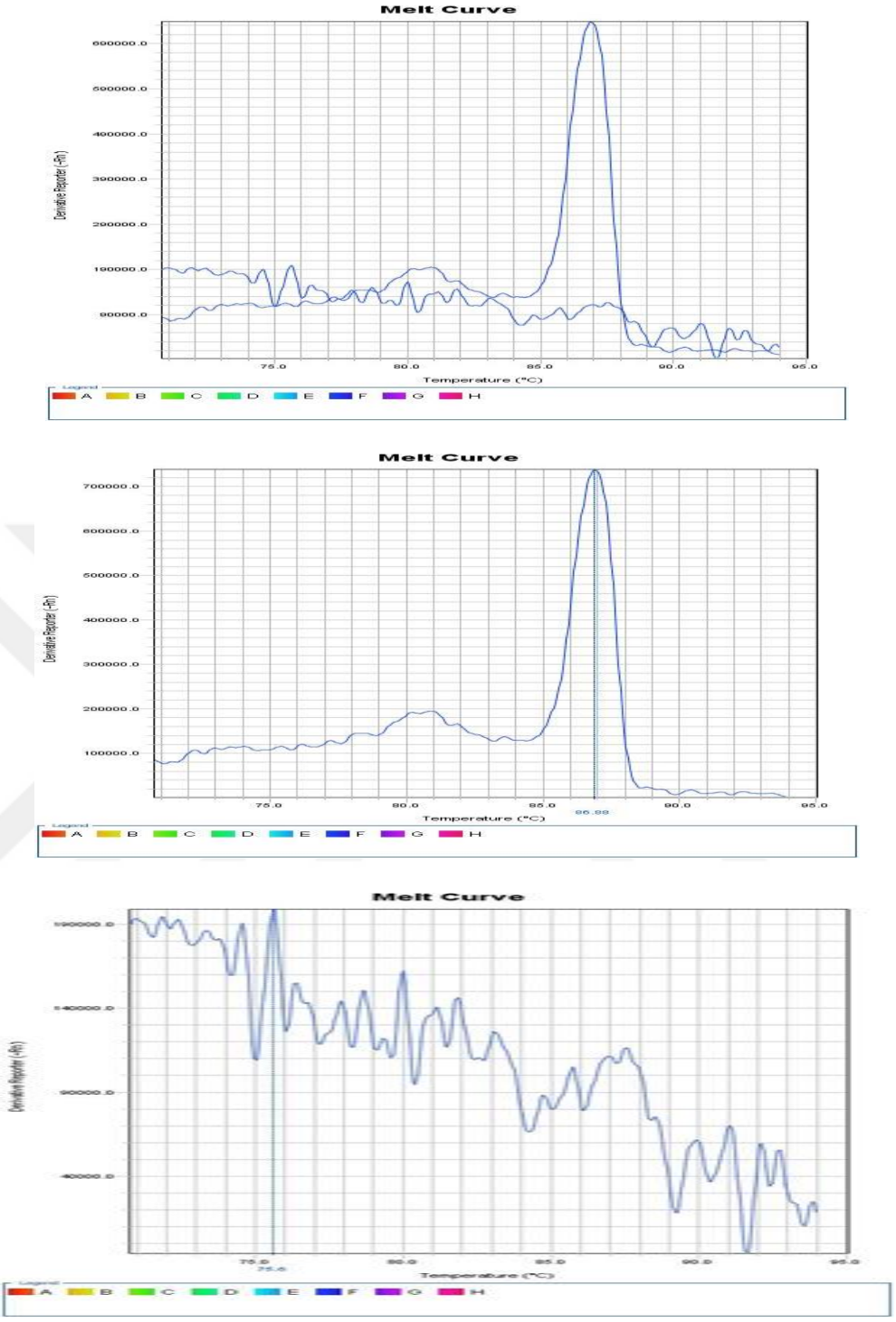
Grafik 7. POLİP, *RS12603332* bölgesinde TT genotipi.
Grafik 1':C+T miksi, Grafik 2': C miksi, Grafik 3' T miksi



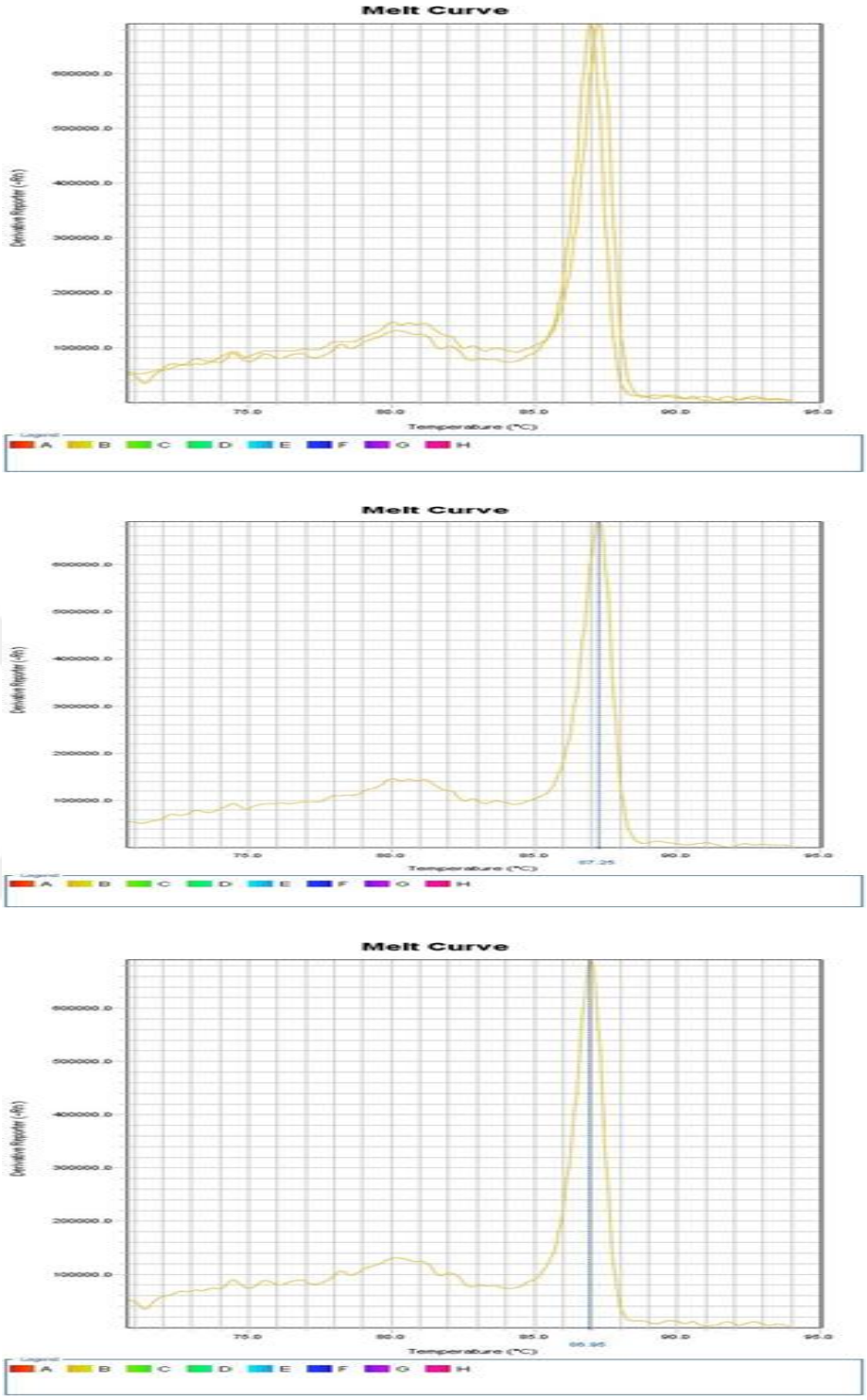
Grafik 8. POLİP, *RS12603332* bölgesinde CT genotipi.
Grafik 1': C+T miksi, Grafik 2': C miksi, Grafik 3': T miksi



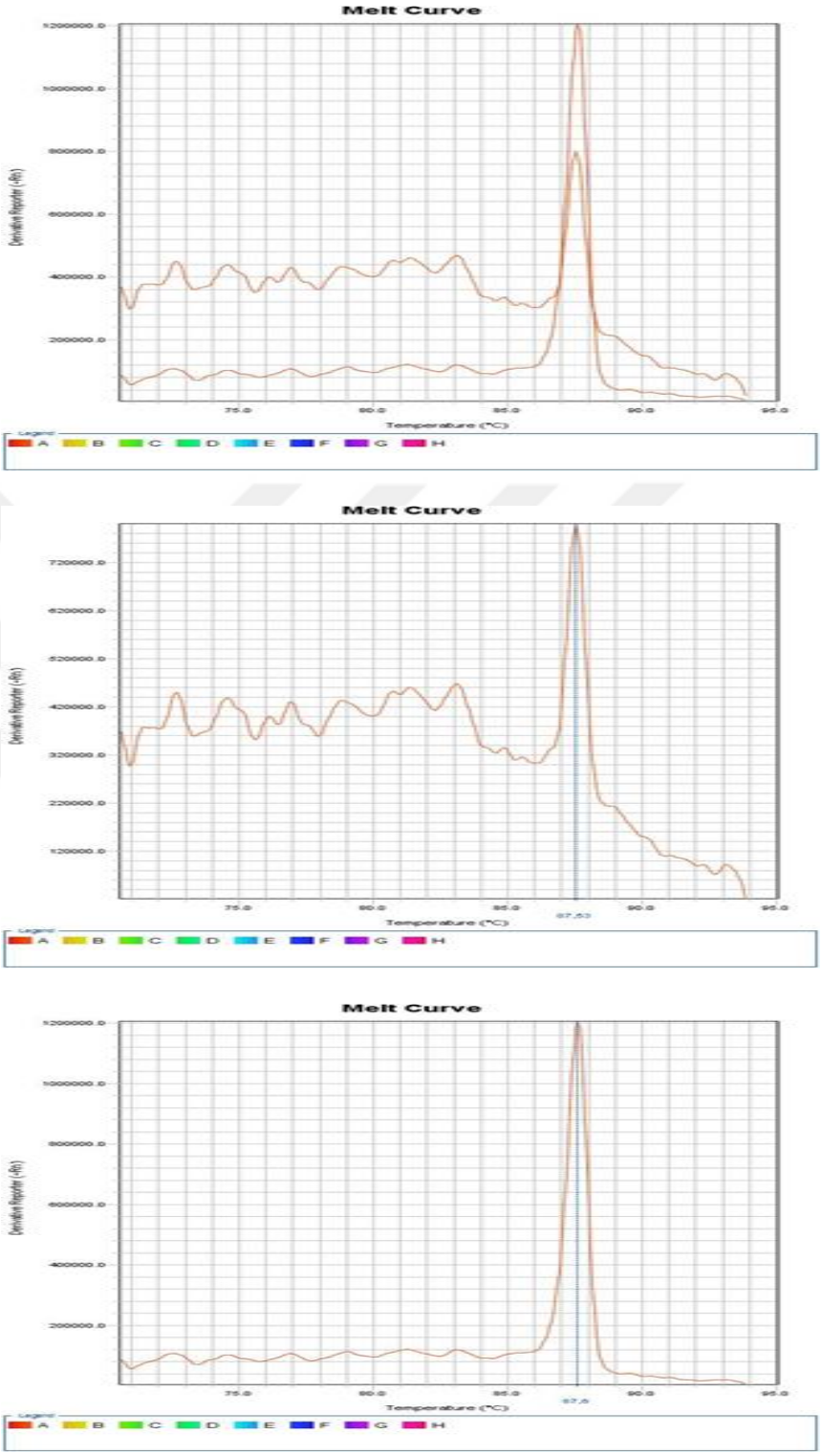
Grafik 9. KONTROL, *RS12603332* bölgesinde CC genotipi.
Grafik 1': C+T miksi, Grafik 2': T miksi, Grafik 3': C miksi



Grafik 10. POLİP, *RS17608925* bölgesinde TT genotipi.
Grafik 1': C+T miksi, Grafik 2': T miksi, Grafik 3': C miksi



Grafik 11. POLİP, *RS17608925* bölgesinde CT genotipi.
Grafik 1': C+T miksi, Grafik 2': T miksi, Grafik 3': C miksi



Grafik 12. KONTROL, *RS3169572* bölgesinde CT genotipi
Grafik 1': C+T miksi, Grafik 2': T miksi, Grafik 3': C miksi

5. RS3169572

CP2: ATTTTAAGGTGAAAGTTCCCTATGATACATG

TP2: GATTTTAAGGTGAAAGTTCCCTATGATACATA

OP1: GCACTGTCTCAGCCTGCAGAG

Grafik 12'de kontrol grubuna ait başka bir doku örneğinde yapılan analize ait grafikler yer almaktadır. Bu analize göre örnek ***RS3169572*** bölgesinde **CT** genotipini taşımaktadır.

3.4.4. Dokudan RNA izolasyonu

10.05.2017 tarih ve 1429 toplantı karar numaralı etik kurul izniyle elde edilmiş nazal polip ve kontrol orta konka ve alt konka mukozası dokularından aşağıdaki basamaklara göre SNP RNA İzolasyon Sistemi (Kat No: 21S-02-100, Türkiye) kullanılarak RNA izolasyonu yapıldı. İşlemler laminar akım kabini içerisinde gerçekleştirildi.

1. 30 mg doku üzerine 500 µl Solüsyon B, 20 µl Solüsyon A eklendi, vortekslendi ve 45°C'de bir gece inkübasyona bırakıldı.
2. İnkübasyon sonra örneklerin üzerine 500 µl Solüsyon C eklendi ve vortekslendi. Bu işlem sonucunda süt rengi ve kıvamında bir karışımın ortaya çıktığı izlendi.
3. Daha sonra örnek, 20 °C'de 10.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.
4. Santrifüjden sonra oluşan iki fazdan, üsteki berrak faz (yaklaşık 500 µl) alınıp temiz bir ependorf tüpe aktarıldı.
5. Berrak fazın üzerine 600 µl kadar Solüsyon D eklendi, yavaşça tüpler çalkalandı ve karanlık bir yerde 1 saat kadar bekletildi.

6. Daha sonra 20 °C'de 10.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi, süpernatant döküldü.
7. Solüsyon D' nin süpernatantı döküldükten sonra üzerine 500 µl Solüsyon E eklendi, vortekslendi ve 20 °C'de 10.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.
8. Vorteks sonrası süpernatant döküldü ve tüpler temiz bir yerde ağzı açık bir şekilde oda sıcaklığında kuruyana kadar, yaklaşık 30-60 dakika bırakıldı.
9. Kuruyan örnekler 100 µl PCR grade su ile sulandırıldı ve RNA kullanıma hazır hale getirildi.

3.4.5. DNAaz 1 uygulaması

1. DNAse I 500 µl DNAse-RNAse Free su ile sulandırıldı. Böylece 6 ünite/µl lik Stok DNAse I solüsyonu elde edildi.
2. 100 mM Tris, 25 mM MgCl2 ve 5 mM CaCl2 olacak bir 10X buffer hazırlandı.
3. DNAse I, DNAse 10X Buffer ile 1/10 oranında sulandırılıp kullanıma hazır DNAse I elde edildi.
4. Bu kullanıma hazır DNAse I 0,6 ünite/µl konsantrasyonunda oldu.
5. 45 µl RNA üzerine 5 µl kullanıma hazır DNAse I eklendi ve 38 °C'de 15 dakika inkübe edildi.
6. Sonçta örnek başına 3 ünite DNAse I kullanılmış oldu.
7. Böylece izolasyondan gelebilecek DNA'lar parçalanarak RNA'lar DNA'dan arındırıldı.

3.4.6. Real-Time PCR reaksiyonu

Reaksiyon Taqman Probları kullanılarak 5'Nükleaz Assay yöntemi ile yapılmıştır. RNA molekülü ile gerçekleştirilen PCR çalışmalarında öncelikle komplementer DNA (cDNA) sentezine ihtiyaç duyulmaktadır. Bunun için ters transkriptaz (Revers Transcriptase) enzimi ile RNA'nın kalıbı oluşturulmuştur ve elde edilen cDNA direk PCR işleminde kullanılmıştır. Kalıp olarak cDNA ve DNA'nın kullanıldığı 5' nükleaz testi için işlemin devamı Taq DNA polimerazın 5'ekzonükleaz aktivitesine dayanmaktadır. Bu test için probun 5' ucunda bir reporter boya ve 3' ucunda da bir quencer boya bulunmaktadır. Quencer boya reporter boyanın ışımasını baskılamakta aynı zamanda da probun primer gibi davranarak uzamasına engel olmaktadır. PCR esnasında enzim aktivitesi ile birlikte reporter ve quencer arasında bulunan prob parçalanarak ayrılır ve baskılanmanın ortadan kalkmasıyla ışıma meydana gelir. Bu işlem sadece hedef bölge üzerinde hibridize olmuş problarda gerçekleşir. Amplifikasyon miktarı arttıkça, reporter boyanın açığa çıkmasıyla birlikte ışıma doğrusal olarak artmakta ve bu artış cihaz tarafından eş zamanlı olarak tespit edilmektedir. Reaksiyonda OMRDL3 geni için referans olarak B-Aktin geni için FAM boyalı problar kullanılmıştır. Primer ve prob dizileri aşağıda verilmiştir.

ORMDL3 için primer dizileri ve prob sekansı;

P1: CATCGGTCTCCTCCACATCGTG

P2: CCATAATCCATCTGCTCCCAGTG

Prob: Fam– AGCATCCCGTTTGTGAGTGTCCCTGTC - BHQ

B-Aktin için primer dizileri ve prob sekansı;

P1: CCCAGCACAATGAAGATCAAGATC

P2: GGGTGTAACGCAACTAAGTCATAGTC

Pr1ob: Fam – AGATCATTGCTCCTCCTGAGCGCAAG - BHQ

Çalışmanın PCR aşamasında SNP One-Run RT-QPCR Kiti kullanılmıştır. (18R-01-100, Türkiye) Kit içerisinde bulunan Reverse Transcriptase (M-MLV) 42-50°C'de, azaltılmış RNaz H aktivitesi ve 220 dakika yarılanma ömrü ile aktivite göstermektedir. HotStart Taq DNA polimeraz enzimi, ısıya dayanıklılığı ve spesifikliği sağlayan Anti-Taq monoklonal antikorlar ve enzim bileşiminden oluşmaktadır. qPCR reaksiyon karışımı her birinden 0,2 mM olmak üzere dNTP, Hotstart Taq DNA Polimeaz, Revers Transkriptaz ve 2.5 mM MgCl2 içermektedir.

Kit İçeriği

Bileşen	**20 Test**
• RT PCR Reaksiyon Miksi (1X)	300 µl
• PCR Grade Su	500 µl
• MgCl2 25 mM	500 µl

OMRDL bölgesinde her örnek için;

- 15 µl One-Run miks
- 0,8 pmol Primer 1
- 0,8 pmol Primer 2
- 0,6 pmol prob
- 2.5 µl PCR Grade su
- 0,3 µl Enzim mix kullanılarak PCR mix hazırlandı. İçerisine 6 µl RNA eklendi ve aşağıda belirtilen PCR programında çalıştırıldı.

B-AKTİN bölgesinde her örnek için;

- 15 µl One-Run miks
- 0,8 pmol Primer 1

- 0,8 pmol Primer 2
- 0,6 pmol prob
- 2.5 µl PCR Grade su
- 0,3 µl Enzim mix kullanılarak PCR mix hazırlandı. İçerisine 6 µl RNA eklendi ve aşağıda belirtilen PCR programında çalıştırıldı.

PCR Programı

Otomatik ısı döngü cihazı **Tablo 4**'te belirtilen programa ayarlanarak RNA'lardan cDNA elde edildi.

Tablo 4. PCR programı

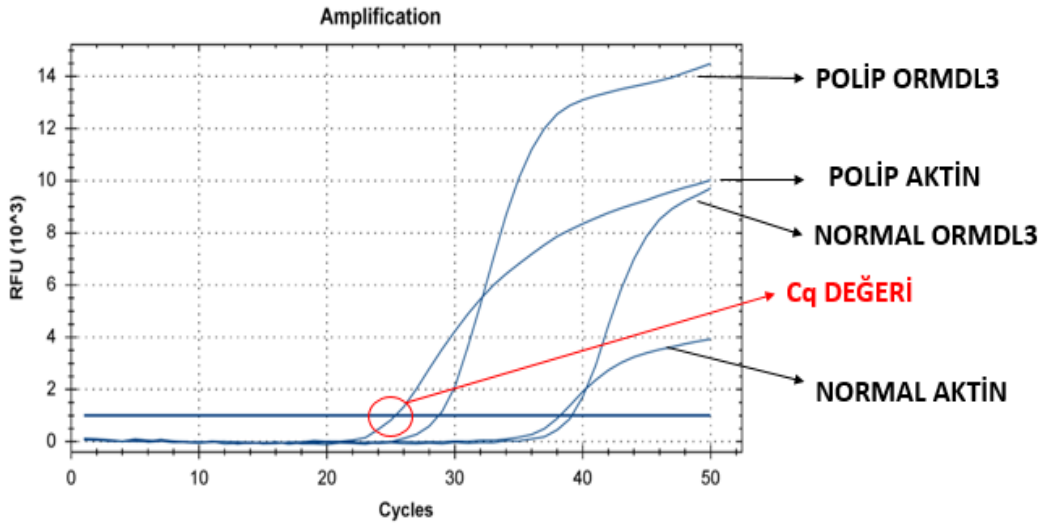
45 °C	30 dk	1 döngü
95 °C	10 dk	1 döngü
95 °C	15 sn	50 döngü
60	1 dk	

ORMDL3 ve B-Aktin genlerinin mRNA miktarları, Real-Time PCR yöntemi ile Bio-Rad CFX96 (ABD) cihazı kullanılarak belirlendi. ORMDL3 geninin ifadelenmesini normalize etmek için B- Aktin mRNA düzeyi referans olarak alındı.

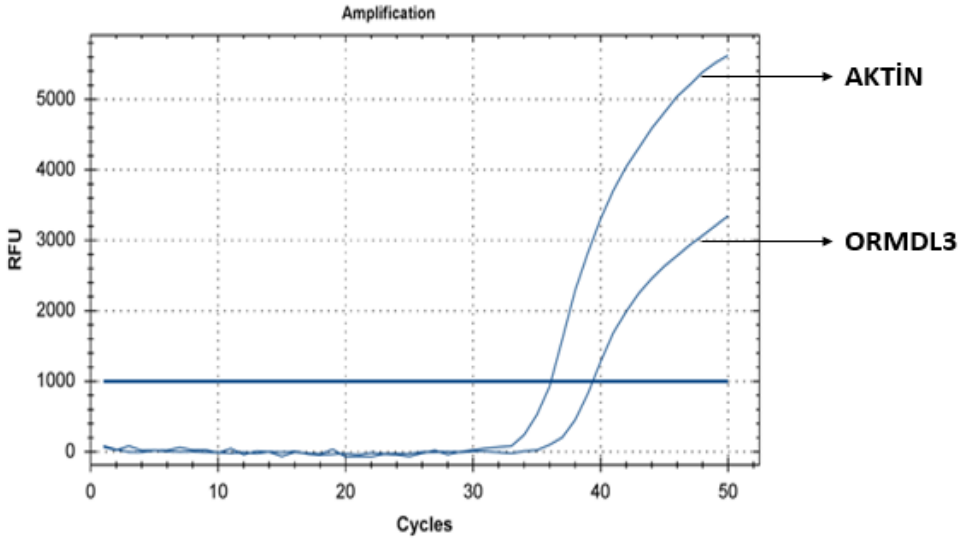
3.4.7. Sonuçların değerlendirilmesi

Reaksiyon sonucu her bir bireye ait ORMDL3 ve B- Aktin genlerinin mRNA ifadelenme düzeyini gösteren Cq değerleri (cycle quantification) belirlendi. Bir real time reaksiyonunda, oluşmaya başlayan floresan ışımanın eşik değeri geçtiği döngü sayısına Cq denir. Cq değeri, sistemin floresan miktarındaki artışı fark etmeye başladığı ve PCR ürününün log-lineer fazda eksponansiyel olarak artmaya başladığı zamandır. **Grafik 13**'te polip dokusu örneğinde ve aynı gruptan alınan alt konka örneğinde B-Aktin ve ORMDL3 genlerinin mRNA düzeyinde ifadelenmesini

gösteren Real-time PCR tepkimesine ait amplifikasyon eğrileri görülmektedir. Eşik değerin aşıldığı döngü sayısının değeri (Cq değeri) kırmızı ile işaretlenmiştir. **Grafik 14**'te ise kontrol grubuna ait alt konka örneğinde B-Aktin ve ORMDL3 genlerinin mRNA düzeyinde ifadelenmesini gösteren Real-time PCR tepkimesine ait amplifikasyon eğrileri gösterilmiştir.



Grafik 13. Polip dokusunda ve aynı gruptan alınan konka örneğinde B- Aktin ve ORMDL3 mRNA amplifikasyon eğrileri



Grafik 14. Kontrol dokusunda B-Aktin ve ORMDL3 mRNA ekspresyonuna ait amplifikasyon eğrileri

Çalışma grubunda yer alan polip dokuları, aynı hastalardan alınan alt konka örnekleri ve sağlıklı gruptan alınan konka örnekleri olmak üzere üç gruptan ORMDL3 ve referans gen olan B-Aktinin mRNA amplifikasyon eğrileri elde edilmiştir. Her bir örnek için mRNA ekspresyon seviyesini gösteren Cq değeri hesaplanmıştır. Cq değerleri uygun istatiksel analiz yöntemi ile karşılaştırılmış, böylece dokuların ORMDL3 gen ekspresyon seviyeleri açısından farkları ortaya konmuştur.

3.4.8. İmmünhistokimyasal çalışma

Nazal polipozisli hasta grubundan alınan polip ve konka örnekleri ile kontrol grubundan alınan konka örneklerinden genetik çalışma sonrası arta kalan dokular Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda -20 derecede saklanmıştır. Ardından dokuların, soğuk zincir bozulmadan immünhistokimyasal çalışma ile ORMDL3 proteinin dokularda tayini amacıyla Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na transferi sağlanmıştır.

Kesit hazırlamak için hasta grubundan alınan 25 adet polip örneğinin tamamı, aynı gruptan elde edilen alt konka örneklerinin 13'ü ile kontrol grubundan alınan örneklerinin 15'i yeterli bulunmuştur. Dokular öncelikle %10'luk formaldehit ile tespit edilmiştir, bu dokulara ait bloklardan 4 mikrometre kalınlığında hazırlanan kesitler, bir lamda iki olgu içerecek şekilde biyopsi numarası belirtilerek pozitif şarjlı lamlara alınmıştır. Kesitler öncelikle hemotoksilen-eozin (H&E) ile boyanmıştır. Endoplazmik retikulum membranında yerleşimli ORMDL3'ün ekspresyonunu belirlemek için otomatik immünhistokimya boyama yöntemi ile Ventana Benchmark XT kapalı cihazında anti-ORMDL3 antikoru ile (dilüsyon:1/100; poliklonal tavşan

antikoru, insana spesifik; katalog no. ab211522; Abcam, Cambridge, İngiltere) boyama yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak normal dalak dokusu kullanılmıştır. Uygulanan immünhistokimyasal boyama yönteminin basamakları aşağıda sıralanmıştır:

1. Pozitif şarjlı lamlara 4 mikrometre kalınlığında kesitler alınmıştır.
2. Lamlar Ventana cihazına (Benchmark XT) yerleştirilmiştir.
3. Antijen retrival için ORMDL3 EDTA buffer (Ph: 8,0) içinde 60 dakika cihazda bekletilmiştir.
4. Primer antikor inkübasyonu için ORMDL3 cihazda 32 dakika bekletilmiştir.
5. Renk vererek görüntülemeyi sağlamak için "Ultraview universal DAB detection kit" kullanılmıştır.
6. Ventana marka hematoksilen I ile zıt boyama tamamlanmıştır.
7. Lamlar çeşme suyunda yıkanıp sırasıyla 2 dakika alkolde ve 2 dakika ksilolde tutulmuştur.
8. Lamlar entellan kullanılarak kapatılmıştır.

3.5. İstatiksel Analiz Yöntemleri

Nazal polipozisli hasta grubu ve kontrol grubuna ait genotipler ve alleller ayrı ayrı ki-kare testiyle karşılaştırılmıştır. 0,05'ten küçük olan p değerleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edilmiştir. Doza ve zamana bağlı olarak değişen ORMDL3 ve B-Aktin mRNA ifade düzeylerindeki farklılıklar "REST (2009 V2.0.13)" istatistik programı ile karşılaştırılmıştır. 0,05'ten küçük olan p değerleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edilmiştir. Protein düzeyinde ifadelenmeyi belirlemek amacıyla yapılan immünhistokimyasal çalışmanın verileri SPSS v15.0 (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc. Chicago, IL, United States) bilgisayar paket programında analiz edilmiştir.

4. BULGULAR

Bu çalışmada, hasta grubunda 25, kontrol grubunda 29 olmak üzere toplam 54 vaka yer almıştır. Çalışmada yer alan tüm vakaların yaş ortalaması 39,0 ± 12,3'tür. (minimum: 20; maksimum: 70) Çalışmada yer alan vakalara ait bazı tanımlayıcı özellikler **Tablo 5**'te görülmektedir. Bütün hastaların cinsiyet dağılımı incelendiğinde; olguların 29 tanesini erkekler (%53,7), 25 tanesini kadınlar (%46,3) oluşturmaktadır. Olguların 9'unda (%16,7) astım, 4'ünde nonsteroid antiinflamatuar ilaç alerjisi (%4) mevcuttur. Astım ve aspirin alerjisi olan bireylerin tamamı nazal polipozisli hasta grubunda yer almaktadır.

Tablo 5. Çalışmaya dahil edilen hastaların tanımlayıcı özelliklerinin dağılımı,

Tanımlayıcı özellik		**Gruplar**	
		Hasta*	**Kontrol**
Yaş ortalaması		44,1±12,5	34,6±10,5
Cinsiyet	**Erkek**	15 (%60)	14 (%48,3)
	Kadın	10 (%40)	15 (%51,7)

*satır yüzdesi

Çalışmada yer alan hastaların, nazal polipozisli hasta grubu ve kontrol grubunda yer almalarına göre yaş ve cinsiyet dağılımları **Tablo 6**'da özetlenmiştir. Nazal polipozisli hasta grubunda yer alan 25 hastanın 15 tanesi erkek (%60), 10 tanesi (%40) kadındır. Kontrol grubunda yer alan 29 hastanın 14 tanesi erkek (%48,3), 15 tanesi kadındır. (%51,7)

Tablo 6. Hasta ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyet dağılımları

		Sayı	(%)*
Cinsiyet (n=54)			
	Erkek	29	53,7
	Kadın	25	46,3
Astım bulunma durumu (n=54)			
	Astım var	9	16,7
	Astım yok	45	83,3
NSAİİ alerjisi varlığı (n=54)			
	Alerji var	4	7,4
	Alerji yok	50	92,6

Nazal polipozisli hastaların yaş ortalaması 44,1 ± 12,5 olarak hesaplanmıştır. (min: 20, maks: 70) Kontrol grubunu oluşturan bireylerin yaş ortalaması 34,6 ± 10,5'tir. (min: 20, maks: 56) Çalışmaya dahil edilen nazal polipozisli hastalar; astım varlığı, NSAİİ alerjisi varlığı ve uygulanan cerrahi işlemin primer veya revizyon olması açısından incelenmiştir, **Tablo 7**'de bu verilerin özeti yer almaktadır. Çalışmada yer alan nazal polipozisli hastaların 9'unda (%36) astım, 4'ünde (%16) nonsteroid antiinflamatuar ilaç alerjisi öyküsü mevcuttur. NSAİİ alerjisine sahip hastalar, aynı zamanda astım hastalıkları olması nedeniyle Samter triadı grubunda değerlendirilmektedir. Kontrol grubunda yer alan hastaların herhangi bir sistemik hastalığı ve ilaç alerjisi bulunmamaktadır. 25 hastanın 21 tanesine primer endoskopik sinüs cerrahisi (ESC) uygulanmıştır, 4 hastaya ise revizyon ESC uygulanmıştır. Çalışma grubundaki hastalar ameliyat öncesinde Meltzer ve arkadaşlarının önerdiği evreleme sistemine göre endoskopik olarak evrelendirilmiştir.

Bu sisteme göre 4 hasta (%16) evre 1, 7 hasta (%28) evre 2, 8 hasta (%32) evre 3, 4 hasta (%16) evre 4 ve 2 hasta (%8) evre 5 endoskopik evreleme sınıfında

yer almaktadır. Evrelemeye ait veriler **Tablo 7**'de özetlenmiştir. Çalışma grubundaki hastaların bilgisayarlı tomografileri preoperatif olarak Lund -Mackay evreleme sistemine göre puanlandırılmıştır. 4 hasta revizyon ESC geçirmeleri nedeniyle skorlamaya dahil edilmemiştir. Geriye kalan 21 hastanın ortalama Lund-Mackay skor ortalaması 16,1 olarak bulunmuştur. (minimum: 9, maksimum 24)

Tablo 7. Nazal polipozisli hasta grubunda yer alan olguların tanımlayıcı özellikleri

		Sayı	**(%)[1]**
Astım varlığı (n=25)			
	Astım olanlar	9	36,0
	Astım olmayanlar	16	64,0
NSAİİ alerjisi (n=25)			
	Olanlar	4	16,0
	Olmayanlar	21	84,0
Revizyon cerrahi (n=25)			
	Revizyon ESC[2]	4	16,0
	Primer ESC[2]	21	84,0
Endoskopik Evre (n=25)			
	Evre 1	4	16,0
	Evre 2	7	28,0
	Evre 3	8	32,0
	Evre 4	4	16,0
	Evre 5	2	8,0

1: satır yüzdesi, 2:endoskopik sinüs cerrahisi.

4.1. Tek Gen Nükleotid Polimorfizmlerinin Analizi

Real Time PCR aracılığıyla, tüm doku örneklerinde 17q21 lokalizasyonunda yerleşimli ORMDL3 geni üzerindeki astımla ilişkili olduğu gösterilen SNP bölgelerinden ***RS8076131, RS4065275, RS12603332, RS17608925*** ve ***RS3169572*'**nin genotipleri belirlenmiştir (132-134). Hasta grubundan alınan örnekler ile kontrol grubundan alınan örneklere ait genotipler ve allel sıklıkları **Tablo 8, 9, 10, 11 ve 12**'de gösterilmiştir.

Bu genotipler birbiriyle karşılaştırılmış ve nazal polipoziste ORMDL3 geninin seçilen bu lokasyonlarda tek gen nükleotid polimorfizmi gösterip göstermediği incelenmiştir. Bu amaçla 1908 yılında İngiliz matematikçi Geoffrey Hardy ve Alman fizikçi Wilhem Weinberg'in geliştirdiği Hardy-Weinberg eşitliği olarak bilinen matematiksel formül kullanılmıştır. Bu kanuna göre, allel genlerden her birinin ve genotiplerin göreceli frekansları sabit kalmaktadır. Bir populasyondaki dominant genin (A) frekansı p, resesif genin (a) frekansı q ise; AA genotipinin frekansı p^2, aa genotipinin frekansı q^2 ve Aa genotipinin frekansı 2pq daima sabit olacaktır. Bu genotipik frekansların toplamı ($p^2+2pq+q^2$) ise daima 1'e eşittir. Aynı şekilde populasyondaki genlerin frekanslarının toplamı da yine 1'e eşit olup, bu eşitliğe Hardy-Weinberg eşitliği denir ve p+q=1 şeklinde ifade edilir. Bu nedenle Hardy-Weinberg eşitliği hem bir allel gen çiftindeki her bir genin hem de bir populasyondaki homozigot ve heterozigot genotiplerin frekanslarını hesaplamak için kullanılmaktadır.

Tablo 8. Hasta ve kontrol grubunda *RS8076131* lokasyonuna ait genotip dağılımı ve allel sıklıkları

Polimorfizm	**Genotip**	**Hasta sayısı (n=25)**	**Kontrol sayısı (n=29)**
RS8076131	GG	1	4
	GA	14	12
	AA	10	13
Allel sıklığı	G	0,3	0,34
	A	0,7	0,66

Tablo 9. Hasta ve kontrol grubunda RS4065275 lokasyonuna ait genotip dağılımı ve allel sıklıkları

Polimorfizm	**Genotip**	**Hasta sayısı (n=25)**	**Kontrol sayısı (n=29)**
RS4065275	AA	2	4
	AG	13	12
	GG	10	13
Allel sıklığı	A	0,34	0,34
	G	0,66	0,66

Tablo 10. Hasta ve kontrol grubunda *RS12603332* lokasyonuna ait genotip dağılımı ve allel sıklıkları

Polimorfizm	**Genotip**	**Hasta sayısı (n=25)**	**Kontrol sayısı (n=29)**
RS12603332	TT	2	4
	TC	12	12
	CC	11	13
Allel sıklığı	T	0,32	0,34
	C	0,68	0,66

Tablo 11.Hasta ve kontrol grubunda *RS17608925* lokasyonuna ait genotip dağılımı ve allel sıklıkları

Polimorfizm	**Genotip**	**Hasta sayısı (n=25)**	**Kontrol sayısı (n=29)**
rs17608925	TT	16	25
	TC	9	4
	CC	0	0
Allel sıklığı	T	0,82	0,93
	C	0,18	0,07

Tablo 12. Hasta ve kontrol grubunda *RS3169572* lokasyonuna ait genotip dağılımı ve allel sıklıkları

Polimorfizm	**Genotip**	**Hasta sayısı (n=25)**	**Kontrol sayısı (n=29)**
rs3169572	CC	23	25
	CT	2	4
	TT	0	0
Allel sıklığı	C	0,96	0,93
	T	0,04	0,07

Nazal polipozisli hasta grubu ve kontrol grubunun genotip dağılımları, Hardy Weinberg eşitliğini prensip olarak kullanan bir hesaplama sisteminde değerlendirilmiştir. (Institut für Humangenetik, (https://ihg.gsf.de/))

İki gruba ait genotiplerin ve allellerin ilişkileri ayrı ayrı ki-kare testiyle incelenmiştir. Genotipler bakımından grupların Hardy-Weinberg dengesi kontrol edilmiştir. Genotip dağılımları ve allel sıklıkları iki grup arasında karşılaştırılmıştır. Bu veriler **Tablo 13, 14, 15, 16 ve 17**'de görülmektedir. İlk sütunda kontrol vakalarına ait veriler, ikinci sütunda ise hasta grubuna ait veriler yer almaktadır.

Tablo 13. *RS8076131* lokasyonunda genotip karşılaştırması
(1=Guanin, 2=Adenin)

SNP	Tests for deviation from Hardy-Weinberg equilibrium		Tests for association (C.I.: 95% convidence interval)				
	Controls	Cases	allele freq. difference	heterozygous	homozygous	allele positivity	Armitage's trend test
rs8076131	n11=4 (3.45) n12=12 (13.10) n22=13 (12.45) f_a1=0.34 +/-0.065 F=0.08421 p=0.650198 (Pearson) p=0.651785 (Llr) p=0.687006 (Exact)	n11=1 (2.56) n12=14 (10.88) n22=10 (11.56) f_a1=0.32 +/-0.056 F=-0.28676 p=0.151623 (Pearson) p=0.131023 (Llr) p=0.353246 (Exact)	**Risk allele 2**				
			[1]<->[2]	**[11]<->[12]**	**[11+]<->[22]**	**[11]<->[12+22]**	**common odds ratio**
			Odds_ratio=1.118 C.I.=[0.501-2.499] chi2=0.07 p=0.78492 (P)	Odds_ratio=4.667 C.I.=[0.457-47.629] chi2=1.92 p=0.16546	Odds_ratio=3.077 C.I.=[0.296-31.982] chi2=0.95 p=0.32993	Odds_ratio=3.840 C.I.=[0.400-36.864] chi2=1.53 p=0.21573	Odds_ratio=1.355 chi2=0.08 p=0.77561
			Risk allele 1				
			[2]<->[1]	**[22]<->[12]**	**[22]<->[11]**	**[11+12]<->[22]**	**common odds ratio**
			Odds_ratio=0.894 C.I.=[0.400-1.998] chi2=0.07 p=0.78492 (P)	Odds_ratio=1.517 C.I.=[0.491-4.689] chi2=0.52 p=0.46873	Odds_ratio=0.325 C.I.=[0.031-3.378] chi2=0.95 p=0.32993	Odds_ratio=1.219 C.I.=[0.412-3.605] chi2=0.13 p=0.72055	Odds_ratio=0.793 chi2=0.08 p=0.77561

Tablo 14. *RS4065275* lokasyonunda genotip karşılaştırması
(1=Adenin,2=Guanin)

rs4065275	n11=4 (3.45) n12=12 (13.10) n22=13 (12.45) f_a1=0.34 +/-0.065 F=0.08421 p=0.650198 (Pearson) p=0.651785 (Llr) p=0.687006 (Exact)	n11=2 (2.89) n12=13 (11.22) n22=10 (10.89) f_a1=0.34 +/-0.061 F=-0.15865 p=0.427646 (Pearson) p=0.419790 (Llr) p=0.662563 (Exact)	**Risk allele 2**				
			[1]<->[2]	**[11]<->[12]**	**[11+]<->[22]**	**[11]<->[12+22]**	**common odds ratio**
			Odds_ratio=1.022 C.I.=[0.460-2.267] chi2=0.00 p=0.95796 (P)	Odds_ratio=2.167 C.I.=[0.334-14.057] chi2=0.68 p=0.41128	Odds_ratio=1.538 C.I.=[0.233-10.153] chi2=0.20 p=0.65319	Odds_ratio=1.840 C.I.=[0.307-11.013] chi2=0.46 p=0.49940	Odds_ratio=1.109 chi2=0.00 p=0.95737
			Risk allele 1				
			[2]<->[1]	**[22]<->[12]**	**[22]<->[11]**	**[11+12]<->[22]**	**common odds ratio**
			Odds_ratio=0.979 C.I.=[0.441-2.172] chi2=0.00 p=0.95796 (P)	Odds_ratio=1.408 C.I.=[0.451-4.395] chi2=0.35 p=0.55492	Odds_ratio=0.650 C.I.=[0.098-4.290] chi2=0.20 p=0.65319	Odds_ratio=1.219 C.I.=[0.412-3.605] chi2=0.13 p=0.72055	Odds_ratio=0.914 chi2=0.00 p=0.95737

ORMDL3 geninde *RS8076131* lokasyonu için **A/C/G** nükleotid değişimi tanımlanmıştır:

ACTGAAGGCCTAATGTGGGACATCT[A/C/G]CTCTTAAGCTCTTCCCATCA GGAGG

ORMDL3 geninde *RS8076131* lokasyonunda adenin bazının guanin bazı ile yer değiştirdiği saptanmıştır. NP'li hastaların 10 tanesi AA, 14 tanesi GA, 1 tanesi GG genotipine sahiptir. NP'li hastalarda A allelinin frekansı 0,7; G allelinin frekansı 0,3'tür. Kontrol grubunun 13 tanesi AA, 12 tanesi GA, 4 tanesi GG genotipine sahiptir. Kontrol grubunda A allelinin frekansı 0,34; G allelinin frekansı 0,66'dır. *RS8076131* gen lokasyonunda allel (*p=0.78*) ve genotip (AA<->AG, p= 0,46; GG<=>AG, *p=0,16*) frekansları arasında NP'li hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. **(Tablo 13)**

ORMDL3 geninde ***RS4065275*** lokasyonu için **A/G** nükleotid değişimi tanımlanmıştır:

CAGGGAGAGAATTCTCACTCAGCAC[A/G]ACCCCTGCTGGACTGTG TCTCACT

RS4065275 lokasyonunda adenin bazının guanin bazı ile yer değiştirdiği saptanmıştır. NP'li hastaların 2 tanesi AA, 10 tanesi GG, 13 tanesi AG genotipine sahiptir. NP'li hastalarda A allelinin frekansı 0,34; G allelinin frekansı 0,66'dır. Kontrol grubunun 4 tanesi AA, 12 tanesi AG, 13 tanesi GG genotipine sahiptir. Kontrol grubunda A allelinin frekansı 0,34; G allelinin frekansı 0,66'dır. rs4065275 gen lokasyonundaki genotip dağılımları karşılaştırıldığında allel (*p=0.95*) ve genotip (AA<->AG, p= 0,41; GG<->AG, p=0,55) frekansları arasında NP'li hasta grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. **(Tablo 14)**

ORMDL3 geninde *RS12603332* lokasyonu için **C/T** nükleotid değişimi tanımlanmıştır:

AACTTCTGCTGCCATAGCTGGCAGG[C/T]GGCTGCTTAGTGCTGGGCCCTG ATG

ORMDL3 geninde ***RS12603332*** lokasyonunda sitozin bazının timin bazı ile yer değiştirdiği saptanmıştır. NP'li hastaların 2 tanesi TT, 12 tanesi TC, 11 tanesi CC genotipine sahiptir. NP'li hastalarda T allelinin frekansı 0,32; C allelinin frekansı 0,68'dir. Kontrol grubunun 4 tanesi TT, 12 tanesi TC, 13 tanesi CC genotipine sahiptir. Kontrol grubunda T allelinin frekansı 0,34; C allelinin frekansı 0,66'dır. ***RS12603332*** gen lokasyonunda allel (*p=0,784*) ve genotip (TT<->TC, *p=0,46*; CC<->TC, *p=0,77*) frekansları arasında NP'li hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. **(Tablo 15)**

ORMDL3 geninde ***RS3169572*** lokasyonu için **C/T** nükleotid değişimi tanımlanmıştır:

CCTCCTGACCCTGCATCTCCCACCC[C/T]GTGTATCATAGGGAACTTTACC TT

ORMDL3 geninde ***RS3169572*** lokasyonunda sitozin bazının timin bazı ile yer değiştirdiği saptanmıştır. NP'li hastaların 23 tanesi CC, 2 tanesi CT genotipine sahiptir. TT genotipine sahip birey saptanmamıştır. NP'li hastalarda T allelinin frekansı 0,04; C allelinin frekansı 0,96'dır. Kontrol grubunun 25 tanesi CC, 4 tanesi CT genotipine sahiptir. TT genotipine sahip birey saptanmamıştır. Kontrol grubunda T allelinin frekansı 0,07; C alelinin frekansı 0,93'tür. ***RS3169572*** gen lokasyonunda allel (*p=0,68*) ve genotip (CC<->CT, *p=0,49*; TT<->CT, p=1) frekansları arasında NP'li hasta grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. **(Tablo 16)**

ORMDL3 geninde ***RS17608925*** lokasyonu için **C/T** nükleotid değişimi tanımlanmıştır:

GTGGCTGCTTAGTGCTGGGCCCTGA[C/T]GTGGTTTCATAACCTGCC TCAAACC

ORMDL3 geninde ***RS17608925*** lokasyonunda sitozin bazının timin bazı ile yer değiştirdiği saptanmıştır. NP'li hastaların 16 tanesi TT, 9 tanesi TC genotipine sahiptir. CC genotipli birey bulunmamaktadır. NP'li hastalarda T allelinin frekansı 0,82; C allelinin frekansı 0,18'dir. Kontrol grubunun 25 tanesi TT, 4 tanesi TC genotipine sahiptir. CC genotipli birey bulunmamaktadır. Kontrol grubunda T alelinin frekansı 0,93; C alelinin frekansı 0,07'dir. *RS17608925* gen lokasyonundaki genotip ve allel dağılımları karşılaştırıldığında allel frekansı açısından iki grup arasında fark saptanmamıştır (*p=0,77*), ancak genotip frekansı açısından hasta grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu kabul edilebilir. (**TT<->TC, *p=0,05***; CC<->TC, p=1) **(Tablo 17)**

Tablo 15. *RS12603332* lokasyonunda genotip karşılaştırması
(1=Timin, 2=Sitozin)

rs12603332	n11=4 (3.45) n12=12 (13.10) n22=13 (12.45) f_a1=0.34 +/-0.065 F=0.08421 p=0.650198 (Pearson) p=0.651785 (Llr) p=0.687006 (Exact)	n11=2 (2.56) n12=12 (10.88) n22=11 (11.56) f_a1=0.32 +/-0.062 F=-0.10294 p=0.606759 (Pearson) p=0.602216 (Llr) p=1.000000 (Exact)	**Risk allele 2**				
			[1]<->[2]	**[11]<->[12]**	**[11+]<->[22]**	**[11]<->[12+22]**	**common odds ratio**
			Odds_ratio=1.118 C.I.=[0.501-2.499] chi2=0.07 p=0.78492 (P)	Odds_ratio=2.000 C.I.=[0.306-13.062] chi2=0.54 p=0.46421	Odds_ratio=1.692 C.I.=[0.259-11.065] chi2=0.31 p=0.58050	Odds_ratio=1.840 C.I.=[0.307-11.013] chi2=0.46 p=0.49940	Odds_ratio=1.194 chi2=0.07 p=0.78492
			Risk allele 1				
			[2]<->[1]	**[22]<->[12]**	**[22]<->[11]**	**[11+12]<->[22]**	**common odds ratio**
			Odds_ratio=0.894 C.I.=[0.400-1.998] chi2=0.07 p=0.78492 (P)	Odds_ratio=1.182 C.I.=[0.380-3.672] chi2=0.08 p=0.77264	Odds_ratio=0.591 C.I.=[0.090-3.864] chi2=0.31 p=0.58050	Odds_ratio=1.034 C.I.=[0.352-3.035] chi2=0.00 p=0.95134	Odds_ratio=0.848 chi2=0.07 p=0.78492

Tablo 16. *RS3169572* lokasyonunda genotip karşılaştırması
(1=Sitozin, 2=Timin)

			Risk allele 2				
			[1]<->[2]	[11]<->[12]	[11+]<->[22]	[11]<->[12+22]	common odds ratio
rs3169572	n11=25 (25.14) n12=4 (3.72) n22=0 (0.14) f_a1=0.93 +/-0.032 F=-0.07407 p=0.689966 (Pearson) p=0.586042 (Llr) p=1.000000 (Exact)	n11=23 (23.04) n12=2 (1.92) n22=0 (0.04) f_a1=0.96 +/-0.027 F=-0.04167 p=0.834969 (Pearson) p=0.772798 (Llr) p=1.000000 (Exact)	Odds_ratio=0.562 C.I.=[0.099-3.209] chi2=0.43 p=0.68745 (F)	Odds_ratio=0.543 C.I.=[0.091-3.253] chi2=0.46 p=0.49940	Odds_ratio=1.085 C.I.=[0.021-56.910] chi2=nan p=1.00000	Odds_ratio=0.543 C.I.=[0.091-3.253] chi2=0.46 p=0.49940	Odds_ratio=0.543 chi2=0.46 p=0.49940
			Risk allele 1				
			[2]<->[1]	[22]<->[12]	[22]<->[11]	[11+12]<->[22]	common odds ratio
			Odds_ratio=1.778 C.I.=[0.312-10.142] chi2=0.43 p=0.68745 (F)	Odds_ratio=0.556 C.I.=[0.008-37.563] chi2=nan p=1.00000	Odds_ratio=0.922 C.I.=[0.018-48.333] chi2=nan p=1.00000	Odds_ratio=0.864 C.I.=[0.017-45.145] chi2=nan p=1.00000	Odds_ratio=1.244 chi2=0.46 p=0.49940

Tablo 17. *RS17608925* lokasyonunda genotip karşılaştırması (1=Timin, 2=Sitozin)

			Risk allele 2				
			[1]<->[2]	[11]<->[12]	[11+]<->[22]	[11]<->[12+22]	common odds ratio
rs17608925	n11=25 (25.14) n12=4 (3.72) n22=0 (0.14) f_a1=0.93 +/-0.032 F=-0.07407 p=0.689966 (Pearson) p=0.586042 (Llr) p=1.000000 (Exact)	n11=16 (16.81) n12=9 (7.38) n22=0 (0.81) f_a1=0.82 +/-0.048 F=-0.21951 p=0.272396 (Pearson) p=0.158154 (Llr) p=0.557948 (Exact)	Odds_ratio=2.963 C.I.=[0.853-10.300] chi2=3.13 p=0.07702 (P)	Odds_ratio=3.516 C.I.=[0.926-13.353] chi2=3.62 p=0.05701	Odds_ratio=1.545 C.I.=[0.029-81.766] chi2=nan p=1.00000	Odds_ratio=3.516 C.I.=[0.926-13.353] chi2=3.62 p=0.05701	Odds_ratio=3.516 chi2=3.62 p=0.05701
			Risk allele 1				
			[2]<->[1]	[22]<->[12]	[22]<->[11]	[11+12]<->[22]	common odds ratio
			Odds_ratio=0.337 C.I.=[0.097-1.173] chi2=3.13 p=0.07702 (P)	Odds_ratio=2.111 C.I.=[0.036-124.518] chi2=nan p=1.00000	Odds_ratio=0.647 C.I.=[0.012-34.234] chi2=nan p=1.00000	Odds_ratio=0.864 C.I.=[0.017-45.145] chi2=nan p=1.00000	Odds_ratio=0.444 chi2=3.62 p=0.05701

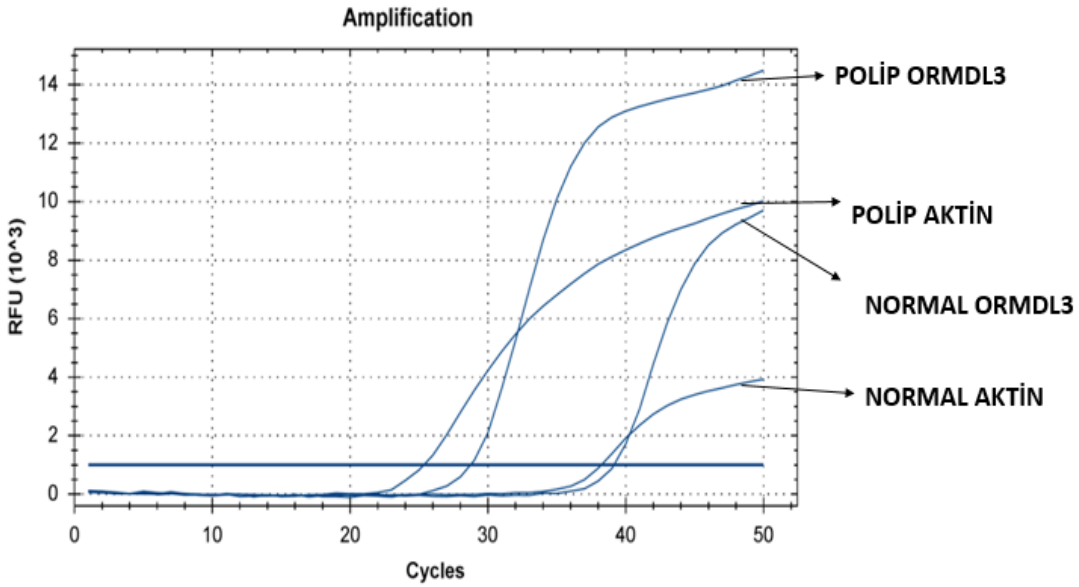
Bu sonuçlara göre NP'li hasta grubunda *RS8076131, RS12603332, RS17608925* ve *RS3169572* gen lokasyonlarında tek gen nükleotid polimorfizmi olarak kabul edilebilecek bir değişim saptanmamıştır. Ancak *RS17608925* lokasyonunda [11]<->[12] (TT<->CT) değişimi anlamlı olarak kabul edilebilir. Bu

çalışmada, ORMDL3'ün astımla ilişkilendirilmiş tek gen nükleotid polimorfizmlerinden sadece ***RS17608925*** lokasyonunda sınırda anlamlı nükleotid değişimi saptanmıştır.

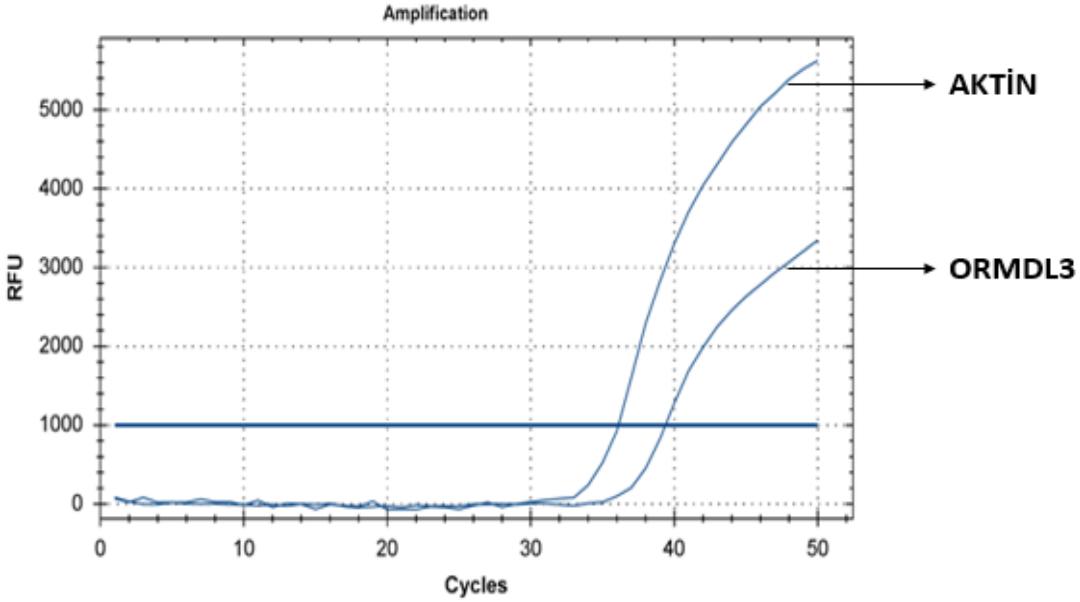
4.2. Gen İfade Düzeylerinin Kantitatif Olarak Değerlendirilmesi

Nazal polipozisli hastalardan alınan polip dokuları, aynı hastalardan alınan konka örnekleri ve sağlıklı gruptan alınan konka örnekleri olmak üzere üç grupta, ORMDL3 ve referans gen olan B-Aktinin mRNA ekspresyon seviyeleri real time PCR yöntemiyle belirlenmiştir. Her örneğin birden fazla sayıda çalışılmasının stabilite açısından daha doğru olması nedeniyle çalışma iki defa yapılmıştır.

Her bir örnek için kantitatif olarak ifadelenme düzeyini gösteren Cq değeri belirlenmiştir. **(Tablo 18, 19) Tablo 18**'de nazal polipozisli hasta grubundan alınan polip örnekleri ve aynı hastadan alınan alt konka örneklerinin B-Aktin ve ORMDL3 için bulunan ortalama Cq değerleri gösterilmiştir. NP'li hasta grubundan alınan polip dokularına ait Cq değerleri tabloda "POLİP", alt konka örneklerine ait Cq değerleri ise "NORMAL" başlığı altında yer almaktadır. **Tablo 19**'da kontrol grubundan alınan konka örneklerinde B-Aktin ve ORMDL3 genleri için bulunan ortalama Cq değerleri gösterilmiştir. Bu değerlerin ayrı ayrı aritmetik ortalaması alınarak her bir grup için ortalama Cq değeri hesaplanmıştır. NP'li hasta grubunda 25 adet polip dokusunun B-Aktin için ortalama Cq değeri 35,27; ORMDL3 için 21,79'dur. NP'li hasta grubundan alınan 25 adet alt konka örneğinin (NORMAL) B-Aktin için ortalama Cq değeri 34,72; ORMDL3 için ortalama Cq değeri 32,88'dir. Kontrol grubundan alınan 29 adet konka örneğinin B-Aktin için ortalama Cq değeri 33,98; ORMDL3 için ortalama Cq değeri 32,32'dir.



Grafik 15. Hasta grubundan alınan polip dokusu örneğinde ve alt konka örneğinde B- AKTİN ve ORMDL3 mRNA amplifikasyon eğrileri



Grafik 16. Kontrol grubundan alınan konka örneğinde B- AKTİN ve ORMDL3 mRNA amplifikasyon eğrileri

Tablo 18. Hasta grubundan alınan polip ve alt konka örneklerinde B-Aktin ve ORMDL3 Cq değerleri

HASTA	B Aktin		ORMDL3	
	POLİP	NORMAL	POLİP	NORMAL
1. HASTA	38,91	34,25	-	35,39
2. HASTA	32,02	34,81	37,75	38,17
3. HASTA	38,93	32,98	-	35,58
4. HASTA	31,63	35,16	37,6	38,79
5. HASTA	38,15	36,35	-	39,36
6. HASTA	36,24	29,12	37,06	32,03
7. HASTA	32,38	34,82	36,82	37,53
8. HASTA	34,98	34,22	37,56	37,13
9. HASTA	39,17	39,26	-	39,06
10. HASTA	35,2	34	38,62	38,13
11. HASTA	43,39	32,98	-	34,06
12. HASTA	25,36	37,47	28,88	40,06
13. HASTA	33,69	38,54	39,85	-
14. HASTA	31,49	39,12	35,48	39,94
15. HASTA	40,69	32,05	-	36,31
16. HASTA	28,02	31,37	32,17	35
17. HASTA	36,62	33,4	-	38,63
18. HASTA	39,79	34,63	-	38,15
19. HASTA	28,64	36,3	33,92	40,03
20. HASTA	40,04	29,17	-	33,69
21. HASTA	41,36	42,87	-	-
22. HASTA	34,56	37,98	39,32	44,89
23. HASTA	37,5	37,04	37,79	-
24. HASTA	30,25	32,03	35,28	36,46
25. HASTA	32,86	29,32	36,72	33,65
ORTALAMA	**35,27**	**34,72**	**21,79**	**32,88**

Tablo 19. Kontrol grubundan alınan alt konka örneklerinde B-Aktin ve ORMDL3 Cq değerleri

KONTROL	B-AKTİN	ORMDL3
1.KONTROL	31,78	32,62
2.KONTROL	29,67	34,27
3.KONTROL	29,64	32,77
4.KONTROL	32,73	36,73
5.KONTROL	34,29	37,81
6.KONTROL	34,03	36,17
7.KONTROL	31,27	33,95
8.KONTROL	37,06	36,69
9.KONTROL	31,29	34,14
10.KONTROL	35,36	39,34
11.KONTROL	33,28	34,49
12.KONTROL	34,72	35,9
13.KONTROL	35,63	38,06
14. KONTROL	31,96	34,44
15. KONTROL	30,43	34,88
16. KONTROL	33,54	36,91
17. KONTROL	29,6	33,01
18. KONTROL	29,5	33,37
19. KONTROL	31,77	34,21
20. KONTROL	35,16	36
21. KONTROL	37,8	40,73
22. KONTROL	35,7	37,04
23. KONTROL	30,1	34,24
24. KONTROL	33,36	36,41
25. KONTROL	36,04	-
26. KONTROL	38,79	21,01
27.KONTROL	40,33	20,1
28.KONTROL	36,29	39,07
29.KONTROL	44,3	-
ORTALAMA	**33,98**	**32,32**

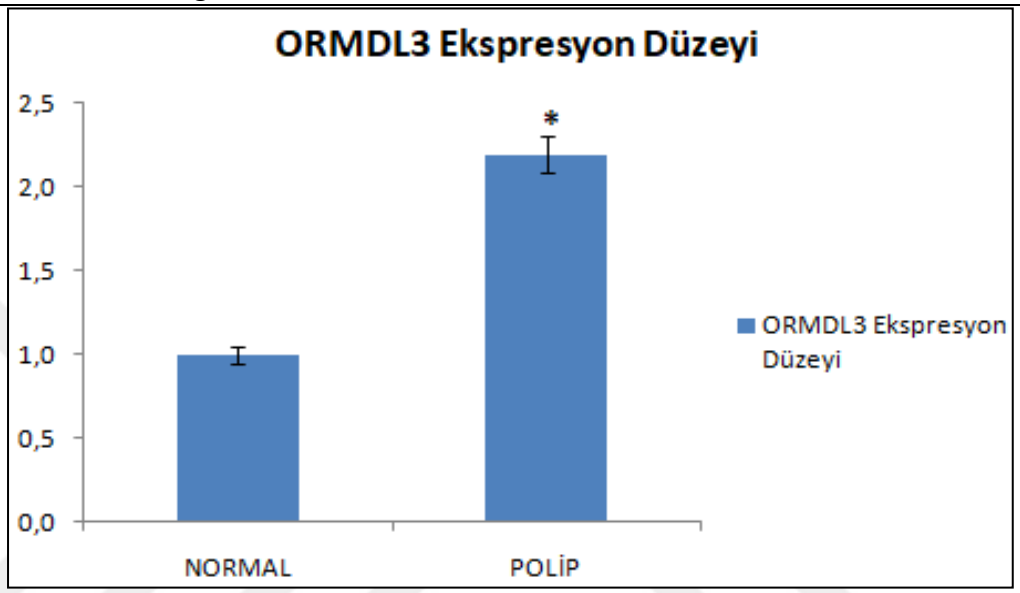
NP'li hasta grubundan alınan 25 adet polip örneğinin tamamında referans gen olan B-Aktin'in ekspresyonu gösterilmiş, dolayısıyla her bir polip örneği için B-Aktin'in Cq değeri belirlenmiştir. 10 adet polip örneğinde ORMDL3 gen ekspresyonunun olmadığı izlenmiştir. Ekspresyonun görülmediği olgular tabloda (-) işareti ile gösterilmiştir. Aynı gruptan alınan 25 adet alt konka örneğinin 3'ünde ORMDL3 ekspresyonunun olmadığı görülmüştür. Kontrol grubunda yer alan 29 konka örneğinin tamamında referans gen olan B-Aktin'in ekspresyonu görülmüştür, ancak 2 örnek ORMDL3 ekspresyonu göstermemiştir.

Real Time PCR ile sentezlenen ORMDL3 mRNA seviyelerinin kantitatif değerlerini gösteren Cq değerlerini, istatistiksel olarak karşılaştırmak amacıyla REST (Relative expression software tool v.2009) programı kullanılmıştır. Programda "Pfaffl" matematiksel yöntemi kullanılmaktadır. Aşağıda Pfaffl eşitliğinde belirtilen E, PCR etkinliğini ifade etmektedir. ΔCq değeri kontrol ile hasta örneklerinin Cq değerleri arasındaki farkı gösterirken, R değeri ise ifadelenme oranını göstermektedir. Cq, tepkime sırasında oluşan floresans ışımanın eşik değerini geçtiği andaki siklus sayısını ifade eder. Cq değeri tepkimenin başında mevcut olan mRNA, dolayısıyla kompleman DNA (cDNA) miktarı ile ters orantılıdır.

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

Tablo 20. Nazal polipozisli hasta grubundan alınan polip (POLİP) ve konka örneklerinde (NORMAL) ORMDL3 ekspresyon düzeyinin karşılaştırılması
*; p<0,05

Gen	Gen Tipi	Reaksiyon Etkinliği	Ekspresyon	P değeri	Sonuç
B-AKTİN	Referans gen	0,9373	1,000		
ORMDL3	Hedef gen	0,9373	2,188	P<0,05	Up-regüle

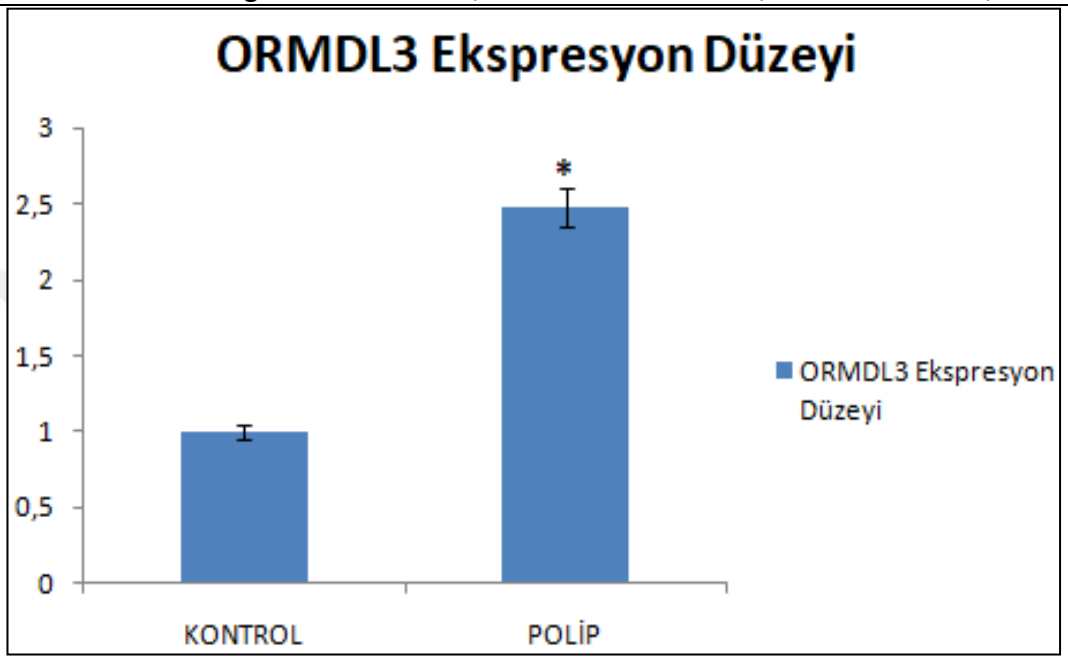


REST programı ile ikili gruplar halinde karşılaştırılan ortalama Cq değerlerinin grafikleri **Tablo 20, 21 ve 22**'de görülmektedir. Grafiklerde nazal polipozisli hasta grubundan alınan polip dokuları "POLİP", aynı gruptan alınan konka örnekleri "NORMAL", sağlıklı gruptan alınan konka örnekleri ise "KONTROL" olarak isimlendirilmiştir. NP'li hasta grubundan alınan 25 adet polip örneği (POLİP), aynı gruptan alınan 25 adet alt konka örneği (NORMAL) ile ORMDL3 mRNA ekspresyon seviyeleri açısından karşılaştırılmıştır. Polip dokusunda, aynı hastadan alınan alt konka örneğine göre ORMDL3 gen ifadelenmesinin 2,18 kat arttığı belirlenmiş ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (p<0,05)

Tablo 21. Nazal polipozisli hasta grubundan alınan polip (POLİP) ve sağlıklı kişilerden alınan konka örneklerinde (KONTROL) ORMDL3 ekspresyon düzeyinin karşılaştırılması

*; p<0,05

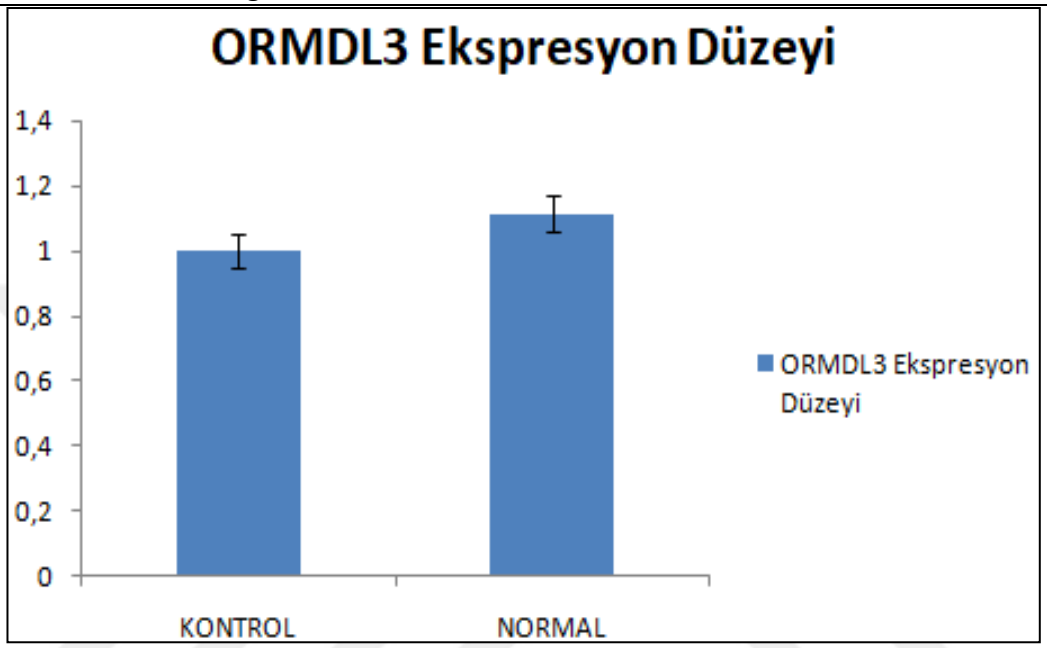
Gen	Gen Tipi	Reaksiyon Etkinliği	Ekspresyon	P değeri	Sonuç
B-AKTİN	Referans gen	0,9373	1,000		
ORMDL3	Hedef gen	0,9373	2,481	P<0,05	Up-regüle



NP'li hasta grubundan alınan 25 adet polip örneği (POLİP), sağlıklı kişilerden alınan 29 adet konka örneği (KONTROL) ile ORMDL3 mRNA ekspresyon seviyeleri açısından karşılaştırılmıştır. Polip dokusunda, kontrol grubundan alınan konka dokusuna göre ORMDL3 mRNA ekspresyonunun 2,48 kat arttığı belirlenmiş ve bu artış istatiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (p<0,05)

Tablo 22. Nazal polipozisli hasta grubundan alınan konka örnekleri (NORMAL) ve sağlıklı kişilerden alınan alt konka örneklerinde (KONTROL) ORMDL3 ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması

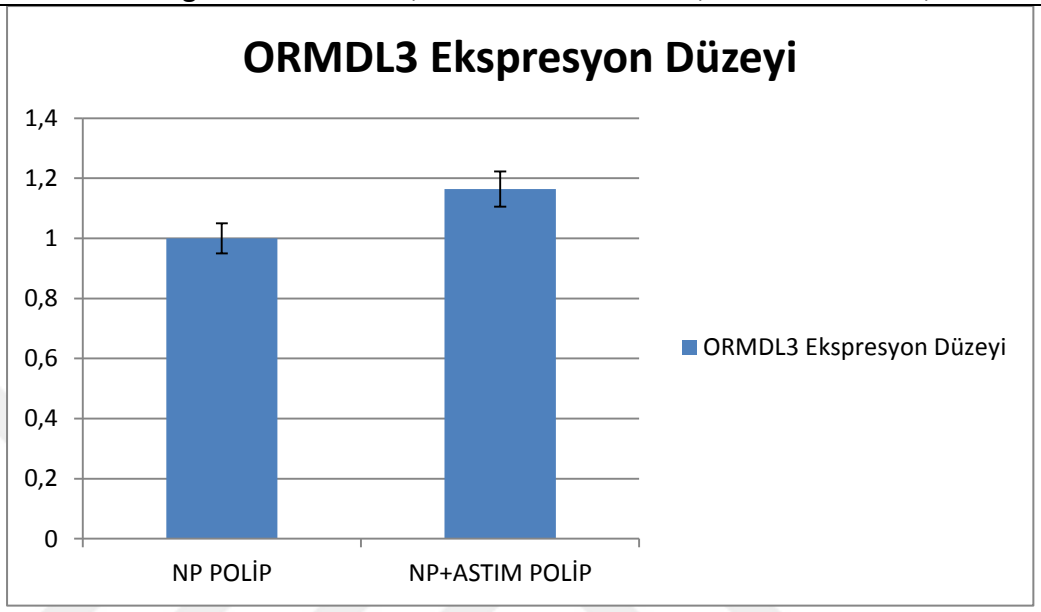
Gen	Gen Tipi	Reaksiyon Etkinliği	Ekspresyon	P değeri	Sonuç
B-AKTİN	Referans gen	0,9373	1,000		
ORMDL3	Hedef gen	0,9373	1,113	P>0,05	Fark yok



NP'li hasta grubundan alınan 25 adet alt konka örneği (NORMAL), sağlıklı kişilerden alınan 29 adet konka örneği (KONTROL) ile ORMDL3 ekspresyonu açısından karşılaştırılmıştır. Nazal polipozisli hasta grubunun konka dokusunda mRNA ekspresyonunun 1,1 kat arttığı bulunmuş, ancak bu farkın istatiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. (p>0,05) Bu sonuçlara göre; polip dokusunda ORMDL3 geninin, hem aynı hastanın nazal mukozasına göre hem de sağlıklı kişilerin nazal mukozasına göre daha fazla ifadelendiği gösterilmiştir.

Tablo 23. Astımı olmayan nazal polipozisli hastaların polip örnekleri (NP POLİP) ile nazal polipozis ve astımın birlikte görüldüğü hastalardan (NP+ASTIM POLİP) alınan polip örneklerinin ORMDL3 ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması

Gen	Gen Tipi	Reaksiyon Etkinliği	Ekspresyon	P değeri	Sonuç
B-AKTİN	Referans gen	0,9373	1,000		
ORMDL3	Hedef gen	0,9373	1,164	P>0,05	Fark yok



Astımlı hastalarda yapılan çalışmalarda havayolu epitelinde ORMDL3 gen ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (123). Bu nedenle NP'li hasta grubu içerisinde astım hastalığı olanlar ve Samter triadına sahip hastalar belirlenmiş, nazal mukozada ORMDL3 ekspresyonunun astım varlığına göre artış gösterip göstermediği incelenmek istenmiştir. 25 NP'li hasta içerisinde yer alan 9 astımlı hastanın ortalama Cq değeri, sadece NP'si olan 17 hastanın ortalama Cq değeri ile karşılaştırılmıştır. Astımlı hasta grubuna aspirin alerjisi olan 4 hasta dahil edilmiştir. ORMDL3'ün, astımlı hastaların polip dokusunda sadece polipli hastaların polip dokularına göre 1,1 kat daha fazla ekspresyon gösterdiği, ancak bu ekspresyon farklılığının istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur. (p>0,05)

NP'li hasta grubundan alınan 25 adet polip dokusunun 10 tanesinde B-Aktin ekspresyonu görülmesine karşın ORMDL3 ekspresyonu izlenmemiştir, benzer

şekilde aynı hasta grubundan alınan alt konka örneklerinin 3 tanesinde B-Aktin ekspresyonu görülmesine rağmen ORMDL3 ekspresyonu görülmemiştir. ORMDL3 ekspresyonu göstermeyen dokuların hesaplamaya dahil edilmediği durumda 15 polip dokusu için hesaplanan ortalama ORMDL3 Cq değeri 36,32; 22 alt konka örneği için hesaplanan ortalama ORMDL3 Cq değeri 37,37 olmaktadır. Bu değerler baz alınarak REST programında yapılan istatiksel analiz sonucunda; ORMDL3 ekspresyonunun, polip örneklerinde aynı gruptan alınan konka örneklerine göre 2,6 kat artış gösterdiği görülmüş, bu artış ise istatiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ($p<0,05$)

Kontrol grubundan alınan 29 adet alt konka örneğinin 2 tanesinde B-Aktin ekspresyonu görülmesine rağmen ORMDL3 ekspresyonu görülmemiştir. ORMDL3 ekspresyonu göstermeyen dokuların hesaplamaya dahil edilmediği durumda kontrol grubu için bulunan ortalama ORMDL3 Cq değeri 34,72'dir. Bu değer baz alınarak yapılan istatiksel analize göre kontrol grubundan alınan doku örnekleri ile NP'li hasta grubundan alınan örnekler arasında ORMDL3 ekspresyonu açısından anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

4.3. ORMDL3 proteinin ifadelenme düzeyi

Santral dogma zincirinin son ve en önemli aşaması olan protein sentezi, bir genin kesin olarak hangi düzeyde ifadelendiğini araştırmak için oldukça önemlidir. Bu nedenle, ORMDL3 ifadelenmesinin sadece mRNA düzeyindeki ekspresyonunu araştırmanın yeterli olmayacağı, ORMDL3'ün protein düzeyinde ifadelenmesinin de gösterilmesi gerektiği düşünülmüştür. Dokularda spesifik bir proteinin tayinin antikorlarla yapılmasını sağlayan teknik immünhistokimyasal boyama olup dokudaki

proteinleri analiz etmemizi sağlayan diğer bir moleküler biyoloji tekniği ise western blot yöntemidir.

ORMDL3 proteinin ifadelenmesini dokularda göstermek ve dokular arası protein düzeyinde ifadelenme farklılıklarını incelemek amacıyla immünhistokimyasal (IHKsal) çalışma yapılmıştır. Bu amaçla NP'li hasta grubundan alınan 25 adet polip, aynı gruptan alınan 13 adet alt konka ve kontrol grubundan alınan 15 adet konka örneğinde anti-ORMDL3 antikoru ile (dilüsyon:1/100; poliklonal tavşan antikoru, insana spesifik; katalog no: ab211522; Abcam, Cambridge, İngiltere) boyama yapılmıştır.

Bir endoplazmik retikulum proteini olan ORMDL3'ün inflamatuar hücrelerin ve epitel hücrelerinin nukleus ve sitoplazmasında yer aldığı bilinmektedir. Literatürde astımlı olgularda akciğer epitelinde ORMDL3 antikoru ile yapılan bir IHKsal çalışmada, antikorun primer olarak epitelde ve inflamatuar hücrelerde boyanma gösterdiği bildirilmektedir (135). Bu çalışmada da benzer şekilde nazal mukozada epitelinde ve stromadaki inflamatuar hücrelerde anti- ORMDL3 antikoru ile boyanma izlenmiştir. Dokular arası boyanma şiddetini kantitatif olarak karşılaştırabilmek amacıyla kriterler belirlenmiştir. Preparatlar incelenerek epitelde boyanma durumu belirlenmiştir. Doku örneklerinin epiteldeki boyanma durumu; boyanma var, boyanma yok ve fokal zayıf boyanma var olarak gruplandırılmıştır. Bir büyük mikroskobik büyütme alanında (BBA) (400x) ORMDL3 ile en yoğun boyanan intraepitelyal inflamatuar hücre sayısı, bir BBA'da stromada ORMDL3 ile en yoğun boyanan inflamatuar hücre sayısı ve bütün alandaki inflamatuar hücre sayısının yüzdesi her bir örnek için ayrı ayrı hesaplanmıştır.

Kontrol grubunda yer alan 15 konka örneğinin 7 tanesinde ve NP'li hasta grubunda yer alan 13 konka örneğinin 7 tanesinde rutin doku takibi sırasında epitelde

ayrışma izlenmiştir. Bu nedenle bu örneklerde epitelyal boyanma durumu belirlenememiştir, intraepitelyal inflamatuar hücre sayısı ise hesaplanamamıştır. Dolayısıyla epitelde boyanma ve intraepitelyal inflamatuar hücre sayısı açısından karşılaştırma NP'li gruptan alınan konka örneklerinde 6 örnek, kontrol grubundan ise 8 örnek baz alınarak yapılmıştır. Doku örnekleri birbirleriyle SPSS v15.0 istatistik analiz programı aracılığıyla ikili gruplar halinde karşılaştırılmıştır. İstatistiksel karşılaştırma yapabilmek amacıyla 100'den büyük stromal inflamatuar hücre sayısı değerleri 100'e eşit, boyanma yüzdesi %5'ten küçük olan değerler ise %3'e eşit kabul edilmiştir.

Tablo 24. Polip örnekleri ve kontrol grubundan alınan konka örneklerinin IHKsal parametreler açısından karşılaştırılması

	POLİP (median/min-maks)	**KONTROL (median/min-maks)**	**U değeri**	***p değeri**
İE inf hücre [1]	12 (1-65)	0 (0-7)	9	p<0,01
Stromal inf hücre[2]	60 (24-100)	4 (0-100)	23,5	p<0,01
Boyanma yüzdesi[3]	10 (3-30)	5 (0-20)	64,5	p<0,01

**Mann Whitney U testi uygulanmıştır.* [1]*: Bir BBA'da anti-ORMDL3 ile en yoğun boyanan intraepitelyal inflamatuar hücre sayısı,* [2]*: Bir BBA'da stromada ORMDL3 ile en yoğun boyanan inflamatuar hücre sayısı,* [3]*: Bütün alandaki inflamatuar hücre sayısının yüzdesi*

Tablo 25. NP'li hasta grubundan alınan konka örnekleri ile kontrol grubundan alınan konka örneklerinin IHKsal parametreler açısından karşılaştırılması

	KONTROL (median/min-maks)	**NORMAL (median/min-maks)**	**U değeri**	***p değeri**
İE inf hücre[1]	0 (0-7)	1 (0-3)	15	0,28
Stromal inf hücre[2]	4 (0-100)	24 (0-100)	54,5	0,08
Boyanma yüzdesi[3]	5 (0-20)	10 (0-30)	8	0,47

**Mann Whitney U testi uygulanmıştır.* [1]*: Bir BBA'da anti-ORMDL3 ile en yoğun boyanan intraepitelyal inflamatuar hücre sayısı,* [2]*: Bir BBA'da stromada ORMDL3 ile en yoğun boyanan inflamatuar hücre sayısı,* [3]*: Bütün alandaki inflamatuar hücre sayısının yüzdesi*

NP'li hasta grubundan alınan polip örnekleri (POLİP), aynı gruptan alınan konka örnekleri (NORMAL) ve kontrol grubundan alınan konka örnekleri (KONTROL), belirlenen dört İHK parametrenin üçü açısından birbirleriyle ikili gruplar halinde karşılaştırılmıştır. Polip örnekleri ile kontrol grubundan alınan konka örneklerinin; bir BBA'da anti-ORMDL3 ile boyanan intraepitelyal inflamatuar hücre sayısı, bir BBA'daki stromal inflamatuar hücre sayısı ve bütün alandaki inflamatuar hücre sayısının yüzdesinin ortanca değerleri Mann Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır. Karşılaştırmanın istatistiksel analiz sonuçları **Tablo 24**'te gösterilmiştir. Buna göre; polip ve kontrol dokuları arasında bu üç parametre açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. *(p<0,01)*

Nazal polipozisli hasta grubundan alınan konka örnekleri (NORMAL) ve kontrol grubundan alınan konka örnekleri (KONTROL) aynı üç parametre açısından birbirleriyle Mann Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır. **Tablo 25**'te istatistiksel analize ait veriler görülmektedir. Buna göre; hasta gruptan alınan konka örnekleri (NORMAL) ile kontrol grubundan (KONTROL) alınan konka örnekleri arasında intraepitelyal inflamatuar hücre sayısı, stromal inflamatuar hücre sayısı ve boyanma yüzdesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 26. Polip örnekleri ile aynı gruptan alınan konka örneklerinin IHKsal parametreler açısından karşılaştırılması

	POLİP (median/min-maks)	**NORMAL (median/min-maks)**	**z değeri**	***p değeri**
İE inf hücre [1]	7 (0-65)	0 (0-7)	-2,2	0,05
Stromal inf hücre[2]	36 (0-100)	7 (0-100)	-2,6	p<0,01
Boyanma yüzdesi[3]	5 (0-30)	10 (0-30)	0,00	1,00

***** *Wilcoxon testi uygulanmıştır.* [1]: *Bir BBA'da anti-ORMDL3 ile en yoğun boyanan intraepitelyal inflamatuar hücre sayısı,* [2]: *Bir BBA'da stromada ORMDL3 ile en yoğun boyanan inflamatuar hücre sayısı,* [3]: *Bütün alandaki inflamatuar hücre sayısının yüzdesi*

Nazal polipozisli hasta grubundan alınan polip örnekleri ile aynı hastadan alınan alt konka örnekleri, bağımlı gruplar oluşturmaları nedeniyle bu üç parametre açısından Wilcoxon testi ile karşılaştırılmıştır. Yapılan istatistiksel analize ait veriler **Tablo 26**'da gösterilmiştir. Buna göre; bu iki grup arasında boyanma yüzdesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Ancak bu iki grup arasında intraepitelyal inflamatuar hücre sayısı *(p=0,05)* ve stromal inflamatuar hücre sayısı açısından anlamlı fark mevcuttur. *(p<0,01)*

Tablo 27. Polip örnekleri ile kontrol grubundan alınan konka örneklerinin epitelyal boyanma açısından karşılaştırılması

	Örnek Grupları			
	POLİP		**KONTROL**	
	Sayı	**(%)***	**Sayı**	**(%)***
Epitelyal boyanma				
VAR	18	75	6	25
YOK	4	80	1	20
FOKAL ZAYIF	2	66,7	1	33,3
x^2=0,17 **p=0,91				

**Satır yüzdesi*
***Pearson'ın ki-kare testi uygulanmıştır.*

NP'li hasta grubundan alınan polip örnekleri ve kontrol grubundan alınan konka örnekleri epitelyal boyanma açısından Pearson'ın ki-kare testi aracılığıyla karşılaştırılmıştır. **Tablo 26**'da yapılan istatistiksel analize ait veriler görülmektedir. Buna göre; polip dokuları ve kontrol grubundan alınan dokular arasında epitelyal boyanma açısından istatistiksel olarak olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 28. Polip örnekleri ve aynı gruptan alınan konka örneklerinin epitelyal boyanma durumları

	POLİP			
NORMAL	**Epitelyal Boyanma**	**VAR sayı, (%)***	**YOK sayı, (%)***	**FOKAL ZAYIF sayı, (%)***
	VAR	10 (%90,9)	1 (%9,1)	0 (%0)
	YOK	0 (%0)	1 (%100)	0 (%0)
	FOKAL ZAYIF	1 (%50)	0 (%0)	1 (%50)

**: Satır yüzdesi*

NP'li hasta grubundan alınan polip örnekleri (POLİP) ile aynı gruptan alınan konka örnekleri (NORMAL) epitelyal boyanma durumu açısından karşılaştırılmıştır. Bu iki grubun bağımlı gruplar olması nedeniyle polip örnekleri, sadece verisi mevcut olan konka örnekleri ile karşılaştırılabilmiştir. Epitelyal boyanmanın olmadığı ve fokal zayıf boyanma izlenen bazı gruplarda olgu olmaması nedeniyle McNemar testi yorumlanamamıştır, bu nedenle gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel anlamlılık açısından değerlendirilememiştir. Analiz sonucuna ait tanımlayıcı veriler **Tablo 28**'de görülmektedir. Bu analize göre; NP'li hasta grubundan alınan ve epitelyal boyanma gösteren konka örneklerinin %90,9'u, aynı zamanda epitelyal boyanma gösteren polip örneklerinin de %90,9'unu oluşturmaktadır.

Polip örnekleri astım varlığına göre birbirleri ile intraepitelyal inflamatuar hücre sayısı, stromal inflamatuar hücre sayısı ve boyanma yüzdesi açısından Mann Whitney U testi aracılığıyla karşılaştırılmıştır. Astımlı hastalara ait doku örneği sayısı 9 olup, geriye kalan doku örnekleri ile (n=16) karşılaştırıldığında bu üç parametre açısından iki grup arasında anlamlı fark saptanmamıştır. **Tablo 29**'da istatiksel analize ait veriler görülmektedir.

Tablo 29. Polip örneklerinin astım varlığına göre IHKsal parametreler açısından karşılaştırılması

	Polip Örnekleri		U değeri	p değeri
	Astım varlığı			
	VAR (median/min-maks)	YOK (median/min-maks)		
İE inf hücre sayısı[1]	12 (6-65)	11,50 (1-52)	47,5	0,32
Stromal inf hücre[2]	84 (26-100)	52 (24-10)	46	0,29
Boyanma yüzdesi[3]	10 (3-30)	10 (3-30)	68	0,84

**Mann Whitney U testi uygulanmıştır.* [1]*: Bir BBA'da anti-ORMDL3 ile en yoğun boyanan intraepitelyal inflamatuar hücre sayısı,* [2]*: Bir BBA'da stromada ORMDL3 ile en yoğun boyanan inflamatuar hücre sayısı,* [3]*: Bütün alandaki inflamatuar hücre sayısının yüzdesi*

Nazal polipozisli hasta grubundan alınan polip örnekleri, astım varlığına göre birbirleri ile epitelyal boyanma açısından Pearson'ın ki-kare testi aracılığıyla karşılaştırılmıştır. İstatiksel analize ait veriler **Tablo 30**'da görülmektedir. Buna göre, astım varlığı polip örneklerinde epitelyal boyanma açısından istatistiksel olarak anlamlı farka neden olmamaktadır.

Tablo 30. Polip örneklerinin astım varlığına göre epitelyal boyanma açısından karşılaştırılması

Epitelde boyanma durumu	Polip Örnekleri			
	Astım varlığı			
	VAR		YOK	
	Sayı	(%)*	Sayı	(%)*
VAR	6	75	12	75
YOK	1	12,5	3	18,8
FOKAL ZAYIF	1	12,5	1	6,2
X^2= 0,37 **p=0,82				

*Satır yüzdesi

***Pearson'ın ki-kare testi uygulanmıştır.*

Tablo 31. Polip örneklerinde epitelyal boyanma ile mRNA ekspresyonu arasındaki korelasyon analizi

	mRNA ekspresyonu		
	VAR **sayı, (%)***	**YOK** **sayı, (%)***	
Epitelyal boyanma			**p=0,75 Phi=0,15 Cramer's V=0,15
VAR	10 (%55,6)	8 (%44,4)	
YOK	3 (%75)	1 (%25)	
FOKAL ZAYIF	1 (%50)	1 (%50)	

**Satır yüzdesi*

***Phi ve Cramer's V korelasyon analizi uygulanmıştır.*

Polip örneklerinde anti-ORMDL3 antikorunun neden olduğu epitelyal boyanma ile bu dokulardaki mRNA ekspresyonu varlığı arasındaki korelasyon Phi ve Cramer's V analizi ile incelenmiştir. Dokulardaki mRNA ekspresyonu varlığı "var" ve "yok" olarak kodlanmıştır. **Tablo 31**'de, epitelyal boyanma ile mRNA ekspresyonu arasında istatiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmadığı görülmektedir.

Tablo 32. Polip örneklerinde mRNA ekspresyonu ile IHKsal parametrelerin karşılaştırılması

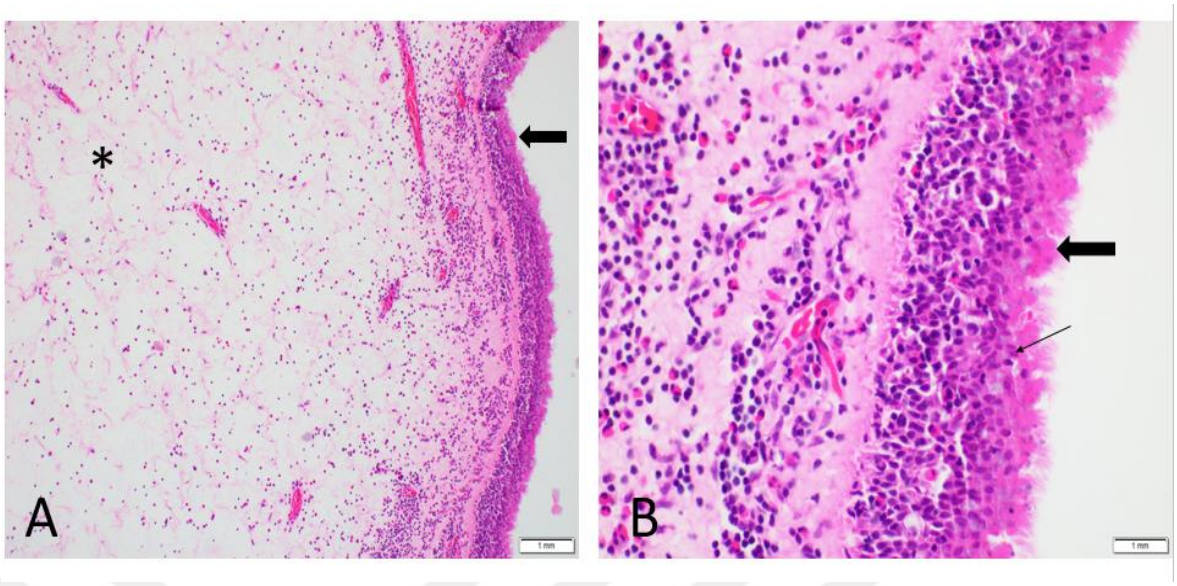
	mRNA ekspresyonu		U değeri	p değeri
	VAR **(median/min-maks)**	**YOK** **(median/min-maks)**		
İE inf hücre[1]	16,5 (1-65)	8,5 (3-22)	47,5	0,19
Stromal inf hücre[2]	60 (24-100)	54 (26-100)	62,5	0,66
Boyanma yüzdesi[3]	10 (3-30)	12,5 (3-30)	71	0,84

**Mann Whitney U testi uygulanmıştır.* [1]: *Bir BBA'da anti-ORMDL3 ile en yoğun boyanan intraepitelyal inflamatuar hücre sayısı,* [2]: *Bir BBA'da stromada ORMDL3 ile en yoğun boyanan inflamatuar hücre sayısı,* [3]: *Bütün alandaki inflamatuar hücre sayısının yüzdesi*

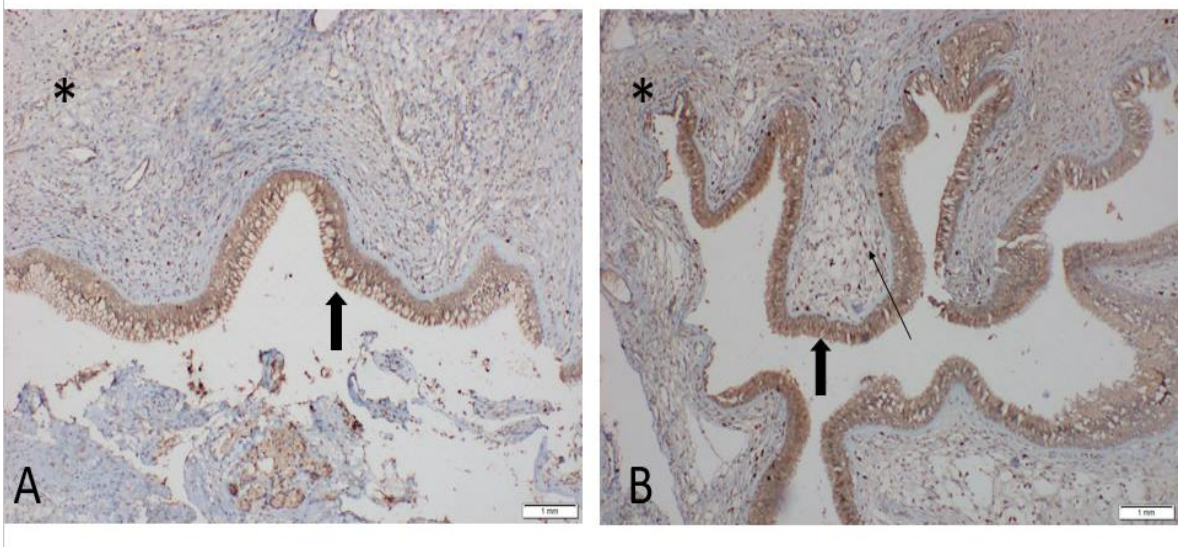
Polip örneklerinde, ORMDL3 protein ifadelenmesini gösteren diğer IHKsal parametreler ile mRNA ekspresyonu varlığı arasındaki ilişki Mann Whitney U testi ile analiz edilmiştir. Bu parametreler; anti-ORMDL3 antikoru ile boyanan intraepitelyal inflamatuar hücre sayısı, stromal inflamatuar hücre sayısı ve boyanma yüzdesi olarak belirlenmiştir. mRNA ekspresyonu ile bu parametreler ikili gruplar halinde karşılaştırıldığınıda istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Analize ait veriler **Tablo 32**'de görülmektedir.

NP'li gruptan alınan konka örnekleri ve kontrol grubundan alınan konka örneklerinde IHKsal parametreler ve mRNA ekspresyonu varlığının ilişkisi, vaka sayısının azlığı ve doku takip artefaktları sonucu bazı verilerdeki eksiklik nedeniyle analiz edilememiştir.

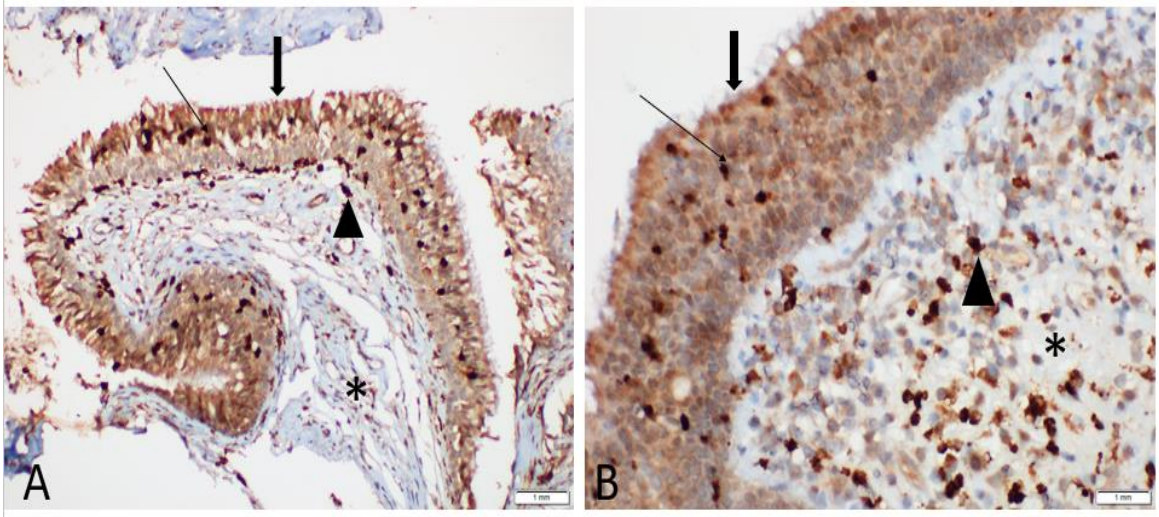
Aşağıdaki şekilllerde, NP'li hasta grubundan alınan polip, aynı gruptan alınan konka örnekleri ve kontrol grubundan alınan konka örneklerinin H&E ve anti-ORMDL3 antikoru ile boyanmış kesitleri mevcuttur. **Şekil 2**'de nazal polip dokusuna ait H&E (hematoksilen-eozin) ile boyanmış kesitler izlenmektedir. Nazal polipozise ait karakteristik özellikler olan yoğun ödemli stroma, stromada bol miktarda inflamatuar hücre, yalancı çok katlı silyalı epitel ve intraepitelyal inflamatuar hücreler izlenmektedir. **Şekil 3** ve **Şekil 4**'te polip dokusunun anti-ORMDL3 antikoru ile boyanmış kesitleri görülmektedir. Antikorun, epitelde ve stromadaki inflamatuar hücrelerde kuvvetli sitoplazmik boyanmaya neden olduğu dikkati çekmiştir. Stromal mezankimal hücrelerde boyanma görülmemiştir. Dolayısıyla nazal polip dokusunda ORMDL3 proteininin yoğun olarak bu iki hücre tipinde eksprese olduğu yorumu yapılmıştır.



Şekil 2. Nazal polip, H&E ile boyalı kesitler.
A.* ile gösterilen ödemli stroma ve yalancı çok katlı silyalı epitel (kalın ok), 100x büyütme B. Yalancı çok katlı silyalı epitel (kalın ok) ve intrepitelyal inflamatuar hücreler (ince ok), 200x büyütme



Şekil 3. Nazal polip, anti ORMDL3 antikoru ile boyalı kesitler.
A.* ile gösterilen stroma ve kalın okla gösterilen kahverengi ile boyanan yalancı çok katlı silyalı epitel, epitel tabakasında yoğun goblet hücresi izlenmektedir. 100x büyütme B. * ile gösterilen stroma ve kalın okla gösterilen epitel. İnce ok, antikor ile kuvvetli boyanan inflamatuar hücreyi işaret etmektedir. 100x büyütme

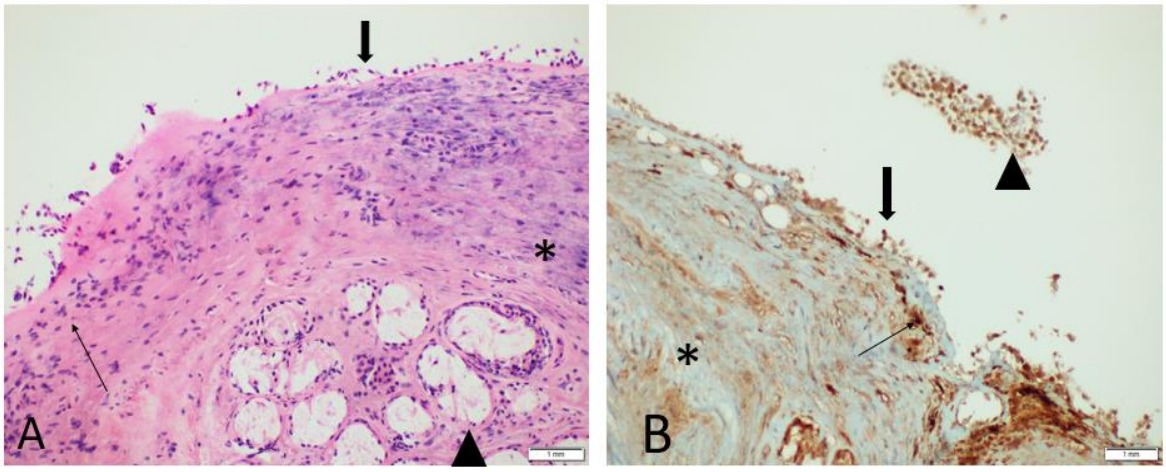


Şekil 4. Nazal polip, anti ORMDL3 ile boyanmış kesitler.

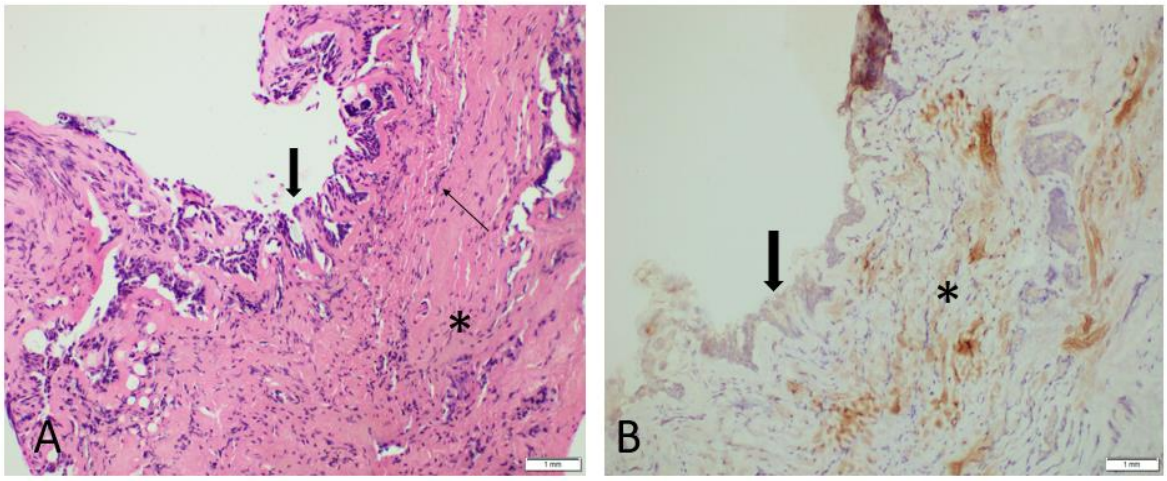
A. Ödemli stroma (*), stromada inflamatuar hücreler (ok ucu), anti ORMDL3 antikoru ile yoğun olarak boyanan yalancı çok katlı silyalı epitel (kalın ok), intraepitelyal inflamatuar hücreler (ince ok), 200x büyütme. B. Antikor ile boyanan epitel (kalın ok), intraepitelyal inflamatuar hücreler (ince ok), stromada yoğun inflamatuar hücre (ok ucu) görülmektedir. 400x büyütme

Şekil 5'te da nazal polipli bir olguya ait alt konka örneğinin H&E ve anti-ORMDL3 boyalı kesitleri görülmektedir. **Şekil 5A**'da doku takip artefaktı geliştiği ve epitelin ayrıldığı görülmektedir. **Şekil 5B**'de aynı örneğin epitelinin ve stromal inflamatuar hücrelerinin anti-ORMDL3'le hafif-orta derecede boyandığı görülmektedir.

Şekil 6'da sağlıklı kontrol grubundan alınan konka mukozasına ait bir doku örneğinin H&E ve anti-ORMDL3 ile boyalı kesitleri görülmektedir**. Şekil 7A**'da yalancı çok katlı yassı epitel ve stromada fibroblastlar izlenmektedir. Anti-ORMDL3 ile boyalı kesitte ise epitelin boyanmadığı, örneğin totalde hafif derecede boyandığı görülmektedir. Dolayısıyla bu örnekte ORMDL3 proteininin az miktarda eksprese olduğu yorumu yapılmıştır.



Şekil 5. Nazal polipozisli olguya ait alt konka mukozası
A. Konka mukozası, H&E ile boyalı kesit. Stromada (*) fibroblastlar (ince ok) ve submukozal glandlar (ok ucu) görülmektedir. Epitel büyük oanda dökülmüş görünümdedir (kalın ok), 200x büyütme. B. Konka mukozası, anti ORMDL3 ile hafif-orta derecede boyanma. Stromada (*) görülen az sayıda inflamatuar hücre (ince ok), fragmante olmuş epitel hücre adası (ok ucu) ve geriye kalan epitel (kalın ok), 200x büyütme



Şekil 6. Kontrol grubundan bir olguya ait konka mukozası.
A. Konka mukozası, H&E ile boyalı kesit. Stromada (*) fibroblastlar (ince ok) ve yalancı çok katlı silyalı epitel (kalın ok), 200x büyütme. B. Konka mukozası, anti ORMDL3 ile hafif boyanmış olan kesit. Epitelde (kalın ok) boyanma olmadığı, stromada (*) boyanma gösteren çok seyrek inflamatuar hücre olduğu görülmektedir. 100x büyütme

5. TARTIŞMA

Rinosinüzit, toplumda yaygın görülmesi, hayat kalitesini bozması ve getirdiği ekonomik yük nedeniyle önemli bir sağlık problemidir. Rinosinüzitler, burun ve paranazal sinüs mukozasının inflamasyonu ile karakterize bir hastalık grubudur. Rinosinüzit olguları; burun tıkanıklığı, burun akıntısı, postnazal akıntı, yüz ağrısı, yüzde basınç hissi ve koku almada azalma veya kayıp belirtileri ile başvurmaktadır. Semptomların 12 haftadan kısa sürüp kliniğin düzeldiği durumlar akut rinosinüzit olarak değerlendirilirken; belirtilerin12 haftadan uzun sürdüğü durumlar ise kronik rinosinüzit (KRS) olarak tanımlanmaktadır. Kronik rinosinüzit belirti ve klinik bulgularının yanı sıra endoskopik muayenede nazal poliplerin varlığının gösterilmesi ile hastalık, polipli KRS veya nazal polipozis (NP) adını almaktadır (1).

Nazal polipozis; toplumda sık görülmesi, etyopatogenezinin tam olarak aydınlatılamaması, tedavisinin güç olması ve tedavi sonrası nükslerin sık görülmesi nedeniyle önemli bir hastalıktır. Prevalans çalışmalarına göre toplumdaki nazal polip prevalansı %1-4 arasında değişmektedir (14). Nazal polipozis kronik rinosinüzitlerin %20-30 kadarını oluşturmaktadır. Yapılan epidemiyolojik çalışmalara göre nazal polipozisin ortalama ortaya çıkış yaşı 42'dir (18). 20 yaşın altında ise nadiren görülür (19). NP'nin görülme insidansı yaşla birlikte artar. Yaşın ilerlemesi ile beraber inflamatuar sürece maruziyetin artması ve poliplerin belirti verecek hale gelmesi ileri yaşlarda görülme sıklığının artmasından sorumlu tutulmaktadır (14). Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak NP hasta grubunun yaş ortalaması 44,1 ± 12,5 olarak tespit edilmiştir. Grupta 20 yaş altında hasta yer almamaktadır, 40 yaş altında olan hastalar ise grubun %36'sını oluşturmaktadır. NP grubunun yaş ortalamasının, kontrol grubunun (34,6 ± 10,5) 1,2 katı olduğu saptanmıştır.

Nazal polipozis, erkeklerde kadınlara göre 2 kat fazla görülmektedir. Çalışmamızda nazal polipozisli hasta grubunda yer alan hastaların erkek kadın oranı ise 1,5'tir. Literatürdeki çalışmalara göre nazal polipozisli kadınlar erkeklere göre astıma 1,6 kat daha yatkındır (17). Çalışmamızda yer alan 9 astımlı hastanın 7 tanesi kadındır, dolayısıyla astım ve nazal polipozisin birlikte görüldüğü kadınlar bu grubun %77,7'sini oluşturmaktadır.

Çalışma grubundaki hastalar nazal polipozis hastalığının yanında astım, nonsteroid antiinflamatuar ilaç alerjisi ve Samter triadı açısından değerlendirilmiştir. Çalışmaya dahil edilen 25 nazal polipozisli hastanın 9 tanesinde sadece astım, 4 tanesinde ise astım ve nonsteroid antiinflamatuar ilaç alerjisi beraber görülmüştür.

Çalışma grubundaki hastalar ameliyat öncesinde Meltzer ve arkadaşlarının önerdiği evreleme sistemine göre endoskopik olarak evrelendirilmiştir. Bu sisteme göre hastaların %44'ü evre 1 ve 2, %32'si evre 3, %24'ü ise evre 4 ve 5 endoskopik evreleme sınıfında yer almaktadır. Bu sonuca göre hastaların endoskopik evreleme açısından dengeli bir dağılım gösterdikleri söylenebilir. Çalışma grubundaki hastaların bilgisayarlı tomografileri preoperatif olarak Lund - Mackay evreleme sistemine göre puanlandırılmıştır. 4 hasta revizyon ESC geçirmeleri nedeniyle skorlamaya dahil edilmemiştir. Geriye kalan 21 hastanın Lund-Mackay skor ortalaması 16,1 olarak bulunmuştur. (minimum: 9, maksimum 24) Nazal polipozis; genellikle tüm paranazal sinüsleri tutmakta ve ostiomeatal kompleksleri oblitere etmektedir, cerrahi tedavi kararı da çoğunlukla hastalığın gürültülü seyrettiği ve Lund Mackay skorunun yüksek olduğu hastalarda alınmaktadır, bu nedenle çalışmamızdaki skorun ortalama değeri tutarlıdır.

Nazal polipozis etiyolojisi multifaktöriyeldir. Etiyolojide hem çevresel hem de hastaya bağlı etkenler yer almaktadır. Nazal mukozada inflamasyona ve ödem

gelişmesine neden olan çevresel etkenlerin başlıcaları enfeksiyöz (bakteriler, mantarlar, biyofilmler ve süperantijenler) nedenlerdir. Ancak enfeksiyöz etkenlerin NP'de primer antijenik uyaran olduğu görüşü büyük ölçüde terk edilmiştir, dolayısıyla bu etkenlerin kesin etiyolojik ajan olmaktan ziyade hastalık şekillendirici olarak rol oynadıkları düşünülmektedir (1). Hastaya bağlı etkenlerin başında ise genetik altyapı bulunmaktadır. Çevresel faktörlerin yanı sıra genetik unsurların nazal polipozis etiyolojisinde rol aldığı pek çok çalışmada gösterilmiştir. NP'li hastaların yaklaşık %14'ünün aile öyküsünün pozitif olması, kalıtımın NP gelişimindeki etkisini desteklemektedir (46). Birçok genetik ilişki çalışmasında, belirli HLA (insan lökosit antijeni) allelleri ve NP arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. HLA-A74, HLA-DR7- DQA1*0201, HLA-DR7¬DQB1*0202 ve HLA-DQA1*0201-DQB1*0201 haplotipi taşıyan bireylerde nazal polip gelişme olasılığının daha fazla olduğu gösterilmiştir (55-57).

Samter triadı, kistik fibrozis, Churg-Strauss sendromu, Young sendromu, primer siliyer diskinezi ve Woakes sendromu nazal polipozis ile ilişkilendirilen genetik temelli sendromlardır. Nazal polipozis etyopatogenezinde, proinflamatuar ve antiinflamatuar genlerin ve bu genlerin ekspresyonları arasındaki dengenin rol oynadığı bilinmektedir. Bu dengeyi etkileyen en önemli faktör genetik nedenlerdir, bu genler üzerinde hastalığa yatkınlık yaratabilecek polimorfizmler görülebilmektedir. En sık görülen polimorfizm ise DNA sekansında tek bir nükleotidin değişmesiyle gerçekleşen tek gen nükleotid polimorfizmleri (SNP) dir. Literatürde nazal polipozis ile en sık ilişkilendirilen üç SNP; IL-1α, TNF ve AOAH (Acyloxyacyl Hydrolase) genleri üzerinde yer almaktadır (49-51). 2007 yılında Erbek ve arkadaşları tarafından Türk popülasyonunda yapılan proinflamatuar genlerdeki SNP'ler ile nazal polipozis ilişkisini inceleyen çalışmada; IL-1α, IL-1β ve

TEF (tirotrop embriyonik faktör) genlerindeki SNP'ler hastalık ile ilişkili bulunmuştur (52). Nazal polipozisin genetik temellerini araştırmak amacıyla yapılmış SNP çalışmalarının yanı sıra etyopatogenezde rolü olduğu düşünülen pek çok genin ekspresyon ürünlerinin NP'de arttığını veya azaldığını gösteren çalışmalar mevcuttur.

Nazal polipozis ve astım arasında güçlü bir ilişki mevcuttur. Nazal polipler ve bronşiyal astımın havayolu mukozasının aynı kronik inflamatuar hastalığın üst ve alt havayolu belirtileri olarak karşımıza çıktığı giderek daha fazla kabul edilen bir görüştür. Nazal ve bronşiyal mukoza pek çok açıdan benzerlik gösterir. Astımda ortaya çıkan inflamatuar hücrelerin, mediatörlerin ve fizyopatolojik mekanizmaların benzerleri rinitlerde ve nazal polipoziste de görülmekte, bu da "tek havayolu tek hastalık" tezini güçlendirmektedir. Astım ve nazal polipoziste histopatolojik bulgular, havayolu yeniden biçimlenmesi (epitelyal dökülme, bazal membranda kalınlaşma), eozinofilik infiltrasyon, Th2 hücre hakimiyeti ve IL-5 üretimi ortaktır. Bu durum iki hastalıkta benzer fizyopatolojik mekanizmaların olduğunu düşündürmektedir (111). Nazal polipli hastaların %20-60'ında astım görülmektedir (27). Astımlı hastalarda nazal polipozis prevalansı %7'dir, toplumda astım görülme sıklığı (%4) ile karşılaştırıldığında bu oran daha yüksektir. Kadınlarda astım ve nazal polipozis birlikteliği daha sık görülmektedir (20, 114). Non atopik astım ve geç başlangıçlı astımda NP görülme prevalansı (%15-20), alerjik astıma göre daha yüksektir (115, 116). Bu bilgiler ışığında, NP ve astım arasındaki benzerliklerin nedeninin sadece alerji ile açıklanamayacağı, benzer fizyopatolojik mekanizmaları tetikleyen başka bir unsur olabileceği düşünülmüştür. Bu nedenle astım gelişiminde rolü kanıtlanmış bir genin NP etyopatogenezinde de rol oynayabileceği hipotezi ortaya konmuştur.

Genetik altyapı ile ilişkisi pek çok çalışma ile ortaya konmuş astım için; 2007 yılında Moffatt ve arkadaşları tarafından yapılan genom çapında ilişkilendirme çalışmasında (genom wide association study (GWAS)), ORMDL3'ün potansiyel bir aday gen olduğu gösterilmiştir (131). ORMDL3 proteini, endoplazmik retikulum yerleşimli 153 aminoasitten oluşan transmembran proteindir. Bu proteinin sfingolipid sentezinin ilk basamağı olan serin palmitoil koA transferaz (SPT) aktivitesini inhibe ederek sfingolipid üretiminin azalmasına neden olduğu gösterilmiştir. Sfingolipidler membranların yapısında yer alır ve membran akışkanlığını sağlar, hücre sinyal yolaklarında ve strese yanıtta rol oynarlar (122). Bu nedenle sfingolipid homeostazı yaşamsal önem taşımaktadır. ORMDL3 gen ekspresyonunun değişmesi veya gende fosforilasyon bölgesini değiştiren mutasyonların sfingolipid üretiminin bozulmasına neden olduğu gösterilmiştir (136). Moffatt ve arkadaşlarının çocukluk çağı astımı ile ORMDL3 ekspresyonu artışını inceleyen çalışmasında ise sfingolipid sentezinde azalma olduğu ve böylece havayolu reaktivitesinin arttığı gösterilmiştir. Bu çalışmada aynı zamanda 17q21 lokusunun çocukluk çağı başlangıçlı astımla ilişkisi ortaya konmuştur (131). Daha çok ORMDL3'le ilişkili olmak üzere, aynı gen ailesinde yer alan ORMDL1 ve ORMDL2 genlerindeki polimorfizmlerin de astımla ilişkili olduğu ve astımlı hastalarda ORMDL düzeylerinin yüksek olduğu gösterilmiştir (123). 2007 yılında yapılan GWAS'tan sonra ORMDL3'ün üzerinde yerleştiği 17q21 kromozomundaki SNP'lerin astımla ilişkisini inceleyen başka GWAS çalışmaları ve farklı etnik kökene sahip popülasyonlarda genetik ilişkilendirme çalışmaları yapılmıştır (124, 126, 137-141).

Zhao ve arkadaşları 2011 yılında yaptıkları meta analiz çalışmasında, ORMDL3 polimorfizmleri ve astım ilişkisi ile ilgili yapılan 13 makalenin verilerini derlemişlerdir (132). Bu meta analize göre, çalışmamızda da incelenen ***RS8076131***

ve ***RS12603332*** bölgeleri dahil olmak üzere ORMDL3 genindeki üç SNP'nin farklı popülasyonlarda astım ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Galanter ve arkadaşları tarafından 2008 yılında Afro Amerikalı, Meksika ve Porto Riko asıllı astımlı hasta gruplarının periferik kanlarında yapılan bir çalışmada; Afro Amerikalı ve Meksikalı hastalarda ***RS12603332*** bölgesinin varyantları ve astım arasında pozitif bir ilişki, Porto Riko kökenli hasta grubunda ise aynı bölge ile astım arasında negatif ilişki gösterilmiştir (126). 2011 yılında Çek toplumunda yapılan bir genotipleme çalışmasında astımlı hastalar ve kontrol grubunda ***RS17608925, RS12603332, RS8076131, RS3169572*** bölgeleri incelenmiştir. Bu çalışmada incelenen bölgelerde, ***RS3169572*** bölgesinde allelik bir varyantın gösterdiği sınırda anlamlı farklılık dışında, astım ve kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmamıştır (134). Schedel ve arkadaşlarının çocukluk çağı astımı ve ORMDL3 gen polimorfizmlerini incelediği çalışmasında, ORMDL3'ün özellikle *RS8076131* ve ***RS4065275*** varyantlarının ORMDL3 ekspresyonunu değiştirdiği, sonuçta Th2 yolağı sitokinlerinin arttığı ve bu polimorfizmlerin astıma yatkınlık oluşturduğu gösterilmiştir (133). Acavedo ve arkadaşlarının çocukluk çağı astımı ile GSDMB (Gasdermin B) ve ORMDL3 gen polimorfizmleri ve RNA düzeyindeki ekspresyonlarının ilişkisini inceleyen araştırmasında, periferik kanda lökositlerle çalışılmış ve *RS2305480, RS216389,* ***RS4065275, RS8076131*** ve ***RS12603332***'nin astımda yatkınlık oluşturan polimorfizmler olduğu sonucuna varılmıştır (142).

Bizim çalışmamızda, ORMDL3 geninde astımla ilişkilendirilmiş tek gen nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) nazal polipozise yatkınlık yaratmadaki rolünü incelemek amacıyla beş adet SNP bölgesi seçilmiştir. Literatürde, nazal polipoziste ORMDL3 gen polimorfizmleri ile ilgili yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle; literatür incelenerek astımla sıkça ilişkilendirilen SNP bölgeleri belirlenmiş,

ardından bu bölgelerin gen ekspresyonunu etkileyebilecek bölgede yerleşimli olup olmadıkları National Center for Biotechnology Information (NCBI) kuruluşunun veri tabanından kontrol edilmiştir. (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene) SNP'ler seçilirken DNA sekansının ORMDL3 geninin içinde, genin yukarısında veya aşağısında 500 baz çifti içerisinde olmasına, ayrıca beyaz popülasyonda, Afrika ve Asya popülasyonlarında allel sıklıklarının % 5'ten daha az bildirilmiş olmasına dikkat edilmiştir. Seçilen DNA sekansları ***RS8076131, RS12603332, RS17608925, RS3169572*** ve ***RS17608925***'tir.

25 tane nazal polipozisli hasta ve 29 tane kontrol grubu vakasında bu DNA sekanslarında genotipleme yapılmış, ancak iki grup karşılaştırıldığında *RS8076131, RS12603332, RS17608925 ve RS3169572* bölgelerinde anlamlı sayılabilecek nükleotid değişimi saptanmamıştır. ($p>0.05$) Sadece *RS17608925* bölgesinde görülen TT<->CT (T:timin; C:sitozin) değişiminin anlamlı olarak kabul edilebileceği düşünülmüştür ($p=0,05$). Ancak; literatürdeki SNP çalışmaları ile karşılaştırıldığında genotip ve allel dağılımları arasındaki farkı değerlendirmek ve ORMDL3 geninde tanımlı tek gen nükleotid polimorfizmleri ile nazal polipozis arasında ilişki kurabilmek için çalışmadaki örneklem sayısının oldukça az olduğu göz önünde bulundurulmalıdır.

Yapılan in vivo hayvan çalışmalarında, astım modeli yaratılarak ORMDL3'ün fazla ekspresyonunun neden olduğu değişiklikler moleküler olarak incelenmiştir. Alerjik astım modelinde ORMDL3'ün fazla ekspresyonunun ATF6 (activating transcription factor 6) yolağının uyarılmasına, böylece katlanmamış protein yanıtının artışına neden olduğu gösterilmiştir. ATF6 yolağı, sarkoplazmik retikulum Ca^{+2} ATPaz (kalsiyum pompası) sayısının artmasına ve sitozolden endoplazmik retikuluma Ca^{+2} geçişine neden olmaktadır. ER'de kalsiyum

homeostazı ve katlanmamış protein yanıtını düzenleyerek, inflamatuar süreci aktive ettiği ve T lenfositlerin uyarılmasına neden olduğu düşünülmektedir (143). ORMDL3'ün; T lenfosit aktivasyonuna neden olması nedeniyle alerjik rinit, romatoid artrit, tip 1 diabetes mellitus, ankilozan spondilit, ülseratif kolit, Crohn hastalığı gibi pek çok inflamatuar ve otoimmün hastalıkla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Benzer şekilde aynı mekanizmanın astımda havayolu inflamasyonuna ve yeniden biçimlenmeye yol açtığı düşünülmüştür (121, 144).

Literatür incelendiğinde; akciğer epitelinde ekspresyonunun yüksek olduğu bilinen ORMDL3'ün, nazal mukozada yapılan çalışma sayısının oldukça az olduğu görülmüştür. Alerjik rinit ve ORMDL3 ilişkisini Japon popülasyonunda inceleyen bir çalışma 2013 yılında yayınlanmıştır. Bu çalışmada alerjik rinit ile ORMDL3'ün *RS9303277, RS7216389, RS7224129, RS3744246* ve *RS4794820* bölgesindeki varyantlarının ilişkili olduğu, ORMDL3 mRNA'sının ise nazal epitelde yüksek oranda eksprese edildiği izlenmiştir (145). 2016 yılında Singapur'da yapılan bir çalışmada ise 17q12-21 lokusunun, özellikle *RS8076131* varyantlarının, alerjik astımla güçlü bir genetik ilişkiye sahip olduğu ancak alerjik rinitle ilişkili olmadığı gösterilmiştir (146).

Nazal polipoziste ORMDL3 ekspresyonunun rolü ile ilgili literatürde çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda nazal polipozisli hasta grubundan alınan 25 adet polip dokusunda, aynı hastalardan alınan 25 adet konka örneğinde ve sağlıklı kontrol grubundan alınan 29 adet alt konka örneğinde ORMDL3'ün mRNA ekspresyon seviyeleri real time PCR yöntemiyle belirlenmiştir. Nazal polipoziste gen ekspresyon çalışmalarında kontrol grubu, aynı hastanın sağlıklı dokusu ve inflamatuar nazal hastalığı olmayan sağlıklı kişilerden alınan dokulardan oluşturulmuştur. Bu çalışmada; hem aynı hasta grubundan, hem de sağlıklı kişilerden kontrol doku grubu

oluşturulması ile hastalığın tüm nazal mukozayı aynı şekilde etkileyip etkilemediğinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Her grupta ORMDL3 ekspresyon düzeyleri belirlendikten sonra bu değerler birbirleriyle karşılaştırılmıştır. NP'li hasta grubundan alınan polip örneklerinin ORMDL3 mRNA ekspresyon seviyeleri, aynı gruptan alınan 25 adet alt konka örneği ile karşılaştırıldığında; polip dokusunda, aynı hastadan alınan alt konka örneğine göre ORMDL3 gen ifadelenmesinin 2,18 kat arttığı belirlenmiş ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Polip örnekleri, kontrol grubundan alınan konka örnekleri ile ORMDL3 mRNA ekspresyon seviyeleri açısından karşılaştırıldığında; polip dokusunda, kontrol grubundan alınan konka dokusuna göre ORMDL3 mRNA ekspresyonunun 2,48 kat arttığı belirlenmiş ve bu artış istatiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). NP'li hasta grubu ve kontrol grubundan alınan konka örnekleri karşılaştırıldığında ise, ORMDL3 mRNA ekspresyonu açısından iki grup arasında anlamlı fark olmadığı görülmüştür ($p>0,05$).

Bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde; polip dokusunda ORMDL3 geninin mRNA düzeyinde hem aynı hastaların alt konkasına göre, hem de sağlıklı kontrol grubuna göre daha fazla ifadelendiği görülmektedir. Dolayısıyla bu genin hastalığa spesifik olarak yüksek oranda eksprese olduğu yorumu yapılabilir. Astımlı hastaların nazal mukozasında ORMDL3 ekspresyonunun arttığına dair literatürde çalışma bulunmamaktadır. Ancak bu olasılık göz önüne alınarak kontrol grubunda astım bir dışlama kriteri olarak belirlenmiştir. Nazal mukozada astımın ORMDL3'ün ekspresyonuna etkisini incelemek amacıyla; NP'li hasta grubunun içerisinde yer alan 9 astımlı hastanın ve geriye kalan 16 hastanın polip dokuları birbirleriyle karşılaştırılmıştır. ORMDL3'ün, astımlı hastaların polip dokusunda sadece polipli hastaların polip dokularına göre 1,1 kat daha fazla ekspresyon gösterdiği, ancak bu

ekspresyon farklılığının istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur. Bu bağlamda, nazal polipozisli hastalarda astım varlığının polip dokusunda ORMDL3 ekspresyonunu etkilemediği düşünülebilir, ancak birbirleriyle karşılaştırılan grupların örneklem sayısının yetersiz olması nedeni ile genelleme yapılmamalıdır.

ORMDL3'ün astım patogenezinde önemli rol oynayan epitel hücreleri, makrofajlar, eozinofiller ve T lenfositlerde ekspresyon gösterdiği bildirilmektedir. Bu immün hücrelerin her birinde artan ORMDL3 ekspresyonu, migrasyon ve proinflamatuar sitokin salınımının artışıyla bağlantılı olarak astım patogenezine katkıda bulunmaktadır (122, 144). Anti-ORMDL3 antikoru kullanılarak dokularda IHKsal yöntem ile boyama yapılması ve ORMDL3 protein ekspresyonunun gösterilmesi; santral dogma zincirinin (replikasyon, transkripsiyon ve translasyon) son ve en önemli aşamasını, dolayısıyla ORMDL3 geninin kesin olarak hangi düzeyde ifadelendiğini araştırmak amacıyla kullanılabilir. Bu amaçla bizim çalışmamızda da; ORMDL3 proteininin nazal mukozanın epitel hücrelerinde ve inflamatuar hücrelerinde, özellikle NP'de, yoğun olarak eksprese edildiği immünhistokimyasal (IHK) boyama yöntemiyle gösterilmiştir.

Literatürde ORMDL3'ün protein düzeyinde ifadelenmesini göstermek üzere yapılan çalışmalar sınırlıdır, nazal mukozada ise IHKsal boyamanın kullanıldığı çalışma bulunmamaktadır. 2015 yılında Yu ve arkadaşları tarafından astımlı fare modellerinde akciğer dokusunda ORMDL3 antikoru ile yapılan IHKsal çalışmada, antikorun primer olarak epitelde ve inflamatuar hücrelerde boyanma gösterdiği bildirilmiştir. Bu çalışmada fare modellerinde astım ortaya çıkarılmış, ardından deneklerin akciğer dokuları histolojik olarak incelenmiş ve ORMDL3, p-ERK (phosphorylated-extracellular-signal regulated kinase) ve MMP-9'un (matriks metallopeptidaz-9) protein düzeyleri western blot ve IHK ile mRNA düzeyleri ise

RT-PCR yöntemi ile gösterilmiştir. ORMDL3, p-ERK ve MMP-9'un ekspresyon seviyelerinin bronşiyal duvar kalınlığı ile anlamlı olarak korele olduğu görülmüş ve artan ORMDL3 ekspresyonunun p-ERK/MMP-9 yolağını uyararak astımda havayolunun yeniden biçimlenmesine neden olabileceği sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada akciğer dokusu örneklerinin anti-ORMDL3 antikoru ile boyanma dereceleri, bir görüntü analiz programı olan Image J yazılımında değerlendirilmiştir (135).

ORMDL3'ün p-ERK/MMP-9 yolağı ile ilişkisini incelemek amacıyla Wu ve arkadaşları tarafından yapılan bir klinik çalışmada ise, çocukluk çağı astımında ORMDL3 protein düzeylerinin periferik kanda mononükleer inflamatuar hücrelerdeki artışı western blot yöntemiyle gösterilmiştir (147). ORMDL3 ve astımda havayolu yeniden şekillenmesinin ilişkisini inceleyen başka bir çalışmada, astımlı fare modellerinde bronş epitelinde mezenkimal dönüşüm araştırılmıştır. Bu amaçla mezenkimal dönüşümün göstergeleri olan E-kaderin, fibroblast spesifik protein 1 (FSP1) ve vimentin RT-PCR ve western blot yöntemiyle değerlendirilmiştir. Bu çalışma ile bronş epitelinde ORMDL3'ün fazla ekspresyonunun mezenkimal belirteçlerin ekspresyonunun artmasına neden olduğu, dolayısıyla astımda mezenkimal dönüşümü ve yeniden şekillenmei etkilediği sonucuna varılmıştır. ORMDL3 mRNA tayini RT-PCR ile protein tayini ise western blot ve IHKsal yöntem ile yapılmıştır. Astımlı grupta bronş epiteli ve lenfositlerde anti-ORMDL3 ile yoğun boyanma görülürken, kontrol grubunda zayıf boyanma yani düşük düzeyde protein ifadelenmesi izlenmiştir. Bu çalışmada protein ifadelenmesinin kantitatif olarak değerlendirilmesi ve karşılaştırılması ise western blot yöntemi ile yapılmıştır (148).

Bizim çalışmamızda ise ORMDL3 proteinin tayini için IHKsal yöntem kullanılmıştır. NP'li hasta grubundan alınan 25 adet polip, aynı gruptan alınan 13 adet alt konka ve kontrol grubundan alınan 15 adet konka örneği anti-ORMDL3 antikoru ile boyanmıştır. Nazal mukozada epitelde ve stromadaki inflamatuar hücrelerde anti-ORMDL3 ile boyanma izlenmiştir. Dokular arası boyanma şiddetini kantitatif olarak karşılaştırabilmek amacıyla kriterler belirlenmiştir. Preparatlar incelenerek epitelde boyanma durumu, bir büyük mikroskobik büyütme alanında (BBA) (400x) anti-ORMDL3 ile en yoğun boyanan intraepitelyal inflamatuar hücre sayısı, bir BBA da stromada anti-ORMDL3 ile en yoğun boyanan inflamatuar hücre sayısı ve bütün alandaki inflamatuar hücre sayısının yüzdesi her bir örnek hesaplanmıştır. Polip ve konka preparatları incelenerek dokular arası boyanma şiddeti bu kriterlere göre değerlendirilmiş ve birbirleriyle ikili gruplar halinde karşılaştırılmıştır. Dokuların genotipleme ve RNA ekspresyon analizi sonrasında değerlendirilmesinden ötürü, NP'li hasta grubundan alınan konka örneklerinin 12 tanesi, kontrol grubundan alınan örneklerin ise 14 tanesi patolojik inceleme için yetersiz bulunmuştur. Dokular moleküler genetik çalışmalar için -80 derecede saklanmış, bu çalışmalardan sonra -20 derecede bekletilmiş ve rutin doku takibi için oda sıcaklığına alınmıştır. Ardından dokular rutin doku takibine alınmıştır. Bu nedenle hazırlanan preparatlarda doku takip artefaktları geliştiği izlenmiştir. Konka örneklerinde gelişen doku takip artefaktları ve özellikle epitelyal ayrışma nedeniyle, dokuların bir kısmında epitelde boyanma varlığı ve intraepitelyal hücreler değerlendirilememiştir.

NP'li hasta grubundan alınan polip örnekleriyle kontrol grubundan alınan konka örnekleri arasında intraepitelyal inflamatuar hücre sayısı, stromal inflamatuar hücre sayısı ve boyanma yüzdesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark

saptanmıştır. *(p<0,05)* NP'li hasta grubundan alınan konka örnekleri ile kontrol grubundan alınan konka örnekleri arasında ise bu üç parametre açısından fark saptanmamıştır. Polip örnekleri ve aynı hastadan alınan konka örnekleri karşılaştırıldığında intraepitelyal inflamatuar hücre sayısı ve stromal inflamatuar hücre sayısı arasında anlamlı fark mevcuttur, ancak boyanma yüzdesi açısından fark saptanmamıştır. Epitelyal boyanma açısından ise üç grup arasında anlamlı fark izlenmemiştir. Bu veriler göz önüne alındığında; mRNA ekspresyonu analizinde olduğu gibi konka grupları arasında IHKsal parametreler açısından fark izlenmemiştir. Buna göre, NP'li hastaların konkalarında ve kontrol grubundan alınan konka örneklerinde ORMDL3 protein sentezi arasında anlamlı fark olmadığı yorumu yapılabilir. Polip örnekleri ile konka örnekleri arasında anti-ORMDL3 antikoruyla boyanma açısından görülen farka, bu antikor ile boyanan intraepitelyal inflamatuar hücre ve stromal inflamatuar hücre sayısının neden olduğu görülmüştür. Bu bağlamda, polip örneklerinde artmış ORMDL3 protein sentezinin inflamatuar hücrelerden kaynaklandığı yorumu yapılabilir.

Astım varlığının polip dokusunda ORMDL3 protein sentezine etkisini incelemek amacıyla, astımı olan ve olmayan NP'li hastaların polip örnekleri birbirleriyle belirlenen dört IHKsal parametre açısından karşılaştırılmıştır. Buna göre, epitelyal boyanma, intraepitelyal inflamatuar hücre sayısı, stromal inflamatuar hücre sayısı ve boyanma yüzdesi iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermemektedir. Buna göre, polip dokusunda ORMDL3 protein sentezinin astım varlığından etkilenmediği sonucuna varılabilir.

ORMDL3 geninin dokularda mRNA ve protein olarak ifadelenmesi arasındaki korelasyonu incelemek amacıyla anti-ORMLD3 antikoru ile yapılan IHKsal çalışma sonucu belirlenen boyanma parametreleri mRNA ekspresyonu

karşılaştırılmıştır. Dokulardaki mRNA ekspresyonu durumu “var” ve “yok” olarak kodlanmıştır. Polip örneklerinde anti-ORMDL3 ile epitelyal boyanmanın, ORMDL3 mRNA ekspresyonu ile korele olmadığı görülmüştür. Bunun yanı sıra, dokudaki mRNA ekspresyonu durumu ile anti-ORMDL3 antikoru ile boyanan intraepitelyal inflamatuar hücre sayısı, stromal inflamatuar hücre sayısı ve boyanma yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Bu verilere bakıldığında, polip dokularında ORMDL3 geninin mRNA ve protein olarak ifadelenmesi arasında korelasyon yoktur. Konka örneklerinde IHKsal parametreler ve mRNA ekspresyonu varlığının ilişkisi, vaka sayısının azlığı ve doku takip artefaktları sonucu bazı verilerdeki eksiklik nedeniyle analiz edilememiştir.

Çalışmadaki kısıtlılık, protein düzeylerinin kantitatif olarak değerlendirilmesinde ve gruplar arasında karşılaştırılmasında IHKsal yönteminin tek başına kullanılmış olmasıdır. Ayrıca hastalarda ek nazal patoloji oluşturmamak amacıyla agresif konka cerrahisi yapılmamıştır. mRNA ekspresyon analizinin veriyi doğrulamak amacıyla iki defa yapılması ise daha fazla doku kaybına neden olmuştur. Dolayısıyla, genotipleme ve mRNA ekspresyon analizinden sonra geriye kalan konka örneklerinin bir kısmı IHKsal çalışma ile protein ekspresyonunun değerlendirilmesi için kullanılmak üzere yeterli bulunmamıştır. Bu nedenle protein ekspreyonu sonuçlarının incelenen diğer parametreler ile karşılaştırılması daha küçük bir örneklemde yapılabilmiştir. Ayrıca dokuların -80 derecede saklanması, daha sonra oda sıcaklığına getirilmesi ve rutin doku takibine alınması sonrası konka örneklerinde doku takip artefaktları gelişmiştir. Bu da epitelin antikorla boyanmasının değerlendirilmesini güçleştirmiştir.

ORMDL proteinlerinin etkileri, alt hava yolu mukozasının yanı sıra nöronal hücrelerde de çalışılmıştır. Araki ve arkadaşlarının nöronal hücrelerde ORMDL

proteinlerinin rolü üzerine odaklanan bir çalışmasında, ORMDL'deki ekspresyon değişikliklerinin transmembran bir proteaz olan gamma sekretaz kompleksinin yapısındaki değişiklikleri regüle ettiği gösterilmiştir. Bu regülasyonu, gamma sekretaz ünitesinin içerisinde reseptör alt ünitesi olan nicastrinin matürasyonu aracılığıyla yapmaktadır (149). Gamma sekretazlar başlangıçta Aβ (amiloid beta) proteini oluşumundan sorumlu proteazlar olarak tanımlanmış ve Alzheimer hastalığında terapötik hedef olarak kabul edilmişlerdir. Araki ve arkadaşları ayrıca ORMDL proteinlerinin, gamma sekretazın alt ünitesi olan presenilin-1'in (PS1) Alzheimer hastalığı ile ilişkili olan mutantının ifade edildiği hücrelerde daha az eksprese olduğunu göstermişlerdir. Bu bulgular ışığında, ORMDL proteinlerinin çeşitli substratların bölünmesinden sorumlu gamma sekretaz kompleksinin fonksiyonunu etkileyerek pek çok hücresel olayda rol alabileceği sonucuna varılmıştır. ORMDL geninin susturulması, gamma sekretazın azalmış aktivitesine yol açmaktadır, bu bilgiden yola çıkılarak ORMDL3 ekspresyon seviyesinin arttığı alerjik astımlı olgularda gamma sekretaz aktivitesinin arttığı varsayılabilir (122). Gama sekretazın proteaz aktivitesinin farmakolojik inhibisyonunun, Th2 sitokin yanıtının ve dolayısıyla akciğer inflamasyonunun azalmasına neden olduğu gösterilmiştir (150-152). Bu gözlemlere dayanarak Paulenda ve arkadaşları, artmış ORMDL3 ekspresyonunun gamma sekretaz kompleksinin matürasyonunu ve aktivitesini arttırarak Th2 sitokinlerinin daha fazla sentezlenmesine, dolayısıyla alt hava yolu inflamasyonuna neden olabileceğini öne sürmüşlerdir (153). Gamma sekretaz modülatörlerinin keşfi, nöroinflamasyonun, Alzheimer hastalığında artmış olarak gösterilen tau protein fosforilasyonunun ve nörofibriler yumak gelişiminin azaltılmasındaki rolleri nedeniyle oldukça önemlidir. Bu ilaçların

nörodejenerasyonun erken evre Alzheimer hastalarında umut verici olabileceği düşünülmektedir (154).

Gamma sekretaz-ORMDL yolağının daha net bir şekilde ortaya konmasıyla, Alzheimer'da olduğu gibi bu yolağın astım tedavisinde uygun bir hedef olabileceği düşünülmektedir (122). Batı toplumlarında görülen nazal polipoziste, astımda olduğu gibi IL-5 ve IL-13'ün yüksek olduğu, eozinofilinin baskın olduğu Th2 tipi inflamasyon görülmektedir. Astım ve nazal polipozisin ortak fizyopatolojik mekanizmalar sonucu gelişmesi ve iki hastalığın da genetik özellikler göstermesi nedeniyle, astım için terapötik bir hedef olabilecek gamma sekretaz-ORMDL yolağının benzer şekilde nazal polipoziste de etkin olabileceği düşünülmüştür.

Nazal polipozis, günümüzde hem medikal hem cerrahi yöntemlerle tedavi edilmeye çalışılan ve tedavisi sırasında güçlüklerle karşılaşılan bir hastalık grubudur. Cerrahi tedavi yöntemleri, teknolojinin gelişmesiyle ve gelişmiş endoskopik sistemlerin kullanılmaya başlamasıyla gelişmektedir. Ancak, nazal polipozisin esas tedavisi medikaldir ve kronik inflamasyonun hâkim olduğu bu hastalıkta inflamasyonun baskılanması hedeflenerek uzun yıllardır topikal steroidler kullanılmaktadır. Ancak astımda olduğu gibi, nazal polipozisin farklı inflamatuar yolakların hâkim olduğu olduğu alt tipleri olduğu anlaşılmıştır. Özellikle astım ve nonsteroid antiinflamatuar alerjisinin eşlik ettiği olgular ve kistik fibroziste tedavi yanıtının daha az olduğu, sıklıkla nükslerle karşılaşıldığı bilinmektedir. Bu nedenle nazal polipozis etyopatogenezini aydınlatmak ve dolayısıyla tedavide farklı yaklaşımlara öncü olabilmek amacıyla pek çok çalışma yapılmıştır. Nazal polipozis tedavisinde güncel yaklaşım, hastalığın semptomlarından ziyade potansiyel tetikleyicileri hedef alarak inflamatuar yanıtları azaltmak olmalıdır.

Bu çalışmada, astım ve nazal polipozisin güçlü ilişkisi göz önünde bulundurularak, astımın yanı sıra pek çok inflamatuar ve otoimmün hastalıkta rolü olduğu gösterilen, inflamatuar tetikleyici olabileceği düşünülen ORMDL3 geninin nazal polip etiyolojisindeki rolü araştırılmıştır. Bu amaçla, hastalığa yatkınlık yaratabileceği düşünülen polimorfizmler, mRNA düzeyinde gen ekspresyonu ve protein düzeyinde ifadelenmeleri araştırılmıştır. Çalışmada incelenen polimorfizmler ile nazal polipozis arasında net bir ilişki kurulamamıştır. Ancak nazal polipozis multifaktöriyel bir hastalıktır ve yapılan çalışmalar sonucunda pek çok genin hastalığın ortaya çıkışında etkin olduğu bilinmektedir.

Bildiğimiz kadarı ile çalışmamız ORMDL3 genini nazal polipoziste inceleyen ilk çalışmadır ve gen ekspresyonunun mRNA düzeyinde arttığını gösteren bulgularımız bu genin NP etyolojisinde rol oynayabileceğini göstermektedir. Astımdaki rolü kanıtlanan ancak inflamasyonu tetikleyici mekanizması hala net olarak aydınlatılamayan bu genin, nazal polipozis gelişimindeki rolünü daha iyi anlamak amacıyla, geniş hasta grupları üzerinde daha kapsamlı olarak irdeleyen araştırmalar yapılması gerekmektedir.

6. ÖZET

Nazal polipozis, nazal kavite ve paranazal sinüs mukozasının kronik inflamasyonu sonucunda gelişen, çoğunlukla lateral nazal duvardan kaynaklanan benign mukozal çıkıntılarla karakterize bir hastalıktır. Toplumdaki nazal polip prevalansı %1-4 arasında değişmektedir. Nazal polipozis; sık görülen, günümüzde hem medikal hem cerrahi yöntemlerle tedavi edilmeye çalışılan ve tedavisi sırasında güçlüklerle karşılaşılan, sıklıkla nükslerin görüldüğü ve sosyal yaşamı etkileyen bir hastalıktır. Etiyolojisi multifaktöriyeldir, hastalığın ortaya çıkışında çevresel ve genetik faktörler rol oynamaktadır.

Bu çalışmada; etyopatogenezi net olarak aydınlatılamamış olan nazal polipozisin genetik altyapısı ve astımla olan güçlü ilişkisi göz önünde bulundurularak, astım gelişmesinde rolü kanıtlanmış olan ORMDL3 geni nazal polipoziste incelenmiştir. Bu amaçla; Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları polikliniğine başvuran 25 nazal polipozisli hasta ve 29 sağlıklı kişi kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edilmiştir. Alınan nazal polip ve alt konka örneklerinde ORMDL3 genine ait tek gen nükleotid polimorfizmleri, ORMDL3 mRNA ekspresyon düzeyleri incelenmiş ve immünhistokimyasal yöntemle ORMDL3 protein tayini yapılmıştır. *RS8076131, RS12603332, RS17608925, RS3169572 ve RS17608925* DNA sekanslarında genotipleme yapılmış, iki grup karşılaştırıldığında *RS8076131, RS12603332, RS17608925 ve RS3169572* bölgelerinde anlamlı sayılabilecek nükleotid değişimi saptanmamıştır. Sadece *RS17608925* bölgesinde görülen TT<->CT (T:timin; C:sitozin) değişiminin anlamlı olarak kabul edilebileceği düşünülmüştür. (p=0,05)

ORMDL3 mRNA ekspresyon seviyeleri açısından, polip örnekleri ile aynı gruptan alınan alt konka örnekleri ve kontrol grubundan alınan alınan konka örnekleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. *(p<0,05)* Polip dokusunda ORMDL3 geninin mRNA düzeyinde hem aynı hastaların alt konkasına göre, hem de sağlıklı kontrol grubuna göre daha fazla ifadelendiği görülmüştür. Konka grupları arasında ise mRNA ekspresyonu açısından fark görülmemiştir.

ORMDL3 geninin dokularda protein düzeyinde ifadelenmesini incelemek amacıyla immünhistokimyasal çalışma yapılmıştır. Anti-ORMDL3 antikoru ile yapılan bu çalışmada, dokular arası boyanma şiddetini kantitatif olarak belirleyebilmek amacıyla bir büyük mikroskobik büyütme alanında (BBA) (400x) en yoğun boyanan intraepitelyal inflamatuar hücre sayısı, bir BBA' da stromada en yoğun boyanan inflamatuar hücre sayısı ve bütün alandaki inflamatuar hücre sayısının yüzdesi her bir örnek hesaplanmış ve dokular arası karşılaştırma bu parametrelere göre yapılmıştır. Polip örnekleri ile aynı gruptan alınan konka örnekleri ve kontrol grubundan alınan konka örnekleri arasında intraepitelyal inflamatuar hücre sayısı ve stromal inflamatuar hücre sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. *(p<0,05)* Konka grupları arasında bu iki IHKsal parametre açısından fark saptanmamıştır. Epitelyal boyanma açısından üç grup arasında anlamlı fark izlenmemiştir. Astım varlığının polip dokuları arasında anti-ORMDL3 ile boyanma açısından fark yaratmadığı görülmüştür. Polip dokularında IHKsal parametreler ile mRNA ekspresyon durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Bu veriye dayanarak, polip dokularında ORMDL3 geninin mRNA ve protein olarak ifadelenmesi arasında korelasyon olmadığı yorumu yapılmıştır.

Sonuç olarak; tek gen nükleotid polimorfizmi gösterilememesine rağmen, ORMDL3 geninin nazal polipoziste mRNA ve protein düzeyinde ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Bilindiği kadarıyla ORMDL3 geni nazal polipoziste ilk defa çalışılmıştır. ORMDL3 geninin astımda olduğu gibi, nazal polipozis etyopatogenezinde etkili olabileği düşünülmektedir, ancak çalışma daha büyük hasta popülasyonlarında tekrarlanmalıdır.

Anahtar kelimeler: Nazal polipozis, ORMDL3 geni, astım

7. SUMMARY

Nasal polyposis is a chronic inflammatory disease of the nasal cavity and the paranasal sinuses, mostly originated from the lateral nasal wall and characterized with benign mucosal protrusions. In the general population the overall prevalence rate of nasal polyposis ranges from 1-4%. It is a chronic disease which is frequently seen in the population, both medical and surgical methods are used for its treatment, recurrence is often seen and it has a socially negative impact on patients. Nasal polyposis is a complex multifactorial disease; associated with several environmental, genetic and inflammatory factors, but the cellular and molecular mechanisms that contribute to the pathogenesis are not fully understood.

In this study ORMDL3 gene, which is strongly associated with the development of asthma, was investigated for its possible role in nasal polyposis considering its strong relations with asthma and its genetic background. For this purpose, 25 patients with nasal polyposis admitted to Gazi University Ear Nose and Throat Department and 29 healthy controls were included in this study. Nasal polyp tissue samples and turbinate samples from the both groups were assessed for ORMDL3 gene variants, mRNA and protein expression levels. Five selected single nucleotid gene polymorphisms (SNPs) (RS8076131, RS12603332, RS17608925, RS3169572 and RS17608925) were genotyped and the single locus analysis showed only a borderline association between RS17608925 variant and nasal polyposis. *(p=0,05)* The difference of mRNA expression levels between the nasal polyp samples and the turbinate samples was statistically significant. *(p<0,05)* It was observed that the mRNA expression levels of ORMDL3 gene was higher in the nasal polyp tissue samples than both the turbinate samples

from the NP group and the control group. There was no statistically significant difference between the turbinate samples in NP and control groups.

In order to investigate the protein expression levels of ORMDL3 gene, immunohistochemical staining with Anti-ORMDL3 antibody was used. In order to quantitatively determine the intensity of the staining and compare protein expression levels between groups; the number of intraepithelial inflammatory cells intensely stained in one large microscopic area (LMA) (400x), the number of inflammatory cells intensely stained in the stroma in one LMA, the percentage of the stained inflammatory cells in the whole area and the epithelial staining status was determined for each sample. The comparison between the groups was made according to these parameters. There was no significant difference between the three groups in terms of epithelial staining status. There were statistically significant differences between the number of intraepithelial inflammatory cells and the number of stromal inflammatory cells of the nasal polyp and the turbinate samples. *($p<0,05$)* There was no statistically significant difference between the immunhistochemical parameters and mRNA expression status in polyp tissues. Based on this data, it was interpreted that there was no correlation between the mRNA and protein expression levels of ORMDL3 gene nasal polyp tissues.

As far as we know, this is the first study to assess ORMDL3 gene in subjects with NP. Although the relation between ORMDL3 gene variants and NP was not demonstrated, it was observed that mRNA and protein expression levels of ORMDL3 gene were increased in NP. Our results suggest that ORMDL3 gene expression may has a role in the pathogenesis of NP as in asthma. But the study should be repeated and further investigations should be made in larger patient

populations in order to explore the relation between ORMDL3 gene and nasal polyposis.

Keywords: Nasal polyposis, ORMDL3 gene, asthma

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. A summary for otorhinolaryngologists. Rhinology. 2012;50(1):1-12.
2. Naclerio R, Gungor A. Etiologic factors in inflammatory sinus disease. Dalam: Kennedy DW, Bolger WE, Zinreich SJ Diseases of The Sinuses Diagnosis and Management London: BC Decker Inc Hamilton. 2001:47-55.
3. ÜNAL ÖF, ÖNERCİ M. Nazal Polip. Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Dergisi. 1994;2:260-1.
4. Yonge ES. Polypus of the Nose: Sherratt and Hughes; 1906.
5. Vancil ME. A historical survey of treatments for nasal polyposis. The Laryngoscope. 1969;79(3):435-45.
6. Stevenson RS, Guthrie D. A history of oto-laryngology: E. & S. Livingstone; 1949.
7. Lascaratos JG, Segas JV, Assimakopoulos DA. Treatment of nasal polyposis in Byzantine times. Annals of Otology, Rhinology & Laryngology. 2000;109(9):871-6.
8. Koç A, Erginoğlu U, Karaaslan O. Otorhinolaryngological procedures in the fifteenth century in anatolia. Annals of Otology, Rhinology & Laryngology. 2004;113(5):414-7.
9. Jankowski R, Pigret D, Decroocq F. Comparison of functional results after ethmoidectomy and nasalization for diffuse and severe nasal polyposis. Acta oto-laryngologica. 1997;117(4):601-8.
10. Tos M, Larsen PL. 5 NASAL POLYPS; ORIGIN, ETIOLOGY, PATHOGENESIS. Diseases of the sinuses: diagnosis and management. 2001:57.
11. Kennedy DW, Zinreich SJ, Rosenbaum AE, Johns ME. Functional endoscopic sinus surgery: theory and diagnostic evaluation. Archives of Otolaryngology. 1985;111(9):576-82.
12. Clement P. Results of oral steroid treatment in nasal polyposis. Rhinology. 1994;32(1):5-9.
13. Lildholdt T, Rundcrantz H, Bende M, Larsen K. Glucocorticoid treatment for nasal polyps: the use of topical budesonide powder, intramuscular betamethasone, and surgical treatment. Archives of otolaryngology–head & neck surgery. 1997;123(6):595-600.
14. Larsen K, Tos M. The estimated incidence of symptomatic nasal polyps. Acta oto-laryngologica. 2002;122(2):179-82.
15. Johansson L, Åkerlund A, Melén I, Holmberg K, Bende M. Prevalence of nasal polyps in adults: the Skovde population-based study. Annals of Otology, Rhinology & Laryngology. 2003;112(7):625-9.
16. Larsen P, Tos M. Anatomic site of origin of nasal polyps: Endoscopic nasal and paranasal sinus surgery as a screening method for nasal polyps in an autopsy material. American journal of rhinology. 1996;10(4):211-6.
17. Collins M, Pang YT, Loughran S, Wilson J. Environmental risk factors and gender in nasal polyposis. Clinical Otolaryngology & Allied Sciences. 2002;27(5):314-7.

18. Drake-Lee A, Lowe D, Swanston A, Grace A. Clinical profile and recurrence of nasal polyps. The Journal of Laryngology & Otology. 1984;98(8):783-93.
19. Settipane GA, editor Epidemiology of nasal polyps. Allergy and Asthma Proceedings; 1996: Oceanside Publications.
20. Settipane GA, Chafee FH. Nasal polyps in asthma and rhinitis: a review of 6,037 patients. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 1977;59(1):17-21.
21. Kenna M. Nasal polyps. Nelson textbook of pediatrics, 16th edn WB Saunders, Philadelphia. 2000:1260-1.
22. Caplin I, Haynes J, Spahn J. Are nasal polyps an allergic phenomenon? Annals of allergy. 1971;29(12):631-4.
23. Bunnag C, Pacharee P, Vipulakom P, Siriyananda C. A study of allergic factor in nasal polyp patients. Annals of allergy. 1983;50(2):126-32.
24. Blumstein G, Tuft L. Allergy treatment in recurrent nasal polyposis: its importance and value. The American journal of the medical sciences. 1957;234(3):269-80.
25. Drake-Lee A. Histamine and its release from nasal polyps: preliminary communication. Journal of the Royal Society of Medicine. 1984;77(2):120-4.
26. Grigoreas C, Vourdas D, Petalas K, Simeonidis G, Demeroutis I, Tsioulos T, editors. Nasal polyps in patients with rhinitis and asthma. Allergy and asthma proceedings; 2002: OceanSide Publications.
27. Larsen K, editor The clinical relationship of nasal polyps to asthma. Allergy and asthma proceedings; 1996: OceanSide Publications, Inc.
28. Szczeklik A, Nizankowska E, Duplaga M. Natural history of aspirin-induced asthma. AIANE investigators. European network on aspirin-induced asthma. European Respiratory Journal. 2000;16(3):432-6.
29. Moloney J, Oliver R. HLA antigens, nasal polyps and asthma. Clinical Otolaryngology & Allied Sciences. 1980;5(3):183-9.
30. Larsen PL, Tos M. Origin of nasal polyps. The Laryngoscope. 1991;101(3):305-12.
31. Andrews A, Bryson J, Rowe-Jones J. Site of origin of nasal polyps: relevance to pathogenesis and management. Rhinology. 2005;43(3):180-4.
32. Stammberger H, Hawke M. Essentials of endoscopic sinus surgery: Mosby Inc; 1993.
33. Önerci M. Nasal polyposis. Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery: Springer; 2010. p. 241-8.
34. Nakayama M, Wenig BM, Heffner DK. Atypical stromal cells in inflammatory nasal polyps: immunohistochemical and ultrastructural analysis in defining histogenesis. The Laryngoscope. 1995;105(2):127-34.
35. Koc C. Nazal Polip, otolaryngology, head and neck surgery. Ankara, Güneş bookstore. 2004:609-24.
36. Sasama J, Sherris DA, Shin S-H, Kephart GM, Kern EB, Ponikau JU. New paradigm for the roles of fungi and eosinophils in chronic rhinosinusitis. Current opinion in otolaryngology & head and neck surgery. 2005;13(1):2-8.
37. Davis LJ, Kita H. Pathogenesis of chronic rhinosinusitis: role of airborne fungi and bacteria. Immunology and Allergy Clinics. 2004;24(1):59-73.
38. Conley DB, Tripathi A, Seiberling KA, Schleimer RP, Suh LA, Harris K, et al. Superantigens and chronic rhinosinusitis: Skewing of T-cell receptor Vβ-distributions in polyp-derived CD4+ and CD8+ T cells. American journal of rhinology. 2006;20(5):534-9.

39. Van Zele T, Gevaert P, Watelet J-B, Claeys G, Holtappels G, Claeys C, et al. Staphylococcus aureus colonization and IgE antibody formation to enterotoxins is increased in nasal polyposis. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2004;114(4):981-3.
40. Corriveau M-N, Zhang N, Holtappels G, Van Roy N, Bachert C. Detection of Staphylococcus aureus in nasal tissue with peptide nucleic acid–fluorescence in situ hybridization. American journal of rhinology & allergy. 2009;23(5):461-5.
41. Tripathi A, Conley DB, Grammer LC, Ditto AM, Lowery MM, Seiberling KA, et al. Immunoglobulin E to staphylococcal and streptococcal toxins in patients with chronic sinusitis/nasal polyposis. The Laryngoscope. 2004;114(10):1822-6.
42. Van Crombruggen K, Zhang N, Gevaert P, Tomassen P, Bachert C. Pathogenesis of chronic rhinosinusitis: inflammation. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2011;128(4):728-32.
43. Palmer JN. Bacterial biofilms: do they play a role in chronic sinusitis? Otolaryngologic Clinics of North America. 2005;38(6):1193-201.
44. Foreman A, Jervis- Bardy J, Wormald PJ. Do biofilms contribute to the initiation and recalcitrance of chronic rhinosinusitis? The Laryngoscope. 2011;121(5):1085-91.
45. İLERİ F. Nazal Polipozis ve Alerji. Turkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences. 2006;2(6):59-61.
46. Alexiou A, Sourtzi P, Dimakopoulou K, Manolis E, Velonakis E. Nasal polyps: heredity, allergies, and environmental and occupational exposure. Journal of otolaryngology-head & neck surgery= Le Journal d'oto-rhino-laryngologie et de chirurgie cervico-faciale. 2011;40(1):58-63.
47. Rugina M, Serrano E, Klossek J, Crampette L, Stoll D, Bebear J, et al. Epidemiological and clinical aspects of nasal polyposis in France; the ORLI group experience. Rhinology. 2002;40(2):75-9.
48. Lockey RF, Rucknagel DL, Vanselow NA. Familial occurrence of asthma, nasal polyps, and aspirin intolerance. Annals of internal medicine. 1973;78(1):57-63.
49. Karjalainen J, Joki- Erkkilä VP, Hulkkonen J, Pessi T, Nieminen M, Aromaa A, et al. The IL1A genotype is associated with nasal polyposis in asthmatic adults. Allergy. 2003;58(5):393-6.
50. Bernstein JM, Anon JB, Rontal M, Conroy J, Wang C, Sucheston L. Genetic polymorphisms in chronic hyperplastic sinusitis with nasal polyposis. The Laryngoscope. 2009;119(7):1258-64.
51. Endam LM, Cormier C, Bossé Y, Filali-Mouhim A, Desrosiers M. Association of IL1A, IL1B, and TNF gene polymorphisms with chronic rhinosinusitis with and without nasal polyposis: a replication study. Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery. 2010;136(2):187-92.
52. Erbek SS, Yurtcu E, Erbek S, Atac FB, Sahin FI, Cakmak O. Proinflammatory cytokine single nucleotide polymorphisms in nasal polyposis. Archives of otolaryngology–head & neck surgery. 2007;133(7):705-9.
53. Yea SS, Yang Y-I, Park SK, Jang WH, Lee SS, Seog D-H, et al. Interleukin-4 C-590T polymorphism is associated with protection against nasal polyps in a Korean population. American journal of rhinology. 2006;20(5):550-3.
54. Buysschaert I, Grulois V, Eloy P, Jorissen M, Rombaux P, Bertrand B, et al. Genetic evidence for a role of IL33 in nasal polyposis. Allergy. 2010;65(5):616-22.

55. Luxenberger W, Posch U, Berghold A, Hofmann T, Lang-Loidolt D. HLA patterns in patients with nasal polyposis. European archives of oto-rhino-laryngology. 2000;257(3):137-9.
56. Molnar- Gabor E, Endreffy E, Rozsasi A. HLA- DRB1,- DQA1, and- DQB1 Genotypes in Patients With Nasal Polyposis. The Laryngoscope. 2000;110(3):422-5.
57. Fajardo-Dolci G, Solorio-Abreu J, Romero-Álvarez JC, Zavaleta-Villa B, Cerezo-Camacho O, Jiménez-Lucio R, et al. DQA1 and DQB1 association and nasal polyposis. Otolaryngology—Head and Neck Surgery. 2006;135(2):243-7.
58. Drake-Lee A. Nasal polyps—Scott-Brown's Otolaryngology. Kerr AG, Mackay AS, Bull TR, eds Rhinology 7th ed Butterworth-Heinneman, Oxford. 2008.
59. Stern RC, Boat TF, Wood RE, Matthews LW, Doershuk CF. Treatment and prognosis of nasal polyps in cystic fibrosis. American journal of diseases of children. 1982;136(12):1067-70.
60. Rott H. Genetics of Kartagener's syndrome. European journal of respiratory diseases Supplement. 1983;127:1-4.
61. Bacciu A, Buzio C, Giordano D, Pasanisi E, Vincenti V, Mercante G, et al. Nasal Polyposis in Churg- Strauss Syndrome. The Laryngoscope. 2008;118(2):325-9.
62. Friedman KJ, Teichtahl H, De Kretser DM, Temple-Smith P, Southwick GJ, Silverman LM, et al. Screening Young syndrome patients for CFTR mutations. American journal of respiratory and critical care medicine. 1995;152(4):1353-7.
63. Kellerhals B, De Uthemann B. Woakes' syndrome: the problems of infantile nasal polyps. International journal of pediatric otorhinolaryngology. 1979;1(1):79-85.
64. Xiao C, Puddicombe SM, Field S, Haywood J, Broughton-Head V, Puxeddu I, et al. Defective epithelial barrier function in asthma. Journal of Allergy and Clinical immunology. 2011;128(3):549-56. e12.
65. Pawankar R. Nasal polyposis: an update. Current opinion in allergy and clinical immunology. 2003;3(1):1-6.
66. Zuckerman JD, Lee WY, DelGaudio JM, Moore CE, Nava P, Nusrat A, et al. Pathophysiology of nasal polyposis: the role of desmosomal junctions. American journal of rhinology. 2008;22(6):589-97.
67. Rogers GA, Beste KD, Parkos CA, Nusrat A, DelGaudio JM, Wise SK, editors. Epithelial tight junction alterations in nasal polyposis. International forum of allergy & rhinology; 2011: Wiley Online Library.
68. Richer SL, Truong-Tran AQ, Conley DB, Carter R, Vermylen D, Grammer LC, et al. Epithelial genes in chronic rhinosinusitis with and without nasal polyps. American journal of rhinology. 2008;22(3):228-34.
69. Soyka MB, Wawrzyniak P, Eiwegger T, Holzmann D, Treis A, Wanke K, et al. Defective epithelial barrier in chronic rhinosinusitis: the regulation of tight junctions by IFN-γ and IL-4. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2012;130(5):1087-96. e10.
70. Pothoven KL, Norton J, Ocampo C, Suh L, Carter R, Hulse KE, et al. Oncostatin M is elevated in chronic rhinosinusitis and decreases barrier function in human airway epithelium. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2014;133(2):AB237.
71. Hulse K, Stevens W, Tan B, Schleimer R. Pathogenesis of nasal polyposis. Clinical & Experimental Allergy. 2015;45(2):328-46.

72. Wang X, Kim J, McWilliams R, Cutting GR. Increased prevalence of chronic rhinosinusitis in carriers of a cystic fibrosis mutation. Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery. 2005;131(3):237-40.
73. Lane AP, Truong-Tran QA, Schleimer RP. Altered expression of genes associated with innate immunity and inflammation in recalcitrant rhinosinusitis with polyps. American journal of rhinology. 2006;20(2):138-44.
74. Ramanathan Jr M, Lee W-K, Dubin MG, Lin S, Spannhake EW, Lane AP. Sinonasal epithelial cell expression of toll-like receptor 9 is decreased in chronic rhinosinusitis with polyps. American journal of rhinology. 2007;21(1):110-6.
75. Seshadri S, Lin DC, Rosati M, Carter RG, Norton JE, Suh L, et al. Reduced expression of antimicrobial PLUNC proteins in nasal polyp tissues of patients with chronic rhinosinusitis. Allergy. 2012;67(7):920-8.
76. Hulse KE, Chaung K, Seshadri S, Suh L, Norton JE, Carter RG, et al. Suppressor of cytokine signaling 3 expression is diminished in sinonasal tissues from patients with chronic rhinosinusitis with nasal polyps. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2014;133(1):275-7. e1.
77. Hammad H, Lambrecht BN. Dendritic cells and epithelial cells: linking innate and adaptive immunity in asthma. Nature Reviews Immunology. 2008;8(3):193.
78. Bartels J, Maune S, Meyer JE, Kulke R, Schlüter C, Röwert J, et al. Increased eotaxin-mRNA expression in non-atopic and atopic nasal polyps: comparison to RANTES and MCP-3 expression. Rhinology. 1997;35:171-4.
79. Yoshifuku K, Matsune S, Ohori J, Sagara Y, Fukuiwa T, Kurono Y. IL-4 and TNF-alpha increased the secretion of eotaxin from cultured fibroblasts of nasal polyps with eosinophil infiltration. Rhinology. 2007;45(3):235-41.
80. Matsukura S, Stellato C, Georas SN, Casolaro V, Plitt JR, Miura K, et al. Interleukin-13 upregulates eotaxin expression in airway epithelial cells by a STAT6-dependent mechanism. American journal of respiratory cell and molecular biology. 2001;24(6):755-61.
81. Kato A, Peters 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. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2008;121(6):1385-92. e2.
82. Hammad H, Lambrecht B. Dendritic cells and airway epithelial cells at the interface between innate and adaptive immune responses. Allergy. 2011;66(5):579-87.
83. Harlin SL, Ansel DG, Lane SR, Myers J, Kephart GM, Gleich GJ. A clinical and pathologic study of chronic sinusitis: the role of the eosinophil. Journal of allergy and clinical immunology. 1988;81(5):867-75.
84. Kim J-W, Hong S-L, Kim Y-K, Lee CH, Min Y-G, Rhee C-S. Histological and immunological features of non-eosinophilic nasal polyps. Otolaryngology–Head and Neck Surgery. 2007;137(6):925-30.
85. Cao P-P, Li H-B, Wang B-F, Wang S-B, You X-J, Cui Y-H, et al. Distinct immunopathologic characteristics of various types of chronic rhinosinusitis in adult Chinese. Journal of allergy and clinical immunology. 2009;124(3):478-84. e2.
86. Soler ZM, Sauer DA, Mace J, Smith TL. Relationship between clinical measures and histopathologic findings in chronic rhinosinusitis. Otolaryngology—Head and Neck Surgery. 2009;141(4):454-61.

87. Bernstein JM, Gorfien J, Noble B, Yankaskas JR. Nasal polyposis: immunohistochemistry and bioelectrical findings (a hypothesis for the development of nasal polyps). Journal of allergy and clinical immunology. 1997;99(2):165-75.
88. Hong C-Y, Hsiao T-Y, Liu C-M, Shun C-T, Wang C-C, Wang J-S, et al. Matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 gene expressions and their differential regulation by proinflammatory cytokines and prostaglandin in nasal polyp fibroblasts. Annals of Otology, Rhinology & Laryngology. 2001;110(12):1129-36.
89. Schleimer RP, Bochner BS. The effects of glucocorticoids on human eosinophils. Journal of allergy and clinical immunology. 1994;94(6):1202-13.
90. Van Zele T, Gevaert P, Holtappels G, Beule A, Wormald PJ, Mayr S, et al. Oral steroids and doxycycline: two different approaches to treat nasal polyps. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2010;125(5):1069-76. e4.
91. Gevaert P, Van Bruaene N, Cattaert T, Van Steen K, Van Zele T, Acke F, et al. Mepolizumab, a humanized anti–IL-5 mAb, as a treatment option for severe nasal polyposis. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2011;128(5):989-95. e8.
92. Bachert C, Hörmann K, Mösges R, Rasp G, Riechelmann H, Müller R, et al. An update on the diagnosis and treatment of sinusitis and nasal polyposis. Allergy. 2003;58(3):176-91.
93. Zhu J, Yamane H, Paul WE. Differentiation of effector CD4 T cell populations. Annual review of immunology. 2009;28:445-89.
94. Bachert C, Gevaert P, Holtappels G, Johansson S, Van Cauwenberge P. Total and specific IgE in nasal polyps is related to local eosinophilic inflammation. Journal of allergy and clinical immunology. 2001;107(4):607-14.
95. Bachert C, Claeys SE, Tomassen P, Van Zele T, Zhang N. Rhinosinusitis and asthma: a link for asthma severity. Current allergy and asthma reports. 2010;10(3):194-201.
96. Zhang Y, Endam LM, Filali-Mouhim A, Bossé Y, Castano R, Desrosiers M. Polymorphisms in the nitric oxide synthase 1 gene are associated with severe chronic rhinosinusitis. American journal of rhinology & allergy. 2011;25(2):e49-e54.
97. Pleass RJ, Lang ML, Kerr MA, Woof JM. IgA is a more potent inducer of NADPH oxidase activation and degranulation in blood eosinophils than IgE. Molecular immunology. 2007;44(6):1401-8.
98. . !!! INVALID CITATION !!! {}.
99. Berger G, Kattan A, Bernheim J, Ophir D. Polypoid mucosa with eosinophilia and glandular hyperplasia in chronic sinusitis: a histopathological and immunohistochemical study. The Laryngoscope. 2002;112(4):738-45.
100. Van Bruaene N, Derycke L, Perez-Novo CA, Gevaert P, Holtappels G, De Ruyck N, et al. TGF-β signaling and collagen deposition in chronic rhinosinusitis. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2009;124(2):253-9. e2.
101. Wittekindt C, Hess A, Bloch W, Sultanie S, Michel O. Immunohistochemical expression of VEGF and VEGF receptors in nasal polyps as compared to normal turbinate mucosa. European archives of oto-rhino-laryngology. 2002;259(6):294-8.

102. Shimizu S, Gabazza EC, Ogawa T, Tojima I, Hoshi E, Kouzaki H, et al. Role of thrombin in chronic rhinosinusitis–associated tissue remodeling. American journal of rhinology & allergy. 2011;25(1):7-11.
103. Sejima T, Holtappels G, Bachert C. The expression of fibrinolytic components in chronic paranasal sinus disease. American journal of rhinology & allergy. 2011;25(1):1-6.
104. Daines SM, Wang Y, Orlandi RR, editors. Periostin and osteopontin are overexpressed in chronically inflamed sinuses. International forum of allergy & rhinology; 2011: Wiley Online Library.
105. Roca-Ferrer J, Garcia-Garcia FJ, Pereda J, Perez-Gonzalez M, Pujols L, Alobid I, et al. Reduced expression of COXs and production of prostaglandin E2 in patients with nasal polyps with or without aspirin-intolerant asthma. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2011;128(1):66-72. e1.
106. Can KCNPI. Koc editor Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve Baş-Boyun Cerrahisi. Guneş Tıp Kitapevi Ankara; 2013.
107. Lund VJ. Where are we in the medical treatment of nasal polyps. Nasal Polyposis: Springer; 2010. p. 239-48.
108. Lund VJ, Mackay IS. Staging in rhinosinusitis. Rhinology. 1993;31:183-.
109. Yousem DM. Imaging of sinonasal inflammatory disease. Radiology. 1993;188(2):303-14.
110. Bousquet J. Global initiative for asthma (GINA) and its objectives. Clinical and experimental allergy: journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology. 2000;30:2-5.
111. Ponikau JU, Sherris DA, Kephart GM, Kern EB, Gaffey TA, Tarara JE, et al. Features of airway remodeling and eosinophilic inflammation in chronic rhinosinusitis: is the histopathology similar to asthma? Journal of allergy and clinical immunology. 2003;112(5):877-82.
112. Jarvis D, Newson R, Lotvall J, Hastan D, Tomassen P, Keil T, et al. Asthma in adults and its association with chronic rhinosinusitis: the GA2LEN survey in Europe. Allergy. 2012;67(1):91-8.
113. Thorstensen WM, Bugten V, Sue-Chu M, Fossland NPW, Romundstad PR, Steinsvåg SK. Sino-nasal characteristics in asthmatic patients. Otolaryngology--Head and Neck Surgery. 2012;147(5):950-7.
114. Dixon AE, Kaminsky DA, Holbrook JT, Wise RA, Shade DM, Irvin CG. Allergic rhinitis and sinusitis in asthma: differential effects on symptoms and pulmonary function. Chest. 2006;130(2):429-35.
115. Hedman J, Kaprio J, Poussa T, Nieminen MM. Prevalence of asthma, aspirin intolerance, nasal polyposis and chronic obstructive pulmonary disease in a population-based study. International journal of epidemiology. 1999;28(4):717-22.
116. Ragab A, Clement P, Vincken W. Objective assessment of lower airway involvement in chronic rhinosinusitis. American journal of rhinology. 2004;18(1):15-21.
117. Lund V. The effect of sinonasal surgery on asthma. Allergy. 1999;54:141-5.
118. Scadding G. The effect of medical treatment of sinusitis upon concomitant asthma. Allergy. 1999;54:136-40.
119. Langdon C, Mullol J. Nasal polyps in patients with asthma: prevalence, impact, and management challenges. Journal of asthma and allergy. 2016;9:45.

120. Hjelmqvist L, Tuson M, Marfany G, Herrero E, Balcells S, Gonzàlez-Duarte R. ORMDL proteins are a conserved new family of endoplasmic reticulum membrane proteins. Genome biology. 2002;3(6):research0027. 1.
121. Worgall TS. Sphingolipids, ORMDL3 and asthma: what is the evidence? Current opinion in clinical nutrition and metabolic care. 2017;20(2):99-103.
122. Paulenda T, Draber P. The role of ORMDL proteins, guardians of cellular sphingolipids, in asthma. Allergy. 2016;71(7):918-30.
123. Toncheva A, Potaczek D, Schedel M, Gersting S, Michel S, Krajnov N, et al. Childhood asthma is associated with mutations and gene expression differences of ORMDL genes that can interact. Allergy. 2015;70(10):1288-99.
124. Madore A-M, Tremblay K, Hudson TJ, Laprise C. Replication of an association between 17q21 SNPs and asthma in a French-Canadian familial collection. Human genetics. 2008;123(1):93-5.
125. Kim B, Song Y, Lee S, Kim H, Kim J, Kang M, et al. ORMDL3 gene polymorphism may be associated with the severity of asthma in Korean children. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2009;123(2):S81.
126. Galanter J, Choudhry S, Eng C, Nazario S, Rodríguez-Santana JR, Casal J, et al. ORMDL3 gene is associated with asthma in three ethnically diverse populations. American journal of respiratory and critical care medicine. 2008;177(11):1194-200.
127. Tavendale R, Macgregor DF, Mukhopadhyay S, Palmer CN. A polymorphism controlling ORMDL3 expression is associated with asthma that is poorly controlled by current medications. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2008;121(4):860-3.
128. Bisgaard H, Bønnelykke K, Sleiman PM, Brasholt M, Chawes B, Kreiner-Møller E, et al. Chromosome 17q21 gene variants are associated with asthma and exacerbations but not atopy in early childhood. American journal of respiratory and critical care medicine. 2009;179(3):179-85.
129. Aerts JM, Hollak C, Boot R, Groener A. Biochemistry of glycosphingolipid storage disorders: implications for therapeutic intervention. Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences. 2003;358(1433):905-14.
130. Mielke MM, Haughey NJ, Bandaru VV, Zetterberg H, Blennow K, Andreasson U, et al. Cerebrospinal fluid sphingolipids, β-amyloid, and tau in adults at risk for Alzheimer's disease. Neurobiology of aging. 2014;35(11):2486-94.
131. Moffatt MF, Kabesch M, Liang L, Dixon AL, Strachan D, Heath S, et al. Genetic variants regulating ORMDL3 expression contribute to the risk of childhood asthma. Nature. 2007;448(7152):470.
132. Zhao C-N, Fan Y, Huang J-J, Zhang H-X, Gao T, Wang C, et al. The association of GSDMB and ORMDL3 gene polymorphisms with asthma: a meta-analysis. Allergy, asthma & immunology research. 2015;7(2):175-85.
133. Schedel M, Michel S, Gaertner VD, Toncheva AA, Depner M, Binia A, et al. Polymorphisms related to ORMDL3 are associated with asthma susceptibility, alterations in transcriptional regulation of ORMDL3, and changes in TH2 cytokine levels. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2015;136(4):893-903. e14.
134. Hrdlickova B, Holla LI. Relationship between the 17q21 locus and adult asthma in a Czech population. Human immunology. 2011;72(10):921-5.

135. Yu F, Sun Y, Yu J, Ding Z, Wang J, Zhang L, et al. ORMDL3 is associated with airway remodeling in asthma via the ERK/MMP-9 pathway. Molecular medicine reports. 2017;15(5):2969-76.
136. Breslow DK, Collins SR, Bodenmiller B, Aebersold R, Simons K, Shevchenko A, et al. Orm family proteins mediate sphingolipid homeostasis. Nature. 2010;463(7284):1048.
137. Bouzigon E, Corda E, Aschard H, Dizier M-H, Boland A, Bousquet J, et al. Effect of 17q21 variants and smoking exposure in early-onset asthma. New England journal of medicine. 2008;359(19):1985-94.
138. Flory JH, Sleiman PM, Christie JD, Annaiah K, Bradfield J, Kim CE, et al. 17q12-21 variants interact with smoke exposure as a risk factor for pediatric asthma but are equally associated with early-onset versus late-onset asthma in North Americans of European ancestry. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2009;124(3):605-7.
139. Leung T, Sy HY, Ng M, Chan I, Wong G, Tang N, et al. Asthma and atopy are associated with chromosome 17q21 markers in Chinese children. Allergy. 2009;64(4):621-8.
140. Sleiman PM, Annaiah K, Imielinski M, Bradfield JP, Kim CE, Frackelton EC, et al. ORMDL3 variants associated with asthma susceptibility in North Americans of European ancestry. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2008;122(6):1225-7.
141. Moffatt MF, Gut IG, Demenais F, Strachan DP, Bouzigon E, Heath S, et al. A large-scale, consortium-based genomewide association study of asthma. New England Journal of Medicine. 2010;363(13):1211-21.
142. Acevedo N, Reinius LE, Greco D, Gref A, Orsmark-Pietras C, Persson H, et al. Risk of childhood asthma is associated with CpG-site polymorphisms, regional DNA methylation and mRNA levels at the GSDMB/ORMDL3 locus. Human molecular genetics. 2014;24(3):875-90.
143. Carreras-Sureda A, Rubio-Moscardo F, Cantero-Recasens G, Kiefer K, Valverde MA, Vicente R, et al. ORMDL3 modulates store-operated calcium entry and lymphocyte activation. Human Molecular Genetics. 2012;22(3):519-30.
144. Miller M, Tam AB, Cho JY, Doherty TA, Pham A, Khorram N, et al. ORMDL3 is an inducible lung epithelial gene regulating metalloproteases, chemokines, OAS, and ATF6. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2012;109(41):16648-53.
145. Tomita K, Sakashita M, Hirota T, Tanaka S, Masuyama K, Yamada T, et al. Variants in the 17q21 asthma susceptibility locus are associated with allergic rhinitis in the J apanese population. Allergy. 2013;68(1):92-100.
146. Andiappan AK, Sio YY, Lee B, Suri BK, Matta SA, Lum J, et al. Functional variants of 17q12-21 are associated with allergic asthma but not allergic rhinitis. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2016;137(3):758-66. e3.
147. Wu X-L, Li R, Zhang H-W, Jin R, Wang J-Y, Juan C-X, et al. Methylation status of ORMDL3 regulates cytokine production and p-ERK/MMP9 pathway expression. Experimental cell research. 2018;372(1):43-51.
148. Cheng Q, Shang Y. ORMDL3 may participate in the pathogenesis of bronchial epithelial- mesenchymal transition in asthmatic mice with airway remodeling. Molecular medicine reports. 2018;17(1):995-1005.

149. Araki W, Takahashi-Sasaki N, Chui D-H, Saito S, Takeda K, Shirotani K, et al. A family of membrane proteins associated with presenilin expression and γ-secretase function. The FASEB Journal. 2008;22(3):819-27.
150. Zhou M, Cui Z-l, Guo X-j, Ren L-p, Yang M, Fan Z-w, et al. Blockade of Notch signalling by γ-secretase inhibitor in lung T cells of asthmatic mice affects T cell differentiation and pulmonary inflammation. Inflammation. 2015;38(3):1281-8.
151. Kang JH, Kim BS, Uhm TG, Lee S-H, Lee GR, Park C-S, et al. γ-Secretase inhibitor reduces allergic pulmonary inflammation by modulating Th1 and Th2 responses. American journal of respiratory and critical care medicine. 2009;179(10):875-82.
152. Zhang W, Zhang X, Sheng A, Weng C, Zhu T, Zhao W, et al. γ-Secretase inhibitor alleviates acute airway inflammation of allergic asthma in mice by downregulating Th17 cell differentiation. Mediators of inflammation. 2015;2015.
153. Shoji M, Golde TE, Ghiso J, Cheung TT, Estus S, Shaffer LM, et al. Production of the Alzheimer amyloid beta protein by normal proteolytic processing. Science. 1992;258(5079):126-9.
154. Xia W. γ-Secretase and its modulators: twenty years and beyond. Neuroscience letters. 2019.

9. EKLER

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU
Ankara İli Kamu Hastaneleri Birliği 2 Nolu Genel Sekreterliği
Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Baştabipliği
Klinik Araştırma Etik Kurulu

Sayı : 2012-KAEK-15/1429 10.05.2017
Konu: Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Etik Kurul Kararı

KEÇİÖREN EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ KLİNİK ARAŞTIRMA ETİK KURULU

"Nazal Polipoziste ORMDL3 (orosomucoid like 3) Gen Ekspresyon Düzeylerinin ve Genetik Polimorfizmlerin Araştırılması" adlı klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına ve kurulumuz kararının başvuru sahibi tarafından sağlık bakanlığına arzına gerek olmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.

Op. Dr. Ömer Faruk ŞANER
Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı

Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurul
Pınarbaşı Mahallesi Sanatoryum Cad.
Ardahan Sokak No:25 Keçiören / ANKARA
Web: www.akeah.gov.tr

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Nazal Polipoziste ORMDL3 (orosomucoid like 3) Gen Ekspresyon Düzeylerinin ve Genetik Polimorfizmlerin Araştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 2012-KAEK-15
	AÇIK ADRESİ:	Pınarbaşı Mah. Sanatoryum Cad. Ardahan Sok. No:25 06380 Keçiören / Ankara
	TELEFON	0312 356 90 00-1117
	FAKS	
	E-POSTA	etikkurulkeah@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç.Dr.Yusuf KIZIL			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Kulak Burun Boğaz Hastalıkları			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZI VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
		Gözlemsel ilaç çalışması	☐		
		Tıbbi cihaz klinik araştırması	☐		
		İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları	☐		
		İlaç dışı klinik araştırma	☒ Akademik Araştırma		
		Diğer ise belirtiniz			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı: Op.Dr.Ömer Faruk TUNER
İmza:

ASLI GİBİDİP
Zeliha GÜBİLGE
Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Sekreteri

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Nazal Polipoziste ORMDL3 (orosomucoid like 3) Gen Ekspresyon Düzeylerinin ve Genetik Polimorfizmlerin Araştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama
	SİGORTA	☐	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒	
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐	
	İLAN	☐	
	YILLIK BİLDİRİM	☐	
	SONUÇ RAPORU	☐	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐	
	DİĞER:	☐	

KARAR BİLGİLERİ	
Karar No:1429	**Tarih: 10.05.2017**
Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.	

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Op.Dr.Ömer Faruk TANER

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım		İmza
Op.Dr.Ömer Faruk TANER Bşk.	Plastik Ve Rekonstrüktif Cerrahi	Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Op. Dr. Selim Şakir Erkmen GÜLHAN Bşk.Yrd.	Göğüs Cerrahisi	Atatürk Göğüs Hst.Ve Göğüs Cer.E.A.H.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Doç.Dr. Handan GÜLEÇ Blg.Görevli üye	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof. Dr Ahmet ERGÜN	Fizyoloji	Ankara Ünv. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Mehmet Ali ERGÜN	Tıbbi Genetik	Gazi Ünv. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☒	H ☐	E ☐	H ☐	

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı: Op.Dr.Ömer Faruk TANER
İmza:

ASLI GİBİDİR
Zeliha ÖZBİLGE
Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Sekreteri

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Nazal Polipoziste ORMDL3 (orosomucoid like 3) Gen Ekspresyon Düzeylerinin ve Genetik Polimorfizmlerin Araştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr. Mustafa N. İLHAN	Halk Sağlığı,İş Ve Meslek Hst.	Gazi Ünv. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. İsmet Faruk ÖZGÜNER	Çocuk Cerrahisi	Dr.Sami Ulus Kadın Doğum, Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları E. A. H	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Yr.Doç. Dr. Işıl ÖZAKCA	Farmakoloji (PhD)	Ankara Ünv.Ecz.Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Doç. Dr. Selma UYSAL RAMADAN	Radyodiagnostik	Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Mustafa ALTAY	Endokrinoloji ve Metabolizma Hst.	Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Uzm. Dr. Osman KORUCU	Nöroloji	Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Av. Abdullah Emin TEKİN	Avukat	Serbest	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Necmettin TEKİN	Din Görevlisi	Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	

*:Toplantıda Bulunma

ASLI GİBİDİR
Zeliha ÖZBİLGE
Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Sekreteri

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı: Op.Dr.Ömer Faruk TANER
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı: Ayça

Soyadı: AYDIN

Doğum Yeri ve Tarihi: Isparta 11.04.1990

Eğitimi:

- 2013-2019 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı, Araştırma görevlisi
- 2007-2013 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
- 2004-2007 Antalya Yusuf Ziya Öner Fen Lisesi
- 1997-2004 Özel Antalya Lisesi İlköğretim Okulu

Yabancı Dili: İngilizce, Almanca

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar: Türk Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Derneği

Bilimsel Etkinlikler:

- Klinikum Augsburg, Klinikum für Hals Nasen und Ohrenheilkunde, Almanya - Gözlemci araştırma görevlisi, Nisan-Haziran 2018
- Türk Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Vakfı 2. İlkbahar Toplantısı, 2017
- 12. Uluslararası Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Kongresi, 2016
- Koklear İmplantasyon Otoloji-Nörootoloji ve Odyoloji Kongresi, 2015
- Türk Rinoloji Kongresi, 2015
- Bologna Üniversitesi, İtalya - Erasmus Programı ile gözlemci doktor, Eylül-Kasım 2013

Yayınlar

- Bayramoğlu İ, **Aydın A**. Pontoserebellar Açı Tümörlerine Translabirentin Yaklaşım. Kaymaz AM, editör. Pontoserebellar Açı Tümörlerinde Tedavi Seçimi ve Cerrahi Yaklaşımlar. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2018. p.36-43.

Kitap Bölümü

- Bayramoğlu İ, **Aydın A**. Akut Otitis Media. Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Uzmanlık Eğitimi, Kaynak Kitap-1; 2018. p. 558-570

Bildiriler

- Ceylan A, Dilci A, İleri F, Uslu S, Yilmaz M, Kizil Y, **Aydin A.** Beyin omurilik sıvısı (BOS) rinorenin endoskopik onarımı: Klinik tecrübelerimiz. 11. Türk Rinoloji Kongresi, Antalya, 16 - 19 Nisan 2015
- Şahin M, Türkcan AK, Uslu S, Çolak M, **Aydın A.** Alerjk Fungal Rinosinüzite Bağlı Görme Kaybı. 11. Türk Rinoloji Kongresi, Antalya,16-19 Nisan 2015
- Türkcan AK, Karamert R, Tutar H, Düzlü M, **Aydın A**, Göcek M.Petröz Apeks Kolesteatomaları 23 Yıllık Tecrübemiz, Kafa Tabanı 2018 Kongresi, Antalya, 22-25 Mart 2018

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tez Sınav Tutanağı

Adı ve Soyadı	Ayça Aydın
Baba Adı	Ahmet
Doğum Yeri/Tarihi	Isparta 11/04/1990
Diploma Tarihi / Diploma No	30.6.2013- 2013-09-0177
Mezun Olduğu Fakülte	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı
İhtisas Süresi	**Yıl: 5** **Ay: 5**
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

UZMANLIK TEZİNİN ADI: Nazal Polipoziste ORMDL3 (Orosomucoid like 3) Gen Ekspresyon Düzeylerinin ve Genetik Polimorfizmlerin Araştırılması

JÜRİ KARARI: Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir. Uzmanlık Sınavına girmeyi hak kazanmıştır.

JÜRİ ÜYELERİ;

BAŞKAN
Prof. Dr. Yusuf Kızıl

Prof.Dr. Yusuf KIZIL
T.C. GAZİ ÜNİVERSİTESİ
GAZİ HASTANESİ
Kulak Burun Boğaz Hastalıkları
Dip.No: 00392112 - İh.No:66543-98519

ÜYE
Doç. Dr. Utku Aydil

Doç.Dr. Utku AYDİL
T.C. GAZİ ÜNİVERSİTESİ
GAZİ HASTANESİ
Kulak Burun Boğaz Hastalıkları
Dip.No: 0311135 - İh.No: 69666 - 98675

ÜYE
Doç. Dr. İlker Akyıldız